

# Rapport d'activité (décembre 2019 – juin 2022)

Hervé Seitz

## Table des matières

<b>1</b>	<b><i>Curriculum vitæ</i></b>	<b>3</b>
1.1	Informations générales . . . . .	3
1.2	Études et expérience post-doctorale . . . . .	3
1.3	Enseignement . . . . .	3
1.4	Activités d'expertise . . . . .	4
1.5	Publications dans des revues à comité de lecture . . . . .	5
1.6	Principales communications orales depuis la création de mon équipe . . . . .	5
1.7	Vulgarisation . . . . .	6
1.8	Prix et distinctions . . . . .	8
1.9	Activités non professionnelles : ultra-marathon . . . . .	8
<b>2</b>	<b>Résumé de mon activité (une demi-page)</b>	<b>9</b>
<b>3</b>	<b>Rapport d'activité</b>	<b>10</b>
3.1	Cibles fonctionnelles du miARN <i>bantam</i> chez la Drosophile . . . . .	10
3.2	miR-34a n'est pas un suppresseur de tumeur général . . . . .	12
3.3	L'apport de l'histoire évolutive des microARN chez les Vertébrés . . . . .	12
3.4	Recherche d'inducteurs de la dégradation des microARN . . . . .	15
3.5	Tentative de développement de siARN contre le virus SARS-CoV-2 pour administration <i>in vivo</i> . . . . .	15
3.6	Collaborations . . . . .	17
3.7	Participations à des contrats de recherche . . . . .	19
3.8	Place de ma recherche dans mon unité . . . . .	20
3.9	Mobilités . . . . .	20
3.10	Distinctions scientifiques . . . . .	20
3.11	Cinq productions scientifiques . . . . .	20
<b>4</b>	<b>Enseignement, formation et diffusion de la culture scientifique</b>	<b>22</b>
4.1	Thèses dirigées . . . . .	22
4.2	Post-doctorants encadrés . . . . .	22
4.3	Participations à l'enseignement . . . . .	23
4.4	Partage, management et publication des données de la recherche . . . . .	23
4.5	Participation à l'organisation de conférences . . . . .	24
4.6	Participation à la diffusion de l'information scientifique et technique vers des publics non spécialistes . . . . .	24
4.7	Interventions dans la presse écrite et audiovisuelle . . . . .	25
4.8	Participation à des travaux d'expertise . . . . .	25

<b>5</b>	<b>Transfert technologique, relations industrielles et valorisation</b>	<b>26</b>
<b>6</b>	<b>Encadrement, animation et management de la recherche</b>	<b>26</b>
6.1	Animation de projets . . . . .	26
6.2	Direction d'équipe . . . . .	26
6.3	Autres responsabilités au CNRS ou au sein d'autres institutions . . . . .	27
<b>7</b>	<b>Références</b>	<b>27</b>

# 1 *Curriculum vitæ*

## 1.1 Informations générales

Né le 13 décembre 1977 à Angers (Maine-et-Loire); email : herve.seitz@igh.cnrs.fr.

Site web de l'équipe : [Lien]

Adresse professionnelle : IGH (UMR 9002 CNRS et univ. de Montpellier), 141 rue de la Cardonille, 34396 Montpellier.

Profil ResearchGate : [https://www.researchgate.net/profile/Herve\\_Seitz2](https://www.researchgate.net/profile/Herve_Seitz2)

Identifiant ORCID : 0000-0001-8172-5393.

Scores bibliométriques (nombre de publications, h-index et choses de ce genre) : sur <https://publons.com/researcher/1288691/herve-seitz/>.

## 1.2 Études et expérience post-doctorale

- 1997 : admis aux trois Écoles normales supérieures, dont l'É.N.S. de la rue d'Ulm avec le rang : 2.
- 1997–2000 : Magistère de chimie, option chimie-biologie, de l'É.N.S. (1997–1999 : licence puis maîtrise de chimie; 1999–2000 : D.E.A. « génétique moléculaire et cellulaire » des universités Paris VI, Paris XI et UVSQ).
- 2001–2004 : thèse (financement « allocation couplée »); titre : « Empreinte génomique parentale et petits ARN non-codants » (université Toulouse III Paul Sabatier) (directeur de thèse : Jérôme Cavallé; soutenance le 25 octobre 2004). Manuscrit disponible sur : <http://www.normalesup.org/~seitz/These.pdf>
- Janvier 2005–janvier 2009 : stage post-doctoral à *University of Massachusetts Medical School* (Worcester, Massachusetts, États-Unis); directeur des travaux : Phillip D. Zamore.
- 2008 : classé 1<sup>er</sup> au concours de chargé de recherche de deuxième classe de la section 21 du CNRS; poste pris en janvier 2009.
- 3 novembre 2009 : Habilitation à diriger les recherches. Manuscrit disponible sur : <http://www.normalesup.org/~seitz/HDR.pdf>
- 2010 : lauréat du *Career Development Award* (CDA n°00017-2010-C) de *Human Frontier Science Program*.
- 2010 : classé 1<sup>er</sup> pour le recrutement d'un jeune chef d'équipe à l'IGH (UPR 1142 du CNRS; Montpellier); installation à l'IGH en octobre 2011.
- 2011 : lauréat du programme ATIP-Avenir (contrat initié en mars 2012).
- 2013 : promu chargé de recherche de 1<sup>ère</sup> classe.
- 2017 : promu « chef d'équipe senior » à l'IGH, après évaluation par un jury international.
- 2019 : classé 2<sup>ème</sup> au concours de directeur de recherche de 2<sup>ème</sup> classe de la section 21 du CNRS.

## 1.3 Enseignement

Cours magistraux sur les petits ARN régulateurs eucaryotiques (d'une à trois interventions par an, depuis 2007, pour étudiants en M2R ou en thèse, aux universités de Toulouse, Paris, Strasbourg, Lyon, Rennes et Montpellier; dans deux universités étrangères en 2014 : *National Taiwan university* et *Yang Ming university*; à l'École normale supérieure : cours de 6h en L3 chaque année de 2013 à 2018, cours de 2h en M1 en 2016 et 2017, cours de 3h en M1 chaque année depuis 2019).

Intervention d'une heure au *International course on Non-coding genome* de l'Institut Curie, le 11 décembre 2012, puis à nouveau le 8 février 2018; intervention d'1h30 à la journée *DE<sup>^</sup>CODAGE*

de l'INRA de Castanet-Tolosan, le 26 avril 2013 ; intervention de 45 min au symposium *Statistical analysis of RNA-seq data : advances and challenges* de la plate-forme de transcriptomique de l'Institut Pasteur, le 26 novembre 2013.

Porteur de l'école thématique du CNRS *InteRNAt : Petits ARN régulateurs (microARN, siARN, piARN)* (organisée en octobre 2019 et novembre 2021, prochaine édition proposée pour octobre 2023). Le comité scientifique et le comité d'organisation rassemblent, outre moi-même, I. Busseau (Montpellier), J. Cavaillé (Toulouse), S. Chambeyron (Montpellier), K. Mochizuki (Montpellier), S. Pfeffer (Strasbourg), M. van den Beek (Anvers), A. Verdel (Grenoble), et D. Weil (Paris). Le contenu des cours introductifs que j'avais donnés pendant les deux premières journées de l'école thématique 2019, ainsi que des exercices d'application imaginés par S. Mockly (qui préparait sa thèse sous ma direction), sont disponibles publiquement sur la plateforme HAL (identifiant HAL : hal-02615462) et sur le site web de mon équipe.

Je pense que la pratique de notre métier devrait être coopérative ; c'est pourquoi je partage systématiquement les programmes que j'écris avec les collaborateurs qui ont sollicité mon aide, et je leur apprend à s'en servir. Je propose des formations formelles ou informelles en bio-informatique et statistiques, des méthodes très utiles pour les biologistes expérimentalistes. Je mets ces formations en accès libre pour qu'elles servent au plus grand nombre : la partie théorique du cours de statistiques a été publiée dans les numéros de juillet et d'octobre 2010 de *Regard sur la Biochimie*, et les contenus de toutes ces formations sont accessibles sur le site web de mon équipe. Mon équipe a également initié, en janvier 2022, la publication d'une série de vidéos publiques de vulgarisation (pour le grand public) et de *master classes* (à destination des chercheurs eux-mêmes) : la première vidéo de la série *master classes* concerne justement l'usage des statistiques en biologie moléculaire.

Membre du jury de recrutement d'un maître de conférence à l'université Toulouse III Paul Sabatier (poste 64MCF0300, en 2013). Membre d'un jury de thèse de pharmacie et de 27 jurys de thèse scientifique (22 fois en tant que rapporteur, 5 fois en tant qu'examinateur), pour des étudiants d'institutions françaises et étrangères (*Cold Spring Harbor Laboratory, Guangzhou university, Caltech, university of Queensland, university of Bern, ...*). Rapporteur dans cinq jurys d'HDR.

## 1.4 Activités d'expertise

Rapporteur pour des journaux dans le domaine de l'ARN, de la bio-informatique et de la génétique moléculaire (*Current Biology, EMBO Reports, EMBO Journal, Nature Structural and Molecular Biology, Genome Biology, Genome Research, Nucleic Acids Research, RNA Biology, ...*) (la plupart de mes activités de *reviewing* pour des journaux depuis 2015 sont visibles sur <https://publons.com/researcher/1288691/herve-seitz/>).

Membre du *grant panel* « *Governance Leadership Team* » du *Cefic Long-range research initiative* pour les domaines « *omics, epigenetics and non-coding RNAs* » pour l'amélioration des procédures d'évaluation des risques toxicologiques (2016). *Chairman* du comité de sélection pour l'appel d'offre "LRI C6 - Omics and Read across" du Cefic LRI (2017). Membre du comité de pilotage de l'axe 2 du Cancéropôle Grand Sud-Ouest (depuis 2022).

Membre du comité de programme du congrès JOBIM (Journées Ouvertes en Biologie, Informatique et Mathématiques) 2012 et 2013. Membre du comité de sélection des projets de la plateforme ABIC de Montpellier (2016–2017). Membre du comité scientifique du congrès SifrARN de Bordeaux (prévu en octobre 2022).

Rapporteur pour des agences de financement nationales et internationales :

- KU Leuven Research Council (2019),
- ERC Starting grant (2017),
- Swiss national science program (2017 et 2018),
- Cefic Long range initiative (2017),

- ANSES (2017),
- Human Frontier Science Program (2016),
- l'ANR (2012 : panel SVSE2 ; 2014 : panel CE10 ; 2016 : panel CE12),
- l'IUF (2015),
- l'Idex Sorbonne universités (2014),
- la FRM Alsace (2011),
- le GIS IBiSA (2010).

Activité de consulting pour Medesis Pharma S.A. (compagnie spécialisée dans le développement de vecteurs pour l'adressage *in vivo* de composés actifs ; je les ai aidés à choisir des siRNA contre des gènes d'intérêt pour répression *in vivo* chez la Souris) : de mars à mai 2012, puis de mars à mai 2019, puis depuis mars 2022.

## 1.5 Publications dans des revues à comité de lecture

Au moins une chaque année depuis 2000 inclus, à l'exception des années 2001 (1ère année de thèse), 2005 (1ère année de post-doc) et 2012 (1ère année d'existence de mon équipe). Liste complète, mise à jour en permanence, sur <http://www.normalesup.org/~seitz/articles/>.

Publications depuis décembre 2019 :

- Canzler S, Schor J, Busch W, Schubert K, Rolle-Kampczyk UE, **Seitz H**, Kamp H, von Bergen M, Buesen R, Hackermüller J (2020) Prospects and challenges of multi-omics data integration in toxicology. *Arch Toxicol* 94(2):371–388 (PMID : 32034435) (**article de revue**)
- Hebras J, Marty V, Personnaz J, Mercier P, Krogh N, Nielsen H, Aguirrebengoa M, **Seitz H**, Pradere JP, Guiard BP, Cavallé J (2020) Reassessment of the involvement of Snord115 in the serotonin 2c receptor pathway in a genetically relevant mouse model. *Elife* 9:e60862 (PMID : 33016258)
- Richard P, Feng S, Tsai YL, Li W, Rinchetti P, Muhith U, Irizarry-Cole J, Stolz K, Sanz LA, Hartono S, Hoque M, Tadesse S, **Seitz H**, Lotti F, Hirano M, Chédin F, Tian B, Manley JL (2021) SETX (senataxin), the helicase mutated in AOA2 and ALS4, functions in autophagy regulation. *Autophagy* 17(8):1889–1906 (PMID : 32686621)
- Brechin V, Shinohara F, Saito JI, **Seitz H**, Tomari Y (2021) Mechanistic analysis of the enhanced RNAi activity by 6-mCEPh-purine at the 5' end of the siRNA guide strand. *RNA* 27(2):151–162 (PMID : 33177187)
- Mockly S, Houbron É, **Seitz H** (\*) (2022) A rationalized definition of general tumor suppressor microRNAs excludes miR-34a. *Nucleic Acids Res* 50(8):4703–4712 (PMID : 35474387)

(\*) : auteur correspondant

## 1.6 Principales communications orales depuis la création de mon équipe

Pour la plupart de mes conférences récentes, le diaporama de ma présentation est en accès libre sur le site web de mon équipe, et j'ai distribué le lien aux auditeurs pendant la présentation.

- 8 novembre 2021 pour la série de séminaires électroniques *Small RNA Bioinformatics club* (**visio-conférence**).
- 21 novembre 2018 au 14ème congrès annuel du Cancéropôle Grand Sud-Ouest à la Grande-Motte (**conférencier invité**).

- 7 novembre 2018 au congrès *SifrARN* à Nancy (**conférencier invité**).
- 19 octobre 2018 au colloque *Artificial intelligence in biology and health* à Montpellier (**conférencier invité**).
- 8 février 2018 à l'*International course on non-coding genome* de l'institut Curie à Paris (**conférencier invité**).
- 27 juin 2016 au *Tōkyō ncRNA symposium "Clues to non-coding RNA taxonomy"* à Tōkyō (Japon) (**conférencier invité**).
- 3 mars 2016 à l'*ECETOC workshop "ncRNAs and risk assessment science"* à Málaga (Espagne) (**conférencier invité**).
- 12 février 2016 au *SMPGD (statistical methods for post-genomic data) annual workshop* à Lille (**keynote speaker**).
- 4 juin 2015 à l'*ESPE science school "Non-coding RNAs in paediatric endocrinology"* à Annecy (**conférencier invité**).
- 9 juin 2014 au *Taiwan-France mini-symposium on regulatory RNAs* à Taipei (Taiwan) (**conférencier invité**).
- 2 février 2014 au *Keystone Symposium "RNA Silencing (A9)"* à Seattle (États-Unis).
- 26 novembre 2013 à l'atelier *Statistical analysis of RNA-seq data : advances and challenges* de l'institut Pasteur à Paris (**conférencier invité**).
- 22 mars 2013 au *Keystone Symposium "RNA Silencing (C7)"* à Whistler (Canada).
- 11 décembre 2012 à l'*International course on non-coding genome* de l'institut Curie à Paris (**conférencier invité**).
- 13 octobre 2012 au *BTCure miRNA workshop* à Montpellier (**conférencier invité**).
- 12 septembre 2012 à la *Annual French conference on Drosophila* à Clermont-Ferrand (**conférencier invité**).
- 24 avril 2012 à la *Schlumberger Foundation conference "Small Silencing RNA Biology and Mechanism"* à Tourtour (**conférencier invité**).

## 1.7 Vulgarisation

**Articles de vulgarisation :** *Pour la Science* (1 article en 2005, 1 article en 2013). Interventions dans les médias : *Néon* (1 contribution en 2014), *Le Monde* (1 intervention en 2015), <http://www.atlantico.fr> (1 contribution en 2015, 4 contributions en 2016, 2 contributions en 2018, 1 contribution en 2019), *Le Midi Libre* (2 interventions en 2020, 1 intervention en 2021), LCI (3 interventions en 2020), TF1 (1 intervention en 2020), France 3 Occitanie (1 intervention en 2020).

**Activités de vulgarisation réalisées pour l'ANSES :** Correction d'une note publiée par le Bulletin de veille scientifique n°30 (octobre 2016), rédaction de deux notes pour le Bulletin de veille scientifique (n°33 et 34).

**Conférences pluridisciplinaires :** présentation de la biotechnologie CRISPR/Cas9, de ses implications pratiques et éthiques, au colloque *Quelles limites pour les technosciences en santé ?* de l'école de droit de l'université Clermont Auvergne, le 13 mars 2018 à Clermont-Ferrand (actes publiés dans le n°15 de la Revue du Centre Michel de l'Hospital, en septembre 2018). Présentation du développement du séquençage personnalisé, au colloque *Santé et droit de choisir* de l'école de droit de l'université Clermont Auvergne, le 28 novembre 2019 (actes publiés dans le n°1-2022 du Journal de Médecine légale).

**Conférences publiques :** Le grand public est très intéressé par la génétique moléculaire. Alors que la génération du *baby-boom* n'a pas entendu parler d'ADN ou de chromosomes au lycée, les

électeurs sont amenés à se prononcer sur les OGM, le clonage, à faire des dons pour la thérapie génique, ... Le public est demandeur d'informations sur ce qui se fait dans les laboratoires, et il est de notre devoir (en tant que chercheurs publics) de partager avec les citoyens le résultat des travaux menés en leur nom. J'essaie donc de contribuer à la diffusion de l'information scientifique vers le grand public. Je donne régulièrement des conférences (« Qu'est-ce que la génétique ? », « Comment l'ADN détermine le vivant », « Sur la notion de race. Le point de vue du biologiste. », « Utilisation de la génétique de la *Drosophile* pour explorer les mécanismes biologiques », ...) pour le public de la Fête de la science, devant des groupes de scolaires, pour l'Université du Tiers-Temps à Montpellier (conférences pour le grand public, essentiellement retraité), pour le Café des sciences d'Avignon, pour l'association « Rando loisirs culture » de Grabels, et pour le Visiatome de Marcoule. Les diaporamas de ces présentations sont accessibles sur le site web de mon équipe, et j'ai distribué le lien aux auditeurs pendant la présentation.

**Vidéos publiques :** La pandémie de Covid-19 a suscité de nombreuses fausses rumeurs pseudo-scientifiques, souvent alimentées par des scientifiques eux-mêmes ou des médecins, et qui ont eu des conséquences désastreuses en se propageant dans un public affolé par l'épidémie (promotion de faux traitements, négation de l'effet protecteur des vaccins, invention d'effets secondaires graves des vaccins, ...). Ces rumeurs s'appuyaient souvent sur des articles scientifiques, publiés dans de vrais journaux scientifiques, mais bourrés d'erreurs ; le grand public s'est souvent laissé abuser par l'apparence de crédibilité de ces « études » qui lui étaient incompréhensibles (rédigées en anglais, faisant appel à du vocabulaire et des notions de biologie moléculaire), et dont il n'avait donc pas les moyens de déceler les erreurs. Il m'a donc semblé important de démentir publiquement ces rumeurs, en expliquant en termes simples les erreurs de ces articles ; le meilleur moyen que j'ai trouvé, pour atteindre le grand public, était de poster une vidéo publique sur la plateforme YouTube : j'ai donc publié une première vidéo le 26 mars 2020 pour prévenir le public contre la rumeur d'efficacité d'un traitement à l'hydroxychloroquine contre la Covid-19. À la suite de cette vidéo, j'ai été invité à donner mon avis dans quelques médias (journal *Le Midi Libre*, chaîne télévisées *LCI* et *TF1*, ...). La propagation de l'épidémie a ensuite inspiré de nombreuses autres rumeurs, à propos desquelles j'ai publié de nouvelles vidéos quand j'estimais avoir des choses utiles à expliquer (au total, j'ai donc publié 11 « Covid-éos », entre mars 2020 et avril 2022 ; regroupées dans une *playlist* YouTube). Outre ces vidéos, publiées à titre privé sur ma chaîne YouTube personnelle, j'ai décidé de créer une chaîne YouTube institutionnelle (après accord de mon unité, de la DR13 du CNRS, et du service « culture scientifique » de l'université de Montpellier) pour mon laboratoire. Cette chaîne a vocation à diffuser une nouvelle vidéo tous les trimestres environ, et les différentes vidéos sont groupées en quatre *playlists* :

- « La biologie moléculaire expliquée à ta grand-mère ». Objectif : présenter des concepts scientifiques dans un langage extrêmement simple, en s'interdisant tout vocabulaire compliqué (sauf à l'expliquer de façon détaillée). Public visé : le grand public. Difficulté lexicale : aucune.
- « Questions ouvertes ». Objectif : présenter une question actuellement sans réponse, et qui fait l'objet de recherche active. Public visé : étudiants en biologie, chercheurs. Difficulté lexicale : le texte pourra faire appel à un vocabulaire scientifique (compréhensible par un étudiant de 1er cycle en biologie), mais pas à du jargon spécialisé.
- « Derniers résultats ». Objectif : présenter des résultats très récents de notre équipe, mais déjà acceptés pour publication dans un journal à *peer review* (donc : évalués indépendamment et acceptés par d'autres experts). Public visé : étudiants en biologie, chercheurs. Difficulté lexicale : le texte pourra faire appel à un vocabulaire scientifique (compréhensible par un étudiant de 1er cycle en biologie), mais pas à du jargon spécialisé.
- « *Master classes* ». Objectif : partager notre expérience et nos conseils sur des techniques utilisées en laboratoire, et dont la mise en œuvre n'est pas triviale, même pour des scientifiques. Public visé : chercheurs, étudiants de 3ème cycle. Difficulté lexicale : nous nous autoriserons, dans ces vidéos, à utiliser un vocabulaire spécialisé.

## 1.8 Prix et distinctions

- Prime d'encadrement doctoral et de recherche du CNRS (novembre 2019).
- Prix Maurice Nicloux de la SFBBM (2018).
- Prime d'excellence scientifique du CNRS (décembre 2010, puis novembre 2014).
- Bourse post-doctorale « *Long-term fellowship* » de HFSP (LT005752005-L).
- Prix d'Académie de l'Académie des sciences, inscriptions et belles-lettres de Toulouse (2005).
- Bourse post-doctorale « *Long-term fellowship* » de l'EMBO (ALTF 910-2004).

## 1.9 Activités non professionnelles : ultra-marathon

Année	Résultats
2019	Vainqueur des 100 km de Millau (champion d'Occitanie) (7ème meilleur performer français)
2018	Médaille de bronze au championnat de France de 100 km, vainqueur des 100 km de Millau (champion d'Occitanie) (3ème meilleur performer français)
2017	3ème des <i>100 km del Passatore</i> , 4ème des 100 km de Millau (vice-champion d'Occitanie) (7ème meilleur performer français)
2016	Vainqueur des 100 km de Belvès, vainqueur des 100 km de Millau (15ème meilleur performer français)
2015	3ème des 100 km de Belvès, vainqueur des 100 km de Millau (11ème meilleur performer français)
2014	2ème des 100 km de Millau (16ème meilleur performer français)
2013	2ème des 100 km de Millau (16ème meilleur performer français)
2012	Médaille de bronze au championnat de France de 100 km, 3ème des 100 km de Millau (12ème meilleur performer français)
2011	5ème des 100 km de Millau (22ème meilleur performer français)
2010	10ème des 100 km de Millau (52ème meilleur performer français)



## 2 Résumé de mon activité (une demi-page)

Mon activité consiste essentiellement en l'analyse des données expérimentales générées par mon équipe, et en des analyses bio-informatiques autonomes. Celle de mon équipe mêle, à parts égales, la biologie expérimentale et la bio-informatique. Mon centre d'intérêt principal réside dans la définition des cibles des microARN (« miARN »). La communauté scientifique tend à utiliser deux définitions :

1. Les cibles de miARN seraient les ARN qui interagissent physiquement avec le miARN, ou : dont la 3' UTR confère une répression dépendante du miARN à un gène rapporteur.
2. Les cibles de miARN seraient les ARN qui présentent un site de complémentarité à la séquence du miARN qui a été sélectivement conservé au cours de l'évolution, preuve de sa fonctionnalité.

Nous avons montré [Pinzón *et al.*, 2017] les limitations de chaque définition : la 1<sup>ère</sup> capture des événements moléculaires qui sont sans conséquence physiologique (l'activité biologique de la plupart des gènes chez les Métazoaires est robuste vis-à-vis de petites fluctuations de leur expression, or l'ampleur de la répression guidée par les miARN est très faible). La 2<sup>ème</sup> définition capture des gènes dont le site d'interaction avec le miARN a été conservé pour des raisons indépendantes du miARN.

Nous cherchons donc à identifier, parmi les nombreuses « cibles » proposées par la biologie moléculaire et la bio-informatique, celles qui contrôlent un réel phénotype biologique. Nous avons ainsi évalué l'activité du miARN miR-34a chez l'Homme, proposé depuis 15 ans comme un suppresseur de tumeur – mais nous avons montré qu'il s'agissait d'une erreur, due notamment à la confusion entre « activité moléculaire » et « activité physiologique » [Mockly *et al.*, 2022]. Nous sommes également en train d'évaluer l'activité du miARN *bantam* chez la Drosophile (par édition du génome, en introduisant des mutations compensatoires entre le miARN et une cible à la fois, de manière à rompre et rétablir à la demande des interactions moléculaires, dans un système intégralement *in vivo*).

Notre expertise nous a également amenés à contribuer au travail de collègues qui nous ont sollicités pour des collaborations (pour l'évaluation de la réponse du miARN-ome chez le Rat après exposition à deux produits toxiques ; la mesure de l'effet de l'ARN non-codant Snord115 sur la régulation de l'ARNm HTR2C ; l'analyse transcriptomique des effets de la répression de la Sénataxine dans des cellules humaines ; la modélisation mathématique des conséquences biochimiques de la modification du 5' de siARN par la 6-mCEPh-purine). Nous avons également développé des siARN dirigés contre l'ARN du virus SARS-CoV-2, qui montraient une activité répressive *ex vivo* en cellules en culture, mais dont l'application *in vivo* (par un nouveau véhicule lipidique destiné à l'adressage ubiquitaire de composés hydrophiles) n'a pas montré d'activité anti-virale nette (travaux en cours de finalisation).

### 3 Rapport d'activité

Le principal déterminant de reconnaissance des cibles de miARN est une complémentarité parfaite à la « graine » (nucléotides 2 à 7) du miARN dans la 3' UTR de l'ARNm-cible [Bartel, 2009]. Cette séquence est si courte que, pour un miARN donné, des milliers de 3' UTR lui présenteront une complémentarité parfaite – c'est donc parmi une multitude de candidats que se trouvent, en nombre inconnu, les cibles fonctionnelles (*i.e.* : dont la régulation par le miARN participe à un phénotype physiologique) du miARN.

Dans mon dernier rapport d'activité « à vague » (jan. 2015 – déc. 2019), je présentais le projet que nous venions d'initier pour identifier les cibles fonctionnelles du miARN *bantam* chez la Drosophile (nous avons choisi ce miARN parce qu'il contrôle des phénotypes très marqués : les homozygotes mutants sont plus petits que les sauvages aux stades larvaires, et ils meurent pendant la métamorphose). Ce projet est toujours en cours, ralenti par des difficultés que nous n'avions pas anticipées (*cf* plus bas, rubrique 3.1).

Je présentais également nos premiers résultats concernant miR-34a chez l'Homme, un miARN présenté depuis 15 ans comme anti-prolifératif et suppresseur de tumeur : nos premiers résultats (qui semblaient démentir ces assignations) ont été confirmés par la suite de nos analyses, et nous les avons publiés cette année (*cf* plus bas, rubrique 3.2).

Toujours dans le but d'identifier les cibles fonctionnelles authentiques, parmi les myriades de cibles proposées par les méthodes actuelles, nous avons récemment initié un nouveau projet. Il s'agit ici de retracer l'histoire évolutive des familles de miARN dans l'évolution des Vertébrés, de manière à identifier des clades où certaines familles de miARN auraient disparu, ou apparu. La disparition d'une famille de miARN devrait relâcher les contraintes sélectives qui s'appliquent sur les cibles fonctionnelles de ces miARN – alors que les sites conservés pour des raisons indépendantes du miARN devraient rester conservés malgré la perte de la famille de miARN (et réciproquement : l'apparition d'une famille de miARN ne devrait faire apparaître une pression de sélection que dans le clade où la famille est apparue). Ce projet, purement bio-informatique, est présenté en rubrique 3.3.

Nous avons également initié un projet concernant la régulation de la stabilité des miARN eux-mêmes, et nous avons identifié quatre inducteurs potentiels de la dégradation de miARN dans les neurones corticaux de Souris. Ce projet est toujours en cours, lui aussi ralenti par des difficultés techniques : il est présenté en rubrique 3.4.

Nous avons également souhaité mettre à profit notre expertise des petits ARN régulateurs pour tenter de développer des siARN dirigés contre le virus SARS-CoV-2. La difficulté habituelle dans le développement de traitements à base de siARN tient à leur grande vulnérabilité biochimique (il faut de lourdes modifications chimiques pour les stabiliser *in vivo*) et à leur bio-distribution (les siARN administrés de manière exogène ont tendance à se concentrer dans le foie, et ils atteignent peu les autres organes). Mais une compagnie de biotechnologie, Medesis Pharma, a mis au point un réactif qui semble pouvoir délivrer de manière uniforme des composés hydrophiles, tout en les protégeant des RNases : nous avons donc essayé d'optimiser des séquences de siARN contre le virus, puis de les administrer *in vivo* avec ce véhicule, à des souris humanisées et infectées par le SARS-CoV-2. Ce projet est présenté en rubrique 3.5.

Enfin, nous sommes fréquemment sollicités pour des collaborations : nos travaux collaboratifs sur les 5 derniers semestres sont résumés dans la rubrique 3.6.

#### 3.1 Cibles fonctionnelles du miARN *bantam* chez la Drosophile

Nous souhaitons ici interroger *in vivo* les fonctions d'interactions individuelles entre le miARN *bantam* et une cible à la fois, et entre *bantam* et des combinaisons de cibles. En mutant, par édition du génome, le miARN et les cibles de manière compensatoire (c'est à dire : le miARN muté reconnaît les cibles mutées), nous voulons abolir et restaurer sélectivement certaines interactions entre *bantam* et des cibles d'intérêt (voir Figure 1A), donc mesurer précisément la contribution d'une cible (ou :

d'un ensemble de cibles) au phénotype global contrôlé par *bantam*.

Comme expliqué dans mon dernier rapport d'activité « à vague » (jan. 2015 – déc. 2019), nous avons décidé de préparer plusieurs souches de drosophiles, où la séquence-graine de *bantam* est mutée en un hexamère qui ne constitue la graine d'aucun miARN de *Drosophila* connu. Parmi les 3 hexamères testés, nous n'avons pu établir une lignée mutante qu'avec l'hexamère CAAAAU, dans différents contextes de mutations additionnelles. Notre analyse de ces souches a montré que le miARN muté s'exprimait à des niveaux très inférieurs à celui du miARN sauvage (environ 6 fois moins d'après une analyse préliminaire), ce qui compliquait l'interprétation des phénotypes (lorsqu'une cible est mutée et que le miARN portait une mutation compensatoire, le sauvetage phénotypique n'était que partiel : était-ce parce que ces sites-cibles possèdent également des activités indépendantes du miARN ? ou parce que le miARN muté n'était pas assez abondant pour réprimer la cible mutée ?).

Nous avons donc préparé une nouvelle souche, où la graine de *bantam* a été éditée en l'hexamère CCACUA. Dans les larves de stade L1, ce nouveau mutant (appelé « m6 ») est exprimé à des taux très similaires au miARN *bantam* sauvage, alors que le mutant « m2 » (le mieux exprimé dans la première série de mutants) s'exprime environ 8 fois moins (voir Figure 1B). Outre ces mutants qui modifient la séquence de la graine du miARN, un mutant contrôle, appelé « md », délète la séquence du précurseur de *bantam*.

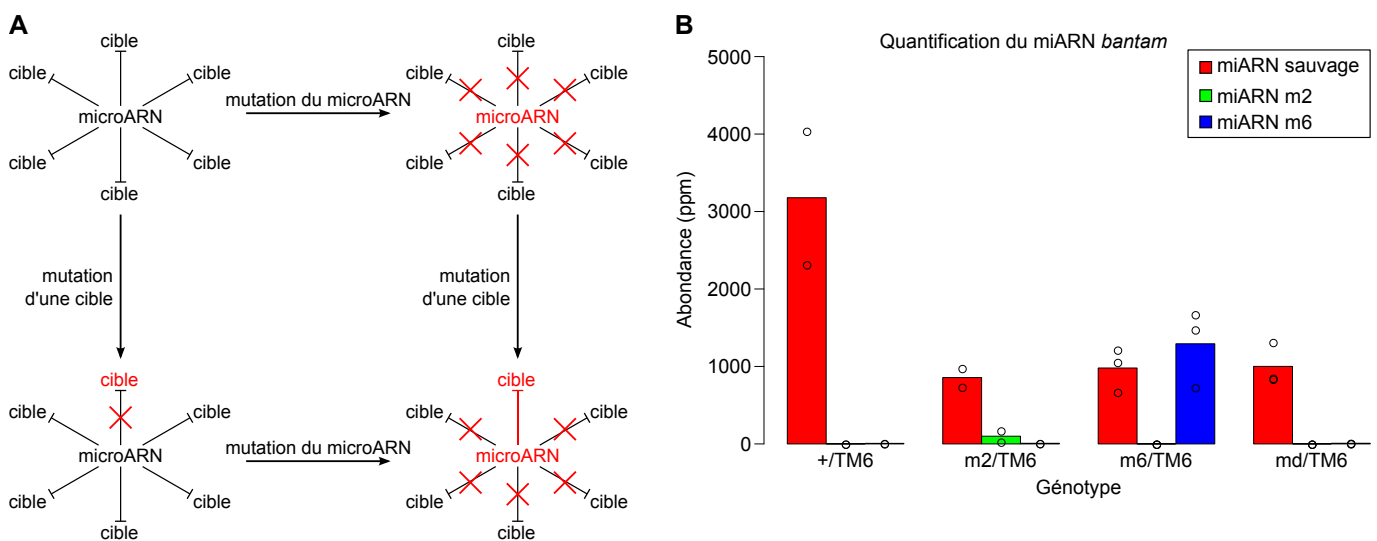


FIGURE 1 – **Mutagenèse dirigée du gène *bantam*.** **A.** Principe de l'expérience. Muter le miARN seul (en haut à droite) abolit les interactions entre le miARN et toutes ses cibles, révélant le phénotype global contrôlé par le miARN. Muter son site de fixation sur une cible seule (en bas à gauche) abolit uniquement son interaction avec la cible désirée, révélant la contribution de cette interaction au phénotype global. Muter simultanément le miARN et son site de fixation sur une cible, de manière compensatoire (en bas à droite), restaure uniquement cette interaction et abolit toutes les autres, révélant la contribution de toutes les autres cibles (à l'exclusion de la cible d'intérêt) au phénotype global. **B.** Quantification par Small RNA-Seq des différentes formes du miARN *bantam* chez des larves de stade L1. « ppm » : parts par million de *reads* génomiques. La mesure a été réalisée sur plusieurs réplicats indépendants (chacun constitué d'une centaine de larves ; deux réplicats pour les génotypes +/TM6 et m2/TM6, trois réplicats pour m6/TM6 et md/TM6), et chaque réplicat est représenté par un cercle noir ; les barres de l'histogramme indiquent la moyenne des réplicats.

Nous sommes actuellement en train de préparer une souche de *Drosophila* dans laquelle les 5 sites de reconnaissance de *bantam* dans sa cible présumptive *hid* sont mutés de manière compensatoire (*i.e.* : ces cinq hexamères GAUCUC, complémentaires à la graine sauvage, sont mutés en UAGUGG, complémentaires à la graine m6). Nous avons choisi de commencer l'exploration des cibles-candidates par le gène *hid* parce qu'il est le seul à porter autant de sites phylogénétiquement

conservés, complémentaires à la graine de *bantam*.

Nous avons déjà préparé une souche dans laquelle ces 5 sites ont été rendus complémentaires à la graine mutante m2, et ce mutant présente des défauts phénotypiques modérés (voir dernier rapport d'activité « à vague » (jan. 2015 – déc. 2019) : un retard de pupariation, mais ni défaut de viabilité, ni de fertilité). Cette simple information (à confirmer avec le mutant où ces sites sont rendus complémentaires à la graine m6) indique que *hid* ne joue, au mieux, qu'un rôle partiel dans le phénotype de croissance et de létalité de *bantam*. Le croisement de cette souche avec la souche exprimant le miARN muté m6 nous indiquera si ce phénotype de retard de pupariation est sauvé après restauration de l'interaction entre *hid* et *bantam*, ou s'il était dû à d'autres fonctions de ces sites de la 3' UTR de *bantam*.

## 3.2 miR-34a n'est pas un suppresseur de tumeur général

*Le contenu de cette section a été publié [Mockly et al., 2022] : le lecteur est renvoyé à cet article pour les détails, et nous ne donnerons ici qu'un résumé synthétique. Nous avons également publié un résumé en vidéo et en langue française, accessible ici.*

Certains miARN sont considérés comme des suppresseurs de tumeur. Le plus étudié d'entre eux (miR-34a) attire l'attention des oncologistes moléculaires depuis 2007, et de très nombreuses études ont effectivement conclu qu'il réprimait la prolifération cellulaire, et que la mutation de son gène était un moteur probable de la tumorigenèse (revue dans [Slack et Chinnaiyan, 2019]).

Pourtant, les données *in vivo* semblent contredire cet apparent consensus : chez la Souris, la mutation du gène de miR-34a ne conduit à aucun défaut visible en matière de tumorigenèse, même après une variété de stress oncogéniques [Concepcion *et al.*, 2012] ; chez l'Homme, l'administration de miR-34a synthétique à des patients atteints de tumeurs solides n'améliore pas leur état [Beg *et al.*, 2017, Hong *et al.*, 2020]. Nous avons donc décidé d'interroger cet apparent paradoxe.

Nos analyses montrent que l'apparent enrichissement pour des mutations du gène de miR-34a dans des tumeurs humaines était indépendant de l'activité de miR-34a lui-même (il semble surtout dû à la proximité génomique du gène de miR-34a avec un authentique suppresseur de tumeur, dont la délétion affecte parfois miR-34a de manière fortuite) : sur le plus grand jeu de données disponibles à ce jour (et où il est notamment possible de comparer le niveau d'expression des miARN entre tumeur primaire et tissu sain adjacent, pour des dizaines de types de cancer), il apparaît que l'inactivation du gène *miR-34a* est très rare dans les cancers humains. Quant au rôle apparent de miR-34a dans le contrôle de la prolifération, il était dû à un artefact de surexpression du miARN dans des systèmes expérimentaux simplifiés (dans la littérature scientifique, ce genre d'expérience est typiquement réalisé en transfectant des dizaines de nanomolaires de miARN synthétique dans des cellules en culture, ce qui le surexprime de plusieurs milliers de fois).

Outre leur intérêt en oncologie moléculaire, ces travaux illustrent un défaut fréquent dans l'analyse fonctionnelle des miARN, et fournissent un cadre théorique clair et une méthode facilement généralisable, pour résoudre les fréquents désaccords observés entre les analyses moléculaires et les caractérisations phénotypiques *in vivo*.

## 3.3 L'apport de l'histoire évolutive des microARN chez les Vertébrés

On appelle une « famille » de miARN l'ensemble des miARN qui partagent la même séquence-graine (et donc, essentiellement, les mêmes cibles prédites bio-informatiquement). Nous avons montré, sur un échantillon restreint (les familles de miARN apparues dans quelques lignages contenant l'espèce humaine) que certains sites de complémentarité à la graine d'une famille de miARN pouvaient être plus profondément conservés que la famille de miARN elle-même (par exemple, la famille miR-134 est spécifique des Mammifères placentaires, mais son site de complémentarité conservé dans la 3' UTR du gène *USP9X* est également conservé chez certains Marsupiaux, Oiseaux et Actinop-

terygiens; [Pinzón *et al.*, 2017]) : ces sites sont donc conservés pour des raisons indépendantes du miARN.

Cette approche souffrait d'un défaut qui en limitait l'utilité : plus la famille de miARN était ancienne, moins on disposait de génomes où elle n'existait pas, si bien que les sites de complémentarité plus conservés que la famille étaient moins faciles à identifier. Cette contrainte convolvait le nombre de sites observés, et rendait essentiellement impossible l'identification de sites conservés indépendamment du miARN pour les familles de miARN les plus profondément conservées (qui seraient pourtant, d'un certain point de vue, les plus intéressantes *a priori*).

Une approche alternative avait été proposée pour mesurer le nombre de sites de complémentarité conservés indépendamment du miARN : la comparaison avec des séquences de même taille, réassorties pour conserver le même taux de mono- et di-nucléotides, mais qui ne constituaient la graine d'aucune famille de miARN connue chez les Vertébrés. En mesurant le nombre de sites conservés pour ces  $k$ -mères contrôle, et en le soustrayant du nombre de sites conservés pour les authentiques graines de miARN, il avait été annoncé que les miARN sont responsables de la conservation d'un grand nombre de leurs sites de complémentarité dans les 3' UTR [Friedman *et al.*, 2009]. Mais cette approche mesure le taux de conservation indépendant des miARN en utilisant celui de  $k$ -mères de séquences différentes, donc soumis à des pressions de sélection différentes (ils ne sont pas reconnus par les mêmes protéines d'interaction à l'ADN ou à l'ARN, par exemple), ce qui remet en cause la validité de cette soustraction. D'autre part, cette soustraction permet éventuellement de connaître le nombre de cibles réelles des miARN, et le nombre de cibles conservées pour d'autres raisons, mais elle ne permet pas de déterminer lesquelles sont réelles et lesquelles sont des faux positifs.

Ces deux approches, qui ont chacune leurs faiblesses, aboutissent donc à des conclusions opposées (dans l'approche publiée en 2009, il ne resterait que peu de sites de complémentarité aux miARN réellement conservés en raison de leur interaction avec le miARN ; dans celle publiée en 2017, ils resteraient nombreux). Afin de lever l'ambiguïté, de déterminer plus précisément le nombre réel de cibles fonctionnelles des miARN, et l'identité des vrais et faux positifs, nous avons imaginé une nouvelle méthode : identifier des événements de perte de familles de miARN au cours de l'évolution, et mesurer (dans les clades où la famille a été perdue) la conservation des sites de complémentarité à leur séquence-graine dans les 3' UTR. Les sites conservés en raison de leur interaction avec le miARN devraient perdre leur fonctionnalité dans ce clade, donc diverger au même rythme que les séquences non-fonctionnelles de leur 3' UTR.

La recherche de gènes de miARN dans les 522 génomes de Vertébrés les mieux assemblés identifie 17 événements de perte de famille entière de miARN dans des clades spécifiques (voir Figure 2A et B). Nous sommes maintenant en train d'évaluer l'évolution de la pression de sélection appliquée aux sites de complémentarité de la graine de ces miARN dans les 3' UTR après ces événements de perte (en comparant le clade qui a perdu la famille de miARN à son clade-frère, qui l'a conservée) : les premiers résultats indiquent que la pression de sélection est très similaire entre les deux types de clades, suggérant que la plupart des sites de complémentarité à ces miARN sont en réalité conservés pour des raisons indépendantes du miARN (voir Figure 2C sur l'exemple de la perte de la famille miR-656 chez les Myomorphes, un sous-clade des Rongeurs). Nous mesurons la pression de sélection avec le score *PhyloP*, qui tient compte de la topologie de l'arbre phylogénétique, et permet de mesurer la conservation (ou : l'accélération de l'évolution) de séquences données dans un clade donné, en comparaison avec le clade complémentaire (donc : de s'affranchir des causes de conservation communes aux deux clades) [Pollard *et al.*, 2010].

Cette analyse nous a également permis d'identifier, en plus de ces 17 événements de perte, 158 événements d'apparition de familles de miARN spécifiques de certains clades de Vertébrés. Ce gros effectif nous permettra également de mesurer la pression de sélection différentielle (entre présence et absence de la famille de miARN) entre clades-frères après un événement d'apparition, avec une précision bien meilleure que dans les études précédentes.

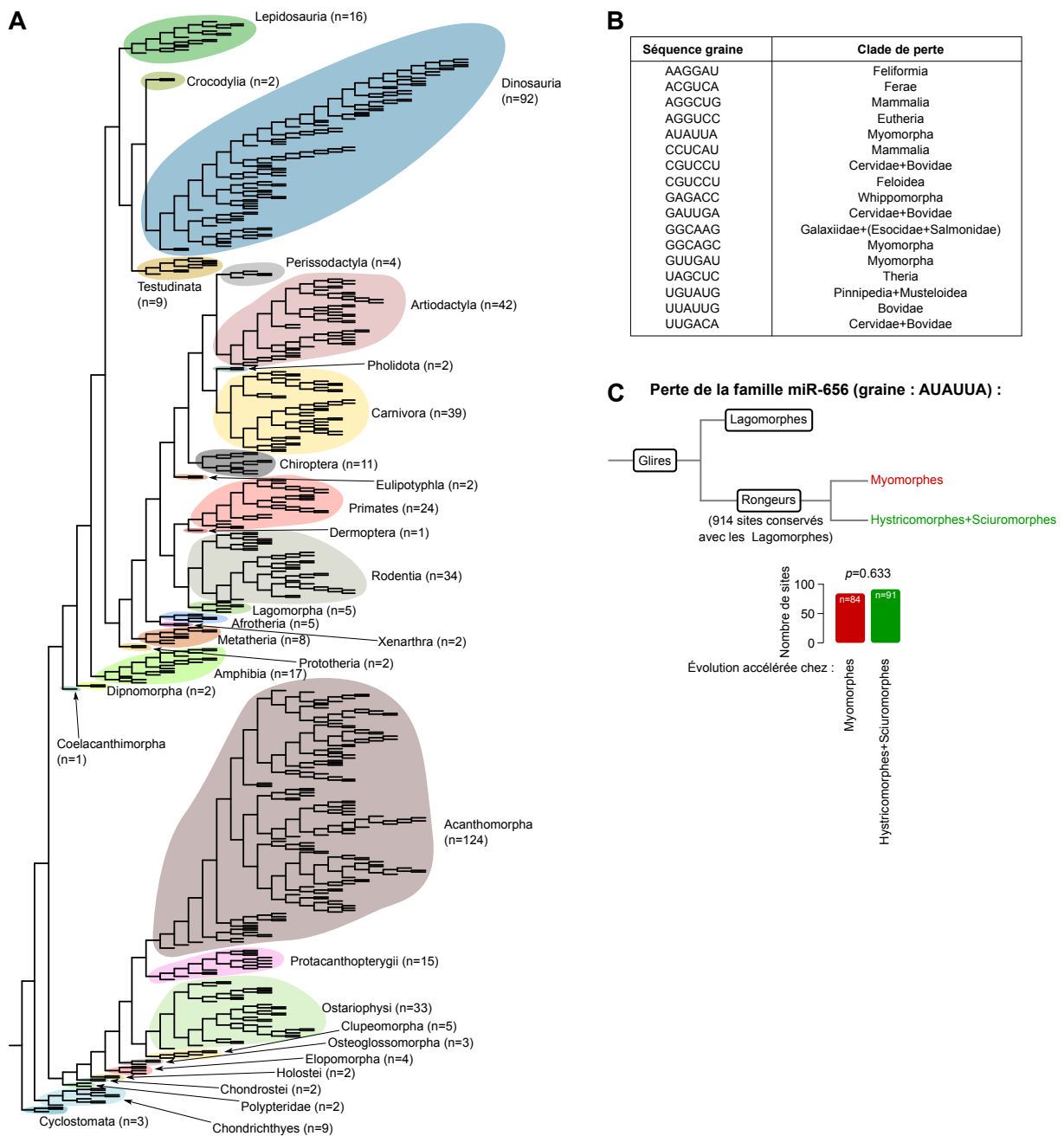


FIGURE 2 – Apport de l'histoire évolutive des familles de miARN dans l'identification de leurs cibles fonctionnelles. **A.** Les 522 espèces analysées couvrent les clades principaux des Vertébrés. Chaque branche terminale indique une espèce analysée. La longueur des branches est arbitraire. **B.** Événements de pertes de familles entières de miARN identifiés chez les Vertébrés. Chaque famille de miARN est identifiée par sa séquence graine. **C.** Sur l'exemple de la perte de la famille miR-656 chez les Myomorphes : les sites de complémentarité à la graine de miR-656, conservés entre les Lagomorphes et l'Humain, sont ancestraux (ils existaient donc chez un ancêtre des Rongeurs). 914 d'entre eux présentent un signal de conservation (relatif au reste de leur 3' UTR) chez les Rongeurs. Certains d'entre eux ont subi une évolution accélérée chez les Myomorphes (qui ont perdu la famille miR-656), mais un nombre encore supérieur a subi une évolution accélérée dans le clade complémentaire (Hystricomorphes+Sciurormorphes).  $p$ -value calculée par le test exact de Fisher parmi les 914 sites présentant un signal de conservation chez les Rongeurs (ces deux proportions ne sont pas significativement différentes).

### 3.4 Recherche d'inducteurs de la dégradation des microARN

La stabilité des miARN peut être contrôlée par certains ARN, reconnus par complémentarité de séquence comme le seraient les cibles du miARN : dans ce processus (appelé TDMD, pour *Target RNA-directed microRNA degradation*), certaines géométries d'appariement entre les deux ARN induisent le recrutement d'une machinerie protéolytique qui dégrade la protéine effectrice du miARN, et libère le miARN qui sera ensuite dégradé par des RNases cellulaires [Han *et al.*, 2020, Shi *et al.*, 2020]. Les appariements ARN long/miARN qui déclenchent le TDMD tendent à impliquer un long appariement ininterrompu sur l'extrémité 3' du miARN (une telle géométrie est très rare dans les interactions miARN/cibles habituelles) [Fuchs Wightman *et al.*, 2018].

Nous avons donc mené une recherche bio-informatique de candidats inducteurs de TDMD, par l'identification de séquences phylogénétiquement conservées chez les Vertébrés, et susceptibles de s'apparier aux miARN connus selon les géométries décrites (en particulier, avec de longs appariements sur le 3' du miARN). Pour sélectionner des candidats à tester expérimentalement, nous avons dû choisir un système cellulaire. Il semble que (pour des raisons encore incomprises) le TDMD soit particulièrement actif dans les neurones [Fuchs Wightman *et al.*, 2018]. Nous avons donc décidé de réaliser ces expériences dans les neurones corticaux de Souris : c'est un type cellulaire où le TDMD a déjà été mis en évidence [de la Mata *et al.*, 2015], et il est très abondant dans chaque souris (ce qui permet de limiter le nombre de sacrifices animaux pour obtenir la quantité de matériel biologique nécessaire).

Nos expériences de répression de ces candidats sont laborieuses ; les méthodes habituelles (transduction de shRNA commerciaux contre les gènes-candidats ; de shRNA optimisés par nos soins ; de constructions dCas9-KRAB ; de constructions dCas9-Zim3) ont toutes échoué (elles ne réprimaient pas les gènes ciblés). Nous avons donc dû migrer vers un système simplifié (des cellules Neuro-2A en culture) pour les mises au point. Il s'avère que la transfection d'oligos antisens « ASO » commerciaux (dont nous ne maîtrisons donc pas la séquence, qui nous est cachée par le fournisseur ...) parvient à réprimer efficacement et spécifiquement les deux gènes-cibles testés (voir Figure 3A). Nos premières analyses suggèrent en revanche que la répression de ces ARNm ne stabilise pas les miARN qu'ils semblaient pouvoir cibler par TDMD (un unique réplicat de l'expérience réalisé pour l'instant : nous travaillons à reproduire cette expérience ; voir Figure 3B).

Il semble donc que, dans ces conditions, ces deux ARNm-candidats ne sont pas des inducteurs de TDMD sur les miARN miR-29b et miR-708 dans les cellules Neuro-2A. Nous souhaitons cependant nous assurer de ce résultat dans un système biologique plus adapté (des neurones corticaux primaires de Souris), ce qui implique de mettre au point les conditions de transfection des oligos ASO dans ce type cellulaire.

### 3.5 Tentative de développement de siARN contre le virus SARS-CoV-2 pour administration *in vivo*

Alors que le RNAi est largement utilisé en laboratoire pour la répression de gènes-cibles d'intérêt, ses applications cliniques sont restées limitées : les siARN administrés *in vivo* tendent à se dégrader rapidement (il faut donc les modifier chimiquement de manière à les stabiliser sans compromettre leur efficacité), et ils sont rapidement concentrés dans le foie, organe de détoxification. Les cinq seuls siARN approuvés par la FDA en usage clinique (patisiran, givosiran, lumasiran et vutrisiran par Alnylam ; inclisiran par Novartis) répriment tous des gènes-cibles hépatiques.

La compagnie Medesis Pharma a développé un véhicule lipidique pour l'administration de cargos hydrophiles *in vivo*, avec apparemment une biodistribution assez homogène entre les différents organes, et en les protégeant des RNases jusqu'à internalisation dans les cellules, ce qui doit permettre de travailler avec des siARN non-modifiés [Lehmann *et al.*, 2014, Champagne *et al.*, 2020].

À l'émergence de la pandémie de Covid-19, nous avons donc optimisé des séquences de siARN contre l'ARN génomique (et les ARNm, qui sont de même orientation) du virus SARS-CoV-2, en

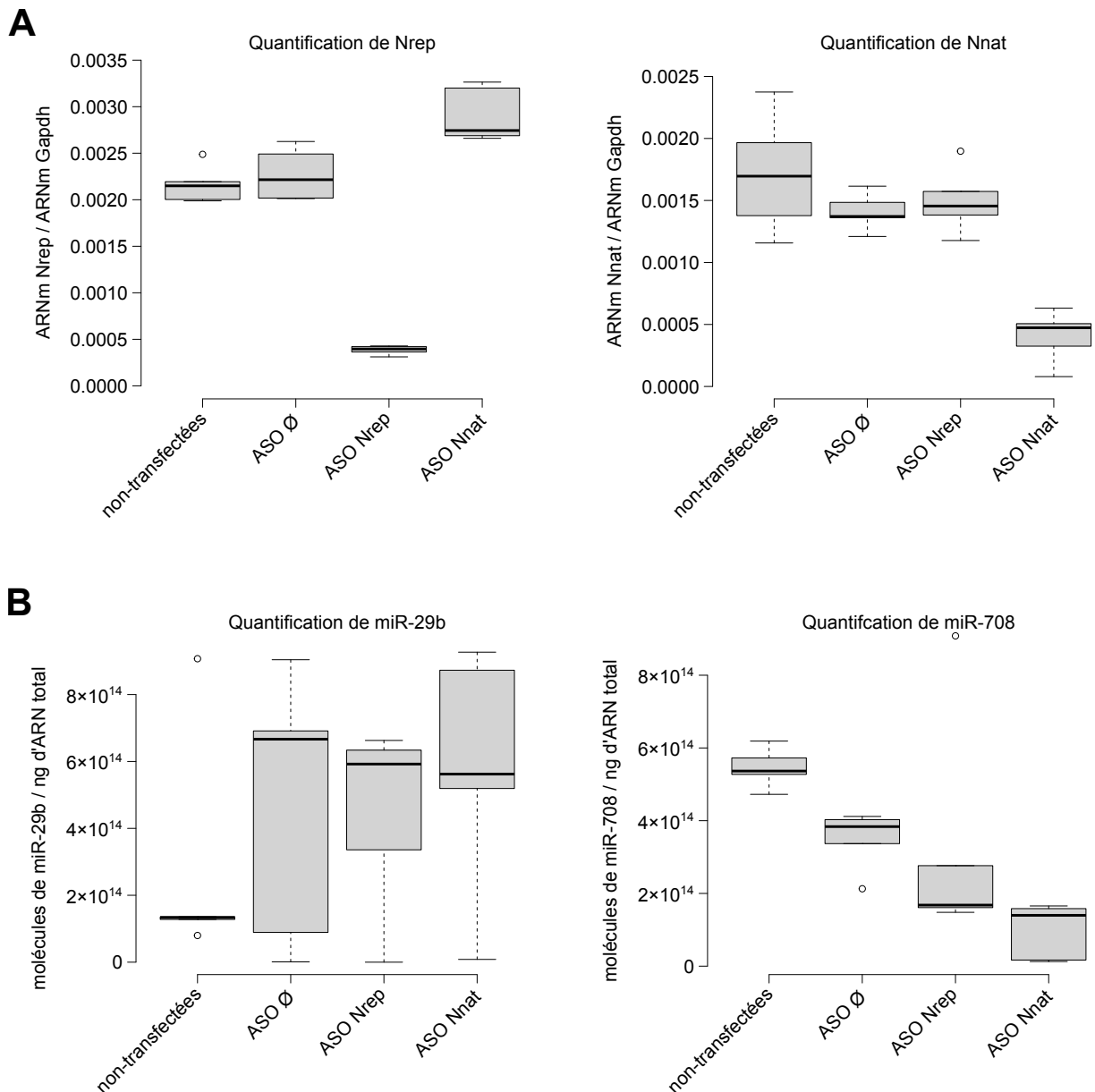


FIGURE 3 – Test de l'activité de deux candidats inducteurs de TDMD par répression par oligos ASO. **A.** Vérification de l'efficacité de la répression par ASO des gènes *Nrep* (à gauche) et *Nnat* (à droite) dans les cellules Neuro-2A. Chaque répression a été réalisée en 5 réplicats biologiques, les ARN ont été extraits 30 h après transfection, et les ARNm *Nrep*, *Nnat* et *Gapdh* ont été quantifiés par RT-ddPCR. **B.** À partir des mêmes préparations d'ARN qu'en panel **A**, les miARN miR-29b (potentiellement ciblé par l'ARNm *Nrep*; à gauche) et miR-708 (potentiellement ciblé par l'ARNm *Nnat*; à droite) ont été quantifiés par RT-ddPCR.

vue de les administrer ensuite à des souris exprimant le récepteur humain ACE2, et infectées avec le SARS-CoV-2. Les critères d'optimisation des siARN étaient les suivants :

- maximiser le nombre de variants viraux ciblés ;
- cibler des régions structurellement accessibles dans l'ARN génomique et les ARNm viraux ;
- minimiser le nombre de gènes humains présentant une complémentarité fortuite à la graine du siARN dans leur 3' UTR (spécialement les gènes humains haplo-insuffisants, dont une petite répression est la plus susceptible de provoquer des conséquences macroscopiques).

Nous avons ainsi sélectionné 8 séquences de siARN, que nous avons évaluées *ex vivo* (par transfection dans des cellules Vero E6 en culture, infectées avec le SARS-CoV-2 24 h après transfection ;



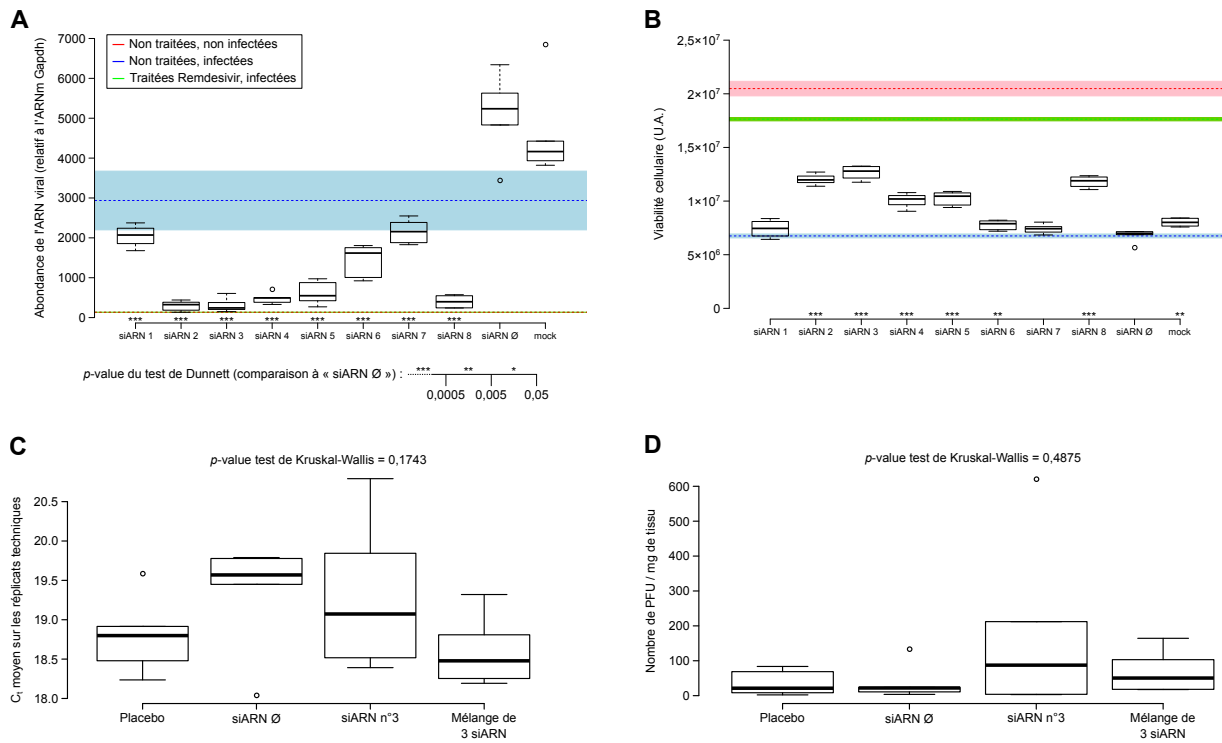
collaboration avec la plateforme CEMIPAI de Montpellier). Cinq candidats réprimaient efficacement la réplication virale aux quatre concentrations testées (1 nM; 5 nM; 20 nM et 100 nM), à la fois d'après une mesure de l'ARN viral par RT-qPCR 48 h post-infection, et d'après un test de viabilité cellulaire 72 h post-infection (voir Figure 4A et B pour un exemple : la concentration de 20 nM).

Parmi ces 5 siARN, deux couples de siARN étaient très similaires (les deux siARN ciblaient des positions génomiques voisines : les siARN n°2 et 3 d'une part, et n°5 et 8 d'autre part); nous avons donc sélectionné, pour chacun de ces deux couples, un seul siARN, de manière à constituer un mélange de 3 siARN, à administrer *in vivo* (nous souhaitions que les siARN du mélange ciblent des régions distinctes, de manière à minimiser les risques que toutes leurs régions-cibles soient inaccessibles au siARN). C'est donc un mélange des siARN n°3, 4 et 8 que nous avons utilisé *in vivo* chez des souris exprimant le récepteur ACE2 humain sous le contrôle du promoteur de la cytokératine 18. Outre la cohorte traitée par le mélange de 3 siARN, nous avons également constitué une cohorte placebo (traitée avec le véhicule lipidique seul, sans siARN), une autre cohorte contrôle (traitée avec le véhicule lipidique contenant un siARN qui ne cible pas le génome viral, et qui minimise le nombre de *off-targets* dans le génome murin), et une cohorte traitée avec un unique siARN (le siARN n°3 des Figures 4A et B) plutôt que le mélange. Chaque cohorte était constituée de 6 souris, elles ont été infectées au jour 0, puis pendant chacun des 4 jours suivants elles ont été traitées avec les siARN formulés dans le véhicule lipidique (une administration rectale par jour). Elles ont été sacrifiées au jour 5, et leur titre viral pulmonaire a été évalué par deux méthodes distinctes (la quantification de l'ARN viral par RT-qPCR, et la quantification des particules infectieuses par TCID). Toutes ces expériences chez la Souris ont été réalisées dans le cadre d'une collaboration avec la plateforme CIPHE de Marseille. Les mesures de titre viral pulmonaire ne montrent pas de réduction par rapport à la cohorte placebo (voir Figure 4C et D). Il est possible que les siARN ne parviennent pas à réprimer efficacement une cible virale, qui se réplique (à la différence des gènes ciblés habituellement par les expériences de RNAi); il est également possible que l'adressage des siARN *in vivo* ait été déficient : nous avons initié une expérience de Small RNA-Seq sur les ARN de poumon et de cerveau de 3 souris de la cohorte traitée par le mélange de siARN (ainsi que 3 souris de la cohorte placebo) pour le déterminer.

### 3.6 Collaborations

Outre nos projets de recherche propres, nous avons été impliqués dans un grand nombre de collaborations nationales et internationales (sollicités, le plus souvent, pour notre expertise sur les petits ARN régulateurs) :

- La mesure de la réponse du miARN-ome au traitement avec deux produits toxiques (la 6-propyl-2-thio-uracile et la phénytoïne) chez le Rat. Cette analyse fait partie d'une étude plus large, « multi-omique » : mon équipe se charge de la quantification des petits ARN, nos collaborateurs, des longs ARN, des protéines, et du métabolome. **Rôle** : mesure de l'abondance des miARN natifs et de leurs isoformes 3' par Small RNA-Seq dans les 150 échantillons d'ARN total fournis par nos collaborateurs. **Partenaires** : J. Hackermüller (UFZ, Leipzig, Allemagne; coordinateur); R. Buesen (BASF, Ludwigshafen am Rhein, Allemagne; partenaire). **Impact** : Nous espérons identifier des marqueurs de la toxicité dans deux organes (foie et thyroïde), potentiellement des marqueurs composites impliquant des molécules de natures différentes (petits ou longs ARN, protéines, petites molécules du métabolome), qui pourraient fiabiliser et simplifier les études toxicologiques. Un article d'opinion sur le sujet a été publié par notre consortium en 2020 [Canzler *et al.*, 2020]; l'analyse de nos données multi-omiques est toujours en cours.
- La mesure de dérégulations post-transcriptionnelles du gène *HTR2C* chez la Souris par l'ARN non-codant Snord115. Cet ARN non-codant est soupçonné de contrôler l'édition A→I et l'épissage de l'ARN pré-m *HTR2C* depuis une vingtaine d'années, mais les éléments de démonstration restaient très indirects. Nos collaborateurs dans l'équipe de J. Cavaillé ont préparé des souches de Souris mutantes pour Snord115, et nous les avons aidés à analyser les conséquences de ce *knock-out* sur la régulation de l'ARNm *HTR2C*. **Rôle** : analyses bio-informatiques pour quan-



**FIGURE 4 – Développement de siARN contre le SARS-CoV-2 pour administration *in vivo*.** **A.** Mesure de l'abondance de l'ARN viral 48 h après infection (infection elle-même 24 h après transfection des siARN). Contrôle positif : cellules non traitées mais infectées (4 réplicats ; leur moyenne est représentée par la ligne pointillée bleue, et la moyenne +/- erreur-type par le rectangle bleu). Contrôles négatifs : cellules non traitées et non infectées (2 réplicats ; moyenne et moyenne +/- erreur-type en rouge) ; cellules infectées et traitées par 10  $\mu$ M de Remdesivir (2 réplicats ; moyenne et moyenne +/- erreur-type en vert). **B.** Mesure de la viabilité cellulaire 72 h après infection. Mêmes code-couleur et code de représentation des  $p$ -values que sur le panel **A**. **C.** Mesure de l'ARN viral dans les poumons 5 jours après infection (et après 4 jours de traitement) des souris humanisées. **D.** Mesure du titre viral par TCID dans les poumons 5 jours après infection (et après 4 jours de traitement) des souris humanisées.

tifier les conséquences du *knock-out* sur l'édition et l'épissage de l'ARN HTR2C, analyses statistiques sur ces réponses et sur les scores d'analyses comportementales des différents génotypes de Souris. **Partenaire** : J. Cavallé (CNRS UMR 5077, Toulouse). **Impact** : Nos travaux ont démenti l'hypothèse de la régulation de HTR2C par Snord115, au moins dans les (nombreuses) aires de cerveau et stades développementaux que nous avons testés [Hebras *et al.*, 2020]. En particulier, l'effet spectaculaire observé en cellules en culture par [Kishore et Stamm, 2006] n'est pas reproduit dans nos analyses *in vivo*.

- L'analyse de données de transcriptomique sur des cellules humaines en culture dont le gène SETX a été réprimé. Ce gène code la Sénataxine, une hélicase impliquée dans la régulation de la transcription. **Rôle** : analyses bio-informatiques et statistiques sur les données de transcriptomique fournies par nos collaborateurs. **Partenaire** : P. Richard dans l'équipe de J. Manley (Columbia university, New York, États-Unis). **Impact** : En montrant que la répression de SETX dérégule la voie de l'autophagie, nos travaux apportent une explication mécanistique à son implication dans deux maladies neurodégénératives, la maladie de Charcot et l'ataxie avec apraxie oculomotrice [Richard *et al.*, 2021].
- L'analyse du mécanisme de l'amélioration d'efficacité des siARN après modification du 5' du brin guide par la 6-mCEPh-purine. **Rôle** : modélisation des données de biochimie, et analyse statistique de ces modèles cinétiques d'assemblage et de maturation du complexe RISC, et

de clivage de la cible. **Partenaire** : Y. Tomari (Tōkyō university, Japon). **Impact** : Nos travaux montrent que cette modification chimique améliore l'asymétrie fonctionnelle du duplex de siARN et stabilise le complexe RISC, ouvrant la voie au développement de co-modifications synergiques pour améliorer simultanément plusieurs aspects de la formation et de l'activité du complexe effecteur du RNAi [Breachin *et al.*, 2021].

### 3.7 Participations à des contrats de recherche

- Contrat ANR. **Intitulé long** : *Uncovering the rules of target-directed microRNA degradation*. **Acronyme** : « SCOUBiDou ». **Durée** : 4 ans (01/01/2022–31/12/2025). **Partenaire** : équipe de W. Ritchie (CNRS UMR 9002, Montpellier). **Montants** : total : 497 495,36 € (pour mon équipe : 362 692,20 €). **Nature de mes responsabilités** : coordinateur du projet. **Thème** : identification des déterminants du TDMD (dégradation des miARN sous l'action d'ARN-cibles reconnus comme le seraient les ARN-cibles du miARN), par un crible sur une banque de séquences randomisées, et par la recherche des déterminants de son apparente spécificité pour les neurones. **Portée et impact** : ces travaux visent à une meilleure compréhension des mécanismes de contrôle post-transcriptionnels des miARN.
- Contrat ANR. **Intitulé long** : *Hippo pathway-mediated regulation of micropyle formation by microRNA 202 (miR-202) in the fish oocyte*. **Acronyme** : MicroHippo. **Durée** : 4 ans (01/01/2022–31/12/2025). **Partenaire** : équipe de J. Bobe (INRAE LPGP, Rennes), coordinateur du projet. **Montants** : total : 406 339,36 € (pour mon équipe : 80 000 €). **Nature de mes responsabilités** : partenaire du projet. **Thème** : analyse mécanistique du défaut de fertilité femelle des mutants *miR-202* chez le Medaka, par des analyses physiologiques *in vivo* couplées à la transcriptomique spatiale à haute résolution. **Portée et impact** : ces travaux visent à déterminer les causes mécanistiques d'un phénotype physiologique observé après inactivation d'un miARN *in vivo*, en rationalisant la recherche des cibles fonctionnellement importantes.
- Contrat financé par le Cefic-LRI. **Intitulé long** : *Integrating Multiple Molecular-level Data Streams to understand (a) range of normal adaptation vs pathology and (b) molecular generated gene expression changes and persistence over time*. **Acronyme** : « XomeTox ». **Durée** : 4 ans (prolongé administrativement d'une cinquième année sans financement supplémentaire, pour accommoder les retards dus aux perturbations causées par la pandémie de Covid-19) (01/01/2018–31/12/2022). **Partenaires** : J. Hackermüller (UFZ, Leipzig, Allemagne; coordinateur); R. Buesen (BASF, Ludwigshafen am Rhein, Allemagne; partenaire). **Montants** : total : 805 337 € (pour mon équipe : 56 230 €). **Nature de mes responsabilités** : partenaire du projet. **Thème** : analyse multi-omique dans deux organes (foie et thyroïde) chez le Rat après traitement à la 6-propyl-2-thio-uracile ou à la phénytoïne (traitement sur 2 ou 4 semaines, ou 4 semaines puis 2 semaines de récupération post-traitement; chaque condition en 5 réplicats biologiques). **Portée et impact** : nous espérons identifier des marqueurs de la toxicité dans ces deux organes, potentiellement des marqueurs composites impliquant des molécules de natures différentes (petits ou longs ARN, protéines, petites molécules du métabolome), qui pourraient fiabiliser et simplifier les études toxicologiques. Un article d'opinion sur le sujet a été publié par notre consortium en 2020 [Canzler *et al.*, 2020]; l'analyse de nos données multi-omiques est toujours en cours.
- Contrat financé par la Région Occitanie. **Intitulé long** : Évaluation *ex vivo* et *in vivo* d'une stratégie thérapeutique anti-Covid19 par interférence à ARN. **Acronyme** : CovFefe. **Durée** : 1 an (prolongé administrativement de 6 mois sans financement supplémentaire, pour accommoder des retards dus au manque de disponibilité de la plateforme CIPHE pour l'analyse *in vivo*) (01/02/2021–31/07/2022). **Partenaire** : société Medesis Pharma, S.A. **Montant** : 48 336 € (en totalité pour mon équipe). **Nature de mes responsabilités** : coordinateur du projet. **Thème** : optimisation de siARN dirigés contre le virus SARS-CoV-2, validation *ex vivo*, puis

sélection des meilleurs candidats pour essai *in vivo* sur des souris humanisées. **Portée et impact** : l'objectif était d'évaluer la faisabilité d'un traitement contre la Covid-19 par des siARN administrés par le vecteur AONYS développé par la compagnie Medesis Pharma, S.A. En cas de succès, l'approche pourrait ensuite être facilement adaptée à d'éventuels nouveaux virus dans le futur (la seule information nécessaire à cette procédure d'optimisation consiste en une collection de séquences de génomes de variants du virus, et l'épidémie de Covid-19 a montré que ces données sont maintenant accessibles en quantité dès les premières semaines d'épidémie). En cas d'échec, il faudrait déterminer la quantité de siARN distribuée dans les organes de Souris (si les siARN ont été correctement adressés *in vivo*, la technique pourrait être adaptée contre des cibles non-répliquatives, par exemple des cibles d'intérêt clinique : oncogènes, allèles mutés dans des maladies autosomales dominantes telles que la maladie de Huntington, *etc.*). Nos résultats ont montré que les siARN efficaces *ex vivo* n'étaient pas parvenus à réduire le titre viral *in vivo* chez la Souris, aux concentrations utilisées. Nous sommes en train de mesurer la quantité de siARN distribuée dans les poumons et le cerveau.

### 3.8 Place de ma recherche dans mon unité

Mon équipe (« Impact systémique des petits ARN régulateurs ») avait été créée à l'IGH en octobre 2011 en tant qu'« équipe junior », qui serait évaluée par un jury international après 5 ans d'activité. L'évaluation s'est déroulée fin 2016 et début 2017 (soumission de mon rapport écrit le 7 octobre 2016, interview par le jury le 20 janvier 2017), et mon équipe a été titularisée en « équipe senior », permanente.

L'IGH est organisé en trois départements, mon équipe appartient au département « Génétique, biologie cellulaire et développement ». Nous prenons une part active à la vie scientifique du département (participation aux retraites de département tous les deux ans, invitation de conférenciers extérieurs pour des séminaires), et de l'IGH en général (participation aux retraites de l'IGH tous les deux ans, séminaires internes d'institut). Notre thématique (les fonctions biologiques des petits ARN régulateurs) est très proche de celles de deux autres équipes de l'institut (l'équipe de Séverine Chambeyron et celle de Kazufumi Mochizuki), avec lesquelles nous organisons des réunions tri-équipes un mardi sur deux, pendant 1h30.

### 3.9 Mobilités

Aucune au cours des 5 derniers semestres.

### 3.10 Distinctions scientifiques

Aucune au cours des 5 derniers semestres.

### 3.11 Cinq productions scientifiques

(numérotées selon l'ordre d'importance que je leur accorde ; par importance décroissante)

(\*) : auteur correspondant

1. Mockly S, Houbron É, **Seitz H (\*)** (2022) A rationalized definition of general tumor suppressor microRNAs excludes miR-34a. *Nucleic Acids Res* 50(8):4703–4712 (PMID : 35474387 ; identifiant HAL : hal-03654010v1). **Portée et impact** : Dans ce travail, nous résolvons un vieux paradoxe (les données de biologie moléculaire et de bio-informatique indiquaient que le miARN miR-34a joue un rôle de suppresseur de tumeur en réprimant la prolifération cellulaire ; les données *in vivo* au contraire ne mettaient en évidence aucune activité sur la tumorigenèse). Nous avons montré que, dans la plus grande collection de types de cancers analysables actuellement, le gène *miR-34a* ne se comporte pas en suppresseur de tumeur (il est rarement

- inactivé ou perdu dans les tumeurs), et que son activité anti-prolifératrice supposée était un artefact de sur-expression. **Ma contribution personnelle** : direction des travaux, analyses bio-informatiques et statistiques, rédaction du manuscrit.
2. Hebras J, Marty V, Personnaz J, Mercier P, Krogh N, Nielsen H, Aguirrebengoa M, **Seitz H**, Pradere JP, Guiard BP, Cavaillé J (2020) Reassessment of the involvement of Snord115 in the serotonin 2c receptor pathway in a genetically relevant mouse model. *Elife* 9:e60862 (PMID : 33016258 ; identifiant HAL : hal-03040896v1). **Portée et impact** : Dans ce travail, nous évaluons l'effet de la délétion du gène non-codant *Snord115* sur le contrôle post-transcriptionnel du gène *HTR2C*, et sur des phénotypes comportementaux chez la Souris. Des données accumulées depuis une vingtaine d'années suggéraient un modèle de contrôle de *HTR2C* par l'ARN non-codant Snord115, et une probable implication de ce contrôle dans l'étiologie du syndrome de Prader-Willi. Nos travaux *in vivo* (sur différents mutants *Snord115*) montrent au contraire que, dans une grande collection d'aires du cerveau et à différents stades développementaux, la délétion de *Snord115* reste sans effet sur *HTR2C*, et que les défauts phénotypiques du syndrome de Prader-Willi ne sont, dans l'ensemble, pas récapitulés. **Ma contribution personnelle** : analyses bio-informatiques pour quantifier les conséquences du *knock-out* sur l'édition et l'épissage de l'ARN HTR2C, analyses statistiques sur ces réponses et sur les scores d'analyses comportementales des différents génotypes de Souris.
  3. Brechin V, Shinohara F, Saito JI, **Seitz H**, Tomari Y (2021) Mechanistic analysis of the enhanced RNAi activity by 6-mCEPh-purine at the 5' end of the siRNA guide strand. *RNA* 27(2):151–162 (PMID : 33177187 ; identifiant HAL : hal-03375428v1). **Portée et impact** : Un travail mené par mes collaborateurs japonais (co-publié dans le même journal) montrait que la modification chimique 6-mCEPh-purine, sur l'extrémité 5' du brin guide, améliorait l'efficacité des siARN. Dans cet article, nous avons donc recherché le mécanisme biochimique de cet effet, et montré que cette modification améliorait à la fois l'asymétrie fonctionnelle du siARN, et la stabilité du complexe RISC mature. **Ma contribution personnelle** : modélisation des données de biochimie établies par mes collaborateurs, et analyse statistique de ces modèles cinétiques d'assemblage et de maturation du complexe RISC, et de clivage de la cible.
  4. Richard P, Feng S, Tsai YL, Li W, Rinchetti P, Muhith U, Irizarry-Cole J, Stolz K, Sanz LA, Hartono S, Hoque M, Tadesse S, **Seitz H**, Lotti F, Hirano M, Chédin F, Tian B, Manley JL (2021) SETX (senataxin), the helicase mutated in AOA2 and ALS4, functions in autophagy regulation. *Autophagy* 17(8):1889–1906 (PMID : 32686621 ; identifiant HAL : hal-03032472v1). **Portée et impact** : Nos travaux montrent que la répression de la Sénataxine (une hélicase impliquée dans le contrôle de la transcription) dérégule de nombreux gènes dans des cellules en culture, et particulièrement les gènes de la voie de l'autophagie, ce qui apporte une explication mécanistique à l'implication de la Sénataxine dans deux maladies neurodégénératives. **Ma contribution personnelle** : analyses bio-informatiques et statistiques, sur les données de *microarray* fournies par nos collaborateurs.
  5. **Seitz H**, Mockly S (2020) Petits ARN régulateurs (microARN, siARN, piARN) : Cours introductif donné dans le cadre de l'école thématique du CNRS « InteRNAt » du 6 au 10 octobre 2019. *Actes de colloque pour l'école thématique InteRNAt* (identifiant HAL : hal-02615462). **Portée et impact** : Revue introductive très exhaustive sur les microARN et le RNAi, en langue française, pour permettre aux non-spécialistes d'acquérir une vue d'ensemble du domaine (historique des découvertes, biochimie de leur biogenèse et mode d'action, fonctions biologiques fréquentes), et proposer aux enseignants-chercheurs des exemples d'exercices sur le sujet. **Ma contribution personnelle** : j'ai rédigé les chapitres de revue (chapitres 1 à 5).

## 4 Enseignement, formation et diffusion de la culture scientifique

### 4.1 Thèses dirigées

Une étudiante : Sophie Mockly (du 1<sup>er</sup> octobre 2017 à sa soutenance de thèse, le 8 décembre 2021 ; manuscrit de thèse disponible sur HAL : identifiant HAL : tel-03558262).

Sophie a mené deux projets de recherche principaux :

- l'évaluation de l'action de miR-34a sur la prolifération dans les cellules de Mammifères (voir section 3.2, page 12) ;
- l'identification d'ARN inducteurs de la dégradation de miARN par TDMD (voir section 3.4, page 15).

Outre ces deux projets, Sophie a participé ponctuellement à plusieurs autres projets de l'équipe (mesure de la pression sélective sur les sites de complémentarité aux graines de miARN, après gain ou perte d'une famille de miARN dans un clade vertébré ; optimisation et test de siARN dirigés contre le virus SARS-CoV-2 ; mesure de l'accumulation de miARN *bantam* mutés par édition du génome, chez la Drosophile ; mesure de l'abondance des miARN de Rat, et de leurs isoformes présentant des hétérogénéités de séquence en 3', dans le foie et la thyroïde après traitement par deux produits toxiques, la 6-propyl-2-thio-uracile et la phénytoïne). Ces projets sont toujours en cours, après le départ de Sophie.

Part prise dans l'encadrement : j'étais le directeur de thèse de Sophie, c'est moi qui lui enseignais les techniques qu'elle ne connaissait pas encore, en biologie moléculaire (*Northern blot*, capture sur billes magnétiques, 5' RACE, ...) et en bio-informatique (notions de phylogénie, analyses de données de séquençage à haut débit, analyses de conservation, ...).

Contenu et portée des travaux finalisés : Sophie a mis en évidence la mésinterprétation du rôle de miR-34a sur la prolifération dans les cellules humaines HCT-116 et HAP1 (voir section 3.2, page 12), et elle a découvert plusieurs candidats inducteurs de TDMD dans les neurones corticaux de Souris, dont la vérification de l'activité est en cours (voir section 3.4, page 15). Le programme informatique qu'elle a écrit à cette fin sera mis à la disposition du public à la publication de ses résultats.

Devenir de la docteure : après sa soutenance de thèse, Sophie est restée au laboratoire en tant que post-doctorante jusqu'au 30 juin 2022. Elle débutera, en septembre 2022, un post-doctorat au Canada (équipe de Martin Sauvageau, IRCM, Montréal).

### 4.2 Post-doctorants encadrés

Un post-doctorant : Germain Busto (du 1<sup>er</sup> juin 2020 au 31 mai 2021).

Germain a mené un projet pour lequel il avait obtenu lui-même (avant de rejoindre mon équipe) un financement de 12 mois de la part de la FRC : la quantification de l'abondance des miARN dans des larves de Drosophile traitées à des doses sub-létales de pesticides (couplée à une mesure des performances cognitives à l'âge adulte, et de leur durée de vie, avec l'aide d'Élisabeth Houbbron, technicienne dans l'équipe). Il est important de signaler que ce projet a été conçu en autonomie par Germain, qui l'a fait financer par la FRC (ce financement couvrait notamment les 12 mois de salaire de Germain, ainsi que les consommables pour la réalisation du projet).

Part prise dans l'encadrement : je me suis chargé d'enseigner à Germain les aspects de l'état de l'art sur les miARN qu'il ne connaissait pas encore, et (avec l'aide de Sophie Mockly, alors doctorante dans l'équipe) de sa formation aux bases de la bio-informatique.

Contenu et portée des travaux : le projet n'est pas encore finalisé (nous sommes en train de terminer les expériences de quantification des miARN et de mesure de longévité). Il permettra de caractériser les effets de doses sub-létales de huit pesticides courant (notamment plusieurs pesticides employés en agriculture) sur les capacités cognitives et sur le transcriptome de la *Drosophile*.

Devenir du post-doctorant : Germain est, depuis juin 2021, attaché de recherche clinique au CHU de Montpellier.

### 4.3 Participations à l'enseignement

Cours magistraux :

- 7 mai 2020 : cours de 3 h aux étudiants de L3 de l'École normale supérieure (titre : « Conséquences quantitatives de la régulation génique à l'échelle des systèmes biologiques : l'exemple des cibles de microARN ») ;
- 28 septembre 2020 : cours de 3 h aux étudiants de M2 de l'université de Montpellier, module « Écosystèmes : enjeux et controverses » (titre : « Chloroquine et Covid-19 ») ;
- 8 avril 2021 : cours de 3 h aux étudiants de L3 de l'École normale supérieure (titre : « Conséquences quantitatives de la régulation génique à l'échelle des systèmes biologiques : l'exemple des cibles de microARN ») ;
- 5 octobre 2021 : cours de 3 h aux étudiants de M2 de l'université de Montpellier, module « Écosystèmes : enjeux et controverses » (titre : « Chloroquine et Covid-19, le mécanisme d'une controverse ») ;
- 25 janvier 2022 : cours de 30 min aux étudiants du collège doctoral de l'université de Montpellier, pour la journée de rentrée du collège doctoral (titre : « Communiquer la science au grand public : attentes, curiosité, inquiétudes, en période normale et pendant la pandémie ») ;
- 5 avril 2022 : cours de 3 h aux étudiants de L3 de l'École normale supérieure (titre : « Conséquences quantitatives de la régulation génique à l'échelle des systèmes biologiques : l'exemple des cibles de microARN »).

### 4.4 Partage, management et publication des données de la recherche

Alors qu'en théorie, les auteurs de publications scientifiques sont censés mettre à disposition les données et les méthodes sur lesquelles ils basent leurs conclusions, en pratique il est souvent difficile de reproduire exactement les analyses publiées. Il est pourtant vital de garantir l'accès public aux détails des publications scientifiques (mise à disposition des programmes informatiques utilisés, des données brutes et des données intermédiaires), pour à la fois mettre un terme à la « crise de reproductibilité » qui fragilise le progrès scientifique, et pour permettre au reste de la communauté d'aider les auteurs à identifier et corriger leurs éventuelles erreurs (qui polluent inévitablement toute production humaine).

À l'échelle de mon équipe, je mets en œuvre une politique facilitant la reproductibilité intégrale de nos résultats. Les données brutes et intermédiaires des articles dont je suis l'auteur correspondant, ainsi que les scripts que nous développons, sont accessibles sur le site web de notre équipe, et des liens en sont explicitement donnés (dans le texte principal ou les suppléments) dans nos articles. Dans le cas plus précis des scripts informatiques (pour tous les articles auquel je participe, en tant qu'auteur correspondant ou non), ils sont également accessibles sur la plateforme publique GitHub, dédiée au partage des programmes informatiques, et dont les adresses URL sont pérennes.

Nous mettons en ligne les diaporamas de nos conférences sur le site de notre équipe, pour que les auditeurs y aient accès sans restriction après la conférence, et nous en donnons l'URL aux auditeurs en début d'exposé.

Mes rapports d'activité (par vague et à mi-vague, tels que celui-ci) et les comptes-rendus d'évaluation de mon équipe par l'HCERES sont également en lecture publique sur le site web de l'équipe : c'est un moyen simple de donner accès, pour le public intéressé, à une synthèse des résultats de nos travaux.

## 4.5 Participation à l'organisation de conférences

J'étais le porteur de l'école thématique du CNRS « InteRNAt », organisée à Sète du 2 au 6 novembre 2021 (25 participants). J'ai soumis au CNRS un projet d'organisation d'une nouvelle édition en 2023.

## 4.6 Participation à la diffusion de l'information scientifique et technique vers des publics non spécialistes

*N.B.* : Les diaporamas de toutes mes interventions publiques sont en accès libre sur le site web de mon labo, leur URL est donnée en début de conférence pour que l'assistance puisse relire les diapositives à tête reposée.

### Interventions orales :

- le 13 mars 2021 pour l'association « Cercle zététique du Languedoc-Roussillon » : conférence de 2 h (captures vidéo : de la conférence ; de la session de questions/réponses avec l'assistance) ; titre : « Du bon (ou du mauvais) choix des statistiques à la lumière de la pandémie » ;
- le 16 mars 2022 pour l'association « Lattes université pour tous » : conférence d'1 h ; titre : « La génétique moléculaire : définition et applications » ;
- le 13 avril 2022 pour l'association « Rando, loisirs, culture » de Grabels : conférence de 2 h ; titre : « L'ARN, couteau suisse de la cellule ».

### Articles :

- « Le génome, une donnée personnelle d'un nouveau genre : nouvelles questions posées par la généralisation du séquençage de l'ADN » (2022) dans les actes du colloque « Santé et droit de choisir », publiés dans le n°65(1) du journal de médecine légale, droit médical ;
- « Hydroxychloroquine et Covid-19 : résumé d'un an de controverse », déposé le 20 mai 2021 sur la plateforme HAL (identifiant HAL : hal-03231601).

### Vidéos publiques :

- Série de 11 « Covid-éos » : vidéos publiques de vulgarisation concernant les rumeurs pseudo-scientifiques sur l'épidémie de Covid-19 (faux traitements, notions d'épidémiologie, rumeurs sur les vaccins à ARN, ...) : *playlist* sur ma chaîne personnelle YouTube ;
- Chaîne YouTube institutionnelle de mon laboratoire, créée en janvier 2022 (divisée en quatre *playlists* : trois *playlists* de vulgarisation en direction du grand public : « La biologie moléculaire expliquée à ta grand-mère » ; « Questions ouvertes » et « Derniers résultats » ; et une *playlist* destinée aux chercheurs : « *Master classes* ») ; nous prévoyons d'y publier une vidéo tous les trimestres environ ;
- Intervention sur le métier de chercheur en biologie moléculaire pour la chaîne YouTube « Écran de savoirs » de l'université de Montpellier : <https://www.youtube.com/watch?v=mFSPRDYe-a4> ;
- Le 24 juin 2020 : entretien de 2h14 sur la chaîne YouTube de l'association « La tronche en biais », à propos de la controverse sur la chloroquine contre la Covid-19 (capture vidéo de l'entretien) ;
- Le 16 mai 2022 : entretien de 44 min pour la chaîne YouTube « Écran de savoirs » de l'université de Montpellier, sur le thème de « La cellule » (capture vidéo de l'entretien).



## 4.7 Interventions dans la presse écrite et audiovisuelle

### Presse écrite :

- Midi Libre (une intervention le 30 mars 2020, une intervention le 29 mai 2021).

### Presse audiovisuelle :

- Interview dans l'émission « Le grand soir » sur LCI le 08 avril 2020 ;
- Interview dans le journal de 20 h de TF1 le 09 avril 2020 ;
- Interview dans l'émission « le Brunch de l'info » sur LCI le 12 avril 2020 ;
- Interview dans l'émission « le Grand soir » sur LCI le 13 mai 2020 ;
- Interview par France 3 Occitanie le 27 mai 2020 ;
- Interview par Live Aveyron le 23 septembre 2021.

## 4.8 Participation à des travaux d'expertise

Rapporteur pour des journaux dans les domaines de l'ARN, de la bio-informatique, et de la génétique moléculaire (*Current Biology*, *eLife*, *EMBO Journal*, *EMBO Reports*, *Genome Research*, *Nucleic Acids Research*, *Nature Structural and Molecular Biology*, ...) (la plupart de mes activités de *reviewing* depuis 2015 sont recensées sur <https://publons.com/researcher/1288691/herve-seitz/>).

Depuis janvier 2022 : membre du comité de pilotage de l'Axe 2 du Cancéropôle Grand Sud-Ouest.

Membre du comité scientifique du congrès SifrARN de Bordeaux (prévu en octobre 2022).

Membre de 8 jurys de thèses et d'HDR :

- thèse de Florian Thibord (Sorbonne université ; soutenance le 11 décembre 2019) en tant que rapporteur ;
- thèse d'Olivier Terenzi (université de Strasbourg ; soutenance le 19 décembre 2019) en tant que rapporteur ;
- thèse de Nina Abderahmane (université Grenoble Alpes ; soutenance le 25 juin 2020) en tant que rapporteur ;
- HDR de Laurent Guyon (université Grenoble Alpes ; soutenance le 15 décembre 2020) en tant que rapporteur ;
- HDR de Loredana Martignetti (École normale supérieure ; soutenance le 11 mai 2021), en tant que rapporteur ;
- thèse de Sebastian Bechara (*university of Bern* ; soutenance le 28 septembre 2021), en tant que rapporteur ;
- thèse de Claudio Lorenzi (université de Montpellier ; soutenance le 20 octobre 2021), en tant qu'examinateur, président du jury ;
- HDR de Violette Thermes (université de Rennes 1 ; soutenance le 28 février 2022), en tant que rapporteur.

## 5 Transfert technologique, relations industrielles et valorisation

### Participation à des contrats industriels :

Contrat de prestation de service d'un mois (juillet–août 2020) pour le compte de Medesis Pharma, S.A. (partenaire financeur). **Montant** : 5040 €. **Nature de mes responsabilités** : PI. **Thème et contenu des travaux** : À partir d'organes de Souris disséqués (3 cohortes de 10 souris chacune, 5 organes par souris), extraction des ARN, purifications additionnelles pour les ARN de foie (contaminés par du glycogène), traitement DNase, réverse-transcription, puis quantification de deux ARNm par ddPCR dans chacune des 150 réverse-transcriptions. **Portée et impact** : Ces travaux visaient à évaluer pour la première fois, dans une série d'organes de Souris, l'efficacité de répression de siARN administrés par la technologie AONYS contre un gène d'intérêt. Des études additionnelles sont nécessaires pour évaluer l'ampleur de l'adressage des siARN dans chaque organe.

### Travaux donnant lieu à des dépôts de brevets :

*Traitement de la Covid-19 à l'aide d'un système de micelle inverse comprenant des oligonucléotides non modifiés* (date de dépôt : 15 mars 2021). **Mon rôle** : choix des séquences de siARN dirigés contre l'ARN du virus SARS-CoV-2. **Contenu des travaux** : identification des régions les plus constantes parmi les variants séquencés ; détermination de séquences de siARN contre des segments structurellement accessibles dans ces régions, et en tenant compte des tolérances connues pour des mésappariements sur certaines positions du brin guide ; optimisation des séquences des duplex de siARN pour améliorer leur asymétrie fonctionnelle et la stabilité du brin guide vis-à-vis du processus de dégradation par TDMD. **Difficultés rencontrées et surmontées** : Difficultés à financer le projet (imaginé en janvier 2020, analyses bio-informatiques initiées en février 2020, il nous a fallu attendre janvier 2021 pour démarrer la phase expérimentale, après avoir obtenu en décembre 2020 un financement de la part de la région Occitanie). **Impact du brevet** : Limité pour le moment (les siARN étaient efficaces en cellules en culture, mais pas *in vivo* chez la Souris) ; nous cherchons actuellement à mesurer l'efficacité de l'adressage aux organes-cibles des siARN administrés aux souris, pour voir si des cibles non-réplicatives pourraient être réprimées avec plus de succès.

### Activités de consultance :

Activité de consultance pour Medesis Pharma S.A. : depuis mars 2022 (pour un volume horaire annuel de 30 h maximum).

## 6 Encadrement, animation et management de la recherche

### 6.1 Animation de projets

Je coordonne le projet « SCOuBiDou », financé par l'ANR (instrument PRC), pour une durée de 4 ans (01/01/2022–31/12/2025). Il vise à caractériser les déterminants du TDMD (*target-directed microRNA degradation*, un mode de dégradation des miARN guidé par des ARN qui ressemblent à des cibles de miARN), par une approche mélangeant à parts égales la biologie expérimentale et la bio-informatique. Ce projet implique deux équipes (l'équipe de William Ritchie, à l'IGH, et la mienne), le financement accordé par l'ANR se chiffre à 497 495,36 €..

### 6.2 Direction d'équipe

Je dirige depuis octobre 2011 une équipe de recherche à l'IGH (d'abord UPR 1142, désormais UMR 9002), à Montpellier. C'était une « équipe junior », dont l'activité a été évaluée après 5 ans (fin 2016 et début 2017), et qui a été titularisée en « équipe senior », permanente (voir rubrique 3.8, en page 20). Les effectifs de l'équipe ont oscillé entre 3 et 5 personnes au cours des 5 derniers semestres.

### 6.3 Autres responsabilités au CNRS ou au sein d'autres institutions

J'étais le porteur de l'école thématique du CNRS « InterRNAt », organisée à Sète du 6 au 10 octobre 2019 (35 participants), puis du 2 au 6 novembre 2021 (25 participants) : constitution du comité d'organisation et du comité scientifique, choix du programme de l'école, choix et invitation des intervenants extérieurs, coordination du contenu des interventions, gestion des aspects pratiques (choix et réservation du lieu d'hébergement, ...). J'ai soumis au CNRS un projet d'organisation d'une nouvelle édition en 2023.

Depuis janvier 2022 : membre du comité de pilotage de l'Axe 2 du Cancéropôle Grand Sud-Ouest.

Membre du comité scientifique du congrès SifrARN de Bordeaux (prévu en octobre 2022).

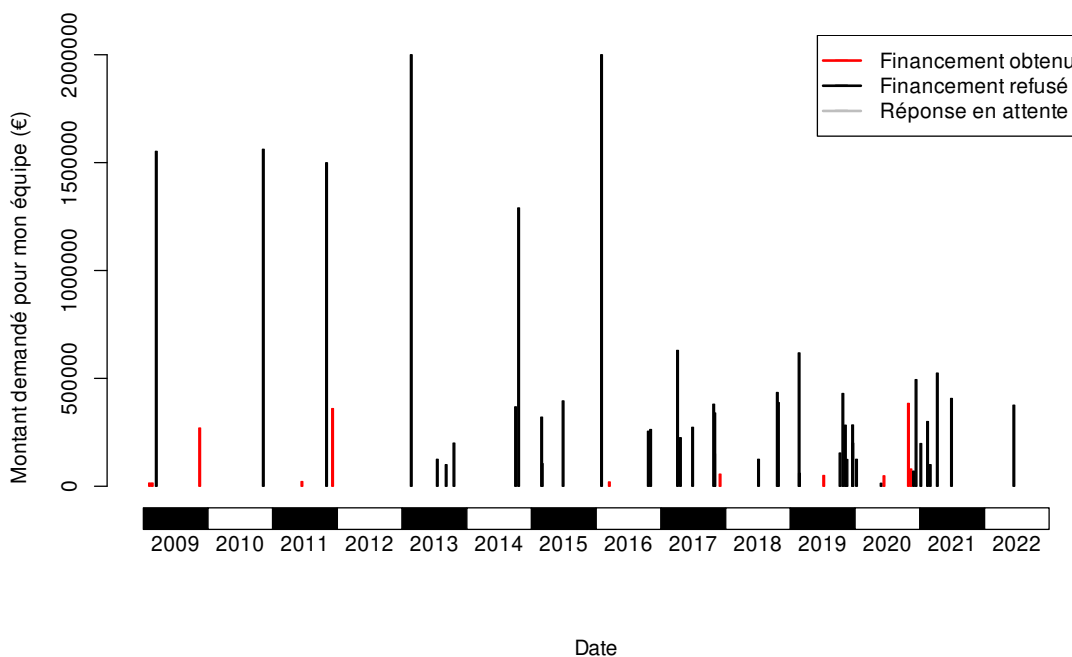


FIGURE 5 – **Historique de mes demandes de financement.** Une bonne part de mon temps de travail est consacré à ... rédiger des demandes de financement dans l'espoir (le plus souvent déçu) de réaliser les projets pour lesquels, par ailleurs, je suis salarié.

## 7 Références

- [Bartel, 2009] Bartel, D. P. (2009). MicroRNAs : target recognition and regulatory functions. *Cell*, 136(2) : 215–233.
- [Beg *et al.*, 2017] Beg, M. S., Brenner, A. J., Sachdev, J., Borad, M., Kang, Y. K., Stoudemire, J., Smith, S., Bader, A. G., Kim, S., et Hong, D. S. (2017). Phase I study of MRX34, a liposomal miR-34a mimic, administered twice weekly in patients with advanced solid tumors. *Invest New Drugs*, 35(2) : 180–188.
- [Brechin *et al.*, 2021] Brechin, V., Shinohara, F., Saito, J. I., Seitz, H., et Tomari, Y. (2021). Mechanistic analysis of the enhanced RNAi activity by 6-mCEPh-purine at the 5' end of the siRNA guide strand. *RNA*, 27(2) : 151–162.

- [Canzler *et al.*, 2020] Canzler, S., Schor, J., Busch, W., Schubert, K., Rolle-Kampczyk, U. E., Seitz, H., Kamp, H., von Bergen, M., Buesen, R., et Hackermüller, J. (2020). Prospects and challenges of multi-omics data integration in toxicology. *Arch Toxicol*, 94(2) : 371–388.
- [Champagne *et al.*, 2020] Champagne, J., Linares, L. K., Maurel, B., Zampieri, A., Moreno, M., Fuentes, I., Dubois, E., Severac, D., Decorsière, A., et Bienvenu, F. (2020). TAG-RNAi overcomes off-target effects in cancer models. *Oncogene*, 39(4) : 935–945.
- [Concepcion *et al.*, 2012] Concepcion, C. P., Han, Y. C., Mu, P., Bonetti, C., Yao, E., D’Andrea, A., Vidigal, J. A., Maughan, W. P., Ogrodowski, P., et Ventura, A. (2012). Intact p53-dependent responses in miR-34-deficient mice. *PLoS Genet*, 8(7) : e1002797.
- [de la Mata *et al.*, 2015] de la Mata, M., Gaidatzis, D., Vitanescu, M., Stadler, M. B., Wentzel, C., Scheiffele, P., Filipowicz, W., et Großhans, H. (2015). Potent degradation of neuronal miRNAs induced by highly complementary targets. *EMBO Rep*, 16(4) : 500–511.
- [Friedman *et al.*, 2009] Friedman, R. C., Farh, K. K., Burge, C. B., et Bartel, D. P. (2009). Most mammalian mRNAs are conserved targets of microRNAs. *Genome Res*, 19(1) : 92–105.
- [Fuchs Wightman *et al.*, 2018] Fuchs Wightman, F., Giono, L. E., Fededa, J. P., et de la Mata, M. (2018). Target RNAs strike back on microRNAs. *Front Genet*, 9 : 435.
- [Han *et al.*, 2020] Han, J., LaVigne, C. A., Jones, B. T., Zhang, H., Gillett, F., et Mendell, J. T. (2020). A ubiquitin ligase mediates target-directed microRNA decay independently of tailing and trimming. *Science*, 370(6523) : eabc9546.
- [Hebras *et al.*, 2020] Hebras, J., Marty, V., Personnaz, J., Mercier, P., Krogh, N., Nielsen, H., Aguirrebengoa, M., Seitz, H., Pradere, J. P., Guiard, B. P., et Cavaille, J. (2020). Reassessment of the involvement of Snord115 in the serotonin 2c receptor pathway in a genetically relevant mouse model. *Elife*, 9 : e60862.
- [Hong *et al.*, 2020] Hong, D. S., Kang, Y. K., Borad, M., Sachdev, J., Ejadi, S., Lim, H. Y., Brenner, A. J., Park, K., Lee, J. L., Kim, T. Y., Shin, S., Becerra, C. R., Falchook, G., Stoudemire, J., Martin, D., Kelnar, K., Peltier, H., Bonato, V., Bader, A. G., Smith, S., Kim, S., O’Neill, V., et Beg, M. S. (2020). Phase 1 study of MRX34, a liposomal miR-34a mimic, in patients with advanced solid tumours. *Br J Cancer*, 122(11) : 1630–1637.
- [Kishore et Stamm, 2006] Kishore, S. et Stamm, S. (2006). The snoRNA HBII-52 regulates alternative splicing of the serotonin receptor 2C. *Science*, 311(5758) : 230–232.
- [Lehmann *et al.*, 2014] Lehmann, S., Relano-Gines, A., Resina, S., Brillaud, E., Casanova, D., Vincent, C., Hamela, C., Poupeau, S., Laffont, M., Gabelle, A., Delaby, C., Belondrade, M., Arnaud, J. D., Alvarez, M. T., Maurel, J. C., Maurel, P., et Crozet, C. (2014). Systemic delivery of siRNA down regulates brain prion protein and ameliorates neuropathology in prion disorder. *PLoS One*, 9(2) : e88797.
- [Mockly *et al.*, 2022] Mockly, S., Houbron, E., et Seitz, H. (2022). A rationalized definition of general tumor suppressor microRNAs excludes miR-34a. *Nucleic Acids Res*, 50(8) : 4703–4712.
- [Pinzón *et al.*, 2019] Pinzón, N., Bertrand, S., Subirana, L., Busseau, I., Escrivá, H., et Seitz, H. (2019). Functional lability of RNA-dependent RNA polymerases in animals. *PLoS Genet*, 15(2) : e1007915.
- [Pinzón *et al.*, 2017] Pinzón, N., Li, B., Martinez, L., Sergeeva, A., Presumey, J., Apparailly, F., , et Seitz, H. (2017). microRNA target prediction programs predict many false positives. *Genome Res*, 27(2) : 234–245.
- [Pollard *et al.*, 2010] Pollard, K. S., Hubisz, M. J., Rosenbloom, K. R., et Siepel, A. (2010). Detection of nonneutral substitution rates on mammalian phylogenies. *Genome Res*, 20(1) : 110–121.
- [Richard *et al.*, 2021] Richard, P., Feng, S., Tsai, Y. L., Li, W., Rinchetti, P., Muhith, U., Irizarry-Cole, J., Stolz, K., Sanz, L. A., Hartono, S., Hoque, M., Tadesse, S., Seitz, H., Lotti, F., Hirano, M., Chédin, F., Tian, B., et Manley, J. L. (2021). SETX (senataxin), the helicase mutated in AOA2 and ALS4, functions in autophagy regulation. *Autophagy*, 17(8) : 1889–1906.

- [Shi *et al.*, 2020] Shi, C. Y., Kingston, E. R., Kleaveland, B., Lin, D. H., Stubna, M. W., et Bartel, D. P. (2020). The ZSWIM8 ubiquitin ligase mediates target-directed microRNA degradation. *Science*, 370(6523) : eabc9359.
- [Slack et Chinnaiyan, 2019] Slack, F. J. et Chinnaiyan, A. M. (2019). The role of non-coding RNAs in oncology. *Cell*, 179(5) : 1033–1055.