

Melania Jennifer D'ANGIOLO

IRCAN – Institut de Recherche sur le Cancer et le Vieillessement de Nice – CNRS UMR 7284 -
INSERM U 1081 – UCA – NICE

Lundi 18 Janvier 2021 à 14h00

Visioconférence - NICE

Étude des mécanismes moléculaires de l'évolution du génome chez la levure bourgeonnante *Saccharomyces cerevisiae*

devant le jury composé de :

Miguel GODINHO FERREIRA

Delphine SICARD

Pei-Yun Jenny WU

Bernard DUJON

Gianni LITI

Eric GILSON

Président du Jury

Rapporteur

Rapporteur

Examineur

Directeur de Thèse

Directeur de Thèse

Résumé

L'évolution du génome consiste en la modification progressive de ce dernier au fil du temps et résulte de la variation des gènes dans leur ensemble, des mutations, des recombinaisons et échanges génétiques entre populations.

L'essor des technologies de séquençage de nouvelle génération ainsi que la réduction de leur coût ont permis d'augmenter le nombre de génomes disponibles, permettant d'élucider les mécanismes moléculaires impliqués dans leur évolution. Dans ce travail, j'ai utilisé la levure bourgeonnante *Saccharomyces cerevisiae* pour étudier deux aspects fondamentaux de l'évolution du génome: l'origine des introgressions inter-espèces et la diversité des télomères.

Une introgression est une insertion de matériel génétique provenant d'une population dans une autre. Ce phénomène naît d'événements d'hybridation suivis de rétrocroisements répétés avec l'une des populations parentales. Dans la première partie de ma thèse, j'ai étudié une lignée de *S. cerevisiae* isolée à

partir des eaux usées de la production d'huile d'olive (Alpechin), qui comprend d'abondantes introgressions de l'espèce soeur *S. paradoxus*, ainsi qu'une souche hybride *S. cerevisiae/S. paradoxus* caractérisée par des nombreuses régions de perte d'hétérozygotie (LOH). J'ai établi une carte génétique détaillée des LOHs dans la souche hybride et comparé leur position aux introgressions dans les souches d'Alpechin pour déterminer leurs relations. J'ai constaté que LOHs et introgressions se chevauchaient et provenaient de l'ascendance de *S. paradoxus*, indiquant que les introgressions dans la lignée d'Alpechin découlent directement des LOHs. J'ai proposé un modèle pour expliquer l'origine des introgressions chez la levure selon lequel les LOHs permettent aux hybrides inter-espèces de surmonter leur stérilité et j'ai validé la fiabilité de ce postulat à l'aide d'approches expérimentales et informatiques.

Dans la deuxième partie de ma thèse, j'ai caractérisé la diversité des télomères chez *S. cerevisiae* et l'effet d'un stress télomérique sur le fitness cellulaire. Premièrement, j'ai estimé la longueur des télomères dans plus de 900 souches isolées à travers le monde et constaté une vaste hétérogénéité, bien que les souches issues d'habitats naturels présentent des télomères plus courts que celles issues de l'agroalimentaire. J'ai ensuite réalisé une étude d'association pangénomique qui a permis d'identifier des variants génétiques susceptibles de moduler la longueur des télomères. De plus, j'ai identifié des mutations délétères dans des gènes connus pour influencer la longueur des télomères.

J'ai aussi utilisé un ensemble de données phénotypiques pour déterminer si certains facteurs non génétiques sont associés à la variation de longueur des télomères, et j'ai ainsi pu constater une connexion entre le métabolisme mitochondrial et les télomères dans les souches naturelles. Deuxièmement, j'ai étudié l'effet d'un stress télomérique chronique chez des levures modifiées avec des répétitions télomériques humaines. J'ai fait évoluer ces levures «humanisées» sur plusieurs générations par le biais de lignées cellulaires non-sélectives et j'ai observé un ralentissement de la vitesse de division et de la longévité, parallèlement à une augmentation du taux de mutations. Enfin, j'ai procédé à une expérience d'évolution adaptative pour permettre l'émergence de mutations bénéfiques qui contrecarrent le déclin de fitness des levures «humanisées». Après évolution, la plupart des lignées ont retrouvé leurs caractéristiques originelles grâce à l'apparition de mutations spécifiques en lien avec la réponse aux dommages de l'ADN.

Dans l'ensemble, mes travaux ont permis d'établir une nouvelle hypothèse expliquant l'origine des introgressions chez les espèces reproductivement isolées et de même ont permis de caractériser la diversité et l'instabilité des télomères à une échelle sans précédent, contribuant à l'élucidation des mécanismes moléculaires impliqués dans l'évolution des génomes..

Mots Clefs : Introgression, hybridation, levure, évolution, génome, télomères, sélection.

Abstract

Genomes are progressively modified during their evolution leading to gene content variation, recombination, mutation and genetic exchange among species/subpopulations. The advent of next-generation sequencing technologies and their cost reduction increased the number of genomes available for evolutionary studies, opening the way to understand the molecular mechanisms involved in genome evolution. In this work, I used the budding yeast *Saccharomyces cerevisiae* as model organism to investigate two important aspects of genome evolution: the origin of interspecies introgressions and telomere evolution.

An introgression is the flow of genetic material between populations and it results from ancient hybridization events followed by repeated backcrossings with one of the parental populations. In the first part of my PhD, I studied a lineage of *S. cerevisiae* strains isolated from the wastewater of olive oil production (Alpechin), carrying abundant introgressions from the sister species *S. paradoxus*, and a natural *S. cerevisiae/S. paradoxus* hybrid, with 50% genome contribution from each parent, carrying abundant regions of loss-of-heterozygosity (LOH). I derived an accurate genetic map of LOHs in the hybrid and compared their position to the introgressions in the Alpechin strains, to infer their evolutionary relations. I found that LOH and introgressions overlapped and shared the same *S. paradoxus* ancestry, indicating that LOHs are the direct origins of introgressions in the Alpechin lineage. I proposed a model for the origin of yeast introgressions in which LOH regions allow interspecies hybrids to overcome sterility, which constitutes the main barrier to introgressions' onset in reproductively isolated species, such as yeasts, and validated the reliability of my model using experimental and computational techniques. In the second part of my PhD, I studied the extent of telomere diversity in *S. cerevisiae* and the outcome of chronic telomeric stress on cellular fitness. In a first project, I estimated telomere length in over 900 strains isolated around the world and observed remarkable variation. Strains isolated in wild habitats had shorter telomeres than domesticated ones. I performed a genome-wide association study that revealed novel genetic variants possibly regulating telomere length. I also pinpointed private loss-of-function mutations in known telomere length maintenance genes that could explain the very long/short telomeres of certain lineages. Moreover, I used multiple phenotypic datasets available for this collection to look for non-genetic factors associated to telomere length variation, and discovered an association between mitochondrial metabolism and telomeres in wild strains.

In a second project, I performed experimental evolution of engineered yeasts synthesizing human telomeric DNA repeats at their chromosome-ends. I evolved telomere-humanized strains through mutation accumulation lines (MALs) to minimize selection, and I characterized the detrimental effects caused by telomeres' reshaping.

During MALs, humanized yeasts gradually slowed their growth, shortened chronological lifespan and had higher mutation rate and genome instability. Next, I submitted MALs to adaptive evolution by multiple serial transfers (STs) of large

population sizes, to map mutations that counteract their fitness decline. After multiple STs, most humanized lines recovered fitness thanks to the independent occurrence of mutations in the DNA-damage response pathway.

Overall, my work contributed to elucidate the molecular mechanisms driving genome evolution, by providing a plausible model for introgression evolution in reproductively isolated species and by giving an unprecedented overview of the impact of the variation of telomere DNA length and sequence on global organismal fitness.

Keywords: Introgression, hybridization, yeast, evolution, genome, telomeres, selection.

Serena DIAZZI

Centre Méditerranéen de Médecine Moléculaire (C3M) – INSERM U 1065– NICE &
UMR 7275 CNRS / UCA – IPMC

Mercredi 17 Mars 2021 à 14h30
C3M - NICE

Le cluster pro-fibrotique miR-143/145 favorise la plasticité phénotypique associée à la résistance des mélanomes aux thérapies ciblées

devant le jury composé de :

Dr. Ellen Van-Obberghen	Président du Jury
Pr. Victoria Sanz-Moreno	Rapportrice
Dr. Mehdi Khaled	Rapporteur
Pr. Jean-Christophe Marine	Examineur
Dr. Sophie Tartare-Deckert	Directrice de Thèse
Dr. Bernard Mari	Directeur de Thèse

Résumé

Le mélanome est le cancer de la peau le plus agressif de par sa grande plasticité phénotypique, son potentiel métastatique et sa résistance aux traitements. Malgré la percée des thérapies ciblant la voie oncogénique MAP kinase, la résistance du mélanome à ces traitements demeure un obstacle majeur qui limite le bénéfice pour les patients porteurs de la mutation BRAFV600E. Les cellules de mélanome peuvent transiter vers un état de type mésenchymateux dédifférencié en fonction des pressions du microenvironnement et des traitements. Cette plasticité cellulaire phénotypique adaptative a été décrite comme un facteur essentiel de résistance aux thérapies ciblées. Mon équipe de recherche travaille sur ce type de résistance non-génétique définie comme «*mésenchymateuse*», dans lequel les cellules tumorales présentent un comportement invasif et acquièrent des caractéristiques observées typiquement dans les fibroses telles que la capacité à accumuler et à remodeler la matrice extracellulaire et activer les voies de mécanotransduction. Dans ce contexte, mon projet a consisté à caractériser un cluster composé de deux «*FibromiRs*», microARN impliqués dans les mécanismes de fibrogènes et qui sont fortement exprimés dans les mélanomes résistants. Mes résultats obtenus à l'aide d'approches *in vitro* et *in vivo* démontrent

le rôle du locus miR-143/-145 dans la régulation de la résistance non-génétique en raison de sa capacité à remodeler la matrice et façonner une niche de protection et de tolérance pour la tumeur face aux inhibiteurs de la voie MAP kinase. MiR-143 et miR-145 contribuent également au passage d'un phénotype cellulaire différentiel prolifératif à un phénotype mésenchymal plus invasif et résistant. Au niveau moléculaire, j'ai identifié parmi les nombreuses cibles potentielles du cluster, la FSCN1 comme un gène clé cible de miR-143 et -145. Ces travaux ont permis de dévoiler le rôle du cluster miR143/-145 dans le comportement agressif des cellules de mélanome dédifférenciées résistantes et de proposer miR-143 et miR-145 comme nouvelles cibles thérapeutiques pour vaincre la résistance mésenchymateuse et mieux combattre la maladie métastatique réfractaire.

Mots Clefs : Mélanome, miRNAs, Thérapies ciblées, Résistance, Fibrose

Abstract

Because of its intrinsic plasticity, high metastatic propensity, and resistance to treatment, melanoma is one of the most aggressive forms of cancer and the deadliest skin malignancy. Due to the hyperactivation of the MAPK pathway typical of melanoma, targeted therapies counteracting this signaling cascade are clinically efficient in most patients harboring BRAFV600E metastatic melanoma. However, innate and acquired resistances still constitute major therapeutic challenges. Acquired resistance to MAPK-targeted therapies arises from de novo genetic lesions and non-genetic events such as transcriptional reprogramming and epigenetic changes. Upon MAPK inhibitors exposure, melanoma cells assume functionally different phenotypic states defined by master transcription factors differential activity and fixed by epigenetic events. Among them, the emergence of a poorly differentiated cell state is strongly associated with resistance acquisition and tumor recurrence. Our team has previously shown that melanoma cells switching to a dedifferentiated phenotype in response to MAPK-targeted therapies display features of cancer-associated fibroblasts (CAFs) like extracellular matrix (ECM) remodeling and markers observed in fibrotic diseases, allowing them to generate a drug tolerant microenvironment. This fibrotic state is characterized *in vitro* and *in vivo* by increased deposition and altered ECM organization associated with a mechanophenotype regulated by the two mechanotransducers YAP and MRTFA. However, post-transcriptional signaling networks that underpin this clinically aggressive mesenchymal-like phenotype are still unknown and effective therapeutic treatments to overcome MAPK-targeted therapy acquired resistance are still missing. Given the tumorigenic role of ECM in cancer progression and resistance, therapies aimed at "normalizing" the tumorigenic ECM may represent promising strategies to overcome non-genetic resistance to MAPK inhibitors. Based on the role of miRNAs in post-transcriptional regulation, I focused on the characterization of a pool of miRNAs, defined as "FibromiRs," which have been shown to participate in the onset and progression of fibrotic diseases. Their crucial role in the fibrogenic process and the possibility to therapeutically manipulate them make them promising druggable targets to prevent the onset of resistance to MAPK-targeted therapies in melanoma. Starting from a screening designed to compare the expression of "FibromiRs" in MAPK inhibitors resistant mesenchymal melanoma cells

compared to therapy-naive parental cells, we have identified the profibrotic miR-143/145 cluster as strongly overexpressed in mesenchymal resistant cells. We then explored the profibrotic function of miR-143/145 cluster in the mesenchymal-like resistant cell state and melanoma phenotypic plasticity. First, we analyzed the regulation of miR-143 and miR-145 in melanoma *in vitro* and *in vivo*, identifying a negative regulation of the MAPK pathway on its expression and the involvement of signaling pathways typical of the mesenchymal resistant state, such as TGF β and PDGF signaling, in the activation of their expression. Next, we investigated the function of the cluster in the context of adaptive and acquired resistance, showing its contribution in ECM reprogramming, activation of mechanotransduction pathways, and in driving the switch from a differentiated proliferative phenotype to a dedifferentiated invasive one with decreased sensitivity to MAPK inhibition. We characterized its mechanism of action, identifying among a large set of targets FSCN1 as a key target gene of both mature miR-143 and miR-145 in the acquisition of the mesenchymal invasive phenotype. Finally, we tested the cluster as a potential therapeutic target *in vitro* and *in vivo* through antisense oligonucleotide-mediated inhibition of its expression or pharmacological modulation combined with MAPK inhibitors administration. Overall, this work highlights the importance of a FibromiR cluster in the acquisition of a dedifferentiated phenotype resistant to MAPK-targeted therapies and proposes new therapeutic strategies based on the inhibition of FibromiRs to overcome such resistance mechanism.

Keywords : Melanoma, miRNAs, MAPK-targeted therapies, Resistance, Fibrosis

Julien MARCETTEAU

Institut de Biologie Valrose, CNRS UMR 7277 - INSERM U1091 - Faculté des Sciences – NICE &
Institut de Pharmacologie Moléculaire et Cellulaire - UMR 7275 CNRS / UCA – IPMC - Sophia Antipolis

Mercredi 21 Juillet 2021 à 15h00
en visioconférence

Le rôle de la petite protéine G Arf6 dans le développement de la *Drosophile*

devant le jury composé de :

Dr. Roland le BORGNE
Dr. Jean-Paul VINCENT
Prof. Sarah BRAY
Dr. Pascal THEROND
Dr. Frédéric LUTON

Présidente du Jury
Rapporteur
Rapporteuse
Directeur de Thèse
Directeur de Thèse

Résumé

Les voies de signalisation Wnt et Notch représentent deux des principales voies essentielles à la détermination des destins cellulaires au cours du développement de tous les métazoaires. De nombreux composants et mécanismes conservés de ces voies ont été décrits grâce aux travaux effectués sur l'aile de la *Drosophile*. Le motif précis de la marge de l'aile est établi à travers l'activité synergique et séquentielle de la signalisation Notch (N) et Wingless (Wg), et des défauts dans l'une ou l'autre de ces voies entraînent des phénotypes caractéristiques. Il a déjà été suggéré que la petite protéine G, Arf6, agit en amont dans la signalisation Wnt *in vitro*, mais la pertinence *in vivo* de ces résultats n'a pas encore été évaluée.

Cette thèse aborde le rôle physiologique de Arf6 dans la signalisation Wg en utilisant le modèle d'aile de la *Drosophile*. Je décris un phénotype dominant présent dans les marges de l'aile des mutants *Arf6*, et je montre que Arf6 agit de manière autonome dans la transduction de la voie de signalisation Wg, spécifiquement pour l'activation de la signalisation de haut niveau. Les ailes des mutants *Arf6* sont caractérisées par une perte des soies de la marge alaire dans toute la marge alaire, et une perte correspondante des cellules proneurales exprimant *senseless*, des deux côtés

de la marge alaire. À travers une série d'expériences d'épistasie, je démontre que le phénotype Arf6 est indépendant du complexe de destruction de la b-caténine, et que Arf6 est nécessaire en aval de la stabilisation d'Armadillo (Arm), au niveau de l'activité de l'enhanceosome. La capacité de Arm stabilisé et tronqué au niveau de son extrémité N-terminale, à induire l'expression de *sens* et la formation de soies ectopiques est supprimée de manière dominante dans les ailes des mutants *Arf6*, et Arm stabilisé n'est pas capable de sauver la perte de soies dans la marge de l'aile. J'ai généré une forme constitutivement activée de Pangolin (orthologue de TCF/LEF) et j'ai constaté qu'elle est capable de sauver le phénotype *Arf6*. J'ai découvert que Arf6 régule la signalisation Wg, au moins partiellement, via Pavarotti, une protéine de la famille des kinésines. J'ai identifié également un nouveau rôle putatif pour Arf6 dans la signalisation Notch, qui est largement indépendant de son rôle dans la signalisation Wg.

Mes résultats établissent un nouveau cadre pour la régulation de la transduction du signal Wg par Arf6 et fournissent un aperçu des processus de médiation de la signalisation de haut niveau au cours du développement.

Mots Clefs : *Drosophila*, signalisation, Wnt, Wingless, Arf6, Armadillo, Pangolin, Notch, b-catenin.

Abstract

The Wnt and Notch signalling pathways represent two of the core pathways critical to the determination of cell fates during the development of all metazoa. Many conserved components and mechanisms of these pathways have been described through work carried out using the *Drosophila* wing model. The precise patterning of the wing margin is achieved through the concerted and sequential activity of the Notch (N) and Wingless (Wg) signalling, and defects in either pathway leads to characteristic phenotypes. The small GTP binding protein Arf6 has previously been suggested to act in upstream steps in Wnt signalling through in vitro studies, but the developmental, in vivo relevance of these findings has not been assessed.

This thesis addresses the physiological role of Arf6 in Wingless signalling using the *Drosophila* wing model. I describe a dominant phenotype present in the wing margins of Arf6 mutants, and show that Arf6 acts cell autonomously in the transduction of the Wg signalling pathway, specifically for the activation of high-level signalling. Arf6 mutant wings are characterised by a loss of wing margin bristles throughout the wing margin, and a corresponding loss of the Senseless-positive proneural clusters that flank the prospective wing margin. Through a series of epistasis experiments, I demonstrate that the Arf6 phenotype is independent of the b-catenin destruction complex, and that Arf6 is required downstream of Armadillo (Arm) stabilisation, at the level of enhanceosome activity. The ability of N-terminally truncated, stabilised Arm to induce *sens* expression and ectopic bristles is dominantly suppressed in Arf6 mutant wings, and it is unable to rescue the loss of bristles

in the wing margin. I generated a constitutively activated form of the Pangolin (TCF/LEF orthologue) and find that it is able to rescue the Arf6 phenotype. I find that Arf6 likely regulates downstream processes in Wg signalling, at least in part, through the kinesin-like protein Pavarotti. I also identify a novel, putative role for Arf6 in Notch signalling that is broadly independent of its role in Wg signalling.

My findings establish new framework for the regulation of Wg signal transduction by Arf6 and provide an insight into the processes mediating high level Wg signalling during developmental patterning.

Keywords: *Drosophila*, signalling, Wnt, Wingless, Arf6, Armadillo, Pangolin, Notch, b-catenin

Kavya Vinayan PUSHPALATHA

Institut de Biologie Valrose, CNRS UMR 7277 - INSERM U1091
Faculté des Sciences – NICE

Lundi 22 Mars 2021 à 14h00

(visioconférence)

Remodelage des condensats RNP neuronaux au cours du vieillissement

Age-dependent remodelling of RNP condensates in *Drosophila* neurons

devant le jury composé de :

Dr. Dominique WEIL	Président
Dr. Anne EPHRUSSI	Rapportrice
Dr. Dominique WEIL	Rapportrice
Dr. Simon ALBERTI	Examineur
Dr. Arnaud HUBSTENBERGER	Examineur
Florence BESSE	Directrice de Thèse

Résumé

Dans la cellule, les molécules d'ARN s'assemblent avec des protéines de liaison aux ARNs pour former des assemblages macromoléculaires très dynamiques appelés granules ribonucléoprotéiques (RNP). Ces assemblages régulent l'expression génique en contrôlant le transport, la stabilité et/ou la traduction des ARNs associés. Des travaux réalisés *in vitro* ont montré que la formation et la composition des granules RNP reposent sur l'établissement de réseaux denses d'interactions établis entre protéines et ARN, ainsi que sur leur stoechiométrie. Comment les propriétés des granules RNP sont régulées en contexte physiologique, et en particulier lors du vieillissement, est cependant actuellement peu connu. Mon projet de thèse visait à répondre à cette question par une étude *in vivo* des granules RNP présents dans les cellules neuronales du cerveau de *Drosophila*.

A cette fin, j'ai analysé dans des cerveaux d'âge croissant des granules RNP caractérisés par la présence de la protéine de liaison aux ARNs Imp/ZBP1 et de la DEAD-box hélicase Me31B/DDX6. Mes travaux ont révélé une augmentation progressive de la condensation de Imp et Me31B en larges granules au cours du vieillissement. Ces granules sont dynamiques et ne co-localisent pas avec des marqueurs d'agrégation, suggérant qu'ils ne correspondent pas à des agrégats protéiques statiques. Remarquablement, la condensation de Imp et Me31B est associée à la perte des granules Me31B+ Imp- observées dans les cerveaux jeunes, et à la coalescence de Me31B et Imp pour former des granules uniques Me31B+ Imp+. De plus, ce processus est accompagné d'une inhibition spécifique de la traduction des ARNms associés aux granules, parmi lesquels profilin. Par une analyse fonctionnelle, j'ai mis en évidence qu'une modification de la concentration en Me31B est responsable de la condensation de Me31B dans les cerveaux âgés. Alors qu'une augmentation de la quantité de Me31B est observée au cours du vieillissement, enlever une copie de me31B supprime la condensation age-dépendante de ce composant. Etant donné que la condensation de Imp n'est que partiellement affectée dans ce contexte, j'ai réalisé un crible génétique afin d'identifier des régulateurs de ce processus. Ceci m'a permis de montrer que l'activité de la kinase PKA est essentielle d'une part à la condensation de Imp chez les drosophiles âgées, et d'autre part à la répression traductionnelle des ARNms associés aux granules.

En conclusion, mon travail a montré pour la première fois que les propriétés des granules RNP neuronaux sont modifiées au cours du vieillissement, un phénomène qui ne reflète pas une altération générale de l'homéostasie des ARNs, mais plutôt une modulation spécifique de la concentration en composants RNP combinée à l'activité de kinase conservée. Ces résultats démontrent comment les systèmes biologiques peuvent moduler des paramètres clés initialement identifiés dans des contextes *in vitro*, et ouvrent de nouvelles perspectives dans le domaine de la régulation de l'expression génique au cours du vieillissement.

Mots-clés: granules RNP, vieillissement, neurones, drosophile, ARN, traduction

Abstract

Nascent mRNAs complex with RNA binding proteins (RBPs) to form highly dynamic, phase-separated organelles termed ribonucleoprotein (RNP) granules. These macromolecular assemblies can regulate gene expression by controlling the transport, decay and/or translation of associated RNA molecules. As mostly shown *in vitro*, RNP granule assembly and function rely on the interaction networks established by individual components and on their stoichiometry. To date, how the properties of constitutive RNP granules are regulated in different physiological context is unclear. In particular, the impact of physiological aging is unclear. My PhD project aimed at addressing this question by analyzing *in vivo* in long-lived neuronal cells the properties of RNP granules.

To this end, I have analysed in flies of increasing age RNP granules characterized by the presence of the conserved RBP Imp/ZBP1 and DEAD-box RNA helicase Me31B/DDX6. Strikingly, a progressive increase in the condensation of Imp and Me31B into granules was observed upon aging. The large granules observed in aged flies were dynamic, contained profilin mRNA, and did not colocalize with

Ubiquitin or aggregation markers, suggesting that they do not correspond to static protein aggregates. Increased condensation also associated with the loss of Me31B⁺ Imp⁻ granules observed in young brains and the collapse of RNP component into a unique class of Me31B⁺ Imp⁺ granule. Furthermore, it was accompanied by a specific inhibition of the translation of granule-associated mRNAs, among which the Imp RNA target profilin. Through functional analysis, I uncovered that changes in Me31B stoichiometry trigger Me31B condensation in aged flies. While an increase in Me31B protein levels was observed upon aging, decreasing the dosage of Me31B suppressed its age-dependent condensation. As Imp condensation was only partially suppressed in this context, I performed a selective screen to identify regulators of this process. This revealed that downregulating PKA activity by different genetic means both drastically reduced Imp recruitment and prevented the age-dependent translational repression of granule-associated mRNAs.

Taken together, my work thus showed for the first time in vivo that the properties of neuronal RNP granules change upon aging, a phenomenon that does not reflect general alterations in RNA homeostasis but rather specific modulation of RNP component stoichiometry and kinase activity. These results demonstrate how biological systems can modulate key parameters initially defined based on in vitro framework, and also open new perspectives in the field of age-dependent regulation of gene expression.

Keywords: RNP granule, aging, neurons, Drosophila, RNA, translation