

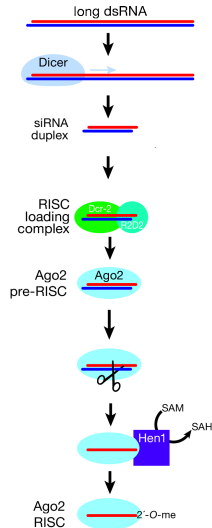
La génomique des petits ARN régulateurs chez les Animaux

Hervé Seitz

LBME du CNRS, Toulouse

15 avril 2009

siRNA (*small interfering RNAs*)



Introduction

Une troisième
classe d'ARN
régulateurs

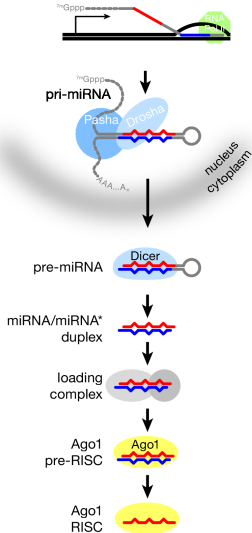
siRNA endogènes

Précision des
extrémités des
miRNA

Évolution des
petits ARN
régulateurs
chez les Animaux

Conclusion

microARN (miRNAs)



La génomique des
petits ARN
régulateurs chez
les Animaux

Introduction

Une troisième
classe d'ARN
régulateurs

siRNA endogènes

Précision des
extrémités des
miRNA

Évolution des
petits ARN
régulateurs chez
les Animaux

Conclusion

Des siRNA endogènes ?

La génomique des
petits ARN
régulateurs chez
les Animaux

Introduction

Une troisième
classe d'ARN
régulateurs

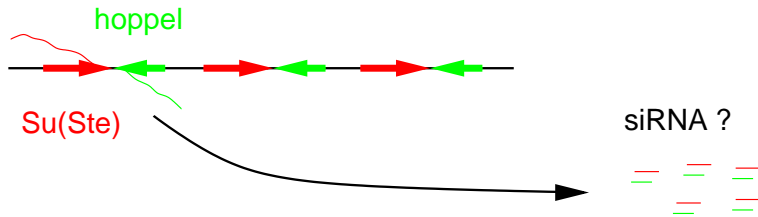
siRNA endogènes

Précision des
extrémités des
miRNA

Évolution des
petits ARN
régulateurs chez
les Animaux

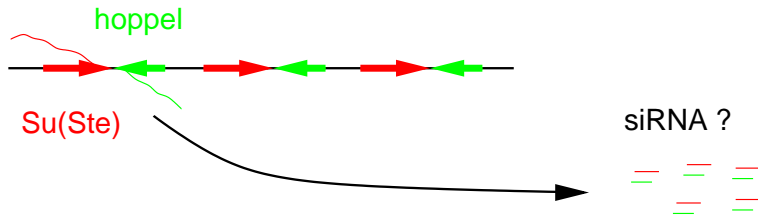
Conclusion

Des siRNA endogènes ?



Détection de petits ARN homologues à Su(Ste) (≈ 25 nt), appelés « rasiRNA » (*repeat-associated siRNAs*) (Aravin *et al.*, 2001).

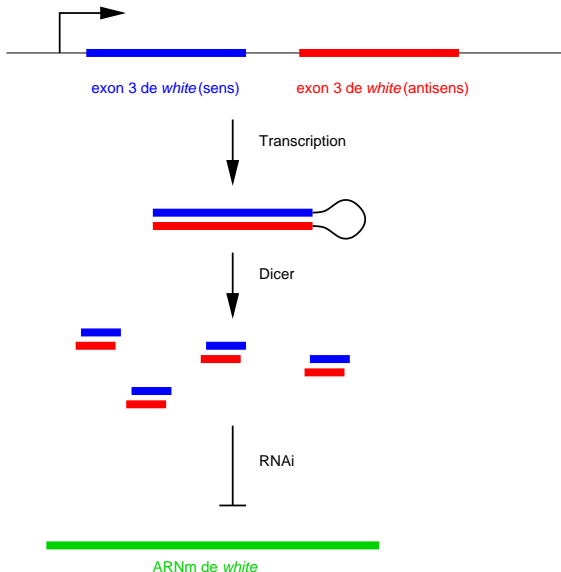
Des siRNA endogènes ?



Détection de petits ARN homologues à Su(Ste) (≈ 25 nt), appelés « rasiRNA » (*repeat-associated siRNAs*) (Aravin *et al.*, 2001).

Mais ...

Les rasiRNA sont-ils des siRNA ?



Les rasiRNA sont-ils des siRNA ?

La génomique des
petits ARN
régulateurs chez
les Animaux

Introduction

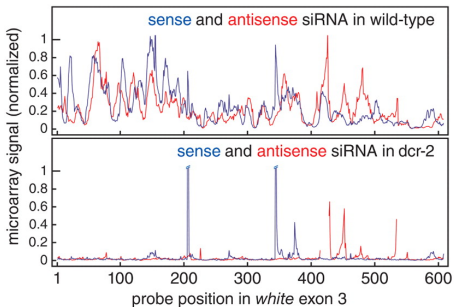
Une troisième
classe d'ARN
régulateurs

siRNA endogènes

Précision des
extrémités des
miRNA

Évolution des
petits ARN
régulateurs chez
les Animaux

Conclusion



Les rasiRNA sont-ils des siRNA ?

La génomique des
petits ARN
régulateurs chez
les Animaux

Introduction

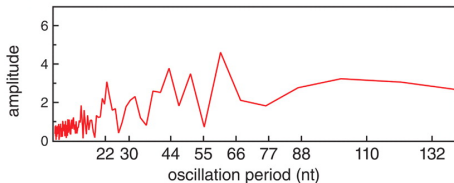
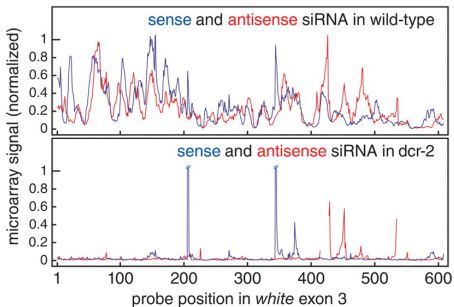
Une troisième
classe d'ARN
régulateurs

siRNA endogènes

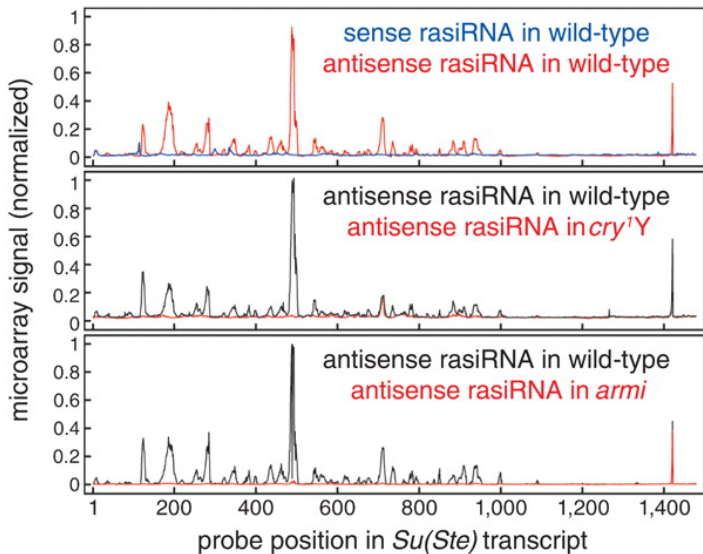
Précision des
extrémités des
miRNA

Évolution des
petits ARN
régulateurs chez
les Animaux

Conclusion



Les rasiRNA sont-ils des siRNA ?



Introduction

Une troisième
classe d'ARN
régulateurs

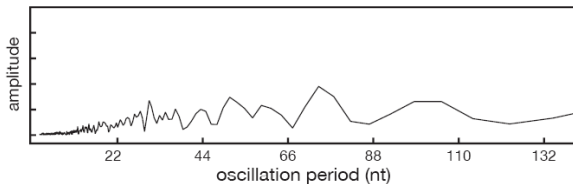
siRNA endogènes

Précision des
extrémités des
miRNA

Évolution des
petits ARN
régulateurs chez
les Animaux

Conclusion

Les rasiRNA sont-ils des siRNA ?



La génomique des
petits ARN
régulateurs chez
les Animaux

Introduction

Une troisième
classe d'ARN
régulateurs

siRNA endogènes

Précision des
extrémités des
miRNA

Évolution des
petits ARN
régulateurs chez
les Animaux

Conclusion

Les rasiRNA sont ... des « rasiRNAs »

- ▶ Les rasiRNA ne sont pas générés par Dicer-1, ni par Dicer-2 (V. Vagin)

Introduction

Une troisième
classe d'ARN
régulateurs

siRNA endogènes

Précision des
extrémités des
miRNA

Évolution des
petits ARN
régulateurs chez
les Animaux

Conclusion

Les rasiRNA sont ... des « rasiRNAs »

- ▶ Les rasiRNA ne sont pas générés par Dicer-1, ni par Dicer-2 (V. Vagin)
- ▶ ils immunoprécipitent avec les protéines Piwi, plutôt que les protéines Ago (C. Li)

Introduction

Une troisième
classe d'ARN
régulateurs

siRNA endogènes

Précision des
extrémités des
miRNA

Évolution des
petits ARN
régulateurs chez
les Animaux

Conclusion

Les rasiRNA sont ... des « rasiRNAs »

- ▶ Les rasiRNA ne sont pas générés par Dicer-1, ni par Dicer-2 (V. Vagin)
- ▶ ils immunoprécipitent avec les protéines Piwi, plutôt que les protéines Ago (C. Li)

Simultanément, d'autres équipes ont aussi découvert des ARN associés aux Piwi (chez les Mammifères : Girard *et al.*, 2006, Aravin *et al.*, 2006, Grivna *et al.*, 2006, et Lau *et al.*, 2006 ; chez la Drosophile : Saito *et al.*, 2006).

→ la classe des 'piRNA' (*Piwi-interacting RNA*)

Introduction

Une troisième
classe d'ARN
régulateurs

siRNA endogènes

Précision des
extrémités des
miRNA

Évolution des
petits ARN
régulateurs chez
les Animaux

Conclusion

Les rasiRNA sont ... des « rasiRNAs »

- ▶ Les rasiRNA ne sont pas générés par Dicer-1, ni par Dicer-2 (V. Vagin)
- ▶ ils immunoprécipitent avec les protéines Piwi, plutôt que les protéines Ago (C. Li)

Simultanément, d'autres équipes ont aussi découvert des ARN associés aux Piwi (chez les Mammifères : Girard *et al.*, 2006, Aravin *et al.*, 2006, Grivna *et al.*, 2006, et Lau *et al.*, 2006 ; chez la Drosophile : Saito *et al.*, 2006).

→ la classe des 'piRNA' (*Piwi-interacting RNA*)

Seule fonction connue : répression des séquences répétées dans la lignée germinale.

Introduction

Une troisième
classe d'ARN
régulateurs

siRNA endogènes

Précision des
extrémités des
miRNA

Évolution des
petits ARN
régulateurs chez
les Animaux

Conclusion

Séquençage à haut débit chez la Drosophile

▸ Principe

La génomique des
petits ARN
régulateurs chez
les Animaux

Introduction

Une troisième
classe d'ARN
régulateurs

siRNA endogènes

Précision des
extrémités des
miRNA

Évolution des
petits ARN
régulateurs chez
les Animaux

Conclusion

Séquençage à haut débit chez la Drosophile

▸ Principe

—→ séquençage d'ARN de têtes de drosophiles et de cellules Schneider-2 (S2) en culture.

(Megha Ghildiyal)

Séquençage à haut débit chez la Drosophile

▸ Principe

—> séquençage d'ARN de têtes de drosophiles et de cellules Schneider-2 (S2) en culture.

(Megha Ghildiyal)

Pour éviter les piRNA : échantillons somatiques.

Séquençage à haut débit chez la Drosophile

▸ Principe

—→ séquençage d'ARN de têtes de drosophiles et de cellules Schneider-2 (S2) en culture.

(Megha Ghildiyal)

Pour éviter les piRNA : échantillons somatiques ; pour éviter les miRNA : exclus informatiquement.

Introduction

Une troisième
classe d'ARN
régulateurs

siRNA endogènes

Précision des
extrémités des
miRNA

Évolution des
petits ARN
régulateurs chez
les Animaux

Conclusion

siRNA endogènes chez la Drosophile

La génomique des
petits ARN
régulateurs chez
les Animaux

Introduction

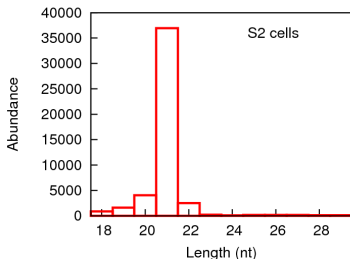
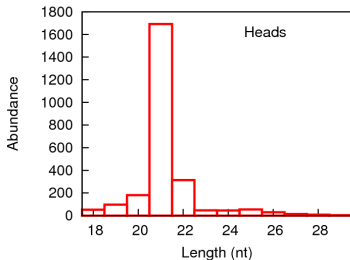
Une troisième
classe d'ARN
régulateurs

siRNA endogènes

Précision des
extrémités des
miRNA

Évolution des
petits ARN
régulateurs chez
les Animaux

Conclusion



siRNA endogènes chez la Drosophile

Introduction

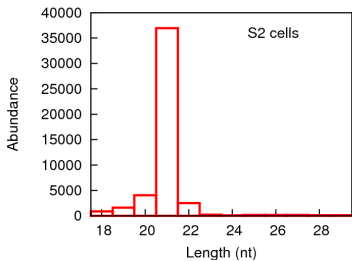
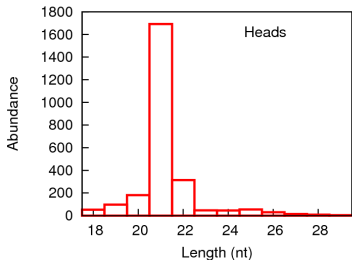
Une troisième
classe d'ARN
régulateurs

siRNA endogènes

Précision des
extrémités des
miRNA

Évolution des
petits ARN
régulateurs chez
les Animaux

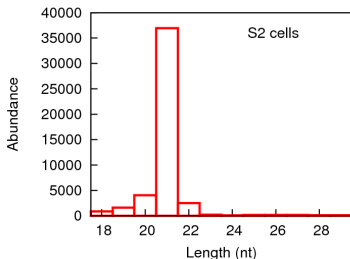
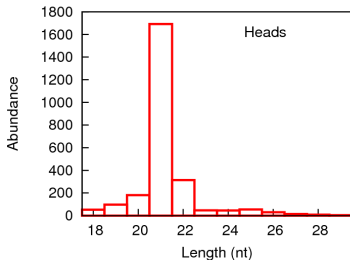
Conclusion



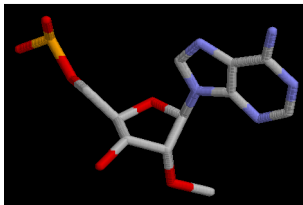
Nécessitent Dcr-2

siRNA endogènes chez la Drosophile

La génomique des
petits ARN
régulateurs chez
les Animaux



Nécessitent Dcr-2



Introduction

Une troisième
classe d'ARN
régulateurs

siRNA endogènes

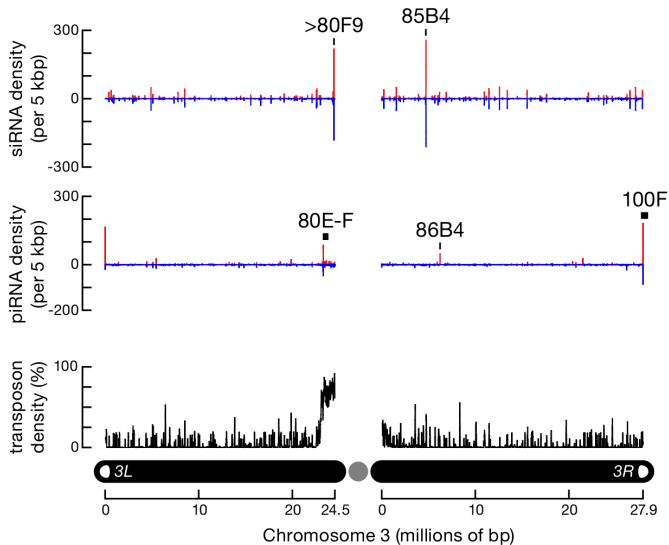
Précision des
extrémités des
miRNA

Évolution des
petits ARN
régulateurs chez
les Animaux

Conclusion

siRNA endogènes chez la Drosophile

La génomique des
petits ARN
régulateurs chez
les Animaux



Introduction

Une troisième
classe d'ARN
régulateurs

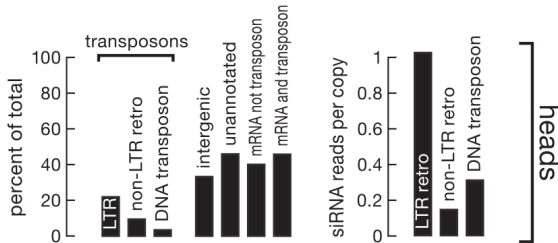
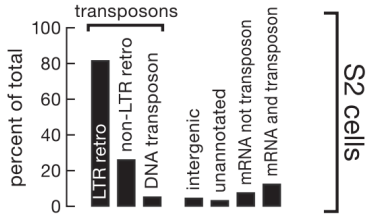
siRNA endogènes

Précision des
extrémités des
miRNA

Évolution des
petits ARN
régulateurs chez
les Animaux

Conclusion

Les endo-siRNA répriment les transposons



Introduction

Une troisième
classe d'ARN
régulateurs

siRNA endogènes

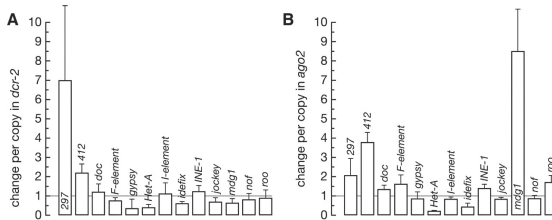
Précision des
extrémités des
miRNA

Évolution des
petits ARN
régulateurs chez
les Animaux

Conclusion

Les endo-siRNA répriment les transposons

In vivo :



Introduction

Une troisième
classe d'ARN
régulateurs

siRNA endogènes

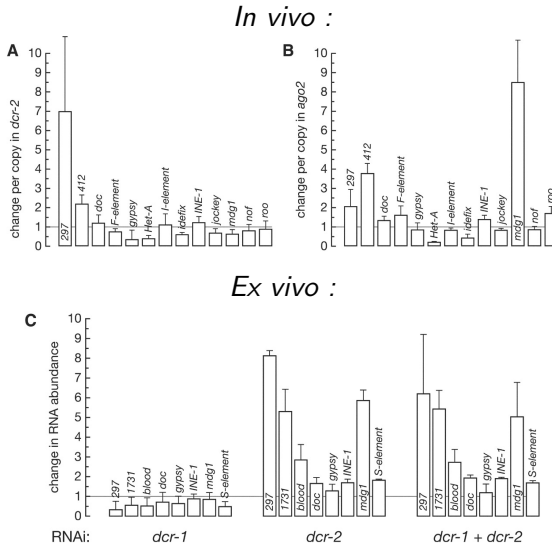
Précision des
extrémités des
miRNA

Évolution des
petits ARN
régulateurs chez
les Animaux

Conclusion

(Michael Horwich)

Les endo-siRNA répriment les transposons



(Michael Horwich)

Introduction

Une troisième
classe d'ARN
régulateurs

siRNA endogènes

Précision des
extrémités des
miRNA

Évolution des
petits ARN
régulateurs chez
les Animaux

Conclusion

Hétérogénéité des extrémités des miRNA

La génomique des
petits ARN
régulateurs chez
les Animaux

Introduction

Une troisième
classe d'ARN
régulateurs

siRNA endogènes

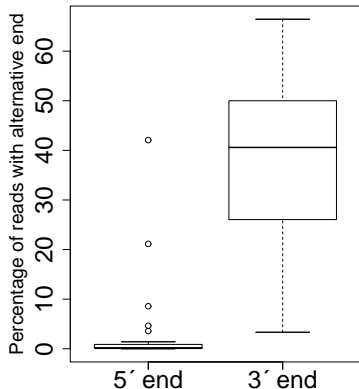
**Précision des
extrémités des
miRNA**

Évolution des
petits ARN
régulateurs chez
les Animaux

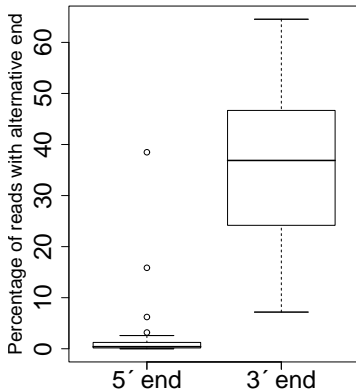
Conclusion

Hétérogénéité des extrémités des miRNA

MiRNA cleavage inaccuracies in fly heads



MiRNA cleavage inaccuracies in S2 cells



Introduction

Une troisième
classe d'ARN
régulateurs

siRNA endogènes

Précision des
extrémités des
miRNA

Évolution des
petits ARN
régulateurs chez
les Animaux

Conclusion

Drosha et Dicer ont la même fidélité

► Biogenèse

► cellules S2

La génomique des
petits ARN
régulateurs chez
les Animaux

Introduction

Une troisième
classe d'ARN
régulateurs

siRNA endogènes

Précision des
extrémités des
miRNA

Évolution des
petits ARN
régulateurs chez
les Animaux

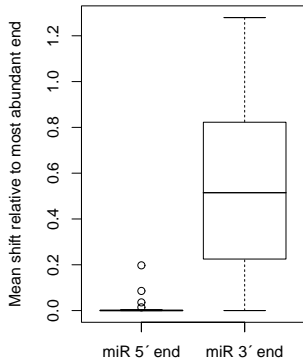
Conclusion

Drosha et Dicer ont la même fidélité

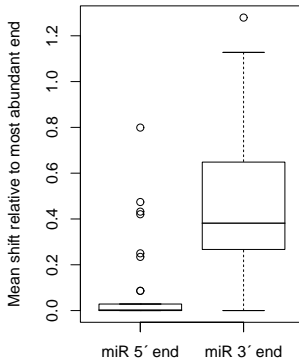
La génomique des
petits ARN
régulateurs chez
les Animaux

► Biogenèse

**5'-originating miRs,
fly heads**



**3'-originating miRs,
fly heads**



Introduction

Une troisième
classe d'ARN
régulateurs

siRNA endogènes

Précision des
extrémités des
miRNA

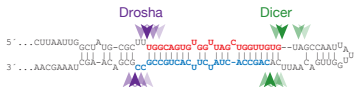
Évolution des
petits ARN
régulateurs chez
les Animaux

Conclusion

► cellules S2

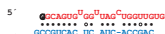
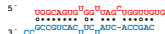
L'hypothèse du chargement sélectif

La génomique des
petits ARN
régulateurs chez
les Animaux



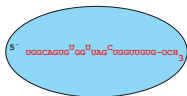
Precise Drosha and
Dicer cleavages

Imprecise Drosha and
Dicer cleavages

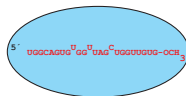


Ago2 loading, 2'-O-methylation

Ago2 loading, 2'-O-methylation



Ago2



Ago2

Introduction

Une troisième
classe d'ARN
régulateurs

siRNA endogènes

Précision des
extrémités des
miRNA

Évolution des
petits ARN
régulateurs chez
les Animaux

Conclusion

Les ARN chargés sur Ago2 ont des 5' homogènes

La génomique des
petits ARN
régulateurs chez
les Animaux

Introduction

Une troisième
classe d'ARN
régulateurs

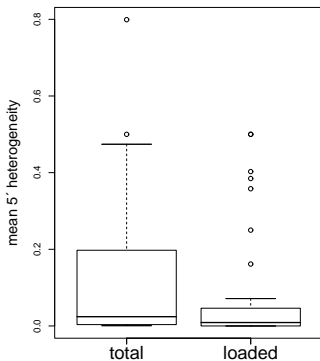
siRNA endogènes

Précision des
extrémités des
miRNA

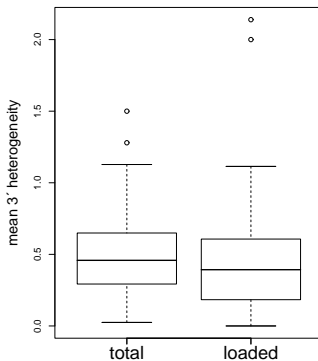
Évolution des
petits ARN
régulateurs chez
les Animaux

Conclusion

Every heterogeneous miRNA and miRNA* in fly heads;
p-value = 0.018



Every heterogeneous miRNA and miRNA* in fly heads;
p-value = 0.15



Les siRNA et les piRNA sont-ils redondants ?

La génomique des
petits ARN
régulateurs chez
les Animaux

Introduction

Une troisième
classe d'ARN
régulateurs

siRNA endogènes

Précision des
extrémités des
miRNA

Évolution des
petits ARN
régulateurs chez
les Animaux

Conclusion

Les siRNA et les piRNA sont-ils redondants ?

- ▶ Fonction connue des piRNA : la répression des séquences répétées dans la lignée germinale.

Les siRNA et les piRNA sont-ils redondants ?

- ▶ Fonction connue des piRNA : la répression des séquences répétées dans la lignée germinale.
- ▶ Les siRNA répriment les séquences répétées (entre autres) dans la lignée germinale et le soma.

Les siRNA et les piRNA sont-ils redondants ?

- ▶ Fonction connue des piRNA : la répression des séquences répétées dans la lignée germinale.
- ▶ Les siRNA répriment les séquences répétées (entre autres) dans la lignée germinale et le soma.

Les siRNA pourraient-ils remplacer les piRNA ? Ou les piRNA ont-ils des fonctions supplémentaires inconnues ?

Introduction

Une troisième
classe d'ARN
régulateurs

siRNA endogènes

Précision des
extrémités des
miRNA

Évolution des
petits ARN
régulateurs chez
les Animaux

Conclusion

Petits ARN dans le règne animal

La génomique des
petits ARN
régulateurs chez
les Animaux

Introduction

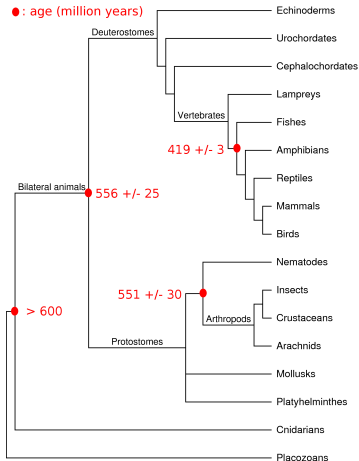
Une troisième
classe d'ARN
régulateurs

siRNA endogènes

Précision des
extrémités des
miRNA

Évolution des
petits ARN
régulateurs chez
les Animaux

Conclusion



Petits ARN dans le règne animal

La génomique des
petits ARN
régulateurs chez
les Animaux

Introduction

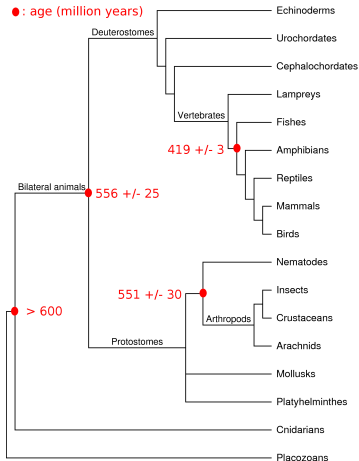
Une troisième
classe d'ARN
régulateurs

siRNA endogènes

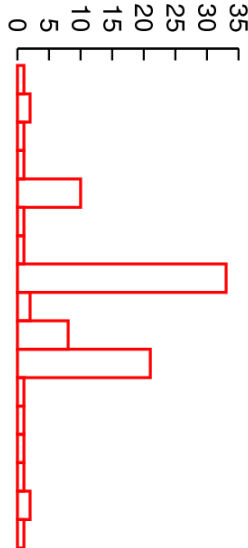
Précision des
extrémités des
miRNA

Évolution des
petits ARN
régulateurs chez
les Animaux

Conclusion



Sequenced genomes



Protéines associées aux petits ARN chez *Nematostella*

Protéine	Nombre chez <i>Nematostella</i>	Fonction
AGO	2	Fixent miRNA et siRNA
Piwi	3	Fixent les piRNAs
Dicer	2	Dernière étape de la biogenèse des miRNA ; biogenèse des siRNA
Drosha	1	Première étape de la biogenèse des miRNA
Hen1	1	Méthylation des piRNAs et siRNA (quelques miRNAs)

Introduction

Une troisième
classe d'ARN
régulateurs

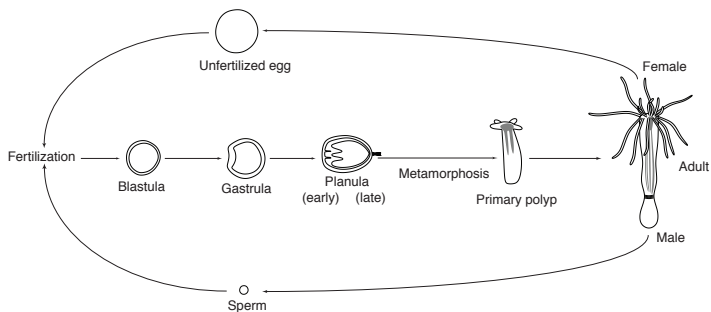
siRNA endogènes

Précision des
extrémités des
miRNA

Évolution des
petits ARN
régulateurs chez
les Animaux

Conclusion

Cycle de *Nematostella*



La génomique des
petits ARN
régulateurs chez
les Animaux

Introduction

Une troisième
classe d'ARN
régulateurs

siRNA endogènes

Précision des
extrémités des
miRNA

Évolution des
petits ARN
régulateurs chez
les Animaux

Conclusion

Séquençage de petits ARN de *Nematostella*

- ▶ Neuf stades développementaux ;

Séquençage de petits ARN de *Nematostella*

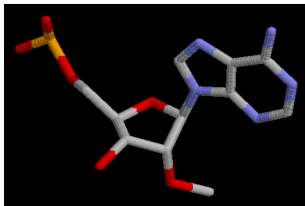
- ▶ Neuf stades développementaux ;
- ▶ avec l'aide de Liang Meng Wee ;

Séquençage de petits ARN de *Nematostella*

- ▶ Neuf stades développementaux ;
- ▶ avec l'aide de Liang Meng Wee ;
- ▶ chaque échantillon : oxydé, et non traité ;

Séquençage de petits ARN de *Nematostella*

- ▶ Neuf stades développementaux ;
- ▶ avec l'aide de Liang Meng Wee ;
- ▶ chaque échantillon : oxydé, et non traité ;



2'-OMe : protégé → séquencé dans les deux banques
2'-OH : sensible → séquencé dans la banque non
traîtée uniquement

Introduction

Une troisième
classe d'ARN
régulateurs

siRNA endogènes

Précision des
extrémités des
miRNA

Évolution des
petits ARN
régulateurs chez
les Animaux

Conclusion

Séquençage de petits ARN de *Nematostella*

- ▶ Neuf stades développementaux ;
- ▶ avec l'aide de Liang Meng Wee ;
- ▶ chaque échantillon : oxydé, et non traité ;
- ▶ traitement informatique : sélection des séquences qui matchent parfaitement sur le génome, mais pas sur les ARN abondants (ARNr, ARNt, snRNA et snoRNA) ;

Introduction

Une troisième
classe d'ARN
régulateurs

siRNA endogènes

Précision des
extrémités des
miRNA

Évolution des
petits ARN
régulateurs chez
les Animaux

Conclusion

Séquençage de petits ARN de *Nematostella*

- ▶ Neuf stades développementaux ;
- ▶ avec l'aide de Liang Meng Wee ;
- ▶ chaque échantillon : oxydé, et non traité ;
- ▶ traitement informatique : sélection des séquences qui matchent parfaitement sur le génome, mais pas sur les ARN abondants (ARNr, ARNt, snRNA et snoRNA) ;
- ▶ de 2,1 à 4,6 millions de séquences qui matchent sur le génome, et pas sur les ARN abondants, dans chaque banque.

Introduction

Une troisième
classe d'ARN
régulateurs

siRNA endogènes

Précision des
extrémités des
miRNA

Évolution des
petits ARN
régulateurs chez
les Animaux

Conclusion

Séquençage de petits ARN de *Nematostella*

La génomique des
petits ARN
régulateurs chez
les Animaux

Introduction

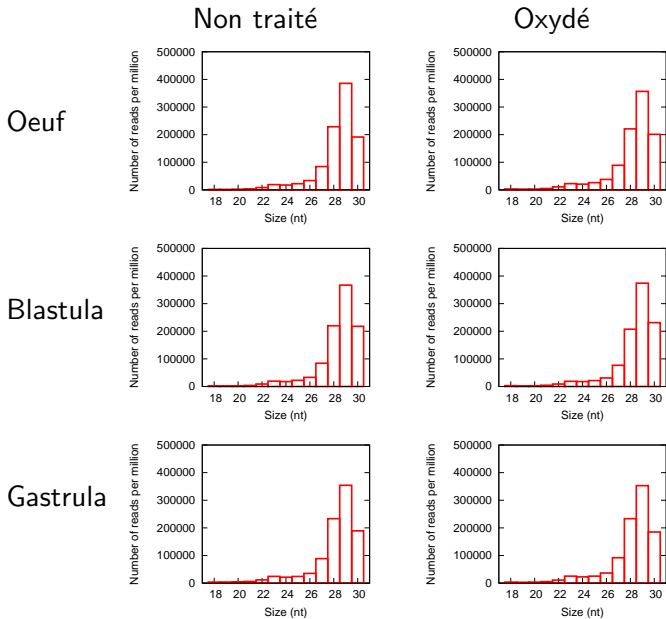
Une troisième
classe d'ARN
régulateurs

siRNA endogènes

Précision des
extrémités des
miRNA

Évolution des
petits ARN
régulateurs chez
les Animaux

Conclusion



Séquençage de petits ARN de *Nematostella*

La génomique des
petits ARN
régulateurs chez
les Animaux

Introduction

Une troisième
classe d'ARN
régulateurs

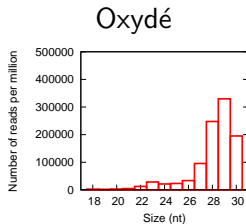
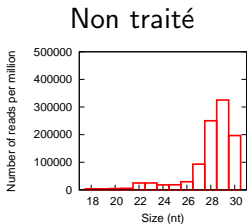
siRNA endogènes

Précision des
extrémités des
miRNA

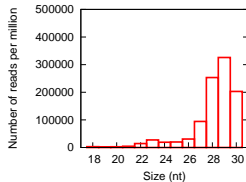
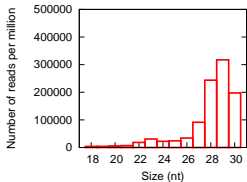
Évolution des
petits ARN
régulateurs chez
les Animaux

Conclusion

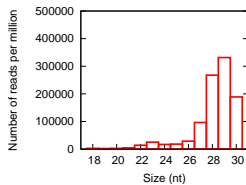
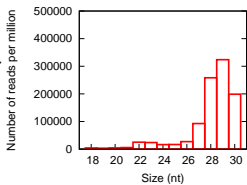
Planula
précoce



Planula
tardive



Métamor-
phose



Séquençage de petits ARN de *Nematostella*

La génomique des
petits ARN
régulateurs chez
les Animaux

Introduction

Une troisième
classe d'ARN
régulateurs

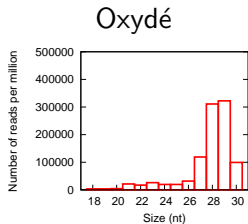
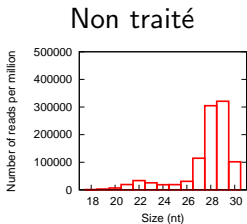
siRNA endogènes

Précision des
extrémités des
miRNA

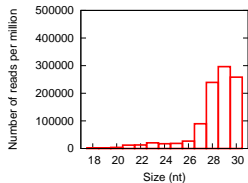
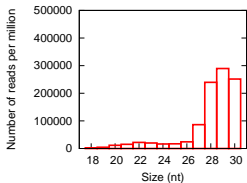
Évolution des
petits ARN
régulateurs chez
les Animaux

Conclusion

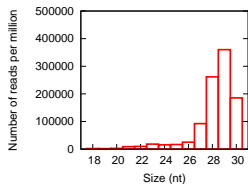
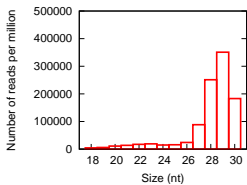
Polype
pri-
maire



Mâle
adulte



Femelle
adulte



Identification des miRNA

La génomique des
petits ARN
régulateurs chez
les Animaux

Introduction

Une troisième
classe d'ARN
régulateurs

siRNA endogènes

Précision des
extrémités des
miRNA

Évolution des
petits ARN
régulateurs chez
les Animaux

Conclusion

Identification des miRNA

▶ biogenèse des miRNA

La génomique des
petits ARN
régulateurs chez
les Animaux

Introduction

Une troisième
classe d'ARN
régulateurs

siRNA endogènes

Précision des
extrémités des
miRNA

Évolution des
petits ARN
régulateurs chez
les Animaux

Conclusion

Identification des miRNA

▸ biogenèse des miRNA

Stabilité des tiges-boucles des pre-miRNA ?

La génomique des
petits ARN
régulateurs chez
les Animaux

Introduction

Une troisième
classe d'ARN
régulateurs

siRNA endogènes

Précision des
extrémités des
miRNA

Évolution des
petits ARN
régulateurs chez
les Animaux

Conclusion

Identification des miRNA

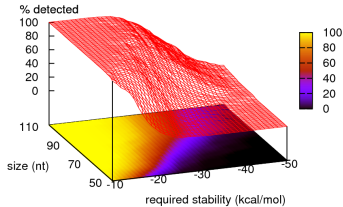
► biogenèse des miRNA

Stabilité des tiges-boucles des pre-miRNA ?

Deux paramètres : la longueur de la séquence repliée, et le seuil de stabilité.

Identification des miRNA

Pre-miRNAs :



La génomique des
petits ARN
régulateurs chez
les Animaux

Introduction

Une troisième
classe d'ARN
régulateurs

siRNA endogènes

Précision des
extrémités des
miRNA

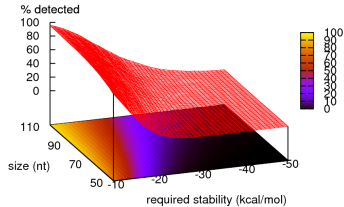
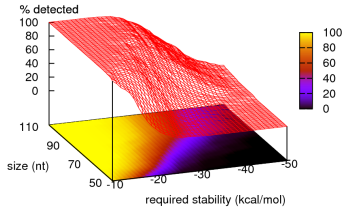
Évolution des
petits ARN
régulateurs chez
les Animaux

Conclusion

Identification des miRNA

Pre-miRNAs :

Contrôles négatifs :



Introduction

Une troisième
classe d'ARN
régulateurs

siRNA endogènes

Précision des
extrémités des
miRNA

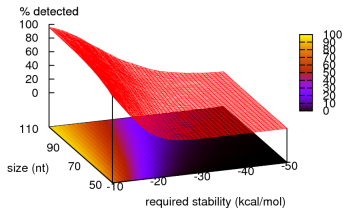
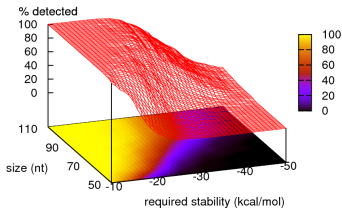
Évolution des
petits ARN
régulateurs chez
les Animaux

Conclusion

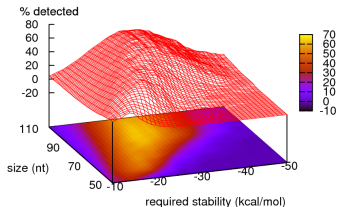
Identification des miRNA

Pre-miRNAs :

Contrôles négatifs :



Différence :



La génomique des
petits ARN
régulateurs chez
les Animaux

Introduction

Une troisième
classe d'ARN
régulateurs

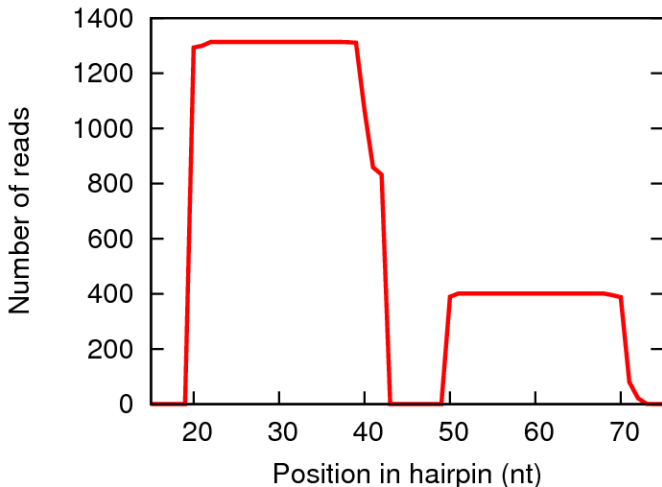
siRNA endogènes

Précision des
extrémités des
miRNA

Évolution des
petits ARN
régulateurs chez
les Animaux

Conclusion

Identification des miRNA



AGGCUUGCUUGUUGGUAUUUUUGCAUCUGUUGCACAUUGCGAUUUUACCAAAAUGCAAUUCU

((..(((.....(((((((..(((((((.....))))))))).....)))))).....)))))).....))

Introduction

Une troisième
classe d'ARN
régulateurs

siRNA endogènes

Précision des
extrémités des
miRNA

Évolution des
petits ARN
régulateurs chez
les Animaux

Conclusion

Identification des miRNA

Grimson *et al.* (2008) : ont identifié 40 miRNAs chez *N. vectensis*.

La génomique des
petits ARN
régulateurs chez
les Animaux

Introduction

Une troisième
classe d'ARN
régulateurs

siRNA endogènes

Précision des
extrémités des
miRNA

Évolution des
petits ARN
régulateurs chez
les Animaux

Conclusion

Identification des miRNA

Grimson *et al.* (2008) : ont identifié 40 miRNAs chez *N. vectensis*.

En réalité beaucoup plus (≈ 250).

Identification des miRNA

Grimson *et al.* (2008) : ont identifié 40 miRNAs chez *N. vectensis*.

En réalité beaucoup plus (≈ 250).

Davantage que chez certains Vertébrés.

Identification des miRNA

Grimson *et al.* (2008) : ont identifié 40 miRNAs chez *N. vectensis*.

En réalité beaucoup plus (≈ 250).

Davantage que chez certains Vertébrés : si le répertoire de miRNA corrèle avec la complexité, alors *Nematostella* est complexe.

Identification des miRNA

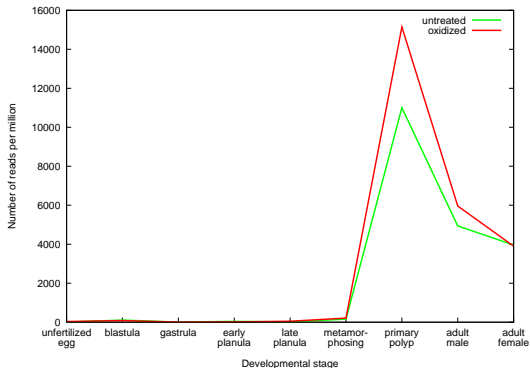
Grimson *et al.* (2008) : ont identifié 40 miRNAs chez *N. vectensis*.

En réalité beaucoup plus (≈ 250).

Davantage que chez certains Vertébrés : si le répertoire de miRNA corrèle avec la complexité, alors *Nematostella* est complexe (mais cette question a-t-elle un sens?).

siRNA endogènes chez *Nematostella*

Expression de 5'-AAAGAAGUACAAGUGGUAGGG-3' :



Introduction

Une troisième
classe d'ARN
régulateurs

siRNA endogènes

Précision des
extrémités des
miRNA

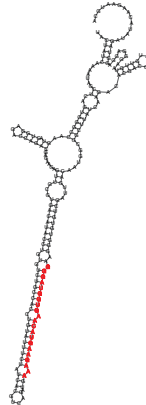
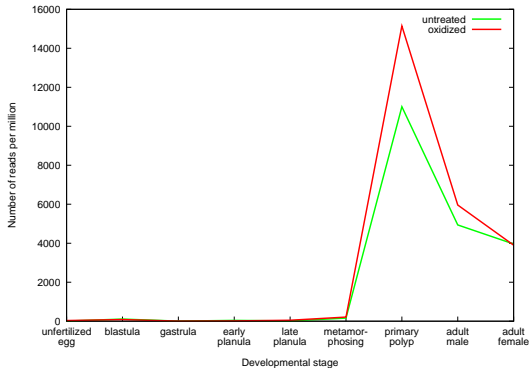
Évolution des
petits ARN
régulateurs chez
les Animaux

Conclusion

siRNA endogènes chez *Nematostella*

La génomique des
petits ARN
régulateurs chez
les Animaux

Expression de 5'-AAAGAAGUACAAGUGGUAGGG-3' :



Introduction

Une troisième
classe d'ARN
régulateurs

siRNA endogènes

Précision des
extrémités des
miRNA

Évolution des
petits ARN
régulateurs chez
les Animaux

Conclusion

Les piRNA chez *Nematostella*

La génomique des
petits ARN
régulateurs chez
les Animaux

Introduction

Une troisième
classe d'ARN
régulateurs

siRNA endogènes

Précision des
extrémités des
miRNA

Évolution des
petits ARN
régulateurs chez
les Animaux

Conclusion

Les piRNA chez *Nematostella*

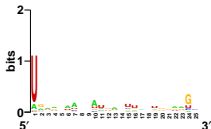
La génomique des
petits ARN
régulateurs chez
les Animaux

Femelles adultes, après oxydation :

23-mères :

24-mères :

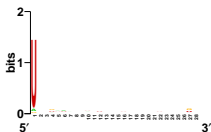
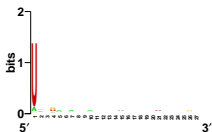
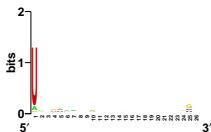
25-mères :



26-mères :

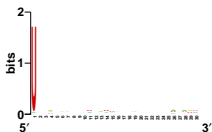
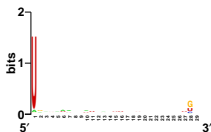
27-mères :

28-mères :



29-mères :

30-mères :



Introduction

Une troisième
classe d'ARN
régulateurs

siRNA endogènes

Précision des
extrémités des
miRNA

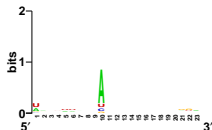
Évolution des
petits ARN
régulateurs chez
les Animaux

Conclusion

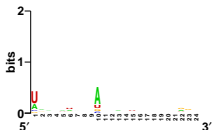
Les piRNA chez *Nematostella*

Femelles adultes, après oxydation :

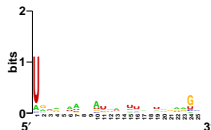
23-mères :



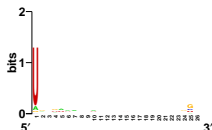
24-mères :



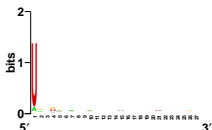
25-mères :



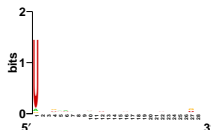
26-mères :



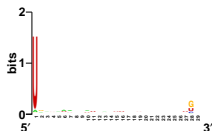
27-mères :



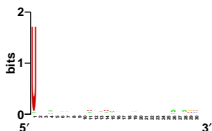
28-mères :



29-mères :



30-mères :



Introduction

Une troisième
classe d'ARN
régulateurs

siRNA endogènes

Précision des
extrémités des
miRNA

Évolution des
petits ARN
régulateurs chez
les Animaux

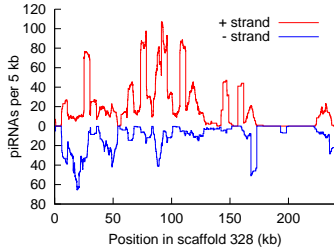
Conclusion

Les piRNA chez *Nematostella*

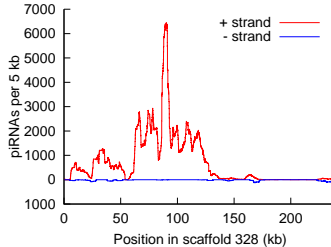
La génomique des
petits ARN
régulateurs chez
les Animaux

Femelles adultes, après oxydation :

23-mères :



29-mères :



Introduction

Une troisième
classe d'ARN
régulateurs

siRNA endogènes

Précision des
extrémités des
miRNA

Évolution des
petits ARN
régulateurs chez
les Animaux

Conclusion

Conclusion

La génomique des petits ARN :

- ▶ faible contenu informatif dans la molécule mature

Conclusion

La génomique des petits ARN :

- ▶ faible contenu informatif dans la molécule mature (modules fonctionnels et régulateurs dans le reste du précurseur)

Conclusion

La génomique des petits ARN :

- ▶ faible contenu informatif dans la molécule mature (modules fonctionnels et régulateurs dans le reste du précurseur)
- ▶ siRNA et piRNA proviennent souvent de séquences répétées

Conclusion

La génomique des petits ARN :

- ▶ faible contenu informatif dans la molécule mature (modules fonctionnels et régulateurs dans le reste du précurseur)
- ▶ siRNA et piRNA proviennent souvent de séquences répétées (analyse probabiliste des patrons de hits génomiques)

Introduction

Une troisième
classe d'ARN
régulateurs

siRNA endogènes

Précision des
extrémités des
miRNA

Évolution des
petits ARN
régulateurs chez
les Animaux

Conclusion

Conclusion

La génomique des petits ARN :

- ▶ faible contenu informatif dans la molécule mature (modules fonctionnels et régulateurs dans le reste du précurseur)
- ▶ siRNA et piRNA proviennent souvent de séquences répétées (analyse probabiliste des patrons de hits génomiques)
- ▶ malgré un intérêt croissant de la communauté, plusieurs mystères demeurent

Introduction

Une troisième
classe d'ARN
régulateurs

siRNA endogènes

Précision des
extrémités des
miRNA

Évolution des
petits ARN
régulateurs chez
les Animaux

Conclusion

Conclusion

La génomique des petits ARN :

- ▶ faible contenu informatif dans la molécule mature (modules fonctionnels et régulateurs dans le reste du précurseur)
- ▶ siRNA et piRNA proviennent souvent de séquences répétées (analyse probabiliste des patrons de hits génomiques)
- ▶ malgré un intérêt croissant de la communauté, plusieurs mystères demeurent (combien de cibles par miRNA ? fonction biologique des piRNA ? déterminants de la production de piRNA ou de siRNA ? ...)

Introduction

Une troisième
classe d'ARN
régulateurs

siRNA endogènes

Précision des
extrémités des
miRNA

Évolution des
petits ARN
régulateurs chez
les Animaux

Conclusion

Remerciements

Phil Zamore	Megha Ghildiyal	Liang Meng Wee
Jennifer Broderick	Gwen Farley	Stefan Ameres
Fabian Flores	Ira Pekker	Chengjian Li
Jogender Singh	Elif Sarinay	

(University of Massachusetts Medical School)

Ellen Kittler and Maria Zapp (deep seq. facility, UMMS)

Fabian Rentzsch (Sars Center, Bergen, Norvège)

Rhys Probyn and Ed Enos (Woods Hole MBL, États-Unis)



Introduction

Une troisième
classe d'ARN
régulateurs

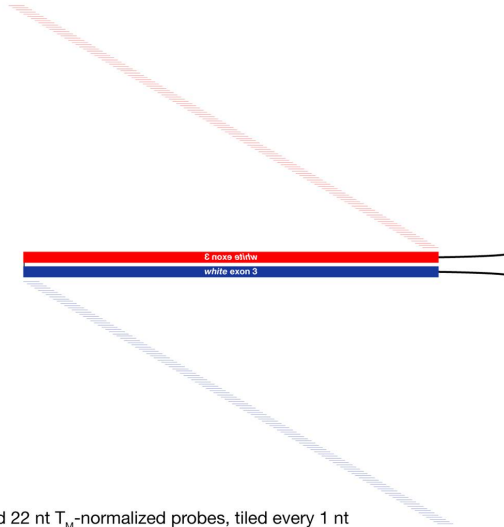
siRNA endogènes

Précision des
extrémités des
miRNA

Évolution des
petits ARN
régulateurs chez
les Animaux

Conclusion

Pavage par microarray



In situ synthesized 22 nt T_M -normalized probes, tiled every 1 nt

Séquençage à haut débit

Ligation d'adaptateurs 5' et 3' sur l'échantillon d'ARN

Introduction

Une troisième
classe d'ARN
régulateurs

siRNA endogènes

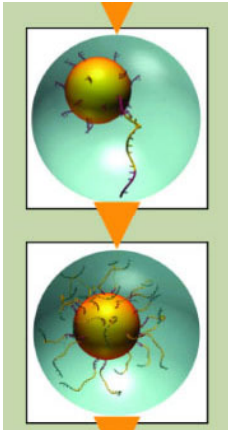
Précision des
extrémités des
miRNA

Évolution des
petits ARN
régulateurs chez
les Animaux

Conclusion

Séquençage à haut débit

Ligation d'adaptateurs 5' et 3' sur l'échantillon d'ARN



Introduction

Une troisième
classe d'ARN
régulateurs

siRNA endogènes

Précision des
extrémités des
miRNA

Évolution des
petits ARN
régulateurs chez
les Animaux

Conclusion

Drosha et Dicer ont la même fidélité

La génomique des
petits ARN
régulateurs chez
les Animaux

Introduction

Une troisième
classe d'ARN
régulateurs

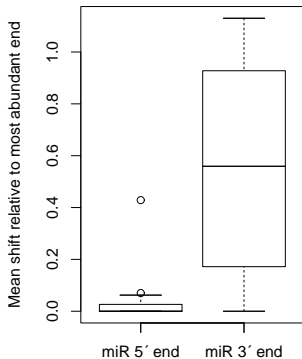
siRNA endogènes

Précision des
extrémités des
miRNA

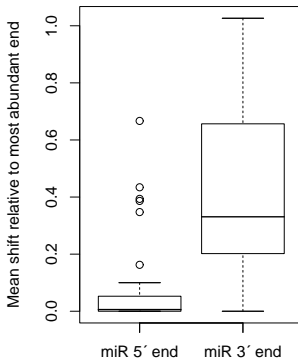
Évolution des
petits ARN
régulateurs chez
les Animaux

Conclusion

5'-originating miRs,
S2 cells



3'-originating miRs,
S2 cells



Les ARN chargés sur Ago2 ont des 5' homogènes

La génomique des
petits ARN
régulateurs chez
les Animaux

Introduction

Une troisième
classe d'ARN
régulateurs

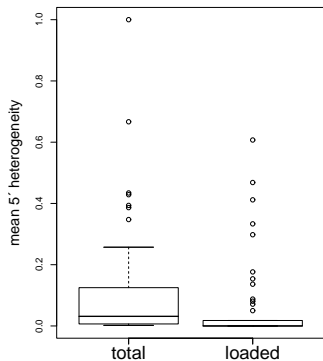
siRNA endogènes

Précision des
extrémités des
miRNA

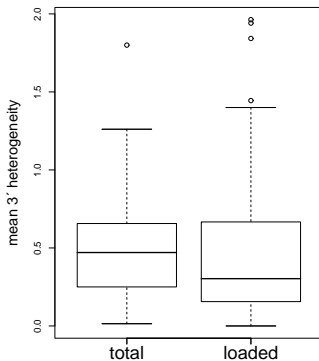
Évolution des
petits ARN
régulateurs chez
les Animaux

Conclusion

Every heterogeneous miRNA and miRNA* in S2 cells;
p-value = $2.9e-05$



Every heterogeneous miRNA and miRNA* in S2 cells;
p-value = 0.058



siRNA endogènes chez *Nematostella*

La génomique des
petits ARN
régulateurs chez
les Animaux

Introduction

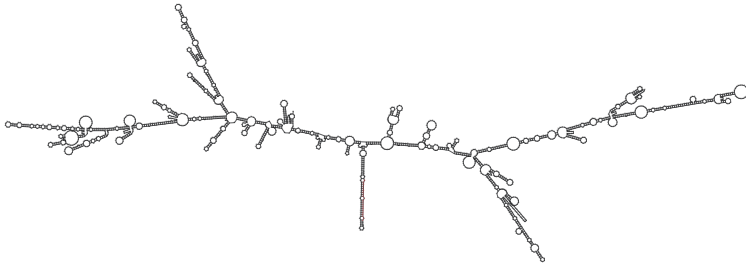
Une troisième
classe d'ARN
régulateurs

siRNA endogènes

Précision des
extrémités des
miRNA

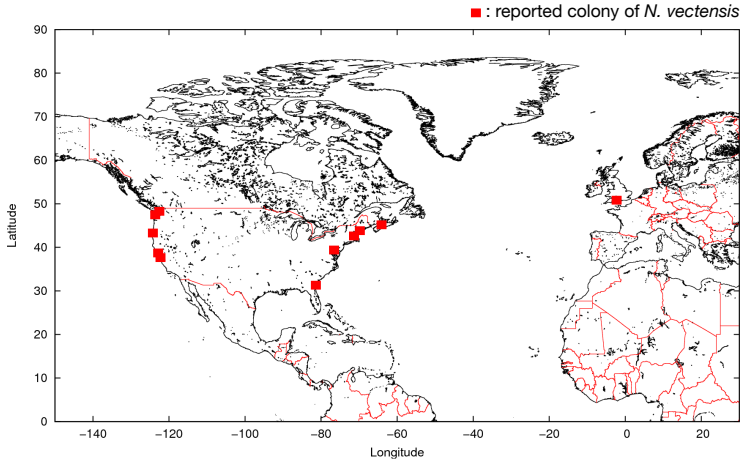
Évolution des
petits ARN
régulateurs chez
les Animaux

Conclusion



Conclusion

La génomique des
petits ARN
régulateurs chez
les Animaux



Introduction

Une troisième
classe d'ARN
régulateurs

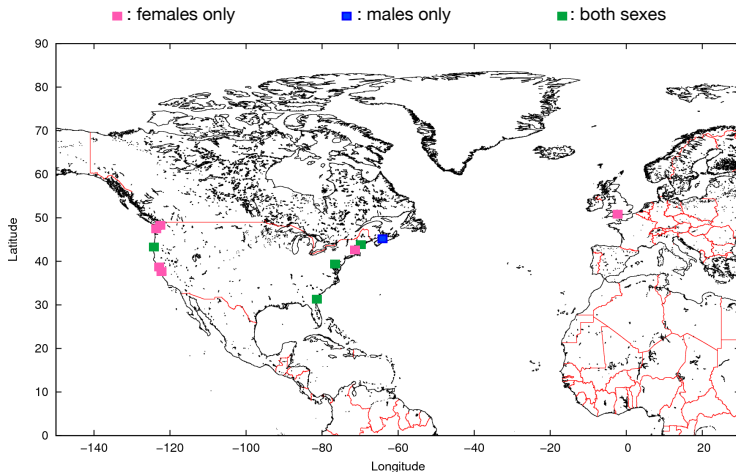
siRNA endogènes

Précision des
extrémités des
miRNA

Évolution des
petits ARN
régulateurs chez
les Animaux

Conclusion

Conclusion



La génomique des
petits ARN
régulateurs chez
les Animaux

Introduction

Une troisième
classe d'ARN
régulateurs

siRNA endogènes

Précision des
extrémités des
miRNA

Évolution des
petits ARN
régulateurs chez
les Animaux

Conclusion