

Rapport d'activité (décembre 2020 – décembre 2025)

Hervé Seitz

Table des matières

1	<i>Curriculum vitæ</i>	3
1.1	Informations générales	3
1.2	Études et expérience post-doctorale	3
1.3	Enseignement depuis 2020	3
1.4	Activités d'expertise depuis 2020	4
1.5	Publications dans des revues à comité de lecture	4
1.6	Principales communications orales depuis 2020	4
1.7	Vulgarisation depuis 2020	5
1.8	Prix et distinctions depuis 2020	5
2	Résumé de mon activité	6
3	Rapport d'activité	7
3.1	Activité de recherche	7
3.1.1	miR-34a n'est pas un suppresseur de tumeur général	7
3.1.2	Optimisation de siARN contre le virus SARS-CoV-2	7
3.1.3	Édition d'un gène de miARN <i>in vivo</i> chez la Drosophile	8
3.1.4	Recherche d'inducteurs de la dégradation des microARN	9
3.1.5	Utilisation de l'histoire évolutive des miARN pour identifier les faux positifs dans les prédictions de cibles	11
3.1.6	Projets collaboratifs, dont je ne suis pas auteur correspondant	14
3.2	Participation à des collaborations	15
3.3	Participation à des contrats de recherche	15
3.4	Place de ma recherche dans mon unité	16
3.5	Mobilité	16
3.6	Distinction scientifique	16
3.7	Sélection de publications scientifiques	16
4	Enseignement, formation et diffusion de la culture scientifique	17
4.1	Thèses dirigées	17
4.2	Post-doctorants encadrés	17
4.3	Enseignement	18
4.4	Participation à l'organisation de conférences	18
4.5	Participation à la diffusion de l'information scientifique et technique vers des publics non spécialistes	18

5	Transfert technologique, relations industrielles et valorisation	19
5.1	Activités de consultance	19
5.2	Brevet	19
5.3	Thèse CIFRE	19
6	Encadrement, animation et management de la recherche	20
6.1	Direction d'équipe	20
7	Références	22

1 *Curriculum vitæ*

1.1 Informations générales

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

Site web de l'équipe : <https://www.igh.cnrs.fr/en/research/departments/genetics-development/systemic-impact-of-small-regulatory-rnas>

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

Profil ResearchGate : https://www.researchgate.net/profile/Herve_Seitz2

Identifiant ORCID : 0000-0001-8172-5393.

1.2 Études et expérience post-doctorale

- 1997 : admis aux trois Écoles normales supérieures, dont l'É.N.S. de la rue d'Ulm avec le rang : 2.
- 1997–2000 : Magistère de chimie, option chimie-biologie, de l'É.N.S. (1997–1999 : licence puis maîtrise de chimie; 1999–2000 : D.E.A. « génétique moléculaire et cellulaire » des universités Paris VI, Paris XI et UVSQ).
- 2001–2004 : thèse (financement « allocation couplée »); titre : « Empreinte génomique parentale et petits ARN non-codants » (université Toulouse III Paul Sabatier) (directeur de thèse : Jérôme Cavallé; soutenance le 25 octobre 2004). Manuscrit disponible sur : <http://www.normalesup.org/~seitz/These.pdf>
- Janvier 2005–janvier 2009 : stage post-doctoral à University of Massachusetts Medical School (Worcester, Massachusetts, États-Unis); directeur des travaux : Phillip D. Zamore.
- 2008 : classé 1^{er} au concours de chargé de recherche de deuxième classe de la section 21 du CNRS; poste pris en janvier 2009.
- 3 novembre 2009 : Habilitation à diriger les recherches. Manuscrit disponible sur : <http://www.normalesup.org/~seitz/HDR.pdf>
- 2010 : lauréat du Career Development Award (CDA n°00017-2010-C) de Human Frontier Science Program.
- 2010 : classé 1^{er} pour le recrutement d'un jeune chef d'équipe à l'IGH (UPR 1142 du CNRS; Montpellier); installation à l'IGH en octobre 2011.
- 2011 : lauréat du programme ATIP-Avenir (contrat initié en mars 2012).
- 2013 : promu chargé de recherche de 1^{ère} classe.
- 2017 : promu « chef d'équipe senior », permanent, à l'IGH, après évaluation par un jury international.
- 2019 : classé 2^{ème} au concours de directeur de recherche de deuxième classe de la section 21 du CNRS.
- 2025 : directeur scientifique de la plateforme de génomique MGX (séquençage à haut débit, analyses bio-informatiques, ...).

1.3 Enseignement depuis 2020

Cours magistraux sur les petits ARN régulateurs eucaryotiques (d'une à trois interventions par an, depuis 2007, dans des universités françaises ou étrangères, et pour les écoles normales supérieures Ulm ou Lyon).

Formateur pour le compte de la formation professionnelle du CNRS : chaque année depuis 2022, cours magistral de 7 h « Les statistiques en sciences expérimentales »; travaux dirigés : séance de 14 h « Logiciel **R** – niveau débutant » et séance de 7 h « Logiciel **R** – apprentissage de la programmation ».

Je pense que la pratique de notre métier devrait être coopérative; c'est pourquoi je partage systématiquement les programmes que j'écris avec les collaborateurs qui ont sollicité mon aide, et je leur apprend à s'en servir. Je propose des formations formelles ou informelles en bio-informatique et statistiques, des méthodes très utiles pour les biologistes expérimentalistes. Je mets ces formations en accès libre pour qu'elles servent au plus grand nombre : la partie théorique du cours de statistiques a été publiée dans les numéros de juillet et d'octobre 2010 de *Regard sur la Biochimie*, et les diaporamas de toutes ces formations sont accessibles sur <http://www.igh.cnrs.fr/equip/Seitz/equipe-tutoriels.html>.

Membre du jury de 29 thèses scientifiques (23 fois en tant que rapporteur), pour des étudiants d'institutions françaises et étrangères (*Cold Spring Harbor Laboratory, Guangzhou university, Caltech, university of Queensland, ...*), de 5 HDR (chaque fois en tant que rapporteur), et d'une thèse d'exercice en pharmacie.

1.4 Activités d'expertise depuis 2020

Directeur scientifique de la plateforme de génomique MGX (activités : séquençage à haut débit, analyses bio-informatiques, génotypage et transcriptomique par des méthodes à moyen et haut débit, ...) depuis le 01/01/2025.

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

Porteur de l'école thématique du CNRS *InteRNAt* consacrée aux petits ARN régulateurs (microARN, siARN, piARN) : 4 éditions organisées pour le moment (en 2019, 2021, 2023 et 2025), j'ai déposé une lettre d'intention pour proposer une 5^{ème} édition en 2027 (réponse attendue d'ici la fin 2026).

Activité de consulting pour Medesis Pharma S.A. (compagnie spécialisée dans le développement de vecteurs pour l'adressage *in vivo* de composés actifs; je les ai aidés à choisir des siRNA contre des gènes d'intérêt pour répression *in vivo* chez la Souris) en 2022–2023.

1.5 Publications dans des revues à comité de lecture

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

Liste actuelle de publications, sur Pubmed : [lien].

1.6 Principales communications orales depuis 2020

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

- 7 mai 2025 à l'*International symposium on human genomics* à Paris (**conférencier invité**).
- 18 octobre 2024 à l'*EMBO Symposium "The complex life of RNA"* à Heidelberg.
- 14 juin 2023 au congrès du GDR RNA à Montpellier (**conférencier invité**).
- 13 juin 2023 au congrès RNAOcc à Montpellier (**conférencier invité**).
- 9 mars 2023 au *Minisymposium on small regulatory RNAs* à Montpellier.
- 8 décembre 2022 pour le *Cambridge RNA club* (e-séminaire).
- 8 novembre 2021 pour le *Small RNA bioinformatics club* (e-séminaire).

1.7 Vulgarisation depuis 2020

Interventions dans les médias : journal *Midi Libre* (1 intervention en 2020, 1 intervention en 2021), télévision (1 intervention sur TF1 en 2020, 3 interventions sur LCI en 2020, 1 intervention sur France 3 en 202), radio (1 intervention sur France bleu Hérault en 2024).

Conférences publiques : Le grand public est très intéressé par la génétique moléculaire. Alors que la génération du *baby-boom* n'a pas entendu parler d'ADN ou de chromosomes au lycée, les électeurs sont amenés à se prononcer sur les OGM, le clonage, à faire des dons pour la thérapie génique, ... Le public est demandeur d'informations sur ce qui se fait dans les laboratoires, et il est de notre devoir (en tant que chercheurs publics) de partager avec les citoyens le résultat des travaux menés en leur nom. J'essaie donc de contribuer à la diffusion de l'information scientifique vers le grand public. Je donne régulièrement des conférences (12 conférences grand public de 2020 à 2025) (« L'ARN, couteau suisse de la cellule », « Sur la notion de race. Le point de vue du biologiste. », « Les implications sociétales de la génétique », ...) pour le public de la Fête de la science, devant des groupes de scolaires, pour l'Université du Tiers-Temps à Montpellier (conférences pour le grand public, essentiellement retraité), et pour différentes associations. Les diaporamas de ces présentations sont accessibles sur le site web de mon équipe, et j'ai distribué le lien aux auditeurs pendant la présentation.

Vidéos publiques : Au début de la pandémie de Covid-19, quand le grand public a manifesté un intérêt nouveau pour la biologie moléculaire, quelques chercheurs et quelques médecins à la moralité douteuse ont profité de cet engouement populaire pour diffuser de fausses rumeurs, pseudo-scientifiques, concernant l'efficacité supposée d'un traitement à base d'hydroxychloroquine, les mécanismes et la dynamique d'évolution des génomes viraux, l'efficacité et la sûreté des vaccins à ARNm, ... Dans l'affolement du mois de mars 2020, où l'humanité semblait brutalement submergée par le nouveau virus, la première de ces rumeurs (concernant l'hydroxychloroquine) a suscité des réactions irrationnelles, parfois violentes, de la part d'une partie de la population, et il m'a semblé nécessaire de démentir publiquement les mensonges dont ces collègues se rendaient coupables. J'ai donc pris parti publiquement dès le début de la polémique, par une vidéo sur YouTube le 26 mars 2020. Il s'agissait de la première prise de parole publique d'un scientifique pour dénoncer ces mensonges, et de nombreux médias m'ont ensuite sollicité pour des interventions publiques (chaînes télé *TF1*, *LCI*, *France 3*, journaux *Midi Libre*, *Marianne*, radio *France Bleu*). Par la suite, j'ai publié plusieurs autres vidéos sur ma chaîne YouTube pour traiter des autres rumeurs pseudo-scientifiques qui ont accompagné l'épidémie (playlist « Covid-éos » ; en date du 10/03/2026 : 179 530 vues partagées entre ces 15 vidéos). J'ai laissé ouverts les commentaires de toutes ces vidéos, de manière à ce que les internautes puissent réagir, demander des précisions, soulever des objections, ..., ce qui a souvent donné lieu à des discussions détaillées qui me permettaient de donner davantage d'informations.

1.8 Prix et distinctions depuis 2020

Prime RIPEC du CNRS (novembre 2023).

2 Résumé de mon activité

Je travaille sur la fonctionnalité biologique de la régulation des gènes par les petits ARN (essentiellement les microARN, « miARN »), par une approche combinant à parts égales la biologie expérimentale et la bio-informatique.

Les méthodes de biologie moléculaire à haut débit permettent, depuis une vingtaine d'années, d'identifier les gènes régulés par les miARN, et elles montrent systématiquement que chaque miARN réprime de nombreux gènes, mais l'ampleur de la répression est très modeste (de l'ordre de 10 à 20%, pratiquement jamais au-delà de 50%). L'activité biologique de la plupart des gènes est robuste à de si petits changements de niveau d'expression (notamment, la plupart des gènes chez les Métazoaires sont haplo-suffisants), ce qui questionne la fonction biologique réelle de toutes ces interactions.

Cette difficulté est habituellement levée par les analyses de génomique comparative : une grande proportion des sites d'interaction des miARN sur leurs cibles est conservée dans l'évolution, ce qui semble indiquer que ces interactions sont, malgré tout, fonctionnellement importantes.

Mon travail questionne ces conclusions. Nos résultats montrent que, dans les cas analysés, la répression guidée par les miARN est plus faible que les fluctuations inter-individuelles d'expression des gènes entre individus de phénotype sauvage ; que les annotations fonctionnelles des miARN (déduites de la nature des cibles ainsi identifiées) étaient essentiellement erronées ; et que la conservation phylogénétique, loin de confirmer l'importance fonctionnelle de ces interactions, est elle-même fréquemment trompeuse (de nombreux sites de complémentarité aux miARN sont certes conservés dans l'évolution, mais pour des raisons indépendantes du miARN). J'ai proposé de généraliser ces concepts aux facteurs de transcription et protéines de fixation de l'ARN, pour lesquels, également, les données suggèrent que l'identification des cibles régulatrices, par biologie moléculaire et analyses bio-informatiques, est lourdement contaminée par des interactions qui, certes réelles à l'échelle moléculaire, sont sans conséquence à l'échelle de l'organisme.

J'attache une très grande importance à la diffusion des connaissances scientifiques. Je donne fréquemment des conférences de vulgarisation, j'interviens dans les médias, et je publie des vidéos de vulgarisation sur YouTube. Nous partageons tous nos manuscrits sur des plateformes ouvertes, tous les scripts et jeux de données de nos publications sur GitHub et le site web de l'équipe, si bien que toutes nos analyses publiées sont intégralement reproductibles, à l'octet près, par tout le monde.

Enfin, j'ai pris, au 1^{er} janvier 2025, la direction scientifique de la plateforme de génomique de Montpellier, MGX. Cette plateforme regroupe quatre plateaux offrant des services de séquençage à haut débit, de génotypage à moyen débit, de puces à ADN, de PCR quantitative, d'analyses bio-informatiques, ... Membre du premier cercle de l'INBS France Génomique, notre plateforme possède des équipements de pointe (Illumina NovaSeq X+, Chromium X, Cytassist, ...), et emploie une vingtaine de personnes.

3 Rapport d'activité

3.1 Activité de recherche

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

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

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

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

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

Notre travail a donc permis de réconcilier les données issues des analyses *in vivo* avec les résultats de biologie moléculaire et de génétique des tumeurs, qui semblaient les contredire. Nous avons ensuite été invités à rédiger un article de revue pour discuter des raisons par lesquelles ces artefacts avaient abouti à la mise en place d'un essai clinique aux résultats désastreux [Mockly et Seitz, 2023].

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

3.1.2 Optimisation de siARN contre le virus SARS-CoV-2

Le contenu de cette section a été publié [Houbron et al., 2023] : le lecteur est renvoyé à cet article pour les détails, et nous ne donnerons ici qu'un résumé synthétique. Nous avons également publié un résumé en vidéo et en langue française, accessible ici.

La pandémie de Covid-19 s'est distinguée par l'ampleur de ses conséquences sur les activités humaines, mais également, par la rapidité avec laquelle de nombreux variants du virus SARS-CoV-2 ont été séquencés et leurs séquences mises à disposition de la communauté scientifique. Dès les premières semaines d'épidémie, il était possible d'identifier des régions très variables et des régions très constantes dans le génome viral.

Mon expertise principale tient à l'identification des cibles de miARN. Mais les siARN synthétiques, dirigés contre des gènes-cibles d'intérêt, sont chargés sur les mêmes protéines effectrices (les protéines

de la famille Argonaute), et partagent donc les mêmes règles biochimiques de reconnaissance de leurs cibles. Nous avons donc pu optimiser bio-informatiquement des séquences de siARN dirigées contre les séquences les plus constantes du génome du SARS-CoV-2, qui maximisaient leur efficacité prédite sur les ARN viraux, tout en minimisant les risques de ciblage non-désiré sur les gènes humains. Cibler les régions les plus constantes parmi les variants viraux observés permettait de garantir leur efficacité contre les variants passés — mais comme la conservation de ces séquences au cours de plusieurs mois d'épidémie indiquait l'existence de contraintes, liées à la biologie de ce virus, il était également prévisible que ces séquences mutent peu *dans le futur*.

Nous avons donc proposé 8 séquences de siARN, et vérifié expérimentalement leur activité répressive contre le virus dans des cellules en culture. Nous avons observé une efficacité puissante de 6 de ces 8 siARN, même à de faibles doses transfectées.

La méthode que nous avons employée est facilement généralisable à d'autres virus (il suffit de disposer d'une base de données de séquences de variants). Avec l'amélioration des techniques d'adressage *in vivo* des siARN, le RNAi pourrait devenir une approche thérapeutique efficace et très adaptable contre de futures pandémies virales.

3.1.3 Édition d'un gène de miARN *in vivo* chez la Drosophile

Le contenu de cette section a été publié [Busseau et al., 2024] : le lecteur est renvoyé à cet article pour les détails, et nous ne donnerons ici qu'un résumé synthétique. Nous avons également publié un résumé en vidéo et en langue française, accessible ici.

Dans l'objectif d'évaluer la fonctionnalité biologique d'interactions individuelles entre miARN et cibles, nous avons entrepris de muter le miARN *bantam* chez *Drosophila melanogaster*. Ce miARN contrôle des phénotypes très visibles (la croissance et la viabilité des larves et des pupes ; les homozygotes mutants meurent tous avant d'éclore des pupes ; [Hipfner *et al.*, 2002, Brennecke *et al.*, 2003]). Nous allons muter, par édition du génome, les sites de fixation de *bantam* sur une cible à la fois, en commençant par le gène *hid* : parmi 143 cibles prédites, ce gène est le seul à présenter plusieurs sites de fixation au miARN (il en possède 5 ; un autre gène, *tutl*, semble en posséder 3, mais il s'agit visiblement d'une erreur d'annotation de la 3' UTR), et une abondante littérature le présente comme un contributeur au phénotype du mutant du miARN.

La mutation des sites de fixation d'un miARN sur une cible est perçue comme le meilleur moyen de s'assurer de la fonctionnalité de ces sites [Bartel, 2018]. Mais même cette expérience est limitée dans son interprétabilité par la possibilité que le site soit en réalité reconnu par d'autres régulateurs (par exemple, des protéines d'interaction à l'ARN), qui expliqueraient sa conservation phylogénétique, et qui pourraient être responsables des éventuels phénotypes observés après mutation du site. La diversité des miARN et des protéines d'interaction à l'ARN, ainsi que la courte taille de leurs sites de reconnaissance, rendra ces coïncidences fréquentes [Seitz, 2024]. Afin d'éliminer également cette possibilité, nous avons donc amélioré la procédure expérimentale : nous n'allons pas simplement déléter les sites de fixation du miARN *bantam* dans ses cibles, nous allons les muter en une autre séquence (reconnue par aucun miARN de Drosophile connu), ce qui nous ouvrira la possibilité de réaliser une expérience contrôle dans laquelle la séquence du miARN lui-même est également mutée, de manière compensatoire (voir Figure 1A). Nous pourrons ainsi nous assurer, dans le double mutant, que les éventuels phénotypes observés après mutation du site de fixation du miARN, sont bien sauvés après co-mutation du miARN de manière compensatoire — s'ils ne le sont pas, alors ces phénotypes étaient dus à d'autres interacteurs que le miARN.

Une telle expérience a déjà été tentée une fois dans le passé, pour le miARN *let-7* et sa cible *lin-41* chez le Nématode [Ecsedi *et al.*, 2015]. Mais les résultats quantitatifs de l'analyse du double mutant étaient difficilement interprétables en raison de l'impact de la mutation du miARN sur son niveau d'expression : le phénotype du mutant du site de fixation n'était que partiellement sauvé quand le miARN était muté de manière compensatoire, mais ce miARN muté s'exprimait très mal.

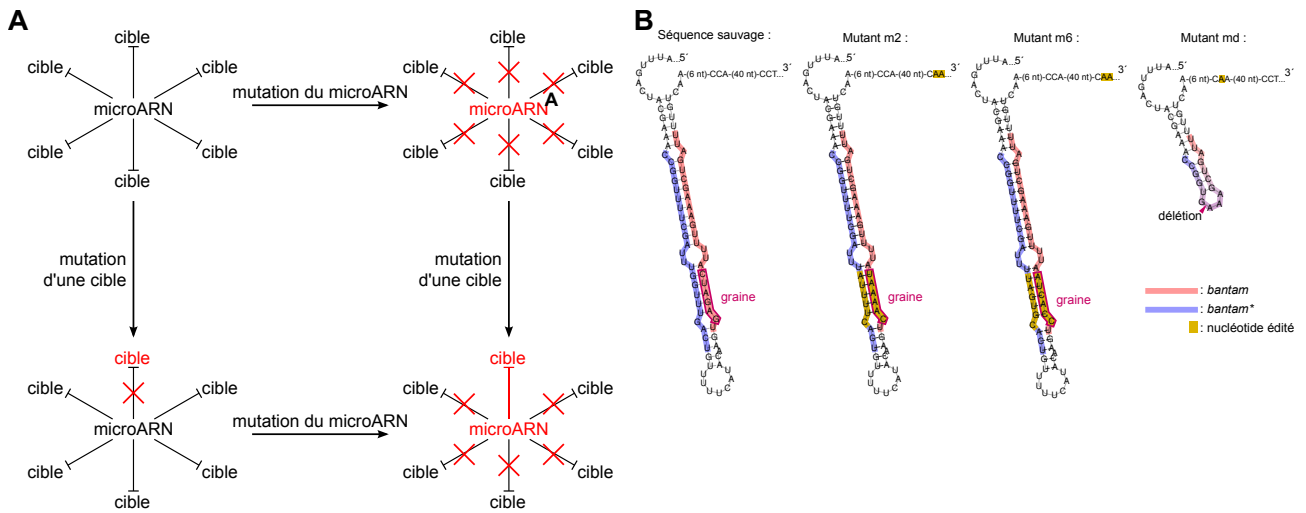


FIGURE 1 – Stratégie d’interrogation *in vivo* de la fonctionnalité des sites de reconnaissance du miARN *bantam*. **A.** La mutation du miARN abolit son interaction avec chacune des cibles (en haut à droite), révélant le phénotype global contrôlé par le miARN. La mutation des sites portés par une cible à la fois (en bas à gauche) révèle la contribution de cette cible au phénotype global. La mutation simultanée de la cible et du miARN, de manière compensatoire (en bas à droite), vérifiera que le phénotype observé après mutation du site de fixation du miARN était bien dû à la perte d’interaction avec le miARN, plutôt qu’avec un autre facteur. **B.** Séquences du précurseur pre-*bantam* sauvage et de quelques mutants que nous avons préparés. Outre la séquence-graine, nos mutations ont également modifié le brin 5’ de la tige-boucle pour en préserver la structure secondaire, ainsi qu’une séquence PAM en aval, pour des raisons techniques. Le mutant « md » est un contrôle négatif, qui délète la tige-boucle au lieu de simplement muter sa séquence-graine.

Il est possible que le sauvetage phénotypique n’ait été que partiel parce que le miARN muté n’était juste pas assez abondant.

Afin de nous prémunir contre ces difficultés, nous accordons un grand soin à ce que le niveau d’expression du miARN mutant soit aussi proche que possible du niveau d’expression du miARN *bantam* sauvage. Et effectivement, notre première mutation de *bantam* (qui remplaçait sa séquence-graine GAGAUC par la séquence CAAAAU, tout en préservant la structure en tige-boucle du précurseur du miARN en mutant également la séquence de l’autre brin de la tige ; voir Figure 1B) affectait également son niveau d’expression.

Afin de trouver une mutation de la séquence-graine qui n’affecterait pas le niveau d’expression du miARN, nous avons donc mis au point un système de rapporteur de l’activité de Drosha (la nucléase responsable de la première étape de clivage du précurseur des miARN) sur des constructions candidates en culture cellulaire. Cette expérience nous a permis d’identifier une mutation de la séquence-graine (mutation « m6 » sur la Figure 1B) qui produit le même niveau de miARN mature que la séquence sauvage. Ce mutant nous permettra donc de réaliser des expériences de mutation compensatoire du miARN et d’une cible à la fois, tout en garantissant leur interprétabilité.

3.1.4 Recherche d’inducteurs de la dégradation des microARN

Alors que le contrôle de la biogenèse des miARN (transcription et maturation) fait l’objet d’études dédiées depuis une vingtaine d’années [O’Donnell *et al.*, 2005, Viswanathan *et al.*, 2008], la régulation de leur stabilité a longtemps été ignorée. Pourtant, des observations suggéraient que certains miARN étaient soumis à une dégradation active, au moins dans les neurones optiques [Krol *et al.*, 2010]. Très récemment, des mesures à haut débit, dans diverses lignées cellulaires, ont confirmé que les demi-vies des miARN étaient très variables (de quelques heures à quelques jours ; [Reichholf *et al.*, 2019,

Kingston et Bartel, 2019]), suggérant à nouveau une dégradation régulée.

Mais c'est par sérendipité que les premiers régulateurs de stabilité des miARN ont été découverts : dans chaque exemple connu, il s'agit d'ARN reconnus par le miARN (comme le seraient des ARN-cibles habituellement), et qui induisent la dégradation exonucléolytique du miARN, de 3' vers 5' ; bien souvent, des isoformes allongées (qui présentent des additions de nucléotides en 3', principalement des uridines, plus rarements des adénosines) sont également observées : il y a une controverse pour savoir si ces additions de nucléotides constituent un signal qui dirige le miARN vers la voie de dégradation, ou s'il s'agit de produits secondaires [Ameres *et al.*, 2010, Cazalla *et al.*, 2010, Marcinowski *et al.*, 2012, de la Mata *et al.*, 2015, Bitetti *et al.*, 2018, Kleaveland *et al.*, 2018].

Ce processus a été baptisé TDMD (*Target RNA-directed microRNA degradation*). Avec l'accumulation d'exemples d'ARN inducteurs de TDMD, *in vivo* et *ex vivo*, commencent à émerger des motifs communs : les appariements ARN long/miARN qui déclenchent le TDMD tendent à impliquer un long appariement ininterrompu sur l'extrémité 3' du miARN (une telle géométrie est très rare dans les interactions miARN/cibles habituelles) [Fuchs Wightman *et al.*, 2018].

Nous avons utilisé ces critères dans une analyse bio-informatique (présentée dans mon dernier rapport d'activité à vague, pour la période 2015–2019) pour rechercher de nouveaux inducteurs de TDMD. Cette recherche avait identifié un candidat très particulier, le gène *Nnat*, qui présente avec le miARN miR-708 une complémentarité exceptionnelle (avec juste un mésappariement sur toute la longueur du miARN ; voir Figure 2A).

Notre intention initiale était d'évaluer l'éventuelle activité d'induction de TDMD de *Nnat* sur miR-708 dans des neurones primaires (des neurones corticaux de Souris), en réprimant expérimentalement l'expression de *Nnat* puis en mesurant l'abondance de miR-708. Les neurones primaires sont notoirement difficiles à transfecter, et après plusieurs mois d'essais nous sommes arrivés à la conclusion que des oligo antisens « *gapmers* » (oligos ADN dont certaines positions portent la modification LNA), transfectés par le réactif de transfection « Lipofectamine 2000 », étaient les plus efficaces (nous n'avons, en revanche, pas pu réprimer fiablement *Nnat* par des shRNA, par interférence transcriptionnelle avec dCas9, ni par répression transcriptionnelle avec dCas9-KRAB). Mais nous n'avons pas pu poursuivre les analyses sur les neurones primaires : il est impossible de maintenir en culture des neurones purifiés (ils ont besoin d'être co-cultivés avec des cellules gliales pour survivre), et notre plan initial (cultiver neurones et cellules gliales dans deux compartiments séparables mécaniquement, mais en contact via le milieu de culture) s'est avérée impraticable (la culture de neurones était inévitablement contaminée en grande proportion par des cellules gliales). Comme d'autre part les cellules gliales semblent exprimer *Nnat* à un niveau non-négligeable¹, nous avons perdu le moyen d'évaluer l'effet de la répression de *Nnat* sur la stabilité du miARN dans les neurones.

En revanche, les lignées cellulaires de neuroblastome (plus simplement manipulables, et ne nécessitant pas de sacrifice de souris) ne poseraient pas de problème de pureté. Nous avons donc décidé d'utiliser un tel système cellulaire, plus éloigné de la situation physiologique, mais plus utilisable en pratique. Parmi les lignées disponibles, la lignée « Neuro2A » exprime à la fois *Nnat* et miR-708, ainsi que les contrôles positifs, *Cyrano* et miR-7a et miR-7b. Notre protocole de répression de *Nnat* fonctionne efficacement dans ce nouveau modèle expérimental (voir Figure 2B), mais la répression de ce gène tue les cellules en moins d'une semaine, ce qui limite notre capacité à observer un éventuel effet sur la stabilité du miARN. D'autre part, au cours de nos expériences, nous nous sommes aperçus fortuitement que le gène *Nnat* semble avoir été remanié dans cette lignée cellulaire (soit par l'insertion d'un fragment de grande taille, peut-être un élément transposable, soit par une translocation qui aurait physiquement dissocié les premiers exons des derniers). Nous sommes actuellement en recherche d'une lignée de neuroblastome où le gène *Nnat* est intact (voir rubrique ??).

1. Nous l'avons établi en comparant le niveau d'expression de *Nnat* dans différentes cultures, traitées à des doses croissantes d'ara-C, qui inhibe la prolifération des cellules gliales. Le niveau d'expression de *Nnat* était à peu près insensible à la dose d'ara-C, donc : à la proportion de cellules gliales dans la culture finale.

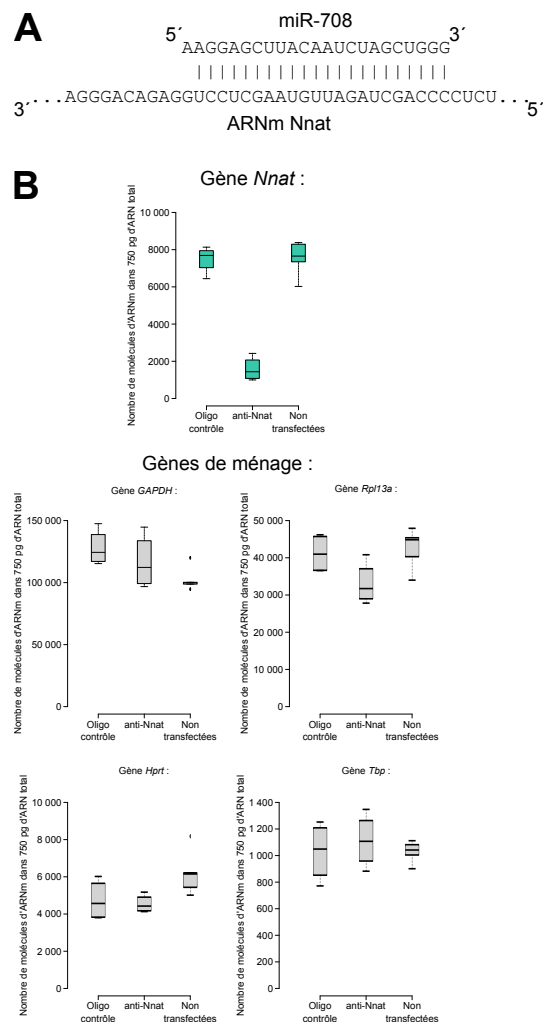


FIGURE 2 – **Choix d'un nouveau système expérimental pour évaluer l'action de l'ARNm *Nnat* sur miR-708.** **A.** Site de complémentarité à miR-708 dans la 3' UTR de l'ARNm *Nnat* (séquences murines). **B.** Expression de *Nnat* (en vert) et de quatre gènes de ménage (en gris) 4 jours après transfection d'un oligo *gap-mer* contrôle, ou dirigé contre *Nnat*, ou dans des cellules Neuro2A non transfectées (mesure absolue par RT-ddPCR sur 750 pg d'ARN par réplicat, avec 4 à 5 réplicats par condition).

3.1.5 Utilisation de l'histoire évolutive des miARN pour identifier les faux positifs dans les prédictions de cibles

La détection d'interactions stables entre miARN et ARNm (par exemple, par des expériences de CLIP-Seq ou ses variantes) n'est pas en mesure de garantir que les interactions détectées jouent un rôle biologique à l'échelle de l'organisme (les événements de répression de faible ampleur, comme ceux guidés par les miARN, sont habituellement tamponnés par les mécanismes d'homéostasie, et rendus inconséquents). Afin de distinguer les interactions biologiquement importantes des interactions inconséquentielles, la communauté scientifique utilise la conservation phylogénétique (si un site de fixation de miARN est conservé dans l'évolution, on considère qu'il joue un rôle biologiquement important ; [Friedman et Burge, 2014]).

Nos travaux précédents avaient montré que, fréquemment, des sites de fixation prédits de miARN sont plus conservés que le miARN lui-même, preuve qu'ils ne sont pas conservés en raison de leur interaction avec le miARN [Pinzón *et al.*, 2017]. Ces séquences sont donc conservées pour d'autres raisons (par exemple, ce peuvent être des sites de fixation de protéines), tout en étant fortuitement complémentaires à la séquence graine d'un miARN. Une méthode de correction avait pourtant été

publiée plusieurs années plus tôt, pour raffiner le nombre de sites-cibles de miARN conservées en raison du miARN : en mesurant le nombre de sites conservés pour des séquences-contrôles (de même composition en A+U et G+C, et de composition en dinucléotides aussi proche que possible, des sites de fixation d'authentiques miARN), puis en soustrayant ce nombre du nombre observé pour les miARN réels, un autre laboratoire avait déclaré tenir compte de la conservation miARN-indépendante des sites de fixation prédits [Friedman *et al.*, 2009].

Cette méthode de 2009 approxime le nombre de sites conservés indépendamment du miARN, par le nombre de sites conservés pour d'autres séquences, de composition nucléotidique proche. Mais ces autres séquences sont soumises à des pressions de sélection différentes (par exemple, elles ne sont pas reconnues par les mêmes protéines), et la soustraction du nombre de sites conservés pour des séquences différentes me semble donc inapproprié. Comme d'autre part les deux méthodes aboutissent à des conclusions radicalement différentes (notre analyse de 2017 conclut qu'un grand nombre de cibles prédites de miARN sont des faux positifs, là où l'analyse de 2009 prétendait avoir déjà corrigé pour ces conservations indépendantes des miARN), il serait utile de disposer d'une troisième méthode, pour trancher.

J'ai donc décidé de rechercher, dans l'histoire évolutive des miARN, des espèces où une famille entière de miARN a été perdue. Pour chacun des sites-cibles prédits de ces miARN, nous pourrions ensuite évaluer si leurs séquences se sont mises à diverger une fois que les miARN ont été perdus (ce qui indiquerait que leur conservation était effectivement due à l'interaction avec ces miARN), ou s'ils ont persisté (ce qui indiquerait que leur conservation est due à autre chose que ces miARN). Il est important ici de s'intéresser à des clades qui ont perdu une *famille* entière de miARN, plutôt qu'un miARN individuel : on appelle « famille de miARN » tous les miARN qui possèdent la même séquence graine (et qui, donc, sont susceptibles de cibler les mêmes gènes), pour garantir qu'aucun autre miARN ne pourrait expliquer la persistance de ces sites de fixation.

Pour des raisons pratiques, nous avons restreint notre analyse aux Vertébrés (où l'orthologie des gènes est bien établie, ce qui est utile dans ce projet ; nous sommes en train d'initier un autre projet, où cette analyse sera appliquée aux Protostomiens, avec donc des contraintes et des limitations nouvelles : voir section ??). Nous avons recherché les gènes de miARN de toutes les familles de miARN de Vertébrés connues, dans les 508 espèces de Vertébrés dont le génome est le plus complètement séquencé et assemblé (voir Figure 3A) ; nous nous sommes restreints aux 1014 familles de miARN les plus fiablement annotées (il est connu que les bases de données sont contaminées par de faux miARN : des produits de dégradation d'ARN quelconques, qui ont été annotés comme des miARN par erreur ; [Chiang *et al.*, 2010]).

Notre analyse a identifié 26 exemples de pertes de familles de miARN dans un clade ou un autre chez les Vertébrés (voir l'exemple de la famille miR-769, perdue dans deux clades, en Figure 3B), ainsi que 29 candidates supplémentaires, dont l'analyse est encore en cours.

Pour chacune de ces pertes de familles de miARN, nous avons donc identifié les sites ancestraux complémentaires à la séquence graine de cette famille, dans les 3' UTR. Ici, « ancestraux » doit s'entendre comme : parfaitement conservés entre au moins une espèce d'un clade cousin, et au moins une espèce d'un autre clade cousin (à deux degrés différents de cousinité), du clade de perte. Ces sites de complémentarité au miARN étaient donc conservés avant la perte de la famille de miARN. En utilisant les alignements de génomes complets de l'*UCSC Genome Browser* pour identifier les sites orthologues chez plusieurs dizaines d'espèces, nous pouvons ensuite évaluer la pression de sélection qui s'y est appliquée, aussi bien dans le clade de perte, que dans son clade-frère (qui sert de contrôle interne : ces deux clades ont exactement le même âge évolutif, et dérivent d'un ancêtre commun récent). Pour réaliser cette mesure, nous utilisons le programme **PhyloP**, qui permet en outre de sélectionner les sites qui sont sélectivement mieux conservés que le reste de leur 3' UTR (ce filtre est important, parce qu'il assure que nous n'évaluons que des divergences suffisamment longues pour que des mutations se soient accumulées dans l'UTR ; si le site de complémentarité au miARN apparaît conservé, ce n'est donc pas parce qu'il n'a *pas encore* eu le temps de muter – c'est qu'il est effectivement soumis à une pression de sélection particulière par rapport au reste de son UTR).

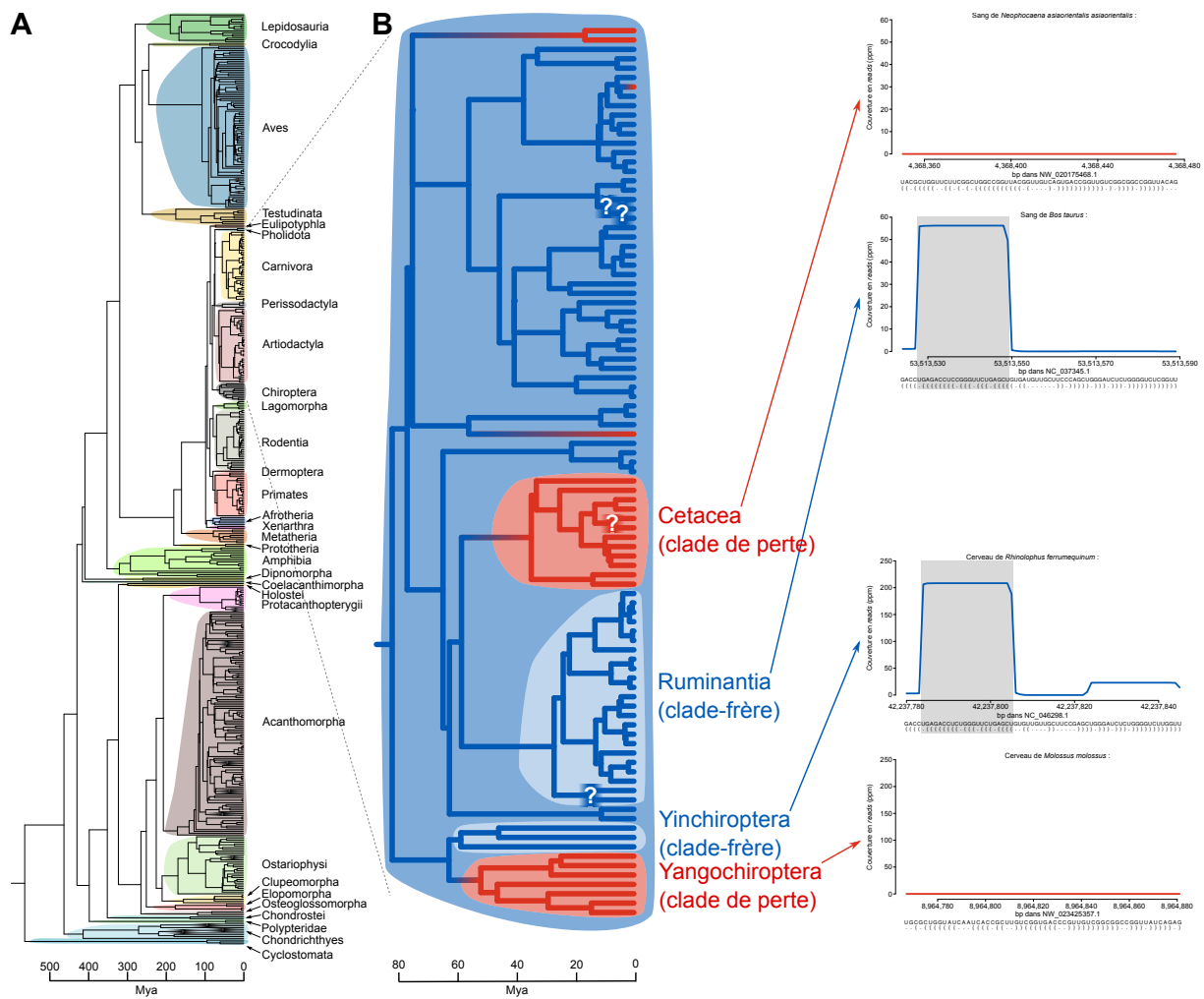


FIGURE 3 – Identification de pertes de familles de miARN chez les Vertébrés. **A.** Chronogramme des 508 espèces analysées. **B.** La famille miR-769 a été perdue à la fois chez les Cétacés et chez les Yangochiroptera (les espèces possédant la famille sont représentées en bleu, celles qui ne la possèdent pas sont en rouge). Leurs clades-frères (respectivement : les Ruminants et les Yinchiroptera) expriment bien le miARN miR-769, dont le profil de couverture en *Small RNA-Seq* porte les traces typiques de la biogenèse des miARN (petits ARN exprimés à partir des bras d'un précurseur replié en tige-boucle, avec une extrémité 5' très précisément définie). La séquence des précurseurs est indiquée sous les graphiques de profil de couverture, ainsi que leur structure secondaire prédite (les « (» et les «) » représentent des nucléotides appariés entre eux, et les « . » représentent des nucléotides non appariés). Jeux de données de *Small RNA-Seq* utilisés pour ces profils : SRR13638046 pour les Cetacea, SRR11817162 pour les Ruminantia, SRR10153036 pour les Yinchiroptera, et SRR10153042 pour les Yangochiroptera. **Sur les deux panneaux :** Les divergences dont la date est inconnue sont indiquées par des points d'interrogation. « Mya » : millions d'années dans le passé.

Cette analyse identifie des sites dont l'évolution a accéléré dans le clade qui a perdu la famille de miARN, par rapport au clade-frère, qui l'a conservé (donc : des sites qui se comportent comme on l'attendrait de la part de sites fonctionnellement importants pour le miARN), mais aussi des sites qui se comportent de manière opposée : des sites qui sont conservés dans le clade qui a perdu le miARN, et qui ont évolué rapidement dans le clade-frère, qui l'a conservé (voir l'exemple du site ancestral n°2 dans la 3' UTR du gène SOX4, en Figure 4A) : cette deuxième catégorie n'est clairement pas conservée *en raison* de son interaction avec le miARN.

Tous les événements de perte de miARN ne sont pas encore accessibles à l'analyse, faute d'annotation des 3' UTR dans de nombreuses espèces (nous travaillons à étendre notre analyse aux espèces

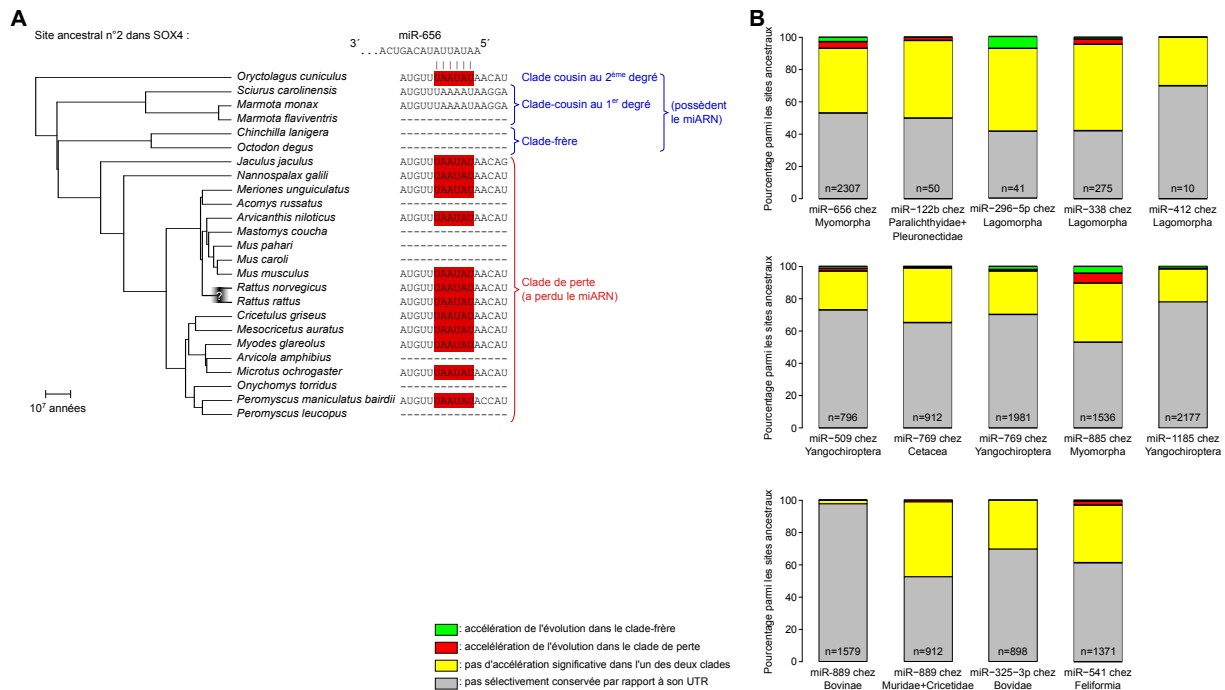


FIGURE 4 – Conservation des sites de fixation prédits après la perte d'une famille de miARN. **A.** La 3' UTR du gène SOX4 possède un site ancestral (*i.e.* : conservé entre des clades cousins, à des degrés distincts de cousinité, du clade de perte) complémentaire à la graine de miR-656, qui est bien conservé dans le clade de perte de miR-656 (les Myomorphes), mais peu conservé dans son clade-frère (les Hystricomorphes) et dans son clade cousin au 1^{er} degré (les Sciuromorphes). **B.** Résumé des patrons de conservation des sites de complémentarité ancestraux aux graines de miARN perdus dans des clades de Vertébrés. Les sites qui ne sont pas sélectivement conservés par rapport au reste de leur 3' UTR sont en gris. Parmi les sites sélectivement conservés, la plupart (en jaune) sont également conservés dans le clade de perte du miARN, et dans son clade-frère : leur conservation semble donc indépendante du miARN. Seule une minorité de sites (en rouge) semblent perdre leur pression de sélection une fois que le miARN a disparu, mais un nombre similaire de sites (en vert) se comporte de manière opposée.

moins bien annotées). Mais pour l'ensemble des événements de perte que nous avons pu étudier, il apparaît que la plupart des sites de complémentarité aux graines de miARN, dans des 3' UTR, sont conservés indépendamment du miARN. Seuls quelques-uns (barres rouges sur la Figure 4B) semblent perdre leur pression de sélection dans le clade qui a perdu le miARN.

Ces résultats, qui demandent à être consolidés par l'analyse des cas restés inaccessibles, suggèrent que les prédictions de cibles de miARN sont lourdement contaminées par des faux positifs : des sites conservés pour d'autres raisons, et qui se trouvent fortuitement complémentaires à la graine d'un miARN.

3.1.6 Projets collaboratifs, dont je ne suis pas auteur correspondant

Je suis fréquemment sollicité par des collègues, de France ou de l'étranger, pour mon expertise en biologie des petits ARN, en génomique et en statistiques. Voici, au cours de la période évaluée, les publications résultant de ces collaborations :

- L'analyse de données de transcriptomique sur des cellules humaines en culture dont le gène SETX a été réprimé. Ce gène code la Sénataxine, une hélicase impliquée dans la régulation de la transcription. J'étais chargé des analyses bio-informatiques et statistiques sur les données de transcriptomique fournies par nos collaborateurs (le laboratoire de J. Manley ; Columbia university, New York, États-Unis) [Richard *et al.*, 2021].

- L'analyse du mécanisme de l'amélioration d'efficacité des siARN après modification du 5' du brin guide par la 6-mCEPh-purine. J'étais chargé de la modélisation des données de biochimie, et de l'analyse statistique de ces modèles cinétiques d'assemblage et de maturation du complexe RISC, et de clivage de la cible. Les données avaient été produites par le laboratoire de Y. Tomari (université de Tōkyō, Japon) [Brechin *et al.*, 2021].
- La mesure de la réponse du miARN-ome au traitement avec deux produits toxiques (la 6-propyl-2-thio-uracile et la phénytoïne) chez le Rat. Cette analyse fait partie d'une étude plus large, « multi-omique » : mon équipe s'est chargée de la quantification des petits ARN, nos collaborateurs, des longs ARN, des protéines, et du métabolome. Le projet était coordonné par J. Hackermüller (UFZ, Leipzig, Allemagne) et impliquait également R. Buesen (BASF, Ludwigshafen am Rhein, Allemagne) [Canzler *et al.*, 2025].
- La modélisation et l'analyse statistique de réponses cellulaires après des traitements affectant la réponse aux dommages à l'ADN. Il s'agissait notamment d'évaluer l'effet individuel des traitements et leur éventuelle coopérativité, ainsi que leur interaction avec d'autres variables (temps, inactivation d'acteurs cellulaires connus, ...) [Morano *et al.*, 2025].

3.2 Participation à des collaborations

- Collaboration contractuelle avec le Pr. Yukihide Tomari (*university of Tōkyō*) dans le cadre du programme « *Joint PhD program* » du CNRS (mon rôle : avec Estelle Rebecq, doctorante : mesure de l'ampleur de la régulation des gènes par quelques régulateurs dans les cellules HCT-116, et de sa modulation par l'architecture du réseau génique). **Impact** : Ce sera la première confrontation quantitative des effets de la régulation génique, et de la réponse du réseau génique. Ces travaux définiront donc une nouvelle vision de la régulation des gènes, où l'effet moléculaire n'est pas seul déterminant de la réponse phénotypique.
- Collaboration contractuelle avec le Dr. Julien Bobe (INRAe, Rennes) dans le cadre d'un contrat de financement ANR PRC (mon rôle : analyses bio-informatiques pour la sélection des cibles de miR-202 les plus susceptibles d'expliquer un phénotype macroscopique chez le Medaka). **Impact** : Chez les Veertébrés à l'heure actuelle, seules deux cibles fonctionnelles de miARN ont été découvertes ; nous souhaitons utiliser le système expérimental du Medaka pour enrichir ce corpus avec l'exemple de miR-202.
- Collaboration contractuelle avec le Dr. William Ritchie (CNRS, Montpellier) dans le cadre d'un contrat de financement ANR PRC (mon rôle : caractérisation de nouvelles interactions inductrices de TDMD entre miARN et ARN longs). **Impact** : À l'heure actuelle, seule une poignée d'inducteurs de TDMD a été découverte, et l'exemple qui nous intéresse (celui de *Nnat* avec miR-708) présente la particularité de pouvoir être à la fois cible et inducteur de la répression.
- Collaboration non contractuelle avec l'équipe de la Dr. Jihane Basbous (CNRS, Montpellier) (mon rôle : analyses statistiques et modélisation des données expérimentales). **Impact** : Les travaux de l'équipe de J. Basbous montrent un effet synergique de traitements anti-tumorigéniques, mais l'analyse de leur interaction nécessitait des modèles statistiques adaptés.

3.3 Participation à des contrats de recherche

- Co-PI sur une collaboration contractuelle avec le Pr. Yukihide Tomari (*university of Tōkyō*) dans le cadre du programme « *Joint PhD program* » du CNRS. Pas d'acronyme. Durée : 3 ans, montant : environ 95 k€. Rôle et impact : *cf* rubrique 3.2 ci-dessus.
- Partenaire sur une collaboration contractuelle avec le Dr. Julien Bobe (INRAe, Rennes) dans le cadre d'un contrat de financement ANR PRC. Acronyme : MicroHippo. Durée : 5 ans, montant total : 406 k€, montant pour mon équipe : 80 k€. Rôle et impact : *cf* rubrique 3.2 ci-dessus.

- Coordinateur sur une collaboration contractuelle avec le Dr. William Ritchie (CNRS, Montpellier) dans le cadre d'un contrat de financement ANR PRC. Acronyme : SCOuBiDou. Durée : 5 ans, montant total : 497 k€, montant pour mon équipe : 363 k€. Rôle et impact : cf rubrique 3.2 ci-dessus.

3.4 Place de ma recherche dans mon unité

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

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

3.5 Mobilité

Une mobilité fonctionnelle : prise de responsabilité dans l'UAR 3426 (je suis devenu, le 1^{er} janvier 2025, directeur scientifique de la plateforme de génomique MGX, en plus de mon activité de recherche à l'IGH).

3.6 Distinction scientifique

Prime RIPEC du CNRS (novembre 2023).

3.7 Sélection de publications scientifiques

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

1. Seitz H (2024) *Nucleic Acids Res.*, 52(16):9360–9368 (**auteur correspondant**). J'y présente une nouvelle perspective sur la notion de spécificité de la régulation des gènes (qui n'est pas juste une affaire de reconnaissance biochimique, comme dans le modèle clé-serrure, mais qui dépend aussi de la modulation de l'ampleur de la régulation par les réseaux géniques, et qui distingue interactions conséquentielles et interactions inconséquentielles à l'échelle macroscopique). Lien : HAL.
2. Mockly S, Houbron É et Seitz H (2022) *Nucleic Acids Res.*, 50(8):4703–4712 (**auteur correspondant**). Nous y revisitons le statut du miARN miR-34a, et montrons qu'il n'est pas un suppresseur de tumeur, contrairement à une idée répandue depuis 15 ans. Nous réconcilions ainsi les données moléculaires, informatiques, et *in vivo*. Lien : HAL.
3. Houbron É, Mockly S, Rafasse S, Gros N, Muriaux D et Seitz H (2023) *RNA Biol* 20(1):272–280 (**auteur correspondant**). Nous y optimisons des séquences de siARN contre le SARS-CoV-2 (pour maximiser le nombre de variants reconnus, tout en satisfaisant les règles biochimiques d'efficacité des siARN), et vérifions expérimentalement leur action. Lien : HAL.
4. Janati-Idrissi S, de Abreu MR, Guyomar C, de Mello F, Nguyen T, Mechkouri N, Gay S, Montfort J, Gonzalez AA, Abbasi M, Bugeon J, Thermes V, Seitz H, Bobe J (2024) *Nucleic Acids*

- Res.**, 52(2):738–754 (**co-auteur correspondant**). Nous utilisons une méthode originale pour déterminer, à partir de données de biologie moléculaire, les cibles-candidates expliquant le phénotype d'infertilité femelle des mutants de miR-202 chez le Medaka, et identifions la cible principalement responsable de ce phénotype, vérifiée *in vivo*. Lien : HAL.
5. Busseau I, Mockly S, Houbroun É, Somaï H, Seitz H (2024) *Biochimie*, 217:86–94 (**auteur correspondant**). Nous y décrivons la préparation de mutants de Drosophile pour le miARN *bantam*, dont la séquence-graine a été mutée, et dont l'accumulation *in vivo* ne diffère pas de celle du miARN sauvage (vérifié par *Small RNA-Seq* calibré par des oligos synthétiques). Lien : HAL.
 6. Brechin V, Shinohara F, Saito JI, Seitz H, Tomari Y. (2021) *RNA*, 27(2):151–162. Nous y disséquons les mécanismes d'amélioration des siARN portant une modification chimique (la 6-mCEPh-purine en 5'), à la fois sur l'étape de chargement des siARN sur leur protéine effectrice et sur la stabilité du complexe effecteur. Lien : HAL.
 7. Maurel J-C, Mouri A, Seitz H et Mockly S (2021). Brevet décrivant le développement d'un système d'adressage *in vivo* de siARN contre le SARS-CoV-2. Lien : INPI.
 8. Mockly S, Seitz H (2023) *Br J Cancer*, 128(3):478–480 (**auteur correspondant**). Nous y analysons les raisons de l'échec d'un essai clinique qui avait administré une version synthétique du miARN miR-34a contre des tumeurs solides. Lien : HAL.
 9. Morano L, Vezzio-Vié N, Aissanou A, Egger T, Aze A, Fiachetti S, Bordignon B, Hassen-Khodja C, Seitz H, Milazzo LA, Garambois V, Chaloin L, Bonnefoy N, Gongora C, Constantinou A, Basbous J (2025) *Elife* 14:RP106196. Nous y montrons un effet synergique de traitements anti-tumorigéniques dans des cellules soumises à un stress génotoxique. Lien : HAL.
 10. Canzler S, Schubert K, Rolle-Kampczyk UE, Wang Z, Schreiber S, Seitz H, Mockly S, Kamp H, Haake V, Huisinga M, Bergen MV, Buesen R, Hackermüller J (2025) *Arch Toxicol*, 99(1):309–332. Nous y évaluons l'apport de données multi-omiques dans la mesure de la toxicité thyroïdienne et hépatique chez le Rat (données de *RNA-Seq*, *Small RNA-Seq*, protéomique et métabolomique) dans l'objectif de limiter le recours aux études animales. Lien : HAL.

4 Enseignement, formation et diffusion de la culture scientifique

4.1 Thèses dirigées

- Sophie Mockly (d'octobre 2017 à juin 2021). Directeur unique de thèse. Sophie a démontré que miR-34a n'était pas, comme longtemps cru, un suppresseur de tumeur. Elle est désormais postdoc à l'IRCM de Montréal (Canada).
- Estelle Rebecq (depuis juillet 2023). Directeur unique de thèse. Estelle travaille sur la confrontation quantitative entre la régulation génique et sa modulation par les réseaux géniques.
- Pauline De Sousa (depuis octobre 2024). Co-directeur de thèse (avec I. Busseau). Pauline travaille sur l'identification des cibles fonctionnelles du miARN *bantam* chez la Drosophile.

4.2 Post-doctorants encadrés

- Flavia Pavan (depuis février 2025). Flavia mène des analyses phylogénétiques sur les sites de complémentarité aux miARN, pour identifier ceux dont la conservation est dépendante ou indépendante du miARN.
- Germain Busto (juin 2020–mai 2021). Germain a mené un projet de recherche qu'il avait conçu lui-même, et pour lequel il avait obtenu un financement d'un an de la part de la FRC, qui

consistait à évaluer l'effet de doses sub-létales de pesticides sur l'expression des miARN chez la Drosophile, et à les corrélérer avec des mesures phénotypiques. Il est désormais chef de projet statutaire au CHU de Montpellier.

4.3 Enseignement

Cours magistraux sur les petits ARN régulateurs eucaryotiques (chaque année depuis 2007 : d'une à trois interventions de 2 h, dans des universités françaises ou étrangères, et pour les écoles normales supérieures Ulm ou Lyon).

Formateur pour le compte de la formation professionnelle du CNRS : chaque année depuis 2022, cours magistral de 7 h « Les statistiques en sciences expérimentales » ; travaux dirigés : séance de 14 h « Logiciel **R** – niveau débutant » et séance de 7 h « Logiciel **R** – apprentissage de la programmation ».

Je pense que la pratique de notre métier devrait être coopérative ; c'est pourquoi je partage systématiquement les programmes que j'écris avec les collaborateurs qui ont sollicité mon aide, et je leur apprends à s'en servir. Je propose des formations formelles ou informelles en bio-informatique et statistiques, des méthodes très utiles pour les biologistes expérimentalistes. Je mets ces formations en accès libre pour qu'elles servent au plus grand nombre : la partie théorique du cours de statistiques a été publiée dans les numéros de juillet et d'octobre 2010 de *Regard sur la Biochimie*, et les diaporamas de toutes ces formations sont accessibles sur le site de mon équipe. Tous les scripts, et tous les jeux de données (intermédiaires et processés) que nous publions sont partagés librement, à la fois sur notre compte GitHub et sur la page web de mon équipe, ainsi que (pour les données brutes) sur les bases de données académiques (NCBI ou ENA).

De décembre 2020 à décembre 2025 : membre du jury de 6 thèses scientifiques (2 fois en tant que rapporteur) pour des étudiants d'institutions françaises et étrangères (*Universität Bern*), et de 3 HDR (chaque fois en tant que rapporteur).

4.4 Participation à l'organisation de conférences

Je suis le porteur de l'école thématique du CNRS « InteRNAAt », organisée en 2019, 2021, 2023 et 2025.

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

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

Conférences publiques : Le grand public est très intéressé par la génétique moléculaire. Alors que la génération du *baby-boom* n'a pas entendu parler d'ADN ou de chromosomes au lycée, les électeurs sont amenés à se prononcer sur les OGM, le clonage, à faire des dons pour la thérapie génique, ... Le public est demandeur d'informations sur ce qui se fait dans les laboratoires, et il est de notre devoir (en tant que chercheurs publics) de partager avec les citoyens le résultat des travaux menés en leur nom. J'essaie donc de contribuer à la diffusion de l'information scientifique vers le grand public. Je donne régulièrement des conférences (12 conférences grand public de 2020 à 2025) (« L'ARN, couteau suisse de la cellule », « Sur la notion de race. Le point de vue du biologiste. », « Les implications sociétales de la génétique », ...) pour le public de la Fête de la science, devant des groupes de scolaires, pour l'Université du Tiers-Temps à Montpellier (conférences pour le grand public, essentiellement retraité), et pour différentes associations. Les diaporamas de ces présentations sont accessibles sur le site web de mon équipe, et j'ai distribué le lien aux auditeurs pendant la présentation.

Vidéos publiques : Au début de la pandémie de Covid-19, quand le grand public a manifesté un intérêt nouveau pour la biologie moléculaire, quelques chercheurs et quelques médecins à la moralité douteuse ont profité de cet engouement populaire pour diffuser de fausses rumeurs, pseudo-scientifiques, concernant l'efficacité supposée d'un traitement à base d'hydroxychloroquine, les mécanismes et la dynamique d'évolution des génomes viraux, l'efficacité et la sûreté des vaccins à ARNm, ... Dans l'affolement du mois de mars 2020, où l'humanité semblait brutalement submergée par le nouveau virus, la première de ces rumeurs (concernant l'hydroxychloroquine) a suscité des réactions irrationnelles, parfois violentes, de la part d'une partie de la population, et il m'a semblé nécessaire de démentir publiquement les mensonges dont ces collègues se rendaient coupables. J'ai donc pris parti publiquement dès le début de la polémique, par une vidéo sur YouTube le 26 mars 2020. Il s'agissait de la première prise de parole publique d'un scientifique pour dénoncer ces mensonges, et de nombreux médias m'ont ensuite sollicité pour des interventions publiques (chaînes télé *TF1*, *LCI*, *France 3*, journaux *Midi Libre*, *Marianne*, radio *France Bleu*). Par la suite, j'ai publié plusieurs autres vidéos sur ma chaîne YouTube pour traiter des autres rumeurs pseudo-scientifiques qui ont accompagné l'épidémie (playlist « Covid-éos » ; en date du 10/03/2026 : 179 530 vues partagées entre ces 15 vidéos). J'ai laissé ouverts les commentaires de toutes ces vidéos, de manière à ce que les internautes puissent réagir, demander des précisions, soulever des objections, ..., ce qui a souvent donné lieu à des discussions détaillées qui me permettaient de donner davantage d'informations.

Interventions dans les médias : journal *Midi Libre* (1 intervention en 2020, 1 intervention en 2021), télévision (1 intervention sur TF1 en 2020, 3 interventions sur LCI en 2020, 1 intervention sur France 3 en 202), radio (1 intervention sur France bleu Hérault en 2024).

Témoignage pour la Justice : J'ai été appelé comme témoin par le tribunal correctionnel de Marseille et la cour d'appel d'Aix-en-Provence pour le procès Raoult/Limousin (témoignage écrit pour l'audience de première instance le 1^{er} mars 2024 ; témoignage à la barre pour l'appel le 17 septembre 2025).

5 Transfert technologique, relations industrielles et valorisation

5.1 Activités de consultance

Activité de consultance pour Medesis Pharma S.A. en 2022–2023 (aide au choix de siARN à adresser *in vivo* chez la Souris contre des gènes d'intérêt).

5.2 Brevet

Brevet co-déposé avec Medesis Pharma : <https://data.inpi.fr/brevets/W02021185766> (description d'une méthode d'adressage *in vivo* de siARN dirigés contre le SARS-CoV-2).

5.3 Thèse CIFRE

Direction d'une thèse CIFRE (doctorante : Estelle Rebecq), avec la compagnie Medesis Pharma à partir du 1^{er} juillet 2023. La compagnie a été liquidée au printemps 2025, et ses finances l'ont empêchée de mettre en œuvre le projet de thèse dès 2023–2024. Estelle a donc démissionné de sa bourse CIFRE, pour recommencer une thèse (toujours sous ma direction) en octobre 2024.

6 Encadrement, animation et management de la recherche

6.1 Direction d'équipe

Je dirige depuis octobre 2011 une équipe de recherche à l'IGH (d'abord UPR 1142, désormais UMR 9002), à Montpellier. C'était une « équipe junior », dont l'activité a été évaluée après 5 ans (fin 2016 et début 2017), et qui a été titularisée en « équipe senior », permanente (voir rubrique 3.4, en page 16). Les effectifs de l'équipe ont oscillé entre 4 et 7 personnes au cours des 10 derniers semestres.

J'accorde une très grande importance à la formation des personnes qui passent dans l'équipe. Tous les anciens membres de l'équipe (doctorants, postdocs, ingénieurs) ayant passé au moins un an dans l'équipe depuis sa création en 2011, travaillent encore dans le domaine de la recherche et de l'enseignement supérieur : L. Martinez (préparatrice à l'université de Nantes), A. Sergeeva (scientifique au *Hematology Research Center* de Moscou), N. Pinzón (post-doctorante à l'institut Gustave Roussy), B. Li (poste permanent d'ingénieur de recherche à l'institut Pasteur), S. Mockly (postdoctorante à l'IRCM de Montréal, Canada), G. Busto (chef de projet au CHU de Montpellier) et R. Rodriguez (en formation pour la médiation scientifique). Cinq de ces sept personnes (L. Martinez, A. Sergeeva, N. Pinzón, B. Li et G. Busto) bénéficient de postes permanents.

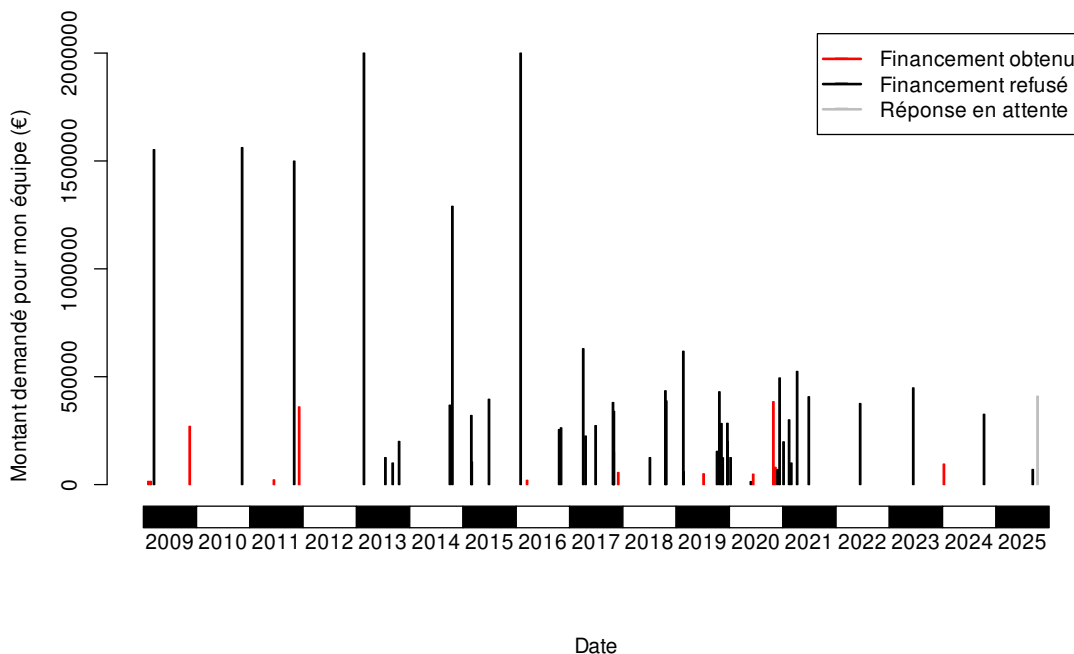


FIGURE 5 – **Historique de mes demandes de financement.** Une bonne part de mon temps de travail est consacré à ... rédiger des demandes de financement dans l'espoir (le plus souvent déçu) de réaliser les projets pour lesquels, par ailleurs, je suis salarié.

Responsabilités et activités collectives : J'ai pris, au 1^{er} janvier 2025, la direction scientifique de la plateforme de génomique de Montpellier, MGX. Cette plateforme regroupe quatre plateaux offrant des services de séquençage à haut débit, de génotypage à moyen débit, de puces à ADN, de PCR quantitative, d'analyses bio-informatiques, ... Membre du premier cercle de l'INBS France Génomique, notre plateforme possède des équipements de pointe (Illumina NovaSeq X+, Chromium X, Cytassist, ...), et emploie une vingtaine de personnes.

J'ai également organisé, en tant que porteur, l'école thématique du CNRS « InterNAt » sur les petits ARN régulateurs (organisée tous les deux ans depuis 2019 inclus) : constitution du comité

d'organisation, choix du programme de l'école, choix et invitation des intervenants extérieurs, coordination du contenu des interventions, gestion des aspects pratiques (choix et réservation du lieu d'hébergement, ...).

7 Références

- [Ameres *et al.*, 2010] Ameres, S. L., Horwich, M. D., Hung, J. H., Xu, J., Ghildiyal, M., Weng, Z., et Zamore, P. D. (2010). Target RNA-directed trimming and tailing of small silencing RNAs. *Science*, 328(5985) : 1534–1539.
- [Bartel, 2018] Bartel, D. P. (2018). Metazoan MicroRNAs. *Cell*, 173(1) : 20–51.
- [Beg *et al.*, 2017] Beg, M. S., Brenner, A. J., Sachdev, J., Borad, M., Kang, Y. K., Stoudemire, J., Smith, S., Bader, A. G., Kim, S., et Hong, D. S. (2017). Phase I study of MRX34, a liposomal miR-34a mimic, administered twice weekly in patients with advanced solid tumors. *Invest New Drugs*, 35(2) : 180–188.
- [Bitetti *et al.*, 2018] Bitetti, A., Mallory, A. C., Golini, E., Carrieri, C., Carreño Gutiérrez, H., Perlas, E., Pérez-Rico, Y. A., Tocchini-Valentini, G. P., Enright, A. J., Norton, W. H. J., Mandillo, S., O’Carroll, D., et Shkumatava, A. (2018). MicroRNA degradation by a conserved target RNA regulates animal behavior. *Nat Struct Mol Biol*, 25(3) : 244–251.
- [Brechtin *et al.*, 2021] Brechtin, V., Shinohara, F., Saito, J. I., Seitz, H., et Tomari, Y. (2021). Mechanistic analysis of the enhanced RNAi activity by 6-mCEPh-purine at the 5’ end of the siRNA guide strand. *RNA*, 27(2) : 151–162.
- [Brennecke *et al.*, 2003] Brennecke, J., Hipfner, D. R., Stark, A., Russell, R. B., et Cohen, S. M. (2003). *bantam* encodes a developmentally regulated microRNA that controls cell proliferation and regulates the proapoptotic gene *hid* in *Drosophila*. *Cell*, 113(1) : 25–36.
- [Busseau *et al.*, 2024] Busseau, I., Mockly, S., Houbron, E., Somaï, H., et Seitz, H. (2024). Evaluation of microRNA variant maturation prior to genome edition. *Biochimie*, 217.
- [Canzler *et al.*, 2025] Canzler, S., Schubert, K., Rolle-Kampczyk, U. E., Wang, Z., Schreiber, S., Seitz, H., Mockly, S., Kamp, H., Haake, V., Huisinga, M., Bergen, M. V., Buesen, R., et Hacker Müller, J. (2025). Evaluating the performance of multi-omics integration : a thyroid toxicity case study. *Arch Toxicol*, 99(1) : 309–332.
- [Cazalla *et al.*, 2010] Cazalla, D., Yario, T., et Steitz, J. A. (2010). Down-regulation of a host microRNA by a Herpesvirus *saimiri* noncoding RNA. *Science*, 328(5985) : 1563–1566.
- [Chiang *et al.*, 2010] Chiang, H. R., Schoenfeld, L. W., Ruby, J. G., Auyeung, V. C., Spies, N., Baek, D., Johnston, W. K., Russ, C., Luo, S., Babiarz, J. E., Blelloch, R., Schroth, G. P., Nusbaum, C., et Bartel, D. P. (2010). Mammalian microRNAs : experimental evaluation of novel and previously annotated genes. *Genes Dev*, 24(10) : 992–1009.
- [Concepcion *et al.*, 2012] Concepcion, C. P., Han, Y. C., Mu, P., Bonetti, C., Yao, E., D’Andrea, A., Vidigal, J. A., Maughan, W. P., Ogradowski, P., et Ventura, A. (2012). Intact p53-dependent responses in miR-34-deficient mice. *PLoS Genet*, 8(7) : e1002797.
- [de la Mata *et al.*, 2015] de la Mata, M., Gaidatzis, D., Vitanescu, M., Stadler, M. B., Wentzel, C., Scheiffele, P., Filipowicz, W., et Großhans, H. (2015). Potent degradation of neuronal miRNAs induced by highly complementary targets. *EMBO Rep*, 16(4) : 500–511.
- [Ecsedi *et al.*, 2015] Ecsedi, M., Rausch, M., et Großhans, H. (2015). The *let-7* microRNA directs vulval development through a single target. *Dev Cell*, 32(3) : 335–344.
- [Friedman et Burge, 2014] Friedman, R. C. et Burge, C. B. (2014). MicroRNA target finding by comparative genomics. *Methods Mol Biol*, 1097 : 457–476.
- [Friedman *et al.*, 2009] Friedman, R. C., Farh, K. K., Burge, C. B., et Bartel, D. P. (2009). Most mammalian mRNAs are conserved targets of microRNAs. *Genome Res*, 19(1) : 92–105.
- [Fuchs Wightman *et al.*, 2018] Fuchs Wightman, F., Giono, L. E., Fededa, J. P., et de la Mata, M. (2018). Target RNAs strike back on microRNAs. *Front Genet*, 9 : 435.
- [Hipfner *et al.*, 2002] Hipfner, D. R., Weigmann, K., et Cohen, S. M. (2002). The *bantam* gene regulates *Drosophila* growth. *Genetics*, 161(4) : 1527–1537.

- [Hong *et al.*, 2020] Hong, D. S., Kang, Y. K., Borad, M., Sachdev, J., Ejadi, S., Lim, H. Y., Brenner, A. J., Park, K., Lee, J. L., Kim, T. Y., Shin, S., Becerra, C. R., Falchook, G., Stoudemire, J., Martin, D., Kelnar, K., Peltier, H., Bonato, V., Bader, A. G., Smith, S., Kim, S., O'Neill, V., et Beg, M. S. (2020). Phase 1 study of MRX34, a liposomal miR-34a mimic, in patients with advanced solid tumours. *Br J Cancer*, 122(11) : 1630–1637.
- [Houbron *et al.*, 2023] Houbron, E., Mockly, S., Rafasse, S., Gros, N., Muriaux, D., et Seitz, H. (2023). Biochemistry-informed design selects potent siRNAs against SARS-CoV-2. *RNA Biol*, 20(1) : 272–280.
- [Kingston et Bartel, 2019] Kingston, E. R. et Bartel, D. P. (2019). Global analyses of the dynamics of mammalian microRNA metabolism. *Genome Res*, 29(11) : 1777–1790.
- [Kleaveland *et al.*, 2018] Kleaveland, B., Shi, C. Y., Stefano, J., et Bartel, D. P. (2018). A network of noncoding regulatory RNAs acts in the mammalian brain. *Cell*, 174(2) : 350–362.
- [Krol *et al.*, 2010] Krol, J., Busskamp, V., Markiewicz, I., Stadler, M. B., Ribi, S., Richter, J., Duebel, J., Bicker, S., Fehling, H. J., Schübeler, D., Oertner, T. G., Schratt, G., Bibel, M., Roska, B., et Filipowicz, W. (2010). Characterizing light-regulated retinal microRNAs reveals rapid turnover as a common property of neuronal microRNAs. *Cell*, 141(4) : 618–631.
- [Marcinowski *et al.*, 2012] Marcinowski, L., Tanguy, M., Krmpotic, A., Rädle, B., Lisnić, V. J., Tud-denham, L., Chane-Woon-Ming, B., Ruzsics, Z., Erhard, F., Benkartek, C., Babic, M., Zimmer, R., Trgovcich, J., Koszinowski, U. H., Jonjic, S., Pfeffer, S., et Dölken, L. (2012). Degradation of cellular miR-27 by a novel, highly abundant viral transcript is important for efficient virus replication *in vivo*. *PLoS Pathog*, 8(2) : e1002510.
- [Mockly *et al.*, 2022] Mockly, S., Houbron, E., et Seitz, H. (2022). A rationalized definition of general tumor suppressor microRNAs excludes miR-34a. *Nucleic Acids Res*, 50(8) : 4703–4712.
- [Mockly et Seitz, 2023] Mockly, S. et Seitz, H. (2023). Synthetic miR-34a against solid tumours : a predictable failure. *Br J Cancer*, 128(3) : 478–480.
- [Morano *et al.*, 2025] Morano, L., Vezzio-Vié, N., Aissanou, A., Egger, T., Azé, A., Fiachetti, S., Bordignon, B., Hassen-Khodja, C., Seitz, H., Milazzo, L. A., Garambois, V., Chaloin, L., Bonnefoy, N., Gongora, C., Constantinou, A., et Basbous, J. (2025). TopBP1 biomolecular condensates as a new therapeutic target in advanced-stage colorectal cancer. *Elife*, 14.
- [O'Donnell *et al.*, 2005] O'Donnell, K. A., Wentzel, E. A., Zeller, K. I., Dang, C. V., et Mendell, J. T. (2005). c-Myc-regulated microRNAs modulate E2F1 expression. *Nature*, 435(7043) : 839–843.
- [Pinzón *et al.*, 2017] Pinzón, N., Li, B., Martinez, L., Sergeeva, A., Presumey, J., Apparailly, F., , et Seitz, H. (2017). microRNA target prediction programs predict many false positives. *Genome Res*, 27(2) : 234–245.
- [Reichholf *et al.*, 2019] Reichholf, B., Herzog, V. A., Fasching, N., Manzenreither, R. A., Sowemimo, I., et Ameres, S. L. (2019). Time-resolved small RNA sequencing unravels the molecular principles of microRNA homeostasis. *Mol Cell*, 75(4) : 756–768.
- [Richard *et al.*, 2021] Richard, P., Feng, S., Tsai, Y. L., Li, W., Rinchetti, P., Muhith, U., Irizarry-Cole, J., Stolz, K., Sanz, L. A., Hartono, S., Hoque, M., Tadesse, S., Seitz, H., Lotti, F., Hirano, M., Chédin, F., Tian, B., et Manley, J. L. (2021). SETX (senataxin), the helicase mutated in AOA2 and ALS4, functions in autophagy regulation. *Autophagy*, 17(8) : 1889–1906.
- [Seitz, 2024] Seitz, H. (2024). A new perspective on microRNA-guided gene regulation specificity, and its potential generalization to transcription factors and RNA-binding proteins. *Nucleic Acids Res*, 52(16) : 9360–9368.
- [Slack et Chinnaiyan, 2019] Slack, F. J. et Chinnaiyan, A. M. (2019). The role of non-coding RNAs in oncology. *Cell*, 179(5) : 1033–1055.
- [Viswanathan *et al.*, 2008] Viswanathan, S. R., Daley, G. Q., et Gregory, R. I. (2008). Selective blockade of microRNA processing by Lin28. *Science*, 320(5872) : 97–100.