

**THESE
POUR LE DIPLOME D'ETAT
DE DOCTEUR EN PHARMACIE**

**Soutenue publiquement le
Par M. Jakub Smoczyński**

**La modification post-transcriptionnelle m¹A des
ARN en physiologie et en pathologie**

Membres du jury :

Président : Florin-Muschert, Susanne MCU HDR, Université de Lille

Directeur, conseiller de thèse : Florin-Muschert, Susanne MCU-HDR, Université de Lille

Assesseur(s) : Hamoudi, Mounira, MCU, Université de Lille

Membre extérieur : Dr. Carine Tisné, Dr1, CNRS

Faculté de Pharmacie de Lille

3 Rue du Professeur Laguesse – 59000 Lille

03 20 96 40 40

<https://pharmacie.univ-lille.fr>

Université de Lille

Président

Premier Vice-président

Vice-présidente Formation

Vice-président Recherche

Vice-présidente Réseaux internationaux et européens

Vice-président Ressources humaines

Directrice Générale des Services

Régis BORDET

Etienne PEYRAT

Christel BEAUCOURT

Olivier COLOT

Kathleen O'CONNOR

Jérôme FONCEL

Marie-Dominique SAVINA

UFR3S

Doyen

Premier Vice-Doyen

Vice-Doyen Recherche

Vice-Doyen Finances et Patrimoine

Vice-Doyen Coordination pluriprofessionnelle et Formations sanitaires

Vice-Doyen RH, SI et Qualité

Vice-Doyenne Formation tout au long de la vie

Vice-Doyen Territoires-Partenariats

Vice-Doyenne Vie de Campus

Vice-Doyen International et Communication

Vice-Doyen étudiant

Dominique LACROIX

Guillaume PENEL

Éric BOULANGER

Damien CUNY

Sébastien D'HARANCY

Hervé HUBERT

Caroline LANIER

Thomas MORGENROTH

Claire PINÇON

Vincent SOBANSKI

Dorian QUINZAIN

Faculté de Pharmacie

Doyen	Delphine ALLORGE
Premier Assesseur et Assesseur en charge des études	Benjamin BERTIN
Assesseur aux Ressources et Personnels	Stéphanie DELBAERE
Assesseur à la Santé et à l'Accompagnement	Anne GARAT
Assesseur à la Vie de la Faculté	Emmanuelle LIPKA
Responsable des Services	Cyrille PORTA
Représentant étudiant	Honoré GUISE

Professeurs des Universités - Praticiens Hospitaliers (PU-PH)

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
Mme	ALLORGE	Delphine	Toxicologie et Santé publique	81
M.	BROUSSEAU	Thierry	Biochimie	82
M.	DÉCAUDIN	Bertrand	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	81
M.	DINE	Thierry	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	81
Mme	DUPONT-PRADO	Annabelle	Hématologie	82
Mme	GOFFARD	Anne	Bactériologie - Virologie	82
M.	GRESSIER	Bernard	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	81
M.	ODOU	Pascal	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	80
Mme	POULAIN	Stéphanie	Hématologie	82
M.	SIMON	Nicolas	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	81
M.	STAELS	Bart	Biologie cellulaire	82

Professeurs des Universités (PU)

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
M.	ALIOUAT	El Moukhtar	Parasitologie - Biologie animale	87
Mme	AZAROUAL	Nathalie	Biophysique - RMN	85

M.	BLANCHEMAIN	Nicolas	Pharmacotechnie industrielle	85
M.	CARNOY	Christophe	Immunologie	87
M.	CAZIN	Jean-Louis	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	86
M.	CHAVATTE	Philippe	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert Lespagnol	86
M.	COURTECUISSÉ	Régis	Sciences végétales et fongiques	87
M.	CUNY	Damien	Sciences végétales et fongiques	87
Mme	DELBAERE	Stéphanie	Biophysique - RMN	85
Mme	DEPREZ	Rebecca	Chimie thérapeutique	86
M.	DEPREZ	Benoît	Chimie bioinorganique	85
M.	DUPONT	Frédéric	Sciences végétales et fongiques	87
M.	DURIEZ	Patrick	Physiologie	86
M.	ELATI	Mohamed	Biomathématiques	27
M.	FOLIGNÉ	Benoît	Bactériologie - Virologie	87
Mme	FOULON	Catherine	Chimie analytique	85
M.	GARÇON	Guillaume	Toxicologie et Santé publique	86
M.	GOOSSENS	Jean-François	Chimie analytique	85
M.	HENNEBELLE	Thierry	Pharmacognosie	86
M.	LEBEGUE	Nicolas	Chimie thérapeutique	86
M.	LEMDANI	Mohamed	Biomathématiques	26
Mme	LESTAVEL	Sophie	Biologie cellulaire	87
Mme	LESTRELIN	Réjane	Biologie cellulaire	87
Mme	MELNYK	Patricia	Chimie physique	85
M.	MILLET	Régis	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert Lespagnol	86
Mme	MUHR-TAILLEUX	Anne	Biochimie	87
Mme	PERROY	Anne-Catherine	Droit et Economie pharmaceutique	86
Mme	ROMOND	Marie-Bénédicte	Bactériologie - Virologie	87

Mme	SAHPAZ	Sevser	Pharmacognosie	86
M.	SERGHERAERT	Éric	Droit et Economie pharmaceutique	86
M.	SIEPMANN	Juergen	Pharmacotechnie industrielle	85
Mme	SIEPMANN	Florence	Pharmacotechnie industrielle	85
M.	WILLAND	Nicolas	Chimie organique	86

Maîtres de Conférences - Praticiens Hospitaliers (MCU-PH)

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
M.	BLONDIAUX	Nicolas	Bactériologie - Virologie	82
Mme	DEMARET	Julie	Immunologie	82
Mme	GARAT	Anne	Toxicologie et Santé publique	81
Mme	GENAY	Stéphanie	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	81
M.	LANNOY	Damien	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	80
Mme	ODOU	Marie-Françoise	Bactériologie - Virologie	82

Maîtres de Conférences des Universités (MCU)

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
M.	AGOURIDAS	Laurence	Chimie thérapeutique	85
Mme	ALIOUAT	Cécile-Marie	Parasitologie - Biologie animale	87
M.	ANTHÉRIEU	Sébastien	Toxicologie et Santé publique	86
Mme	AUMERCIER	Pierrette	Biochimie	87
M.	BANTUBUNGI-BLUM	Kadiombo	Biologie cellulaire	87
Mme	BARTHELEMY	Christine	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	85
Mme	BEHRA	Josette	Bactériologie - Virologie	87
M.	BELARBI	Karim-Ali	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	86
M.	BERTHET	Jérôme	Biophysique - RMN	85

M.	BERTIN	Benjamin	Immunologie	87
M.	BOCHU	Christophe	Biophysique - RMN	85
M.	BORDAGE	Simon	Pharmacognosie	86
M.	BOSC	Damien	Chimie thérapeutique	86
M.	BRIAND	Olivier	Biochimie	87
Mme	CARON-HOUDE	Sandrine	Biologie cellulaire	87
Mme	CARRIÉ	Hélène	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	86
Mme	CHABÉ	Magali	Parasitologie - Biologie animale	87
Mme	CHARTON	Julie	Chimie organique	86
M.	CHEVALIER	Dany	Toxicologie et Santé publique	86
Mme	DANEL	Cécile	Chimie analytique	85
Mme	DEMANCHE	Christine	Parasitologie - Biologie animale	87
Mme	DEMARQUILLY	Catherine	Biomathématiques	85
M.	DHIFLI	Wajdi	Biomathématiques	27
Mme	DUMONT	Julie	Biologie cellulaire	87
M.	EL BAKALI	Jamal	Chimie thérapeutique	86
M.	FARCE	Amaury	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert Lespagnol	86
M.	FLIPO	Marion	Chimie organique	86
M.	FURMAN	Christophe	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert Lespagnol	86
M.	GERVOIS	Philippe	Biochimie	87
Mme	GOOSSENS	Laurence	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert Lespagnol	86
Mme	GRAVE	Béatrice	Toxicologie et Santé publique	86
Mme	GROSS	Barbara	Biochimie	87
M.	HAMONIER	Julien	Biomathématiques	26

Mme	HAMOUDI-BEN YELLES	Chérifa-Mounira	Pharmacotechnie industrielle	85
Mme	HANNOTHIAUX	Marie-Hélène	Toxicologie et Santé publique	86
Mme	HELLEBOID	Audrey	Physiologie	86
M.	HERMANN	Emmanuel	Immunologie	87
M.	KAMBIA KPAKPAGA	Nicolas	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	86
M.	KARROUT	Younes	Pharmacotechnie industrielle	85
Mme	LALLOYER	Fanny	Biochimie	87
Mme	LECOEUR	Marie	Chimie analytique	85
Mme	LEHMANN	Hélène	Droit et Économie pharmaceutique	86
Mme	LELEU	Natascha	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert Lespagnol	86
Mme	LIPKA	Emmanuelle	Chimie analytique	85
Mme	LOINGEVILLE	Florence	Biomathématiques	26
Mme	MARTIN	Françoise	Physiologie	86
M.	MOREAU	Pierre-Arthur	Sciences végétales et fongiques	87
M.	MORGENROTH	Thomas	Droit et Économie pharmaceutique	86
Mme	MUSCHERT	Susanne	Pharmacotechnie industrielle	85
Mme	NIKASINOVIC	Lydia	Toxicologie et Santé publique	86
Mme	PINÇON	Claire	Biomathématiques	85
M.	PIVA	Frank	Biochimie	85
Mme	PLATEL	Anne	Toxicologie et Santé publique	86
M.	POURCET	Benoît	Biochimie	87
M.	RAVAUX	Pierre	Biomathématiques / Innovations pédagogiques	85
Mme	RAVEZ	Séverine	Chimie thérapeutique	86
Mme	RIVIÈRE	Céline	Pharmacognosie	86
M.	ROUMY	Vincent	Pharmacognosie	86
Mme	SEBTI	Yasmine	Biochimie	87

Mme	SINGER	Elisabeth	Bactériologie - Virologie	87
Mme	STANDAERT	Annie	Parasitologie - Biologie animale	87
M.	TAGZIRT	Madjid	Hématologie	87
M.	VILLEMAGNE	Baptiste	Chimie organique	86
M.	WELTI	Stéphane	Sciences végétales et fongiques	87
M.	YOUS	Saïd	Chimie thérapeutique	86
M.	ZITOUNI	Djamel	Biomathématiques	85

Professeurs certifiés

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement
Mme	FAUQUANT	Soline	Anglais
M.	HUGES	Dominique	Anglais
M.	OSTYN	Gaël	Anglais

Professeurs Associés

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
M.	DAO PHAN	Haï Pascal	Chimie thérapeutique	86
M.	DHANANI	Alban	Droit et Économie pharmaceutique	86

Maîtres de Conférences Associés

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
Mme	CUCCHI	Malgorzata	Biomathématiques	85
M.	DUFOSSEZ	François	Biomathématiques	85
M.	FRIMAT	Bruno	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	85
M.	GILLOT	François	Droit et Économie pharmaceutique	86
M.	MASCAUT	Daniel	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	86
M.	MITOUMBA	Fabrice	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	86
M.	PELLETIER	Franck	Droit et Économie pharmaceutique	86

M.	ZANETTI	Sébastien	Biomathématiques	85
----	---------	-----------	------------------	----

Assistants Hospitalo-Universitaire (AHU)

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
Mme	CUVELIER	Élodie	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	81
M.	GRZYCH	Guillaume	Biochimie	82
Mme	LENSKI	Marie	Toxicologie et Santé publique	81
Mme	HENRY	Héloïse	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	80
Mme	MASSE	Morgane	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	81

Attachés Temporaires d'Enseignement et de Recherche (ATER)

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
Mme	GEORGE	Fanny	Bactériologie - Virologie / Immunologie	87
Mme	N'GUESSAN	Cécilia	Parasitologie - Biologie animale	87
M.	RUEZ	Richard	Hématologie	87
M.	SAIED	Tarak	Biophysique - RMN	85
M.	SIEROCKI	Pierre	Chimie bioinorganique	85

Enseignant contractuel

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement
M.	MARTIN MENA	Anthony	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière

Faculté de Pharmacie de Lille

3 Rue du Professeur Laguesse – 59000 Lille

03 20 96 40 40

<https://pharmacie.univ-lille.fr>

**L'Université n'entend donner aucune approbation aux
opinions émises dans les thèses ; celles-ci sont
propres à leurs auteurs.**

Remerciements

Au Docteur Muschert-Florin, Président du jury et directrice de thèse,

Je vous remercie profondément de présider ce jury de thèse et d'avoir accepté d'encadrer mon travail. Merci de m'avoir accordé votre confiance et de me permettre de réaliser un travail du même domaine que ma thèse de recherche. Je vous remercie pour votre patience, pour tous les changements de dernière minute, pour votre disponibilité et votre soutien à chaque problème rencontré.

Au Docteur Hamoudi,

Je vous remercie d'avoir accepté de participer à mon jury de thèse. Je suis également profondément reconnaissant pour l'aide que vous m'avez fournie lors de la recherche du directeur de thèse

Au Docteur Carine Tisé,

Carine, merci beaucoup pour toute ton aide dans le cadre de cette thèse d'exercice. Merci d'avoir revu les premières versions du manuscrit ainsi que de m'avoir soutenu et aidé dans l'élaboration de ce travail. Malgré la charge de travail que demande une thèse de recherche, tu m'as laissé réaliser ma thèse d'exercice. Je t'en remercie sincèrement.

Moim Rodzicom,

Mamo, Tato, nigdy nie będę w stanie Wam wystarczająco podziękować. Bez Was, tego osiągnięcia by nie było.

Mamo, dziękuję za całe Twoje wsparcie podczas tego okresu. Dziękuję że byłaś przy mnie w najtrudniejszych chwilach, za Twoje wysłuchanie i zrozumienie. Dziękuję za każde stawianie się za mną kiedy ogłaszałem że znowu mam egzaminy do powtórzenia i także za ostre słowa które musiałem usłyszeć wtedy kiedy trzeba było stawiać do boju.

Tato, ten tytuł, ta obrona, to wszystko jest możliwe dzięki Tobie. Dziękuję Ci za każdy weekend spędzony ze mną podczas PACES. Za Twoją wytrwałość, wsparcie i srogości co do walki podczas tego piekielnego roku. Dziękuję za każde burrito, pizzę czy spacer który razem robiliśmy w ramach przerwy. Ten tekst jest dowodem że Nam się udało. Jestem Farmaceutą.

À Appolline,

Mon Paczusi, je ne te remercie jamais assez. Je ne sais pas ce que tu as vu en cet étudiant qui n'arrêtait pas de poser des questions en cours et qui finissait le dernier ses TP.

Sache que ces études ont été une des meilleures périodes de ma vie grâce à ta présence dans cette aventure.

Merci pour tout ton soutien, tes notes, les examens blancs corrigés et pour ta compréhension. Je sais, j'étais loin d'être facile à vivre, pourtant tu es restée et tu as fait de moi celui que je suis aujourd'hui.

Mojej Siostrze,

Ola, dziękuję Ci za te wspólnie spędzone lata jako współlokatorzy. Były wzloty i upadki, ale nie mógłbym wymarzyć sobie lepszej współlokatorki. Dziękuję Ci że byłaś ze mną kiedy sięgałem dna czy też podczas COVIDu. Nie zapomnę wspólnych partyjek Doodle lub też robienia zakupów z żelem hydroalcoolique. Będzie mi brakowało tych wspólnych lat.

To my Crazy Godmother,

One day you make me promise to you something. This work is a part of this promise. I hope that I will never fail on it. Godmother thank you that you believe in me, all this work, in part, is thank to you.

À Guillaume,

Merci mon pote pour tout ce que tu as fait pour moi durant toutes ces années d'études. Merci pour les « midi Kebabs » qui ont été la pause sacrée durant la PACES. Merci pour ton écoute, tes conseils et ton aide.

À mes camarades,

Merci pour tous ces moments qu'on a pu partager durant ces années à la Faculté. Merci pour les soirées, les rires et tout ce qui a rendu agréable ces études de pharmacie. Même si nos chemins se sont séparés, je ne vous oublierai jamais. Je souhaite tout particulièrement remercier Charles, Juliette, Quentin, César, Charlotte, Louise et Jules.

Au Docteur Krzysztof Bojanowski,

Krys, merci de m'avoir accueilli pour mon stage de quatrième année. Il s'agissait d'un moment très particulier lors de mes études où j'ai pris le goût à la recherche en biologie. Merci de m'avoir montré qu'on peut s'épanouir dans le métier qu'on fait. J'ai l'espoir, qu'un jour quelqu'un pourra dire la même chose de moi.

Dr. Hab. Barbarze Drogoszewskiej

Bacha, dziękuję za Ci za Twoje wsparcie, cenne rady i pomysły. Zawsze wpadałaś na genialne pomysły które później okazywały się kluczowe dla następnych kroków. Za wszystkie rady i pomoc, podczas tych wszystkich lat studiów, bardzo dziękuję.

Profesor Ewa Słomińska

Pani Ewo, dziękuję za Pani liczne wsparcie podczas całych tych studiów. Czy to lekcje z termodynamiki, czy też staże u Pani w labie, każde z tych spotkań było ważnym elementem do osiągnięcia tego tytułu. Dziękuję, za możliwość pracy u Pani w labie. Był to okres który zaliczam do najbardziej wartościowego z całych lat studiów; czas gdzie mogłem się wiele nauczyć i spróbować moich zdolności naukowy.

Była Pani pierwszą osobą która doceniła moje zdolności i zainteresowanie pracą naukową. Za możliwość pracy w Pani laboratorium, za Pani zrozumienie i pomoc, bardzo dziękuję.

Table des matières

1	<i>Introduction</i>	16
1.1	Les différents ARN du vivant	16
1.1.1	Les Acides Ribonucléiques généralités	16
1.1.2	Les ARN messenger	19
1.1.3	Les ARN de transfert	22
1.1.4	Les ARN ribosomiques	25
1.1.5	Les ARN mitochondriaux	26
1.1.6	Les autres ARN non codants	27
1.2	Les modifications post-transcriptionnelles	29
1.2.1	Les modifications post-transcriptionnelles généralités	29
1.2.2	Les enzymes de modifications généralités	32
2	<i>La modification m¹A en santé humaines</i>	34
2.1	La modification m¹A, généralités	34
2.2	Les enzymes de modifications de m¹A	36
2.2.1	Les généralités	36
2.2.2	Les « witters »	38
2.3	La m¹A en physiologie	42
2.3.1	La m ¹ A et les structures des ARN	43
2.3.2	La m ¹ A et la traduction	44
2.4	La m¹A en pathologie	46
2.4.1	Les m ¹ A et les maladies humaines, généralités	46
2.4.2	La m ¹ A sur les ARNm et les maladies humaines	47
2.4.3	La m ¹ A sur les ARNt et les maladies humaines	48
2.4.4	La m ¹ A sur les autres ARN et les maladies humaines	49
2.4.5	Les enzymes de modifications des m ¹ A et les maladies humaines	50
3	<i>La conclusion</i>	52
4	<i>Bibliographie</i>	54
5	<i>Liste de figures</i>	59

1 Introduction

1.1 Les différents ARN du vivant

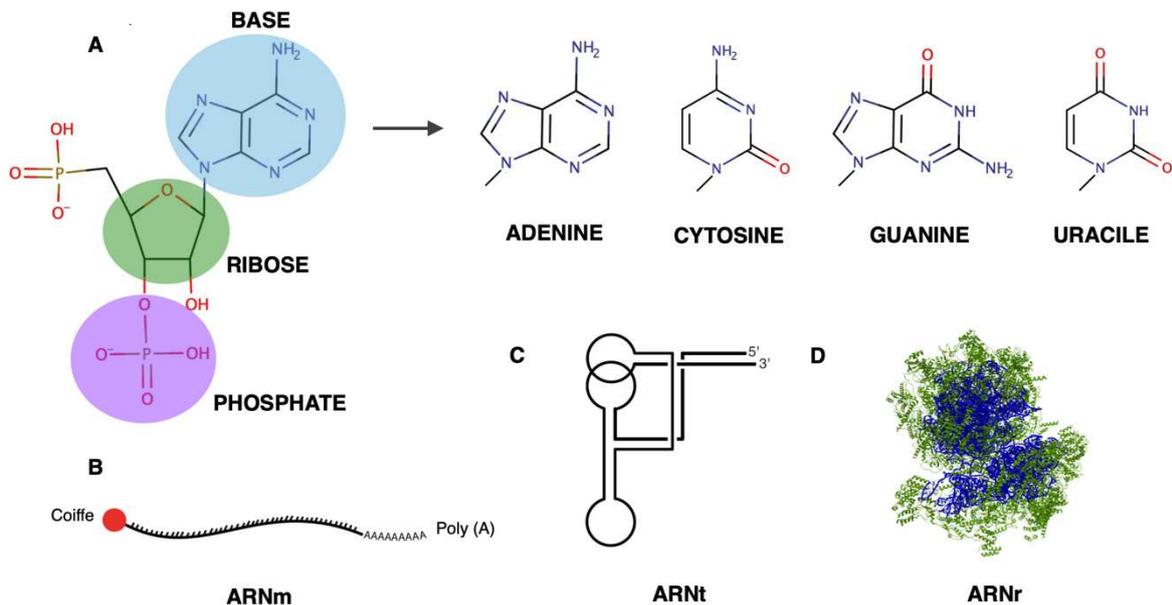


Figure 1 : A) Schéma de la structure d'un acide ribonucléique, la base en bleu, le sucre en vert et le phosphate en violet B) Schéma d'un ARNm C) Schéma d'un ARNt D) Structure de Ribosome mitochondrial avec en bleu les acides nucléiques et en vert les protéines ribosomiques (6NU2)

1.1.1 Les Acides Ribonucléiques généralités

Les Acides Ribonucléiques ou ARN sont des molécules composées de succession de nucléotides. Ces composants se constituent d'une base purique ou pyrimidique, d'un sucre ; le ribose ainsi que d'un acide phosphorique (Fig 1A). Ce dernier relie les nucléotides. 4 types de base sont retrouvés :

- Adénine
- Guanine
- Cytosine
- Uridine

Cette dernière classification sépare en 2 groupes, les nucléotides possédant les bases puriques (Adénine et Guanine) de ceux dont la composition contient les bases pyrimidique (Cytosine et Uracile).

Concernant la structure des ARN on va retrouver un schéma récurrent. On a la base qui va être lié par une liaison osidique au ribose, au niveau de la position 2. De l'autre côté du ribose, au niveau de la position 5' on va trouver la liaison phosphodiester où le phosphate relie les nucléotides entre eux en position 5' d'un côté et 3' de l'autre. De cette manière, on va toujours trouver chez un ARN une extrémité 5' et 3'. Par convention, lorsqu'on va donner une séquence d'un ARN ou encore numéroter les nucléotides composant l'ARN, on va se déplacer de l'extrémité 5' à l'extrémité 3'.

Concernant le sucre, il s'agira toujours d'un ribose. Il s'agit d'un aldopentose, c'est à dire d'un sucre composé de 5 atomes de carbones et d'une fonction aldéhyde. Sa formule brute est $C_5H_{10}O_5$. En raison de la présence d'un carbone asymétrique, on a 2 énantiomères de ribose : le D-ribose et L-ribose. Il s'agit de la distinction de leur pouvoir rotatoire, on distingue le Lévogyre (retrouvé chez L-ribose) et Dextrogyre (retrouvé chez D-ribose). Le ribose observé chez les ARN est un D-ribose.

En termes de structure, les ARN se présentent principalement sous forme de simples brins. Le polymère se replie sur lui-même grâce aux liaisons établies entre les nucléotides le composant.

On trouve des appariements de type Watson-Crick ou encore dit canoniques, qui sont les liaisons hydrogènes formées entre les atomes des bases des nucléotides impliqués dans l'appariement. La plupart du temps les adénines vont être apparier aux uridines, à l'aide de 2 hydrogènes, et les cytosines aux guanines à l'aide de 3 liaisons. Ces appariements seuls suffissent pour former certains domaines structuraux importants pour les ARN (ex : des hélices). En plus de ces interactions fondamentales, au sein d'un ARN, on peut observer d'autres types appariements : les appariements non canoniques. Il s'agit souvent des interactions de longue distance qui vont contribuer à donner une structure plus complexe à la macromolécule en question.

En termes de la nomenclature, on distingue différents niveaux de la structure d'un ARN : la structure primaire, secondaire et tertiaire. La structure primaire est la séquence des nucléotides qui compose l'ARN. La structure secondaire est la structure liée à la présence des appariements établies entre les nucléotides en cas d'absence des interactions tertiaires. La structure tertiaire, quant à elle, est la structure tridimensionnelle prise par l'ARN dû à toutes les interactions présentes.

La structure des ARN est un élément clé pour ses fonctions et les interactions avec d'autres éléments cellulaires qui vont fonctionner sur le modèle de clé/serrure. Selon la fonction de l'ARN, on retrouvera des conformations différentes, souvent caractéristique d'un type de ARN particulier.

1.1.2 La traduction

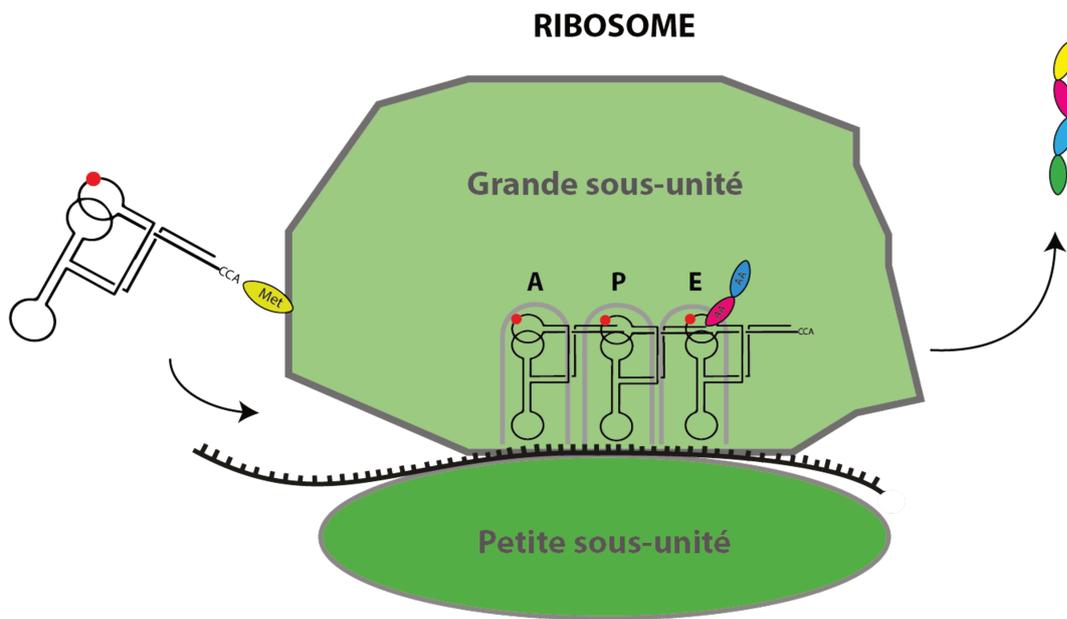


Figure 2 : Schéma récapitulatif de la traduction

La traduction est un processus cellulaire de synthèse des protéines auquel participent des nombreux ARN du vivant. Il s'agit d'un processus essentiel à chaque organisme du vivant.

Dans ce processus, l'action se déroule au niveau des ribosomes, des organites composés d'ARN ribosomiques (ARNr) et de protéines. Les ribosomes se composent de deux sous-unités distinctes, une grande et une petite.(1)

En plus de cette machinerie qui est le ribosome, d'autres éléments clés s'ajoute, tel que les ARN de transfert, qui transportent les acides aminés, ainsi que l'ARN messenger qui sont porteur de message codant pour les protéines à produire. La séquence de l'ARNm peut être découpée en codons, à commencer par le codon d'initiation de la traduction, AUG.

Chez les eucaryotes, les ribosomes peuvent être libres dans le cytoplasme ou attachés au réticulum endoplasmique (ce qui forme le réticulum endoplasmique granuleux) ou à la membrane nucléaire. La traduction a lieu dans le cytoplasme à partir d'un ARNm mature. Lorsque plusieurs ribosomes traduisent le même ARNm, on parle de polysome.(1)

Le processus de la traduction peut être résumé en 3 grandes étapes(1) :

-Étape d'initiation : Cette phase consiste à reconnaître le codon initiateur de la traduction (AUG) au niveau du ARNm par la petite sous-unité du ribosome et à former un ribosome complet en attachant la grande sous-unité. Le codon d'initiation de la traduction code pour l'acide aminé méthionine. Des facteurs protéiques, appelés facteurs d'initiation de la traduction, interviennent à cette étape.

-Étape d'élongation : À cette étape, le ribosome se déplace le long de l'ARNm, ajoutant séquentiellement les acides aminés à la protéine en cours de biosynthèse. Après avoir lu le codon d'initiation, le ribosome se décale exactement de trois nucléotides et libère un site pour un nouvel ARNt chargé. Les ARNt se lient aux codons de l'ARNm en utilisant leurs séquences anticodon, chacun transportant un acide aminé spécifique. La grande sous-unité du ribosome possède trois sites d'interaction pour les ARNt : le site A (pour l'ARNt en attente d'être lié à la chaîne polypeptidique), le site P (pour l'ARNt lié à la chaîne polypeptidique en cours de formation) et le site E (permettant la libération de l'ARNt dépourvu de son acide aminé). Les acides aminés sont ajoutés un par un à la chaîne par des liaisons peptidiques grâce à une activité peptidyl-transférase du ribosome.

-Étape d'arrêt ou de terminaison : La fin de la traduction est signalée par un codon STOP (UAG, UGA ou UAA) dans l'ARNm. Aucun ARNt ne correspond à ces codons, ce qui arrête la translocation du ribosome. La protéine synthétisée est libérée, et les deux sous-unités du ribosome se séparent.

1.1.3 Les ARN messager

Les ANR messagers, ou l'ARNm, sont les acides ribonucléiques simple brin qui servent de messenger entre l'ADN et le ribosome (Fig 1B)

Cet acide ribonucléique prend naissance au niveau de l'ADN, où il est synthétisé par l'ARN polymérase sous forme d'un précurseur. Avant de quitter le noyau, la molécule doit mûrir. Le processus de maturation comprend notamment l'épissage des séquences d'intron, acquisition d'une queue poly A en extrémité 3' et des modifications en extrémité 5' (notamment m⁷G, méthylguanosine). La décoration des extrémités a un rôle protecteur pour l'ARNm. Ces différents éléments structuraux seront reconnus par des protéines comme cap binding protein (CBP) et poly (A) binding protéin (PAB) qui vont le protéger des exonucléases. (2). Une fois mûri, l'ARNm passe dans le cytoplasme où il est reconnu et décodé par le ribosome.

En termes de sa structure primaire, l'ARN messager va se composer de codons. Un codon est un enchaînement de 3 nucléotides qui vont coder pour un acide aminé. En effet, cet ensemble de nucléotide sera complémentaire à un anticodon porté par un ARN de transfert. Au sein de l'ARNm, les codons pourront se composer de quatre types de nucléotides : adénosine, cytosine, guanine et uridine et non pas de la thymine. On trouvera aussi, de manière récurrente un codon start (AUG) et des codons stop (UGA, UAG ou UAA).

1.1.4 Les ARN de transfert

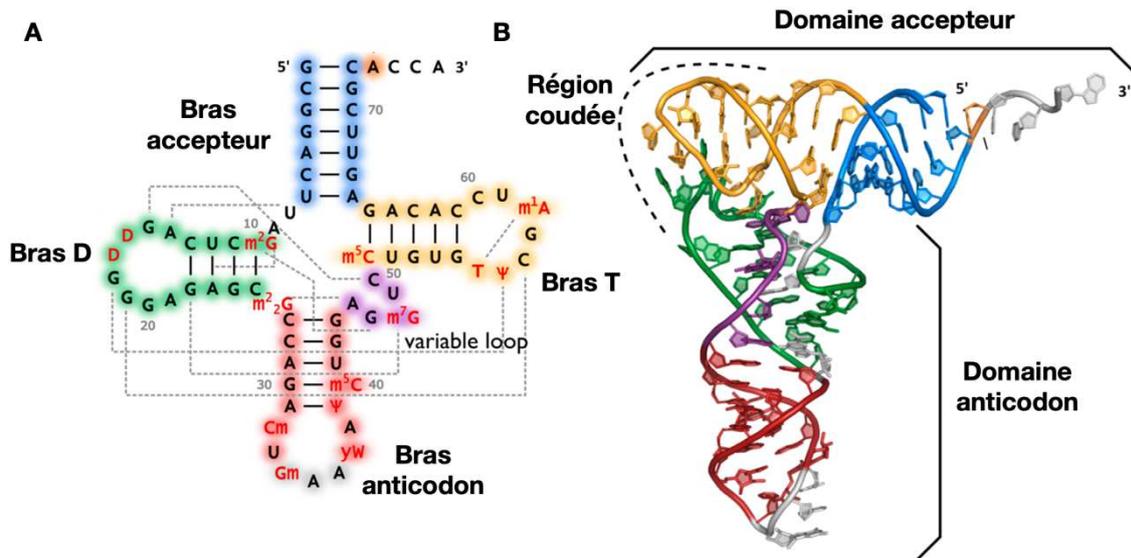


Figure 3 : A) Schéma de la structure secondaire d'un ARNt B) Schéma de la structure tertiaire d'un ARNt (3)

Les acides ribonucléiques de transfert ou ARNt cytoplasmiques sont des acides ribonucléiques responsables du transport des acides aminés vers le ribosome.

Au niveau du ribosome, les ARNt vont avoir deux rôles ; amener l'acide aminé au ribosome ainsi que d'assurer la correspondance entre les codons de l'ARNm et les acides aminés spécifiques lors de la traduction.

La synthèse et la maturation d'un ARNt est processus complexe. Elle commence par l'expression du gène codant pour ce ARNt. On obtient un précurseur qui doit être mûré pour être fonctionnel. Le processus de maturation inclue l'étape maturation des extrémités 3' et 5', l'épissage de l'intron (si le précurseur d'ARNt en contient), ajout de la séquence CCA à l'extrémité 3' qui permet de fixer l'acide aminé à l'ARNt et l'incorporations des modifications post-transcriptionnelles sur certains nucléotides. (3,4)

Chaque ARNt est spécifique à un acide aminé particulier, et il existe au moins un ARNt correspondant à chaque acide aminé. L'ARNt contient un triplet de nucléotides appelé anticodon, qui est complémentaire à un codon spécifique de l'ARNm.

En termes de structure, les ARNt sont composés de 70 à 90 nucléotides. Malgré leur importante diversité en termes de séquences, ils vont présenter, la plupart du temps une structure secondaire en forme de trèfle et une structure tertiaire en forme de L inversé. (3)

La forme secondaire comprend plusieurs régions caractéristiques :

- Le bras accepteur : une hélice regroupant l'extrémité 5' et l'extrémité 3' de l'ARNt. Ce dernier étant la partie d'ARNt où l'acide aminé correspondant se lie, grâce à une réaction d'estérification, catalysée par une enzyme appelée aminoacyl-ARNt synthétase.
- Le bras anticodon : C'est une région de l'ARNt se composant d'une hélice se terminant par une boucle qui contient l'anticodon.
- Le bras T et le bras D : sont des hélices se trouvant entre les bras anticodons et accepteur se terminant par une boucle d'un côté du bras.
- La boucle variable : une séquence plus ou moins courte selon les ARNt présentant des séquences variables se trouvant entre le bras T et le bras anticodon.

La structure secondaire est repliée grâce aux interactions tertiaires établies principalement entre le bras D et T dont la forme de L inversé en résulte. Au niveau de cette structure tertiaire, on trouvera alors le domaine accepteur, région coudée et le domaine anticodon. Cette forme d'ARNt est critique pour ses interactions avec les protéines et les autres ARN.

À ces aspects structuraux, s'ajoutent les modifications post-transcriptionnelles qui seront incorporées à différentes étapes de la maturation. L'ARNt sont des acides ribonucléiques possédant la plus grande diversité de modifications post-transcriptionnelles. Ces modifications vont jouer des rôles importants au niveau de la structure. Les modifications seront capables de perturber des interactions entre différents nucléotides, forçant un réarrangement spatiale favorable à la structure secondaire en trèfle, ou de créer des nouvelles interactions nécessaires à la structure en L. Les modifications vont également procurer, selon la situation, une flexibilité ou une rigidité à certains domaines, de cette manière stabilisant la structure des ARNt. (3)

Chez les ARNt, les modifications post-transcriptionnelles vont se concentrer dans deux régions : la boucle anticodon et la région d'interaction entre le bras D et T.

Au niveau de la région d'interaction entre le bras D et T, on trouvera principalement les modifications simples qui vont stabiliser la structure tertiaire et secondaire. Au niveau de la région anticodon, on trouvera principalement les modifications complexes. Ces dernières vont avoir deux rôles. D'un côté ils vont participer à l'interaction entre le codon et anticodon,

en rendant la reconnaissance du codant par ARNt plus spécifique et de l'autre côté elles seront responsables de la stabilisation de la boucle anticodon en « forme de U », une structure favorable à la traduction. (3)

1.1.5 Les ARN ribosomiques

L'ARN ribosomique (ARNr) sont un type d'acide ribonucléiques qui compose le ribosome (Fig 1D). Ces acides nucléiques sont essentiels à la structure de cette machinerie et à sa fonction qui est la production des protéines.

Il existe plusieurs types d'ARNr présents dans les cellules, chacun associé à une sous-unité spécifique des ribosomes. Chez les eucaryotes, on trouve l'ARNr 5S, 5.8S, et 28S, au niveau de la grande sous-unité et l'ARN 18s au niveau de la petite sous-unité.

L'ARNr est transcrit à partir du gène codant pour celui-ci par l'ARN polymérase I. Un précurseur de l'ARN est formé, le pre-ARNr. Il doit maturer avant d'être transporter dans le cytosol et accomplir sa fonction. Le pre-ARNr va se voir incorporé des modifications post-transcriptionnelles qui seront importantes pour acquérir la structure adéquate, il se verra également éliminer les séquences internes transposables ainsi que s'assembler avec des protéines ribosomiques pour former des sous-unités ribosomiques.

Une fois mature, les différentes sous-unités ribosomiques sont exportées hors du noyau vers le cytoplasme, où ils participent à la traduction de l'ARNm en protéines(5).

En termes de structures, au sein des ARNr, on retrouvera une grande diversité de tailles, allant de 160 nucléotides de long à 4700. Leur structure variant d'un ARN à un autre, sera tout de même très stable, sûrement dû à l'importance qu'elle joue dans la fonction au sein du ribosome. La forme tridimensionnelle de l'ARNr étant construite par les interactions entre les différents nucléotides, est très stabilisée par les protéines environnantes. Ces protéines sont essentielles pour la stabilité, l'assemblage et la fonction des ribosomes et des ARNr.

En termes de fonction, selon la nature et la localisation dans le ribosome, le rôle de l'ARNr sera différent. L'ARNr 18S se trouvera dans la petite-sous unité et sera impliqué dans la lecture de l'ARNm pendant la traduction. L'ARNr 5.8S se trouvant dans la grande sous-unité du ribosome a le rôle de liaison à la région comportant l'ARNr 18S et 28S. L'ARNr 28s est un composant de grande sous-unité ribosomique et participe à la catalyse des liaisons peptidiques, la liaison établie entre deux acides aminés.

1.1.6 Les ARN mitochondriaux

Les ARN mitochondriaux sont des ARN présents dans les mitochondries, les organites cellulaires responsables de la production d'énergie dans la plupart des cellules eucaryotes. Les mitochondries possèdent leur propre génome mitochondrial distinct de l'ADN nucléaire de la cellule hôte, et ce génome mitochondrial code pour certains ARN spécifiques.

On retrouve des équivalents entre les ARN issu du génome nucléaire et les ARN issu du génome mitochondrial.

On a :

- ARNt mitochondriaux (mt-ARNt) : les acides ribonucléiques qui sont responsables de l'approvisionnement en acides aminés nécessaires à la synthèse des protéines mitochondriales.

- ARN ribosomiques mitochondriaux (mt-ARNr) : qui sont des composants des ribosomes mitochondriaux, responsables de la traduction de l'ARNm mitochondrial en protéines mitochondriales.

- ARN messagers mitochondriaux (mt-ARNm) : des acides ribonucléiques qui sont transcrits à partir du génome mitochondrial et codent pour certaines protéines nécessaires au fonctionnement de la mitochondrie.

1.1.7 Les autres ARN non codants

Un ARN non codant, fait référence à un type d'ARN qui n'est pas traduit en protéines, contrairement aux ARN messagers. Ils remplissent diverses fonctions importantes dans la cellule et sont devenus un domaine d'étude très actif en biologie moléculaire et en génétique.

Parmi eux on retrouve, par définition, les ARN de transferts et les ARN ribosomiaux, présenté précédemment. Tout de même, cette catégorie vaste et en constante expansion, contient également les petits ARN nucléaires, les ARN interférant ou encore les ARN long non codant.

Les ARN petits nucléaires (snARN) sont des acides ribonucléiques impliqués dans le processus d'épissage de l'ARN pré-messager. Ils aident à éliminer les introns (séquences non codantes) de l'ARN pré-messager et à relier les exons (séquences codantes) pour former l'ARNm mature.

Les micro-ARN (miARN) sont de courts ARN non codants qui jouent un rôle important dans la régulation post-transcriptionnelle de l'expression des gènes.

Les ARN interférents (ARNi) sont quant à eux des molécules qui régulent l'expression des gènes en bloquant la traduction de l'ARNm ou en induisant sa dégradation. Ils jouent un rôle crucial dans la régulation de l'expression génique et la défense antivirale.

Les ARN long non codant (lncARN) sont de longues séquences d'ARN qui jouent un rôle dans la régulation de l'expression génique, l'organisation du génome et d'autres processus cellulaires.

Ces exemples ne représentent qu'une petite partie des nombreux types d'ARN non codants identifiés jusqu'à présent.

Les ARN non codant présentent des structures particulières qui contribuent à leur fonction et à leur stabilité.

On y trouve :

- Motifs en épingle à cheveux, se forment lorsque deux régions complémentaires de l'ARN s'apparient, formant une structure en double brin avec une boucle à l'extrémité. On retrouve ce type de structures souvent chez les ARN interférant
- Structures pseudonœuds, sont des structures qui se forment lorsque des régions éloignées de la séquence d'ARN s'apparient pour former des structures en boucle complexes. On y en trouve chez les ARNInc.
- Les tiges boucles : cette structure en forme de trombone est stabilisée par des appariements de bases complémentaires au sein de la molécule d'ARN.
- Structures G-quadruplex, qui se forment lorsque les guanines s'apparient entre elles, formant des empilements en forme de tige avec des boucles de liaison.

En termes de taille, on retrouvera une grande diversité allant de quelques dizaines des nucléotides à plusieurs milliers. On a des miARN qui auront généralement une taille d'environ 21 à 25 nucléotides et les ARNInc qui seront composés de plus de 200 nucléotides. D'autres encore comme les snARN peuvent avoir des longueurs allant de 60 nucléotides à 300 nucléotides.

Ces modifications chimiques des ARN peuvent être classées en deux catégories : les modifications simples et les modifications complexes. Les modifications simples résultent d'une seule réaction chimique nécessaire à leur incorporation, comme m^1A , m^6A , m^5C et m^2G . En effet, ces dernières impliquent l'ajout d'un groupement méthyle par une méthyltransférase qui catalyse la réaction de méthylation. (9) En fait, la majorité des modifications observées sur les ARN appartiennent à cette catégorie. (8,9) En revanche, les modifications complexes requièrent l'intervention de plusieurs enzymes pour leur réalisation. Par exemple, la m^5U est le résultat de l'action de plusieurs enzymes de modification. (9)

Chaque type d'ARN peut être spécifiquement marqué par certaines modifications. Par exemple, la queuosine est présente exclusivement sur les ARN de transfert, tandis que d'autres modifications, comme la 2'-méthylguanosine, se retrouvent sur différents types d'ARN tels que les ARNr, les ARNsn et les ARNt. (10)

Il est important de noter que la fréquence des modifications post-transcriptionnelles varie considérablement. Certaines, comme la m^6A , sont incorporées très fréquemment, tandis que d'autres, telles que la m^1A , sont plus rares. Cette variabilité s'observe également dans leur distribution au sein des différents règnes du vivant. Certaines modifications sont universellement présentes chez tous les êtres vivants, tandis que d'autres sont spécifiques à certains groupes. Par exemple, la modification $m^3\Psi$ a été découverte uniquement chez les bactéries, tandis que d'autres, comme la modification m^6A , sont présentes dans tous les règnes du vivant. (9,10)

Au sein de la cellule, les modifications post-transcriptionnelles jouent un rôle fondamental dans la régulation de l'expression génique et dans la diversification des fonctions des ARN. Grâce à ces altérations chimiques, les ARN peuvent acquérir de nouvelles caractéristiques et s'adapter aux besoins spécifiques des cellules.

L'une des fonctions majeures des modifications post-transcriptionnelles est de réguler la stabilité et la dégradation des ARN. (10–12) Ces modifications peuvent influencer la résistance de l'ARN à la dégradation enzymatique, permettant ainsi de prolonger ou de limiter sa durée de vie dans la cellule.

En outre, les modifications post-transcriptionnelles jouent un rôle essentiel dans le repliement correct des ARN. En augmentant la stabilité des structures des ARNt, elles favorisent la bonne formation des boucles et des tiges caractéristiques de ces molécules, essentielles pour leur fonctionnement lors de la traduction des protéines. (10)

Par ailleurs, ces modifications influencent la régulation de l'expression des gènes en participant à la création de motifs particuliers au niveau de la structure des ARNm. Ces motifs peuvent être reconnus par des protéines spécifiques, appelées "readers", qui vont activer ou réprimer la traduction, la dégradation ou d'autres processus biologiques associés à l'ARN. (12)

Les modifications chimiques des ARN participent également à la régulation de mécanismes biologiques tels que l'épissage des introns. En modifiant les séquences d'épissage, elles peuvent influencer la diversité des ARN messagers produits à partir d'un même gène et ainsi réguler la synthèse de différentes protéines. (12)

1.2.2 Les enzymes de modifications généralités

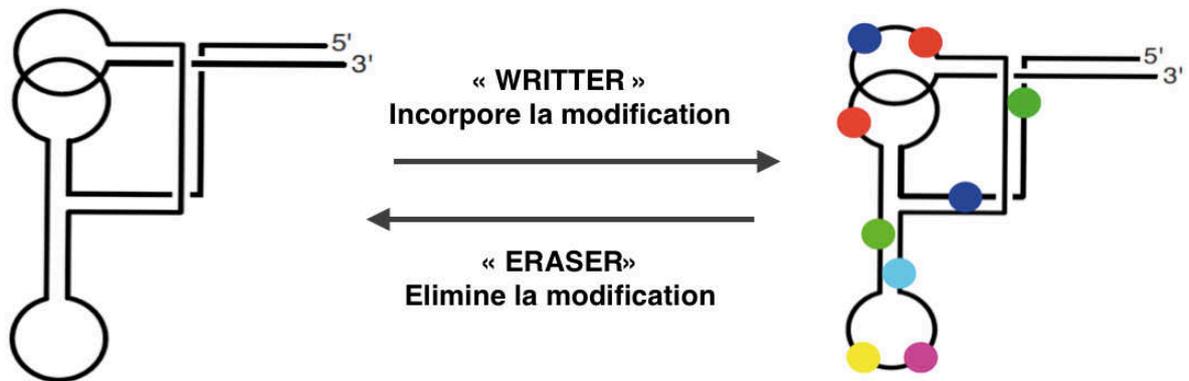


Figure 5 : Schéma des fonctions des enzymes de modifications

Les enzymes de modifications sont des enzymes catalysant les réactions chimiques responsable de l'incorporation ou élimination des modifications post-transcriptionnelles des ARN ou des enzymes capable de reconnaître ces modifications chimiques des acides nucléiques.

Ces enzymes de modifications jouent un rôle essentiel dans les processus biologiques en effectuant des changements chimiques et ces modifications sont impliquées dans diverses fonctions cellulaires et physiologiques.

Les enzymes de modifications des ARN se répartissent en deux catégories principales : celles qui sont responsables de l'incorporation de la modification et celles qui ont le rôle d'élimination. Dans cette dernière catégorie, on distingue les "writers", qui sont responsables de l'ajout des modifications, et les "erasers", qui jouent un rôle dans leur retrait (Fig 5).

Ces enzymes de modifications des ARN ne sont pas toutes identiques dans leur spécificité et leur activité. Certaines enzymes reconnaissent la totalité de la structure de l'ARN, tandis que d'autres sont sensibles à une partie spécifique de la molécule. De plus, elles peuvent être impliquées dans différents processus biologiques et être spécifiques à certains types d'ARN. Certaines enzymes peuvent incorporer la même modification sur plusieurs positions de l'ARN comme Dus chez *Saccharomyces cerevisiae* qui incorpore les pseudouridines en position 16 et 17 de certains ARNt.

D'autres enzymes de modifications incorporent la modification qu'à une seule position. Par exemple, TrmK de *Bacillus subtilis* qui incorpore la m¹A en position 22 de certain ARNt. Aussi, certaines enzymes de modifications vont être spécifique d'un type d'ARN comme l'enzyme Trm4 de *Saccharomyces cerevisiae* qui méthyle que les ARNt. D'autres, peuvent modifier plusieurs types d'ARN comme METTL2 d'*Homo sapiens* qui méthyle les ARNm et les ARNt. (13)

Dans le domaine thérapeutique, les enzymes de modifications des ARN suscitent un intérêt croissant car elles peuvent être envisagées comme des cibles thérapeutiques potentielles pour le traitement de diverses pathologies. Notamment, dans le cas du cancer d'estomac, les enzymes de modifications des ARN m⁶A ont été étudiées en raison de leur implication dans la migration, le développement et l'invasion du cancer. (14)

De plus, les enzymes interagissant avec les modifications post-transcriptionnelles peuvent être des cibles thérapeutiques intéressants afin d'augmenter l'efficacité de certaines thérapies. Par exemple : des expériences *in vitro* ont montré qu'en bloquant les enzymes interagissant avec la m⁶A, YTHDF1, il a été possible d'augmenter l'efficacité de l'immunothérapie anti-PD-L1. (14)

De plus, les études sur les enzymes de modifications des ARN ont mis en évidence leur rôle dans diverses pathologies, allant des troubles neurologiques et du cancer à l'obésité, l'infertilité et les pathologies du nouveau-né. (15) Leur compréhension approfondie pourrait ouvrir de nouvelles perspectives thérapeutiques pour le traitement de ces affections. La manipulation ciblée de ces enzymes représente un domaine de recherche prometteur pour le développement de thérapies plus précises et efficaces dans le futur.

2 La modification m¹A en santé humaines

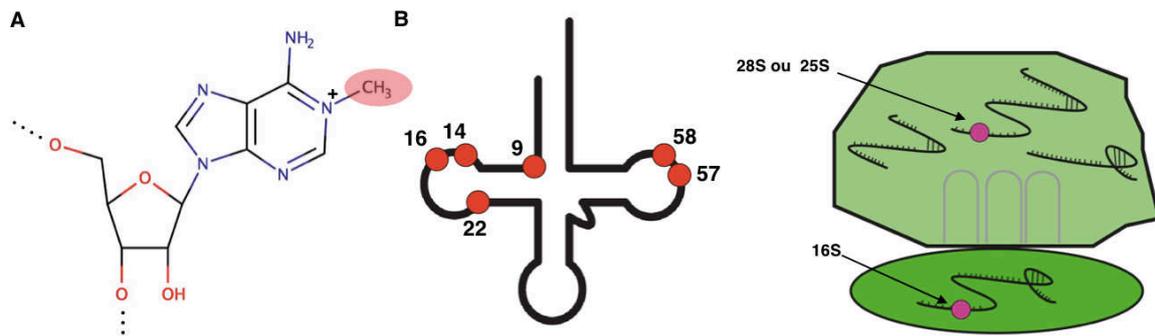


Figure 6 : A) Schéma de la modification m¹A B) Schéma d'ARNt avec les positions de m¹A en rouge au niveau des ARNt.

2.1 La modification m¹A, généralités

La modification post-transcriptionnelle m¹A, également connue sous le nom de méthyle-1-adénosine, est une modification chimique post-transcriptionnelle de l'ARN impliquant la méthylation de l'atome d'azote N1 de l'adénosine, découverte en 1966 chez la levure. (16) L'adénosine est constituée de cinq atomes de carbone, cinq atomes d'azote et sept atomes d'hydrogène, et lorsqu'une méthylation se produit sur l'azote en position 1 de sa base, elle donne naissance à la modification m¹A. Cela contraste avec d'autres modifications telles que la m⁶A, où la méthylation se produit sur l'azote en position 6 de l'adénosine. Tout de même, la méthylation d'une adénosine peut avoir lieu sur tous les atomes d'azote de la base de ce nucléotide ainsi que sur le groupement 2'OH de ribose et les carbones C2 et C8 de l'adénosine. (10)

La m¹A est présente dans divers ARN, notamment les ARN de transfert (ARNt), les ARN ribosomiques (ARNr) et les ARN messagers (ARNm). Plus précisément, on la retrouve aux positions 9, 14, 16, 22, 57 et 58 dans différents ARNt. Les positions 9, 16 et 58 sont également présentes dans les ARNt mitochondriaux. (10) La modification en position 58 est la plus répandue et se trouve chez presque tous les êtres vivants, tandis que d'autres positions peuvent être spécifiques à certains organismes. (17) Par exemple, la position 22 n'est présente que chez les bactéries. (10,13)

Très peu est connu sur la modification m¹A en position 14 sur les ARNt. (10)

Chez les ARNr, on trouve la m^1A dans l'ARNr 16S bactérien et mitochondrial, chez la levure sur les ARNr 25S et sur le ARNr 28S humain et la souris. (17)

Également, une position, la m^1A_{57} a été identifiée dans les archées, mais elle n'existe que temporairement car elle se transforme ensuite en 1-méthylinosine (m^1I) par désamination hydrolytique. (10) Lors de cette réaction, la molécule d'eau va attaquer le carbone de l'adénosine et provoquer la libération d'un groupement d'ammoniac et la formation d'hypoxantine. De cette manière, on a l'adénosine qui devient une inosine et est capable de s'apparier avec une cytosine, au lieu d'une uridine. (18)

La modification m^1A peut également devenir une m^6A . En conditions alcalines, grâce aux réactions de réarrangement de Dimroth, on a une translocation entre le l'azote 1 de l'adénosine avec celui porté par le carbone 6.(19,20)

La fréquence de la modification m^1A varie selon le type d'ARN, étant plus élevée dans les ARNt. On estime que le taux de m^1A dans les cellules mammifères se situe entre 0,02 % et 0,16 % des tissus mammifères. (17)

Les fonctions de la m^1A sont diverses, elle affecte la topologie locale et globale des ARN et leur interaction avec les protéines. La m^1A peut également conférer une charge positive à la nucléobase sous des conditions physiologiques. (11,21) En effet, l'incorporation du méthyle va faire diminuer le pKa de la base nucléique ce qui provoquera apparition de la charge, à pH physiologique, qui jouera un rôle important dans la fonction de la modification. (22)

2.2 Les enzymes de modifications de m¹A

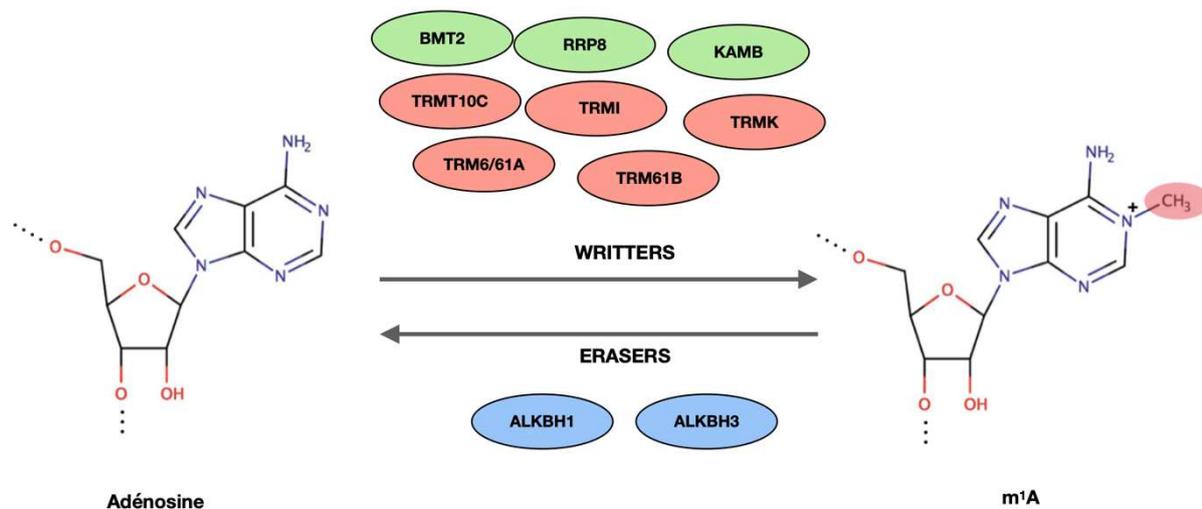


Figure 7 : Schéma récapitulatifs des « writers » responsables de l'incorporation de la modification post-transcriptionnelle m¹A, en vert sur les ARNr, en rouge sur les ARNt ainsi que des « erasers » en bleu

2.2.1 Les généralités

Les enzymes de modifications des m¹A jouent un rôle fondamental dans l'incorporation et la suppression de la modification m¹A au niveau des ARN. Ces enzymes sont regroupées en différentes catégories :

- les "writers", les enzymes responsables de l'ajout de la modification m¹A au niveau de l'ARN cible
- les "erasers", les enzymes retirent la modification des ARN la portant

Parmi les "writers", on compte Trmt10C, TrmI, le complexe Trm6/Trm61A, Trmt61B, TrmK, KamB, NpmA, Rrp8 et BMT2.(13) Ils sont chargés d'incorporer la modification m¹A sur les ARNt, ARNr ou ARNm. De l'autre côté, les enzymes ALKBH1 et ALKBH3, ont pour fonction de retirer la modification m¹A des ARN.(23) (Fig 7)

Les enzymes responsables de la méthylation des adénosines sont classées en deux grandes superfamilles : SPOUT et RFM. La superfamille SPOUT est impliquée dans la méthylation des ARN de transfert et des ARN ribosomiques dans tous les domaines de la vie. Chaque superfamille possède un repliement caractéristique : la superfamille SPOUT comporte deux repliements protéiques distincts, donnant lieu à deux sous-

types, tandis que la superfamille RFM présente un repliement unique appelé motif Rossmann-fold.(24)

Les enzymes de la superfamille RFM interagissent avec des cofacteurs tels que la S-adénosylméthionine (SAM) ou le Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate (NADPH), qui contiennent de l'adénosine. Au sein de nombreuses enzymes de la superfamille SPOUT, un domaine de liaison aux acides nucléiques est fréquemment observé. Les enzymes de la famille RFM sont principalement monomériques, bien que certaines puissent adopter des formes dimériques, trimériques ou tétramériques.(24)

Malgré les avancées, toutes les méthyltransférases n'ont pas encore été caractérisées. Par exemple, l'enzyme responsable de la modification m^1A_{14} demeure inconnue. De plus, l'enzyme chargée de l'incorporation de la m^1A_{22} a uniquement été identifiée chez les bactéries. Parmi les modifications les plus étudiées, on trouve celles responsable de l'incorporation de la modification à des positions 58 et 9.(24)

Certaines méthyltransférases sont capables de catalyser à la fois la m^1A et la m^1G , tandis que d'autres ne ciblent que l'une de ces modifications.(24)

2.2.2 Les « witters »

2.2.2.1 Trm10C

EC: 2.1.1.218

L'enzyme Trmt10C, également connue sous les noms tRNA m¹A₉ methyltransferase est l'enzyme qui ajoute des modifications m¹A et parfois m¹G aux ARN.(13,25,26) Elle incorpore la modification m¹A à la position 9 des ARNt chez *Homo sapiens* et sur mt-ARNm de ND5.(26,27) Elle appartient à la sous-famille TRMT10 et à la super-famille SPOUT. Elle est composée de 403 acides aminés chez l'humain.(26)

Trmt10C est qu'active en présence de SDR5C1. (28,29) Ensemble, les enzymes forme un complexe qui sera la plateforme pour la maturation des ARNt mitochondriaux humains. Le complexe va stabiliser le précurseur de mt-ARNt qui se verra maturer les extrémités 5' et 3' par la MRPP3 (RNase P), ELAC2 (RNase Z) et la TRNT1 (ajout de 3'CCA). (30)

2.2.2.2 Trml

EC 2.1.1.220

Trml est une enzyme qui incorpore les modifications m¹A et m¹I aux ARNt en position 58 et 57 chez différentes espèces, notamment *Pyrococcus abyss*, *Thermus thermophilus* et *Mycobacterium tuberculosis*.(13,26) La modification m¹A en position 57 est ensuite convertie en modification m¹I par déamination hydrolytique. Chez la levure, Trml forme un tétramère composé de deux types de sous-unités, Gcd14p et Gcd10p alors que chez *Thermus thermophilus* l'enzyme est un homotétramère. (31) De plus, il a été possible de déterminer que chez *T.thermophilus*, cette enzyme joue un rôle crucial dans la croissance cellulaire et la survie à des températures élevées.(32)

Trm1 appartient à la super famille des méthyltransférases de type Rossman.(10) Ses activités de méthyltransférase m¹A₅₈ sont essentielles pour maintenir la structure et la fonction des ARNt.

2.2.2.3 Trm6/Trm61A

TRM6 : EC 2.1.1.220 TRM61A : EC 2.1.1.220

Le complexe Trm6/Trm61A est un autre acteur important dans l'incorporation des modifications m¹A. Ce complexe incorpore la modification m¹A sur les ARNt cytoplasmiques en position 58 chez diverses espèces, y compris les eucaryotes et les bactéries.(10,13,26) Chez la levure, le complexe Trm6/Trm61A est essentiel pour l'incorporation de la modification m¹A sur l'ARNt initiateur, qui est crucial pour la traduction des protéines. (33,34) Trm61A et Trm6 appartient à la super famille de méthyltransférases de type Rossman.(33)

2.2.2.4 Trm61B

EC 2.1.1.220

L'enzyme Trm61B, localisée dans la matrice mitochondriale, incorpore la modification m¹A en position 58 sur les ARNt mitochondriaux, en position 496 sur les mt-ARNr. (13,26) Il a été aussi proposé qu'il serait responsable de l'incorporation de la m¹A₁₆ sur le mt-ARNt^{Arg}. (35) Cette enzyme se compose de 477 acides aminés chez l'*homo sapiens* et joue un rôle clé dans la structure et la fonction des ribosomes mitochondriaux.(36,37)

2.2.2.5 TrmK

EC 2.1.1.217

TrmK est une enzyme qui ajoute la modification m¹A à la position 22 des ARNt. Cette enzyme est présente chez certaines bactéries telles que *Bacillus subtilis*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aerius*, *Streptococcus pneumoniae* et *Vibrio cholerae*. TrmK est une enzyme qui contribue à la stabilité et à la fonction des ARNt.(13,26)

2.2.2.6 Méthyltransferases des ARNr

KamB : EC 2.1.1.180 Rrp8 : EC 2.1.1.287 BMT2 : EC 2.1.1.286

KamB, également connue sous le nom d'Adénine 1408-N1 méthyltransférase des ARNr 16S, ajoute la modification m¹A à la position 1408 des ARNr 16S. (13,26) Cette modification confère une résistance à certains antibiotiques de la classe des aminoglycosides, tels que la streptomycine et la gentamicine.(38)

Les enzymes Rrp8 et BMT2 incorporent la modification m¹A à des positions spécifiques des ARNr 25S. Rrp8 est impliquée dans la biogenèse des ribosomes et la régulation de la longueur des télomères. BMT2 est une enzyme localisée dans le noyau et modifie des ARNr 25S.(39–41)

2.2.2.7 Les « Erasers »

Les déméthylases, les enzymes responsables de la déméthylation du méthyle en position 1 des adénosines au niveau des ARN, appelées aussi les « erasers » appartiennent toutes les deux à la famille AlkB. Chez l'homme, nous trouvons deux enzymes : l'ALKBH1 et l'ALKBH3.(23)

L'ALKBH1 est une enzyme dont le rôle est d'éliminer la modification m¹A₅₈ des ARNt.(42) Chez *Homo sapiens*, l'ALKBH1 est composée de 389 acides nucléiques. (26) Elle est à la fois capable de catalyser une réaction de déméthylation au niveau de l'ADN que l'ARN, en déméthylant les modifications m¹A et m³C (les 3-40

méthylcytosines). (43) Il est possible que l'ALKBH1 déméthyle les ARNt^{Met} et les ARNt^{Met}, contribuant ainsi à la déstabilisation de leur structure et participant à la régulation de la traduction des protéines. Cependant, des études plus approfondies sont nécessaires. (42)

De plus, il convient de noter que l'activité de déméthylation de l'ALKBH1 sur les modifications m⁶A a été signalé mais n'a pas encore été confirmée in vivo. (26)

En termes de localisation au niveau cellulaire, cette enzyme se trouve à la fois dans les mitochondries et le cytoplasme. (43,44)

L'ALKBH1 élimine principalement la modification m¹A₅₈ au niveau des ARNt mais joue également un rôle dans la formation de la modification complexe f⁵C₃₄ en catalysant une réaction d'oxydation, transformant ainsi la modification m⁵C₃₄ (incorporée par l'enzyme NSUN3) des ARNt mitochondriaux en modification f⁵C₃₄. Selon la localisation, l'enzyme va catalyser différentes réactions. Cependant, sa fonction principale demeure la déméthylation. (44)

En ce qui concerne l'ALKBH3, "Alpha-ketoglutarate-dependent dioxygenase alkB homolog 3", c'est une enzyme qui est capable aussi de déméthyle à la fois les ARN et l'ADN. (45,46) Cette enzyme avec une forte affinité pour les polymères d'acides nucléiques à simple brin, se trouve principalement dans le noyau cellulaire et, dans une moindre mesure, dans le cytoplasme. (46)

L'ALKBH3 est responsable de la réparation des lésions au niveau de l'ADN en déméthylant les modifications m¹A et m³C. (46) Elle nécessite le fer Fe²⁺ et le 2-oxoglutarate pour fonctionner, comme ALKBH1. (43,45,46) Il a été suggéré par des études que l'ALKBH3 pourrait réaliser une déméthylation au niveau de l'ARNm. (10,47) Tout de même, d'autres études sont nécessaires pour la confirmation

2.3 La m¹A en physiologie

Très peu d'études ont déterminé le rôle précis de la modification m¹A au niveau des cellules humaines. Tout de même, il semble qu'à côté des nombreux rôles importants démontrés pour les modifications post-transcriptionnelles, la m¹A n'en fait pas exception.

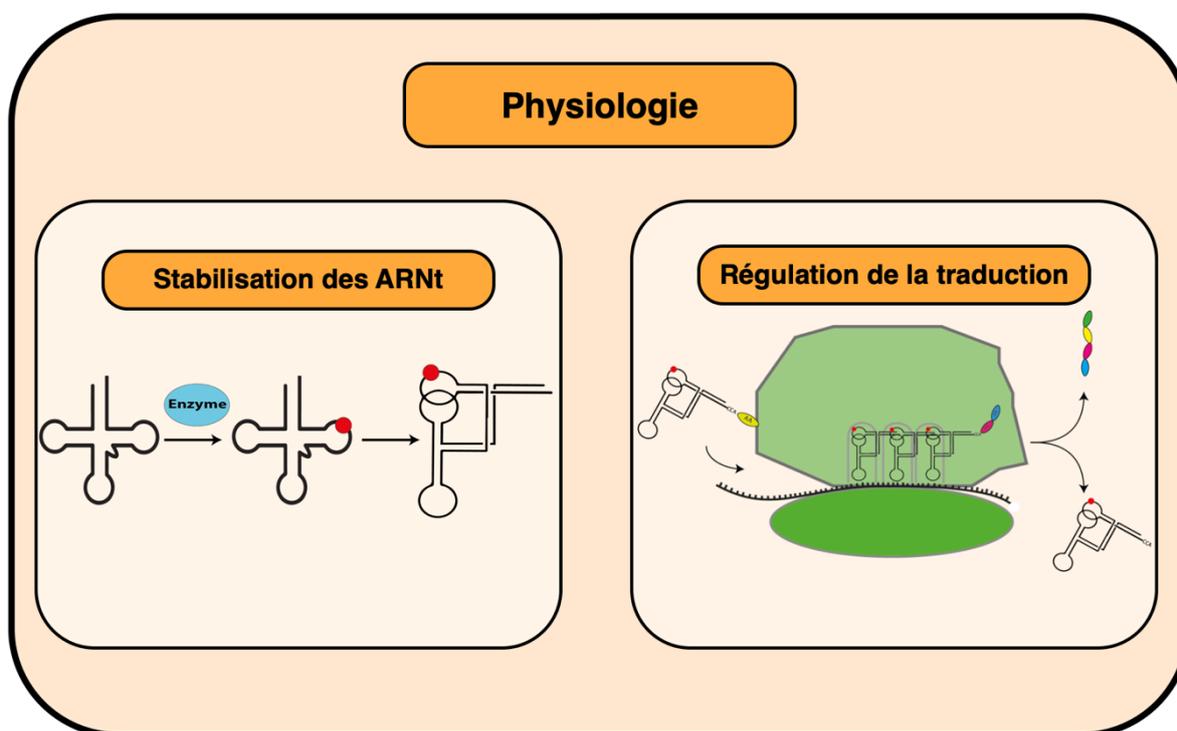


Figure 8 : Schéma récapitulatifs des fonctions physiologiques de la modification m¹A

2.3.1 La m¹A et les structures des ARN

Les modifications m¹A jouent un rôle important dans la stabilité et le fonctionnement des ARNt, notamment au niveau de la position 58. Chez la levure, la présence de la modification m¹A sur l'ARNt^{Met} initiateur stabilise cette molécule nécessaire à la synthèse des protéines (l'ARNt portant le codon UAC). L'absence de cette modification entraîne une dégradation accrue de l'ARNt^{Met} initiateur, conduisant à terme à la mort cellulaire de la levure. Bien que tous les ARNt ne possèdent pas la modification m¹A en position 58, il est possible que chez l'homme l'ARNt^{Met} initiateur, qui est également stabilisé et modifié par la m¹A à cette position, est soumis au même sort que son équivalent chez la levure. (42,48)

De plus, des expériences *in vitro* ont montré que la modification m¹A₉ est cruciale pour le bon repliement en forme de trèfle de l'ARNt^{Lys} mitochondrial. Cette modification empêcherait l'interaction de type Watson-Crick entre deux nucléotides (A₉ et U₆₄), normalement proches dans l'espace et apte à réaliser cette interaction. (49)

L'absence de l'interaction entre deux nucléotides se traduit par une réorganisation dans l'espace des nucléotides de l'ARN ayant pour conséquence, en synergie avec d'autres modifications et paramètres physico-chimiques, la formation de la structure adéquate de l'ARNt. Il a été testé que l'absence de cette interaction entraîne un repliement alternatif de l'ARNt. (49)

2.3.2 La m¹A et la traduction

Il a été aussi possible de déterminer que la modification m¹A, hormis son rôle sur l'ARNt initiateur, augmente l'efficacité de la traduction.

Ce phénomène a été observé au niveau des lymphocytes T où la modification m¹A₅₈, incorporée dans certains ARNt, augmente l'efficacité de la traduction notamment de la protéine MYC, entraînant la sortie de la quiescence des lymphocytes T CD4 (LTCD4+). La protéine MYC permet aux LTCD4+ d'entrer en mitose et de compléter leur cycle cellulaire. (50)

Des études sur les différentes voies de signalisation des LTCD4+ ont montré une augmentation de TRMT6/TRMT61A et ont déterminé un lien avec la traduction de l'ARNm de Myc. De plus, en cas d'absence du complexe TRMT6/TRMT61A, la quantité d'ARN initiateurs et élongateurs diminue. Cela est un autre cas montrant le lien entre la modification m¹A et la stabilité des ARNt. En jouant sur la stabilité de l'initiateur et de l'élongateur, la modification peut jouer un rôle clé dans la régulation de la traduction.

Également une autre étude, impliquant l'enzyme ALKBH1, a permis de soutenir la théorie que la modification joue un rôle sur la traduction. La déméthylation de la modification m¹A par l'enzyme ALKBH1 a ralenti l'initiation de la traduction et a réduit l'utilisation des ARN cibles pour la production des protéines. L'absence de cette déméthylase, au contraire, a entraîné une augmentation du taux d'ARNt^{Met} initiateur, ce qui a impacté significativement la traduction et la prolifération cellulaire. La surexpression de ALKBH1, quant à elle, a diminué la production de protéines, tandis que son inhibition a l'effet inverse, a augmenté la traduction. (42)

L'ensemble de ces observations soulignent l'importance cruciale de la modification m¹A dans la régulation de la traduction des protéines. La modification par son effet sur la structure et la stabilité de l'ARN semble jouer un rôle important dans la régulation de la traduction, selon l'ARNt qui la porte. Des études plus poussées sont nécessaires pour déterminer les mécanismes précis de fonctionnement de cette modification selon l'ARN modifié et la position méthylée. Tout de même, le rôle physiologique de la m¹A

semble être un élément très important à étudier pour mieux comprendre le fonctionnement cellulaire.

2.4 La m¹A en pathologie

2.4.1 Les m¹A et les maladies humaines, généralités

Beaucoup d'études ont été réalisées pour les modifications post-transcriptionnelles tel que m⁶A ou m⁵C ce qui a montré un rôle important qu'ils peuvent jouer dans différents mécanismes pathologiques. Tout de même, peu d'études ont été menées concernant la m¹A. Le problème principal de cela était le manque des techniques d'études permettant d'étudier cette modification et soulever des contraintes liées à la nature de la modification en elle-même, tel que la possibilité de réarrangement en m⁶A dans les conditions alcalines.

L'implication des m¹A a été établie dans le domaine de la cancérologie, des maladies neurodégénératives ou encore de la cardiologie. (51–56)

La majorité des études ont été réalisées dans le domaine de la cancérologie. Des études sur le carcinome hépatocellulaire, le cancer bronchique à petites cellules, adénocarcinome du pancréas, cancer colorectal, cancer de la vessie, gliome and cancer de l'estomac. En termes de maladies neurodégénératives il s'agit surtout de l'implication de la modification dans l'ischémie cérébrale ce qui se passe aussi dans la maladie d'Alzheimer ou Parkinson. (57,58)

Pour certaines de ces recherches, un mécanisme détaillé a été proposé où la modification m¹A impacte la synthèse des protéines en ayant une conséquence activatrice sur des voies métaboliques clés participant au développement de la pathologie. D'autres, mettent en avant le potentiel de la m¹A et ouvre différents axes d'études. Des études plus poussées sont tout de même nécessaires afin de comprendre davantage comment les m¹A agissent en sein des cellules pathologiques.

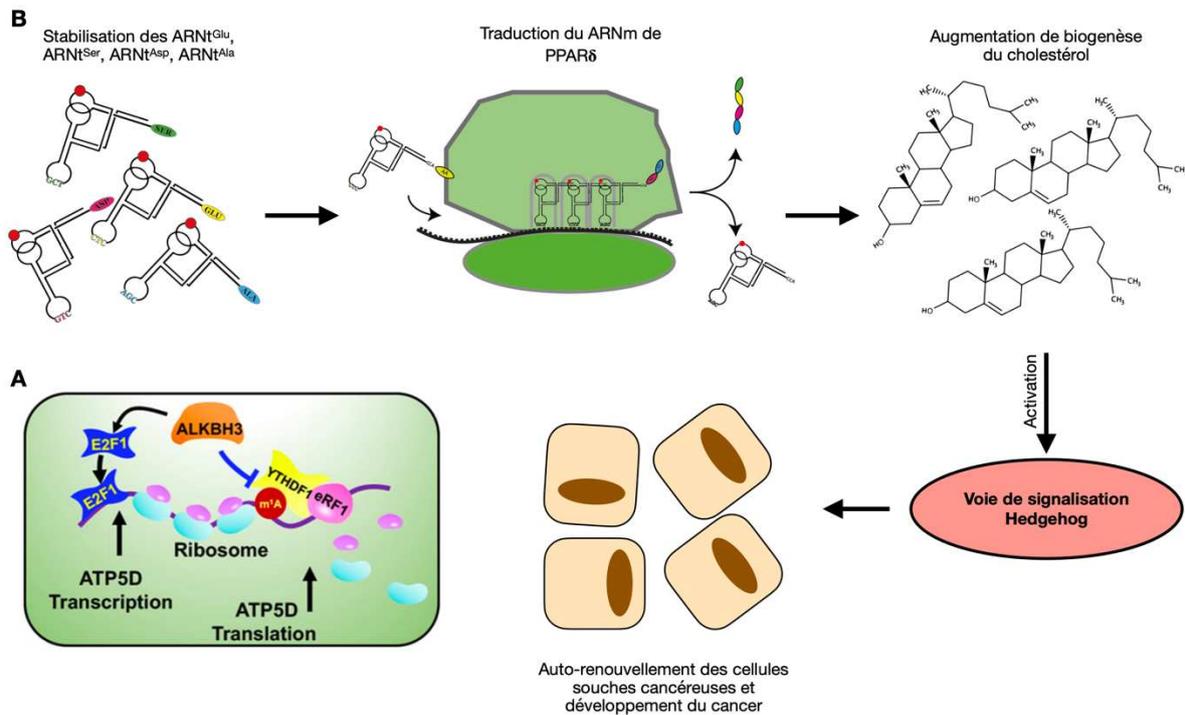


Figure 9 : A) Schéma récapitulatifs du rôle de la modification m^1A sur les ARNm de ATP5D au sein de la cellule cancéreuse(54) B) Schéma récapitulatifs du rôle de la modification m^1A sur les ARNt au sein de la cellule d'hépatocarcinome.

2.4.2 La m^1A sur les ARNm et les maladies humaines

En oncologie, il a été déterminé sur les cellules HeLa et SiHa, que les m^1A jouent un rôle dans la glycolyse de cellules cancéreuses. En effet, la m^1A , en se trouvant sur un exon de l'ARNm de ATP5D, la sous-unité delta de la ATP synthase, favorise l'interaction avec le complexe YTHDF1/eRF1. L'interaction avec ce dernier favorise la libération de l'ARNm du ribosome. Parallèlement, la m^1A réduit la stabilité de l'ARNm de E2F1. Ce dernier se lie normalement avec le promoteur de transcription de ATP5D. Il est donc possible qu'en cas de cancer, on a une augmentation d'expression de ALKBH3 qui va démétyler l'ARNm de ATP5D en stimulant de cette manière la traduction de la protéine qui va permettre de stimuler la glycolyse de la cellule cancéreuse et entre autres via ce mécanisme promouvoir le développement de la tumeur. (54) (Fig 9A) Le rôle de ALKBH3 a été aussi déterminé au niveau de cancer urothélial, cancer de la prostate, cancer du sein, cancer colorectal et les cancers non à petites cellules (55).

2.4.3 La m¹A sur les ARNt et les maladies humaines

En cas de carcinome hépatocellulaire, la méthylation m¹A au niveau des ARNt favorise la traduction de PPAR delta qui va augmenter la biogenèse du cholestérol. Ce dernier activera la voie de signalisation Hedgehog qui sera responsable de l'auto-renouvellement des cellules souches du carcinome et le développement du cancer. Il y a mention même que le complexe responsable de la méthylation, TRMT6/TRMT61A est nécessaire pour la tumorigénèse du cancer du foie. En se basant sur les données obtenues, il pourrait s'agir d'une régulation au niveau des ARNt d'Acide aspartique, (Asp), d'Alanine (Ala), d'Acide glutamique (Glu) et de Serine (Ser). Plus exactement, il s'agit de la m¹A₅₈ qui va participer à l'élongation de la traduction de PPAR delta, via l'ARNm qui possède davantage de codons correspondant aux ARNt qui ont plus été modifiés chez les cellules cancéreuses que chez les cellules non cancéreuses. (51) La m¹A₅₈ va stabiliser ses ARNt qui vont être utilisés pour le décodage de l'ARNm de PPAR delta. Le PPAR delta, à son tour, augmente la biosynthèse du cholestérol et initie la signalisation Hedgehog, une voie de signalisation propice pour le développement du cancer. (51) (Fig9B)

Dans le cas du cancer de la vessie, on a également une augmentation du complexe TRMT6/TRMT61A ce qui s'accompagne l'augmentation des m¹A. Il a été possible de déterminer qu'en cas de ce cancer il y a une augmentation des m¹A sur le tRF-3b, un fragment 3' de 22 nucléotides long issu d'un ARNt. Ce fragment joue notamment un rôle de répresseur de gène dans la cellule. Le targetome du tRF-3B contient des molécules impliquées dans la réponse « unfolded protein », une réponse au stress cellulaire liée au réticulum endoplasmique. (53)

Dans le cas du cancer de la vessie, le tRF-3B va être modifié par le complexe TRMT6-TRMT61A et se verra incorporé la m¹A près de sa « seed region », la région avec laquelle le fragment interagit avec ses cibles. La présence de la modification va avoir un effet négatif sur la régulation d'expression des gènes. En effet, elle va perturber l'interaction tRF-3b avec les ARN cibles et de cette manière elle va maintenir « Unfolded Protein Response ». (53)

2.4.4 La m¹A sur les autres ARN et les maladies humaines

En plus des études présentées précédemment, en cas d'ischémie en oxygène, qu'on peut retrouver qu'en cas de la maladie d'Alzheimer ou de Parkinson, ou encore en cas d'un traumatisme, les m¹A joue un rôle au niveau des ARN non codant. Les études sur les souris montrent, qu'en situation d'ischémie, au niveau neuronal on observe une surexpression des régulateurs de m¹A ainsi qu'une augmentation du taux de ARN comportant les m¹A.

Il a été possible de voir qu'en cas d'ischémie on a une augmentation de m¹A au niveau des long ARN non codant ce qui a un impact sur le métabolisme des cellules neuronales ce qui pourrait affecter donc le mécanisme physio-pathologique de la maladie. Également, il a été observé qu'en cas d'ischémie on a une augmentation de la méthylation en position 1 des adénosines se trouvant sur les ARN circulaires. Un lien a été établi entre ces ARN et des caractéristiques cellulaires tel que la décomposition des composants intracellulaires, l'endocytose et l'organisation des structures cellulaires. Au contraire, un niveau bas des m¹A sur des ARN circulaires a été relié à la plasticité synaptique, transport des neurotransmetteurs et formations des synapses dopamine énergétique. Cela indique, que la m¹A joue un rôle important dans les processus biologiques neuronales et ceux à différents niveaux. (58)

2.4.5 Les enzymes de modifications des m¹A et les maladies humaines

En cas de gliomes, on peut comprendre que l'augmentation des régulateurs des m¹A est corrélé avec augmentation de la régulation du ABCC3, une protéine de la sous-famille MRP qui est responsable de la résistance aux traitements. De plus, les études ont montré que cette protéine est importante pour la prolifération des gliomes.(59)

Aussi, des corrélations entre les régulateurs de m¹A et la survie, la capacité de différenciation de la cellule cancéreuse, la progression de la tumeur, son microenvironnement et les métastases ont pu être établie sans donner un mécanisme bien précis. Dans une autre étude, TRMT6 a été proposé comme un marqueur de pronostic de gliome qui lorsqu'il est surexprimé prédit une mauvaise évolution pour le patient. En effet, en cas d'inhibition de la protéine on a une réduction de la prolifération, de la migration et de l'invasion des cellules cancéreuses. TRMT6 serait impliqué dans nombreuses voies cellulaires au niveau des gliomes. (60)

Dans le cas du cancer gastrique, grâce à une méthode de score basée sur les données cliniques, il a été possible d'observer que les méthylations d'adénosine sont fortement corrélés avec l'infiltration cellulaire dans le microenvironnement tumorale et le pronostic du patient. Parmi les régulateurs étudiés, on a eu 4 régulateurs de m¹A qui ont été étudiés : TRMT6, TMRT61A, TRMT61B et TRMT10C. Ces derniers ont été surtout observé au sein du cluster avec une forte infiltration de cellules inflammatoires et une faible survie. Tout de même un mécanisme précis n'a pas été déterminé. (61)

Dans le cas du carcinome squameuse orale, un lien entre le cancer et les régulateurs de m¹A a été observé. Ces derniers ont été associé à un mauvais pronostic, une plus faible infiltration dans le microenvironnement tumorale des cellules immunitaires, une plus faible expression des molécules checkpoint immunitaires et des plus faibles nombres de mutations au niveau de la tumeur. (62)

De point de vue du domaine de la virologie, il a été indiqué que TRMT61A pourrait avoir un effet proviral lors d'une infection avec virus influenza A. (63)

En cas d'anévrisme d'aorte abdominale (AAA), les m¹A jouent aussi un rôle physiopathologique. Il a été possible de déterminer que les régulateurs des modifications des

ARN dont RRP8, TRMT61A ont été surexprimés ainsi que ALKBH1 qui quant à eux, ont été réduit. Les variations de ces derniers ont été corrélé avec l'activation des cellules immunitaires en cas de AAA. De plus, le YTHDF3, une protéine reconnaissant la m¹A peut participer dans la modulation de la polarisation de macrophage ce qui stimulera l'inflammation d'aorte. (64)

3 [La conclusion](#)

Les modifications post-transcriptionnelles remplissent un rôle important dans le fonctionnement complexe de la cellule humaine. La modification des ARN appelée m¹A, bien que moins étudiée que d'autres modifications, joue un rôle important dans diverses maladies

De point de vue structural, la m¹A remplit un rôle de stabilisateur de structure des ARNt. Grâce à sa charge positive, elle empêche les interactions de type Watson-Crick, permettant ainsi une réorganisation des nucléotides dans l'espace. Cette particularité a des répercussions majeures au niveau cellulaire. Si la modification se trouve sur un ARNt initiateur, elle peut être exploitée par la cellule pour réguler la transcription. En l'absence de cette modification, l'ARNt peut subir une dégradation, ce qui entraîne une réduction, voire une absence, de la traduction de certaines protéines. La cellule peut exercer cette régulation par le biais de la m¹A, soit en augmentant l'expression des enzymes responsables de son incorporation, soit en favorisant l'expression des enzymes responsables de son élimination.

Au niveau des pathologies humaines, il a été possible de déterminer l'implication de la m¹A dans les mécanismes du carcinome hépatocellulaire, du cancer de la vessie et en cas d'ischémie d'oxygène.

La modification m¹A permet de stabiliser la structure des ARN clé, participe ou perturbe les interactions entre différents partenaires, par l'encombrement stérique du méthyle ou par sa charge positive et de cette manière empêche des mécanismes physiologiques ou stimule les mécanismes pathologiques.

La position la plus étudiée pour la m¹A est la position 58 des ARNt. Cependant, il est désormais établi que cette modification est présente sur les ARNm, les ARNr, et à d'autres positions des ARNt. Des recherches supplémentaires sont nécessaires dans ce domaine prometteur afin de comprendre le rôle de cette modification sur d'autres types d'ARN ou à d'autres emplacements au sein des ARNt.

Également, il n'est pas négligeable de noter les preuves croissantes de l'implication des enzymes de modifications des m¹A dans les mécanismes physiopathologiques. Des nombreuses études montrent l'augmentation d'expression des enzymes responsables de l'incorporation de la modification soulignant également l'importance de la persévérance de la recherche dans ce domaine.

4 Bibliographie

1. https://www.supagro.fr/ress-tice/ue1-ue2_auto/Bases_Biologie_Moleculaire_v2/co/_gc_principe_traduction.html.
2. Camier S, Séraphin B. Détruisez ce message (ARN) après l'avoir lu ! *Med Sci (Paris)*. oct 2007;23(10):850-6.
3. Lorenz C, Lünse C, Mörl M. tRNA Modifications: Impact on Structure and Thermal Adaptation. *Biomolecules*. 4 avr 2017;7(4):35.
4. Barraud P, Tisné C. To be or not to be modified: Miscellaneous aspects influencing nucleotide modifications in tRNAs. *IUBMB Life*. août 2019;71(8):1126-40.
5. Romby P, Westhof SM et E. La structure atomique du ribosome en pleine lumière. *Med Sci (Paris)*. 1 nov 2009;25(11):977-81.
6. Oerum S, Meynier V, Catala M, Tisné C. A comprehensive review of m6A/m6Am RNA methyltransferase structures. *Nucleic Acids Res*. 22 mai 2021;49(13):7239-55.
7. Helm M, Alfonzo JD. Posttranscriptional RNA Modifications: playing metabolic games in a cell's chemical Legoland. *Chem Biol*. 20 févr 2014;21(2):174-85.
8. Dégut C. Études structurales de la maturation des ARN de transfert: les méthyltransférases M1A22 et M1A58 des ARNt.
9. Barraud P. Etudes structurales de différents processus biologiques impliquant les ARN de transfert.
10. Oerum S, Dégut C, Barraud P, Tisné C. m1A Post-Transcriptional Modification in tRNAs. *Biomolecules*. 21 févr 2017;7(1):20.
11. Wang S, Li H, Lian Z, Deng S. The Role of RNA Modification in HIV-1 Infection. *IJMS*. 8 juill 2022;23(14):7571.
12. Hoernes TP, Hüttenhofer A, Erlacher MD. mRNA modifications: Dynamic regulators of gene expression? *RNA Biology*. 1 sept 2016;13(9):760-5.
13. Modomics: <https://genesilico.pl/modomics/proteins>.
14. Wu W, Zhang F, Zhao J, He P, Li Y. The N6-methyladenosine:mechanisms, diagnostic value, immunotherapy prospects and challenges in gastric cancer. *Experimental Cell Research*. juin 2022;415(2):113115.
15. Esteve-Puig R, Bueno-Costa A, Esteller M. Writers, readers and erasers of RNA modifications in cancer. *Cancer Letters*. avr 2020;474:127-37.
16. Song P, Tayier S, Cai Z, Jia G. RNA methylation in mammalian development and cancer. *Cell Biol Toxicol*. déc 2021;37(6):811-31.

17. Li J, Zhang H, Wang H. N1-methyladenosine modification in cancer biology: Current status and future perspectives. *Computational and Structural Biotechnology Journal*. 2022;20:6578-85.
18. <https://fr.wikipedia.org/wiki/Désamination>.
19. https://en.wikipedia.org/wiki/Dimroth_rearrangement.
20. Liu H, Zeng T, He C, Rawal VH, Zhou H, Dickinson BC. Development of Mild Chemical Catalysis Conditions for m¹A-to-m⁶A Rearrangement on RNA. *ACS Chem Biol*. 17 juin 2022;17(6):1334-42.
21. Feng Q, Wang D, Xue T, Lin C, Gao Y, Sun L, et al. The role of RNA modification in hepatocellular carcinoma. *Front Pharmacol*. 2 sept 2022;13:984453.
22. Shima H, Igarashi K. N 1-methyladenosine (m1A) RNA modification: the key to ribosome control. *The Journal of Biochemistry*. 1 juin 2020;167(6):535-9.
23. Xie S, Chen W, Chen K, Chang Y, Yang F, Lin A, et al. Emerging roles of RNA methylation in gastrointestinal cancers. *Cancer Cell Int*. déc 2020;20(1):585.
24. Oerum S, Dégut C, Barraud P, Tisné C. m1A Post-Transcriptional Modification in tRNAs. *Biomolecules*. 21 févr 2017;7(4):20.
25. <https://www.brenda-enzymes.org>.
26. <https://www.uniprot.org>.
27. Safra M, Sas-Chen A, Nir R, Winkler R, Nachshon A, Bar-Yaacov D, et al. The m1A landscape on cytosolic and mitochondrial mRNA at single-base resolution. *Nature*. 9 nov 2017;551(7679):251-5.
28. Vilardo E, Nachbagauer C, Buzet A, Taschner A, Holzmann J, Rossmannith W. A subcomplex of human mitochondrial RNase P is a bifunctional methyltransferase—extensive moonlighting in mitochondrial tRNA biogenesis. *Nucleic Acids Research*. déc 2012;40(22):11583-93.
29. Holzmann J, Frank P, Löffler E, Bennett KL, Gerner C, Rossmannith W. RNase P without RNA: Identification and Functional Reconstitution of the Human Mitochondrial tRNA Processing Enzyme. *Cell*. oct 2008;135(3):462-74.
30. Reinhard L, Sridhara S, Hällberg BM. The MRPP1/MRPP2 complex is a tRNA-maturation platform in human mitochondria. *Nucleic Acids Research*. 1 déc 2017;45(21):12469-80.
31. Roovers M. A primordial RNA modification enzyme: the case of tRNA (m1A) methyltransferase. *Nucleic Acids Research*. 21 janv 2004;32(2):465-76.
32. Droogmans L. Cloning and characterization of tRNA (m1A58) methyltransferase

(TrmI) from *Thermus thermophilus* HB27, a protein required for cell growth at extreme temperatures. *Nucleic Acids Research*. 15 avr 2003;31(8):2148-56.

33. Ozanick SG, Bujnicki JM, Sem DS, Anderson JT. Conserved amino acids in each subunit of the heterologous tRNA m¹A58 Mtase from *Saccharomyces cerevisiae* contribute to tRNA binding. *Nucleic Acids Research*. nov 2007;35(20):6808-19.

34. Anderson J, Phan L, Cuesta R, Carlson BA, Pak M, Asano K, et al. The essential Gcd10p–Gcd14p nuclear complex is required for 1-methyladenosine modification and maturation of initiator methionyl-tRNA. *Genes Dev*. 1 déc 1998;12(23):3650-62.

35. Suzuki T, Yashiro Y, Kikuchi I, Ishigami Y, Saito H, Matsuzawa I, et al. Complete chemical structures of human mitochondrial tRNAs. *Nat Commun*. 28 août 2020;11(1):4269.

36. Li X, Xiong X, Zhang M, Wang K, Chen Y, Zhou J, et al. Base-Resolution Mapping Reveals Distinct m¹A Methylome in Nuclear- and Mitochondrial-Encoded Transcripts. *Molecular Cell*. déc 2017;68(5):993-1005.e9.

37. Bar-Yaacov D, Frumkin I, Yashiro Y, Chujo T, Ishigami Y, Chemla Y, et al. Mitochondrial 16S rRNA Is Methylated by tRNA Methyltransferase TRMT61B in All Vertebrates. Dinman JD, éditeur. *PLoS Biol*. 15 sept 2016;14(9):e1002557.

38. Savic M, Lovric J, Tomic TI, Vasiljevic B, Conn GL. Determination of the target nucleosides for members of two families of 16S rRNA methyltransferases that confer resistance to partially overlapping groups of aminoglycoside antibiotics. *Nucleic Acids Research*. 1 sept 2009;37(16):5420-31.

39. Peifer C, Sharma S, Watzinger P, Lamberth S, Kötter P, Entian KD. Yeast Rrp8p, a novel methyltransferase responsible for m¹A 645 base modification of 25S rRNA. *Nucleic Acids Research*. janv 2013;41(2):1151-63.

40. Askree SH, Yehuda T, Smolikov S, Gurevich R, Hawk J, Coker C, et al. A genome-wide screen for *Saccharomyces cerevisiae* deletion mutants that affect telomere length. *Proc Natl Acad Sci USA*. 8 juin 2004;101(23):8658-63.

41. Bousquet-Antonelli C, Vanrobays E, Gélugne JP, Caizergues-Ferrer M, Henry Y. Rrp8p is a yeast nucleolar protein functionally linked to Gar1p and involved in pre-rRNA cleavage at site A2. *RNA*. juin 2000;6(6):826-43.

42. Liu F, Clark W, Luo G, Wang X, Fu Y, Wei J, et al. ALKBH1-Mediated tRNA Demethylation Regulates Translation. *Cell*. oct 2016;167(3):816-828.e16.

43. Westbye MP, Feyzi E, Aas PA, Vågbø CB, Talstad VA, Kavli B, et al. Human AlkB Homolog 1 Is a Mitochondrial Protein That Demethylates 3-Methylcytosine in DNA and RNA. *Journal of Biological Chemistry*. sept 2008;283(36):25046-56.

44. Haag S, Sloan KE, Ranjan N, Warda AS, Kretschmer J, Blessing C, et al. NSUN 3 and ABH 1 modify the wobble position of mt-t RNA^{Met} to expand codon recognition in mitochondrial translation. *The EMBO Journal*. 4 oct 2016;35(19):2104-19.
45. Lee DH, Jin SG, Cai S, Chen Y, Pfeifer GP, O'Connor TR. Repair of Methylation Damage in DNA and RNA by Mammalian AlkB Homologues. *Journal of Biological Chemistry*. nov 2005;280(47):39448-59.
46. Aas PA, Otterlei M, Falnes PØ, Vågbø CB, Skorpen F, Akbari M, et al. Human and bacterial oxidative demethylases repair alkylation damage in both RNA and DNA. *Nature*. févr 2003;421(6925):859-63.
47. Dominissini D, Nachtergaele S, Moshitch-Moshkovitz S, Peer E, Kol N, Ben-Haim MS, et al. The dynamic N1-methyladenosine methylome in eukaryotic messenger RNA. *Nature*. 25 févr 2016;530(7591):441-6.
48. Saikia M, Fu Y, Pavon-Eternod M, He C, Pan T. Genome-wide analysis of N¹-methyladenosine modification in human tRNAs. *RNA*. juill 2010;16(7):1317-27.
49. Helm M, Brule H, Degoul F, Capanec C, Leroux JP, Giege R, et al. The presence of modified nucleotides is required for cloverleaf folding of a human mitochondrial tRNA. *Nucleic Acids Research*. 1 avr 1998;26(7):1636-43.
50. Liu Y, Zhou J, Li X, Zhang X, Shi J, Wang X, et al. tRNA-m1A modification promotes T cell expansion via efficient MYC protein synthesis. *Nat Immunol*. oct 2022;23(10):1433-44.
51. Wang Y, Wang J, Li X, Xiong X, Wang J, Zhou Z, et al. N1-methyladenosine methylation in tRNA drives liver tumourigenesis by regulating cholesterol metabolism. *Nat Commun*. 2 nov 2021;12(1):6314.
52. Zhao M, Shen S, Xue C. A Novel m1A-Score Model Correlated With the Immune Microenvironment Predicts Prognosis in Hepatocellular Carcinoma. *Front Immunol*. 24 mars 2022;13:805967.
53. Su Z, Monshaugen I, Wilson B, Wang F, Klungland A, Ougland R, et al. TRMT6/61A-dependent base methylation of tRNA-derived fragments regulates gene-silencing activity and the unfolded protein response in bladder cancer. *Nat Commun*. 20 avr 2022;13(1):2165.
54. Wu Y, Chen Z, Xie G, Zhang H, Wang Z, Zhou J, et al. RNA m¹A methylation regulates glycolysis of cancer cells through modulating ATP5D. *Proc Natl Acad Sci USA*. 12 juill 2022;119(28):e2119038119.
55. Teng PC, Liang Y, Yarmishyn AA, Hsiao YJ, Lin TY, Lin TW, et al. RNA Modifications and Epigenetics in Modulation of Lung Cancer and Pulmonary Diseases. *IJMS*. 30 sept 2021;22(19):10592.

56. Chen W, Wang H, Mi S, Shao L, Xu Z, Xue M. ALKBH1-mediated m1A demethylation of METTL3 mRNA promotes the metastasis of colorectal cancer by downregulating SMAD7 expression. *Molecular Oncology*. févr 2023;17(2):344-64.
57. Qi Z, Zhang C, Jian H, Hou M, Lou Y, Kang Y, et al. N1-Methyladenosine modification of mRNA regulates neuronal gene expression and oxygen glucose deprivation/reoxygenation induction. *Cell Death Discov*. 12 mai 2023;9(1):159.
58. Zhang C, Yi X, Hou M, Li Q, Li X, Lu L, et al. The landscape of m1A modification and its posttranscriptional regulatory functions in primary neurons. *eLife*. 7 mars 2023;12:e85324.
59. Mao M, Chu Q, Lou Y, Lv P, Wang L jian. RNA N1-methyladenosine regulator-mediated methylation modification patterns and heterogeneous signatures in glioma. *Front Immunol*. 22 juill 2022;13:948630.
60. Wang B, Niu L, Wang Z, Zhao Z. RNA m1A Methyltransferase TRMT6 Predicts Poorer Prognosis and Promotes Malignant Behavior in Glioma. *Front Mol Biosci*. 22 sept 2021;8:692130.
61. Song P, Zhou S, Qi X, Jiao Y, Gong Y, Zhao J, et al. RNA modification writers influence tumor microenvironment in gastric cancer and prospects of targeted drug therapy. *J Bioinform Comput Biol*. avr 2022;20(02):2250004.
62. Gao L, Chen R, Sugimoto M, Mizuta M, Kishimoto Y, Omori K. The Impact of m1A Methylation Modification Patterns on Tumor Immune Microenvironment and Prognosis in Oral Squamous Cell Carcinoma. *IJMS*. 24 sept 2021;22(19):10302.
63. Furuse Y. RNA Modifications in Genomic RNA of Influenza A Virus and the Relationship between RNA Modifications and Viral Infection. *IJMS*. 24 août 2021;22(17):9127.
64. Wu Y, Jiang D, Zhang H, Yin F, Guo P, Zhang X, et al. N1-Methyladenosine (m1A) Regulation Associated With the Pathogenesis of Abdominal Aortic Aneurysm Through YTHDF3 Modulating Macrophage Polarization. *Front Cardiovasc Med*. 10 mai 2022;9:883155.

5 Liste de figures

- Figure 1 : A) Schéma de la structure d'un acide ribonucléique, la base en bleu, le sucre en vert et le phosphate en violet B) Schéma d'un ARNm C) Schéma d'un ARNt D) Structure de Ribosome mitochondrial avec en bleu les acides nucléiques et en vert les protéines ribosomiques (6NU2)
- Figure 2 : Schéma récapitulatif de la traduction
- Figure 3 : A) Schéma de la structure secondaire d'un ARNt B) Schéma de la structure tertiaire d'un ARNt. (3)
- Figure 4 : Représentation de l'ensemble des modifications post transcriptionnelles caractérisées des ARN. (6)
- Figure 5 : Schéma des rôles des enzymes de modifications
- Figure 6 : A Schéma de la modification m¹A B) Schéma d'ARNt avec les positions de m¹A en rouge au niveau des ARNt.
- Figure 7 : Schéma récapitulatifs des « witters » responsables de l'incorporation de la modification post-transcriptionnelle m¹A, en vert sur les ARNr, en rouge sur les ARNt ainsi que des « erasers » en bleu
- Figure 8 : Schéma récapitulatifs des fonctions physiologiques de la modification m¹A
- Figure 9 : A) Schéma récapitulatifs du rôle de la modification m¹A sur les ARNm de ATPD5 au sein de la cellules cancéreuse(54) B) Schéma récapitulatifs du rôle de la modification m¹A sur les ARNt au sein de la cellule d'hépatocarcinome.

Université de Lille
FACULTE DE PHARMACIE DE LILLE
DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE
Année Universitaire 2022/2023

Nom : Smoczyński
Prénom : Jakub

Titre de la thèse : La modification post-transcriptionnelle m¹A des ARN en physiologie et en pathologie

Mots-clés : Modification post-transcriptionnelle, méthylation_1_adénosine, ARN, modifications post-transcriptionnelles, maladies humaines, physiologie de la m¹A,

Résumé : La méthylation sur l'azote 1 de l'adénosine, appelée aussi m¹A, est une modification post-transcriptionnelle des ARN présente sur les ARNt, ARNr et ARNm. La m¹A remplit des fonctions importantes au sein de la cellule humaine.

D'un point de vue physiologique, elle participe au bon repliement et à la stabilisation des ARN. Elle joue également un rôle dans la régulation de la traduction ainsi que dans la régulation des interactions des ARN avec leurs partenaires.

En plus de son rôle physiologique, il a été possible d'établir que la modification participe à des mécanismes pathologiques dans des maladies telles que des cancers ou la maladie d'Alzheimer. La m¹A permet de stabiliser la structure des ARN clés utilisés dans le mécanisme pathologique. Elle participe ou perturbe les interactions entre les différents partenaires soit par l'encombrement stérique du méthyle soit par sa charge positive. De cette manière, des mécanismes physiologiques sont inhibés et des mécanismes pathologiques sont stimulés.

La modification est incorporée à différentes positions par des enzymes de modifications post-transcriptionnelles, certaines encore inconnues. Des liens entre l'expression de ces enzymes et les maladies humaines ont pu être démontrés, soutenant la nécessité de recherches plus poussées dans ce domaine.

Membres du jury :

Président : Florin-Muschert, Susanne MCU HDR, Université de Lille

Directeur, conseiller de thèse : Florin-Muschert, Susanne MCU-HDR, Université de Lille

Assesseur(s) : Hamoudi, Mounira, MCU, Université de Lille

Membre extérieur : Dr. Carine Tisné, Dr1, CNRS