

Projet 3 : Enzymes de maturation de l'ARN

Personnel permanent impliqué

Béatrice Golinelli-Pimpaneau (DR2 CNRS), Bruno Faivre (IE CDF), Marc Fontecave (Pr CDF).

Depuis une dizaine d'années, l'importance des modifications chimiques de l'ARN, qui permet à celui-ci de ne pas être constitué seulement des quatre nucléosides canoniques, est largement reconnue. Récemment, les modifications de l'ARN ont été au centre d'une avancée scientifique, qui a eu un impact majeur non seulement sur notre vision de la science, mais aussi sur notre société dans son ensemble, puisque le prix Nobel 2023 a été décerné pour les « découvertes concernant les modifications des bases nucléosidiques qui ont permis le développement de vaccins à ARNm efficaces contre la COVID-19 ». Notre laboratoire étudie le mécanisme et la structure d'enzymes de maturation des ARN (ribonucléase et enzymes de modification des ARNt).

I Modification des ARNt

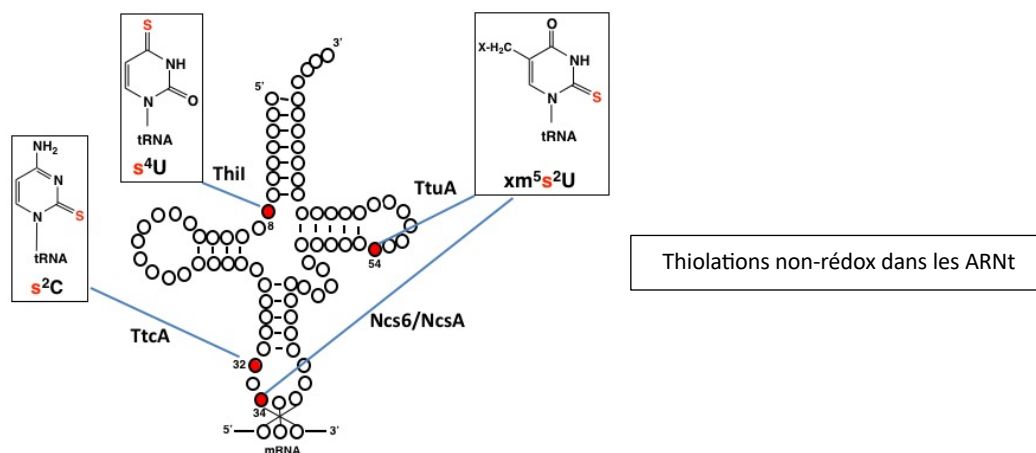
Des modifications chimiques, nombreuses et variées, en particulier dans les ARN de transfert, jouent un rôle clé dans la fidélité et l'efficacité de la traduction génétique. Il a été récemment montré que la distribution de ces modifications dans les ARNt est régulée de façon dynamique en fonction de l'environnement cellulaire, en particulier en réponse au stress oxydatif. Chez l'homme, des anomalies des modifications des ARN ou des enzymes catalysant ces modifications sont souvent liées à des maladies impliquant des défauts métaboliques, des dysfonctionnements mitochondriaux, des troubles neurologiques ou des cancers.

Ces dernières années, notre activité s'est focalisée sur l'étude biochimique et structurale de différentes enzymes de sulfuration non-rédox de l'ARNt, dépendantes d'un centre [4Fe-4S].

Un soufre est présent sur l'uridine en position 8, 34 et 54 et sur la cytidine en position 32 dans plusieurs ARNt. La formation des thionucléosides correspondants est catalysée par des enzymes spécifiques appelées ThiI/TtuI (s⁴U8) chez les bactéries et les archées, TtuA (s²U54) chez les archées et bactéries thermophiles, et TtcA (s²C32) chez les bactéries et certaines archées. La modification s²U34 est catalysée par des enzymes de type MnmA chez les bactéries et les mitochondries et de type NcsA chez les archées et le cytosol des eucaryotes.

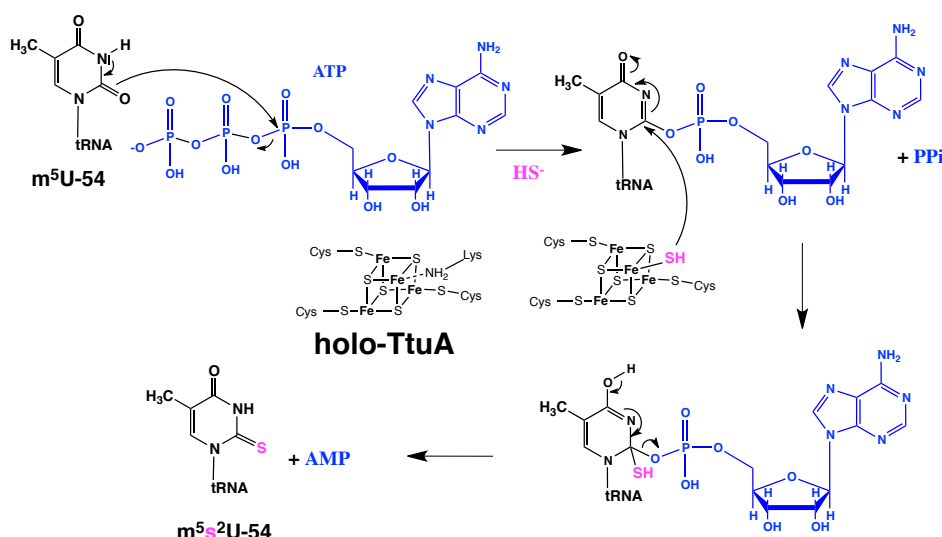
Nous avons étudié plusieurs de ces enzymes et montré qu'elles utilisent un centre [4Fe-4S] pour catalyser la réaction de thiolation des ARNt, puis publié une revue en 2024 qui récapitule tous les résultats biochimiques et cristallographiques obtenus sur ces enzymes (Gervason et al., *Biochim. Biophys. Acta. Molec. Cell Res.* 2024, 1871, 119807, doi:10.1016/j.bbamcr.2024.119807)

En 2025, nous avons écrit un article de fond pour expliquer la théorie et confronter les données des différents chercheurs sur les enzymes de sulfuration des ARNt (Gervason et al., *Accounts Chem Res*, 2025, doi: 10.1021/acs.accounts.5c00485).



1) La structure cristallographique de TtuA lié à son cluster [4Fe-4S] montre une nouvelle fonction des centres [4Fe-4S] en biologie.

Nous avons d'abord montré qu'il est possible de reconstituer un cluster [4Fe-4S] dans les enzymes TtuA en condition anaérobie et l'avons caractérisé par des méthodes spectroscopiques. Nous avons ensuite obtenu plusieurs structures cristallographiques de TtuA en anaérobie, qui ont montré que le cluster [4Fe-4S] est coordonné par seulement 3 cystéines, permettant au quatrième atome de fer de lier un ion hydrosulfure. Ceci nous a permis de proposer un mécanisme original pour la réaction de sulfuration dans lequel le cluster [4Fe-4S] joue le rôle d'acide de Lewis pour lier et activer le soufre et qui implique la formation d'un intermédiaire catalytique [4Fe-5S] (Arragain et al., *PNAS*, 2017, 114, 7355, doi: 10.1073/pnas.1700902114).



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 (Arragain et al., *PNAS*, 2017, 114: 7355-7360, doi: 10.1073/pnas.1700902114).

2) Le cluster [4Fe-4S] de MnmA, lié par deux cystéines et un aspartate, est nécessaire à la sulfuration des ARNt

Après avoir caractérisé le cluster [4Fe-4S] de TtuA, nous avons réétudié plusieurs enzymes de cette famille d'enzymes de thiolation de l'ARNt pour lesquelles un mécanisme avait été proposé précédemment, pour savoir si elles utilisaient aussi un cluster [4Fe-4S] pour la catalyse. Ainsi, nous avons montré que l'enzyme MnmA d'*E. coli*, pour laquelle un mécanisme basé sur la chimie des persulfures avait été proposé précédemment (Numata et al., *Nature*, 2006, 442, 419, doi: 10.1038/nature04896), utilise en fait, elle aussi, un centre [4Fe-4S] pour catalyser sa réaction de thiolation lorsque le sulfure inorganique est utilisé comme donneur de soufre (Zhou et al., *Nucleic Acids Res.* 2021, 49, 3997, doi: 10.1093/nar/gkab138; Gervason et al., *J Inorg Biochem.* 2025, 274, 113064, doi: 10.1016/j.jinorgbio.2025.113064). Ce nouveau mécanisme de MnmA d'*E. coli* ne pouvait être dévoilé qu'en maintenant l'holo-protéine en condition d'anaérobie stricte. Cependant, le système qui permet la maturation de MnmA n'est pas compris à ce jour car des études *in vivo* montrent que la thiolation de U34 a lieu même en absence des systèmes de biogenèse des centres [Fe-S], ISC et SUF. Nous avons par ailleurs montré (collaboration avec l'équipe du Professeur F. Barras à l'Institut Pasteur) que le thionucléoside s²U₃₄ formé par MnmA est impliqué dans la résistance des cellules en condition de stress puisqu'à pH acide ou en condition oxydative en présence de H₂O₂, une absence ou un ralentissement de la croissance cellulaire a été observé dans la souche où le gène *mnmA* a été muté, par rapport à la souche sauvage.

3) ThiI et NcsA sont dépendantes d'un cluster [4Fe-4S], et non d'un cluster [3Fe-4S]

Nous avons montré qu'une sous-classe de protéines ThiI/TtuI utilisent aussi un cluster [4Fe-4S] pour la catalyse (He et al., *Nucleic Acids Res.*, 2022, 50, 12969, doi: 10.1093/nar/gkac1156), et non un cluster [3Fe-4S] comme publié précédemment (Liu et al., *PNAS*, 2016, 113, 12703, doi: 10.1073/pnas.1615732113). Le cluster [3Fe-4S] proviendrait donc très probablement d'une dégradation du centre [4Fe-4S] par de l'oxygène résiduel. De même, il avait aussi été montré que l'enzyme NcsA de l'archée *Methanococcus maripaludis* (MmNcsA) lie un centre [3Fe-4S] (Liu et al., *PNAS*, 2016, 113, 12703, doi: 10.1073/pnas.1615732113) mais nous avons résolu la structure cristallographique de MmNcsA après reconstitution du cluster, qui montre qu'elle lie un cluster [4Fe-4S] (Bimai et al., *Sci Rep*, 2023, 13, 5351, doi: 10.1038/s41598-023-32423-9). La structure du dimère de MmNcsA est très proche du modèle AlphaFold du complexe cytosolique humain Ctu1/Ctu2, suggérant que les enzymes de sulfuration de U34-ARNt eucaryotes utilisent le même mécanisme [4Fe-4S]-dépendant que NcsA. Le complexe Ctu1/Ctu2 est essentiel pour l'intégrité du génome. De plus, l'activité de sulfuration de U34-ARNt est surexprimée dans certains cancers (notamment sein et mélanome), favorisant survie et résistance aux traitements, ce qui en fait une cible thérapeutique prometteuse.

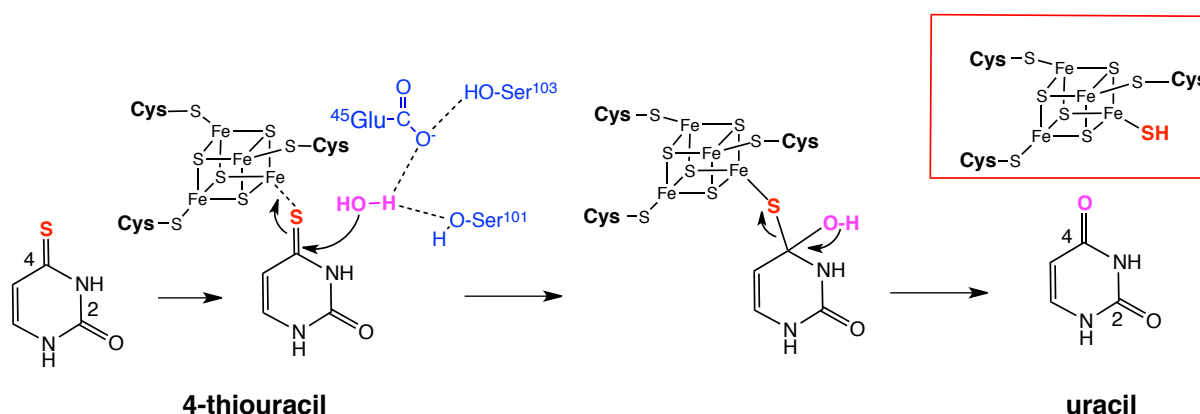
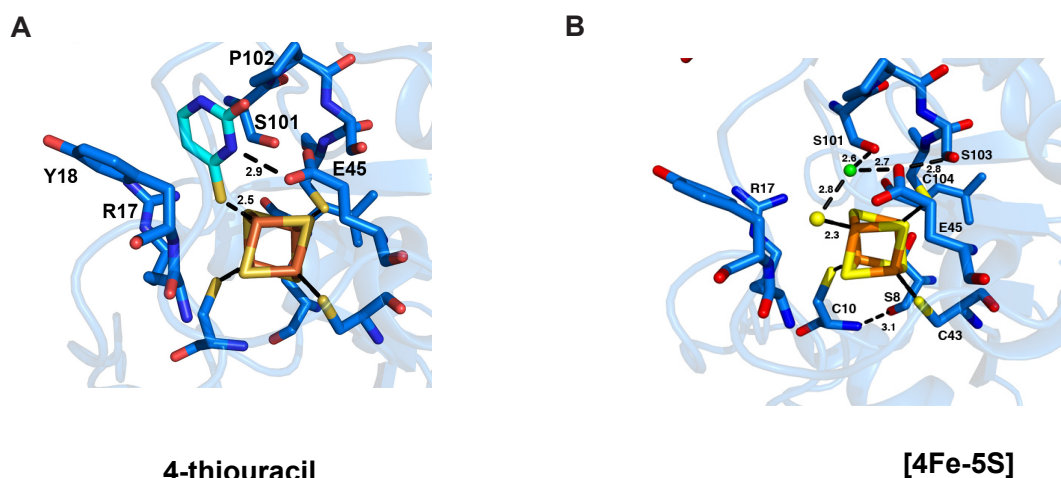
4) LarE, une enzyme de sulfuration d'une petite molécule, dépendante d'un cluster [4Fe-4S]

Récemment, nous avons montré que **ce mécanisme de sulfuration faisant intervenir très probablement un intermédiaire [4Fe-5S] s'étend également à une sous-classe d'enzymes LarE, [4Fe-4S]-dépendantes, qui catalysent successivement deux réactions de sulfuration au sein du précurseur du cofacteur de la lactate racémase.** En effet, nous avons résolu la structure cristallographique de LarE de *M. maripaludis* et observé que seuls 3 atomes de Fe du cluster [4Fe-4S] sont liés par des cystéines et que le quatrième Fe est capable de lier un ligand anionique comme un groupement phosphate ou un ion chlorure (Zecchin et al., *Protein Science*, 2024, 33, e4874, doi: 10.1002/pro.4874). Le cluster [4Fe-4S] lié à un chlorure mimerait l'intermédiaire [4Fe-5S] donneur de soufre lors de la réaction. Les études biochimiques et la structure de LarE de *Lactobacillus plantarum* avaient montré précédemment que l'enzyme sacrifie l'atome de soufre d'une cystéine conservée pour donner le soufre pour la réaction de sulfuration, conduisant ainsi à la formation de déshydroalanine (Fellner, *PNAS*, 2017, 114, 9074, doi: 10.1073/pnas.1704967114). Les deux sous-familles d'enzymes LarE apparaissent donc utiliser deux mécanismes très différents pour sulfurer leur substrat respectif, en agissant catalytiquement ou de manière sacrificielle.

5) TudS, une enzyme de désulfuration des ARNt, dépendante d'un cluster [4Fe-4S]

De façon intéressante, nous avons mis en évidence par cristallographie et diffusion anormale l'intermédiaire [4Fe-5S] lors de la désulfuration du thiouracile, catalysée par la thiouracil désulfisase TudS (Zhou et al., *Angew Chem Int Ed Engl.* 2021, 60, 424, doi: 10.1002/anie.202011211; Fuchs et al.,

Commun. Biol., 2023, 7, 1092, doi: 10.1038/s42003-023-05450-5), réaction inverse de la réaction de sulfuration.



Mécanisme proposé pour la désulfuration du 4-thiouracile par TudS impliquant la formation d'un intermédiaire [4Fe-5S] (Zhou et al. *Angew Chem Intl Ed*, 2021, 160, 424-431, doi: 10.1002/anie.202011211). **A** Modèle du complexe 4-thiouracil/TudS. **B** Structure cristalline de l'intermédiaire [4Fe-5S]. **C** Mécanisme catalytique proposé pour TudS. La catalyse est probablement assistée par deux bases du site actif qui peuvent être désignées comme Glu45 et Ser101 d'après la structure cristalline de TudS, le docking et la mutagenèse dirigée.

De façon remarquable, il s'est avéré que TudS est le domaine catalytique d'une enzyme de désulfuration de s⁴U8-ARNt (Jamontas et al., *Nucleic Acids. Res*, 2024, 52, 10543, doi: 10.1093/nar/gkae716; Munneke et al., *Cell Host & Microbe*, 2025, 33, 573, doi: 10.1016/j.chom.2025.03.001), mettant en évidence pour la première fois que la sulfuration des ARNt peut être dynamiquement régulée dans la cellule en fonction des conditions environnementales, au moins chez les bactéries.

6) CyuA, une enzyme [4Fe-4S]-dépendante impliquée dans le métabolisme du soufre chez les

archées méthanogènes

La L-cystéine désulfidase CyuA catalyse la dégradation de la L-cystéine en pyruvate, ammoniac et sulfure d'hydrogène. Nous avons étudié le rôle de CyuA dans le métabolisme du soufre par des méthodes phylogénétiques, génétiques, biochimiques, spectroscopiques et structurales (Gervason et al, *Commun. Biol* 2025, 8, 1667, doi: 10.1038/s42003-025-09053-0). Cette étude révèle que les Methanococcales et certains autres groupes d'archées ont probablement acquis CyuA par transfert génétique horizontal à partir des Terrabacteria. Chez *M. maripaludis*, CyuA (MmCyuA) stimule la croissance en présence de sulfure et permet une croissance lente lorsque la cystéine est la seule source de soufre. MmCyuA possède un cluster [4Fe-4S] coordonné par trois cystéines conservées, le quatrième atome de fer pouvant se lier à différents petits ligands. Les structures cristallographiques et analyses biochimiques nous ont permis de modéliser la cystéine substrat liée à MmCyuA et de proposer un mécanisme détaillé de désulfuration de la L-cystéine impliquant un intermédiaire [4Fe-5S]. Celui-ci pourrait servir à transférer le soufre de la cystéine vers diverses enzymes de sulfuration des ARNt dépendantes du [4Fe-4S], soulignant le rôle central de CyuA dans le transport et le métabolisme du soufre.

En conclusion, nous avons donc mis en évidence une nouvelle fonction des centres fer-soufre en biologie et proposé que plusieurs types d'enzymes de sulfuration/désulfuration [4Fe-4S]-dépendantes utilisent un mécanisme dans lequel le centre [4Fe-4S] agit comme transporteur et activateur de soufre exogène en formant très probablement un intermédiaire [4Fe-5S].

II) La RNase Y

La maturation et la dégradation des ARNm est cruciale pour le contrôle de l'expression des gènes. L'endoribonucléase Y (**RNase Y**), identifiée en 2009 chez *Bacillus subtilis*, est un acteur important qui régule le métabolisme de l'ARN dans de nombreuses bactéries Gram positif. La RNase Y initie un clivage endonucléolytique, rendant les fragments d'ARN plus sensibles aux exonucléases. Bien qu'équivalente fonctionnellement à la RNase E d'*E. coli*, la RNase Y n'a ni homologie de séquence ni de structure avec la RNase E. 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.

A ce jour, il n'existe aucune structure 3D expérimentale de RNase Y.

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.

Nous avons montré que la RNase Y existe en équilibre entre un dimère (~112 kDa) et un oligomère soluble (~700 kDa)(Hardouin et al., *Biophys. J.* 2018, 115, 2102-2113, doi:10.1016/j.bpj.2018.10.016) mais la fonction biologique de cet oligomère reste inconnue.

En utilisant la RMN hétéro-nucléaire multidimensionnelle (collaboration avec l'équipe RMN de l'ICSN dans le cadre d'Infranalytics), et les prédictions tridimensionnelles d'AlphaFold, nous avons montré que le dimère Nter-BsRNaseY adopte une structure de type « coiled-coil » (Morellet et al., *Biomolecules*, 2022, 12, 1798, doi: 10.3390/biom12121798). Chaque chaîne constituant le dimère est constituée de deux longues hélices reliées entre elles par un coude. Cette organisation structurale du domaine Nter-BsRNaseY est maintenue dans le modèle AlphaFold de l'enzyme RNase Y entière. Dans ce modèle, le domaine catalytique globulaire, est constitué par deux hélices reliant les modules KH (domaine de liaison à l'ARN) et HD (caractéristique de la superfamille de phosphohydrolases métallo-dépendantes), et par la région C-terminale. Celle-ci, dont la fonction était encore inconnue, est très probablement impliquée dans la dimérisation de la RNase Y. Ce travail illustre la façon dont la RMN à très haut champ peut répondre à des questions inaccessibles par d'autres techniques bio-structurales.

Nous poursuivons l'étude structurale de la RNase Y par cryo-microscopie.

Méthodes et expertises :

- Clonage, surexpression et purification de protéines recombinantes
- transcription in vitro et purification d'ARN
- mutagenèse dirigée
- enzymologie
- 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, cryo-EM et analyse des structures

Collaborations

- **Catherine Venien-Bryan**, Institut de Minéralogie, de Physique des Matériaux et de Cosmochimie, Sorbonne Université, Paris
- **Marie-Pierre, Golinelli**, Chémobiologie, Institut de Chimie des Substances Naturelles, Gif-sur-Yvette
- **Frédéric Barras**, Stress Adaptation and Metabolism in Enterobacteria Unit, Institut Pasteur, Paris
- **Jean-Luc Ravanat**, Université de Grenoble Alpes, CEA, iNAC, SyMMES, Grenoble
- **Christophe Velours**, Université de Bordeaux
- **William B Whitman**, Department of Microbiology, University of Georgia, Etats Unis
- **Volker Schünemann**, Technische Universität Kaiserslautern, Allemagne
- **Nadia Touati et Laurent Binet**, Institut de Recherche de Recherche Renard, Chimie-ParisTech, Paris
- **Pierre Legrand**, Synchrotron SOLEIL, L'Orme des Merisiers, Saint Aubin, Gif-sur-Yvette
- **Jaunius Urbonavičius**, Department of Chemistry and Bioengineering, Vilnius Gediminas Technical University, Vilnius, Lituanie
- **Carine van Heijenoort**, Structural Chemistry and Biology Team, Institut de Chimie des Substances Naturelles, Gif-sur-Yvette

Publications

2026

The thiolation of U34 at carbon 2 in tRNA by Escherichia coli MnmA precedes modification at carbon 5 and is dependent on a [4Fe-4S] cluster. **S. Gervason, S. Sen, J. Zhou, M. Libiad, K. Podskoczyj, G. Leszczynska, S. Caillat, J.-L. Ravanat, M. Fontecave, B. Golinelli-Pimpaneau.** *J Inorg Biochem.* 2026, 274, 113064. doi : 10.1016/j.jinorgbio.2025.113064; Corrigendum doi:10.1016/j.jinorgbio.2025.113096

2025

Deciphering the influence of the [4Fe-4S] cluster of tRNA thiolation enzymes on tRNA binding. **S. Gervason, S. Sen, J.-L. Ravanat, S. Caillat, D. Hamdane, B. Golinelli-Pimpaneau.** *RNA.* 2025, 31, 735-742. doi: 10.1261/rna.080292.124

Dissecting the mechanism of biosynthesis of sulfurated biomolecules: the case of tRNA sulfuration. **S. Gervason, M. Fontecave, B. Golinelli-Pimpaneau,** *Acc Chem Res.* 2025, 58, 3146-3153. doi: 10.1021/acs.accounts.5c00485

Evolution, structure and function of L-cysteine desulfidase, an enzyme involved in sulfur metabolism in the methanogenic archeon *Methanococcus maripaludis*. **S. Gervason, P. Zecchin, E. B. Shelton, N. He, L. Pecqueur, P. S. Garcia, T. Akinyemi, N. Touati, O. Bimai, C. Velours, J.-L. Ravanat, B. Faivre, W.B. Whitman, M. Fontecave, B. Golinelli-Pimpaneau.** *Commun. Biol.*, 2025, 8, 1667, doi: 10.1038/s42003-025-09053-0

2024

[4Fe-4S]-dependent enzymes in non-redox tRNA thiolation. **S. Gervason, S. Sen, M. Fontecave, B. Golinelli-Pimpaneau.** *Biochim Biophys Acta Mol Cell Res.* 2024, 1871, 119807

Structure-based insights into the mechanism of [4Fe-4S]-dependent sulfur insertase LarE. **P. Zecchin, L. Pecqueur, J. Oltmanns, C. Velours, V. Schünemann, M. Fontecave, B. Golinelli-Pimpaneau.** *Protein Sci.* 2024, 33, e4874

2023

The thiolation of uridine 34 in tRNA, which controls protein translation, depends on a [4Fe-4S] cluster in the archeum *Methanococcus maripaludis*. **O. Bimai, J. Zhou, M. Lénon, P. Legrand, J.-L. Ravanat, N. Touati, F. Barras, M. Fontecave, B. Golinelli-Pimpaneau.** *Sci Rep.* 2023, 13, 5351.

TudS desulfidases recycle 4-thiouridine-5'-monophosphate at a catalytic [4Fe-4S] cluster. J. Fuchs, R. Jamontas, M. H. Hoock, J. Oltmanns, **B. Golinelli-Pimpaneau, V. Schünemann, A. J. Pierik, R. Meškys, A. Aučynaitė, M. Boll*.** *Comm. Biol.* 2023, 6, 1092

Integrative Approach to Probe Alternative Redox Mechanisms in RNA Modifications. **C. Bou-Nader, L. Pecqueur, V. de Crécy-Lagard, D. Hamdane** *Acc Chem Res.* 2023, 56, 3142-3152.

2022

TtuA and TudS, two [4Fe-4S]-dependent enzymes catalyzing non-redox sulfuration or desulfuration reactions. **J. Zhou, O. Bimai, S. Arragain, L. Pecqueur, B. Golinelli-Pimpaneau.** *Encyclopedia of Inorganic and Bioinorganic Chemistry*, 2022, R.A. Scott (Ed.). 2022 <https://doi.org/10.1002/9781119951438.eibc2811>

Prediction of the Iron–Sulfur Binding Sites in Proteins Using the Highly Accurate Three-Dimensional Models Calculated by AlphaFold and RoseTTAFold. **B. Golinelli-Pimpaneau**. *Inorganics* 2022, 10, 2
Determination of the absolute molar mass of [Fe-S]-containing proteins using Size Exclusion Chromatography-Multi Angle Light Scattering (SEC-MALS). C. Velours, **J. Zhou**, **P. Zecchin**, **N. He**, M. Salameh, M.-P. Golinelli-Cohen, **B. Golinelli-Pimpaneau**. *Biomolecules*, 2022, 12, 270

A subclass of archaeal U8-tRNA sulfurases requires a [4Fe-4S] cluster for catalysis. **N. He**, **J. Zhou**, **O. Bimai**, J. Oltmanns, J. L. Ravanat, C. Velours, V. Schünemann, **M. Fontecave**, **B. Golinelli-Pimpaneau**, *Nucleic Acids Res.*, 2022, 50, 12969-12978.

Structural Insights into the Dimeric Form of *Bacillus subtilis* RNase Y Using NMR and AlphaFold. N. Morellet, **P. Hardouin**, N. Assrir, C. van Heijenoort, **B. Golinelli-Pimpaneau**, *Biomolecules*. 2022, 12, 1798

Dihydrouridine in the Transcriptome: New Life for This Ancient RNA Chemical Modification. Brégeon D, **Pecqueur L**, Toubdji S, Sudol C, **Lombard M**, **Fontecave M**, de Crécy-Lagard V, Motorin Y, Helm M, **Hamdane D**. *ACS Chem Biol*. 2022, 17, 1638-1657

Evolutionary Diversity of Dus2 Enzymes Reveals Novel Structural and Functional Features among Members of the RNA Dihydrouridine Synthases Family.
Lombard M, Reed CJ, **Pecqueur L**, **Faivre B**, Toubdji S, Sudol C, Brégeon D, de Crécy-Lagard V, **Hamdane D**. *Biomolecules*. 2022, 12, 1760

2021

Structural evidence for a [4Fe-5S] intermediate in the non-redox desulfuration of thiouracil. **J. Zhou**, **L. Pecqueur**, A. Aučynaitė, J. Fuchs, R. Rasa, J. Vaitekūnas, R. Meškys, M. Boll, **M. Fontecave**, J. Urbonavičius, **B. Golinelli-Pimpaneau**. *Angew Chem Int Ed Engl* 2021, 160, 424-431.

Iron sulfur biology invades tRNA modification: the case of U34 sulfuration. **J. Zhou**, M. Lénon, N. Touati, JL Ravanat, C. Velours, **M. Fontecave**, F. Barras, **B. Golinelli-Pimpaneau**. *Nucleic Acids Res*. 2021, 49, 3997-4007

Ultrafast dynamics of fully reduced flavin in catalytic structures of thymidylate synthase ThyX. Dozova N, Lacomat F, **Lombard M**, **Hamdane D**, Plaza P. *Phys Chem Chem Phys*. 2021 Oct 13;23(39):22692-22702.

An enzymatic activation of formaldehyde for nucleotide methylation. Bou-Nader C, Stull FW, **Pecqueur L**, **Simon P**, Guérineau V, Royant A, **Fontecave M**, **Lombard M**, Palfey BA, **Hamdane D**. *Nature Com*. 2021, 12, 4542-4548.

Dihydrouridine synthesis in tRNAs is under reductive evolution in Mollicutes. **Faivre B**, **Lombard M**, Fakroun S, Vo CD, Goyenvallée C, Guérineau V, **Pecqueur L**, **Fontecave M**, De Crécy-Lagard V, Brégeon D, **Hamdane D**. *RNA Biol*. 2021, 18, 2278-2289.

" *De novo* crystal structure determination of double stranded RNA binding domain using only the sulfur anomalous diffraction in SAD phasing". B. Guimaraes, **B. Golinelli-Pimpaneau*** *Cur. Res. Struct. Biol.*, 2021, 3, 112-120

2020

Structure-based mechanistic insights into catalysis by tRNA thiolation enzymes. **O. Bimai, S. Arragain, B. Golinelli-Pimpaneau.** *Curr Opin Struct Biol.* 2020, **65**, 69-78.

Structural, biochemical and functional analyses of tRNA-monooxygenase enzyme MiaE from *Pseudomonas putida* provide insights into tRNA/MiaE interaction. Carpentier P, Leprêtre C, Basset C, Douki T, Torelli S, Duarte V, **Hamdane D, Fontecave M**, Atta M. *Nucleic Acids Res.* 2020 Sep 25;48(17):9918-9930.

Reductive Evolution and Diversification of C5-Uracil Methylation in the Nucleic Acids of Mollicutes. Sirand-Pugnet P, Brégeon D, Béven L, Goyenvallée C, Blanchard A, Rose S, Grosjean H, Douthwaite S, **Hamdane D**, Crécy-Lagard V. *Biomolecules.* 2020 Apr 10;10(4):587.

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, Lacombar 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

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.

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

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-threonylcarbamoyladenine in tRNA. **Arragain S**, Handelsman 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)-isopentenyladenine at the tRNA anticodon. Chimnarok 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.