

Transport mitochondrial des acides gras

Carina Prip-Buus

Institut Cochin

Département Endocrinologie, Métabolisme et Cancer

Paris

Quelques rappels sur les acides gras ...

Longueur de la chaîne carbonée

- 4 à 6 carbones : acides gras à chaîne courte (AGCC)
- 8 à 10 carbones : acides gras à chaîne moyenne (AGCM)
- 12 à 20 carbones : acides gras à chaîne longue (AGCL)
- Plus de 20 carbones : acides gras à très longue chaîne (AGTLC)

Degré d'insaturation

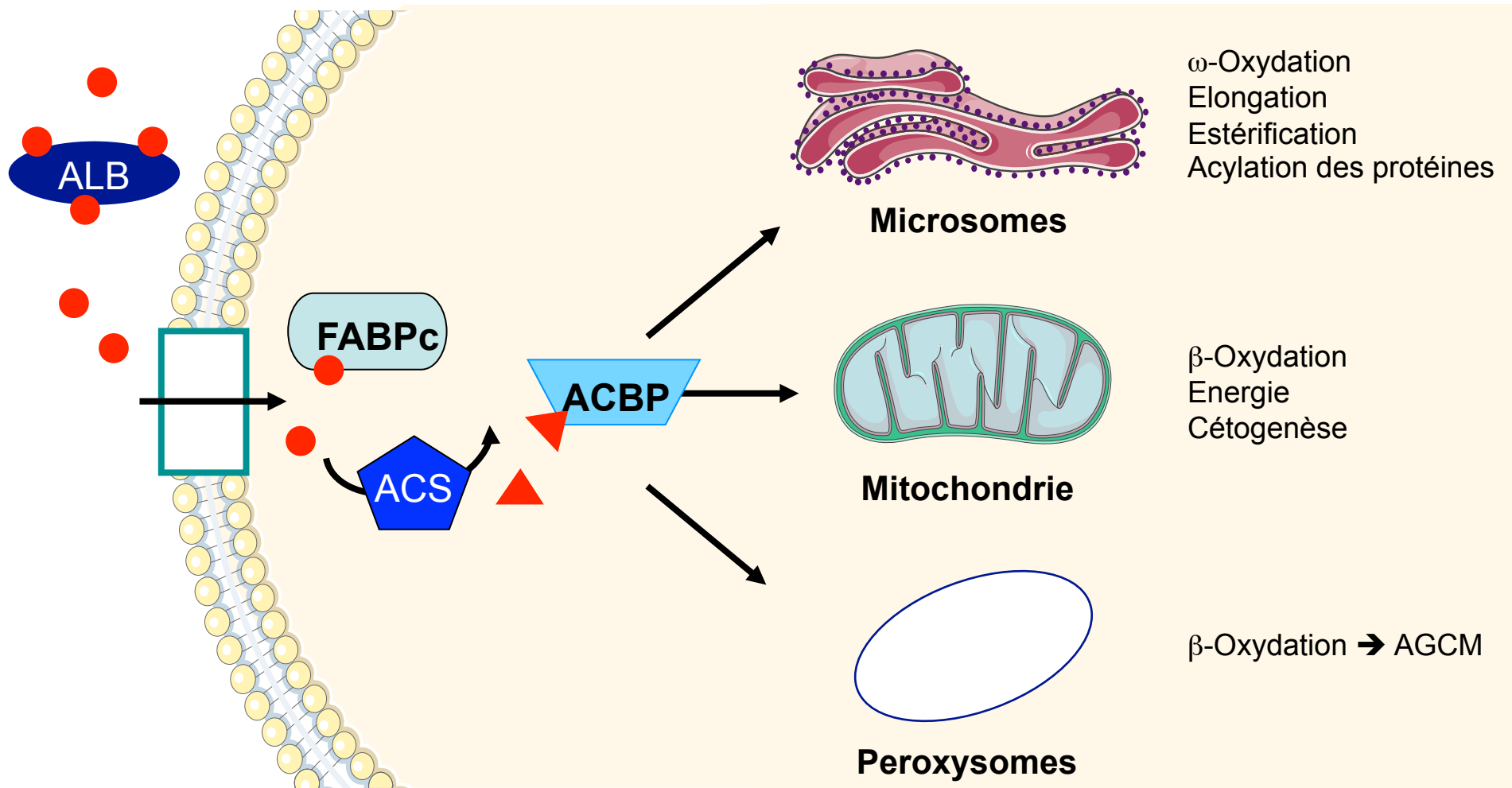
- Saturés
- Monoinsaturés
- Polyinsaturés : ω 3, ω 6 et ω 9

Degré d'hydrophobicité



Mécanismes de transport
à travers une membrane

Devenir métabolique des acides gras à chaîne longue (AGCL)



● Acide gras

▲ Acyl-CoA

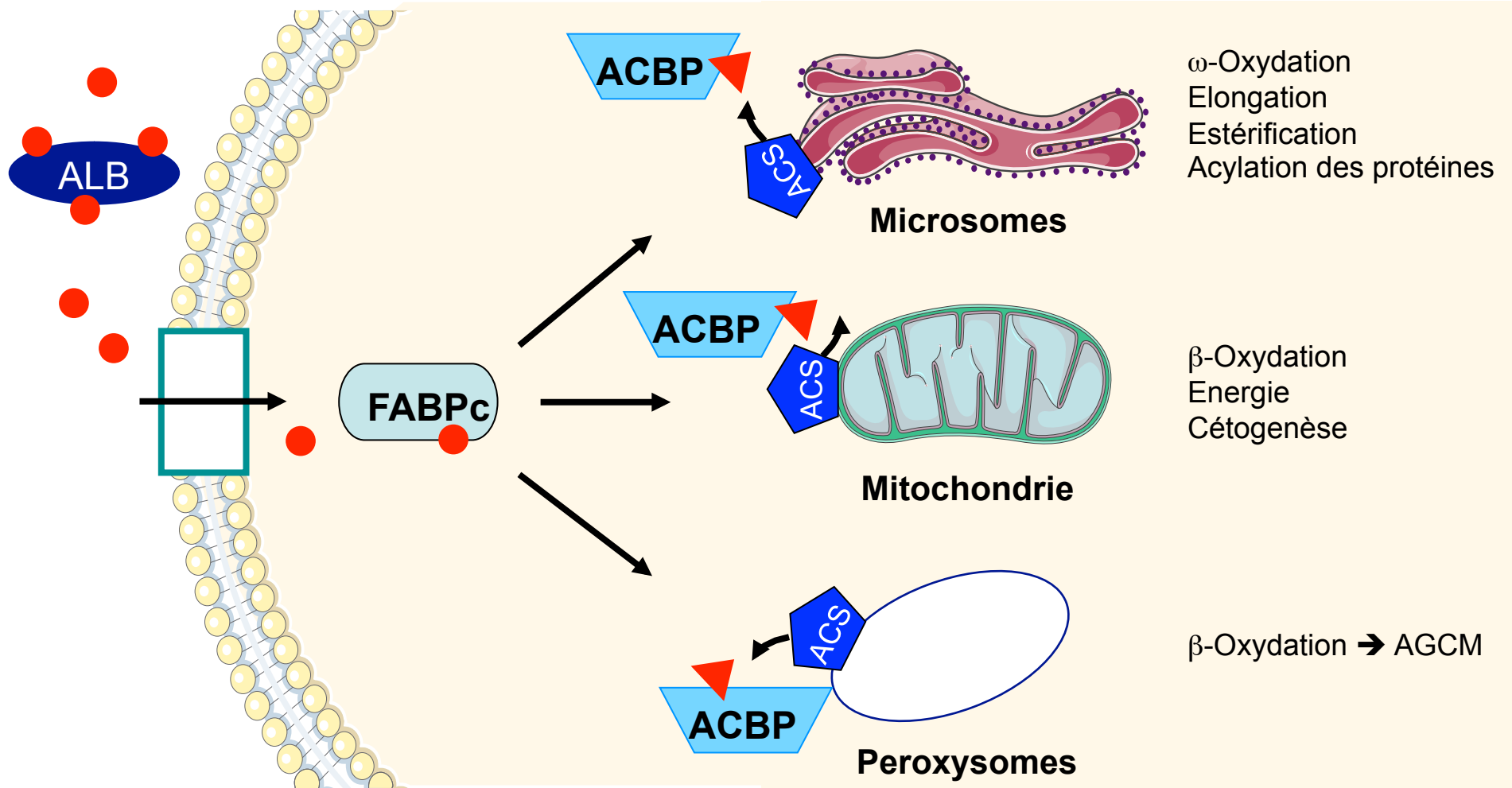
ALB : albumine

FABPc : cytosolic fatty acid binding protein

ACS : acyl-CoA synthétase

ACBP : acyl-CoA binding protein

Devenir métabolique des AGCL



● Acide gras

▲ Acyl-CoA

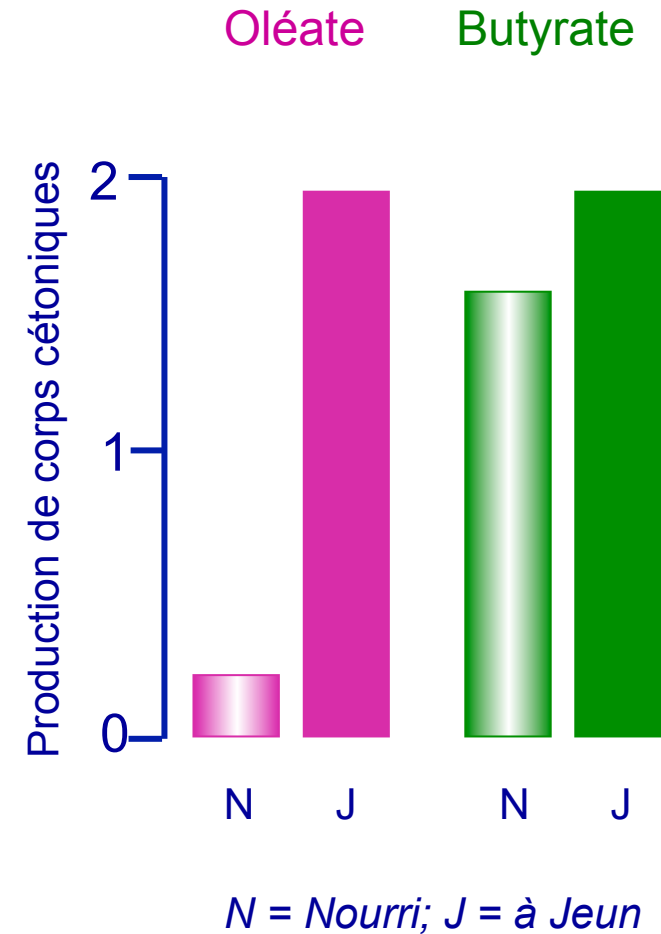
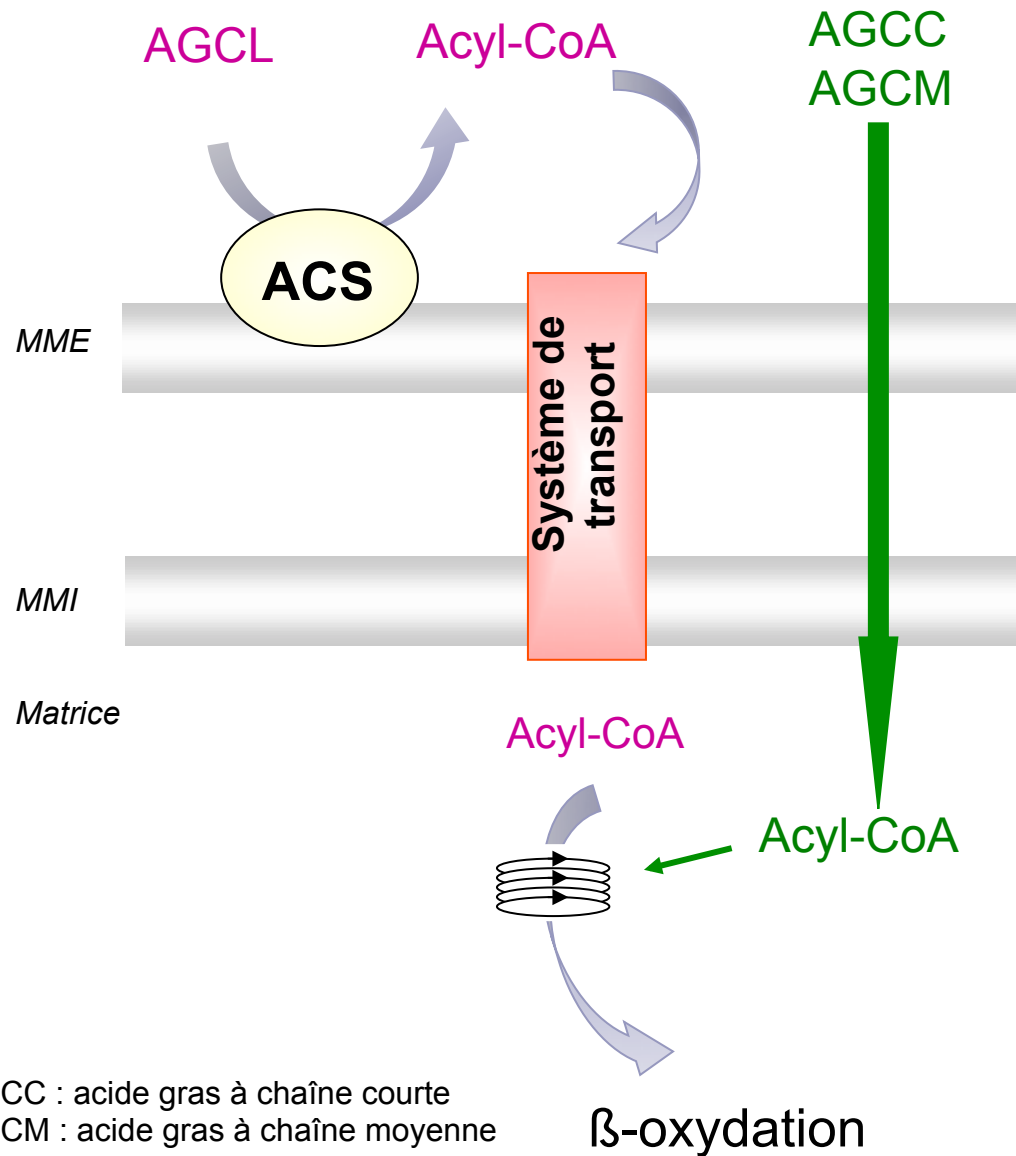
ALB : albumine

FABPc : cytosolic fatty acid binding protein

ACS : acyl-CoA synthétase

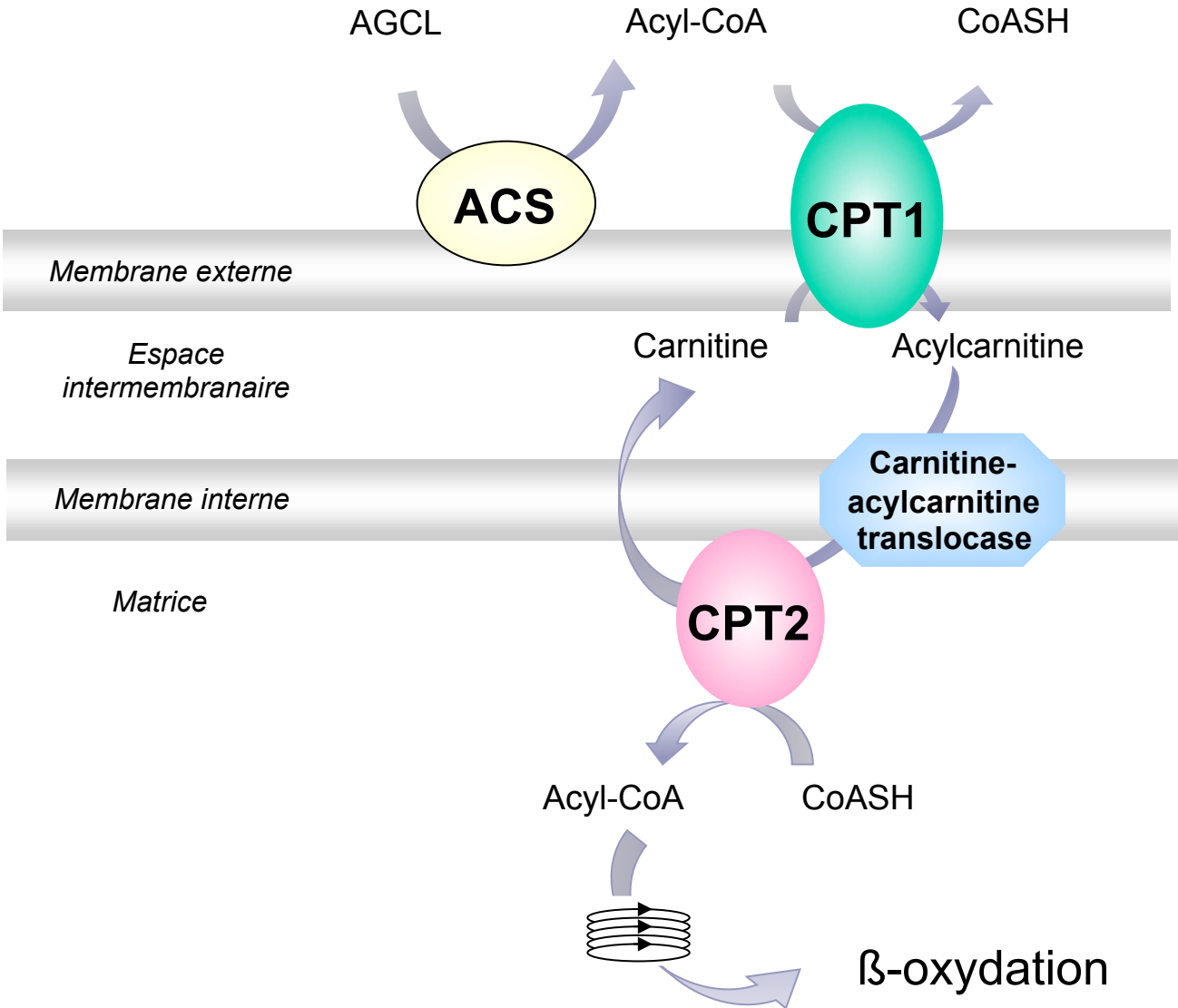
ACBP : acyl-CoA binding protein

Transport mitochondrial des acides gras et flux d'oxydation

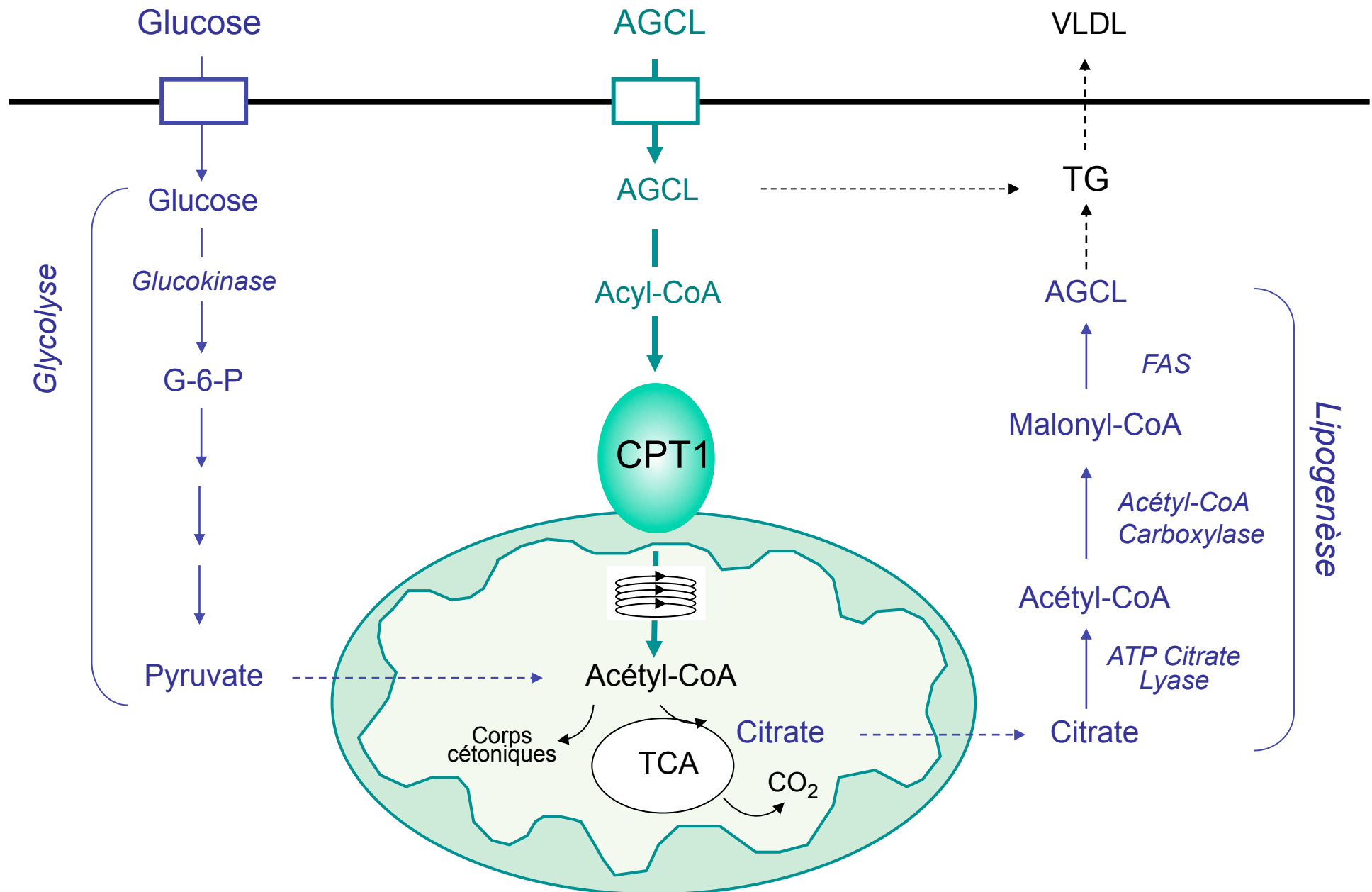


AGCC : acide gras à chaîne courte
AGCM : acide gras à chaîne moyenne
AGCL : acide gras à chaîne longue

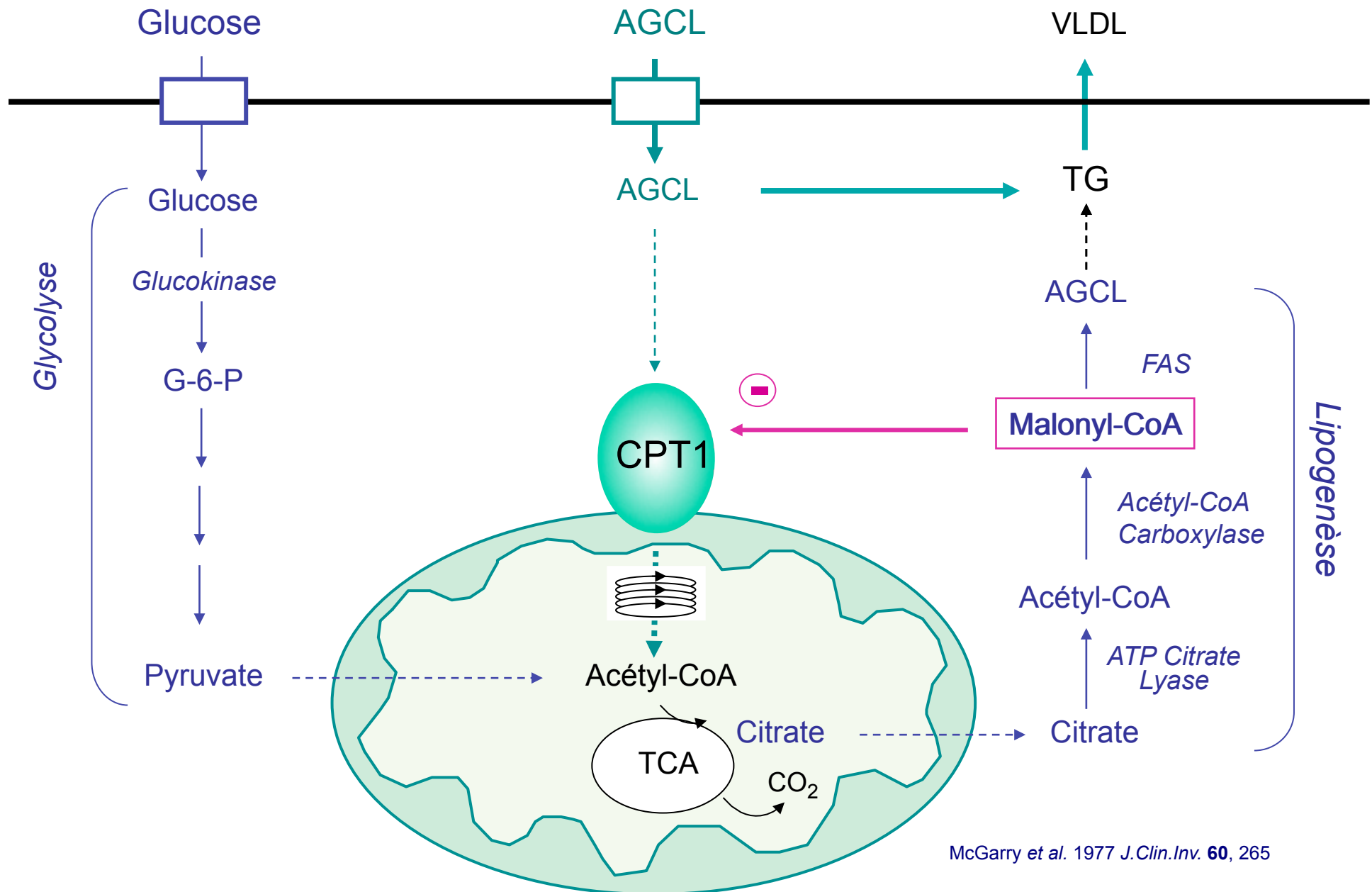
Le système « carnitine palmitoyltransférase »



Contrôle coordonné de l'oxydation du glucose et des AGCL



Contrôle coordonné de l'oxydation du glucose et des AGCL



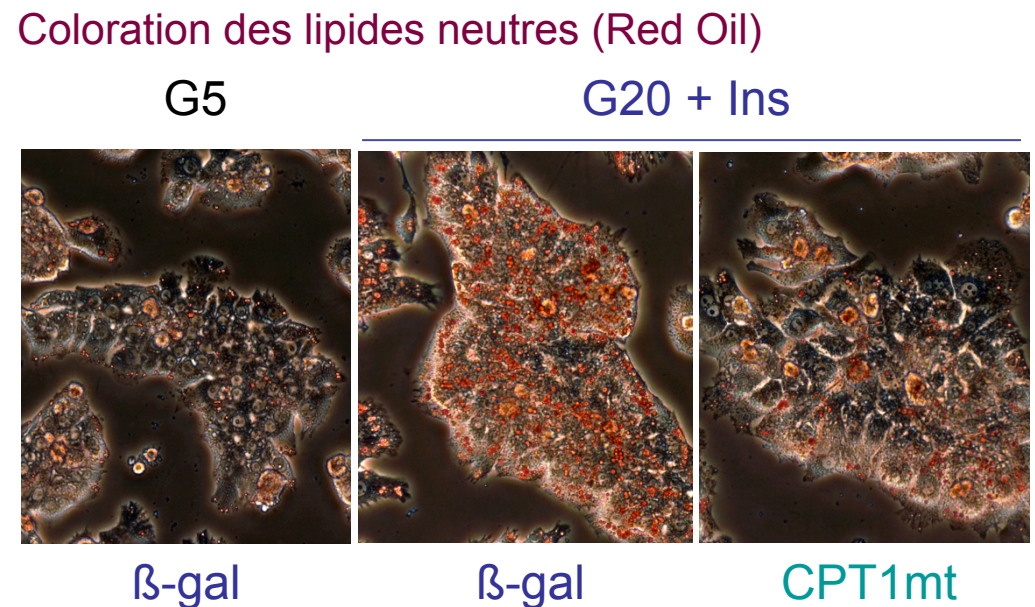
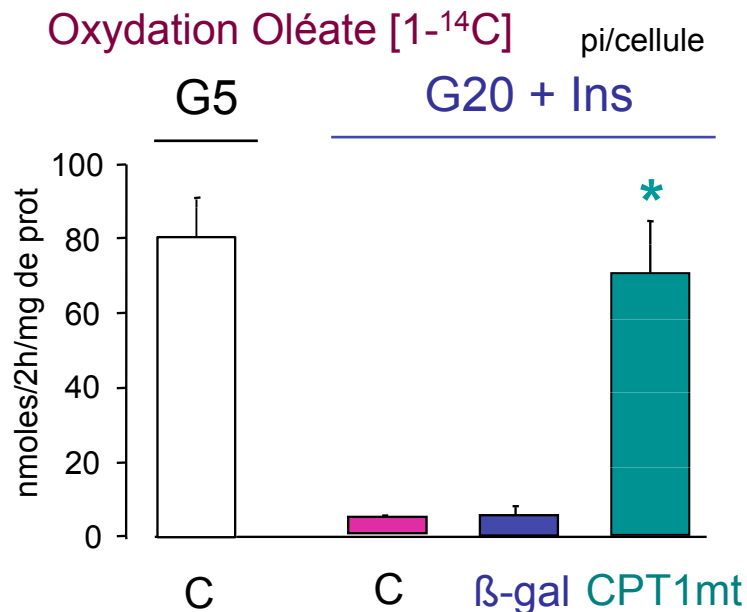
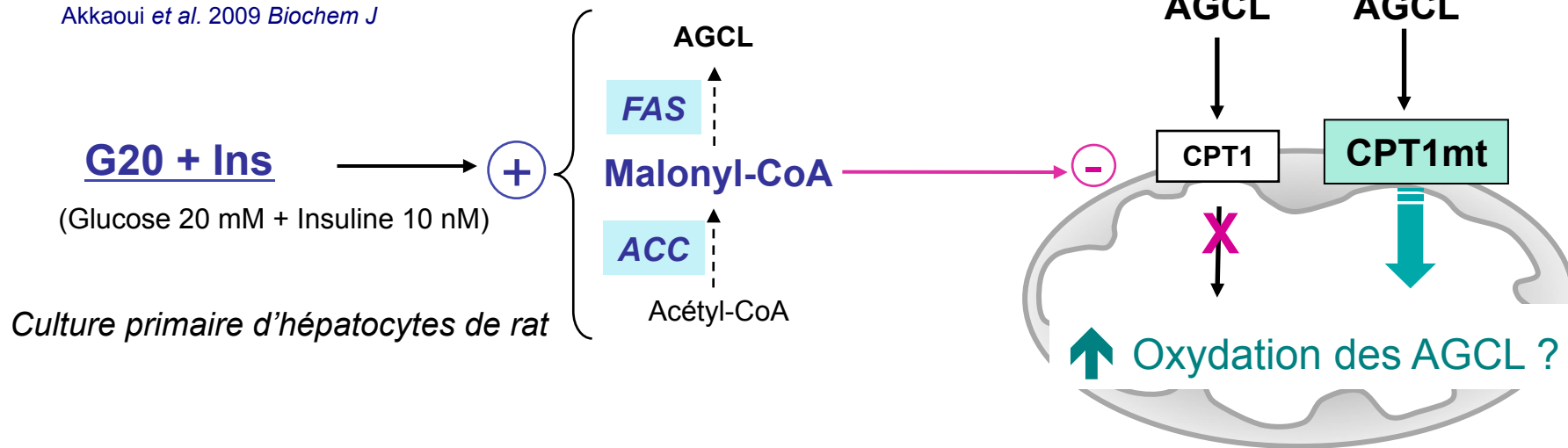
McGarry et al. 1977 *J.Clin.Inv.* **60**, 265

Le malonyl-CoA est l'inhibiteur physiologique de la CPT1

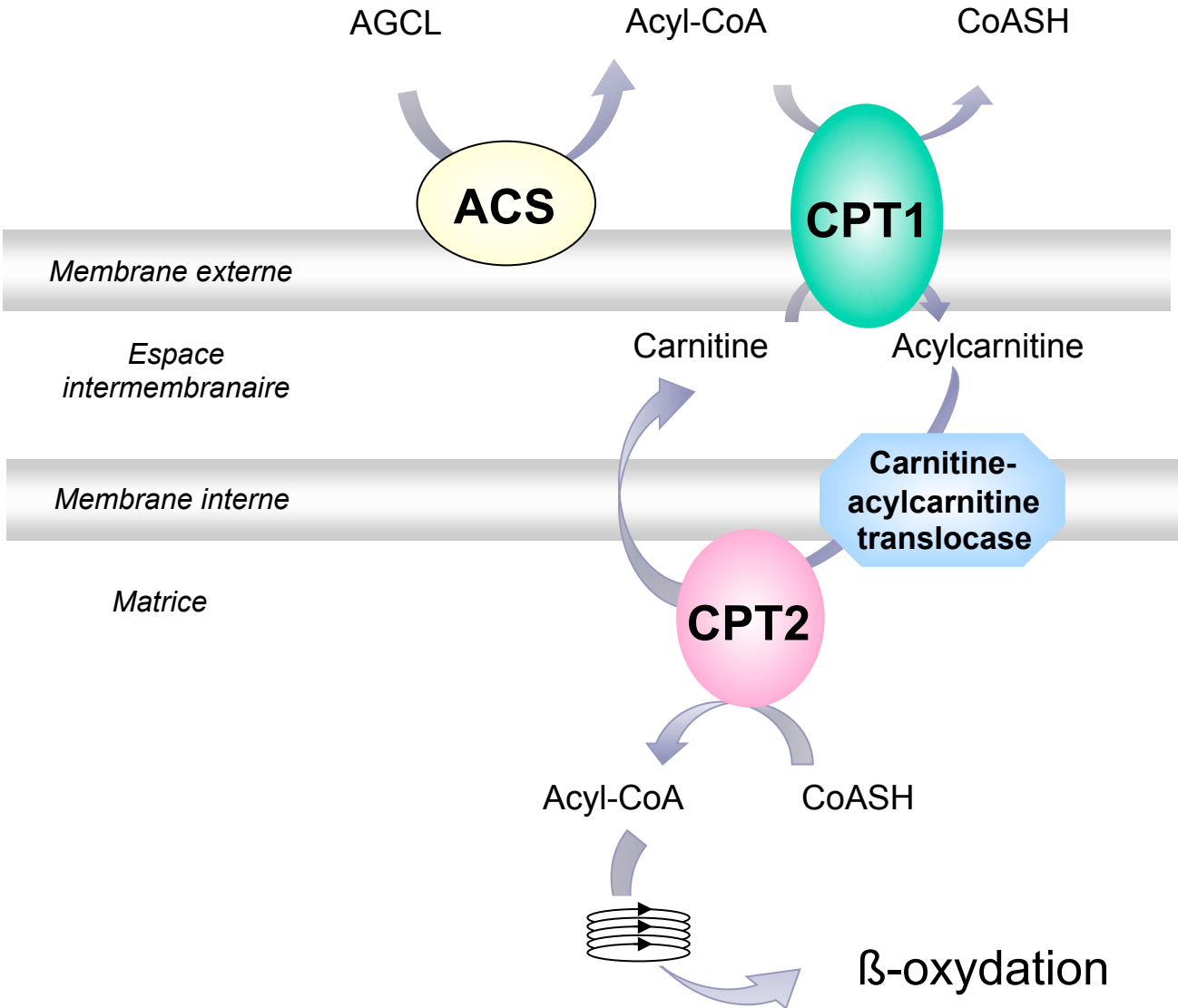
Substrats	Concentration de malonyl-CoA		
	0 μ M	10 μ M	20 μ M
	<i>% de la valeur contrôle</i>		
[1- ¹⁴ C] Palmitate	100	15	4
[1- ¹⁴ C] Palmitoyl-CoA	100	20	6
[1- ¹⁴ C] Palmitoyl-carnitine	100	100	99

Conséquences métaboliques de l'expression d'une CPT1A insensible au malonyl-CoA (CPT1mt)

Akkaoui et al. 2009 *Biochem J*



Le système « carnitine palmitoyltransférase »



Les CPT mitochondriales



Isoforme hépatique
(L-CPT1)



Isoforme musculaire
(M-CPT1)



1p32
Gellera *et al.* (1994)

Gène (Homme)

11q13.1-q13.5
Britton *et al.* (1995)

22q13.31-q13.32
Yamazaki *et al.* (1996)

Protéine

773 aa - 88 kDa

772 aa - 82 kDa
63% identité

658 aa - 82 kDa

Tissus

Ubiquitaire ... sauf
muscle squelettique

Muscle squelettique
Cœur

Ubiquitaire

Déficits humains

OUI

???

OUI

Sensibilité au
malonyl-CoA

OUI et Variable

OUI mais non variable

NON

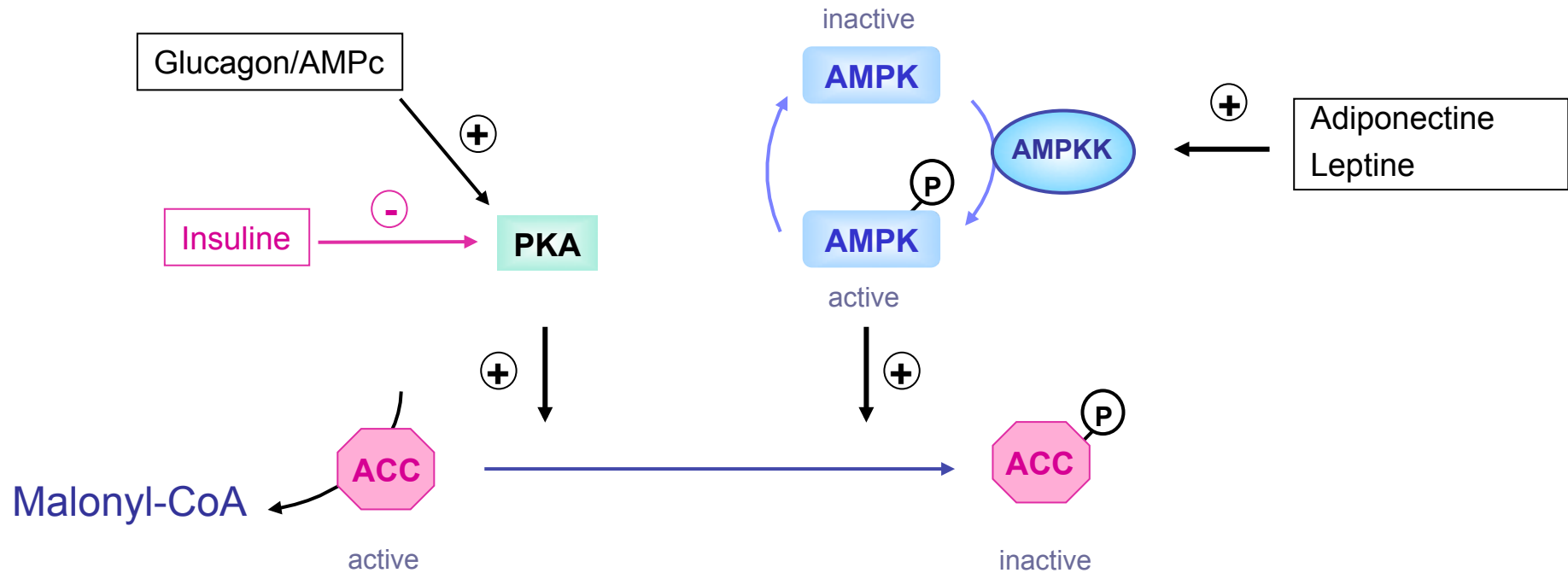
IC₅₀ Malonyl-CoA

1 - 30 μM

0,03 μM

Régulation post-traductionnelle de l'activité de la CPT1

1- Modifications à court terme de la concentration de malonyl-CoA



ACC : acétyl-CoA carboxylase
PKA : protéine kinase A

AMPK : AMP-kinase
AMPKK : AMP-kinase kinase

Régulation post-traductionnelle de l'activité de la CPT1

2- Changements à long terme de la sensibilité de la CPT1A au malonyl-CoA

Naissance, allaitement
Jeûne
Diabète

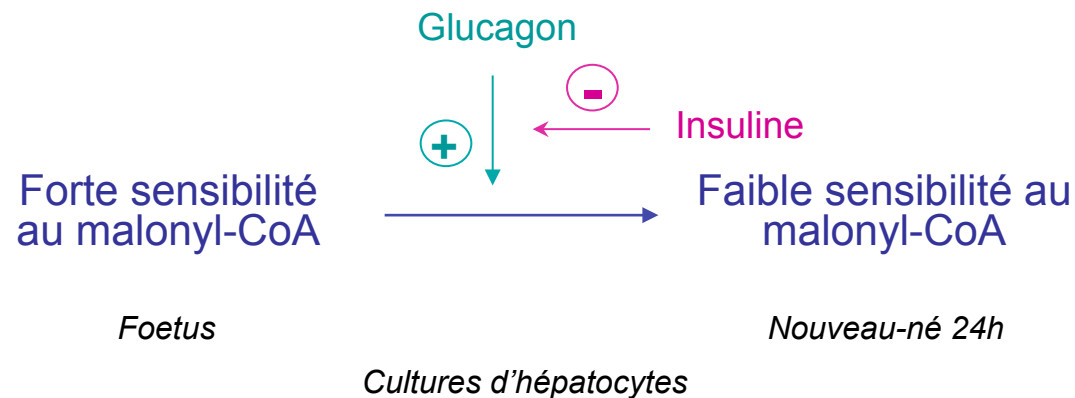
↑ Oxydation des AGCL

↓ Sensibilité de la CPT1A
au malonyl-CoA

Sevrage
Réalimentation
Obésité

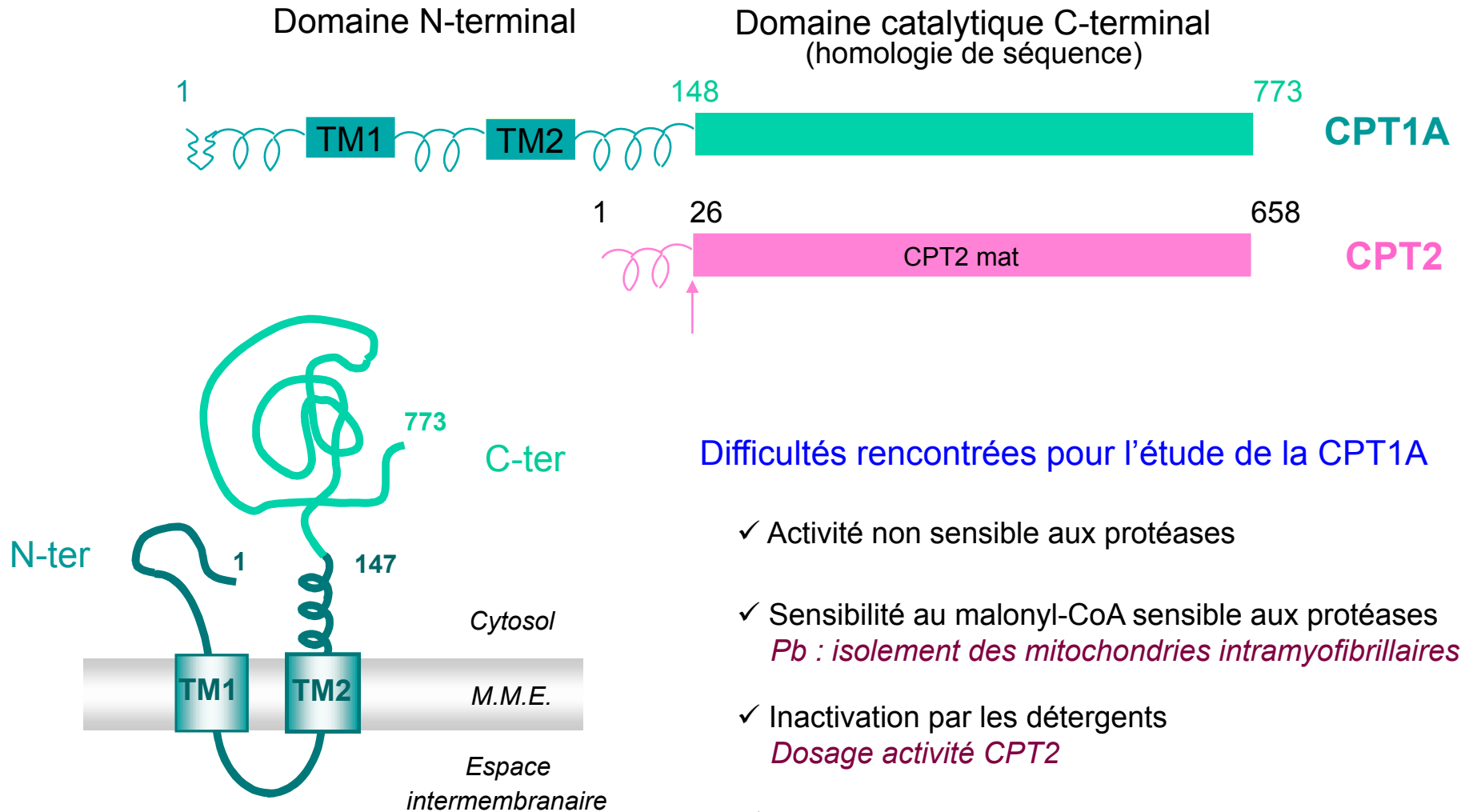
↓ Oxydation des AGCL

↑ Sensibilité de la CPT1A
au malonyl-CoA



Cultures d'hépatocytes
Prip-Buus et al. 1990 *Biochem. J.* **269**, 409

La CPT1A mitochondriale de rat



Fraser et al. 1997 *Biochem.J.* **323**, 711

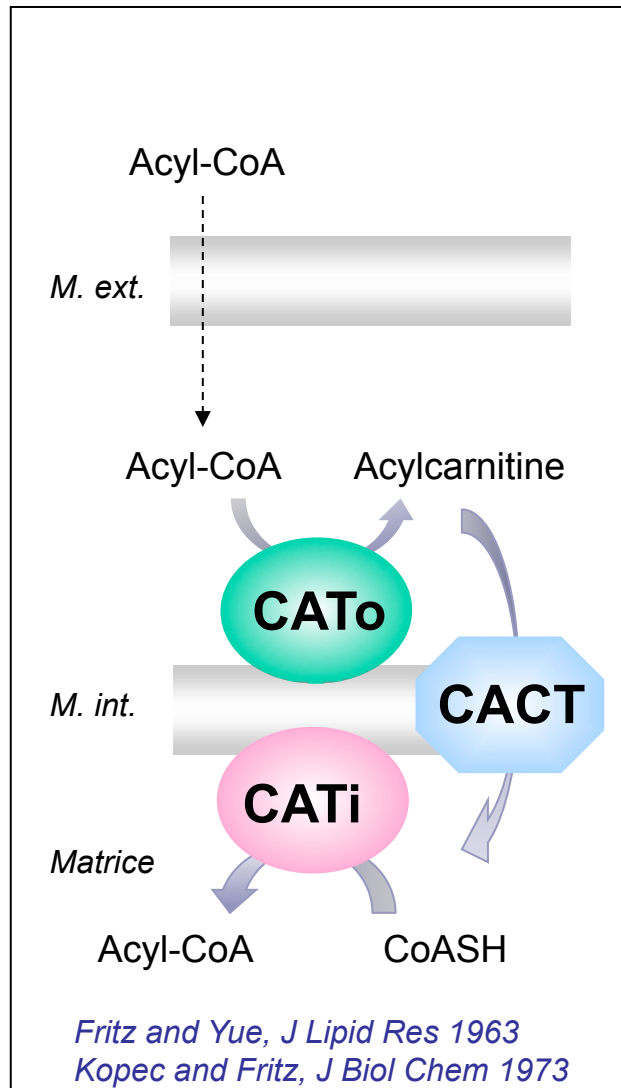
TM : segment transmembranaire

Difficultés rencontrées pour l'étude de la CPT1A

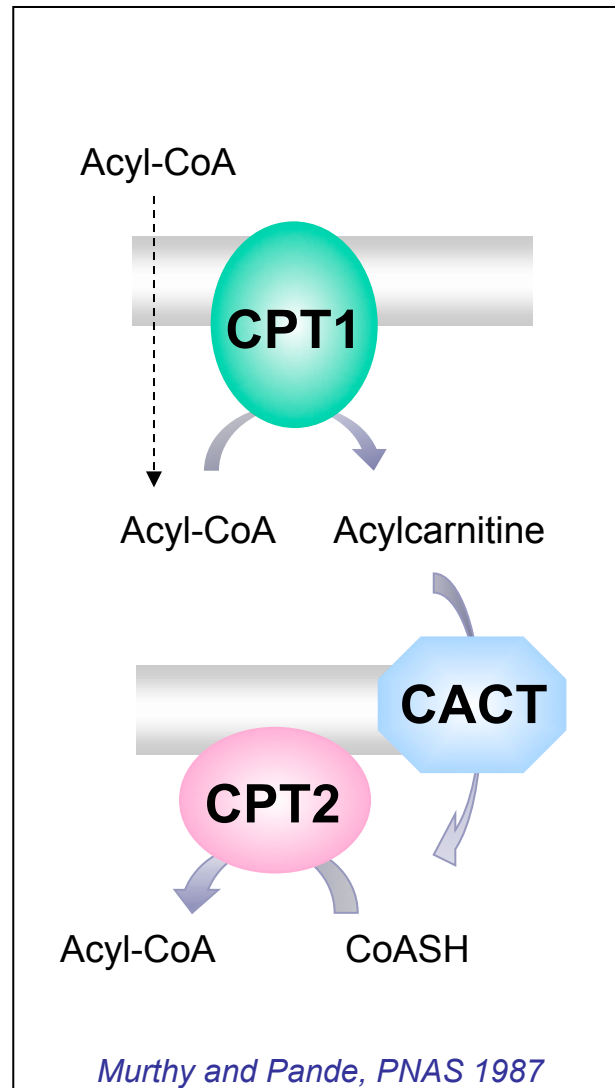
- ✓ Activité non sensible aux protéases
- ✓ Sensibilité au malonyl-CoA sensible aux protéases
Pb : isolement des mitochondries intramyofibrillaires
- ✓ Inactivation par les détergents
Dosage activité CPT2
- ✓ Activité CPT1A versus activité CPT2 ?
Nécessité d'utiliser des mitochondries intactes

Evolution historique du système CPT

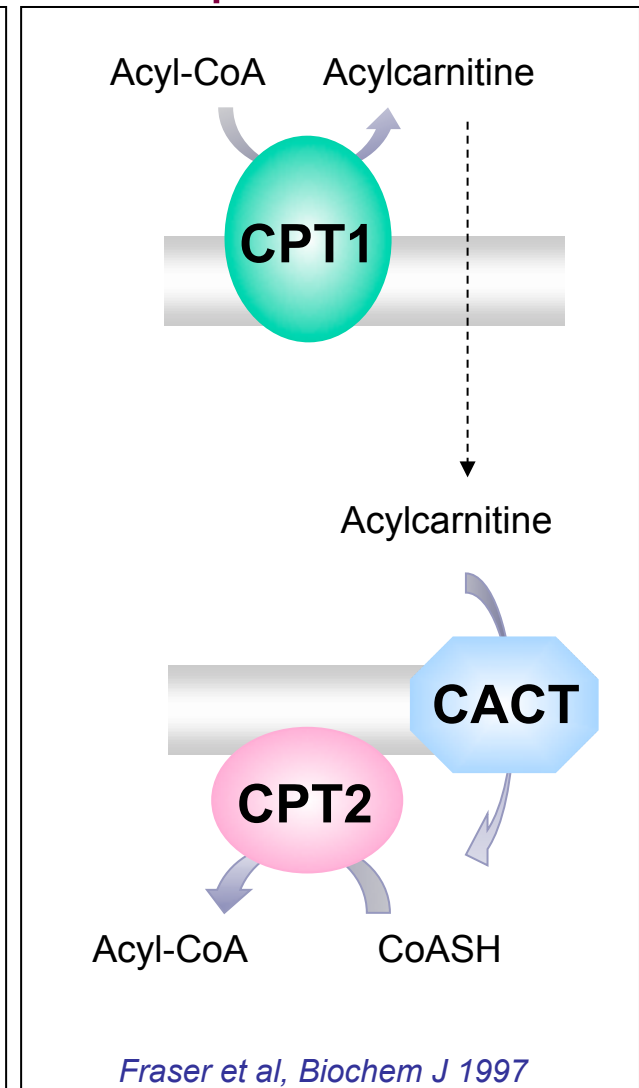
Avant 1987



1987



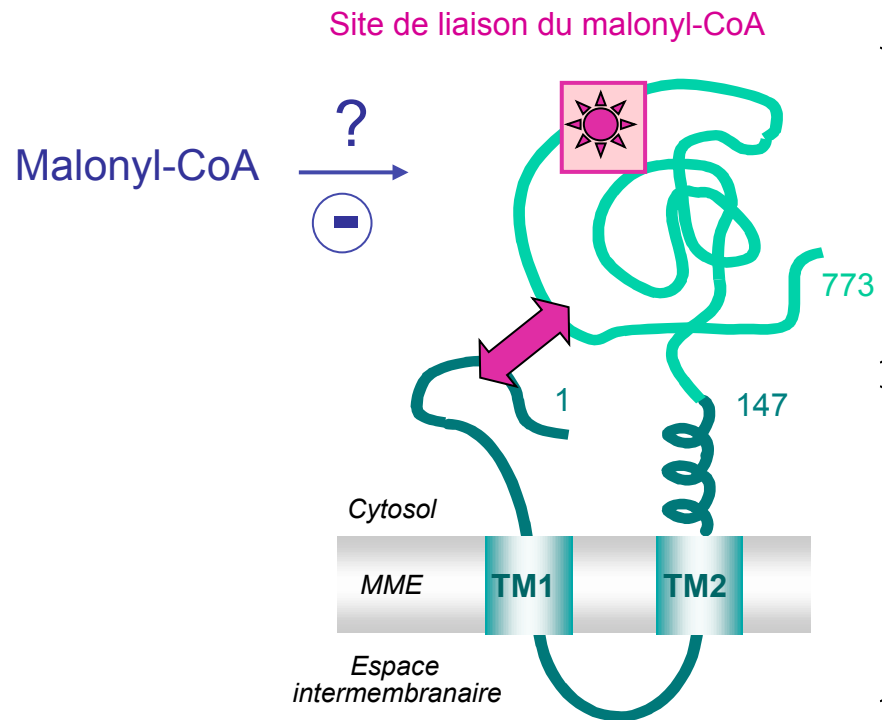
Après 1997



Analyse structure-fonction de la CPT1A

Expression hétérologue dans *S. cerevisiae* de mutants CPT1A ou de protéines CPT chimériques

Coll. J.P. Bonnefont, Hôpital des Enfants Malades-Necker, Paris



• Déficiences humaines en CPT1A

Domaine catalytique C-terminal

- ✓ Déterminants structuraux et fonctionnels

Prip-Buus et al. Mol Genet Metab 2001

Gobin et al. Hum Genet 2002

Gobin et al. JBC 2003

• Rat CPT1A

Domaine N-terminal

- ✓ Importation mitochondriale
- ✓ Maintient le domaine catalytique C-terminal dans une conformation sensible au malonyl-CoA
- ✓ Pas de liaison du malonyl-CoA

Cohen et al. JBC 1998

Cohen et al. JBC 2001

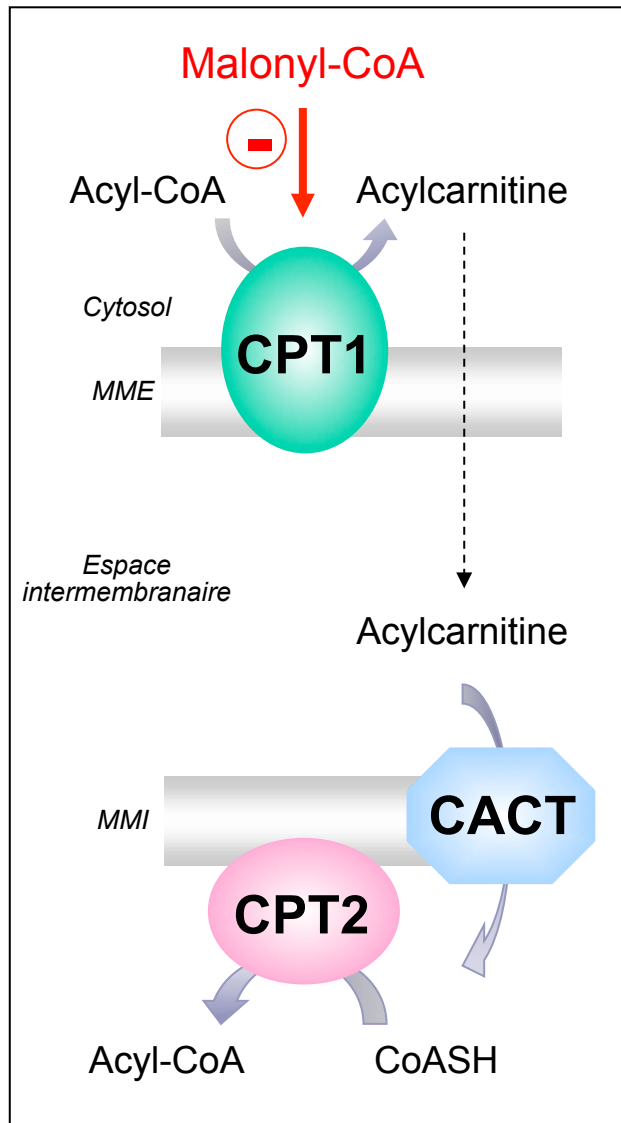
Pan et al. JBC 2002

Interactions N/C intramoléculeuses

- ✓ Degré de sensibilité au malonyl-CoA

Faye et al. Biochem J 2005

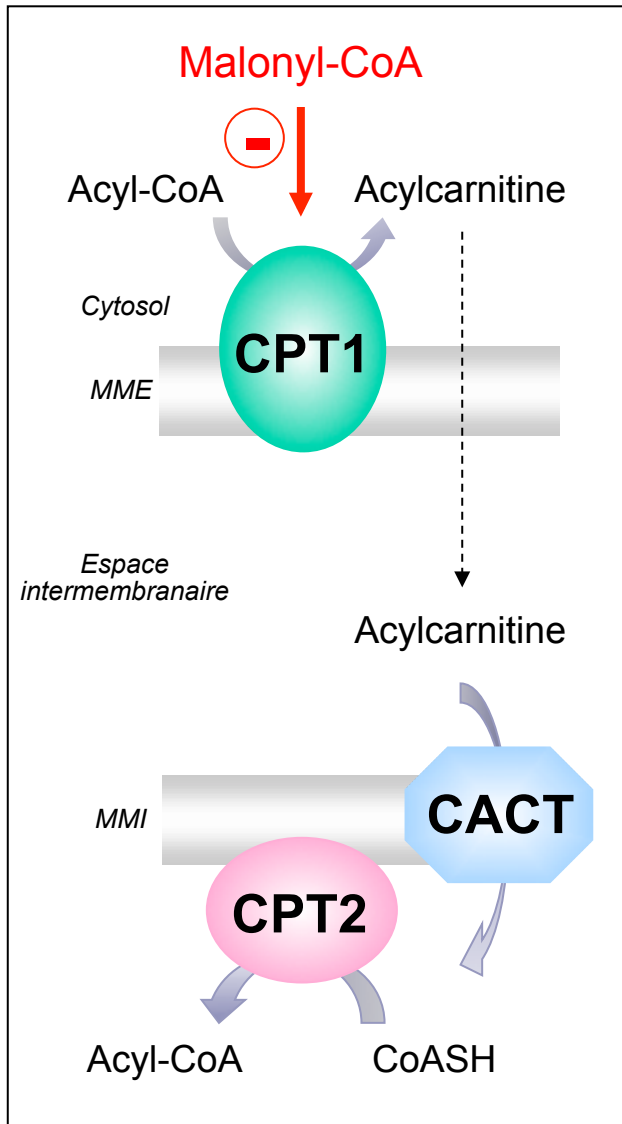
Questions qui restent encore sans réponse...



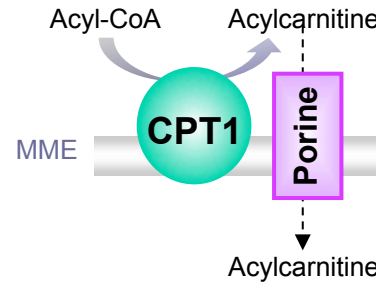
✓ Site de liaison du malonyl-CoA des CPT1s ?

✓ Différence de sensibilité au malonyl-CoA entre CPT1A et CPT1B ?

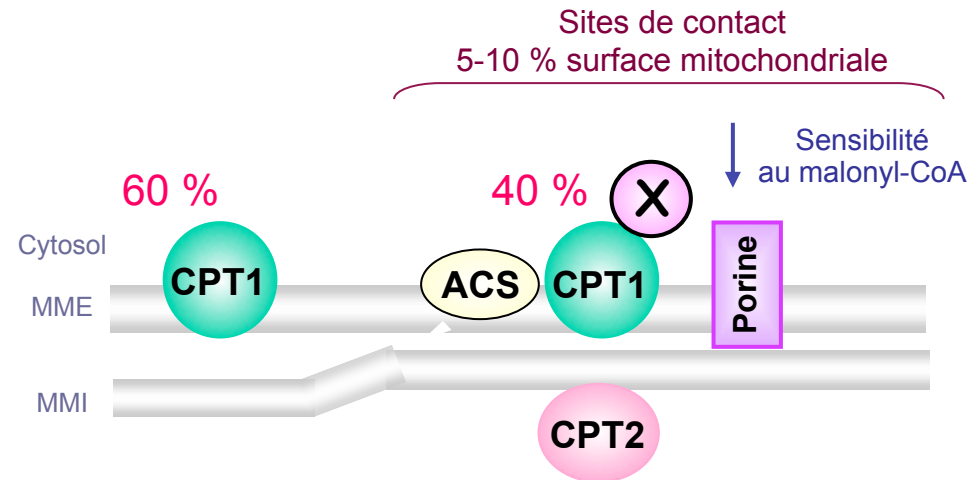
Questions qui restent encore sans réponse...



✓ Transport des acylcarnitines à travers la M. externe ?

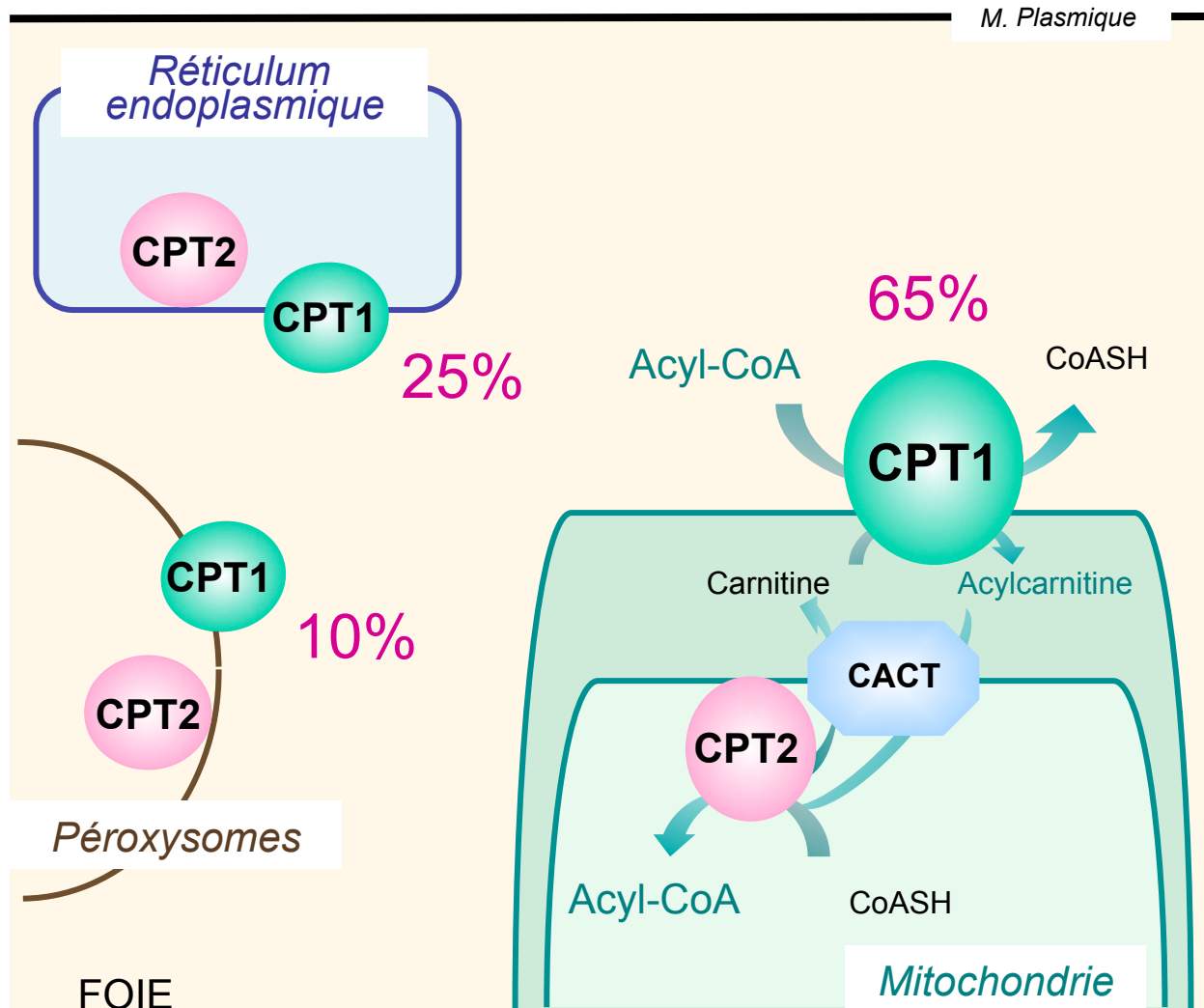


✓ Dynamique membranaire du système « CPT » ?



Fraser and Zammit, *Biochem J* 1998

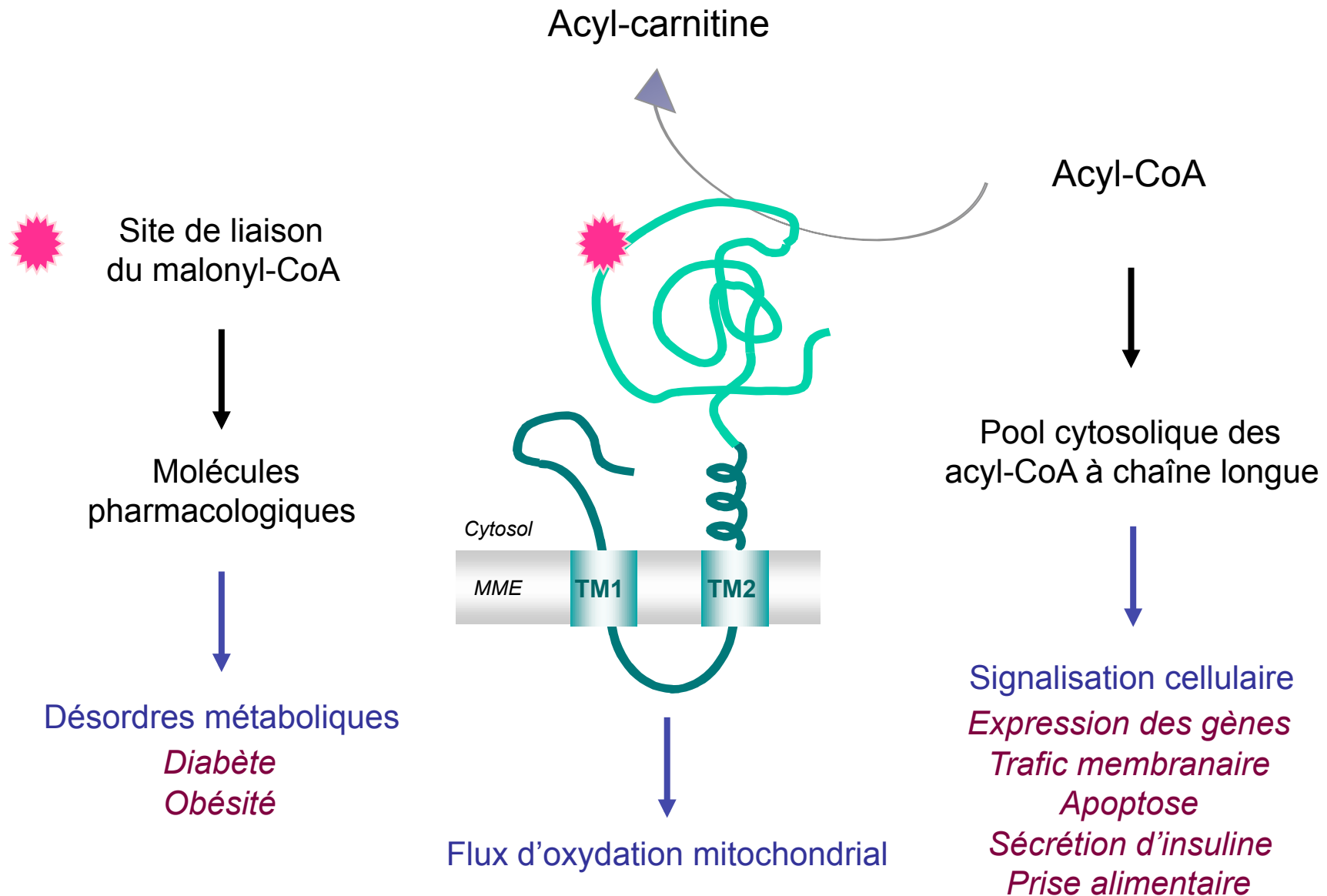
Attention... aux « CPTs-like » non mitochondriales



Organe ou biopsie congelé

- ✓ Activité CPT globale =
Activité cellulaire CPT1 + CPT2
- ✓ Activité CPT + malonyl-CoA =
Activité CPT2 globale
- ✓ Activité CPT + détergent =
Activité CPT2 globale

Importance du contrôle du transport mitochondrial des AGCL



Remerciements

Denis McGarry

Jean-Paul Bonnefont

Laure Thuillier

Stéphanie Gobin

Les membres du groupe « CPT »

Isabelle Cohen

Audrey Faye

Marie Akkaoui

Julia Monsenego

Carole Henique

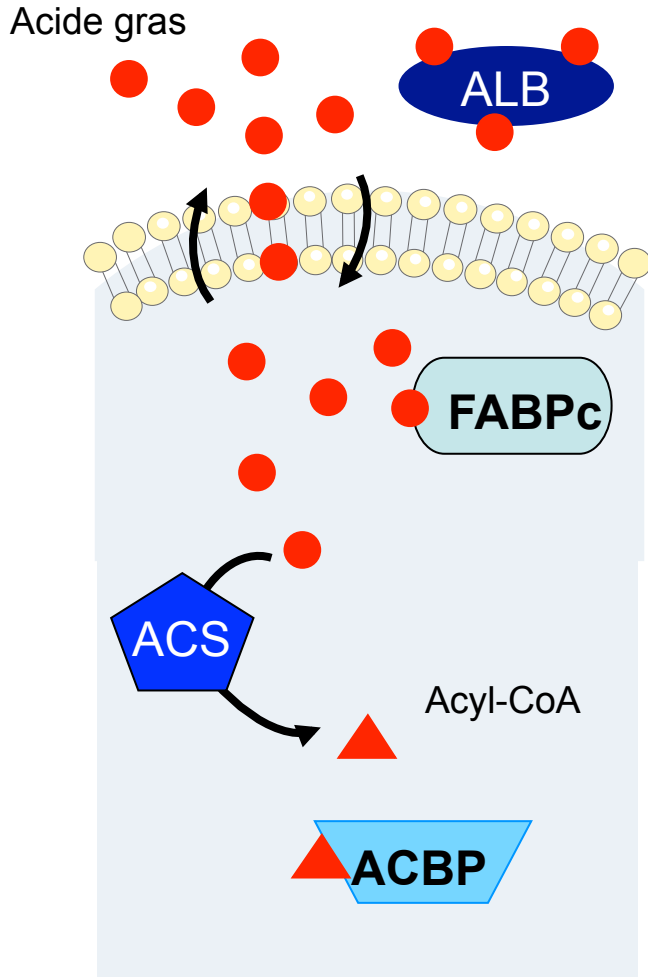
Abdelhak Mansouri

Catherine Esnous

Véronique Lenoir

Transport des acides gras à travers la membrane plasmique

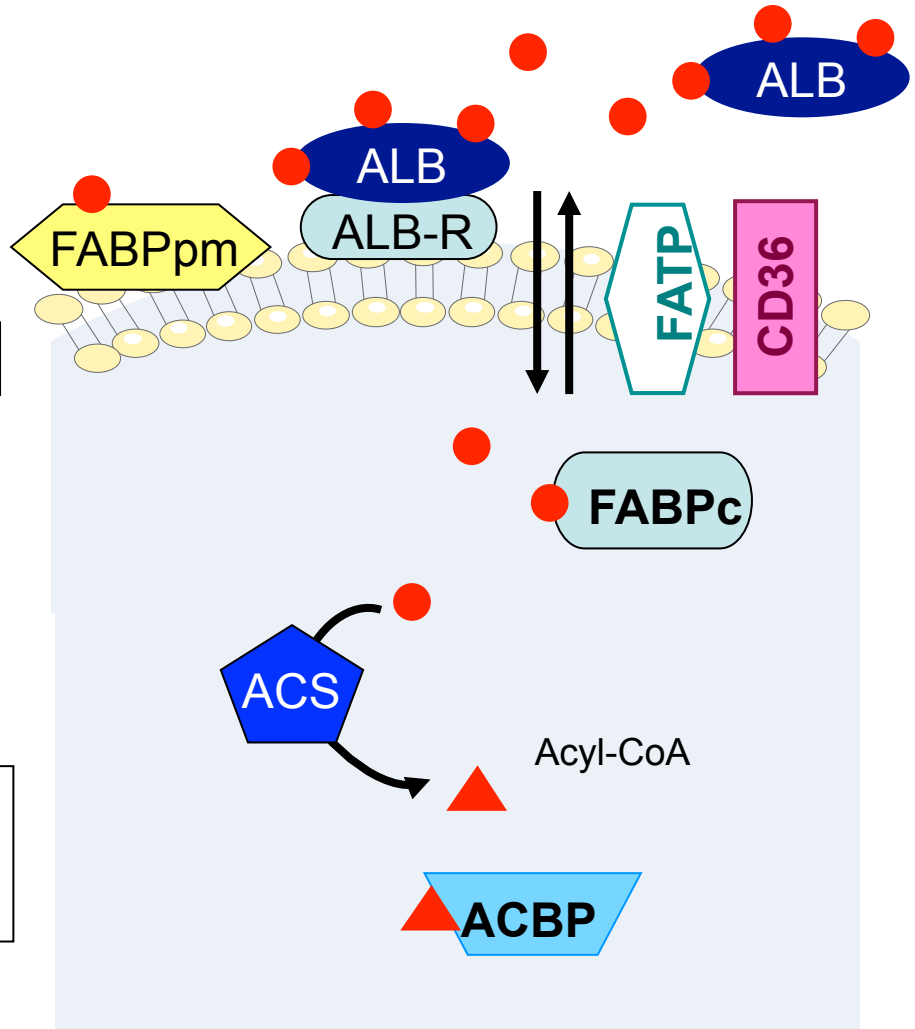
Diffusion simple



Bidirectionnel

Unidirectionnel
couplé à
une activation

Transport facilité



ALB : albumine
FABPc : cytosolic fatty acid binding protein
ACS : acyl-CoA synthétase

ACBP : acyl-CoA binding protein

ALB-R : récepteur à l'albumine
FABPpm : fatty acid binding protein