



➤ Dans le cadre du module d'enseignement « Physiopathologie de la signalisation » proposé par l'université Paris-Saclay, les étudiants du Master « Biologie Santé » se sont confrontés à l'écriture scientifique. Ils ont sélectionné des articles scientifiques dans le domaine de la signalisation cellulaire présentant des résultats originaux, via des approches expérimentales variées, sur des thèmes allant de l'exploration des sites de contacts membranaires aux mécanismes moléculaires de la ferroptose, en passant par la signalisation hépatique et tumorale. Après un travail préparatoire réalisé avec l'équipe pédagogique, les étudiants, organisés en binômes/trinômes, ont ensuite rédigé, guidés par des chercheurs, une Nouvelle soulignant les résultats majeurs et l'originalité de l'article étudié. Ils ont beaucoup apprécié cette initiation à l'écriture d'articles scientifiques et, comme vous pourrez le lire, se sont investis dans ce travail avec enthousiasme ! ◀

Partenariat médecine/sciences - Écoles doctorales - Masters (56)

**L'actualité scientifique vue par
les étudiants du Master Biologie Santé,
module physiopathologie de la signalisation,
Université Paris-Saclay**

Équipe pédagogique

Karim Benihoud (professeur, Université Paris-Saclay)
Sophie Dupré-Crochet (maître de conférences, Université Paris-Saclay)
Olivier Guittet (maître de conférences, Université Paris-Saclay)
Philippe Robin (maître de conférences, Université Paris-Saclay)
karim.benihoud@universite-paris-saclay.fr
sophie.dupre@universite-paris-saclay.fr

université
PARIS-SACLAY

GRADUATE SCHOOL
Life Sciences
and Health

Série coordonnée par Sophie Sibérl.

NOUVELLE

La glutathionylation de la protéine mitochondriale humaine MIA40 régule l'homéostasie des ROS

Razika Arab¹, Julie Sitolle¹, Jessica Ziga²
Marie-Pierre Golinelli-Cohen³

¹M1 Biologie-Santé, Université Paris-Saclay,
91 000 Évry-Courcouronnes, France.

²M1 Biologie-Santé, Université Paris-Saclay,
91405 Orsay, France.

³Université Paris-Saclay, CNRS, Institut de chimie
des substances naturelles, UPR2301,
91198 Gif-sur-Yvette cedex, France.

arabrazika17@gmail.com

julie.sitolle@students.cri-paris.org

jessicaziga505@gmail.com

marie-pierre.golinelli@cns.fr

➤ La mitochondrie est un organe intra-cellulaire, entouré d'une double membrane, connu pour son rôle majeur dans le métabolisme énergétique de la cellule. Les maladies mitochondriales sont les maladies héréditaires du métabolisme les plus fréquentes et sont principalement dues à un dysfonctionnement de la chaîne respiratoire mitochondriale (CRM) [1]. La CRM est composée de quatre complexes enzymatiques, notés I à IV, enchâssés dans la membrane

interne de la mitochondrie, et de deux transporteurs mobiles, à savoir le cytochrome C et la coenzyme Q, qui permettent la production d'ATP. Chaque complexe agit comme une pompe à protons alimentée par une chaîne de transport d'électrons [2]. La mitochondrie est aussi directement impliquée dans la production et la régulation des espèces réactives d'oxygène (ROS). À de faibles concentrations, les ROS participent à de nombreuses fonctions physiologiques,

comme par exemple la différenciation cellulaire. Cependant, leur accumulation (stress oxydant) est observée dans diverses maladies, comme le cancer ou les maladies neurodégénératives [3, 4]. L'espace inter-membranaire (EIM) des mitochondries est enrichi en protéines contenant des motifs cystéines formant des ponts disulfures nécessaires à leur rétention. L'importation, le repliement et le maintien de ces protéines sont assurés par un unique système appelé relais

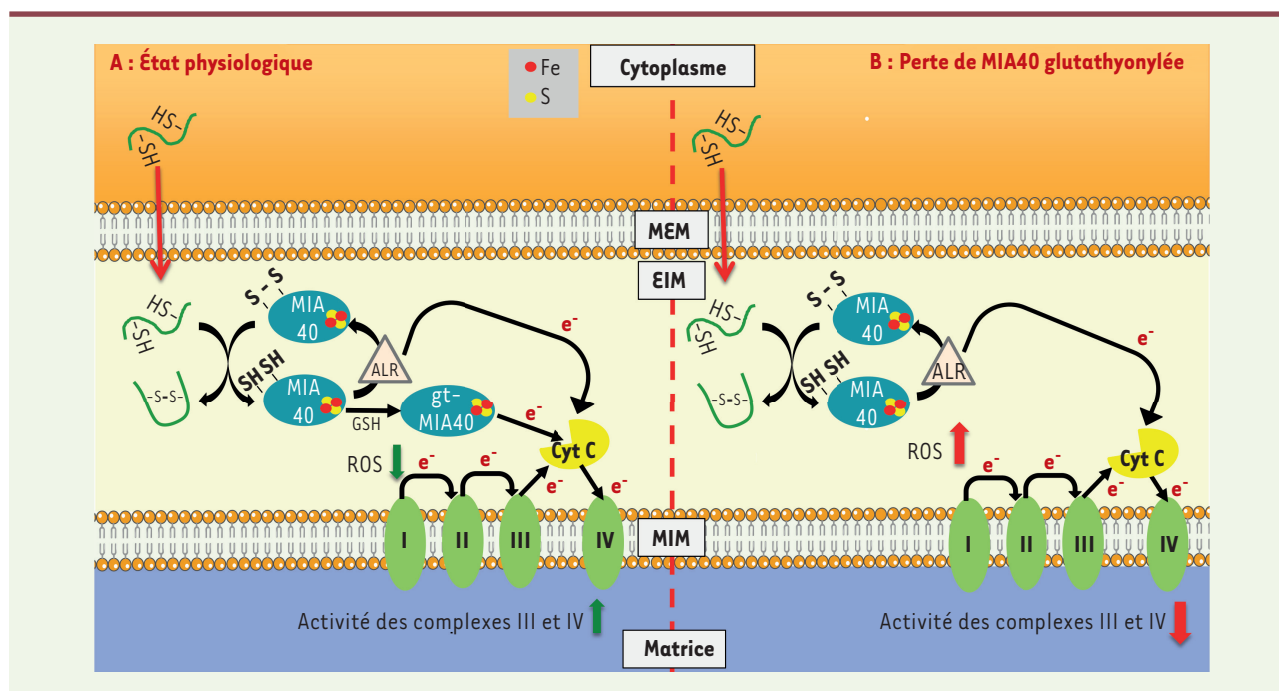


Figure 1. Régulation de MIA40 par la glutathionylation. **A.** En conditions physiologiques, les protéines sont importées dans la mitochondrie à travers la membrane externe mitochondriale (MEM). Dans l'espace intermembranaire (EIM), MIA40 introduit des ponts disulfures (S-S) dans ces substrats protéiques. La protéine ALR réoxyde ensuite MIA40 pour la recycler. Lorsque MIA40 possède son centre Fe-S (représenté par des ronds rouges et jaunes), elle peut être glutathionylée (gt-MIA40) par le glutathion (GSH) et transférer un électron (e^-) au cytochrome C, ce qui permet une activité normale des complexes III et IV de CRM enchâssés dans la membrane interne mitochondriale (MIM) et la diminution des ROS. **B.** L'absence de glutathionylation de MIA40 entraîne une perte d'activité des complexes III et IV et l'arrêt du transfert d'électron direct entre MIA40 et le cytochrome C et une augmentation des ROS.

disulfure mitochondrial. Ce système est composé essentiellement de deux protéines : l'oxydoréductase MIA40 (*mitochondrial intermembrane space import and assembly protein 40*) et la sulphydryl oxydase ALR (*augmenter of liver regeneration*) [5]. MIA40 facilite l'importation et le repliement de ces protéines dans l'EIM [6]. Elle contient 6 cystéines au sein de deux motifs CX9C (deux cystéines séparées par neuf autres acides aminés) importants pour sa stabilisation et un motif cystéine-proline-cystéine (CPC) impliqué dans la formation des ponts disulfures de ses substrats [5]. Pour régénérer MIA40 et initier un nouveau cycle d'import, ALR réoxyde le motif CPC et transfère l'électron au cytochrome C de la CRM (Figure 1).

L'homéostasie rédox de la mitochondrie est un processus très finement contrôlé car toute altération va induire un dysfonctionnement mitochondrial.

Le tripeptide glutathion (GSH), antioxydant essentiel de la cellule, et sa forme oxydée (GSSG) jouent un rôle primordial dans ce processus [7]. Thiriveedi et al [8] se sont intéressés aux modifications post-traductionnelles de MIA40 afin d'élucider les mécanismes de régulation de cette protéine en lien avec le GSH. En effet, les auteurs ont montré que MIA40 peut subir une glutathionylation (modification de la protéine par addition d'un glutathion) affectant le fonctionnement de la CRM et l'homéostasie des ROS.

Glutathionylation réversible de MIA40

À partir de lysats de cellules humaines, les auteurs ont montré à l'aide de billes recouvertes de GSH que MIA40 est capable d'interagir avec le tripeptide. En utilisant une protéine MIA40 purifiée après sa surexpression dans des bactéries, ils ont démontré que MIA40

peut être glutathionylée (gt-MIA40) de manière réversible en condition oxydante. Par spectrométrie de masse, ils ont identifié quatre sites de glutathionylation de MIA40 : les trois cystéines C64, C74 et C97 présentes au sein des motifs CX9C, et la cystéine C4. Le motif CPC est quant à lui insensible au GSH.

Liens entre glutathionylation de MIA40, chaîne respiratoire et production de ROS

Les auteurs ont ensuite cherché à comprendre les conséquences physiologiques de la glutathionylation de MIA40 sur les complexes de la CRM. Pour cela, ils ont induit une surexpression de MIA40 ou d'une de ses formes mutées non glutathionylables dans des cellules humaines. Ils ont alors constaté que l'expression d'une forme mutée non glutathionylable de MIA40 mène à une diminution des niveaux protéiques des complexes I, II et



IV, mise en évidence par immunoblot à partir de lysats cellulaires, ainsi que de la capacité des complexes III et IV à oxyder leurs substrats. Sachant que l'activité de la CRM et la production de ROS sont intimement liées, les auteurs ont utilisé une sonde dont la fluorescence est dépendante de la présence de ROS pour évaluer le niveau de ces derniers en fonction de la forme de MIA40 exprimée. Ils ont alors observé une augmentation significative du niveau de ROS lorsqu'une forme mutée est exprimée. Ainsi, pour la première fois un lien a pu être établi entre l'absence de glutathionylation de MIA40, une baisse de l'activité de la CRM et une augmentation de la production de ROS.

gt-MIA40 donneur d'électrons au cytochrome C

La glutathionylation de MIA40 affecte l'activité du complexe III sans en modifier le niveau d'expression protéique. Les auteurs se sont alors intéressés à la régulation de l'activité du complexe III par MIA40. Ils ont montré que MIA40 interagit avec le complexe III, suggérant que MIA40 pourrait servir à canaliser les électrons entre le complexe III et le cytochrome C qui pourra ensuite les transférer au complexe IV. Pour aller plus loin, Thiriveedi *et al.* [8] se sont intéressés au rôle des 6 cystéines de MIA40 sur sa capacité à réduire le cytochrome C. Pour cela, ils ont incubé *in vitro* du cytochrome C oxydé avec la forme native de MIA40 ou des formes mutées au niveau de ses cystéines, et ont mesuré par spectrométrie d'absorption dans le visible la réduction du cytochrome C. Le cytochrome C est réduit par MIA40 (transfert d'électron direct) mais les formes mutées dans les cystéines

de MIA40 ont une moindre capacité à le réduire. MIA40 est une protéine qui assemble un centre fer-soufre (Fe-S) et peut exister sous différents états d'oligomérisation (mono-, di- et oligomère). Après séparation des différents états oligomériques par chromatographie d'exclusion, les auteurs ont montré que seules les formes mono- et dimériques possèdent un centre Fe-S et sont capables de réduire le cytochrome C. Ainsi, le centre Fe-S de MIA40 est essentiel dans le transfert d'électron entre MIA40 et le cytochrome C.

MIA40, des perspectives thérapeutiques dans le cas des maladies mitochondriales

Les résultats de Thiriveedi *et al.* ont permis de montrer que la glutathionylation de MIA40 au niveau de quatre cystéines spécifiques permet un transfert direct d'électron entre MIA40 et le cytochrome C, une augmentation des activités des complexes III et IV de la CRM et une diminution de la production de ROS mitochondriaux (Figure 1) [8]. Ainsi, la glutathionylation de MIA40 participerait à la résolution d'un stress oxydant et permettrait de réinjecter des électrons dans la CRM. Or, une augmentation de la production de ROS est souvent associée à des contextes pathologiques [3, 4]. Des études ont montré que MIA40 serait impliquée dans la signalisation de l'hypoxie par stabilisation du facteur 1α (HIF1 α), un facteur de transcription essentiel pour la réponse cellulaire à l'hypoxie [5, 9]. De plus, dans les tumeurs humaines, l'expression accrue de MIA40 est associée à la signature génétique de l'hypoxie et est corrélée à la gravité de la tumeur et à une moindre survie des patients [10]. Ainsi, MIA40

joue un rôle crucial dans la réponse adaptative métabolique qui permet à la cellule cancéreuse de survivre et de se disséminer (métastases). Ces nouvelles données désignent donc MIA40 et les acteurs de sa régulation comme de nouvelles cibles thérapeutiques potentielles pour diverses pathologies humaines dont le cancer. ♦

The glutathionylation of the human mitochondrial protein MIA40 regulates ROS homeostasis

LIENS D'INTÉRÊT

Les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt concernant les données publiées dans cet article.

RÉFÉRENCES

- Gorman GS, Chinnery PF, DiMauro S, *et al.* Mitochondrial diseases. *Nat Rev Dis Primers* 2016 ; 2 : 16 080
- Vakifahmetoglu-Norberg H, Ouchida AT, Norberg E. The role of mitochondria in metabolism and cell death. *Biochem Biophys Res Commun* 2017 ; 482 : 426-31.
- Spinelli JB, Haigis MC. The multifaceted contributions of mitochondria to cellular metabolism. *Nat Cell Biol* 2018 ; 20 : 745-54.
- Singh A, Kukreti R, Saso L, Kukreti S. Oxidative Stress : A Key Modulator in Neurodegenerative Diseases. *Molecules* 2019 ; 24 : 1583.
- Erdogan AJ, Riemer J. Mitochondrial disulfide relay and its substrates : Mechanisms in health and disease. *Cell Tissue Res* 2017 ; 367 : 59-72.
- Modjtahedi N, Tokatlidis K, Dessen P, Kroemer G. Mitochondrial Proteins Containing Coiled-Coil-Helix-Coiled-Coil-Helix (CHCH) Domains in Health and Disease. *Trends Biochem Sci* 2016 ; 41 : 245-60.
- Musaogullari A, Chai Y-C. Redox Regulation by Protein S-Glutathionylation : From Molecular Mechanisms to Implications in Health and Disease. *Int J Mol Sci* 2020 ; 21.
- Thiriveedi VR, Mattam U, Pattabhi P, *et al.* Glutathionylated and Fe-S cluster containing hMIA40 (CHCHD4) regulates ROS and mitochondrial complex III and IV activities of the electron transport chain. *Redox Biol* 2020 ; 37 : 101725.
- Al-Habib H, Ashcroft M. CHCHD4 (MIA40) and the mitochondrial disulfide relay system. *Biochem Soc Trans* 2021 ; 49 : 17-27.
- Yang J, Staples O, Thomas LW, *et al.* Human CHCHD4 mitochondrial proteins regulate cellular oxygen consumption rate and metabolism and provide a critical role in hypoxia signaling and tumor progression. *J Clin Invest* 2012 ; 122 : 600-11.



Tarifs d'abonnement m/s - 2024

Abonnez-vous
à *médecine/sciences*

> Grâce à m/s, vivez en direct les progrès
des sciences biologiques et médicales

Bulletin d'abonnement page 202
dans ce numéro de m/s

