

Organisation et dynamique du compartiment mitochondrial

MALKA F., LOMBES A., ROJO M.

INSERM U582 (IFR 14, UPMC) - Institut de Myologie, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, 47, boulevard de l'Hôpital, 75651 Paris Cedex 13, France

Correspondance : Dr. Manuel Rojo, téléphone : (33.1) 42.16.57.18, télécopie : (33.1) 42.16.57.00
courriel : m.rojo@myologie.chups.jussieu.fr

Résumé

Les mitochondries sont des organites impliqués dans de nombreuses voies métaboliques et fournissent, par phosphorylation oxydative, la majorité de l'ATP cellulaire. Leur ultrastructure a été mise en évidence dans les années 1950 par l'analyse de coupes ultrafines en microscopie électronique. S'appuyant sur ces travaux pionniers et sur l'origine endosymbiotique des mitochondries, les cellules sont le plus souvent représentées comme contenant de nombreuses mitochondries indépendantes d'une taille semblable à celle des bactéries. Cependant, l'analyse de coupes épaisses en microscopie montre que les mitochondries forment des filaments longs et branchés. Par ailleurs, des études en microscopie optique sur cellules vivantes montrent que les filaments mitochondriaux modifient continuellement leur position et leur morphologie, se divisent et fusionnent entre eux. Dans cette revue, nous résumons les connaissances actuelles sur l'ultrastructure, l'organisation et la dynamique du compartiment mitochondrial. Nous décrivons des données récentes montrant que les mitochondries fusionnent et échangent leurs composants, et nous présentons les principales protéines impliquées dans les processus de fusion et fission. Finalement, nous discutons la pertinence fonctionnelle et physiologique de la dynamique mitochondriale.

Mots clés : Mitochondries. Fusion membranaire. Fission membranaire. Microscopie sur cellule vivante. GTPases.

Summary

Mitochondria are essential organelles that are involved in numerous metabolic pathways and produce the major part of intracellular ATP by oxidative phosphorylation. Their ultrastructure was solved in the 1950s by electron microscopic analysis of ultrathin sections. Based on these pioneering studies and on the endosymbiotic origin of mitochondria, cells are often assumed to contain numerous independent mitochondria with a size similar to that of bacteria. However, electron microscopy of thick sections reveals that mitochondria form elongated and branched filaments. Optical microscopy of living cells demonstrates that mitochondrial filaments continuously modify their position and morphology and that they undergo frequent fission and fusion reactions. In this review, we revise the actual knowledge on the ultrastructure, the organization and the dynamics of the mitochondrial compartment. We review recent findings showing that mitochondria exchange molecules by fusion and we present the main proteins involved in mitochondrial fusion and fission reactions. Finally, we discuss the functional and physiological relevance of mitochondrial dynamics.

Keys words: Mitochondria. Membrane fusion. Membrane fission. In vivo microscopy. GTPases

INTRODUCTION

Les mitochondries fournissent par phosphorylation oxydative la plus grande partie de l'ATP cellulaire. Elles participent également à d'autres voies métaboliques essentielles. Elles font partie des organites qui, comme l'appareil de Golgi, ont été identifiés en microscopie optique entre la fin du XIX^e et le début du XX^e siècle. Le développement de la microscopie électronique au milieu du XX^e siècle a montré que les mitochondries représentent, comme les autres organites, des compartiments subcellulaires délimités par des membranes biologiques. La plupart des tissus et types cellulaires contiennent le même « panel » d'organites (le réticulum endoplasmique, l'appareil de Golgi, les lysosomes, les peroxisomes, les mitochondries, etc.) identifiables à leur ultrastructure caractéristique. Néanmoins, l'organisation et la structure de ces organites peuvent présenter des différences importantes d'un tissu à l'autre.

Les principaux éléments de l'ultrastructure des organites apportés par les premières études en microscopie électro-

nique sont encore valides aujourd'hui (Ernster et Schatz, 1981 ; Farquhar et Palade, 1998). Ces dernières années, nos connaissances sur l'organisation et la dynamique des mitochondries se sont énormément accrues. Ce progrès est dû en grande partie à d'importantes améliorations techniques de la microscopie optique ainsi qu'au développement de fluorophores s'accumulant spécifiquement dans les mitochondries (Poot, 1998) et de protéines fluorescentes, telle la GFP, adressées aux mitochondries (Rizzuto et al., 1998). Dans cette revue, nous allons brièvement décrire l'ultrastructure des mitochondries, puis présenter les travaux récents concernant l'organisation et la dynamique de ce compartiment subcellulaire, en particulier dans les cellules de mammifère.

ULTRASTRUCTURE DU COMPARTIMENT MITOCHONDRIAL

Les études pionnières de Palade et Sjöstrand dans les années 1950 ont permis d'établir un modèle de structure

des mitochondries qui est toujours d'actualité (Ernster et Schatz, 1981 ; Tzagoloff, 1982). Les mitochondries sont entourées par deux membranes (externe et interne) qui délimitent deux sous-compartiments mitochondriaux : l'espace intermembranaire et la matrice. Un troisième système membranaire, les crêtes mitochondriales, est localisé à l'intérieur de la matrice. Les membranes interne et externe sont très proches l'une de l'autre, au moins dans des conditions de fixation préservant l'ultrastructure mitochondriale (Frey et Mannella, 2000). Certaines conditions de fixation et/ou métaboliques induisent un élargissement de cet espace intermembranaire et dévoilent l'existence de sites de contact entre les membranes interne et externe. L'organisation moléculaire et la structure de ces sites de contact restent très méconnues (Brdiczka, 1991 ; Reichert et Neupert, 2002). Selon le tissu, les crêtes peuvent avoir une structure tubulaire ou lamellaire. Elles sont plus nombreuses dans les tissus à forte activité respiratoire. La nature de l'association entre les crêtes et la membrane mitochondriale interne est largement débattue. Dans ses premiers travaux, Palade proposa que les membranes des crêtes représentent des invaginations de la membrane mitochondriale interne et que leur lumière est continue avec l'espace intermembranaire. Ce modèle prévalait encore dans la majorité des ouvrages bien que des études récentes en microscopie électronique montrent que, dans de nombreux cas, les crêtes mitochondriales ne sont pas de simples invaginations de la membrane interne mais sont rattachées à celle-ci par des jonctions tubulaires ou ponctuelles, comme proposé originellement par Sjöstrand (Frey et Mannella, 2000 ; Perkins et Frey, 2000).

ORGANISATION DU COMPARTIMENT MITOCHONDRIAL

En microscopie optique, les mitochondries apparaissent sous forme de granules, de bâtonnets ou de filaments de longueur variable, d'où leur appellation, introduite en 1898, bâtie avec les mots grecs « mitos » (filament) et « chondros » (granule). Ces structures sont mobiles et changent leur morphologie en formant fréquemment un réseau de mitochondries interconnectées (Bereiter-Hahn, 1990 ; Ernster et Schatz, 1981 ; Tzagoloff, 1982). Ces caractéristiques ont conduit à penser que l'ensemble des mitochondries pouvait former un compartiment unique, appelé chondriome. Cette organisation tridimensionnelle n'était pas apparente dans les coupes fines (50-100 µm) couramment utilisées en microscopie électronique. Dans ces coupes, les mitochondries apparaissent sous forme d'entités circulaires ou cylindriques dont la taille et la morphologie rappellent celles de leurs précurseurs phylogénétiques, les bactéries. L'idée d'un compartiment mitochondrial unique a donc été abandonnée au profit de l'existence d'un grand nombre de mitochondries indépendantes. En outre, l'organisation des mitochondries en réseau n'apparaissait pas nécessaire à leur fonctionnement. En effet, l'isolement par fractionnement cellulaire produit systématiquement des mitochondries fragmentées qui ne présentent aucun déficit dans leurs activités, respiratoire ou autre (Ernster et Schatz, 1981). La notion de mitochondries indépendantes est restée dominante pendant de nombreuses années, malgré de nombreux travaux montrant que les mitochondries adoptent une morphologie filamenteuse ressemblant plus à un réseau de membranes interconnectées qu'à une collection d'entités séparées (Bereiter-Hahn, 1990 ; Ernster et Schatz, 1981 ; Tzagoloff, 1982).

DYNAMIQUE DU COMPARTIMENT MITOCHONDRIAL

Quelques années après leur caractérisation morphologique, de nombreux organites ont été impliqués dans des processus cellulaires dynamiques comme la sécrétion (transport à la membrane plasmique, après passage à travers l'appareil de Golgi, de protéines synthétisées dans le réticulum endoplasmique) et l'endocytose (transport de protéines depuis la membrane plasmique vers les endosomes puis les lysosomes) (Farquhar et Palade, 1998). L'existence de tels processus de transport a très vite révélé le dynamisme des organites impliqués. L'étude du trafic membranaire entre ces organites a ainsi pris une place importante dans la biologie cellulaire. Les mitochondries ont cependant fait exception et l'idée qu'elles soient des structures dynamiques a mis du temps à s'imposer, malgré la microscopie sur cellule vivante qui montrait que les mitochondries fusionnent et fissionnent, se déplacent à l'intérieur de la cellule et modifient leur morphologie ((Bereiter-Hahn, 1990) ; fig. 1).

Le trafic vésiculaire transporte une majorité des protéines impliquées dans la sécrétion et/ou l'endocytose depuis le réticulum endoplasmique vers leur organe spécifique (appareil de Golgi, lysosomes, etc.). Par contre, les mitochondries possèdent leur propre système d'importation de protéines à partir du cytosol et ne sont pas connectées aux autres organites par trafic membranaire. Néanmoins, elles forment des points de contact avec le réticulum endoplasmique. Ces contacts ont été observés en microscopie électronique et suggérés par la très fréquente « contamination » des fractions mitochondriales par des microsomes (vésicules dérivées du réticulum endoplasmique). Ce n'est qu'après l'observation simultanée de ces deux organites dans des cellules vivantes que l'existence de contacts entre les mitochondries et le réticulum endoplasmique a été généralement acceptée. Ces points de contact, dont la structure moléculaire reste largement inconnue, sont impliqués dans l'homéostasie et la signalisation calcique (Rizzuto et al., 1998).

Les cytosquelettes d'actine, de tubuline et de filaments intermédiaires jouent des rôles clefs dans l'organisation cellulaire en général, et dans la localisation et la dynamique des mitochondries en particulier. Leur contribution dans l'organisation du compartiment mitochondrial n'est pas encore complètement élucidée. Chez la levure *Saccharomyces cerevisiae*, la dynamique mitochondriale est mue principalement par des interactions avec le cytosquelette d'actine (Boldogh et al., 2001). Par contre, chez *Schizosaccharomyces pombe*, elle dépend essentiellement d'une interaction avec les microtubules (Yaffe et al., 1996). La situation est plus complexe chez les vertébrés et d'autres organismes pluricellulaires. Les mitochondries de cellules de mammifères sont localisées au niveau des microtubules (Heggeness et al., 1978) et leur mouvement dépend de moteurs moléculaires associés à ces microtubules (Nangaku et al., 1994). Cependant, le mouvement des mitochondries dans les axones neuronaux réquisitionne en plus le cytosquelette d'actine (Morris et Hollenbeck, 1995). Les filaments intermédiaires ont été également impliqués (Summerhayes et al., 1983), mais leur rôle reste discuté (Sarria et al., 1994).

FUSION ET FISSION MITOCHONDRIALES

L'observation des mitochondries dans des cellules vivantes révèle la nature très dynamique du compartiment mitochondrial et montre des événements apparents de fusion et de fission (fig. 1). Néanmoins, la résolution du microscope optique ne permet pas d'établir si ces événements correspondent à des appositions entre mitochondries, à des fusions

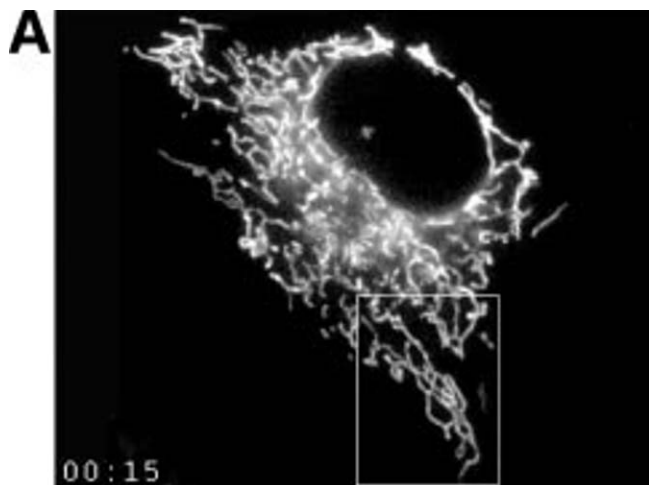


Figure 1. Morphologie et dynamique du compartiment mitochondrial de cellules humaines. **A :** Le compartiment mitochondrial d'une cellule HeLa vivante est visualisé avec une protéine fluorescente verte adressée à la matrice mitochondriale. Il est composé de nombreuses mitochondries allongées, branchées et interconnectées. **B :** La région indiquée dans **A** est observée au cours du temps (indiqué en min:sec). Les mitochondries modifient leur forme, se déplacent, fusionnent et fissionnent.

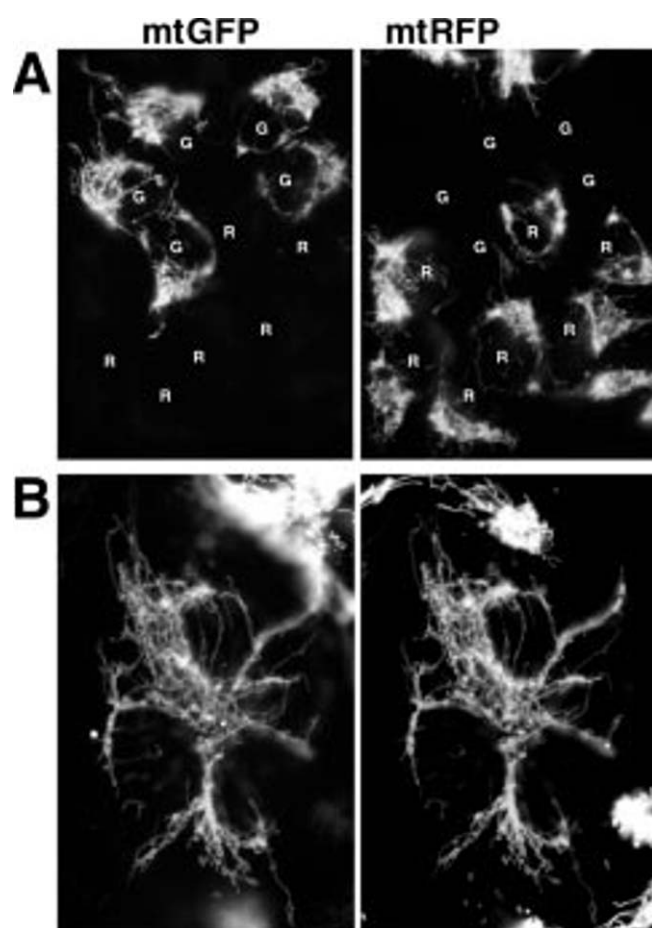
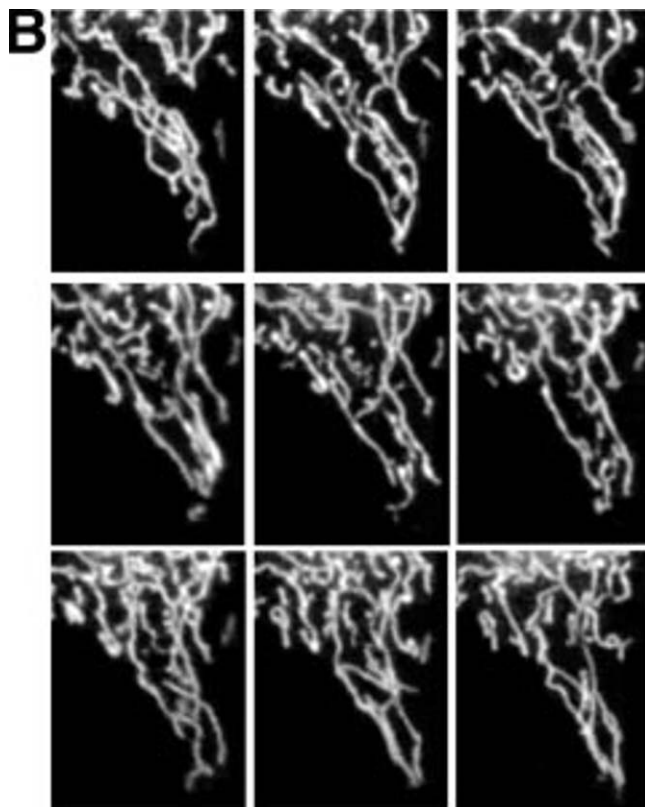


Figure 2. Les mitochondries fusionnent et échangent leurs protéines matricielles. Des cellules HeLa exprimant des protéines fluorescentes vertes (mtGFP) ou rouges (mtRFP) adressées à la matrice mitochondriale sont cultivées sur une même lamelle. **A :** Avant fusion cellulaire, les cellules contiennent des mitochondries marquées avec des protéines soit vertes (G), soit rouges (R). **B :** Douze heures après la fusion cellulaire, les mitochondries des polycaryons contiennent des mitochondries marquées à la fois par les protéines rouges et vertes. La synthèse protéique ayant été inhibée, la colocalisation des deux protéines fluorescentes ne peut résulter que de l'échange de protéines fluorescentes après la fusion des mitochondries.

n'impliquant que la membrane mitochondriale externe, ou à des fusions complètes des membranes externe et interne. La fusion complète des membranes mitochondriales a été démontrée pour la première fois par Nunnari et ses collaborateurs (1997) chez la levure *S. cerevisiae*. Ces auteurs ont marqué les mitochondries de 2 souches haploïdes avec un fluorophore rouge (Mitotracker red), et les mitochondries d'une seule d'entre elles avec, en plus, une protéine fluorescente verte (GFP) adressée à la matrice mitochondriale (mtGFP). Lors de la fusion cellulaire et la formation de zygotes, ils ont observé la diffusion de la mtGFP dans tout le compartiment mitochondrial. Ce résultat démontre que la fusion implique les membranes externe et interne et permet l'échange de protéines matricielles entre mitochondries (Nunnari et al., 1997). Ce même système expérimental a également permis de montrer que les mitochondries échangent les protéines de leur membrane interne et externe (Okamoto et al., 1998). Il a fourni les premières données sur l'efficacité et la cinétique de fusion : 4 à 6 heures sont nécessaires pour qu'une protéine diffuse à travers le compartiment mitochondrial d'un zygote nouvellement formé.

Nous nous sommes intéressés à la fusion mitochondriale dans des cellules humaines (Legros et al., 2002). Nous avons mis au point un système pour l'étude de la fusion dans lequel des cellules contiennent soit une protéine fluorescente verte (mtGFP), soit rouge (mtRFP) dans leur matrice mitochondriale. Pendant l'expérience, les cellules sont cultivées en présence de cycloheximide, un inhibiteur de la synthèse protéique, ce qui empêche la production de nouvelles protéines fluorescentes. Les cellules sont fusionnées grâce au polyéthylène glycol (PEG), qui conduit à la formation de polycaryons. L'apparition de mitochondries doublement marquées dans les polycaryons démontre que les mitochondries de cellules humaines fusionnent et échangent ainsi des protéines matricielles fluorescentes (fig. 2). La diffusion de ces protéines dans tout le réseau mitochondrial nécessite 10 à 12 heures, montrant que la cinétique et

l'efficacité de fusion des mitochondries humaines sont similaires à celles des mitochondries de levure. Cette approche expérimentale a également permis de montrer que la fusion mitochondriale nécessite un potentiel de membrane interne ($\Delta\Psi$) suffisant, mais peut avoir lieu en l'absence d'une chaîne respiratoire fonctionnelle. L'inhibition de la fusion, par dissipation du $\Delta\Psi$, aboutit à la fragmentation des filaments mitochondriaux par la machinerie de fission qui, elle, n'est pas inhibée après dissipation du $\Delta\Psi$. Dans les cellules de mammifères, la fusion et la fission sont donc des processus qui ont lieu continuellement et dont l'équilibre détermine la morphologie mitochondriale (Legros et al., 2002). Leur fréquence et leur cinétique sont probablement régulées, mais les facteurs et signaux responsables ainsi que les mécanismes impliqués restent inconnus. La capacité des mitochondries à fusionner ne signifie pas qu'elles sont toujours interconnectées. D'autres travaux montrent que des mitochondries à composition et/ou propriétés différentes peuvent co-exister dans une même cellule (Collins et al., 2002 ; Park et al., 2001).

ACTEURS DE LA DYNAMIQUE MITOCHONDRIALE

L'identification et la caractérisation de protéines impliquées dans la dynamique mitochondriale progressent régulièrement, surtout chez la levure *S. cerevisiae* (Mozdy et Shaw, 2003 ; Scott et al., 2003). Nous allons nous concentrer sur la description de trois GTPases essentielles dans la dynamique mitochondriale. Notons que, par ailleurs, de nombreuses GTPases sont impliquées dans le trafic membranaire des voies de la sécrétion et de l'endocytose.

La première protéine directement impliquée dans la fusion mitochondriale a été découverte en 1997 chez un mutant de la Drosophile. Les mâles de cette lignée sont stériles, et les mitochondries de leurs spermatides ont la forme d'« oignons brouillés » (« fuzzy onions » en anglais). Hales et Fuller (1997) ont identifié une protéine, appelée Fzo (pour « fuzzy onions »), dont l'expression est restreinte à une courte étape du développement des spermatides. Ils ont démontré que Fzo est nécessaire à la fusion des mitochondries des spermatides et que la morphologie anormale des mitochondries est provoquée par l'absence de fusion (Hales et Fuller, 1997). La drosophile possède un deuxième homologue de Fzo (DMfn) dont l'expression est ubiquitaire (Hwa et al., 2002).

Des analyses génomiques ont révélé l'existence, chez tous les eucaryotes, d'homologues de Fzo appelés également mitofusines (Mfn). Au contraire de Fzo, spécifique aux spermatides en développement, l'expression des protéines homologues n'est pas restreinte à certains tissus et/ou étapes du développement. L'homologue de levure, Fzo1p, est exprimé de façon constitutive. En l'absence de Fzo1p, les mitochondries perdent leur capacité à fusionner et se fragmentent (Hermann et al., 1998). Les mammifères ont deux homologues de Fzo dont l'expression est ubiquitaire, les mitofusines Mfn1 et Mfn2. Leur surexpression provoque des changements importants dans la morphologie et la distribution des mitochondries. À de faibles niveaux d'expression, Mfn1 stimule la fusion et induit la formation de mitochondries dont la longueur et le degré d'interconnexion sont significativement augmentés. À de forts niveaux d'expression, Mfn1 et Mfn2 induisent l'aggrégation massive des mitochondries dans la région perinucléaire (Legros et al., 2002; Rojo et al., 2002). Chez la souris, l'inactivation des gènes codant les mitofusines provoque l'arrêt du développement à un stade embryonnaire très précoce. Les fibroblastes dérivés de ces embryons possèdent

des mitochondries fragmentées incapables de fusionner (Chen et al., 2003). La fragmentation des filaments mitochondriaux lors de l'inhibition de la fusion par inactivation de Fzo/Mfn montre que, chez la levure comme chez les mammifères, la division mitochondriale est un processus qui a lieu en permanence.

Tous les membres de la famille des protéines Fzo/Mfn ont une structure commune : un domaine de liaison au GTP, un domaine transmembranaire qui les ancre à la membrane mitochondriale externe, et deux domaines dits « coiled-coil » (souvent impliqués dans des interactions entre protéines) situés en amont et en aval du domaine transmembranaire (fig. 3). Parmi les nombreuses GTPases impliquées dans le trafic membranaire, celles de la famille Fzo/Mfn sont les seules ancrées aux membranes via un domaine transmembranaire. Les mitofusines partagent, par contre, les domaines transmembranaire et « coiled-coil » avec les SNAREs, protéines directement impliquées dans de nombreux processus de fusion membranaire (Chen et Scheller, 2001). Le domaine de liaison au GTP de Fzo/Mfn est nécessaire à leur fonction (Chen et al., 2003; Hermann et al., 1998) mais le mécanisme d'action des mitofusines reste inconnu. Néanmoins, il est tentant de proposer que, par analogie avec les SNAREs, elles contribuent à la fusion en rapprochant les membranes mitochondriales par une interaction « coiled-coil » entre les molécules Fzo/Mfn des mitochondries destinées à fusionner.

La deuxième protéine jouant un rôle essentiel dans la dynamique mitochondriale est appelée Dnm1p, Dlp1 ou Drp1 selon l'espèce (fig. 3). Cette protéine, identifiée originellement chez le nématode *C. elegans* et la levure *S. cerevisiae*, a des homologues chez tous les eucaryotes (Bleazard et al., 1999 ; Labrousse et al., 1999 ; Smirnova et al., 2001). Elle appartient à la famille des « dynamin-like » ou « dynamin-related proteins » et est directement impliquée dans la fission mitochondriale. Le prototype de cette famille, la dynamine 1, participe à la fission membranaire lors de l'endocytose (Danino et Hinshaw, 2001).

Chez la levure *S. cerevisiae*, l'absence de Dnm1p provoque un déséquilibre des réactions de fusion et fission en faveur de la fusion qui aboutit à la formation d'un réseau de mitochondries excessivement allongées et interconnectées. Si Fzo et Dnm1 sont inactivées simultanément, le compartiment mitochondrial retrouve une morphologie nor-

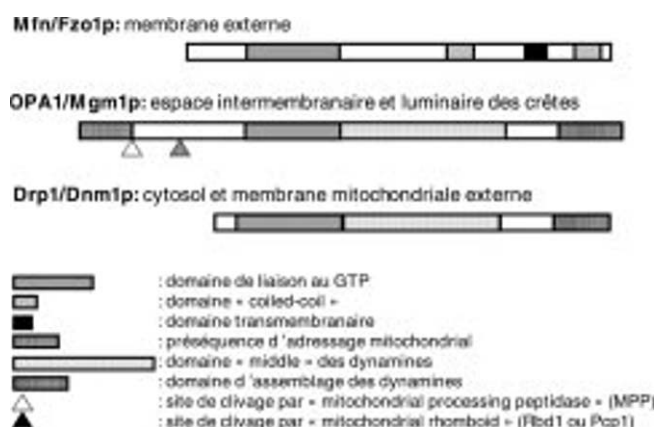


Figure 3. Structure moléculaire et localisation de 3 protéines impliquées dans la dynamique mitochondriale (orthologue humain/orthologue de levure). Toutes ces protéines contiennent un domaine de liaison au GTP. Mfn/Fzo1p se caractérise par la présence de deux domaines « coiled-coil » et un domaine transmembranaire. Les deux autres protéines appartiennent à la famille des « dynamin-related proteins » : OPA1/Mgm1p est la seule à posséder une préséquence d'adressage mitochondrial.

male par un rééquilibrage des deux réactions antagonistes (Bleazard et al., 1999). Chez les mammifères, l'expression d'un mutant dominant-négatif de Drp1 (Smirnova et al., 2001) inhibe la fission : il empêche la fragmentation mitochondriale observée normalement lorsqu'on inhibe la fusion (Legros et al., 2002). Les effets antagonistes des inactivations de Fzo/Mfn et Dnm1/Drp1 sur la morphologie mitochondriale confirment l'importance d'un équilibre entre les réactions de fusion et fission pour la morphologie mitochondriale. La protéine Drp1/Dnm1p est majoritairement cytosolique. Elle s'associe aux sites de division mitochondriale grâce à Fis1, une petite protéine transmembranaire localisée dans la membrane mitochondriale externe (Mozdy et al., 2000; Yoon et al., 2003). Le mode d'action de Drp1 reste, comme pour tous les membres de cette famille de protéines, très débattu (Danino et Hinshaw, 2001).

La troisième GTPase impliquée dans la dynamique mitochondriale est un autre homologue de la dynamine, nommée Mgm1p chez *S. cerevisiae*, Msp1p chez *S. pombe* et OPA1 chez l'homme (fig. 3). Elle est située dans l'espace intermembranaire où elle est ancrée et/ou associée à la membrane mitochondriale interne (Olichon et al., 2002; Wong et al., 2000). Deux formes de taille différente existent chez la levure *S. cerevisiae*. La première forme, ancrée à la membrane mitochondriale interne par un domaine hydrophobe, est générée par le clivage du domaine N-terminal d'adressage mitochondrial. La deuxième forme, dépourvue du domaine hydrophobe d'ancrage, est générée par le clivage de la première par une protéase de type « rhomboid » (Rbd1 ou Pcp1) spécifique de la membrane mitochondriale interne. Ces deux formes de Mgm1p sont nécessaires pour maintenir fonction et morphologie mitochondriales (Herlan et al., 2003; McQuibban et al., 2003). L'orthologue humain de Mgm1p, OPA1, existe aussi sous plusieurs formes (au moins 5) de taille différente (Olichon et al., 2003). Les mécanismes responsables de cette diversité restent largement inconnus. Il est néanmoins probable qu'au moins certaines formes d'OPA1 soient générées par clivage de la protéine, car les cellules humaines contiennent aussi une protéase mitochondriale de type « rhomboid » (McQuibban et al., 2003).

Des études chez la levure *S. cerevisiae* ont montré que Mgm1p est nécessaire pour la fusion mitochondriale et qu'elle est capable d'interagir avec des protéines de la membrane mitochondriale externe (Fzo1p, Ugo1p) impliquées dans la fusion mitochondriale (Sesaki et al., 2003; Wong et al., 2003). La faible proportion de Fzo1p co-immunoprécipitée avec Mgm1p, ainsi que la nécessité de stabiliser de telles interactions par pontage chimique, indiquent que les interactions entre ces deux protéines sont faibles et/ou transitoires. La fonction précise de Mgm1p/OPA1 reste très débattue : elle pourrait participer à des remodelages des membranes autres que la fusion. En effet, la dégradation spécifique de OPA1 dans des cellules en culture perturbe la structure et l'intégrité des membranes mitochondriales et provoque l'apoptose (Olichon et al., 2003).

PERTINENCE FONCTIONNELLE DE LA DYNAMIQUE MITOCHONDRIALE

L'importance de la dynamique des membranes mitochondriales est attestée par la sévérité des phénotypes observés dans les organismes ou les cellules déficients dans l'une des protéines nécessaires à la dynamique mitochondriale : stérilité masculine (Fzo de la drosophile (Hales et Fuller, 1997)), perte de l'ADN mitochondrial (Fzo de levure (Hermann et al., 1998)), arrêt précoce du développement embryonnaire

(mitofusines de souris (Chen et al., 2003)) et cécité provoquée par une atrophie du nerf optique (OPA1 humaine (Delettre et al., 2000)). Plusieurs processus cellulaires et mitochondriaux peuvent nécessiter des mitochondries dynamiques capables de fusionner et de fissionner, mais nous ignorons encore le(s) rôle(s) précis de cette dynamique.

Une des conséquences principales de la fusion mitochondriale sont les échanges moléculaires entre mitochondries. Ces échanges permettent la complémentarité fonctionnelle entre mitochondries, un phénomène d'une importance cruciale lorsque la cellule contient des molécules d'ADN mitochondrial mutées responsables de maladies mitochondriales. Dans la plupart des cas, les mutations sont hétéroplasmiques, c'est à dire que deux populations d'ADN mitochondrial, normale et mutée, coexistent dans la même cellule. Les symptômes n'apparaissent que lorsque la proportion de molécules mutées est très élevée, au-dessus de 60-80 % (Leonard et Schapira, 2000). Au-dessous de cette valeur, la phosphorylation oxydative est assurée par l'ADN mitochondrial sauvage. La fusion des mitochondries et la distribution de l'ADN mitochondrial sauvage et de ces produits (ARNmessenger, ARN de transfert et protéines) à toutes les mitochondries d'une cellule, sont sans doute essentielles pour assurer la respiration et la phosphorylation oxydative (Nakada et al., 2001).

La fusion mitochondriale permet également la formation de longs filaments qui peuvent fonctionner comme des câbles et transmettre l'énergie sous forme de potentiel de membrane. Ce potentiel est transmis entre différentes régions cellulaires avec une vitesse et une efficacité beaucoup plus importantes que la diffusion de l'oxygène et/ou des substrats (pyruvate, acides gras) de la phosphorylation oxydative. La morphologie mitochondriale du muscle semble très adaptée aux besoins de ce tissu dont les cellules sont de très grande taille. L'oxygène arrive en périphérie de la cellule où il est réduit par les mitochondries accumulées sous le sarcolemme. Le potentiel de membrane est transmis vers l'intérieur des fibres musculaires par des mitochondries tubulaires s'immisçant entre les empilements de sarcomères. Cela permet la synthèse d'ATP dans les sites où il est nécessaire pour la contraction musculaire (Skulachev, 2001). Ces filaments mitochondriaux peuvent également faciliter la diffusion du calcium et la propagation de signaux calciques entre mitochondries et réticulum endoplasmique (Rizzuto et al., 1998).

Le fait que la morphologie mitochondriale soit gouvernée par l'équilibre constant entre les réactions de fusion et de fission la rend très flexible, puisqu'elle peut être modifiée par stimulation/inhibition de l'un ou l'autre de ces processus (Legros et al., 2002). Les situations où la structure du compartiment mitochondrial doit être modifiée sont pour l'instant hypothétiques. Lors de la division cellulaire par exemple, la fragmentation du réseau mitochondrial en de nombreuses mitochondries ponctuelles pourrait faciliter le partage égal des mitochondries dans les cellules filles. Des études conduites majoritairement dans des eucaryotes unicellulaires montrent en effet que la morphologie mitochondriale varie au cours du cycle cellulaire et de la mitose (Bereiter-Hahn, 1990). La fission peut aussi permettre l'isolement de mitochondries présentant des dommages irréversibles, comme la perméabilisation de la membrane interne et/ou l'oxydation de ses composants par des radicaux libres. Cela empêcherait la propagation de ces dommages à l'ensemble des mitochondries. Notons pour finir, que les mitochondries se fragmentent pendant l'apoptose et que cette fragmentation pourrait jouer un rôle important dans le processus apoptotique (Karbowsky et Youle, 2003).

REFERENCES

- BEREITER-HAHN J. Behavior of mitochondria in the living cell. *Int. Rev. Cytol.*, 1990, **122**, 1-63.
- BLEAZARD W., MCCAFFERY J.M., KING E.J., BALE S., MOZDY A., TIEU Q., NUNNARI J., SHAW J.M. The dynamin-related GTPase Dnm1 regulates mitochondrial fission in yeast. *Nat. Cell. Biol.*, 1999, **1**, 298-304.
- BOLDOGH I.R., YANG H.C., PON L.A. Mitochondrial inheritance in budding yeast. *Traffic*, 2001, **2**, 368-74.
- BRDICZKA D. Contact sites between mitochondrial envelope membranes. Structure and function in energy- and protein-transfer. *Biochim. Biophys. Acta*, 1991, **1071**, 291-312.
- CHEN H., DETMER S.A., EWALD A.J., GRIFFIN E.E., FRASER S.E., CHAN D.C. Mitofusins Mfn1 and Mfn2 coordinately regulate mitochondrial fusion and are essential for embryonic development. *J. Cell. Biol.*, 2003, **160**, 189-200.
- CHEN Y.A., SCHELLER R.H. SNARE-mediated membrane fusion. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, 2001, **2**, 98-106.
- COLLINS T.J., BERRIDGE M.J., LIPP P., BOOTMAN M.D. Mitochondria are morphologically and functionally heterogeneous within cells. *EMBO J.*, 2002, **21**, 1616-27.
- DANINO D., HINSHAW J.E. Dynamin family of mechanoenzymes. *Curr. Opin. Cell Biol.*, 2001, **13**, 454-60.
- DELETTRE C., LENAERS G., GRIFFOIN J.M., GIGAREL N., LORENZO C., BELENGUER P., PELLOQUIN L., GROSGEORGE J., TURC-CAREL C., PERRET E., ASTARIE-DEQUEKER C., LASQUELLEC L., ARNAUD B., DUCOMMUN B., KAPLAN J., HAMEL C.P. Nuclear gene OPA1, encoding a mitochondrial dynamin-related protein, is mutated in dominant optic atrophy. *Nat. Genet.*, 2000, **26**, 207-210.
- ERNSTER L., SCHATZ G. Mitochondria: a historical review. *J. Cell. Biol.*, 1981, **91**, 227s-255s.
- FARQUHAR M.G., PALADE G.E. The Golgi apparatus: 100 years of progress and controversy. *Trends Cell Biol.*, 1998, **8**, 2-10.
- FREY T.G., MANNELLA C.A. The internal structure of mitochondria. *Trends Biochem. Sci.*, 2000, **25**, 319-324.
- HALES K.G., FULLER M.T. Developmentally regulated mitochondrial fusion mediated by a conserved, novel, predicted GTPase. *Cell*, 1997, **90**, 121-129.
- HEGGENESS M.H., SIMON M., SINGER S.J. Association of mitochondria with microtubules in cultured cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 1978, **75**, 3863-386X.
- HERLAN M., VOGEL F., BORNHOVD C., NEUPERT W., REICHERT A.S. Processing of Mgm1 by the rhomboid-type protease Pcp1 is required for maintenance of mitochondrial morphology and of mitochondrial DNA. *J. Biol. Chem.*, 2003, **278**, 27781-8.
- HERMANN G.J., THATCHER J.W., MILLS J.P., HALES K.G., FULLER M.T., NUNNARI J., SHAW J.M. Mitochondrial fusion in yeast requires the transmembrane GTPase fzo1p. *J. Cell. Biol.*, 1998, **143**, 359-373.
- HWA J.J., HILLER M.A., FULLER M.T., SANTEL A. Differential expression of the *Drosophila* mitofusin genes fuzzy onions (*fzo*) and *dmln*. *Mech. Dev.*, 2002, **116**, 213-216.
- KARBOWSKI M., YOULE R.J. Dynamics of mitochondrial morphology in healthy cells and during apoptosis. *Cell. Death Differ.*, 2003, **10**, 870-80.
- LABROUSSE A.M., ZAPPATERA M.D., RUBE D.A., VAN DER BLIEK A.M. C. elegans dynamin-related protein DRP-1 controls severing of the mitochondrial outer membrane. *Mol. Cell.*, 1999, **4**, 815-826.
- LEGROS F., LOMBES A., FRACHON P., ROJO M. - Mitochondrial fusion in human cells is efficient, requires the inner membrane potential and is mediated by mitofusins. *Mol. Biol. Cell*, 2002, **13**, 4343-4354.
- LEONARD J.V., SCHAPIRA A.H. Mitochondrial respiratory chain disorders I: mitochondrial DNA defects. *Lancet*, 2000, **355**, 299-304.
- MCQUIBBAN G.A., SAURYA S., FREEMAN M. Mitochondrial membrane remodeling regulated by a conserved rhomboid protease. *Nature*, 2003, **423**, 537-41.
- MORRIS R.L., HOLLENBECK P.J. Axonal transport of mitochondria along microtubules and F-actin in living vertebrate neurons. *J. Cell Biol.*, 1995, **131**, 1315-1326.
- MOZDY A.D., SHAW J.M. A fuzzy mitochondrial fusion apparatus comes into focus. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, 2003, **4**, 468-78.
- MOZDY A.D., MCCAFFERY J.M., SHAW J.M. Dnm1p GTPase-mediated mitochondrial fission is a multi-step process requiring the novel integral membrane component fis1p. *J. Cell Biol.*, 2000, **151**, 367-380.
- NAKADA K., INOUE K., ONO T., ISOBE K., OGURA A., GOTO Y.I., NONAKA I., HAYASHI J.I. Inter-mitochondrial complementation: Mitochondria-specific system preventing mice from expression of disease phenotypes by mutant mtDNA. *Nat. Med.*, 2001, **7**, 934-940.
- NANGAKU M., SATO-YOSHITAKE R., OKADA Y., NODA Y., TAKEMURA R., YAMAZAKI H., HIROKAWA N. KIF1B, a novel microtubule plus end-directed monomeric motor protein for transport of mitochondria. *Cell*, 1994, **79**, 1209-120X.
- NUNNARI J., MARSHALL W.F., STRAIGHT A., MURRAY A., SEDAT J.W., WALTER P. Mitochondrial transmission during mating in *Saccharomyces cerevisiae* is determined by mitochondrial fusion and fission and the intramitochondrial segregation of mitochondrial DNA. *Mol. Biol. Cell*, 1997, **8**, 1233-1242.
- OKAMOTO K., PERLMAN P.S., BUTOW R.A. The sorting of mitochondrial DNA and mitochondrial proteins in zygotes: preferential transmission of mitochondrial DNA to the medial bud. *J. Cell Biol.*, 1998, **142**, 613-623.
- OLICHON A., BARICAULT L., GAS N., GUILLLOU E., VALETTE A., BELENGUER P., LENAERS G. Loss of OPA1 perturbs the mitochondrial inner membrane structure and integrity, leading to cytochrome c release and apoptosis. *J. Biol. Chem.*, 2003, **278**, 7743-6.
- OLICHON A., EMORINE L.J., DESCOINS E., PELLOQUIN L., BRICHESE L., GAS N., GUILLLOU E., DELETTRE C., VALETTE A., HAMEL C.P., DUCOMMUN B., LENAERS G., BELENGUER P. The human dynamin-related protein OPA1 is anchored to the mitochondrial inner membrane facing the inter-membrane space. *FEBS Lett*, 2002, **523**, 171-6.
- PARK M.K., ASHBY M.C., ERDEMLI G., PETERSEN O.H., TEPIKIN A.V. Perinuclear, perigranular and sub-plasmalemmal mitochondria have distinct functions in the regulation of cellular calcium transport. *Embo J*, 2001, **20**, 1863-74.
- PERKINS G.A., FREY T.G. Recent structural insight into mitochondria gained by microscopy. *Micron*, 2000, **31**, 97-111.
- POOT M. 1998. Staining of mitochondria. In *Cell Biology: a laboratory handbook*. J.E. Celis, editor. Academic Press, San Diego. 513-517.
- REICHERT A.S., NEUPERT W. Contact sites between the outer and inner membrane of mitochondria-role in protein transport. *Biochim. Biophys. Acta*, 2002, **1592**, 41-9.
- RIZZUTO R., PINTON P., CARRINGTON W., FAY F.S., FOGARTY K.E., LIFSHITZ L.M., TUFT R.A., POZZAN T. Close contacts with the endoplasmic reticulum as determinants of mitochondrial Ca^{2+} responses. *Science*, 1998, **280**, 1763-1766.
- ROJO M., LEGROS F., CHATEAU D., LOMBES A. Membrane topology and mitochondrial targeting of mitofusins, ubiquitous mammalian homologs of the transmembrane GTPase Fzo. *J. Cell Sci.*, 2002, **115**, 1663-1674.
- SARRIA A.J., LIEBER J.G., NORDEEN S.K., EVANS R.M. The presence or absence of a vimentin-type intermediate filament network affects the shape of the nucleus in human SW-13 cells. *J. Cell Sci.*, 1994, **107**, 1593-607.
- SCOTT S.V., CASSIDY-STONE A., MEEUSEN S.L., NUNNARI J. Staying in aerobic shape: how the structural integrity of mitochondria and mitochondrial DNA is maintained. *Curr. Opin. Cell Biol.*, 2003, **15**, 482-8.
- SESAKI H., SOUTHARD S.M., YAFFE M.P., JENSEN R.E. Mgm1p, a dynamin-related GTPase, is essential for fusion of the mitochondrial outer membrane. *Mol. Biol. Cell*, 2003, **14**, 2342-56.
- SKULACHEV V.P. Mitochondrial filaments and clusters as intracellular power-transmitting cables. *Trends Biochem Sci*, 2001, **26**, 23-29.
- SMIRNOVA E., GRIPARIC L., SHURLAND D.L., VAN DER BLIEK A.M. Dynamin-related protein drp1 is required for mitochondrial division in mammalian cells. *Mol Biol Cell*, 2001, **12**, 2245-2256.
- SUMMERHAYES I.C., WONG D., CHEN L.B. Effect of microtubules and intermediate filaments on mitochondrial distribution. *J. Cell Sci.*, 1983, **61**, 87-105.
- TZAGOLOFF A. 1982. Mitochondria. Plenum Press, New York.
- WONG E. D., WAGNER J. A., SCOTT S. V., OKREGIAK V., HOLEWINSKE T. J., CASSIDY-STONE A., NUNNARI J. The intramitochondrial dynamin-related GTPase, Mgm1p, is a component of a protein complex that mediates mitochondrial fusion. *J. Cell Biol.*, 2003, **160**, 303-11.
- WONG E.D., WAGNER J.A., GORSICH S.W., MCCAFFERY J.M., SHAW J.M., NUNNARI J. The dynamin-related GTPase, mgm1p, is an intermembrane space protein required for maintenance of fusion competent mitochondria. *J. Cell Biol.*, 2000, **151**, 341-352.
- YAFFE M.P., HARATA D., VERDE F., EDDISON M., TODA T., NURSE P. Microtubules mediate mitochondrial distribution in fission yeast. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 1996, **93**, 11664-1168X.
- YOON Y., KRUEGER E.W., OSWALD B.J., MCNIVEN M.A. The mitochondrial protein hFis1 regulates mitochondrial fission in mammalian cells through an interaction with the dynamin-like protein DLP1. *Mol. Cell Biol.*, 2003, **23**, 5409-20.