

Projet 3 : Enzymes de maturation de l'ARN

Personnel permanent impliqué

Béatrice Golinelli-Pimpanneau (DR2 CNRS), Djemel Hamdane (CR1 CNRS), Murielle Lombard (CR1 CNRS), Bruno Faivre (IE CDF), Marc Fontecave (Pr CDF).

Les ARN sont impliqués dans des processus biologiques variés tels que le codage, décodage, la régulation et l'expression des gènes. En particulier, les ARN de transfert (ARNt) sont des molécules clé de la machinerie traductionnelle, qui assurent le décodage des codons successifs de l'ARN messenger (ARNm) au sein du ribosome, permettant la synthèse de la protéine correspondant à la séquence de l'ARNm. Dans la plupart des organismes, les gènes non codant comme ceux de l'ARNt sont transcrits en ARN précurseurs, qui subissent une transformation ultérieure, tandis que le de l'ARNm est crucial pour le contrôle de l'expression des gènes. A l'aide des outils de la biologie moléculaire, de la chimie des protéines, de la biophysique et de la biologie structurale, nous étudions plusieurs ribonucléases et enzymes de modification post-transcriptionnelle impliquées dans la dégradation des ARNm et la maturation des ARN stables.

Il a été montré récemment que le contrôle dynamique des modifications post-transcriptionnelles des ARN (épitranscriptome) correspond à un nouveau niveau de régulation de l'expression des gènes. Parmi toutes les espèces d'ARN, les ARNt présentent la plus grande variété de modifications chimiques et le plus haut degré de modification. Dans des conditions de stress, la reprogrammation des modifications des ARNt contribue à la survie cellulaire en assurant la synthèse de protéines spécifiques vitales pour la réponse au stress. Il a été montré que certaines pathologies sont liées à des modifications anormales des ARNt. Par exemple, certaines modifications de l'ARNt sont surexprimées dans des tissus cancéreux tandis que la déficience en certaines autres modifications est à l'origine de maladies spécifiques, telles que les myopathies mitochondriales.

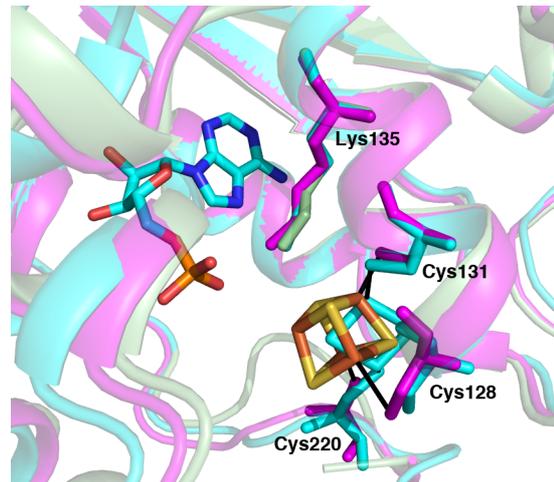
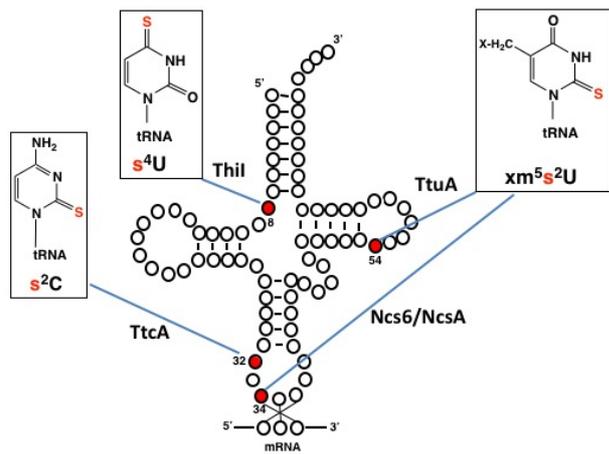
Nous cherchons à caractériser biochimiquement et structuralement ces différentes enzymes de maturation de l'ARN. Afin de comprendre la base structurale de leur mécanisme de catalyse, nous essayons de cristalliser ces protéines seules et en complexe avec leur substrat ARN. La connaissance de la structure tridimensionnelle par diffraction aux rayons X, couplée à des études biophysiques et biochimiques et à la modélisation moléculaire, permet de mettre en évidence le mode d'activation du substrat, le mécanisme catalytique et la dynamique de la catalyse et de mieux comprendre les mécanismes de reconnaissance entre les enzymes et leur substrat ARN spécifique. Nous étudions aussi l'interaction de ces enzymes avec leurs partenaires protéiques.

1- Biosynthèse des nucléosides contenant du soufre et du sélénium

Responsable : Béatrice Golinelli-Pimpanneau

Le soufre est un élément essentiel pour de nombreux constituants cellulaires (dont les protéines et les ARNs) dans tous les organismes vivants. Plusieurs nucléosides contenant du soufre sont présents dans les ARNt: la thiouridine et ses dérivés (s^4U8 , s^2U34 , m^5s^2U54), les dérivés de la 2-thioadénosine (ms^2i^6A37 , ms^2t^6A37) et la 2-thiocytidine (s^2C32). Il a été récemment montré par différents laboratoires indépendants, dont le nôtre, que la formation ATP-dépendante de s^2C32 , s^2U54 , s^4U8 et s^2U34 dans certains ARNt dépend d'enzymes contenant un centre fer-soufre [Fe-S], nommées

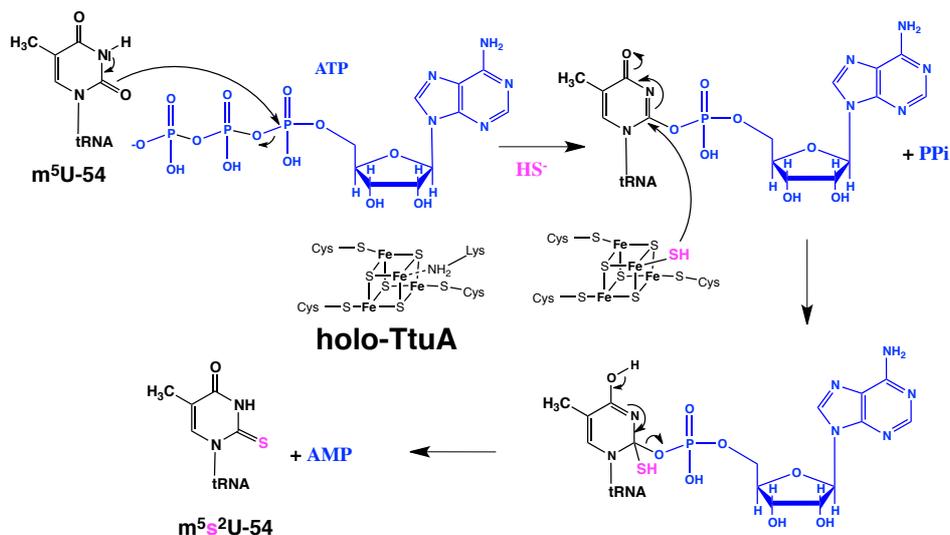
respectivement **TtcA**, **TtuA**, **ThiI** et **NcsA** (*Nucleic Acids Res*, 2014, 42: 7960-7970; *Proc Natl Acad Sci USA* 2017, 114: 4954-4959; *Proc Natl Acad Sci USA*, 2017, 114: 7355-7360; *Proc Natl Acad Sci USA*, 2016, 113: 12703-12708 ; Figure ci-dessous, gauche). Notre projet vise à continuer la caractérisation *in vitro* de cette famille d'enzymes de thiolation qui ciblent différentes positions dans l'ARNt (8, 32, 34 or 54) par des méthodes biochimiques et par cristallographie des rayons X. En effet, des structures cristallines ne sont connues que pour l'apo (sans centre [Fe-S]) et l'holo-TtuA (avec centre [Fe-S]; Figure ci-dessous, droite), et aucune structure en complexe avec l'ARN n'a été déterminée.



Thiolations dépendantes d'un centre [Fe-S] dans les ARNt.

Structure du site actif de TtuA montrant la proximité entre l'AMP et le centre [4Fe-4S] (*Proc Natl Acad Sci USA*, 2017, 114: 7355-7360).

De plus, nous voulons confirmer le mécanisme de thiolation de l'ARNt que nous avons proposé, dans lequel le quatrième fer du centre catalytique [4Fe-4S] sert à lier un soufre exogène, servant ainsi de transporteur de soufre (*Proc Natl Acad Sci USA*, 2017, 114: 7355-7360).



Mécanisme proposé pour la réaction catalysée par TtuA dans lequel le centre [4Fe-4S] joue le rôle de transporteur de soufre, permettant plusieurs cycles catalytiques (*Proc Natl Acad Sci USA*, 2017, 114: 7355-7360).

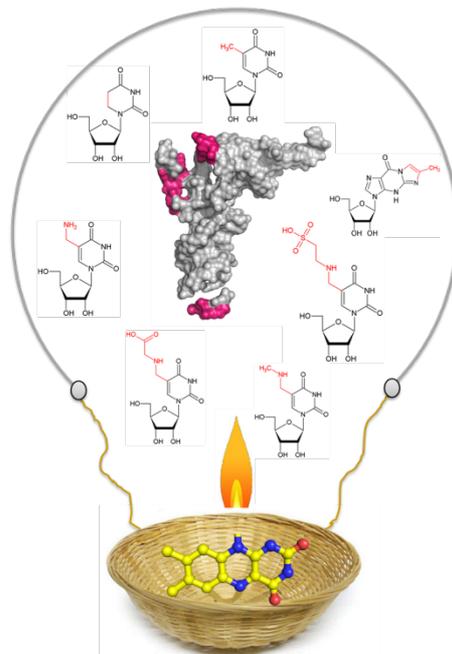
Finalement, nous voulons caractériser les enzymes orthologues Ncs6/Ctu1, catalysant la thiolation en position 34 des ARNt chez les mammifères, dont on connaît peu de choses, et comprendre la façon dont cette modification pourrait réguler la synthèse des protéines dans certaines conditions de croissance.

Le sélénonucléoside le plus abondant, le 5-méthylaminométhyl-2-sélénouridine ($\text{mm}^5\text{se}^2\text{U}$), présent à la position 34 (position wobble) des ARNt des trois domaines de vie, joue un rôle important dans la précision des interactions codon-anticodon et donc dans la fidélité de la traduction. Nous étudions aussi la **2-sélénouridine synthase MnmH** qui catalyse le remplacement du soufre présent sur le C2 de l'uridine modifiée en position 34 dans la boucle anticodon des ARNt par le sélénium, pour former le nucléoside hypermodifié $\text{mm}^5\text{se}^2\text{U}$.

2- Epitranscriptomique dépendante de Flavine

Responsables: Murielle Lombard and Djemel Hamdane

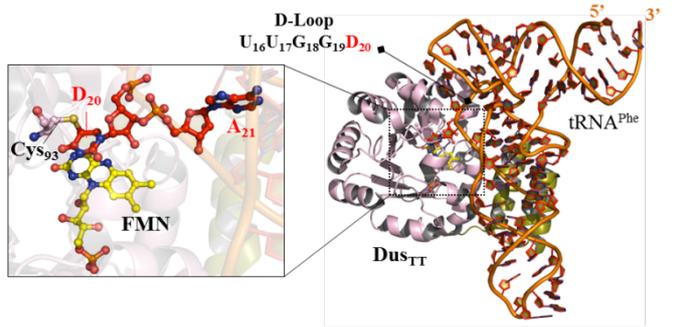
A ce jour, il existe sept modifications d'ARN qui dépendent de l'activité d'une flavoenzyme, permettant au cofacteur de flavine d'entrer dans le nouveau monde épitranscriptomique. Nos principaux objectifs sont d'étudier les relations structure/fonction de ces flavoenzymes.



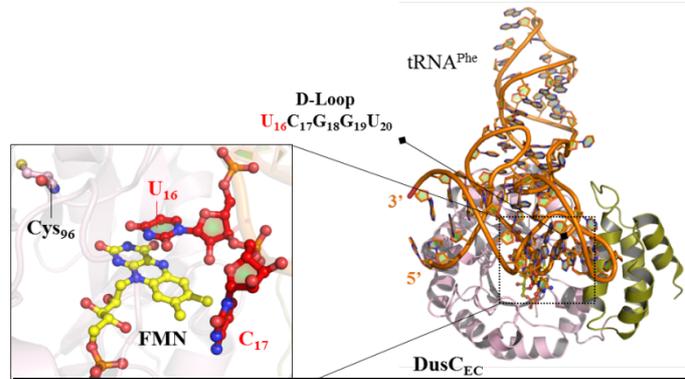
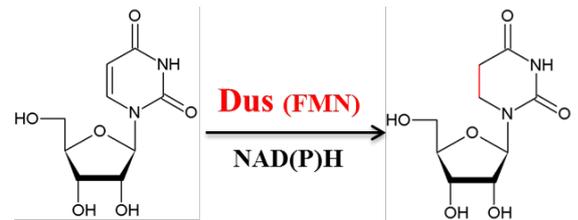
1. La dihydrouridine et la famille des dihydrouridine synthases dépendantes du FMN

La synthèse de dihydrouridine est catalysée par une grande famille d'enzymes dépendantes de la FMN nommées dihydrouridine synthases (Dus) qui emploient NADPH comme agent réducteur de flavine. L'analyse phylogénétique a classé ces flavoenzymes en trois groupes principaux et huit sous-familles, qui ont tous évolué grâce à des duplications indépendantes d'un gène ancestral *dus*. Le premier groupe

trouvé dans les procaryotes regroupe trois Dus (Dus A, B et C) tandis que le second est eucaryote et contient quatre enzymes différentes (Dus 1 à 4). Le dernier groupe est caractérisé par un Dus unique observé seulement dans les archées. Notre objectif à long terme est de caractériser la relation structure/fonction des enzymes bactériennes et eucaryotes.

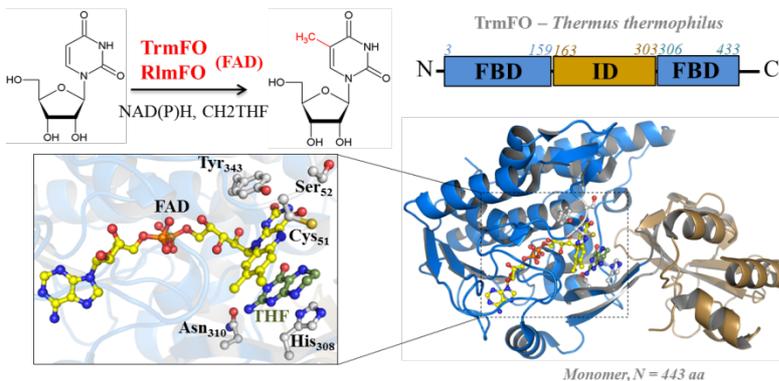


Réaction catalysée par les enzymes Dus



Structure 3D des Dus bactériennes en complexe avec un ARNt substrat.

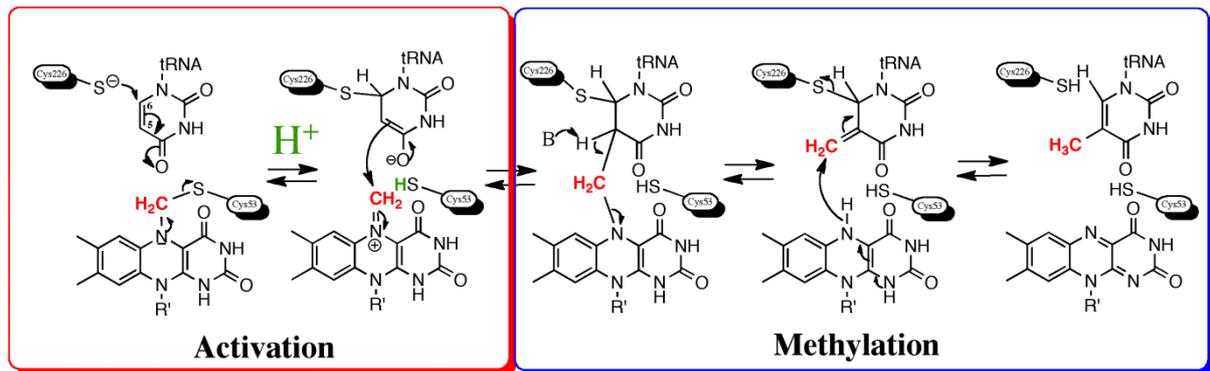
2. Méthylation réductrice des ARNt et ARNr par une nouvelle classe d'ARN méthyltransférases dépendantes de la flavine et du folate.



Dans la plupart des organismes vivants, la 5-méthyluridine (m^5U) est synthétisée par des méthyltransférases indépendantes de la S-adenosylméthionine (SAM), qui transfèrent directement un groupe méthyle du cofacteur SAM au carbone C5-uracile par une simple réaction SN2. Cependant, dans les bactéries Gram positives et dans plusieurs mycoplasmes, cette méthylation se déroule par un procédé multi-

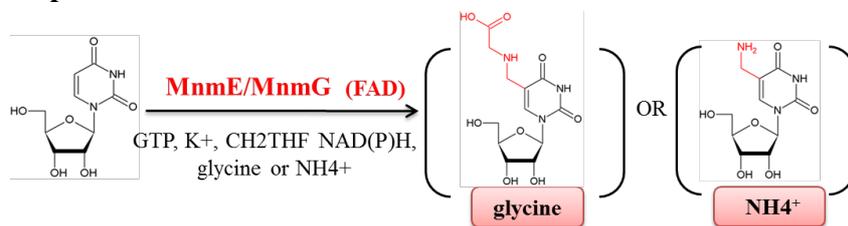
étapes beaucoup plus complexe impliquant le N5, le méthylène tétrahydrofolate (CH_2THF) utilisé comme donneur de méthylène et l'hydroquinone à faible teneur en flavine adénine et dinucléotide (FADH). Ce type de réaction alternatif, également appelé méthylation réductrice, est catalysé par des flavoenzymes caractéristiques dénommées m^5U54 tRNA méthyltransferase FAD / folate-dépendant (TrmFO) et m^5U1939 rRNA méthyltransferase FAD/folate-dépendante (RlmFO) selon la nature du substrat utilisé, l'ARNt et ARNr, respectivement. L'importance de la réaction catalysée par TrmFO

comme faisant partie du mécanisme d'adaptation de l'organisme en réponse aux changements physiques de son environnement a récemment été découverte. Notre caractérisation étendue sur TrmFO a conduit à la découverte récente que la flavine peut fonctionner comme un agent de méthylation d'ARN sans précédent. Ce nouvel agent se présente sous la forme d'un dérivé unique de méthylène-iminium de flavine. La même espèce de $\text{CH}_2 = \text{FAD}$ est utilisée par la thymidylate synthase dépendante de la flavine bactérienne ThyX, une flavoenzyme trouvée dans plusieurs agents pathogènes humains et qui catalyse la conversion vitale du dUMP en dTMP. Notre objectif à long terme est de caractériser en détail ce mécanisme en utilisant la chimie synthétique, la biologie structurale de la biochimie ainsi que les outils biophysiques.



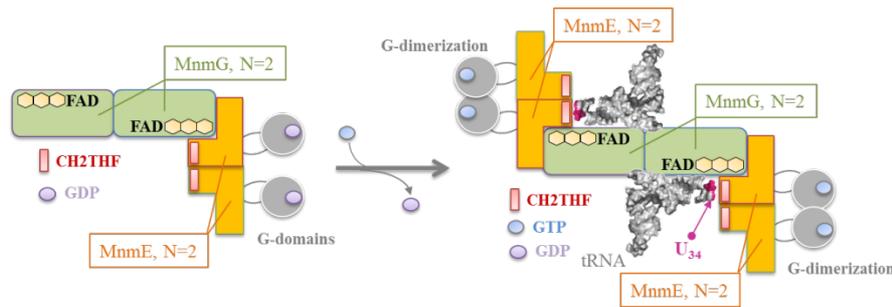
Mécanisme de méthylation de l'ARNt par TrmFO (Hamdane D, et al. *J Am Chem Soc.* 2012 134(48):19739.

3. Un complexe flavoenzyme contrôle la traduction via l'hypermodification de l'uridine en position « wobble » des ARNt.



Dans les bactéries, les 5-carboxyméthylaminométhyle (cmnm^5) et 5-aminométhyle (nm^5) appartenant à la famille des modifications xm^5U sont synthétisées par un hétérocomplexe

enzymatique conservé impliquant un composant flavoenzyme. Pour certaines espèces d'ARNt, ces substituants C5 peuvent servir d'intermédiaires dans les voies métaboliques de la modification de mnm^5U . Le complexe hétérotétramérique formé par deux protéines, MnmE et MnmG, utilise un mélange impressionnant compliqué consistant en GTP, K^+ , CH_2THF et glycine ou NH_4^+ pour catalyser ces modifications xm^5U . Chacune de ces protéines forme un homodimère stable à la fois à l'intérieur et à l'extérieur du complexe. GTPBP3 et MTO1 sont les homologues humains de MnmE et MnmG, respectivement. Ces protéines sont synthétisées dans le noyau et transportées vers les mitochondries afin de modifier les ARNt d'organelle. Actuellement, il n'existe pas de caractérisation biochimique et structurale de ces enzymes, mais on sait que le complexe GTPBP3 / MTO1 catalyse la formation de 5-taurinométhyluridine 34 (tm^5U_{34}) en utilisant de la taurine au lieu de la glycine. MTO1 et GTPBP3 sont importants car plusieurs mutations génétiques de ces protéines sont associées à des maladies graves telles que la myopathie mitochondriale, la cardiomyopathie hypertrophique, l'encéphalopathie, l'acidose lactique. Notre objectif à long terme est de comprendre comment les complexes bactériens et humains fonctionnent de manière synergique pour catalyser ces modifications complexes. La relation structure/fonction de ces complexes nous aiderait à comprendre la base moléculaire des pathologies humaines.



Représentation schématique du fonctionnement du complexe MnmE/MnmG

3- Les ribonucléases des ARNm.

L'instabilité de l'ARN messager est cruciale pour le contrôle de l'expression des gènes. L'endoribonucléase Y (**RNase Y**), récemment découverte, est un acteur important qui régule le métabolisme de l'ARN dans de nombreuses bactéries Gram⁺. De plus, la RNase Y n'est pas présente chez les eucaryotes et il a été montré qu'elle est impliquée dans la régulation de l'expression de gènes de virulence chez plusieurs pathogènes de l'homme (*Staphylococcus*, *Streptococcus*), ce qui en fait une cible potentielle pour la recherche de nouveaux antibiotiques.

La RNase Y est ancrée à la membrane par son domaine N-terminal intrinsèquement désordonné, qui est censé faciliter la liaison de partenaires multiples au sein d'un complexe de type dégradosome. Notre but est d'étudier la structure de la RNase Y pour nous éclairer sur sa fonction et son mode d'action et pour comprendre ses interactions avec ses partenaires protéiques.

Méthodes et expertises :

- Clonage, surexpression et purification de protéines recombinantes
- transcription in vitro et purification d'ARN
- mutagenèse dirigée
- enzymologie
- méthodes thermodynamiques (ITC) et cinétique (cinétique rapide: stopped-flow)
- spectroscopie (UV, visible, IR, dichroïsme circulaire, fluorescence, diffusion de la lumière)
- spectrométrie de masse des acides nucléiques et protéines
- cristallisation, cristallographie aux rayons X des protéines et analyse des structures
- modélisation moléculaire

Collaborations

- **Damien Brégeon**, Biology of Aging and Adaptation UPMC, 75005 Paris
- **Vincent Guérineau**, Laboratoire de Spectrométrie de Masse, ICSN, Gif-sur-Yvette
- **Carine Tisné**, UMR8261 Expression Génétique Microbienne CNRS, Université Paris Diderot
- **Sophie Sacquin-Mora** Laboratoire de Biochimie Théorique, CNRS UPR9080, Paris
- **Sun Un**, Service de Bioénergétique Biologie Structurale et Mécanismes, CNRS, Institut de Biologie et Technologies de Saclay, CEA Saclay, Gif-sur-Yvette
- **Pascal Plaza**, ENS - Département de chimie Photochimie Ultrarapide UMR 8640
- **Mohammed Atta**, Laboratoire de Chimie et Biologie des Métaux, CEA-CNRS, Grenoble
- **Harald Putzer**, Institut de Biologie Physicochimique, 75005 Paris
- **Catherine Venien-Bryan**, Institut de Minéralogie, de Physique des Matériaux et de Cosmochimie, UMR 7590, CNRS, UPMC, IRD, MNHN, 75005 Paris
- **Carine van Heijenoort**, Structural Chemistry and Biology Team, Institut de Chimie des Substances Naturelles, CNRS UPR 2301, Université Paris-Sud, Université Paris-Saclay, Gif-sur-Yvette
- **Jean-Luc Ravanat**, Université de Grenoble Alpes, CEA, iNAC, SyMMES, Grenoble
- **Pierre Legrand**, Synchrotron SOLEIL, L'Orme des Merisiers, Saint Aubin, Gif-sur-Yvette
- **Laurent Binet**, Institut de Recherche de Recherche Renard, Chimie-ParisTech, CNRS, 11 rue Pierre et Marie Curie, 75005 Paris

Publications

2019

Conformational Stability Adaptation of a Double-Stranded RNA-Binding Domain to Transfer RNA Ligand. **Bou-Nader C**, **Pecqueur L**, Barraud P, **Fontecave M**, Tisné C, Sacquin-Mora S, **Hamdane D**. *Biochemistry*. 2019 May 21;58(20):2463-2473.

Ultrafast photoinduced flavin dynamics in the unusual active site of the tRNA methyltransferase TrmFO. Dozova N, Lacombat F, **Bou-Nader C**, **Hamdane D**, Plaza P. *Phys Chem Chem Phys*. 2019 Apr 24;21(17):8743-8756.

Molecular basis for transfer RNA recognition by the double-stranded RNA-binding domain of human dihydrouridine synthase 2. **Bou-Nader C**, Barraud P, **Pecqueur L**, Pérez J, Velours C, Shepard W, **Fontecave M**, Tisné C, **Hamdane D**. *Nucleic Acids Res*. 2019 Apr 8;47(6):3117-3126.

2018

Dissociation of the dimer of the intrinsically disordered domain of RNase Y upon antibody binding. **Hardouin P**, Velours C, **Bou-Nader C**, Assrir N., Laalami S., Putzer H., Durand D., **Golinelli-Pimpaneau B**. *Biophys. J.*, 115(11):2102-2113

Electrostatic Potential in the tRNA Binding Evolution of Dihydrouridine Synthases. **Bou-Nader C**, Brégeon D, **Pecqueur L**, **Fontecave M**, **Hamdane D**. *Biochemistry*. 2018 Sep 18;57(37):5407-5414.

Unveiling structural and functional divergences of bacterial tRNA dihydrouridine synthases: perspectives on the evolution scenario. **Bou-Nader C**, Montémont H, Guérineau V, Jean-Jean O, Brégeon D, **Hamdane D**. *Nucleic Acids Res*. 2018 Feb 16;46(3):1386-1394.

2017

Enzyme Activation with a Synthetic Catalytic Co-enzyme Intermediate: Nucleotide Methylation by Flavoenzymes. **Bou-Nader C**, Cornu D, Guérineau V, **Fogeron T**, **Fontecave M**, **Hamdane D**. *Angew Chem Int Ed Engl*. 2017 Oct 2;56(41):12523-12527

Flavin-dependent epitranscriptomic world. **Lombard M, Hamdane D**. Arch Biochem Biophys. 2017 Jun 15. pii: S0003-9861(17)30269-2.

Nonredox thiolation in tRNA occurring via sulfur activation by a [4Fe-4S] cluster. **Arragain S, Bimai O, Legrand P, Caillat S, Ravanat JL, Touati N, Binet L, Atta M, Fontecave M, Golinelli-Pimpaneau B**. Proc Natl Acad Sci U S A. 2017 Jul 11;114(28):7355-7360.

2016

Flavin-Dependent Methylation of RNAs: Complex Chemistry for a Simple Modification. **Hamdane D, Grosjean H, Fontecave M**. J Mol Biol. 2016 Dec 4;428:4867-4881.

A chemical chaperone induces inhomogeneous conformational changes in flexible proteins. **Hamdane D, Velours C, Cornu D, Nicaise M, Lombard M, Fontecave M**. Phys Chem Chem Phys. 2016 Jul 27;18(30):20410-21.

2015

An extended dsRBD is required for post-transcriptional modification in human tRNAs. **Bou-Nader C, Pecqueur L, Bregeon D, Kamah A, Guérineau V, Golinelli-Pimpaneau B, Guimarães BG, Fontecave M, Hamdane D**. Nucleic Acids Res. 2015 Oct 30;43(19):9446-56.

Flavin-Protein Complexes: Aromatic Stacking Assisted by a Hydrogen Bond. **Hamdane D, Bou-Nader C, Cornu D, Hui-Bon-Hoa G, Fontecave M**. Biochemistry. 2015 Jul 21;54(28):4354-64.

2014

Dynamics of RNA modification by a multi-site-specific tRNA methyltransferase. **Hamdane D, Guelorget A, Guérineau V, Golinelli-Pimpaneau B**. Nucleic Acids Res. 2014 Oct;42(18):11697-706.

TtcA a new tRNA-thioltransferase with an Fe-S cluster. **Bouvier D, Labessan N, Clémancey M, Latour JM, Ravanat JL, Fontecave M, Atta M**. Nucleic Acids Res. 2014 Jul;42(12):7960-70.

2013

Activation of a unique flavin-dependent tRNA-methylating agent. **Hamdane D, Bruch E, Un S, Field M, Fontecave M**. Biochemistry. 2013 Dec 10;52(49):8949-56. Two Fe-S clusters catalyze sulfur insertion by radical-SAM methylthiotransferases.

Two Fe-S clusters catalyze sulfur insertion by radical-SAM methylthiotransferases. **Forouhar F, Arragain S, Atta M, Gambarelli S, Mouesca JM, Hussain M, Xiao R, Kieffer-Jaquinod S, Seetharaman J, Acton TB, Montelione GT, Mulliez E, Hunt JF, Fontecave M**. Nat Chem Biol. 2013 May;9(5):333-8.

2012

FAD/folate-dependent tRNA methyltransferase: flavin as a new methyl-transfer agent. **Hamdane D, Argentini M, Cornu D, Golinelli-Pimpaneau B, Fontecave M**. J Am Chem Soc. 2012 Dec 5;134(48):19739-45.

4-Demethylwyosine synthase from *Pyrococcus abyssi* is a radical-S-adenosyl-L-methionine enzyme with an additional [4Fe-4S](+2) cluster that interacts with the pyruvate co-substrate. **Perche-Letuvée P, Kathirvelu V, Berggren G, Clémancey M, Latour JM, Maurel V, Douki T, Armengaud J, Mulliez E, Fontecave M, Garcia-Serres R, Gambarelli S, Atta M**. J Biol Chem. 2012 Nov 30;287(49):41174-85.

The methylthiolation reaction mediated by the Radical-SAM enzymes. Atta M, **Arragain S**, **Fontecave M**, Mulliez E, Hunt JF, Luff JD, Forouhar F. *Biochim Biophys Acta*. 2012 Nov;1824(11):1223-30.

2011

Methylations: a radical mechanism. **Fontecave M**. *Chem Biol*. 2011 May 27;18(5):559-61.

Mechanism-based strategies for trapping and crystallizing complexes of RNA-modifying enzymes. Guelorget A, **Golinelli-Pimpaneau B**. *Structure*. 2011 Mar 9;19(3):282-91.

Insights into folate/FAD-dependent tRNA methyltransferase mechanism: role of two highly conserved cysteines in catalysis. **Hamdane D**, Argentini M, Cornu D, Myllykallio H, Skouloubris S, Hui-Bon-Hoa G, **Golinelli-Pimpaneau B**. *J Biol Chem*. 2011 Oct 21;286(42):36268-80.

A catalytic intermediate and several flavin redox states stabilized by folate-dependent tRNA methyltransferase from *Bacillus subtilis*. **Hamdane D**, Guérineau V, Un S, **Golinelli-Pimpaneau B**. *Biochemistry*. 2011 Jun 14;50(23):5208-19.

Structural comparison of tRNA m1A58 methyltransferases revealed different molecular strategies to maintain their oligomeric architecture under extreme conditions. Guelorget A, Barraud P, Tisné C, **Golinelli-Pimpaneau B**. *BMC Struct Biol*. 2011 Dec 14;11:48.

Deficit of tRNA(Lys) modification by Cdkal1 causes the development of type 2 diabetes in mice. Wei FY, Suzuki T, Watanabe S, Kimura S, Kaitsuka T, Fujimura A, Matsui H, Atta M, Michiue H, **Fontecave M**, Yamagata K, Suzuki T, Tomizawa K. *J Clin Invest*. 2011 Sep;121(9):3598-608.

2010

S-Adenosylmethionine-dependent radical-based modification of biological macromolecules. Atta M, Mulliez E, **Arragain S**, Forouhar F, Hunt JF, **Fontecave M**. *Curr Opin Struct Biol*. 2010 Dec;20(6):684-92.

Identification of eukaryotic and prokaryotic methylthiotransferase for biosynthesis of 2-methylthio-N6-threonylcarbamoyladenosine in tRNA. **Arragain S**, Handelman SK, Forouhar F, Wei FY, Tomizawa K, Hunt JF, Douki T, **Fontecave M**, Mulliez E, Atta M. *J Biol Chem*. 2010 Sep 10;285(37):28425-33.

Insights into the hyperthermostability and unusual region-specificity of archaeal *Pyrococcus abyssi* tRNA m1A57/58 methyltransferase. Guelorget A, Roovers M, Guérineau V, Barbey C, Li X, **Golinelli-Pimpaneau B**. *Nucleic Acids Res*. 2010 Oct;38(18):6206-18.

Expression and purification of untagged and histidine-tagged folate-dependent tRNA:m5U54 methyltransferase from *Bacillus subtilis*. **Hamdane D**, Skouloubris S, Myllykallio H, **Golinelli-Pimpaneau B**. *Protein Expr Purif*. 2010 Sep;73(1):83-9.

Post-translational modification of ribosomal proteins: structural and functional characterization of RimO from *Thermotoga maritima*, a radical S-adenosylmethionine methylthiotransferase. **Arragain S**, Garcia-Serres R, Blondin G, Douki T, Clemancey M, Latour JM, Forouhar F, Neely H, Montelione GT, Hunt JF, Mulliez E, **Fontecave M**, Atta M. *J Biol Chem*. 2010 Feb 19;285(8):5792-801.

2009

Snapshots of dynamics in synthesizing N(6)-isopentenyladenosine at the tRNA anticodon. Chimnarong S, Forouhar F, Sakai J, Yao M, Tron CM, Atta M, **Fontecave M**, Hunt JF, Tanaka I. *Biochemistry*. 2009 Jun 16;48(23):5057-65.

2008

New light on methylthiolation reactions. **Fontecave M**, Mulliez E, Atta M. *Chem Biol*. 2008 Mar;15(3):209-10.

Crystal structure of *Thermus thermophilus* tRNA m1A58 methyltransferase and biophysical characterization of its interaction with tRNA. Barraud P, **Golinelli-Pimpaneau B**, Atmanene C, Sanglier S, Van Dorsselaer A, Droogmans L, Dardel F, Tisné C. *J Mol Biol*. 2008 Mar 21;377(2):535-50.

The carboxyl-terminal extension of yeast tRNA m5C methyltransferase enhances the catalytic efficiency of the amino-terminal domain. Walbott H, Auxilien S, Grosjean H, **Golinelli-Pimpaneau B**. *J Biol Chem*. 2007 Aug 10;282(32):23663-71.

Acquisition of a bacterial RumA-type tRNA(uracil-54, C5)-methyltransferase by Archaea through an ancient horizontal gene transfer. Urbonavicius J, Auxilien S, Walbott H, Trachana K, **Golinelli-Pimpaneau B**, Brochier-Armanet C, Grosjean H. *Mol Microbiol*. 2008 Jan;67(2):323-35.

2007

tRNA-modifying MiaE protein from *Salmonella typhimurium* is a nonheme diiron monooxygenase. Mathevon C, Pierrel F, Oddou JL, Garcia-Serres R, Blondin G, Latour JM, Ménage S, Gambarelli S, **Fontecave M**, Atta M. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2007 Aug 14;104(33):13295-300.

MiaB, a bifunctional radical-S-adenosylmethionine enzyme involved in the thiolation and methylation of tRNA, contains two essential [4Fe-4S] clusters. Hernández HL, Pierrel F, Elleingand E, García-Serres R, Huynh BH, Johnson MK, **Fontecave M**, Atta M. *Biochemistry*. 2007 May 1;46(17):5140-7.

The carboxyl-terminal extension of yeast tRNA m5C methyltransferase enhances the catalytic efficiency of the amino-terminal domain. Walbott H, Auxilien S, Grosjean H, **Golinelli-Pimpaneau B**. *J Biol Chem*. 2007 Aug 10;282(32):23663-71.

Cysteine of sequence motif VI is essential for nucleophilic catalysis by yeast tRNA m5C methyltransferase. Walbott H, Husson C, Auxilien S, **Golinelli-Pimpaneau B**. *RNA*. 2007 Jul;13(7):967-73.