

Florian Beignon^a, Sylvie Ducreux^b, Naig Gueguen^a, César Mattei^a, Guy Lenaers^a

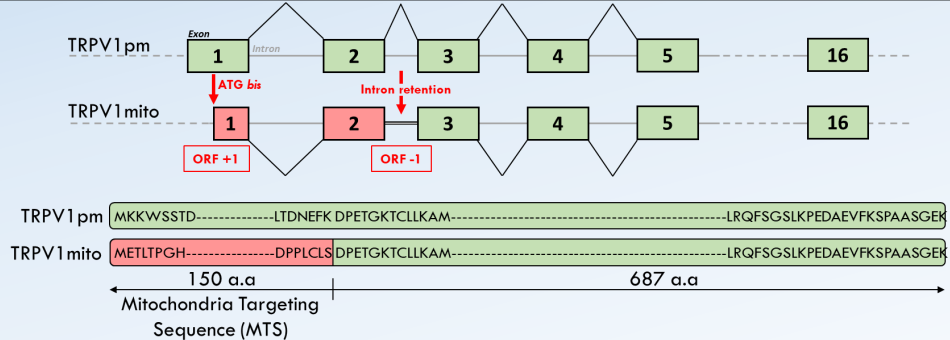
^A UMR CNRS 6015, UMR INSERM 1083, Institut MitoVasc, Angers, France

^B UMR INSERM U1060, INRA U1397, Laboratoire CarMeN, Lyon, France

Introduction

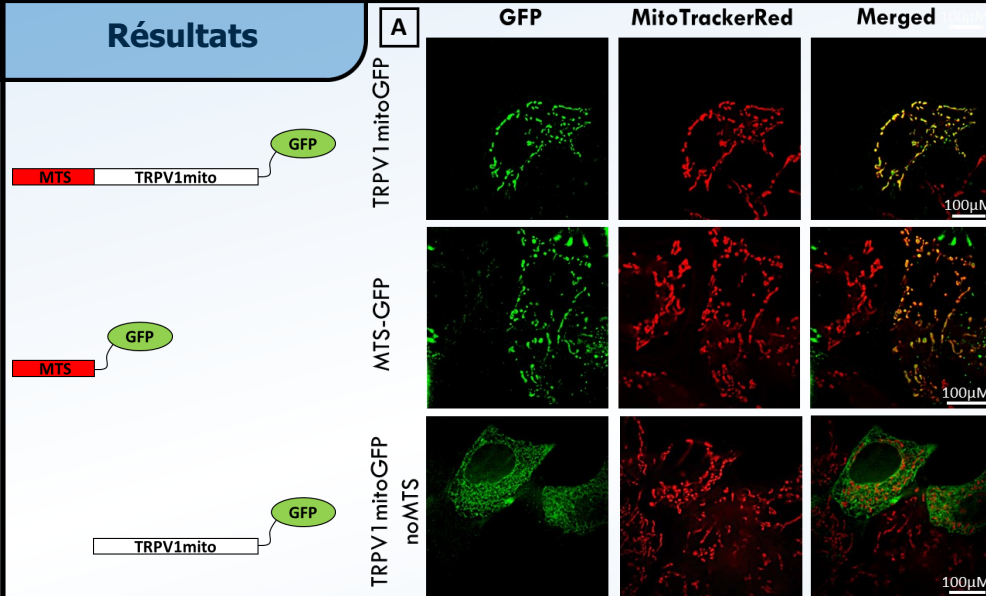
Récemment, plusieurs études ont suggéré que la température de la mitochondrie est plus élevée que celle de notre organisme (jusqu'à 50°C¹). Afin de comprendre comment la température mitochondriale pourrait être régulée, nous avons recherché au sein de banques de données l'existence d'isoforme mitochondriale des protéines thermosensibles TRP et identifié TRPV1mito une isoforme de TRPV1, un canal cationique sensible à une température >43°C. En comparaison avec son isoforme exprimée à la membrane plasmique (TRPV1pm), l'épissage alternatif de TRPV1mito induit un décalage d'ORF dans les exons codants 1 et 2 qui est rattrapé à l'exon 3, grâce à la rétention d'intron 2. Le variant obtenu présente une séquence d'adressage mitochondriale.

Suite à cette découverte, notre objectif est de caractériser TRPV1mito en étudiant sa localisation et sa fonction mitochondriale.



Structure nucléotidique et protéique du variant TRPV1mito

Résultats



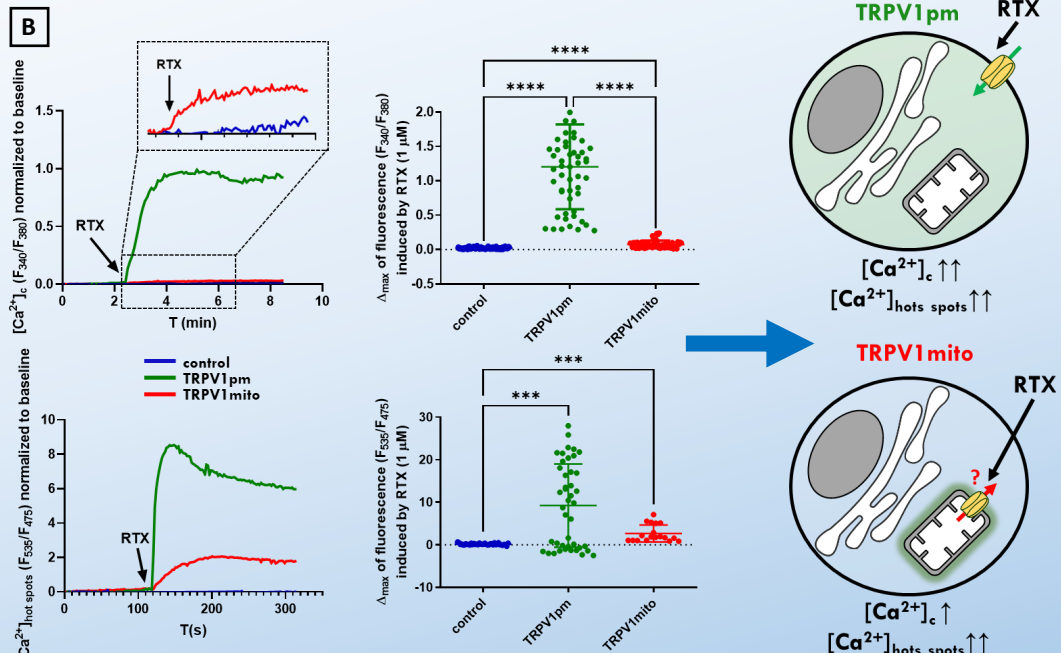
L'analyse par microscopie de la fluorescence de différentes versions de la protéine de fusion TRPV1mito-GFP et du MitoTracker, dans la lignée cellulaire MCF7, montre que TRPV1mito est adressé à la mitochondrie grâce à la présence de sa séquence MTS (A). L'analyse des variations de calcium cytoplasmique ($[Ca^{2+}]_c$) ou au contact des mitochondries ($[Ca^{2+}]_{\text{hots spots}}$) a été réalisée par microscopie à l'aide des sondes Fura2AM et N33D3cpv sur des cellules HEK293 transfectées avec des plasmides codant TRPV1pm ou TRPV1mito. L'activation de TRPV1pm avec la résinifératoxine (RTX) provoque une forte augmentation du $[Ca^{2+}]_c$ et du $[Ca^{2+}]_{\text{hots spots}}$ grâce à un influx de Ca^{2+} dans le cytoplasme depuis le milieu extracellulaire. L'activation de TRPV1mito avec la RTX provoque une très faible augmentation du $[Ca^{2+}]_c$ probablement causée par l'augmentation spécifique du $[Ca^{2+}]_{\text{hots spots}}$ (B). Ces résultats suggèrent que l'activation de TRPV1mito induit une sortie de Ca^{2+} de la mitochondrie.

Fluorescence de TRPV1mitoGFP dans la lignée MCF7

Conclusion

Le variant d'épissage alternatif TRPV1mito code une isoforme de TRPV1 adressée à la mitochondrie qui est impliquée dans la régulation des flux calciques mitochondriaux, dont l'origine et la fonction doivent encore être caractérisés. De plus, le rôle de TRPV1mito dans la régulation des fonctions mitochondriales, notamment en lien avec la production de chaleur, reste encore à explorer.

Etudier l'expression tissulaire de TRPV1mito sera également important pour définir sa fonction dans un contexte physiologique. Par ailleurs, l'identification d'une isoforme mitochondriale de TRPV1 implique de reconsidérer certaines fonctions de TRPV1 selon sa localisation.



Variations du $[Ca^{2+}]_c$ et $[Ca^{2+}]_{\text{hots spots}}$ par activation de TRPV1pm ou TRPV1mito

¹ Chretien et al. "Mitochondria are physiologically maintained at close to 50 C." PLoS biology 16.1 (2018)