

# 3<sup>e</sup> journée thématique du Réseau MeetOchondrie



## Communications Flash



Contribution ID: 1

Type: **Communication "flash"**

## Impact des contrôles-qualité de l'ADN mitochondrial sur son instabilité au cours du vieillissement cardiaque

### Introduction

Les maladies cardiovasculaires sont la 1ère cause de mortalité dans monde. Dans les tissus vieillissants et notamment cardiaques, on observe fréquemment une mosaïque formée par quelques cellules dont la fonction mitochondriale est diminuée au sein de nombreuses cellules saines, et qui pourrait jouer un rôle dans le vieillissement pathologique cardiaque. Cette dysfonction résulte de l'instabilité de l'ADN mitochondrial (ADNmt), qui subit de nombreuses délétions au cours du vieillissement. L'étude vise à déterminer l'impact de la dynamique mitochondriale et de l'autophagie sur l'instabilité de l'ADNmt en utilisant notre modèle murin de vieillissement mitochondrial accéléré TWNK, dont l'hélicase de l'ADNmt est mutée et cause l'accumulation accélérée de délétions de l'ADNmt.

### Matériel et méthode

La souris TWNK a d'abord été croisée avec des souris knockout hétérozygotes pour des gènes cruciaux de la dynamique, OPA1delTTAG (fusion) et DRP1+/- (fission). Après validation des modèles par western blot, la proportion de délétions de l'ADNmt et de cellules dysfonctionnelles a été évaluée par qPCR et coloration enzymatique COX/SDH, respectivement.

### Résultats

Nous n'avons pas identifié de différences entre les proportions d'ADNmt ou de délétions. Cependant, les souris TWNK-OPA1delTTAG présentent 1,6 fois plus de cardiomyocytes déficients en activité mitochondriale que les souris TWNK, suggérant un rôle protecteur de la fusion dans le vieillissement cardiaque.

### Perspectives

Nous souhaitons moduler la mitophagie par régime ou traitement pharmacologique chez les souris TWNK afin de déterminer son impact sur l'instabilité de l'ADNmt et la dysfonction des cardiomyocytes. Nous espérons en promouvant le turn-over mitochondrial, induire l'élimination de mitochondries riches en ADNmt altéré.

**Auteurs principaux:** M. THIBAUT, Théophile (UMR CNRS 6015 INSERM 1083, équipe Mitolab, Institut Mitovasc, Université d'Angers); Dr GABILLARD-LEFORT, Claudie (UMR CNRS 6015 INSERM 1083, équipe Mitolab, Institut Mitovasc, Université d'Angers); Dr LENAERS, Guy (UMR CNRS 6015 INSERM 1083, équipe Mitolab, Institut Mitovasc, Université d'Angers); Dr BARIS, Olivier (UMR CNRS 6015 INSERM 1083, équipe Mitolab, Institut Mitovasc, Université d'Angers)

**Orateur:** M. THIBAUT, Théophile (UMR CNRS 6015 INSERM 1083, équipe Mitolab, Institut Mitovasc, Université d'Angers)

Contribution ID: 2

Type: **Communication "flash"**

## **Increased mitochondrial transcription initiation does not elevate biogenesis of the oxidative phosphorylation system**

POLRMT is the sole RNA polymerase in human mitochondria where it generates the primers for replication and transcribes the mitochondrial genome (mtDNA), encoding essential components of the oxidative phosphorylation (OXPHOS) system. Elevated POLRMT levels were recently found in several cancers and mouse models with severe mitochondrial dysfunction. Here, we generated and characterized a mouse over-expressing Polrmt to investigate the physiological and molecular consequences of elevated POLRMT levels. Increasing POLRMT did not result in any pathological phenotype and, on the contrary, had a positive effect on exercise capacity under stress conditions. Polrmt overexpression resulted in an increased transcription initiation evidenced by higher levels of general transcription capacity, the L-strand promoter-proximal transcript 7S RNA, and mtDNA replication. Surprisingly, the abundance of mature mitochondrial RNAs was not affected by the elevated POLRMT levels. Furthermore, an ubiquitous co-overexpression of endogenous Polrmt and Lrpprc, which stabilizes most mitochondrial transcripts, does not increase steady state mitochondrial transcripts in mouse. Our data shows that POLRMT levels regulate transcription initiation but regulatory steps downstream of transcription initiation and transcript stability limit OXPHOS biogenesis.

**Auteur principal:** Dr KÜHL, Inge

**Orateur:** Dr KÜHL, Inge

Contribution ID: 3

Type: **Communication "flash"**

## IN VITRO MODEL TO EVALUATE MITOCHONDRIAL TRANSPLANTATION AS POTENTIAL THERAPEUTIC SOLUTION TO ISCHEMIA-REPERFUSION INJURY

Mitochondria are an essential organelle, playing a key role in intracellular energy production and controlling the balance between life and death. They may be harmed disturbing cell's homeostasis, in diverse pathological conditions, including drug-induced injury, metabolic disorders, neurodegenerative diseases, cancers and ischemia-reperfusion injury. In that case, blood flow is interrupted and subsequently re-introduced after medical intervention, leading to tissue damages that occur in two waves. During ischemia, lack of nutrients and oxygen provokes metabolism inhibition and impairment of mitochondrial activity, causing energy deficit and cell deterioration. During reperfusion, the sudden return of oxygen overwhelms mitochondrial capacity decreased by ischemia, leading to free radical production and cell death. As mitochondrial impairment constitutes the principal cause of tissue damage related to ischemia-reperfusion, we investigated the potential of mitochondrial transplantation as therapeutic approach to overcome mitochondrial default. For this purpose, we set up an in vitro cellular model of renal ischemia-reperfusion, by inducing oxygen and glucose deprivation during 26 h in porcine kidney LLC-PK1 cells. At reperfusion (return to normal culture conditions), cells were directly treated with fresh mitochondria, isolated from mouse liver according to Mitologics' procedures (MiToxView® platform; Porceddu et al., 2018). The ability of this strategy to rescue cell metabolism and survival after reperfusion was evaluated by assessing global oxygen consumption and ATP content using our multiparametric assays. The measures revealed that fresh mitochondria addition enhanced significantly respiration capacity without affecting cellular ATP content in cells cultured in both normal and ischemia-reperfusion conditions. These results demonstrated that mitochondrial transplantation may be a promising therapeutic approach in the treatment of diseases due to mitochondrial impairment.

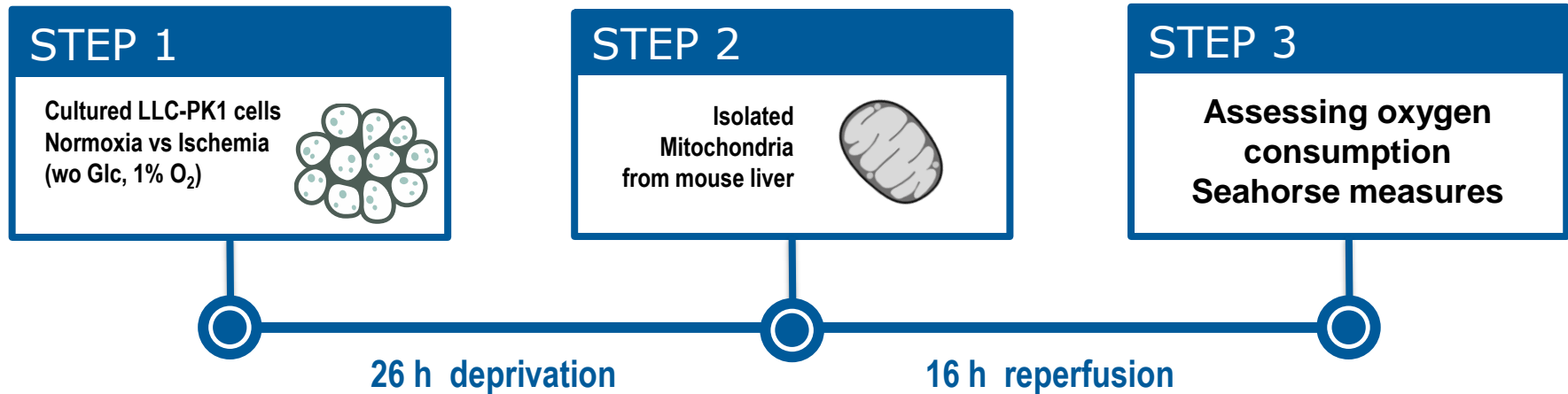
**Auteurs principaux:** BURON, Nelly (Mitologics); MARTEL, Cécile (MITOLOGICS); Mme ZEN-NARO, Léa (Mitologics); M. PORCEDDU, Mathieu (Mitologics); Dr BORGNE-SANCHEZ, Annie (Mitologics)

**Orateur:** BURON, Nelly (Mitologics)

# IN VITRO MODEL TO EVALUATE MITOCHONDRIAL TRANSPLANTATION AS POTENTIAL THERAPEUTIC SOLUTION TO ISCHEMIA-REPERFUSION INJURY

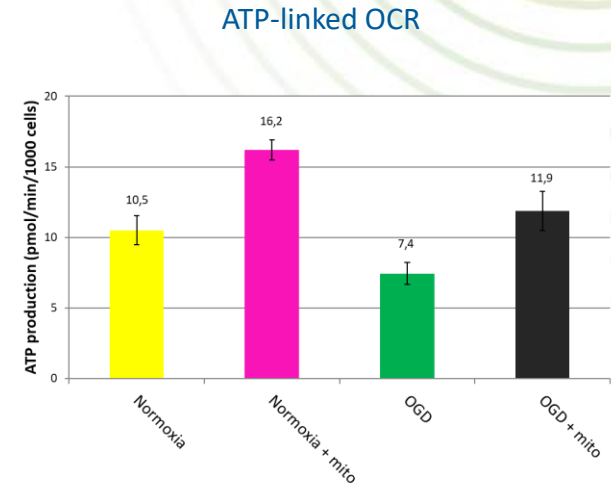
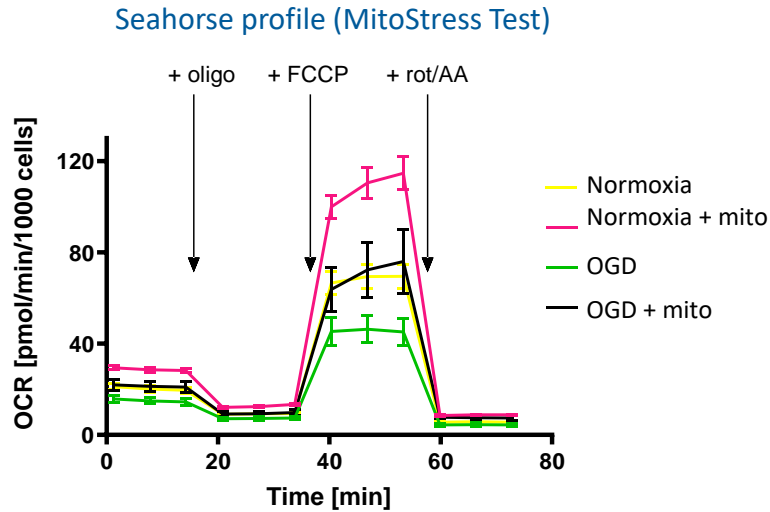
Nelly Buron, Cécile Martel, Léa Zennaro, Mathieu Porceddu, and Annie Borgne-Sanchez  
MITOLOGICS SAS, Faculté de Santé, 8 rue du Général Sarrail, 94000 Créteil, France

- Mitochondrial impairment constitutes the principal cause of tissue damage related to ischemia-reperfusion
- What is the potential of mitochondrial transplantation to overcome mitochondrial default ?
- *in vitro* model of renal ischemia-reperfusion : oxygen and glucose deprivation (OGD) during 26 h in porcine kidney LLC-PK1 cells, followed by 16 h-reperfusion
- Fresh mitochondria isolated from mouse liver added during reperfusion

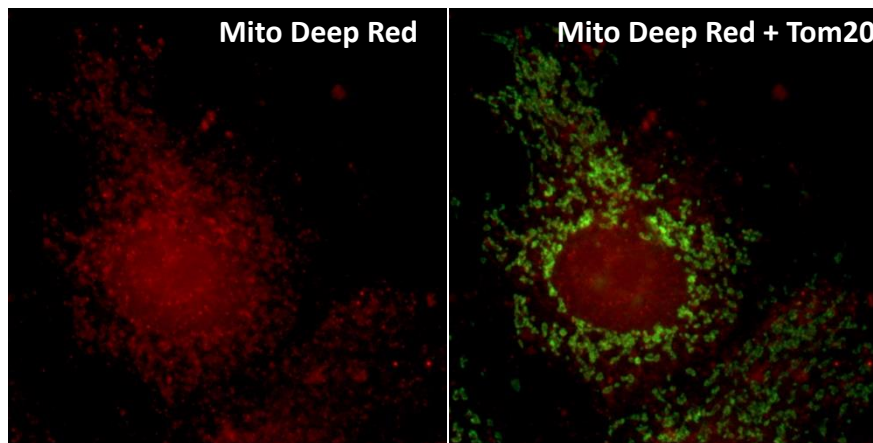


# Mitochondria transplantation enhanced significantly respiration capacity

Oxygen consumption measured using Seahorse - LLC-PK1 cells after ischemia-reperfusion vs normoxia



Mitochondria labelled with Mito Deep Red before to be added on LLC-PK1 cells labelled with Tom20 (15 min incubation + 15 min chase)



Fresh mitochondria integrated into cells after 15 min-incubation and were able to restore oxygen consumption in renal ischemia-reperfusion model.



For further information, contact [info@mitologics.com](mailto:info@mitologics.com)

and visit [www.mitologics.com](http://www.mitologics.com)

Mitologics

Ambitious molecules deserve  
**powerful assays**

**THANK YOU!**



Contribution ID: 4

Type: **Communication "flash"**

## Un nouveau variant homozygote de MFN2 cause une encéphalopathie anténatale sévère par une atteinte majeure de la fusion des mitochondries

Les variants pathogènes du gène MFN2 sont généralement associés à la maladie de Charcot-Marie-Tooth, une neuropathie périphérique autosomique dominante (CMT2A2A) ou récessive (CMT2A2B), avec la possibilité d'atteinte du système nerveux central. Nous présentons ici un cas d'encéphalopathie anténatale sévère avec une lissencéphalie, une polymicrogyrie et atrophie cérébelleuse. Le séquençage du génome a révélé une délétion homozygote du gène MFN2 c.1717-274\_1734 del (NM\_014874.4) entraînant un saut de l'exon 16 et la perte de 50 acides aminés (p.Gln574\_Val624del) ce qui élimine le domaine riche en proline et le domaine transmembranaire 1 (TM1) de la protéine MFN2. MFN2 est une GTPase transmembranaire de la membrane externe mitochondriale qui permet la fusion des mitochondries et favorise la formation de vastes réseaux de mitochondries à l'intérieur des cellules. La modélisation *in silico* de ce variant indique que la perte du domaine TM1 conduit à une profonde modification de l'insertion de la protéine dans la membrane externe. Les études par microscopie fluorescente, vidéomicroscopie et microscopie électronique des fibroblastes de fœtus ont montré une modification majeure du réseau mitochondrial, avec la présence d'amas de mitochondries incapables de fusionner. Les analyses biochimiques ont également montré un déficit multiple des complexes de la chaîne respiratoire avec une atteinte importante du complexe I, sans que l'instabilité de l'ADN mitochondrial ne soit en cause. Il s'agit du premier cas rapporté d'un défaut sévère du développement dû à un déficit en MFN2 avec une atteinte majeure de la dynamique des mitochondries par agglutination.

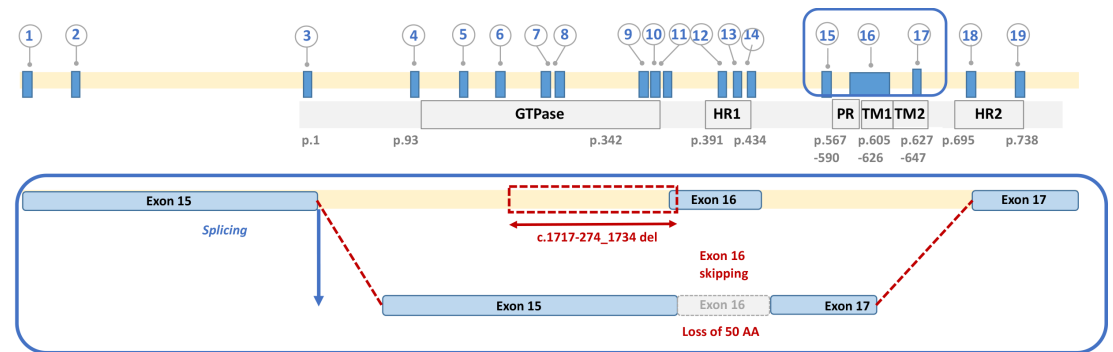
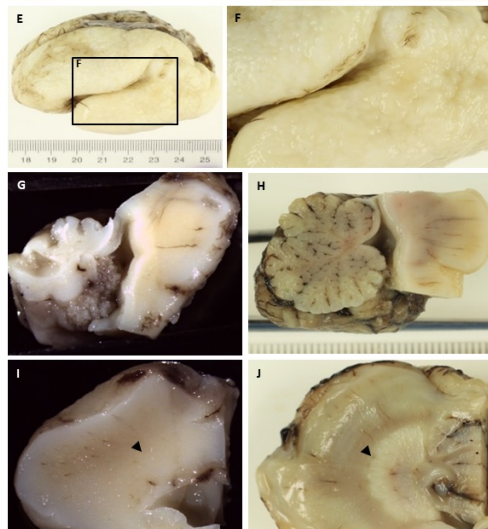
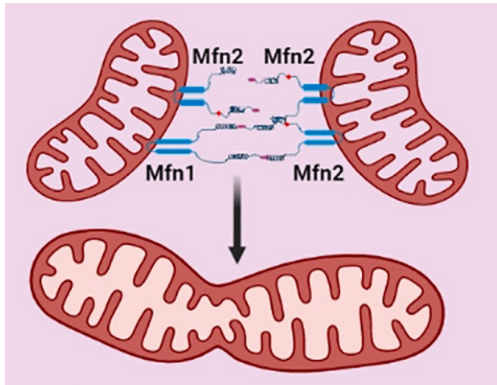
**Auteur principal:** Dr CHEVROLLIER, arnaud (Université d'Angers, MitoLab, MitoVasc,)

**Co-auteurs:** Dr BONNARD, Adeline Alice (APHP Nord, Robert Debré Centre Hospitalier Universitaire, Département de Génétique, Paris, France ); RUAUD, Lyse (APHP Nord, Robert Debré Centre Hospitalier Universitaire, Département de Génétique, Paris, France ); GUEGUEN, Naïg; LAURENCE, Perrin; VALÉRIE, Desquiret-Dumas; GUIMIOT, Fabien (Université Paris-Cité, INSERM UMR 1141, NeuroDiderot, Paris, France.); BECKER, Pierre-Hadrien (Laboratoire de biologie médicale multisite SeqOIA - FMG2025, Paris, France.); REYNIER, Pascal; LEVY, Jonathan (APHP Nord, Robert Debré Centre Hospitalier Universitaire, Département de Génétique, Paris, France ); GAIGNARD, Pauline (Laboratoire de biologie médicale multisite SeqOIA - FMG2025, Paris, France.)

**Orateur:** Dr CHEVROLLIER, arnaud (Université d'Angers, MitoLab, MitoVasc,)

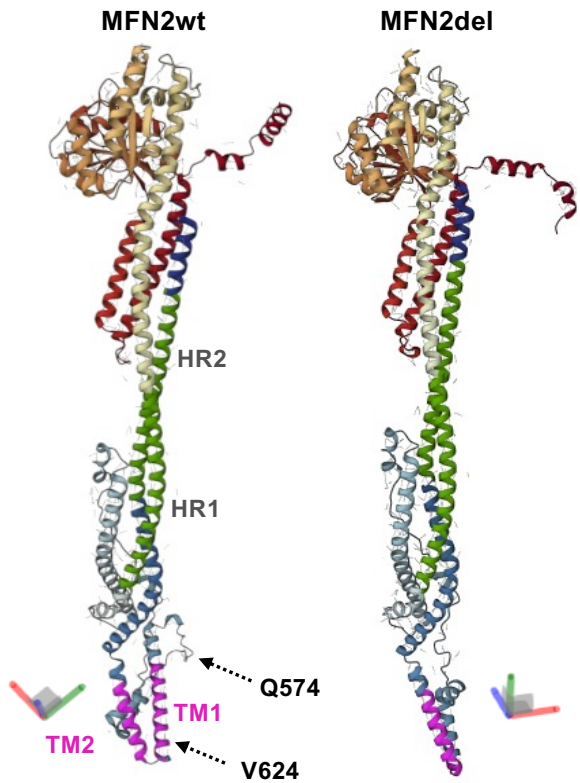
# Un nouveau variant homozygote de **MFN2** cause une encéphalopathie anténatale sévère par une atteinte majeure de la fusion des mitochondries

A. Chevrollier, A. Alice Bonnard, L. Ruaud, N. Gueguen, L. Perrin, V. Desquiret-Dumas, F. Guimiot, P-H Becker, J. Levy, P Reynier, P. Gaignard



saut de l'exon 16 et la perte de 50aa

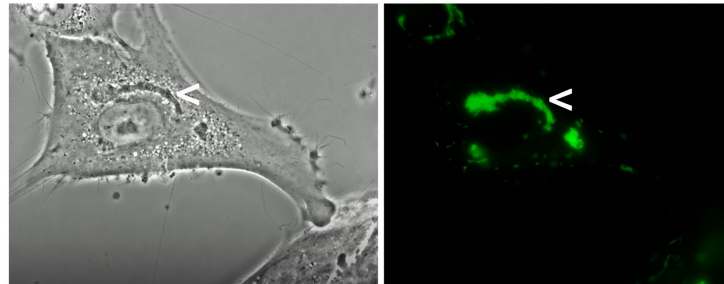
IMG à 31SA, microcéphalie et lissencéphalie



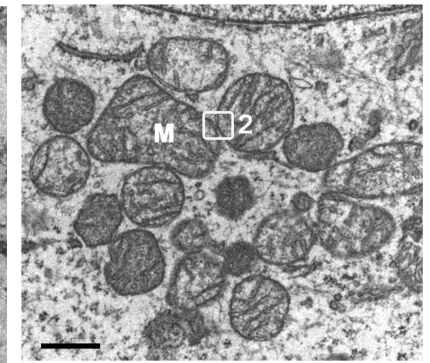
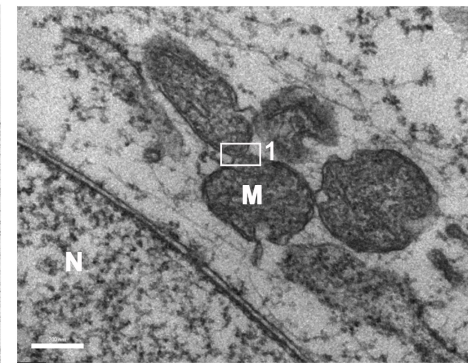
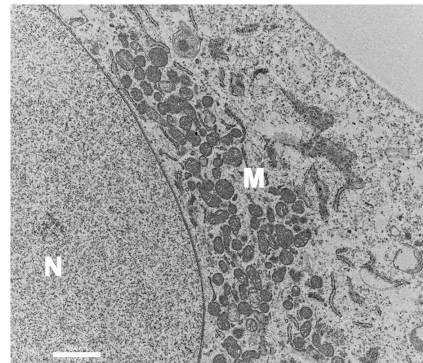
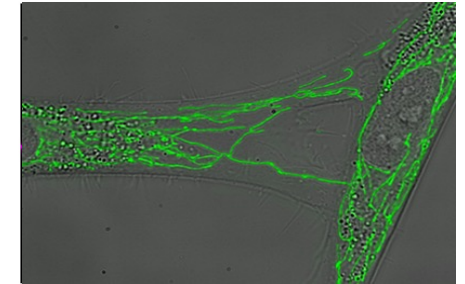
modification majeure du réseau mitochondrial, avec la présence d'amas de mitochondries incapables de fusionner.

déficit multiple des complexes de la chaîne respiratoire avec une atteinte importante du complexe I.

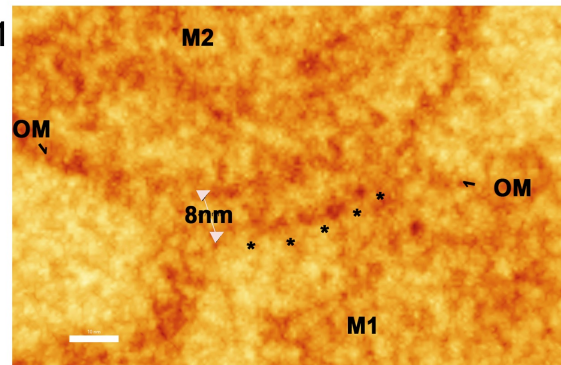
Fibroblastes patient



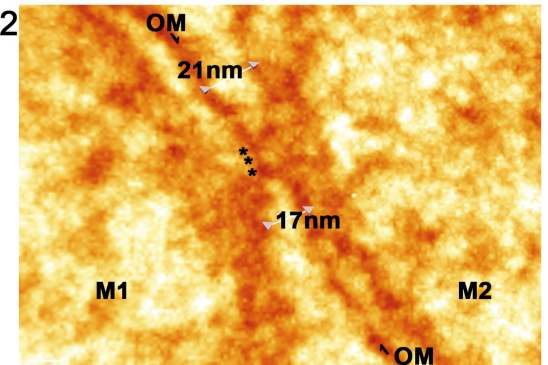
témoins



Zoom 1



Zoom 2



Contribution ID: 5

Type: **Communication "flash"**

## Potentiation of radiotherapy through mitophagy inhibition and induced oxidative stress

When cells are exposed to radiations, a downstream effect is an oxidative stress due to an increase in free radical production (ROS). These ROS engender lesions ranging from DNA to mitochondria. While the mechanisms related to the development and repair of the DNA damages are widely studied, the ones concerning mitochondria remain poorly investigated. Defective mitochondria are recycled, among other means, by mitophagy, a selective type of autophagy (cytoprotective).

Therefore, we aim to study the effects of radiations (protons and X-rays as reference) on mitochondria and the mitophagy mechanism in cancerous cells.

To do so, A549 NSCLC cell line was irradiated using a pristine beam of 25 keV/ $\mu\text{m}$  protons produced by the Altais accelerator of UNamur and a 225 kVp X-ray irradiator (X-RAD 225 XL, PXi, USA). The doses delivered were 10 GyRBE and 0 Gy (CTL) for protons and 10 GyRBE, 2 GyRBE and 0Gy for X-rays. The mitochondrial abundance and the autophagic flux were then assessed.

An increase in the mitochondrial DNA content was observed 24h to 72h post irradiation but no significant difference could be evidence at the protein level between irradiated and control cells. However, we noticed a slight increase in the LC3-II (an autophagic marker) abundance in cells exposed to 10GyRBE X-rays 72 h post-irradiation, results that are correlated with a decrease in the abundance of P62 (a target of autophagy). The same tendency was observed until 48 h for protons. Moreover, an increase in the number of LC3 foci was evidenced between 12h and 48h after proton irradiation and a part of these LC3 foci colocalize with ATPs $\beta$  signal (mitochondrial marker).

This could be consistent with our hypothesis of mitophagy induction after exposition to ionizing radiation. A long-term perspective could be the inhibition of mitophagy to sensitizing cells to radiations.

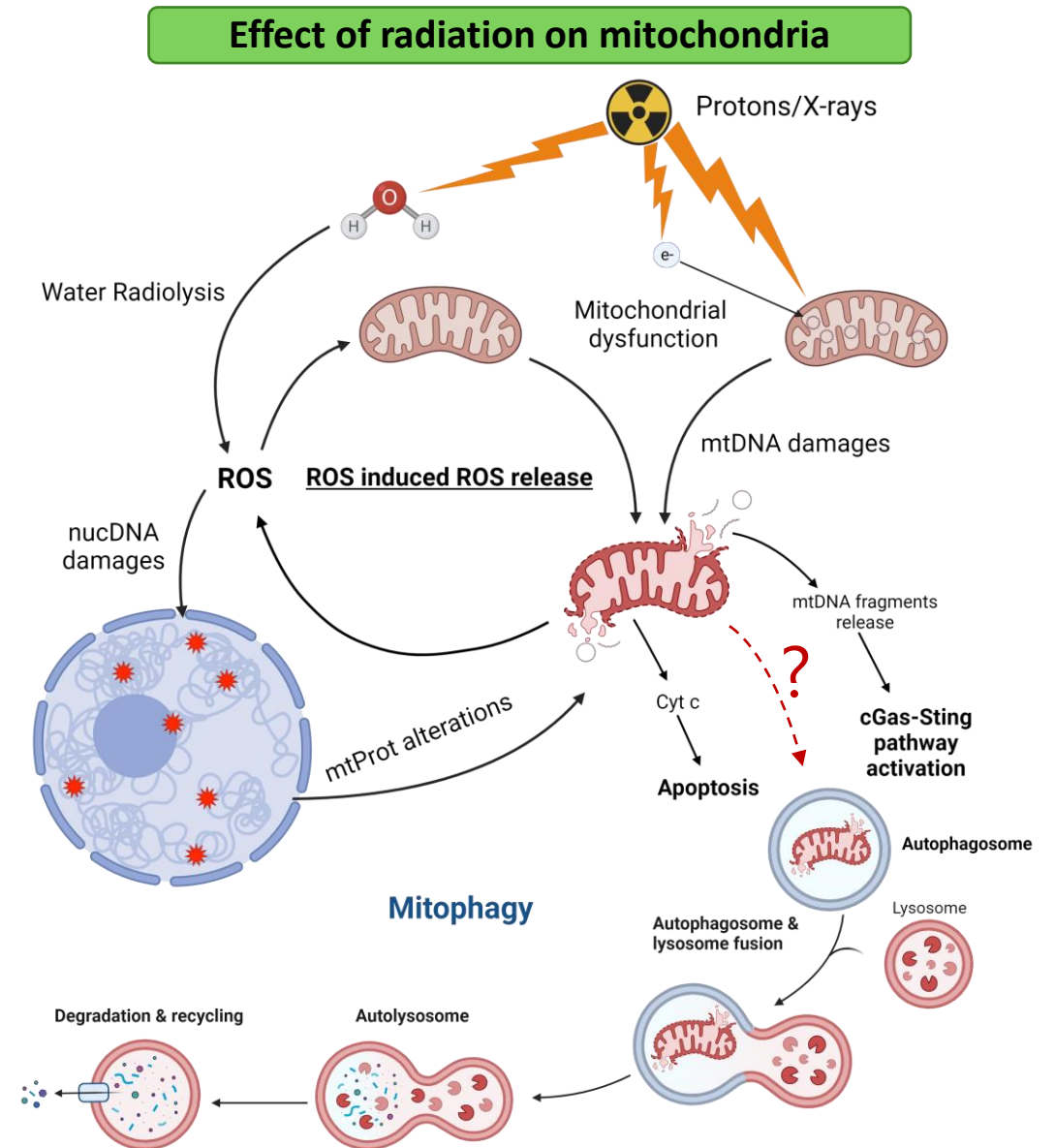
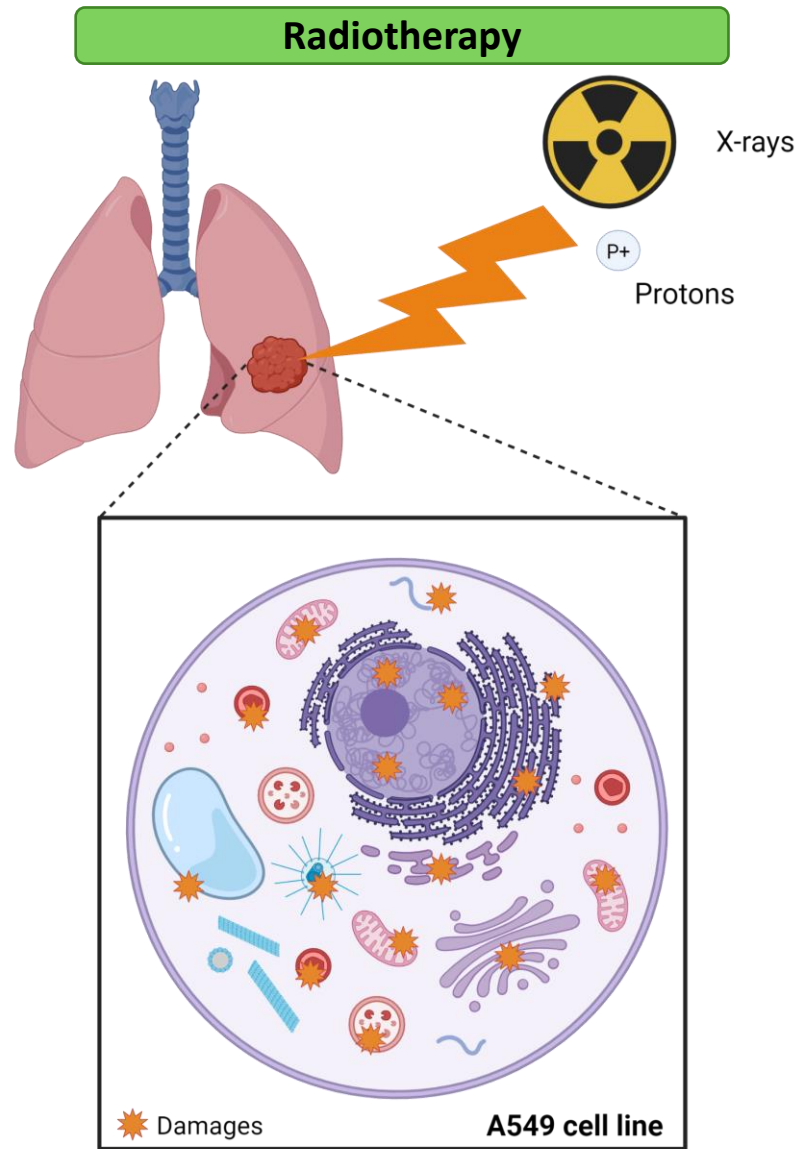
**Auteur principal:** M. LOPOPOLO, Giacomo (Narilis - Unamur)

**Co-auteurs:** Prof. ARNOULD, Thierry (Narilis - Unamur); Prof. HEUSKIN, Anne-Catherine (Narilis - Unamur)

**Orateur:** M. LOPOPOLO, Giacomo (Narilis - Unamur)

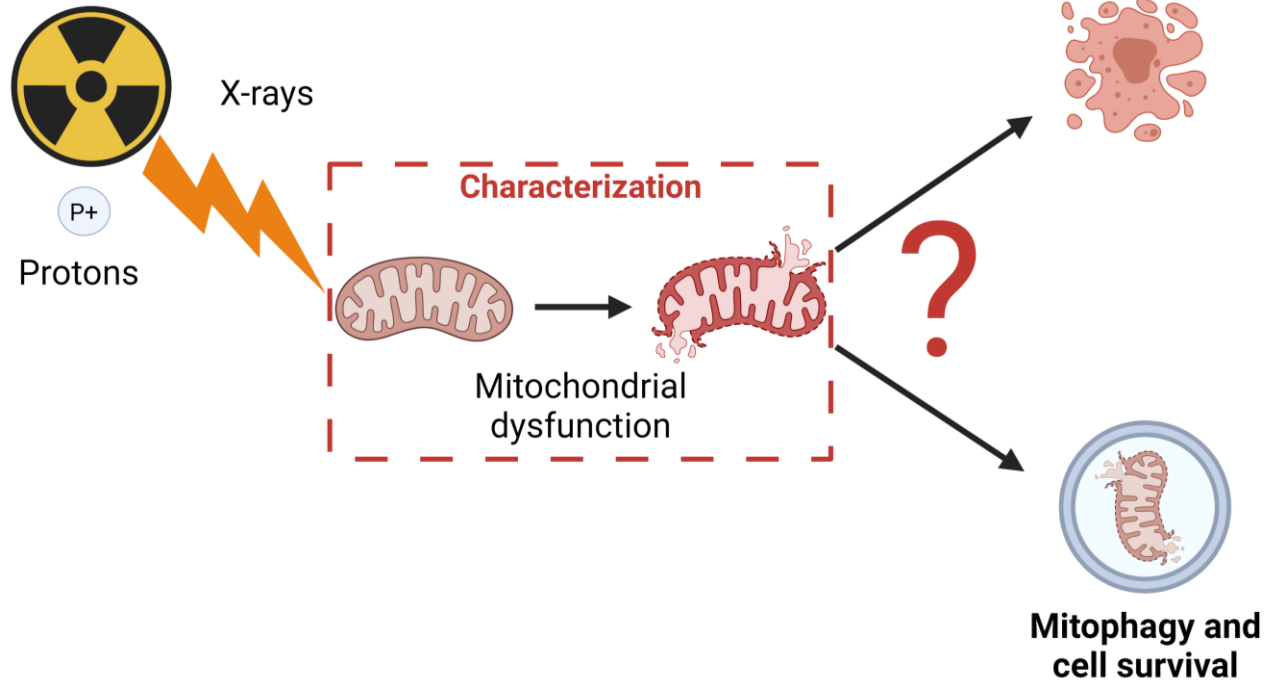


# Potentialiation of radiotherapy through mitophagy inhibition and induced oxidative stress

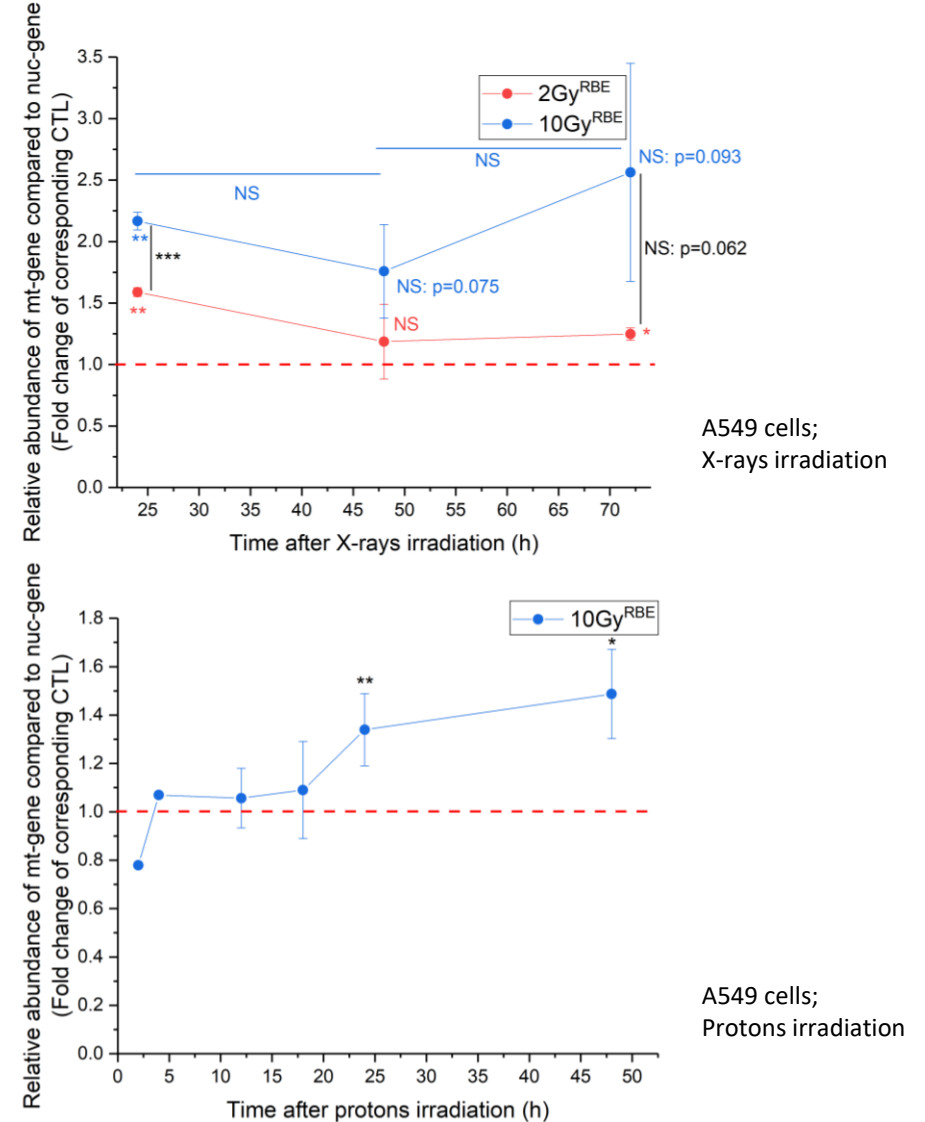


# Potentialiation of radiotherapy through mitophagy inhibition and induced oxidative stress

## Work Objectives



## An increase in mtDNA content is observed after irradiation





Contribution ID: 6

Type: **Communication "flash"**

## **Etude des avantages thérapeutiques de progéniteurs hépatiques (HALPC) médiés par des interactions intercellulaires dans un contexte de NAFLD/NASH.**

La stéatose hépatique non-alcoolique (non-alcoholic fatty liver diseases, NAFLD) touche jusqu'à 40% de la population des pays occidentaux et les stratégies thérapeutiques actuelles ne sont guère convaincantes. Plusieurs acteurs cellulaires sont impliqués dans la NAFLD/NASH. Entre autres, les cellules stellaires hépatiques peuvent être activées par les hépatocytes en souffrance et les cellules immunitaires activées, pour ensuite se transdifférencier en myofibroblastes initiant la fibrose par remodelage de la matrice extracellulaire.

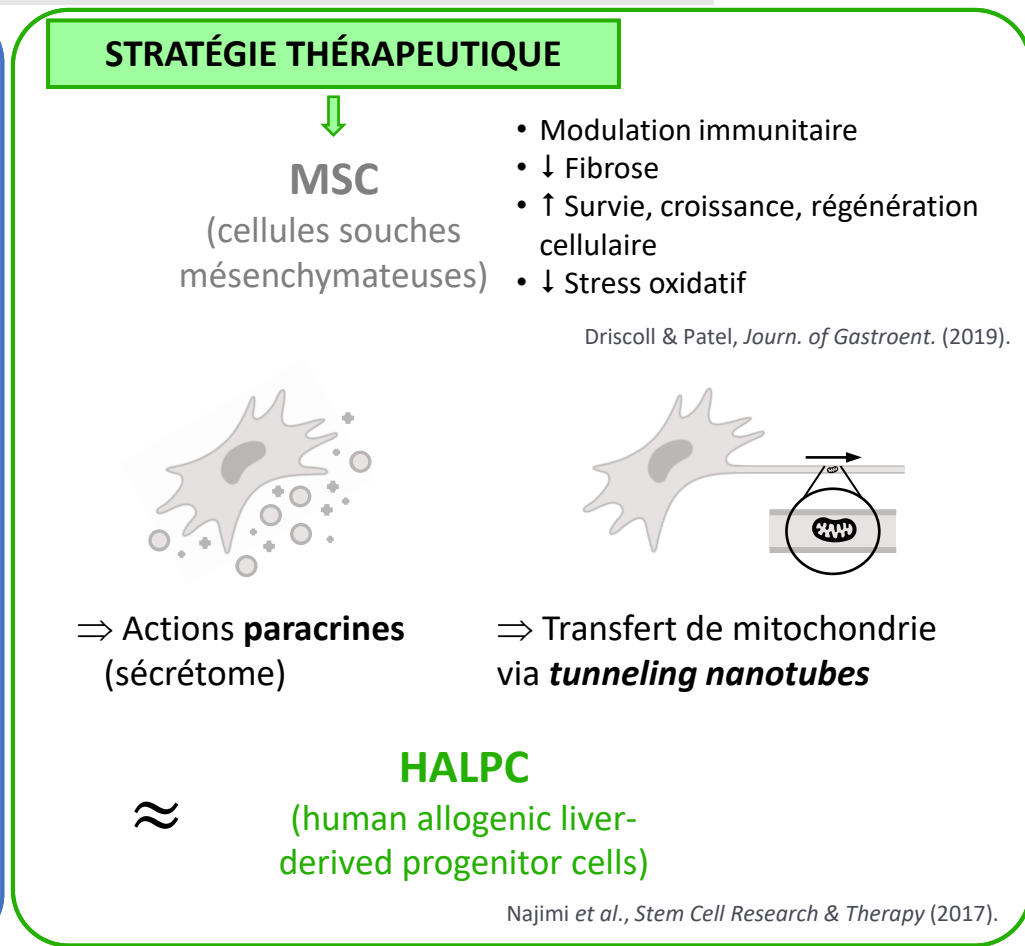
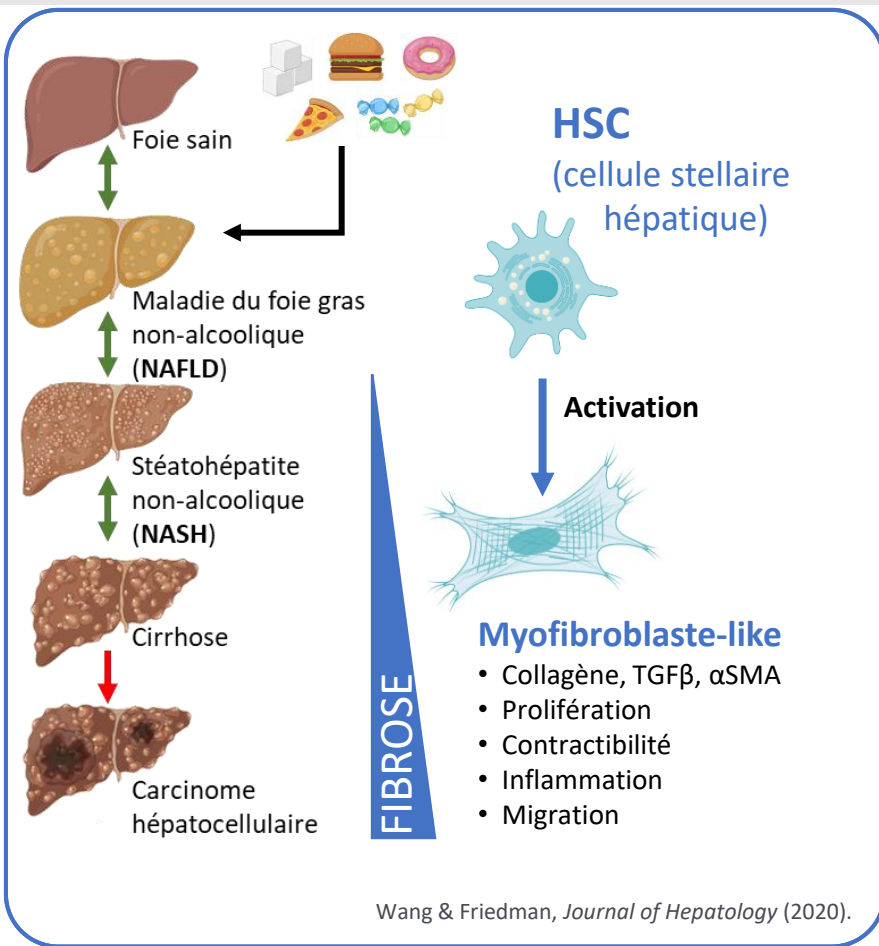
Les cellules souches mésenchymateuses (MSC) ont été démontrées comme dotées d'effets bénéfiques anti-inflammatoires, pro-régénératifs et anti-fibrotiques dans plusieurs modèles pathologiques, notamment dans le foie. Des actions paracrines et le transfert de mitochondrie ont tous deux été rapportés. Nous souhaitons donc investiguer les avantages thérapeutiques des HALPC (human allogenic liver-derived progenitor cells), une technologie développée par Cellion, exhibant des propriétés similaires aux MSC. Pour cela, nous voulons étudier le sécrétome d'HALPC placées en conditions pro-inflammatoires et en coculture avec des HSC et de tenter d'observer un transfert de mitochondries, s'il a lieu, des HALPC vers le type cellulaire en souffrance, de façon à évaluer les effets putatifs bénéfiques des HALPC dans un contexte de NAFLD/NASH. A notre connaissance, l'étude des interactions entre MSC ou HALPC et les HSC demeure un sujet original qui pourrait ouvrir la voie à de nouvelles thérapies pour les patients souffrant de NAFLD/NASH et fournir des données inédites concernant la communication intercellulaire.

**Auteur principal:** Mlle FELLER, Louise (URBC, Université de Namur)

**Co-auteurs:** Prof. RENARD, Patricia (URBC, Université de Namur); Prof. ARNOULD, Thierry (URBC, Université de Namur)

**Orateurs:** Mlle FELLER, Louise (URBC, Université de Namur); Prof. ARNOULD, Thierry (URBC, Université de Namur)

# Etude des avantages thérapeutiques de progéniteurs hépatiques (HALPC) médiés par interactions intercellulaires dans un contexte de NAFLD/NASH

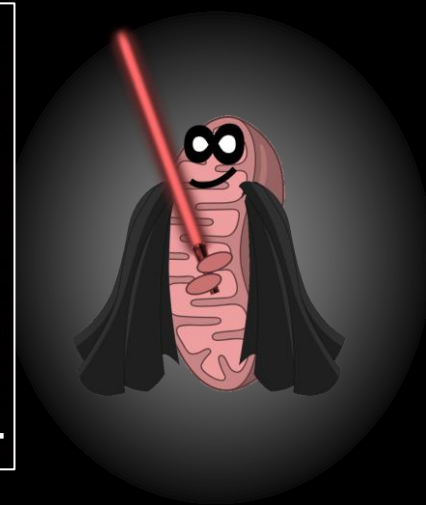
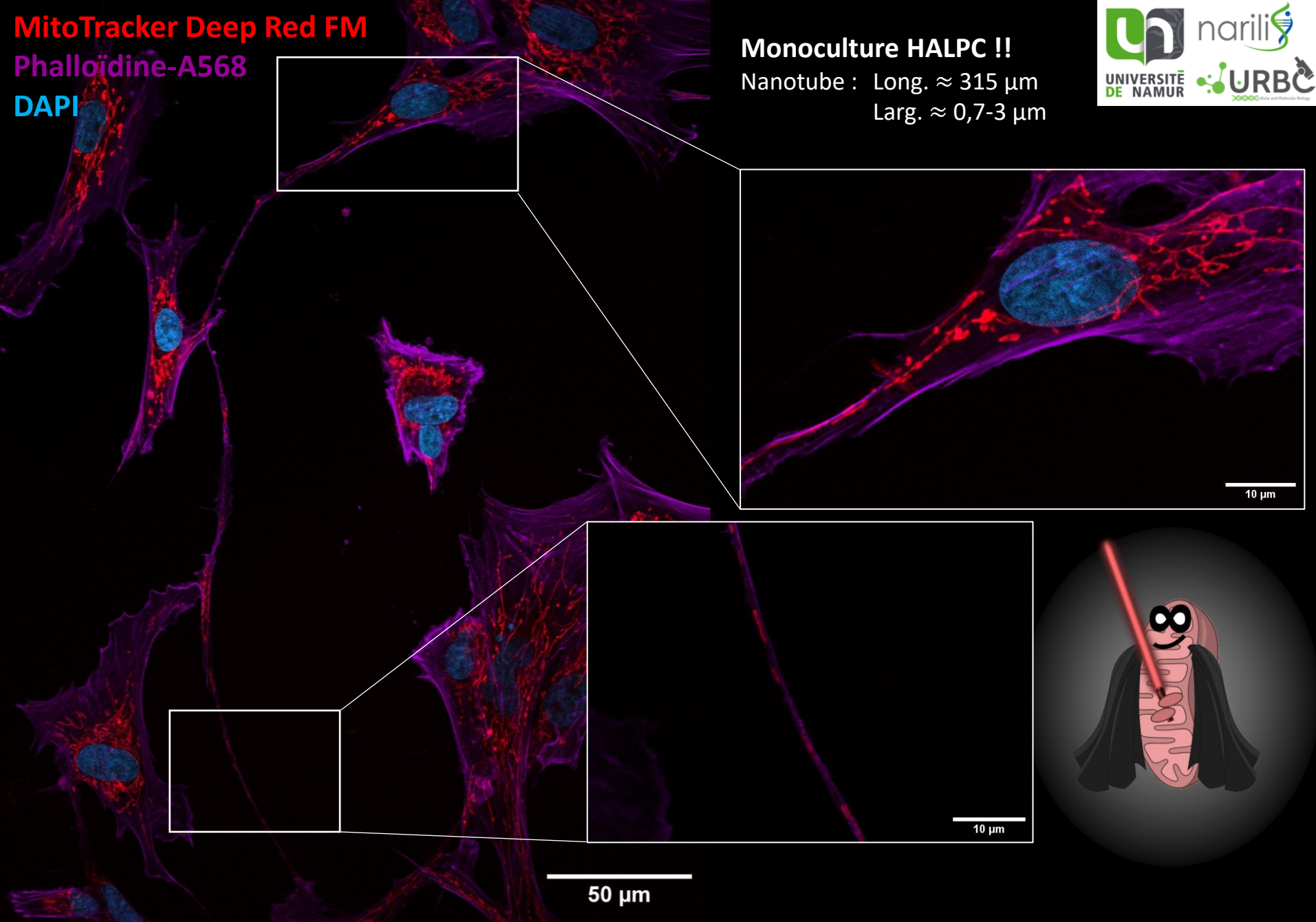


- 1 Etudier le sécrétome des HALPC en conditions pro-inflammatoires et en coculture avec des HSC.
- 2 Confirmer l'occurrence de transfert de mitochondrie des HALPC vers les HSC.
- 3 Evaluer les effets bénéfiques putatifs chez les HSC suite à une coculture avec des HALPC.

**MitoTracker Deep Red FM**  
**Phalloïdine-A568**  
**DAPI**

**Monoculture HALPC !!**

Nanotube : Long.  $\approx 315 \mu\text{m}$   
Larg.  $\approx 0,7-3 \mu\text{m}$



Contribution ID: 7

Type: **Communication "flash"**

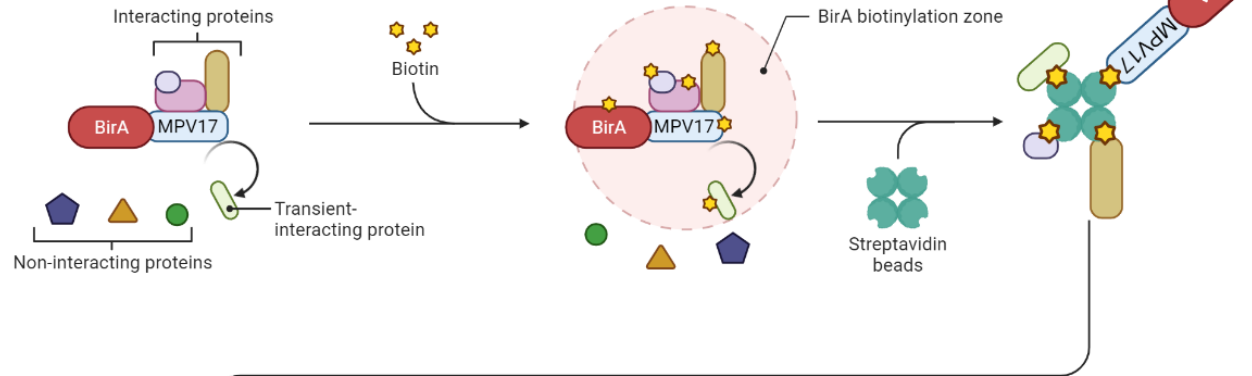
## Undermining MPV17 function through BioID-based characterization of its proxisome

The inner mitochondrial membrane protein MPV17 has been described to be involved in rare human mitochondrial diseases associated with mitochondrial DNA (mtDNA) maintenance defects. However, the mechanistic link between MPV17 and mtDNA maintenance is still lacking even though several functions have been suggested for this protein and, for example, would act as cation channel of the inner membrane. By using a proximity-labeling approach we discovered additional clues regarding MPV17 proxisome from which we drew new hypotheses. First of all, the protein seems to interact directly with the MICOS complex without being directly involved in cristae formation as no defect of mitochondrial ultrastructure could be observed in MPV17 KO cells. Second, a higher secretion of mtDNA is observed in KO cells and, finally, the protein is closely linked to the mtDNA as a depletion is observed in KO cells. Interestingly, a significantly higher rate of mitophagy is concomitantly observed in those KO cells and could be the reason of the depletion, together with the higher secretion. Surprisingly and in accordance with previous research, in silico modelling of the protein could be done and support the hypothesis of a calcium channel. We thus came up with a new model with MPV17 acting as a calcium export channel which could fine-tune the opening of the mPTP through calcium concentration modulation and control the exit of mitochondrial DNA under the form of mitochondrial derived vesicles (MDVs) which could be further secreted out of the cells. Under physiological conditions the protein could thus be involved in the mtDNA quality-control triggering the removal of damaged mtDNA out of the mitochondria thanks to MDVs and the control of mitochondrial calcium level. However, under pathophysiological conditions, the accumulation of calcium inside the mitochondria could trigger a constant degradation and/or secretion of mtDNA-containing MDVs.

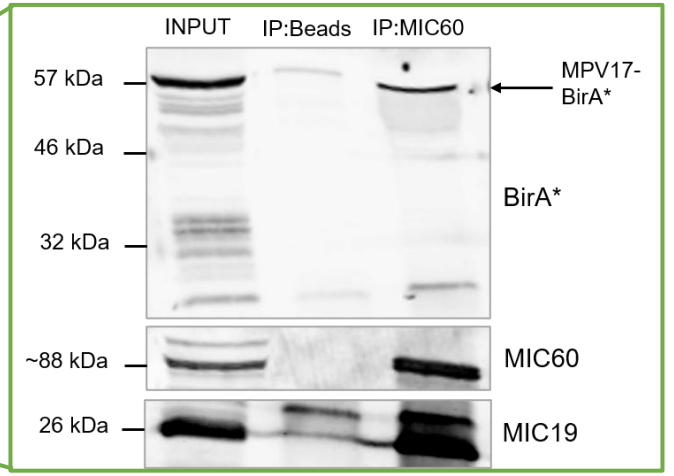
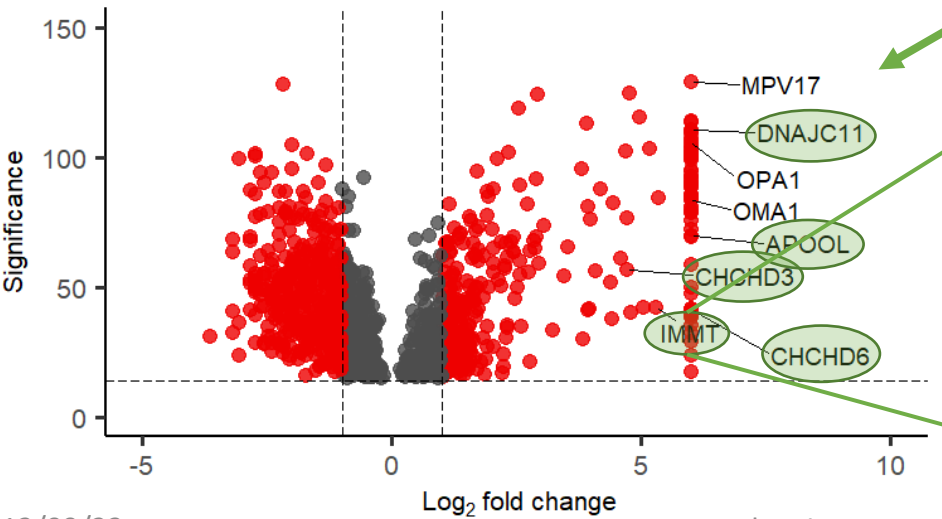
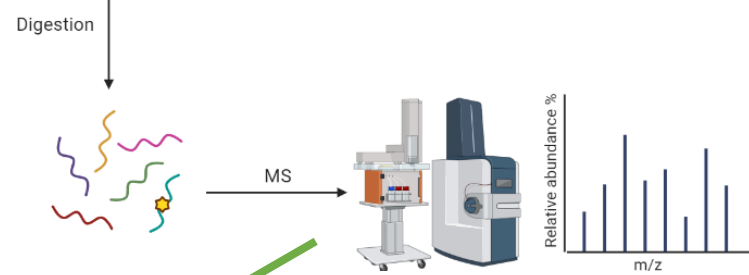
**Auteurs principaux:** M. MEURANT, Sébastien (Unité de Recherche en Biologie Cellulaire, UNamur); Prof. RENARD, Patricia (Unité de Recherche en Biologie Cellulaire, UNamur)

**Orateur:** Prof. RENARD, Patricia (Unité de Recherche en Biologie Cellulaire, UNamur)

# MPV17 BioID screening



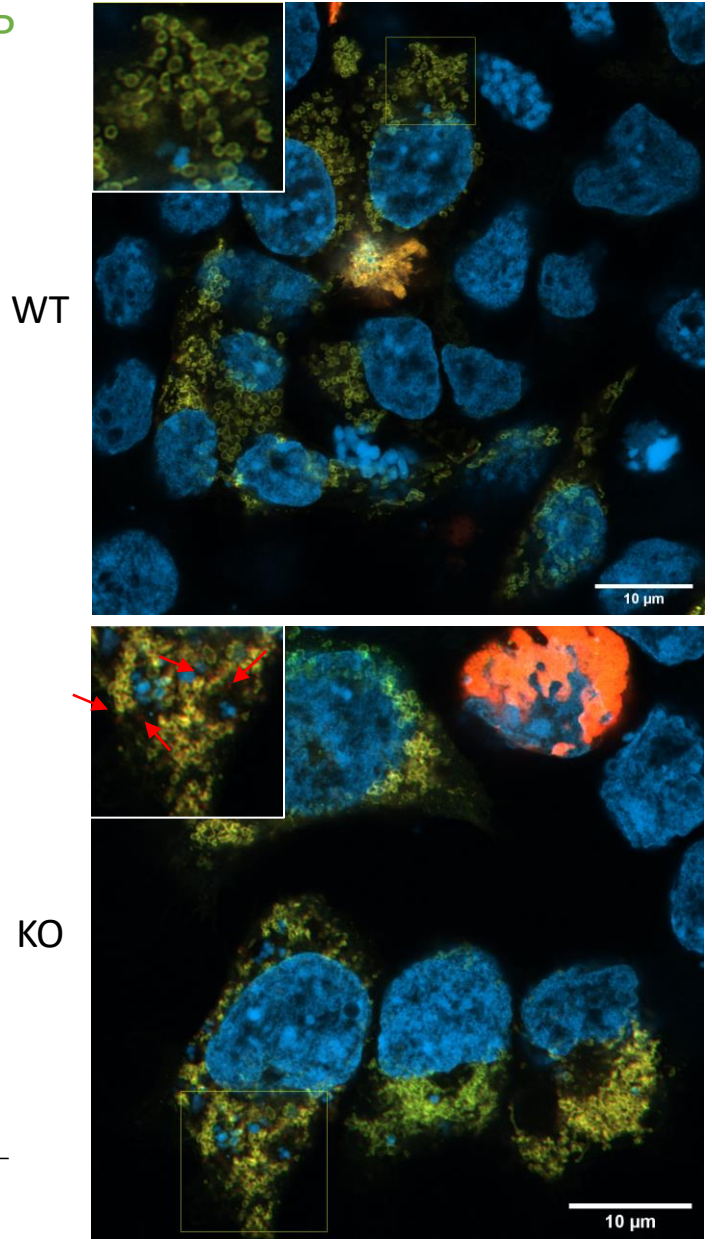
- MDDS associated disease
- Association of MPV17 with the MICOS
- No apparent function in cristae maintenance or formation



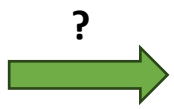
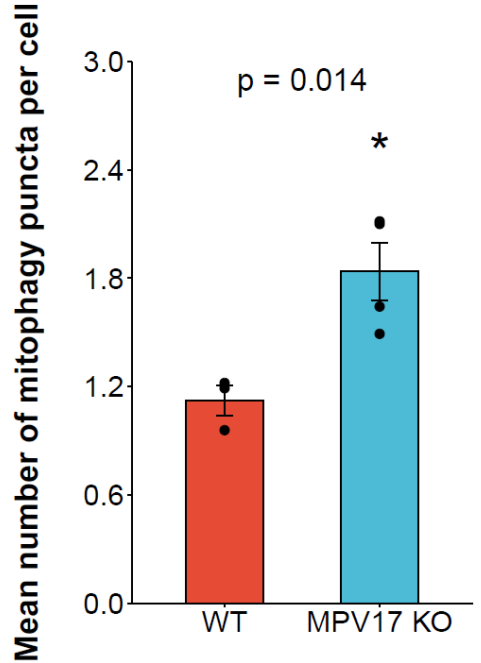
# Degradation of mtDNA molecules

pFis1-mCherry-GFP

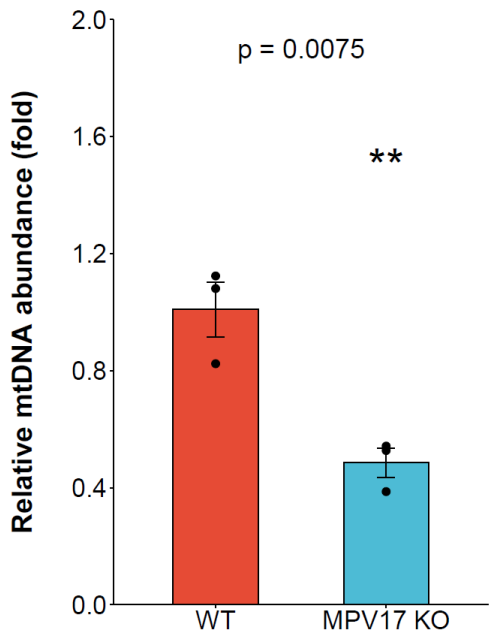
- Higher secretion of mtDNA in the supernatant of KO cells (ongoing)
- Mitophagy/secretion as the cause of the mtDNA depletion observed in KO cells?



## Higher mitophagy



## mtDNA depletion





Contribution ID: 8

Type: **Communication "flash"**

## La mutation R107Q de mtSSB altère la compaction de l'ADN simple-brin et la dynamique de liaison à l'ADN

L'ADN mitochondrial code pour des protéines clés de la chaîne respiratoire, source principale d'énergie cellulaire. De nombreux facteurs sont impliqués dans la maintenance de ce génome, afin d'en assurer la répllication fidèle et de le protéger d'éventuels dommages. L'un des acteurs clés de la répllication de l'ADN mitochondrial est la protéine mitochondriale de liaison à l'ADN simple-brin mtSSB. En effet, cette protéine stabilise l'ADN simple-brin formé aux fourches de répllication, et stimule l'activité de l'hélicase mitochondriale ainsi que la processivité de la polymérase. Récemment, plusieurs mutants pathogéniques de mtSSB ont été identifiés, mais les rôles de ces mutations dans la pathogénicité ne sont pas encore élucidés.

Différentes hypothèses pourraient expliquer les mécanismes moléculaires de la maladie, comme une déstabilisation du tétramère mtSSB ou une perturbation des interactions de mtSSB avec l'ADN ou avec d'autres protéines. Nous nous sommes focalisés sur l'étude du mutant R107Q, qui présente l'un des phénotypes les plus graves parmi les mutants identifiés.

Nous avons d'abord analysé l'état oligomérique de R107Q et constaté qu'il forme des tétramères stables. En utilisant la microscopie de fluorescence à l'échelle de la molécule unique et la spectroscopie de force acoustique, des approches de biophysique permettant d'observer directement *in vitro* l'interaction de protéines recombinantes avec l'ADN, nous avons étudié la compaction de l'ADN simple-brin par mtSSB sauvage et mutant, et visualisé les interactions ADN-mtSSB. Nous avons également observé en temps réel la compétition entre mtSSB sauvage et R107Q sur l'ADN. Ces données ainsi que la structure cristallographique de R107Q sur l'ADN indiquent que le mutant pathologique de mtSSB R107Q a un défaut de compaction de l'ADN simple-brin et qu'il se dissocie rapidement en présence d'une forte concentration en sel comparé à mtSSB sauvage. Ces résultats suggèrent que la mutation R107Q affecte le mode de liaison de mtSSB à l'ADN.

**Auteurs principaux:** MARTUCCI, Martial (Laboratoire de Physique de Clermont (LPC)); MORETTON, Amandine (Laboratoire de Physique de Clermont, Université Clermont-Auvergne, France); Prof. FALKENBERG, Maria; Prof. SOLÀ, Maria; Dr FARGE, Géraldine; Dr VAN DEN WILDENBERG, Siet

**Orateur:** MORETTON, Amandine (Laboratoire de Physique de Clermont, Université Clermont-Auvergne, France)

Contribution ID: 9

Type: **Communication "flash"**

## Mitochondrial quinone redox state is a marker of mitochondrial metabolism

Cellular energy metabolism includes all the metabolic pathways involved in the production of ATP, necessary to ensure the main cellular functions. In aerobic cells, mitochondria produce most of the cellular ATP through the oxidative phosphorylation (OXPHOS). Reduced molecules, in particular NADH, are oxidized at the level of the respiratory chain within OXPHOS to generate ATP. The ATP/ADP and NADH/NAD<sup>+</sup> ratios are therefore important parameters regulating cellular metabolic activity. Quinones are lipophilic molecules embedded in the inner mitochondrial membrane (Q6 in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*) that transfer the electrons from the dehydrogenases to complex III. Their redox state depends on the functioning of OXPHOS. We study the redox state of mitochondrial quinones as a potential marker of the cellular redox state. In this context, based on previous works on plant mitochondria [1], we developed an indirect electrochemical method to monitor in real-time the redox state of quinones using coenzyme Q2 as a redox mediator. This measurement is associated with the mitochondrial oxygen consumption.

Our results on isolated mitochondria from *S. cerevisiae* have revealed that stimulation of respiration by addition of respiratory chain substrates (glycerol-3-phosphate, succinate, ethanol,  $\alpha$ -ketoglutarate, pyruvate/malate) induced a substrate-dependant increase in the quinones reduction state. In the phosphorylating state (in the presence of ADP), while respiration is stimulated for all the substrates, the redox state of quinones varies depending on the substrates. It would appear that the phosphorylation at the substrate level in the Krebs cycle [3] is at the origin of this modulation of the response of the quinones redox state. In conclusion, the analysis of the redox state of mitochondrial quinones allows the analysis of mitochondrial metabolic activity. Future analyzes will be transposed to whole *S. cerevisiae* cells to better understand this parameter in the context of cellular redox metabolism involved in the carcinogenic Warburg effect.

**Auteurs principaux:** Mlle MARTINS PINTO, Mélanie (IBGC, University of Bordeaux, 33077 Bordeaux, France ); PAUMARD, Patrick (IBGC, University of Bordeaux, 33077 Bordeaux, France ); Dr RIGOLET, Michel (IBGC, University of Bordeaux, 33077 Bordeaux, France ); Dr ARBAULT, Stéphane (CBMN, University of Bordeaux, 33600 Pessac, France); DEVIN, Anne (CNRS)

**Orateur:** Mlle MARTINS PINTO, Mélanie (IBGC, University of Bordeaux, 33077 Bordeaux, France )

Contribution ID: 10

Type: **Communication "flash"**

## Rôle de la protéine MICU2 dans le développement du cancer colorectal

Des données récentes de la littérature soulignent le rôle du calcium ( $\text{Ca}^{2+}$ ) au niveau des mitochondries dans le développement du cancer colorectal (CCR). L'uniporteur de  $\text{Ca}^{2+}$  mitochondrial (MCU) joue un rôle prépondérant dans l'absorption du  $\text{Ca}^{2+}$  intra-mitochondrial. Il fonctionne comme un grand complexe multimoléculaire composé de protéines formant le pore et de protéines régulatrices (MICU1, MICU2, MICU3 et EMRE). L'ensemble de ces protéines régulatrices associées à MCU reste peu évalué en cancérologie.

L'objectif principal de notre étude a été de déterminer le rôle de MICU2 dans la progression cancéreuse et l'impact sur l'activité métabolique dans le CCR.

Nous avons analysé l'expression génique des protéines MICU dans la base de données The Cancer Genome Atlas (TCGA). Nous avons généré des lignées cancéreuses coliques HCT116 KO pour MICU2. Nous avons évalué les conséquences de la perte de MICU2 sur l'influx de  $\text{Ca}^{2+}$  mitochondrial. Les processus de prolifération et de migration ont été évalués dans des modèles cellulaires. La respiration cellulaire a été mesurée sur Seahorse. L'utilisation d'inhibiteurs sélectifs des voies métaboliques nous a permis de discriminer les voies préférentielles liées à l'expression et l'activité de MICU2. Finalement, nous avons validé nos résultats dans un modèle de xénogreffe.

MICU2 régule significativement la prolifération et la migration du CCR. Il augmente la quantité de  $\text{Ca}^{2+}$  mitochondrial. Il permet le bon fonctionnement de la chaîne respiratoire en favorisant la phosphorylation oxydative au détriment de la glycolyse. MICU2 favorise l'utilisation du pyruvate mitochondrial et la  $\beta$ -Oxydation des acides gras dans le processus de prolifération cellulaire.

Nous montrons pour la première fois le rôle de MICU2 dans le CCR. A plus long terme, les avancées des connaissances dans ce domaine pourraient permettre d'offrir de nouvelles perspectives aux patients en termes de biomarqueurs ou de ciblage thérapeutique.

**Auteurs principaux:** ROBERT, Alison (Inserm UMR1069 N2C); CROTTÈS, David; BOURGÉAIS, Jérôme (CNRS EMR 7001 LNOx); GUEGUEN, Naïg; CHEVROLLIER, Arnaud (Université d'Angers); DUMAS, Jean-François (Inserm UMR1069, Université de Tours); HÉRAULT, Olivier (CNRS EMR 7001 LNOx); LECOMTE, Thierry; VANDIER, Christophe; RAOUL, William (Inserm U1069 N2C - Université de Tours); GUÉGUINO, Maxime (UMR 1069 Nutrition Croissance et Cancer)

**Orateur:** ROBERT, Alison (Inserm UMR1069 N2C)

Contribution ID: 11

Type: **Communication "flash"**

## Interconnection entre apoptose et mitophagie

La vie de la cellule repose sur un fragile équilibre entre mort et survie. Si l'équilibre est rompu, cela peut se traduire par l'apparition de cancers ou de maladies neurodégénératives. La mitochondrie qui intègre divers signaux cellulaires joue un rôle important dans la réponse au stress et participe ainsi à la régulation de la prolifération et de la mort cellulaire. Le laboratoire s'intéresse aux réponses mitochondriales aux stress cellulaires et plus particulièrement à la mort cellulaire. Nous étudions notamment la voie d'apoptose mitochondriale induite par la surexpression de rbf1 (Retinoblastoma-family) dans un tissu en prolifération chez *Drosophila melanogaster* (Clavier et al., 2015). Ce mécanisme requiert l'intervention de protéines de la famille Bcl-2 telle que la protéine pro-apoptotique Debcl et nécessite la participation de modulateur de la dynamique mitochondriale tel que Drp1 (Dynamin-related protein 1). PINK1 (PTEN-induced putative Kinase 1) et Parkin, des protéines impliquées dans l'intégrité et la dynamique mitochondriale (Park et al. 2006), semblent moduler ce mécanisme. Ces protéines sont connues comme inductrices de mitophagie (autophagie spécifique permettant de maintenir l'intégrité mitochondriale) au même titre que BNIP3, une protéine présentant un rôle double : pro-mitophagie et pro-apoptotique. Chez *Drosophila* l'homologue de BNIP3, BBH1 (BAD/BNIP3 homologie 1, CG5059) est peu étudié. Notre travail vise à comprendre et à caractériser les connexions existant entre la mitophagie et la voie apoptotique. Pour cela nous nous intéressons aux rôles de BBH1 et PINK1 dans l'apoptose induite par rbf1.

**Auteurs principaux:** FAGES, Mélanie; Dr BRUSSON, Mégane; WINTZ, Christine; RINCHEVAL, Aurore (LGBC/ Université de Versailles); BOULEAU, Sylvina (UVSQ); GUÉNAL, Isabelle

**Orateur:** FAGES, Mélanie