

Projet 3 : Enzymes de maturation de l'ARN

Personnel permanent impliqué

Béatrice Golinelli-Pimpaneau (DR2 CNRS), Sylvain Gervason (Post-doc), 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.

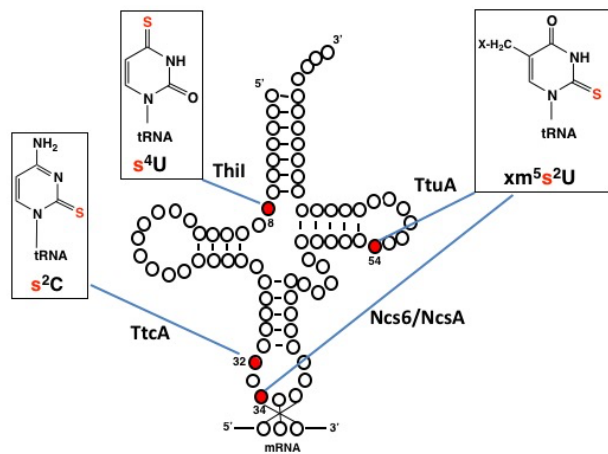
Il a été montré récemment que le contrôle dynamique des modifications post-transcriptionnelles des ARN (épitranscriptome) correspond à un nouveau niveau de régulation de l'expression des gènes. Parmi toutes les espèces d'ARN, les ARNt présentent la plus grande variété de modifications chimiques et le 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 structurellement 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 ou, en absence de cristaux, par cryo-microscopie électronique, 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.

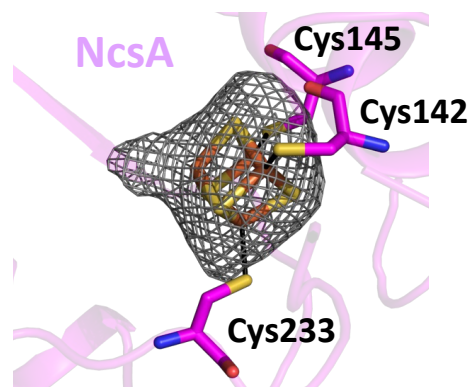
1- Enzymes de sulfuration/désulfuration dépendantes d'un centre [4Fe-4S]

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**

s²U34 dans certains ARNts dépend d'enzymes contenant un centre fer-soufre [Fe-S], nommées respectivement TtcA, TtuA, TtuI et MnmA/NcsA (Gervason et al. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Res.* 2024,1871: 119807, doi: 10.1016/j.bbamcr.2024.119807; cf Figure ci-dessous, gauche). Notre projet vise à continuer la caractérisation *in vitro* de cette famille d'enzymes de thiolation par des méthodes biochimiques, spectroscopiques et structurales. En effet, des structures cristallines ne sont connues que pour l'apo (sans centre [Fe-S]), l'holo-TtuA (avec centre [Fe-S]; Figure ci-dessous, droite) et l'holo-NcsA (PDB code 6SCY) et aucune structure en complexe avec l'ARN n'est connue à ce jour.

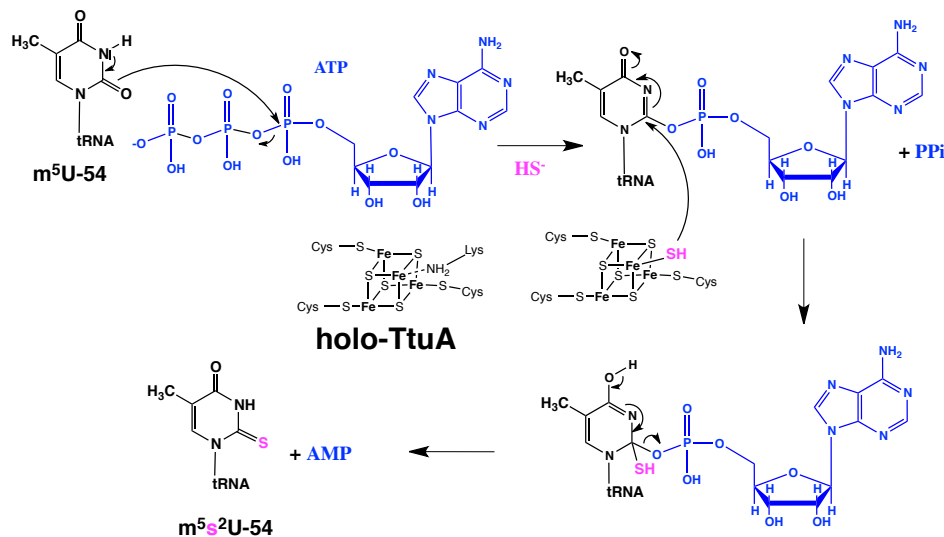


Thiolations dépendantes d'un centre [Fe-S] dans les ARNt.



Structure du site actif de NcsA montrant le centre [4Fe-4S] lié par seulement trois cystéines (Bimai et al., *Sc. Rep.*, 2023, 13, 5351, doi: 10.1038/s41598-023-32423-9).

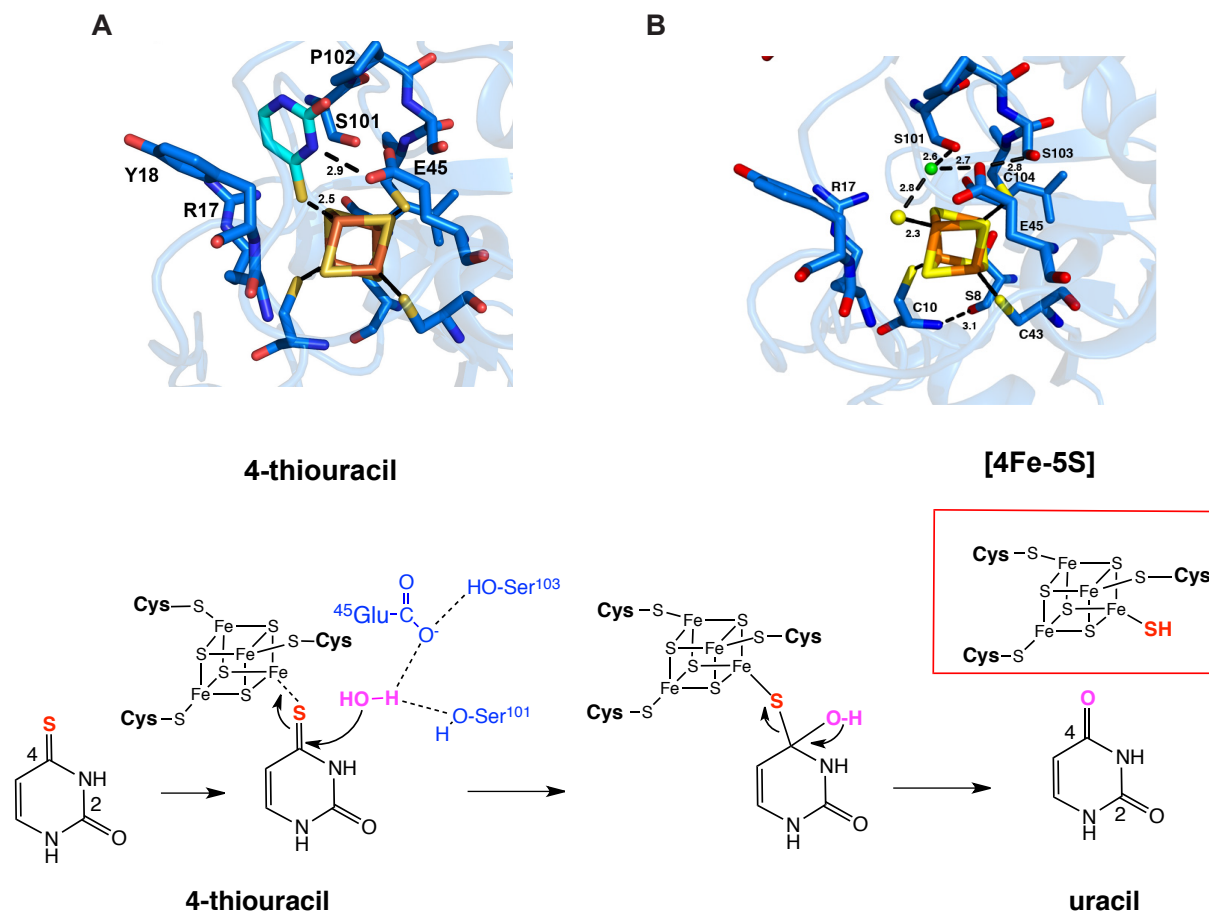
De plus, nous cherchons à confirmer le mécanisme de thiolation de l'ARNt que nous avons proposé, dans lequel le quatrième fer du centre catalytique [4Fe-4S] sert à lier un soufre exogène, servant ainsi de transporteur de soufre (Arragain et al., *Proc Natl Acad Sci USA*, 2017, 114: 7355-7360, doi: 10.1073/pnas.1700902114).



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., *Proc Natl Acad Sci USA*, 2017, 114: 7355-7360, doi: 10.1073/pnas.1700902114).

2- Désulfidases dépendantes d'un centre [4Fe-4S]

En collaboration avec l'équipe de Jaunius Urbonavičius, Agota Aučynaitė, Lituanie, et Mathias Boll, Allemagne nous avons caractérisé l'enzyme TudS (ThioUracile DéSulfidase) (Zhou et al. *Angew Chem Intl Ed*, 2021, **160**, 424-43, doi: 10.1002/anie.202011211; Fuchs et al.. *Comm. Biol.* 2023, **6**, 1092), identifiée lors de la découverte de nouveaux gènes codant pour des protéines de la famille Domain of Unknown function 523 (DUF523). Cette enzyme, qui contient un centre [4Fe-4S], catalyse le transfert de soufre entre son substrat, le thiouracile et le centre [4Fe-4S]. Nous avons pu visualiser l'intermédiaire catalytique [4Fe-5S] par cristallographie à 1.5 Å de résolution et l'avons caractérisé par diffusion anormale aux seuils du fer et du soufre. Nous avons proposé un mécanisme pour sa formation qui fait intervenir deux résidus catalytiques Glu45 et Ser101 pour activer une molécule d'eau qui joue le rôle de nucléophile. Notre travail valide une nouvelle fonction des centres fer-soufre en biologie, en tant qu'agents de transfert de soufre. De façon remarquable, il vient d'être montré que TudS correspond en fait au domaine catalytique d'une enzyme catalysant la déthiolation de s⁴U8 dans les ARNt (Jamontas et al., *Nucleic Acids Res.* 2024, **52**, 10543-10562. doi: 10.1093/nar/gkae716), montrant ainsi que la thiolation des ARNt, comme la méthylation, est un processus dynamique lié à la réponse au stress chez les procaryotes.



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.

Nous nous intéressons également à la cystéine désulfidase CyuA, une enzyme [4Fe-4S]-dépendante impliquée dans le métabolisme du soufre chez les archées méthanogènes (Tchong SI, Xu H, White RH. *Biochemistry*, 2005, 44, 1659-1670. doi: 10.1021/bi0484769). CyuA catalyse la conversion de la L-cystéine en sulfure d'hydrogène et 2-aminoacrylate, ultérieurement transformé en pyruvate et ammoniac. Les structures cristallographiques de CyuA de *Methanococcus maripaludis* (MmCyuA), que nous avons obtenues, ainsi que nos résultats biochimiques et analyses spectroscopiques, révèlent l'aptitude de MmCyuA à lier un cluster [4Fe-4S], indispensable à l'activité, via trois ou quatre cystéines. Les structures de l'enzyme en complexe avec l'éthylène glycol et le glycérol permettent de modéliser la première étape de la réaction, la fixation de la cystéine et suggèrent un mécanisme de désulfuration de la cystéine impliquant la formation d'un intermédiaire [4Fe-5S]. Des expériences comparatives de croissance de la souche sauvage de *M. maripaludis* et de la souche mutante dépourvue de l'enzyme MmCyuA soulignent l'importance de MmCyuA pour une croissance cellulaire optimale et pour permettre une croissance où la cystéine est utilisée comme unique source de soufre. Nous proposons que la fonction majeure de MmCyuA soit de transférer le soufre lié au cluster [4Fe-5S] à des accepteurs en aval des voies de biosynthèse des composés soufrés, tels que les enzymes de thiolation dépendantes d'un centre [4Fe-4S].

2- 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. (Morelet) 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.

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., *Biomolécules*, 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 à merveille comment la RMN à très haut champ peut répondre à des questions inaccessibles par d'autres techniques bio-structurales.

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 Sorbonne Université, Paris
- **Mark Helm**, Institute of Pharmaceutical and Biomedical Sciences, Mainz University
- **Iouri Motorin**, Ingénierie Moléculaire et Physiopathologie Articulaire, Université de Nancy
- **Valérie de Crécy-Lagard** University of Floride, Gainesville, FL, USA
- **Pascal Plaza**, ENS - Département de chimie Photochimie Ultrarapide UMR 8640
- **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
- **Mohammed Atta**, Laboratoire de Chimie et Biologie des Métaux, CEA-CNRS, Grenoble
- **Harald Putzer**, Institut de Biologie Physicochimique, 75005 Paris
- **Frédéric Barras**, Stress Adaptation and Metabolism in Enterobacteria Unit, Institut Pasteur, Paris
- **Catherine Venien-Bryan**, Institut de Minéralogie, de Physique des Matériaux et de Cosmochimie, Sorbonne Université, 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
- **Jaunius Urbonavičius**, Department of Chemistry and Bioengineering, Vilnius Gediminas Technical University, Vilnius, Lituanie
- **Jean-Luc Ravanat**, Université de Grenoble Alpes, CEA, iNAC, SyMMES, Grenoble
- **Pierre Legrand**, Synchrotron SOLEIL, L'Orme des Merisiers, Saint Aubin, Gif-sur-Yvette
- **Nadia Touati et Laurent Binet**, Institut de Recherche de Recherche Renard, Chimie-ParisTech, CNRS, 11 rue Pierre et Marie Curie, Paris

Publications

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. Hooek, 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, Lacombat 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, Goyenvalle 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, Goyenvalle 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, 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

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, Tisé 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 N⁶-isopentenyladenosine at the tRNA anticodon. Chimnaronk 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.