

Impact de la lignée germinale sur le métabolisme lipidique chez *Caenorhabditis elegans*

Stéphanie Bellemin

► **To cite this version:**

Stéphanie Bellemin. Impact de la lignée germinale sur le métabolisme lipidique chez *Caenorhabditis elegans*. Génétique. 2012. <hal-01467232>

HAL Id: hal-01467232

<https://hal-ephe.archives-ouvertes.fr/hal-01467232>

Submitted on 14 Feb 2017

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE

ÉCOLE PRATIQUE DES HAUTES ÉTUDES
Science de la Vie et de la Terre

MÉMOIRE

**présenté
par**

Stéphanie BELLEMIN

Pour l'obtention du diplôme de l'École Pratique des Hautes Études

Impact de la lignée germinale sur le métabolisme lipidique chez *Caenorhabditis elegans*

Soutenu le 12 Septembre 2012 devant le jury suivant :

Dr Xavier RONOT	- Président
Pr Jean Marie EXBRAYAT	- Tuteur pédagogique
Dr Hugo AGUILANIU	- Tuteur scientifique
Ludivine WALTER	- Rapporteur
Valérie ROBERT	- Examineur

Mémoire préparé sous la direction de :

Dr Hugo AGUILANIU
Laboratoire de biologie moléculaire de la cellule (UMR 5239)
Équipe « Vieillesse des cellules et des organismes ».
Directeur : H. AGUILANIU
École Normale Supérieure de LYON
hugo.aguilaniu@ens-lyon.fr
9 rue du Vercors, 69007 LYON

Et de

Pr Jean Marie EXBRAYAT
Laboratoire EPHE (SVT)
Laboratoire de biologie générale
Directeur : J.M. EXBRAYAT
jmexbrayat@univ-catholyon.fr
Université catholique de Lyon
25, rue du plat, 69288 LYON

Résumé :

Mon laboratoire d'accueil travaille sur la génétique du vieillissement. En particulier, nous étudions l'impact de la lignée germinale et de la restriction calorique sur la longévité. Un mutant ne possédant pas de lignée germinale (*glp-1*) à une durée de vie augmentée de 60% (Hsin & Kenyon, 1999), et présente un défaut de mobilisation des lipides en condition de jeûne.

Mon sujet a consisté à mieux comprendre le lien entre la lignée germinale, le catabolisme lipidique et la longévité.

Nous avons montré que le défaut de mobilisation des lipides chez le mutant *glp-1* était dû à l'absence de production d'ovocytes. De plus, ce défaut de mobilisation des lipides est associé à une lipolyse altérée chez ces mutants. En effet, nous avons pu montrer que l'altération du métabolisme lipidique, en condition de jeûne, des animaux sans lignée germinale était liée à l'absence d'induction de deux lipases, *lip1-5* et *lip1-7*. De plus, ces lipases sont régulées par NHR-80/HNF4 et DAF-16/FOXO, deux régulateurs importants de la longévité bien qu'elles ne soient pas impliquées directement dans le vieillissement.

En résumé, nous avons montré que le défaut de mobilisation des lipides des mutants ne possédant pas de lignée germinale était dû à un défaut de lipolyse et que, dans ce contexte, le métabolisme lipidique et le vieillissement sont découplés. Ces deux phénotypes sont cependant liés par le partage de facteurs de transcription qui les régulent.

Mots clés : *C. elegans*, lignée germinale, métabolisme lipidique, longévité

Sommaire

INTRODUCTION.....	7
I. Introduction générale	5
A. <i>Caenorhabditis elegans</i>	5
B. Le cycle de vie de <i>C.elegans</i>	5
C. Le système de reproduction.....	5
1. La lignée germinale.....	6
2. Maturation des ovocytes.....	6
D. Utilisation de l'ARN interférent (ARNi) chez <i>C.elegans</i>	7
1. Principe de l'ARNi.....	7
2. L'ARNi permet d'évaluer à quel moment un gène est important.....	8
II. La génétique du vieillissement	8
A. Introduction.....	8
B. Les voies de la longévité.....	9
1. La voie de l'insuline.....	9
2. La voie de la restriction calorique.....	10
3. La voie de la mitochondrie.....	13
C. Les tissus affectant le vieillissement.....	14
1. Les neurones.....	14
2. La lignée germinale.....	15
III. Le lien entre la reproduction et le vieillissement	15
A. La lignée germinale et la gonade somatique ont un effet opposé sur la longévité.....	15
1. Chez <i>C.elegans</i>	15
2. Chez <i>Drosophila melanogaster</i>	16
3. Chez les mammifères.....	16
B. La signalisation de la voie de la lignée germinale.....	16
1. Le mutant <i>glp-1</i>	16
2. Rôle clef de la voie de l'insuline chez un mutant <i>glp-1</i>	17
3. Le facteur de transcription <i>daf-16</i>	17
4. Le récepteur d'hormone nucléaire <i>daf-12</i>	18
5. Le récepteur d'hormone nucléaire NHR-80.....	19
IV. Le métabolisme des lipides	20
A. Voie de synthèse et de stockage.....	21
B. Les capteurs métaboliques et la coordination des différentes voies métaboliques.....	23
1. Les SREBPs.....	23
2. Les récepteurs d'hormones nucléaires.....	23
C. Les lipases.....	26
D. Lien entre la reproduction et le métabolisme lipidique.....	26

Liste des abréviations

ACC : Acetyl-CoA Carboxylase
ADNc : Acide Désoxyribonucléique complémentaire
AGE
AL : Ad Libitum
AMP : Adénosine Monophosphate
AMPK : AMP-activated protein Kinase
ARNi : Acide Ribonucléique interférent
ASC : Acyl-CoA Synthase
ATGL : Adipose Triglycérides Lipase
ATP : Adénosine Triphosphate
BD : Bacterial Deprivation (suppression totale de bactéries)
C. elegans : *Caenorhabditis elegans*
CoA : Coenzyme A
DAF : Dauer Formation
 Δ^4 -DA : Acide Dafachronique 4
DTC : Distal Tips Cells (cellule distale)
GLP : Glycosylated Transmembrane Protein
GFP : Green Fluorescent Protein
GSC : Germline Stem Cell (cellules souches germinales)
IPTG : Isopropyl β -D-1-Thiogalactopyranoside
L1 : Stade Larvaire 1
IDR : liquid Dietary Restriction (restriction calorique en milieu liquide)
LXR : Liver X Receptor
MUFA : Monounsaturated Fatty Acid (acide gras monoinsaturé)
NGM : Nematod Growth Medium (milieu de culture pour les nématodes)
NHR : Nuclear Hormon Receptor (Récepteur d'Hormone nucléaire)
ORO : Oil Red O
Pb : Paire de bases
PCR : Polymerase Chain Reaction (Réaction en chaîne par polymérisation)
PKD : Phosphoinositide-Dependent Kinase
PIP2 : Phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate
PIP3 : Phosphatidylinositol (3,4,5)-triphosphate
PI3-K : Phosphatidylinositol 3-Kinases
PPAR : Peroxisome Proliferator-Activated Receptor (récepteur activé par les proliférateurs de peroxysomes)
qPCR : quantitative PCR
RC : Restriction Calorique
RISC : RNA-Induced Silencing Complex
RME : Receptor Mediated Endocytosis
ROS : Reactive Oxygen Species
SCD : Stearoyl-CoA Desaturase
sDR : solid Dietary Restriction (restriction calorique en milieu solide)
SREBP : Sterol Regulatory Element Binding Protein
TGF β : Transforming Growth Factor *beta* (*Facteur de croissance de transformation*)
TOR : Target Of Rapamycin

INTRODUCTION

I. Introduction générale

A. *Caenorhabditis elegans*

C. elegans est un organisme modèle en génétique car il présente de nombreux avantages et reste un organisme relativement simple. C'est un nématode transparent de 1 mm de long qui existe principalement sous la forme hermaphrodite (seulement 1% de mâles). La durée de vie de *C. elegans* est d'environ trois semaines, ce qui nous permet d'en étudier le vieillissement facilement. De plus, les lignées cellulaires de *C. elegans* sont fixes et connues (Sulton & Horvitz, 1977) et son génome est séquencé depuis 1998 (The *C.elegans* sequencing consortium, 1998). On estime à 18000 le nombre de gènes répartis sur six chromosomes (cinq autosomes et un gonosome X). Une banque d'ARN interférent assez complète est disponible au laboratoire. Chaque clone bactérien exprime un ARN interférent permettant la sous régulation du gène correspondant.

B. Le cycle de vie de *C.elegans*

C. elegans a un cycle de vie de 3.5 jours lorsque les vers sont cultivés à 20°C. Avant de devenir adulte, *C. elegans*, comprend quatre stades larvaires nommés stade un à quatre (L1-L4). Chaque stade larvaire se termine par une mue au cours de laquelle une nouvelle cuticule est synthétisée.

C. Le système de reproduction

1. La lignée germinale

Les lignées cellulaires de *C. elegans* sont fixes et connues (Sulton & Horvitz, 1977). Un ver adulte contient exactement 959 cellules somatiques et la fonction de chaque cellule est connue. Au stade L1, *C. elegans* possède quatre cellules précurseurs de la gonade (Kimble & Hirsh, 1979). Z1 et Z4 sont les deux cellules précurseurs de la gonade somatique alors que Z2 et Z3 donnent naissance aux cellules germinales. (Hubbard & Greenstein, 2000).

Z1 et Z4 se divisent au milieu du stade L1. Les deux cellules Z1/Z4 petites filles jouent un rôle important durant le développement de la gonade somatique et s'appellent « distal tip cells » (DTCs). Les DTCs permettent la mitose de la gonade somatique (et/ou inhibition de la méiose) et contrôlent l'excroissance de la gonade (Sulton & Horvitz, 1977). La prolifération de Z2 et Z3 dépend de la présence de nourriture et de la présence des précurseurs de la gonade somatique (Z1 et Z4). Si Z1 et Z4 sont enlevés avec un laser, Z2 et Z3 n'entrent pas en méiose (Sulton & Horvitz, 1977).

Chez un adulte, la gonade forme deux bras qui sont liés par un utérus central. Elle est principalement constituée d'un syncytium, un espace cytoplasmique possédant plusieurs noyaux. Le long de chaque bras de gonade, les cellules vont successivement passer par une mitose, et une méiose. Quand les noyaux atteignent le coude du bras de la gonade, les membranes plasmiques s'invaginent et forment des ovocytes prématures individualisés. Avant de traverser la spermathèque pour être fertilisés, les ovocytes s'agrandissent et mûrissent. Après sa fertilisation, l'ovocyte produit deux divisions mitotiques pour donner des zygotes. A la fin de la méiose, l'embryogénèse commence. L'embryogénèse se termine en dehors de l'utérus pour donner le premier stade larvaire L1.

2. Maturation des ovocytes

La maturation des ovocytes chez *C. elegans* est liée au trafic du vitellus (Grant & Hirsh, 1999). Le vitellus est un complexe lipoprotéique composé de protéines, de

lipides et de carbohydrates. Le vitellus est synthétisé dans l'intestin des vers, passe dans le pseudocoelome. Il est ensuite endocyté dans les ovocytes matures par l'intermédiaire d'un récepteur appelé RME-2 (Receptor mediated Endocytosis).

D. Utilisation de l'ARN interférent (ARNi) chez *C.elegans*

1. Principe de l'ARNi

L'ARN interférent est un mécanisme naturel qui s'opère dans les cellules et qui permet de supprimer ou de réguler de manière hautement sélective l'expression d'un gène. Chez *C. elegans*, nous possédons 12000 clones bactériens pouvant inhiber 12000 gènes.

La première manifestation du phénomène d'ARNi fut observée en 1990 chez les plantes (Jorgensen et al., 1990). Ce phénomène est aussi observé chez la drosophile, *C. elegans* et les mammifères.

Pour obtenir de l'ARNi chez *C. elegans*, il est nécessaire d'avoir un long ARN double brin (plus de 200pb) complémentaire à l'ARNm cible. Ensuite, cet ARN double brin va être introduit dans un vecteur (L4440) contient en particulier un gène de résistance à l'ampiciline et un promoteur T7 inductible grâce à de l'IPTG. Ce vecteur va être inséré dans des bactéries de souche *E.coli* appelées HT115. Après activation du promoteur, grâce à de l'IPTG, l'ARN double brin sera produit. Les vers que l'on déposera sur des boîtes NGM recouvertes de bactéries ARNi, vont se nourrir de ces bactéries et le gène correspondant à l'ARN sera sous produit.

Le génome de *C. elegans* a été séquencé en 1998 (*C.elegans Sequencing Consortium*, 1998). Il contient 97 millions de paires de bases avec 19000 gènes codants pour des protéines. Des banques d'ARNi existent et permettent l'inhibition de chacun des gènes.

L'ARNi fonctionne de la façon suivante : les ARN doubles brins vont tout d'abord être pris en charge par une ribonucléase appelée DICER. Chez *C. elegans*, DICER coupe l'ARN double brin toutes les 23 paires de bases (Ketting et al, 2001). DICER transfère alors les siRNA (petits morceaux d'ARN coupés) vers un large complexe multiprotéique appelé RISC (RNA Induced Silencing Complex). L'un des brins du siRNA dit « passager » est éliminé tandis que l'autre brin appelé « guide »

dirige le complexe RISC vers les ARN messagers du ver. Comme la séquence introduite dans le plasmide est complémentaire à celle de l'ARNm du ver, les deux brins vont se lier. Ce phénomène est anormal dans une cellule, RISC va considérer ce nouvel ARNm double brin comme étranger et va le cliver. L'ARNm étant détruit, la traduction ne peut avoir lieu et la protéine ne peut être produite. Le gène est donc inhibé et ne fonctionne plus (Fire et al., 1998, Timmons & Fire, 1998, Kamath et al., 2003).

2. L'ARNi permet d'évaluer à quel moment un gène est important

En utilisant de l'ARNi, il est possible de déterminer à quel moment un gène est important pour un processus biologique donné. Par exemple, diminuer l'activité de la voie de l'insuline (voie de la longévité), pendant la vie adulte seulement, suffit à augmenter la durée de vie (Dillin et al, 2002).

II. La génétique du vieillissement

A. Introduction

Le vieillissement a longtemps été considéré comme une accumulation de dommages cellulaires entraînant la mort. Dans les années 1980, des découvertes montrent que la vitesse de vieillissement n'est pas seulement due à l'accumulation de ces dommages, mais peut être altérée par certaines mutations (Kenyon, 2010). La découverte de « gènes du vieillissement » commence en 1988 et 1993 avec les gènes *age-1* et *daf-2*. Ces deux gènes font partie de la voie de l'insuline. Des pertes de fonctions dans chacun de ces gènes permettent respectivement d'augmenter la durée de vie des vers de 40% et 133% (Friedman & Johnson, 1988 ; Kenyon et al, 1993).

Ces résultats suggèrent que la voie de l'insuline est une des clefs du vieillissement. Cependant, depuis ces découvertes, d'autres études sur plusieurs

modèles tel que *Drosophila melanogaster*, la levure, la souris et le nématode, ont montré que d'autres mutations ne concernant pas des gènes appartenant à la voie de l'insuline, pouvaient également altérer le vieillissement. Aujourd'hui, les gènes de la longévité peuvent être regroupés en « trois voies de la longévité ». En plus de la voie de l'insuline, il y a aussi la voie de la restriction calorique et la voie de la mitochondrie. Il existe aussi une théorie qui vise à expliquer les liens entre la reproduction, le métabolisme et la longévité. Il s'agit de la théorie du soma proposée par Thomas Kirkwood en 1977. Cette théorie propose que l'organisme doit atteindre un équilibre entre les ressources qu'il investit dans le maintien du soma et la reproduction. En effet, la distinction entre le soma et le tissu reproductif est importante car la lignée germinale doit être maintenue à un niveau qui préserve la viabilité à travers les générations alors que le soma ne sert que pour une seule génération (Kirkwood, 1977). La réduction de la reproduction et l'augmentation de la durée de vie sont souvent en corrélation, cependant, l'augmentation de la longévité et la réduction de la fertilité peuvent être dissociées (Flatt, 2011). La manière dont ces traits de vie sont liés les uns aux autres reste cependant l'objet de recherches scientifiques intenses.

B. Les voies de la longévité

1. La voie de l'insuline

age-1 et *daf-2* sont les deux premiers gènes découverts chez *C. elegans* capables d'augmenter la longévité. *age-1* a été cloné en 1996 et code pour une Phosphatidyl Inositol 3-kinase (PI3-kinase) qui permet la transformation de PIP2 en PIP3, entraînant l'activation des kinases PDK-1 et AKT (Kenyon et al., 1993 ; Morris et al., 1996). DAF-2 est à 35% identique au récepteur de l'insuline humaine et à 34% identique au récepteur IGF-1 (Kantarou et al., 1997). Il code pour le seul récepteur de la voie de l'insuline chez *C. elegans*, IGF-1. Les mutants *daf-2* sont hypomorphes pour le récepteur de l'insuline, et vivent deux fois plus longtemps qu'un ver sauvage (Kenyon et al., 1993). Cette extension de durée de vie requiert l'activité de *daf-16*, le facteur de transcription de la famille FOXO de la voie de l'insuline. DAF-2 active

AGE-1 qui à son tour active les kinases PDK-1 et AKT. La kinase AKT permet la phosphorylation de DAF-16, et inhibe ainsi son entrée dans le noyau pour être actif (Lin et al., 2001). DAF-2 permet donc de réguler négativement l'accumulation nucléaire de DAF-16. Quand la voie de l'insuline est diminuée, comme chez les mutants *daf-2*, DAF-16 entre dans le noyau, où avec l'aide de HSF-1 (facteur de choc thermique) et SKN-1 (facteur de transcription), il active de nombreux gènes qui vont agir ensemble afin d'augmenter la durée de vie (Tullet et al., 2008). Par voie de conséquence, les mutants de la voie de l'insuline, sont plus résistants à de nombreux stress, comme par exemple le stress oxydatif, les UV... (Larsen, 1993 ; Lithgow et al., 1995 ; Murakami & Johnson, 1996).

L'augmentation de la durée de vie à travers la voie de l'insuline est un mécanisme conservé puisqu'il a été observé chez *Drosophila melanogaster* (Tartar et al., 2001 ; Clancy et al., 2001 ; Hwangbo et al., 2004 ; Giannakou et al., 2004) et la souris (Blüher et al., 2003 ; Kappeler et al., 2008). Chez l'Humain, la première étude qui a fait le lien entre la voie de l'insuline et la longévité, a été réalisé sur des Japonais en 2004 (Kojima, et al., 2004).

2. La voie de la restriction calorique

La restriction calorique est une restriction alimentaire drastique sans malnutrition. Il s'agit d'une diminution de calorie de 30% par rapport à un animal nourrit normalement *ad libitum* (AL). La restriction calorique permet d'augmenter la durée de vie de tous les organismes testés jusqu'à présent (levures, drosophiles, rongeurs, nématodes, ...) (Bishop & Guarente, 2007a). La restriction calorique permet également d'augmenter la résistance aux stress, de diminuer la reproduction et de protéger contre les maladies du vieillissement comme le cancer, le diabète ou encore des maladies cardiovasculaires (Colman et al., 2009). Cependant, le mécanisme par lequel la restriction calorique augmente la durée de vie reste peu clair. De plus, chez *C. elegans*, il existe huit protocoles permettant de pratiquer une restriction calorique, ce qui rend l'analyse des résultats délicate (Greer & Brunet, 2009). Je vais présenter quelques protocoles de restriction calorique.

a. Le mutant *eat-2*

Chez un ver sauvage, les muscles du pharynx se contractent pour ingérer les bactéries plus de 200 fois en une minute (Lakowski & Hekimi, 1998). Le gène *eat-2* code pour le récepteur « nicotinique de l'acétylcholine » dans le pharynx, qui permet de réguler l'absorption de nourriture de *C. elegans* (Avery, 1993). Le mutant *eat-2* a une déficience des muscles du pharynx. Il ingère donc moins de bactéries par unité de temps, (de 10 à 20% en moins) et il a une fertilité altérée (Crawford et al., 2007). La restriction calorique du mutant *eat-2* augmente sa durée de vie de 50% comparé à un ver sauvage (Lakowski & Hekimi, 1998). L'augmentation de la durée de vie du mutant *eat-2* est indépendante de *daf-16*. Ceci suggère que les voies de la restriction calorique et de l'insuline sont, au moins en partie, indépendantes (Hoothoofd et al., 2005 ; Walker et al., 2005). L'augmentation de la durée de vie du mutant *eat-2* est, par contre, annulée en absence du facteur de transcription de la famille FOXA, PHA-4 (Panawski et al., 2007).

pha-4 est un orthologue de FOXA 1, 2, 3 des mammifères, impliqué dans le développement du ver. Chez le mammifère, l'homologue de PHA-4 est impliqué dans la régulation de la production de glucagon et l'homéostasie du glucose, particulièrement en réponse au jeûne (Panowski et al., 2007). De manière similaire, le niveau de *pha-4* est augmenté lorsque les vers sont en restriction calorique (augmentation de 80%). De plus, le rôle de *pha-4* dans la restriction calorique semble être spécifique puisque la diminution de *pha-4* diminue la longévité du mutant *eat-2* sans affecter la durée de vie du mutant *daf-2* (Panowski et al., 2007).

b. *Suppression totale des bactéries (Bacterial deprivation (BD))*

Les vers accumulent des réserves énergétiques pendant leur développement. Lorsqu'ils sont mis en restriction calorique, ils sont capables d'utiliser l'énergie stockée pour maximiser leur durée de vie.

Au sein de notre laboratoire, nous utilisons la privation totale des bactéries (BD) comme méthode de restriction calorique. Nous mettons nos vers en BD le premier jour du stade adulte.

La BD augmente la durée de vie indépendamment de *daf-16*. Les effets de la restriction calorique s'ajoutent à ceux d'un mutant *daf-2* et d'un mutant *eat-2*

(Kaeberlein et al., 2006 ; Lee et al., 2006). Les effets de BD sur la durée de vie requièrent *hsf-1* (Steinkraus et al., 2008). *hsf-1* n'est pas indispensable pour l'augmentation de la durée de vie du mutant *eat-2* (Hsu et al., 2003).

c. *Restriction calorique liquide et solide (IDR, sDR)*

Il s'agit de deux méthodes utilisant la dilution des bactéries. La première, réalisée en milieu solide, a été mise au point par le laboratoire de Anne Brunet à Stanford University. Les vers adultes, sont transférés après leur période reproductive tous les deux jours sur des boîtes fraîches, avec une quantité de bactéries diminuée (*Ad libitum* : 5×10^{11} bactéries par mL et sDR : 5×10^8 bactéries par mL) (Greer et al., 2007). Cette méthode de restriction calorique permet d'augmenter significativement la durée de vie des vers et leur résistance au stress. *pha-4* et *hsf-1* ne sont pas nécessaires pour l'augmentation de la durée de vie avec ce protocole. Les effets de cette méthode sont additifs au mutant *eat-2* (Greer et al., 2007 ; Greer & Brunet, 2009). Cependant, l'AMPK (AMP protéine kinase) est nécessaire pour l'augmentation de la durée de vie, lorsque l'on utilise sDR. L'AMPK est une protéine hétérotrimérique qui permet d'activer les voies cataboliques et de diminuer les voies anaboliques, lorsque le ratio AMP/ATP augmente. Une des deux sous unités cataboliques de AMPK (*aak-2*) a récemment été découverte pour être impliquée dans l'augmentation de la durée de vie des vers. Le mutant *aak-2* montre une diminution de la durée de vie lorsque l'on utilise le protocole sDR (Greer et al., 2007). Contrairement à la mutation *eat-2*, et la BD, la capacité d'augmenter la durée de vie du ver est annulée dans les mutants *daf-16*. AMPK semble agir directement sur *daf-16* en le phosphorylant et l'activant (Greer et al., 2007). AMPK n'est pas nécessaire pour augmenter la durée de vie des mutants *eat-2* (Curtis et al., 2006).

La deuxième méthode est en milieu liquide (IDR). IDR montre des résultats contradictoires. En effet, AMPK n'est pas nécessaire pour augmenter la durée de vie. IDR requiert le facteur de transcription du gène *skn-1* qui est actif dans les neurones de la tête (ASIs). IDR active *skn-1* dans les deux neurones de la tête, entraînant l'activation des tissus périphériques pour augmenter la longévité (Bishop & Guarente, 2007b).

Cependant, tous les gènes qui peuvent potentiellement réguler la restriction calorique sont spécifiques du protocole et tous les gènes trouvés n'ont pas été testés dans tous les protocoles (Greer & Brunet, 2009 ; Mair et al., 2009).

d. Cible de la rapamycine (*Target Of Rapamycine* : TOR)

La protéine TOR est hautement conservée, de la levure à l'humain, et régule de multiples mécanismes cellulaires en réponse aux nutriments, incluant la taille des cellules, l'autophagie, la biogenèse des ribosomes, le métabolisme des acides aminés, la réponse au stress et l'organisation de l'actine (Kaeberlein et al., 2005). TOR répond à l'abondance des nutriments en phosphorylant la kinase ribosomale S6 (S6K). Des mutations diminuant l'activité de TOR permettent d'augmenter la durée de vie de la levure à la souris (Kaeberlein et al., 2005 ; Kapahi et al., 2004 ; Jia et al., 2004 ; Vellai et al., 2003 ; Harrison et al., 2009), et permettent l'augmentation de la résistance au stress (Hansen et al., 2007). Chez *C. elegans*, la voie de TOR est distincte de la voie de l'insuline et augmente la longévité indépendamment de *daf-16* (Hansen et al., 2007 ; Jia et al., 2004 ; Vellai et al., 2003).

L'inhibition de TOR a un effet similaire à la restriction calorique chez la levure, le ver et la drosophile. De plus, la restriction calorique n'augmente pas les effets de l'inhibition de TOR sur la durée de vie (Hansen et al., 2007 ; Kaeberlein et al., 2005 ; Kapahi et al., 2004 ; Bjedov et al., 2010).

3. La voie de la mitochondrie

La durée de vie peut aussi être régulée par l'activité de la chaîne respiratoire des mitochondries. *clk-1*, est le premier gène découvert capable d'augmenter la durée de vie du nématode en modulant l'activité de la chaîne respiratoire (Wong et al., 1995).

clk-1 code pour une hydrolase deméthoxyubiquinone nécessaire pour la synthèse de l'ubiquinone (Felkay et al., 1999). Il est indépendant de la voie de l'insuline (Lakowski & Hekimi, 1996) mais peut fonctionner dans la voie de la restriction calorique (Lakowski & Hekimi, 1998).

Récemment, HIF-1, un facteur de transcription hautement conservé, qui permet la survie en hypoxie, a également été montré comme étant impliqué dans l'allongement de la durée de vie en réponse à une déficience de la mitochondrie (Lee et al., 2010). De plus, l'inhibition de la respiration et donc de la chaîne respiratoire, entraîne l'activation du gène *hif-1* en augmentant le niveau d'espèces activées de l'oxygène ou ROS (Reactive Oxygen Species), résultant à l'augmentation de la longévité (Lee et al., 2010).

Récemment, un nouveau facteur de transcription, *ceh-23*, a été identifié comme étant nécessaire à l'augmentation de la durée de vie lorsque la chaîne respiratoire est déficiente (Walter et al., 2011).

Une réduction de l'activité mitochondriale, augmente la durée de vie des drosophiles (Copeland et al., 2009 ; Rera et al., 2010) et des souris (Dell'agnello et al., 2007), suggérant que ce mécanisme est lui aussi conservé. De plus, il a également été démontré que le mécanisme permettant l'augmentation de la longévité via *clk-1*, ainsi que le mécanisme d'activation de HIF-1 grâce au niveau élevé de ROS, sont conservés du nématode aux mammifères (Liu et al., 2005, Wang et al., 2010 ; Lee et al., 2010).

Contrairement aux voies de la restriction calorique et de l'insuline, la longévité des mutants mitochondriaux n'est pas systématiquement corrélée à une augmentation de la résistance aux stress (Lee et al., 2003 ; Yang et al., 2007 ; Van Raamsdonk & Hekimi, 2010).

C. Les tissus affectant le vieillissement

1. Les neurones

La structure et la connectivité du système nerveux de *C. elegans* ont été reconstruit par microscopie électronique (White et al., 1986). Un hermaphrodite possède 306 neurones. 60 d'entre eux possèdent des cils qui sont en contact avec l'environnement. La fonction des neurones a été trouvée en détruisant certains d'entre eux au laser. Le laboratoire de Cynthia Kenyon a montré que certains neurones gustatifs et olfactifs pouvaient inhiber la durée de vie du ver, puisque leur

ablation provoque une augmentation de la durée de vie (Alcedo & Kenyon, 2004 ; Apfeld & Kenyon, 1999).

2. La lignée germinale

Le système reproductif affecte la durée de vie de *C. elegans*. En effet, supprimer la lignée germinale augmente la durée de vie de 60% (Hsin et Kenyon, 1999).

L'impact négatif de la lignée germinale sur la longévité fait l'objet de nombreuses études au sein du laboratoire, qui seront détaillées par la suite.

III. Le lien entre la reproduction et le vieillissement

A. La lignée germinale et la gonade somatique ont un effet opposé sur la longévité

L'ablation de la lignée germinale permet l'augmentation de la durée de vie chez *C. elegans*, chez *Drosophila melanogaster* et probablement chez les mammifères.

1. Chez *C.elegans*

En 1999, le laboratoire de Cynthia Kenyon montre que l'ablation de la lignée germinale de *C. elegans* permet d'augmenter sa durée de vie de 60% (Hsin & Kenyon, 1999). Il est intéressant de noter que l'ablation de toute la gonade (lignée germinale + gonade somatique), ne permet pas d'augmenter la durée de vie (Kenyon et al., 1993), suggérant que la lignée germinale et la gonade somatique ont un effet opposé sur les signaux de la longévité. Cependant, la régulation de la longévité par la lignée germinale est peu claire (Hsin & Kenyon, 1999 ; Cargill et al., 2003 ; Flatt et al., 2008).

2. Chez *Drosophila melanogaster*

En 2008, le groupe de Marc Tatar montre que la lignée germinale permet de moduler la durée de vie de leurs drosophiles (Flatt et al., 2008). Ils utilisent un modèle qui ne possède pas de lignée germinale, cependant, le développement de la gonade somatique est normal. Ces résultats suggèrent que le mécanisme liant la longévité et la lignée germinale est conservé, du ver à la drosophile (Flatt et al., 2008).

3. Chez les mammifères

L'étude du rôle de la lignée germinale chez la souris est difficile car, techniquement, enlever la lignée germinale sans affecter la gonade somatique est impossible. Cependant, l'impact des tissus reproductifs chez la souris a été établi (Cargill et al., 2003 ; Mason et al., 2009). Dans une étude, des chercheurs utilisent des souris prépubertaires ovariectomisées. À l'âge de 11 mois, ces souris reçoivent des ovaires de souris jeunes. Ils ont pu observer une augmentation de la durée de vie de 40% chez ces souris (Cargill et al., 2003). Cette expérience suggère que les tissus reproductifs affectent la longévité, même si lors d'une ovariectomie, il y a ablation de la lignée germinale et de la gonade somatique.

B. La signalisation de la voie de la lignée germinale

1. Le mutant *glp-1*

Chez *C. elegans*, l'ablation de la lignée germinale est réalisée par ablation laser des deux cellules précurseurs de la lignée germinale appelée Z2 et Z3, lorsque les vers sont au premier stade larvaire (stade L1). Il est également possible d'utiliser une mutation génétique pour inhiber la prolifération des cellules souches germinales.

Il s'agit du gène *glp-1*. GLP-1 fait partie de la famille des récepteurs transmembranaires Notch, qui permet de faire l'intermédiaire entre les cellules distales (Distal Tip Cells : DTC) de la gonade somatique et la lignée germinale (Austin & Kimble, 1987 ; Seydoux & Schedl, 2001). Le mutant *glp-1 (e2141ts)* possède un allèle sensible à la température qui permet d'arrêter la prolifération des cellules de la lignée germinale (GSC : Germline stem cells) à une température restrictive. Par voie de conséquence, la lignée germinale des mutants *glp-1* ne peut pas se développer lorsque les vers sont placés à cette température restrictive (25°C) au stade L1 et les animaux vivent longtemps (Arantes-Oliviera et al., 2002).

2. Rôle clef de la voie de l'insuline chez un mutant *glp-1*

Le mécanisme du vieillissement par l'ablation de la lignée germinale est encore mal connu. Quelques gènes ont été découverts par le laboratoire de Cynthia Kenyon en 2010, cependant, le facteur de transcription *daf-16* et le récepteur d'hormone nucléaire *daf-12*, ressortent comme étant des régulateurs clefs de cette voie (Hsin & Kenyon, 1999).

3. Le facteur de transcription *daf-16*

DAF-16 est une des cibles de la voie de l'insuline. Inhiber l'expression de *daf-16* chez des animaux ne possédant pas de lignée germinale, annule l'augmentation de leur durée de vie (Hsin & Kenyon, 1999). DAF-16 permet l'augmentation de la longévité (Arantes-Oliviera et al., 2002). DAF-16 est spécialement requis dans l'intestin et l'arrêt de la prolifération des cellules souches germinales permet l'entrée de *daf-16* dans le noyau des cellules intestinales (Lin et al., 2001).

Plusieurs gènes permettent la translocation de *daf-16* dans le noyau. *kri-1*, une protéine ankyrine, est indispensable pour une bonne localisation de *daf-16* dans le noyau des cellules intestinales des animaux sans lignée germinale (Berman & Kenyon, 2006). *daf-18* est aussi nécessaire à la bonne localisation de *daf-16*, il code pour PTEN (phosphatase), un antagoniste de la voie de AGE-1/PI3Kinase. *daf-18* n'est pas spécifique à la voie de la lignée germinale puisqu'il est impliqué dans la

voie de l'insuline. Le dernier gène connu comme étant important pour une bonne localisation de *daf-16* est *daf-12* (Berman & Kenyon, 2006).

DAF-12 est un récepteur d'hormone nucléaire homologue au LXR (Liver X Receptor) des mammifères. Il existe 284 récepteurs d'hormones nucléaires chez *C. elegans* et *daf-12* était, jusque récemment, le seul connu comme faisant partie de la voie de la lignée germinale. HSD-1, DAF-9 et DAF-36 catalysent la production des ligands de *daf-12* (Guerish et al., 2007 ; Jia et al., 2002 ; Rottiers et al., 2006 ; Dumas et al., 2010 ; Patel et al., 2008). La sous régulation par ARNi de *daf-9*, *daf-36* ou *hsd-1* réduit la localisation nucléaire de *daf-16* (Dumas et al., 2010).

Le laboratoire de Cynthia Kenyon a identifié un facteur d'élongation de la transcription qui permet une augmentation de la longévité par ablation de la lignée germinale. Il s'agit de TCER-1 qui permet spécifiquement l'activité transcriptionnelle de *daf-16*. La présence de TCER-1 est nécessaire à l'augmentation de la transcription des gènes cibles de *daf-16* chez les animaux sans lignée germinale. TCER-1 fonctionne également dans l'intestin.

Récemment, une lipase de triglycérides *lipl-4* a également été trouvée pour agir sur la longévité par ablation de la lignée germinale (Wang et al., 2009). Le niveau d'ARN messenger de *lipl-4* est augmenté chez les mutants *glp-1* de façon dépendante à *daf-16* (Wang et al., 2008). Ce gène est intéressant car il permet de faire le lien entre la reproduction et le métabolisme des lipides.

4. Le récepteur d'hormone nucléaire *daf-12*

L'autre voie qui participe à l'augmentation de la longévité par l'ablation de la lignée germinale est la voie des hormones lipophiliques DAF-9 /DAF-12 (Hsin & Kenyon, 1999). La production des ligands de DAF-12, appelés acides dafachroniques, nécessite plusieurs enzymes comme DAF-9, DAF-36 et HSD-1.

En absence de cellules souches germinales, les précurseurs des acides dafachroniques 4 et 7 (Δ^4 -DA et Δ^7 -DA) sont produits à partir de cholestérol par l'hydroxystéroïde déshydrogénase HSD-1 (Patel et al., 2008) et le mono oxygénase DAF-36 (Rottiers et al., 2006 ; Dumas et al., 2010). Le cytochrome P450 DAF-9 (Guerish et al., 2007 ; Jia et al., 2002) catalyse ensuite la transformation des précurseurs de Δ^4 -DA et Δ^7 -DA (Motola et al., 2006 ; Dumas et al., 2010).

Une mutation des gènes *daf-9* ou *daf-36* entraîne une diminution de la longévité, alors qu'une mutation de *hsd-1* reste sans effet. Lorsque du Δ^4 -DA exogène est administré aux doubles mutants *glp-1 ;daf-9* et *glp-1 ;daf-36*, leur longévité est restaurée au niveau du mutant *glp-1*, indiquant que l'acide dafachronique est nécessaire pour l'augmentation de la longévité. Cependant, la longévité du double mutant *glp-1;daf-12* et du mutant *daf-12* n'est pas affectée par une addition d'acide dafachronique (Gerisch et al., 2007). Les résultats indiquent que la déficience en production d'acide dafachronique nuit à la longévité des animaux ne possédant pas de lignée germinale de façon dépendante à *daf-12*. L'augmentation de la longévité par la surexpression de *daf-9* est aussi dépendante à *daf-12* car il n'y a pas de modification de la longévité des mutants *daf-12* lorsqu'ils ne possèdent pas de lignée germinale (Yamawaki et al., 2010).

5. Le récepteur d'hormone nucléaire NHR-80

Lors de mon arrivée au laboratoire, un crible a été réalisé sur 195 récepteurs d'hormones nucléaires présents dans notre librairie d'ARNi. Un seul de ces récepteurs s'est montré intéressant car il réduisait la longévité du mutant *glp-1* sans affecter la longévité des vers sauvages. Il s'agit de NHR-80. Chez les animaux sauvages, NHR-80 favorise la désaturation des acides gras (Brock et al., 2006).

Nous avons démontré que NHR-80 favorise l'augmentation de longévité uniquement lorsqu'il y a ablation de la lignée germinale, par un mécanisme impliquant la mono désaturation des acides gras. En effet, en inhibant les gènes cibles de NHR-80, *fat-6* et *fat-7* (codant pour des enzymes qui permettent la transformation d'acide stéarique en acide oléique), on observe une suppression de la longévité des mutants *glp-1*. Nous avons aussi montré que le niveau de transcription de *nhr-80* est augmenté dans les mutants *glp-1* et que cette sur-régulation ne requiert pas *daf-16*.

Une surexpression de *nhr-80* permet l'augmentation de la longévité. Cette augmentation est indépendante de *daf-16* mais requiert la présence de *daf-12*. En effet, une surexpression de *nhr-80* n'augmente pas la durée de vie du double mutant *glp-1 ;daf-12*, cependant, augmente la durée de vie du double mutant *glp-1 ;daf-9*.

Cela suggère que *daf-12* est nécessaire pour la longévité via *nhr-80* mais pas *daf-9*. La fonction de *nhr-80* est indépendante des ligands de *daf-9* donc de Δ^7 -DA.

Chez un mutant *glp-1*, on observe une forte augmentation de *fat-5*, *fat-6* et *lipl-4*, alors que *fat-7* est sous exprimé. Chez un mutant *glp-1;nhr-80*, il n'y a plus d'augmentation de *fat-6*, par ailleurs, *fat-7*, *lipl-4* et *fat-5* ne changent pas. Il a été montré que les lipides désaturases étaient des cibles de *daf-16* dans les mutants *daf-2*. Nous avons donc mesuré l'expression des gènes *fat-5*, *fat-6*, *fat-7* et *lipl-4* dans un double mutant *glp-1;daf-16*. Nous avons pu remarquer qu'il n'y avait plus d'induction de *fat-5* et *lipl-4*, cependant, *fat-6* et *fat-7* n'étaient pas affectés. Grâce à ces manipulations, nous pouvons conclure que l'augmentation de la transcription de *fat-6* dépend de *nhr-80*, alors que le niveau de transcription de *fat-5* dépend à la fois de *nhr-80* et de *daf-16*, *lipl-4* est une cible de *nhr-80* mais pas de *daf-16*. Nous avons également remarqué que la durée de vie du mutant *glp-1*, est diminuée, lorsque *fat-6* et *fat-7* sont supprimés, et que l'ajout d'acide oléique permettait de restaurer la durée de vie normale du mutant *glp-1* (Goudeau et al., 2011).

Il est aussi connu que, comme les mutants *daf-2*, les mutants *glp-1* possèdent plus de lipides que les vers sauvages. La seconde partie de mon stage a été consacrée à l'étude de l'impact de la lignée germinale sur le métabolisme des lipides.

IV. Le métabolisme des lipides

Le réseau métabolique est complexe et étroitement coordonné par la circulation de sucres et de graisses, par le biais de voies de synthèse, de stockage et de dégradation. Les cellules décomposent les glucides, les acides aminés et les lipides pour générer de l'ATP, la ressource d'énergie universelle de la cellule. La libération des acides gras est ensuite activée par leurs acyl-coA respectifs provenant des acyl-CoA synthase (ASCs)/ligase. La détérioration des acyl-CoA en acétyl-CoA se produit dans le peroxysome ou la mitochondrie via des enzymes de β oxydation (Salway, 2004).

A. Voie de synthèse et de stockage

Chez *C. elegans*, les lipides sont stockés sous forme de gouttelettes lipidiques dans les cellules intestinales et dans les cellules de l'hypoderme. Le corps de *C. elegans* étant transparent, on peut directement visualiser la quantité de lipides de l'animal. Plus le ver possède des triglycérides, plus son corps apparaît noir.

Chez le nématode, les voies métaboliques ont été examinées par rapport à une voie bien connue, la voie de l'insuline. En effet, dans la plupart des cas, une augmentation des lipides et une altération du métabolisme sont liées à une augmentation de la durée de vie, une augmentation de la résistance aux stress et un arrêt au stade dauer (stade de « dormance » du ver lorsque ses conditions de croissance ne sont pas favorables). Le meilleur exemple est le mutant *daf-2* dont la quantité de lipide augmente à l'âge adulte (Braeckman et al., 2002 ; Burnell et al., 2005 ; Gems, 1999 ; Larsen et al., 1995 ; Lee et al., 2003 ; Murphy et al., 2003 ; Wang et Kim, 2003).

En 2003, une étude montre qu'une inactivation de 305 gènes entraînent une diminution de la quantité des lipides, que l'inactivation de 112 autres gènes permet l'augmentation de la quantité des lipides et que 261 autres gènes conduisent à une diminution des lipides, accompagnée cependant d'un arrêt au stade larvaire, une mort des embryons ou la stérilité du ver (Ashrafi et al., 2003).

La voie de l'insuline agit en parallèle d'une autre voie appelée TGF- β (Transforming Growth Factor β), qui contrôle le développement larvaire et le stockage des lipides chez l'adulte. Chez *C. elegans*, DAF-7 est le ligand de la voie de TGF- β . DAF-7 TGF- β est exprimé dans les neurones ASI, sous condition qu'il y ait une induction du développement (il n'y a pas d'expression de TGF- β lorsque les vers deviennent dauer).

Une augmentation de la quantité de lipides chez un mutant *daf-2* est supprimée par une mutation de *daf-16* ou de *daf-18*; cependant cette augmentation n'est pas supprimée lorsqu'il y a une mutation de la voie TGF- β . Par exemple, un double mutant *daf-7 ; daf-16* arrête son développement au stade larvaire et ses réserves lipidiques augmentent.

Chez les mammifères, les voies de signalisation de la sérotonine et de TUBBY, affectent les lipides. TUBBY code pour une protéine qui se trouve dans l'hypothalamus. HTR2C code pour un récepteur à la sérotonine. Les souris déficientes en TUBBY et HTR2C présentent le phénotype de l'obésité. Les vers porteurs d'une mutation pour le gène *tph-1* codant pour la sérotonine, ou pour un homologue de *tubby*, *tub-1*, montrent une augmentation des lipides (Ashrafi et al., 2003 ; Mukhopadhyay et al., 2005). De plus, la fonction de *tubby* dans le stockage des lipides est indépendante de *daf-16*. Une augmentation de *daf-2* ou de *tub-1* entraîne un accroissement de la durée de vie et une augmentation des lipides dans l'intestin (Ashrafi et al., 2003 ; Kimura et al., 1997 ; Sze et al., 2000).

Acetyl-CoA est le substrat clef pour la synthèse des acides gras. Il est carboxylé par une acetyl-CoA carboxylase (ACC) pour former un molonyl-CoA. Il est ensuite allongé par une acide gras synthase (fatty acid synthase : FAS), ce qui aboutit, d'une manière progressive, à la formation d'acides gras de différentes tailles. Les différents acides gras produits vont ensuite être transformés en acides gras insaturés.

Chez *C. elegans*, l'inhibition de *fat-5*, de *fat-6* ou de *fat-7*, gènes codants pour une enzyme permettant la transformation d'acides gras saturés en acide gras insaturés (delta 9 fatty acide desaturation), est associée à une mobilisation des lipides. Plus précisément, *fat-5* code pour une palmitoyl-CoA desaturase, et *fat-6* et *fat-7* codent pour une stearoyl-CoA desaturase (SCD). De plus, l'utilisation d'ARNi contre *fat-7* entraîne une diminution de la durée de vie (Brock et al., 2006 ; Van Glist et al., 2005).

L'enzyme delta 9 désaturase (SCD) catalyse la synthèse d'acides gras polyinsaturés (Polyunsaturated fatty acids : PUFAs). SCD est donc impliqué dans le maintien d'un niveau approprié d'acides gras insaturés vitaux pour le contrôle du métabolisme lipidique. Chez les mammifères, une déficience en SCD1 favorise la voie de la β oxydation et augmente la lipogenèse dans le foie et les muscles. L'un des mécanismes proposés est que l'inhibition de SCD1 permet l'accumulation d'acides gras saturés acyl-CoA, entraînant la retro inhibition de l'acetyl-CoA carboxylase (ACC), l'enzyme limitante de la synthèse des acides gras.

Chez les mammifères, SCD1 a été montrée comme étant une cible thérapeutique pour l'obésité, le diabète et les maladies cardiovasculaires.

Chez *C. elegans*, l'enzyme delta 9 désaturase des acides gras est régulée transcriptionnellement par des SREBPs (Stérol Regulatory Element Binding Protein) et des récepteurs d'hormones nucléaires (Nuclear Hormon Receptor : NHRs)(Brock et al., 2006 ; Van Gilst et al., 2005).

B. Les capteurs métaboliques et la coordination des différentes voies métaboliques

1. Les SREBPs

« Sterol Response Element Binding Protein » est un régulateur transcriptionnel clef pour la synthèse des lipides et des stéroïdes chez les mammifères (Eberle et al., 2004 ; Rawson, 2003). SREBP se trouve dans la membrane des réticulums endoplasmiques. Le niveau de lipides cellulaires régule sa dégradation et sa translocation dans le noyau, où il active des gènes impliqués dans le métabolisme lipidique (Horton et al., 2003 ; Goldstein et al., 2006). Une inhibition de SREBP par de l'ARNi, entraîne une diminution de la synthèse des gouttelettes lipidiques intestinales (Ashrafi, 2006 ; McKay et al., 2003 ; Yang et al., 2006).

Chez les mammifères, *srebp-1* code pour un facteur de transcription qui stimule l'expression de gènes impliqués dans la synthèse des acides gras, incluant SCD1.

Chez *C. elegans*, l'homologue de SREBP s'appelle *sbp-1*. Il est exprimé dans l'intestin et une suppression de *sbp-1* entraîne une diminution de la taille du ver, une réduction du stockage des lipides et une réduction de la ponte (Nomura et al., 2009).

2. Les récepteurs d'hormones nucléaires

Chez les mammifères, plusieurs récepteurs d'hormones nucléaires (NHR) fonctionnent comme capteurs métaboliques et régulateurs importants dans la balance énergétique (Chawla et al., 2001 ; Evans et al., 2004 ; Nakamura et al., 2004). L'utilisation d'ARNi spécifique d'un NHR peut entraîner une augmentation ou

une diminution des lipides. Les NHRs connus chez les mammifères sont souvent des régulateurs du métabolisme des lipides et des stérols.

La famille des récepteurs d'hormones nucléaires incluant Peroxisome Proliferator Activated Receptor (PPARs), Liver X Receptor et Farnesoid Receptor sont des régulateurs importants du métabolisme lipidique chez les mammifères. PPARs agit comme un hétérodimère avec le Récepteur X Rétinoïde pour induire la transcription des gènes cibles du métabolisme lipidique (Chawla et al., 2001). *C. elegans* possède 284 récepteurs d'hormones nucléaires tandis que les mammifères en possèdent seulement 48.

Le premier récepteur d'hormone nucléaire découvert pour son rôle dans le métabolisme lipidique chez *C. elegans* est NHR-49 (Van Gilst et al., 2005). Le mutant *nhr-49* possède un niveau élevé de lipides et sa durée de vie est réduite. *nhr-49* influence l'expression de 13 gènes impliqués dans le contrôle du métabolisme des acides gras avec un rôle prononcé dans la voie de la β oxydation mitochondriale et la désaturation des acides gras. En effet, NHR-49 permet l'expression de trois acides gras désaturases chez *C. elegans*, qui sont *fat-5*, *fat-6* et *fat-7*. L'expression de FAT-5 et de FAT-7 est diminuée dans un mutant *nhr-49* et l'expression de FAT-6 est réduite uniquement pendant les stades larvaires L3 et L4 de l'animal. Le phénotype du mutant *nhr-49* est attribué à une déficience dans deux voies métaboliques différentes : la voie de désaturation des acides gras et la voie de la β oxydation mitochondriale (Van Gilst et al., 2005).

La voie de la β oxydation mitochondriale facilite la dégradation des lipides stockés pour la production d'énergie. *nhr-49* permet l'expression de trois gènes faisant partie de la voie de la β oxydation mitochondriale et deux de ces gènes sont impliqués dans le stockage des lipides. *nhr-49* affecte également l'expression de ACS-2 (Acyl-CoA synthase) suggérant que *nhr-49* ne régule qu'une partie de la voie de la β oxydation mitochondriale. En réponse au jeûne, *nhr-49* module l'expression de ses deux voies dans le but d'optimiser la consommation des lipides (Van Gilst et al., 2005).

Plus récemment, chez *C. elegans*, un nouveau récepteur d'hormone nucléaire permettant la régulation de l'expression de l'enzyme delta 9 désaturase a été identifié. Il s'agit de NHR-80.

Les acides gras mono-insaturés (Monounsaturated fatty acid (MUFAs)) sont les principaux composants de la membrane de phospholipides et des triglycérides. Ces molécules jouent un rôle important dans des processus cellulaires divers, tels que le transport intermembranaire, le stockage d'énergie et la signalisation. Les MUFAs sont synthétisés à partir d'acides gras saturés par les SCD qui introduisent une double liaison entre le carbone neuf et dix de la chaîne d'acides gras saturés. Comme chez les mammifères, *C. elegans* a besoin d'une synthèse d'acides gras insaturés et de maintenir une régulation correcte de SCD, pour avoir une composition d'acide gras optimale (Brock et al., 2006). *C. elegans* possède plusieurs enzymes permettant l'insaturation des acides gras : $\Delta 12$ desaturase (FAT-2), $\Delta 3$ desaturase (FAT-1), $\Delta 5$ desaturase (FAT-4), $\Delta 6$ desaturase (FAT-3) et les 3 $\Delta 9$ desaturase (FAT-5, FAT-6, FAT-7) (Watts and Browse, 2000 ; Watt and Browse, 2002) (figure 20)

Chez les mammifères, une altération du ratio des MUFAs a pour conséquence des maladies cardiovasculaires et des cancers.

Le mutant *nhr-80* ayant pour allèle « tm1011 » a une délétion de 446 paires de bases. Lorsque l'on utilise de l'ARNi contre *nhr-80*, ou alors le mutant *nhr-80*, il y a une accumulation d'acide gras 18 : 0 et une réduction des acides gras 18 : 1 Δ 9.

NHR-49 et NHR-80 sont proposés pour être dérivés du même ancêtre commun, qui est aussi l'ancêtre commun de HNF-4 chez le mammifère. L'expression de FAT-5 et FAT-6 est réduite de 66% et 22% respectivement et l'expression de FAT-7 est nulle chez un mutant *nhr-80*. L'altération du profil des acides gras du mutant *nhr-80* indique qu'il a un rôle dans le métabolisme des lipides chez *C. elegans* (Brock et al., 2006).

L'inactivation de NHR-64 et de NHR-25 entraîne également des modifications du métabolisme lipidique. L'inactivation par ARNi de *nhr-64* entraîne une diminution des réserves lipidiques chez le double mutant *fat-6 ;fat-7* et le mutant *sbp-1*. Les sauvages traités avec un ARNi contre *nhr-64* ont une augmentation de la synthèse des lipides (Liang et al., 2010). NHR-64 est donc un régulateur important du stockage des lipides.

NHR-25, un autre récepteur d'hormone nucléaire, s'est révélé nécessaire pour le métabolisme des lipides. En effet, le phénotype d'augmentation de quantité de lipides du mutant *asc-3* (Acyl-CoA synthase) requiert *nhr-25*, un régulateur clef de la mue chez le ver. De plus, ASC-3 module aussi la fonction de *nhr-25*, qui à son tour

régule un programme endocrinien de consommation et de synthèse des lipides. Ces résultats montrent un lien entre acyl-CoA synthase et NHR-25 chez *C. elegans* (Mullaney et al., 2010). Actuellement, au moins 26 gènes acyl-CoA ont été trouvés dans le génome humain (Watkins et al., 2007).

C. Les lipases

La capacité d'un individu à mobiliser l'énergie qu'il a stockée sous forme de triglycérides, est la clef de sa survie au cours d'un jeûne.

L'équilibre entre la lipogenèse et la lipolyse est nécessaire pour répondre continuellement aux besoins énergétiques induits par la mobilisation des triglycérides. Chez le mammifère, il existe deux lipases clefs de la dégradation des lipides. Il s'agit de l'Hormone Sensitive Lipase (HSL) (Holm, 2003) et de l'Adipose Triglycéride Lipase (ATGL) (Zimmermann et al., 2004).

Les tissus adipeux sont le site principal de stockage et de mobilisation des lipides. La durée moyenne de vie des cellules adipeuses est estimée à 9,5 ans. Le temps de demi vie d'une molécule de triglycéride est estimé à 1,6 ans. Cela veut dire que les lipides sont renouvelés en moyenne six fois. (Spalding et al., 2008). La lipolyse est donc un mécanisme important pour le renouvellement des lipides (Bezaire et al., 2009).

Nous nous sommes intéressés au mécanisme de lipolyse chez le nématode *C. elegans* et principalement aux gènes responsables de la lipolyse chez un mutant ne possédant pas de lignée germinale.

D. Lien entre la reproduction et le métabolisme lipidique

Une réduction de la reproduction est associée à une augmentation du stockage lipidique et un allongement de la durée de vie dans de multiples organismes. Cependant, la régulation de ces mécanismes est mal connue.

La reproduction est un processus énergétique coûteux ayant des effets importants sur la quantité de triglycérides, la forme principale de stockage d'énergie chez l'animal (Bronson, 1989).

Au cours de la reproduction, l'animal dépense ses réserves énergétiques. Une réduction de la reproduction s'accompagne donc souvent d'une augmentation des réserves lipidiques entraînant une prise de poids et une plus forte augmentation de la taille chez beaucoup d'espèces (Corona et al., 2009 ; Judd et al., 2011 ; McElroy & Wade, 1987).

La reproduction a des effets importants sur la physiologie des animaux. En effet, ce phénomène est connu depuis l'antiquité. En 335 av J-C, Aristote note que la castration, au stade juvénile, cause une augmentation de la taille par rapport à la normale (Barnes, 1984 ; Leroi, 2003 ; Wilson & Roehrborn, 1999). Depuis ces premières études sur la reproduction, beaucoup d'autres ont rapporté que la gonadectomie peut augmenter la taille, la prise de poids et augmenter la quantité de lipides chez la souris, le rat, les singes et d'autres mammifères (Crane, 1991 ; Fettman et al., 1997 ; Kanchuk et al., 2003 ; McElroy & Wade, 1987 ; Pallier et al., 1980 ; Salmeri et al., 1991 ; Stotsenburg, 1913 ; Sullivan et al., 2005).

Le même phénomène est présent chez l'humain. En effet, la castration d'un homme lorsqu'il est jeune, cause une taille anormale (eunuques chinois et de l'empire ottoman ; castrats italiens du 18^{ème} siècle) et un phénotype identique à ceux que l'on observe chez des patients atteints d'hypogonadisme (personne ayant une déficience dans la production d'hormones gonadales) (Wilson & Roehrborn, 1999). L'hypogonadisme est souvent accompagné d'une accumulation de lipides (Corona et al., 2009), une résistance à l'insuline et des syndromes métaboliques tel que le diabète.

Le lien entre l'hypogonadisme et un excès de lipides est bidirectionnel. Alors qu'il est clair qu'une obésité importante peut causer de l'hypogonadisme, des expériences sur des animaux modèles, suggèrent que l'hypogonadisme peut être la conséquence d'une accumulation de lipides (Corona et al., 2009). Par exemple, nous pouvons remarquer qu'il existe une augmentation de la quantité de lipides chez les femmes ménopausées (Corona et al., 2009) ou atteintes du syndrome de polykystose ovarienne (Escobar-Morreale & Milan, 2007).

Le lien entre la reproduction et l'excès de lipides n'est pas limité aux mammifères. En effet, chez certaines variétés d'insectes, comme les mouches, les

punaises, les criquets migrateurs et les sauterelles, une ovariectomie cause une augmentation de lipides du corps gras, l'équivalent du tissu adipeux et du foie chez les mammifères (Judd et al., 2011 ; Socha et al., 1991 ; Strong, 1967 ; Thomsen & Hamburger, 1955).

Il a été observé récemment, que les drosophiles ne possédant pas de lignée germinale avaient une augmentation de la quantité de lipides et une résistance au jeûne (figure 21). Chez *C. elegans*, la gonade semble aussi jouer un rôle majeur dans la régulation du stockage des lipides. En effet, les vers ne possédant pas de lignée germinale, présentent une augmentation de la quantité de lipides (O'Rourke et al., 2009).

Le sujet de mon stage m'a permis de mieux comprendre les liens entre métabolisme lipidique, reproduction et vieillissement chez des animaux dépourvus pas de lignée germinale.

Références bibliographiques

- Aggelidou, E., Iordanidou, P., Tsantili, P., Papadopoulos, G., et Hadzopoulou-Cladaras, M. (2004). Critical role of residues defining the ligand binding pocket in hepatocyte nuclear factor-4 α . *J Biol Chem* 279, 30680–8.
- Aitlhadj, L., et Stürzenbaum, S. R. (2010). The use of FUDR can cause prolonged longevity in mutant nematodes. *Mech Ageing Dev* 131, 364–5.
- Alcedo, J., et Kenyon, C. (2004). Regulation of *C. elegans* longevity by specific gustatory and olfactory neurons. *Neuron* 41, 45–55.
- Angelo, G., et Gilst, M. R. V. (2009). Starvation protects germline stem cells and extends reproductive longevity in *C. elegans*. *Science* 326, 954–8.
- Antebi, A., Yeh, W. H., Tait, D., Hedgecock, E. M., et Riddle, D. L. (2000). *daf-12* encodes a nuclear receptor that regulates the dauer diapause and developmental age in *C. elegans*. *Genes Dev* 14, 1512–27.
- Antebi, A. (2006). Nuclear hormone receptors in *C. elegans*. *WormBook*, 1–13.
- Ao, W., Gaudet, J., Kent, W. J., Muttumu, S., et Mango, S. E. (2004). Environmentally induced foregut remodeling by PHA-4/FoxA and DAF-12/NHR. *Science* 305, 1743–6.
- Apfeld, J., et Kenyon, C. (1999). Regulation of lifespan by sensory perception in *Caenorhabditis elegans*. *Nature* 402, 804–9.
- Apfeld, J., O'Connor, G., McDonagh, T., DiStefano, P. S., et Curtis, R. (2004). The AMP-activated protein kinase AAK-2 links energy levels and insulin-like signals to lifespan in *C. elegans*. *Genes & Development* 18, 3004–9.
- Arantes-Oliveira, N., Apfeld, J., Dillin, A., et Kenyon, C. (2002). Regulation of life-span by germ-line stem cells in *Caenorhabditis elegans*. *Science* 295, 502–5.
- Arantes-Oliveira, N., Berman, J. R., et Kenyon, C. (2003). Healthy animals with extreme longevity. *Science* 302, 611.
- Ashrafi, K. (2006). Mapping out starvation responses. *Cell Metab.* 3, 235–236.
- Ashrafi K. (2007). Obesity and the régulation of fat metabolism. *WormBook* 1-20
- Ashrafi, K., Chang, F.Y., Watts, J.L., Fraser, A.G., Kamath, R.S., Ahringer, J., and Ruvkun, G. (2003). Genome-wide RNAi analysis of *Caenorhabditis elegans* fat regulatory genes. *Nature* 421, 268–272.
- Austin, J., et Kimble, J. (1987). *glp-1* is required in the germ line for regulation of the decision between mitosis and meiosis in *C. elegans*. *Cell* 51, 589–99.
- Avery, L. (1993). The genetics of feeding in *Caenorhabditis elegans*. *Genetics* 133, 897–917.
- Barnes, J. (1984). The complete works of Aristotle, revised Oxford translation. (Princeton University Press).

- Barnes, A. I., Boone, J. M., Jacobson, J., Partridge, L., et Chapman, T. (2006). No extension of lifespan by ablation of germ line in *Drosophila*. *Proc Biol Sci* 273, 939–47.
- Bartke, A. (2008). Insulin and aging. *Cell Cycle* 7, 3338–43.
- Baynes, J. W. (2001). The role of AGEs in aging: causation or correlation. *Exp Gerontol* 36, 1527–37.
- Berkowitz, L. A., et Strome, S. (2000). MES-1, a protein required for unequal divisions of the germline in early *C. elegans* embryos, resembles receptor tyrosine kinases and is localized to the boundary between the germline and gut cells. *Development (Cambridge, England)* 127, 4419–31.
- Berman, J. R., et Kenyon, C. (2006). Germ-cell loss extends *C. elegans* life span through regulation of DAF-16 by *kri-1* and lipophilic-hormone signaling. *Cell* 124, 1055–68.
- Bishop, N. A., et Guarente, L. (2007a). Genetic links between diet and lifespan: shared mechanisms from yeast to humans. *Nature Reviews Genetics* 8, 835–44.
- Bishop, N. A., et Guarente, L. (2007b). Two neurons mediate diet-restriction-induced longevity in *C. elegans*. *Nature* 447, 545–9.
- Bjedov, I., Toivonen, J. M., Kerr, F., Slack, C., Jacobson, J., Foley, A., et Partridge, L. (2010). Mechanisms of life span extension by rapamycin in the fruit fly *Drosophila melanogaster*. *Cell Metabolism* 11, 35–46.
- Blüher, M., Kahn, B. B., et Kahn, C. R. (2003). Extended longevity in mice lacking the insulin receptor in adipose tissue. *Science* 299, 572–4.
- Braeckman, B.P., Houthoofd, K., and Vanfleteren, J.R. (2002). Assessing metabolic activity in aging *Caenorhabditis elegans*: concepts and controversies. *Aging Cell* 1, 82–88
- Brenner, S. (1974). The genetics of *Caenorhabditis elegans*. *Genetics* 77, 71–94.
- Brock, T. J., Browse, J., et Watts, J. L. (2006). Genetic regulation of unsaturated fatty acid composition in *C. elegans*. *PLoS Genetics* 2, e108.
- Brock TJ, Browse J, Watts JL. (2007). Fatty acid desaturation and the regulation of adiposity in *Caenorhabditis elegans*. *Genetics*. 176(2):865-75.
- Burnell, A.M., Houthoofd, K., O'Hanlon, K., and Vanfleteren, J.R. (2005). Alternate metabolism during the dauer stage of the nematode *Caenorhabditis elegans*. *Exp. Gerontol.* 40, 850–856.
- Cargill, S. L., Carey, J. R., Müller, H.-G., et Anderson, G. (2003). Age of ovary determines remaining life expectancy in old ovariectomized mice. *Aging Cell* 2, 185–90.
- Chalfie, M., Tu, Y., Euskirchen, G., Ward, W. W., et Prasher, D. C. (1994). Green fluorescent protein as a marker for gene expression. *Science* 263, 802–5.
- Chawla, A., Repa, J.J., Evans, R.M., and Mangelsdorf, D.J. (2001). Nuclear receptors and lipid physiology: opening the X-files. *Science* 294, 1866–1870.
- Chen, D., et McKearin, D. M. (2003). A discrete transcriptional silencer in the *bam* gene determines asymmetric division of the *Drosophila* germline stem cell. *Development* 130, 1159–70.
- Clancy, D. J., Gems, D., Harshman, L. G., Oldham, S., Stocker, H., Hafen, E., Leivers, S. J., et Partridge, L. (2001). Extension of life-span by loss of CHICO, a *Drosophila* insulin

- receptor substrate protein. *Science* 292, 104–6.
- Colman, R. J., Anderson, R. M., Johnson, S. C., Kastman, E. K., Kosmatka, K. J., Beasley, T. M., Allison, D. B., Cruzen, C., Simmons, H. A., Kemnitz, J. W., et al. (2009). Caloric restriction delays disease onset and mortality in rhesus monkeys. *Science* 325, 201–4.
- Consortium, *C. elegans* S. (1998). Genome sequence of the nematode *C. elegans*: a platform for investigating biology. *Science* 282, 2012–8.
- Copeland, J. M., Cho, J., Lo, T., Hur, J. H., Bahadorani, S., Arabyan, T., Rabie, J., Soh, J., et Walker, D. W. (2009). Extension of *Drosophila* life span by RNAi of the mitochondrial respiratory chain. *Curr Biol* 19, 1591–8.
- Corona, G., Mannucci, E., Forti, G., and Maggi, M. (2009). Hypogonadism, ED, metabolic syndrome and obesity: a pathological link supporting cardiovascular diseases. *Intl. J. Androl.* 32, 587-598
- Crane, S.W. (1991). Occurrence and management of obesity in companion animals. *J. Small. Anim. Prac.* 32, 275-282.
- Curtis, R., O'connor, G., et Distefano, P. S. (2006). Aging networks in *Caenorhabditis elegans*: AMP-activated protein kinase (*aak-2*) links multiple aging and metabolism pathways. *Aging cell* 5, 119–26.
- Dell'agnello, C., Leo, S., Agostino, A., Szabadkai, G., Tiveron, C., Zulian, A., Prella, A., Roubertoux, P., Rizzuto, R., et Zeviani, M. (2007). Increased longevity and refractoriness to Ca²⁺-dependent neurodegeneration in *Surf1* knockout mice. *Human Molecular Genetics* 16, 431–44.
- Dhe-Paganon, S., Duda, K., Iwamoto, M., Chi, Y.-I., et Shoelson, S. E. (2002). Crystal structure of the HNF4 alpha ligand binding domain in complex with endogenous fatty acid ligand. *J Biol Chem* 277, 37973–6.
- Dillin, A., Crawford, D. K., et Kenyon, C. (2002). Timing requirements for insulin/IGF-1 signaling in *C. elegans*. *Science* 298, 830–4.
- Di Paolo G, Kim TW. (2011). Linking lipids to Alzheimer's disease : cholesterol and beyond. *Nat Rev Neurosci.*12(5):284-96.
- Dong, M.-Q., Venable, J. D., Au, N., Xu, T., Park, S. K., Cociorva, D., Johnson, J. R., Dillin, A., et Yates, J. R. (2007). Quantitative mass spectrometry identifies insulin signaling targets in *C. elegans*. *Science* 317, 660–3.
- Dorman, J. B., Albinder, B., Shroyer, T., et Kenyon, C. (1995). The *age-1* and *daf-2* genes function in a common pathway to control the lifespan of *Caenorhabditis elegans*. *Genetics* 141, 1399–406.
- Dowell, P., Otto, T. C., Adi, S., et Lane, M. D. (2003). Convergence of peroxisome proliferator-activated receptor gamma and Foxo1 signaling pathways. *J Biol Chem* 278, 45485–91.
- Dumas, K. J., Guo, C., Wang, X., Burkhart, K. B., Adams, E. J., Alam, H., et Hu, P. J. (2010). Functional divergence of dafachronic acid pathways in the control of *C. elegans* development and lifespan. *Developmental Biology* 340, 605–12.

- Eberle, D., Hegarty, B., Bossard, P., Ferre, P., and Foulfelle, F. (2004). SREBP transcription factors: master regulators of lipid homeostasis. *Biochimie* 86, 839–848.
- Escobar-Morreale, H.F., and Millan, J.L.S. (2007). Abdominal adiposity and the polycystic ovary syndrome. *Trends Endocrin. Metab.* 18, 266-272.
- Evans, R.M., Barish, G.D., and Wang, Y.X. (2004). PPARs and the complex journey to obesity. *Nat. Med.* 10, 355–361.
- Felkai, S., Ewbank, J. J., Lemieux, J., Labbé, J. C., Brown, G. G., et Hekimi, S. (1999). CLK-1 controls respiration, behavior and aging in the nematode *Caenorhabditis elegans*. *The EMBO Journal* 18, 1783–92.
- Feng, J., Bussi re, F., et Hekimi, S. (2001). Mitochondrial electron transport is a key determinant of life span in *Caenorhabditis elegans*. *Dev Cell* 1, 633–44.
- Fettman, M.J., Stanton, C.A., Banks, L.L., Hamar, D.W., Johnson, D.E., Hegstad, R.L., and Johnston, S. (1997). Effects of neutering on bodyweight, metabolic rate and glucose tolerance of domestic cats. *Res. Vet. Sci.* 62, 131-136.
- Fire, A., Xu, S., Montgomery, M. K., Kostas, S. A., Driver, S. E., et Mello, C. C. (1998). Potent and specific genetic interference by double-stranded RNA in *Caenorhabditis elegans*. *Nature* 391, 806–11.
- Flatt, T. (2011). Survival costs of reproduction in *Drosophila*. *Exp Gerontol* 46, 369–75.
- Flatt, T., Min, K.-J., D’Alterio, C., Villa-Cuesta, E., Cumbers, J., Lehmann, R., Jones, D. L., et Tatar, M. (2008). *Drosophila* germ-line modulation of insulin signaling and lifespan. *Proc Natl Acad Sci USA* 105, 6368–73.
- Friedman, D. B., et Johnson, T. E. (1988). A mutation in the *age-1* gene in *Caenorhabditis elegans* lengthens life and reduces hermaphrodite fertility. *Genetics* 118, 75–86.
- Gems, D. (1999). Nematode ageing: Putting metabolic theories to the test. *Curr. Biol.* 9, R614– R616.
- Gerisch, B., Weitzel, C., Kober-Eisermann, C., Rottiers, V., et Antebi, A. (2001). A hormonal signaling pathway influencing *C. elegans* metabolism, reproductive development, and life span. *Dev Cell* 1, 841–51.
- Gerisch, B., Rottiers, V., Li, D., Motola, D. L., Cummins, C. L., Lehrach, H., Mangelsdorf, D. J., et Antebi, A. (2007). A bile acid-like steroid modulates *Caenorhabditis elegans* lifespan through nuclear receptor signaling. *Proc Natl Acad Sci USA* 104, 5014–9.
- Ghazi, A., Henis-Korenblit, S., et Kenyon, C. (2009). A transcription elongation factor that links signals from the reproductive system to lifespan extension in *Caenorhabditis elegans*. *PLoS Genetics* 5, e1000639.
- Giannakou, M. E., Goss, M., J nger, M. A., Hafen, E., Leivers, S. J., et Partridge, L. (2004). Long-lived *Drosophila* with overexpressed dFOXO in adult fat body. *Science* 305, 361.
- Gil, E. B., Link, E. M., Liu, L. X., Johnson, C. D., et Lees, J. A. (1999). Regulation of the insulin-like developmental pathway of *Caenorhabditis elegans* by a homolog of the PTEN tumor suppressor gene. *Proc Natl Acad Sci USA* 96, 2925–30.
- Goudeau, J., Bellemin, S., Toselli-Mollereau, E., Shamalnasab, M., Chen, Y., et Aguilaniu, H. (2011). Fatty Acid Desaturation Links Germ Cell Loss to Longevity Through NHR-80/HNF4 in *C. elegans*. *PLoS Biol* 9, e1000599.

- Grant, B., et Hirsh, D. (1999). Receptor-mediated Endocytosis in the *Caenorhabditis elegans* Oocyte. *Molecular Biology of the Cell* 10, 4311.
- Greer, E. L., Dowlatshahi, D., Banko, M. R., Villen, J., Hoang, K., Blanchard, D., Gygi, S. P., et Brunet, A. (2007). An AMPK-FOXO Pathway Mediates Longevity Induced by a Novel Method of Dietary Restriction in *C. elegans*. *Current Biology* 17, 1646–1656.
- Greer, E. L., et Brunet, A. (2009). Different dietary restriction regimens extend lifespan by both independent and overlapping genetic pathways in *C. elegans*. *Aging Cell* 8, 113.
- Grönke S, Mildner A, Fellert S, Tennagels N, Petry S, Müller G, Jäckle H, Kühnlein RP. (2005). Brummer lipase is evolutionary conserved fat storage regulator in *Drosophila*. *Cell Metab* 1(5):323-30.
- Hamer, G., Matilainen, O., et Holmberg, C. I. (2010). A photoconvertible reporter of the ubiquitin- proteasome system in vivo. *Nature Methods* 7, 473–8.
- Hansen M, Chandra A, Mitic LL, Onken B, Driscoll M, Kenyon C. (2008) A role for autophagy in the extension of lifespan by dietary restriction in *C.elegans*. *PLoS Genet.*4(2):e24.
- Hansen, M., Hsu, A.-L., Dillin, A., et Kenyon, C. (2005). New genes tied to endocrine, metabolic, and dietary regulation of lifespan from a *Caenorhabditis elegans* genomic RNAi screen. *PLoS Genetics* 1, 119–28.
- Hansen, M., Taubert, S., Crawford, D., Libina, N., Lee, S.-J., et Kenyon, C. (2007). Lifespan extension by conditions that inhibit translation in *Caenorhabditis elegans*. *Aging cell* 6, 95–110.
- Harrison, D. E., Strong, R., Sharp, Z. D., Nelson, J. F., Astle, C. M., Flurkey, K., Nadon, N. L., Wilkinson, J. E., Frenkel, K., Carter, C. S., et al. (2009). Rapamycin fed late in life extends lifespan in genetically heterogeneous mice. *Nature* 460, 392–5.
- Hars ES, Qi H, Ryazanov AG, Jin S, Cai L, Hu C, Liu LF. (2007). Autophagy regulates ageing in *C. elegans*. *Autophagy*. 3(2):93-5.
- Hebbachi, A. M., Knight, B. L., Wiggins, D., Patel, D. D., et Gibbons, G. F. (2008). Peroxisome proliferator-activated receptor alpha deficiency abolishes the response of lipogenic gene expression to re-feeding: restoration of the normal response by activation of liver X receptor alpha. *J Biol Chem* 283, 4866–76.
- Hertz, R., Magenheimer, J., Berman, I., et Bar-Tana, J. (1998). Fatty acyl-CoA thioesters are ligands of hepatic nuclear factor-4alpha. *Nature* 392, 512–6.
- Hodgkin, J. (1986). Sex determination in the nematode *C. elegans*: analysis of *tra-3* suppressors and characterization of *fem* genes. *Genetics* 114, 15–52.
- Holm C. (2003). Molecular mechanisms regulating hormones-sensitive lipase and lipolysis *Biochem Soc Trans*;31(Pt 6):1120-4
- Honda, Y., et Honda, S. (1999). The *daf-2* gene network for longevity regulates oxidative stress resistance and Mn-superoxide dismutase gene expression in *Caenorhabditis elegans*. *FASEB J* 13, 1385–93.
- Honda, Y., Tanaka, M., et Honda, S. (2008). Modulation of longevity and diapause by redox regulation mechanisms under the insulin-like signaling control in *Caenorhabditis elegans*. *Experimental Gerontology* 43, 520–9.

- Horton JD, Shah NA, Warrington JA, Anderson NN, Park SW, Brown MS, Goldstein JL. (2003). Combined analysis of oligonucleotide microarray data from transgenic and knockout mice identifies direct SREBP target genes. *Proc Natl Acad Sci U S A.*;100(21):12027-32.
- Houthoofd, K., Braeckman, B. P., Lenaerts, I., Brys, K., Matthijssens, F., Vreese, A. D., Eygen, S. V., et Vanfleteren, J. R. (2005). DAF-2 pathway mutations and food restriction in aging *Caenorhabditis elegans* differentially affect metabolism. *Neurobiol Aging* 26, 689–96.
- Hsin, H., et Kenyon, C. (1999). Signals from the reproductive system regulate the lifespan of *C. elegans*. *Nature* 399, 362–6.
- Hsu, A.-L., Murphy, C. T., et Kenyon, C. (2003). Regulation of aging and age-related disease by DAF-16 and heat-shock factor. *Science* 300, 1142–5.
- Hubbard, E. J., et Greenstein, D. (2000). The *Caenorhabditis elegans* gonad: a test tube for cell and developmental biology. *Dev Dyn* 218, 2–22.
- Hwangbo, D. S., Gershman, B., Gersham, B., Tu, M.-P., Palmer, M., et Tatar, M. (2004). *Drosophila* dFOXO controls lifespan and regulates insulin signalling in brain and fat body. *Nature* 429, 562–6.
- Ishii, N., Fujii, M., Hartman, P. S., Tsuda, M., Yasuda, K., Senoo-Matsuda, N., Yanase, S., Ayusawa, D., et Suzuki, K. (1998). A mutation in succinate dehydrogenase cytochrome b causes oxidative stress and ageing in nematodes. *Nature* 394, 694–7.
- Ivashchenko, O., Veldhoven, P. P. V., Brees, C., Ho, Y.-S., Terlecky, S. R., et Fransen, M. (2011). Intraperoxisomal redox balance in mammalian cells: oxidative stress and interorganellar cross-talk. *Molecular Biology of the Cell* 22, 1440–51.
- Jia, K., Albert, P. S., et Riddle, D. L. (2002). DAF-9, a cytochrome P450 regulating *C. elegans* larval development and adult longevity. *Development* 129, 221–31.
- Jia, K., Chen, D., et Riddle, D. L. (2004). The TOR pathway interacts with the insulin signaling pathway to regulate *C. elegans* larval development, metabolism and life span. *Development (Cambridge, England)* 131, 3897–906.
- Jia K, Levine B. (2007). Autophagy is required for dietary restriction-mediated life span extension in *C.elegans*. *Autophagy*.;3(6):597-9.
- Judd, E.T., Wessels, F.J., Drewry, M.D., Grove, M., Wright, K., Hahn, D.A., and Hatle, J.D. (2011). Ovariectomy in grasshoppers increases somatic storage, but proportional allocation of ingested nutrients to somatic tissues is unchanged. *Aging Cell* 10, 972-9.
- Kadandale, P., et Singson, A. (2004). Oocyte production and sperm utilization patterns in semi-fertile strains of *Caenorhabditis elegans*. *BMC Developmental Biology* 4, 3.
- Kaeberlein, M., Powers, R. W., Steffen, K. K., Westman, E. A., Hu, D., Dang, N., Kerr, E. O., Kirkland, K. T., Fields, S., et Kennedy, B. K. (2005). Regulation of yeast replicative life span by TOR and Sch9 in response to nutrients. *Science* 310, 1193–6.
- Kaeberlein, T. L., Smith, E. D., Tsuchiya, M., Welton, K. L., Thomas, J. H., Fields, S., Kennedy, B. K., et Kaeberlein, M. (2006). Lifespan extension in *Caenorhabditis elegans* by complete removal of food. *Aging Cell* 5, 487–94.
- Kamath, R. S., Fraser, A. G., Dong, Y., Poulin, G., Durbin, R., Gotta, M., Kanapin, A., Bot, N.

- L., Moreno, S., Sohrmann, M., et al. (2003). Systematic functional analysis of the *Caenorhabditis elegans* genome using RNAi. *Nature* 421, 231–7.
- Kanchuk, M.L., Backus, R.C., Calvert, C.C., Morris, J.G., and Rogers, Q.R. (2003). Weight Gain in Gonadectomized Normal and Lipoprotein Lipase Deficient Male Domestic Cats Results from Increased Food Intake and Not Decreased Energy Expenditure. *J. Nutr.* 133, 1866–1874.
- Kapahi, P., Zid, B. M., Harper, T., Koslover, D., Sapin, V., et Benzer, S. (2004). Regulation of lifespan in *Drosophila* by modulation of genes in the TOR signaling pathway. *Curr Biol* 14, 885–90.
- Kappeler, L., Filho, C. D. M., Dupont, J., Leneuve, P., Cervera, P., Périn, L., Loudes, C., Blaise, A., Klein, R., Epelbaum, J., et al. (2008). Brain IGF-1 receptors control mammalian growth and lifespan through a neuroendocrine mechanism. *PLoS Biology* 6, e254.
- Kenyon, C., Chang, J., Gensch, E., Rudner, A., et Tabtiang, R. (1993). A *C. elegans* mutant that lives twice as long as wild type. *Nature* 366, 461–4.
- Kenyon, C. (2011). The first long-lived mutants: discovery of the insulin/IGF-1 pathway for ageing. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 366, 9.
- Kenyon, C. J. (2010). The genetics of ageing. *Nature* 464, 504–12.
- Ketting, R. F., Fischer, S. E., Bernstein, E., Sijen, T., Hannon, G. J., et Plasterk, R. H. (2001). Dicer functions in RNA interference and in synthesis of small RNA involved in developmental timing in *C. elegans*. *Genes & Development* 15, 2654–9.
- Kimble, J., et Hirsh, D. (1979). The postembryonic cell lineages of the hermaphrodite and male gonads in *Caenorhabditis elegans*. *Developmental Biology* 70, 396–417.
- Kimble, J., et Sharrock, W. J. (1983). Tissue-specific synthesis of yolk proteins in *Caenorhabditis elegans*. *Dev Biol* 96, 189–96.
- Kimura, K. D., Tissenbaum, H. A., Liu, Y., et Ruvkun, G. (1997). *daf-2*, an insulin receptor-like gene that regulates longevity and diapause in *Caenorhabditis elegans*. *Science* 277, 942–6.
- Kirkwood, T. B. (1977). Evolution of ageing. *Nature* 270, 301–4.
- Kirkwood, T. B., et Austad, S. N. (2000). Why do we age? *Nature* 408, 233–8.
- Knight, S. W., et Bass, B. L. (2001). A role for the RNase III enzyme DCR-1 in RNA interference and germ line development in *Caenorhabditis elegans*. *Science* 293, 2269–71.
- Kojima, T., Kamei, H., Aizu, T., Arai, Y., Takayama, M., Nakazawa, S., Ebihara, Y., Inagaki, H., Masui, Y., Gondo, Y., et al. (2004). Association analysis between longevity in the Japanese population and polymorphic variants of genes involved in insulin and insulin-like growth factor 1 signaling pathways. *Exp Gerontol* 39, 1595–8.
- Lapierre LR, Gelino S, Meléndez A, Hansen M. Autophagy and lipid metabolism coordinately modulate life span in germline-less *C.elegans*. (2011). *Curr Biol*.21(18):1507-14

- Lakowski, B., et Hekimi, S. (1996). Determination of life-span in *Caenorhabditis elegans* by four clock genes. *Science* 272, 1010–3.
- Lakowski, B., et Hekimi, S. (1998). The genetics of caloric restriction in *Caenorhabditis elegans*. *Proc Natl Acad Sci USA* 95, 13091–6.
- Langin D. (2011). In and out : adipose tissue lipid turnover in obesity and dyslipidemia. *Cell Metab.* 14(5):569-70.
- Larsen, P. L. (1993). Aging and resistance to oxidative damage in *Caenorhabditis elegans*. *Proc Natl Acad Sci USA* 90, 8905–9.
- Larsen, P. L., Albert, P. S., et Riddle, D. L. (1995). Genes that regulate both development and longevity in *Caenorhabditis elegans*. *Genetics* 139, 1567–83.
- Lee, S.-J., et Kenyon, C. (2009). Regulation of the longevity response to temperature by thermosensory neurons in *Caenorhabditis elegans*. *Curr Biol* 19, 715–22.
- Lee, S.-J., Hwang, A. B., et Kenyon, C. (2010). Inhibition of respiration extends *C. elegans* life span via reactive oxygen species that increase HIF-1 activity. *Curr Biol* 20, 2131–6.
- Lee, S. S., Lee, R. Y. N., Fraser, A. G., Kamath, R. S., Ahringer, J., et Ruvkun, G. (2003). A systematic RNAi screen identifies a critical role for mitochondria in *C. elegans* longevity. *Nat Genet* 33, 40–8.
- Leroi, A.M. (2003). *Mutants. On Genetic Variety and the Human Body.* (New York: Viking).
- Libert, S., Zwiener, J., Chu, X., Vanvoorhies, W., Roman, G., et Pletcher, S. D. (2007). Regulation of *Drosophila* life span by olfaction and food-derived odors. *Science* 315, 1133–7.
- Libina, N., Berman, J. R., et Kenyon, C. (2003). Tissue-specific activities of *C. elegans* DAF-16 in the regulation of lifespan. *Cell* 115, 489–502.
- Lin, K., Hsin, H., Libina, N., et Kenyon, C. (2001). Regulation of the *Caenorhabditis elegans* longevity protein DAF-16 by insulin/IGF-1 and germline signaling. *Nature Genetics* 28, 139–45.
- Lithgow, G. J., White, T. M., Melov, S., et Johnson, T. E. (1995). Thermotolerance and extended life-span conferred by single-gene mutations and induced by thermal stress. *Proc Natl Acad Sci USA* 92, 7540–4.
- Liang B, Ferguson K, Kadyk L, Watts JL. (2010). The role of nuclear receptor NHR-64 in fat storage regulation in *Caenorhabditis elegans*. *PLoS One.* 5(3):e9869.
- Liu, X., Jiang, N., Hughes, B., Bigras, E., Shoubridge, E., et Hekimi, S. (2005). Evolutionary conservation of the *clk-1*-dependent mechanism of longevity: loss of *mcl1* increases cellular fitness and lifespan in mice. *Genes & Development* 19, 2424–34.
- Lombard, D. B., Chua, K. F., Mostoslavsky, R., Franco, S., Gostissa, M., et Alt, F. W. (2005). DNA repair, genome stability, and aging. *Cell* 120, 497–512.
- Lonard, D. M., Lanz, R. B., et O'Malley, B. W. (2007). Nuclear receptor coregulators and human disease. *Endocrine Reviews* 28, 575–87.

- López-Ríos L, Nóvoa FJ, Chirino R, Varillas F, Boronat-Cortés M, Wägner AM. (2011). Interaction between cholesteryl ester transfer protein and hepatic lipase encoding genes and risk of type 2 diabetes : results from Telde study. *PLoS One*. 6(11):e27208
- Luo, S., et Murphy, C. T. (2010). *Caenorhabditis elegans* reproductive aging: Regulation and underlying mechanisms. *Genesis*.
- Magner, D. B., et Antebi, A. (2008). *Caenorhabditis elegans* nuclear receptors: insights into life traits. *Trends Endocrinol Metab* 19, 153–60.
- Mair, W., Morante, I., Rodrigues, A. P. C., Manning, G., Montminy, M., Shaw, R. J., et Dillin, A. (2011). Lifespan extension induced by AMPK and calcineurin is mediated by CRTC-1 and CREB. *Nature* 470, 404–408.
- Mak, H. Y., et Ruvkun, G. (2004). Intercellular signaling of reproductive development by the *C. elegans* DAF-9 cytochrome P450. *Development (Cambridge, England)* 131, 1777–86.
- Mason, J. B., Cargill, S. L., Anderson, G. B., et Carey, J. R. (2009). Transplantation of young ovaries to old mice increased life span in transplant recipients. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 64, 1207–11.
- McElroy, J.F., and Wade, G.N. (1987). Short- and long-term effects of ovariectomy on food intake, body weight, carcass composition, and brown adipose tissue in rats. *Physiol. Behav.* 39, 361-365.
- McElwee, J., Bubb, K., et Thomas, J. H. (2003). Transcriptional outputs of the *Caenorhabditis elegans* forkhead protein DAF-16. *Aging Cell* 2, 111–21.
- McKay, R.M., McKay, J.P., Avery, L., and Graff, J.M. (2003). *C. elegans*: a model for exploring the genetics of fat storage. *Dev. Cell* 4, 131–142
- McKearin, D., et Ohlstein, B. (1995). A role for the *Drosophila* bag-of-marbles protein in the differentiation of cystoblasts from germline stem cells. *Development* 121, 2937–47.
- Meléndez A, Tallóczy Z, Seaman M, Eskelinen EL, Hall DH, Levine B (2003). Autophagy genes are essential for dauer development and life-span extension in *C.elegans*. *Science*. 301(5638):1387-91.
- Morris, J., Tissenbaum, H., et Ruvkun, G. (1996). A phosphatidylinositol-3-OH kinase family member regulating longevity and diapause in *Caenorhabditis elegans*. *Nature* 382, 536–539.
- Motola, D. L., Cummins, C. L., Rottiers, V., Sharma, K. K., Li, T., Li, Y., Suino-Powell, K., Xu, H. E., Auchus, R. J., Antebi, A., et al. (2006). Identification of ligands for DAF-12 that govern dauer formation and reproduction in *C. elegans*. *Cell* 124, 1209–23.
- Mukhopadhyay, A., Deplancke, B., Walhout, A.J., and Tissenbaum, H.A. (2005). *C. elegans* tubby regulates lifespan and fat storage by two independent mechanisms. *Cell Metab.* 2, 35–42
- Mullaney BC, Blind RD, Lemieux GA, Perez CL, Elle IC, Faergeman NJ, Van Gilst MR, Ingraham HA, Ashrafi K. Regulation of *C.elegans* fat uptake and storage by acyl-CoA synthase-3 is dependent on NR5A family nuclear hormone receptor nhr-25. *Cell Metab.*12(4):398- 410.
- Murakami, S., et Johnson, T. E. (1996). A genetic pathway conferring life extension and resistance to UV stress in *Caenorhabditis elegans*. *Genetics* 143, 1207–18.

- Murphy, C. T., Mccarroll, S. A., Bargmann, C. I., Fraser, A., Kamath, R. S., Ahringer, J., Li, H., et Kenyon, C. (2003). Genes that act downstream of DAF-16 to influence the lifespan of *Caenorhabditis elegans*. *Nature* 424, 277–83.
- Narbonne P, Roy R. (2009). *Caenorhabditis elegans* dauers need LKB1/AMPK to ration lipid reserves and ensure long-term survival. *Nature* 457(7226):210-4
- Nakamura, M.T., Cheon, Y., Li, Y., and Nara, T.Y. (2004). Mechanisms of regulation of gene expression by fatty acids. *Lipids* 39, 1077–1083.
- Nelson, G. A., Lew, K. K., et Ward, S. (1978). Intersex, a temperature-sensitive mutant of the nematode *Caenorhabditis elegans*. *Dev Biol* 66, 386–409.
- Nomura T, Horikawa M, Shimamura S, Hashimoto T, Sakamoto K (2010). Fat accumulation in *Caenorhabditis elegans* is mediated by SREBP homolog SBP-1. *Genes Nutr.* 5(1):17-27
- O'Rourke, E. J., Soukas, A. A., Carr, C. E., et Ruvkun, G. (2009). *C. elegans* major fats are stored in vesicles distinct from lysosome-related organelles. *Cell Metabolism* 10, 430–5.
- Ogg S, Paradis S, Gottlieb S, Patterson GI, Lee L, Tissenbaum HA, Ruvkun G. (1997). The Fork head transcription factor DAF-16 transduces insulin-like metabolic and longevity signals in *C.elegans*. *Nature.* 389(6654):994-9.
- Ogg, S., et Ruvkun, G. (1998). The *C. elegans* PTEN homolog, DAF-18, acts in the insulin receptor-like metabolic signaling pathway. *Mol Cell* 2, 887–93.
- Oh, S. W., Mukhopadhyay, A., Dixit, B. L., Raha, T., Green, M. R., et Tissenbaum, H. A. (2006). Identification of direct DAF-16 targets controlling longevity, metabolism and diapause by chromatin immunoprecipitation. *Nature Genetics* 38, 251–7.
- Ohlstein, B., et McKearin, D. (1997). Ectopic expression of the *Drosophila* Bam protein eliminates oogenic germline stem cells. *Development* 124, 3651–62.
- Palanker, L., Tennessen, J. M., Lam, G., et Thummel, C. S. (2009). *Drosophila* HNF4 regulates lipid mobilization and beta-oxidation. *Cell Metabolism* 9, 228–39.
- Pallier, E., Aubert, R., and Lemonnier, D. (1980). Effect of diet and ovariectomy on adipose tissue cellularity in mice. *Reprod. Nutr. Dev.* 20, 631-636.
- Panowski, S. H., Wolff, S., Aguilaniu, H., Durieux, J., et Dillin, A. (2007). PHA-4/Foxa mediates diet-restriction-induced longevity of *C. elegans*. *Nature* 447, 550–5.
- Patel, D. S., Fang, L. L., Svy, D. K., Ruvkun, G., et Li, W. (2008). Genetic identification of HSD-1, a conserved steroidogenic enzyme that directs larval development in *Caenorhabditis elegans*. *Development* 135, 2239–49.
- Rawson, R.B. (2003). The SREBP pathway--insights from Insigs and insects. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 4, 631–640
- Rea, S. L., Ventura, N., et Johnson, T. E. (2007). Relationship between mitochondrial electron transport chain dysfunction, development, and life extension in *Caenorhabditis elegans*. *PLoS Biol* 5, e259.
- Rera, M., Monnier, V., et Tricoire, H. (2010). Mitochondrial electron transport chain dysfunction during development does not extend lifespan in *Drosophila melanogaster*. *Mech Ageing Dev* 131, 156–64.

- Rottiers, V., et Antebi, A. (2006). Control of *Caenorhabditis elegans* life history by nuclear receptor signal transduction. *Experimental Gerontology* 41, 904–9.
- Salmeri, K.R., Bloomberg, M.S., Scruggs, S.L., and Shille, V. (1991). Gonadectomy in immature dogs: effects on skeletal, physical, and behavioral development. *J Am Vet. Med. Assoc.* 198, 1193-1203.
- Salway, J.G. (2004). *Metabolism at a Glance*, Third edn (Oxford: Blackwell Publishing Ltd)
- Schulz, C., Kiger, A. A., Tazuke, S. I., Yamashita, Y. M., Pantalena-Filho, L. C., Jones, D. L., Wood, C. G., et Fuller, M. T. (2004). A misexpression screen reveals effects of bag-of-marbles and TGF beta class signaling on the *Drosophila* male germ-line stem cell lineage. *Genetics* 167, 707–23.
- Selman, C., Tullet, J. M. A., Wieser, D., Irvine, E., Lingard, S. J., Choudhury, A. I., Claret, M., Al-Qassab, H., Carmignac, D., Ramadani, F., et al. (2009). Ribosomal protein S6 kinase 1 signaling regulates mammalian life span. *Science* 326, 140–4.
- Seydoux, G., et Schedl, T. (2001). The germline in *C. elegans*: origins, proliferation, and silencing. *Int Rev Cytol* 203, 139–85.
- Sharrock, W. J. (1983). Yolk proteins of *Caenorhabditis elegans*. *Dev Biol* 96, 182–8.
- Smith, E. D., Kaeberlein, T. L., Lydum, B. T., Sager, J., Welton, K. L., Kennedy, B. K., et Kaeberlein, M. (2008). Age- and calorie-independent life span extension from dietary restriction by bacterial deprivation in *Caenorhabditis elegans*. *BMC Developmental Biology* 8, 49.
- Socha, R.r., _ula, J., Kodrık, D., and Gelbi_, I. (1991). Hormonal control of vitellogenin synthesis in *Pyrrhocoris apterus* (L.) (Heteroptera). *J. Insect. Physiol.* 37, 805-816.
- Spieth, J., Nettleton, M., Zucker-Aprison, E., Lea, K., et Blumenthal, T. (1991). Vitellogenin motifs conserved in nematodes and vertebrates. *J Mol Evol* 32, 429–38.
- Steinkraus, K. A., Smith, E. D., Davis, C., Carr, D., Pendergrass, W. R., Sutphin, G. L., Kennedy, B. K., et Kaeberlein, M. (2008). Dietary restriction suppresses proteotoxicity and enhances longevity by an hsf-1-dependent mechanism in *Caenorhabditis elegans*. *Aging Cell* 7, 394–404.
- Stotsenburg, J.M. (1913). The effect of spaying and semi-spaying young albino rats (*Mus norvegicus albinus*) on the growth in body weight and body length. *Anat. Rec.* 7, 183-194.
- Strong, L. (1967). Feeding activity, sexual maturation, hormones, and water balance in the female African migratory locust. *J. Insect. Physiol.* 13, 495-507.
- Sullivan, E.L., Daniels, A.J., Koegler, F.H., and Cameron, J.L. (2005). Evidence in Female Rhesus Monkeys (*Macaca mulatta*) that Nighttime Caloric Intake is not Associated with Weight Gain. *Obesity* 13, 2072-2080.
- Sulston, J. E., et Horvitz, H. R. (1977). Post-embryonic cell lineages of the nematode, *Caenorhabditis elegans*. *Developmental Biology* 56, 110–56.
- Sze, J.Y., Victor, M., Loer, C., Shi, Y., and Ruvkun, G. (2000). Food and metabolic signalling defects in a *Caenorhabditis elegans* serotonin-synthesis mutant. *Nature* 403, 560–564.

- Tan KT, Luo SC, Ho WZ, Lee YH (2011). Insulin/IGF-1 receptor signaling enhances biosynthetic activity and fat mobilization in the initial phase of starvation in adult male *C.elegans*. *Cell Metab.* 14(3):390-402.
- Tatar, M., Kopelman, A., Epstein, D., Tu, M. P., Yin, C. M., et Garofalo, R. S. (2001). A mutant *Drosophila* insulin receptor homolog that extends life-span and impairs neuroendocrine function. *Science* 292, 107–10.
- Timmons, L., Court, D. L., et Fire, A. (2001). Ingestion of bacterially expressed dsRNAs can produce specific and potent genetic interference in *Caenorhabditis elegans*. *Gene* 263, 103–12.
- Timmons, L., et Fire, A. (1998). Specific interference by ingested dsRNA. *Nature* 395, 854.
- Thomsen, E., and Hamburger, K. (1955). Oxygen Consumption of Castrated Females of the Blow- Fly, *Calliphora Erythrocephala* Meig. *J. Exp. Biol.* 32, 692-699.
- Tullet, J. M. A., Hertweck, M., An, J. H., Baker, J., Hwang, J. Y., Liu, S., Oliveira, R. P., Baumeister, R., et Blackwell, T. K. (2008). Direct inhibition of the longevity-promoting factor SKN-1 by insulin-like signaling in *C. elegans*. *Cell* 132, 1025–38.
- Van Gilst, M.R., Hadjivassiliou, H., and Yamamoto, K.R. (2005). A *Caenorhabditis elegans* nutrient response system partially dependent on nuclear receptor NHR-49. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 102, 13496–13501
- Vellai, T., Takacs-Vellai, K., Zhang, Y., Kovacs, A. L., Orosz, L., et Müller, F. (2003). Genetics: influence of TOR kinase on lifespan in *C. elegans*. *Nature* 426, 620.
- Walker, G., Houthoofd, K., Vanfleteren, J. R., et Gems, D. (2005). Dietary restriction in *C. elegans*: from rate-of-living effects to nutrient sensing pathways. *Mech Ageing Dev* 126, 929–37.
- Walter, L., Baruah, A., Chang, H. W., Pace, HM., Lee, S. S. (2011). The homeobox protein CEH-23 mediates prolonged longevity in response to impaired mitochondrial electron transport chain in *C. elegans*. *Plos Biology* (6):e1001084
- Wang, D., Malo, D., et Hekimi, S. (2010). Elevated mitochondrial reactive oxygen species generation affects the immune response via hypoxia-inducible factor-1alpha in long-lived *Mcl1*^{+/-} mouse mutants. *The Journal of Immunology* 184, 582–90.
- Wang, J., and Kim, S.K. (2003). Global analysis of dauer gene expression in *Caenorhabditis elegans*. *Development* 130, 1621–1634.
- Wang, M. C., O'Rourke, E. J., et Ruvkun, G. (2008). Fat metabolism links germline stem cells and longevity in *C. elegans*. *Science* 322, 957–60.
- Watkins PA, Maignel D, Jia Z, Pevsner J. Evidence for 26 distinct acyl-coenzyme A synthase genes in the human genome. *J Lipid Res.* 48(12):2736-50.
- Watts JL, Browse J (2000). A palmitoyl-CoA-specific delta 9 fatty acid desaturase from *Caenorhabditis elegans*. *Biochem Biophys Res Commun.* 272(1):263-9.
- Watts, J.L., and Browse, J. (2002). Genetic dissection of polyunsaturated fatty acid synthesis in *Caenorhabditis elegans*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 99, 5854–5859.
- Wilson, J.D., and Roehrborn, C. (1999). Long-term consequences of castration in men: lessons from the Skoptzy and the eunuchs of the Chinese and Ottoman courts. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 84, 4324-4331.
- Winston, W. M., Molodowitch, C., et Hunter, C. P. (2002). Systemic RNAi in *C. elegans*

- requires the putative transmembrane protein SID-1. *Science* 295, 2456–9.
- Wolff, S., Ma, H., Burch, D., Maciel, G. A., Hunter, T., et Dillin, A. (2006). SMK-1, an essential regulator of DAF-16-mediated longevity. *Cell* 124, 1039–53.
- Wong, A., Boutis, P., et Hekimi, S. (1995). Mutations in the *clk-1* gene of *Caenorhabditis elegans* affect developmental and behavioral timing. *Genetics* 139, 1247–59.
- Yang, F., Vought, B.W., Satterlee, J.S., Walker, A.K., Jim Sun, Z.Y., Watts, J.L., DeBeaumont, R., Saito, R.M., Hyberts, S.G., Yang, S., et al. (2006). An ARC/Mediator subunit required for SREBP control of cholesterol and lipid homeostasis. *Nature* 442, 700–704.
- Yamawaki, T. M., Arantes-Oliveira, N., Berman, J. R., Zhang, P., et Kenyon, C. (2008). Distinct activities of the germline and somatic reproductive tissues in the regulation of *Caenorhabditis elegans*' longevity. *Genetics* 178, 513–26.
- Yamawaki, T. M., Berman, J. R., Suchanek-Kavipurapu, M., McCormick, M., Gaglia, M. M., Lee, S.-J., et Kenyon, C. (2010). The somatic reproductive tissues of *c. elegans* promote longevity through steroid hormone signaling. *PLoS Biol* 8.
- Yen K, Le TT, Bansal A, Narasimhan SD, Cheng JX, Tissenbaum HA. (2010). A comparative study of fat storage quantitation in nematode *Caenorhabditis elegans* using label-free methods. *PLoS One*.5(9). pii: e12810.
- Zhang, L., Ge, L., Parimoo, S., Stenn, K., et Prouty, S. M. (1999). Human stearoyl-CoA desaturase: alternative transcripts generated from a single gene by usage of tandem polyadenylation sites. *Biochem J* 340 (Pt 1), 255–64.
- Zimmermann R, Strauss JG, Haemmerle G, Schoiswohl G, Birner-Gruenberger R, Riederer M, Lass A, Neuberger G, Eisenhaber F, Hermetter A, Zechner R. (2004). Fat mobilization in adipose tissue is promoted by adipose triglyceride lipase. *Science*. 306(5700):1383-6