

Bee-lieve it : Les secrets de la longévité révélés dans le métabolisme mitochondrial d'*Apis*

mellifera

Index des acronymes utilisés

ADP :	Adénosine diphosphate
ANOVA :	Analyse de la variance
DNP :	2,4-Dinitrophénol, découpleur mitochondrial
ETS :	Chaîne ou système de transport d'électrons
FAO :	Oxydation des acides gras
FCR :	Rapport de contrôle de flux
Gp :	Glycérol-3-phosphate -Phosphate)
NADH :	Nicotinamide adénine dinucléotide, forme réduite
NS :	Voie combinée NADH + succinate
OXPHOS :	Phosphorylation oxydative
ROX :	Consommation résiduelle d'oxygène

Résumé du projet

Le métabolisme mitochondrial est un facteur déterminant de la durée de vie chez les différents taxons. Les reines vivent souvent plus de deux ans, ce qui contraste fortement avec la durée de vie d'environ 30 jours des ouvrières. Les jeunes reines ont été déterminées comme ayant une forte dépendance à la voie Gp, ce qui suggère que cette voie pourrait favoriser une longévité accrue. En utilisant la respirométrie haute résolution, il a été démontré ici que le Gp provient du métabolisme des acides gras. Dans l'ensemble, nos résultats démontrent que les changements métaboliques peuvent augmenter la durée de vie chez l'abeille.

Mitochondrial metabolism is a key determinant of lifespan across taxa. Queens often live for more than two years, in stark contrast to the ~30-day lifespan of workers. Young queens exhibited strong reliance on the glycerol-3-phosphate (Gp) pathway, and our high-resolution respirometry experiments demonstrated that this pathway derives from fatty acid metabolism. Together, our results demonstrate that metabolic changes can increase lifespan in the honeybee.

Résumé des résultats du projet de recherche

Dans le cadre de cette investigation, nous avons cherché à déterminer la source principale du Gp utilisé dans l'OXPHOS de l'abeille mellifère. Dans une autre étude non publiée réalisée par l'auteur, il a été trouvé que l'abdomen emploie une contribution élevée dans les jeunes reines relative aux jeunes ouvrières. Cette différence métabolique entre les castes d'abeilles suggère que les reines engage la voie Gp afin d'effectuer un mécanisme qui augmente leur durée de vie (Law, 2021; Sammataro & Avitabile, 1998).

Dans le but de réaliser cet objectif, des ouvrières d'abeilles et les jeunes reines (âgées de 7 jours) proviennent des colonies du rucher du Rueppell Lab sur le campus nord de l'Université de l'Alberta à Edmonton, Alberta, Canada. Les vieilles reines (2 ans) ont été élevées commercialement et hébergées depuis juin 2022 dans des colonies à l'Université de Lethbridge. Des abeilles ouvrières âgées de 7, 28 et 30 jours ont été collectées en plus des reines âgées de 7 jours et des reines âgées de 2 ans et 1 mois. Ces périodes reflètent le début de la vie (7 jours dans les deux groupes) et la fin de la vie (28 - 30 jours au niveau des ouvrières et 2 ans et 1 mois pour les reines). Des ciseaux de dissection ont été utilisés pour inciser premièrement la tête du thorax. Ensuite, le piqueur et les organes abdominaux ont été enlevés ; laissant uniquement le corps gras. L'abdomen a été ensuite coupé du thorax, et celui-ci avait ses ailes et pattes enlevées. Chaque tissu a été ensuite perméabilisé à l'aide d'une lame de rasoir et rincés avec de solution de respiration mitochondriale numéro 5. Immédiatement après la préparation de l'homogénat, la respiration mitochondriale a été mesurée à 33°C à l'aide d'un appareil OROBOROS Oxygraph-2k (OROBOROS Instruments Inc., Innsbruck, Autriche). Pour interpréter les résultats du Gp; nous avons ainsi testé l'oxydation mitochondriale des acides gras de la palmitoylcarnitine et de l'octanoylcarnitine chez les abeilles ouvrières à l'aide de deux protocoles : 0,1 mM de

malate, 10 μM de palmitoylcarnitine (protocole 1) ou 0,2 mM d'octanoylcarnitine (protocole 2), 2,5 mM d'ADP, 10 μM de cytochrome c, 2 mM de malate, 5 mM de pyruvate, 10 mM de glutamate, 10 mM de succinate, titrage du découpleur (dinitrophénol, DNP, jusqu'à une concentration comprise entre 0 et 0,175 mol L^{-1} ; voie FAONSGp) et 100 mM d'azide de sodium (pour évaluer le ROX). Le logiciel Datlab 7.4 (OROBOROS Instruments Inc.) a été utilisé pour l'analyse des données des expériences de respirométrie. Le FCR a été l'unité choisie pour les voies étudiées (la voie ou le complexe en question est normalisé à la capacité maximale d'OXPPOS, la voie ETS maximale; ainsi, le flux absolue de la voie est soustrait par la ROX du voie, et est ensuite divisée par la capacité maximale, non couplée, de la ETS).

Nos résultats indiquent que l'oxydation des acides gras se procède majoritairement dans l'abdomen, spécifiquement palmitoylcarnitine et l'octanoylcarnitine (Fig. 1). Inversement, ni la tête ni l'abdomen avaient présenté avec de l'oxydation significative des acides gras. Ainsi, la conclusion logique est que la Gp, qui contribue à l'OXPPOS dans une quantité plus importante chez les jeunes reines, est le produit du métabolisme des triglycérides (Nelson & Cox, 2021). Une activité accrue de la navette Gp dans la gras abdominal des jeunes reines favorise probablement un couplage métabolique étroit entre la glycolyse, la lipogenèse et l'OXPPOS mitochondrial alimenté à la fois par des substrats glucidiques et des substrats acides gras (López-Otín et al., 2023; Sun, Youle, & Finkel, 2016). Une recherche future dans le contexte de cette étude serait d'étudier le métabolome de l'abeille mellifère et d'effectuer des comparaisons longitudinales (entre âges) et transversales (entre castes) d'abeille, afin de déterminer la quantité exacte de Gp, des acides gras et intermédiaires métaboliques. Globalement, la recherche sur le vieillissement et la longévité pourrait apporter des informations qui permettraient des interventions, soit pharmacologiques ou autre, d'augmenter la capacité des humains de vivre une

longue vie (López-Otín et al., 2023).

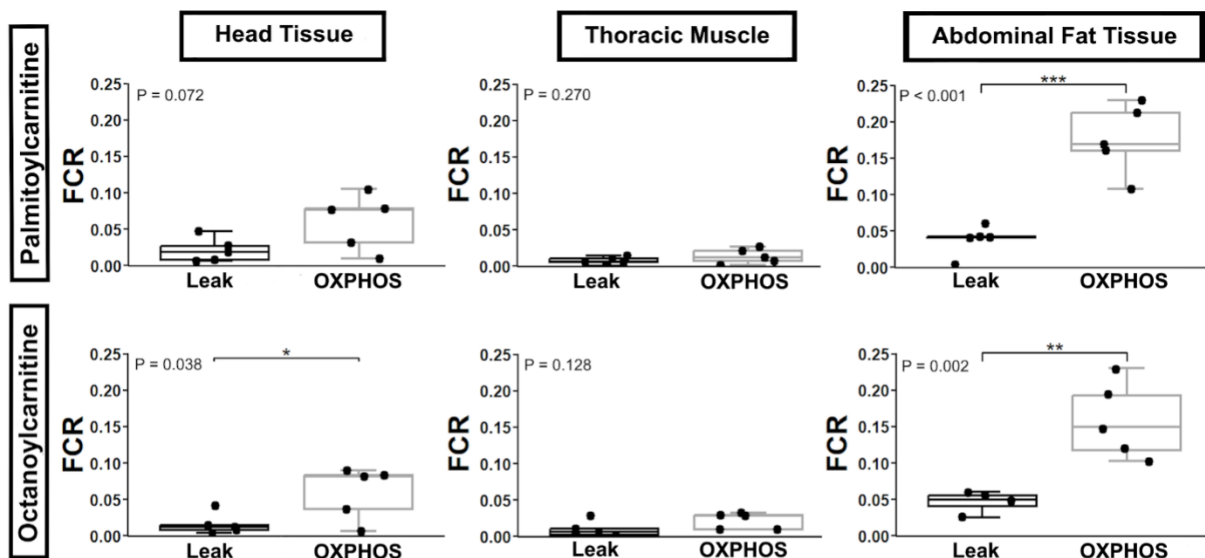


Figure 1 : Fuite et capacité OXPHOS des voies d'oxydation des acides gras dans divers tissus d'abeilles ouvrières. La respiration est exprimée sous forme de rapport de contrôle du flux (FCR), normalisé par rapport à la capacité maximale du système de transport d'électrons (ETS) après découplage, sur la base du flux combiné des voies. Les données représentent l'état de fuite (en noir) et l'état OXPHOS (en gris) pour le tissu de la tête, le muscle thoracique et le tissu adipeux abdominal. Contribution relative de la voie d'oxydation des acides gras (voie FAO) en présence de palmitoylcarnitine (panneau A) ou d'octanoylcarnitine (panneau B) par rapport au flux maximal (avec les voies FAO, NADH et succinate combinées). Les boîtes indiquent les valeurs minimales, le 25e centile, la médiane, le 75e centile et les valeurs maximales (n = 5). Les valeurs p de l'ANOVA à deux facteurs pour l'effet de l'ADP sont indiquées dans chaque panneau.

Formation professionnelle

Grâce à cette bourse, j'ai eu l'occasion de comprendre exactement comment on recherche en biochimie, ce qui m'a apporté plusieurs compétences. Quand les gens pensent à la recherche en sciences, ils imaginent habituellement un laboratoire rempli de technologie, complètement organisé et propre. La réalité : 50 % de la recherche consiste à laver la verrerie. Ici, je développe quelles compétences j'ai gagnées grâce à cette bourse et comment.

Curiosité intellectuelle : Lors de mon travail, j'ai lu énormément d'investigations sur l'abeille mellifère. J'ai appris que leur place dans l'évolution de la vie se compose d'un ordre et d'une hiérarchie complexes. Chaque abeille est analogue à une cellule humaine. Plusieurs pensent, par exemple, que la reine est le chef de la colonie, mais la réalité est l'inverse : la colonie entière est le chef. La preuve ? Si la reine devient malade, elle sécrète une phéromone spéciale indiquant aux ouvrières qu'il est temps de la tuer. J'ai appris que chaque modèle étudié en science contient une quantité inimaginable d'information à découvrir.

Pensée critique, résolution de problème et communication : Pour illustrer les bénéfices personnels acquis grâce à mon temps au laboratoire, je vais décrire une situation. Pour répondre à notre objectif, j'ai dû effectuer presque 40 expériences. Pour chacune, il fallait coordonner non seulement avec le personnel gérant les abeilles, mais aussi avec l'horaire des abeilles elles-mêmes, ce qui m'a apporté des compétences de communication et de coordination. En outre, de ces 40 expériences, seulement cinq ont fonctionné. Il fallait évaluer chaque étape de notre méthode pour trouver l'erreur, même au point où nous avons filmé notre travail pour être encore plus objectifs lors de l'analyse, ce qui m'a apporté de la pensée critique et des compétences en résolution de problème.

Dissémination d'apprentissage

Les résultats discuté dans ce rapport ne fait qu'une seule partie d'un travail scientifique collaborative majeure. Les résultats obtenus seront mis dans une soumission dans *Experimental Gerontology*. En outre, les résultats vont permettre plusieurs recherches futures. À titre d'exemple : en prochaine, nous allons enquêter sur les effets des pesticides sur la mitochondrie de l'abeille mellifère.

Références

Law, Y.-H. (2021). Long live the queen. *Science*, 371(6536), 1302–1305.
<https://doi.org/10.1126/science.371.6536.1302>

Sammataro, D., & Avitabile, A. (1998). *The beekeeper's handbook* (4th ed.). Cornell University Press.

López-Otín, C., Blasco, M. A., Partridge, L., Serrano, M., & Kroemer, G. (2023). Hallmarks of aging: An expanding universe. *Cell*, 186(2), 243–278.
<https://doi.org/10.1016/j.cell.2022.11.001>

Sun, N., Youle, R. J., & Finkel, T. (2016). The mitochondrial basis of aging. *Molecular Cell*, 61(5), 654–666. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2016.01.028>

Nelson, D. L., & Cox, M. M. (2021). *Lehninger principles of biochemistry* (8th ed.). W. H. Freeman and Company.