

Résumé

Le présent projet visait à analyser les différences présentes dans le métabolisme mitochondrial chez deux lignées du bruche d'haricots *Acanthoscelides obtectus*. L'organisme modèle se distingue par le fait que les deux lignées (E et L), développées par sélection artificielle à l'université de Belgrade (Tucić et al., 1996), présentent des différences importantes en longévité. Le présent projet, en élaborant sur les études de Mast et al. (2023, 2024) examine plusieurs voies et métabolites mitochondriaux qui se diffèrent entre les lignes E et L afin d'avancer vers une meilleure compréhension des facteurs biochimiques affectant la longévité.

||

The main objective of this project was to analyse and compare aspects of the mitochondrial metabolism of *Acanthoscelides obtectus*. The model organism is unique in the fact that the two lines (E and L) of the same species, developed by artificial selection at the University of Belgrade (Tucić et al., 1996), express significant differences in their longevity. This project, furthering the work of Mast et al., (2023,2024) examines several mitochondrial pathways and metabolites with the goal of developing a better comprehension of the biochemical factors affecting longevity.

Abbreviations:

MDH: l'enzyme malate déshydrogénase

NAD ; NADH: nicotinamide adénine dinucléotide; forme réduite du nicotinamide adénine dinucléotide

OXPHOS: phosphorylation oxydative

STE: système de transport des électrons

ATP ; ADP: adénosine triphosphate; adénosine diphosphate

CAC: cycle de l'acide citrique

ROS: *reactive oxygen species* | espèces réactives de l'oxygène

Résultats

MDH

L'enzyme malate déshydrogénase catalyse le convertissement réversible du malate en oxaloacétate selon la réaction suivante:



Cette réaction est importante puisqu' elle fait partie du CAC, joue de multiples rôles dans le métabolisme et alimente directement le système OXPHOS.

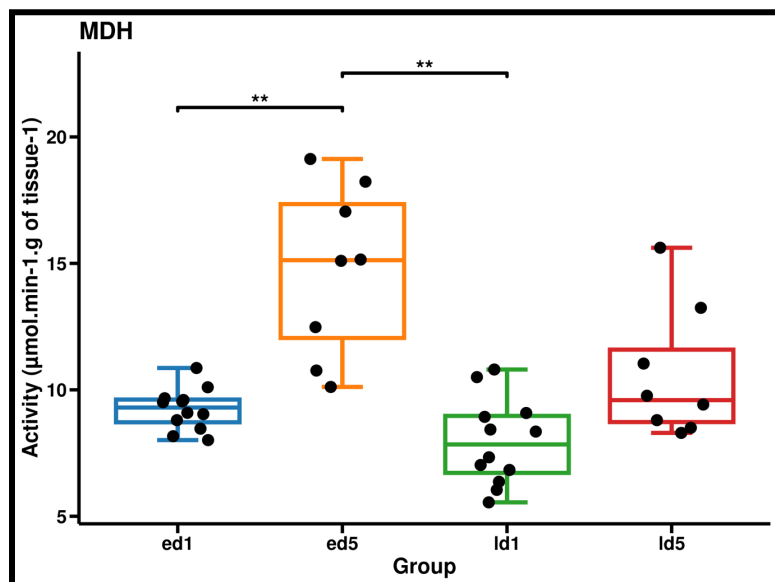


Figure 2: L'activité du malate déshydrogénase, mesuré spectrophotométriquement à 339nm chez deux lignées d'*Acanthoscelides obtectus* à différents âges (1 et 5 jours). Les barres indiquent le 25ème percentile, la médiane, et 75ème percentile. Un test ANOVA a été effectué: les valeurs $P < 0.01$ sont indiquées par **

L'activité du MDH a été mesuré spectrophotométriquement par la méthode de Bergmeyer (1974) et comparé entre les deux lignées. L'activité a été quantifié par μmol de NADH formé par minute par gramme de tissu. Une différence significative ($P < 0.01$) s'est avérée avec l'âge chez la lignée E, l'activité étant nettement supérieure à l'âge 5. Une tendance similaire peut être observée chez la lignée L. L'activité du MDH semble généralement plus élevée dans la lignée E que dans la lignée L, à l'âge 1 également qu'à l'âge 5. Ces données suggèrent que le convertissement du malate vers l'oxaloacétate est plus lent chez les scarabées de la lignée L; plus de recherches pourraient vérifier si les autres réactions du CAC sont similairement diminuées chez la lignée longue.

NAD/NADH

Le métabolite NAD ainsi que sa forme réduite NADH sont extrêmement importants au niveau mitochondrial en raison de leurs multiples implications dans le métabolisme cellulaire. En effet, le NADH et ses analogues jouent un rôle de cofacteur dans une grande variété de réactions enzymatiques (l'oxydation du malate vers l'oxaloacétate par le MDH n'étant qu'un exemple). Le NADH alimente aussi directement le STE à partir de la voie du complexe I. Nous avons donc

comparé le ratio de NAD/NADH entre les deux lignées pour évaluer, s' ils existent, les variations relatives dans l'oxydation et la réduction de ce métabolite.

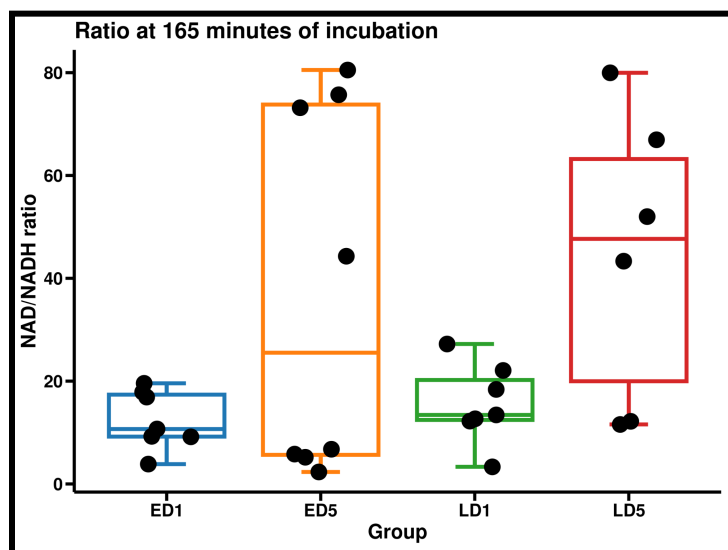


Figure 2: Ratio NAD/NADH, mesuré spectrophotométriquement à 450nm chez deux lignées d'*Acanthoscelides obtectus* à différents âges. Les barres indiquent le 25ème percentile, la médiane, et 75ème percentile. Un test ANOVA a été effectué: les valeurs de $P < 0.01$ sont illustrées sur la figure par **

La figure 2 révèle une augmentation générale du ratio NAD/NADH avec l'âge; cependant cette augmentation n'est pas significative dans les deux groupes en raison de la grande variabilité présente à l'âge 5. Cette variabilité pourrait être indicatif d'un plus grand nombre de réactions dépendant du NAD procédant dans les deux sens (catabolique et anabolique) avec l'âge, contrairement à l'âge 1 où la l'oxydation du NADH (se qui formerait le NAD) semble être favorisé. Les différences entre les lignées ne sont pas significatives.

ATP

L'adénosine triphosphate (ATP) est bien connue comme l'unité énergétique de la cellule, étant le produit principal de la OXPHOS. Puisque la cellule dépend principalement sur l'hydrolyse de l'ATP (ce qui forme l'ADP, qui peut ensuite être régénéré par OXPHOS) pour ses besoins énergétiques, il serait logique d'assumer qu'une différence pourrait exister dans ses niveaux entre les deux lignées d'*A. obtectus*. De plus, le processus OXPHOS, bien qu'il soit essentiel à la vie, produit également des espèces réactives de l'oxygène; la surproduction, et, conséquemment, l'accumulation de ces espèces réactives est associée au phénotype de vieillissement chez les eucaryotes (revu par Maldonado et al., 2023; Stefanatos & Sanz, 2017; Davalli et al., 2016). Des différences significatives dans les niveaux de l'ATP pourraient donc être indicatives d'une OXPHOS plus exprimée, et pourraient donc être liées à la longévité.

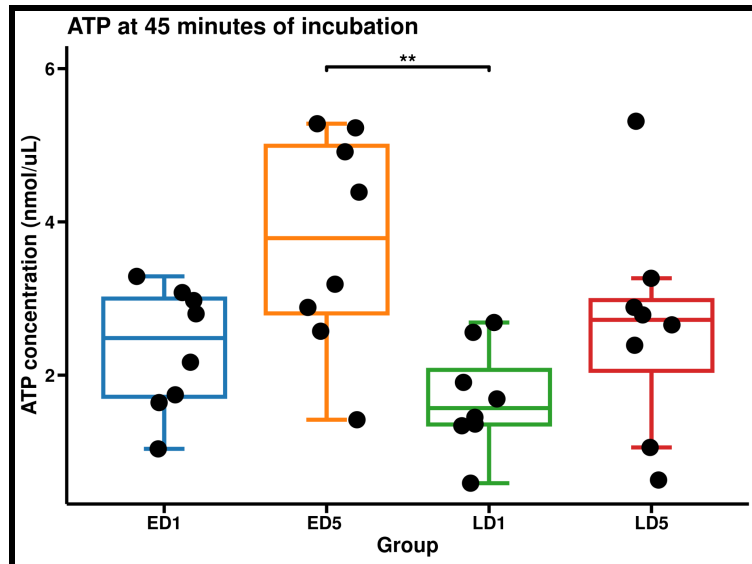


Figure 3: Concentration de l'ATP mesuré spectrophotométriquement à 570nm chez deux lignées distinctes d'*Acanthoscelides obtectus* à différents âges. Les barres indiquent le 25ème percentile, la médiane, et 75ème percentile. Un test ANOVA a été effectué: les valeurs de $P < 0.01$ sont illustrées sur la figure par **

Dans les deux lignées, la concentration de l'ATP semble augmenter avec l'âge. La lignée E semble présenter des concentrations plus élevées en ATP que la lignée L à l'âge 5, mais cette différence n'est pas significative en raison du grand variabilité de la lignée E. Ceci correspond à l'hypothèse que les scarabées de la lignée E possèdent un système respiratoire plus actif, mais moins régulé, ce qui pourrait expliquer leur longévité plus courte.

Formation professionnelle

Ce projet a eu un effet indéniablement important sur ma formation en milieu professionnelle. Du point de vue pragmatique, on pourrait certainement parler des compétences particulières que j'ai acquises: le travail que j'ai effectué m'a permis d'apprendre plusieurs techniques physiques, telle que la préparation d'un homogénat, le mesure de respiration avec une Oroboros O2K, ou le protocole général utilisé lors d'un essai spectrophotométrique. Bien que qu'ils soient utiles et applicables à plusieurs milieux professionnels, ces compétences sont quand même assez spécifiques au domaine de la recherche en science, et ne sont donc pas forcément multidisciplinaires.

Il est donc également, où même plus important, de parler des compétences générales, non spécifiques à la science, que cette expérience m'a permis d'acquérir ou de développer. Il serait long (et difficile) de décrire toutes ces aptitudes, mais ici je vais tenter d'illustrer les deux qui, à mon avis, sont les plus concrets, et auront dans le futur le plus de potentiel d'être observables.

La première, s'est l'adaptabilité. L'utilité de celle-ci dépend, certainement, sur le milieu de travail; néanmoins, la recherche en science en demande beaucoup. Souvent, les expériences prennent plus de temps qu'on aurait planifié, doivent être répétées, ou ne marchent simplement pas. Il était initialement difficile pour moi d'accepter cela. Avec le temps, j'ai appris que parfois, on doit simplement faire le plus qu'on peut avec ce qui nous est disponible dans l'instant; d'accepter le revers et d'en tirer le plus qu'on peut de l'expérience.

La deuxième, et indiscutablement la plus importante, c'est la capacité à lire. Au début du projet, je me sentais un peu perdu, car j'avais l'impression de manquer tellement de contexte concernant mon sujet; plus pire, j'avais eu énormément de difficultés à avoir les réponses à mes questions à travers les textes scientifiques. Cet été m'a permis d'améliorer ma capacité de lire les textes difficiles et d'en extraire le maximum d'informations.

Dissémination des résultats

Une partie des résultats générés dans le cadre de ce projet étaient disséminés par Clément Chevret dans le cadre du conférence *SEB Annual Conference Antwerp 2025* géré par le *Society of Experimental Biology*. Le laboratoire de Dre. Hélène Lemieux continue son travail vers la publication d'un article scientifique; une partie des données recueillies dans le cadre de ce projet seront incluses dans cet article.

Bibliographie

- Bergmeyer, H. (Ed.). (1974). *Methods of enzymatic analysis* v2. Elsevier Science & Technology.
- Davalli, P., Mitic, T., Caporali, A., Lauriola, A., & D'Arca, D. (2016). ROS, cell senescence, and novel molecular mechanisms in aging and Age-Related diseases. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2016(1). <https://doi.org/10.1155/2016/3565127>
- Maldonado, E., Morales-Pison, S., Urbina, F., & Solari, A. (2023). Aging hallmarks and the role of oxidative stress. *Antioxidants*, 12(3), 651. <https://doi.org/10.3390/antiox12030651>
- Mast, H. E., Blier, P. U., Đorđević, M., Savković, U., Holody, C. D., Bourque, S. L., & Lemieux, H. (2024). Selection for late reproduction leads to loss of complex I mitochondrial capacity and associated increased longevity in seed beetles. *The Journals of Gerontology Series A*, 79(11). <https://doi.org/10.1093/gerona/glae208>
- Mast, H. (2023). Specific reduction in complex I of the mitochondrial electron transport system in long-lived seed beetles. *ERA*. <https://doi.org/10.7939/r3-9aqq-4y2>
- Stefanatos, R., & Sanz, A. (2017). The role of mitochondrial ROS in the aging brain. *FEBS Letters*, 592(5), 743–758. <https://doi.org/10.1002/1873-3468.12902>
- Tucić, N., Gliksman, I., Šešlija, D., Milanović, D., Mikuljanac, S., & Stojković, O. (1996). Laboratory evolution of longevity in the bean weevil (*Acanthoscelides obtectus*). *Journal of Evolutionary Biology*, 9(4), 485–503. <https://doi.org/10.1046/j.1420-9101.1996.9040485.x>