



HAL
open science

Activité transcriptionnelle de la protéine ribosomique uL11

Heloïse Grunchech

► **To cite this version:**

Heloïse Grunchech. Activité transcriptionnelle de la protéine ribosomique uL11. Biologie du développement. Sorbonne Université, 2021. Français. NNT : 2021SORUS195 . tel-03465133

HAL Id: tel-03465133

<https://theses.hal.science/tel-03465133v1>

Submitted on 3 Dec 2021

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Sorbonne Université

Ecole doctorale Complexité du vivant ED515

IBPS – UMR7622, Laboratoire de Biologie du développement, Sorbonne Université, CNRS

Equipe : « Contrôle épigénétique de l'homéostasie et de la plasticité du développement »

Activité transcriptionnelle de la protéine ribosomique uL11

Par Héloïse Grunchev

Thèse de doctorat de Biologie Moléculaire et Cellulaire

Dirigée par Frédérique Peronnet

Présentée et soutenue publiquement le 17 septembre 2021

Devant un jury composé de :

Pr. Vincent Maréchal	Professeur	Président
Pr. Isabelle Guénal	Professeur	Rapporteur
Dr. Jacques Montagne	Directeur de recherche	Rapporteur
Pr. Fabienne Malagnac	Professeur	Examinatrice
Dr. Frédérique Peronnet	Directrice de recherche	Directrice de thèse

Remerciements

Je souhaite commencer en remerciant chaleureusement Isabelle Guéna, Fabienne Malagnac, Vincent Maréchal et Jacques Montagne d'avoir accepté de faire partie de mon jury de thèse pour évaluer mon travail. Je remercie également Romain Levayer, Fabienne Malagnac et Mario Pende qui ont accepté de faire partie de mon comité de thèse et ainsi de suivre mon travail tout au long de ma thèse.

Un grand merci à ma directrice de thèse Frédérique Peronnet. Merci de m'avoir accueillie et de m'avoir donné une chance de réaliser mon doctorat au sein de ton équipe. Je te dois beaucoup. Je tiens à te remercier particulièrement pour les corrections de mon manuscrit, ta patience et ton implication. Je te remercie pour le temps que tu as toujours réussi à me consacrer malgré tes responsabilités. Merci pour ta disponibilité tout au long de ces années de thèse y compris lors des confinements.

Je remercie l'ensemble de l'équipe, vous êtes tous chaleureux, bienveillants et toujours de bons conseils. Je suis tombée dans une super équipe.

Merci Hélène, pour tout l'encadrement et les conseils que tu m'as donnés lors de mon M2. Merci à Emmanuèle pour tes conseils, tes explications et tes idées lors des réunions de labo. Merci à Jean-Michel, tu as toujours été disponible et bienveillant quand j'avais des questions sur les mouches.

Delphine, merci d'avoir toujours écouté ma « dernière petite question » (avant la prochaine) et de m'avoir donné toutes tes astuces manip. Mon maître Yoda tu es. Je n'aurais pas pu en avoir de meilleur. J'ai adoré discuter avec toi de livres fantastiques et de séries. Tu nous fais sourire tous les jours grâce à ta bonne humeur, à toutes tes histoires et aux montagnes de chocolats que tu ramènes régulièrement.

Valérie, je te remercie de toute l'aide que tu m'as fournie, de m'avoir toujours fais passer en priorité. Merci pour toutes les astuces que tu m'as données. Tout au long de ces années tu as toujours pensé à moi, au labo et en dehors. Merci pour toute la générosité dont tu fais preuve envers « les petits jeunes ». Je suis pressée de faire nos après-midi travaux manuels avec un bon thé. J'en profite pour remercier Momo qui fait les meilleures bugnes de France.

Marco, merci pour ton écoute, tes encouragements et tes conseils (et les petits gâteaux). Tu apportes une bonne ambiance au laboratoire grâce à ta bonne humeur et ton humour.

Sandra, grâce à toi, je me suis très vite intégrée au groupe. Je te remercie pour les discussions que nous avons eues, l'aide que tu m'as apportée. Merci également pour ton soutien au téléphone, tu as toujours pris le temps de m'écouter. Je suis tellement contente de t'avoir connue au labo mais surtout en dehors. Qu'il s'agisse de pull tout doux ou de Taboo, tes réactions spontanées nous ont toujours fait rire avec Karine.

Je tiens également à remercier Raphaël, la grenouille du labo. Nous avons très vite fait les 400 coups ensemble (la carte au trésor restera dans les mémoires) et j'ai passé de supers moments avec toi. Bien que le duo Dupont et Dupont prenne fin au labo, nous pourrions toujours jouer de mauvais tours sur le groupe Feutres pinceaux. Tu es toujours bonne humeur et enthousiasme, je te souhaite une très belle thèse.

Je tiens également à remercier les équipes Ronserray/Teyssset et Gho, vous êtes de supers voisins.

Merci Bruno pour ta bonne humeur et tous les jeux que tu nous as fait découvrir.

Merci Val pour ta bonne humeur, ta curiosité, ton envie de partager tes livres préférés. J'ai découvert de nombreux auteurs grâce à toi. J'espère que tu continueras à m'en faire découvrir. Les pauses déjeuner avec toi, Delphine et Valérie me manqueront.

Karine, tout d'abord merci d'être restée un an de plus rien que pour moi (bien sûr !). Les conférences éthiques, les séminaires et les congrès à Montpellier et à Lausanne n'auraient pas été les mêmes sans toi. On aura passé de bons moments à discuter au labo ou en dehors autour d'un thé (avec gâteaux !), d'une raclette ou d'une tartiflette (qu'est ce qu'on mange dis donc !). Je suis sûre qu'il nous reste plein de tests très sérieux et fiables à tester ! Prépare toi !

Merci à Dilyana, pour tes conseils sur les manips, ta gentillesse et ta patience. Merci aussi de nous avoir fait découvrir la Bulgarie j'ai appris énormément avec toi. J'ai apprécié tous les moments que j'ai passé dans votre labo, que ce soit pour des jeux, pour faire des bulles ou pour discuter avec Mira et toi.

Merci également à Mira. Je ne dirais pas ton année de thèse pour ne pas te stresser mais sache que je pense fort à toi. Merci de ton aide lors de la mise au point de la puro, de nos discussions « point manip » du vendredi, de tes idées et conseils. Merci pour ta bonne humeur. Je te souhaite du courage pour entamer cette nouvelle année de thèse.

Elise, merci pour toutes nos sorties sur Paris, j'espère que nous continuerons. Cette année n'a pas été facile pour toi, je te souhaite sincèrement beaucoup de bonheur, tu le mérites.

Je tiens également à remercier Pénélope. Merci pour ta bonne humeur, tes blagues carambar et ton grain de folie.

Je voudrais également remercier l'association Doc'Up, en particulier Pauline, Karol, Djamila et Max avec qui j'ai passé de longs CA, toujours dans la bonne humeur.

Enfin je souhaite remercier mes amis et mes proches.

En particulier, Marina et Maxou qui me supportent depuis longtemps maintenant.

Papa, merci de m'avoir donné les moyens de réussir. Nos moments sur mon île resteront de bons souvenirs.

Aurélien, mon chéri. Merci pour ta gentillesse, ton amour, ton humour, ta bienveillance et ton aide. Tu m'écoutes avec patience quoiqu'il arrive et me soutiens dans mes moments de stress. Tu as visité la France pour être toujours à mes côtés. Ces quelques lignes ne suffiront pas à te dire à quel point je t'aime et te remercie.

Renan, mon grand frère. Tu es le meilleur des grands frères. Je ne te remercierai jamais assez pour tout ce que tu as fait pour moi. Tu m'as accompagnée à toutes les étapes de ma vie et tu m'as fait grandir sur bien des points. Tu m'as toujours protégée, aidée et pourrie gâtée. J'ai de la chance de t'avoir comme grand frère, je t'aime.

Maman, ma petite maman que j'aime de tout mon cœur. Tu es un pilier de ma vie. Merci de m'aider au quotidien, de me soutenir et de m'encourager. Je pense que personne n'a jamais autant fait réciter de cours, de présentations et relu autant de devoirs que toi. Même lorsque ça

n'a pas été facile, tu as toujours été la plus forte des mamans, je t'aime. J'espère que tu es fière de nous.

Table des matières

Remerciements	i
Liste des abréviations	i
Nomenclature	iii
Préambule	v
Introduction	1
Chapitre I – Le ribosome	3
I- La composition du ribosome	3
I.1- Les ribosomes eucaryotes et procaryotes	3
I.2- La structure du ribosome	4
I.3- Le ribosome de la drosophile	4
II- La biogenèse des ribosomes	6
II.1- Assemblage des protéines ribosomiques	6
II.1.a- Transcription des principaux acteurs du ribosome : les ADN _r et les RPG	7
II.1.b- Assemblage des protéines ribosomiques lors des étapes nucléolaire et nucléoplasmique	7
II.1.c- Maturation des sous-unités ribosomiques dans le cytoplasme	8
II.2- Implication des protéines ribosomiques dans la traduction	10
II.2.a- Initiation de la traduction	10
II.2.b- Elongation de la traduction	12
II.2.c- Terminaison de la traduction et recyclage des ribosomes	14
III- L'hétérogénéité des ribosomes	14
III.1- Variabilité de la composition des ribosomes	16
III.2- Stœchiométrie des protéines ribosomiques au sein du ribosome	16
III.3- Paralogues des gènes codant les protéines ribosomiques	17
III.4- Modifications post-traductionnelles des protéines ribosomiques	18
Chapitre 2 – Activités extra-ribosomiques des protéines ribosomiques	19
I- Activités extra-ribosomiques des protéines ribosomiques	19
I.1- Définition des activités extra-ribosomiques	19
I.2- Implication dans la régulation de l'expression des gènes	21
I.2.a- Liaison à la chromatine et contrôle de la transcription	21
I.2.b- Régulations post-transcriptionnelles des ARNm	23
I.3- Implication dans des processus cellulaires	28
I.3.a- Régulation de la protéine p53	28
I.3.b- Régulation du cycle cellulaire et de l'apoptose	30
I.3.c- Implication dans la compétition cellulaire	33
II- Implication des protéines ribosomiques dans certaines pathologies	35
II.1- Mutations des protéines ribosomiques et phénotypes <i>Minute</i>	35
II.2- Mutations des protéines ribosomiques et le développement des pathologies	35
II.2.a- Définition des ribosomopathies	35
II.2.b- Défauts des ribosomes et ribosomopathies	38
II.2.c- Hétérogénéité des ribosomes et ribosomopathies	38
II.2.d- Fonctions extra-ribosomiques et ribosomopathies	39
II.2.e- En conclusion, les ribosomopathies : défauts de traduction, de l'activité de ribosomes spécialisés ou des activités extra-ribosomiques des protéines ribosomiques ?	
41	
Chapitre 3-La protéine ribosomique uL11	42

I-	La protéine ribosomique uL11 au sein du ribosome	42
I.1-	Caractéristiques générales	42
I.2-	Activité d'uL11 lors de l'assemblage du ribosome et de la traduction	45
I.2.a-	Lors de l'assemblage du ribosome	45
I.2.b-	Lors des différentes étapes de la traduction	46
I.2.c-	Ribosomes spécialisés liés à la phosphorylation d'uL11	48
II-	Les activités extra-ribosomiques d'uL11	49
II.1-	uL11 et l'épissage de son propre ARNm	49
II.2-	Régulation de la transcription	50
	Chapitre 4-Objectifs de ma thèse	54
I-	Analyse phénotypique des mutants d' <i>uL11</i>	54
II-	Etude de l'activité transcriptionnelle d'uL11	55
III-	Etude de l'activité transcriptionnelle d'uL11 dans un milieu pauvre	55
	Résultats	59
	Partie 1 - Impact de la substitution d'un acide aminé de la protéine ribosomique uL11 sur son activité transcriptionnelle	60
I-	Présentation de l'article	60
II-	Article	61
	Partie 2 – Caractérisation du mutant <i>uL11^{ΔK3}</i>	89
I-	Présentation des résultats	89
II-	Matériels et méthodes	89
III-	Résultats	90
III.1-	Expression d'uL11 ^{ΔK3}	90
III.2-	Phénotypes des mutants <i>uL11^{ΔK3}</i>	91
III.3-	Interactions génétiques entre <i>uL11^{ΔK3}</i> et <i>corto</i>	96
III.4-	Interactions physiques entre uL11 ^{ΔK3} et Corto	97
III.5-	Conclusions	97
	Partie 3 – Analyse de l'activité transcriptionnelle d'uL11 lors d'une restriction nutritive	98
I-	Présentation des résultats	98
II-	Matériel et méthodes	99
III-	Résultats	99
III.1-	Phénotypes des mutants <i>uL11^{K3Y}</i> élevés sur milieu restrictif	99
III.2-	Etude du transcriptome des mutants <i>uL11^{K3Y}</i> sur milieu restrictif	103
IV-	Conclusions	105
	Discussion et perspectives	109
I-	Implication d'uL11 dans la traduction	109
II-	La méthyltransférase d'uL11	111
III-	Activité transcriptionnelle d'uL11	111
IV-	Impact d'une restriction nutritive sur l'activité d'uL11	113
	Références	117
	Annexes	1353
	Résumé	165

Table des illustrations

<i>Figure 1 Structure du ribosome 80S de D.melanogaster.</i>	5
<i>Figure 2 Représentation schématique de la structure du nucléole.</i>	6
<i>Figure 3 Assemblage du ribosome eucaryote.</i>	9
<i>Figure 4 Les centres fonctionnels du ribosome procaryote</i>	11
<i>Figure 5 Elongation de la traduction chez les eucaryotes</i>	13
<i>Figure 6 L'hétérogénéité des ribosomes.</i>	15
<i>Figure 7 Les protéines ribosomiques sont présentes sur la chromatine</i>	22
<i>Figure 8 Modèle de la dégradation de l'ARNm d'eS28/RPS28 médiée par Edc3</i>	24
<i>Figure 9 Analyse par RT-PCR des ARNm de 8 protéines ribosomiques régulant à la fois l'expression de leur propre gène et l'expression des autres protéines ribosomiques.</i>	26
<i>Figure 10 Représentation schématique de l'autorégulation d'uS15/RPS13 via l'épissage de son intron 1.</i>	27
<i>Figure 11 Modèle de la régulation de p53 par MDM2 et les protéines ribosomiques en réponse à un stress ribosomique.</i>	29
<i>Figure 12 Modèle montrant l'activation des voies p53 et RB en réponse à un stress nucléolaire.</i>	30
<i>Figure 13 Modèle de la réponse d'uL3/RPL3 à un stress ribosomique.</i>	31
<i>Figure 14 Modèle de régulation de la mort cellulaire et de la prolifération cellulaire par uL10/P0.</i>	32
<i>Figure 15 Contrôle de la compétition cellulaire par eS12/RPS12</i>	34
<i>Figure 16 Schéma décrivant l'interaction entre p53, MDM2 et les protéines ribosomiques chez les patients atteints d'anémie de Diamond-Blackfan (DBA).</i>	40
<i>Figure 17 L'expression du gène uL11/RPL12 est ubiquitaire dans tous les tissus et à toutes les étapes du développement.</i>	42
<i>Figure 18 Représentation de la structure d'uL11/RPL12.</i>	43
<i>Figure 19 uL11/RPL12 et ses méthylations sont conservées chez différents eucaryotes</i>	44
<i>Figure 20 Représentation classique des composants de la tige P du ribosome eucaryote.</i>	45
<i>Figure 21 Modèle du rôle d'uL11/RPL12 dans la fidélité de la traduction.</i>	47
<i>Figure 22 Analyse par Gene Ontology des ARN associés au mutant phosphomimétique d'uL11/RPL12.</i>	48
<i>Figure 23 Modèle du rétrocontrôle d'uL11/RPL12 sur l'épissage de son propre ARNm</i>	49
<i>Figure 24 Modèle du rôle d'uL11 dans la régulation de la voie PHO chez S.cerevisiae.</i>	50
<i>Figure 25 Ontologie des gènes dérégulés dans les disques imaginaires d'ailes surexprimant le chromodomaine de corto (cortoCD) ou uL11/RPL12.</i>	51
<i>Figure 26 Corto et uL11/RPL12 partagent de nombreux sites sur les chromosomes polytènes</i>	52
<i>Figure 27 uL11/RPL12 et Corto co-localisent avec l'ARN polymérase II phosphorylée sur la sérine 2, la forme de l'ARN polymérase II active dans l'élongation de la transcription</i>	53
<i>Figure 28 Western blot des mutants hétérozygotes et homozygotes uL11^{AK3}.</i>	90
<i>Figure 29 Létalité et temps de développement des individus uL11^{AK3}.</i>	91
<i>Figure 30 Analyse de la longueur des soies des mutants uL11^{AK3} mâles et femelles.</i>	93
<i>Figure 31 Analyse de la taille des ailes des mutants uL11^{AK3} mâles et femelles.</i>	94
<i>Figure 32 Taux de traduction des mutants uL11^{AK3}</i>	95
<i>Figure 33 Analyse de l'interaction physique entre uL11^{AK3} et le chromodomaine de corto.</i>	97
<i>Figure 34 Temps de développement des individus uL11 et uL11^{K3Y} élevés en milieu normal ou restrictif.</i>	100
<i>Figure 35 Analyse de la longueur des soies des mutants uL11 et uL11^{K3Y} élevés en milieu normal ou restrictif.</i>	101

<i>Figure 36 Analyse de la taille des ailes des mutants uL11 et uL11^{K3Y} élevés en milieu normal ou restrictif.</i>	102
<i>Figure 37 Analyse en composante principale.</i>	103
<i>Tableau 1 Tableau 1 Activités extra-ribosomiques des protéines ribosomiques</i>	19
<i>Tableau 2 Mutations des RPG et caractéristiques cliniques des ribosomopathies</i>	37
<i>Tableau 3 Primers utilisés lors de la mutagenèse du pENTR-uL11</i>	89
<i>Tableau 4 Analyse de la létalité des individus doubles hétérozygotes uL11^{4K3/+}, corto^{420/+}.</i>	96
<i>Tableau 5 Gènes dérégulés dans les individus uL11^{K3Y} sur milieu restrictif ou standard et uL11⁺ sur milieu restrictif ou standard.</i>	104

Liste des abréviations

ADNr : ADN ribosomique

ARN pol I : ARN polymérase I

ARN pol II : ARN polymerase II

ARN pol III : ARN polymerase III

ARNm : ARN messenger

ARNr : ARN ribosomique

ARNt : ARN de transfert

BMP : Bone Morphogenetic Protein

Cdk : Cyclin dependant kinase

CRISPR/Cas9 : Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats/
Associated protein 9

CrPV IGR IRES : Cricket Paralysis Virus InterGenic Region Internal Ribosome Entry Site

DBA : Diamond-Blackfan Anemia

DC : Decoding center

DFC : composant fibrillaire dense

ES : Expansion Segment

ETS : External Transcribed Spacer

FC : composant fibrillaire

GC : composant granulaire

Gst : glutathione S-transferases

IRES : Internal Ribosome Entry Site

ITS : Internal Transcribed Spacer

Kis : kismet

LSU : Large SubUnit – Grande sous-unité du ribosome

Mad : Mother Against Dpp

mESC : mouse Embryonic Stem Cell

Nej : nejire

NMD : Nonsense-Mediated Decay

NOR : Nucleolar Organizer Region

NPC : Nuclar Pore Complex

PTC : Peptidyl Transferase Center

PUNCH-P : PUromycine Nascent Chain Proteomics

ROS : Reactive Oxygen Species

RPG : Ribosomal Protein Gene

snoRNA : small nucleolar RNA

snoRNP : Small Nucleolar Ribonucleoprotein Particles

SSU : Small SubUnit – Petite sous-unité du ribosome

TAC1 : Trx Acetylation Complex 1

TGF- β : Transforming Growth Factor

TOR : Target Of Rapamycin

uL11K3me3 : uL11 triméthylée sur la lysine 3

Nomenclature

Deux nomenclatures co-existent pour les protéines ribosomiques. L'ancienne nomenclature utilise le préfixe RP « Ribosomal Protein » suivi des lettres L pour indiquer l'appartenance de la protéine ribosomique à la grande sous-unité « Large subunit », ou S, l'appartenance à la petite sous-unité « Small subunit » et enfin le numéro de la protéine ribosomique. Cette nomenclature est peu claire car elle varie selon les organismes.

En 2014, une seconde nomenclature a été proposée dans un souci d'homogénéité (Ban *et al.*, 2014). Cette nomenclature est composée d'une première lettre indiquant dans quel domaine de vie la protéine ribosomique est présente (u pour « universal » c'est-à-dire que la protéine est présente chez les bactéries, les archées et les eucaryotes, b pour « bacterial », a pour « archea » et e pour « eukaryotic »), suivi de la lettre L ou S indiquant l'appartenance de la protéine ribosomique à la grande ou à la petite sous-unité. Pour finir le numéro de la protéine ribosomique correspond au numéro utilisé chez *E.coli*, car les premières protéines ribosomiques ont été identifiées chez cet organisme. Les tableaux de correspondance sont présentés en **annexes 1 et 2**.

Dans ce manuscrit j'utiliserai la nouvelle nomenclature. L'ancienne nomenclature sera également précisée pour faciliter la lecture.

Préambule

Les ribosomes sont les complexes nucléo-protéiques au sein desquels est réalisée la synthèse protéique. Ils sont composés d'ARN et de protéines ribosomiques. Le rôle des protéines ribosomiques dans la traduction a été très étudié. Cependant, ces dernières années il a été démontré que ces protéines ont également des activités extra-ribosomiques (activités dites « moonlighting »). Par exemple, elles sont impliquées dans le contrôle de la transcription ainsi que dans de nombreux processus comme la prolifération cellulaire, la différenciation cellulaire, la compétition cellulaire ou encore la mort cellulaire. En effet, certaines protéines ribosomiques peuvent inhiber ou activer la prolifération cellulaire indépendamment de leur rôle au sein du ribosome. Par exemple, elles régulent des protéines de la voie MDM2/p53 ou la protéine Myc en interagissant directement avec elles et contrôlent ainsi la prolifération cellulaire, en particulier dans les tumeurs. Des études récentes suggèrent qu'une perturbation de l'activité extra-ribosomique de certaines protéines ribosomiques, et notamment de leur activité transcriptionnelle, pourrait être la cause du développement de pathologies appelées ribosomopathies. Alors que les ribosomes sont ubiquitaires, ces maladies présentent des défauts tissus-spécifiques suggérant que les activités extra-ribosomiques des protéines ribosomiques pourraient participer au développement des ribosomopathies.

Dans ce contexte, je m'intéresse à la protéine ribosomique uL11 (RpL12 selon l'ancienne nomenclature). Chez plusieurs espèces, il a été montré qu'uL11 contrôle la transcription. En effet, chez *S. cerevisiae* et chez l'homme, elle contrôle l'épissage de son propre ARNm. Chez la drosophile, les travaux du laboratoire de S. Brogna (Birmingham, UK) ont suggéré qu'uL11 contrôle la transcription de nombreux gènes. Notre laboratoire a montré que chez la drosophile, uL11 interagit physiquement avec un régulateur de la chromatine, co-facteur des complexes Polycomb et Trithorax, appelé Corto. En effet, uL11 se lie au chromodomaine de Corto par l'intermédiaire de sa lysine 3 triméthylée (uL11K3me3). Les larves dans lesquelles uL11 ou le chromodomaine de Corto est surexprimé montrent un enrichissement en ARNm codant des protéines ribosomiques et des protéines jouant un rôle important dans la biogenèse des ribosomes. Ainsi, uL11, en interagissant avec Corto, pourrait exercer un contrôle transcriptionnel de la biogenèse des ribosomes. Cette hypothèse est au centre des questions qui ont fait l'objet de ma thèse. Pour la tester, et dans le but d'inhiber l'activité transcriptionnelle d'uL11, nous avons muté sa lysine 3 en utilisant la technologie CRISPR/Cas9.

L'objectif de ma thèse a été de caractériser l'activité transcriptionnelle d'uL11, et de déterminer si cette activité a un impact sur la biogenèse des ribosomes, la traduction et la croissance.

INTRODUCTION

Introduction

Chapitre I – Le ribosome

I- La composition du ribosome

Les ribosomes ont été découverts dans les années 1950. Si leur rôle dans la traduction des ARN messagers (ARNm) en protéines a été très étudié au cours des dernières décennies, la structure tridimensionnelle du ribosome est longtemps restée inconnue (pour revue : Yusupova et Yusupov, 2017). Ce n'est que dans les années 2000 que la résolution atomique de la structure du ribosome des procaryotes a été obtenue, donnant lieu à l'attribution d'un prix Nobel de Médecine ou Physiologie à V. Ramakrishnan, T. Steitz et A. Yonath en 2009. Depuis les années 2010, la structure des ribosomes de différentes espèces a été obtenue grâce aux méthodes de cristallographie, de spectrométrie aux rayons X et de cryo-microscopie électronique. Dans cette partie, je présenterai brièvement la composition des ribosomes.

I.1- Les ribosomes eucaryotes et procaryotes

Les ribosomes sont des complexes ribonucléoprotéiques conservés dans les trois domaines du vivant. Ils sont composés de protéines ribosomiques et d'ARN ribosomiques (ARNr) organisés en deux sous-unités : la petite sous-unité (SSU pour « small subunit ») avec un coefficient de sédimentation de 40S ou 30S (respectivement chez les eucaryotes et les procaryotes) et la grande sous-unité (LSU pour « large subunit ») avec un coefficient de sédimentation de 60S ou 50S (respectivement chez les eucaryotes et les procaryotes). L'assemblage de ces deux sous-unités forme le ribosome 80S (70S chez les procaryotes).

Les ribosomes eucaryotes et procaryotes ont un noyau commun constitué de 34 protéines ribosomiques et 4 ARNr (avec environ 60% de séquences en commun). Ce noyau forme les principaux sites fonctionnels du ribosome : le centre de décodage (DC), le centre peptidyl-transférase (PTC) et les sites de liaison à l'ARN de transfert (ARNt) (Yusupova et Yusupov, 2017). La reconnaissance codon/anti-codon a lieu dans le DC et le PTC catalyse la formation de la liaison peptidique entre l'amino-acyl ARNt et le peptide naissant.

Le ribosome eucaryote est plus complexe, 46 protéines lui sont spécifiques. De plus, environ la moitié des protéines ribosomiques conservées possèdent des extensions peptidiques (représentant 2452 acides aminés supplémentaires). Enfin, chez les eucaryotes, les ARNr possèdent des expansions de segments (ES) (insertions de séquences nucléotidiques). Ainsi,

alors que les ribosomes procaryotes ont une taille d'environ 2,5 MDa, leurs homologues eucaryotes ont une taille qui varie de 3,5 à 4,0 MDa (Yusupova et Yusupov, 2017).

La suite de ce manuscrit s'intéresse au ribosome eucaryote, sauf mention contraire.

I.2- La structure du ribosome

Les données structurales obtenues depuis les années 2010 ont permis d'analyser les sous-unités du ribosome et de définir leur rôle.

La petite sous-unité du ribosome, sous-unité 40S

La petite sous-unité du ribosome 40S est composée de l'ARNr 18S et de 33 protéines ribosomiques. Elle contient le site de décodage de l'ARNm (DC), au sein duquel le codon et l'anticodon sont appariés. Elle forme des repères structurels appelés tête, corps, pieds, plateforme et bec (**Figure 1 a et b**) (Yusupova et Yusupov, 2017).

La grande sous-unité du ribosome, sous-unité 60S

La grande sous-unité du ribosome est composée de 3 ARNr (5S, 5,8S et 28S) et de 47 protéines ribosomiques. Elle est le lieu de la formation des liaisons peptidiques. Elle a une forme générale de couronne et comprend trois repères structuraux : la protubérance centrale, la tige L1 et la tige P ou tige acide (tige L7/L12 chez les procaryotes) (**Figure 1 a et b**).

Les ARNr de la grande sous-unité du ribosome présentent de courtes insertions apparues au cours de l'évolution appelées expansions de segments (Petrov *et al.*, 2014 et Petrov *et al.*, 2015). Ces expansions créeraient de nouvelles interactions. Par exemple, chez *S. cerevisiae*, l'expansion 27L de l'ARNr 25S promeut le recrutement de méthionine amino-peptidases, des enzymes nécessaires au clivage de la méthionine amino-terminale des protéines (Fujii *et al.*, 2018).

I.3- Le ribosome de la drosophile

En 2013, Anger *et al.* ont obtenu la structure du ribosome de *Drosophila melanogaster* en cryo-microscopie électronique avec une résolution voisine de 6 Å (**Figure 1**) (Anger *et al.*, 2013). Ce ribosome possède 1094 acides aminés, soit environ 8% d'acides aminés de plus que les ribosomes des levures et des protozoaires. Cette augmentation d'acides aminés est principalement due à l'extension des protéines eL22/RPL22 et uL23/RPL23A qui doublent de taille.

II- La biogenèse des ribosomes

La biogenèse des ribosomes est le processus qui aboutit à la production de ribosomes actifs. Ce processus consomme environ 80% de l'énergie d'une cellule en prolifération (Thomas *et al.*, 2000) et comporte de nombreuses étapes. Il est très conservé chez les eucaryotes, mais peut présenter quelques différences selon les organismes. (Henras *et al.*, 2015).

II.1- Assemblage des protéines ribosomiques

L'assemblage des ribosomes débute dans le nucléole. Ce dernier est tri-tripartite et son architecture reflète sa fonction dans l'assemblage des ribosomes. En effet, les ARNr sont transcrits dans les centres fibrillaires et leur maturation a lieu dans le composant fibrillaire dense qui entoure chaque centre fibrillaire. Enfin, les pré-ribosomes sont assemblés dans le composant granulaire (**figure 2**) (Tiku *et al.*, 2018). Les protéines ribosomiques s'assemblent au fur et à mesure des étapes de maturation des ARNr. Après cette étape nucléolaire, les pré-ribosomes poursuivent leur maturation dans le nucléoplasme puis dans le cytoplasme. D'autres acteurs, comme les facteurs d'assemblage et les petits ARN nucléolaires (snoRNA), sont également importants pour l'assemblage des ribosomes.

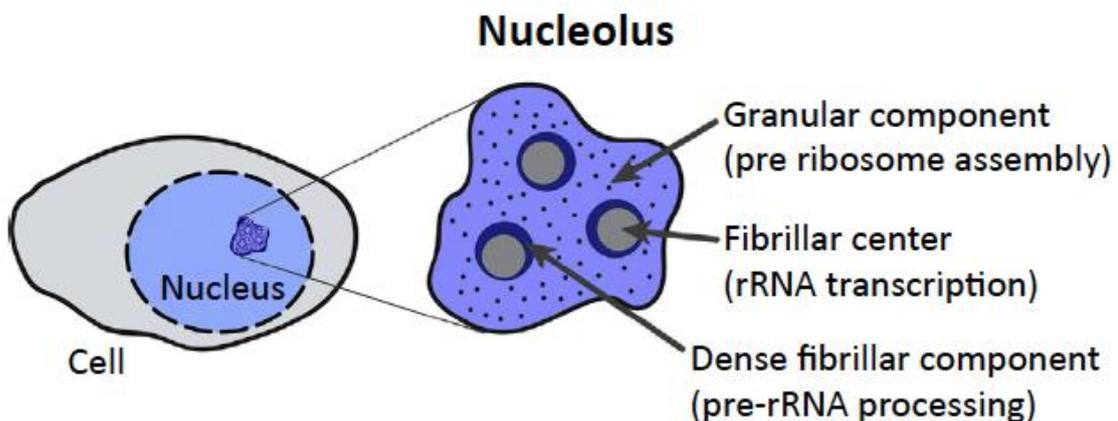


Figure 2 Représentation schématique de la structure du nucléole.

Le schéma représente l'architecture tripartite du nucléole qui comprend : le centre fibrillaire (FC), le composant fibrillaire dense (DFC) et le composant granulaire (GC). La transcription des ARNr a lieu dans le centre fibrillaire ou aux alentours de la frontière entre le FC et le DFC. L'ARNr produit, appelé pré-ARNr, subit plusieurs étapes de maturation dans le DFC. Enfin l'assemblage de la sous-unité pré-ribosomique a lieu dans le GC. (Tiku *et al.*, 2018)

II.1.a- Transcription des principaux acteurs du ribosome : les ADNr et les RPG

Les gènes des ADNr sont regroupés dans des régions chromosomiques appelées régions organisatrices du nucléole (NOR). Ils sont répétés en tandem (pour revue : Madru *et al.*, 2017). Deux ARN polymérases réalisent leur transcription. L'ARN polymérase I (ARN pol I) transcrit un pré-ADNr précurseur 47S chez les mammifères (35S chez *S.cerevisiae*) qui contient les séquences correspondant aux ADNr 18S, 5,8S et 28S (25S chez *S.cerevisiae*) séparées par des espaceurs internes (ITS) et externes (ETS). Ce pré-ADNr est ensuite clivé en 3 ADNr matures. L'ADNr 5S (l'un des trois ADNr de la grande sous-unité) est transcrit par l'ARN polymérase III (ARN pol III). Au cours de leur maturation ces ADNr subissent des modifications, par exemple des pseudo-uridylation et des méthylation des riboses ou des méthylation des bases nucléotidiques. Les pseudo-uridylation et les méthylation des riboses sont réalisées par des snoRNP (« small nucleolar ribonucleoproteins ») tandis que les méthylation des bases sont réalisées par des méthyl-transférases (Kressler *et al.*, 2009).

Les gènes codant les protéines ribosomiques (RPG) sont dispersés dans l'ensemble du génome. Ils sont transcrits par l'ARN polymérase II (ARN pol II), et leurs ARNm sont exportés dans le cytoplasme où ils sont traduits. Les protéines ribosomiques sont importées dans le noyau par des importines, l'importine majoritaire étant Kap123 et sont assemblées pour former le ribosome (Nerurkar *et al.*, 2015).

II.1.b- Assemblage des protéines ribosomiques lors des étapes nucléolaire et nucléoplasmique

Les deux sous-unités du ribosome se forment de manière séquentielle (clivage des ADNr puis assemblage progressif des protéines ribosomiques). Bien que l'assemblage des deux sous-unités soit similaire, on notera que la petite sous-unité se forme majoritairement dans le nucléole alors que la grande sous-unité est assemblée plus tardivement dans le nucléoplasme et le cytoplasme (**Figure 3**) (Nerurkar *et al.*, 2015).

Formation du pré-ribosome 90S

Chez les mammifères, l'élimination des séquences ETS de l'ADNr 47S génère le pré-ADNr 45S. Ce pré-ADNr contient les séquences 18S, 28S et 5,8S ainsi que les séquences ITS. Les premières protéines ribosomiques sont assemblées sur cet ARN 45S ce qui donne naissance au pré-ribosome 90S (**Figure 3**) (Henras *et al.*, 2015).

Formation de la sous-unité pré-40S

L'ARNr 45S est ensuite clivé en ARNr 21S et 32S (clivages aux sites A0, 1 puis 2). D'autres protéines ribosomiques s'assemblent sur l'ARNr 21S et forment la sous-unité pré-40S (Henras *et al.*, 2015). L'inactivation par ARN interférence des protéines ribosomiques de la sous-unité pré-40S a permis de montrer que l'assemblage d'environ 50% des protéines ribosomiques de la petite sous-unité (16 protéines sur 33) est nécessaire pour ces étapes de clivage (O'Donohue *et al.*, 2010, Henras *et al.*, 2015). L'ARNr 21S est ensuite clivé dans le nucléoplasme et génère un ARNr non mature 18S-E (**Figure 3**). Les autres protéines de la petite sous-unité sont nécessaires au clivage des ITS. A cette étape, la plupart des structures de la petite sous-unité (tête, plateforme et corps) sont déjà formées (Nerurkar *et al.*, 2015 et Kressler *et al.*, 2009).

Formation de la sous-unité pré-60S

L'ARN 32S est clivé dans le nucléole et génère l'ARNr mature 28S et l'ARNr 12S. L'ARNr 12S subit ensuite une succession de clivages dans le nucléoplasme ce qui produit l'ARNr 6S (**Figure 3**) (Henras *et al.*, 2015). Les protéines ribosomiques sont chargées sur ces ARNr et la sous-unité pré-60S est formée (Nerurkar *et al.*, 2015). La sous-unité pré-60S est ensuite exportée dans le cytoplasme.

II.1.c- Maturation des sous-unités ribosomiques dans le cytoplasme

Après ces étapes de maturation dans le noyau, les sous-unités du ribosome sont exportées à travers les pores nucléaires (de la Cruz *et al.*, 2015) et assemblées dans le cytoplasme.

Maturation cytoplasmique de la sous-unité pré-40S

Le mécanisme d'exportation de la petite sous-unité n'est pas connu. Cependant, la déplétion de certaines protéines ribosomiques (uS19/RPS15, eS10/RPS10, eS26/RPS26, uS5/RPS2, uS2/RPS0 et uS3/RPS3) provoque d'importants défauts d'exportation de la sous-unité pré-40S (Kressler *et al.*, 2009). Une fois dans le cytoplasme, l'ARNr 18S-E subit un dernier clivage et donne l'ARNr 18S. L'assemblage du bec est la dernière étape de maturation de la sous-unité pré-40S (Nerurkar *et al.*, 2015 et Kressler *et al.*, 2009, Ghalei *et al.*, 2015).

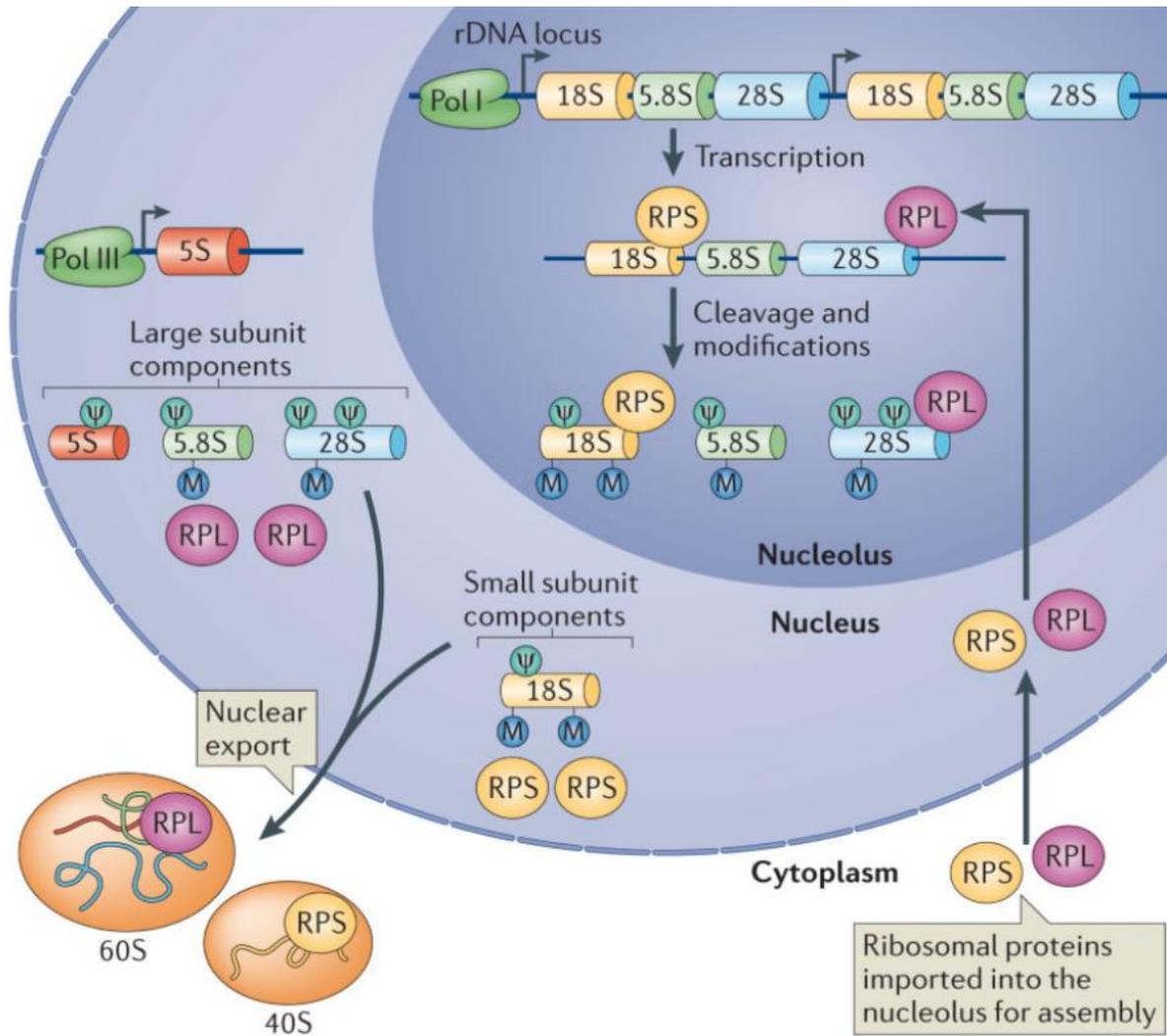


Figure 3 Assemblage du ribosome eucaryote.

Dans le nucléole, l'ARN pol I transcrit le pré-ARNr 47S contenant trois des quatre ARNr : 18S, 5.8S et 28S. Le quatrième ARNr, 5S, est transcrit par l'ARN pol III dans le noyau. Les pré-ARNr sont modifiés par pseudo-uridylation (ψ) et méthylation (M). Toutes les protéines ribosomiques sont transcrites par l'ARN pol II et traduites dans le cytoplasme (non montré). Elles sont ensuite importées dans le noyau et assemblées sur le pré-ARNr pendant sa transcription. Certaines protéines ribosomiques sont impliquées dans la maturation des ARNr ainsi que dans l'assemblage et l'export des sous-unités ribosomiques. Pendant que les protéines ribosomiques s'assemblent, le pré-ARNr subit une série de clivages qui génèrent les ARNr 18S, 5.8S et 28S. Les ARNr 28S, 5.8S et 5S ainsi que 47 protéines ribosomiques s'assemblent pour former la grande sous-unité 60S. L'ARNr 18S ainsi que 33 protéines ribosomiques s'assemblent pour former la petite sous-unité ribosomique 40S. Finalement, les deux sous-unités ribosomiques sont exportées dans le cytoplasme. RPL, protéine ribosomique de grande sous-unité ; RPS, protéine ribosomique de petite sous-unité. (Xue et Barna., 2012)

Les dernières étapes de maturation de la grande sous-unité ont lieu dans le cytoplasme. L'ARNr 6S est coupé par des nucléases pour donner l'ARNr 5,8S mature. Les protéines uL16/RPL10, eL24/RPL24, eL29/RPL29, eL40/RPL40, eL42/RPL42, uL10/P0, P1 et P2 sont incorporées dans la sous-unité pré-60S et plusieurs facteurs d'assemblage sont dissociés (de la cruz *et al.*, 2015). Un exemple intéressant de la maturation de la sous-unité pré-60S dans le cytoplasme est l'incorporation d'eL24/RPL24 qui a lieu après libération du facteur d'assemblage Rlp24. En effet, Rlp24 et eL24 présentent une similitude de séquence et reconnaissent le même site de liaison à la sous-unité pré-60S. Ainsi, Rlp24 masquerait le site de fixation d'eL24 et celle-ci pourrait être assemblée après le départ de Rlp24. Enfin, la formation de la tige P sur la sous-unité pré-60S a également lieu dans le cytoplasme. La tige P est constituée de uL10/P0, P1 et P2 (Nerurkar *et al.*, 2015).

II.2- Implication des protéines ribosomiques dans la traduction

La traduction des ARNm en protéines procède en trois étapes : l'initiation, l'élongation, la terminaison. Les ribosomes sont ensuite recyclés. Lors de la traduction, l'ARNm est localisé dans le tunnel formé entre les deux sous-unités. On y trouve trois sites remarquables : le site A dans lequel se loge l'amino-acyl-ARNt, le site P où se loge le peptidyl-ARNt et le site E dans lequel se trouve l'ARNt après la libération de l'acide aminé.

II.2.a- Initiation de la traduction

La traduction débute par la formation du complexe de pré-initiation composé de la sous-unité 40S et de trois facteurs d'initiation : eIF1A et eIF1, localisés respectivement aux sites A et E, et eIF3. D'autres facteurs d'assemblage s'ajoutent ensuite à ce complexe : eIF5 et l'ARNt qui porte la méthionine initiatrice et qui forme un complexe avec eIF2-GTP (eIF2-GTP-Methionine_i-ARNt). L'ARNm est ensuite scanné jusqu'au premier codon AUG. Les facteurs d'assemblage sont libérés et la grande sous-unité se joint à la petite sous-unité. La libération des facteurs d'initiation eIF1A et eIF1 libère les sites A et E du ribosome. Le ribosome 80S est alors formé et la synthèse de la protéine commence. (Jackson *et al.*, 2010)

Quelques études ont mis en évidence l'implication plus particulière de certaines protéines ribosomiques dans ce processus d'initiation de la traduction. Par exemple, chez *S. cerevisiae*, la délétion des protéines ribosomiques P1 et P2, qui forment un hétérodimère et sont situées dans la tige P, entraîne une diminution de la quantité de polysomes. La surexpression

d'eIF5B corrige ce phénotype. Ainsi, l'absence d'une protéine ribosomique de la tige P empêcherait la liaison efficace d'eIF5B ce qui bloquerait la traduction (Murakami *et al.*, 2018). Par ailleurs, chez *S.cerevisiae*, la délétion du domaine N-terminal d'eL24/RPL24 induit une diminution importante de la traduction liée à un défaut d'assemblage du ribosome (Kisly *et al.*, 2018).

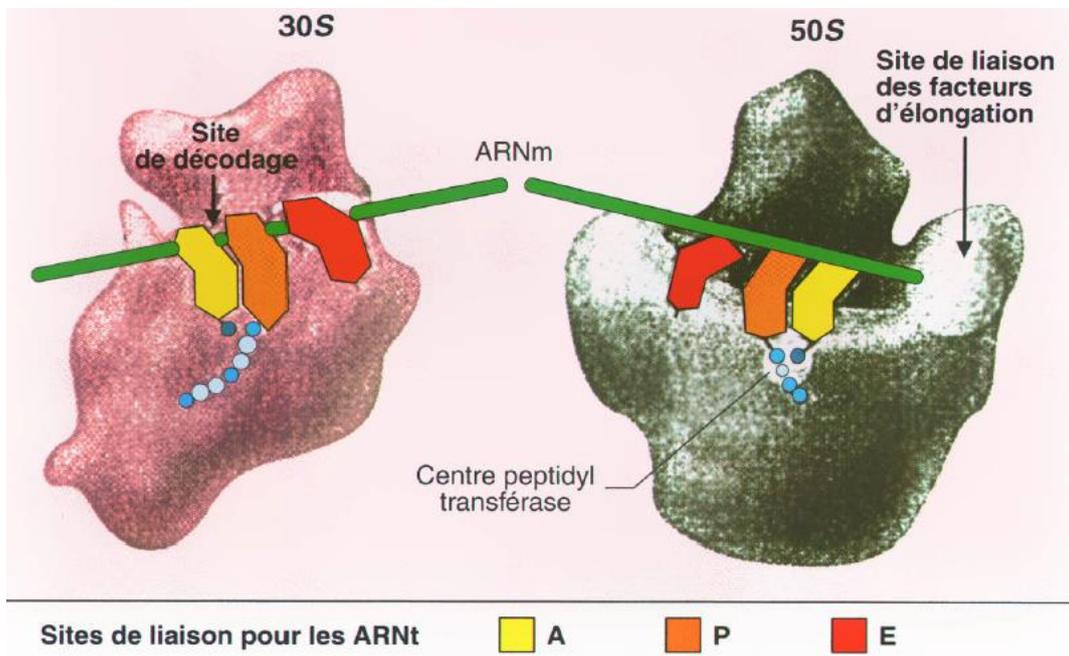


Figure 4 Les centres fonctionnels du ribosome procaryote

Représentation schématique du ribosome 70S ouvert. La séparation des deux sous-unités montre la position de l'ARNm (en vert) et des trois ARNt fixés aux sites A, P et E au niveau du centre de décodage de la sous-unité 30S (à gauche) et au niveau du centre peptidyl-transférase de la sous-unité 50S (à droite). (Jean-Jean *et al.*, 2001)

II.2.b- Elongation de la traduction

L'élongation de la traduction est un cycle de 4 étapes : la fixation d'un aminoacyl-ARNt au site A, la formation de la liaison peptidique, la translocation du ribosome sur le codon suivant, et enfin la libération de l'ARNt déchargé.

Un aminoacyl-ARNt lié à eEF1A-GTP se fixe au site A. Dans le centre de décodage, l'anticodon de l'ARNt vient au contact du codon de l'ARNm et déclenche l'hydrolyse du GTP. Le facteur eEF1A-GDP est alors libéré. L' aminoacyl-ARNt seul peut alors se positionner correctement dans le site A : son extrémité acceptrice est orientée vers le PTC. Les extrémités acceptrices des ARNt des sites A et P sont alors orientées vers le PTC permettant la formation de la liaison peptidique (**Figure 4**). Enfin le ribosome subit une translocation, ainsi l'ARNt du site A passe dans le site P, l'ARNt du site P passe dans le site E et est alors libéré. Le site A étant à nouveau vide, un nouveau cycle peut commencer (**Figure 5**) (Dever and Green, 2012, Rodnina *et al.*, 2006)

Comme pour l'initiation, il a été montré que certaines protéines ribosomiques sont importantes pour l'élongation de la traduction. Par exemple, la région C-terminale d'eL24/RPL24 forme un pont entre les deux sous-unités du ribosome. La délétion de cette région induit un allongement du temps d'élongation, suggérant que ce pont est indispensable lors de l'élongation de la traduction (Kisly *et al.*, 2018).

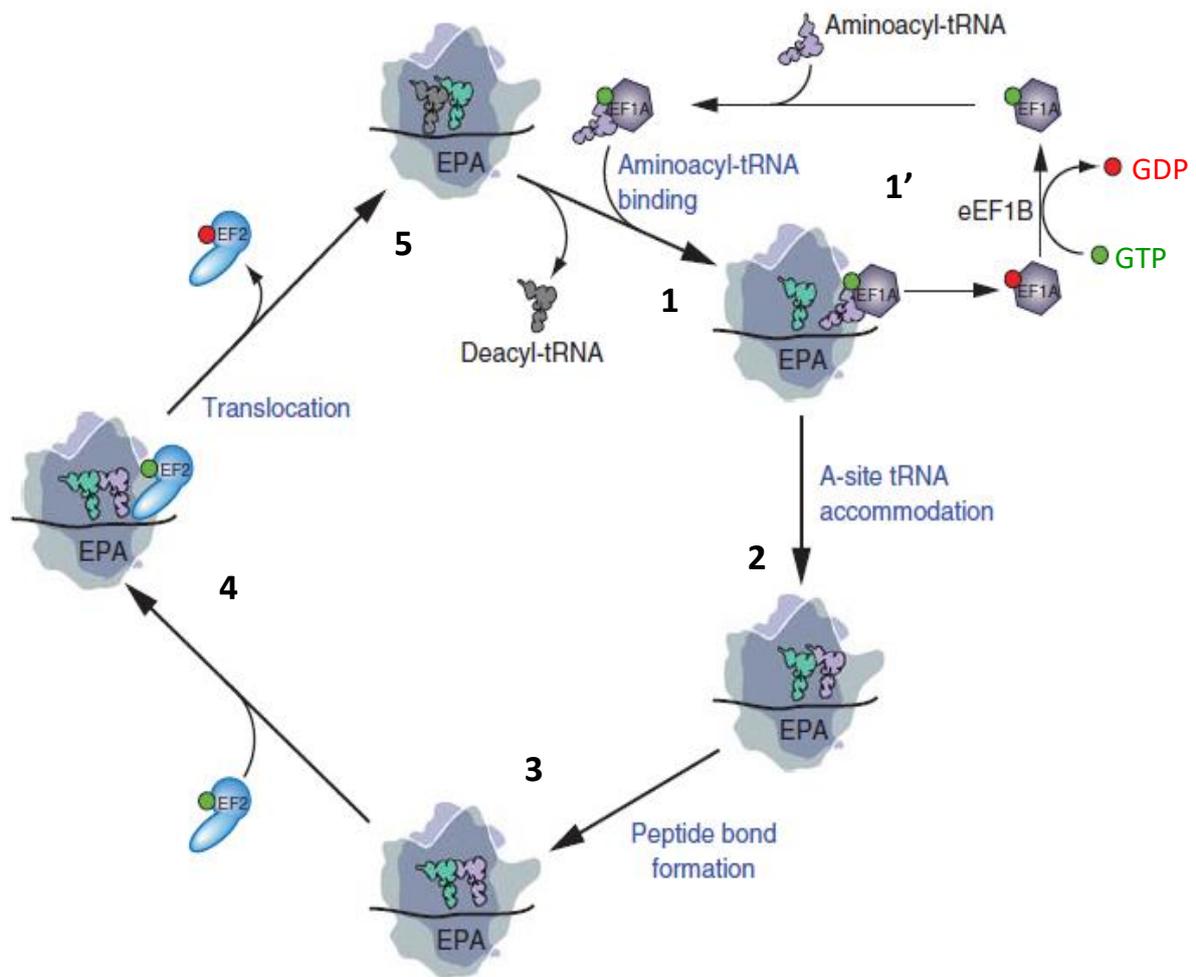


Figure 5 Elongation de la traduction chez les eucaryotes

La grande sous-unité (en haut) est représentée en transparence afin de visualiser les facteurs d'élongation de la traduction, l'ARNm se liant au centre de décodage à l'interface de la grande et de la petite sous-unité, et les ARNt interagissant avec le centre peptidyl transférase dans la grande sous-unité. En commençant par le haut, un complexe eEF1A-GTP-aminoacyl-tRNA s'apparie au ribosome 80S (1). L'anti-codon de l'ARNt entre en contact avec l'ARNm au niveau du site A de la petite sous-unité. Après la libération de l'eEF1A-GDP, l'aminoacyl-tRNA est localisé au site A (2), et l'eEF1A-GDP est recyclé en eEF1A-GTP par le facteur d'échange eEF1B (1'). La formation de la liaison peptidique s'accompagne d'une transition des extrémités acceptrices des ARNt des sites A et P vers les sites P et E, respectivement (3). La liaison d'eEF2-GTP (4) induit la translocation des ARNt dans les sites P et E et est suivie par la libération de eEF2-GDP (5). Après la libération de l'ARNt déacylée du site E, le ribosome est prêt pour le prochain cycle d'élongation. Le GTP est représenté par un point vert et le GDP par un point rouge. (Dever et Green, 2012)

II.2.c- Terminaison de la traduction et recyclage des ribosomes

La terminaison de la traduction a lieu lorsque le ribosome rencontre un codon stop UGA, UAG ou UAA au niveau du site A. Elle est médiée par les facteurs de terminaison eRF1-GTP et eRF3 qui s'assemblent au niveau du site A. L'hydrolyse du GTP par eRF3 déclenche un changement de conformation d'eRF1 qui se positionne dans le PTC et permet la libération du peptide (Hellen, 2018)

Le recyclage du ribosome est réalisé par une ATPase : ABCE1. Elle détecte eRF1 au site A et se fixe entre les deux sous-unités du ribosome. L'hydrolyse de l'ATP par ABCE1 déclenche un changement de conformation de l'ATPase qui induit la séparation des deux sous-unités du ribosome (Hellen, 2018).

Plusieurs protéines ribosomiques participent à la terminaison de la traduction notamment uS3/RPS3. Chez la levure, les mutants d'uS3 présentent un fort taux de translecture c'est-à-dire l'incorporation d'un aminoacyl-ARNt au niveau d'un codon STOP. uS3 est donc nécessaire à la terminaison correcte de la traduction (Poncová *et al.*, 2019).

III- L'hétérogénéité des ribosomes

Pendant longtemps, la composition des ribosomes et la stœchiométrie des protéines ribosomiques dans le ribosome ont été considérées invariables. Cependant, de plus en plus d'études montrent que les ribosomes sont hétérogènes au sein d'une cellule, entre différentes cellules ou entre différents tissus (pour revue : Ferretti et Karbstein, 2019, Emmott *et al.*, 2019). Cette hétérogénéité peut provenir des protéines ribosomiques elles-mêmes (présence ou absence de certaines protéines ribosomiques ou de certains paralogues, stœchiométrie variable, ou modifications post-traductionnelles), de l'ARNr (variation de la séquence des ARNr ou modification des ARNr) ou des facteurs associés aux ribosomes (Guo, 2018) (**Figure 6**). L'émergence de preuves de l'hétérogénéité des ribosomes suggère que les ribosomes présentent une spécialisation fonctionnelle (Xue et Barna, 2012). L'hypothèse du « code ribosomique » propose que la présence de différents paralogues de protéines ribosomiques, les modifications post-traductionnelles des protéines ribosomiques, les variations de la composition du ribosome, les différents ARNr, ou les modifications des ARNr permettraient une traduction ciblée d'ARNm spécifiques (Komili *et al.*, 2007).

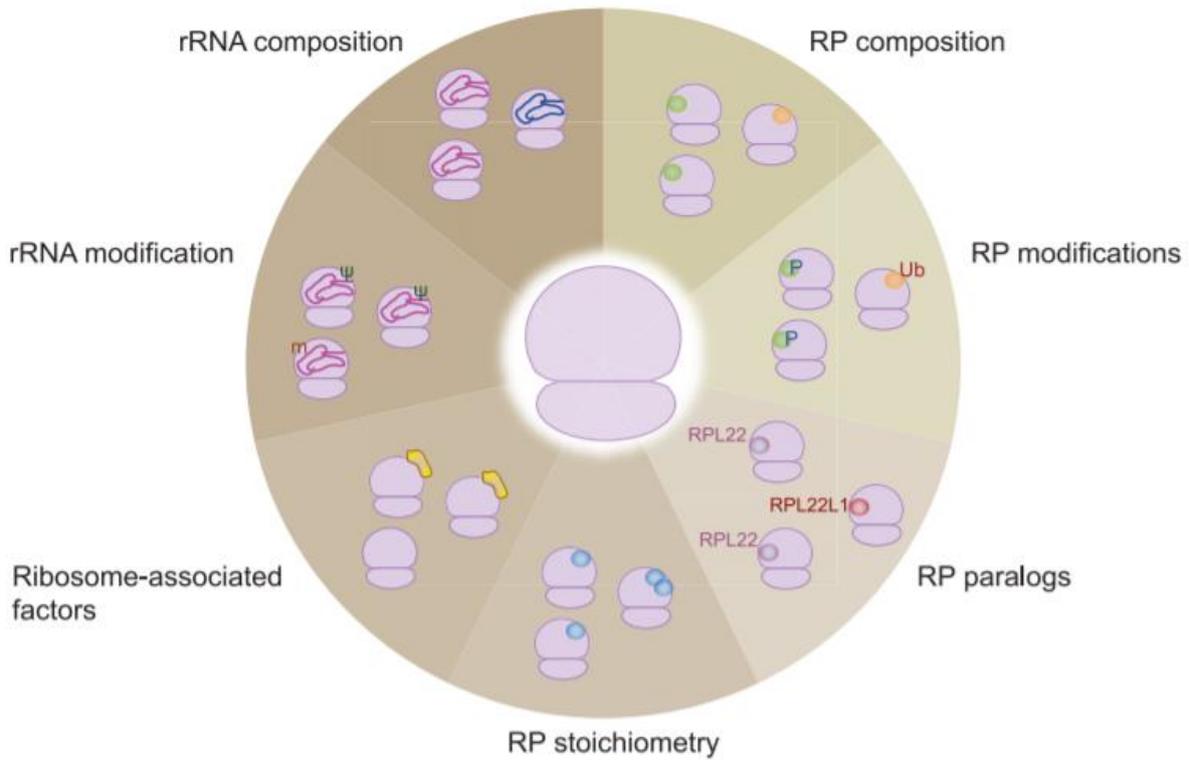


Figure 6 L'hétérogénéité des ribosomes.

L'hétérogénéité des ribosomes peut provenir des protéines ribosomiques elles-mêmes (présence ou absence de certaines protéines ribosomiques ou de certains paralogues, stœchiométrie variable, ou modifications post-traductionnelles), de l'ARNr (variation de la séquence des ARNr ou modification des ARNr) ou de facteurs associés aux ribosomes. Abréviations : Ψ : pseudo-uridylation, m : 2'-O méthylation, P : phosphorylation, Ub : ubiquitination (Guo, 2018).

III.1- Variabilité de la composition des ribosomes

Chez la souris, les mutants présentant une délétion d'eL38/RPL38 ont un phénotype homéotique appelé « tailshort ». La traduction chez ces mutants est globalement normale mais les ARNm de certains gènes homéotiques, pourtant présents en quantité normale, sont peu traduits (*Hoxa4, a5, a9, a11, b3, b13, c8, d10*) (Kondrashov *et al.*, 2011). Le ratio entre les sous-unités 40S et 60S n'est pas affecté mais on observe une diminution de la formation des complexes 80S sur ces ARNm *Hox*. eL38 contrôlerait spécifiquement la traduction des ARNm de ces gènes *Hox* en facilitant la formation du complexe 80S (Kondrashov *et al.*, 2011). De plus, Xue *et al.*, ont montré que la traduction de ces gènes *Hox* nécessite des séquences *IRES-like* (*Internal Ribosomes Entry Site-like*) présentes dans les 5'-UTR. L'ensemble des données suggère qu'eL38 est nécessaire pour le recrutement du ribosome sur les séquences *IRES-like* des gènes *Hox* suggérant qu'il existe des ribosomes spécialisés (Xue *et al.*, 2015).

D'autres cas de spécialisation des ribosomes contrôlant la traduction spécifique de certains ARNm en lien avec la présence de séquences IRES ont été décrits. Les IRES présents chez le virus de la paralysie du criquet (CrPV) possèdent des structures en tige-boucle qui interagissent avec deux protéines ribosomiques, eS7/RPS7 et eS25/RPS25 (Schüler *et al.*, 2006). En utilisant des levures dans lesquelles eS25 est délétée, Landry *et al.* ont montré que la traduction globale est peu affectée. Cependant, la sous-unité 40S du ribosome est recrutée sur l'IRES de CrPV avec beaucoup moins d'efficacité, il en résulte que la traduction de CrPV est fortement diminuée (Landry *et al.*, 2009). De même, la présence d'eS25 est nécessaire pour que l'IRES du virus de l'hépatite C recrute la sous-unité 40S du ribosome. Ainsi, eS25 pourrait interagir avec les structures tige-boucle des IRES viraux, permettant ainsi le recrutement de la sous-unité 40S.

III.2- Stœchiométrie des protéines ribosomiques au sein du ribosome

La stœchiométrie des protéines ribosomiques au sein des ribosomes a longtemps été considérée comme fixe. Cependant, des analyses protéomiques à partir de cellules souches embryonnaires murine (mESC) ou chez la levure ont montré que cela n'est pas toujours le cas (Slavov *et al.*, 2015).

Dans ces cellules, certaines protéines ribosomiques sont plus abondantes dans les polysomes que dans les ribosomes libres (uL16/RPL10, eL38/RPL38, eL40/RPL40 et eS26/RPS26), d'autres moins abondantes (uL1/RPL10A, eS7/RPS7 et eS25/RPS25). Shi *et al.* ont séquencé les ARNm engagés dans différentes populations de polysomes (Ribo-seq) : les polysomes totaux, les polysomes purifiées grâce à une étiquette Flag introduite dans uL1, les

polysomes purifiés grâce à une étiquette Flag introduite dans eS25. Les polysomes uL1 et eS25 traduisent des ARNm différents comparés aux polysomes totaux. Les polysomes uL1 sont enrichis en ARNm des gènes favorisant la croissance [*insulin-like growth factor 2 (Igf2)*, *early growth response 1 (Egr1)*, etc.] ainsi que des gènes impliqués dans la tumorigenèse [*protein kinase N3 (Pkn3)*] mais rarement associés aux ARNm des gènes de réponse au stress [*heat shock protein beta-1 (Hspb1)*] ou des gènes impliqués dans la mort cellulaire [*BCL2-associated agonist of cell death (Bad)*, etc.]. Les polysomes eS25 sont enrichis en ARNm de gènes jouant un rôle dans le cycle cellulaire [*centromere-associated protein E (cenpe)*]. En revanche, ces ribosomes sont moins fréquemment associés aux ARNm de gènes impliqués dans l'activité mitochondriale [*propionyl-Coenzyme A carboxylase (PCC)* etc.] (Shi *et al.*, 2017). Cette étude a mis en évidence qu'il existe une hétérogénéité des ribosomes, qu'elle est fonctionnelle et induit une traduction d'ARNm spécifiques notamment du métabolisme, du cycle cellulaire et du développement.

III.3- Paralogues des gènes codant les protéines ribosomiques

Chez la levure *S.cerevisiae*, 59 des 78 gènes codant les *RPG* sont dupliqués. Ces paralogues ne sont pas exprimés de façon égale. Le plus exprimé est appelé paralogue majeur et le moins exprimé paralogue mineur. Les délétions de ces paralogues induisent des phénotypes différents, suggérant qu'ils ne sont pas équivalents (Komili *et al.*, 2007).

Une étude réalisée sur 59 *RPG* chez *S.cerevisiae*, démontre que ces paralogues sont exprimés et utilisés de manières différentes en réponse au stress (Ghulam *et al.*, 2019). En conditions normales, l'expression du paralogue majeur reflète l'abondance de son ARNm. En présence d'hygromycine ou de NaCl (à des concentrations provoquant 50% d'inhibition de la croissance), on observe une diminution de l'expression du paralogue majeur et une augmentation de celle du paralogue mineur qui, en conséquence, est plus incorporé dans les ribosomes (Ghulam *et al.*, 2019). Ceci suggère que l'hétérogénéité des ribosomes liée à l'incorporation de paralogues différents a des conséquences fonctionnelles.

Par ailleurs, toujours chez *S.cerevisiae*, alors que la délétion d'*uL1a/RPL1a*, *uL2a/RPL2a* et *uL24a/RPL24a* n'a pas d'effet sur la croissance, celle d'*uL1b*, *uL2b* et *uL24b* la ralentit fortement. Ces derniers mutants présentent également des défauts des mitochondries et une diminution de leur activité. Les auteurs ont réalisé une expérience de « PUromycine Nascent Chain Proteomics » (PUNCH-P) permettant d'identifier les protéines en cours de synthèse. Les peptides en cours d'élongation sont marqués par la puromycine, un analogue d'un amino-acyl ARNt qui s'incorpore dans les peptides en cours de synthèse et bloque l'élongation

de la chaîne, puis analysés par spectrométrie de masse. Cette expérience a montré que dans le mutant *uL1a*, les protéines néo-synthétisées sont les mêmes que dans les levures sauvages, tandis que dans le mutant d'*uL1b* les protéines mitochondriales sont moins représentées. Ces données suggèrent que la présence d'*uL1b* dans les ribosomes est nécessaire à la traduction des protéines mitochondriales (Segev *et al.*, 2018).

Chez la drosophile, il y a 88 gènes *RPG* dont 9 sont dupliqués (Marygold *et al.*, 2007). Il a été montré que les gonades possèdent des populations de ribosomes hétérogènes. En effet, deux populations distinctes de ribosomes, l'une contenant eL22/RPL22 et l'autre le paralogue eL22-like/RPL22-like, qui traduisent deux populations d'ARNm différentes, co-existent au sein des testicules. Les ARNm associés aux polysomes contenant eL22 sont différents des ARNm associés aux polysomes contenant eL22-like (GO : gènes du développement et de la morphogenèse pour les premiers ; GO : transport et régulation de processus cellulaires pour les seconds) (Mageeney *et al.*, 2019). Une seconde étude montre que les gonades mâles et femelles n'ont pas les mêmes populations de ribosomes. En effet, les testicules possèdent des ribosomes riches en paralogues eL22-like/RPL22-like, eL37b/RPL37b, eS19b/RPS19b, eS10a/RPS10a et eS28a/RPS28a, tandis que les ribosomes des ovaires sont enrichis en eL24-like/RPL24-like, uL30-like/RPL7-like, P0-like et uS7b/RPS5b (Hopes *et al.*, 2021). Ainsi, ces études mettent également en évidence l'existence de ribosomes spécialisés au sein de différents tissus.

III.4- Modifications post-traductionnelles des protéines ribosomiques

Les modifications les plus fréquentes des protéines ribosomiques sont les méthylations, les acétylations, les phosphorylations, et les UFMylations (Simsek *et al.*, 2017).

Chez l'amibe *D. discoideum*, il a été observé que dans l'organe de fructification multicellulaire les ribosomes contiennent une forme phosphorylée d'uS10/RPS20 alors qu'uL2/RPL2 et eS19/RPS19 ne sont pas modifiées. Au contraire, au stade unicellulaire, uS10 au sein du ribosome n'est pas phosphorylée, alors qu'eS19 est phosphorylée et uL2 méthylée (Ramagopal, 1989). Si la nature des ARNm traduits par ces deux types de ribosomes n'a pas été étudiée, leur existence même suggère qu'il existe des ribosomes spécialisés.

Chapitre 2 – Activités extra-ribosomiques des protéines ribosomiques

I- Activités extra-ribosomiques des protéines ribosomiques

Certaines protéines ont également des activités « extra-ribosomiques » (pour revue : Lindstrom, 2009, Warner et McIntosh, 2009, Bhavsar *et al.*, 2010 et Lu *et al.*, 2015, Wool, 1996). Ainsi elles peuvent être impliquées dans le contrôle de la transcription et participer à de nombreux processus cellulaires comme le cycle cellulaire, la compétition cellulaire ou la mort cellulaire. De plus, des études récentes suggèrent que l'altération de ces activités extra-ribosomiques pourrait être la cause du développement de certaines pathologies.

I.1- Définition des activités extra-ribosomiques

Le premier exemple d'activité extra-ribosomique a été décrit dans les années 1970 chez les procaryotes. Chez *E.coli*, les cellules infectées par le phage Q β possèdent une activité enzymatique capable de synthétiser de l'ARN de façon ARN dépendante. En revanche, cette activité est absente des cellules non infectées. L'enzyme responsable de cette activité a été nommée réplacase Q β . Il a ensuite été montré que cette réplacase est composée d'un polypeptide codé par le phage qui se lie à trois protéines codées par la cellule hôte : la protéine ribosomique bS1/RPS1 et les facteurs d'élongation de la traduction EF-Tu et EF-Ts. Au sein de ce complexe, bS1 participe à la reconnaissance de sites spécifiques de l'ARN du phage à proximité de l'extrémité 3'-UTR et est nécessaire pour la transcription du phage (pour revue : Blumental, 1979). Ceci constitue le premier exemple de l'activité transcriptionnelle d'une protéine ribosomique.

En 2009, Warner et McIntosh proposent trois critères nécessaires pour conclure qu'une protéine ribosomique possède une activité extra-ribosomique (Warner et McIntosh, 2009) : 1- la protéine ribosomique interagit spécifiquement avec un composant non ribosomique de la cellule, 2- cette interaction produit un effet physiologique sur la cellule et 3- cette interaction a lieu en dehors du ribosome. Afin d'exercer ces activités, les protéines ribosomiques agissent sous forme libre ou en complexes non-ribosomiques (**Tableau 1**).

Tableau 1 *Tableau 1 Activités extra-ribosomiques des protéines ribosomiques*

(adapté de Bahvar et al., 2010, Lindstrom et al., 2009, Warner et al., 2009, Lu et al., 2015)

Protéine ribosomique	Organisme	Activité extra-ribosomique	Références
		Régulation transcriptionnelle	
bS1	<i>E. coli</i>	participe à la reconnaissance de sites spécifiques de l'ARN du phage Q β	Blumental <i>et al.</i> , 1979
uL11	<i>S.cerevisiae</i>	induit la transcription du transporteur de haute affinité pour le phosphate P _H O ₈ 4 en conditions limitantes pour le phosphate	Tu <i>et al.</i> , 2011
eL22	<i>D. melanogaster</i>	interagit avec l'histone H1 et réprime la transcription	Ni <i>et al.</i> , 2006
uS3	<i>humain</i>	fait partie du complexe NF- κ B facteur de transcription impliqué dans la régulation de plusieurs gènes	Wan <i>et al.</i> , 2007, Stanborough <i>et al.</i> , 2014
uS4	<i>E. coli</i>	participe à la régulation de la terminaison de la transcription du cluster d'ARNr	Torres <i>et al.</i> , 2001
uL3	<i>E. coli</i>	participe à la régulation de la terminaison de la transcription du cluster d'ARNr	Torres <i>et al.</i> , 2001
uL4	<i>E. coli</i>	participe à la régulation de la terminaison de la transcription du cluster d'ARNr	Torres <i>et al.</i> , 2001
uL13	<i>E. coli</i>	participe à la régulation de la terminaison de la transcription du cluster d'ARNr	Torres <i>et al.</i> , 2001
eL6	<i>S.cerevisiae</i>	influence polIII transcription	Dieci <i>et al.</i> , 2009
eL20	<i>S.cerevisiae</i>	influence polIII transcription	Hermann-Le Denmat <i>et al.</i> , 1994
		Régulation post-transcriptionnelle des ARNm	
eS28	<i>S.cerevisiae</i>	induit la dégradation de son ARNm en recrutant Edc3	Badis <i>et al.</i> , 2004
uL1	<i>C. elegans</i>	contrôle l'épissage de son propre ARNm en se fixant sur l'intron 1	Mitrovich <i>et Anderson</i> , 2000
uL3	<i>C. elegans</i>	contrôle l'épissage de son propre ARNm	Mitrovich <i>et Anderson</i> , 2000
eL8	<i>C. elegans</i>	contrôle l'épissage de son propre ARNm	Mitrovich <i>et Anderson</i> , 2000
uL11	<i>C. elegans</i>	contrôle l'épissage de son propre ARNm en se fixant sur l'intron 2	Mitrovich <i>et Anderson</i> , 2000
uS8	<i>C. elegans</i>	contrôle l'épissage de son propre ARNm	Takei <i>et al.</i> , 2016
eS31	<i>C. elegans</i>	contrôle l'épissage de son propre ARNm	Takei <i>et al.</i> , 2016
uL24	<i>C. elegans</i>	contrôle l'épissage de son propre ARNm	Takei <i>et al.</i> , 2016
eL30	<i>C. elegans</i>	contrôle l'épissage de son propre ARNm	Takei <i>et al.</i> , 2016
uS15	<i>S. cerevisiae, oiseaux, humains</i>	contrôle l'épissage de son propre ARNm en se fixant sur l'intron 1	Malygin <i>et al.</i> , 2007
uL2	<i>S. cerevisiae</i>	contrôle post-transcriptionnellement l'expression de son propre ARNm	Prestiti <i>et al.</i> , 1991
		Régulation de processus cellulaires	
uL5	<i>mammifères</i>	sequestre c-myc	Morgado-Palacin <i>et al.</i> , 2015
uL18	<i>mammifères</i>	peut se lier à MDM2 et inhibe son activité E3 ligase envers le suppresseur de tumeur p53	Maréchal <i>et al.</i> , 1994, Dai <i>et al.</i> , 2004
uL24	<i>mammifères</i>	promeut la traduction de p53	Ofir-Rosenfeld <i>et al.</i> , 2008, Tagaki <i>et al.</i> , 2005
eS7	<i>mammifères</i>	peut se lier à MDM2 et inhibe son activité E3 ligase envers le suppresseur de tumeur p53	Chen <i>et al.</i> , 2007
uL14	<i>mammifères</i>	peut se lier à MDM2 et inhibe son activité E3 ligase envers le suppresseur de tumeur p53	Dai <i>et al.</i> , 2004, Zhang <i>et al.</i> , 2009
uL4	<i>mammifères</i>	peut se lier à MDM2 et inhibe son activité E3 ligase envers le suppresseur de tumeur p53	He <i>et al.</i> , 2016
uL15	<i>mammifères</i>	sequestre H/MDM2	Sun <i>et al.</i> , 2011
eS12	<i>humain</i>	interagit avec cdk4	Del Toro <i>et al.</i> , 2019
eL34	<i>humain</i>	interagit avec cdk4 et cdk5 et contrôle la progression du cycle cellulaire	Moorthamer <i>et al.</i> , 1999
uS11	<i>humain</i>	contrôle le couple cdk4/cycD1	Del Toro <i>et al.</i> , 2019
uL30	<i>humain</i>	interagit avec cdk4	Del Toro <i>et al.</i> , 2019
eL24	<i>humain</i>	interagit avec cdk4	Del Toro <i>et al.</i> , 2019
eL15	<i>humain</i>	interagit avec cdk4	Del Toro <i>et al.</i> , 2019
eL22	<i>humain</i>	contrôle le couple cdk4/cycD1	Del Toro <i>et al.</i> , 2019
uL3	<i>humain</i>	uL3 est requise pour l'activation des gènes contrôlant la transition G1/S	Pecoraro <i>et al.</i> , 2019
uL10	<i>humain</i>	induit l'apoptose	Wang <i>et al.</i> , 2019
eS12	<i>D. melanogaster</i>	induit l'expression de Xrp1 et ainsi un signal de compétition cellulaire	Lee <i>et al.</i> , 2018 ; Ji <i>et al.</i> , 2019 ; Blanco <i>et al.</i> , 2020, Kale <i>et al.</i> , 2018

I.2- Implication dans la régulation de l'expression des gènes

Certaines protéines ribosomiques sont impliquées dans la régulation de leur propre expression ou de l'expression d'autres gènes en affectant l'épissage ou la transcription des ARNm (Takei *et al.*, 2016, De et Brogna, 2010).

I.2.a- Liaison à la chromatine et contrôle de la transcription

Brogna *et al.* ont montré que 20 protéines ribosomiques sont présentes sur les chromosomes polytènes de drosophile. Plus précisément, elles sont localisées sur les interbandes de DAPI, correspondant à des régions décompactées donc potentiellement transcrites. De plus, ces protéines co-localisent avec l'ARN pol II phosphorylée sur la sérine 2, ce qui suggère que leur présence sur la chromatine est liée à une activité transcriptionnelle. Certaines de ces protéines sont éliminées de la chromatine après un traitement à la RNase, suggérant que la liaison à la chromatine a lieu par l'intermédiaire d'une interaction avec de des ARN (Brogna *et al.*, 2002). Ces données ont été confirmées en détectant directement sur les chromosomes polytènes, certaines de ces protéines ribosomiques étiquetées avec des protéines fluorescentes (RFP ou GFP) (**Figure 7**) (Rugjee *et al.*, 2013).

La fixation des protéines ribosomiques sur la chromatine a également été mise en évidence chez *S. cerevisiae* (Schroder et Moore, 2005) et *S. pombe* (De *et al.*, 2011). En effet, chez *S. pombe*, une étude par *ChIP-on-ChIP* a démontré qu'uL5/RPL11, uL23/RPL25 et uL30/RPL7 se fixent sur de nombreux loci chromosomiques. Ces trois protéines ribosomiques se fixent sur des gènes codants mais également sur des gènes non-codants, notamment sur des gènes des ARNt. En général, elles sont détectées simultanément sur les mêmes sites, suggérant qu'elles peuvent être recrutées ensemble, probablement sous forme de complexe (De *et al.*, 2011).

Plusieurs études ont ensuite montré le rôle de ces protéines ribosomiques dans la régulation de la transcription. Chez la drosophile, l'histone H1 interagit avec 19 protéines de la grande et de la petite sous-unité du ribosome dont eL22/RPL22 (Ni *et al.*, 2006). eL22 co-localise avec l'histone H1 sur des régions très condensées de la chromatine et sa présence sur la chromatine dépend de celle de l'histone H1. L'analyse du transcriptome de cellules de drosophile surexprimant l'histone H1 ou eL22 montre qu'environ 1000 gènes sont dérégulés. Parmi ces gènes, 70% sont moins exprimés suggérant qu'eL22 et l'histone H1 sont des répresseurs de la transcription (Ni *et al.*, 2006).

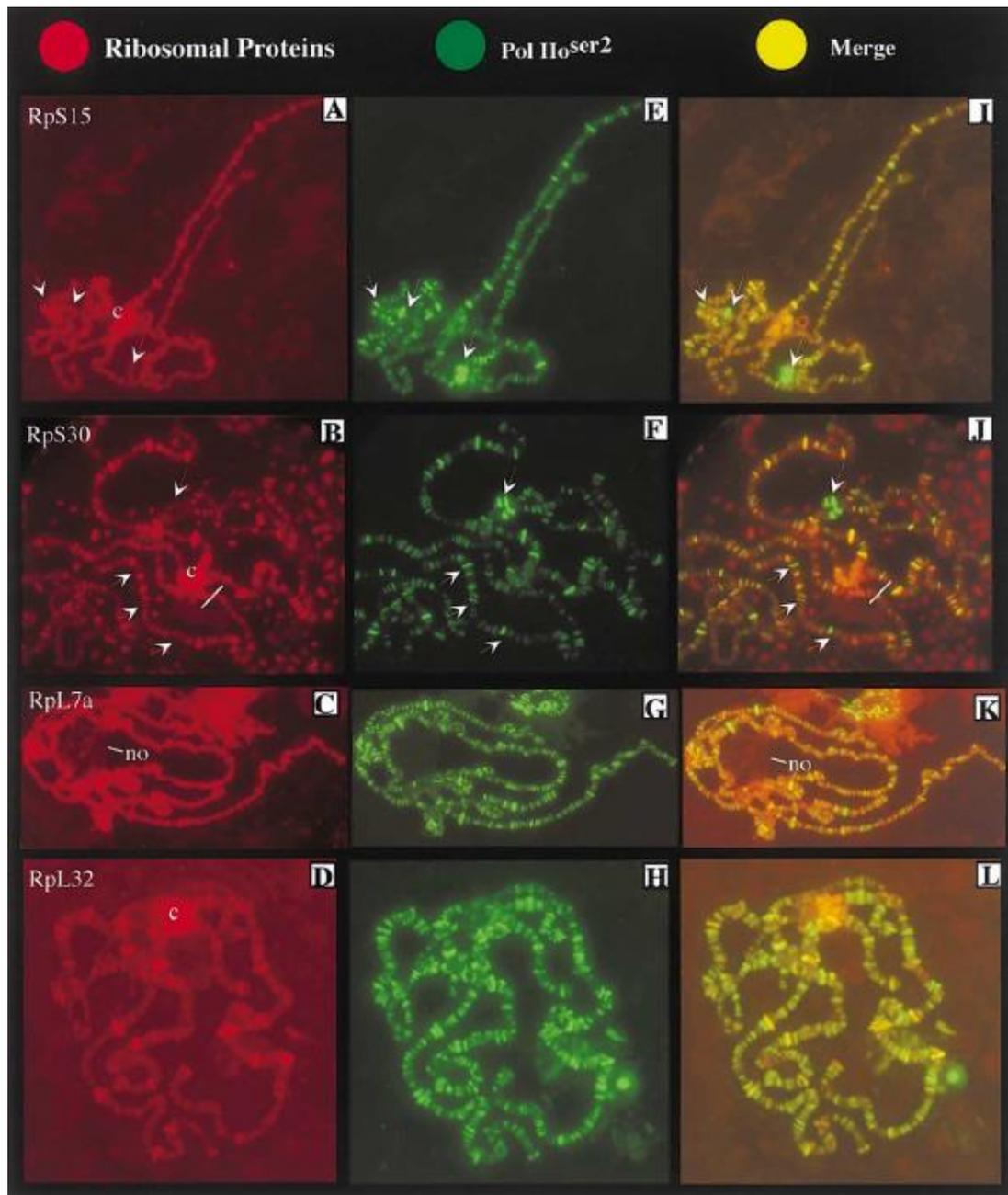


Figure 7 Les protéines ribosomiques sont présentes sur la chromatine

Immunofluorescence indirecte à l'aide d'anticorps dirigés contre les protéines ribosomiques et d'un anticorps secondaire conjugué à Cy3 (rouge) : (A) anti-uS19/RPS15, (B) anti-eS30/RPS30, (C) anti-eL8/RPL7a, et (D) anti-eL32/RPL32. Immunofluorescence indirecte pour l'ARN pol II phosphorylée sur la sérine 2 en utilisant un anticorps secondaire conjugué au FITC (vert). La superposition des deux signaux est présentée dans les panels (I) à (L). Les régions centromériques sont indiquées par un "c". Les flèches indiquent les « heat-shock puffs » 7A et 87C. Dans les panels (B-C) et (J-K), le nucléole est indiqué par une ligne et/ou « no » (Broyna et al., 2002)

Chez l'homme, NF- κ B est un facteur de transcription impliqué dans la régulation de plusieurs gènes dont les gènes des réponses immunitaire et inflammatoire. Ce complexe est formé de p50, p52, p65, RelB et c-Rel. Lorsque la cellule est stimulée par divers signaux comme les cytokines pro-inflammatoires (TNF par exemple), le complexe NF- κ B est adressé au noyau où il active la transcription de ses gènes cibles (pour revue : Liu *et al.*, 2017). Wan et al., ont mis en évidence une interaction entre uS3/RPS3 et p65, suggérant que la protéine ribosomique fait également partie du complexe NF- κ B. uS3 est recrutée sur les promoteurs des gènes du complexe NF- κ B, comme *IL-2* (*interleukine-2*) (Wan *et al.*, 2007). Des cellules humaines dans lesquelles l'expression d'uS3 ou p65 est inhibée, bien que stimulées par la cytokine TNF, présentent une diminution de l'activation de la voie NF- κ B, suggérant qu'uS3 est un co-activateur du complexe. D'autre part, l'activation de la voie NF- κ B par la cytokine TNF induit la relocalisation d'uS3 dans noyau alors qu'I κ B α , le principal inhibiteur de p65, séquestre uS3 dans le cytoplasme (Stanborough *et al.*, 2014). Ainsi, uS3 est une sous-unité essentielle de NF- κ B impliquée dans la régulation de gènes impliqués dans la réponse immunitaire.

1.2.b- Régulations post-transcriptionnelles des ARNm

Dans les années 1990, les premières preuves que les protéines ribosomiques régulent l'expression de leur propre ARNm ont été obtenues. Deux mécanismes de régulation ont été mis en évidence une régulation de la dégradation de leur ARNm et une régulation de leur épissage.

Chez *S.cerevisiae*, la protéine ribosomique eS28/RPS28 se fixe sur une structure tige-boucle du 3'-UTR de son propre ARNm et interagit avec les protéines Dcdp1 et Edc3, des protéines du complexe de « decapping » des ARNm. Dans une lignée qui exprime Edc3, on observe que l'ARNm eS28 est dégradé. Au contraire, dans une lignée qui n'exprime pas Edc3 cet ARNm n'est pas dégradé. L'ensemble de ces données suggère qu'eS28 recrute ce complexe de « decapping » sur son propre ARNm et participe ainsi à sa dégradation (**Figure 8**) (Badis *et al.*, 2004).

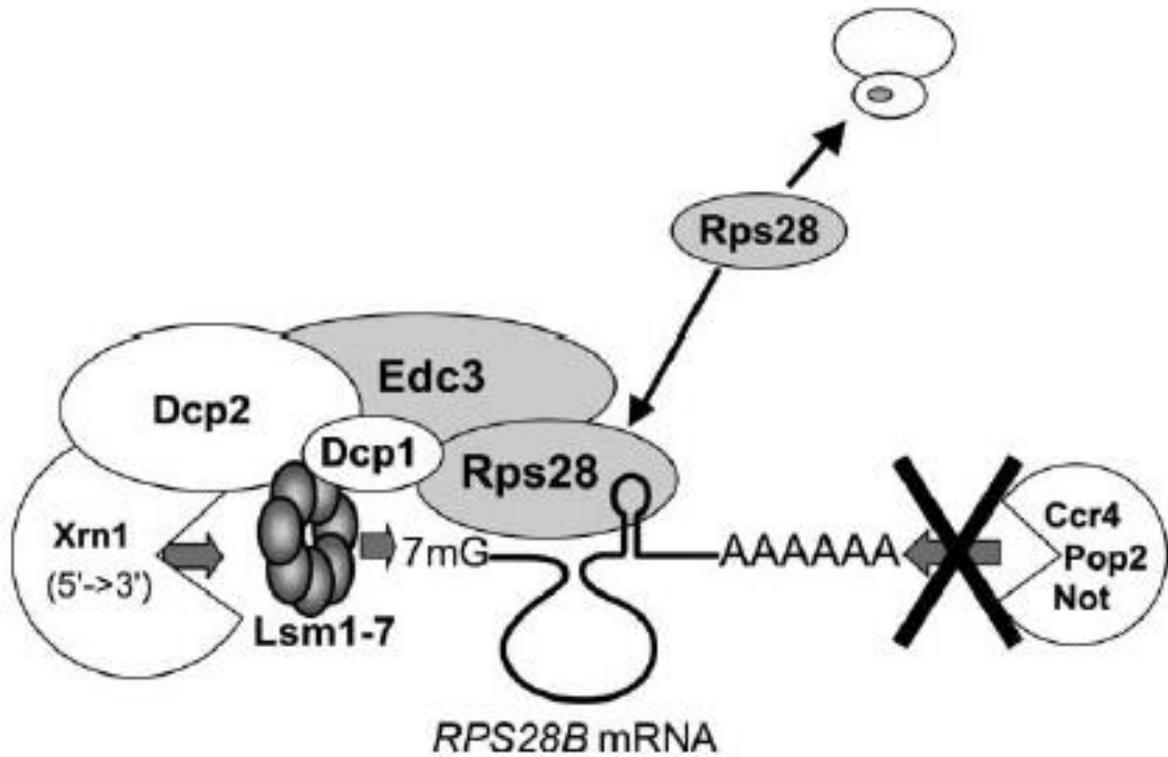


Figure 8 Modèle de la dégradation de l'ARNm d'eS28/RPS28 médiée par Edc3

Quand eS28 est surexprimée, elle se lie sur une structure tige-boucle de la région 3'-UTR de son ARNm et recrute la machinerie de « decapping » participant ainsi à la dégradation de son propre ARNm (Badis et al., 2004)

Chez *C. elegans*, les protéines ribosomiques uL1/RPL10A, uL3/RPL3, eL8/RPL7A et uL11/RPL12 contrôlent l'épissage de leur propre ARNm (Mitrovich and Anderson, 2000). Une seconde étude a montré que 4 autres protéines (uS8/RPS22, eS31/RPS27A, uL24/RPL26 et eL30/RPL30) régulent l'épissage de leur propre ARNm. Takei *et al.* ont étudié ces 8 protéines ribosomiques dans des mutants de la voie du « Nonsense-Mediated Decay » (NMD) et montré que, dans ces mutants, il existe des isoformes possédant des codons STOP prématurés, appelées isoformes non productives. L'extinction d'uL1 induit une augmentation du ratio isoformes productives/isoformes non productives pour *uL1* et une diminution de ce ratio pour les 7 autres *RPG* étudiés. Des données similaires ont été obtenues lors de l'extinction des 7 autres *RPG* : augmentation de ce ratio pour le gène éteint et diminution du ratio pour les autres *RPG* (**Figure 9**). Ainsi ces 8 protéines ribosomiques réguleraient à la fois l'expression de leur propre gène et l'expression des autres protéines ribosomiques. Le mécanisme précis n'est pas connu, il pourrait s'agir d'une régulation par épissage alternatif ou par recrutement de facteurs d'épissage (Takei *et al.*, 2016). Dans le cas d'uL1, la protéine se fixe directement sur son propre ARNm au niveau d'un élément conservé de 39 nucléotides appelé L10ARE, localisé entre les deux sites d'épissage alternatif, et qui bascule l'épissage de l'intron 1 d'une isoforme à l'autre. L'ARNm non productif est alors adressé à la voie du NMD (Takei *et al.*, 2016).

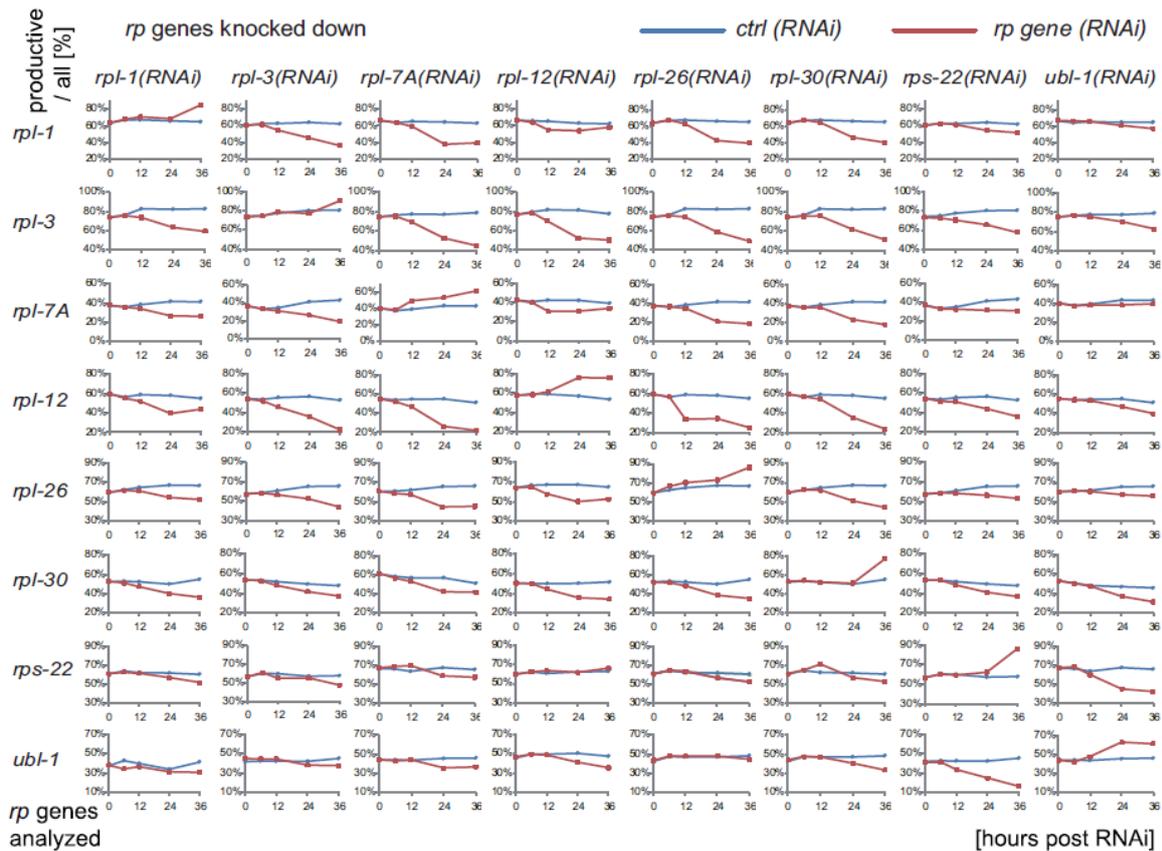


Figure 9 Analyse par RT-PCR des ARNm de 8 protéines ribosomiques régulant à la fois l'expression de leur propre gène et l'expression des autres protéines ribosomiques.

Chaque graphique présente le rapport molaire de l'isoforme d'ARNm productive sur la somme des deux isoformes ARNm du gène indiqué à gauche, en fonction du temps d'alimentation de *C. elegans* avec des bactéries exprimant un RNAi contrôle (en bleu) ou un RNAi dirigé contre l'une des protéines ribosomiques indiquées en haut (en rouge). Correspondance avec la nouvelle nomenclature : uL1/RPL1, uL3/RPL3, eL8/RPL7A, uL11/RPL12, uL24/RPL26, eL30/RPL30, uS8/RPS22, ubl-1 code la protéine eS31/RPS27A (Takei et al., 2016)

Chez les mammifères et les oiseaux, l'intron 1 d'*uS15/RPS13* est très conservé suggérant qu'il pourrait contenir des éléments régulateurs. Afin d'étudier l'importance de cet intron, des cellules humaines ont été transfectées avec deux constructions codant la protéine uS15/RPS13, l'une d'entre elles contenant l'intron 1 et l'autre sans intron 1. Les cellules transfectées avec la construction contenant l'intron 1 présentent une diminution de la quantité d'ARNm d'*uS15* (endogène et codé par le transgène). Ces données suggèrent que les ARNm contenant l'intron 1 sont dégradés. De nombreuses protéines ribosomiques régulent leur expression en se fixant sur leur ARNm, les auteurs ont donc étudié la fixation d'uS15 sur son ARNm. uS15 se fixe sur son ARNm à proximité des sites d'épissage de l'intron 1 et bloque ainsi l'épissage de cet intron (**Figure 10**) (Malygin *et al.*, 2007). Ainsi, uS15 régule l'épissage de son ARNm en se fixant à proximité des sites d'épissage de l'intron 1.

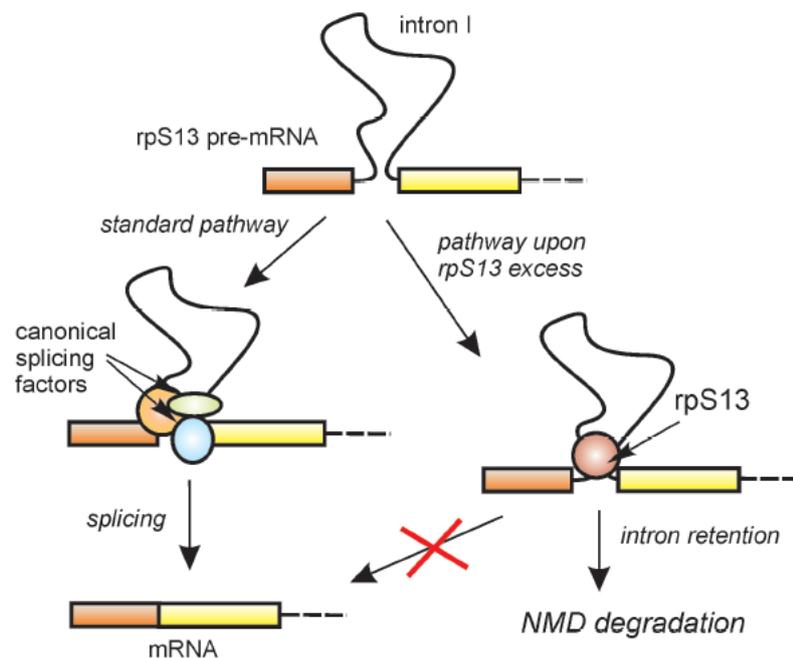


Figure 10 Représentation schématique de l'autorégulation d'*uS15/RPS13* via l'épissage de son intron 1.

En conditions normales, les facteurs d'épissage se fixent sur l'intron 1 d'*uS15*, induisant l'épissage de ce dernier. Lorsque *uS15* est présente en excès, elle se fixe à proximité des sites d'épissage de l'intron 1. Les facteurs d'épissages ne peuvent plus se fixer sur l'intron 1. L'ARNm ainsi produit présente une rétention de l'intron 1 et est dégradé par la voie du NMD. Lorsque la voie du NMD est inhibée (croix rouge), l'ARNm n'est pas dégradé (Malygin *et al.*, 2007)

I.3- Implication dans des processus cellulaires

I.3.a- Régulation de la protéine p53

Le facteur de transcription p53 contrôle l'expression de nombreux gènes et participe ainsi à des processus biologiques variés allant de la réparation de l'ADN à l'apoptose et à la régulation du cycle cellulaire. En conditions normales, la quantité de p53 est régulée par l'E3 ligase MDM2 qui induit sa dégradation par le protéasome. En revanche, en réponse à divers stress, on observe une augmentation de p53. Il a été prouvé que plusieurs protéines ribosomiques se lient à MDM2 et/ou à p53 et participent ainsi à sa régulation.

uL18/RPL5 fait partie d'un complexe ribonucléoprotéique contenant également l'ARN ribosomique 5S, MDM2, p53 et potentiellement l'ARN ribosomique 5,8S (Maréchal *et al.*, 1994). uL18 interagit avec MDM2 et inhibe son activité ubiquitine ligase. Ainsi, uL18 permet la stabilisation de p53 et l'augmentation de l'expression de ses cibles transcriptionnelles. Lors de l'induction d'un stress ribosomique par ajout d'actinomycine D, les protéines ribosomiques sont libérées, uL18 s'associe à MDM2 et p53 induit la transcription de ses cibles (**Figure 11**) (Dai et Lu, 2004).

Plusieurs autres protéines ribosomiques interagissent avec MDM2 : uL4/RPL4, uL5/RPL11, uL14/RPL23, uL24/RPL26, eS7/RPS7 et eS31/RPS27a (Lohrum *et al.*, 2003, Dai *et al.*, 2004, Sun *et al.*, 2011, Zhang *et al.*, 2010, Chen *et al.*, 2007, He *et al.*, 2016, Ofir-Rosenfeld *et al.*, 2008, Takagi *et al.*, 2005). Dans des cellules humaines, MDM2 est nucléoplasmique. Lorsqu'uL5/RPL11 est transfectée dans ces cellules, MDM2 est relocalisée dans le nucléole ; uL5 inhibe son activité et conduit à la stabilisation de p53 et un arrêt du cycle cellulaire (Lohrum *et al.*, 2003, Dai *et al.*, 2004). uL5/RPL11 et uL18/RPL5 coopèrent dans certains cas pour l'inhibition de MDM2. Cette coopération nécessite une interaction avec l'ARNr 5S. Elle induit une stabilisation plus efficace de p53 (Horn *et al.*, 2008).

Bien que de nombreuses protéines ribosomiques régulent la voie p53, ce mécanisme est spécifique à quelques protéines ribosomiques uniquement (Sun *et al.*, 2010) : uL18/RPL5, uL4/RPL4, uL5/RPL11, uL14/RPL23, uL24/RPL26, eS7/RPS7 et eS31/RPS27a.

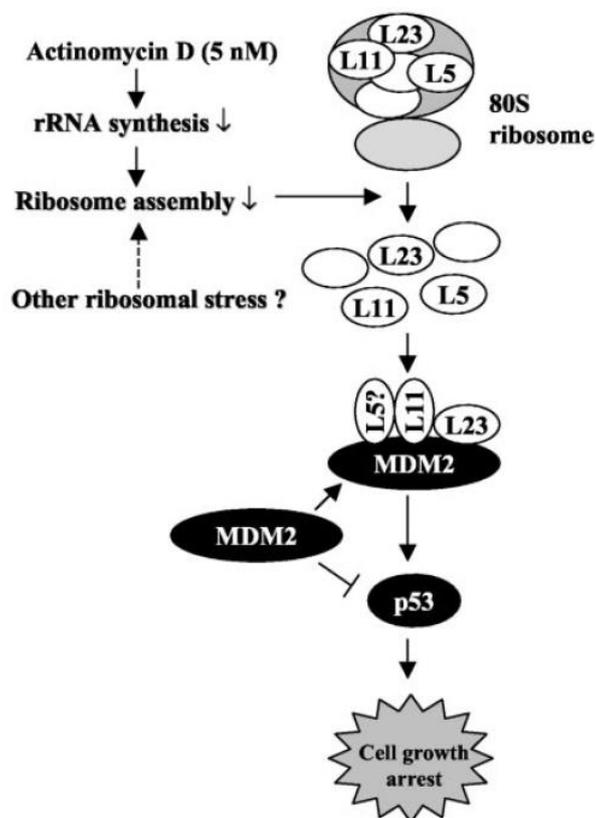


Figure 11 Modèle de la régulation de p53 par MDM2 et les protéines ribosomiques en réponse à un stress ribosomique.

En réponse à un stress ribosomique (induit par exemple par l'actinomycine D), uL5/RPL11, uL18/RPL5 et uL14/RPL23 sont libérées du ribosome. Puis elles se lient à MDM2 et inhibent son activité ubiquitine ligase. p53 est alors stabilisée et induit la transcription de ses cibles et l'arrêt du cycle cellulaire (Dai et al., 2004).

1.3.b- Régulation du cycle cellulaire et de l'apoptose

Des études ont montré que les protéines ribosomiques altèrent le cycle cellulaire en interagissant avec les Cdk (kinases dépendantes des cyclines). Par exemple, eL34/RPL34 interagit avec Cdk5 et Cdk4 et inhibe leur action. Cdk4 est une cycline impliquée dans la progression de la phase G1 du cycle cellulaire, suggérant qu'eL34 serait impliquée dans la progression du cycle cellulaire (Moorthamer *et al.*, 1999). D'autres protéines ribosomiques (eS1/RPS3A, uS11/RPS14, uL30/RPL7, eL15/RPL15, eL24/RPL24 et eL22/RPL22) sont également des partenaires de Cdk4 (Del Toro *et al.*, 2019). eL22 inhibe son activité kinase ce qui induit l'hypophosphorylation de Rb et la sénescence des cellules (**Figure 12**) (Del Toro *et al.*, 2019).

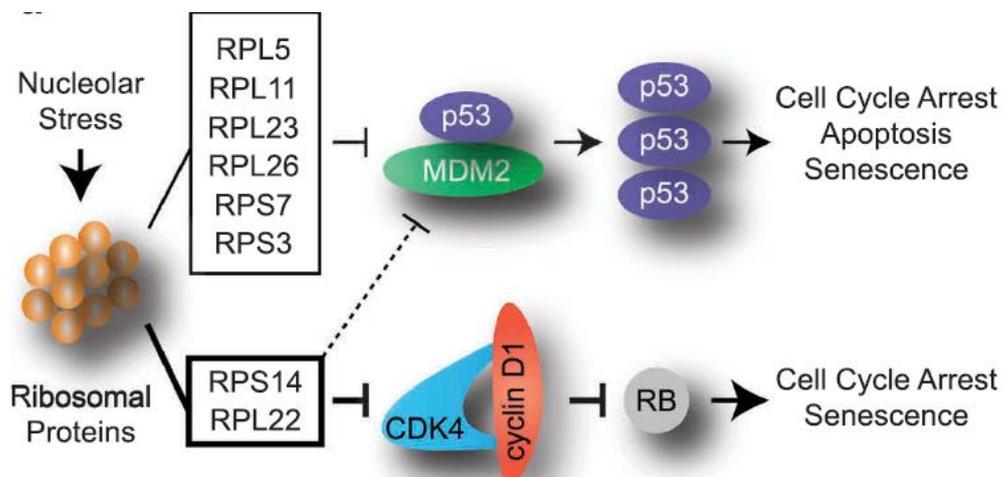


Figure 12 Modèle montrant l'activation des voies p53 et RB en réponse à un stress nucléolaire. L'induction d'un stress ribosomique induit la libération de plusieurs protéines ribosomiques : uL18/RPL5, uL5/RPL11, uL14/RPL23, uL24/RPL26, eS7/RPS7, eS1/RPS3, uS11/RPS14 et eL22/RPL22. Ces protéines sont capables de se lier à MDM2 et inhibent son activité ubiquitine ligase. Ainsi, p53 est stabilisé et induit la transcription de ses cibles et l'arrêt du cycle cellulaire. De plus, uS11/RPS14 et eL22/RPL22 peuvent interagir avec Cdk4 et inhiber son activité kinase, ce qui induit l'hypophosphorylation de Rb et la sénescence des cellules (Del Toro *et al.*, 2019).

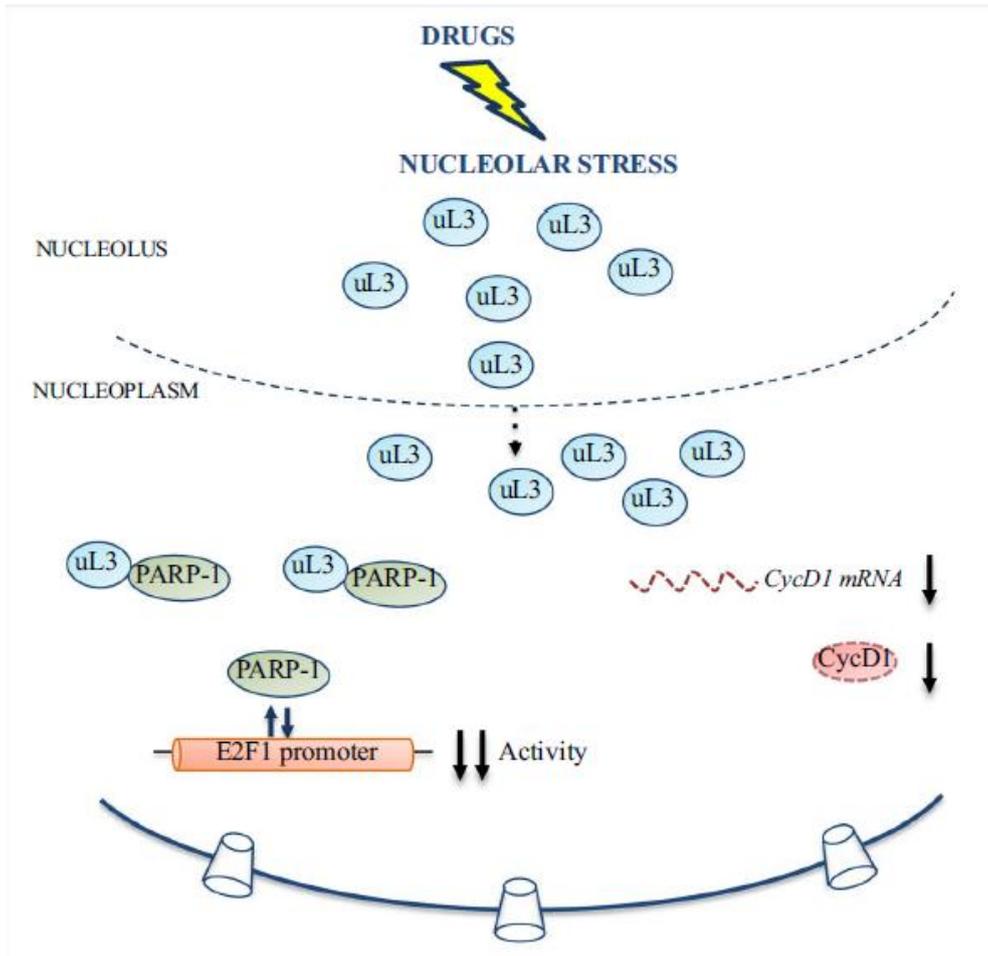


Figure 13 Modèle de la réponse d'uL3/RPL3 à un stress ribosomique.

En réponse à un stress ribosomique, la protéine ribosomique uL3 est libérée du ribosome et s'accumule dans le nucléole. Elle est ensuite exportée dans le nucléoplasme. uL3 interagit avec PARP (un régulateur d'E2F1) empêchant sa fixation sur le promoteur d'E2F1. uL3 induit la dégradation de l'ARNm et de la protéine cycline D1. En régulant l'expression d'E2F1 et cycline D1, qui sont impliquées dans la progression de la phase G1 du cycle cellulaire, uL3 participe à la régulation du cycle cellulaire (Pecoraro et al., 2019)

Dans une lignée cellulaire de cancer du côlon dans laquelle l'expression d'uL3/RPL3 est diminuée, on observe une augmentation de cycline D1 (impliquée dans la progression de la phase G1), d'E2F1 (impliquée dans la transition G1/S) et de Bcl-2 (un régulateur de l'apoptose) et une diminution de l'expression de p21 (inhibiteur du complexe cycline E/Cdk2) (Pecoraro *et al.*, 2019). La transfection d'uL3 dans ces cellules induit une augmentation du pourcentage de cellules en phase G0/G1 et une induction de l'apoptose (**Figure 13**) (Pecoraro *et al.*, 2020).

Dans des cellules HeLa, l'inhibition d'uL10/P0, par ARN à interférence, stoppe la croissance cellulaire, induit une diminution de la protéine anti-apoptotique Bcl-2 ainsi qu'une augmentation de la protéine pro-apoptotique Bax. Ces données suggèrent que la diminution de l'expression d'uL10 induirait la mort cellulaire (**Figure 14**) (Wang *et al.*, 2019). Des cellules de lymphocytes T humain transfectées avec uS3/RPS3 présentent une augmentation des caspases 8 et 3, une augmentation de la Jun-kinase et une fragmentation de l'ADN. 25 à 50% d'entre elles entrent en apoptose (Jang *et al.*, 2004, Jang *et al.*, 2012).

L'ensemble de ces études démontrent que les protéines ribosomiques peuvent participer à la régulation du cycle cellulaire et de l'apoptose, suggérant qu'elles pourraient participer au développement de pathologies et de cancers.

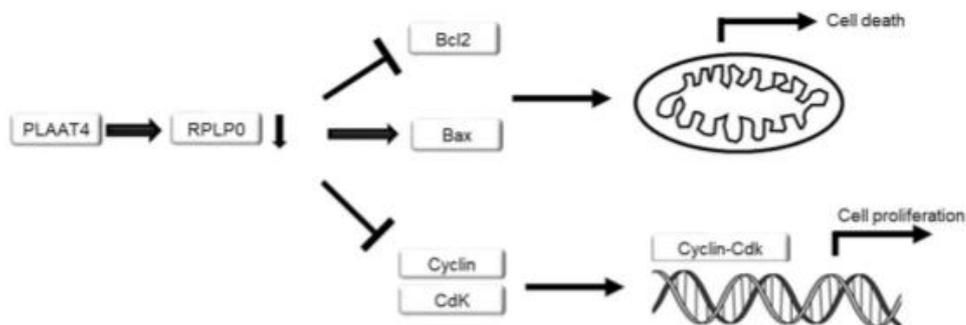


Figure 14 Modèle de régulation de la mort cellulaire et de la prolifération cellulaire par uL10/P0.

uL10 est inhibée par PLAAT4 (Phospholipase A and acétyltransferase 4). La diminution d'uL10 inhibe l'expression de cycline D, cycline E, Cdk4, Cdk5, et de Bcl2, alors qu'elle induit Bax, menant à l'arrêt de la prolifération cellulaire et à la mort cellulaire (Wang *et al.*, 2019)

1.3.c- Implication dans la compétition cellulaire

En 1975, en étudiant le développement des mutants d'un *RPG* de *Drosophila melanogaster*, Morata et Ripoll ont décrit pour la première fois le phénomène de compétition cellulaire, un processus qui contribue à la croissance et à l'homéostasie des tissus (Morata et Ripoll, 1975, De la Cova *et al.*, 2004). La compétition cellulaire est activée lorsque deux cellules voisines ont des « fitness » différentes. La cellule la plus forte ou cellule gagnante enverrait un signal qui causerait la mort de sa voisine plus faible ou cellule perdante. En effet, des clones hétérozygotes mutants pour un *RPG* (*eS17/RPS17*, *eL19/RPL19* ou *uS7/RPS5*) sont éliminés par les cellules sauvages environnantes (Morata *et al.*, 1975).

eS12/RPS12 joue un rôle différent de celui des autres protéines ribosomiques dans la compétition cellulaire (Kale *et al.*, 2018). Les mouches homozygotes pour la mutation *eS12^{G97D}* sont viables et ne présentent pas de phénotypes. De plus, eS12G97D est présente dans les polysomes, suggérant que cette mutation n'empêche pas la traduction. Il a été observé que la mutation *eS12^{G97D}* protège les clones *RP^{+/-}* de l'élimination par compétition cellulaire (Kale *et al.*, 2018 ; Ji *et al.*, 2019). Des copies supplémentaires du gène eS12 sauvage ou la surexpression de la protéine eS12, restaurent la sensibilité de ces cellules à la compétition (Kale *et al.*, 2018). La protéine eS12 s'assemblant tardivement dans les ribosomes, ces auteurs ont proposé qu'eS12 est un senseur de l'assemblage des ribosomes qui induit un signal de compétition cellulaire dans les cellules hétérozygotes mutantes *RP^{+/-}* (Kale *et al.*, 2018). Ce rôle de senseur pourrait passer par le facteur de transcription à domaine bZip Xrp1. En effet, dans les disques imaginaux d'ailes *RP^{+/-}*, l'expression de Xrp1 est fortement augmentée (Lee *et al.*, 2018 ; Ji *et al.*, 2019 ; Blanco *et al.*, 2020). Dans les cellules *RP^{+/-}*, la voie eS12/Xrp1 serait, directement ou non, responsable de la diminution de la traduction, du ralentissement de la croissance et de la sensibilité de ces cellules à la compétition par rapport aux cellules de type sauvage (**Figure 15**) (Ji *et al.*, 2019, Lee *et al.*, 2018, Kale *et al.*, 2018)

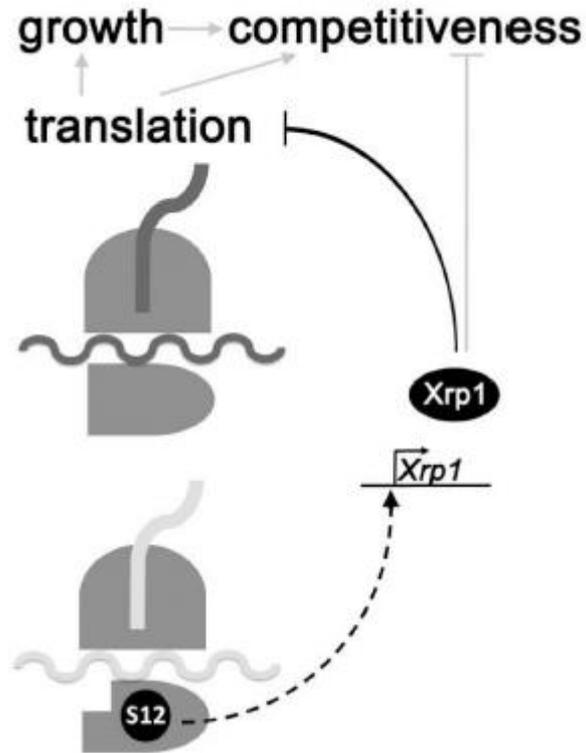


Figure 15 Contrôle de la compétition cellulaire par eS12/RPS12

Dans les cellules $Rp^{+/-}$ on observe une diminution de la traduction et un ralentissement de la croissance. De plus, ces cellules sont défavorisées par rapport aux cellules sauvages. Ces effets dépendent de la protéine à domaine bZip, *Xrp1*. eS12 est un senseur de l'assemblage des ribosomes qui induirait l'expression de *Xrp1*, directement ou non. (Lee et al., 2019)

II- Implication des protéines ribosomiques dans certaines pathologies

Les mutations des *RPG* induisent une multitude de phénotypes qui ont été étudiés chez les eucaryotes depuis de nombreuses années, en particulier chez la drosophile (Schultz, 1929, Brehme, 1939, pour revue : Polymenis *et al.*, 2020). En 2007, les gènes responsables de ces phénotypes *Minute* ont été identifiés chez la drosophile. Ils codent, à quelques exceptions près, pour des protéines ribosomiques (Marygold *et al.*, 2007). D'autre part, chez l'Homme, les mutations des protéines ribosomiques et des protéines impliquées dans la biogenèse des ribosomes sont responsables d'une catégorie de pathologies nommées ribosomopathies (pour revue : Yelick et Trainor, 2015).

II.1- Mutations des protéines ribosomiques et phénotypes *Minute*

Chez la drosophile, les phénotypes *Minute* incluent un retard de développement, une forte létalité, une faible fertilité et des soies courtes et fines (Marygold *et al.*, 2005). D'autres phénotypes peuvent également être observés tels que des défauts des yeux, des veines ectopiques ou une réduction de la taille des individus (Schultz, 1928). De manière intéressante, alors que les mutations *Minute* sont létales à l'état homozygote, la combinaison de plusieurs mutations *Minute* n'aggrave pas le phénotype comparé à la mutation simple. Il a été proposé que dans ces mutants, le nombre de ribosomes fonctionnels et donc la synthèse protéique diminuent (Lambertsson, 1998, Marygold *et al.*, 2007). Si les phénotypes *Minute* résultaient uniquement d'une synthèse sous-optimale de ribosomes, on s'attendrait à ce que toutes les mutations de *RPG* induisent les mêmes phénotypes, ce qui n'est pas le cas. Les activités extra-ribosomiques des protéines ribosomiques pourraient être responsables de ces phénotypes spécifiques.

II.2- Mutations des protéines ribosomiques et le développement des pathologies

II.2.a- Définition des ribosomopathies

Les ribosomopathies sont définies comme une classe de pathologies associées à des défauts des ribosomes (mutations des protéines ribosomiques, des ARNr, des facteurs d'assemblage du ribosome ou de la transcription de l'ADNr). Bien que les ribosomes soient présents dans toutes les cellules, ces pathologies présentent des défauts spécifiques de certains tissus, affectant souvent le système hématopoïétique. Pour tenter d'expliquer ces symptômes tissus-spécifiques, deux hypothèses ont été proposées : ils pourraient être dus aux activités

extra-ribosomiques de certaines protéines ribosomiques ou à l'existence de ribosomes spécialisés (Polymenis *et al.*, 2020).

Parmi ces ribosomopathies l'anémie de Diamond-Blackfan (DBA) est une dysplasie érythroïde congénitale rare (1 cas sur 200 000). Comme les autres ribosomopathies, la DBA présente des symptômes tissus-spécifiques dont une aplasie des cellules rouges, des défauts craniaux-faciaux et cardiaques ainsi que des prédispositions aux cancers (pour revue : Yelick et Trainor, 2015, Aspesi et Ellis, 2019) (**Tableau 2**). La DBA est associée aux mutations de 19 protéines ribosomiques dont uL5/RPL11 et uL18/RPL5. De façon intéressante, ces deux protéines ribosomiques présentent des activités extra-ribosomiques qui pourraient expliquer les symptômes tissus-spécifiques de cette pathologie.

Tableau 2 Mutations des RPG et caractéristiques cliniques des ribosomopathies

AML : acute myeloid leukaemia, MDS : myelodysplastic syndrome, NA : not applicable. * Seuls les gènes codant des facteurs impliqués dans la synthèse du ribosome sont inclus dans cette table (Aspesi et al., 2019)

Pathology	Responsible genes*	Inheritance	Clinical features	Associated tumours or preneoplastic conditions
Inherited ribosomopathies with ribosome synthesis gene defects as the primary pathogenic mechanism				
Diamond–Blackfan anaemia	RPS7, RPS10, RPS15A, RPS17, RPS19, RPS24, RPS26, RPS27, RPS28, RPS29, RPL5, RPL11, RPL15, RPL18, RPL26, RPL27, RPL31, RPL35, RPL35A and TSR2 (REFS ^{11,13,110})	Autosomal dominant (X-linked for TSR2)	Macrocytic anaemia, growth retardation, short stature and congenital malformations (craniofacial, upper limb, genitourinary and heart)	MDS, AML and solid tumours (for example, osteosarcoma and colon carcinoma)
Shwachman–Diamond syndrome	SBDS, DNAJC21 and EFL1 (REFS ^{19,21,22})	Autosomal recessive	Neutropenia, exocrine pancreatic insufficiency and short stature	MDS and AML
Treacher Collins syndrome	TCOF1, POLR1C and POLR1D ^{107,108}	Autosomal dominant (TCOF1 and POLR1D) and autosomal recessive (POLR1C)	Craniofacial abnormalities	NA
Acquired ribosomopathy with the loss of a ribosome synthesis gene contributing to the pathogenic mechanism				
5q ⁻ syndrome	RPS14 (REF ¹⁹)	Acquired condition	Macrocytic anaemia and hypolobated megakaryocytes	MDS and AML
Ribosomopathies with ribosome synthesis gene defects as disease modifiers				
Dyskeratosis congenita	DKC1 and PARN ^{24,111}	X-linked (DKC1) and autosomal recessive (PARN)	Bone marrow failure, skin hyperpigmentation, nail dystrophy, mucosal leukoplakia and pulmonary fibrosis	MDS, AML and head and neck tumours
Cartilage–hair hypoplasia–anauxetic dysplasia	RMRP ²⁰	Autosomal recessive	Dwarfism, anaemia, hair growth abnormalities and immunodeficiency	Non-Hodgkin lymphoma and basal cell carcinoma
Suspected ribosomopathies				
Alopecia and neurological and endocrinopathy syndrome	RBM28 (REF ¹¹²)	Autosomal recessive	Hair loss, neurological defects and hypogonadism	NA
Aplasia cutis congenita	BSM1 (REF ¹¹³)	Autosomal dominant	Skin defects, mostly affecting the scalp	NA
Bowen–Conradi syndrome	EMG1 (REF ¹¹⁴)	Autosomal recessive	Mental and psychomotor retardation, rockerbottom feet and death in the first months of life	NA
Congenital asplenia	RPSA ¹¹⁵	Autosomal dominant	Absence of spleen	NA
Leukoencephalopathy, brain calcifications and cysts	SNORD118 (REF ¹¹⁶)	Autosomal recessive	Central nervous system abnormalities (leukoencephalopathy, intracranial calcifications and cysts)	NA
RPS23-related ribosomopathy	RPS23 (REF ¹¹⁷)	Autosomal dominant	Microcephaly, hearing loss and dysmorphic features	NA

II.2.b- Défauts des ribosomes et ribosomopathies

Certaines DBA sont associées à des mutations d'*eS19/RPS19*. Afin d'étudier l'effet de ces mutations, 11 d'entre elles ont été reproduites en cellules humaines. Il s'avère que les protéines eS19 mutantes ne sont jamais détectées dans les polysomes suggérant que les patients atteints de DBA pourraient présenter une altération de la traduction de certains ARNm (Angelini *et al.*, 2007).

Une étude au sein d'une cohorte de 135 patients atteints de DBA a mis en évidence des mutations d'*eS10/RPS10*, d'*uL6/RPL9* et d'*e26/RPS26*. Dans des cellules HeLa où l'expression d'eS10 ou eS26 ont été éteintes, on observe une accumulation d'ARNr non matures 43S, 26S et 18S-E (Doherty *et al.*, 2010). De la même façon, des défauts de maturation des ARNr et d'association aux polysomes ont été mis en évidence dans des cellules lymphoblastoïdes mutées pour *eS24/RPS24* issues de patients atteints de DBA (Choesmel *et al.*, 2008). Une autre étude a montré que deux patients sans lien de parenté possèdent des mutations du gène *uS12/RPS23*. Ils présentent des défauts crâniiaux-faciaux et des mains. L'un des patients présente également des troubles autistiques et une déficience intellectuelle. La protéine uS12 est localisée dans le centre de décodage du ribosome qui participe à la fidélité de la traduction. Ces défauts sont associés à une diminution de la quantité de monosomes 80S et à une augmentation de la translecture des codons stop UAA (Paolini *et al.*, 2017).

Dans une autre étude, 25 *RPG* ont été séquencés au sein d'une cohorte de 196 familles dont au moins l'un des membres était porteur de la pathologie. Il a été observé qu'*uL5* et *uL18* sont mutés dans respectivement 9% et 6,5% des cas. Ces mutations sont très variées (non-sens, faux-sens, indels, mutation des sites d'épissage). De nouveau, une augmentation des taux d'ARNr non matures 32S et 12S a été observée (Gazda *et al.*, 2008). Ainsi, de nombreuses études décrivent des exemples où les ribosomopathies sont liées à des défauts de biogenèse des ribosomes ou de traduction.

Gazda *et al.* ont également mis en évidence des mutations dans les gènes *uL5/RPL11* et *uL18/RPL5* chez des patients DBA (Gazda *et al.*, 2008). Or ces protéines ribosomiques sont connues pour leur implication dans la régulation de p53 et la régulation du cycle cellulaire ce qui pourraient également être un facteur causal dans les ribosomopathies.

II.2.c- Hétérogénéité des ribosomes et ribosomopathies

Chez l'Homme, il a été mis en évidence qu'environ un quart des protéines ribosomiques sont exprimées de façon tissu-spécifique (Guimaraes *et al.*, 2016). Par ailleurs, dans les tissus

cancéreux, on observe fréquemment une dérégulation de l'expression de certaines protéines ribosomiques. Par exemple, l'expression d'*eL21/RPL21* est fortement diminuée dans les lignées de cancer du sein ou de l'utérus. Bien que ces données ne démontrent pas formellement que cette hétérogénéité des protéines ribosomiques se traduit par une hétérogénéité des ribosomes, elle pourrait contribuer au développement de certaines pathologies, comme les ribosomopathies, et participer à leur prédisposition aux cancers (Guimaraes *et al.*, 2016).

Dans des érythrocytes murins, la perte d'*uL5/RPL11* ou d'*eS19/RPS19* affecte la présence dans les polysomes des ARNm de 130 gènes. Parmi les ARNm dont le recrutement est diminué se trouvent les ARNm de gènes codant des protéines mitochondriales, des facteurs d'initiation de la traduction et des facteurs de processing des ARNm, dont *Bcl2-associated athnogene 1 (Bag1)* et *cold-shock domain containing E1 (CSDE1)*. Cette diminution de la présence de ces ARNm dans les polysomes est corrélée avec une baisse de la quantité des protéines correspondantes (Horos *et al.*, 2012). Les auteurs ont ensuite étudié si les gènes *Bag1* et *CSDE1* étaient également dérégulés dans des érythroblastes cultivés à partir de sang provenant de patients atteints de DBA. La quantité de protéines Bag1 et CSDE1 est effectivement fortement réduite dans ces érythroblastes, alors que la quantité d'ARNm *Bag1* et *CSDE1* n'est pas affectée. Par ailleurs, la traduction des ARNm *Bag1* et *CDSE1* nécessite l'utilisation de séquences *IRES*. Or, la délétion d'*uL5* ou *eS19* supprime la traduction dépendante de ces *IRES*. L'ensemble de ces données suggère qu'il existe des ribosomes spécialisés dans la traduction de certains messagers passant par des *IRES* et qu'*uL5* et *eS19* participent au développement de la DBA en affectant spécifiquement ce processus.

II.2.d- Fonctions extra-ribosomiques et ribosomopathies

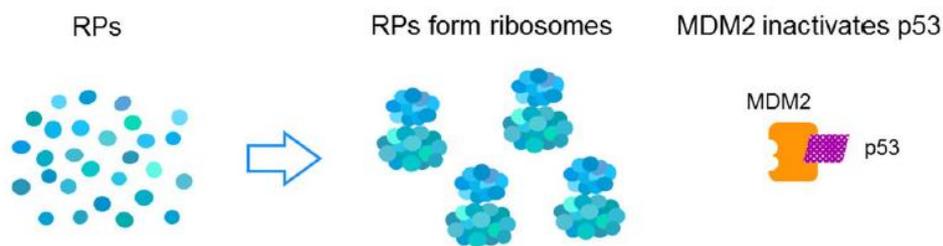
Des mutations des protéines ribosomiques *eS24/RPS24* et *eS19/RPS19* ont été détectées chez deux patients atteints de DBA : une mutation au niveau d'un site accepteur d'épissage d'*eS19* et une mutation au niveau du codon d'*eS24*. Les fibroblastes issus de ces patients présentent une réduction des protéines *eS24* ou d'*eS19*, une croissance ralentie associée à une diminution du taux de prolifération et une augmentation de l'apoptose. Dans ces fibroblastes la mutation d'*eS19* induit un arrêt des cellules en phase G1 tandis que la mutation d'*eS24* mène à une perturbation de la phase S associée à une augmentation de p21 (Badhai *et al.*, 2009).

Des mutations d'*eS19/RPS19*, *uL5/RPL11*, *uL18/RPL5* et *eL33/RPL35A* ont été détectées dans des lignées cellulaires lymphoblastoïdes issues de 11 sujets atteints de DBA. Ces cellules présentent un ralentissement de la croissance associée à une proportion réduite de cellules en phase S/G2/M. De plus ces cellules présentent une augmentation du taux d'ARNm

et protéines de p53 et p21. Ainsi chez ces patients, la protéine ribosomique mutée est libérée du ribosome ce qui induit une stabilisation de p53 et en conséquence une augmentation de p21 provoquant un arrêt du cycle cellulaire (**Figure 16**) (Aspesi *et al.*, 2017).

Ces deux études suggèrent que l'activité de régulation de p53 et du cycle cellulaire de certaines protéines ribosomiques pourrait participer au développement de la DBA. Cependant dans les fibroblastes mutants pour *eS19*, une augmentation des ARNr non matures 21S et 41S a également été mise en évidence, suggérant que certaines DBA peuvent conjointement provenir d'un défaut de biogenèse des ribosomes et des activités extra-ribosomales des protéines ribosomiques (Badhai *et al.*, 2009).

NORMAL CELLS



DBA CELLS

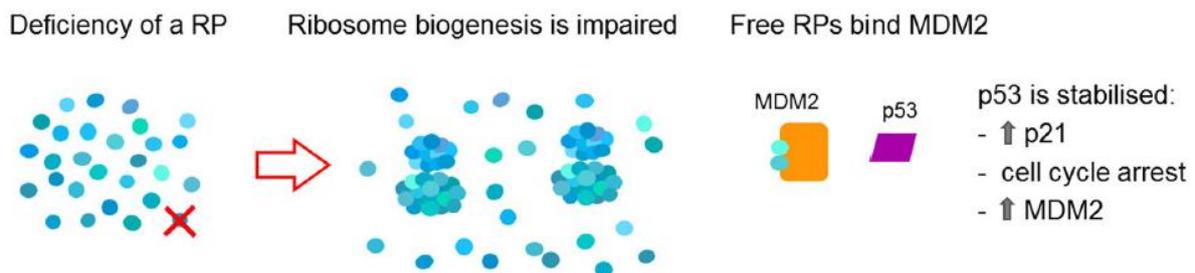


Figure 16 Schéma décrivant l'interaction entre p53, MDM2 et les protéines ribosomiques chez les patients atteints d'anémie de Diamond-Blackfan (DBA).

Dans les cellules normales, MDM2 cible p53 et induit sa dégradation par le protéasome. Dans les cellules DBA, la déficience d'une protéine ribosomique perturbe l'assemblage des ribosomes et provoque l'accumulation de certaines protéines ribosomiques, comme uL11 et uL18, qui se lient à MDM2 et inhibent son activité ubiquitine-ligase. Ainsi, p53 est stabilisée et active ses cibles transcriptionnelles, induisant l'arrêt du cycle cellulaire. (Aspesi *et al.*, 2017)

II.2.e- En conclusion, les ribosomopathies : défauts de traduction, de l'activité de ribosomes spécialisés ou des activités extra-ribosomiques des protéines ribosomiques ?

Nous avons seulement présenté ici quelques exemples qui soutiennent les différentes hypothèses émises quant à l'origine des ribosomopathies mais de nombreuses revues font le point sur ce sujet (Kampen *et al.*, 2019, Farley-Barnes *et al.*, 2019, Sulima *et al.*, 2019, Teng *et al.*, 2013, Yelick et Trainor, 2015). Bien souvent les études testent uniquement l'une des hypothèses liées à des mutations des *RPG* : défauts de la biogenèse des ribosomes et de la traduction, perte de ribosomes spécialisés, perturbation des activités extra-ribosomiques, alors que ces hypothèses ne sont pas exclusives.

Par exemple, une mutation d'*uL5/RPL11* chez la souris induit des phénotypes de DBA : forte létalité, atrophie de l'intestin, défauts de l'érythropoïèse et prédisposition aux lymphomes. Ces souris présentent à la fois une accumulation d'ARNr non matures 32S et 12S, et une augmentation de l'expression de *c-Myc*, de *Cdkn1a* et du facteur pro-apoptotique *Bax* (Morgado-Palacin *et al.*, 2015). De même, la mutation d'*uL5/RPL11* chez le poisson zèbre induit des défauts de développement comme des microcéphalies, des microphthalmies ainsi qu'une réduction du nombre de cellules érythroïdes circulantes, rappelant les phénotypes de la DBA. Ces mutants présentent une diminution globale des monosomes et des polysomes, une augmentation de l'expression de *c-Myc* et de ses cibles (Chakraborty *et al.*, 2017). De plus, l'extinction d'*uL5* chez le poisson zèbre induit également une augmentation de l'ARNm *p53* et une augmentation du nombre de cellules en apoptose (Chakraborty *et al.*, 2009).

Ces études suggèrent que les ribosomopathies pourraient avoir plusieurs causes : défauts de biogenèse des ribosomes (accumulation d'ARNr non matures et diminution du nombre de ribosomes) et perturbation des activités extra-ribosomiques des protéines ribosomiques notamment de la régulation de *p53* ou de *c-myc*.

Chapitre 3-La protéine ribosomique uL11

La protéine ribosomique uL11/RPL12, qui a fait l'objet de mes travaux, est impliquée dans la biogenèse des ribosomes. En effet, elle participe à la maturation de la sous-unité 60S du ribosome. Elle participe également au contrôle de l'élongation de la traduction (Wawiórka *et al.*, 2016). Enfin, uL11 possède des activités extra-ribosomiques.

I- La protéine ribosomique uL11 au sein du ribosome

I.1- Caractéristiques générales

Chez la drosophile, uL11 est codée par un gène unique (*CG3195*) localisé en position 60B7 sur le bras droit du chromosome II. Ce gène produit 3 transcrits qui codent une même protéine. L'expression d'*uL11* est ubiquitaire, elle a lieu dans tous les tissus et à toutes les étapes du développement (**Figure 17**). Une délétion d'*uL11*, *Df(2R)Exel6081*, qui couvre la région 60B4 à 60C6 a été décrite (<http://flybase.org/reports/FBab0038019.html>) mais la lignée a été perdue et aucun autre mutant n'a été décrit à ce jour.



Figure 17 L'expression du gène uL11/RPL12 est ubiquitaire dans tous les tissus et à toutes les étapes du développement.

Chez la drosophile, uL11 est codée par un gène unique (CG3195) localisé sur le bras droit du chromosome II. Ce gène produit 3 transcrits qui codent une même protéine. L'expression d'uL11 est ubiquitaire, elle a lieu dans tous les tissus et à toutes les étapes du développement. (JBrowse

<http://flybase.org/jbrowse/?data=data%2Fjson%2Fdmel&loc=2R%3A24060044..24062102>)

La protéine uL11 est formée de 165 acides aminés et a une masse moléculaire de 17,7 kDa. Elle est localisée dans la grande sous-unité du ribosome à la base de la tige P. La structure d'uL11 n'a été résolue que chez les bactéries où la protéine est formée de deux domaines globulaires reliés par une charnière flexible (**Figure 18**). Le domaine globulaire C-terminal d'uL11 interagit avec l'ARN 23S bactérien alors que le domaine globulaire N-terminal n'est que faiblement lié à cet ARNr (Agrawal *et al.*, 2001). De plus, uL11 interagit avec plusieurs protéines ribosomiques de la grande et de la petite sous-unité du ribosome, notamment avec les protéines de la tige : uL10/P0, P1 et P2 (Gonzalo et Reboud, 2003).

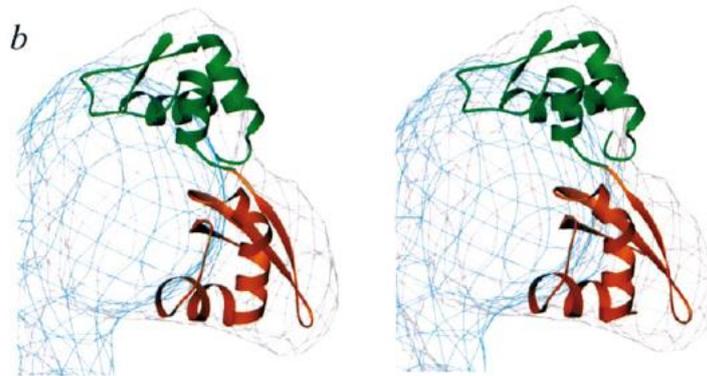


Figure 18 Représentation de la structure d'uL11/RPL12.

Le domaine C-terminal d'uL11 est représenté en vert et le domaine N-terminal d'uL11 est représenté en orange. La structure d'uL11 est intégrée à la structure de la base de la tige du ribosome 70S (représenté en gris). (Agrawal *et al.*, 2001)

uL11 peut porter des modifications post-traductionnelles. Par exemple, elle peut être phosphorylée sur la sérine 38, la lysine 3, les lysines 39 ou 40, et l'arginine 66. L'alignement d'uL11 de drosophile avec son homologue chez d'autres espèces montre que plusieurs de ces résidus et leurs modifications sont conservés (**Figure 19**) (Coléno-costes *et al.*, 2012). Sadaie *et al.* ont montré que la tri-méthylation d'uL11 sur la lysine 3 est réalisée par Set11 chez *S.pombe* (Rkm2 chez *S.cerevisiae*). Cette méthylation d'uL11 semble être ubiquitaire. Set11 étant localisée dans le nucléole, la méthylation serait réalisée lors de l'assemblage du ribosome. Enfin, les mutants d'*uL11* présentent une sensibilité accrue à la cycloheximide ce qui suggère qu'uL11 est nécessaire pour l'élongation de la traduction. En revanche, les levures mutantes Δ *Set11* ne présentant pas de défauts de la traduction, il semble que la tri-méthylation d'uL11 n'est pas essentielle pour l'activité des ribosomes. (Sadaie *et al.*, 2008).

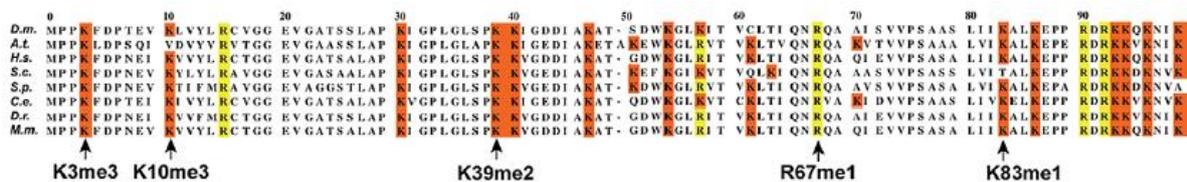


Figure 19 uL11/RPL12 et ses méthylations sont conservées chez différents eucaryotes
Alignement des 100 premiers résidus d'uL11 de différents eucaryotes montrant les lysines conservées (surlignées en orange) ou les arginines (surlignées en jaune) connues pour être méthylées dans plusieurs espèces. *Drosophila melanogaster* (*D.m.* ; AE013599), *Arabidopsis thaliana* (*A.t.* ; AAD18140), *Homo sapiens* (*H.s.* ; NM_000976), *Saccharomyces cerevisiae* (*S.c.* ; NP_010860), *Schizosaccharomyces pombe* (*S.p.* ; NP_587897), *Cænorhabditis elegans* (*C.e.* ; NP_502542), *Danio rerio* (*D.r.* ; AAI65413) et *Mus musculus* (*M.m.* ; CAM22324). La lysine 3 peut être triméthylée dans *H.s.*, *S.c.*, *S.p.* et *A.t.* (Coléno-Costes *et al.*, 2012)

I.2- Activité d'uL11 lors de l'assemblage du ribosome et de la traduction

I.2.a- Lors de l'assemblage du ribosome

uL11 est importée dans le noyau par l'importine 11 (Plakfer *et al.*, 2001). Elle s'associe à la sous-unité 60S à la base de la tige P à la fin de la phase de maturation nucléolaire (de la Cruz *et al.*, 2015). uL11 et Mrt4 (un facteur d'assemblage du ribosome, paralogue d'uL10/P0) facilitent le repliement correct de l'ARNr 25S à la base de la tige. Puis, Yvh1 se lie à uL11 et induit la libération de Mrt4. Enfin, Yvh1 est à son tour libérée et les protéines de la tige s'assemblent sur le ribosome. La tige P est formée d'uL10/P0 et de deux hétérodimères P1/P2 (**Figure 20**). Cette structure est stabilisée grâce à l'interaction d'uL10 et d'uL11 avec les hélices H43 et H44 du domaine II de l'ARNr 25S (Lo *et al.*, 2009, Nerurkar *et al.*, 2015). uL11 participe également à la dernière étape de maturation de la sous-unité 60S : la libération de Tif6. En effet, les souches de levure délétées pour *uL11* présentent une accumulation de Tif6 dans la grande sous-unité du ribosome, ce qui empêche la liaison des deux sous-unités du ribosome (Wawiórka *et al.*, 2016).

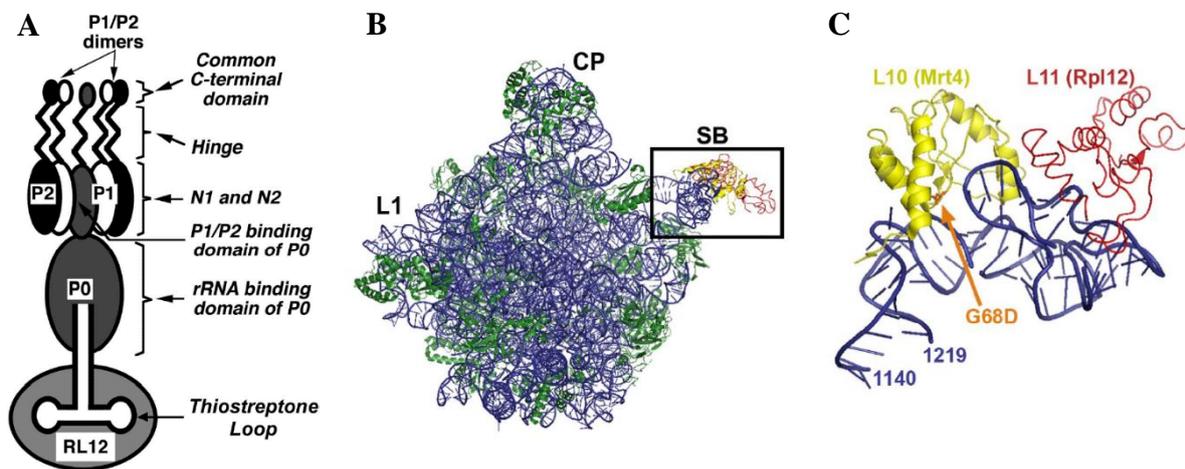


Figure 20 Représentation classique des composants de la tige P du ribosome eucaryote.

A-uL11/RPL12 est localisée à la base de la tige et interagit avec la boucle thiostreptone de l'ARNr 28S. uL10/P0 interagit avec l'ARNr 28S. Cette protéine permet d'ancrer les dimères P1/P2 sur le ribosome.

B-Structure de la sous-unité 50S du ribosome (*H. marismortui*). Le rectangle indique la région agrandie présentée en C.

C-Vue de la base de la tige, en regardant vers le bas à partir de la protubérance centrale. L1, tige L1 ; SB, tige P, CP, protubérance centrale, bleu, ARNr 23S (correspondant à 25S) ; jaune,

uL10 (correspondant à *P0*) ; rouge, *uL11* (correspondant à *Rpl12*) ; orange, position attendue de la mutation *G68D* dans *Mrt4* (un paralogue d'*uL10*). (Gonzalo *et al.*, 2003, Lo *et al.*, 2009)

1.2.b- Lors des différentes étapes de la traduction

Chez *E.coli*, le domaine N-terminal d'*uL11* interagit avec le facteur d'élongation EF-G (l'homologue d'eEF2) suggérant qu'*uL11* impacterait l'élongation de la traduction (Agrawal *et al.*, 2001, Datta *et al.*, 2005, Uchiumi *et al.*, 2002). Chez les levures, l'absence d'*uL11* induit un retard de croissance qui pourrait être imputable à un défaut de traduction. Pour tester cette hypothèse, Wawiórka *et al.*, ont délété *uL11a* et *uL11b* et ont observé une diminution du nombre de polysomes et du taux global de traduction ainsi qu'une diminution de 25% de la vitesse d'élongation. De plus, ils ont observé une augmentation du taux d'erreurs d'incorporation d'acides aminés, ce qui suggère qu'*uL11* est également impliquée dans la fidélité de la traduction (**Figure 21**) (Wawiórka *et al.*, 2016).

uL11 interagit également avec des facteurs de terminaison de la traduction. Chez les bactéries, le domaine N-terminal d'*uL11* interagit avec le facteur de terminaison RF1 (Sato *et al.*, 2006). RF1 reconnaît les codons UAA et UAG. Van Dyke *et al.*, ont montré que l'expression d'un fragment d'ARNr 23S contenant le site de liaison d'*uL11* affecte la terminaison par les codons UAG. De même, l'inactivation d'*uL11* supprime spécifiquement la terminaison par le codon UAG, suggérant qu'*uL11* est essentielle pour la fonction de RF1 (Van Dyke *et al.*, 2002). Chez les eucaryotes, le complexe RF1-RF3 se lie à la base de la tige P par l'intermédiaire du domaine C-terminal d'eRF1. Cette interaction est coordonnée, entre autres, par *uL11* (Taylor *et al.*, 2012).

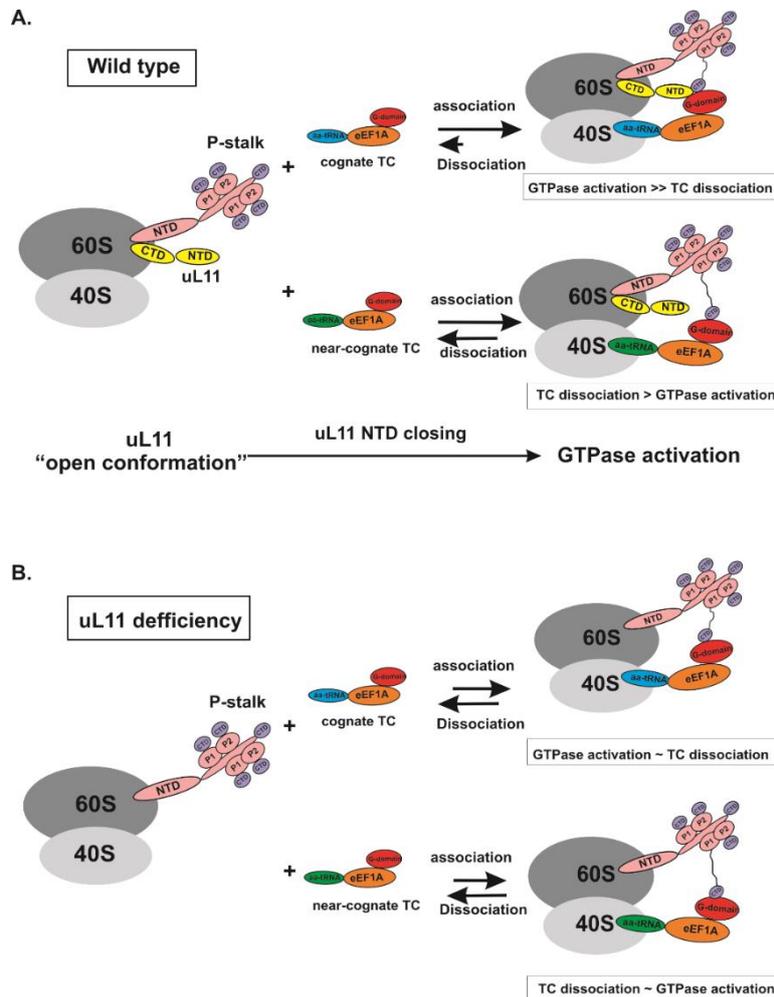


Figure 21 Modèle du rôle d'uL11/RPL12 dans la fidélité de la traduction.

A – Au sein des cellules sauvages : uL11 (en jaune) est localisée à la base de la tige du ribosome. Sur cette représentation schématique la tige P du ribosome, contenant P1, P2 et uL10/P0, est représentée comme une structure séparée. uL11 est dans une conformation « ouverte ». L'appariement entre le complexe tertiaire cognat (eEF1A-GTP-aminoacyl-tRNA) et l'anticodon est stabilisé par la tige P et le domaine N-terminal d'uL11 qui est dans une conformation « fermée ». Cette conformation « fermée » d'uL11 empêche la dissociation du complexe. En revanche, l'appariement d'un complexe proche-cognat n'induit pas le changement de conformation d'uL11 ce qui induit la dissociation du complexe proche-cognat.

B – Au sein des cellules déficientes pour uL11 : en absence d'uL11 l'appariement du complexe cognat avec le ribosome n'est pas stabilisé par uL11. Ainsi, il y a la même probabilité de dissociation entre un complexe cognat et un complexe proche-cognat. Par conséquent, cela induit une diminution de la fidélité de la traduction. CTD : domaine C-terminal d'uL11, NTD : domaine N-terminal d'uL11, cognate-TC : complexe tertiaire cognat, near-cognate TC : complexe tertiaire proche-cognat (Wawiorka 2016)

1.2.c- Ribosomes spécialisés liés à la phosphorylation d'uL11

Une étude récente dans trois types cellulaires de mammifères a montré qu'uL11 peut être phosphorylée sur la sérine 38 (uL11S38p). Le taux d'uL11S38p est élevé dans la sous-unité 60S et dans les monosomes, mais faible dans les polysomes. Afin de tester le rôle de cette phosphorylation d'uL11 dans la traduction, les auteurs ont généré des lignées exprimant uL11S38A, un mutant non phosphorylable d'uL11, ou uL11S38D, un mutant mimant une phosphorylation constitutive. Cette étude révèle que la phosphorylation d'uL11 n'a pas d'effet sur le taux global de traduction, mais régule la traduction de certains ARNm. En effet, les ARNm traduits par les ribosomes uL11S38D correspondent aux gènes du « processing » des ARN, de la traduction et du cycle cellulaire (Imami *et al.*, 2018). (**Figure 22**)

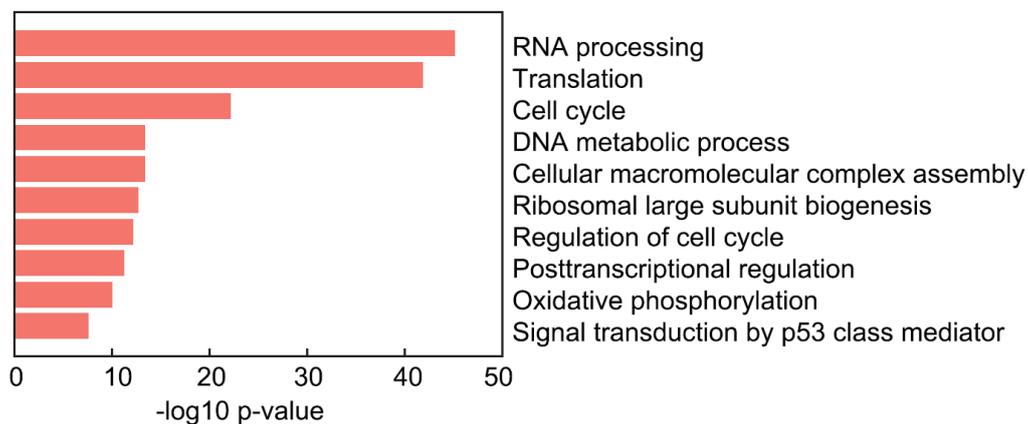


Figure 22 Analyse par Gene Ontology des ARN associés au mutant phosphomimétique d'uL11/RPL12.

L'analyse des ARNm en cours de traduction par les ribosomes uL11S38D (mimant la phosphorylation d'uL11). Ces ARNm correspondent aux gènes du « processing » des ARN, de la traduction et du cycle cellulaire (Imami *et al.*, 2018)

II- Les activités extra-ribosomiques d'uL11

Chez la drosophile, plusieurs protéines ribosomiques, dont uL11, se fixent sur la chromatine suggérant qu'elles ont une activité extra-chromosomique (Brojna *et al.*, 2002). Plus récemment, des travaux ont montré qu'uL11 joue un rôle dans la transcription (Tu *et al.*, 2011, Coléno-Costes *et al.*, 2012). Enfin, uL11 joue un rôle dans l'épissage de son propre ARNm (Cuccurese *et al.*, 2005, Mitrovich *et al.*, 2000).

II.1- uL11 et l'épissage de son propre ARNm

Chez les nématodes mutants pour la voie du « Nonsense-Mediated Decay » (NMD), les transcrits d'*uL11/RPL12* présentent une rétention d'intron ce qui suggère que ces protéines ribosomiques ont un impact sur l'épissage de leur propre ARNm (Mitrovich *et al.*, 2000, Takei *et al.*, 2016). Ces transcrits mal épissés ont également été détectés dans des cellules humaines dans lesquelles la voie du NMD a été inhibée (Cuccurese *et al.*, 2005).

En se fixant sur cet intron ou à proximité, uL11 inhiberait la production du transcrit canonique et favoriserait la production du transcrit mal épissé, qui serait ensuite éliminé par la voie du NMD (Mitrovich *et al.*, 2000). Ce processus régulerait la quantité de protéine uL11 (**Figure 23**). Ce processus concerne plusieurs *RPG* et est conservé chez différentes espèces - nématodes, oiseaux, mammifères - suggérant qu'il pourrait s'agir d'un mécanisme général de régulation de l'expression des protéines ribosomiques.

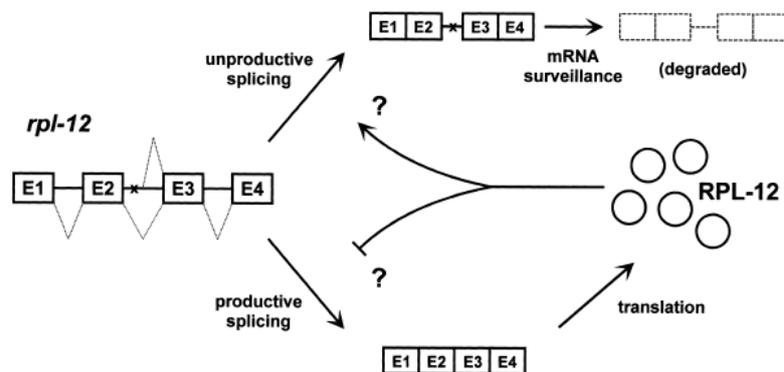


Figure 23 Modèle du rétrocontrôle d'uL11/RPL12 sur l'épissage de son propre ARNm
L'ARNm correctement épissé code uL11. Quand uL11 est présente en excès, elle se fixe sur l'intron 2 ou à proximité (symbolisé par une croix), ainsi elle inhibe la production du transcrit canonique et favorise la production du transcrit non épissé, qui est ensuite éliminé par la voie du « Nonsense Mediated-Decay » (Mitrovich *et al.*, 2000)

II.2- Régulation de la transcription

Par ailleurs, plusieurs travaux suggèrent qu'*uL11* contrôle la transcription. Chez la levure *S.cerevisiae*, la voie PHO contrôle l'utilisation des phosphates. En conditions limitantes en phosphates, plusieurs gènes de la voie sont fortement exprimés (*PHO84*, *SPL2* et *SUL1*). *PHO84* code un transporteur de haute affinité pour les phosphates et *SPL2*, un régulateur négatif des transporteurs de basse affinité pour les phosphates. Ces transporteurs sont exprimés selon la concentration de phosphate disponible dans le milieu : les transporteurs de haute affinité sont exprimés lorsque la concentration en phosphates est faible tandis que les transporteurs de faible affinité sont exprimés lorsqu'elle est élevée. *uL11* présente deux paralogues, *uL11a* et *uL11b*. Tu *et al.* ont montré que dans les mutants présentant une délétion des deux gènes, qui sont viables, la voie PHO n'est pas activée dans des conditions limitantes en phosphate, il en résulte un import en phosphate réduit. Ainsi, *uL11* participerait à l'activation de la transcription des gènes de la voie PHO (**Figure 24**) (Tu et al., 2011).

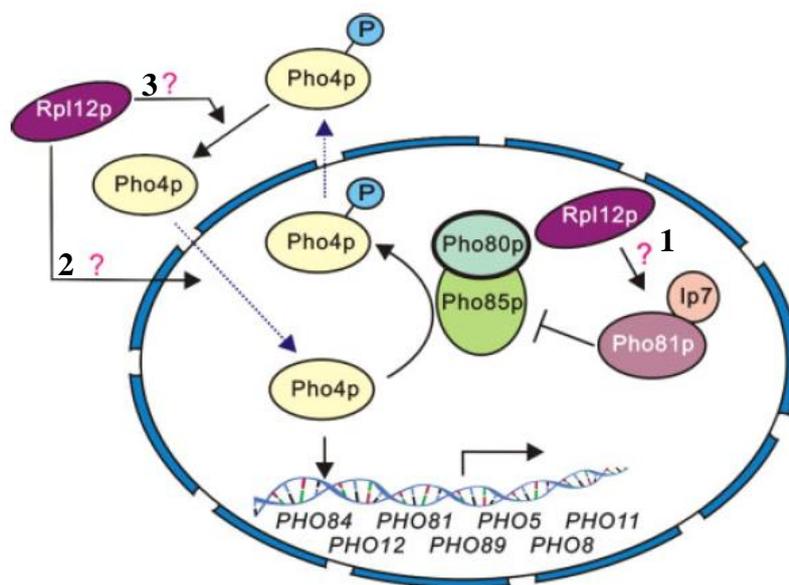


Figure 24 Modèle du rôle d'*uL11* dans la régulation de la voie PHO chez *S.cerevisiae*.

Trois hypothèses ont été proposées quant au rôle d'*uL11* dans la régulation de la voie du phosphate :

1. *uL11* agirait sur la voie Ip7 (myo-D-inositol heptakisphosphate). Ip7 en se liant avec Pho81p inhibe le complexe Pho80p/Pho85p. Par conséquent, la protéine Pho4p phosphorylée s'accumule dans le cytosol, empêchant l'activation transcriptionnelle de ses gènes cibles : les gènes de la voie du phosphate (*PHO84*, *PHO81*, *PHO5*, *PHO11*, *PHO12*, *PHO89* et *PHO8*).

2. *uL11* participerait au transport de *Pho4p* vers le noyau permettant l'activation des gènes de la voie *PHO*.

3. *uL11* activerait une phosphatase de *Pho4p*. Puis, *Pho4p* déphosphorylée est alors transportée dans le noyau et active la transcription des gènes de la voie *PHO*.

La lettre « p » indique qu'il s'agit de protéines (Tu et al., 2011)

Chez *Drosophila melanogaster*, *uL11* se fixe sur la chromatine (Broгна et al., 2002, Coléno-Costes et al., 2012). L'analyse par RNA-seq de tissus en cours de prolifération, les disques imaginaux d'aile, a montré qu'*uL11* est impliquée dans la régulation transcriptionnelle de gènes importants pour la biogenèse des ribosomes (gènes collectivement appelés *RiBi* pour *Ribosome biogenesis*), et de gènes codant des protéines ribosomiques (*RPG*) (**Figure 25**) (Coléno-Costes et al., 2012).

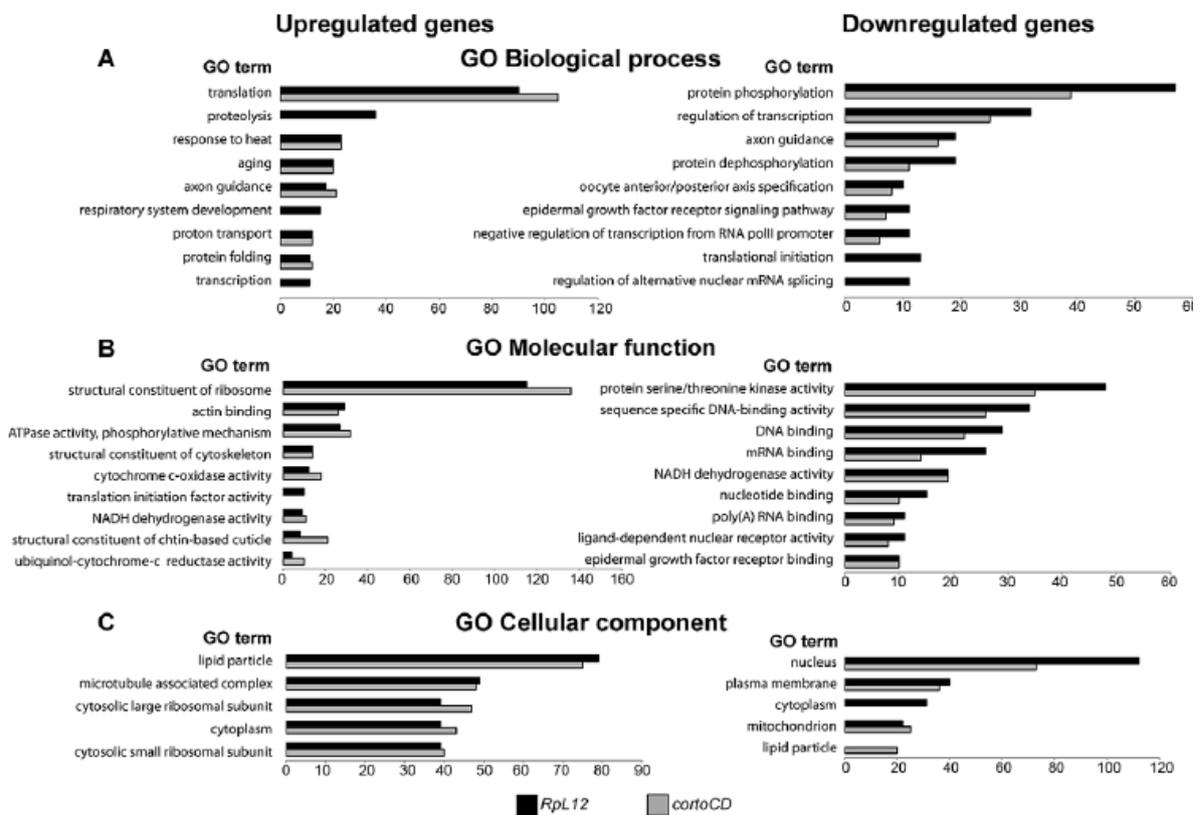
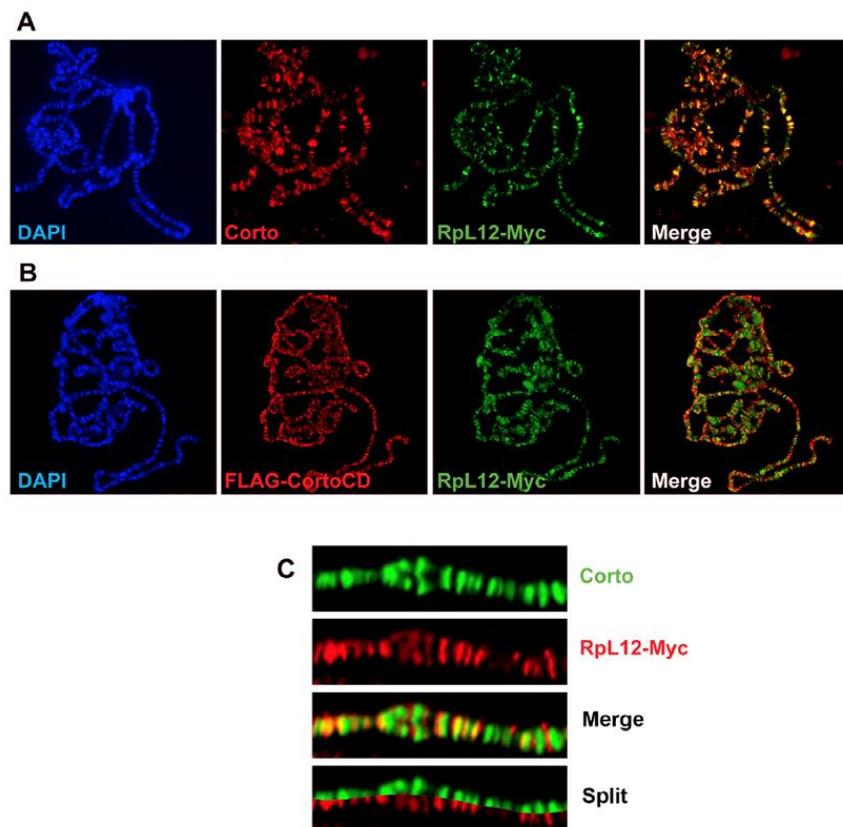


Figure 25 Ontologie des gènes dérégulés dans les disques imaginaux d'ailes surexprimant le chromodomaine de *corto* (*cortoCD*) ou *uL11/RPL12*.

(Coléno-Costes et al., 2012)

De plus, uL11 triméthylée sur la lysine 3 (uL11K3me3) se lie au domaine d'adressage à la chromatine, ou chromodomaine, de Corto, un co-facteur épigénétique des complexes Polycomb qui possède de nombreuses cibles transcriptionnelles (Salvaing *et al.*, 2003, Coléno-Costes *et al.*, 2012, Smulders-Srinivasan *et al.*, 2010). uL11 et Corto co-localisent sur les chromosomes polytènes dans des régions peu compactées de la chromatine et donc permissives pour la transcription (**Figure 26**). Elles co-localisent également avec l'ARN polymérase II phosphorylée sur la sérine 2, la forme de l'ARN polymérase II active dans l'élongation de la transcription (**Figure 27**). L'ensemble des données obtenues suggère que la triméthylation de la lysine 3 d'uL11 serait nécessaire pour la régulation transcriptionnelle de ces gènes par uL11 et Corto.



*Figure 26 Corto et uL11/RPL12 partagent de nombreux sites sur les chromosomes polytènes (A) Chromosomes polytènes d'une larve $esg::Gal4>UAS::uL11-Myc$ immunomarqués avec des anticorps anti-Corto (rouge) et anti-Myc (vert). De nombreux sites sont communs à Corto et à uL11-Myc. (B) Chromosomes polytènes d'une larve $esg::Gal4>UAS::FLAG-cortoCD,UAS::uL11-Myc$ immunomarqués avec des anticorps anti-FLAG (rouge) et anti-Myc (vert). De nombreux sites sont communs à CortoCD et uL11-Myc. (C) Grossissement montrant de nombreuses co-localisations d'uL11 et de Corto (protéine endogène). (Coléno-Costes *et al.*, 2012)*

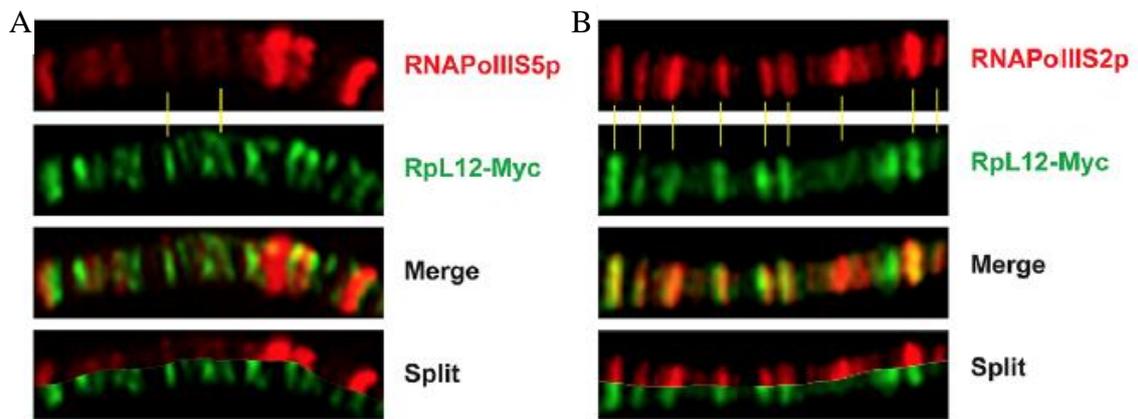


Figure 27 uL11/RPL12 et Corto co-localisent avec l'ARN polymérase II phosphorylée sur la sérine 2, la forme de l'ARN polymérase II active dans l'élongation de la transcription
 (A) Grossissement montrant de rares co-localisations entre uL11/RPL12 et l'ARN polII S5p.
 (B) Grossissement montrant de nombreuses co-localisations entre uL11/RPL12 et l'ARN polII S2p (Coléno-Costes et al., 2012)

Chapitre 4-Objectifs de ma thèse

Les données obtenues au sein de l'équipe nous ont permis d'émettre l'hypothèse que l'interaction entre Corto et uL11K3me3 joue un rôle dans la transcription des gènes codant les protéines ribosomiques (*RPG*) et les protéines importantes pour la biogenèse des ribosomes (*RiBi*) (Coléno-Costes *et al.*, 2012). Par ailleurs, ainsi que cela a été montré chez *S.cerevisiae*, l'activité transcriptionnelle d'uL11 pourrait être nécessaire dans des conditions environnementales particulières. Le but de ma thèse a été de caractériser les mutants d'uL11 obtenus au laboratoire ainsi que leur activité transcriptionnelle.

I- Analyse phénotypique des mutants d'*uL11*

uL11K3me3 interagissant avec le chromodomaine de Corto et co-localisant avec Corto en de nombreux sites sur les chromosomes, nous avons proposé l'hypothèse selon laquelle un mutant de la lysine 3 d'uL11 affecterait plus spécifiquement son activité transcriptionnelle. Des mutants non méthylables d'*uL11* ont été générés par la technologie CRISPR/Cas9 (Thèse J. Deraze, 2017). Pour cela, un ARN guide et un ADN matrice simple brin correspondant à la forme mutée K3A d'uL11 ont été injectés dans des embryons exprimant Cas9 dans la lignée germinale. A l'issue de deux cribles moléculaires, plusieurs mutants d'*uL11* ont été détectés. Une série d'allèles mutants a été obtenue et trois d'entre eux ont été retenus pour poursuivre l'étude : un mutant dans lequel la lysine 3 est substituée par une alanine (K3A) probablement obtenu par recombinaison homologue, un mutant dans lequel la lysine 3 est substituée par une tyrosine (K3Y), et un mutant dans lequel la lysine 3 est déléetée (Δ K3), probablement obtenus par « Non-Homologous End Joining ».

La première partie de mon projet a eu pour objectif de caractériser ces mutants. Les mutants des gènes *RPG* présentent généralement des phénotypes *Minute* classiquement associés à des défauts de traduction, ce qui n'a jamais été formellement démontré. Ces phénotypes incluent notamment une forte létalité, un retard de développement et des soies courtes et fines (Marygold *et al.*, 2005). J'ai réalisé une analyse phénotypique détaillée de ces mutants : taux de survie des individus, temps de développement, longueur des soies scutellaires, taille des ailes. J'ai également mesuré le taux global de traduction dans deux de ces mutants.

II- Etude de l'activité transcriptionnelle d'uL11

Dans la seconde partie de ma thèse, je me suis concentrée sur l'étude de l'activité transcriptionnelle d'uL11. J'ai analysé les interactions génétiques entre *uL11* et *Corto*. L'activité transcriptionnelle d'uL11 étant liée à celle de *Corto*, j'ai testé par co-immunoprécipitation les interactions physiques entre uL11 et *Corto* produites en cellules S2 de drosophile. J'ai ensuite réalisé une analyse du transcriptome de disques imaginaux de larves de stade 3 mutantes par RNA-seq.

III- Etude de l'activité transcriptionnelle d'uL11 dans un milieu pauvre

Comme chez *S. cerevisiae*, chez la drosophile, l'activité transcriptionnelle d'uL11 pourrait être nécessaire dans des conditions environnementales particulières. Comme les cibles transcriptionnelles d'uL11 sont les gènes des protéines ribosomiques et de la biogenèse des ribosomes, c'est-à-dire des gènes impliqués dans la croissance, l'activité transcriptionnelle d'uL11 pourrait être essentielle dans des conditions pauvres en nutriments. Ainsi, j'ai testé l'impact de cette mutation de la lysine 3 sur des mouches mutantes élevées dans un milieu pauvre.

RESULTATS

Résultats

Afin d'étudier l'activité transcriptionnelle d'uL11 nous avons réalisé une mutagenèse CRISPR/Cas9. Nous avons obtenu plusieurs mutants de la lysine 3 d'uL11. Durant ma thèse, j'ai analysé trois d'entre eux : deux substitutions de la lysine 3, ainsi que la délétion de la lysine 3. L'analyse des mutants porteurs de la substitution de la lysine 3, *uL11^{K3A}* et *uL11^{K3Y}*, font l'objet d'un manuscrit qui sera prochainement soumis pour publication. Les résultats complémentaires concernent l'étude du mutant de la délétion de la lysine 3 et l'impact d'une restriction nutritive sur l'activité transcriptionnelle d'uL11.

Partie 1 - Impact de la substitution d'un acide aminé de la protéine ribosomique uL11 sur son activité transcriptionnelle

I- Présentation de l'article

Les protéines ribosomiques sont particulièrement étudiées pour leur implication dans la traduction. Cependant, il a également été montré que ces protéines peuvent avoir des activités en dehors du ribosome appelées activités extra-ribosomiques. Dans ce contexte, nous avons étudié l'activité transcriptionnelle de la protéine uL11. Chez la drosophile, uL11 triméthylée sur sa lysine 3 (uL11K3me3) interagit avec le chromodomaine de Corto, un co-facteur des complexes Polycomb et Trithorax qui contrôlent la transcription en maintenant la structure de la chromatine. De plus, uL11 et Corto colocalisent en de nombreux sites sur les chromosomes polytènes et la surexpression d'uL11, comme celle du chromodomaine de Corto, induit l'expression de gènes codant des protéines ribosomiques et des protéines impliquées dans la biogenèse des ribosomes (Coléno-Costes *et al.*, 2012). L'ensemble de ces données suggère qu'uL11K3me3, en interagissant avec Corto, régule la transcription de ces gènes.

Afin d'élucider le rôle d'uL11K3me3, nous avons généré des mutants de la lysine 3 en utilisant la technologie CRISPR/Cas9. Dans ce projet, initié avant mon arrivée au laboratoire et pour lequel j'ai réalisé les expériences correspondant aux figures 2 à 7, nous avons étudié deux mutants : le remplacement du codon de la lysine 3 par une alanine (mutation K3A) ou par une tyrosine (mutation K3Y). Nous avons analysé les phénotypes de ces mutants et montré qu'*uL11^{K3A}* a toutes les caractéristiques d'un mutant *Minute* (léthalité élevée, retard de développement, soies plus courtes), contrairement à *uL11^{K3Y}* qui ne présente aucun phénotype de ce type. La protéine uL11 interagit avec les facteurs de traduction EF-G et RF1 (Agrawal *et al.*, 2001, Sato *et al.*, 2006) suggérant qu'elle participe au contrôle de l'élongation et de la terminaison de la traduction. Ainsi, nous avons mesuré la synthèse protéique globale dans les mutants. Nous avons observé qu'elle diminuait chez le mutant *uL11^{K3A}* mais pas chez le mutant *uL11^{K3Y}*, ce qui corrobore l'analyse des phénotypes macroscopiques. Afin d'étudier plus en détail l'activité transcriptionnelle d'uL11, nous avons testé l'interaction entre les protéines uL11 mutantes et Corto. Nous avons observé qu'uL11K3A et uL11K3Y n'interagissent pas avec le chromodomaine de Corto, suggérant que la régulation de leurs cibles transcriptionnelles pourrait être altérée. L'analyse du transcriptome de ces mutants par RNA-seq a montré qu'environ 400 gènes sont dérégulés dans les mutants *K3A*, en revanche seulement 84 gènes sont dérégulés dans les mutants *K3Y*. L'analyse des séquences *cis*-régulatrices des 84 gènes dérégulés dans les mutants *K3Y* suggère qu'uL11 pourrait agir avec le couple de facteurs de

transcription Mad/Med Mad (*Mothers against dpp/Medea*), des effecteurs de la voie Bone Morphogenetic protein (BMP).

II- Article

Single amino-acid mutation in the *Drosophila melanogaster* ribosomal protein uL11: an insight in its transcriptional activity

Héloïse Grunchech¹, Jérôme Deraze¹, Delphine Dardalhon-Cuménal¹, Valérie Ribeiro¹, Anne Coléno-Costes¹, Karine Dias², Sébastien Bloyer³, Emmanuèle Mouchel-Vielh¹, Frédérique Peronnet^{1*} and Hélène Thomassin^{1*}

* Co-last and co-corresponding authors

¹ Sorbonne Université, Centre National de la Recherche Scientifique (CNRS), Institut de Biologie Paris Seine (IBPS), Laboratoire de Biologie du développement (LBD), F75005 Paris, France

² Genomic Paris Centre – Institut de Biologie de l'École normale supérieure, 46, rue d'Ulm – F75005 Paris, France

³ Université Paris-Saclay, CEA, CNRS, Institute for Integrative Biology of the Cell (I2BC), F91190 Gif-sur-Yvette, France

ABSTRACT

The ribosomal protein uL11 is located at the basis of the ribosome P-stalk and plays a paramount role in translation efficiency. In addition, no mutant for *uL11* is available indicating that this gene is haplo-insufficient as many other *Ribosomal Protein Genes (RPGs)*. We have previously shown that overexpression of *Drosophila melanogaster uL11* induces the transcription of many *RPGs* and *Ribosomal Biogenesis genes (Ribis)* suggesting that uL11 might globally regulate the level of translation through its transcriptional activity. Moreover, uL11 trimethylated on lysine 3 (uL11K3me3) interacts with the chromodomain of the Enhancer of Polycomb and Trithorax Corto. uL11, Corto and RNA Polymerase II co-localize at many sites on polytene chromosomes. These data have led to the hypothesis that the N-terminal end of uL11, and more particularly the trimethylation of lysine 3, supports the extra-ribosomal activity of uL11 in transcription. To address this question, we mutated the lysine 3 codon using a CRISPR/Cas9 strategy and obtained several lysine 3 mutants. We describe here the first mutants of *D. melanogaster uL11*. Unexpectedly, the *uL11^{K3A}* allele, in which the lysine 3 codon is replaced by an alanine, displays a genuine *Minute* phenotype known to be characteristic of *RPG* deletions (longer development, low fertility, high lethality, thin and short bristles) whereas the *uL11^{K3Y}* allele, in which the lysine 3 codon is replaced by a tyrosine, is unaffected. In agreement, the translation rate slightly decreases in *uL11^{K3A}* but not in *uL11^{K3Y}*. Deep-sequencing of RNA from wing imaginal discs shows enrichment in the GO categories “glutathione metabolism” and “regulation of transcription” for up- and down-regulated genes, respectively. Furthermore, analysis of deregulated genes' *cis*-regulatory sequences suggests

that uL11 might regulate transcription of target genes in concert with the couple of transcription factors Mad/Med that mediates response to the Bone Morphogenetic Protein (BMP) signaling pathway.

INTRODUCTION

Loss of function alleles of *Ribosomal Protein Genes (RPGs)* have been studied for almost a hundred years in *Drosophila*, where they are known as *Minute* mutations (1). *Minute* mutants were first described for displaying thin and short bristles, *i.e.* *Minute* bristles, together with prolonged development (2). All *Minute* mutations are dominant and lethal when homozygous. The vast majority of them strongly impact viability and fertility, to the point that some could only be identified through transient aneuploidy experiments. *Minute* loci have been characterized over time and the *Minute* genes have now been identified to encode ribosomal proteins with very few exceptions (3,4).

While a substantial part of ribosomal proteins' contribution to cell metabolism has been attributed to their ability to alter ribosome behaviour with consequences on protein synthesis, some free ribosomal proteins are also known for a long time to carry regulatory activities, consequently termed "extra-ribosomal functions" [for a review see (5)] This is notably the case for RPL12, aka uL11 following the new nomenclature recently proposed to avoid confusion between species (6). Indeed uL11 was shown in *C. elegans* and mammals to bind its own messenger RNA and inhibit its splicing (7,8). Furthermore, in *S. cerevisiae*, uL11 was shown to be required for the transcription of a subset of PHO pathway genes that are inducible under low phosphate conditions (9).

Drosophila melanogaster uL11 is encoded by a unique gene (*uL11/RPL12/CG3195/FBgn0034968*) located on the right arm of chromosome 2 at cytogenetic position 60B7. Three annotated transcripts encode the same 165 amino acid protein. *uL11* expression is ubiquitous and described as "very high" to "extremely high" in all tissues, developmental stages, and cell lines (10). Two deletions encompassing the whole *uL11/RpL12* area have been described [*i.e.* *Df(2R)bw^{VD_{e2}}LPx^{KR}* and *Df(2R)Exel6081*]. However, it was recently proposed that the cytological borders of the first one did not cover the *uL11/RpL12* region (FBrf0230794) and the second one was lost (FBrf0206661). Thus, no evidence remains that flies can accommodate aneuploidy at this locus, which is indeed described as haplolethal (4,11). Another *RPG* (*eL39/RpL39*), and several essential genes (*eIF5A*, *yki*) are found in the vicinity of *uL11/RpL12* (12,13). For this reason, the genes responsible for this haplolethality remain uncertain. However, it is likely that *uL11/RpL12* contributes to this phenotype as no classical allele of *uL11* has been described and we observed that ubiquitous RNAi mediated inactivation is lethal during the first larval instar.

The uL11 protein forms, together with the ribosomal protein uL10, the base of the P-stalk, a lateral protuberance of the 60S subunit which is a critical element of the ribosomal GTPase-associated center known to interact with translational elongation and termination factors (14). The uL11 protein consists of two globular domains connected with a hinge, a C-

terminal domain anchored to a conserved region of the 28S rRNA and a mobile N-terminal domain. The N-terminal domain interacts with several translation factors, notably eEF2 (14,15). As a consequence, uL11 has been shown to play an important role at many steps of the translation cycle. In yeast, deficiency of uL11 prevents the release of the ribosome associated protein Tif6, which is the last maturation step before the 60S subunit becomes functional (16). Yeast uL11 deficient ribosomes display a decrease in translational fidelity (16), and depletion of uL11 in cultured human Cystic Fibrosis bronchial epithelial cells reduces the rate of translation initiation and elongation (17).

We have recently established that *Drosophila melanogaster* uL11 is bound by a chromodomain-like structure of the epigenetic co-factor Corto. Chromodomains are known to specifically recognize trimethylated lysines on histones, and the interaction between uL11 and Corto was indeed shown to require uL11 lysine 3 to be trimethylated (uL11K3me3). Trimethylation of uL11 lysine 3 is very conserved and has been confirmed in *S. cerevisiae*, *S. pombe* and *A. thaliana* (18–20). In *D. melanogaster*, uL11 and Corto bind chromatin, colocalize on many sites on polytene chromosomes and are recruited on the *hsp70* gene upon transcriptional activation (21). Overexpression of the Corto chromodomain as well as uL11 induces the transcription of many *RPGs* and *Ribosomal Biogenesis* genes (*RiBis*) suggesting that uL11 might globally regulate the level of translation through its transcriptional activity. Thus, our previous study led us to hypothesize that uL11K3me3 is involved in transcriptional regulation.

To test this hypothesis, we designed a CRISPR/Cas9 strategy for mutating the uL11 lysine 3 codon. We describe here the *uL11^{K3A}* and *uL11^{K3Y}* mutants in which the lysine 3 codon of *uL11* is replaced by an alanine and a tyrosine codon, respectively. *uL11^{K3A}* displays *Minute* phenotypes *i.e.* longer development, low fertility, high lethality and thin bristles, but surprisingly *uL11^{K3Y}* looks wild-type. RNA-seq analysis of wing imaginal discs from both mutants show enrichment of up-regulated genes in the GO category “glutathione metabolism” and down-regulated genes in the GO category “regulation of transcription”. Analysis of deregulated genes’ *cis*-regulatory sequences suggests that uL11 might act in concert with the couple of transcription factors Mad/Med that are primary effectors in the Bone Morphogenetic Protein (BMP) signaling pathway.

MATERIALS AND METHODS

***Drosophila* genetics**

Drosophila melanogaster stocks and crosses were kept on standard yeast corn-meal medium (7.5 % yeast, 9 % cornmeal, 1 % agar, 0.27 % moldex) at 25 °C. For all experiments, crosses were set up with similar densities to prevent confounding effects of overcrowding. *w¹¹¹⁸*

was used as the control strain. The *corto*⁴²⁰ and *corto*^{L1} alleles were described in (21).

Strategy of CRISPR/Cas9 mutagenesis

The *pU6-chiRNA:sgRNA* plasmid was obtained by incorporating the *sgRNA* sequence (obtained by annealing *phos-gRNA-F* and *phos-gRNA-R*, Supplementary Table 1) into *pU6-BbsI-chiRNA* (Addgene plasmid # 45946) (22) following the protocol provided on <http://flycrispr.molbio.wisc.edu/protocols/gRNA>. Sequence was confirmed using the T3 universal primer.

A 123 nucleotides long single-stranded DNA (ssODN) carrying the lysine (AAA) to alanine (GCC) substitution flanked by two 60 nucleotide-long homology arms was used as a template for Homologous Directed Repair (HDR) (synthesized and purified by standard desalting by Integrated DNA Technologies, Inc) (Supplementary Table 1). The *uL11* region of the recipient line *vasa-Cas9* (BL-51324) was sequenced in order to respect possible polymorphisms. To prevent base pairing with the *sgRNA*, the ssODN was designed to be homologous to the PAM carrying strand.

Fly transgenesis

Two hundred *vasa-Cas9* embryos were injected with a mixture containing 100 ng/μL *pU6-chiRNA:sgRNA* and 100 ng/μL ssODN (BestGene Inc.). Transformant G0 flies (48 females and 44 males) were individually crossed to *w¹¹¹⁸; In(2LR)Gla, wgGla1/SM5* flies (*Gla/SM5*). Among them, only 18 males and 11 females were fertile. Curly wing G1 siblings were individually crossed to *Gla/SM5* flies. Once the G2 progeny born, G1 founding flies were harvested, genomic DNA extracted, and genotyping performed as described below. 294 G1 individuals were genotyped to detect the presence of *uL11* mutant alleles. Curly wing G2 offspring of G1 flies carrying a mutant allele of *uL11* were crossed with each other to establish mutant balanced strains. In order to eliminate potential unspecific mutations, balanced mutant females were crossed with *w¹¹¹⁸* males. Ten heterozygous mutant females from the offspring were then individually backcrossed with *w¹¹¹⁸* males and genotyped by HRMA after laying eggs. *uL11* mutant females were kept and the whole procedure was repeated seven times.

Genomic DNA extraction

Genomic DNA was extracted by crushing single flies in 100 μL SB buffer (10 mM Tris pH 8.0, 1 mM EDTA, 25 mM NaCl, 200 μg/μL Proteinase K), followed by 30 min incubation at 37 °C. DNA was further purified by standard phenol-chloroform extraction followed by ethanol precipitation.

Locked Nucleic Acid allele-specific qPCR

Forward allele-specific primers with 3' end matching either wild-type (*LNAWT*) or mutated 3rd codon (*LNAK3A*) of *uL11* (AAA or GCC, respectively) and a Locked Nucleic Acid (LNA) nucleotide (23) at the second position of the mismatch codon were used in combination with a reverse primer (*CRISPR1_R*) to amplify a 219 nucleotide fragment (Supplementary Table 1). 25 µL reactions were set to contain 5 to 15 ng of genomic DNA, 0.5 µM forward and reverse primers, 0.4 nM dNTP, 0.75 µL SYBR green (Diagenode), and 2.5 units of DreamTaq polymerase (Thermo Fisher Scientific) in TMAC buffer (67 mM Tris pH 8.8, 6.7 mM MgCl₂, 16.6 mM ammonium sulfate, 0.5 mM tetramethylammonium chloride, 0.17 mg/mL BSA) (24). qPCR plates were prepared and kept at 4°C until starting PCR cycles. 0.5 ng of plasmid containing the *uL11* coding region in which the AAA lysine 3 codon was replaced by GCC was used as positive control. qPCRs were carried out in a CFX96 system (BioRad) [95°C 3 min; 40 cycles (95 °C 20 s, 64 °C 20 s, 72 °C 30 s)]. To confirm the presence of the mutated allele, a 1.5 kb region centred on the lysine 3 codon was amplified from positive genomic DNA and sequenced.

High Resolution Melting Analysis (HRMA)

Genomic DNA was analysed by High Resolution Melting Analysis (HRMA) as described by (25). Briefly, oligonucleotides *uL11-HRMA-F* and *uL11-HRMA-R* (Supplementary Table 1) were used to amplify a 173 bp region centred on the *uL11* lysine 3 codon. PCR were performed with Sso Fast Eva Green SupermixTM (BioRad) in 20 µL reactions containing 2 to 15 ng genomic DNA and 0.5 µM each oligonucleotide. Cycles were carried out in a CFX96 system (BioRad) [98 °C 3 min; 40 cycles (98 °C 2 s, 57.3 °C 15 s)]. Thermal melting profiles were obtained in the same device by increasing temperature from 75 to 95 °C using a temperature increment of 0.2 °C. They were normalized as described by (26).

uL11K3me3 antibodies

Proteins were extracted from third instar larvae in RIPA buffer (150 mM sodium chloride, 1 % NP40, 0.5 % sodium deoxycholate, 0.1 % SDS, 50 mM TrisHCl pH 8,0) supplemented with phosphatase and protease inhibitors (Roche). 30 µg of proteins were separated by SDS-PAGE electrophoresis on 15 % acrylamide gels. Polyclonal *uL11K3me3* antibodies were generated in rabbit using a peptide corresponding to the first 16 amino acids of *uL11* with methylated lysine 3 [PPK(me3)FDPTEVKLVYLRC] (Eurogentec). The serum was first loaded on a *uL11K3me3* peptide affinity column which allowed to retain *uL11K3me3* and *uL11* antibodies. After elution, unmethylated *uL11* and *uL11K3me3* antibodies were separated by passage through an unmethylated *uL11* peptide affinity column. Specificity of the antibodies was checked by dot blot (Supplementary Figure 1).

Western blots were performed according to standard protocols using either goat anti-uL11 (SantaCruz sc82359, 1/1000), rabbit anti-uL11K3me3 (1/6000), or mouse anti- α -tubulin (DSHB E7c, 1/2500) as primary antibodies. Anti-goat (Jackson ImmunoResearch; 705035147; 1/10000), anti-rabbit (1/20000) or anti-mouse (Sigma NA931; 1/20000) were used as secondary antibodies.

Analysis of mutant life history traits

uL11 wild-type or mutant chromosomes were balanced with *CyO,Dfd-EYFP* (from strain BL-8578) or *SM5*. About 100 females and 60 males were placed in laying cages on agarose plates (2 % agarose, 5 % vinegar, neutral red) supplemented with yeast. To measure embryonic lethality, 100 embryos were collected from each laying cage, transferred on new agarose plates and emerging first instar larvae were counted. To measure larval and pupal lethality, 100 embryos were collected and transferred into yeast cornmeal medium tubes at 25 °C. Pupae and adults were then counted. Three independent experiments were performed and results were pooled. To measure developmental time, first instar larvae were collected and transferred into yeast cornmeal medium tubes at 25 °C (50 to 100 larvae per tube). Vials were checked from 9 days after egg laying until no more adults emerged. Chi² tests were performed to compare genotypes.

Measure of bristle length

Adult bodies free of wings, legs and heads were aligned on agar cups. Images were captured using a Leica Model MZ FLIII microscope equipped with a Leica Model DC480 camera. Scutellar bristles were measured using the ImageJ segmented line tool. Normality was checked by Shapiro-Wilk tests and homogeneity of variances by F tests. Student's t-tests were then set taking into account homo- or heteroscedasticity of variances.

Measure of wings

Adult flies were kept in 70 % ethanol for 48 h and transferred into PBS glycerol (1:1 v/v). Wings were dissected and mounted on glass slides, dorsal side up, in Hoyer's medium. Slides were scanned with a Hamamatsu Nanozoomer Digital Slide scanner, running the Nanozoomer software with a 20 x objective and an 8 bit camera. Wing pictures were separately exported into tif format using NDP.view and the 5 x lens. Measurements of wing length were performed as described in (27).

Plasmids

uL11 was amplified from *w¹¹¹⁸* embryonic cDNAs and subcloned into *pENTR/D-TOPO* (Invitrogen) (21). *pENTR-uL11^{K3A}* and *pENTR-uL11^{K3Y}* were obtained by site-directed

mutagenesis using the oligonucleotides described in (21) and in Supplementary Table 1, respectively. The cDNAs were then transferred either into the *pAWM* or the *pAWH Gateway®* *Drosophila* vector allowing expression of fusion proteins with a C-terminal Myc or HA tag, respectively.

Cell transfection

S2 cells were cultured at 25 °C in Schneider's *Drosophila* medium supplemented with 10 % heat-inactivated foetal bovine serum and 100 units/mL of penicillin and streptomycin (Life technologies). To obtain cells permanently expressing *uL11^{K3A}*, a mix containing a 5:1 molar ratio of the *pA-uL11^{K3A}-HA* expression vector and the selection plasmid *pCoBlast* was prepared. 10⁶ cells were then transfected with 2 µg of DNA using Effecten® transfection reagent (Qiagen) according to the manufacturer's instructions at a 1:10 DNA/Effecten® ratio. Selection was performed by addition of 10 µg/mL of blasticidin after 48 h. After initial selection, stable cell lines were cultured in presence of 2 µg/mL of blasticidin. For transient expression, 10⁶ cells were transfected with 2 µg of either *pA-uL11^{K3A}-Myc* or *pA-uL11^{K3Y}-Myc* vector using Effecten® at a 1:10 DNA/Effecten® ratio.

Polysome fractionation

Cells were harvested at 50 % confluence and washed in Schneider medium at room temperature to remove the foetal bovine serum. They were then resuspended in ice-cold lysis buffer (20 mM Hepes pH 7.5, 250 mM KCl, 10 mM MgCl₂, 5 mM DTT, 1 mM EDTA, 0.5 % NP-40) supplemented with EDTA-free protease inhibitor cocktail (Roche Diagnostics) and 40 U/mL Ribolock RNase Inhibitor (ThermoFisher). For EDTA treatment, the lysis buffer was replaced with (20 mM Hepes pH 7.5, 250 mM KCl, 5 mM DTT, 25 mM EDTA, 0.5 % NP-40). After centrifugation at 500 g for 5 min to pellet nuclei, supernatants were layered onto 10 to 50 % sucrose gradients in polyribosome buffer (20 mM Hepes pH 7.5, 250 mM KCl, 20 mM MgCl₂, 2 mM DTT), supplemented with EDTA-free protease inhibitor cocktail (Roche Diagnostics) and 40 U/mL Ribolock RNase Inhibitor (ThermoFisher). Gradients were centrifugated at 39,000 rpm for 165 min at 4 °C in a Beckman SW41-Ti rotor. Optical density at 254 nm was monitored using a density gradient fractionator (Teledyne Isco, Lincoln, NE).

Puromycin assays

Puromycin assays were adapted from (28) with the following modifications: 20 larvae were turned upside down and incubated for 1 h at 25 °C under gentle rotation in Schneider's medium supplemented or not with 10 mg/mL cycloheximide (Sigma). Puromycin (antpr1, InvivoGen) was then added at a final concentration of 0.28 mg/mL and incubation was continued for 2 h.

Total proteins were extracted from third instar larvae in buffer containing [30 mM Hepes pH 7.4, 0.1 % NP40, 150 mM NaCl, 2 mM Mg(OAc)₂] supplemented with phosphatase and protease inhibitors (Roche) (adapted from (29)). 60 µg of protein extracts were deposited on a 12 % acrylamide gel.

Western blot analyses were performed according to standard protocols with mouse anti-puromycin (Kerafast, 3RH11; 1/500) or mouse anti-H3 (Diagenode; C15200011;1/1000) as primary antibodies and anti-mouse (Sigma; NA931; 1/20000) as secondary antibodies. Background, puromycin and H3 signals were measured using ImageJ. The puromycin signal was normalized towards the H3 signal. Results were submitted to Student's t-tests.

Co-Immunoprecipitation

Cells transiently transfected with either *pA-uL11^{K3A}-Myc* or *pA-uL11^{K3Y}-Myc* and *pA-FLAG-CortoCD* (21) were harvested after 48 h and washed in Schneider medium at room temperature. Co-immunoprecipitations were performed as described in (30) without fixation. 30 µl of Protein G coated Bio-Adembeads (Ademtech) were incubated with either 1 µg of mouse monoclonal anti-FLAG antibody (F3165, Sigma), or goat anti-HA antibody as mock (sc-805, Santa Cruz Biotechnology).

Western blot analyses were performed according to standard protocols with mouse anti-Myc (Abcam ab9132 1/10000) or anti-FLAG (Sigma F3165 1/5000) as primary antibodies and anti-mouse (Sigma NA931; 1/20000) as secondary antibodies.

RNA-seq and bioinformatic analyses

Wing imaginal discs of third instar female larvae (one disc per larva) were dissected by batches of 50 in ice-cold PBS and frozen in liquid nitrogen. 150 discs (three batches) were pooled and homogenized in lysis buffer by pipetting. Total RNAs were extracted using RNeasy kit (Qiagen).

Preparation of library and sequencing of cDNA from *corto⁴²⁰/corto^{L1}* wing imaginal discs were performed as described in (21). For *uL11* wing imaginal discs, library preparation was performed using the TruSeq® Stranded mRNA Library Prep kit (Illumina). Illumina sequencing was performed at the Genomic Paris Centre (IBENS, Paris). Three replicates were sequenced for each genotype. 75 bp single reads were trimmed using FastQC (Galaxy version 0.72). Reads were then aligned against the *D. melanogaster* genome (dm6 genome assembly, release 6.30) using STAR (Galaxy Version 2.6.0b-2). Reads were counted using featurecount (Galaxy Version 1.6.0.6). Differential analysis was performed using DeSeq2 version 1.32.0. Gene ontology was analysed with DAVID (<https://david.abcc.ncifcrf.gov/home.jsp>). Motif discovery was performed using MEME (31) and motif comparison using TomTom (32) [MEME Suite, version 5.3.3, (33)]. The RNA-Seq gene expression data and raw fastq files are available

at the GEO repository (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/info/seq.html>) under accession number GSE181926.

RT-qPCR were performed on wing imaginal disc cDNAs as described in (27). Expression levels were quantified with the Pfaffl method (34) and normalized to the geometric mean of two reference genes, *GAPDH* and *Spt6*, the expression of which did not vary in the mutants. Sequences of primer couples are listed in Supplementary Table 1.

RESULTS

CRISPR/Cas9 editing of the *uL11* lysine 3 codon

uL11 is located within a cluster of highly transcribed genes, many of which are also essential (*eIF5A*, *RpL39/eL39*, *yki...*) (12,13). Unsurprisingly, this cluster is part of the 1.6 % haplolethal regions of the euchromatic *Drosophila* genome (4). The immediate neighbourhood of *uL11* contains only two small intergenic sequences (465 and 620 bp, respectively) that might contain regulatory elements (Figure 1A). Thus, the insertion of a selection cassette at any position inside this locus would likely disturb gene expression and impede viability. We therefore opted to edit the *uL11* lysine 3 to alanine (K3A) by a single step CRISPR/Cas9 mediated HDR using a single-stranded DNA donor template (*ssODN*).

To recover the successful events, we set up a phenotype-independent screening protocol based on an allele specific amplification strategy. Discriminating power was increased by the substitution of the penultimate nucleotide of the screening primers with a locked nucleic acid (LNA) (Supplementary Figure 2A). The presence of a single LNA sufficiently improved specificity to allow us analyzing pools of flies for the presence of a single allele copy (Supplementary Figure 2B). 294 G1 individuals were tested for the presence of a mutated allele carrying the K3A substitution. Mixtures of genomic DNA from 4 to 5 individuals were prepared and the *uL11* locus was amplified with either the lysine codon (*LNA-WT*) or the alanine codon (*LNA-K3A*) matching primer. While most genomic DNA mixtures displayed amplification kinetics close to the level of the negative control, six of them exhibited faster amplification (ΔCt between 2 and 7). We thus repeated the experiment on individual genomic DNAs from 6 pools. Ten genomic DNA originating from three independent G0 founding flies, two males and one female, exhibited quicker amplification with the *LNA-K3A* forward primer than with the control primer ($\Delta Ct > 5$) (Supplementary Figure 2C). Sequencing the *uL11* locus confirmed that they contained the recombinant allele *uL11^{K3A}* at the heterozygous state.

To detect other mutations potentially resulting from non-homologous end joining (NHEJ) events, we also performed High Resolution Melting Analysis (HRMA) of a qPCR amplicon centred on the *uL11* lysine 3 codon. Denaturation kinetics of these PCR products were analyzed individually for the 294 G1 flies. Among them, 36 denaturation profiles differed

from the wild-type control. Sequencing of the amplicons confirmed the presence of a mutation at the *uL11* locus in each of these 36 samples. Consistently, the 10 *uL11^{K3A}* mutants identified with the allele-specific amplification strategy were also recovered by HRMA. Seven additional alleles were thus identified, that all carry a mutation impairing the lysine 3 codon: a single (K3Y) or double (P2LK3E, P2QK3R) amino acid substitutions, a single (Δ K3) or double (Δ K3F4) amino acid deletion, or a deletion of 2 or 4 nucleotides (F+2 and F-4, respectively) (Supplementary Figure 3). Our first observations revealed that the mutants could be dispatched into two groups depending on the severity of their phenotypes. The first group contains the *K3A*, Δ K3, Δ K3F4, F+2 and F-4 alleles, and the second group the K3Y, P2QK3R and P2LK3E alleles. We choose to focus on two representative alleles, *K3A* and *K3Y* (Figure 1B and Supplementary Figures 2D and 3). They were introduced into the same controlled genetic background (*w¹¹¹⁸*) and expression of the uL11 proteins was confirmed by western blot (Figure 2). As expected, uL11K3me3 was not detected in the two homozygous mutants.

Lethality and developmental delay of *uL11* mutants

We first examined the lethality of *uL11* mutants. The lethality rate depended on the mutant allele. Homozygous *uL11^{K3Y}* flies were fully viable, whereas very few *uL11^{K3A}* homozygotes emerged and almost all of them were males.

Next, we examined the lethality of the two mutants during development. During embryogenesis, they did not display more lethality than the *w¹¹¹⁸* control with the exception of *uL11^{K3A}/uL11⁺* whose lethality is slightly higher (Chi² test, $p < 0.05$) (Figure 3A). By contrast, during larval life, lethality was very high for *uL11^{K3A}/uL11⁺*, and *uL11^{K3A}/uL11^{K3A}* (Chi² test, $p < 0.001$), but did not increase neither for *uL11^{K3Y}/uL11⁺* nor for *uL11^{K3Y}/uL11^{K3Y}* larvae. We did not observe any lethality during the pupal life for all genotypes. Similarly, developmental time from egg deposition to adult emergence was considerably extended for *uL11^{K3A}/uL11⁺* (up to 48 h) and *uL11^{K3A}/uL11^{K3A}* (up to 96 h) but unaffected in *uL11^{K3Y}/uL11⁺* and *uL11^{K3Y}/uL11^{K3Y}* flies (Figure 3B).

To summarize, the *K3Y* mutation had no effect on these life history traits whereas lethality and developmental time were increased both in heterozygous and homozygous *K3A* mutants, which characterized this allele as dominant.

Bristle and wing size of the *uL11* mutants

We noticed that the *uL11^{K3A}/uL11^{K3A}* homozygous mutants had thinner and shorter macrochaetes as compared to wild-type flies (Figure 4A and B). To determine whether the size of the macrochaetes was affected, we measured the anterior and posterior scutellar bristles in males (Figure 4C and D). Scutellar bristles were significantly shorter in heterozygous and homozygous *uL11^{K3A}* but unaffected in homozygous *uL11^{K3Y}* males as compared to wild-type

flies (Figure 4C and D). Similarly, we observed shorter bristles in heterozygous *uL11^{K3A}* females while *uL11^{K3Y}* homozygous females were only slightly affected (Supplementary Figure 4A and B). Wing length was also measured. Results show that wings were significantly shorter in heterozygous and homozygous *uL11^{K3A}* while unaffected in *uL11^{K3Y}* homozygous males (Figure 4E). Heterozygous *uL11^{K3A}* females exhibited shorter wings whereas wings of homozygous *uL11^{K3Y}* females were unaffected (Supplementary Figure 4C).

These results confirmed that *K3A* was a dominant allele and showed that the severity of the phenotypes depended on the mutation. The *K3A* mutation was highly detrimental while the *K3Y* mutation had almost no impact on the size of macrochaetes and wings. *Minute* mutants are known to be poorly fertile and viable, to exhibit developmental delay and have shorter and thinner bristles, all phenotypes that we observed in *uL11^{K3A}* mutant flies. Moreover, *Minute* alleles are dominant which is also the case of the *uL11^{K3A}* allele. All these data characterized the *uL11^{K3A}* mutant as a *Minute* mutant.

Impact of the *uL11* mutations on translation

The strategic location of uL11 protein at the base of the P-stalk in the GTPase-associated center of the ribosome, suggests that its mutation might have a detrimental impact on translation. To test this hypothesis, we assessed the level of global translation in the *uL11* mutants. In order to label neo-synthesized proteins, third instar wild-type or mutant larvae were incubated with puromycin. Puromycin intake was normalized to histone H3 levels. A significant decrease in global translation level was observed in *uL11^{K3A}* heterozygous and homozygous larvae as compared to wild-type larvae, whereas it was unmodified in *uL11^{K3Y}* homozygous larvae (Figures 5A and B). These results were consistent with our previous phenotypic observations showing that *K3A* mutation was the most detrimental.

We then asked whether the uL11K3A variant protein would retain the ability to associate with translating ribosomes. We generated stable cell lines expressing either uL11K3A-HA or uL11-HA under the control of the *Actin* promoter. Cytoplasmic extracts were purified from both genotypes and lysates were loaded onto sucrose gradients for fractionation. As a control, an extract of each genotype was supplemented with 25 mM EDTA, a concentration that disrupts the interaction between ribosomal subunits and mRNA. The resulting fractions were analyzed by western blot to reveal the presence of uL11K3A-HA or uL11-HA (Figures 5C and 5D). These experiments revealed an enrichment of uL11-HA as well as uL11K3A-HA at the 60S and 80S ribosomal fractions and at polysomal fractions but not at the 40S fractions. In addition, the distribution of uL11K3A-HA was not biased towards inactive ribosomal fractions when compared to uL11-HA. Furthermore, EDTA treatment triggered the relocation of uL11-HA and uL11K3A-HA towards lighter fractions, confirming that the sedimentation profiles truly resulted from their association with polysomes (Figures 5C and

5D). All these data showed that uL11K3A-HA was efficiently incorporated into translating ribosomes. Nevertheless, the decrease in puromycin incorporation observed in *uL11^{K3A}* mutants suggests that the yield of translation might be altered.

Interaction between the Corto chromodomain and uL11 mutant proteins

uL11 shares many transcriptional targets with Corto and interacts with its chromodomain through trimethylated lysine 3 (21). We thus hypothesized that the transcriptional activity of uL11 was impaired in the *uL11^{K3A}* and *uL11^{K3Y}* mutants. To address this, we first assayed the physical interactions between the chromodomain and the two uL11 mutant proteins by co-immunoprecipitation. *Drosophila* S2 cells were co-transfected with *pA-FLAG-CortoCD* and either *pA-uL11^{K3A}-Myc* or *pA-uL11^{K3Y}-Myc*. The FLAG-tagged chromodomain was immunoprecipitated using anti-FLAG antibodies. Contrarily to uL11-Myc that precipitated with FLAG-CortoCD, neither uL11K3A-Myc nor uL11K3Y-Myc co-immunoprecipitated with it (Figure 6). These results corroborated our previous results (21) and suggested that the transcriptional activity of uL11 might be at least partly impaired in the two mutants.

Transcriptomic analysis of uL11 mutants

To address the role of *uL11* in transcriptional regulation, we deep-sequenced transcripts from third instar larval wing imaginal discs of homozygous mutants for *uL11^{K3A}*, *uL11^{K3Y}* or trans-heterozygous mutants for *corto* (*corto^{L1}/corto⁴²⁰*). The *w¹¹¹⁸* line was used as reference (Table 1). Differential analyses were performed to obtain adjusted p-values associated to expression fold-changes for the three genotypes as compared to the reference. Taken a $\log_2(\text{fold-change}) < -0.5$ or > 0.50 and an adjusted p-value < 0.05 , we found 458 down-regulated and 481 up-regulated genes in *corto* mutants (Supplementary Table 2). Using the same cutoffs, we found 152 down-regulated and 262 up-regulated genes in *uL11^{K3A}*, and 39 down-regulated and 45 up-regulated genes in *uL11^{K3Y}* (Supplementary Table 2). Only 52 deregulated genes were shared by *uL11^{K3A}* and *uL11^{K3Y}*, and 14 by the three genotypes, *uL11^{K3A}*, *uL11^{K3Y}* and *corto^{L1}/corto⁴²⁰* (Figure 7A). qRT-PCR validations of RNA-seq data were performed for three genes: *CG13516*, one of the few genes to be deregulated in the three genotypes, *Hsp67Bc*, encoding a small heat-shock protein deregulated in *corto^{L1}/corto⁴²⁰* and *uL11^{K3Y}*, and *GstE6*, encoding a Glutathione S-transferase deregulated in *uL11^{K3A}* and *uL11^{K3Y}* (Figures 7B and C).

Strikingly, in *corto^{L1}/corto⁴²⁰* mutants, 52.7 % of the *RPGs* (89/169) were up-regulated (Supplementary Table 3). A similar enrichment of *RPGs* had been observed in flies overexpressing the Corto chromodomain (21). Our results thus confirmed that this overexpression behaved as a dominant negative allele.

Contrarily to what we observed following overexpression of *uL11* (21), we did not find any deregulation of *RPGs* in imaginal discs of *uL11* mutants. Gene ontology analyses revealed that genes up-regulated in *uL11^{K3A}* imaginal discs are enriched in the category “glutathione metabolism” and down-regulated genes in the category “regulation of transcription” (Supplementary Table 3). The only enrichment found for *uL11^{K3Y}* was for “glutathione metabolism” (KEGG pathway, Benjamini adjusted p-value 5.90e-03).

In an attempt to identify the transcriptional partners of uL11, we searched for conserved motifs in the *cis*-regulatory sequences of the deregulated genes. As *uL11^{K3A}* displayed a global decrease in translational rate that might interfere with the transcriptional response, we focused on the 84 genes deregulated in *uL11^{K3Y}*. Using MEME (32), we identified a 21 nucleotide-long consensus sequence present in the *cis*-regulatory sequences of 39 on the 84 genes (E-value: 2.1e-23). Using TomTom (31), we found that this motif significantly matched the 14 nucleotide-long binding site for Mad (p-value: 4.9e-07), as well as the 11 nucleotide-long binding site for its partner Med (p-value 1.11e-04 that together mediate the cellular response to the BMP pathway (Figure 7D and Supplementary Table 4).

DISCUSSION

We have previously shown that ribosomal protein uL11 interacts with the chromodomain of the *Drosophila* Enhancer of Trithorax and Polycomb Corto when trimethylated on lysine 3 (uL11K3me3) (21). uL11, Corto and RNA Polymerase II co-localize at many sites on polytene chromosomes and overexpression of *uL11* induces the transcription of many *RPGs* and *RiBi* genes. These data have confirmed that *Drosophila* uL11 is involved in transcription (35) and further suggest that the lysine 3 supports this extra-ribosomal activity. In the aim of testing this hypothesis, we generated mutant alleles of *uL11* using the CRISPR/Cas9 technology. By introducing a template to promote Homologous Directed Repair, we obtained a mutant in which the lysine was replaced by an alanine. However, we also obtained mutants harbouring indels probably obtained by Non-Homologous End Joining. Strikingly, the lysine 3 codon of uL11 was either deleted or substituted by another amino acid in all recovered mutants. Hence, it seems that a strong selection pressure occurs to maintain the *uL11* ORF, consistent with the haplo-insufficiency of this *RPG*.

A single amino acid substitution generates a *Minute* phenotype

The *uL11^{K3A}* allele produces very little homozygotes. Those are only males that hatch with a developmental delay larger than two days as compared to wild-type flies raised in the same conditions. Interestingly, *uL11^{K3A}* heterozygotes are also delayed but slightly less (about one day). In addition, *uL11^{K3A}* heterozygous females are frequently sterile making it necessary

to carry out crosses of heterozygous *uL11^{K3A}* males with wild-type females and to genotype the offspring in order to maintain the stock. Hence, the *uL11^{K3A}* allele clearly appears dominant, which is also visible for other phenotypes, such as the shorter and thinner macrochaetes and the global decrease in translational rate. Reduced viability, notably of females, delayed development, thin bristles and dominance are signatures of the *Minute* mutations that have been more recently shown to correspond to *RPG* deletions (3). The associated phenotypes are thought to reflect a defect in ribosomal proteins' stoichiometry resulting in a decreased capacity for protein synthesis. In accordance, tissues that are the most dependent on translation are likely to be the most affected. For instance, high ribosome biogenesis level is suggested to be necessary for the maintenance of germinal stem cells in the *Drosophila* ovary, which could explain the reduced fertility of *Minute* females (36,37). Similarly, macrochaetes are described to require a very high amount of protein synthesis over a short developmental period (3). Unexpectedly, replacement of a single lysine by an alanine in the N-terminal tail of uL11 induces a *Minute* phenotype. Nevertheless, the global level of translation in the mutant is only slightly decreased and the mutated protein can be efficiently incorporated into translating ribosomes. However, translation speed or accuracy might be altered. Indeed, in yeast, *uL11* loss-of-function has been shown to halve translation speed and to cause increased amino acid mis-incorporation and termination codon readthrough (16). Another possibility would be that uL11K3A ribosomes display altered affinity for specific mRNA, as has been described for ribosomes lacking RPL38/eL38 in mice (38).

Surprisingly, the *uL11^{K3Y}* mutant does not display any *Minute* phenotype. The N-terminal extension of uL11 is supposed to be unstructured as neither the first 6 nor the first 9 amino acids were resolved in the structure of the *D. melanogaster* and *S. cerevisiae* 80S ribosome, respectively (15,39). This region is composed of hydrophilic amino acids and could thus be a hub for protein interactions. Addition of methyl groups on lysines, even if it has no effect on the overall charge of the residue, increases its hydrophobicity. Trimethylation of uL11 lysine 3 might thus modulate the activity of the N-terminal tail (40). However, in *S. cerevisiae* and *pombe*, deletion of the enzyme responsible for uL11 lysine 3 methylation has little impact on ribosome assembly and function or on cell viability (19,41) suggesting that the methylation of lysine 3 is not crucial for basic translational activity. In the *uL11^{K3Y}* mutant, the tyrosine, a hydrophobic residue, might mimic the effect of methyl groups. If this is the case, in-depth comparison of translation between *uL11^{K3Y}* and *uL11^{K3A}* mutants, including sequencing of polysomal mRNA, should permit to elucidate the role of the uL11 N-terminal tail methylation in translation.

Extra-ribosomal activities of uL11

Reduction in translation capacity might be indirect and due to extra-ribosomal activities of free ribosomal proteins (20,41). Moreover, in nematodes and mammals, uL11 auto-regulates its own expression by interfering with the splicing of its mRNA. Indeed, an excess of uL11 induces aberrant retention of an intron and elimination of the corresponding mRNA by Non-sense Mediated Decay (8,7). We previously reported that overexpression of *uL11* increases the transcription of some *RPGs* and *RiBi* genes (21). The corresponding proteins might be produced, respecting the necessary stoichiometry for ribosome assembly, thus avoiding ribosomal stress. Our new data show that these genes are not down-regulated in the *uL11* lysine 3 mutants. Hence, the *Minute* phenotype of *uL11^{K3A}* does not result from transcriptional down-regulation of these genes, confirming that it should rather be due to an alteration in translation.

As the *uL11^{K3Y}* mutant displays neither *Minute* phenotypes nor a global decrease in translation, we assumed that solely its transcriptional activity would be affected. However, deep-sequencing of its transcriptome identified only 84 deregulated genes as compared to the reference line. Interestingly, the *cis*-regulatory sequences of a number of them share a nucleotide motif that significantly matches the binding site of the transcription factors Mad and Med, the effectors of the BMP pathway in *Drosophila*. Upon binding of the Decapentaplegic (Dpp) ligand to its receptor Thickveins (Tkv), Mad is phosphorylated, translocates to the nucleus together with the Smad4 homolog Medea (Med) and regulates expression of target genes. This important pathway contributes notably to growth regulation and patterning [for a review see (44)]. Whether uL11 cooperates with Mad-Med in the regulation of transcription will remain to be demonstrated.

The absence of obvious phenotypes and the fact that only few genes are deregulated in *uL11^{K3Y}* mutant could mean that the extra-ribosomal function of uL11 is not required under physiological conditions. Indeed, many extra-ribosomal functions are triggered under stress conditions. For example, in *S. cerevisiae* *uL11/RPL12* has been shown to regulate the PHO pathway in low phosphate conditions potentially at the transcriptional level. (9). It would thus be interesting to test whether the *Drosophila* *uL11* mutants, and especially *uL11^{K3Y}*, display altered resistance to stresses that affect ribosome biogenesis, for instance by raising them with specific food diets.

ACKNOWLEDGMENTS

We thank the members of the team for stimulating discussions, Immane R’Kiki for technical assistance and the Bloomington Stock Center for fly strains. This work was funded by the Centre National de la Recherche Scientifique (CNRS), Sorbonne University, and by a Fondation ARC grant to FP (PJA20171206407). HC was funded by a doctoral fellowship from the MESRI (Ministère de l’Enseignement Supérieur, de la Recherche et de l’Innovation) and a

4th year doctoral fellowship from Fondation ARC (ARCD0C42020020001381). JD was funded by a doctoral fellowship from the MESRI and a 4th year doctoral fellowship from the Fondation pour la Recherche médicale (FDT20160435164). This work was supported by the France Génomique national infrastructure, funded as part of the "Investissements d'Avenir" program managed by the Agence Nationale de la Recherche (contract ANR-10-INBS-0009).

REFERENCES

1. Schultz J. The Minute Reaction in the Development of *Drosophila melanogaster*. *Genetics*. 1929; 14(4):366–419.
2. Brehme KS. A Study of the Effect on Development of 'Minute' Mutations in *Drosophila melanogaster*. *Genetics*. 1939; 24(2):131–61.
3. Marygold SJ, Roote J, Reuter G, Lambertsson A, Ashburner M, Millburn GH, et al. The ribosomal protein genes and *Minute* loci of *Drosophila melanogaster*. *Genome Biol*. 2007; 8(10):R216.
4. Cook RK, Christensen SJ, Deal JA, Coburn RA, Deal ME, Gresens JM, et al. The generation of chromosomal deletions to provide extensive coverage and subdivision of the *Drosophila melanogaster* genome. *Genome Biol*. 2012; 13(3):R21.
5. Bhavsar RB, Makley LN, Tsonis PA. The other lives of ribosomal proteins. *Hum Genomics*. 2010; 4(5):327–44.
6. Ban N, Beckmann R, Cate JHD, Dinman JD, Dragon F, Ellis SR, et al. A new system for naming ribosomal proteins. *Curr Opin Struct Biol*. 2014; 24:165–9.
7. Cuccurese M, Russo G, Russo A, Pietropaolo C. Alternative splicing and nonsense-mediated mRNA decay regulate mammalian ribosomal gene expression. *Nucleic Acids Res*. 2005; 33(18):5965–77.
8. Mitrovich QM, Anderson P. Unproductively spliced ribosomal protein mRNAs are natural targets of mRNA surveillance in *C. elegans*. *Genes Dev*. 2000; 14(17):2173–84.
9. Tu W-YY, Huang Y-CC, Liu L-FF, Chang L-HH, Tam MF. Rpl12p affects the transcription of the PHO pathway high-affinity inorganic phosphate transporters and repressible phosphatases. *Yeast*. 2011; 28(6):481–93.
10. Larkin A, Marygold SJ, Antonazzo G, Attrill H, dos Santos G, Garapati PV, et al. FlyBase: updates to the *Drosophila melanogaster* knowledge base. *Nucleic Acids Res*. 2021; 49(D1):D899–907.
11. Lindsley DL, Sandler L, Baker BS, Carpenter AT, Denell RE, Hall JC, et al. Segmental aneuploidy and the genetic gross structure of the *Drosophila* genome. *Genetics*. 1972; 71(1):157–84.
12. Huang J, Wu S, Barrera J, Matthews K, Pan D. The Hippo signaling pathway coordinately regulates cell proliferation and apoptosis by inactivating Yorkie, the *Drosophila* Homolog of YAP. *Cell*. 2005; 122(3):421–34.
13. Park MH, Nishimura K, Zanelli CF, Valentini SR. Functional significance of eIF5A and its hypusine modification in eukaryotes. *Amino Acids*. 2010; 38(2):491–500.

14. Gonzalo P, Reboud J-P. The puzzling lateral flexible stalk of the ribosome. *Biol Cell*. 2003; 95(3–4):179–93.
15. Anger AM, Armache J-P, Berninghausen O, Habeck M, Subklewe M, Wilson DN, et al. Structures of the human and *Drosophila* 80S ribosome. *Nature*. 2013; 497(7447):80–5.
16. Wawiórka L, Molestak E, Szajwaj M, Michalec-Wawiórka B, Boguszewska A, Borkiewicz L, et al. Functional analysis of the uL11 protein impact on translational machinery. *Cell Cycle*. 2016; 15(8):1060–72.
17. Oliver KE, Rauscher R, Mijnders M, Wang W, Wolpert MJ, Maya J, et al. Slowing ribosome velocity restores folding and function of mutant CFTR. *J Clin Invest*. 2019; 28;129(12):5236–53.
18. Carroll AJ, Heazlewood JL, Ito J, Millar AH. Analysis of the *Arabidopsis* cytosolic ribosome proteome provides detailed insights into its components and their post-translational modification. *Mol Cell Proteomics*. 2008; 7(2):347–69.
19. Sadaie M, Shinmyozu K, Nakayama J. A conserved SET domain methyltransferase, Set11, modifies ribosomal protein Rpl12 in fission yeast. *J Biol Chem*. 2008; 283(11):7185–95.
20. Webb KJ, Laganowsky A, Whitelegge JP, Clarke SG. Identification of Two SET Domain Proteins Required for Methylation of Lysine Residues in Yeast Ribosomal Protein Rpl42ab. *J Biol Chem*. 2008; 283(51):35561–8.
21. Coléno-Costes A, Jang SM, de Vanssay A, Rougeot J, Bouceba T, Randsholt NB, et al. New partners in regulation of gene expression: the Enhancer of Trithorax and Polycomb Corto interacts with methylated ribosomal protein L12 via its chromodomain. *PLoS Genet*. 2012; 8(10):e1003006.
22. Gratz SJ, Cummings AM, Nguyen JN, Hamm DC, Donohue LK, Harrison MM, et al. Genome engineering of *Drosophila* with the CRISPR RNA-guided Cas9 nuclease. *Genetics*. 2013; 194(4):1029–35.
23. Thomassin H, Kress C, Grange T. MethylQuant: a sensitive method for quantifying methylation of specific cytosines within the genome. *Nucleic Acids Res*. 2004; 32(21):e168.
24. Chevet E, Lemaître G, Katinka MD. Low concentrations of tetramethylammonium chloride increase yield and specificity of PCR. *Nucleic Acids Res*. 1995; 23(16):3343–4.
25. Bassett AR, Kong L, Liu J-LL. A genome-wide CRISPR library for high-throughput genetic screening in *Drosophila* cells. *J Genet Genomics*. 2015; 42(6):301–9.
26. Wittwer CT, Reed GH, Gundry CN, Vandersteen JG, Pryor RJ. High-resolution genotyping by amplicon melting analysis using LCGreen. *Clin Chem*. 2003; 49(6 Pt 1):853–60.
27. Dardalhon-Cuménal D, Deraze J, Dupont CA, Ribeiro V, Coléno-Costes A, Pouch J, et al. Cyclin G and the Polycomb Repressive complexes PRC1 and PR-DUB cooperate for developmental stability. *PLoS Genet*. 2018; 14(7):e1007498.
28. Zamurrad S, Hatch HAM, Drelon C, Belalcazar HM, Secombe J. A *Drosophila* Model of Intellectual Disability Caused by Mutations in the Histone Demethylase KDM5. *Cell Rep*. 2018; 22(9):2359–69.

29. Miyoshi K, Okada TN, Siomi H, Siomi MC. Biochemical Analyses of Endogenous Argonaute Complexes Immunopurified with Anti-Argonaute Monoclonal Antibodies. In: Hobman TC, Duchaine TF, editors. *Methods in Molecular Biology*; vol. 725. Argonaute Proteins. Totowa, NJ: Humana Press; 2011; p. 29–43.
30. Mouchel-Vielh E, Rougeot J, Decoville M, Peronnet F. The MAP kinase ERK and its scaffold protein MP1 interact with the chromatin regulator Corto during *Drosophila* wing tissue development. *BMC Dev Biol.* 2011; 11:17.
31. Gupta S, Stamatoyannopoulos JA, Bailey TL, Noble W. Quantifying similarity between motifs. *Genome Biol.* 2007; 8(2):R24.
32. Bailey, T. L., Elkan, C. Fitting a mixture model by expectation maximization to discover motifs in biopolymers. *Proceedings of the second international conference on intelligent systems for molecular biology.* 1994; 28–36.
33. Bailey TL, Boden M, Buske FA, Frith M, Grant CE, Clementi L, et al. MEME SUITE: tools for motif discovery and searching. *Nucleic Acids Res.* 2009; 1;37:W202–8.
34. Pfaffl MW. A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR. *Nucleic Acids Res.* 2001; 29(9):e45.
35. Brogna S, Sato T-AA, Rosbash M. Ribosome components are associated with sites of transcription. *Mol Cell.* 2002; 10(4):93–104.
36. Zhang Q, Shalaby NA, Buszczak M. Changes in rRNA Transcription Influence Proliferation and Cell Fate Within a Stem Cell Lineage. *Science.* 2014; 17;343(6168):298–301.
37. Sanchez CG, Teixeira FK, Czech B, Preall JB, Zamparini AL, Seifert JRK, et al. Regulation of Ribosome Biogenesis and Protein Synthesis Controls Germline Stem Cell Differentiation. *Cell Stem Cell.* 2016; 18(2):276–90.
38. Xue S, Tian S, Fujii K, Kladwang W, Das R, Barna M. RNA regulons in Hox 5' UTRs confer ribosome specificity to gene regulation. *Nature.* 2015; 517(7532):33–8.
39. Ben-Shem A, de Loubresse NG, Melnikov S, Jenner L, Yusupova G, Yusupov M. The Structure of the Eukaryotic Ribosome at 3.0 Å Resolution. *Science.* 2011; 334:7.
40. Beaver JE, Waters ML. Molecular Recognition of Lys and Arg Methylation. *ACS Chem Biol.* 2016; 18;11(3):643–53.
41. Porras-Yakushi TR, Whitelegge JP, Clarke S. A novel SET domain methyltransferase in yeast: Rkm2-dependent trimethylation of ribosomal protein L12ab at lysine 10. *J Biol Chem.* 2006; 281(47):35835–45.
42. Wool IG. Extraribosomal functions of ribosomal proteins. *Trends Biochem Sci.* 1996; 21(5):164–5.
43. Warner JR, McIntosh KB. How common are extraribosomal functions of ribosomal proteins? *Mol Cell.* 2009; 34(1):3–11.
44. Matsuda S, Harmansa S, Affolter M. BMP morphogen gradients in flies. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2016; 27:119-127.

FIGURES

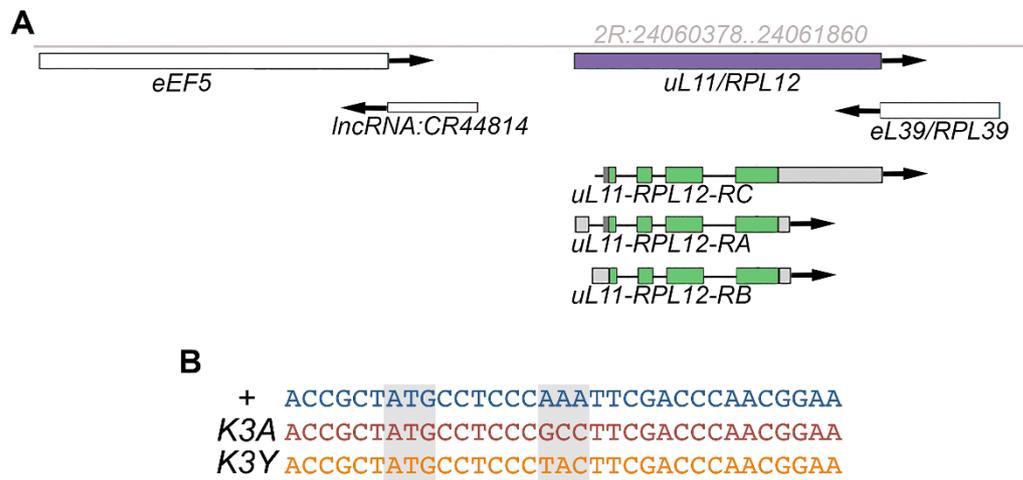


Figure 1: Genomic organization of the *uL11* locus

A – Genomic locus of the 2R chromosome containing the *uL11/RpL12* gene (coordinates in grey).

B – Sequence of the *uL11*^{K3A} and *uL11*^{K3Y} mutants.

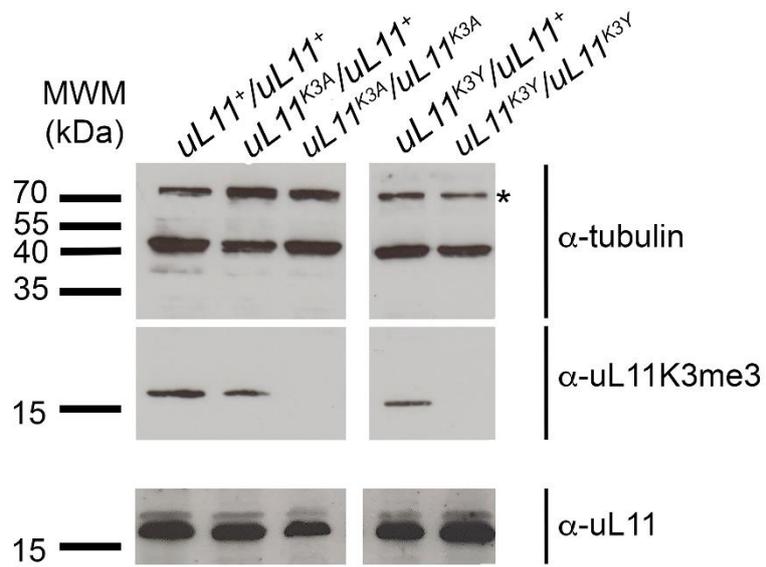


Figure 2: uL11K3me3 is undetectable in homozygous *uL11* mutants

Tubulin was used as a loading control. Whereas uL11 was present in hetero- and homozygous mutants, as revealed by the pan-uL11 antibody, uL11K3me3 was undetectable in the two homozygous mutants.

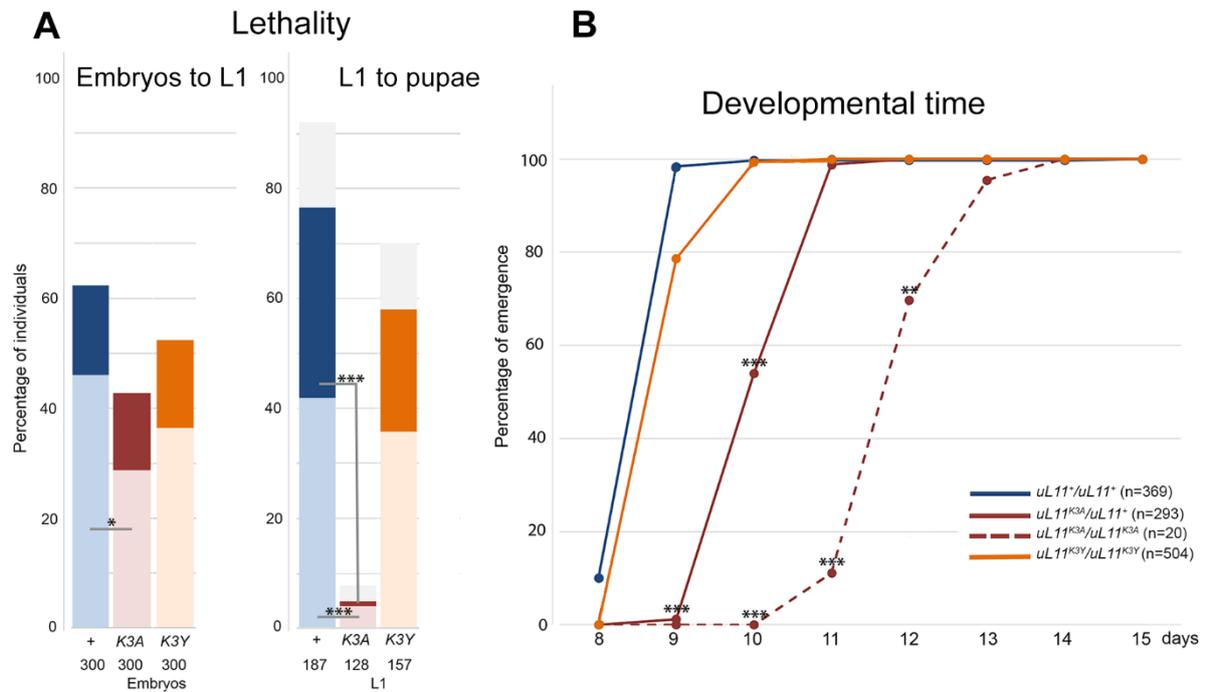


Figure 3: Life history traits of $uL11$ mutants

A – Lethality of $uL11$ mutants. $uL11^X/CyO$, $Dfd-EYFP$ flies were crossed between them and 300 embryos per genotype were transferred on new medium ($uL11^X$: $uL11^+$, $uL11^{K3A}$ or $uL11^{K3Y}$, as indicated). **Left:** percentage of $uL11^X/uL11^X$ and $uL11^X/CyO, Dfd-EYFP$ first instar larvae emerged from 300 embryos; **Right:** percentage of $uL11^X/uL11^X$ and $uL11^X/CyO, Dfd-EYFP$ pupae coming from the emerged first instar larvae. Numbers of starting embryos and larvae are indicated.

$uL11^X/uL11^X$ individuals: dark colour; $uL11^X/CyO, Dfd-EYFP$ individuals: light colour; blue: $uL11^+$, burgundy: $uL11^{K3A}$, orange: $uL11^{K3Y}$; grey: $uL11^X/uL11^X$ or $uL11^X/CyO, Dfd-EYFP$.

B – Developmental time of $uL11$ mutants. The percentage of flies emerged from day 8 to 15 is shown. The total number of emerged flies is indicated. Solid lines: heterozygous flies; dotted line: homozygous flies; blue: $uL11^+$, burgundy: $uL11^{K3A}$, orange: $uL11^{K3Y}$.

Chi² test: *** p-value < 0.001; ** p-value < 0.01; * p-value < 0.05; only significant comparisons are shown.

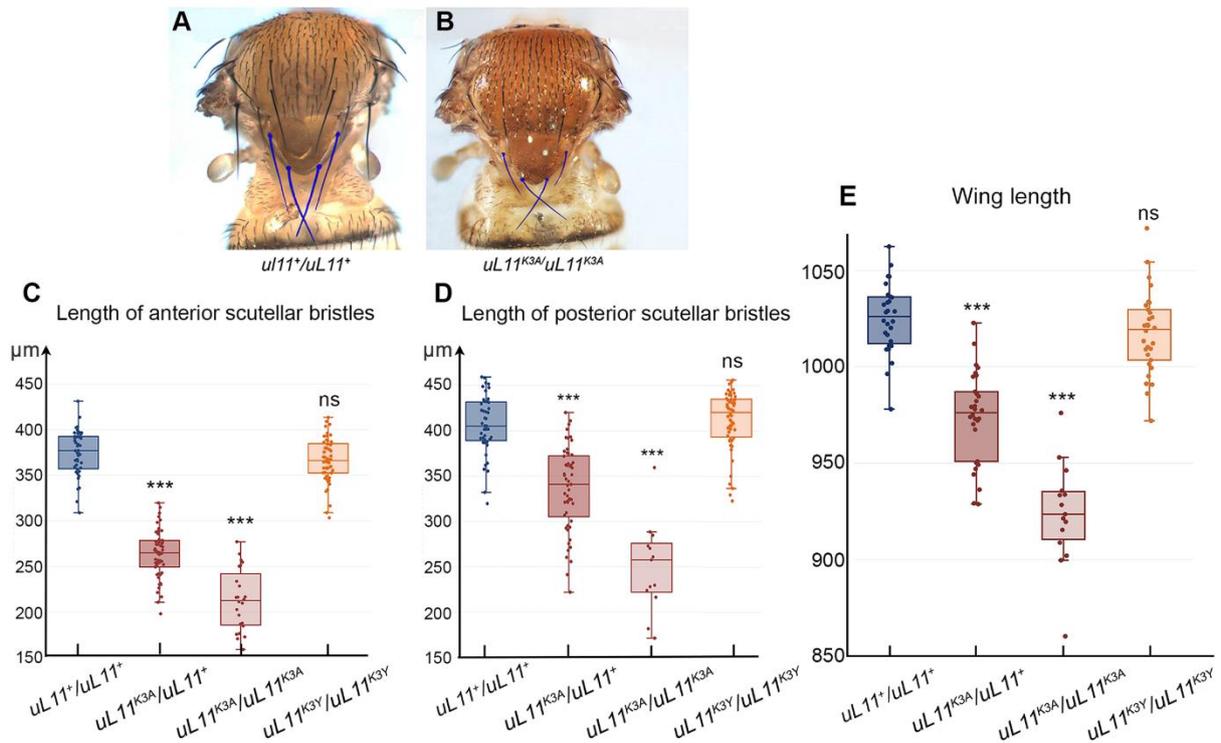


Figure 4: Analysis of bristles and wings in male *uL11* mutants

A – Thorax of a wild-type male. Anterior and posterior scutellar bristles are colorized.

B – Thorax of a *uL11^{K3A}/uL11^{K3A}* male. Anterior and posterior scutellar bristles are colorized. Note that they look thinner and shorter than those of the wild-type male shown in A.

C – Length of anterior scutellar bristles of wild-type males (blue; n = 45), *uL11^{K3A}/uL11⁺* and *uL11^{K3A}/uL11^{K3A}* (dark and light burgundy, n = 55 and n = 24, respectively) and *uL11^{K3Y}/uL11^{K3Y}* (orange, n = 51).

D – Length of posterior scutellar bristles of wild-type males (blue; n = 44), *uL11^{K3A}/uL11⁺* and *uL11^{K3A}/uL11^{K3A}* (dark and light burgundy, n = 53 and n = 13, respectively) and *uL11^{K3Y}/uL11^{K3Y}* (orange, n = 50).

E – Wing length of *uL11* wild-type males (blue; n = 28), *uL11^{K3A}/uL11⁺* and *uL11^{K3A}/uL11^{K3A}* (dark and light burgundy, n = 30 and n = 15, respectively) and *uL11^{K3Y}/uL11^{K3Y}* (orange, n = 30).

t-tests: *** p-value < 0.001; ns: non significant.

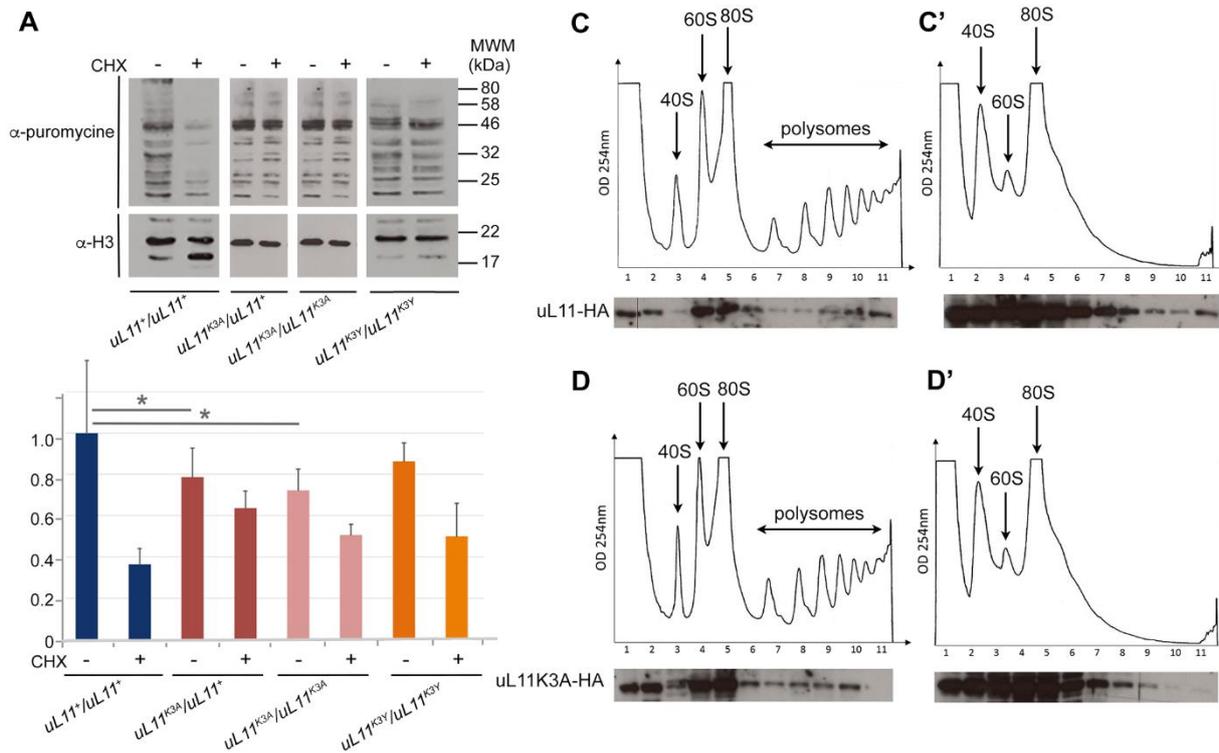


Figure 5: Translational rate of *uL11* mutants

A – Western blot showing puromycin incorporation in larvae of the two mutants as compared to wild-type larvae, in absence (-) or presence (+) of cycloheximide (CHX), an inhibitor of translation. Puromycin incorporation was revealed with an anti-puromycin antibody. Histone H3, revealed with an anti-panH3 antibody, was used as loading control. MWM: molecular weight marker.

B – Quantification of the puromycin signal in the 4 genotypes without (-) or with (+) CHX treatment. The puromycin signal was first normalized to the H3 signal, then to the wild-type signal. Student's t-tests were performed to compare puromycin incorporation in mutant and wild-type larvae. *, p-value <0.05; ns: non significant.

C – Polysome fractionation: cytoplasmic lysates (left) and EDTA-treated lysates (right) from S2 cells expressing uL11WT-HA (top) or uL11K3A-HA (bottom) were fractionated by centrifugation onto a sucrose gradient. Optical density at 254 nm was monitored during fractionation (top panels). The peaks observed in the gradient correspond to the different ribosomal complexes: 40S subunit, 60S subunit, 80S monosome, polysomes. Proteins extracted from fractions were analyzed by Western blotting with anti-HA antibody (lower panels). A vertical line indicates that different wells from the same gel were juxtaposed in the image for clarity. Images are representative for three obtained replicates.

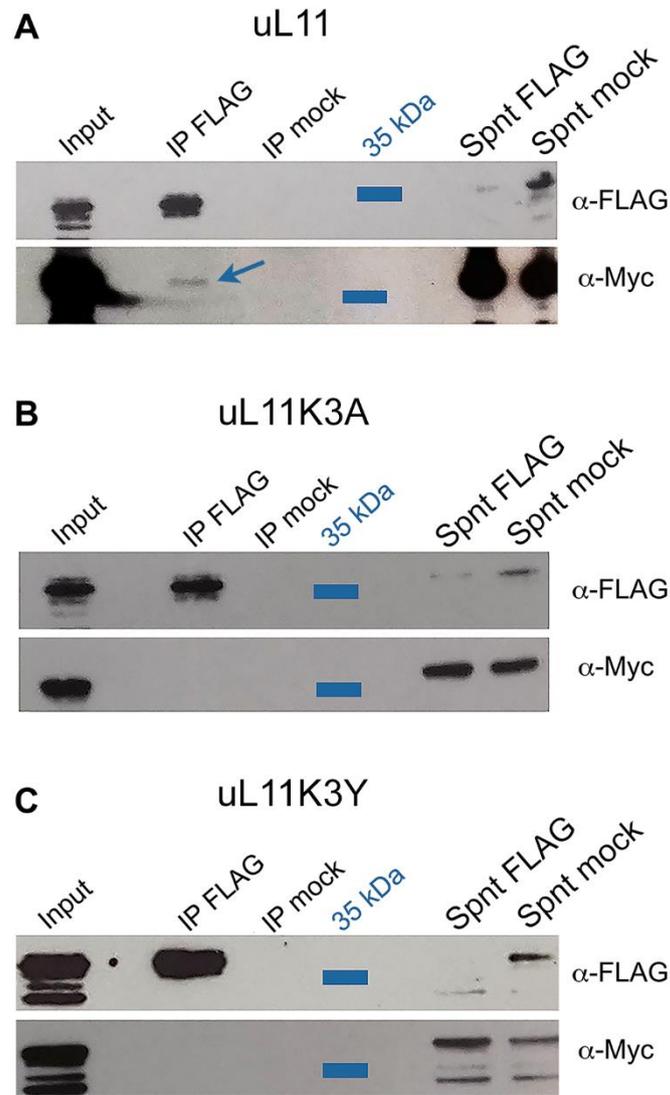


Figure 6: uL11 but neither uL11K3A nor uL11K3Y co-immunoprecipitates with the chromodomain of Corto.

S2 cells were co-transfected with plasmids expressing FLAG-CortoCD and uL11-Myc, uL11K3A-Myc or uL11K3A-Myc. Immunoprecipitations were performed with anti-FLAG antibodies (α -FLAG) or anti-HA antibodies (mock) and Western blot revealed using α -FLAG or anti-Myc antibodies (α -Myc). Spnt: supernatant, IP: immunoprecipitation. **A** - FLAG-CortoCD co-immunoprecipitated with uL11-Myc (arrow). **B** - FLAG-CortoCD did not co-immunoprecipitate with uL11K3A-Myc. **C** - FLAG-CortoCD did not co-immunoprecipitate with uL11K3Y-Myc.

Sample name	Genotype	Total reads	Aligned reads	Unmap reads	Reads with multiple alignment	Reads used for analysis
wc_1	<i>w¹¹¹⁸</i> ; <i>corto⁺</i>	1,50E+07	6,70E+06	9,00E+05	2,20E+06	6,71E+06
wc_2	<i>w¹¹¹⁸</i> ; <i>corto⁺</i>	1,50E+07	6,40E+06	1,20E+06	2,20E+06	6,44E+06
cortoL1420_1	<i>w¹¹¹⁸</i> ; <i>corto^{L1}/corto⁴²⁰</i>	2,71E+07	1,18E+07	1,20E+06	1,20E+07	1,18E+07
cortoL1420_2	<i>w¹¹¹⁸</i> ; <i>corto^{L1}/corto⁴²⁰</i>	2,71E+07	1,14E+07	1,90E+06	1,20E+07	1,14E+07
w_1	<i>w¹¹¹⁸</i> ; <i>uL11⁺</i>	2,58E+07	3,88E+07	5,39E+05	1,71E+07	2,08E+07
w_2	<i>w¹¹¹⁸</i> ; <i>uL11⁺</i>	3,22E+07	4,03E+07	3,50E+05	1,17E+07	2,79E+07
w_3	<i>w¹¹¹⁸</i> ; <i>uL11⁺</i>	3,49E+07	4,87E+07	6,90E+05	1,87E+07	2,86E+07
K3A_1	<i>w¹¹¹⁸</i> ; <i>uL11^{K3A}</i>	2,53E+07	3,34E+07	1,62E+06	1,14E+07	2,00E+07
K3A_2	<i>w¹¹¹⁸</i> ; <i>uL11^{K3A}</i>	4,01E+07	1,54E+07	4,96E+06	1,38E+08	1,06E+07
K3A_3	<i>w¹¹¹⁸</i> ; <i>uL11^{K3A}</i>	3,28E+07	8,30E+07	2,93E+06	6,18E+07	1,97E+07
K3Y_1	<i>w¹¹¹⁸</i> ; <i>uL11^{K3Y}</i>	3,07E+07	3,87E+07	4,65E+05	1,14E+07	2,64E+07
K3Y_2	<i>w¹¹¹⁸</i> ; <i>uL11^{K3Y}</i>	3,16E+07	4,32E+07	1,17E+06	1,58E+07	2,59E+07
K3Y_3	<i>w¹¹¹⁸</i> ; <i>uL11^{K3Y}</i>	3,34E+07	3,88E+07	4,45E+07	8,65E+06	2,92E+07

Table 1: RNA-seq of wing imaginal discs.

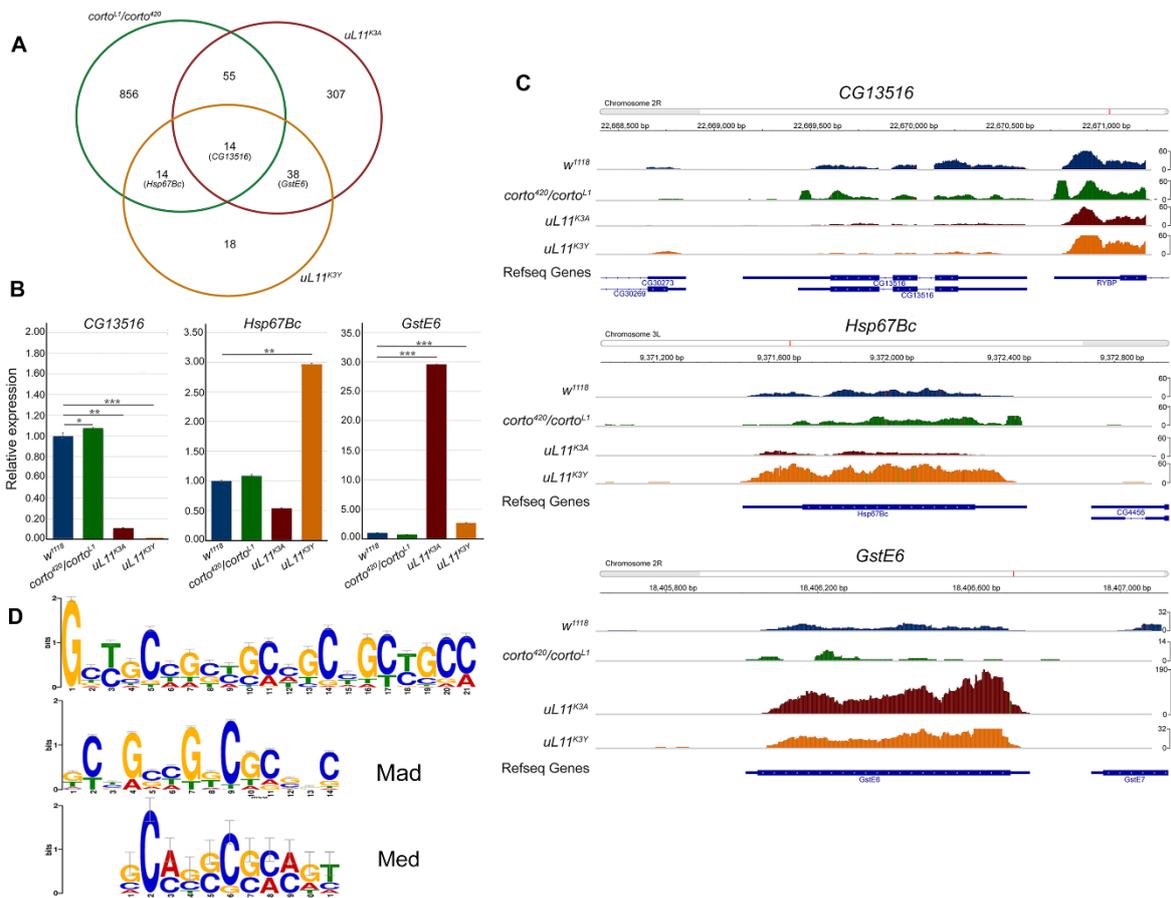


Figure 7: RNA-seq analyses of *corto* and *uL11* mutants.

A - Venn diagrams showing the intersection of genes deregulated in *corto^{L1/corto⁴²⁰}*, *uL11^{K3A}* and *uL11^{K3Y}* up- and down-regulated genes together (cutoffs: adjusted p-value < 0.05; log₂(fold-change) < -0.5 ou > 0.5). See Supplementary Table 2 for detailed gene lists. The three genes validated by qRT-PCR are indicated.

B - RT-qPCR analysis of *CG13516*, *Hsp67Bc* and *GstE6* expression in *corto^{L1/corto⁴²⁰}*, *uL11^{K3A}* and *uL11^{K3Y}* wing imaginal discs. Expressions were normalized on the geometric mean of *GAPDH* and *Spt6*. Mean of three replicates. Error bars correspond to standard deviations. * p-value < 0.05; ** p-value < 0.01; *** p-value < 0.001.

C - Snapshots showing the mapping of reads on *CG13516*, *Hsp67Bc* and *GstE6* in the reference line *w¹¹¹⁸*, *corto^{420/corto^{L1}}*, *uL11^{K3A}* and *uL11^{K3Y}* wing imaginal discs.

D - 21 nucleotide-long motif (top) found in the *cis*-regulatory sequences of 39 genes deregulated in the *uL11^{K3Y}* mutant (see Supplementary Table 4 for details). This motif significantly overlaps the transcription factors Mad (idmmpmm2009 database, p-value 4.9e-07) and Med (dmmpmm2009 database, p-value 1.22e-04) motifs.

Partie 2 – Caractérisation du mutant *uL11^{ΔK3}*

I- Présentation des résultats

Lors de la mutagenèse CRISPR/Cas9, outre le mutant *uL11^{K3A}*, probablement obtenu par recombinaison homologue à partir de la matrice injectée, nous avons obtenu une série allélique de mutants d'*uL11* dont le mutant K3Y décrit dans l'article qui précède. Le mutant *uL11^{ΔK3}* présente une délétion sans remplacement du codon lysine 3. Bien qu'il s'agisse également d'une mutation ponctuelle, ce mutant se comporte différemment.

Premièrement, j'ai étudié les phénotypes macroscopiques ainsi que le taux global de traduction de ce mutant. Contrairement à *uL11^{K3A}*, il présente des phénotypes *Minute* uniquement à l'état homozygote, n'est donc pas dominant et ne peut pas être qualifié de mutant *Minute*. De manière surprenante la protéine *uL11^{ΔK3}* interagit avec le chromodomaine de Corto, suggérant que la transcription ne serait pas affectée dans ce mutant.

II- Matériels et méthodes

Lignées de *D.melanogaster* et élevage

Les lignées de *D. melanogaster* et les croisements ont été élevés à 25°C sur un milieu standard [7,5% levure, 9% farine de maïs, 1,5% agar-agar, 2,5% méthylparaben (Moldex)]. Afin de prévenir les effets liés à la surpopulation, un même nombre d'individus adultes a été utilisé pour les croisements. La lignée *w¹¹¹⁸* a été utilisée comme contrôle.

Mutagenèse du *pENTER-uL11*

Le *pENTR-uL11^{ΔK3}* a été obtenu par mutagenèse directe du *pENTR-uL11* (Coléno-Costes *et al.*,2012) (**Tableau 3**). L'ADNc a ensuite été transféré dans le vecteur *pActin-W-Myc* (Gateway™) par recombinaison LR (Invitrogen) permettant ainsi l'expression de la protéine de fusion sous contrôle du promoteur actine. Il a été vérifié par séquençage. Le plasmide *pActin-Flag-cortoCD* est décrit dans l'article.

pENTR-uL11ΔK3-F	5' - CACCATGCCTCCCTTCGACCCAACGG - 3'
pENTR-uL11ΔK3-R	5' - CCGTTGGGTCTGAAGGGAGGCATGGTG - 3'

Tableau 3 Primers utilisés lors de la mutagenèse du *pENTR-uL11*

III- Résultats

III.1- Expression d'uL11^{ΔK3}

Afin de vérifier l'expression de la protéine uL11^{ΔK3} nous avons réalisé des western blots (**Figure 28**) : la protéine semble normalement exprimée dans les mutants homozygotes uL11^{ΔK3}. Par contre, comme le montre la révélation avec un anti-peptide dirigé contre uL11K3me3, uL11K3me3 n'est pas détectée, comme cela est attendu (**Figure 28**).

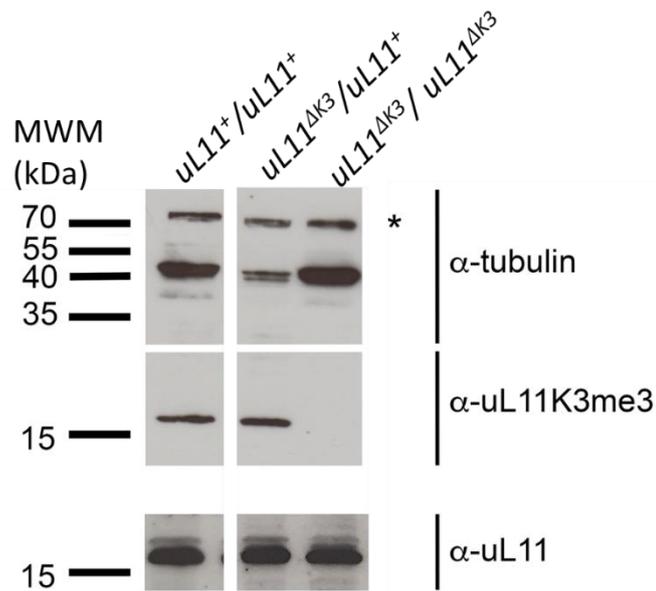


Figure 28 Western blot des mutants hétérozygotes et homozygotes uL11^{ΔK3}.

La protéine uL11 est détectée chez les hétérozygotes et les homozygotes uL11^{ΔK3}. En revanche, la protéine triméthylée uL11K3me3 n'est pas présente chez les homozygotes uL11^{ΔK3}. La tubuline est utilisée comme témoin de charge.

III.2- Phénotypes des mutants $uL11^{AK3}$

Très peu d'adultes $uL11^{AK3}$ homozygotes émergent. Nous avons étudié la létalité au cours du développement. Il n'y a pas de létalité durant l'embryogenèse. En revanche, la létalité est très élevée pendant le stade larvaire. Finalement, aucune létalité n'est observée durant le stade pupal. Ainsi l'absence d'individus $uL11^{AK3}$ homozygotes à l'état adulte provient d'une forte létalité durant le stade larvaire (**Figure 29 A**). Ces individus homozygotes présentent un retard de développement d'environ 3 jours (**Figure 29 B**). On observe également que les soies scutellaires des mâles hétérozygotes et homozygotes sont plus courtes que celles des mâles sauvages (**Figure 30 A et B**), ce qui est également observé pour les femelles (**Figure 30 C et D**). Pour finir, les ailes des mâles hétérozygotes et homozygotes sont plus petites que celles des individus sauvages (**Figure 31 A**), ce qui n'est pas le cas chez les femelles (**Figure 31 B**).

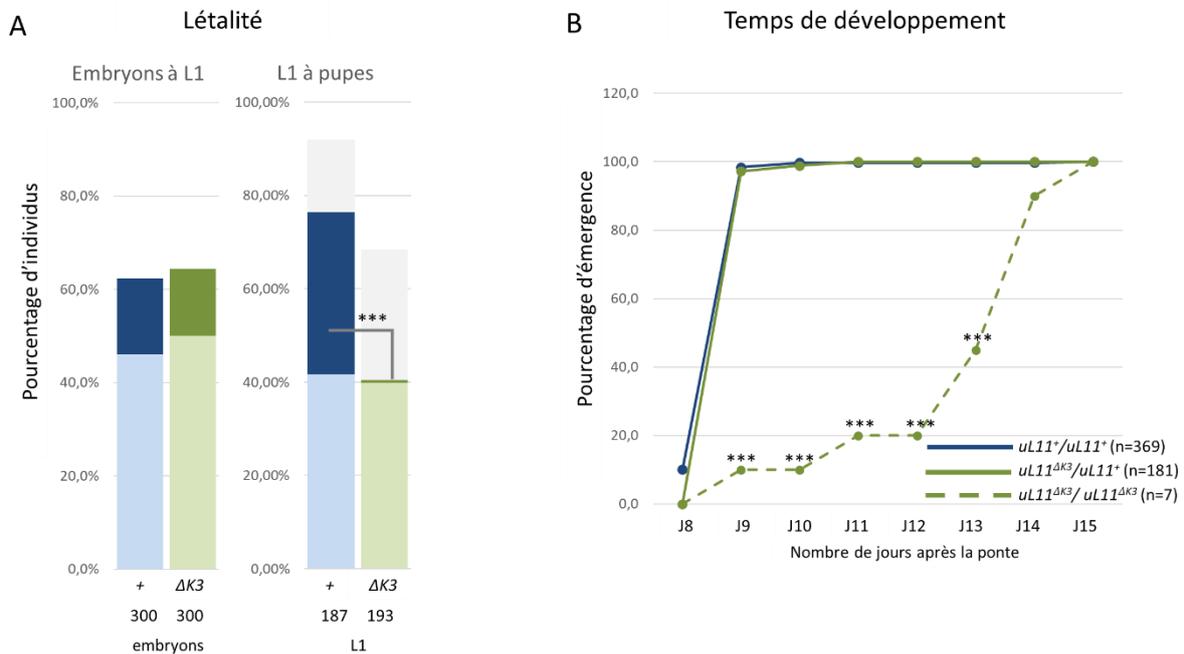


Figure 29 Létalité et temps de développement des individus $uL11^{AK3}$.

A-Létalité des mutants $uL11^{AK3}$. Les parents $uL11/CyO$, $Dfd-EYFP$ (ou $uL11^{AK3}$) ont été croisés entre eux. Trois cents embryons de chaque génotype ont été transférés sur une boîte d'agarose. Les larves de premier stade ont été comptées. A gauche : pourcentage de larves de premier stade $uL11/uL11$ (ou mutants) et $uL11/CyO$, $Dfd-EYFP$ (ou mutants) ayant émergé. A droite : pourcentage de pupes $uL11/uL11$ (ou mutants) et $uL11/CyO$, $Dfd-EYFP$ (ou mutants). Les nombres d'embryons et de pupes sont indiqués sous chaque histogrammes. Les individus

hétérozygotes sont représentés avec les couleurs foncées et les homozygotes avec les couleurs claires. Bleu : $uL11^+$, vert : $uL11^{AK3}$.

*B- Temps de développement des individus $uL11^{AK3}$. Graphique représentant le pourcentage d'adultes ayant émergé en fonction du temps. Le nombre total d'individus est indiqué en légende. Les individus hétérozygotes sont représentés avec les lignes pleines et les homozygotes avec les lignes pointillées. Bleu : $uL11^+$, vert : $uL11^{AK3}$. Test de Chi2 : *** p -value<0.001; ** p -value<0.01; * p -value<0.05.*

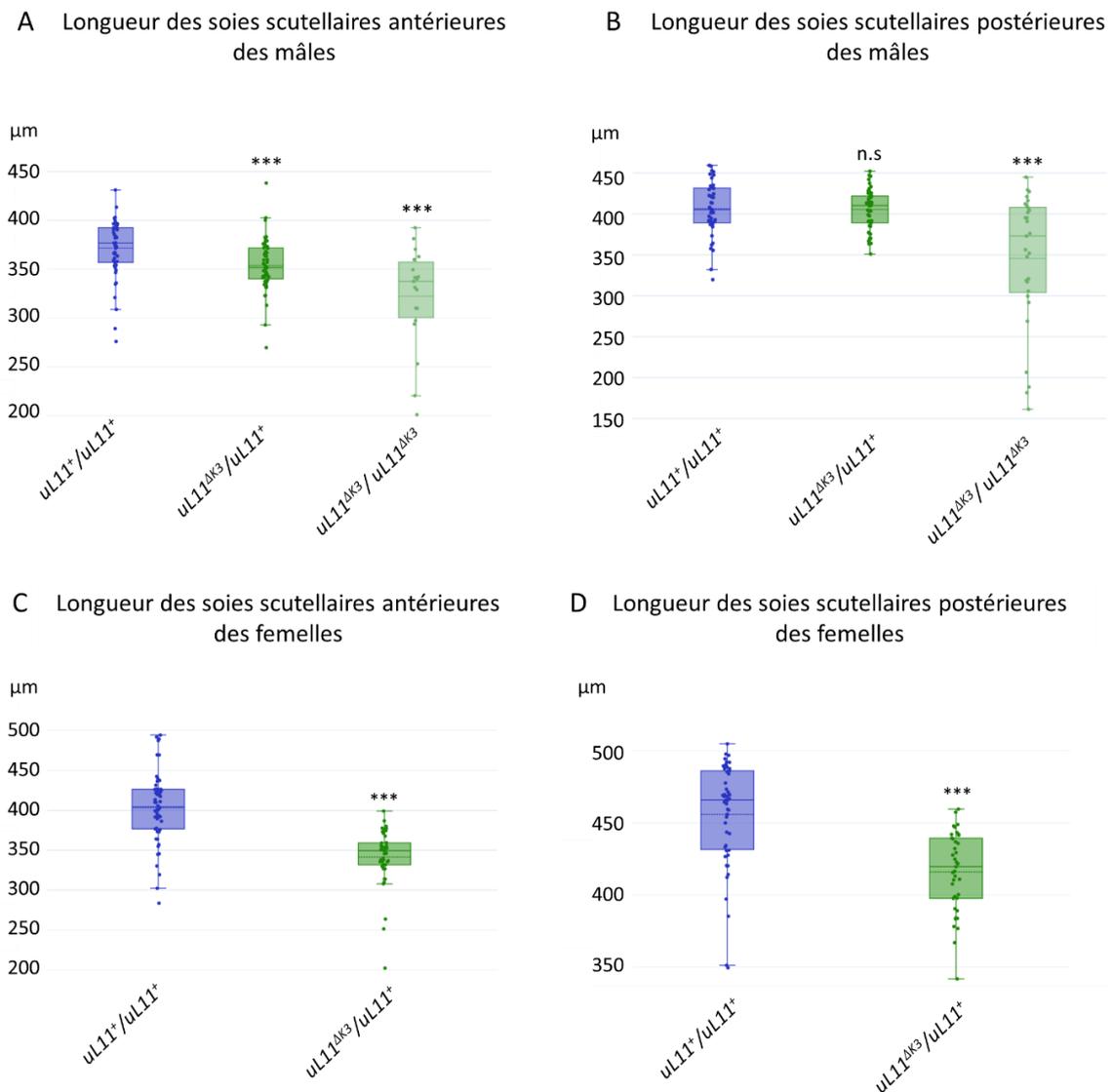


Figure 30 Analyse de la longueur des soies des mutants $uL11^{\Delta K3}$ mâles et femelles.

Après dissection des ailes, des pattes et de la tête, les individus adultes ont été placés dans des puits d'agarose puis photographiés.

A-Longueur des soies scutellaires antérieures des mâles sauvages (en bleu ; $n=45$), $uL11^{\Delta K3/+}$ (en vert foncé, $n=52$) et $uL11^{\Delta K3}/uL11^{\Delta K3}$ (en vert clair, $n=19$).

B- Longueur des soies scutellaires postérieures des mâles sauvages (en bleu ; $n=44$), $uL11^{\Delta K3/+}$ (en vert foncé, $n=51$) et $uL11^{\Delta K3}/uL11^{\Delta K3}$ (en vert clair, $n=29$).

C-Longueur des soies scutellaires antérieures des femelles sauvages (en bleu ; $n=54$) et $uL11^{\Delta K3/+}$ (en vert, $n=43$). Aucune femelles $uL11^{\Delta K3}/uL11^{\Delta K3}$ n'a été obtenue.

D- Longueur des soies scutellaires postérieures des femelles sauvages (en bleu ; $n=51$) et $uL11^{\Delta K3/+}$ (en vert, $n=30$).

t-tests: *** p -value < 0.001 ; ns: non significatif

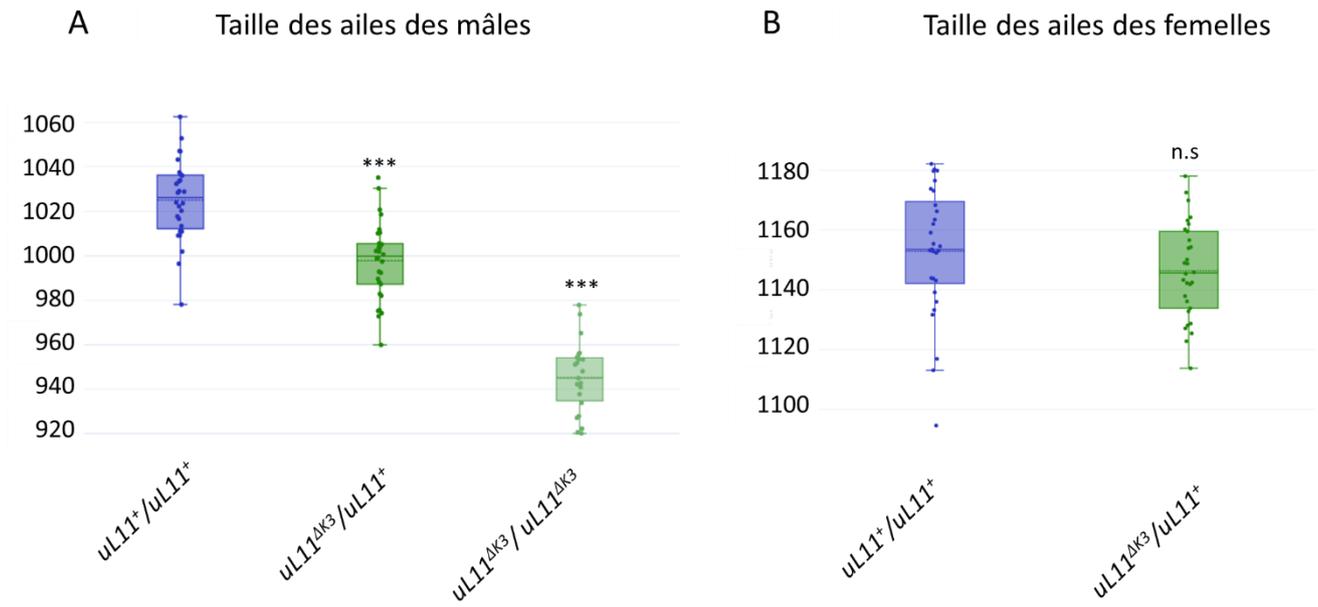


Figure 31 Analyse de la taille des ailes des mutants $uL11^{\Delta K3}$ mâles et femelles.

A- Taille des ailes des mâles sauvages (en bleu ; $n=28$), $uL11^{\Delta K3}/+$ (en vert foncé, $n=53$) et $uL11^{\Delta K3}/uL11^{\Delta K3}$ (en vert clair, $n=13$).

B- Taille des ailes des femelles sauvages (en bleu ; $n=29$) et $uL11^{\Delta K3}/+$ (en vert, $n=30$). Aucune femelles $uL11^{\Delta K3}/uL11^{\Delta K3}$ n'a été obtenue.

t-tests comparé aux individus sauvages: *** p -value < 0.001 ; ns: non significatif

Le taux global de traduction chez les individus hétérozygotes $uL11^{\Delta K3}$ n'est pas affecté (**Figure 32**). En revanche, il pourrait l'être dans les homozygotes. Cependant, la forte létalité des individus homozygotes $uL11^{\Delta K3}$ ne m'a pas permis de réaliser l'expérience sur ce génotype.

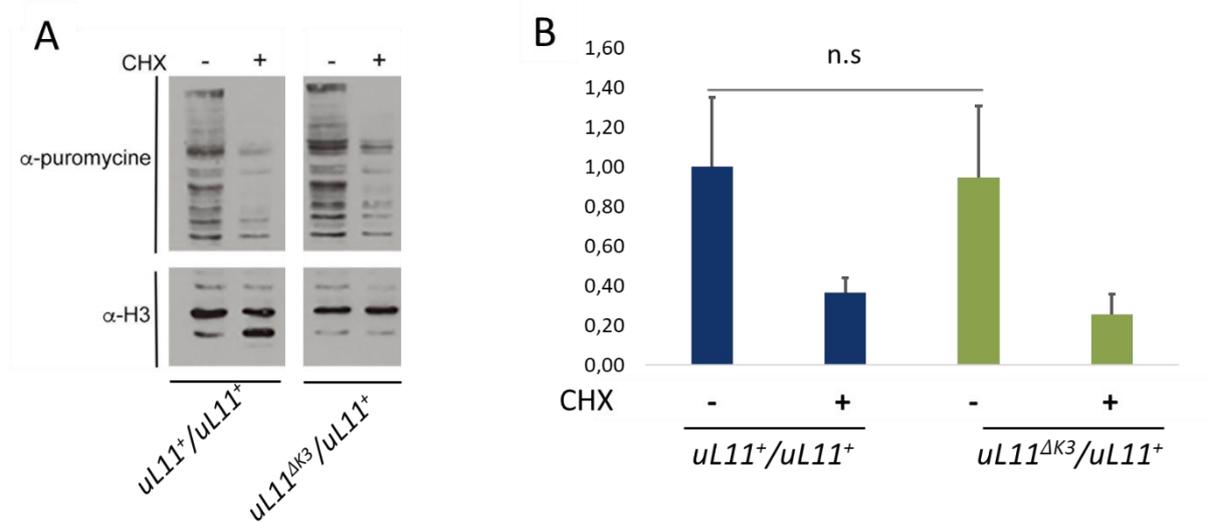


Figure 32 Taux de traduction des mutants $uL11^{\Delta K3}$

A-Western blot montrant l'incorporation de puromycine dans les larves $uL11^{\Delta K3/+}$ comparé aux larves sauvages, avec (+) ou sans (-) cycloheximide (CHX), un inhibiteur de la traduction chez les eucaryotes. L'incorporation de puromycine a été révélée à l'aide d'un anticorps dirigé contre la puromycine. L'histone H3, révélée avec un anti-pan-H3, est utilisée comme témoin de charge.

B-Quantification du signal de la puromycine dans les mutants $uL11^{\Delta K3/+}$ avec (+) ou sans (-) cycloheximide (CHX). Le signal de la puromycine est rapporté au signal de l'histone H3, puis normalisé par rapport au signal des larves sauvages. t-tests: n.s : non significatif.

III.3- Interactions génétiques entre *uL11^{AK3}* et *corto*

Afin de déterminer si les phénotypes *Minute* des mutants *uL11^{AK3}* proviennent de l'interaction entre *uL11* et *Corto*, nous avons testé les interactions génétiques entre les mutants d'*uL11^{AK3}* et les mutants *corto* (*corto^{L1}*, *corto⁰⁷¹²⁸*, et *corto⁴²⁰*). Les individus double hétérozygotes *uL11^{AK3}/+*, *corto⁴²⁰/+* ne présentent pas de létalité (**Tableau 4**). Il en va de même pour les individus double hétérozygotes *uL11^{AK3}/+*, *corto^{L1}/+* ou *uL11^{AK3}/+* ou *corto⁰⁷¹²⁸/+*. De plus, la longueur des soies des individus doubles hétérozygotes est identique à celle des individus contrôles.

Nous avons également tenté de réaliser des interactions génétiques entre les individus *uL11^{AK3}* et la surexpression du chromodomaine de *Corto* sous contrôle du pilote ubiquitaire *daughterless* (*da::Gal4*). Nous n'avons obtenu que quelques rares mouches *uL11^{AK3}/UAS-FHCD* ; *dagal4/+* ce qui ne nous a pas permis de poursuivre l'analyse.

Croisements	Descendants	Pourcentage observé	Effectif total
<i>w x w</i>	<i>+/+</i>	100	284
<i>corto⁴²⁰/TM6b, Ant, Hu x w</i>	<i>corto⁴²⁰/+</i>	52,9	220
	<i>TM6b, Ant Hu/+</i>	47,1	196
<i>w x corto⁴²⁰/TM6b, Ant, Hu</i>	<i>corto⁴²⁰/+</i>	55,6	249
	<i>TM6b, Ant Hu/+</i>	44,4	199
<i>uL11^{AK3}/SM5 x w</i>	<i>uL11^{AK3}/+</i>	50,5	221
	<i>SM5/+</i>	49,5	217
<i>w x uL11^{AK3}/SM5</i>	<i>uL11^{AK3}/+</i>	53,0	233
	<i>SM5/+</i>	47,0	207
<i>corto⁴²⁰/TM6b, Ant, Hu x uL11^{AK3}/SM5</i>	<i>uL11^{AK3}/+, corto⁴²⁰/+</i>	34,1	124
	<i>uL11^{AK3}/+, TM6b Ant Hu /+</i>	23,4	85
	<i>SM5/+, corto⁴²⁰/+</i>	24,2	88
	<i>SM5/+, TM6b Ant Hu/+</i>	18,4	67
<i>uL11^{AK3}/SM5 x corto⁴²⁰/TM6b, Ant, Hu</i>	<i>uL11^{AK3}/+, corto⁴²⁰/+</i>	34,7	152
	<i>uL11^{AK3}/+, TM6b Ant Hu /+</i>	25,1	110
	<i>SM5/+, corto⁴²⁰/+</i>	24,4	107
	<i>SM5/+, TM6b Ant Hu/+</i>	15,8	69

Tableau 4 Analyse de la létalité des individus doubles hétérozygotes *uL11^{AK3}/+*, *corto⁴²⁰/+*. Tableau présentant les croisements entre les mutants d'*uL11^{AK3}/SM5* et des mutants *corto⁴²⁰/TM6b, Ant Hu*. Pour chaque croisement, le pourcentage théorique et le pourcentage observé de chaque catégorie de descendant est indiqué. Deux expériences indépendantes ont été réalisées.

III.4- Interactions physiques entre uL11^{ΔK3} et Corto

Nous avons également réalisé des expériences de co-immunoprécipitation afin de tester l'interaction entre uL11^{ΔK3} et le chromodomaine de Corto. Pour cela, nous avons construit des plasmides permettant d'exprimer FLAG-CortoCD et uL11-Myc (ou uL11^{ΔK3}) dans des cellules S2 de drosophile. De manière inattendue, la protéine uL11^{ΔK3} interagit avec le chromodomaine de Corto (**Figure 33 B**).

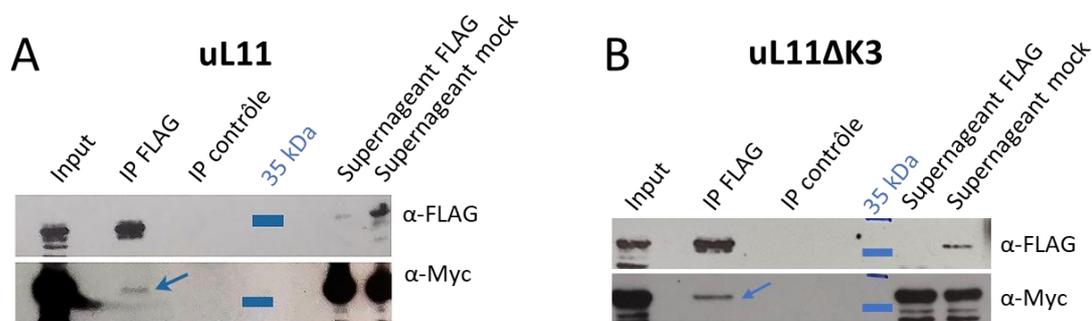


Figure 33 Analyse de l'interaction physique entre uL11^{ΔK3} et le chromodomaine de Corto. (A-B) Des cellules S2 de drosophile ont été co-transfectées avec les plasmides exprimant uL11-Myc (ou ^{ΔK3}) et FLAG-CortoCD. Les immunoprécipitations ont été réalisées avec des anticorps dirigés contre l'étiquette FLAG ou un anticorps témoin, et révélées par Western blot avec l'anticorps dirigé contre l'étiquette FLAG. IP : immunoprécipitation.

A- uL11-Myc co-immunoprécipite avec FLAG-cortoCD. B- uL11^{ΔK3}-Myc co-immunoprécipite avec FLAG-cortoCD

III.5- Conclusions

Impact de la mutation ^{ΔK3} sur l'activité d'uL11

Les individus uL11^{ΔK3} sont très différents des deux autres mutants d'uL11. En effet, les individus hétérozygotes ne présentent pas ou peu de phénotypes tandis que les homozygotes présentent des phénotypes *Minute*. L'allèle ^{ΔK3} est donc récessif. De plus, de manière très surprenante, uL11^{ΔK3} interagit avec le chromodomaine de Corto. Ces données suggèrent que les phénotypes *Minute* ne sont pas liés à l'interaction entre uL11 et Corto.

Afin de préciser l'impact de la délétion de la lysine 3 d'uL11 sur la traduction, il serait intéressant de purifier des polysomes afin de savoir si la protéine uL11^{ΔK3} est incorporée dans les ribosomes et dans les polysomes. Il serait également intéressant d'analyser la fidélité ou la vitesse d'élongation de la traduction. Par ailleurs, la queue N-terminale d'uL11 pourrait être

impliquée dans la régulation de la transcription. Afin de déterminer si la délétion de la lysine 3 d'uL11 affecte son activité transcriptionnelle, il faudrait analyser le transcriptome de mutants *uL11^{ΔK3}* et étudier la fixation d'uL11^{ΔK3} sur la chromatine par immunoprécipitation.

Partie 3 – Analyse de l'activité transcriptionnelle d'uL11 lors d'une restriction nutritive

I- Présentation des résultats

Chez *Saccharomyces cerevisiae*, uL11 est impliquée dans l'activation transcriptionnelle de la voie PHO lorsque le milieu est pauvre en phosphates, ce qui suggère que l'activité transcriptionnelle d'uL11 pourrait, d'une façon générale, dépendre des conditions environnementales (Tu *et al.*, 2011). Chez la drosophile, la surexpression d'*uL11* augmente l'expression de nombreux gènes *RPG* et *RiBi*. On peut émettre l'hypothèse qu'uL11 induirait l'expression de ces gènes dans un milieu pauvre, optimisant ainsi la traduction et la croissance. Nous avons étudié trois mutants d'*uL11* qui présentent des comportements très différents. Dans les mutants *uL11^{K3A}* on observe une diminution de la traduction globale. Ainsi il est difficile de séparer les effets traductionnels des effets transcriptionnels. Au sein des mutants *uL11^{ΔK3}*, la protéine interagit toujours avec Corto, suggérant que la transcription ne serait pas affectée. De plus, *uL11^{K3A}* et *uL11^{ΔK3}* présentent un fort taux de létalité. Ainsi, pour l'étude sur milieu restrictif, nous nous sommes concentrés sur le mutant *uL11^{K3Y}* dont la traduction globale est similaire à celle des individus sauvages suggérant que seule la transcription serait impactée. Nous avons analysé le comportement des mutants *uL11^{K3Y}* sur un milieu contenant seulement 10% de levure comparé au milieu classique. Nous avons observé que la croissance du mutant *K3Y* est effectivement plus affectée par un régime restrictif que la croissance des individus sauvages. Nous avons ensuite étudié le transcriptome de ces mutants sur milieu restrictif ou standard comparé aux individus sauvages. On observe que certains gènes impliqués dans le développement de l'organisme sont dérégulés dans les individus *uL11^{K3Y}* sur un milieu restrictif.

II- Matériel et méthodes

Lignées de *D.melanogaster* et élevage

Le milieu pauvre utilisé dans ces expériences présente une réduction de 90% de la levure (0,75g pour 100 mL de milieu). Les autres composants n'ont pas été réduits.

Mesure de la létalité et du temps de développement

Afin de quantifier le temps de développement, 10 femelles et 5 mâles ont été croisés soit sur des tubes de milieu standard soit sur des tubes de milieu restrictif. Afin de synchroniser les naissances, chaque ponte dure 7h. Les naissances des adultes ont été comptabilisées tous les jours à partir du 9^{ème} jour après la ponte. Des tests de Chi² ont été réalisés pour comparer les génotypes.

Analyses statistiques

Pour les mesures des soies et des ailes, nous avons réalisé des ANOVA à 2 facteurs : génotype et milieu. Lorsque les variances n'étaient pas homogènes, nous avons utilisé un test ANOVA non paramétrique à 2 facteurs (« Aligned rank transformation ANOVA »).

III- Résultats

III.1- Phénotypes des mutants *uL11^{K3Y}* élevés sur milieu restrictif

Le milieu restrictif induit un retard de développement d'environ 3 jours à la fois chez les individus contrôles *w¹¹¹⁸* et chez les individus mutants *uL11^{K3Y}*. Cependant, sur milieu restrictif, de façon inattendue, le développement des individus *uL11^{K3Y}* est significativement plus rapide que celui des individus sauvages (**Figure 34**).

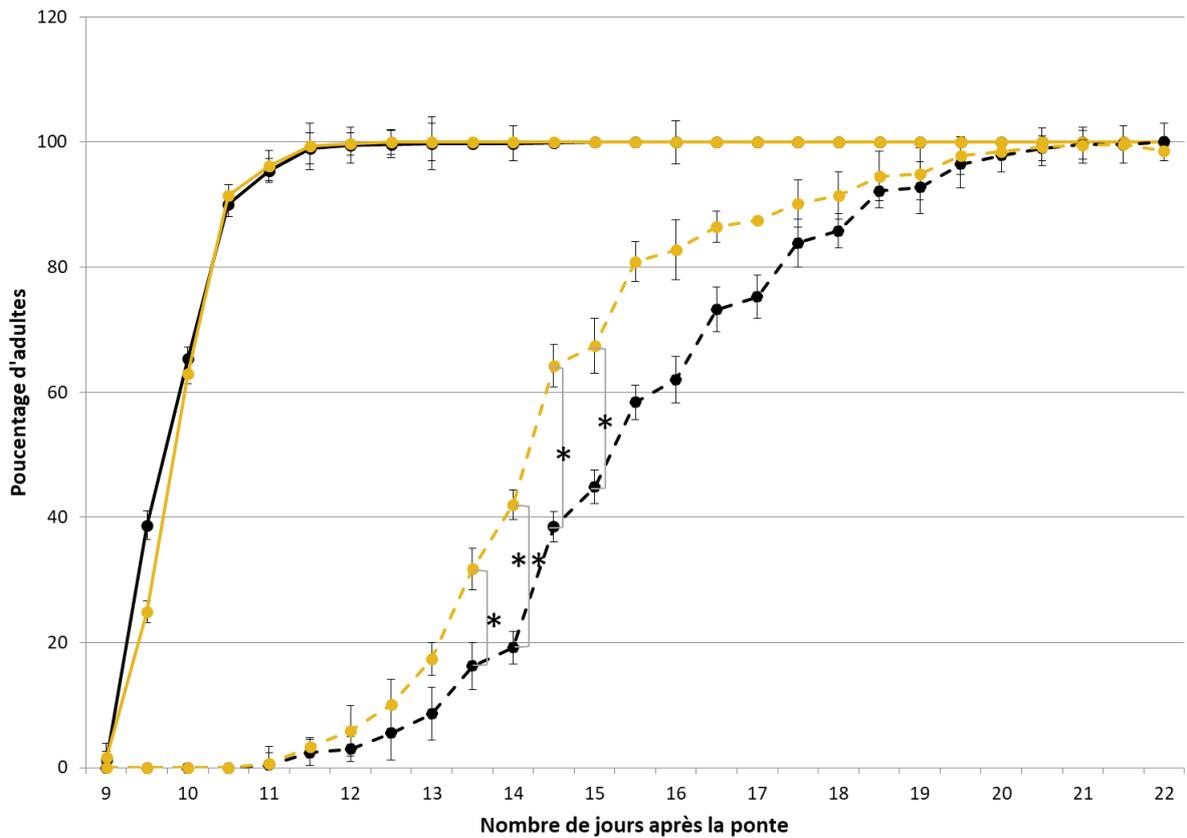


Figure 34 Temps de développement des individus $uL11$ et $uL11^{K3Y}$ élevés en milieu normal ou restrictif.

Observation du pourcentage d'adultes ayant émergé du jour 9 au jour 24 après la ponte. Lignes pleines : milieu normal, lignes pointillées : milieu restrictif en levure. Noir : $uL11^+$, jaune : $uL11^{K3Y}$. Tests de Chi2 : comparaison des individus $uL11$ et des individus $uL11^{K3Y}$ élevés sur milieu restrictif : *** p -value < 0.001; ** p -value < 0.01; * p -value < 0.05.

Chez les mâles $uL11^{K3Y}$ et contrôles, la longueur des soies scutellaires antérieures et postérieures chez les mouches ne varie pas quel que soit le milieu d'élevage (*i.e.* il n'y a pas d'effet ni du génotype, ni du milieu, ni de l'interaction génotype x milieu) (**Figure 35 A et B**). Chez les femelles, les soies scutellaires antérieures sont plus courtes chez les individus $uL11^{K3Y}$ comparé aux individus sauvages mais il n'y a pas d'effet ni du milieu, ni de l'interaction. En revanche il n'y a pas d'effet ni du génotype, ni du milieu, ni de l'interaction sur la longueur des soies scutellaires postérieures des femelles (**Figure 35 C et D**). Globalement, il n'y a donc pas d'impact particulier d'une restriction nutritive sur la longueur des soies chez le mutant $uL11^{K3Y}$.

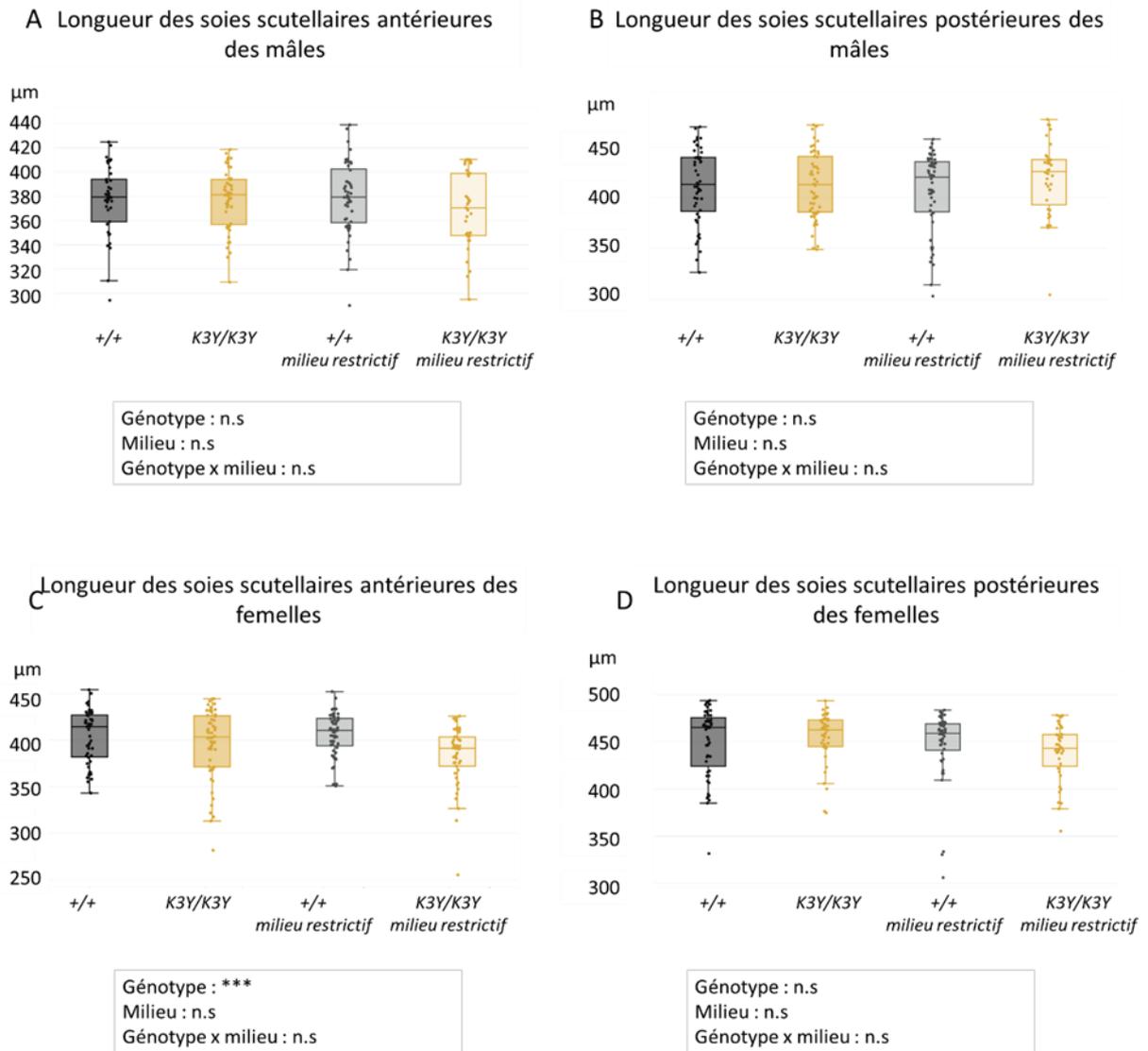


Figure 35 Analyse de la longueur des soies des mutants $uL11$ et $uL11^{K3Y}$ élevés en milieu normal ou restrictif.

A-Longueur des soies scutellaires antérieures des mâles $uL11$ (noir et gris ; $n=42$ et $n=49$ respectivement) et $uL11^{K3Y}$ (jaune foncé et jaune clair, $n=49$ et $n=35$ respectivement).

B-Longueur des soies scutellaires postérieures des mâles sauvages (noir et gris ; $n=49$ et $n=50$ respectivement) et $uL11^{K3Y}/uL11^{K3Y}$ (jaune foncé et jaune clair, $n=52$ et $n=36$ respectivement).

C-Longueur des soies scutellaires antérieures des femelles sauvages (noir et gris ; $n=47$ et $n=52$ respectivement) et $uL11^{K3Y}/uL11^{K3Y}$ (jaune foncé et jaune clair, $n=53$ et $n=46$ respectivement).

D- Longueur des soies scutellaires postérieures des femelles sauvages (noir et gris ; $n=52$ et $n=42$ respectivement) et $uL11^{K3Y}/uL11^{K3Y}$ (jaune foncé et jaune clair, $n=49$ et $n=40$ respectivement).

ANOVA à deux facteurs (génotype et milieu): *** p -value < 0.001; ns: non significatif

De manière similaire, nous avons mesuré la taille des ailes chez les individus $uL11^{K3Y}$ et sauvages élevés sur milieu normal ou pauvre. Chez les mâles on observe un effet du génotype, du milieu et de l'interaction (**Figure 36 A**). Notamment, les mâles $uL11^{K3Y}$ sont plus affectés que les mâles sauvages sur milieu restrictif. Concernant les femelles on observe un effet du milieu et de l'interaction (**Figure 36 B**). Les ailes des individus $uL11^{K3Y}$ et sauvages sont comparables sur milieu standard, en revanche les ailes des individus $uL11^{K3Y}$ sont plus petites que les ailes des individus sauvages sur milieu restrictif.

Ces données suggèrent que, sur milieu pauvre, les larves $uL11^{K3Y}$ atteignent la masse critique plus rapidement que les larves sauvages mais ne parviennent pas à compenser et donnent des adultes de plus petite taille. Elles suggèrent qu' $uL11$ est impliquée dans l'homéostasie de la croissance.

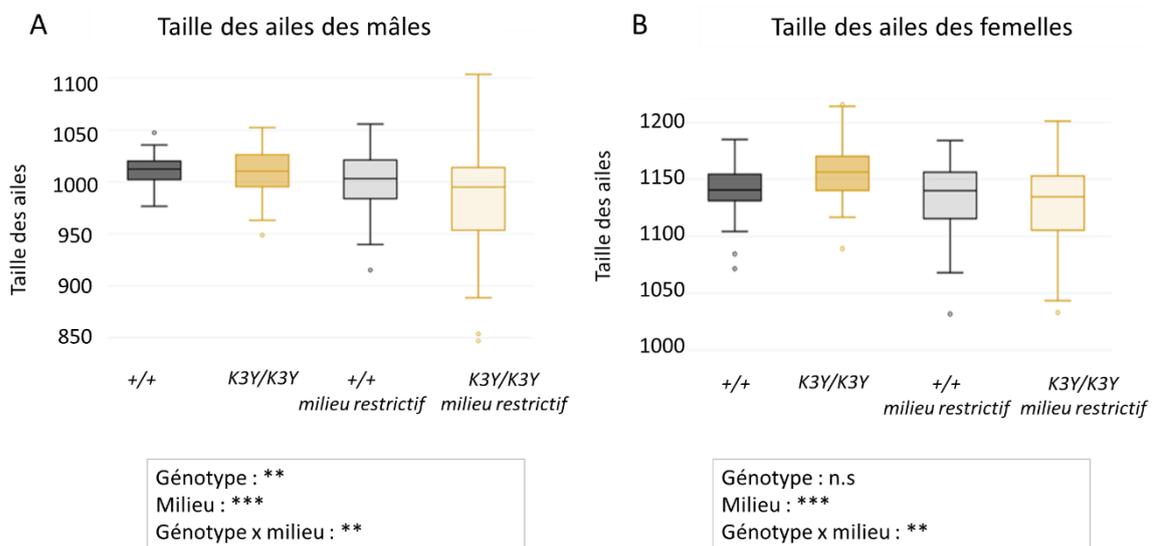


Figure 36 Analyse de la taille des ailes des mutants $uL11$ et $uL11^{K3Y}$ élevés en milieu normal ou restrictif.

A-Taille des ailes des mâles sauvages (noir et gris ; $n=90$ et $n=90$ respectivement) et $uL11^{K3Y}/uL11^{K3Y}$ (jaune foncé et jaune clair, $n=90$ et $n=87$ respectivement).

B- Taille des ailes des femelles sauvages (noir et gris ; $n=90$ et $n=86$ respectivement) et $uL11^{K3Y}/uL11^{K3Y}$ (jaune foncé et jaune clair, $n=90$ et $n=89$ respectivement).

“Aligned Rank Transformation ANOVA” à deux facteurs (génotype et milieu): *** p -value < 0.001; ** p -value < 0.01; ns: non significatif

III.2- Etude du transcriptome des mutants $uL11^{K3Y}$ sur milieu restrictif

Nous avons ensuite étudié le transcriptome des individus sauvages ou $uL11^{K3Y}$ sur milieu normal ou restrictif. L'analyse en composante principale (PCA) montre que les échantillons $uL11^{K3Y}$ sur milieu restrictif sont isolés des autres échantillons (**Figure 37**).

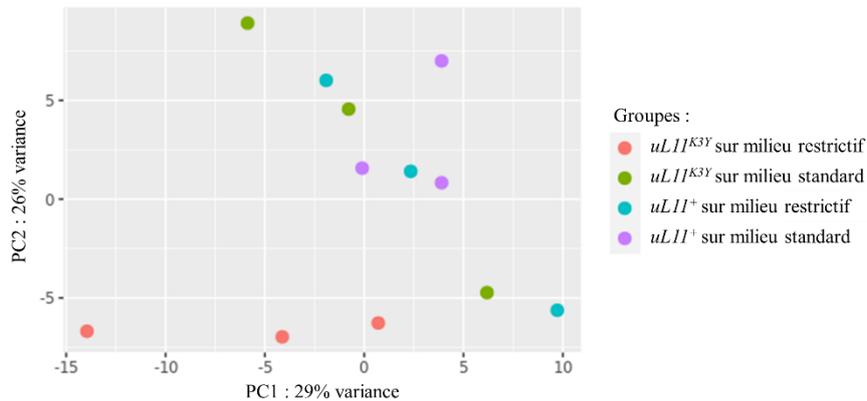


Figure 37 Analyse en composante principale.

Analyse en composante principale des trois répliques $uL11^{K3Y}$ sur milieu restrictif ou standard (respectivement en rouge et en vert), et $uL11^+$ sur milieu restrictif ou standard (respectivement en bleu et en violet). Les répliques $uL11^{K3Y}$ sur milieu standard et $uL11^+$ sur milieu restrictif se confondent.

On trouve peu de gènes dérégulés dans les différentes conditions (p-value <0,05 et \log_2 fold change >0,58 ou <-0,58) (**Tableau 5**). En milieu normal, l'analyse différentielle des mutant $uL11^{K3Y}$ comparés aux individus sauvages révèle que des gènes impliqués dans le métabolisme du glutathion, *GstE6*, *Gst8* et *Idh*, sont plus exprimés dans les mutants $uL11^{K3Y}$ (Grunchec *et al.*, prochainement soumis pour publication). En analysant les individus $uL11^+$ élevés sur milieu restrictif comparé au milieu normal on observe que des gènes impliqués dans la formation de la cuticule, *Cpr51A*, *Lcp1* et *Lcp2* sont moins exprimés en condition restrictive. Peu de gènes sont dérégulés chez les individus $uL11^{K3Y}$ ou sauvages élevés sur milieu restrictif comparé au milieu normal, suggérant que l'élevage sur milieu restrictif a peu d'effet sur le transcriptome. L'analyse des individus $uL11^{K3Y}$ élevés sur milieu restrictif comparée aux individus sauvages élevés sur milieu restrictif révèle que 84 gènes sont plus exprimés et 43 gènes sont moins exprimés. Parmi les gènes plus exprimés, on trouve *kismet* (*kis*) et *nejire* (*nej*), deux gènes impliqués dans le développement de l'organisme et la prolifération cellulaire

(Annexe 4 et 5). *nej* code pour l’histone acétyltransférase dCBP du complexe Trithorax Trx acétylation complex 1 (TAC1) et *kismet* code une protéine Trithorax qui contrôle l’élargissement de la transcription et interagit avec des effecteurs de la voie TOR (Target of rapamycin). En condition de restriction nutritive, l’activation de ces gènes par uL11 pourrait être à l’origine d’une stimulation transcriptionnelle plus globale des gènes impliqués dans la croissance. Ces données suggèrent que le contrôle transcriptionnel par uL11 est important pour l’homéostasie de la croissance dans un milieu défavorable.

Conditions	Gènes dérégulés	Gènes plus exprimés	Gènes moins exprimés
$uL11^{K3Y-} - uL11^{+}$ (milieu standard)	75	43	32
$uL11^{K3Y-} - uL11^{+}$ (milieu restrictif)	127	84	43
$uL11^{+}$ milieu restrictif ⁻ $uL11^{+}$ milieu standard	74	30	44
$uL11^{K3Y}$ milieu restrictif ⁻ $uL11^{K3Y}$ milieu standard	103	61	42

Tableau 5 Gènes dérégulés dans les individus $uL11^{K3Y}$ sur milieu restrictif ou standard et $uL11^{+}$ sur milieu restrictif ou standard.

IV- Conclusions

Afin de tester l'impact d'une carence nutritive sur les mutants *uL11*, nous nous sommes concentrés sur le mutant *uL11^{K3Y}* dont la traduction globale est similaire à celle des individus sauvages. L'ensemble de nos données suggèrent que les individus *uL11^{K3Y}* élevés sur milieu restrictif sont plus affectés par la restriction nutritive que les individus sauvages. Sur milieu restrictif, on observe notamment une diminution de l'expression de *kis* et *nej* dans les individus *uL11^{K3Y}* comparés aux individus sauvages. *Nej* code pour une histone acétyltransférase qui fait partie du complexe TAC1 et interagit avec les protéines Polycomb, Trithorax, brahma et trithorax-related. *Kis* code pour un facteur de transcription qui fait partie des protéines trithorax (Kassis *et al.*, 2017). De plus, Kis interagit avec FoxO et S6KII, des protéines impliquées dans la voie TOR, qui contrôle la croissance en réponse à la disponibilité en nutriments dans l'environnement (Hietakangas and Cohen, 2009). La kinase TOR contrôle de nombreux processus régulant la croissance cellulaire, comme la biogenèse des ribosomes (Martin, 2006). Ainsi, il serait intéressant d'étudier les interactions entre uL11 et les protéines de la voie TOR.

DISCUSSION

Discussion et perspectives

Au cours de mes travaux, j'ai cherché à élucider le rôle de la protéine ribosomique uL11 dans la transcription. Pour cela, j'ai étudié trois mutants du gène *uL11*. Ces mutants présentent des phénotypes différents. En effet, chez les mutants *uL11^{K3A}*, les phénotypes sont dominants, alors qu'ils sont récessifs chez les mutants *uL11^{ΔK3}*. Concernant les mutants *uL11^{K3Y}*, nous n'avons observé aucun phénotype parmi ceux étudiés. De manière inattendue, les phénotypes observés chez les mouches *uL11^{K3A}* hétérozygotes correspondent à des phénotypes *Minute*, classiquement associés à la délétion d'un gène de protéine ribosomique, alors que nous les observons dans le cas de remplacement d'un unique acide aminé d'*uL11*. De plus, la protéine uL11K3A ne semble pas être moins stable que la protéine sauvage.

La létalité élevée des mutants *uL11^{K3A}* et *uL11^{ΔK3}* suggère que l'intégrité de la queue N-terminale d'uL11 est nécessaire pour maintenir son activité. Les différentes mutations induisent des phénotypes de sévérité variable, suggérant que l'activité de la partie N-terminale d'uL11 dépend fortement de sa structure, de sa charge ou de son hydrophobicité. La structure d'uL11 n'est pas connue mais il a été démontré que la méthylation d'un résidu augmente l'hydrophobicité de la protéine. La tyrosine étant un acide aminé hydrophobe, elle pourrait restaurer l'hydrophobicité de la queue N-terminal d'uL11, ce qui pourrait expliquer l'absence de phénotype *Minute* dans les mutants *uL11^{K3Y}*.

I- Implication d'uL11 dans la traduction

Les tissus nécessitant une importante synthèse protéique, comme par exemple les cellules souches germinales de la drosophile, sont ceux qui sont affectés dans les mutants *Minute* (Zhang *et al.*, 2014, Marygold *et al.*, 2005). En accord avec cela, la fertilité des mutants *uL11^{K3A}* est très faible. Dans les mutants *Minute*, deux processus peuvent être limitants, la biogenèse des ribosomes, et/ou la traduction *per se*. La biogenèse des ribosomes requiert la coordination de l'expression et de l'assemblage en ribosomes de plusieurs centaines de protéines ribosomiques et d'ARNr. L'assemblage des pré-ribosomes se fait de façon co-transcriptionnelle lors de la synthèse des ARNr dans le nucléole. La délétion d'*uL11* chez la levure induit une accumulation des précurseurs d'ARNr (de la Cruz *et al.*, 2015). Il est ainsi probable qu'uL11 joue un rôle particulier dans l'assemblage des ribosomes. Des données non publiées du laboratoire montrent que Corto, un Enhancer de Trithorax et Pollycomb avec lequel uL11 interagit, se fixe sur les ARN ribosomiques. De plus, l'une de protéines du complexe

Polycomb PRC2, complexe avec lequel Corto interagit, est présente dans le nucléole (Chen *et al.*, 2008). Ces données suggèrent que Corto participerait à la maturation des ARNr lors de l'assemblage des ribosomes. Son partenaire uL11 pourrait être associé à cette activité. Afin de tester cette hypothèse, il serait intéressant de rechercher la présence d'uL11 dans le nucléole et d'analyser les ARNr (quantité, maturation) dans les mutants *uL11*.

La protéine ribosomique uL11 est localisée à la base de la tige P du ribosome, et fait partie du centre associé aux GTPases. Elle est impliquée dans l'initiation de la traduction car elle favorise le relâchement du facteur Tif6 et contribue à l'association des deux sous-unités ribosomiques lors de la formation du ribosome sur l'ARNm (Wawiorcka *et al.*, 2016). Par ailleurs, elle interagit avec les facteurs d'élongation et de terminaison de la traduction eEF2 et RF1 suggérant qu'elle pourrait également être impliquée dans l'élongation et dans la terminaison de la traduction (Agrawal *et al.*, 2001, Sato *et al.*, 2006). Enfin, uL11 est importante pour la fidélité de la traduction (Wawiorcka *et al.*, 2016). Le taux global de traduction du mutant *uL11^{K3A}* diminuant alors que la protéine uL11K3A semble être normalement incorporée dans les polysomes, il est possible que la vitesse ou la fidélité de traduction soit perturbées dans ce mutant. Afin d'étudier l'impact d'uL11 sur la vitesse d'élongation de la traduction, il serait intéressant de mesurer l'incorporation de méthionine S³⁵. Il serait également intéressant d'analyser la fidélité de la traduction chez les mutants *uL11* en utilisant le système rapporteur double luciférase développé par Salas-Marco *et al.* qui permet de détecter les erreurs d'incorporation (Salas-Marco *et al.*, 2005).

Des études récentes montrent que les ribosomes sont hétérogènes, leur composition peut varier (Slavov *et al.*, 2015). Cette hétérogénéité reflète une spécialisation dans la traduction de certains ARNm (Xue *et al.*, 2015) (pour revue : Genuth and Barna, 2018, Ferretti et Karbstein, 2019, Emmott *et al.*, 2019, Xue et Barna, 2012, Guo, 2018). En utilisant des mutants non phosphorylables (S38A) ou mimant une phosphorylation constitutive (S38D) d'uL11, le rôle de la phosphorylation de la sérine 38 d'uL11 dans la traduction spécifique d'ARNm a été mis en évidence. La traduction globale chez ces mutants n'est pas affectée. Cependant, on note une répartition différente d'uL11S38A et d'uL11S38D dans les ribosomes: uL11S38A est présente dans la sous-unité 60S non appariée, dans les ribosomes et dans les polysomes, alors qu'uL11S38D n'est détectée que dans la sous-unité 60S non appariée et les ribosomes. La forme phosphorylée d'uL11 assurerait la traduction d'ARNm spécifiques (impliqués dans le « processing » des ARN, la traduction et le cycle cellulaire) (Imami *et al.*, 2018). Il serait intéressant de réaliser des expériences de « polysome profiling » (Kuersten *et al.*, 2013) ou de « "Puromycin-associated nascent chain proteomics » (PUNCH-P) (Aviner *et al.*, 2013) afin

d'identifier les ARNm associés aux polysomes porteurs de ribosomes uL11K3A ou de ribosomes uL11.

II- La méthyltransférase d'uL11

uL11 interagit avec le chromodomaine de Corto via son extrémité N-terminale lorsque celle-ci est triméthylée sur la lysine située en position 3, une modification conservée au cours de l'évolution. Afin d'étudier le rôle de cette triméthylation, nous avons choisi de générer des mutants de la lysine 3 d'*uL11*. L'étude de la méthyltransférase responsable de cette triméthylation apparaît comme une alternative pour comprendre la fonction de cette triméthylation. Chez *S. pombe*, la méthylation de la lysine 3 d'uL11 est réalisée dans le nucléole par SET11 [Rkm2 (Ribosomal lysine méthyltransférase 2) chez *S. cerevisiae*]. Les levures dans lesquelles le gène *Set11* est délété ne présentent pas de défauts de la traduction, la triméthylation d'uL11 n'est donc pas essentielle pour l'activité des ribosomes (Sadaie *et al.*, 2008). Chez la drosophile, la méthyltransférase de la lysine 3 d'uL11 a récemment été identifiée (dSET11) (Hélène Thomassin, résultats non publiés). Les domaines SET de SET11 et dSET11 présentent 26% d'identité. Hélène Thomassin a en effet montré que dSET11 est capable de méthyler uL11 *in vitro* (résultats non publiés). L'extinction ubiquitaire du gène *dSET11* en utilisant le système UAS/Gal4 induit d'importants défauts de croissance et une forte létalité aux stades L2/L3. L'inactivation dans le disque d'aile entraîne une létalité au stade pupal, un retard de développement et des défauts importants des ailes (Hélène Thomassin, résultats non publiés). Les phénotypes sont plus sévères que les phénotypes induits par les mutants d'uL11, suggérant que cette méthyltransférase possède d'autres cibles qu'uL11.

III- Activité transcriptionnelle d'uL11

Dans les disques ailes surexprimant *uL11* ou *cortoCD*, un grand nombre de gènes impliqués dans la biogenèse des ribosomes *RiBi* et de gènes codant des protéines ribosomiques *RPG* sont surexprimés (Coléno-Costes *et al.*, 2012). Ces gènes sont également plus exprimés dans les mutants *corto*⁴²⁰/*corto*^{L1}, suggérant que la surexpression du chromodomaine de Corto se comporte comme un dominant négatif. Chez *S. cerevisiae*, la délétion de l'un ou l'autre des paralogues d'*uL11* modifie l'expression de certains gènes impliqués dans la traduction (Komili *et al.*, 2007, Molon *et al.*, 2020). En revanche, le transcriptome des mutants *uL11*^{K3A} ou *uL11*^{K3Y} ne révèle pas de diminution de l'expression des *RiBi* ou des *RPG* comme on aurait pu s'y

attendre. Cette apparente incohérence pourrait en réalité refléter une activité transcriptionnelle différente d'uL11 selon les conditions. En conditions normales, uL11 contrôlerait l'expression des cibles transcriptionnelles révélées par notre expérience de RNAseq. La surexpression d'uL11 induite par des signaux particuliers pourrait stimuler l'expression des *RiBi* et des *RPG*, induire la biogenèse des ribosomes et augmenter la traduction. Il serait donc intéressant d'identifier les voies de signalisation cellulaires qui contrôlent l'expression d'uL11. Par ailleurs, en cellule humaine, l'induction d'un stress ribosomique par ajout d'actinomycine D induit la relocalisation d'uL11 du cytoplasme vers le nucléole (Derylo *et al.*, 2017). Cette relocalisation pourrait participer au contrôle de l'expression ou de la maturation des ARNr.

Le mutant *uL11^{K3A}* présente à la fois une baisse globale de la traduction et une dérégulation de la transcription d'un certain nombre de gènes, il est donc difficile de dissocier les effets liés à la traduction de ceux liés à la transcription. En revanche, la traduction du mutant *uL11^{K3Y}* ne semblant pas être affectée, au moins à l'échelle à laquelle nous l'avons analysée, il est vraisemblable que les gènes dérégulés correspondent à de vraies cibles transcriptionnelles, directes ou non, d'uL11.

Les séquences *cis*-régulatrices des 84 gènes dérégulés dans le mutant *uL11^{K3Y}* présentent un motif commun de fixation du facteur de transcription Mad. Mad est un effecteur de la voie de transduction du signal BMP, l'une des branches de la voie TGF- β (*Transforming Growth Factor- β*) chez la drosophile. Cette voie joue un rôle important dans la régulation de la croissance cellulaire, de la différenciation et du développement chez de nombreux organismes. Lors de l'activation de la voie, Mad, un membre de la famille Smad, est phosphorylé et se lie au co-Smad Med. La translocation de ce dimère dans le noyau permet l'activation des cibles transcriptionnelles de la voie de concert avec d'autres facteurs nucléaires. uL11 pourrait être l'un de ces co-facteurs.

Parmi les gènes surexprimés dans les mutants *uL11^{K3A}* et *uL11^{K3Y}* se trouvent les gènes *GstE1*, *GstE6* et *GstE8* qui codent des Glutathion S-transférases (GST), des enzymes impliquées dans la détoxification cellulaire, notamment dans l'élimination des ROS (*Reactive Oxygen Species*). De manière intéressante, des gènes *Gst* sont également surexprimés dans des disques imaginaux d'ailes hétérozygotes pour *uS3/RPS3* ou *eS17/RPS17* (Lee *et al.*, 2019, Ji *et al.*, 2019). Parmi ceux-ci, 5 sont communs à *uL11^{K3A}*, *uS3^{+/-}* et *eS17^{+/-}*. Ces données suggèrent que certaines protéines ribosomiques, dont uL11, protégeraient les cellules d'un stress oxydatif.

uL11 et Corto se fixent sur les chromosomes polytènes, cependant leur colocalisation n'est pas complète, suggérant qu'uL11 pourrait se fixer sur la chromatine en l'absence de Corto. De plus, Corto se fixe principalement sur les TSS des gènes tandis qu'uL11K3me3 se fixe plutôt

sur le corps des gènes (thèse de J. Deraze). Ainsi, il serait intéressant de vérifier si les protéines mutantes se fixent toujours sur la chromatine. Pour cela, j'ai construit des plasmides *pUAS-attB-uL11-Myc* (et *uL11* mutants). Ces plasmides ont permis d'obtenir les lignées transgéniques *UAS-uL11-Myc*, *UAS-uL11^{K3A}-Myc*, *UAS-uL11^{ΔK3}-Myc* et *UAS-uL11^{K3Y}-Myc* dans lesquels les transgènes sont tous insérés dans la même plateforme. Des expériences préliminaires montrent que toutes les protéines *uL11-Myc*, se fixent sur la chromatine.

La protéine uL11 interagit également avec d'autres protéines de la chromatine comme HP6, HP1c et CBX1 (l'homologue d'HP1β chez la drosophile). De plus, il a été montré au laboratoire qu'uL11 interagit avec la protéine Calypso, l'enzyme qui désubiquitine la lysine 119 de l'histone H2A, membre du complexe Polycomb PR-DUB (Scheuermann *et al.*, 2010) (thèse J. Deraze). Par conséquent, il est possible que l'activité transcriptionnelle d'uL11 s'exerce à travers son interaction avec ces régulateurs de la chromatine. Il serait intéressant d'identifier l'ensemble des partenaires d'uL11 sur la chromatine, par exemple par des expériences de « pull-down » suivies de spectrométrie de masse.

IV- Impact d'une restriction nutritive sur l'activité d'uL11

Chez *S. cerevisiae*, uL11 est impliquée dans l'activation transcriptionnelle de la voie PHO lorsque le milieu est pauvre en phosphate, ce qui suggère que l'activité transcriptionnelle d'uL11 pourrait dépendre des conditions environnementales (Tu *et al.*, 2011). Nous avons émis l'hypothèse qu'uL11 régulerait la transcription dans un milieu pauvre, optimisant ainsi la traduction et la croissance. Nous avons analysé les phénotypes des mutants *uL11^{K3Y}* sur un milieu contenant seulement 10% de levure comparé au milieu classique. Ces mutants semblent plus affectés par la restriction nutritive que les individus sauvages. L'analyse de leur transcriptome montre une diminution de l'expression de plusieurs facteurs chromatiniens généraux dont *nej* qui code pour l'histone acétyltransférase dCBP du complexe Trithorax TAC1, ou *kis* codant une protéine Trithorax qui contrôle l'élongation de la transcription et interagit avec des effecteurs de la voie TOR. En condition de restriction nutritive, l'activation de ces gènes par uL11 pourrait être à l'origine d'une stimulation transcriptionnelle plus globale des gènes impliqués dans la croissance. Dans un environnement fluctuant, uL11 pourrait ainsi participer à l'homéostasie de la croissance.

Références

Références

Agrawal, R. K., Linde, J., Sengupta, J., Nierhaus, K. H., & Frank, J. (2001). Localization of L11 protein on the ribosome and elucidation of its involvement in EF-G-dependent translocation. *Journal of molecular biology*, 311(4), 777–787. <https://doi.org/10.1006/jmbi.2001.4907>

Angelini, M., Cannata, S., Mercaldo, V., Gibello, L., Santoro, C., Dianzani, I., & Loreni, F. (2007). Missense mutations associated with Diamond-Blackfan anemia affect the assembly of ribosomal protein S19 into the ribosome. *Human molecular genetics*, 16(14), 1720–1727. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddm120>

Anger, A. M., Armache, J. P., Berninghausen, O., Habeck, M., Subklewe, M., Wilson, D. N., & Beckmann, R. (2013). Structures of the human and Drosophila 80S ribosome. *Nature*, 497(7447), 80–85. <https://doi.org/10.1038/nature12104>

Aspesi, A., & Ellis, S. R. (2019). Rare ribosomopathies: insights into mechanisms of cancer. *Nature reviews. Cancer*, 19(4), 228–238. <https://doi.org/10.1038/s41568-019-0105-0>

Aspesi, A., Monteleone, V., Betti, M., Actis, C., Morleo, G., Sculco, M., Guarrera, S., Wlodarski, M. W., Ramenghi, U., Santoro, C., Ellis, S. R., Loreni, F., Follenzi, A., & Dianzani, I. (2017). Lymphoblastoid cell lines from Diamond Blackfan anaemia patients exhibit a full ribosomal stress phenotype that is rescued by gene therapy. *Scientific reports*, 7(1), 12010. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-12307-5>

Aviner, R., Geiger, T., & Elroy-Stein, O. (2013). Novel proteomic approach (PUNCH-P) reveals cell cycle-specific fluctuations in mRNA translation. *Genes & development*, 27(16), 1834–1844. <https://doi.org/10.1101/gad.219105.113>

Badhai, J., Fröjmark, A. S., J Davey, E., Schuster, J., & Dahl, N. (2009). Ribosomal protein S19 and S24 insufficiency cause distinct cell cycle defects in Diamond-Blackfan anemia. *Biochimica et biophysica acta*, 1792(10), 1036–1042. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2009.08.002>

Badis, G., Saveanu, C., Fromont-Racine, M., & Jacquier, A. (2004). Targeted mRNA degradation by deadenylation-independent decapping. *Molecular cell*, 15(1), 5–15. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2004.06.028>

Ban, N., Beckmann, R., Cate, J. H., Dinman, J. D., Dragon, F., Ellis, S. R., Lafontaine, D. L., Lindahl, L., Liljas, A., Lipton, J. M., McAlear, M. A., Moore, P. B., Noller, H. F., Ortega, J., Panse, V. G., Ramakrishnan, V., Spahn, C. M., Steitz, T. A., Tchorzewski, M., Tollervey, D.,

... Yusupov, M. (2014). A new system for naming ribosomal proteins. *Current opinion in structural biology*, 24, 165–169. <https://doi.org/10.1016/j.sbi.2014.01.002>

Bhavsar, R. B., Makley, L. N., & Tsonis, P. A. (2010). The other lives of ribosomal proteins. *Human genomics*, 4(5), 327–344. <https://doi.org/10.1186/1479-7364-4-5-327>

Blanco, J., Cooper, J. C., & Baker, N. E. (2020). Roles of C/EBP class bZip proteins in the growth and cell competition of *Rp* ('Minute') mutants in *Drosophila*. *eLife*, 9, e50535. <https://doi.org/10.7554/eLife.50535>

Blumenthal, T., & Carmichael, G. G. (1979). RNA replication: function and structure of Qbeta-replicase. *Annual review of biochemistry*, 48, 525–548. <https://doi.org/10.1146/annurev.bi.48.070179.002521>

Brehme K. S. (1939). A Study of the Effect on Development of "Minute" Mutations in *Drosophila Melanogaster*. *Genetics*, 24(2), 131–161.

Brogna, S., Sato, T. A., & Rosbash, M. (2002). Ribosome components are associated with sites of transcription. *Molecular cell*, 10(4), 93–104.

Chakraborty, A., Uechi, T., Higa, S., Torihara, H., & Kenmochi, N. (2009). Loss of ribosomal protein L11 affects zebrafish embryonic development through a p53-dependent apoptotic response. *PloS one*, 4(1), e4152. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0004152>

Chakraborty, A., Uechi, T., Nakajima, Y., Gazda, H. T., O'Donohue, M. F., Gleizes, P. E., & Kenmochi, N. (2018). Cross talk between TP53 and c-Myc in the pathophysiology of Diamond-Blackfan anemia: Evidence from RPL11-deficient in vivo and in vitro models. *Biochemical and biophysical research communications*, 495(2), 1839–1845. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2017.12.019>

Chen, D., Zhang, Z., Li, M., Wang, W., Li, Y., Rayburn, E. R., Hill, D. L., Wang, H., & Zhang, R. (2007). Ribosomal protein S7 as a novel modulator of p53-MDM2 interaction: binding to MDM2, stabilization of p53 protein, and activation of p53 function. *Oncogene*, 26(35), 5029–5037. <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1210327>

Chen, S., Birve, A., & Rasmuson-Lestander, A. (2008). In vivo analysis of *Drosophila* SU(Z)12 function. *Molecular genetics and genomics : MGG*, 279(2), 159–170. <https://doi.org/10.1007/s00438-007-0304-3>

Choismel, V., Fribourg, S., Aguisa-Touré, A. H., Pinaud, N., Legrand, P., Gazda, H. T., & Gleizes, P. E. (2008). Mutation of ribosomal protein RPS24 in Diamond-Blackfan anemia

results in a ribosome biogenesis disorder. *Human molecular genetics*, 17(9), 1253–1263. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddn015>

Coléno-Costes, A., Jang, S. M., de Vanssay, A., Rougeot, J., Bouceba, T., Randsholt, N. B., Gibert, J. M., Le Crom, S., Mouchel-Vielh, E., Bloyer, S., & Peronnet, F. (2012). New partners in regulation of gene expression: the enhancer of Trithorax and Polycomb Corto interacts with methylated ribosomal protein L12 via its chromodomain. *PLoS genetics*, 8(10), e1003006. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1003006>

Cuccurese, M., Russo, G., Russo, A., & Pietropaolo, C. (2005). Alternative splicing and nonsense-mediated mRNA decay regulate mammalian ribosomal gene expression. *Nucleic acids research*, 33(18), 5965–5977. <https://doi.org/10.1093/nar/gki905>

Dai, M. S., & Lu, H. (2004). Inhibition of MDM2-mediated p53 ubiquitination and degradation by ribosomal protein L5. *The Journal of biological chemistry*, 279(43), 44475–44482. <https://doi.org/10.1074/jbc.M403722200>

Dai, M. S., Zeng, S. X., Jin, Y., Sun, X. X., David, L., & Lu, H. (2004). Ribosomal protein L23 activates p53 by inhibiting MDM2 function in response to ribosomal perturbation but not to translation inhibition. *Molecular and cellular biology*, 24(17), 7654–7668. <https://doi.org/10.1128/MCB.24.17.7654-7668.2004>

Datta, P. P., Sharma, M. R., Qi, L., Frank, J., & Agrawal, R. K. (2005). Interaction of the G' domain of elongation factor G and the C-terminal domain of ribosomal protein L7/L12 during translocation as revealed by cryo-EM. *Molecular cell*, 20(5), 723–731. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2005.10.028>

de la Cova, C., Abril, M., Bellosta, P., Gallant, P., & Johnston, L. A. (2004). Drosophila myc regulates organ size by inducing cell competition. *Cell*, 117(1), 107–116. [https://doi.org/10.1016/s0092-8674\(04\)00214-4](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(04)00214-4)

de la Cruz, J., Karbstein, K., & Woolford, J. L., Jr (2015). Functions of ribosomal proteins in assembly of eukaryotic ribosomes in vivo. *Annual review of biochemistry*, 84, 93–129. <https://doi.org/10.1146/annurev-biochem-060614-033917>

De, S., & Brogna, S. (2010). Are ribosomal proteins present at transcription sites on or off ribosomal subunits?. *Biochemical Society transactions*, 38(6), 1543–1547. <https://doi.org/10.1042/BST0381543>

De, S., Varsally, W., Falciani, F., & Brogna, S. (2011). Ribosomal proteins' association with transcription sites peaks at tRNA genes in *Schizosaccharomyces pombe*. *RNA (New York, N.Y.)*, 17(9), 1713–1726. <https://doi.org/10.1261/rna.2808411>

Del Toro, N., Fernandez-Ruiz, A., Mignacca, L., Kalegari, P., Rowell, M. C., Igelmann, S., Saint-Germain, E., Benfdil, M., Lopes-Paciencia, S., Brakier-Gingras, L., Bourdeau, V., Ferbeyre, G., & Lessard, F. (2019). Ribosomal protein RPL22/eL22 regulates the cell cycle by acting as an inhibitor of the CDK4-cyclin D complex. *Cell cycle (Georgetown, Tex.)*, 18(6-7), 759–770. <https://doi.org/10.1080/15384101.2019.1593708>

Deryło, K., Michalec-Wawiórka, B., Krokowski, D., Wawiórka, L., Hatzoglou, M., & Tchórzewski, M. (2018). The uL10 protein, a component of the ribosomal P-stalk, is released from the ribosome in nucleolar stress. *Biochimica et biophysica acta. Molecular cell research*, 1865(1), 34–47. <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2017.10.002>

Dever, T. E., & Green, R. (2012). The elongation, termination, and recycling phases of translation in eukaryotes. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, 4(7), a013706. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a013706>

Doherty, L., Sheen, M. R., Vlachos, A., Choesmel, V., O'Donohue, M. F., Clinton, C., Schneider, H. E., Sieff, C. A., Newburger, P. E., Ball, S. E., Niewiadomska, E., Matysiak, M., Glader, B., Arceci, R. J., Farrar, J. E., Atsidaftos, E., Lipton, J. M., Gleizes, P. E., & Gazda, H. T. (2010). Ribosomal protein genes RPS10 and RPS26 are commonly mutated in Diamond-Blackfan anemia. *American journal of human genetics*, 86(2), 222–228. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2009.12.015>

Emmott, E., Jovanovic, M., & Slavov, N. (2019). Ribosome Stoichiometry: From Form to Function. *Trends in biochemical sciences*, 44(2), 95–109. <https://doi.org/10.1016/j.tibs.2018.10.009>

Farley-Barnes, K. I., Ogawa, L. M., & Baserga, S. J. (2019). Ribosomopathies: Old Concepts, New Controversies. *Trends in genetics : TIG*, 35(10), 754–767. <https://doi.org/10.1016/j.tig.2019.07.004>

Ferretti, M. B., & Karbstein, K. (2019). Does functional specialization of ribosomes really exist?. *RNA (New York, N.Y.)*, 25(5), 521–538. <https://doi.org/10.1261/rna.069823.118>
Fujii, K., Susanto, T. T., Saurabh, S., & Barna, M. (2018). Decoding the Function of Expansion Segments in Ribosomes. *Molecular cell*, 72(6), 1013–1020.e6. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2018.11.023>

Gazda, H. T., Sheen, M. R., Vlachos, A., Choesmel, V., O'Donohue, M. F., Schneider, H., Darras, N., Hasman, C., Sieff, C. A., Newburger, P. E., Ball, S. E., Niewiadomska, E., Matysiak, M., Zaucha, J. M., Glader, B., Niemeyer, C., Meerpohl, J. J., Atsidaftos, E., Lipton, J. M., Gleizes, P. E., ... Beggs, A. H. (2008). Ribosomal protein L5 and L11 mutations are associated with cleft palate and abnormal thumbs in Diamond-Blackfan anemia

patients. *American journal of human genetics*, 83(6), 769–780. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2008.11.004>

Genuth, N. R., & Barna, M. (2018). The Discovery of Ribosome Heterogeneity and Its Implications for Gene Regulation and Organismal Life. *Molecular cell*, 71(3), 364–374. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2018.07.018>

Ghalei, H., Schaub, F. X., Doherty, J. R., Noguchi, Y., Roush, W. R., Cleveland, J. L., Stroupe, M. E., & Karbstein, K. (2015). Hrr25/CK1 δ -directed release of Ltv1 from pre-40S ribosomes is necessary for ribosome assembly and cell growth. *The Journal of cell biology*, 208(6), 745–759. <https://doi.org/10.1083/jcb.201409056>

Ghulam, M. M., Catala, M., & Abou Elela, S. (2020). Differential expression of duplicated ribosomal protein genes modifies ribosome composition in response to stress. *Nucleic acids research*, 48(4), 1954–1968. <https://doi.org/10.1093/nar/gkz1183>

Gonzalo, P., & Reboud, J. P. (2003). The puzzling lateral flexible stalk of the ribosome. *Biology of the cell*, 95(3-4), 179–193. [https://doi.org/10.1016/s0248-4900\(03\)00034-0](https://doi.org/10.1016/s0248-4900(03)00034-0)

Guimaraes, J. C., & Zavolan, M. (2016). Patterns of ribosomal protein expression specify normal and malignant human cells. *Genome biology*, 17(1), 236. <https://doi.org/10.1186/s13059-016-1104-z>

Guo H. (2018). Specialized ribosomes and the control of translation. *Biochemical Society transactions*, 46(4), 855–869. <https://doi.org/10.1042/BST20160426>

He, X., Li, Y., Dai, M. S., & Sun, X. X. (2016). Ribosomal protein L4 is a novel regulator of the MDM2-p53 loop. *Oncotarget*, 7(13), 16217–16226. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.7479>

Hellen C. (2018). Translation Termination and Ribosome Recycling in Eukaryotes. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, 10(10), a032656. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a032656>

Henras, A. K., Plisson-Chastang, C., O'Donohue, M. F., Chakraborty, A., & Gleizes, P. E. (2015). An overview of pre-ribosomal RNA processing in eukaryotes. *Wiley interdisciplinary reviews. RNA*, 6(2), 225–242. <https://doi.org/10.1002/wrna.1269>

Hietakangas, V., & Cohen, S. M. (2009). Regulation of tissue growth through nutrient sensing. *Annual review of genetics*, 43, 389–410. <https://doi.org/10.1146/annurev-genet-102108-134815>

Hopes, T., Norris, K., Agapiou, M., McCarthy, C., Lewis, P. A., O'Connell, M. J., Fontana, J., & Aspden, J. L. (2021). Ribosome heterogeneity in *Drosophila melanogaster* gonads through paralog-switching. *Nucleic acids research*, gkab606. Advance online publication. <https://doi.org/10.1093/nar/gkab606>

Horn, H. F., & Vousden, K. H. (2008). Cooperation between the ribosomal proteins L5 and L11 in the p53 pathway. *Oncogene*, 27(44), 5774–5784. <https://doi.org/10.1038/onc.2008.189>

Horos, R., Ijspeert, H., Pospisilova, D., Sendtner, R., Andrieu-Soler, C., Taskesen, E., Nieradka, A., Cmejla, R., Sendtner, M., Touw, I. P., & von Lindern, M. (2012). Ribosomal deficiencies in Diamond-Blackfan anemia impair translation of transcripts essential for differentiation of murine and human erythroblasts. *Blood*, 119(1), 262–272. <https://doi.org/10.1182/blood-2011-06-358200>

Imami, K., Milek, M., Bogdanow, B., Yasuda, T., Kastelic, N., Zauber, H., Ishihama, Y., Landthaler, M., & Selbach, M. (2018). Phosphorylation of the Ribosomal Protein RPL12/uL11 Affects Translation during Mitosis. *Molecular cell*, 72(1), 84–98.e9. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2018.08.019>

Jackson, R. J., Hellen, C. U., & Pestova, T. V. (2010). The mechanism of eukaryotic translation initiation and principles of its regulation. *Nature reviews. Molecular cell biology*, 11(2), 113–127. <https://doi.org/10.1038/nrm2838>

Jang, C. Y., Kim, H. D., & Kim, J. (2012). Ribosomal protein S3 interacts with TRADD to induce apoptosis through caspase dependent JNK activation. *Biochemical and biophysical research communications*, 421(3), 474–478. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2012.04.020>

Jang, C. Y., Lee, J. Y., & Kim, J. (2004). RpS3, a DNA repair endonuclease and ribosomal protein, is involved in apoptosis. *FEBS letters*, 560(1-3), 81–85. [https://doi.org/10.1016/S0014-5793\(04\)00074-2v](https://doi.org/10.1016/S0014-5793(04)00074-2v)

Jérôme Deraze. Epigenetic control of ribosome biogenesis homeostasis. Cellular Biology. Université Pierre et Marie Curie - Paris VI, 2017. English. [NNT : 2017PA066342](https://nnt.2017PA066342). [tel-01878354](tel:01878354)

Ji, Z., Kiparaki, M., Folgado, V., Kumar, A., Blanco, J., Rimesso, G., Chuen, J., Liu, Y., Zheng, D., & Baker, N. E. (2019). *Drosophila* RpS12 controls translation, growth, and cell competition through Xrp1. *PLoS genetics*, 15(12), e1008513. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1008513>

- Kale, A., Ji, Z., Kiparaki, M., Blanco, J., Rimesso, G., Flibotte, S., & Baker, N. E. (2018). Ribosomal Protein S12e Has a Distinct Function in Cell Competition. *Developmental cell*, 44(1), 42–55.e4. <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2017.12.007>
- Kampen, K. R., Sulima, S. O., Vereecke, S., & De Keersmaecker, K. (2020). Hallmarks of ribosomopathies. *Nucleic acids research*, 48(3), 1013–1028. <https://doi.org/10.1093/nar/gkz637>
- Kassis, J. A., Kennison, J. A., & Tamkun, J. W. (2017). Polycomb and Trithorax Group Genes in *Drosophila*. *Genetics*, 206(4), 1699–1725. <https://doi.org/10.1534/genetics.115.185116>
- Kisly, I., Remme, J., & Tamm, T. (2019). Ribosomal protein eL24, involved in two intersubunit bridges, stimulates translation initiation and elongation. *Nucleic acids research*, 47(1), 406–420. <https://doi.org/10.1093/nar/gky1083>
- Komili, S., Farny, N. G., Roth, F. P., & Silver, P. A. (2007). Functional specificity among ribosomal proteins regulates gene expression. *Cell*, 131(3), 557–571. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2007.08.037>
- Kondrashov, N., Pusic, A., Stumpf, C. R., Shimizu, K., Hsieh, A. C., Ishijima, J., Shiroishi, T., & Barna, M. (2011). Ribosome-mediated specificity in Hox mRNA translation and vertebrate tissue patterning. *Cell*, 145(3), 383–397. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2011.03.028>
- Kressler, D., Hurt, E., & Bassler, J. (2010). Driving ribosome assembly. *Biochimica et biophysica acta*, 1803(6), 673–683. <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2009.10.009>
- Kuersten, S., Radek, A., Vogel, C., & Penalva, L. O. (2013). Translation regulation gets its 'omics' moment. *Wiley interdisciplinary reviews. RNA*, 4(6), 617–630. <https://doi.org/10.1002/wrna.1173>
- Lambertsson A. (1998). The minute genes in *Drosophila* and their molecular functions. *Advances in genetics*, 38, 69–134. [https://doi.org/10.1016/s0065-2660\(08\)60142-x](https://doi.org/10.1016/s0065-2660(08)60142-x)
- Landry, D. M., Hertz, M. I., & Thompson, S. R. (2009). RPS25 is essential for translation initiation by the Dicistroviridae and hepatitis C viral IRESs. *Genes & development*, 23(23), 2753–2764. <https://doi.org/10.1101/gad.1832209>
- Lee, C. H., Kiparaki, M., Blanco, J., Folgado, V., Ji, Z., Kumar, A., Rimesso, G., & Baker, N. E. (2018). A Regulatory Response to Ribosomal Protein Mutations Controls Translation,

Growth, and Cell Competition. *Developmental cell*, 46(4), 456–469.e4. <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2018.07.003>

Lindström M. S. (2009). Emerging functions of ribosomal proteins in gene-specific transcription and translation. *Biochemical and biophysical research communications*, 379(2), 167–170. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2008.12.083>

Liu, T., Zhang, L., Joo, D., & Sun, S. C. (2017). NF- κ B signaling in inflammation. *Signal transduction and targeted therapy*, 2, 17023–. <https://doi.org/10.1038/sigtrans.2017.23>

Lo, K. Y., Li, Z., Wang, F., Marcotte, E. M., & Johnson, A. W. (2009). Ribosome stalk assembly requires the dual-specificity phosphatase Yvh1 for the exchange of Mrt4 with P0. *The Journal of cell biology*, 186(6), 849–862. <https://doi.org/10.1083/jcb.200904110>

Lohrum, M. A., Ludwig, R. L., Kubbutat, M. H., Hanlon, M., & Vousden, K. H. (2003). Regulation of HDM2 activity by the ribosomal protein L11. *Cancer cell*, 3(6), 577–587. [https://doi.org/10.1016/s1535-6108\(03\)00134-x](https://doi.org/10.1016/s1535-6108(03)00134-x)

Lu, H., Zhu, Y. F., Xiong, J., Wang, R., & Jia, Z. (2015). Potential extra-ribosomal functions of ribosomal proteins in *Saccharomyces cerevisiae*. *Microbiological research*, 177, 28–33. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2015.05.004>

Madru, C., Leulliot, N., & Lebaron, S. (2017). La synthèse des ribosomes, au cœur du contrôle de la prolifération cellulaire [Ribosomes synthesis at the heart of cell proliferation]. *Medicine sciences : M/S*, 33(6-7), 613–619. <https://doi.org/10.1051/medsci/20173306018>

Mageeney, C. M., & Ware, V. C. (2019). Specialized eRpL22 paralogue-specific ribosomes regulate specific mRNA translation in spermatogenesis in *Drosophila melanogaster*. *Molecular biology of the cell*, 30(17), 2240–2253. <https://doi.org/10.1091/mbc.E19-02-0086>

Malygin, A. A., Parakhnevitch, N. M., Ivanov, A. V., Eperon, I. C., & Karpova, G. G. (2007). Human ribosomal protein S13 regulates expression of its own gene at the splicing step by a feedback mechanism. *Nucleic acids research*, 35(19), 6414–6423. <https://doi.org/10.1093/nar/gkm701>

Marechal, V., Elenbaas, B., Piette, J., Nicolas, J. C., & Levine, A. J. (1994). The ribosomal L5 protein is associated with mdm-2 and mdm-2-p53 complexes. *Molecular and cellular biology*, 14(11), 7414–7420. <https://doi.org/10.1128/mcb.14.11.7414-7420.1994>

- Martin, D. E., Powers, T., & Hall, M. N. (2006). Regulation of ribosome biogenesis: where is TOR?. *Cell metabolism*, 4(4), 259–260. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2006.09.002>
- Marygold, S. J., Coelho, C. M., & Leever, S. J. (2005). Genetic analysis of RpL38 and RpL5, two minute genes located in the centric heterochromatin of chromosome 2 of *Drosophila melanogaster*. *Genetics*, 169(2), 683–695. <https://doi.org/10.1534/genetics.104.034124>
- Marygold, S. J., Roote, J., Reuter, G., Lambertsson, A., Ashburner, M., Millburn, G. H., Harrison, P. M., Yu, Z., Kenmochi, N., Kaufman, T. C., Leever, S. J., & Cook, K. R. (2007). The ribosomal protein genes and Minute loci of *Drosophila melanogaster*. *Genome biology*, 8(10), R216. <https://doi.org/10.1186/gb-2007-8-10-r216>
- Mitrovich, Q. M., & Anderson, P. (2000). Unproductively spliced ribosomal protein mRNAs are natural targets of mRNA surveillance in *C. elegans*. *Genes & development*, 14(17), 2173–2184. <https://doi.org/10.1101/gad.819900>
- Mitrovich, Q. M., & Anderson, P. (2000). Unproductively spliced ribosomal protein mRNAs are natural targets of mRNA surveillance in *C. elegans*. *Genes & development*, 14(17), 2173–2184. <https://doi.org/10.1101/gad.819900>
- Mołoj, M., Molestak, E., Kula-Maximenko, M., Grela, P., & Tchórzewski, M. (2020). Ribosomal Protein uL11 as a Regulator of Metabolic Circuits Related to Aging and Cell Cycle. *Cells*, 9(7), 1745. <https://doi.org/10.3390/cells9071745>
- Moorthamer, M., & Chaudhuri, B. (1999). Identification of ribosomal protein L34 as a novel Cdk5 inhibitor. *Biochemical and biophysical research communications*, 255(3), 631–638. <https://doi.org/10.1006/bbrc.1999.0145>
- Morata, G., & Ripoll, P. (1975). Minutes: mutants of *Drosophila* autonomously affecting cell division rate. *Developmental biology*, 42(2), 211–221. [https://doi.org/10.1016/0012-1606\(75\)90330-9](https://doi.org/10.1016/0012-1606(75)90330-9)
- Morgado-Palacin, L., Varetto, G., Llanos, S., Gómez-López, G., Martínez, D., & Serrano, M. (2015). Partial Loss of Rpl11 in Adult Mice Recapitulates Diamond-Blackfan Anemia and Promotes Lymphomagenesis. *Cell reports*, 13(4), 712–722. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2015.09.038>
- Murakami, R., Singh, C. R., Morris, J., Tang, L., Harmon, I., Takasu, A., Miyoshi, T., Ito, K., Asano, K., & Uchiumi, T. (2018). The Interaction between the Ribosomal Stalk Proteins and Translation Initiation Factor 5B Promotes Translation Initiation. *Molecular and cellular biology*, 38(16), e00067-18. <https://doi.org/10.1128/MCB.00067-18>

- Nerurkar, P., Altvater, M., Gerhardy, S., Schütz, S., Fischer, U., Weirich, C., & Panse, V. G. (2015). Eukaryotic Ribosome Assembly and Nuclear Export. *International review of cell and molecular biology*, 319, 107–140. <https://doi.org/10.1016/bs.ircmb.2015.07.002>
- Ni, J. Q., Liu, L. P., Hess, D., Rietdorf, J., & Sun, F. L. (2006). Drosophila ribosomal proteins are associated with linker histone H1 and suppress gene transcription. *Genes & development*, 20(14), 1959–1973. <https://doi.org/10.1101/gad.390106>
- O'Donohue, M. F., Choessel, V., Faubladiere, M., Fichant, G., & Gleizes, P. E. (2010). Functional dichotomy of ribosomal proteins during the synthesis of mammalian 40S ribosomal subunits. *The Journal of cell biology*, 190(5), 853–866. <https://doi.org/10.1083/jcb.201005117>
- Ofir-Rosenfeld, Y., Boggs, K., Michael, D., Kastan, M. B., & Oren, M. (2008). Mdm2 regulates p53 mRNA translation through inhibitory interactions with ribosomal protein L26. *Molecular cell*, 32(2), 180–189. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2008.08.031>
- Paolini, N. A., Attwood, M., Sondalle, S. B., Vieira, C., van Adrichem, A. M., di Summa, F. M., O'Donohue, M. F., Gleizes, P. E., Rachuri, S., Briggs, J. W., Fischer, R., Ratcliffe, P. J., Wlodarski, M. W., Houtkooper, R. H., von Lindern, M., Kuijpers, T. W., Dinman, J. D., Baserga, S. J., Cockman, M. E., & MacInnes, A. W. (2017). A Ribosomopathy Reveals Decoding Defective Ribosomes Driving Human Dysmorphism. *American journal of human genetics*, 100(3), 506–522. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2017.01.034>
- Pecoraro, A., Carotenuto, P., Franco, B., De Cegli, R., Russo, G., & Russo, A. (2020). Role of uL3 in the Crosstalk between Nucleolar Stress and Autophagy in Colon Cancer Cells. *International journal of molecular sciences*, 21(6), 2143. <https://doi.org/10.3390/ijms21062143>
- Pecoraro, A., Carotenuto, P., Russo, G., & Russo, A. (2019). Ribosomal protein uL3 targets E2F1 and Cyclin D1 in cancer cell response to nucleolar stress. *Scientific reports*, 9(1), 15431. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-51723-7>
- Petrov, A. S., Bernier, C. R., Hsiao, C., Norris, A. M., Kovacs, N. A., Waterbury, C. C., Stepanov, V. G., Harvey, S. C., Fox, G. E., Wartell, R. M., Hud, N. V., & Williams, L. D. (2014). Evolution of the ribosome at atomic resolution. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 111(28), 10251–10256. <https://doi.org/10.1073/pnas.1407205111>
- Petrov, A. S., Gulen, B., Norris, A. M., Kovacs, N. A., Bernier, C. R., Lanier, K. A., Fox, G. E., Harvey, S. C., Wartell, R. M., Hud, N. V., & Williams, L. D. (2015). History of the ribosome and the origin of translation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the*

United States of America, 112(50), 15396–15401.
<https://doi.org/10.1073/pnas.1509761112>

Plafker, S. M., & Macara, I. G. (2002). Ribosomal protein L12 uses a distinct nuclear import pathway mediated by importin 11. *Molecular and cellular biology*, 22(4), 1266–1275. <https://doi.org/10.1128/MCB.22.4.1266-1275.2002>

Polymenis M. (2020). Ribosomal proteins: mutant phenotypes by the numbers and associated gene expression changes. *Open biology*, 10(8), 200114. <https://doi.org/10.1098/rsob.200114>

Poncová, K., Wagner, S., Jansen, M. E., Beznosková, P., Gunišová, S., Herrmannová, A., Zeman, J., Dong, J., & Valášek, L. S. (2019). uS3/Rps3 controls fidelity of translation termination and programmed stop codon readthrough in co-operation with eIF3. *Nucleic acids research*, 47(21), 11326–11343. <https://doi.org/10.1093/nar/gkz929>

Ramagopal S. (1989). Acidic ribosomal proteins of Dictyostelium discoideum that show electrophoretic similarity to Escherichia coli proteins L7 and L12. *Biochemistry and cell biology = Biochimie et biologie cellulaire*, 67(10), 712–718. <https://doi.org/10.1139/o89-106>

Rodnina M. V. (2018). Translation in Prokaryotes. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, 10(9), a032664. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a032664>

Rugjee, K. N., Roy Chaudhury, S., Al-Jubran, K., Ramanathan, P., Matina, T., Wen, J., & Brogna, S. (2013). Fluorescent protein tagging confirms the presence of ribosomal proteins at Drosophila polytene chromosomes. *PeerJ*, 1, e15. <https://doi.org/10.7717/peerj.15>

Sadaie, M., Shinmyozu, K., & Nakayama, J. (2008). A conserved SET domain methyltransferase, Set11, modifies ribosomal protein Rpl12 in fission yeast. *The Journal of biological chemistry*, 283(11), 7185–7195. <https://doi.org/10.1074/jbc.M709429200>

Salas-Marco, J., & Bedwell, D. M. (2005). Discrimination between defects in elongation fidelity and termination efficiency provides mechanistic insights into translational readthrough. *Journal of molecular biology*, 348(4), 801–815. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2005.03.025>

Salvaing, J., Lopez, A., Boivin, A., Deutsch, J. S., & Peronnet, F. (2003). The Drosophila Corto protein interacts with Polycomb-group proteins and the GAGA factor. *Nucleic acids research*, 31(11), 2873–2882. <https://doi.org/10.1093/nar/gkg381>

Sato, H., Ito, K., & Nakamura, Y. (2006). Ribosomal protein L11 mutations in two functional domains equally affect release factors 1 and 2 activity. *Molecular microbiology*, 60(1), 108–120. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2006.05094.x>

Scheuermann, J. C., de Ayala Alonso, A. G., Oktaba, K., Ly-Hartig, N., McGinty, R. K., Fraterman, S., Wilm, M., Muir, T. W., & Müller, J. (2010). Histone H2A deubiquitinase activity of the Polycomb repressive complex PR-DUB. *Nature*, 465(7295), 243–247. <https://doi.org/10.1038/nature08966>

Schroder, P. A., & Moore, M. J. (2005). Association of ribosomal proteins with nascent transcripts in *S. cerevisiae*. *RNA (New York, N.Y.)*, 11(10), 1521–1529. <https://doi.org/10.1261/rna.2134305>

Schüler, M., Connell, S. R., Lescoute, A., Giesebrecht, J., Dabrowski, M., Schroeer, B., Mielke, T., Penczek, P. A., Westhof, E., & Spahn, C. M. (2006). Structure of the ribosome-bound cricket paralysis virus IRES RNA. *Nature structural & molecular biology*, 13(12), 1092–1096. <https://doi.org/10.1038/nsmb1177>

Schultz J. (1929). The Minute Reaction in the Development of DROSOPHILA MELANOGASTER. *Genetics*, 14(4), 366–419.

Segev, N., & Gerst, J. E. (2018). Correction: Specialized ribosomes and specific ribosomal protein paralogs control translation of mitochondrial proteins. *The Journal of cell biology*, 217(3), 1155. <https://doi.org/10.1083/JCB.20170605901292018c>

Shi, Z., Fujii, K., Kovary, K. M., Genuth, N. R., Röst, H. L., Teruel, M. N., & Barna, M. (2017). Heterogeneous Ribosomes Preferentially Translate Distinct Subpools of mRNAs Genome-wide. *Molecular cell*, 67(1), 71–83.e7. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2017.05.021>

Simsek, D., Tiu, G. C., Flynn, R. A., Byeon, G. W., Leppek, K., Xu, A. F., Chang, H. Y., & Barna, M. (2017). The Mammalian Ribo-interactome Reveals Ribosome Functional Diversity and Heterogeneity. *Cell*, 169(6), 1051–1065.e18. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2017.05.022>

Slavov, N., Semrau, S., Airoidi, E., Budnik, B., & van Oudenaarden, A. (2015). Differential Stoichiometry among Core Ribosomal Proteins. *Cell reports*, 13(5), 865–873. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2015.09.056>

Smulders-Srinivasan, T. K., Szakmary, A., & Lin, H. (2010). A Drosophila chromatin factor interacts with the Piwi-interacting RNA mechanism in niche cells to regulate germline stem cell self-renewal. *Genetics*, 186(2), 573–583. <https://doi.org/10.1534/genetics.110.119081>

- Stanborough, T., Niederhauser, J., Koch, B., Bergler, H., & Pertschy, B. (2014). Ribosomal protein S3 interacts with the NF- κ B inhibitor I κ B α . *FEBS letters*, 588(5), 659–664. <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2013.12.034>
- Sulima, S. O., Kampen, K. R., & De Keersmaecker, K. (2019). Cancer Biogenesis in Ribosomopathies. *Cells*, 8(3), 229. <https://doi.org/10.3390/cells8030229>
- Sun, X. X., DeVine, T., Challagundla, K. B., & Dai, M. S. (2011). Interplay between ribosomal protein S27a and MDM2 protein in p53 activation in response to ribosomal stress. *The Journal of biological chemistry*, 286(26), 22730–22741. <https://doi.org/10.1074/jbc.M111.223651>
- Sun, X. X., Wang, Y. G., Xirodimas, D. P., & Dai, M. S. (2010). Perturbation of 60 S ribosomal biogenesis results in ribosomal protein L5- and L11-dependent p53 activation. *The Journal of biological chemistry*, 285(33), 25812–25821. <https://doi.org/10.1074/jbc.M109.098442>
- Takagi, M., Absalon, M. J., McLure, K. G., & Kastan, M. B. (2005). Regulation of p53 translation and induction after DNA damage by ribosomal protein L26 and nucleolin. *Cell*, 123(1), 49–63. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2005.07.034>
- Takei, S., Togo-Ohno, M., Suzuki, Y., & Kuroyanagi, H. (2016). Evolutionarily conserved autoregulation of alternative pre-mRNA splicing by ribosomal protein L10a. *Nucleic acids research*, 44(12), 5585–5596. <https://doi.org/10.1093/nar/gkw152>
- Taylor, D., Unbehauen, A., Li, W., Das, S., Lei, J., Liao, H. Y., Grassucci, R. A., Pestova, T. V., & Frank, J. (2012). Cryo-EM structure of the mammalian eukaryotic release factor eRF1-eRF3-associated termination complex. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 109(45), 18413–18418. <https://doi.org/10.1073/pnas.1216730109>
- Teng, T., Thomas, G., & Mercer, C. A. (2013). Growth control and ribosomopathies. *Current opinion in genetics & development*, 23(1), 63–71. <https://doi.org/10.1016/j.gde.2013.02.001>
- Thomas G. (2000). An encore for ribosome biogenesis in the control of cell proliferation. *Nature cell biology*, 2(5), E71–E72. <https://doi.org/10.1038/35010581>
- Tiku, V., & Antebi, A. (2018). Nucleolar Function in Lifespan Regulation. *Trends in cell biology*, 28(8), 662–672. <https://doi.org/10.1016/j.tcb.2018.03.007>

- Tu, W. Y., Huang, Y. C., Liu, L. F., Chang, L. H., & Tam, M. F. (2011). Rpl12p affects the transcription of the PHO pathway high-affinity inorganic phosphate transporters and repressible phosphatases. *Yeast (Chichester, England)*, 28(6), 481–493. <https://doi.org/10.1002/yea.1852>
- Uchiumi, T., Honma, S., Endo, Y., & Hachimori, A. (2002). Ribosomal proteins at the stalk region modulate functional rRNA structures in the GTPase center. *The Journal of biological chemistry*, 277(44), 41401–41409. <https://doi.org/10.1074/jbc.M207424200>
- Van Dyke, N., Xu, W., & Murgola, E. J. (2002). Limitation of ribosomal protein L11 availability in vivo affects translation termination. *Journal of molecular biology*, 319(2), 329–339. [https://doi.org/10.1016/S0022-2836\(02\)00304-2](https://doi.org/10.1016/S0022-2836(02)00304-2)
- Wan, F., Anderson, D. E., Barnitz, R. A., Snow, A., Bidere, N., Zheng, L., Hegde, V., Lam, L. T., Staudt, L. M., Levens, D., Deutsch, W. A., & Lenardo, M. J. (2007). Ribosomal protein S3: a KH domain subunit in NF-kappaB complexes that mediates selective gene regulation. *Cell*, 131(5), 927–939. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2007.10.009>
- Wang, C. H., Wang, L. K., Wu, C. C., Chen, M. L., Lee, M. C., Lin, Y. Y., & Tsai, F. M. (2019). The Ribosomal Protein RPLP0 Mediates PLAAT4-induced Cell Cycle Arrest and Cell Apoptosis. *Cell biochemistry and biophysics*, 77(3), 253–260. <https://doi.org/10.1007/s12013-019-00876-3>
- Warner, J. R., & McIntosh, K. B. (2009). How common are extraribosomal functions of ribosomal proteins?. *Molecular cell*, 34(1), 3–11. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2009.03.006>
- Wawiórka, L., Molestak, E., Szajwaj, M., Michalec-Wawiórka, B., Boguszewska, A., Borkiewicz, L., Liudkovska, V., Kufel, J., & Tchórzewski, M. (2016). Functional analysis of the uL11 protein impact on translational machinery. *Cell cycle (Georgetown, Tex.)*, 15(8), 1060–1072. <https://doi.org/10.1080/15384101.2016.1154245>
- Xue, S., & Barna, M. (2012). Specialized ribosomes: a new frontier in gene regulation and organismal biology. *Nature reviews. Molecular cell biology*, 13(6), 355–369. <https://doi.org/10.1038/nrm3359>
- Xue, S., Tian, S., Fujii, K., Kladwang, W., Das, R., & Barna, M. (2015). RNA regulons in Hox 5' UTRs confer ribosome specificity to gene regulation. *Nature*, 517(7532), 33–38. <https://doi.org/10.1038/nature14010>
- Yelick, P. C., & Trainor, P. A. (2015). Ribosomopathies: Global process, tissue specific defects. *Rare diseases (Austin, Tex.)*, 3(1), e1025185. <https://doi.org/10.1080/21675511.2015.1025185>

Yusupova, G., & Yusupov, M. (2017). Crystal structure of eukaryotic ribosome and its complexes with inhibitors. *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences*, 372(1716), 20160184. <https://doi.org/10.1098/rstb.2016.0184>

Zhang, Q., Shalaby, N. A., & Buszczak, M. (2014). Changes in rRNA transcription influence proliferation and cell fate within a stem cell lineage. *Science (New York, N.Y.)*, 343(6168), 298–301. <https://doi.org/10.1126/science.1246384>

Zhang, Y., Wang, J., Yuan, Y., Zhang, W., Guan, W., Wu, Z., Jin, C., Chen, H., Zhang, L., Yang, X., & He, F. (2010). Negative regulation of HDM2 to attenuate p53 degradation by ribosomal protein L26. *Nucleic acids research*, 38(19), 6544–6554. <https://doi.org/10.1093/nar/gkq536>

ANNEXES

Annexes

Annexe 1 Nouvelle nomenclature des protéines de la petite sous-unité du ribosome.

Annexe 2 Nouvelle nomenclature des protéines de la grande sous-unité

Annexe 3 Tableaux et figures supplémentaires de l'article Grunchev *al.*, prochainement soumis pour publication.

Annexe 4 Genes moins exprimés dans les mutants *uL11^{K3Y}* élevés sur milieu restrictif comparés aux individus sauvages élevés sur milieu restrictif

Annexe 5 Genes plus exprimés dans les mutants *uL11^{K3Y}* élevés sur milieu restrictif comparés aux individus sauvages élevés sur milieu restrictif.

Annexe 1 Nouvelle nomenclature des protéines de la petite sous-unité du ribosome.

b: bacterial, e: eukaryotic, u: universal. * B: bacteria, A: archaea, E: eukaryotes. (Ban *et al.*, 2014)

New name[#]	Taxonomic range[*]	Bacteria name	Yeast name	Human name
bS1	B	S1	–	–
eS1	A E	–	S1	S3A
uS2	B A E	S2	S0	SA
uS3	B A E	S3	S3	S3
uS4	B A E	S4	S9	S9
eS4	A E	–	S4	S4
uS5	B A E	S5	S2	S2
bS6	B	S6	–	–
eS6	A E	–	S6	S6
uS7	B A E	S7	S5	S5
eS7	E	–	S7	S7
uS8	B A E	S8	S22	S15A
eS8	A E	–	S8	S8
uS9	B A E	S9	S16	S16
uS10	B A E	S10	S20	S20
eS10	E	–	S10	S10
uS11	B A E	S11	S14	S14
uS12	B A E	S12	S23	S23
eS12	E	–	S12	S12
uS13	B A E	S13	S18	S18
uS14	B A E	S14	S29	S29
uS15	B A E	S15	S13	S13
bS16	B	S16	–	–
uS17	B A E	S17	S11	S11
eS17	A E	–	S17	S17
bS18	B	S18	–	–
uS19	B A E	S19	S15	S15
eS19	A E	–	S19	S19
bS20	B	S20	–	–
bS21	B	S21	–	–
bTHX	B	THX	–	–
eS21	E	–	S21	S21
eS24	A E	–	S24	S24
eS25	A E	–	S25	S25
eS26	E	–	S26	S26
eS27	A E	–	S27	S27
eS28	A E	–	S28	S28
eS30	A E	–	S30	S30
eS31	A E	–	S31	S27A
RACK1	E	–	Asc1	RACK1

Annexe 2 Nouvelle nomenclature des protéines de la grande sous-unité

b: bacterial, e: eukaryotic, u: universal. * B: bacteria, A: archaea, E: eukaryotes. (Ban *et al.*, 2014)

New name [#]	Taxonomic range [*]	Bacteria name	Yeast name	Human name
uL1	B A E	L1	L1	L10A
uL2	B A E	L2	L2	L8
uL3	B A E	L3	L3	L3
uL4	B A E	L4	L4	L4
uL5	B A E	L5	L11	L11
uL6	B A E	L6	L9	L9
eL6	E	–	L6	L6
eL8	A E	–	L8	L7A
bL9	B	L9	–	–
uL10	B A E	L10	P0	P0
uL11	B A E	L11	L12	L12
bL12	B	L7/L12	–	–
uL13	B A E	L13	L16	L13A
eL13	A E	–	L13	L13
uL14	B A E	L14	L23	L23
eL14	A E	–	L14	L14
uL15	B A E	L15	L28	L27A
eL15	A E	–	L15	L15
uL16	B A E	L16	L10	L10
bL17	B	L17	–	–
uL18	B A E	L18	L5	L5
eL18	A E	–	L18	L18
bL19	B	L19	–	–
eL19	A E	–	L19	L19
bL20	B	L20	–	–
eL20	E	–	L20	L18A
bL21	B	L21	–	–
eL21	A E	–	L21	L21
uL22	B A E	L22	L17	L17
eL22	E	–	L22	L22
uL23	B A E	L23	L25	L23A

New name[#]	Taxonomic range[*]	Bacteria name	Yeast name	Human name
uL24	B A E	L24	L26	L26
eL24	A E	–	L24	L24
bL25	B	L25	–	–
bL27	B	L27	–	–
eL27	E	–	L27	L27
bL28	B	L28	–	–
eL28	E	–	–	L28
uL29	B A E	L29	L35	L35
eL29	E	–	L29	L29
uL30	B A E	L30	L7	L7
eL30	A E	–	L30	L30
bL31	B	L31	–	–
eL31	A E	–	L31	L31
bL32	B	L32	–	–
eL32	A E	–	L32	L32
bL33	B	L33	–	–
eL33	A E	–	L33	L35A
bL34	B	L34	–	–
eL34	A E	–	L34	L34
bL35	B	L35	–	–
bL36	B	L36	–	–
eL36	E	–	L36	L36
eL37	A E	–	L37	L37
eL38	A E	–	L38	L38
eL39	A E	–	L39	L39
eL40	A E	–	L40	L40
eL41	A E	–	L41	L41
eL42	A E	–	L42	L36A
eL43	A E	–	L43	L37A
P1/P2	A E	–	P1/P2 (AB)	P1/P2 ($\alpha\beta$)

Annexe 3 Tableaux et figures supplémentaires de l'article Grunche*ct al.*, prochainement soumis pour publication.

Supplementary Figure 1: Specificity of the uL11K3me3 antibody

Supplementary Figure 2: Molecular screening for the uL11K3A allele

Supplementary Figure 3: Sequence of the uL11 alleles of G0 flies

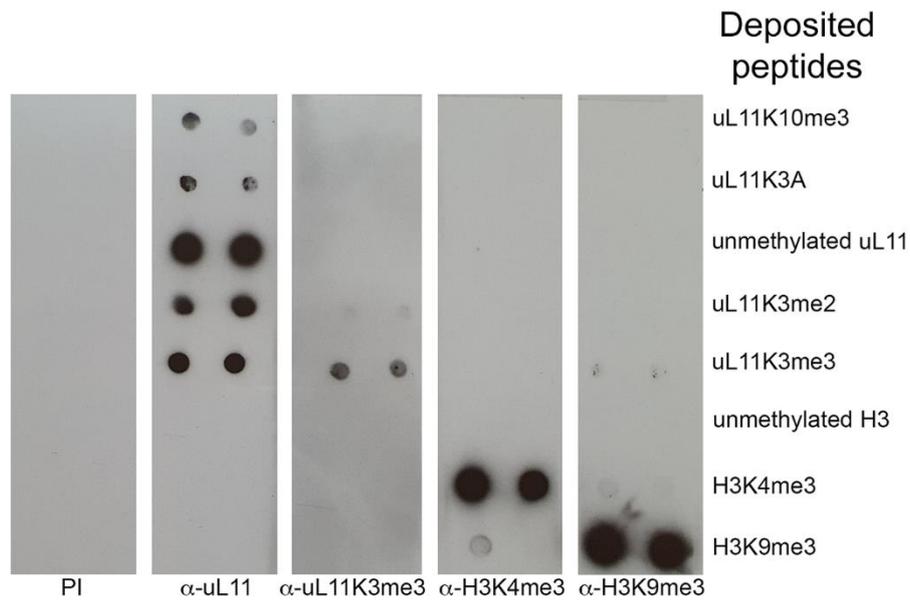
Supplementary Figure 4: Analysis of bristles and wings in female uL11 mutants

Supplementary Table 1: Oligonucleotides used in this study

Supplementary Table 2: Genes deregulated in at least one of the three genotypes (cortoL1/corto420, uL11K3A, uL11K3Y).

Supplementary Table 3: Ontology of genes deregulated in cortoL1/corto420 and uL11K3A mutants

Supplementary Table 4: Enrichment for Mad sites in the cis-regulatory sequences of genes deregulated in uL11K3Y mutants.

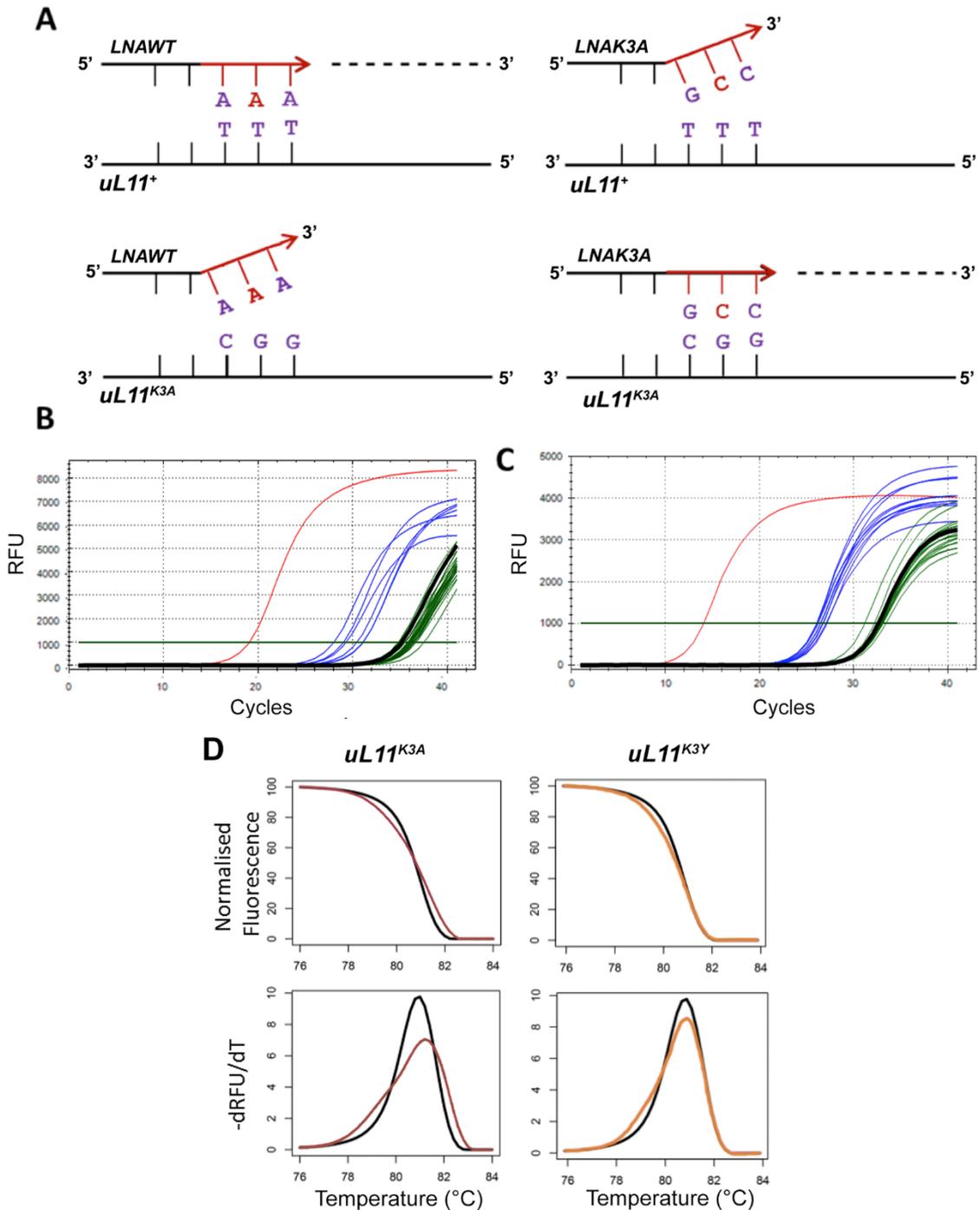


Supplementary Figure 1: Specificity of the uL11K3me3 antibody

0.2 (left) and 0.05 μg (right) of each peptide were deposited on nitrocellulose membrane. Membranes were then incubated with the indicated primary antibodies. Secondary antibodies were as described in Materials and Methods.

Peptides: unmethylated uL11, uL11K10me2, uL11K3A, uL11K3me2, and uL11K3me3 peptides were synthesized at the proteomic platform of the Institute of Biology Paris Seine; H3K4me3 and H3K9me3 peptides were from Diagenode, C16000003 and C160000056, respectively.

Antibodies: PI: rabbit preimmun serum; α -uL11: 1/14000, described in Materials and Methods; α -uL11K3me3: 1/10000, described in Materials and Methods; α -H3K4me3: 1/1000, Diagenode C15310003; α -H3K9me3: 1/1000, Diagenode C15100146. Secondary antibodies: 1/10000.



Supplementary Figure 2: Molecular screening for the uL11^{K3A} allele

A – Rationale for discriminative PCR. Purple bases correspond to the target codon. Red bases stand for locked nucleic acids (LNA). The LNAWT primer ended with the lysine AAA codon of the wild-type uL11 gene whereas the LNAK3A primer ended with the alanine GCC codon corresponding to the desired mutation.

B – qPCRs were performed with the LNAK3A primer matching the *uL11*^{K3A} allele. Red curve: plasmid carrying the *uL11*^{K3A} allele as positive control. Black curve: genomic DNA from a wild-type fly. Blue curves: pools of up to 5 different genomic DNAs from candidate G1 flies considered to be positive. Green curves: pools of up to 5 different genomic DNAs from candidate G1 flies considered to be negative.

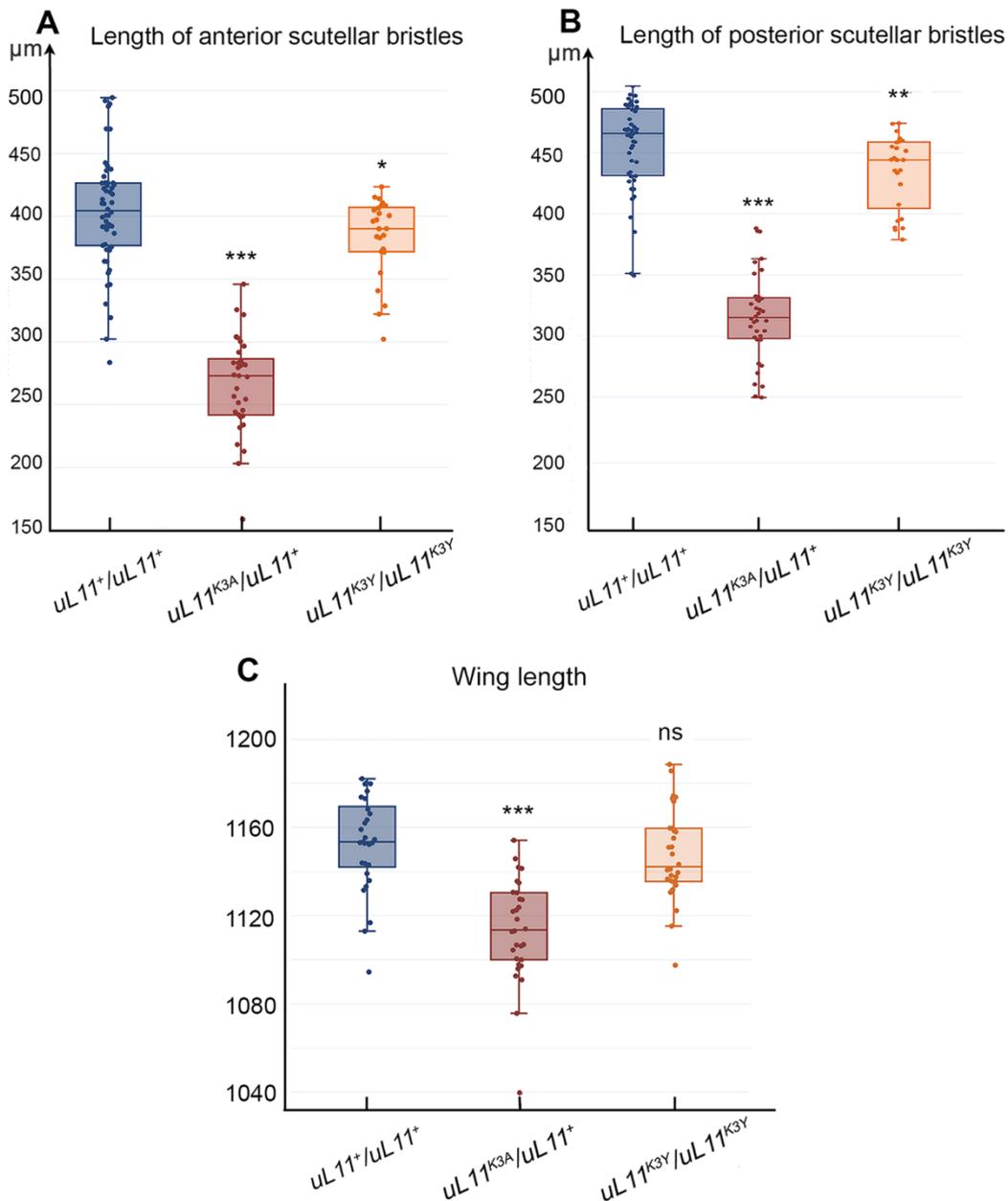
C – The same qPCRs were performed on individual genomic DNAs from the pools that were previously found to be positive for the *uL11*^{K3A} allele. Several individuals wearing the mutation were thus identified (blue curves).

D – High Resolution Melting Analysis (HMRA) of *uL11* mutants. Melting profile of the *uL11* amplicons from genomic DNAs of G1 flies. Melting peaks flatter and broader than the reference (black) revealed the presence of two different amplicons, indicating that the tested DNA contained a mutation at the *uL11* locus. Melting curves were normalized according to the method described by (26). RFU: Relative Fluorescence Unit.

Founder	Allele	Sequence
	wild-type	ACCGCTATGCCTCCCAAATTCGACCCAACGGAA
M-12	K3A-12	ACCGCTATGCCTCCCGCCTTCGACCCAACGGAA
M-43	K3A-43	ACCGCTATGCCTCCCGCCTTCGACCCAACGGAA
F-6	K3A-6	ACCGCTATGCCTCCCGCCTTCGACCCAACGGAA
M-12	ΔK3-12	ACCGCTATGCCTCCC---TTCGACCCAACGGAA
M-43	ΔK3-43	ACCGCTATGCCTCCC---TTCGACCCAACGGAA
M-31	K3Y	ACCGCTATGCCTCCCTACTTCGACCCAACGGAA
M-5	ΔK3F4	ACCGCTATGCCTCCC-----GACCCAACGGAA
M-5	P2QK3R	ACCGCTATGCCTCAACGCTTCGACCCAACGGAA
M-12	P2LK3E	ACCGCTATGCCTCTTGAATTTCGACCCAACGGAA
M-43	F-4	ACCGCTATGCCTCCCTATGCTTCGACCCAACGGAA
F-6	F+2	ACCGCTATGCCTCC---TTCGACCCAACGGAA

Supplementary Figure 3: Sequence of the *uL11* alleles of G0 flies

Founder G0 flies were named after their gender (M, male; F, female) and the order of their emergence. Each allele was recovered in several descendants of the same founders. The *uL11^{K3A}* and *uL11^{ΔK3}* alleles were found in the progeny of two different founders. Substitution alleles were named to reflect the amino acid change in the uL11 protein, following the amino acid one letter code. The bottom two alleles were named after the reading frameshift they introduce in the *uL11* gene. The wild-type *uL11* sequence is provided as reference. The start and the lysine 3 codons of *uL11* are highlighted in grey.



Supplementary Figure 4: Analysis of bristles and wings in female *uL11* mutants

A – Length of anterior scutellar bristles of wild-type females (blue; n = 54), *uL11^{K3A}/uL11⁺* (burgundy, n = 33) and *uL11^{K3Y}/uL11^{K3Y}* (orange, n = 25).

B – Length of posterior scutellar bristles of wild-type males (blue; n = 51), *uL11^{K3A}/uL11⁺* (burgundy, n = 36) and (*uL11^{K3Y}/uL11^{K3Y}* (orange, n = 50).

C – Wing size of *uL11* wild-type females (blue; n = 29), *uL11^{K3A}/uL11⁺* (burgundy, n = 30) and *uL11^{K3Y}/uL11^{K3Y}* (orange, n = 25).

t-tests: *** p-value < 0.001; ** p-value < 0.01; * p-value < 0.05; ns: non significant.

High Resolution Melting Analysis	
<i>uL11-HRMA_F</i>	5' - t gcggt aaagt acat gagct g- 3'
<i>uL11-HRMA_R</i>	5' - t cgaagct caact cct caca- 3'
LNA Primers	
<i>LNA-WT</i>	5' - gat accgct at gcct cccaAa-3'
<i>LNA-K3A</i>	5' - gat accgct at gcct cccgCc-3'
<i>CRISPR1_R</i>	5' - gaccgaggggaccgat ctt - 3'
uL11 Sequencing	
<i>uL11-708_F</i>	5' - cgct act gagct ttgct acacccc- 3'
<i>uL11+805_R</i>	5' - caat aacat cgt gaggt gct - 3'
Guide RNA	
<i>sgRNA</i>	5' - t ccgt t gggt cgaat tt ggg- 3'
Cloning of sgRNA in pU6-BbsI-chiRNA	
<i>pho-sgRNA_F</i>	5' - CTTC G t ccgt t gggt cgaat tt ggg- 3'
<i>pho-sgRNA_R</i>	5' - AAACccc aat t cgacccaacggac- 3'
Template for fly mutagenesis	
<i>ssODN</i>	5' - agct caact cct caca ⁵ aaacact cgcct t act t acccaat t t aact t ccgt t gggt cgaa G GCgggagg CAT agcgggt at ctt ggct t gaacagt cgcgt gt aaggcaagat t acgt t agt t t - 3'
uL11^{K3Y} directed mutagenesis	
<i>K3Y_F</i>	5' - caccat gcct ccct act t cgacccaacgg- 3'
<i>K3Y_R</i>	5' - ccgt t gggt cgaagt agggaggcat ggt g- 3'
qRT-PCR	
<i>Hsp67Bc_F</i>	5' - ct gct t at t t gaggt cca- 3'
<i>Hsp67Bc_R</i>	5' - tt gat t t gcacaccct gggt - 3'
<i>GstE6_F</i>	5' - gcccaact t t caccggaat a- 3'
<i>GstE6_R</i>	5' - t cggcat at t t cgagacc- 3'
<i>CG13516_F</i>	5' - gct aact ccaggacccat at - 3'
<i>CG13516_R</i>	5' - gcgacaat agt ggt t t ccag- 3'
<i>GAPDH_F</i>	5' - gacgaaat caaggct aaggc- 3'
<i>GAPDH_R</i>	5' - aat gggt gt cgcct gaagaagc- 3'
<i>RP49_F</i>	5' - ccgct t caaggacagc- 3'
<i>RP49_R</i>	5' - gacaat ct cct t gcgct t ct - 3' □

Supplementary Table 1: Oligonucleotides used in this study.

In primers LNA-WT and LNA-K3A, uppercase nucleotides correspond to the LNA bases. In primers pho-sgRNA_F and pho-sgRNA_R, uppercase nucleotides correspond to the floating sequences used for cloning. The bold guanosine was introduced to increase efficiency of the U6 promoter. In the ssODN, the complementary ATG and alanine codon sequences are bold and in uppercases, the PAM sequence corresponding to the single guide RNA is in bold.

Supplementary Table 2: Genes deregulated in at least one of the three genotypes (cortoL1/corto420, uL11K3A, uL11K3Y).

Up-regulated genes (green): \log_2 fold-change >0.5 , adjusted p-value $<5.E-02$

Down-regulated genes (orange): \log_2 fold-change <-0.5 , adjusted p-value $<5.E-02$

Gene symbol	Base Mean	log ₂ FoldChange		adj p-value		log ₂ FoldChange		adj p-value		log ₂ FoldChange		adj p-value	
		<i>corto</i> ^{L1} / <i>corto</i> ^{Δ20} w ¹¹¹⁸ versus w ¹¹¹⁸	versus	<i>corto</i> ^{L1} / <i>corto</i> ^{Δ20} w ¹¹¹⁸ versus w ¹¹¹⁸	versus	uL11 ^{K3A} versus w ¹¹¹⁸	versus	uL11 ^{K3A} versus w ¹¹¹⁸	versus	uL11 ^{K3A} versus w ¹¹¹⁸	versus	uL11 ^{K3Y} versus w ¹¹¹⁸	versus
18SrRNA-Psi:CR41602	492	0.12		5.47E-01		2.53		1.23E-03		-0.01		1.00E+00	
28SrRNA-Psi:CR40596	815	0.17		2.96E-01		1.41		1.30E-02		-0.01		1.00E+00	
28SrRNA-Psi:CR40741	96	3.34		8.74E-05		3.25		5.48E-05		-0.01		1.00E+00	
28SrRNA-Psi:CR45848	67	0.18		3.14E-01		2.82		4.86E-04		0.00		1.00E+00	
28SrRNA-Psi:CR45851	67	-0.02		8.65E-01		1.85		1.04E-02		0.00		1.00E+00	
28SrRNA-Psi:CR45853	36	0.04		8.53E-01		2.51		1.39E-03		-0.01		1.00E+00	
28SrRNA-Psi:CR45855	55	0.08		5.85E-01		1.60		9.23E-03		0.00		1.00E+00	
28SrRNA-Psi:CR45860	204	0.27		8.96E-02		1.47		1.26E-02		0.00		1.00E+00	
4E-T	2991	-0.97		6.64E-13		-0.07		3.82E-01		0.00		1.00E+00	
aav	91	-0.12		6.58E-01		-1.00		6.49E-03		-0.18		1.45E-01	
ABCD	2965	-0.64		4.77E-10		-0.08		2.74E-01		-0.06		2.18E-01	
Ac76E	330	-3.26		6.23E-33		0.04		6.42E-01		0.00		1.00E+00	
Acf	2690	-0.62		3.33E-06		0.02		8.64E-01		0.01		9.06E-01	
Ada1-1	19	0.05		8.42E-01		-5.48		5.96E-05		0.07		3.78E-01	
Adar	2162	-0.71		2.33E-05		-0.01		9.70E-01		0.00		1.00E+00	
ADD1	1787	-0.61		3.07E-10		-0.02		9.06E-01		0.01		1.00E+00	
Adi1	187	0.12		6.12E-01		0.41		5.04E-03		0.79		4.87E-07	
Afti	793	-0.64		8.75E-06		0.00		1.00E+00		0.00		1.00E+00	
AgmNAT	22	0.59		2.40E-02		0.05		6.08E-01		0.00		1.00E+00	
AGO3	64	-0.64		1.52E-02		2.09		1.17E-13		0.38		5.07E-02	
agt	851	0.61		3.04E-06		1.63		1.55E-43		0.21		4.55E-02	
Ahcy	3702	0.65		5.05E-11		0.02		8.74E-01		0.00		1.00E+00	
AIMP1	804	0.72		4.73E-05		0.05		5.43E-01		0.00		1.00E+00	
AIMP3	582	0.65		2.84E-04		0.03		7.70E-01		0.00		1.00E+00	
Akap200	21721	-1.15		5.83E-49		0.04		6.85E-01		0.00		1.00E+00	
Aldh	651	0.77		6.08E-03		0.00		9.72E-01		0.07		4.09E-01	
Alg3	292	0.70		8.24E-06		-0.28		7.21E-03		-0.01		9.05E-01	
Alp1	47	0.10		5.76E-01		-0.60		5.71E-02		-0.01		1.00E+00	
Alp6	12	-0.02		8.84E-01		-1.02		3.05E-02		-0.09		3.70E-01	
Alp7	85	-0.13		2.20E-01		-8.44		5.06E-06		-0.01		1.00E+00	
Alp8	99	-0.07		4.75E-01		-0.66		5.26E-02		0.00		1.00E+00	
alph	3610	-0.65		1.44E-17		0.04		6.45E-01		0.00		1.00E+00	
alpha-Est3	211	0.63		2.46E-03		0.42		6.49E-03		0.00		1.00E+00	
alphaTub84B	98958	0.58		2.30E-12		-0.03		7.61E-01		-0.03		4.82E-01	
alphaTub85E	97	3.34		1.93E-15		0.01		8.95E-01		0.01		9.37E-01	
Alr	351	0.61		1.35E-03		0.39		6.66E-03		0.02		8.04E-01	
amd	647	0.26		1.88E-01		1.20		1.13E-18		0.00		1.00E+00	
Amnionless	12	-0.02		9.37E-01		-0.61		5.12E-02		-0.01		1.00E+00	
Amun	7039	-0.79		7.59E-17		0.01		9.64E-01		0.00		1.00E+00	
Ance	10590	-0.08		5.00E-01		-0.70		3.42E-22		-0.03		4.37E-01	
Ance-2	17	-0.11		5.24E-01		-0.59		4.28E-02		0.00		1.00E+00	
Ance-3	9	0.02		8.74E-01		1.73		1.06E-02		0.01		1.00E+00	
Ank	7198	-0.65		1.55E-07		-0.04		6.39E-01		0.00		1.00E+00	
anne	6510	-0.58		4.18E-05		0.01		9.54E-01		0.01		1.00E+00	
Antp	1348	-0.77		7.50E-06		-0.02		8.95E-01		0.01		1.00E+00	
AOX1	329	0.55		2.96E-02		3.81		3.49E-23		0.01		1.00E+00	
Aps	7280	-0.69		1.35E-08		0.02		8.52E-01		0.00		1.00E+00	
aqz	7288	-1.14		3.19E-11		-0.03		8.04E-01		0.00		1.00E+00	
Arc2	184	0.03		9.37E-01		3.19		8.75E-82		0.22		8.41E-02	
Archease	334	0.25		2.21E-01		0.63		7.35E-06		0.00		1.00E+00	
Arf102F	1709	-0.65		3.80E-07		-0.06		5.12E-01		-0.01		1.00E+00	
ari-1	1097	-0.60		1.00E-06		0.04		6.78E-01		0.00		1.00E+00	
armi	2051	-0.65		2.47E-07		-0.05		6.22E-01		0.00		1.00E+00	
Arp10	640	0.68		3.14E-04		0.00		9.77E-01		0.00		1.00E+00	
Arpc1	2195	0.59		5.56E-08		0.02		8.26E-01		-0.01		1.00E+00	
Arpc4	1043	1.13		5.45E-17		0.08		3.28E-01		0.00		1.00E+00	
Arpc5	1308	0.77		7.24E-08		0.00		9.90E-01		-0.01		9.73E-01	
Ars2	4686	-0.64		7.16E-18		-0.01		9.72E-01		0.00		1.00E+00	
Asator	1415	-0.76		7.99E-10		-0.04		7.13E-01		0.00		1.00E+00	
AsnS	394	1.20		2.78E-06		0.16		1.49E-01		0.17		1.29E-01	
asrj	688	0.86		1.78E-07		0.36		3.09E-03		0.00		1.00E+00	
asRNA:CR11538	422	0.58		1.49E-02		-0.04		7.33E-01		0.01		1.00E+00	
asRNA:CR42871	56	-0.73		4.32E-03		0.11		3.22E-01		0.01		9.91E-01	
asRNA:CR43425	78	-0.50		3.31E-02		0.80		9.37E-03		0.00		1.00E+00	
asRNA:CR43426	51	0.67		1.10E-02		0.01		9.32E-01		-0.01		1.00E+00	
asRNA:CR43468	99	-0.59		7.51E-03		0.27		4.57E-02		0.02		7.54E-01	
asRNA:CR44030	121	-0.10		7.14E-01		0.86		2.95E-04		1.64		7.16E-13	
asRNA:CR44031	97	0.54		1.87E-02		1.28		2.34E-03		0.02		7.92E-01	
asRNA:CR44045	82	-0.61		1.50E-02		-0.01		9.70E-01		0.01		1.00E+00	
asRNA:CR44368	337	0.00		9.87E-01		1.03		2.46E-15		-0.60		2.20E-04	
asRNA:CR44431	123	0.83		5.37E-04		-0.03		7.85E-01		0.01		1.00E+00	
asRNA:CR45126	267	-0.96		7.58E-07		2.40		2.95E-15		0.95		3.69E-03	
asRNA:CR45140	31	0.34		1.70E-01		4.88		2.30E-13		-0.02		8.78E-01	
asRNA:CR45171	27	-1.00		3.76E-03		0.34		9.99E-02		0.05		5.27E-01	
asRNA:CR45182	29	-0.64		1.70E-02		-0.03		7.96E-01		0.01		1.00E+00	
asRNA:CR45195	68	0.10		7.19E-01		7.75		1.00E-27		0.00		1.00E+00	
asRNA:CR45466	32	-0.97		1.72E-03		0.00		9.72E-01		0.00		1.00E+00	
asRNA:CR45600	111	-5.01		2.08E-12		5.59		1.04E-17		5.92		1.38E-19	
asRNA:CR45663	34	1.49		3.22E-04		0.02		9.09E-01		0.00		1.00E+00	
asRNA:CR45738	32	0.61		2.24E-02		-0.08		4.91E-01		-0.01		1.00E+00	
asRNA:CR45789	35	-0.71		1.03E-02		-0.03		7.98E-01		0.00		1.00E+00	
asRNA:CR45835	898	0.61		4.33E-07		-0.03		7.65E-01		0.00		1.00E+00	
asRNA:CR45890	135	0.74		2.39E-03		-0.09		4.80E-01		0.00		1.00E+00	
asRNA:CR46089	20	0.02		9.50E-01		6.93		9.49E-07		0.01		1.00E+00	
AstA	15	-0.47		4.28E-02		-0.85		2.71E-02		-0.03		7.69E-01	
Atf6	1360	-0.98		3.85E-07		0.00		9.95E-01		0.00		1.00E+00	
Atg17	1079	-0.92		3.17E-07		0.03		7.45E-01		0.00		1.00E+00	
atilla	38	0.68		1.38E-02		-0.01		9.56E-01		0.00		1.00E+00	
ATPsynD	4001	0.89		1.85E-13		-0.03		7.42E-01		0.00		1.00E+00	
ATPsynDelta	2959	1.17		4.25E-42		0.05		5.61E-01		0.00		1.00E+00	
ATPsynE	2430	0.91		4.10E-08		-0.01		9.18E-01		0.00		1.00E+00	
ATPsynF	2536	0.99		9.61E-19		0.00		9.76E-01		0.00		1.00E+00	
ATPsynGamma	5712	0.73		9.57E-18		0.01		9.13E-01		-0.01		1.00E+00	
ATPsynO	3667	0.75		2.40E-11		0.01		9.10E-01		0.00		1.00E+00	
awd	22227	0.68		1.45E-06		0.00		9.85E-01		0.00		1.00E+00	
Awh	61	-0.10		7.33E-01		-1.11		2.95E-03		0.00		1.00E+00	
bab1	47	0.12		6.72E-01		-1.35		7.56E-05		0.00		1.00E+00	
babo	2914	-0.80		1.14E-09		-0.04		7.06E-01		0.00		1.00E+00	

Gene symbol	Base Mean	log ₂ FoldChange		adj p-value		log ₂ FoldChange		adj p-value	
		corto ^{L1} /corto ⁴²⁰ w ¹¹¹⁸ versus	corto ^{L1} /corto ⁴²⁰ w ¹¹¹⁸ versus	uL11 ^{K3A} versus w ¹¹¹⁸	uL11 ^{K3Y} versus w ¹¹¹⁸	uL11 ^{K3A} versus w ¹¹¹⁸	uL11 ^{K3Y} versus w ¹¹¹⁸		
bab1	47	0.12	6.72E-01	-1.35	7.56E-05	0.00	1.00E+00		
babo	2914	-0.80	1.14E-09	-0.04	7.06E-01	0.00	1.00E+00		
Bacc	14814	-1.10	3.05E-25	0.05	5.22E-01	0.01	9.02E-01		
BBS8	105	0.44	6.81E-02	0.88	5.53E-05	0.01	1.00E+00		
be	704	-0.59	7.31E-05	-0.07	4.14E-01	0.00	1.00E+00		
ben	4467	-0.60	5.15E-06	-0.04	7.26E-01	0.00	1.00E+00		
Bet5	305	0.66	1.09E-03	0.02	8.60E-01	0.00	1.00E+00		
betaTub56D	87388	0.65	3.71E-15	-0.02	8.83E-01	-0.01	1.00E+00		
Bl-1	1623	-0.69	7.33E-12	0.30	5.15E-05	0.00	1.00E+00		
BicD	2135	-0.68	7.68E-09	0.06	4.83E-01	0.00	1.00E+00		
Bin1	1697	0.32	1.04E-01	2.12	1.19E-36	0.00	1.00E+00		
bip2	3652	-1.02	1.89E-14	-0.07	3.85E-01	0.01	8.48E-01		
Blos3	282	0.75	3.15E-04	0.04	6.56E-01	0.00	1.00E+00		
bmm	105	0.20	4.43E-01	-1.35	1.15E-03	-0.01	1.00E+00		
BNIIP3	2102	-0.67	5.46E-06	0.02	8.57E-01	0.00	1.00E+00		
bnl	117	-0.63	1.26E-02	0.02	8.64E-01	0.00	1.00E+00		
bou	1262	0.81	1.17E-08	0.09	2.46E-01	0.00	1.00E+00		
Brca2	341	-0.64	8.41E-05	0.00	9.81E-01	0.00	1.00E+00		
Brd	509	0.53	2.95E-03	1.17	7.95E-18	0.01	1.00E+00		
bru3	51	0.05	8.22E-01	4.90	3.37E-15	-0.01	1.00E+00		
Bsg	2702	-0.77	1.00E-06	0.00	9.76E-01	0.00	1.00E+00		
bsk	1275	-0.72	5.53E-12	0.03	7.89E-01	0.00	1.00E+00		
btd	63	0.21	3.76E-01	-2.19	6.57E-06	0.01	1.00E+00		
btv	49	-0.11	6.87E-01	0.58	6.50E-02	0.03	7.38E-01		
bun	5539	-0.70	3.32E-07	-0.41	7.00E-04	0.01	8.66E-01		
c(3)G	214	-0.86	2.99E-05	0.06	5.01E-01	0.01	1.00E+00		
C15	235	0.36	4.16E-02	-0.61	5.84E-06	0.00	1.00E+00		
cac	124	0.37	1.37E-01	3.85	3.50E-29	-0.02	9.52E-01		
Cadps	187	0.69	9.19E-03	1.58	2.50E-09	0.01	1.00E+00		
Caf1-180	1658	-0.58	2.62E-04	0.04	6.21E-01	0.01	1.00E+00		
Cals	4732	-0.77	1.60E-05	-0.03	8.06E-01	0.00	1.00E+00		
Cam	12315	-1.48	3.62E-35	0.03	7.66E-01	0.00	1.00E+00		
CaMKI	3031	-0.81	2.36E-10	0.00	9.77E-01	0.01	1.00E+00		
CaMKII	2738	-0.98	1.88E-12	0.13	1.18E-01	0.08	2.06E-01		
CanA-14F	856	-0.61	1.02E-04	0.04	6.99E-01	0.00	1.00E+00		
Cap-H2	1038	-0.59	1.70E-07	0.03	7.58E-01	0.07	2.13E-01		
cas	19	0.61	1.87E-02	0.38	8.83E-02	0.00	1.00E+00		
caz	3727	-0.58	1.17E-03	0.06	5.27E-01	0.00	1.00E+00		
Chs	2322	0.62	2.00E-17	0.05	5.13E-01	0.00	1.00E+00		
CCKLR-17D3	380	0.67	3.15E-04	0.06	4.84E-01	0.00	1.00E+00		
CCT5	11598	0.65	5.89E-18	0.05	5.39E-01	-0.04	3.73E-01		
Cda4	4755	0.63	7.21E-13	0.03	7.32E-01	0.02	6.48E-01		
Cdk5alpha	35	-0.75	9.09E-03	-0.09	3.69E-01	0.00	1.00E+00		
CG10051	15	-0.03	8.98E-01	-2.23	8.63E-03	-0.38	9.09E-02		
CG10089	215	-0.17	4.09E-01	0.84	4.59E-09	-0.35	2.02E-02		
CG10137	20	0.26	2.83E-01	0.65	3.90E-02	0.00	1.00E+00		
CG10189	280	0.09	6.85E-01	0.61	7.79E-06	0.00	1.00E+00		
CG10324	235	-0.83	9.43E-06	0.06	4.80E-01	0.00	1.00E+00		
CG10337	141	-0.44	3.08E-02	0.94	4.60E-08	0.00	1.00E+00		
CG10339	12	0.07	6.39E-01	2.10	6.08E-04	1.55	5.81E-03		
CG10344	43	-0.05	8.66E-01	1.22	1.10E-03	0.05	4.80E-01		
CG10395	486	-0.99	3.91E-12	0.15	5.06E-02	0.00	1.00E+00		
CG10417	4149	-0.87	9.78E-43	-0.05	4.73E-01	-0.02	6.07E-01		
CG10418	472	0.97	6.82E-07	0.03	8.02E-01	0.00	1.00E+00		
CG10445	247	-0.36	7.85E-02	0.81	6.20E-08	0.02	6.24E-01		
CG10465	1501	-0.72	2.95E-08	-0.06	4.92E-01	-0.01	1.00E+00		
CG10514	39	-1.49	7.99E-04	0.02	8.51E-01	0.00	1.00E+00		
CG10559	50	0.14	5.95E-01	1.51	1.14E-08	0.00	1.00E+00		
CG10600	1849	-0.73	1.91E-05	0.01	9.49E-01	0.00	1.00E+00		
CG10638	2684	0.14	2.79E-01	1.24	2.06E-62	0.00	1.00E+00		
CG10803	1895	-0.74	7.57E-06	-0.03	7.80E-01	0.00	1.00E+00		
CG10863	209	0.62	2.02E-02	-0.03	7.37E-01	0.01	1.00E+00		
CG10916	405	-0.21	2.73E-01	1.32	2.49E-27	0.00	1.00E+00		
CG11060	14	0.19	1.86E-01	0.63	4.56E-02	0.00	1.00E+00		
CG11077	321	0.68	3.96E-04	0.04	6.86E-01	0.00	1.00E+00		
CG11151	1004	0.66	1.09E-04	-0.04	6.70E-01	0.00	1.00E+00		
CG11155	89	-0.20	4.49E-01	0.59	1.37E-02	-0.01	1.00E+00		
CG11158	89	-0.09	7.52E-01	1.15	9.94E-05	0.00	1.00E+00		
CG11180	768	-1.31	7.99E-12	0.06	4.93E-01	0.00	1.00E+00		
CG11249	31	-0.27	2.75E-01	0.66	1.81E-02	0.00	1.00E+00		
CG11267	2756	0.80	2.32E-09	-0.01	9.69E-01	0.00	1.00E+00		
CG11350	22	1.08	2.47E-03	0.01	9.10E-01	0.07	4.10E-01		
CG11360	3374	-0.59	2.82E-03	0.08	3.43E-01	0.01	1.00E+00		
CG11370	1620	0.27	2.29E-01	0.76	6.42E-04	0.14	1.74E-01		
CG11454	503	0.73	1.74E-06	0.04	6.54E-01	0.00	1.00E+00		
CG11459	40	0.02	9.37E-01	-3.59	5.30E-04	-0.36	9.07E-02		
CG11601	288	-1.03	8.59E-12	0.02	8.70E-01	0.00	1.00E+00		
CG11658	72	0.19	4.82E-01	0.80	4.86E-04	0.00	1.00E+00		
CG11699	609	0.68	5.97E-04	0.03	7.59E-01	0.00	1.00E+00		
CG11752	421	0.85	9.10E-06	-0.02	8.49E-01	0.00	1.00E+00		
CG11753	305	0.71	1.85E-04	0.00	9.72E-01	0.00	1.00E+00		
CG11835	652	-0.12	5.99E-01	-0.96	6.46E-07	-0.07	2.96E-01		
CG11854	130	-0.09	5.51E-01	-0.89	3.53E-02	-0.01	1.00E+00		
CG11899	2687	0.58	2.36E-04	-0.04	6.96E-01	-0.04	4.40E-01		
CG11999	699	0.71	3.22E-04	0.09	3.31E-01	0.00	1.00E+00		
CG12054	2044	-0.78	9.35E-06	-0.01	9.62E-01	0.00	1.00E+00		
CG12057	41	0.04	6.75E-01	-3.13	4.56E-03	-1.77	1.09E-02		
CG1208	54	3.54	4.06E-08	1.32	3.43E-03	0.00	1.00E+00		
CG12112	271	-0.85	7.80E-06	0.12	1.48E-01	0.00	1.00E+00		
CG12115	11	-0.08	5.01E-01	-5.99	2.31E-05	-3.05	1.15E-03		
CG12170	204	0.70	6.12E-04	0.03	8.04E-01	0.01	1.00E+00		
CG12171	763	1.03	5.36E-13	0.75	1.51E-13	0.00	1.00E+00		
CG12177	62	0.10	7.32E-01	0.76	2.59E-03	0.00	1.00E+00		
CG12204	290	1.03	3.91E-07	0.43	5.96E-03	0.01	9.42E-01		
CG12224	199	-0.04	9.02E-01	2.01	3.75E-30	0.00	1.00E+00		
CG12301	779	-0.59	1.10E-03	0.09	2.87E-01	0.00	1.00E+00		
CG12320	383	0.61	4.18E-04	0.06	4.68E-01	0.00	1.00E+00		

Gene symbol	Base Mean	log ₂ FoldChange		adj p-value		log ₂ FoldChange		adj p-value				
		corto ^{L1} /corto ⁴²⁰ versus w ¹¹¹⁸	versus	corto ^{L1} /corto ⁴²⁰ versus w ¹¹¹⁸	versus	uL11 ^{K3A} versus w ¹¹¹⁸	versus	uL11 ^{K3Y} versus w ¹¹¹⁸	versus			
CG12344	18	-0.73		1.06E-02		-0.07		5.45E-01		0.00		1.00E+00
CG12535	259	-2.49		3.99E-31		0.04		6.98E-01		0.00		1.00E+00
CG12547	2267	-0.82		2.09E-21		0.05		5.86E-01		0.00		1.00E+00
CG12592	84	-5.00		3.37E-05		-0.04		6.97E-01		-0.01		1.00E+00
CG12814	1934	-0.66		1.10E-11		0.05		5.48E-01		0.03		5.19E-01
CG12828	151	0.87		1.14E-04		-0.05		6.52E-01		-0.02		8.92E-01
CG12868	154	-0.36		1.17E-01		1.52		3.95E-16		0.00		1.00E+00
CG12935	370	1.10		1.08E-10		-0.02		8.88E-01		0.00		1.00E+00
CG12947	202	-0.18		4.28E-01		-0.63		3.27E-04		0.00		1.00E+00
CG1299	414	0.26		2.45E-01		1.01		2.72E-08		0.00		1.00E+00
CG12990	39	-1.81		3.29E-05		0.02		8.45E-01		0.00		1.00E+00
CG13023	385	2.05		7.22E-11		-0.32		5.69E-02		-0.14		1.79E-01
CG13029	41	0.35		1.31E-01		2.92		1.84E-18		0.12		2.40E-01
CG13041	54	1.02		3.83E-03		-0.07		4.61E-01		-0.40		3.96E-02
CG13044	661	0.68		4.80E-03		0.05		5.92E-01		0.02		8.05E-01
CG13045	48	-0.59		2.66E-02		-0.06		5.40E-01		-0.01		1.00E+00
CG13045	470	-0.83		4.04E-09		0.18		4.71E-02		0.13		1.00E-01
CG13053	118	0.97		1.90E-03		-0.96		9.37E-03		-1.91		1.24E-04
CG13064	52	0.81		5.07E-03		0.05		6.12E-01		0.00		1.00E+00
CG13067	78	0.87		4.69E-03		0.06		5.01E-01		1.27		1.22E-05
CG13082	663	0.62		4.19E-03		-0.07		4.59E-01		0.00		1.00E+00
CG13097	1071	-0.63		3.97E-06		0.08		3.18E-01		0.00		1.00E+00
CG13220	1046	0.59		1.39E-06		0.05		5.80E-01		0.00		1.00E+00
CG13319	429	0.85		1.59E-05		0.03		7.98E-01		0.00		1.00E+00
CG13362	69	-0.74		3.92E-03		0.03		7.39E-01		-0.04		6.33E-01
CG13364	1664	0.76		6.87E-06		0.00		9.93E-01		0.00		1.00E+00
CG13369	355	0.63		8.83E-04		-0.01		9.12E-01		0.00		1.00E+00
CG13516	84	0.91		8.75E-04		-2.22		4.86E-15		-3.17		1.48E-27
CG13579	278	-0.03		8.28E-01		11.51		4.85E-23		0.00		1.00E+00
CG13585	575	0.95		4.94E-11		0.13		1.02E-01		0.02		7.52E-01
CG13630	1091	0.64		1.67E-09		0.10		1.19E-01		0.00		1.00E+00
CG13678	134	1.06		1.15E-03		0.02		8.64E-01		0.09		3.13E-01
CG1368	104	0.83		4.40E-03		-1.49		1.89E-04		-0.01		1.00E+00
CG13692	54	0.04		8.97E-01		1.31		2.65E-05		0.01		1.00E+00
CG13722	58	0.93		4.69E-03		-0.23		1.74E-01		-0.13		2.10E-01
CG13737	57	0.62		1.26E-02		0.04		6.72E-01		0.00		1.00E+00
CG13751	510	1.29		9.93E-08		0.03		7.26E-01		0.00		1.00E+00
CG13766	269	-1.05		7.32E-11		-0.06		5.06E-01		0.00		1.00E+00
CG13905	32	1.11		1.36E-03		0.01		9.54E-01		0.00		1.00E+00
CG14104	193	1.28		2.01E-07		-0.08		3.84E-01		-0.01		1.00E+00
CG14132	340	0.11		6.73E-01		-0.62		1.97E-03		-0.03		5.64E-01
CG14292	69	-1.15		1.15E-03		0.06		6.08E-01		0.00		1.00E+00
CG14302	16	-0.04		7.60E-01		-1.37		2.08E-02		-0.01		1.00E+00
CG14304	297	0.08		7.08E-01		0.62		1.63E-05		0.00		1.00E+00
CG14314	75	-0.47		5.04E-02		1.19		4.26E-05		0.00		1.00E+00
CG14377	80	-1.02		2.52E-04		-0.09		4.73E-01		-0.01		1.00E+00
CG14401	26	-0.99		2.51E-03		-0.02		8.90E-01		-0.01		1.00E+00
CG14407	427	0.78		1.12E-04		0.00		9.86E-01		0.00		1.00E+00
CG14440	648	-0.66		2.53E-05		-0.01		9.13E-01		0.00		1.00E+00
CG14464	898	-0.68		2.86E-05		0.04		7.03E-01		0.00		1.00E+00
CG14566	326	1.00		4.07E-05		-0.02		8.40E-01		0.52		1.64E-02
CG14598	331	1.24		1.79E-12		-0.18		6.31E-02		0.00		1.00E+00
CG14615	61	-0.84		2.10E-03		-0.02		8.61E-01		-0.03		6.96E-01
CG14695	97	0.09		5.32E-01		7.33		1.55E-43		0.03		7.36E-01
CG14715	686	0.87		8.24E-08		-0.03		7.95E-01		-0.01		1.00E+00
CG14763	94	-0.69		4.53E-03		-0.06		6.21E-01		0.00		1.00E+00
CG14907	184	-0.29		2.10E-01		0.97		2.91E-09		-0.13		1.54E-01
CG14915	24	0.28		2.37E-01		0.64		2.32E-02		0.02		9.05E-01
CG14963	27	0.00		9.87E-01		0.01		9.11E-01		0.69		4.79E-02
CG14965	340	-0.68		9.14E-05		-0.02		8.87E-01		0.00		1.00E+00
CG14966	318	-0.70		7.73E-05		-0.03		7.86E-01		-0.01		9.03E-01
CG14977	355	0.66		3.70E-04		0.01		9.69E-01		-0.01		1.00E+00
CG14984	277	0.75		9.39E-04		0.23		5.87E-02		0.01		1.00E+00
CG15083	584	0.79		1.63E-04		0.02		8.17E-01		0.00		1.00E+00
CG15170	18	0.02		9.12E-01		-2.23		8.48E-03		-0.18		1.79E-01
CG15211	42	0.60		2.38E-02		0.00		9.86E-01		0.01		1.00E+00
CG15237	463	0.71		3.29E-05		0.03		8.00E-01		0.00		1.00E+00
CG15309	348	-1.15		2.11E-07		0.03		7.91E-01		0.00		1.00E+00
CG15343	65	-0.08		7.69E-01		-1.24		6.05E-03		-0.01		1.00E+00
CG15347	54	4.74		6.59E-09		0.00		9.83E-01		-0.03		7.54E-01
CG15353	3826	0.82		1.11E-05		0.03		7.62E-01		0.61		2.02E-03
CG15382	81	-0.62		8.94E-03		-0.11		2.88E-01		-0.01		1.00E+00
CG1542	1295	0.67		1.31E-06		0.06		5.20E-01		-0.01		1.00E+00
CG15473	26	0.74		8.74E-03		0.00		9.77E-01		0.00		1.00E+00
CG15546	179	0.73		3.79E-04		0.75		4.93E-04		0.03		6.76E-01
CG15628	830	-0.69		6.10E-05		-0.02		8.10E-01		0.02		6.86E-01
CG1572	778	0.65		7.98E-06		-0.10		1.88E-01		0.00		1.00E+00
CG15784	8033	0.41		1.73E-02		5.32		0.00E+00		0.61		6.92E-05
CG1582	1397	0.03		8.89E-01		0.74		2.03E-15		0.01		1.00E+00
CG15923	256	-1.32		5.53E-08		0.07		5.34E-01		0.01		1.00E+00
CG1598	1089	0.60		9.56E-06		0.05		5.99E-01		0.00		1.00E+00
CG1647	659	-0.61		1.64E-05		0.03		7.46E-01		0.01		1.00E+00
CG16727	101	-13.72		9.08E-07		0.00		9.77E-01		0.00		1.00E+00
CG16812	796	-0.63		2.20E-08		0.05		5.27E-01		0.00		1.00E+00
CG16820	141	-0.22		3.58E-01		1.11		4.35E-10		-0.63		3.41E-03
CG1703	2733	-0.59		3.11E-05		0.17		5.48E-02		0.00		1.00E+00
CG17104	334	-0.16		5.23E-01		1.06		2.36E-07		0.00		1.00E+00
CG17177	11	-0.03		8.46E-01		6.67		3.10E-06		0.00		1.00E+00
CG17202	1061	0.69		2.76E-04		0.01		9.18E-01		0.00		1.00E+00
CG17454	820	-0.64		7.83E-09		0.13		4.25E-02		0.00		1.00E+00
CG17486	1168	-0.59		1.85E-06		0.00		9.88E-01		0.00		1.00E+00
CG17514	7525	-0.60		2.64E-04		0.03		7.60E-01		0.00		1.00E+00
CG17528	2579	-0.62		4.04E-09		-0.01		9.46E-01		0.00		1.00E+00
CG17574	551	0.29		8.95E-02		0.91		1.94E-17		-0.67		1.94E-08
CG17612	367	-0.72		9.48E-06		0.04		7.15E-01		0.01		1.00E+00
CG17684	127	-0.31		1.98E-01		1.48		1.26E-18		-0.11		1.79E-01

Gene symbol	Base Mean	log ₂ FoldChange		adj p-value		log ₂ FoldChange		adj p-value	
		corto ^{L1} /corto ⁴²⁰	versus w ¹¹¹⁸	corto ^{L1} /corto ⁴²⁰	versus w ¹¹¹⁸	uL11 ^{K3A}	versus w ¹¹¹⁸	uL11 ^{K3Y}	versus w ¹¹¹⁸
CG17698	1191	-0.96	1.17E-14	-0.06	4.28E-01	0.00	1.00E+00		
CG17724	203	-1.43	3.95E-06	0.06	4.74E-01	0.00	1.00E+00		
CG17752	65	-2.13	4.83E-04	0.02	8.61E-01	0.00	1.00E+00		
CG17776	374	1.06	1.51E-06	0.02	8.65E-01	0.00	1.00E+00		
CG17883	1756	-0.62	7.07E-07	0.09	2.41E-01	0.00	1.00E+00		
CG18063	238	-0.03	8.28E-01	8.80	7.19E-73	-0.03	7.66E-01		
CG18213	611	-0.08	7.21E-01	0.82	1.62E-08	0.00	1.00E+00		
CG1827	277	1.05	3.97E-06	-0.04	6.56E-01	0.00	1.00E+00		
CG1840	156	-0.65	5.29E-03	-0.01	9.48E-01	0.00	1.00E+00		
CG18547	919	0.26	1.35E-01	1.90	8.11E-70	-0.01	1.00E+00		
CG18585	13	-0.02	8.82E-01	-1.09	2.80E-02	-0.09	3.38E-01		
CG1888	455	0.63	3.47E-04	0.01	9.03E-01	0.00	1.00E+00		
CG1909	92	0.51	4.75E-02	3.31	4.98E-37	0.04	5.75E-01		
CG1910	5653	-0.77	1.49E-09	-0.01	9.26E-01	0.00	1.00E+00		
CG1971	10	-0.03	9.12E-01	0.70	3.73E-02	0.00	1.00E+00		
CG2003	66	0.01	9.87E-01	-0.65	4.84E-03	-0.09	2.74E-01		
CG2006	513	0.76	3.00E-05	0.01	9.46E-01	0.00	1.00E+00		
CG2021	304	0.65	5.50E-04	0.02	8.14E-01	0.00	1.00E+00		
CG2064	103	-0.13	6.35E-01	1.83	2.85E-21	0.00	1.00E+00		
CG2187	56	0.76	7.19E-03	1.48	2.14E-05	1.25	4.85E-04		
CG2200	465	0.66	5.82E-05	-0.04	7.06E-01	-0.01	1.00E+00		
CG2310	1991	0.82	6.19E-05	0.02	8.88E-01	0.00	1.00E+00		
CG2812	789	0.77	1.36E-07	0.55	9.49E-07	0.52	2.63E-05		
CG2865	935	-0.93	1.42E-06	0.02	8.50E-01	0.01	1.00E+00		
CG2901	32	1.17	2.64E-03	0.06	5.87E-01	-0.01	1.00E+00		
CG2909	129	0.00	9.91E-01	1.71	1.07E-19	0.01	1.00E+00		
CG2924	2315	-0.73	1.93E-12	-0.05	5.33E-01	0.00	1.00E+00		
CG3008	1831	-0.27	1.20E-02	1.75	8.62E-147	0.01	9.62E-01		
CG30187	266	-0.12	6.49E-01	1.68	1.49E-24	0.00	1.00E+00		
CG30196	60	0.19	2.15E-01	2.12	1.75E-11	0.08	3.26E-01		
CG30197	45	0.25	3.20E-01	-2.87	5.43E-10	0.00	1.00E+00		
CG3036	831	0.87	2.51E-06	0.65	6.15E-05	-0.01	8.88E-01		
CG30424	15	-0.20	3.78E-01	-1.39	6.47E-03	-0.01	1.00E+00		
CG30428	190	-0.09	7.38E-01	0.65	6.52E-04	0.86	1.95E-05		
CG30440	2603	-0.80	1.00E-14	-0.07	3.70E-01	0.00	1.00E+00		
CG3085	164	0.45	2.53E-02	0.73	1.11E-06	0.00	1.00E+00		
CG31030	110	-0.64	1.41E-02	-0.16	1.63E-01	0.00	1.00E+00		
CG31055	196	0.70	1.15E-03	-0.04	7.60E-01	0.00	1.00E+00		
CG3107	2743	-0.71	1.56E-07	-0.01	9.10E-01	0.00	1.00E+00		
CG31076	39	0.06	8.28E-01	-0.05	5.92E-01	-2.80	1.70E-05		
CG31126	212	0.76	3.03E-04	0.02	8.97E-01	0.00	1.00E+00		
CG31142	452	0.13	5.07E-01	0.59	2.76E-05	-0.01	9.42E-01		
CG31156	386	-0.80	1.01E-06	0.03	7.46E-01	0.00	1.00E+00		
CG31157	19	4.04	1.52E-04	0.08	5.01E-01	0.01	1.00E+00		
CG31391	23	-0.69	1.21E-02	0.00	9.88E-01	0.00	1.00E+00		
CG31431	21	-0.13	5.83E-01	-0.81	2.70E-02	0.00	1.00E+00		
CG31467	117	-0.64	7.42E-03	0.00	9.83E-01	0.00	1.00E+00		
CG31510	942	-1.10	4.98E-15	-0.09	2.64E-01	0.00	1.00E+00		
CG31548	553	0.68	1.35E-05	0.02	8.45E-01	0.00	1.00E+00		
CG31549	582	0.18	2.97E-01	0.93	1.89E-23	0.00	1.00E+00		
CG31559	89	0.07	8.26E-01	-0.59	2.16E-02	-0.02	8.81E-01		
CG31633	109	0.66	6.96E-03	0.14	1.73E-01	0.01	1.00E+00		
CG3168	768	0.19	4.55E-01	1.17	3.76E-06	0.00	1.00E+00		
CG31898	120	-0.71	1.78E-03	0.04	7.04E-01	0.01	1.00E+00		
CG31937	567	0.78	1.14E-07	0.01	9.51E-01	0.00	1.00E+00		
CG31955	41	0.02	9.57E-01	-0.16	2.03E-01	-1.28	1.29E-03		
CG31997	2776	0.64	9.55E-06	0.08	3.37E-01	-0.14	9.82E-02		
CG31998	3283	-0.73	1.38E-04	0.00	9.83E-01	0.01	1.00E+00		
CG31999	642	0.48	4.40E-04	0.94	7.82E-23	-0.52	3.45E-06		
CG32017	50	-0.13	6.30E-01	1.88	8.72E-06	0.03	6.95E-01		
CG32055	76	0.88	1.45E-03	-1.68	1.88E-07	-2.31	1.15E-12		
CG32069	283	0.66	8.71E-04	0.00	9.89E-01	-0.01	1.00E+00		
CG32095	635	-0.64	3.32E-07	0.01	9.67E-01	0.00	1.00E+00		
CG32163	213	0.66	1.33E-03	0.01	9.06E-01	0.00	1.00E+00		
CG32176	526	-0.83	1.30E-07	0.02	8.39E-01	0.00	1.00E+00		
CG32243	1236	-0.76	1.70E-15	0.01	9.47E-01	-0.01	1.00E+00		
CG32354	120	0.18	4.83E-01	0.68	4.05E-03	0.73	5.80E-03		
CG3253	101	0.07	8.05E-01	1.71	4.60E-19	-0.01	9.62E-01		
CG32532	10	-0.17	4.17E-01	5.19	1.02E-04	4.29	1.22E-03		
CG32544	30	-0.69	1.34E-02	0.00	9.85E-01	-0.01	1.00E+00		
CG32549	668	0.19	4.29E-01	1.12	1.39E-07	-0.02	8.49E-01		
CG3262	1798	-0.61	1.50E-16	0.23	1.11E-05	0.02	5.82E-01		
CG32625	10	-0.04	8.29E-01	2.22	9.92E-04	0.00	1.00E+00		
CG32694	95	0.22	3.56E-01	-0.84	2.94E-04	0.00	1.00E+00		
CG32850	772	-1.46	4.07E-37	0.05	5.76E-01	0.00	1.00E+00		
CG33225	21	0.60	1.61E-02	0.15	2.63E-01	0.00	1.00E+00		
CG33281	14	-10.96	7.84E-06	0.05	6.42E-01	0.01	1.00E+00		
CG33509	743	-0.64	6.34E-04	1.82	4.17E-46	0.19	6.27E-02		
CG3355	63	0.66	1.35E-02	-0.04	6.88E-01	0.00	1.00E+00		
CG33695	761	0.62	7.88E-05	-0.02	8.24E-01	0.00	1.00E+00		
CG33941	610	-1.36	5.20E-10	0.05	5.38E-01	0.00	1.00E+00		
CG33978	6959	-0.69	2.06E-04	0.11	2.26E-01	0.04	4.82E-01		
CG34163	279	-0.70	1.49E-03	0.00	9.76E-01	0.00	1.00E+00		
CG3420	534	0.60	6.60E-04	0.03	8.04E-01	0.00	1.00E+00		
CG34207	212	-0.84	3.04E-05	-0.02	8.28E-01	0.00	1.00E+00		
CG34247	87	4.23	8.81E-18	0.05	5.80E-01	-1.88	7.16E-04		
CG34382	59	0.85	1.89E-03	-1.48	1.98E-05	-1.22	2.36E-04		
CG34423	18	0.32	1.61E-01	-0.96	1.15E-02	-1.98	2.34E-04		
CG3448	164	-0.30	1.51E-01	1.45	4.49E-18	-0.01	1.00E+00		
CG3457	47	1.34	1.07E-04	1.75	3.05E-08	0.00	1.00E+00		
CG3492	22	-0.03	8.41E-01	7.08	6.14E-09	-0.01	1.00E+00		
CG3494	13	0.00	1.00E+00	7.85	3.38E-08	0.00	1.00E+00		
CG3500	293	0.62	1.41E-03	0.01	9.05E-01	0.00	1.00E+00		
CG3594	504	0.59	1.16E-03	0.06	4.53E-01	0.00	1.00E+00		
CG3726	143	0.27	2.31E-01	0.78	5.21E-05	0.03	5.79E-01		
CG3770	365	0.18	3.02E-01	-0.79	4.13E-11	-0.03	5.47E-01		
CG3868	17	-0.06	6.16E-01	-1.60	1.44E-02	-0.28	1.22E-01		
CG40160	3127	-0.80	2.78E-16	-0.05	5.08E-01	-0.01	9.40E-01		

Gene symbol	Base Mean	log ₂ FoldChange		adj p-value		log ₂ FoldChange		adj p-value		log ₂ FoldChange		adj p-value	
		corto ^{L1} /corto ⁴²⁰ w ¹¹¹⁸	versus	corto ^{L1} /corto ⁴²⁰ w ¹¹¹⁸	versus	uL11 ^{K3A} versus w ¹¹¹⁸	versus w ¹¹¹⁸	uL11 ^{K3Y} versus w ¹¹¹⁸	versus w ¹¹¹⁸	uL11 ^{K3Y} versus w ¹¹¹⁸	versus w ¹¹¹⁸		
CG40191	1684	-0.60		5.47E-08		-0.06		4.68E-01		0.00		1.00E+00	
CG4022	1651	-0.83		7.91E-10		-0.06		4.64E-01		-0.01		9.41E-01	
CG40228	993	-1.01		2.80E-10		0.02		8.24E-01		0.00		1.00E+00	
CG41099	2624	-0.75		2.20E-08		-0.07		4.01E-01		0.00		1.00E+00	
CG41520	382	-0.08		7.78E-01		0.72		3.67E-04		-0.02		7.95E-01	
CG4210	304	0.06		8.08E-01		0.84		6.58E-11		0.01		9.40E-01	
CG42237	12	-0.60		2.25E-02		-0.05		6.20E-01		0.00		1.00E+00	
CG42258	765	-1.18		1.27E-20		0.02		8.81E-01		0.00		1.00E+00	
CG42259	221	-0.77		2.06E-03		0.02		8.22E-01		0.00		1.00E+00	
CG42322	26	-0.66		1.61E-02		0.03		8.02E-01		0.01		1.00E+00	
CG42360	459	-0.79		9.71E-08		0.07		4.15E-01		0.00		1.00E+00	
CG42365	141	-0.21		3.83E-01		1.18		2.56E-11		0.00		1.00E+00	
CG4250	49	0.70		1.17E-02		0.09		3.74E-01		0.01		1.00E+00	
CG42566	16	0.14		5.66E-01		-1.69		2.81E-03		-0.84		1.90E-02	
CG4269	32	-1.33		1.99E-03		-0.02		8.60E-01		0.01		1.00E+00	
CG42694	19	-0.16		5.02E-01		-0.86		2.34E-02		0.00		1.00E+00	
CG42724	4450	-0.87		2.78E-09		0.02		8.50E-01		0.00		1.00E+00	
CG42813	479	0.60		7.35E-04		0.01		9.46E-01		0.00		1.00E+00	
CG4294	1630	-0.72		3.08E-08		0.18		3.61E-02		0.02		7.92E-01	
CG4362	57	0.04		8.38E-01		-1.24		1.81E-02		-0.59		5.15E-02	
CG43736	3291	-0.60		2.45E-04		-0.03		7.64E-01		0.00		1.00E+00	
CG4382	1610	1.20		1.55E-11		-0.43		3.97E-03		-0.64		3.44E-04	
CG4390	2352	0.60		4.28E-06		-0.01		9.12E-01		-0.01		1.00E+00	
CG44006	16	-0.19		3.72E-01		0.85		1.86E-02		0.00		1.00E+00	
CG44102	35	0.02		9.40E-01		2.66		5.21E-15		0.00		1.00E+00	
CG44325	1479	0.60		1.75E-04		-0.03		7.71E-01		0.00		1.00E+00	
CG44838	1266	-0.58		3.40E-05		0.00		9.80E-01		0.00		1.00E+00	
CG4502	1190	-0.65		9.37E-07		-0.07		3.45E-01		0.00		1.00E+00	
CG45050	4461	-1.41		2.07E-17		0.01		9.46E-01		0.00		1.00E+00	
CG4563	11	-0.02		8.74E-01		0.61		6.06E-02		0.00		1.00E+00	
CG4570	35	1.56		1.77E-04		0.00		9.85E-01		0.01		1.00E+00	
CG4612	3093	-1.01		2.21E-13		-0.03		7.29E-01		0.00		1.00E+00	
CG4629	51	-0.05		8.82E-01		0.67		2.58E-02		0.00		1.00E+00	
CG4653	10	-0.02		8.87E-01		-1.22		2.33E-02		-0.09		3.33E-01	
CG4686	1110	0.67		8.46E-09		-0.08		2.57E-01		0.00		1.00E+00	
CG4702	49	0.17		5.07E-01		-1.32		4.95E-04		-0.36		5.98E-02	
CG4716	80	0.10		4.21E-01		-2.55		6.25E-03		0.02		9.19E-01	
CG4768	1064	-0.63		3.80E-07		-0.05		5.59E-01		0.00		1.00E+00	
CG4789	1285	0.59		2.29E-05		-0.02		8.66E-01		0.00		1.00E+00	
CG4813	494	0.59		4.01E-05		-0.03		8.17E-01		0.01		1.00E+00	
CG4860	453	0.67		2.87E-04		-0.04		7.15E-01		0.00		1.00E+00	
CG4880	886	-0.73		1.11E-10		-0.08		2.48E-01		0.00		1.00E+00	
CG4911	926	-0.72		6.09E-06		0.00		9.75E-01		0.00		1.00E+00	
CG4950	63	-0.37		1.42E-01		-0.05		5.76E-01		-1.06		3.07E-03	
CG5027	367	0.81		2.00E-08		-0.02		8.81E-01		-0.01		1.00E+00	
CG5151	885	-0.67		4.99E-04		-0.08		3.45E-01		0.00		1.00E+00	
CG5391	400	-0.78		3.04E-03		3.62		7.63E-72		0.01		9.15E-01	
CG5446	1410	0.62		1.05E-06		0.00		9.99E-01		0.00		1.00E+00	
CG5455	141	-0.01		9.85E-01		-0.87		5.09E-05		-2.03		7.80E-21	
CG5567	232	0.60		1.79E-03		0.46		6.67E-04		0.03		4.91E-01	
CG5618	404	0.94		3.40E-05		-0.02		8.64E-01		0.00		1.00E+00	
CG5645	551	-1.20		2.36E-10		0.36		8.57E-03		0.01		9.37E-01	
CG5664	538	-0.61		3.00E-05		0.46		6.71E-05		0.01		1.00E+00	
CG5846	201	0.69		1.24E-03		0.03		7.79E-01		0.00		1.00E+00	
CG5885	3676	0.60		7.64E-10		-0.05		5.96E-01		-0.01		1.00E+00	
CG5903	2203	0.58		1.78E-07		0.13		7.05E-02		0.00		1.00E+00	
CG5955	8	-0.23		1.55E-01		3.40		5.82E-05		-0.01		1.00E+00	
CG6044	626	0.16		3.62E-01		0.96		1.39E-17		-0.01		1.00E+00	
CG6055	37	0.14		5.96E-01		-1.12		5.37E-03		-0.01		1.00E+00	
CG6071	137	-0.03		9.16E-01		0.73		1.03E-03		0.83		7.55E-04	
CG6180	4013	0.63		5.57E-09		-0.03		8.04E-01		0.00		1.00E+00	
CG6201	37	-0.25		3.33E-01		-0.81		1.07E-02		-0.01		1.00E+00	
CG6218	206	-0.62		1.72E-03		-0.04		6.35E-01		-0.02		7.96E-01	
CG6280	188	-0.32		9.19E-02		-0.99		2.70E-08		-0.01		1.00E+00	
CG6293	15	-0.15		5.13E-01		-1.83		4.48E-03		-0.02		7.77E-01	
CG6310	302	0.31		1.04E-01		-0.53		1.07E-04		-1.17		6.76E-19	
CG6330	158	0.41		8.87E-02		0.88		6.45E-04		-0.20		1.22E-01	
CG6357	463	-0.71		3.51E-04		-1.63		2.20E-19		0.00		1.00E+00	
CG6414	96	0.63		1.99E-02		-1.28		1.82E-03		0.00		1.00E+00	
CG6512	2297	0.13		2.43E-01		0.63		1.96E-19		0.01		8.51E-01	
CG6686	1995	-0.61		1.94E-05		0.22		2.61E-02		0.00		1.00E+00	
CG6700	2874	-0.81		6.27E-07		0.05		5.82E-01		0.00		1.00E+00	
CG6790	9	0.18		2.26E-01		3.70		8.75E-06		0.00		1.00E+00	
CG6912	99	-5.89		1.77E-07		4.27		3.46E-14		4.50		3.37E-15	
CG6928	2325	-0.21		2.85E-01		3.92		1.78E-156		2.87		1.32E-82	
CG7054	111	-0.57		2.87E-02		2.11		1.30E-26		0.33		4.67E-02	
CG7080	40	0.15		4.58E-01		4.03		3.25E-20		0.00		1.00E+00	
CG7173	192	0.15		5.00E-01		-0.65		5.38E-04		-0.52		8.92E-03	
CG7213	27	0.29		2.45E-01		7.51		2.14E-09		0.00		1.00E+00	
CG7367	156	-0.70		2.69E-03		-0.17		1.49E-01		-0.02		7.39E-01	
CG7414	11131	0.59		7.82E-19		0.01		9.52E-01		0.00		1.00E+00	
CG7565	175	-0.69		2.66E-03		-2.28		1.43E-19		-0.04		5.16E-01	
CG7630	1562	1.04		1.98E-14		0.05		5.86E-01		0.00		1.00E+00	
CG7637	973	1.92		5.72E-24		0.02		8.99E-01		0.00		1.00E+00	
CG7646	134	-1.04		3.22E-05		0.02		8.47E-01		0.00		1.00E+00	
CG7668	1484	-0.86		1.89E-13		-0.02		8.26E-01		-0.01		9.40E-01	
CG7685	164	0.63		6.57E-03		0.04		6.43E-01		0.00		1.00E+00	
CG7692	656	-0.87		8.80E-12		0.04		6.82E-01		0.03		5.49E-01	
CG7739	1153	-0.64		3.23E-11		-0.05		6.08E-01		-0.01		1.00E+00	
CG7839	1429	-0.80		6.12E-07		0.09		2.63E-01		0.00		1.00E+00	
CG7900	41	4.55		2.26E-05		2.11		6.72E-04		0.00		1.00E+00	
CG7916	16	0.13		3.16E-01		0.04		7.30E-01		-1.26		2.16E-02	
CG7920	3784	0.65		1.36E-09		-0.26		2.06E-03		0.00		1.00E+00	
CG7953	31	-0.07		5.70E-01		-3.18		4.57E-04		-0.52		5.46E-02	
CG7966	139	0.86		3.03E-03		-0.07		4.85E-01		0.01		1.00E+00	
CG7991	93	0.16		5.45E-01		-1.20		1.07E-04		0.01		1.00E+00	
CG8112	68	0.33		1.87E-01		-0.92		1.04E-02		-0.03		7.02E-01	
CG8157	91	0.13		5.33E-01		-3.51		4.35E-08		0.00		1.00E+00	

Gene symbol	Base Mean	log ₂ FoldChange		adj p-value		log ₂ FoldChange		adj p-value	
		corto ^{L1} /corto ⁴²⁰ w ¹¹¹⁸ versus	corto ^{L1} /corto ⁴²⁰ w ¹¹¹⁸ versus	uL11 ^{K3A} versus w ¹¹¹⁸	uL11 ^{K3A} versus w ¹¹¹⁸	uL11 ^{K3Y} versus w ¹¹¹⁸	uL11 ^{K3Y} versus w ¹¹¹⁸		
CG8160	19	0.19	1.39E-01	-0.66	5.32E-02	0.00	1.00E+00		
CG8192	167	0.76	5.57E-04	-0.26	6.59E-02	0.00	1.00E+00		
CG8204	166	0.65	4.51E-03	0.01	9.09E-01	0.00	1.00E+00		
CG8303	208	0.46	3.10E-02	0.69	2.01E-04	0.00	1.00E+00		
CG8360	132	0.71	2.84E-03	0.03	7.61E-01	0.00	1.00E+00		
CG8399	2181	0.73	4.88E-15	0.00	9.75E-01	0.00	1.00E+00		
CG8500	73	-0.69	8.60E-03	-1.78	1.52E-04	-0.03	6.54E-01		
CG8539	9	-0.06	7.27E-01	0.83	2.63E-02	0.00	1.00E+00		
CG8549	532	-0.44	1.74E-02	0.60	6.84E-05	0.00	1.00E+00		
CG8833	390	-0.60	2.98E-04	0.03	8.06E-01	0.01	9.13E-01		
CG8925	35	-0.18	4.46E-01	0.59	3.32E-02	0.00	1.00E+00		
CG8927	52	-0.12	6.41E-01	2.02	1.81E-04	0.74	2.16E-02		
CG8997	28	-0.10	5.51E-01	-5.54	2.35E-06	-0.77	3.60E-02		
CG9034	454	1.08	6.35E-06	0.05	5.91E-01	0.00	1.00E+00		
CG9065	223	1.09	7.84E-06	0.38	2.24E-02	0.00	1.00E+00		
CG9170	1167	0.00	9.77E-01	0.67	9.06E-26	0.01	9.27E-01		
CG9205	889	1.09	7.19E-17	0.07	3.38E-01	0.00	1.00E+00		
CG9240	519	0.58	4.27E-05	0.07	3.97E-01	0.00	1.00E+00		
CG9246	1988	-0.61	5.99E-06	0.06	4.73E-01	0.00	1.00E+00		
CG9312	150	0.53	2.53E-02	-0.70	4.84E-03	-0.21	1.14E-01		
CG9331	2348	0.64	4.33E-13	-0.05	5.25E-01	-0.07	1.62E-01		
CG9336	285	1.72	2.22E-08	-0.01	8.95E-01	0.01	1.00E+00		
CG9338	208	1.66	1.58E-07	-0.12	2.34E-01	0.00	1.00E+00		
CG9411	168	-0.21	4.11E-01	0.90	2.91E-04	0.00	1.00E+00		
CG9427	1394	0.88	9.72E-07	0.00	9.73E-01	0.00	1.00E+00		
CG9471	643	0.73	3.50E-06	0.10	2.20E-01	0.00	1.00E+00		
CG9521	33	-0.09	7.33E-01	1.59	1.95E-04	0.33	7.06E-02		
CG9547	243	0.77	3.20E-04	0.04	7.14E-01	0.00	1.00E+00		
CG9646	708	-0.15	4.09E-01	0.62	8.27E-08	0.00	1.00E+00		
CG9650	337	-0.32	1.09E-01	-0.61	9.83E-04	0.00	1.00E+00		
CG9691	853	0.65	4.41E-04	0.03	7.54E-01	-0.01	1.00E+00		
CG9747	717	1.09	4.41E-12	-0.51	1.11E-04	-0.01	1.00E+00		
chico	1054	-0.76	1.68E-13	-0.08	2.97E-01	0.01	1.00E+00		
chif	2908	-0.58	8.33E-04	0.04	6.23E-01	0.00	1.00E+00		
chinmo	519	0.32	1.69E-01	0.72	1.56E-03	0.35	4.97E-02		
CHKov1	1347	-0.44	8.28E-04	0.59	8.77E-09	0.00	1.00E+00		
CHKov2	325	-0.17	4.44E-01	1.30	1.30E-19	0.00	1.00E+00		
chm	727	-0.61	1.26E-07	-0.03	7.48E-01	0.00	1.00E+00		
CHMP2B	224	0.81	1.72E-04	0.03	7.93E-01	0.00	1.00E+00		
Chrac-14	373	0.65	1.59E-03	0.07	4.13E-01	0.00	1.00E+00		
chrB	3380	-0.90	1.39E-05	-0.05	5.80E-01	-0.01	1.00E+00		
Ch2	3503	0.66	5.55E-09	-0.06	4.38E-01	-0.01	8.73E-01		
Ch5	1359	0.60	1.59E-03	0.04	6.63E-01	0.00	1.00E+00		
Ch7	1066	0.58	3.91E-03	-0.05	5.99E-01	0.01	9.27E-01		
ci	8944	-1.01	3.99E-10	-0.05	5.37E-01	0.00	1.00E+00		
CIAPIN1	1526	0.20	1.04E-01	0.71	1.61E-18	0.00	1.00E+00		
cib	15779	-0.64	2.76E-06	0.06	4.84E-01	-0.01	1.00E+00		
Kcilalpha	6805	-1.20	3.97E-18	-0.03	7.82E-01	0.00	1.00E+00		
Kcilibeta	4366	-0.71	2.16E-16	0.01	9.62E-01	0.00	1.00E+00		
cl	1966	1.07	9.57E-13	0.11	1.85E-01	-0.01	1.00E+00		
Claspin	1098	-0.97	1.62E-05	0.02	8.37E-01	0.00	1.00E+00		
Citb	1163	-0.65	2.13E-07	0.52	2.71E-08	0.00	1.00E+00		
CLIP-190	1351	-0.94	5.34E-09	0.01	9.54E-01	0.00	1.00E+00		
Cln7	1086	0.63	1.01E-04	-0.09	2.90E-01	0.00	1.00E+00		
clumysy	768	-0.05	8.43E-01	1.88	6.29E-37	0.10	1.79E-01		
CNBP	42330	-0.99	2.65E-17	0.03	7.89E-01	0.00	1.00E+00		
Cnx14D	13	0.08	7.33E-01	6.73	7.83E-07	0.00	1.00E+00		
comm	299	0.84	5.61E-06	-0.03	7.35E-01	0.00	1.00E+00		
conu	1969	-0.92	1.92E-15	0.03	7.39E-01	0.00	1.00E+00		
Corin	24	-0.10	7.04E-01	-1.49	7.09E-03	0.00	1.00E+00		
Corp	23	0.18	4.74E-01	0.74	1.54E-02	-0.01	1.00E+00		
COX4	2941	0.86	5.76E-08	0.12	1.56E-01	0.00	1.00E+00		
COX5A	2606	1.17	1.83E-09	0.05	5.56E-01	0.00	1.00E+00		
COX5B	1591	0.59	1.91E-06	0.00	9.88E-01	-0.02	7.52E-01		
COX6B	2997	0.78	3.12E-11	-0.06	5.05E-01	-0.01	1.00E+00		
COX7A	3160	1.11	4.94E-14	-0.01	9.48E-01	0.00	1.00E+00		
COX8	1195	0.59	1.97E-04	0.02	8.62E-01	0.00	1.00E+00		
Cpr31A	46	1.71	3.35E-06	0.02	8.71E-01	0.00	1.00E+00		
Cpr35B	60	1.28	2.13E-04	0.00	9.89E-01	-0.01	1.00E+00		
Cpr47Eb	67	1.16	1.59E-03	0.05	6.06E-01	0.00	1.00E+00		
Cpr47Ee	24	-0.03	8.88E-01	-1.69	4.84E-03	0.00	1.00E+00		
Cpr49Aq	381	0.92	1.89E-07	-0.07	3.83E-01	0.00	1.00E+00		
Cpr49Ah	539	0.81	1.36E-03	1.02	1.13E-04	0.16	1.61E-01		
Cpr51A	266	0.96	8.10E-05	-0.51	9.48E-03	0.00	1.00E+00		
Cpr56F	33	-0.17	4.91E-01	-2.07	2.64E-04	-0.01	1.00E+00		
Cpr65Ec	171	0.83	1.01E-03	-0.33	4.57E-02	-0.21	1.14E-01		
Cpr66D	478	1.87	5.31E-25	-0.03	8.00E-01	0.00	1.00E+00		
Cpr67Fa2	86	0.27	2.67E-01	-0.09	3.18E-01	-0.66	5.64E-03		
Cpr72Ea	13	0.83	6.43E-03	0.03	7.54E-01	0.00	1.00E+00		
Cpr78E	355	0.71	9.83E-03	-0.59	2.57E-02	-0.02	8.40E-01		
CR12628	15	0.32	1.58E-01	1.70	3.97E-03	0.03	7.10E-01		
CR15345	118	-0.66	4.31E-03	0.00	9.77E-01	0.00	1.00E+00		
CR43086	36	0.01	9.46E-01	5.51	5.98E-22	3.08	3.23E-06		
CR43361	426	-0.03	8.89E-01	-1.74	1.53E-30	0.00	1.00E+00		
CR43669	21	-0.86	5.34E-03	0.04	7.25E-01	0.00	1.00E+00		
Cralbp	80	0.73	3.28E-03	-0.10	3.25E-01	0.00	1.00E+00		
CrebA	1973	-0.77	1.03E-05	0.00	9.83E-01	0.00	1.00E+00		
CRMP	259	-0.13	5.66E-01	-1.04	7.11E-10	0.00	1.00E+00		
crq	883	-0.78	1.85E-12	-0.06	4.91E-01	0.00	1.00E+00		
Crtc	1137	-0.88	5.35E-06	0.04	7.12E-01	0.00	1.00E+00		
cta	945	-0.64	6.04E-04	0.02	8.88E-01	0.00	1.00E+00		
Ctr1B	34	0.02	8.78E-01	-0.82	3.92E-02	-0.07	4.03E-01		
cuff	181	-0.59	9.91E-04	0.34	1.92E-02	0.00	1.00E+00		
Cui2	6827	-0.48	5.97E-05	3.49	0.00E+00	0.01	1.00E+00		
Cui3	3133	-0.62	1.96E-10	-0.02	9.07E-01	0.00	1.00E+00		
Culd	2104	-0.15	5.49E-01	3.94	7.19E-150	5.04	1.82E-247		
Cyp28d1	91	1.86	1.03E-03	-0.16	2.56E-01	0.00	1.00E+00		

Gene symbol	Base Mean	log ₂ FoldChange		adj p-value		log ₂ FoldChange		adj p-value		log ₂ FoldChange		adj p-value	
		corto ^{L1} /corto ^{K34}	versus w ¹¹¹⁸	corto ^{L1} /corto ^{K34}	versus w ¹¹¹⁸	uL11 ^{K34}	versus w ¹¹¹⁸	uL11 ^{K34}	versus w ¹¹¹⁸	uL11 ^{K34}	versus w ¹¹¹⁸	uL11 ^{K34}	versus w ¹¹¹⁸
Cyp303a1	68	-0.99	1.46E-03	0.02	8.88E-01	0.02	9.40E-01						
Cyp6d2	381	0.01	9.79E-01	4.75	2.83E-216	0.02	7.02E-01						
Cyp6d4	137	0.36	1.38E-01	1.42	6.67E-10	0.00	1.00E+00						
Cyp6g1	147	0.24	3.07E-01	-1.83	1.59E-04	-0.01	1.00E+00						
Cyp6v1	1037	-1.19	1.46E-27	-0.18	5.37E-03	0.00	1.00E+00						
D	14	0.19	2.73E-01	-0.62	4.04E-02	0.01	1.00E+00						
dac	806	-0.13	4.87E-01	-0.95	7.73E-13	0.03	5.06E-01						
Dad1	1589	1.13	4.02E-14	0.00	9.86E-01	-0.01	1.00E+00						
dally	6391	-0.67	2.37E-07	0.06	4.68E-01	0.00	1.00E+00						
datt	43	-0.07	7.98E-01	3.80	3.07E-10	5.11	4.48E-18						
Daxx	2065	-0.59	3.50E-06	-0.02	8.63E-01	0.01	1.00E+00						
dbp	1696	-0.84	1.08E-11	0.01	9.73E-01	0.00	1.00E+00						
dco	3330	-0.72	1.41E-14	-0.01	9.24E-01	0.00	1.00E+00						
DCP2	6445	-0.99	5.36E-08	0.03	7.18E-01	0.00	1.00E+00						
Dd	965	-0.87	1.81E-10	-0.02	8.60E-01	0.00	1.00E+00						
del	642	-0.93	2.75E-08	-0.05	5.91E-01	0.00	1.00E+00						
Der-1	1024	0.64	1.65E-07	0.03	7.60E-01	0.00	1.00E+00						
Df31	48354	-0.63	6.61E-10	0.02	8.64E-01	0.00	1.00E+00						
Dhc93AB	47	-0.10	7.32E-01	0.83	4.04E-03	0.00	1.00E+00						
dib	86	-0.60	1.66E-02	-1.67	3.76E-06	-0.04	5.19E-01						
Dif	323	-0.45	3.54E-02	2.57	3.24E-38	0.00	1.00E+00						
disco	168	-0.02	9.57E-01	-0.73	2.21E-03	0.02	8.78E-01						
disco-r	318	0.11	6.79E-01	-1.45	2.90E-11	0.04	4.80E-01						
DnaJ-1	4644	0.13	5.57E-01	-0.72	2.47E-05	0.00	1.00E+00						
DNAIlg3	384	-0.23	1.73E-01	0.73	5.92E-14	0.00	1.00E+00						
DNAIlg4	262	-0.19	3.68E-01	0.74	2.66E-08	0.00	1.00E+00						
DNApol-zeta	1022	-0.31	3.75E-02	0.88	1.75E-15	0.02	6.30E-01						
DOR	485	-0.62	6.59E-03	0.00	9.77E-01	0.00	1.00E+00						
Dph5	1749	0.65	2.00E-07	0.09	2.15E-01	0.00	1.00E+00						
dpr16	116	2.16	3.85E-14	0.00	9.71E-01	-0.01	9.39E-01						
dpy	6720	1.12	5.51E-07	0.63	1.77E-03	0.01	1.00E+00						
Dpy-30L1	556	0.88	3.69E-06	-0.01	9.49E-01	0.00	1.00E+00						
drd	87	0.15	5.72E-01	1.73	4.49E-05	0.01	1.00E+00						
drk	3220	-0.61	7.50E-08	-0.02	8.51E-01	0.00	1.00E+00						
drm	2325	-0.71	1.13E-07	-0.15	8.06E-02	-0.01	1.00E+00						
Dsp1	6983	-0.58	7.34E-05	0.00	9.82E-01	0.00	1.00E+00						
dsx-c73A	101	1.06	6.38E-06	0.37	2.38E-02	0.00	1.00E+00						
Dyrk3	2604	-0.88	1.38E-09	-0.03	7.75E-01	0.00	1.00E+00						
E(spl)m2-BFM	1109	0.65	6.60E-06	-0.12	1.52E-01	0.00	1.00E+00						
E(spl)m4-BFM	800	0.72	3.01E-07	0.05	5.64E-01	0.09	1.63E-01						
E(spl)malpha-BFM	2631	0.76	1.39E-05	-0.01	9.10E-01	0.00	1.00E+00						
E(spl)mgamma-HLH	148	0.65	4.39E-03	0.05	5.80E-01	0.01	8.87E-01						
Ezr1	4380	-0.84	3.21E-10	0.01	9.30E-01	0.01	1.00E+00						
eca	731	0.68	1.04E-03	0.00	9.98E-01	-0.01	1.00E+00						
Echs1	3518	0.92	3.48E-26	-0.02	8.64E-01	0.00	1.00E+00						
Ect3	339	-1.92	2.07E-19	0.04	7.15E-01	-0.01	1.00E+00						
eEF1beta	17684	0.95	5.64E-23	-0.07	3.37E-01	0.00	1.00E+00						
eEF1gamma	47067	0.69	1.56E-30	-0.04	6.50E-01	0.00	1.00E+00						
Egfp2	10	0.03	8.59E-01	1.95	2.90E-03	0.19	1.44E-01						
eIF3f1	6584	0.80	1.53E-14	-0.04	7.25E-01	0.00	1.00E+00						
eIF3h	7150	0.90	6.93E-21	0.00	9.80E-01	0.00	1.00E+00						
eIF4B	389	-0.77	7.87E-03	-0.12	2.19E-01	-0.07	3.37E-01						
eIF4EHP	1127	-1.07	3.14E-18	0.03	7.43E-01	0.00	1.00E+00						
eIF4G1	11399	-0.77	1.42E-10	-0.03	7.88E-01	0.00	1.00E+00						
eIF4H1	7393	-1.47	7.70E-14	0.01	9.18E-01	0.00	1.00E+00						
eIF5	87	-2.37	1.38E-05	0.03	7.39E-01	0.00	1.00E+00						
eIF6	2129	0.36	8.36E-03	0.83	2.03E-15	0.00	1.00E+00						
eIB	1567	-0.77	1.52E-09	0.04	6.25E-01	0.00	1.00E+00						
ELOVL	41	0.60	2.45E-02	-0.09	4.12E-01	0.00	1.00E+00						
EMRE	456	0.87	1.66E-05	0.01	9.36E-01	0.00	1.00E+00						
Eno	10736	0.65	1.05E-11	-0.03	7.79E-01	-0.01	1.00E+00						
ens	3968	-0.63	2.15E-06	0.01	9.18E-01	0.00	1.00E+00						
Ent3	19	-0.14	4.83E-01	-0.83	1.87E-02	-0.01	1.00E+00						
Eph	4729	-0.81	1.92E-08	-0.07	4.30E-01	0.00	1.00E+00						
Ephrin	2393	-0.62	2.73E-03	-0.01	9.53E-01	0.00	1.00E+00						
Ets21C	87	0.15	5.10E-01	2.51	3.68E-04	0.00	1.00E+00						
exp	166	-0.65	1.72E-03	-0.06	4.78E-01	0.00	1.00E+00						
FAM21	494	-0.58	1.42E-05	0.02	8.90E-01	0.01	1.00E+00						
Fam92	20	0.07	7.33E-01	3.79	5.35E-11	0.00	1.00E+00						
FASN2	15	0.06	6.87E-01	0.67	4.83E-02	0.10	2.91E-01						
Fatp3	93	0.25	3.03E-01	-1.49	1.09E-03	-0.09	3.00E-01						
fax	30703	-0.92	3.44E-16	-0.10	1.77E-01	0.00	1.00E+00						
Fbp1	20462	0.58	1.65E-02	-0.05	6.80E-01	0.00	1.00E+00						
fd96Ca	39	0.18	2.26E-01	-2.52	9.80E-08	0.00	1.00E+00						
fd96Cb	154	1.83	1.09E-03	-1.96	8.37E-05	0.01	1.00E+00						
Fdh	3119	1.45	1.89E-32	0.12	9.98E-02	0.02	6.08E-01						
Fer2LCH	4994	0.62	1.05E-16	0.11	6.21E-02	0.00	1.00E+00						
Fis1	1106	-0.59	9.95E-05	-0.02	8.95E-01	0.00	1.00E+00						
fj	5209	-0.61	3.71E-11	0.11	9.65E-02	0.00	1.00E+00						
Fkbp12	9074	1.03	6.70E-36	0.08	2.51E-01	0.00	1.00E+00						
FLASH	452	-0.84	2.02E-07	0.04	6.52E-01	0.00	1.00E+00						
Fmr1	5727	-0.78	5.68E-09	0.05	5.79E-01	0.00	1.00E+00						
Fum1	4193	0.72	1.52E-10	-0.04	7.12E-01	0.00	1.00E+00						
fuss	37	-0.01	9.66E-01	2.22	1.05E-05	0.00	1.00E+00						
fz	2807	-0.62	1.53E-06	-0.08	3.18E-01	0.00	1.00E+00						
GABA-B-R3	12	0.31	1.46E-01	3.04	4.22E-05	0.00	1.00E+00						
Gadd45	924	-0.03	8.97E-01	1.85	2.07E-41	0.00	1.00E+00						
Galphao	883	-0.93	4.45E-10	-0.02	8.19E-01	0.00	1.00E+00						
Galphaq	656	-1.67	8.33E-15	0.00	9.86E-01	0.00	1.00E+00						
Galphas	2681	-0.69	1.58E-16	-0.03	8.08E-01	0.00	1.00E+00						
Gapdh1	5452	0.68	3.17E-08	0.03	7.91E-01	0.00	1.00E+00						
Gapdh2	16172	0.72	1.33E-21	0.08	2.03E-01	0.00	1.00E+00						
GATAd	1049	-0.75	4.92E-07	-0.05	6.16E-01	0.00	1.00E+00						
Gbeta13F	6116	-1.18	2.14E-13	-0.02	8.45E-01	0.00	1.00E+00						
Gclc	466	-0.10	6.52E-01	0.86	6.23E-10	0.00	1.00E+00						
Gcn5	1584	0.01	9.38E-01	1.05	8.06E-33	0.01	1.00E+00						
gd	21	0.13	5.32E-01	3.47	7.24E-13	0.00	1.00E+00						

Gene symbol	Base Mean	log ₂ FoldChange		adj p-value		log ₂ FoldChange		adj p-value	
		corto ^{L1} /corto ⁴²⁰ w ¹¹¹⁸ versus	corto ^{L1} /corto ⁴²⁰ w ¹¹¹⁸ versus	uL11 ^{K3A} versus w ¹¹¹⁸	uL11 ^{K3Y} versus w ¹¹¹⁸	uL11 ^{K3A} versus w ¹¹¹⁸	uL11 ^{K3Y} versus w ¹¹¹⁸		
geminin	1895	0.66	1.64E-06	-0.02	9.04E-01	0.00	1.00E+00		
gish	4407	-0.94	4.34E-13	0.03	7.82E-01	0.00	1.00E+00		
glec	1116	-0.61	3.40E-05	0.02	8.88E-01	-0.01	1.00E+00		
Gnf1	1884	-0.64	1.25E-06	-0.01	9.54E-01	0.01	1.00E+00		
Gpdh3	671	-0.71	1.65E-07	0.05	5.72E-01	0.01	1.00E+00		
Gprk1	1444	-0.93	2.42E-16	-0.06	4.44E-01	0.00	1.00E+00		
Gr61a	111	0.64	1.02E-02	1.25	3.97E-08	0.00	1.00E+00		
grass	168	0.95	6.23E-04	-0.03	7.66E-01	0.00	1.00E+00		
grk	60	-1.88	3.50E-06	0.01	9.09E-01	-0.01	1.00E+00		
Gs1l	293	0.61	5.31E-03	0.00	9.95E-01	0.00	1.00E+00		
gsb	14	0.09	6.04E-01	-1.84	2.89E-03	0.00	1.00E+00		
gsb-n	13	0.07	6.91E-01	-1.55	4.35E-03	0.00	1.00E+00		
GstD1	10655	1.18	7.26E-22	0.08	3.21E-01	-0.01	1.00E+00		
GstD3	959	-1.17	1.90E-10	0.63	3.50E-07	0.00	1.00E+00		
GstD9	723	-0.53	5.19E-03	0.89	3.62E-10	0.02	7.52E-01		
GstE1	1270	0.50	2.32E-02	5.48	0.00E+00	0.62	1.95E-05		
GstE12	2243	0.80	1.39E-08	0.06	5.13E-01	0.00	1.00E+00		
GstE2	76	0.03	8.52E-01	6.89	9.09E-39	0.00	1.00E+00		
GstE5	41	0.36	1.44E-01	1.34	9.60E-05	-0.01	1.00E+00		
GstE6	374	0.19	4.42E-01	4.52	2.60E-102	0.80	1.67E-03		
GstE8	106	0.14	5.85E-01	1.66	7.07E-11	0.63	1.24E-02		
GstT1	515	-0.02	9.28E-01	1.05	3.81E-19	0.00	1.00E+00		
GstT3	109	0.98	3.51E-04	0.02	8.80E-01	-0.03	6.08E-01		
gus	2692	-0.99	3.39E-18	-0.01	9.44E-01	0.00	1.00E+00		
Gyf	5384	-0.60	9.10E-09	-0.05	5.59E-01	0.00	1.00E+00		
H15	67	0.29	1.75E-01	-1.81	1.80E-04	0.01	1.00E+00		
Hacd1	670	0.71	1.68E-07	-0.22	1.37E-02	0.00	1.00E+00		
Hacl	2789	0.59	1.23E-11	-0.03	7.67E-01	0.00	1.00E+00		
Had1	310	0.66	8.55E-03	-0.01	9.16E-01	0.01	1.00E+00		
Had2	63	0.21	4.30E-01	-0.31	7.20E-02	-0.59	2.15E-02		
Haspin	1098	-1.00	3.56E-13	0.01	9.18E-01	-0.01	9.13E-01		
HDAC11	108	-0.87	4.32E-04	0.13	3.37E-01	-0.01	1.00E+00		
heph	19761	-0.80	6.76E-07	-0.01	9.33E-01	0.00	1.00E+00		
her	823	-0.65	6.24E-10	0.00	9.90E-01	0.00	1.00E+00		
HINT1	2526	1.22	1.99E-18	0.04	6.85E-01	0.00	1.00E+00		
HIP-R	1449	-1.00	1.27E-11	0.02	8.38E-01	-0.01	1.00E+00		
HmgZ	5046	-1.13	3.34E-40	-0.06	4.70E-01	0.00	1.00E+00		
hng3	952	0.83	6.58E-08	0.03	7.51E-01	-0.02	7.72E-01		
hoip	2078	0.67	3.30E-05	0.06	4.66E-01	0.00	1.00E+00		
homer	1227	-0.59	2.79E-06	-0.01	9.45E-01	0.00	1.00E+00		
HP1c	924	0.74	1.49E-08	0.02	8.82E-01	-0.01	1.00E+00		
HP4	943	0.86	1.33E-08	-0.01	9.47E-01	0.00	1.00E+00		
Hpd	47	-0.06	8.29E-01	1.06	2.78E-02	0.00	1.00E+00		
hpRNA.CR33940	1575	0.04	8.63E-01	0.08	3.50E-01	-0.63	6.35E-05		
Hr39	2570	-0.62	2.60E-04	0.03	7.29E-01	0.00	1.00E+00		
Hrb27C	27370	-0.74	5.65E-06	0.00	9.93E-01	0.00	1.00E+00		
hrg	4460	-0.65	6.58E-08	-0.01	9.30E-01	0.00	1.00E+00		
Hsc70-2	69	6.71	3.42E-10	-0.17	2.55E-01	-0.01	1.00E+00		
Hsc70-4	117280	0.62	2.13E-13	-0.02	8.37E-01	-0.01	1.00E+00		
Hsp26	9822	1.22	1.08E-09	-0.76	2.25E-05	-0.01	9.36E-01		
Hsp60A	10641	0.72	1.47E-15	0.03	7.32E-01	0.00	1.00E+00		
Hsp67Bc	154	0.75	5.60E-03	-0.25	1.02E-01	1.19	2.82E-04		
Hsp68	4283	2.04	3.72E-05	-0.23	1.53E-01	0.00	1.00E+00		
Hsp70Ab	244	1.56	5.11E-05	-0.04	6.54E-01	0.00	1.00E+00		
Hsp70Bb	477	3.65	6.59E-06	-0.04	6.85E-01	0.00	1.00E+00		
Hsp70Bc	336	0.14	5.78E-01	-0.60	2.78E-02	0.00	1.00E+00		
HSPC300	346	0.67	1.15E-03	0.03	7.98E-01	0.00	1.00E+00		
hth	8836	-1.34	8.95E-12	-0.03	7.37E-01	0.00	1.00E+00		
htl	655	-0.47	5.38E-04	-0.68	7.42E-11	-0.03	5.57E-01		
hul	830	1.30	1.52E-31	-0.25	1.07E-03	-0.40	2.25E-06		
hzg	1250	-0.84	3.30E-07	-0.04	6.88E-01	0.00	1.00E+00		
ich	15	-0.15	4.49E-01	0.76	3.76E-02	0.82	3.10E-02		
ldh	11385	0.64	1.66E-18	-0.41	1.55E-11	-0.79	3.46E-41		
llp8	61	0.10	4.72E-01	7.14	7.50E-17	0.00	1.00E+00		
Imp	2083	-0.92	7.76E-06	0.01	9.32E-01	0.00	1.00E+00		
ImpE3	1673	0.60	8.75E-03	-0.03	8.00E-01	-0.01	1.00E+00		
ImpL1	53	0.18	4.69E-01	-2.17	5.55E-05	-0.01	1.00E+00		
inaD	152	-1.09	6.41E-06	-0.33	1.27E-01	-0.05	5.16E-01		
IntS12	266	0.59	4.56E-03	0.12	1.91E-01	0.84	3.22E-06		
IntS3	2249	-0.72	5.69E-13	-0.03	8.06E-01	0.00	1.00E+00		
Inx7	34	1.67	7.61E-05	0.00	9.88E-01	-0.01	1.00E+00		
Irf40a	56	0.12	4.36E-01	5.29	3.59E-25	0.01	1.00E+00		
Irf51b	36	-0.63	1.99E-02	0.00	9.89E-01	0.00	1.00E+00		
Irbp	458	-0.04	8.60E-01	1.22	2.35E-45	0.02	6.08E-01		
Irbp18	342	-0.22	2.45E-01	1.38	2.54E-33	0.00	1.00E+00		
IscU	1069	-0.24	1.13E-01	1.08	5.20E-30	0.00	1.00E+00		
ItgaPS4	26	0.83	6.27E-03	0.28	1.34E-01	0.00	1.00E+00		
Jheh1	254	0.43	2.53E-02	-0.67	4.97E-05	0.00	1.00E+00		
Jhl-26	62	-0.06	8.21E-01	1.56	1.78E-03	0.00	1.00E+00		
Jon25Bi	21	-0.13	2.46E-01	-2.69	6.00E-03	-0.01	1.00E+00		
Jon25Bii	14	-0.12	2.89E-01	-1.07	2.92E-02	-0.01	1.00E+00		
Jon65Aiii	69	-0.02	8.87E-01	-3.27	4.09E-03	-0.02	9.06E-01		
Jon65Aiv	95	-0.01	9.39E-01	-5.49	2.64E-04	-0.02	1.00E+00		
JTBR	391	0.66	1.51E-04	0.04	6.21E-01	0.00	1.00E+00		
kar	177	0.71	1.82E-03	0.08	3.88E-01	-0.01	1.00E+00		
kek1	2777	-0.75	1.30E-07	-0.10	1.92E-01	0.15	8.10E-02		
Kif3C	10	-0.20	3.61E-01	0.22	1.84E-01	1.55	9.41E-03		
knrl	445	-0.98	3.52E-07	0.18	9.48E-02	0.00	1.00E+00		
krimp	58	0.81	5.98E-03	0.02	8.22E-01	0.53	3.30E-02		
krz	1877	-0.74	4.98E-07	0.02	8.67E-01	0.00	1.00E+00		
ksh	432	0.80	1.06E-04	0.01	9.07E-01	0.00	1.00E+00		
Ku80	500	-0.25	7.23E-02	1.10	1.85E-41	0.02	6.49E-01		
kud	749	0.74	1.15E-04	0.01	9.30E-01	0.00	1.00E+00		
kuz	2737	-0.59	1.26E-03	-0.04	6.48E-01	0.00	1.00E+00		
I(1)G0469	354	-0.48	2.80E-02	-0.66	2.67E-03	-0.01	1.00E+00		
I(2)05287	1676	-0.58	6.07E-06	0.03	8.01E-01	0.00	1.00E+00		
I(2)37Cc	3950	0.63	7.33E-12	0.12	4.75E-02	0.00	1.00E+00		

Gene symbol	Base Mean	log ₂ FoldChange		adj p-value		log ₂ FoldChange		adj p-value		
		<i>corto</i> ^{L1} / <i>corto</i> ^{Δ20} w ¹¹¹⁸ versus w ¹¹¹⁸	versus	<i>corto</i> ^{L1} / <i>corto</i> ^{Δ20} w ¹¹¹⁸ versus w ¹¹¹⁸	versus	uL11 ^{K3A} versus w ¹¹¹⁸	uL11 ^{K3Y} versus w ¹¹¹⁸	versus w ¹¹¹⁸	versus w ¹¹¹⁸	
I(2)gl	5956	-0.66		9.23E-06		-0.03		7.39E-01		1.00E+00
I(2)k05911	1160	-0.03		8.80E-01		0.95		2.58E-13		3.65E-01
I(3)psq2	1918	-0.65		2.42E-05		0.04		6.68E-01		1.00E+00
lbi	44	0.20		2.70E-01		-2.03		4.28E-05		1.00E+00
Ldh	467	0.64		4.76E-03		1.77		2.03E-15		3.52E-01
Lectin-galC1	18	0.05		7.07E-01		1.81		1.00E-02		3.10E-02
levy	2150	0.87		1.58E-07		0.02		8.52E-01		1.00E+00
Lfg	29	-0.11		6.55E-01		-0.99		2.30E-02		8.66E-01
lgs	3040	-0.63		1.33E-06		-0.03		7.79E-01		1.00E+00
lilli	1423	-0.65		1.41E-04		-0.01		9.51E-01		1.00E+00
Lim1	66	0.31		1.24E-01		-2.43		3.62E-08		1.00E+00
LManI	47	-0.30		2.32E-01		-0.82		3.71E-03		1.60E-01
LManII	658	0.16		5.25E-01		-0.98		2.09E-04		7.07E-01
lncRNA:CR31044	109	-0.62		1.51E-02		-0.06		4.99E-01		1.00E+00
lncRNA:CR33938	820	2.12		4.16E-22		0.14		1.56E-01		1.00E+00
lncRNA:CR34335	7316	1.25		1.68E-05		0.02		8.76E-01		1.00E+00
lncRNA:CR42491	1363	0.61		4.70E-06		0.06		4.52E-01		5.20E-17
lncRNA:CR42755	10	-0.25		2.06E-01		-0.12		3.37E-01		2.02E-03
lncRNA:CR43144	765	0.08		7.87E-01		5.09		1.28E-279		7.45E-01
lncRNA:CR43241	230	-1.36		3.84E-09		0.04		7.17E-01		1.00E+00
lncRNA:CR43334	202	0.33		1.75E-01		0.68		2.98E-02		7.07E-01
lncRNA:CR43461	36	-0.06		8.34E-01		0.61		3.42E-02		1.00E+00
lncRNA:CR43626	25	-0.89		4.25E-03		0.00		9.88E-01		1.00E+00
lncRNA:CR43635	12	0.86		5.82E-03		0.02		8.52E-01		1.00E+00
lncRNA:CR43989	32	-0.04		9.11E-01		0.85		7.12E-03		1.00E+00
lncRNA:CR44024	20	0.03		9.25E-01		2.10		2.05E-06		1.00E+00
lncRNA:CR44042	177	-0.77		1.55E-03		0.63		1.55E-03		1.00E+00
lncRNA:CR44111	42	0.09		5.34E-01		5.99		1.17E-27		1.00E+00
lncRNA:CR44135	23	-0.29		1.06E-01		1.21		3.43E-03		1.00E+00
lncRNA:CR44334	427	-0.68		3.70E-04		0.20		6.50E-02		8.66E-01
lncRNA:CR44366	18	-0.66		1.58E-02		-0.03		7.38E-01		1.00E+00
lncRNA:CR44458	17	-0.04		8.81E-01		1.51		3.11E-03		1.00E+00
lncRNA:CR44814	120	-1.88		1.42E-09		0.04		7.13E-01		1.00E+00
lncRNA:CR44816	80	-1.42		2.27E-06		0.00		9.92E-01		1.00E+00
lncRNA:CR45054	19	0.14		3.83E-01		0.79		3.16E-02		1.00E+00
lncRNA:CR45102	308	-2.24		1.22E-12		0.02		8.91E-01		1.00E+00
lncRNA:CR45181	18	0.87		5.43E-03		0.52		4.50E-02		9.89E-01
lncRNA:CR45232	366	-0.73		3.43E-04		-0.15		1.61E-01		1.00E+00
lncRNA:CR45327	19	-0.60		2.28E-02		-0.03		8.04E-01		1.00E+00
lncRNA:CR45409	159	-1.00		1.92E-05		-0.03		7.29E-01		1.00E+00
lncRNA:CR45473	135	-0.38		7.22E-02		0.78		1.73E-05		1.00E+00
lncRNA:CR45517	44	-0.04		8.97E-01		2.24		6.58E-11		5.85E-01
lncRNA:CR45566	684	0.92		7.68E-13		0.05		6.05E-01		1.00E+00
lncRNA:CR45973	81	-0.26		3.03E-01		1.44		1.55E-08		1.00E+00
lncRNA:CR46268	190	-1.19		1.56E-06		0.03		7.60E-01		1.00E+00
lncRNA:dntRL	95	-0.03		9.12E-01		1.02		6.17E-06		1.00E+00
lolal	3178	-1.02		7.82E-19		0.05		5.82E-01		1.00E+00
LPCAT	956	-0.61		5.17E-07		0.00		9.93E-01		1.00E+00
lqf	1867	-0.59		1.74E-08		-0.01		9.20E-01		1.00E+00
Maf1	2161	-0.95		1.80E-17		0.00		9.83E-01		1.00E+00
mahe	4391	-0.78		1.42E-04		-0.03		7.25E-01		1.00E+00
Mal-B2	163	0.24		3.10E-01		2.29		9.15E-07		1.00E+00
Mapmodulin	8990	-0.84		1.93E-15		0.05		5.94E-01		1.00E+00
Marf1	212	0.44		4.74E-02		1.26		1.83E-10		1.00E+00
mav	2998	-0.75		1.06E-16		0.07		3.67E-01		1.00E+00
Mcad	4056	0.66		1.26E-09		-0.26		2.17E-03		1.00E+00
Mcm10	613	-0.83		1.75E-08		0.06		4.99E-01		7.84E-01
Mcm3	2442	0.59		1.94E-05		-0.01		9.16E-01		1.00E+00
Mco1	31	-0.16		5.19E-01		-0.74		2.10E-02		1.00E+00
Mdh1	2243	0.69		7.72E-06		-0.03		7.73E-01		1.00E+00
Mdh2	2464	0.61		1.94E-06		0.05		5.86E-01		1.00E+00
MED16	746	0.29		2.14E-02		-0.58		1.75E-11		1.00E+00
MED26	3695	-0.93		2.24E-08		-0.04		6.74E-01		1.00E+00
MED28	361	0.64		1.35E-03		0.03		7.60E-01		1.00E+00
mEFTu1	2555	0.70		8.55E-10		0.15		4.44E-02		1.00E+00
mey	1124	1.29		3.47E-17		1.26		1.81E-23		3.55E-15
MFS3	3325	0.69		9.89E-07		0.00		9.93E-01		1.00E+00
Mgst1	739	0.87		2.43E-05		-0.03		7.47E-01		1.00E+00
MICAL-like	1637	-0.63		2.14E-13		-0.12		3.63E-02		1.00E+00
mid	203	0.43		4.48E-02		-0.58		3.07E-03		1.00E+00
Mink	2302	-0.60		9.89E-07		-0.06		4.88E-01		1.00E+00
Mipp1	38	1.35		5.54E-04		0.00		9.98E-01		1.00E+00
Mitf	2077	-0.73		4.40E-07		0.00		9.90E-01		4.11E-01
Mkk4	1661	-0.65		1.15E-11		-0.02		9.00E-01		1.00E+00
mle	2065	-0.68		3.04E-14		-0.08		2.61E-01		1.00E+00
mnb	2631	-0.67		4.00E-06		-0.05		6.05E-01		1.00E+00
Mocs1	299	0.02		9.55E-01		1.00		6.99E-12		7.07E-01
Mppp2	7899	0.69		8.14E-23		0.05		5.60E-01		1.00E+00
mre11	1699	0.34		1.30E-03		1.11		7.59E-75		3.50E-07
mrj	966	-0.79		8.03E-13		-0.01		9.45E-01		1.00E+00
MRP	3772	0.06		7.35E-01		1.55		5.28E-48		1.00E+00
mRpL12	969	0.91		4.58E-07		0.02		8.61E-01		1.00E+00
mRpL17	461	0.68		2.30E-05		0.04		6.74E-01		1.00E+00
mRpL2	767	0.65		2.40E-05		0.01		9.37E-01		1.00E+00
mRpL33	284	1.11		1.42E-07		0.00		9.86E-01		1.00E+00
mRpL35	302	0.61		9.42E-04		-0.01		9.37E-01		1.00E+00
mRpL38	817	0.65		1.45E-05		0.02		8.73E-01		1.00E+00
mRpL44	725	0.66		2.81E-05		0.02		8.52E-01		1.00E+00
mRpL48	312	0.58		5.52E-03		0.01		9.18E-01		1.00E+00
mRpL49	450	0.84		2.67E-05		0.03		8.00E-01		1.00E+00
mRpL50	407	0.69		2.41E-04		0.01		9.24E-01		1.00E+00
mRpL51	425	0.96		1.62E-08		0.01		9.68E-01		1.00E+00
mRpL52	367	0.95		2.88E-07		0.03		7.47E-01		1.00E+00
mRpL55	253	0.72		4.36E-04		0.00		9.72E-01		1.00E+00
mRpS14	193	1.02		3.28E-05		0.07		4.31E-01		1.00E+00
mRpS25	392	0.59		8.81E-04		0.03		7.83E-01		1.00E+00
mRpS5	493	-0.93		9.94E-07		-0.01		9.26E-01		1.00E+00

Gene symbol	Base Mean	log ₂ FoldChange		adj p-value		log ₂ FoldChange		adj p-value	
		corto ^{L1} /corto ⁴²⁰ w ¹¹¹⁸ versus	corto ^{L1} /corto ⁴²⁰ w ¹¹¹⁸ versus	uL11 ^{K3A} versus w ¹¹¹⁸	uL11 ^{K3Y} versus w ¹¹¹⁸	uL11 ^{K3A} versus w ¹¹¹⁸	uL11 ^{K3Y} versus w ¹¹¹⁸		
msi	2622	-0.62	3.63E-04	0.01	9.71E-01	0.00	1.00E+00		
mmps	6613	-0.62	3.50E-06	-0.01	9.70E-01	0.00	1.00E+00		
mt:ATPase6	7880	-3.31	5.37E-41	-0.02	8.94E-01	0.00	1.00E+00		
mt:ATPase8	1600	-3.84	3.78E-230	0.02	9.06E-01	0.02	9.34E-01		
mt:Col	59337	-0.61	1.51E-02	0.01	8.92E-01	0.00	1.00E+00		
mt:Coll	18791	-1.47	1.12E-09	0.00	9.75E-01	-0.01	1.00E+00		
mt:lrrRNA	420131	-2.84	3.45E-10	0.02	8.37E-01	0.00	1.00E+00		
mt:ND1	4891	-3.62	7.13E-14	0.02	8.91E-01	0.00	1.00E+00		
mt:ND2	1185	-4.38	3.24E-10	-0.03	7.42E-01	0.00	1.00E+00		
mt:ND3	583	-3.85	7.22E-11	0.02	8.24E-01	0.01	1.00E+00		
mt:ND4	3538	-2.38	7.67E-11	0.04	7.12E-01	0.00	1.00E+00		
mt:ND5	6582	-2.51	1.53E-58	0.00	9.88E-01	0.03	4.80E-01		
mt:ND6	440	-0.91	5.02E-03	-0.02	8.68E-01	0.00	1.00E+00		
mt:srRNA	534	-0.37	6.27E-02	1.14	2.01E-02	0.00	1.00E+00		
mt:tRNA:Leu-TAG	25	-2.56	3.95E-05	0.02	9.10E-01	0.00	1.00E+00		
mt:tRNA:Tyr-GTA	24	-0.61	2.14E-02	-0.01	9.71E-01	0.00	1.00E+00		
mthl3	3240	-0.66	8.47E-16	0.05	5.44E-01	0.00	1.00E+00		
mthl4	587	-0.91	1.26E-09	-0.02	8.83E-01	0.00	1.00E+00		
mthl8	493	-0.52	7.63E-04	-0.06	6.13E-01	10.83	1.59E-36		
Mtpbeta	4531	0.62	3.72E-12	-0.09	1.74E-01	0.00	1.00E+00		
mub	5736	-0.69	5.78E-07	-0.05	5.79E-01	0.00	1.00E+00		
mus201	555	-0.84	2.67E-06	0.57	8.19E-05	0.00	1.00E+00		
mwh	95	-0.49	2.83E-02	-1.28	1.73E-08	0.00	1.00E+00		
Myc	3026	-1.25	4.29E-08	0.01	9.30E-01	0.00	1.00E+00		
myo	1852	-1.04	1.52E-11	0.02	8.64E-01	0.00	1.00E+00		
Myc95E	879	-0.68	4.80E-07	0.00	9.96E-01	0.00	1.00E+00		
Naam	156	-0.21	3.64E-01	0.62	4.56E-04	0.01	1.00E+00		
Nacalpa	17191	0.66	9.52E-13	-0.05	5.39E-01	0.00	1.00E+00		
NaPi-III	1252	-0.59	1.46E-05	-0.07	3.45E-01	-0.04	4.03E-01		
natalisin	246	1.08	1.55E-09	0.12	1.55E-01	0.02	6.27E-01		
Nca	871	-0.82	8.10E-09	-0.03	8.10E-01	0.00	1.00E+00		
ncm	2162	-1.09	8.23E-10	0.03	7.48E-01	0.00	1.00E+00		
ND-18	707	0.84	1.01E-05	0.08	3.70E-01	0.00	1.00E+00		
ND-30	1362	0.67	1.79E-09	0.04	6.37E-01	0.00	1.00E+00		
ND-39	2350	0.93	2.39E-21	0.03	7.96E-01	-0.01	1.00E+00		
ND-AGGG	176	-1.41	4.06E-09	0.04	6.30E-01	0.00	1.00E+00		
ND-B12	751	0.88	5.97E-07	-0.06	4.68E-01	0.00	1.00E+00		
ND-B14.5A	357	0.75	3.67E-05	0.06	5.10E-01	0.00	1.00E+00		
ND-B14.7	900	0.81	1.14E-06	0.04	6.74E-01	0.00	1.00E+00		
ND-B15	514	0.94	2.40E-06	0.03	7.82E-01	0.00	1.00E+00		
ND-B16.6	1491	0.95	1.26E-13	0.02	9.07E-01	0.00	1.00E+00		
ND-B17	829	0.73	7.01E-07	-0.01	9.18E-01	0.00	1.00E+00		
ND-B17.2	939	1.38	2.39E-21	-0.01	9.33E-01	0.00	1.00E+00		
ND-B18	697	0.72	1.67E-08	0.07	4.19E-01	0.00	1.00E+00		
ND-MWFE	607	0.80	3.40E-05	0.00	9.82E-01	0.00	1.00E+00		
ND-PDSW	1240	1.05	1.19E-06	0.10	2.58E-01	0.00	1.00E+00		
Nelf-E	566	0.19	2.49E-01	0.51	4.14E-07	0.90	5.05E-21		
Nep2	1864	0.24	1.37E-01	-1.19	2.14E-22	-0.72	4.22E-08		
Nep7	118	0.99	2.44E-04	0.02	8.45E-01	0.10	2.75E-01		
Nfs1	892	0.16	3.80E-01	1.00	1.30E-19	0.00	1.00E+00		
NjA	1536	-0.22	1.07E-01	-0.38	2.26E-04	-0.67	1.96E-10		
NjC	67	0.83	2.32E-03	0.01	9.16E-01	-0.01	1.00E+00		
NimC1	57	0.18	4.82E-01	-2.27	4.02E-06	-0.01	1.00E+00		
Nipped-B	5024	-1.01	7.71E-10	0.01	9.69E-01	0.00	1.00E+00		
NK7.1	331	-0.67	2.02E-04	-0.02	8.22E-01	0.03	5.71E-01		
NKCC	84	0.03	9.36E-01	1.28	1.77E-03	-0.01	1.00E+00		
Nlg2	15	2.40	3.35E-04	-0.03	7.75E-01	0.00	1.00E+00		
nmo	3519	-0.72	9.06E-07	0.04	6.54E-01	0.00	1.00E+00		
nom	365	-0.63	4.56E-04	0.05	6.11E-01	0.01	1.00E+00		
nonA-1	647	-0.65	1.76E-06	-0.11	1.51E-01	0.00	1.00E+00		
Not3	5518	-0.69	2.88E-13	-0.05	5.72E-01	0.00	1.00E+00		
NP15.6	1071	1.36	1.53E-13	0.02	8.85E-01	0.00	1.00E+00		
Npc2a	201	0.59	1.30E-02	-0.01	9.10E-01	0.00	1.00E+00		
Nplp1	42	-0.16	5.61E-01	-1.43	6.65E-05	0.00	1.00E+00		
Nplp4	686	1.01	6.07E-04	-0.62	1.63E-02	0.96	4.01E-03		
NT1	183	-0.07	8.23E-01	-0.80	1.26E-03	0.00	1.00E+00		
Nxt1	883	0.59	7.17E-04	0.13	1.56E-01	0.00	1.00E+00		
O-fut2	218	0.96	2.28E-05	0.00	9.76E-01	0.00	1.00E+00		
Oat	220	-0.06	8.35E-01	-0.69	2.98E-02	-0.01	1.00E+00		
obe	1568	-0.17	2.99E-01	0.87	8.91E-14	0.01	1.00E+00		
Obp83g	76	1.39	1.93E-05	-0.07	4.76E-01	0.00	1.00E+00		
Obp99a	345	2.49	2.05E-15	-2.20	1.17E-27	0.00	1.00E+00		
obst-B	1761	0.83	9.71E-08	-0.04	6.25E-01	0.00	1.00E+00		
onecut	28	-0.17	4.64E-01	2.85	7.82E-12	0.04	6.14E-01		
Or43b	242	-0.70	3.46E-05	0.04	7.13E-01	0.00	1.00E+00		
Or98a	41	-0.03	8.31E-01	8.76	7.97E-13	0.00	1.00E+00		
Osi14	132	0.95	6.82E-04	1.56	3.99E-09	0.18	1.42E-01		
ova	1116	-0.77	3.32E-07	0.00	9.86E-01	0.00	1.00E+00		
ox	799	2.14	2.56E-51	0.02	8.38E-01	0.00	1.00E+00		
p120ctn	3379	-1.11	1.81E-16	0.00	9.86E-01	0.00	1.00E+00		
pAbp	44968	-0.66	4.08E-04	0.02	8.24E-01	0.00	1.00E+00		
Pabp2	4791	-0.80	3.13E-09	0.15	7.73E-02	0.00	1.00E+00		
pain	1156	-0.10	5.67E-01	-0.63	8.12E-08	-0.03	4.82E-01		
Paip2	1311	-0.80	1.58E-07	0.00	1.00E+00	0.00	1.00E+00		
pan	2131	-0.59	6.42E-03	0.00	9.77E-01	0.00	1.00E+00		
PAN3	3490	-0.71	4.02E-11	-0.10	1.74E-01	0.00	1.00E+00		
Parp	2656	-0.94	3.12E-08	0.38	6.00E-03	0.00	1.00E+00		
path	4128	0.03	8.74E-01	0.03	8.10E-01	0.80	5.05E-13		
PCB	2192	0.26	2.54E-01	-0.84	2.06E-04	-0.02	7.92E-01		
Pcd	661	0.96	6.82E-08	-0.02	8.22E-01	0.00	1.00E+00		
Pcmt	1557	0.98	5.51E-10	0.02	8.59E-01	0.00	1.00E+00		
PCNA	4886	0.69	2.73E-15	0.06	3.90E-01	0.00	1.00E+00		
PDCD-5	930	0.91	5.47E-08	0.04	6.66E-01	0.00	1.00E+00		
Pdhh	1804	0.61	4.78E-04	0.03	7.61E-01	0.00	1.00E+00		
Pdp1	373	-1.14	5.67E-06	0.00	9.98E-01	0.00	1.00E+00		
pes	393	-0.80	8.68E-06	0.00	9.86E-01	0.00	1.00E+00		
Pqant2	288	0.65	9.45E-04	0.04	6.43E-01	0.00	1.00E+00		

Gene symbol	Base Mean	log ₂ FoldChange		adj p-value		log ₂ FoldChange		adj p-value		log ₂ FoldChange		adj p-value	
		corto ^{L1} /corto ⁴²⁰	versus w ¹¹¹⁸	corto ^{L1} /corto ⁴²⁰	versus w ¹¹¹⁸	uL11 ^{K3A}	versus w ¹¹¹⁸	uL11 ^{K3A}	versus w ¹¹¹⁸	uL11 ^{K3Y}	versus w ¹¹¹⁸	uL11 ^{K3Y}	versus w ¹¹¹⁸
Pqant5	2854	-0.59	8.73E-06	-0.05	5.36E-01	0.00	1.00E+00						
Pglym78	1405	0.87	6.68E-09	0.25	1.76E-02	0.00	1.00E+00						
PGRP-LC	112	0.10	7.03E-01	-0.74	1.85E-04	-1.41	7.16E-13						
PHGPx	2555	0.73	1.23E-05	0.04	7.06E-01	0.00	1.00E+00						
Phk-3	2712	0.81	2.59E-09	-0.04	6.45E-01	-0.01	1.00E+00						
pho	2284	-1.27	2.01E-21	-0.06	5.03E-01	0.00	1.00E+00						
Phs	2259	-0.66	1.14E-07	0.03	7.54E-01	0.00	1.00E+00						
PIG-N	188	-0.69	2.91E-04	-0.08	3.40E-01	0.00	1.00E+00						
PIG-Q	352	-0.64	5.87E-05	-0.10	2.17E-01	-0.01	1.00E+00						
pinta	68	-0.07	8.23E-01	2.59	5.85E-18	1.24	2.00E-04						
PIP4K	2088	-0.89	2.33E-15	-0.03	8.07E-01	-0.01	1.00E+00						
Pits	2206	-0.74	4.02E-07	0.01	9.52E-01	0.00	1.00E+00						
piwi	37	-0.40	1.07E-01	-0.69	2.81E-02	0.00	1.00E+00						
Pka-R2	572	-0.62	4.35E-03	0.01	9.63E-01	0.00	1.00E+00						
Pldn	144	-0.60	3.59E-03	-0.02	8.38E-01	0.00	1.00E+00						
PMCA	7693	-0.73	5.33E-08	-0.01	9.33E-01	0.00	1.00E+00						
Pnn	621	-0.66	3.63E-06	0.00	9.86E-01	0.00	1.00E+00						
Pop5	239	0.63	2.04E-03	0.17	9.54E-02	0.01	1.00E+00						
Poxn	231	0.63	5.12E-04	0.64	4.29E-06	0.05	3.88E-01						
ppk13	1275	-0.27	1.10E-01	1.86	1.49E-64	0.45	1.10E-03						
PPO3	59	0.63	1.08E-02	0.03	7.94E-01	0.00	1.00E+00						
PR-Set7	2050	-0.63	3.34E-05	0.01	9.28E-01	0.00	1.00E+00						
Prip	107	-0.08	7.73E-01	-0.62	4.40E-03	-0.06	3.60E-01						
Prosalpha2	4106	0.70	1.72E-16	-0.03	7.26E-01	-0.03	5.00E-01						
Prosalpha3	3487	0.71	2.64E-08	-0.03	7.85E-01	0.00	1.00E+00						
Prp4k	992	-0.65	1.36E-11	0.03	7.55E-01	0.16	1.67E-02						
Prx2540-2	56	0.53	4.22E-02	-0.62	1.93E-02	0.00	1.00E+00						
pst	722	0.88	2.24E-04	0.18	1.36E-01	0.00	1.00E+00						
Pten	1333	-0.83	2.36E-09	-0.05	5.30E-01	0.00	1.00E+00						
Ptp52F	12	-0.16	4.59E-01	-0.29	1.17E-01	-0.60	3.13E-02						
Ptp69D	2086	-0.89	2.12E-13	-0.14	6.28E-02	0.00	1.00E+00						
puc	688	-0.86	6.08E-06	0.00	9.80E-01	-0.01	1.00E+00						
puml	453	0.27	1.11E-01	0.65	3.52E-09	0.01	1.00E+00						
Pur-alpha	1438	-1.00	6.23E-08	0.01	9.30E-01	0.00	1.00E+00						
Pxd	86	-0.01	9.75E-01	-0.87	3.05E-02	-0.03	6.72E-01						
pyr	313	-0.85	3.77E-07	-0.05	5.43E-01	0.00	1.00E+00						
QC	164	0.44	5.93E-02	-0.01	9.12E-01	-1.14	2.11E-06						
qkr54B	1628	-1.10	1.29E-12	-0.05	5.42E-01	0.00	1.00E+00						
qkr58E-1	1684	-0.95	7.55E-09	-0.02	8.81E-01	0.00	1.00E+00						
qkr58E-3	1887	-0.97	6.58E-09	0.06	4.61E-01	0.00	1.00E+00						
Qtz1	82	-0.35	1.62E-01	1.34	6.16E-08	-0.01	9.19E-01						
Rab5	3111	-0.75	1.02E-15	0.00	9.99E-01	-0.01	1.00E+00						
RabX2	20	0.03	8.57E-01	6.65	2.74E-11	0.00	1.00E+00						
Rac2	1610	-0.87	1.83E-12	-0.04	6.69E-01	-0.01	1.00E+00						
Rack1	56381	1.07	6.74E-36	-0.32	1.48E-05	0.00	1.00E+00						
rad50	1403	-0.96	1.79E-10	0.87	1.40E-13	0.01	9.73E-01						
Rae1	1214	0.61	3.94E-06	0.06	4.85E-01	0.00	1.00E+00						
Raf	1265	-0.81	2.61E-16	-0.03	7.61E-01	0.00	1.00E+00						
RanBP3	2099	0.62	1.98E-08	-0.02	8.88E-01	-0.01	9.85E-01						
Rap1	4020	-1.04	1.23E-12	-0.01	9.55E-01	0.00	1.00E+00						
rau	255	0.61	1.41E-03	-0.05	5.50E-01	0.00	1.00E+00						
Rbp1-like	2083	-1.39	8.00E-35	0.06	4.91E-01	0.01	1.00E+00						
Rcd-1	3879	0.62	4.92E-07	-0.02	8.48E-01	0.00	1.00E+00						
rdog	430	-0.19	4.02E-01	2.41	3.73E-52	0.00	1.00E+00						
rdx	1794	-0.80	1.57E-15	0.00	9.77E-01	0.01	1.00E+00						
RecQ5	730	-1.02	3.31E-11	0.00	1.00E+00	0.01	1.00E+00						
Reph	522	-0.83	9.85E-06	0.07	4.30E-01	0.01	9.70E-01						
RFeSP	1542	0.74	6.01E-07	0.06	5.05E-01	-0.01	1.00E+00						
Rho1	8527	-0.78	9.28E-22	0.03	7.71E-01	0.00	1.00E+00						
Ric	315	-0.61	4.46E-04	-0.02	8.59E-01	0.00	1.00E+00						
rl	1022	-0.65	3.22E-05	-0.01	9.40E-01	0.00	1.00E+00						
Rtb1	390	-0.84	1.02E-05	0.04	6.98E-01	0.00	1.00E+00						
RNASEK	1235	-0.70	2.47E-07	0.09	2.58E-01	-0.03	5.42E-01						
RNaseMRP:RNA	80	4.59	4.42E-10	0.57	3.60E-02	-0.03	6.87E-01						
RNaseP:RNA	131	2.12	4.96E-12	0.05	5.84E-01	0.00	1.00E+00						
roh	1748	0.64	8.88E-05	-0.03	7.61E-01	0.00	1.00E+00						
Rox8	5628	-0.89	7.39E-27	-0.13	3.05E-02	0.00	1.00E+00						
RpA-70	3830	-0.17	1.04E-01	0.58	8.68E-17	0.00	1.00E+00						
Rpb12	562	1.01	4.13E-07	0.06	4.95E-01	-0.01	9.40E-01						
Rpe	1477	0.82	4.26E-11	-0.02	8.91E-01	0.00	1.00E+00						
Rpl115	1036	0.63	2.77E-06	-0.01	9.39E-01	-0.01	1.00E+00						
Rpl133	900	0.63	3.15E-05	0.02	8.21E-01	0.00	1.00E+00						
rpk	458	0.06	7.97E-01	0.75	1.76E-08	-0.01	1.00E+00						
RpL10Ab	42243	0.74	3.62E-14	-0.35	3.27E-05	0.00	1.00E+00						
RpL11	28172	0.92	3.13E-18	-0.02	8.26E-01	0.00	1.00E+00						
RpL12	29887	0.59	9.92E-06	-0.13	1.05E-01	0.00	1.00E+00						
RpL13	31038	1.32	7.08E-19	0.01	9.16E-01	0.00	1.00E+00						
RpL13A	29649	1.58	4.20E-41	-0.03	7.96E-01	0.00	1.00E+00						
RpL14	24860	1.54	1.76E-29	-0.04	7.13E-01	0.00	1.00E+00						
RpL17	24696	1.51	2.72E-26	-0.03	7.43E-01	0.00	1.00E+00						
RpL18	25719	1.26	6.13E-19	-0.04	7.01E-01	0.00	1.00E+00						
RpL18A	33698	1.19	5.09E-22	0.01	9.46E-01	0.00	1.00E+00						
RpL19	37514	0.70	2.79E-10	-0.02	8.39E-01	0.00	1.00E+00						
RpL22-like	14	0.31	1.65E-01	-2.96	6.20E-04	0.00	1.00E+00						
RpL23	29740	1.18	6.09E-15	-0.01	9.33E-01	0.00	1.00E+00						
RpL24	20688	1.16	1.40E-10	0.00	9.94E-01	0.00	1.00E+00						
RpL26	26262	1.18	5.38E-19	-0.09	2.57E-01	0.00	1.00E+00						
RpL27	30893	1.82	7.59E-44	-0.07	4.00E-01	0.00	1.00E+00						
RpL28	33296	0.92	3.35E-12	-0.05	5.91E-01	0.00	1.00E+00						
RpL29	15027	2.47	1.56E-58	-0.03	7.67E-01	0.00	1.00E+00						
RpL3	84241	0.82	9.57E-18	-0.32	1.18E-04	0.00	1.00E+00						
RpL30	15925	0.82	5.69E-08	-0.15	9.68E-02	0.00	1.00E+00						
RpL31	23945	1.87	4.08E-31	-0.07	3.96E-01	0.00	1.00E+00						
RpL32	26148	1.55	3.34E-30	-0.08	3.38E-01	0.00	1.00E+00						
RpL34a	4745	0.79	2.78E-08	0.00	9.93E-01	0.00	1.00E+00						
RpL34b	14511	1.00	8.70E-10	0.00	1.00E+00	0.00	1.00E+00						

Gene symbol	Base Mean	log ₂ FoldChange		adj p-value		log ₂ FoldChange		adj p-value	
		corto ^{L1} /corto ⁴²⁰ w ¹¹¹⁸ versus	corto ^{L1} /corto ⁴²⁰ w ¹¹¹⁸ versus	uL11 ^{K3A} versus w ¹¹¹⁸	uL11 ^{K3Y} versus w ¹¹¹⁸	uL11 ^{K3A} versus w ¹¹¹⁸	uL11 ^{K3Y} versus w ¹¹¹⁸		
RpL35	22897	1.11	1.57E-14	-0.04	6.97E-01	0.00	1.00E+00		
RpL35A	18082	1.07	1.66E-06	0.03	7.56E-01	0.00	1.00E+00		
RpL36	22750	0.63	4.03E-05	-0.05	5.93E-01	0.00	1.00E+00		
RpL36A	20310	1.45	5.37E-17	-0.01	9.36E-01	0.00	1.00E+00		
RpL37a	28870	1.44	2.13E-31	-0.01	9.31E-01	0.00	1.00E+00		
RpL37A	15974	1.17	6.51E-15	-0.05	5.40E-01	0.00	1.00E+00		
RpL38	10930	-1.22	8.25E-12	0.01	9.45E-01	0.00	1.00E+00		
RpL39	14842	1.09	6.07E-13	-0.01	9.54E-01	0.00	1.00E+00		
RpL4	88623	0.74	7.97E-10	-0.01	9.31E-01	0.00	1.00E+00		
RpL40	28783	1.13	3.13E-23	-0.04	6.70E-01	0.00	1.00E+00		
RpL41	44221	1.27	1.23E-12	-0.10	2.39E-01	0.00	1.00E+00		
RpL6	40858	0.66	5.68E-09	-0.02	8.96E-01	0.00	1.00E+00		
RpL7	46015	0.88	6.36E-19	-0.07	3.97E-01	0.00	1.00E+00		
RpL7A	51685	0.64	1.91E-08	-0.04	6.85E-01	0.00	1.00E+00		
RpL8	41973	0.93	2.53E-13	-0.03	7.65E-01	0.00	1.00E+00		
RpL9	33572	1.23	3.91E-24	-0.04	6.30E-01	0.00	1.00E+00		
RpLP0	49121	0.88	2.69E-10	-0.02	8.64E-01	0.00	1.00E+00		
RpLP1	34330	1.50	2.88E-29	-0.05	6.18E-01	0.00	1.00E+00		
RpLP2	29029	0.72	3.01E-04	0.02	8.90E-01	0.00	1.00E+00		
Rpn10	3237	0.60	8.41E-07	-0.04	6.60E-01	-0.01	8.51E-01		
RpS10b	22456	0.90	7.94E-17	-0.04	7.10E-01	0.00	1.00E+00		
RpS11	27054	1.05	7.21E-11	-0.02	8.37E-01	0.00	1.00E+00		
RpS12	22585	1.49	7.12E-26	-0.27	1.12E-02	0.00	1.00E+00		
RpS13	36129	0.85	1.52E-13	-0.04	7.11E-01	0.00	1.00E+00		
RpS14a	14676	0.84	1.97E-10	-0.02	8.88E-01	0.00	1.00E+00		
RpS14b	5724	1.39	5.22E-15	0.00	9.94E-01	0.00	1.00E+00		
RpS15	32466	1.00	1.50E-15	-0.12	1.11E-01	0.00	1.00E+00		
RpS15Aa	22650	0.73	3.20E-09	-0.08	3.36E-01	0.00	1.00E+00		
RpS15Ab	2011	0.81	1.69E-12	-0.06	5.17E-01	0.00	1.00E+00		
RpS17	26903	1.72	4.39E-37	-0.06	4.59E-01	0.00	1.00E+00		
RpS18	32633	1.38	2.01E-26	-0.05	5.78E-01	0.00	1.00E+00		
RpS19a	27379	1.20	1.49E-08	0.00	9.88E-01	0.00	1.00E+00		
RpS2	48438	0.78	4.36E-11	-0.12	1.17E-01	0.00	1.00E+00		
RpS20	22643	1.07	7.12E-14	-0.18	4.75E-02	0.00	1.00E+00		
RpS21	11086	0.72	1.53E-06	-0.03	8.07E-01	0.00	1.00E+00		
RpS23	31632	1.84	3.62E-35	-0.04	6.97E-01	0.00	1.00E+00		
RpS24	32050	1.17	2.61E-22	-0.08	2.62E-01	-0.01	1.00E+00		
RpS25	28124	0.59	1.91E-05	-0.04	6.82E-01	0.00	1.00E+00		
RpS26	31285	1.52	3.40E-35	-0.02	8.47E-01	0.00	1.00E+00		
RpS28b	20297	0.86	1.46E-06	-0.07	3.87E-01	0.00	1.00E+00		
RpS29	31258	0.83	1.80E-11	-0.07	4.10E-01	0.00	1.00E+00		
RpS3	41096	1.00	7.80E-28	-0.10	1.22E-01	0.00	1.00E+00		
RpS30	22722	0.64	4.12E-07	-0.04	6.49E-01	0.00	1.00E+00		
RpS4	55820	1.07	4.18E-29	-0.06	4.68E-01	0.00	1.00E+00		
RpS5a	48391	0.92	1.61E-23	-0.07	3.37E-01	0.00	1.00E+00		
RpS6	46007	1.20	1.79E-20	-0.04	6.36E-01	0.00	1.00E+00		
RpS7	40640	0.89	5.35E-11	-0.05	5.82E-01	0.00	1.00E+00		
RpS8	39353	1.28	3.54E-25	-0.04	6.64E-01	0.00	1.00E+00		
RpS9	31452	0.59	9.82E-06	-0.15	7.18E-02	0.00	1.00E+00		
Rpt3	3750	0.69	2.73E-15	-0.02	8.50E-01	-0.01	9.19E-01		
S6k	1848	-1.11	1.68E-13	0.06	4.86E-01	0.02	7.50E-01		
S6kll	523	-0.60	8.22E-05	0.05	5.74E-01	0.00	1.00E+00		
sage	118	-0.97	7.66E-04	0.02	8.54E-01	0.00	1.00E+00		
SAK	1348	-0.58	1.68E-07	-0.05	6.10E-01	0.01	1.00E+00		
Sap47	1082	-0.65	1.87E-05	0.00	9.73E-01	0.00	1.00E+00		
saq	2766	-0.71	2.10E-12	-0.08	2.97E-01	0.00	1.00E+00		
Sbat	156	1.17	4.34E-07	0.07	4.00E-01	-0.01	1.00E+00		
scaf6	2332	-0.63	8.81E-18	-0.03	7.70E-01	0.00	1.00E+00		
Scppdh2	466	1.03	4.86E-08	-0.02	8.24E-01	0.08	2.30E-01		
Scp2	14	0.05	7.27E-01	0.07	5.58E-01	0.78	4.12E-02		
scu	3185	1.00	5.91E-14	-0.11	1.65E-01	0.00	1.00E+00		
scyl	8561	-1.33	8.68E-18	-0.06	4.87E-01	-0.01	1.00E+00		
sd	7654	-0.68	6.92E-06	-0.01	9.09E-01	0.00	1.00E+00		
Sdc	5389	-0.69	8.04E-06	-0.01	9.30E-01	0.00	1.00E+00		
SdhB	1621	0.63	1.89E-06	0.00	9.76E-01	0.00	1.00E+00		
SdhD	864	0.75	4.35E-07	-0.02	8.28E-01	0.00	1.00E+00		
Sdic2	15	-0.38	1.03E-01	0.06	5.87E-01	2.96	5.80E-04		
Sec63	3488	0.58	7.21E-13	0.02	8.44E-01	0.00	1.00E+00		
SerT	71	-0.42	8.67E-02	-1.55	5.72E-07	-0.03	6.87E-01		
Set1	2236	-1.19	1.64E-18	-0.04	6.94E-01	0.00	1.00E+00		
sqg	3372	-0.85	5.82E-06	0.07	4.58E-01	0.00	1.00E+00		
shep	1920	-0.90	1.74E-10	0.04	6.70E-01	0.00	1.00E+00		
shl	2787	-0.60	3.04E-06	-0.03	7.56E-01	0.00	1.00E+00		
sick	3454	0.08	6.69E-01	3.08	4.79E-168	0.00	1.00E+00		
sirj	2866	-0.61	1.03E-05	-0.07	4.22E-01	0.00	1.00E+00		
Sirt6	173	-0.63	1.58E-03	0.03	7.51E-01	0.00	1.00E+00		
Sirup	481	0.45	4.83E-02	-0.90	1.93E-04	0.00	1.00E+00		
SLC5A11	132	-0.38	1.05E-01	-0.99	6.52E-04	-0.01	9.70E-01		
sle	3373	-0.67	2.17E-05	0.02	8.42E-01	0.00	1.00E+00		
slif	87	-0.66	1.01E-02	-0.06	5.03E-01	0.00	1.00E+00		
Simap	2039	-0.78	5.55E-15	0.04	7.15E-01	0.00	1.00E+00		
SMC1	3037	-0.64	1.85E-06	-0.02	8.19E-01	0.00	1.00E+00		
SmD2	1956	0.73	2.12E-06	0.04	6.65E-01	0.00	1.00E+00		
SmF	1111	0.73	3.23E-05	0.01	9.46E-01	0.00	1.00E+00		
smo	2301	-0.63	3.91E-07	-0.10	2.03E-01	0.00	1.00E+00		
Smyd4-2	19	1.33	8.38E-04	1.15	6.49E-03	0.00	1.00E+00		
snama	1490	-0.65	8.22E-09	0.02	8.84E-01	0.01	1.00E+00		
Snap25	98	-0.08	7.87E-01	4.02	5.30E-61	-0.02	8.64E-01		
sni	488	0.71	2.21E-08	0.07	3.85E-01	0.00	1.00E+00		
snoRNA:Psi18S-531	228	0.76	7.84E-06	0.01	9.54E-01	-0.99	6.07E-15		
snRNA:7SK	74	0.77	8.34E-03	0.12	3.03E-01	-0.01	1.00E+00		
snRNA:U12	72	0.99	6.65E-04	0.25	9.48E-02	0.02	9.19E-01		
Srx27	1056	-0.64	4.13E-06	0.00	9.90E-01	0.00	1.00E+00		
Sod1	4607	0.82	6.89E-09	-0.01	9.62E-01	-0.02	7.72E-01		
Sod3	3675	0.63	1.89E-07	-0.08	3.00E-01	-0.01	1.00E+00		
Sox21b	15	0.01	9.47E-01	-0.84	2.59E-02	0.01	1.00E+00		
Sp1	380	0.20	4.39E-01	-2.11	5.44E-08	0.01	1.00E+00		
SP1173	2433	0.10	5.98E-01	0.11	1.53E-01	0.66	3.68E-07		
SPARC	1433	0.81	2.04E-06	-0.34	1.04E-02	0.00	1.00E+00		

Gene symbol	Base Mean	log ₂ FoldChange corto ^{L1} /corto ^{K5A} versus w ¹¹¹⁸	adj p-value corto ^{L1} /corto ^{K5A} versus w ¹¹¹⁸	log ₂ FoldChange uL11 ^{K5A} versus w ¹¹¹⁸	adj p-value uL11 ^{K5A} versus w ¹¹¹⁸	log ₂ FoldChange uL11 ^{K5Y} versus w ¹¹¹⁸	adj p-value uL11 ^{K5Y} versus w ¹¹¹⁸
Spase12	1070	0.90	4.41E-07	0.02	8.81E-01	-0.01	1.00E+00
Spase22-23	2345	0.62	4.08E-07	0.01	9.32E-01	-0.01	1.00E+00
Spc105R	1970	-0.64	3.39E-06	0.00	9.82E-01	0.02	6.88E-01
Sprdhv	889	-0.77	1.08E-11	-0.58	2.41E-11	-0.47	5.60E-07
spn-E	262	0.05	8.37E-01	0.95	2.55E-08	0.01	1.00E+00
Spn100A	2226	0.21	4.08E-01	-0.60	2.38E-02	-0.01	1.00E+00
Spn27A	3624	0.72	4.88E-15	-0.12	5.13E-02	0.00	1.00E+00
Spn42De	140	1.10	3.10E-06	0.08	3.73E-01	0.00	1.00E+00
Spn43Aa	3847	0.81	1.21E-04	-0.01	9.37E-01	-0.02	8.73E-01
Spn47C	40	-2.01	4.50E-05	2.30	2.05E-07	0.00	1.00E+00
spo	14	-0.61	1.57E-02	0.01	9.14E-01	0.00	1.00E+00
spoon	4782	-0.94	1.55E-08	-0.01	9.13E-01	0.00	1.00E+00
Spp	2973	0.59	1.42E-06	-0.01	9.49E-01	0.00	1.00E+00
spz4	38	-1.26	9.87E-05	-0.02	8.49E-01	0.00	1.00E+00
sqd	24176	-1.21	2.03E-15	0.01	9.25E-01	0.00	1.00E+00
srl	2653	-0.64	2.17E-06	-0.05	5.95E-01	0.00	1.00E+00
Ssdp	3514	-1.21	3.35E-12	-0.02	8.47E-01	0.00	1.00E+00
Sl2	912	0.77	6.07E-04	-0.05	5.42E-01	-0.09	2.64E-01
Sl3	62	0.34	1.70E-01	1.40	5.50E-08	1.21	3.44E-06
sta	62664	1.36	1.84E-26	-0.14	8.33E-02	0.00	1.00E+00
step	1533	-0.70	1.73E-06	0.05	5.62E-01	0.00	1.00E+00
Stk	960	-0.69	1.41E-04	0.03	7.68E-01	0.00	1.00E+00
stumps	1216	-0.16	1.84E-01	-0.61	1.14E-13	-0.01	1.00E+00
stv	2256	0.16	5.24E-01	-1.48	4.91E-10	0.01	1.00E+00
sty	1582	-0.70	7.56E-06	0.04	6.60E-01	0.00	1.00E+00
sulHw	2513	-0.63	1.09E-08	-0.01	9.69E-01	0.00	1.00E+00
sun	1616	1.01	5.14E-09	0.01	9.64E-01	-0.01	1.00E+00
Sur	11	-0.09	6.53E-01	0.58	4.64E-02	0.00	1.00E+00
sxc	3212	-0.69	8.92E-08	-0.05	6.02E-01	0.00	1.00E+00
Syp	23681	-1.10	4.58E-08	-0.03	7.52E-01	0.00	1.00E+00
Sy4	254	7.49	1.96E-06	4.89	1.96E-06	6.07	2.24E-12
Taf10	549	0.66	1.19E-04	-0.01	9.18E-01	0.00	1.00E+00
tam	490	0.29	8.95E-02	0.72	1.51E-09	0.01	8.66E-01
Tapdelta	3819	0.58	3.60E-05	-0.02	8.76E-01	0.00	1.00E+00
TBCB	731	0.19	2.42E-01	0.68	1.75E-10	0.58	3.83E-07
tea	768	-0.63	4.20E-05	-0.03	7.57E-01	0.00	1.00E+00
TIAP-2	180	0.34	1.52E-01	-2.03	5.20E-06	0.01	1.00E+00
TfIIIA-S	1676	0.94	1.18E-09	0.02	8.85E-01	0.00	1.00E+00
Tfd1	3729	-0.71	8.71E-05	-0.03	7.76E-01	0.01	1.00E+00
Thor	335	1.02	1.07E-03	-0.09	4.00E-01	0.00	1.00E+00
Tif-IA	2210	-0.65	1.22E-11	-0.06	4.87E-01	0.00	1.00E+00
Tim8	995	0.89	3.09E-07	0.03	7.23E-01	0.00	1.00E+00
Timp	183	1.31	4.85E-08	0.00	9.93E-01	0.00	1.00E+00
TkR86C	16	2.44	5.62E-04	6.69	3.31E-07	6.67	9.56E-07
Tm1	10585	-0.87	8.91E-13	-0.01	9.30E-01	0.00	1.00E+00
Tmc	187	-1.09	6.16E-06	-0.01	9.30E-01	-0.01	9.67E-01
tna	4864	-0.86	1.63E-08	-0.01	9.53E-01	0.00	1.00E+00
Tom7	1314	1.19	2.26E-12	0.04	6.63E-01	0.00	1.00E+00
topi	17	0.16	2.73E-01	3.33	7.94E-09	0.01	1.00E+00
Tpi	3109	0.75	5.13E-06	0.06	4.99E-01	0.00	1.00E+00
TpnC25D	30	-0.49	4.92E-02	-0.68	4.79E-02	-0.05	5.00E-01
Tpst	715	-1.40	5.38E-11	0.03	7.58E-01	0.00	1.00E+00
Traf-like	115	-0.73	5.07E-03	-0.08	4.80E-01	0.00	1.00E+00
Traf4	481	0.24	1.13E-01	0.76	4.59E-17	0.00	1.00E+00
Traf2	2420	-0.99	3.98E-07	0.03	7.55E-01	0.00	1.00E+00
Trf	369	-1.26	3.45E-08	-0.01	9.05E-01	0.00	1.00E+00
Tsen15	167	-1.57	1.05E-14	0.02	8.94E-01	0.00	1.00E+00
tsh	5545	-0.66	4.17E-20	-0.16	2.69E-03	0.00	1.00E+00
Tsp	2665	0.69	3.98E-10	-0.34	3.00E-04	0.00	1.00E+00
Tsp39D	1560	-0.58	8.20E-05	0.01	9.37E-01	0.00	1.00E+00
Tsp42Ed	56	0.33	1.26E-01	1.57	7.02E-04	-0.02	8.30E-01
Tsp42Ei	87	0.57	2.08E-02	-0.61	1.22E-02	-0.02	7.84E-01
Tsp68C	24	0.92	4.23E-03	3.43	4.52E-12	0.04	5.83E-01
Tsp96F	1091	-0.73	1.13E-04	0.00	9.93E-01	0.00	1.00E+00
Ttc19	220	-0.65	9.39E-04	1.15	1.18E-14	0.01	1.00E+00
TTL5	618	-0.89	5.37E-10	0.00	9.85E-01	0.00	1.00E+00
tut	126	-0.50	3.44E-02	-0.04	6.75E-01	-3.19	3.46E-25
TwidM	16	0.92	5.02E-03	0.34	1.02E-01	2.59	7.18E-05
TwidT	119	0.43	7.55E-02	-1.52	1.34E-06	-0.11	2.46E-01
twi	636	0.03	8.92E-01	-0.69	5.16E-11	-0.12	1.00E-01
twr	2970	0.60	6.91E-05	-0.03	8.10E-01	-0.01	1.00E+00
twz	761	0.58	1.40E-03	-0.01	9.54E-01	0.03	6.00E-01
UbcE2H	1978	-0.73	9.00E-09	0.15	6.58E-02	0.01	1.00E+00
UBL3	1245	-0.79	6.80E-08	-0.02	8.24E-01	0.00	1.00E+00
Ubx	347	-0.41	9.19E-02	-1.48	4.15E-08	0.00	1.00E+00
uex	1998	-0.87	4.48E-09	0.01	9.32E-01	0.00	1.00E+00
Ugt302C1	1204	-0.23	8.13E-02	0.70	2.85E-15	0.00	1.00E+00
Ugt302K1	820	-1.93	1.49E-26	2.29	4.84E-76	0.00	1.00E+00
Ugt317A1	411	0.43	6.49E-03	-1.04	4.52E-19	-1.12	4.52E-23
Uhg1	543	-0.62	8.92E-04	0.04	6.63E-01	0.00	1.00E+00
Uhg4	570	-0.63	2.41E-04	-0.02	8.43E-01	0.00	1.00E+00
unc-119	1224	-0.71	1.70E-13	-0.09	1.90E-01	0.00	1.00E+00
unc-13	8539	-0.16	3.82E-01	3.08	1.68E-117	0.01	9.70E-01
unc-4	56	0.21	1.73E-01	-1.78	2.44E-04	0.01	1.00E+00
Uhr	3986	-1.51	8.25E-12	-0.01	9.12E-01	0.00	1.00E+00
upd2	26	0.21	1.41E-01	2.98	6.12E-04	0.00	1.00E+00
upd3	34	0.01	9.69E-01	2.77	2.35E-07	0.01	1.00E+00
UQCR-6.4	522	0.83	2.12E-05	0.02	8.90E-01	0.00	1.00E+00
UQCR-C1	4523	0.84	1.29E-13	0.03	7.62E-01	0.00	1.00E+00
UQCR-Q	1447	1.88	3.34E-40	0.00	9.79E-01	0.00	1.00E+00
Urod	1510	0.64	3.48E-06	0.02	8.25E-01	0.00	1.00E+00
Ubx	1479	-0.75	1.33E-17	-0.06	4.40E-01	0.00	1.00E+00
Vajk4	36	1.18	5.97E-04	0.14	2.34E-01	0.00	1.00E+00
ValRS-m	232	0.60	4.18E-04	-0.01	9.18E-01	0.00	1.00E+00
Vap33	7747	-0.78	2.49E-07	0.01	9.16E-01	0.00	1.00E+00
VepD	48	-1.91	1.02E-06	0.11	3.01E-01	0.00	1.00E+00
ver	296	-0.22	2.25E-01	2.11	4.76E-65	0.00	1.00E+00
verm	9505	0.62	9.38E-04	-0.13	1.70E-01	0.00	1.00E+00
VGAT	134	-0.09	7.49E-01	0.64	1.29E-03	-0.63	6.34E-03
vib	1469	-1.04	1.87E-26	0.04	6.69E-01	-0.01	1.00E+00
vig	3544	-0.78	1.04E-08	0.01	9.06E-01	0.00	1.00E+00
vic	2238	-0.62	3.56E-08	-0.03	7.54E-01	0.00	1.00E+00
Vps11	1027	-0.65	2.49E-03	0.00	9.72E-01	0.00	1.00E+00
vtd	2064	-0.95	1.33E-21	-0.06	4.50E-01	-0.01	1.00E+00
wap	3147	-0.66	1.92E-08	-0.03	7.45E-01	0.00	1.00E+00
wdb	5970	-0.84	1.30E-11	0.01	9.22E-01	0.00	1.00E+00
wde	2735	-0.89	1.99E-07	0.02	8.39E-01	0.00	1.00E+00
wts	1411	-0.66	9.62E-07	0.02	8.38E-01	0.00	1.00E+00
Xrp1	10923	-0.55	6.59E-06	1.08	1.69E-26	0.11	1.21E-01
yellow-e	215	0.87	5.43E-05	-0.03	7.39E-01	0.00	1.00E+00
yellow-f	83	-0.23	3.71E-01	-0.62	3.15E-02	-0.05	5.27E-01
yellow-h	56	0.51	4.40E-02	2.46	1.25E-10	-0.01	1.00E+00
yip7	41	-0.04	6.60E-01	-0.97	3.20E-02	-0.02	9.62E-01
Ythdf	2954	-0.66	9.40E-09	-0.04	6.25E-01	0.00	1.00E+00
zfh1	688	-0.13	5.56E-01	-0.63	2.67E-04	0.00	1.00E+00
Zmynd10	117	-1.05	1.89E-06	-0.13	2.22E-01	0.00	1.00E+00
Zyx	2299	-1.25	1.45E-35	0.00	9.77E-01	0.00	1.00E+00

Expression in corto^{L1}/corto⁴²⁰		GO term	Count	%	p-value	Benjamini
up-regulated		CC~GO:0005840~ribosome	61	12,95%	1,00E-61	2,00E-59
up-regulated		CC~GO:0022625~cytosolic large ribosomal subunit	38	8,07%	3,90E-39	3,90E-37
up-regulated		CC~GO:0022626~cytosolic ribosome	41	8,70%	2,10E-23	1,00E-21
down-regulated		CC~GO:0006468~protein phosphorylation	30	6,62%	7,60E-09	9,30E-06
down-regulated		BP~GO:0004674~protein serine/threonine kinase activity	23	5,08%	1,20E-08	2,10E-06
down-regulated		MF~GO:0004672~protein kinase activity	19	4,19%	4,00E-06	4,60E-04
down-regulated		MF~GO:0005524~ATP binding	45	9,93%	2,30E-02	1,30E-02
down-regulated		BP~GO:0045732~positive regulation of protein catabolic process	5	1,10%	1,10E-03	6,60E-02
down-regulated		BP~GO:0045475~locomotor rhythm	9	1,99%	9,60E-04	6,20E-02
down-regulated		CC~GO:0005834~heterotrimeric G-protein complex	5	1,10%	7,10E-04	3,00E-02
down-regulated		MF~GO:0004871~obsolete signal transducer activity	7	1,55%	1,40E-03	5,30E-02
down-regulated		MF~GO:0031683~G-protein beta/gamma-subunit complex binding	4	0,88%	1,90E-03	5,50E-02
down-regulated		BP~GO:0030307~positive regulation of cell growth	7	1,55%	2,70E-04	2,40E-02
down-regulated		CC~GO:0070469~respirasome	6	1,32%	9,60E-05	4,80E-03
Expression in uL11^{K3A}		GO term	Count	%	p-value	Benjamini
up-regulated		BP~GO:0006749~glutathione metabolic process	11	4,21%	1,60E-09	6,50E-07
up-regulated		MF~GO:0004602~glutathione peroxidase activity	9	3,45%	2,80E-08	3,30E-06
up-regulated		MF~GO:0004364~glutathionetransferase activity	10	3,83%	2,90E-08	3,30E-06
up-regulated		BP~GO:0000723~telomere maintenance	6	2,30%	1,60E-05	3,30E-03
up-regulated		BP~GO:0006310~DNA recombination	5	1,92%	6,90E-04	9,30E-02
down-regulated		MF~GO:0004035~alkaline phosphatase activity	5	3,18%	4,80E-05	4,10E-03
down-regulated		CC~GO:0009986~cell surface	7	4,46%	2,60E-04	1,40E-02
down-regulated		BP~GO:0007480~imaginal disc-derived leg morphogenesis	8	5,10%	2,60E-06	4,60E-04
down-regulated		MF~GO:0043565~sequence-specific DNA binding	13	8,28%	5,70E-05	4,10E-03
down-regulated		BP~GO:0006355~regulation of transcription, DNA-templated	14	8,92%	2,50E-04	1,50E-02
down-regulated		BP~GO:0006351~transcription, DNA-templated	13	8,28%	5,10E-04	2,50E-02
down-regulated		MF~GO:0003700~DNA-binding transcription factor activity	11	7,01%	1,40E-03	6,90E-02

Supplementary Table 3: Ontology of genes deregulated in cortoL1/corto420 and uL11K3A mutants

CC: Cellular Component; BP: Biological Process; MF: Molecular Function

Gene id	Gene symbol	Expression in uL11 ^{K3Y} versus w ¹¹¹⁸	Strand	Distance from the TSS	p-value	Sites	ACTTGTGAG
FBgn0267160	asRNA:CR45600	up	-	-1367	1.24E-06	GACCCGTC	ACTTGTGAG
FBgn0034972	CG10339	up	-	-1148	2.21E-07	CATTACCACCT	GTCTCTTGG
FBgn0036589	CG13067	up	+	-1578	3.18E-10	TGCCCTACACG	TATACCAGCTC
FBgn0040658	CG13516	down	+	621	1.65E-06	GGCTCCAGCG	CCAGACAGAC
FBgn0037127	CG14566	up	+	257	5.47E-09	CTTCGACGAG	GGGCCACAC
FBgn0035409	CG14963	up	-	-1497	6.83E-08	AGTTTCGGCT	TTCCAGTTTCA
FBgn0033777	CG17574	down	-	-1371	1.19E-07	CAGCAAGAGC	TCTTACGCG
FBgn0017448	CG2187	up	-	-179	1.54E-06	ATATTACCG	GATAACCCAA
FBgn0034931	CG2812	up	-	836	1.35E-08	AGATCTTGCA	CAGCAGCCGG
FBgn0052354	CG32354	up	+	-51	4.64E-08	GCCTGTGCT	TTTCCACCCAT
FBgn0052532	CG32532	up	+	655	1.30E-07	GCAGACAGC	GCCTCTGCT
FBgn0085276	CG34247	down	-	-1572	3.44E-08	TCAAGACTCG	CGAAGCTCAA
FBgn0085411	CG34382	down	-	374	3.64E-07	GACTACGATG	TCGAGCAATG
FBgn0085452	CG34423	down	-	265	1.57E-12	GGATGGATCC	GGCTCCACTG
FBgn0260768	CG42566	down	+	-1898	1.09E-07	TGATTTCCA	TTCCCTACTT
FBgn0038784	CG4362	down	+	57	2.03E-06	GCATGACCTT	GCAGATCGAC
FBgn0036587	CG4950	down	-	-1566	3.18E-10	TGCCCTACCC	TATACCAGCTC
FBgn0039430	CG5455	down	-	-829	1.70E-07	AGGACGAGGA	GAAACTGGTG
FBgn0036121	CG6310	down	+	-670	1.67E-08	ATATGGACGA	AAAGCTTTTG
FBgn0028533	CG7953	down	-	105	2.61E-07	TGATCCGCCA	CCTCGTTGG
FBgn0038405	CG8927	up	-	-1482	8.24E-08	ACTTTGGATCC	TTTGACTCTA
FBgn0036109	Cpr67Fa2	down	+	-1471	8.61E-07	CGCTATCCTG	ACCTAGAACC
FBgn0262636	dell	up	+	-1275	6.86E-07	GGTAACGTTA	TCGATTTGG
FBgn0062928	hpRNA:CR33940	down	+	-834	2.61E-07	GTGGGCGGTA	CTCGTTGGCA
FBgn0286204	ich	up	-	-1332	1.33E-06	GGTTGATATG	GCTGTATCCG
FBgn0039459	IntS12	up	+	108	1.20E-11	CGCAATATA	CAAGAAGTGG
FBgn0034098	krimp	up	+	-747	4.85E-09	TGGTGGATCT	GTCAAGTGAAG
FBgn0259983	lncRNA:CR42491	down	+	-1111	1.73E-11	GAAGAAGGCC	AAGGGCAAGG
FBgn0039851	rmev	up	+	-80	3.40E-09	AAGAGAGTTA	GTCGCTGGG
FBgn0035976	PGRP-LC	down	-	-1328	1.09E-07	CATACGTGTT	AAGCTAGATTG
FBgn0038966	plrla	up	-	-839	2.38E-10	AACTGTTGCT	GATATTGCTG
FBgn0020907	Scp2	down	-	-158	5.02E-07	CGTCTCGGTC	CTCGTCATGG
FBgn0083027	snoRNA:Psi18S-531	down	+	-1627	1.73E-11	GAAGAAGGCC	AAGGGCAAGG
FBgn0265052	Sl3	up	-	-860	9.05E-08	TCGAAGGAGA	TCTGCTCCTG
FBgn0034451	TBCB	up	-	-1977	2.84E-07	TCAAACAAAA	CAGCATATTG
FBgn0004841	TrR86C	down	-	-9	6.13E-09	TGTCCTTAGC	TAAGTCTTT
FBgn0052364	tuf	down	-	-622	2.67E-09	TCAAGTGCCT	TTTCCATAA
FBgn0039434	TweeIM	up	-	313	3.69E-10	CTCCGATGCT	TCCGATGCTG
FBgn0033911	VGAT	down	+	399	1.35E-08	ACGCCCTTCTT	ATCAGGCCAA

Supplementary Table 4: Enrichment for Mad sites in the cis-regulatory sequences of genes deregulated in uL11K3Y mutants.

21 nucleotide-long motifs shared by 39 of the 84 uL11K3Y deregulated genes (E-value: 2.1E-23).

Annexe 4 Genes moins exprimés dans les mutants *uL11^{K3Y}* élevés sur milieu restrictif comparés aux individus sauvages élevés sur milieu restrictif.

geneID	Gene_symbol	baseMean	log2FoldChange		padj	
			K3Y_D vs W_D	K3Y_D vs W_D	K3Y_D vs W_D	K3Y_D vs W_D
FBgn0267005	lncRNA:CR45449	6,84		-5,55		5,74E-04
FBgn0267006	lncRNA:CR45450	6,70		-5,08		1,64E-03
FBgn0034710	Alp7	187,08		-4,23		6,29E-03
FBgn0052564	CG32564	33,74		-3,64		5,78E-04
FBgn0036106	CG6409	91,54		-3,58		1,28E-02
FBgn0040658	CG13516	146,08		-3,57		4,52E-30
FBgn0052364	tut	69,49		-3,31		3,16E-06
FBgn0034788	CG13532	46,21		-2,39		3,14E-09
FBgn0039430	CG5455	209,33		-2,38		2,47E-18
FBgn0052055	CG32055	136,28		-2,34		4,66E-13
FBgn0038181	CG9297	125,82		-1,87		9,56E-03
FBgn0267519	28SrRNA-Psi:CR45859	124,40		-1,76		7,68E-03
FBgn0035189	CG9119	98,90		-1,69		4,49E-04
FBgn0039486	CAH9	89,60		-1,66		1,85E-02
FBgn0038337	CG6125	34,73		-1,65		1,04E-02
FBgn0261836	Msp300	15597,93		-1,60		3,85E-03
FBgn0032495	CG16820	119,14		-1,60		5,78E-08
FBgn0261813	lncRNA:CR42755	17,59		-1,51		9,53E-03
FBgn0085411	CG34382	67,87		-1,46		1,02E-05
FBgn0035976	PGRP-LC	230,74		-1,27		1,16E-16
FBgn0036590	CG13065	4,45		-1,25		4,92E-02
FBgn0039787	CG9702	37,89		-1,22		2,54E-02
FBgn0036121	CG6310	501,39		-1,15		2,51E-21
FBgn0040091	Ugt317A1	653,06		-1,04		3,46E-17
FBgn0031010	CG8028	20,24		-0,99		4,09E-02
FBgn0259993	lncRNA:CR42491	1568,44		-0,98		4,49E-13
FBgn0052412	QC	284,10		-0,93		1,69E-05
FBgn0083027	snoRNA:Psi18S-531	288,84		-0,91		7,48E-06
FBgn0261617	nej	8849,33		-0,87		6,29E-03
FBgn0050069	CG30069	7507,00		-0,82		7,88E-06
FBgn0004167	kst	15702,94		-0,75		7,68E-03
FBgn0033661	CG13185	4420,90		-0,74		1,98E-03
FBgn0039464	CG6330	180,20		-0,72		4,44E-03
FBgn0053140	CG33140	20,02		-0,70		4,02E-02
FBgn0001248	ldh	16412,78		-0,70		2,76E-31
FBgn0013733	shot	9718,33		-0,66		1,46E-02
FBgn0261260	mgl	6159,26		-0,66		1,28E-02
FBgn0266557	kis	25164,37		-0,65		1,22E-02
FBgn0016977	spen	10527,94		-0,65		1,87E-02
FBgn0265499	asRNA:CR44368	223,74		-0,62		4,18E-04
FBgn0053196	dpy	8415,20		-0,61		1,22E-02
FBgn0036109	Cpr67Fa2	152,91		-0,60		8,41E-03
FBgn0031549	Spindly	1570,57		-0,58		1,04E-13

Annexe 5 Genes plus exprimés dans les mutants *uL11^{K3Y}* élevés sur milieu restrictif comparés aux individus sauvages élevés sur milieu restrictif.

geneID	Gene_symbol	baseMean	log2FoldChange	
			K3Y_D vs W_D	padj K3Y_D vs W_D
FBgn0052354	CG32354	180,49	0,59	7,68E-03
FBgn0034931	CG2812	1259,07	0,60	3,23E-06
FBgn0039678	Obp99a	723,33	0,63	1,10E-02
FBgn0039848	Loxl1	110,31	0,64	2,13E-02
FBgn0034785	CG3649	629,58	0,65	5,34E-04
FBgn0052068	Adi1	347,17	0,65	5,17E-03
FBgn0051956	Pgant4	14,83	0,65	4,04E-02
FBgn0031042	CG14221	31,42	0,67	2,69E-02
FBgn0034451	TBCB	1131,68	0,68	3,25E-08
FBgn0063494	GstE6	148,09	0,69	1,28E-02
FBgn0050360	Mal-A6	42,71	0,70	4,70E-02
FBgn0033876	Syng1	25,36	0,70	2,69E-02
FBgn0039462	CG14252	183,89	0,71	4,18E-04
FBgn0052017	CG32017	49,53	0,73	2,13E-02
FBgn0037844	CG4570	55,03	0,75	8,28E-03
FBgn0039459	IntS12	501,39	0,83	4,01E-06
FBgn0017430	Nelf-E	1091,73	0,84	1,90E-18
FBgn0037975	CG3397	25,67	0,90	2,76E-02
FBgn0039915	Gat	97,91	0,91	1,22E-02
FBgn0015040	Cyp9c1	1540,85	0,93	1,63E-06
FBgn0033926	Arc1	956,64	0,95	1,48E-03
FBgn0033928	Arc2	117,33	1,01	2,87E-06
FBgn0050104	NT5E-2	139,97	1,05	6,78E-03
FBgn0034756	Cyp6d2	117,06	1,06	6,89E-05
FBgn0039807	CG15546	148,33	1,08	2,44E-05
FBgn0050428	CG30428	311,40	1,08	1,56E-08
FBgn0032797	Hasp	8,70	1,16	4,79E-02
FBgn0030158	CG9686	18,28	1,21	1,97E-02
FBgn0263111	cac	32,88	1,24	9,53E-03
FBgn0035124	ttm2	30,84	1,28	7,68E-03
FBgn0004513	Mdr65	47,66	1,31	1,95E-04
FBgn0039851	mey	1179,38	1,35	2,39E-20
FBgn0036186	CG6071	203,27	1,37	2,44E-11
FBgn0038966	pinta	73,71	1,56	4,31E-06
FBgn0264822	asRNA:CR44030	214,37	1,65	1,04E-09
FBgn0039099	GILT2	31,96	1,70	9,33E-03
FBgn0001229	Hsp67Bc	374,36	1,82	2,20E-04
FBgn0031424	VGlut	6,89	1,90	3,32E-02
FBgn0035041	CG13594	8,95	2,11	1,62E-02
FBgn0034972	CG10339	16,74	2,24	1,08E-03
FBgn0015010	Ag5r	77,65	2,33	8,91E-03
FBgn0037217	CG14636	28,95	2,34	8,32E-07
FBgn0265052	St3	119,32	2,42	2,30E-24

geneID	Gene_symbol	baseMean	log2FoldChange		padj	
			K3Y_D vs W_D	K3Y_D vs W_D	K3Y_D vs W_D	K3Y_D vs W_D
FBgn0250815	Jon65Aiv	314,14	2,55	2,20E-02		
FBgn0034098	krimp	114,77	2,67	1,85E-07		
FBgn0036240	CG6928	2408,24	2,79	1,41E-56		
FBgn0034225	veil	64,38	2,83	6,38E-06		
FBgn0035665	Jon65Aiii	182,37	2,94	1,79E-02		
FBgn0028920	CG8997	69,69	3,09	1,50E-02		
FBgn0040060	yip7	133,82	3,10	1,62E-02		
FBgn0039925	Kif3C	13,25	3,50	1,88E-04		
FBgn0039434	TwdlM	26,32	3,77	5,79E-07		
FBgn0031294	IA-2	44,48	3,89	6,85E-04		
FBgn0004841	TkR86C	16,80	4,14	1,35E-04		
FBgn0265634	lncRNA:CR44441	13,43	4,22	2,20E-04		
FBgn0036394	CG9040	58,43	4,24	7,84E-03		
FBgn0262636	dati	64,13	4,41	3,46E-17		
FBgn0262972	lncRNA:cherub	76,50	4,50	5,13E-03		
FBgn0030097	CG12115	43,69	4,51	6,49E-03		
FBgn0003375	Sgs5	2297,09	4,55	5,58E-03		
FBgn0003372	Sgs1	278,06	4,99	6,41E-03		
FBgn0262532	CR43086	38,54	5,00	1,59E-13		
FBgn0035880	Culd	4771,18	5,21	0,00E+00		
FBgn0003377	Sgs7	2211,69	5,34	1,36E-03		
FBgn0038523	Sgs5bis	90,14	5,39	2,53E-03		
FBgn0033268	Obp44a	138,36	5,39	5,45E-05		
FBgn0263762	CG43679	80,11	5,54	2,22E-03		
FBgn0262529	CG43083	10,27	5,56	1,39E-03		
FBgn0259950	CG42460	277,33	5,78	1,72E-03		
FBgn0003374	Sgs4	1630,15	5,88	1,08E-03		
FBgn0003373	Sgs3	2433,55	5,98	7,68E-04		
FBgn0028400	Syt4	323,78	6,15	4,89E-59		
FBgn0040565	CG7606	199,73	6,16	3,79E-04		
FBgn0003378	Sgs8	755,86	6,17	1,35E-04		
FBgn0004592	Eig71Ee	583,42	6,24	6,89E-05		
FBgn0052475	mthl8	991,96	6,38	6,19E-06		
FBgn0051698	CG31698	47,92	6,47	1,12E-04		
FBgn0267160	asRNA:CR45600	107,66	6,48	8,01E-17		
FBgn0085308	CG34279	54,07	6,51	1,18E-09		
FBgn0031512	CG15404	36,98	6,60	1,88E-04		
FBgn0052532	CG32532	13,70	6,82	2,20E-06		
FBgn0051496	CG31496	36,37	6,88	6,02E-06		
FBgn0030443	CG12715	78,41	7,08	5,71E-04		
FBgn0052302	CG32302	30,75	21,14	5,52E-06		

Résumé

Chez la drosophile la protéine ribosomique uL11 est impliquée dans la traduction et régule la transcription. En effet, uL11 triméthylée sur la lysine 3 interagit avec l'Enhancer de Trithorax et Polycomb Corto et co-localise avec lui en de nombreux sites sur les chromosomes polytènes. De plus, l'analyse du transcriptome de disques imaginaux d'ailes surexprimant uL11 ou le chromodomaine de Corto (CortoCD) montre que les gènes codant des protéines importantes pour la biogenèse des ribosomes sont plus exprimés.

Nous avons généré 3 mutants d'uL11K3 en utilisant la technologie CRISPR/Cas9 (*uL11^{K3A}*, *uL11^{K3Y}* et *uL11^{ΔK3}*). Seuls les mutants *uL11^{K3A}* présentent des phénotypes *Minute* (léthalité élevée, retard de développement, soies courtes) corrélés à une diminution du taux global de traduction. Nous avons montré qu'uL11K3A et uL11K3Y n'interagissent pas avec CortoCD. Alors que de manière inattendue, uL11ΔK3 interagit avec CortoCD. L'analyse du transcriptome de disques imaginaux d'ailes *uL11^{K3A}* et *uL11^{K3Y}* montre que peu de gènes sont dérégulés : 414 et 84 gènes chez les mutants *uL11^{K3A}* et *uL11^{K3Y}*, respectivement.

Chez *S. cerevisiae*, uL11 contrôle la transcription de gènes de la voie PHO dans un milieu pauvre en phosphates. Nous avons donc testé si un milieu nutritionnel pauvre affecterait les mutants *uL11*. Nous avons étudié les mutants *uL11^{K3Y}* qui ne présentent pas de phénotypes en conditions normales. Dans ce milieu pauvre, ces mutants ont un développement plus court et des ailes plus petites que les individus sauvages. Ainsi, chez la drosophile comme chez *S. cerevisiae*, l'activité transcriptionnelle d'uL11 pourrait être importante dans des conditions environnementales défavorables.

Mots-clefs : drosophile, protéine ribosomique, activité extra-ribosomique, régulation de la transcription, contrôle de la croissance

Transcriptional activity of the ribosomal protein uL11

In drosophila, the ribosomal protein uL11 is involved in translation and regulates transcription. Indeed, uL11 trimethylated on lysine 3 directly interacts with the enhancer of Trithorax and Polycomb Corto and co-localises with it on many sites on polytene chromosomes. Furthermore, RNA-seq analyses of larval wing imaginal discs over-expressing uL11 or the chromodomain of Corto show that many ribosomal biogenesis and ribosomal protein genes are up-regulated.

Three mutants of uL11K3 were obtained by CRISPR-Cas9 (*uL11^{K3A}*, *uL11^{K3Y}* et *uL11^{ΔK3}*). Puromycine incorporation showed that only *uL11^{K3A}* has a decreased translation in agreement with its dominant *Minute* phenotypes (which include high lethality, longer development, shorter bristles). Co-immunoprecipitation experiments show that uL11K3A and uL11K3Y do not interact with the chromodomain of Corto. Whereas, surprisingly, uL11ΔK3 still interacted with it. RNA-seq analyses of the wing imaginal disc transcriptomes of *uL11^{K3A}* and *uL11^{K3Y}* show that few genes are deregulated (414 genes for the former, 84 genes for the latter).

As in *Saccharomyces cerevisiae*, uL11 controls transcription of genes of the PHO pathway in low-phosphate conditions. We next tested whether the *uL11* mutants were more affected in restrictive diet conditions. We focused on the uL11^{K3Y} mutants which are unaffected in normal conditions. In a restrictive diet, developmental time of *uL11^{K3Y}* mutants is longer than the wild-type one, and their wings are smaller. Thus, in drosophila as *S. cerevisiae*, the transcriptional activity of uL11 might be important in poor environmental conditions.

Keywords: drosophila, ribosomal protein, extra-ribosomal activity, transcriptional regulation, growth control