

## Localisation des ARNm sur la surface mitochondriale : outil pour le traitement de pathologies rétiniennes dues à des mutations de l'ADN mitochondrial

par Crystel Bonnet, Valérie Kaltimbacher, Sami Ellouze, Valérie Forster, José-Alain Sahel  
& Marisol Corral-Debrinski

Laboratoire de Physiopathologie Cellulaire et Moléculaire de la Rétine, INSERM U592, Hôpital Saint-Antoine,  
Bât. Kourilsky, 184, rue du Faubourg Saint-Antoine, 75771 Paris Cedex 12. E-mail : corral@st-antoine.inserm.fr

Reçu le 21 juin 2006

### RÉSUMÉ

La distribution spatio-temporelle des ARNm joue un rôle fondamental au cours du développement et de la différenciation cellulaire mais aussi pour permettre la plasticité synaptique. L'adressage d'ARNm à la surface d'organites, en particulier la mitochondrie, est également important pour l'accomplissement des fonctions dans la cellule. Deux séquences sont nécessaires et suffisantes pour localiser un ARNm sur la surface mitochondriale : le MTS (*Mitochondrial Targeting Sequence*) et le 3'UTR. C'est pourquoi, nous avons

utilisé la localisation des ARNm comme un outil pour adresser à la mitochondrie une protéine qui n'est pas normalement importée. Nous avons choisi d'associer aux versions nucléaires des gènes *ATP6* et *ND1* les séquences d'adressage du gène nucléaire *COX10*, dont l'ARNm qui se localise exclusivement sur la surface mitochondriale. Cette stratégie consistant à contraindre un ARNm à se localiser sur la surface mitochondriale améliore significativement l'expression allotopique des gènes mitochondriaux examinés.

### SUMMARY mRNA localization to the mitochondrial surface: a tool to treat retinal pathologies due to mitochondrial DNA mutations

mRNA subcellular distribution and translational control are key player mechanisms for development, cellular differentiation and synaptic plasticity. mRNA localization is also implicated in mitochondria biogenesis. Two sequences within the transcripts are involved in their mitochondrial localization: the region coding for the mitochondrial targeting sequence (MTS) and the 3'UTR. Therefore, we decided to use mRNA localization as a tool to address to mitochon-

dria a protein that is not normally imported. We have chosen to construct nuclear versions of the mtDNA encoded *ATP6* and *ND1* genes to which we appended the signals of *COX10* gene, whose transcript is sorted to the mitochondrial surface. Thus, by directing a hybrid mRNA to the mitochondrial surface, we significantly improved the feasibility of the allotopic approach for the mitochondrial genes examined.

Le transport des ARNm ainsi que leur localisation subcellulaire sont des mécanismes clés de l'homéostasie cellulaire. Ils contrôlent entre autres, la plasticité synaptique, l'apprentissage et la mémoire, de même que la polarité et la motilité cellulaire. Ils jouent également un rôle prépondérant dans la division asymétrique dans les œufs ou les embryons de certains eucaryotes. Au cours de ces vingt dernières années, de nombreux exemples d'ARNm localisés ont été décrits. Ces exemples concernent la plupart des organismes modèles étudiés : plantes, levure, drosophile, xénope, mammifères,... Le signal permettant la reconnaissance et le transport des ARNm a été caractérisé dans la région 3' non traduite (3'UTR), mais

peu de protéines ont été décrites comme interagissant avec ce signal (Jansen & Kiebler, 2005). Par ailleurs, la perturbation de la localisation des ARNm semble être impliquée dans l'apparition de certaines maladies neurologiques, comme le syndrome de l'X fragile (Bassell & Kelic, 2004). De plus en plus de données concernant la localisation des ARNm voient le jour et ouvrent des perspectives nouvelles pour l'explication de certains mécanismes. Ici, avec l'aide de quelques exemples, nous essayons de récapituler les dernières données obtenues sur la localisation des ARNm, ainsi que le rôle de cette localisation dans de nombreuses fonctions au sein de la cellule quelque soit l'espèce étudiée.

## DIFFÉRENCIATION CELLULAIRE

Il s'agit pour une cellule ou une population de cellules d'acquérir des caractères morphologiques originaux habituellement en rapport avec une spécialisation fonctionnelle, ce qui est le cas de la division cellulaire asymétrique. La drosophile, le xénope et la levure sont de loin les modèles les plus étudiés pour la localisation des ARNm au cours de la division cellulaire. Chez la drosophile (*Drosophila melanogaster*), de nombreux exemples d'ARNm localisés ont été décrits. Ainsi, les ARNm *bicoid* et *oskar* sont impliqués dans l'établissement de l'axe antéro-postérieur du futur embryon tandis que l'ARNm *gurken* est responsable de l'axe dorso-ventral. L'ARNm *oskar* est localisé dans la partie postérieure de l'ovocyte et de l'embryon et il est essentiel pour la formation des structures postérieures et des cellules germinales. Il est à noter qu'une perturbation de la localisation de l'ARNm *oskar* induit le développement d'un second abdomen à la place de la tête et du thorax (pour revue, voir Saint-Johnston, 2005). Chez le xénope (*Xenopus laevis*), l'ARNm *Vg1* se localise dans le cortex végétal de l'ovocyte au cours de l'ovogenèse. Cet ARNm code une protéine membre de la famille TGF  $\beta$  (*Transforming Growth Factor  $\beta$* ). Cette protéine est impliquée dans la formation du mésoderme et l'établissement de l'asymétrie gauche/droite au cours du développement de l'embryon (Czaplinski & Mattaj, 2006). L'ARNm *Vg1* perd sa localisation végétative en cas d'absence ou de mutation au sein de son 3'UTR (Schwartz *et al.*, 1992). Un autre exemple de division asymétrique est celui de la levure *Saccharomyces cerevisiae*. En effet, l'ARNm *ASH1* est localisé à l'extrémité du bourgeon pendant l'anaphase au cours du cycle cellulaire, conduisant à l'adressage de la protéine Ash1p dans les noyaux des cellules filles (Basyuk *et al.*, 2004). De façon intéressante, une mauvaise localisation de l'ARNm *ASH1* entraîne une distribution symétrique de la protéine Ash1p. Par ailleurs, la localisation des ARNm ne concerne pas uniquement le gène *ASH1*, ainsi 23 autres ARNm ont été identifiés comme se localisant dans le bourgeon (Gonzalez *et al.*, 2005).

## NEURONES ET PLASTICITÉ SYNAPTIQUE

Pour mémoire, les synapses subissent des modifications pendant le processus de plasticité synaptique. La localisation des ARNm joue un rôle important au sein du système nerveux central. Ainsi, l'ARNm *MBP* (*Myelin Basic Protein*), le premier décrit, qui code la protéine basique de la myéline, se concentre majoritairement dans la myéline des oligodendrocytes (Smith, 2004). L'ARNm *tau* et celui de l'actine  $\beta$  se localisent préférentiellement dans l'axone et participent, entre autres, à sa croissance (Bassell *et al.*, 1998; Bassell & Kelic, 2004). Par ailleurs, plus de vingt ARNm dont la localisation est dendritique ont été identifiés chez les mammifères, tel *MAP2* (*Microtubule-Associated Protein-2*), *CaMKII $\alpha$*  (Calmoduline

de type II $\alpha$ ), *Arc* (*Activity-regulated cytoskeleton associated protein*), *FMRP* (*Fragile X mental retardation protein*) (Smith, 2004). Il a été montré chez la souris, que l'ARN *CaMKII $\alpha$* , dépourvu de son 3'UTR reste dans le soma ce qui conduit à une réduction significative de la potentialisation à long terme. De même, des défauts dans le maintien de la phase de potentialisation à long terme ont été observés après injection dans l'hippocampe d'un ARN antisens spécifiquement dirigé contre l'ARNm *Arc*. Ces deux derniers exemples confirment l'importance de la localisation des ARNm pour la plasticité synaptique (Ule & Darnell, 2006).

## ORGANITES : CHLOROPLASTES ET MITOCHONDRIES

Certains organites comme les chloroplastes et les mitochondries possèdent leur propre génome qui code seulement une dizaine de protéines nécessaires à l'accomplissement de leur fonction. Mais cet ADN est insuffisant pour subvenir aux besoins de l'organite. La majorité des protéines présentes sont codées par l'ADN nucléaire (99 % dans le cas des mitochondries) d'où l'importance d'un bon adressage des ARNm. Ainsi, certains transcrits comme l'ARNm *Por* (*NADPH-Protochlorophyllide oxidoreductase*) sont très fortement enrichis à la surface du chloroplaste. Le rôle de cette protéine est capital pour la synthèse de la chlorophylle chez les plantes (Marrison *et al.*, 1996; Okita & Choi, 2002). En ce qui concerne les mitochondries, il a été décrit chez la levure *Saccharomyces cerevisiae* que 47 % des ARNm codant des protéines mitochondriales sont transportés à la surface mitochondriale (Marc *et al.*, 2002; Sylvestre *et al.*, 2003b). Pour les ARNm *ATM1* et *ATP2* (codant respectivement un ABC transporteur et une sous-unité du complexe V de la chaîne respiratoire), une altération de cette localisation entraîne une déficience respiratoire confirmant son importance pour l'assemblage d'un organite fonctionnel (Corral-Debrinski *et al.*, 2000; Margeot *et al.*, 2002). Deux régions des ARNm *ATM1* et *ATP2* sont impliquées dans leur localisation mitochondriale : une région en 5' codant la séquence d'adressage mitochondriale (MTS) et une région non codante en 3' comprise entre le codon stop et le site de polyadénylation (3'UTR) (Corral-Debrinski *et al.*, 2000; Margeot *et al.*, 2002). Récemment, l'équipe de Pilpel a montré l'importance du 3'UTR pour la stabilité des ARNm ainsi que pour leur localisation subcellulaire (Shalgi *et al.*, 2005). Dans les cellules humaines, les ARNm *ACO2*, *AKA2*, *ALDH2*, *ATP5b*, *COX10*, *NDUFV2* et *OXA1* sont également majoritairement présents sur la surface mitochondriale. Ainsi, l'adressage des ARNm sur la surface mitochondriale est conservé au cours de l'évolution (Sylvestre *et al.*, 2003a). Par ailleurs, il a été montré que pour le gène *NDUFV2*, la délétion de l'exon 2 codant la séquence d'adressage mitochondrial, MTS, est associée à une cardiomyopathie (Benit *et al.*, 2003). Par ailleurs, cette délétion du gène *NDUFV2* entraîne également une perturbation de la loca-

lisation de son ARNm ce qui pourrait être corrélé à l'apparition de la cardiomyopathie (Corral-Debrinski, communication personnelle).

## MITOCHONDRIES ET EXPRESSION ALLOTOPIQUE

La mitochondrie joue un rôle central dans la production de l'énergie cellulaire mais également dans le processus de mort cellulaire programmée ou apoptose (Green & Reed, 1998). Depuis plus de quinze ans, l'étude des pathologies mitochondriales a montré la grande complexité des symptômes et des évolutions cliniques. Actuellement, plus de 130 pathologies ont été répertoriées comme étant causées par des dysfonctionnements mitochondriaux (Di Mauro & Schon, 2003 ; Zeviani & Careli, 2003). Elles représentent une naissance sur 5 000 (Schaefer *et al.*, 2004) et entraînent une déficience des complexes de la chaîne respiratoire se caractérisant par une aggravation inexorable des symptômes (Di Mauro, 2004). A ce jour, aucun traitement curatif ou palliatif ne peut être utilisé contre ces troubles métaboliques. Plus de 150 altérations de l'ADN mitochondrial ont été identifiées comme responsables de pathologies mitochondriales, dont un tiers d'entre elles touche des gènes codant des protéines de la chaîne respiratoire. Les pathologies faisant intervenir des modifications du génome mitochondrial restent à l'heure actuelle un enjeu majeur de la thérapie génique. Cependant, il est impossible encore aujourd'hui de transférer directement des gènes dans les mitochondries de mammifères et seul un modèle animal existe pour des pathologies mitochondriales causées par des mutations ponctuelles de gènes localisés dans l'organite (Kasahara *et al.*, 2006). C'est pourquoi l'expression allotopique de ces gènes a été envisagée comme un moyen de contourner ce problème. Ainsi, quatre équipes ont tenté d'exprimer les versions nucléaires de protéines codées originalement par le génome mitochondrial dans le cytoplasme de cellules provenant de patients atteints de pathologies mitochondriales (Guy *et al.*, 2002 ; Manfredi *et al.*, 2002 ; Oca-Cossio *et al.*, 2003). L'équipe du Dr. Manfredi a récemment décrit les résultats obtenus pour le gène mitochondrial *ATP6*. Des cellules d'un patient atteint de MILS (*Mother Inherited Leigh Syndrome*), due à la mutation T8993G dans le gène *ATP6*, exprimant une version nucléaire du gène sauvage ne présentaient qu'une amélioration modérée et temporaire de la synthèse d'ATP. Ceci était certainement la conséquence d'une importation mitochondriale insuffisante du précurseur *ATP6*. En effet, seulement 18,5 % de la protéine produite dans le cytoplasme étaient importés dans la mitochondrie (Manfredi *et al.*, 2002). L'équipe d'Oca-Cossio a montré que l'expression allotopique de l'*apocytochrome b* et de *ND4* dans les cellules Cos-7 et dans les cellules HeLa ne conduisait pas à une importation mitochondriale efficace de ces protéines (Oca-Cossio *et al.*, 2003). Ainsi, parmi les essais d'expression allotopique rapportés à ce

jour, qui ont conjugué quatre MTS et cinq gènes mitochondriaux, aucun n'a abouti à une importation mitochondriale satisfaisante des précurseurs. En effet, les tentatives de restitution de la fonction respiratoire des fibroblastes portant les mutations dans des gènes mitochondriaux ont abouti à des effets partiels et de courte durée car les précurseurs produits dans le cytoplasme étaient inefficacement importés dans la mitochondrie (Guy *et al.*, 2002 ; Manfredi *et al.*, 2002 ; Oca-Cossio *et al.*, 2003 ; Smith *et al.*, 2004). De ce fait, l'expression allotopique en tant qu'approche thérapeutique souffre d'importantes limitations et requiert une optimisation pour franchir les obstacles majeurs qu'elle comporte avant son application comme thérapie génique (Smith *et al.*, 2004). Une hypothèse qui pourrait expliquer la faible capacité d'importation des protéines codées par l'ADN mitochondrial est leur hydrophobie élevée. La nature hydrophobe des précurseurs synthétisés entraînerait soit leur agrégation dans le cytoplasme soit leur blocage à la surface mitochondriale (Corral-Debrinski *et al.*, 1999 ; Claros *et al.*, 1995).

## LOCALISATION DES ARNm : UN OUTIL POUR L'OPTIMISATION DE L'EXPRESSION ALLOTOPIQUE

Notre stratégie a eu pour objectif d'optimiser l'expression allotopique en construisant un transgène contenant à la fois le gène mitochondrial et les séquences d'adressage requises afin de permettre la localisation de l'ARNm correspondant à la surface mitochondriale. Au laboratoire, nous avons construit une copie nucléaire du gène *ATP6* mitochondrial. Comme la mitochondrie possède son propre code génétique, il a fallu convertir les codons AUA en AUG et les codons UGA en UGG. En effet, les codons AUA et UGA, qui codent dans le génome mitochondrial une méthionine et un tryptophane, sont traduits dans le code universel par une isoleucine et un codon stop, respectivement. Ainsi, 11 codons mitochondriaux ont été modifiés permettant la traduction dans les ribosomes cytoplasmiques d'une protéine *ATP6* sauvage. Afin de contraindre l'ARNm correspondant à se localiser à la surface mitochondriale, nous avons ajouté les deux séquences essentielles à cette localisation : la région codant la séquence d'adressage mitochondrial (MTS) et la région comprise entre le codon stop et le signal de polyadénylation ou 3'UTR. Dans un premier temps, nous avons choisi le gène *SOD2* qui code une protéine mitochondriale car son transcrit se localise exclusivement à la surface mitochondriale dans les cellules HeLa (Ginsberg *et al.*, 2003 ; Sylvestre *et al.*, 2003a). Les cellules HeLa ont été transfectées avec deux constructions : une ne renferme que le MTS de *SOD2* et l'autre possède à la fois le MTS et le 3'UTR du gène *SOD2*. Sans aucune ambiguïté, l'immunofluorescence indirecte a permis de visualiser la protéine *ATP6* à la surface mitochondriale de ces cellules. Comme attendu, les ARNm hybrides sont transportés à la surface mitochon-

driale et cela a conduit à une translocation mitochondriale efficace des protéines correspondantes. En effet, entre 60 et 85 % des protéines ATP6 sont détectés à l'intérieur des mitochondries, le taux d'importation est similaire à celui de la sous-unité  $\alpha$  de l'ATPase, protéine mitochondriale endogène. Ainsi, la stratégie consistant à contraindre un ARNm à se localiser à la surface mitochondriale permet une optimisation de l'expression allotopique du gène *ATP6*. Ceci conduit à la translocation mitochondriale efficace des protéines correspondantes (Kaltimbacher *et al.*, 2006).

Pour confirmer l'optimisation de l'expression allotopique, nous avons effectué le même type d'expérience mais cette fois-ci en utilisant les signaux d'adressage du gène, *COX10*, qui code également une protéine mitochondriale. L'ARNm du gène *COX10* est exclusivement localisé à la surface mitochondriale chez la levure et dans les cellules humaines (Marc *et al.*, 2002; Sylvestre *et al.*, 2003b). C'est pourquoi, nous avons donc associé à la version nucléaire du gène *ATP6* les deux séquences d'adressage du gène *COX10*. Les résultats obtenus sont similaires à ceux observés avec les signaux d'adressage du gène *SOD2* (Kaltimbacher *et al.*, 2006). Les ARNm hybrides pour chacune de deux constructions sont retrou-

vés majoritairement dans la fraction mitochondriale (Fig. 1A). Ces ARNm hybrides permettent la synthèse d'un polypeptide qui est importé avec une grande efficacité dans la mitochondrie. En effet, entre 50 et 80 % de la forme mature de la protéine est détectée dans les préparations biochimiques de mitochondries, le taux d'importation est similaire à celui de la sous-unité  $\alpha$  de l'ATPase, protéine mitochondriale naturellement importée (Fig. 1B).

Nous avons également obtenu la version nucléaire du gène *ND1* associée avec le MTS et le 3'UTR du gène *COX10*. Des fibroblastes provenant d'une biopsie de peau d'un patient souffrant de la pathologie de LHON (*Leber Hereditary Optical Neuropathy*) (mutation G3460A dans le gène *ND1*) ont été transfectés de manière stable avec la version nucléaire sauvage de *ND1* associé aux signaux d'adressage du gène *COX10*. Les résultats d'immunofluorescence indiquent que la protéine ND1 est adressée *in vivo* à la mitochondrie (Fig. 2A). Plus important encore, l'expression de la protéine rend les cellules insensibles à l'absence de glucose dans le milieu. En effet, une mort cellulaire supérieure à 90 % a été observée dans les fibroblastes non-transfectés après six jours de culture dans un milieu où le glucose a été rem-

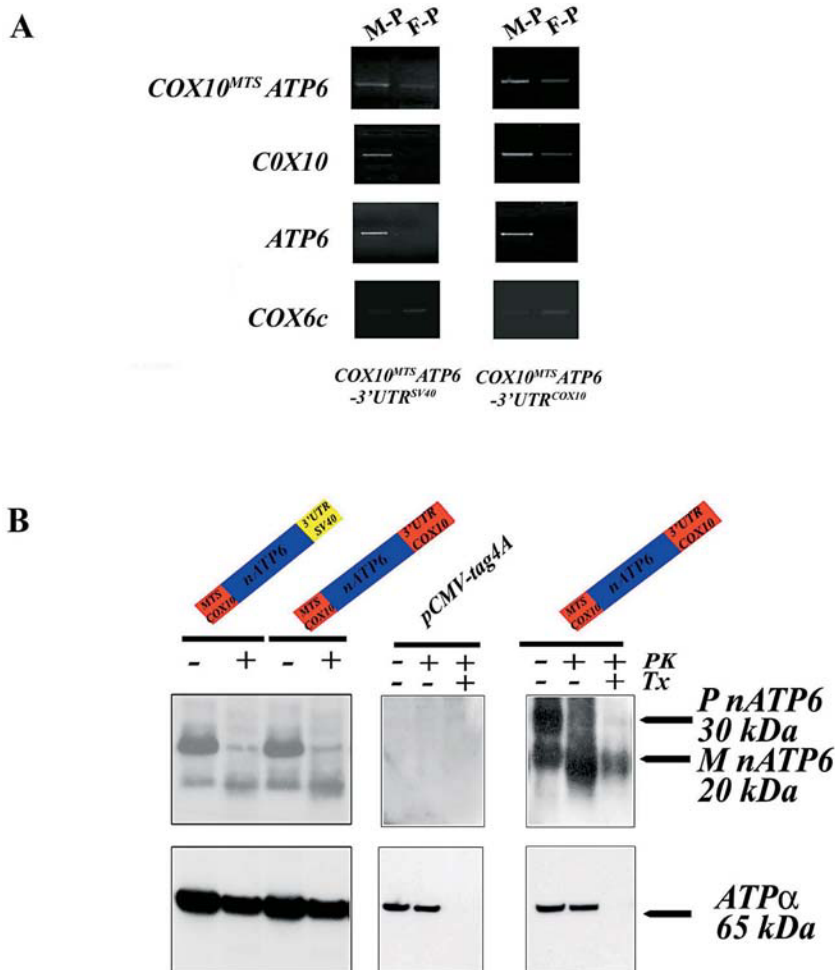


FIG. 1. – Importation de la protéine ATP6 avec les signaux d'adressage de *COX10*. **A**. Des ARNs sont purifiés à partir de deux populations polysomales (M-P : Mito-Polysomes; F-P : Free-Polysomes ou Polysomes libres du cytosol) transfectées soit avec un vecteur possédant le signal MTS, soit avec un vecteur possédant les deux signaux d'adressage de *COX10* (MTS et 3'UTR). Ils sont soumis à des RT-PCR. Les conditions de RT-PCR varient en fonction de l'ARNm amplifié : hybride *ATP6* : 200 ng et 35 cycles, *COX10* : 75 ng et 29 cycles, *ATP6* : 50 ng et 28 cycles, *COX6c* : 100 ng et 26 cycles. **B**. Western blot réalisés sur des mitochondries extraites à partir de cellules transfectées soit avec le vecteur vide (pCMV-Tag4A), soit avec des constructions portant un ou deux signaux d'adressage. 20  $\mu$ g de protéines sont traitées avec de la protéinase K (150  $\mu$ g/ml) avec ou sans Triton X-100 (1 %) à 0° C pendant 30 minutes. La présence de protéines hybrides est révélée à l'aide de l'anticorps anti-Flag M2. L'épitope Flag est présent dans chacune de nos constructions et est utilisé pour suivre le devenir des protéines hybrides.

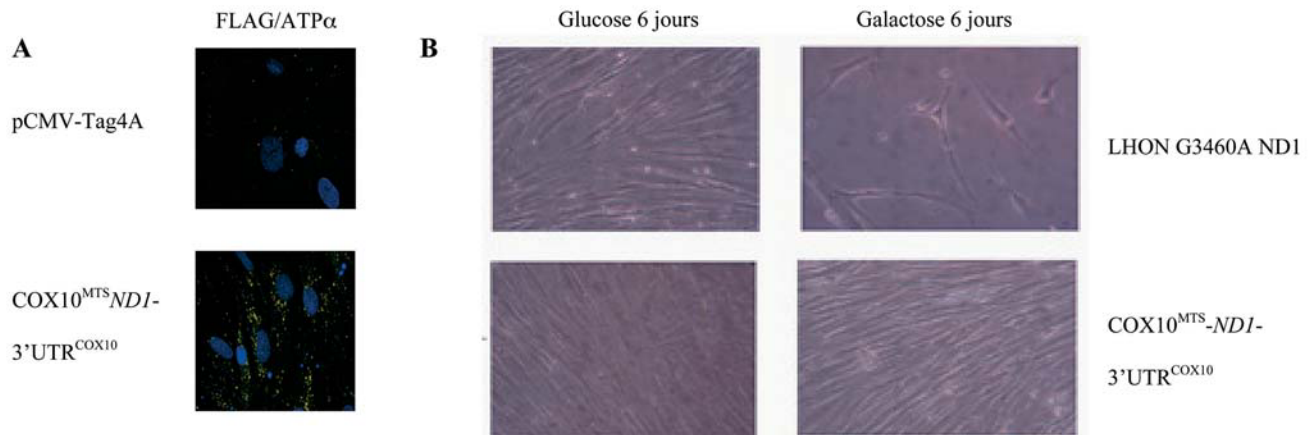


FIG. 2. – Importation efficace de la protéine ND1 avec les signaux d'adressage COX10.

A. La protéine de fusion est détectée en immunofluorescence indirecte par l'anticorps anti-Flag M2. Les cellules transfectées avec les deux signaux d'adressage montre une distribution similaire entre la protéine hybride et une protéine mitochondriale (sous-unité  $\alpha$  de l'ATPase).

B. Survie des cellules en présence de milieu galactose. Des fibroblastes d'un patient portant la mutation G3460A du gène *ND1* exprimant ou non la version sauvage du gène combinée aux signaux d'adressage du gène *COX10* ont subi une sélection dans un milieu où le glucose a été remplacé par le galactose pendant 6 jours (photo prise en lumière transmise à un grossissement  $\times 200$ ).

placé par le galactose (Fig. 2B). A l'inverse, les fibroblastes exprimant le gène *ND1* sauvage survivent dans le milieu galactose pendant 6 jours, sans souffrance cellulaire remarquable (Fig. 2B). Il en est de même après 21 jours de culture en milieu galactose. Ce résultat suggère que la protéine ND1 produite dans le cytoplasme est importée efficacement dans la mitochondrie, devenant ainsi capable de se substituer à la protéine endogène mutée au sein du complexe I de la chaîne respiratoire.

## CONCLUSIONS

La localisation des ARNm a augmenté de manière significative le taux d'importation des protéines ATP6 et ND1 dans la mitochondrie. Il est vraisemblable que leurs translocations aient débuté au cours de leur synthèse, suivant ainsi un mécanisme de transport co-translationnel (Verner, 1993). Afin de déterminer si l'optimisation de l'expression allotopique obtenue pourrait être utilisée comme stratégie en thérapie génique, nous avons choisi la rétine comme tissu modèle. La rétine est fréquemment affectée par des dysfonctionnements mitochondriaux. En effet, elle renferme le plus grand nombre de mitochondries dans l'organisme, reflétant son état métabolique actif (Andrews *et al.*, 1999 ; Perkins *et al.*, 2004). Certaines affections de la rétine ont une origine mitochondriale, telles la Neuropathie Optique Héritaire de Leber (LHON), la Neuropathie, Ataxie, Rétinite Pigmentaire (NARP), le syndrome de Leigh hérité de la mère (MILS) et l'Atrophie Optique Dominante (AOD) ou Syndrome de Kjer. Les trois premières pathologies sont causées par des mutations dans l'ADN mitochondrial. De plus, les handicaps visuels représentent, avec les affections touchant le pronostic vital, la menace la plus redoutée pour la santé dans nos sociétés. Pour tous

ces handicaps, l'affection touche initialement la rétine. Aujourd'hui, les principales affections rétinienues sont irréversibles car inaccessibles à des thérapies curatives ou palliatives. Ainsi, la rétine, par son accès optique et mécanique, procure un modèle prometteur pour la mise au point de stratégies thérapeutiques.

Ces données encourageantes sur l'expression allotopique des gènes mitochondriaux *ATP6* et *ND1* représentent un réel espoir pour le développement de stratégies innovantes qui pourraient être mises à profit pour la thérapie génique. Cependant, elles nécessitent leur confirmation par une étude plus approfondie de la fonction mitochondriale afin de déterminer la capacité des protéines exprimées de façon allotopique à compenser la déficience des complexes de la chaîne respiratoire. Cette première étape franchie, la création d'un modèle animal permettra de valider le concept avant des transferts en clinique.

**Remerciements.** – Ce travail a reçu le soutien de l'Association Française contre les myopathies (AFM), de l'association Retina France, et de la Fédération des aveugles et handicapés visuels de France. Valérie Kaltimbacher est financée pour réaliser sa thèse par une bourse du Ministère de la Recherche.

## BIBLIOGRAPHIE

- Andrews R. M., Griffiths P. G., & Johnson M. A., Histochemical localisation of mitochondrial enzyme activity in human optic nerve and retina. *Br. J. Ophthalmol.*, 1999, 83, 231-235.
- Bassell G. J., Zhang H., Byrd A. L., Femino A. M., Singer R. H., Taneja K. L., Lifshitz L. M., Herman I. M. & Kosik K. S., Sorting of  $\beta$ -actin mRNA and protein to neurites and growth cones in culture. *J. Neurosci.*, 1998, 18, 251-265.
- Bassell G. J. & Kelic S., Binding proteins for mRNA localization and local translation, and their dysfunction in genetic neurological disease. *Curr. Opin. Neurobiol.*, 2004, 14, 574-581.

- Basyuk E., Lavoie B., Bordonné R. & Bertrand E., Localisation des ARN dans le cytoplasme. *Med. Sci.*, 2004, 20, 669-673.
- Benit P., Beugnot R., Chretien D., Giurgea I., de Lonlay-Debeney P., Issartel J. P., Corral-Debrinski M., Kersch S., Rustin P., Rötig A. & Munnich A., Mutant NDUFB2 subunit of mitochondrial complex I causes early onset hypertrophic cardiomyopathy and encephalopathy. *Hum. Mut.*, 2003, 21, 582-586.
- Claros M. G., Perea J., Shu Y., Samatey F.A., Popot J. L. & Jacq C., Limitations to *in vivo* import of hydrophobic proteins into yeast mitochondria: the case of a cytoplasmic synthesized apocytochrome b. *Euro. J. Biochem.*, 1995, 228, 762-771.
- Corral-Debrinski M., Belgareh N., Blugeon C., Claros M. G., Doye V. & Jacq C., Overexpression of yeast karyopherin Pse1p/Kap121p stimulates the mitochondrial import of hydrophobic proteins *in vivo*. *Mol. Microbiol.*, 1999, 31, 1499-1511.
- Corral-Debrinski M., Blugeon C. & Jacq C., In yeast, the 3' untranslated region or the presequence of ATM1 is required for the exclusive localization of its mRNA to the vicinity of mitochondria. *Mol. Cell. Biol.*, 2000, 20, 7881-7892.
- Czaplinski K. & Mattaj J. W., 40LoVe interacts with Vg1RBP/Vera and hnRNP I in binding the Vg1-localization element. *RNA*, 2006, 12, 213-222.
- DiMauro S. & Schon E.A., Mitochondrial Respiratory-chain diseases. *N. Engl. J. Med.*, 2003, 348, 2656-2668.
- DiMauro S., Mitochondrial medicine. *Biochem. Biophys. Acta*, 2004, 1659, 107-114.
- Ginsberg M. D., Feliciello A., Jones J. K., Avvedimento E. V. & Gottesman M. E., PKA-dependent binding of mRNA to the mitochondrial AKAP121 protein. *J. Mol. Biol.*, 2003, 327, 885-897.
- Gonsalvez G. B., Urbinati C. R. & Long R. M., RNA localization in yeast: moving towards a mechanism. *Biol. Cell.*, 2005, 97, 75-86.
- Green D. R. & Reed J. C. Mitochondria and apoptosis. *Science*, 1998, 281, 1309-1312.
- Guy J., Qi X., Pallotti F., Schon E.A., Woischnick M., Gajewski C. D., Martushova K, D'Aurelio M., Friedlich A. L. & Moraes C. T., Rescue of a mitochondrial deficiency causing Leber Hereditary Optic Neuropathy. *Ann. Neurol.*, 2002, 52, 534-542.
- Jansen R. P. & Kiebler M., Intracellular RNA sorting, transport and localization. *Nat. Struct. Mol. Biol.*, 2005, 12, 826-829.
- Kaltimbacher V., Bonnet C., Lecoeuvre G., Forster V., Sahel J. A. & Corral-Debrinski M., mRNA localization to the mitochondrial surface allows the efficient translocation inside the organelle of a nuclear recoded ATP6 protein. *RNA*, 12, 1-10.
- Kasahara A., Ishikawa K., Yamaoka M., Ito M., Watanabe N., Akimoto M., Sato A., Nakada K., Endo H., Suda Y., Aizawa S. & Hayashi J., Generation of trans-mitochondrial mice carrying homoplasmic mtDNAs with a missense mutation in a structural gene using ES cells. *Hum. Mol. Genet.*, 2006, 15, 871-881.
- Manfredi G., Fu J., Ojaimi J., Sadlock J. E., Kwong J. K., Guy J. & Schon E. A., Rescue of a deficiency in ATP synthesis by transfer of MTATP6, a mitochondrial DNA-encoded gene to the nucleus. *Nature Genet.*, 2002, 30, 394-399.
- Marc P., Margeot A., Devaux F., Blugeon C., Corral-Debrinski M. & Jacq C., Genome-wide analysis of mRNAs targeted to yeast mitochondria. *EMBO Rep.*, 2002, 3, 159-164.
- Margeot A., Blugeon C., Sylvestre J., Viallette S., Jacq C. & Corral-Debrinski M., In *Saccharomyces cerevisiae*, ATP mRNA sorting to the vicinity of mitochondria is essential for respiratory function. *EMBO J.*, 2002, 21, 6893-6904.
- Marrison J. L., Schunmann P., Ougham H. J. & Leech R. M., Sub-cellular visualization of gene transcripts encoding key proteins of the chlorophyll accumulation process in developing chloroplasts. *Plant Physiol.* 1996, 110, 1089-1096.
- Oca-Cossio J., Nenyon L., Hao H. & Moraes C. T., Limitations of allotropic expression of mitochondrial genes in mammalian cells. *Genetics*, 2003, 165, 707-720.
- Okita T. W. & Choi S. B., mRNA localization in plants: targeting to the cell's cortical region and beyond. *Curr. Opin. Plant Biol.*, 2002, 5, 553-559.
- Perkins G. A., Ellisman M. H. & Fox D. A., The structure-function correlates of mammalian rod and cone photoreceptor mitochondria: observations and unanswered questions. *Mitochondrion*, 2004, 4, 695-703.
- Schaefer A. M., Taylor R. W., Turnbull D. M. & Chinnery P. F., The epidemiology of mitochondrial disorders -past, present and future. *Biochem. Biophys. Acta*, 2004, 1659, 115-120.
- Schwartz S. P., Aisenthal L., Elisha Z., Oberman F. & Yisraeli J. K., A 69-kDa RNA-binding protein from *Xenopus* oocytes recognizes a common motif in two vegetally localized maternal mRNAs. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 1992, 89, 11895-11899.
- Shalgi R., Lapidot M., Shamir R. & Pilpel Y., A catalog of stability-associated sequence elements in 3' UTRs of yeast mRNAs. *Genome Biol.*, 2005, 6, R86.
- Smith R., Moving molecules: mRNA trafficking in Mammalian oligodendrocytes and neurons. *Neuroscientist.*, 2004, 10, 495-500.
- Smith P. M., Ross G. F., Taylor R. W., Turnbull D. M. & Lightowlers R. N., Strategies for treating disorders of the mitochondrial genome. *Biochem. Biophys. Acta*, 2004, 1659, 232-239.
- Saint-Johnston D., Moving messages: the intracellular localization of mRNAs. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2005, 6, 363-75.
- Sylvestre J., Margeot A., Jacq C., Dujardin G. & Corral-Debrinski M., The role of the 3' untranslated region in mRNA sorting to the vicinity of mitochondria is conserved from yeast to human cells. *Mol. Biol. Cell*, 2003a, 14, 3848-56.
- Sylvestre J., Viallette S., Corral-Debrinski M. & Jacq C., Long mRNAs coding for yeast mitochondrial proteins of prokaryotic origin preferentially localize to the vicinity of mitochondria. *Genome Biol.*, 2003b, 4, R44.
- Ule J. & Darnell R. B., RNA binding proteins and the regulation of neuronal synaptic plasticity. *Curr. Opin. Neurobiol.*, 2006, 16, 102-110.
- Verner K., Co-translational protein import into mitochondria: an alternative view. *Trends Biochem. Sci.*, 1993, 18, 366-371.
- Zeviani M. & Carelli V., Mitochondrial disorders. *Curr. Opin. Neurol.*, 2003, 16, 585-594.