



神经元轴突线粒体长距离转运的力生物学*

赵虎成** 孙艳丽 钱舒乐 冯西桥**

(清华大学航天航空学院工程力学系生物力学与医学工程研究所, 北京 100084)

摘要 作为极性细胞, 神经元由胞体、网状的树突和细长并具有分支的轴突构成。完成分化的神经元在脊椎动物的整个生命周期中要保持正常的生理功能, 需要大量的能量来维持静息电位与突触传递。神经元主要依赖于线粒体氧化磷酸化产生的 ATP 提供能量。神经元通过长距离运输与锚定将健康的线粒体运送并富集到轴突分支突触前末梢等能量消耗较大的区域, 同时将轴突末梢老化或受损的线粒体反向转运到胞体进行清除。本文结合作者自己的研究从力学的观点, 论述在驱动力作用下线粒体是如何克服阻力在轴突进行长距离运输。综述内容包括微管的极性、微管马达蛋白、线粒体衔接蛋白复合物、线粒体与锚定蛋白相互作用、细胞内阻力、线粒体与内质网的相互作用、线粒体生成、裂变、融合、分裂、质量控制等方面。这些新颖的观点将为认识由线粒体运输障碍引起的神经系统疾病提供重要的参考。

关键词 线粒体转运, 轴突, 驱动力, 锚定

中图分类号 Q66, R318.01

DOI: 10.16476/j.pibb.2024.0053

神经元具有形态复杂、生命周期长、高耗能的特点^[1]。神经元所需的能量主要通过其中的线粒体氧化磷酸化产生 ATP 来提供^[2]。神经元的不同部位、不同的活动状态和不同生命阶段都需要线粒体合理的时空分布, 确保代谢活跃的区域得到充足的 ATP。突触被认为是神经元主要的能量消耗位点, 线粒体要从神经元胞体运输到最长可达 1 m 以上的轴突末梢并准确地到达突触部位, 以保证突触活动时提供能量^[3]。神经元具有一套动态变化的线粒体网络, 为神经元突触活动提供终身所需的能量^[4]。线粒体网络处于持续不断的重构与重建中, 其半衰期为 30 d, 仅为人类神经元寿命很短暂的一部分^[5]。线粒体在神经元中的活动表现为: 线粒体生成 (biogenesis)、融合与分裂 (fission and fusion)、质量控制 (quality control)、运输与锚定^[6]。这些过程保证线粒体的健康与稳定并达到在神经元不同部位分布的动态平衡。损伤的线粒体发生自噬后必须伴随有新的线粒体生成, 以达到线粒体数量与体积的恒定。线粒体的分裂与融合必须达到动态平衡, 以维持线粒体的形态稳定。线粒体正向与反向运输必须平衡, 来保持线粒体在细胞质中的最佳分布以维持细胞的正常功能^[7-8]。神经元线粒体是如何精确实现这些过程的时空平衡, 线粒

体的动态过程如何被突触活动所调控? 这些均是目前本领域研究的热点。本文重点从力学的角度综述神经元线粒体运输和动态过程的精确调控机制。

1 线粒体马达是一个动态复杂的力学系统

在神经元轴突中, 线粒体在驱动蛋白 (kinesin) 介导下沿着微管由胞体向轴突末端进行正向转运, 动力蛋白 (dynein) 则驱动线粒体沿着微管从轴突末梢向胞体反向运输^[9]。在培养的神经元中, 约 30% 的线粒体处于运动状态, 其中正向与反向运输的线粒体数目接近平衡, 保持静止的线粒体约占 70%^[10-11]。静止的线粒体充当局部能量工厂, 产生 ATP 以维持突触的功能。运动和静止的线粒体之间也是处于动态平衡中, 以对轴突和突触生理变化而做出快速响应。线粒体运动与静止的平衡以及沿神经元轴突的正反向运输, 本质上是一个力学问题。它们是一系列马达蛋白 (驱动蛋白、

* 国家自然科学基金 (12072176, 12211530450, 12032014, 11921002) 资助项目。

** 通讯联系人。

赵虎成 Tel: 18710004946, E-mail: zhaohc@mail.tsinghua.edu.cn

冯西桥 Tel: 010-62782934, E-mail: fengxq@mail.tsinghua.edu.cn

收稿日期: 2024-02-11, 接受日期: 2024-04-08

动力蛋白)、锚定蛋白和衔接蛋白响应上游信号、协同作用的结果(图1)^[12]。线粒体运动模式、运动速度、运动方向的变化、静止等是由微管的极性、微管马达蛋白、衔接蛋白质复合物、锚定蛋白质相互作用的合力决定(图1)^[12]。驱动蛋白是由两条轻链(KLC)和两条重链(KHC)构成的异源四聚体,KLC有助于其与线粒体连接。KHC则通过结合和水解ATP提供动力,驱动线粒体沿着微管向轴突末梢转运^[13]。动力蛋白是由多条多肽链组成的复合物,通常需要与动力蛋白激活蛋白(dynactin)结合形成dynein-dynactin复合体,进而与线粒体结合并使其由轴突末梢向胞体转运^[14]。线粒体在轴突中转运需要多个马达协同作用来提供驱动力,这样可以明显地提高运输效率。原因在于:a.多个马达可以产生更大的驱动力,以便线粒体在细胞质这样黏稠的环境中克服阻力快速地到达轴突末梢或者反向运输到胞体($>0.5\text{ }\mu\text{m/s}$)^[15];b.由于细胞内的热运动,单个马达很容易使线粒体从微管上脱离,造成轴突内的阻塞;c.多个马达共同参与输运时,马达同时从轨道上脱离的几率较小,这样线粒体的前进距离就会更远,不易在轴突内造成阻塞^[16]。理论分析表明,单一马达输运物质的距离通常在 $1\text{ }\mu\text{m}$ 左右^[17],而多马达输运的距离最长可达 1 m 以上^[18]。已有的实验证实,每个脑组织线粒体有超过100个马达蛋白与其相互作用,这些马达分子组合形成了一个动态的力学系统。在这个力学系统中,线粒体的运动速度取决于与其连接激活的动力蛋白和驱动蛋白分子的相对数量,以及胞内直接的阻力和细胞内热运动的影响^[19]。线粒体所受的阻力包括:锚定蛋白的固定作用、栓系物的牵拉作用、非特异黏性阻力^[20-21]。在外力与线粒体运动方向相反时,随着外力(阻碍力)的增大线粒体的运行距离呈指数型减小;在外力与线粒体运动方向相同时,即使很小的同向物理干扰(热运动)也会显著增加线粒体的运行距离。当线粒体所受的阻力大于正反方向驱动的合力时,线粒体会聚集在某一部位。当驱动合力大于运动阻力时,线粒体将沿着合力的方向运动,运动速度大小与合力的大小呈正比(图1)。由微管作为轨道,马达蛋白作为驱动力,使线粒体在轴突内的运动速度至少是物质扩散速度的5倍以上。最新的研究还发现,轴突膜具有弹性,当大于自身直径的线粒体在其中转运时轴突会膨大,进而降低对线粒体转运的阻力^[22]。总的来说,线粒体在轴突的动态分布

取决于不同时间和空间状态下作用于线粒体上力的平衡。

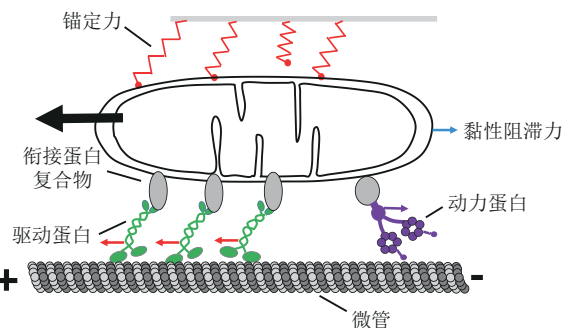


Fig. 1 The combined force of driving force and resistance determines the movement and rest of mitochondria

图1 驱动力与阻力的合力决定线粒体的运动与静止

2 线粒体在轴突和树突中的正反向转运

线粒体密集分布于轴突和树突内,在这两种神经元亚细胞区域的正向和反向运输大致处于平衡^[10, 23]。线粒体的运动方向取决于3个参数:微管取向,附着于线粒体的驱动蛋白和动力蛋白分子的相对数量,以及线粒体与马达的衔接和马达与微管的结合程度^[10]。

2.1 微管取向

神经元中的微管是异质性的,微管的稳定性和取向、微管蛋白亚型和翻译后修饰在轴突和树突之间都是不同的。不同取向的微管具有精确的空间分布,远离或朝向胞体的分别为正端或负端,对正向和反向运输具有重要意义。轴突和树突的微管取向分布不同。在轴突中,微管的取向是接近一致的,即正端向轴突方向^[24]。在树突中,微管趋于多元化取向,且与微管和胞体的距离相关。在靠近胞体端的树突中,大约一半的微管是正端向树突末梢取向,而在远离胞体的树突中超过90%的微管是正端向树突末梢取向^[24]。因此,在轴突中,驱动蛋白沿着微管正向运输的线粒体必须与动力蛋白驱动

2.2 驱动蛋白和动力蛋白

的线粒体逆行运输相平衡。相反,在具有微管混合取向的树突中,驱动蛋白或动力蛋白都可以驱动线粒体顺行和逆行,动力蛋白介导的线粒体运输在树突中占主导^[25]。

细胞中的物质运输不是只依赖于一种类型的分子马达来完成,需要不同种类的分子马达来共同完成运输。许多实验结果显示,不同种类的分子马达

可以同时输运同一物质^[16]。例如,多个驱动蛋白和多个动力蛋白可以沿微管的不同方向共同输运线粒体,同一线粒体被驱动蛋白和动力蛋白马达以双向方式运输。由于线粒体在持续运输过程中会突然停止或改变方向,因此人们提出了两种模型来解释其双向运输:调节转换模型和拔河模型。在调节转换模型中,驱动蛋白和动力蛋白马达的活性被调节以确保在任何时候只有一种类型马达是有活性的^[10]。在拔河模型中,两种类型的马达都具有活性并产生相反方向的力,使得一种类型马达获胜,以确保线粒体向获胜的马达驱动力方向输运^[23]。

2.3 线粒体衔接蛋白

Syntabulin、Milton、Miro等衔接蛋白通过将马达蛋白衔接在线粒体外膜上线粒体运输。Syntabulin作为外膜结合蛋白,可与驱动蛋白形成复合体,在线粒体正向转运中发挥关键作用。Miro是一种线粒体外膜蛋白,与Milton结合后与马达蛋白连接^[25-26]。敲除Miro可削弱轴突中动力蛋白依赖的反向运输与驱动蛋白依赖的正向运输^[26-27]。在果蝇中,Milton的敲除和过表达可选择性减弱驱动蛋白或动力蛋白介导的货物转运,进而降低了正向和反向线粒体运输的有效性。哺乳动物中Milton有两种同源物:TRAK1和TRAK2。TRAK1和TRAK2可以结合动力蛋白(dynactin的p150 glue亚基)和驱动蛋白^[25]。TRAK1主要定位于轴突,与动力蛋白或者驱动蛋白结合,沿着极化的微管阵列进行双向运输。因此,在轴突中线粒体的反向和正向运输平衡依赖于线粒体与动力蛋白或驱动蛋白之间对相同衔接蛋白的随机结合。在树突中,正向和反向线粒体运输也依赖于Miro-Milton/TRAK复合体^[25, 28]。TRAK2主要定位于树突,优先结合动力蛋白,在混合取向的微管阵列上进行双向运输^[25]。因此,树突中线粒体的双向运输取决于TRAK2介导的动力蛋白与线粒体随机结合。驱动蛋白在树突的线粒体运输中也起着重要的作用,人为地应用抗体结合驱动蛋白后可以抑制树突线粒体的运动^[28]。其他树突货物的运输,如谷氨酸受体,已被证明依赖于近端树突的动力蛋白和远端树突的驱动蛋白2^[29]。Miro1和Miro2是Miro在哺乳动物中的两种直系同源物,Miro1-TRAK2衔接复合体是海马神经元线粒体运输的重要调节器^[30]。Miro1的表达升高可增加TRAK2和KIF5(驱动蛋白)结合,从而增加了线粒体的运动能力^[31]。轴突线粒体被外界刺激损伤后需要及时清除,应激的线粒体

中选择性释放线粒体衔接蛋白(syntaphilin)可增强其逆向转运,并激活PARK/Parkin介导的线粒体自噬^[32]。

2.4 微管与马达的衔接

在轴突的每个线粒体上都同时存在着驱动蛋白与动力蛋白,线粒体的运动方向与它们之间驱动力的平衡有关。此外,线粒体的转运速度与方向不仅取决于附着的驱动蛋白和动力蛋白分子的相对数量,还取决于马达蛋白与微管的结合程度^[19]。马达与微管的结合程度取决于微管相关蛋白(microtubule-associated proteins, MAPs)。MAPs存在于大多数哺乳动物细胞中,由多个调节微管动力学的蛋白质家族组成。MAPs可以分为:a.具有稳定微管结构的蛋白质^[33];b.驱动货物沿微管运动的蛋白质^[33];c.与微管的正或负末端结合以稳定微管的蛋白质^[34-36];d.具有解聚或裂解微管功能的蛋白质^[34, 37];e.促进微管合成的蛋白质^[38]。MAPs成员中MAP2、Tau、MAP7、DCX可以调节微管动力学、细胞器运输和轴突的发生。Tau和MAP4可以结合到微管原丝的顶部以稳定微管,而EB1和DCX结合在原丝之间并稳定外侧微管蛋白^[39]。马达蛋白和MAPs在发挥功能时会竞争微管表面的共同结合位点。除了包含驱动蛋白1相互作用结构域的MAP7外,所有MAPs都对驱动蛋白1具有抑制作用,MAPs对驱动蛋白3也有类似的抑制现象^[40-41]。尽管这些MAPs具有不同的电荷分布与长度,但他们都有一个共同的特点即抑制马达蛋白与微管结合。MAPs在神经元中具有不同的分布模式,这可能导致整个神经元中细胞器运输的调节上存在差异。除了MAPs与马达蛋白在结合位点上有重叠外,MAPs凝聚物还可能形成选择性屏障,阻碍特定马达进入微管。另外,微管的翻译后修饰被认为可以控制马达蛋白的速度和合成能力,轴突微管乙酰化的增加会促使马达蛋白向轴突迁移^[41]。这些修饰在多大程度上促成了线粒体转运还有许多不清楚的地方。

3 线粒体运动与静止状态之间的转换

一旦线粒体被转运到轴突和树突,在突触或其他能量需求高的亚细胞区域会通过减弱线粒体与衔接蛋白、微管的结合实现线粒体静止长达多天,以保证能量的共给。细胞质中钙离子在调控线粒体沿着轴突转运以及在特定区域富集起关键作用。有研究表明,神经递质介导的钙离子浓度升高可以通过

Miro-Ca²⁺感应途径特异性抑制线粒体的移动^[42]。钙离子主要通过改变衔接蛋白Miro的EF结构域而调控驱动蛋白1介导的正向转运。钙离子通过两种模式调控线粒体的转运: 一种为钙离子与Miro的EF结构域结合后介导KHC与Miro结合, 从而阻止KHC结合到微管, 但在线粒体表面保留了Miro-Milton-KHC复合物^[28]。另一种为钙离子结合Miro后介导的驱动蛋白与Miro-Milton复合体的解离, 使线粒体脱离了运动轨道, 从而抑制了线粒体轴突转运, 使其富集在高能量需求部位^[43]。此外, Miro能被损伤线粒体表面积累的丝氨酸/苏氨酸激酶PINK1磷酸化, 再由被PINK1招募并激活的泛素连接酶Parkin通过泛素化介导的蛋白酶体降解, 从而使线粒体与驱动蛋白1解离而停止运动^[44]。这一机制被认为有利于损伤线粒体, 从而使其被自噬体吞噬并清除。最近还有研究发现, 细胞外葡萄糖浓度升高可抑制线粒体的运动^[45]。氧连氮-乙酰葡萄糖胺(O-GlcNAc)转移酶可与Milton高亲和力结合^[46], 通过催化作用将糖基与Milton上的丝氨酸残基结合, 以阻止Milton与马达蛋白的结合^[45]。突触活动会增加质膜上葡萄糖转运蛋白的数量^[47]。因此, 可通过局部葡萄糖浓度升高促进Milton-O-GlcNAc酰化来抑制线粒体的运动以确保能量供应和需求。另外, 马达蛋白在遇到障碍物时会从微管上脱离不再重新附着到邻近的微丝上继续向前移动, 也可导致线粒体静止。

4 锚定作用阻碍马达驱动的线粒体运动

线粒体的运动或静止不仅取决于与其结合的功能马达蛋白的数量, 还取决于抵抗其运动的细胞内相互作用。线粒体和细胞骨架间的连接属于这类典型的相互作用。Syntaphilin是轴突中一种典型的微管与线粒体间的栓子, 其发挥功能需要有Ca²⁺存在^[10, 21]。Syntaphilin通过与线粒体外膜靶蛋白C端结构域结合来募集线粒体后与微管结合, 从而增加运动的抵抗力(图1)。此外, Syntaphilin还能结合驱动蛋白抑制其作为ATP酶的活性, 降低由ATP水解产生的能量^[10]。可见, Syntaphilin通过减少附着在特定线粒体上的激活的驱动蛋白数量, 来阻止线粒体的运动。

线粒体锚定在肌动蛋白纤维上也能抑制其运动。在轴突末梢与树突棘中均富含肌动蛋白, 锚定或通过肌球蛋白短距离转运也会影响线粒体沿微管的长距离转运^[48-50]。在体与培养的神经元中, 肌

动蛋白通过聚集促进因子WAVE1将线粒体募集到一小部分树突棘上^[51-52]。此外, 肌球蛋白XIX与线粒体的运动密切相关。在培养的神经元中, 肌球蛋白XIX过表达会降低线粒体运动性^[53], 这可能与肌球蛋白XIX影响肌动蛋白介导的线粒体的短程运输有关。相反, RNAi干扰肌动蛋白V或肌动蛋白VI会增加果蝇神经元轴突的线粒体运动速度和距离^[54], 这表明肌动蛋白V和肌动蛋白VI对线粒体沿微管转运施加了相反的力。总的来说, 肌动蛋白的运输和锚定对线粒体在整个神经元中的分布模式起重要作用。然而, 介导肌动蛋白、各种肌球蛋白和线粒体之间相互作用的精确分子机制尚未明确。神经元中的中间丝(神经丝)密集分布于轴突, 控制轴突直径^[55]。在轴突中, 线粒体可以与神经丝结合阻碍线粒体运动^[56]。敲除中间纤维蛋白可以改变线粒体的形态与在细胞中的分布。因此, 神经丝和线粒体之间的相互作用也可能阻碍线粒体运动。同肌动球蛋白对线粒体运输的影响一样, 控制线粒体和神经丝相互作用的分子机制及其对线粒体运动的影响也尚不完全明确。

5 线粒体与内质网的相互作用

细胞器间连接也可以阻碍线粒体的轴突运输。在出芽酵母中, 内质网-线粒体的连接对线粒体的定位起着重要作用, 而线粒体和内质网之间紧密的膜接触对神经元中的钙稳态也起重要的作用^[57]。在培养的细胞类型中线粒体外膜和内质网膜之间存在特殊的物理连接, 被称为线粒体-内质网偶联结构(mitochondria associated endoplasmic reticulum membranes, MAMs)^[58]。组成MAMs中, 线粒体融合蛋白2(mitofusin 2, Mfn2)、线粒体发动蛋白相关蛋白1(dynamin-related protein 1, Drp1)、线粒体移动相关蛋白等参与了线粒体形态的动态调节^[59]。Miro的酵母同源物Gem1已被证明与MAMs相关, 在培养的哺乳动物细胞中Miro与内质网线粒体接触位点也存在共定位^[60]。线粒体和内质网之间的密切接触允许两种细胞器一起运输。对成纤维细胞的实时成像发现, 线粒体和内质网沿着微管运输, 之间的连接无明显的中断^[61]。尽管尚未确定神经元中介导线粒体-内质网相互作用的分子机制, 考虑到神经元中线粒体-内质网接触的重要生理功能, 需要进一步研究介导内质网-线粒体连接的分子机制以及它们对两种细胞器在轴突内定位的作用。

6 线粒体在轴突中运输的黏性阻力

对马达驱动线粒体运输的阻抗除了来自特定的蛋白质-蛋白质相互结合,最近的研究发现,非特异性黏性摩擦可能对线粒体等直径较大的细胞器在轴突的运输也存在重大影响^[62]。胞质溶胶的黏度通常不足以阻止运输,但靠近轴突膜表面的流体不能流动,线粒体等大的细胞器由于与质膜表面的无滑移边界条件而具有更大的有效黏度^[62-64]。最近的模拟结果表明,由壁面效应而增加的黏性阻力很小(1 pN),但这个小的阻力足以使货物运输距离缩短一半^[62]。因此,栓系作用可能对线粒体的移动施加更大的负荷,在没有栓系的情况下黏性阻力可能会影响运动模式(图2)。由于黏滞阻力随货物尺寸的增大而增加,轴突中线粒体传输速度和运行距离与其直径呈负相关^[65]。此外,在大鼠海马锥体神经元树突中线粒体占据的树突体积分数随着树突直径的减小而增加,这与黏性阻力增加抑制运动并导致线粒体聚集的观点一致^[66]。神经元细胞的轴突和树突,在没有特定栓系作用时也存在对线粒体运动的物理限制。目前,需要进一步确定黏滞力与特定栓系作用在多大程度上抑制神经元不同亚细胞区域线粒体的运动。

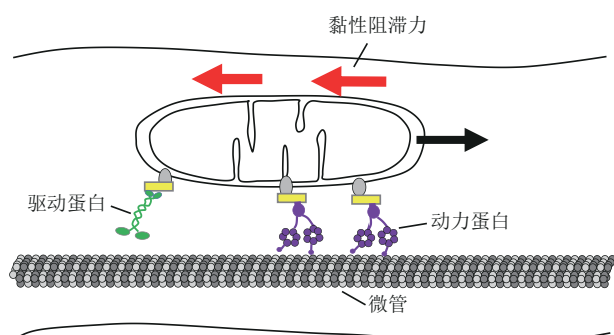


Fig. 2 Viscous drag during mitochondrial transport

图2 线粒体转运过程中的黏性阻力

7 线粒体生成、裂变、融合、分裂、质量控制

除了沿着细胞骨架移动外,线粒体生成、分裂、融合,并以特定的方式翻转不仅影响线粒体的形态与数量,同时调控其功能与定位。这对于维持线粒体的生理功能和合理的分布至关重要。对控制这些过程的分子和生物物理机制已经有比较深入的认识^[67-69]。线粒体生成、裂变、融合或线粒体自噬异常会引发神经退行性疾病。神经元中线粒体生

成、分裂、融合、自噬这些过程的时空调控机制非常精巧,其发生的位置和时间与神经元的能量需求相适应。线粒体分裂和融合发生在整个神经元中^[7]。轴突线粒体长度与树突线粒体长度存在着巨大的差异,这表明线粒体分裂和融合之间的平衡在两个亚细胞区域之间可能存在差异^[70]。神经元中线粒体裂变和融合速率的测定方法尚未建立,也不清楚在细胞的不同部位是如何被调控的。线粒体生成和自噬主要发生在神经元胞体,也有一些证据显示它们可发生在轴突的远端^[71]。此外,线粒体分裂与线粒体自噬密切相关。线粒体过度分裂可激活线粒体自噬,通过清除受损的线粒体发挥神经保护功能。相比于线粒体的数量,线粒体的质量对于神经元的存活更为重要,线粒体的自噬尽管减少了线粒体的数量却提高了其质量。最近的研究表明,神经元线粒体的降解甚至可能在体内以细胞非自主的方式发生,可由星形胶质细胞介导^[72-73]。线粒体生成和更新的位置对其具有重要意义,例如,如果两者都主要发生在胞体,那么运动机制是如何调节的,从而使旧的或受损的线粒体优先进行反向运输,而新的线粒体则进行正向运输?如果线粒体自噬发生在轴突的远端或以跨细胞方式发生,相对于逆行运输,如何增加正向运输以补偿线粒体数量的局部减少?细胞中线粒体的总体积取决于生成与自噬的速度,神经元是如何协调和控制线粒体的生成与自噬还需要进一步研究。

8 总结与展望

许多神经退行性疾病,例如阿尔茨海默病、帕金森病、亨廷顿病都与神经元长突起的肿胀有关,肿胀部位积累了大量的线粒体^[74]。轴突线粒体转运是维持神经元突触传递的能量保证。轴突中实际上含有多种活性分子,它们的相互作用对线粒体整体的力学环境和动力学特征至关重要。因此,要全面、系统地了解神经元中线粒体转运的调控机制,需要进一步深入了解马达蛋白、线粒体锚定蛋白和衔接蛋白响应上游信号,协同作用的分子机制。另外,还需要进一步了解线粒体转运的阻抗因素。除了一些蛋白质栓子和机械阻抗外,还需要揭示线粒体运动在空间和时间上是如何调节的以及如何响应生理活动模式、衰老、疾病,线粒体运动如何与控制线粒体分布、生成、裂变、融合以及线粒体自噬相协调。最新建立的单分子技术与在体研究的进展将为认识这些过程提供新的途径。

参 考 文 献

- [1] Pache A, van Rossum M C W. Energetically efficient learning in neuronal networks. *Curr Opin Neurobiol*, 2023, **83**: 102779
- [2] Hall C N, Klein-Flügge M C, Howarth C, *et al.* Oxidative phosphorylation, not glycolysis, powers presynaptic and postsynaptic mechanisms underlying brain information processing. *J Neurosci*, 2012, **32**(26): 8940-8951
- [3] Sun T, Qiao H, Pan P Y, *et al.* Motile axonal mitochondria contribute to the variability of presynaptic strength. *Cell Rep*, 2013, **4**(3): 413-419
- [4] Casanova A, Wevers A, Navarro-Ledesma S, *et al.* Mitochondria: it is all about energy. *Front Physiol*, 2023, **14**: 1114231
- [5] Menzies R A, Gold P H. The turnover of mitochondria in a variety of tissues of young adult and aged rats. *J Biol Chem*, 1971, **246**(8): 2425-2429
- [6] Schwarz T L. Mitochondrial trafficking in neurons. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2013, **5**(6): a011304
- [7] Amiri M, Hollenbeck P J. Mitochondrial biogenesis in the axons of vertebrate peripheral neurons. *Dev Neurobiol*, 2008, **68**(11): 1348-1361
- [8] Ashrafi G, Schlehe J S, LaVoie M J, *et al.* Mitophagy of damaged mitochondria occurs locally in distal neuronal axons and requires PINK1 and Parkin. *J Cell Biol*, 2014, **206**(5): 655-670
- [9] Pilling A D, Horiuchi D, Lively C M, *et al.* Kinesin-1 and Dynein are the primary motors for fast transport of mitochondria in *Drosophila* motor axons. *Mol Biol Cell*, 2006, **17**(4): 2057-2068
- [10] Chen Y, Sheng Z H. Kinesin-1-syntrophin coupling mediates activity-dependent regulation of axonal mitochondrial transport. *J Cell Biol*, 2013, **202**(2): 351-364
- [11] Duarte F V, Ciampi D, Duarte C B. Mitochondria as central hubs in synaptic modulation. *Cell Mol Life Sci*, 2023, **80**(6): 173
- [12] van Bergeijk P, Adrian M, Hoogenraad C C, *et al.* Optogenetic control of organelle transport and positioning. *Nature*, 2015, **518**(7537): 111-114
- [13] Wirth J O, Scheiderer L, Engelhardt T, *et al.* MINFLUX dissects the unimpeded walking of kinesin-1. *Science*, 2023, **379**(6636): 1004-1010
- [14] Rangan K J, Reck-Peterson S L. RNA recoding in cephalopods tailors microtubule motor protein function. *Cell*, 2023, **186**(12): 2531-2543.e11
- [15] Hill D B, Plaza M J, Bonin K, *et al.* Fast vesicle transport in PC12 neurites: velocities and forces. *Eur Biophys J*, 2004, **33**(7): 623-632
- [16] Liang W H, Li Q, Rifat Faysal K M, *et al.* Microtubule defects influence kinesin-based transport *in vitro*. *Biophys J*, 2016, **110**(10): 2229-2240
- [17] Carter N J, Cross R A. Mechanics of the kinesin step. *Nature*, 2005, **435**(7040): 308-312
- [18] Svoboda K, Block S M. Force and velocity measured for single kinesin molecules. *Cell*, 1994, **77**(5): 773-784
- [19] Gross S P, Vershinin M, Shubeita G T. Cargo transport: two motors are sometimes better than one. *Curr Biol*, 2007, **17**(12): R478-R486
- [20] Derr N D, Goodman B S, Jungmann R, *et al.* Tug-of-war in motor protein ensembles revealed with a programmable DNA origami scaffold. *Science*, 2012, **338**(6107): 662-665
- [21] Kang J S, Tian J H, Pan P Y, *et al.* Docking of axonal mitochondria by syntrophin controls their mobility and affects short-term facilitation. *Cell*, 2008, **132**(1): 137-148
- [22] Rahman N, Oelz D B. A mathematical model for axonal transport of large cargo vesicles. *J Math Biol*, 2023, **88**(1): 1
- [23] Ligon L A, Steward O. Movement of mitochondria in the axons and dendrites of cultured hippocampal neurons. *J Comp Neurol*, 2000, **427**(3): 340-350
- [24] Baas P W, Deitch J S, Black M M, *et al.* Polarity orientation of microtubules in hippocampal neurons: uniformity in the axon and nonuniformity in the dendrite. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1988, **85**(21): 8335-8339
- [25] van Spronsen M, Mikhaylova M, Lipka J, *et al.* TRAK/Milton motor-adaptor proteins steer mitochondrial trafficking to axons and dendrites. *Neuron*, 2013, **77**(3): 485-502
- [26] Glater E E, Megeath L J, Stowers R S, *et al.* Axonal transport of mitochondria requires Milton to recruit kinesin heavy chain and is light chain independent. *J Cell Biol*, 2006, **173**(4): 545-557
- [27] Russo G J, Louie K, Wellington A, *et al.* *Drosophila* Miro is required for both anterograde and retrograde axonal mitochondrial transport. *J Neurosci*, 2009, **29**(17): 5443-5455
- [28] MacAskill A F, Rinholm J E, Twelvetrees A E, *et al.* Miro1 is a calcium sensor for glutamate receptor-dependent localization of mitochondria at synapses. *Neuron*, 2009, **61**(4): 541-555
- [29] Kapitein L C, Schlager M A, Kuijpers M, *et al.* Mixed microtubules steer dynein-driven cargo transport into dendrites. *Curr Biol*, 2010, **20**(4): 290-299
- [30] Vale R D. The molecular motor toolbox for intracellular transport. *Cell*, 2003, **112**(4): 467-480
- [31] Guo X, MacLeod G T, Wellington A, *et al.* The GTPase dMiro is required for axonal transport of mitochondria to *Drosophila* synapses. *Neuron*, 2005, **47**(3): 379-393
- [32] Ohno N, Hao C, Mahad D J, *et al.* Mitochondrial immobilization mediated by syntrophin facilitates survival of demyelinated axons. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2014, **111**(27): 9953-9958
- [33] Bodakuntla S, Jijumon A S, Villablanca C, *et al.* Microtubule-associated proteins: structuring the cytoskeleton. *Trends Cell Biol*, 2019, **29**(10): 804-819
- [34] Bhabha G, Johnson G T, Schroeder C M, *et al.* How dynein moves along microtubules. *Trends Biochem Sci*, 2016, **41**(1): 94-105
- [35] Akhmanova A, Steinmetz M O. Control of microtubule organization and dynamics: two ends in the limelight. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2015, **16**: 711-726
- [36] Mao B P, Ge R, Cheng C Y. Role of microtubule +TIPs and -TIPs in spermatogenesis-insights from studies of toxicant models. *Reprod Toxicol*, 2020, **91**: 43-52
- [37] McNally F J, Roll-Mecak A. Microtubule-severing enzymes: from cellular functions to molecular mechanism. *J Cell Biol*, 2018, **217**(12): 4057-4069
- [38] Roostalu J, Surrey T. Microtubule nucleation: beyond the template. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2017, **18**(11): 702-710

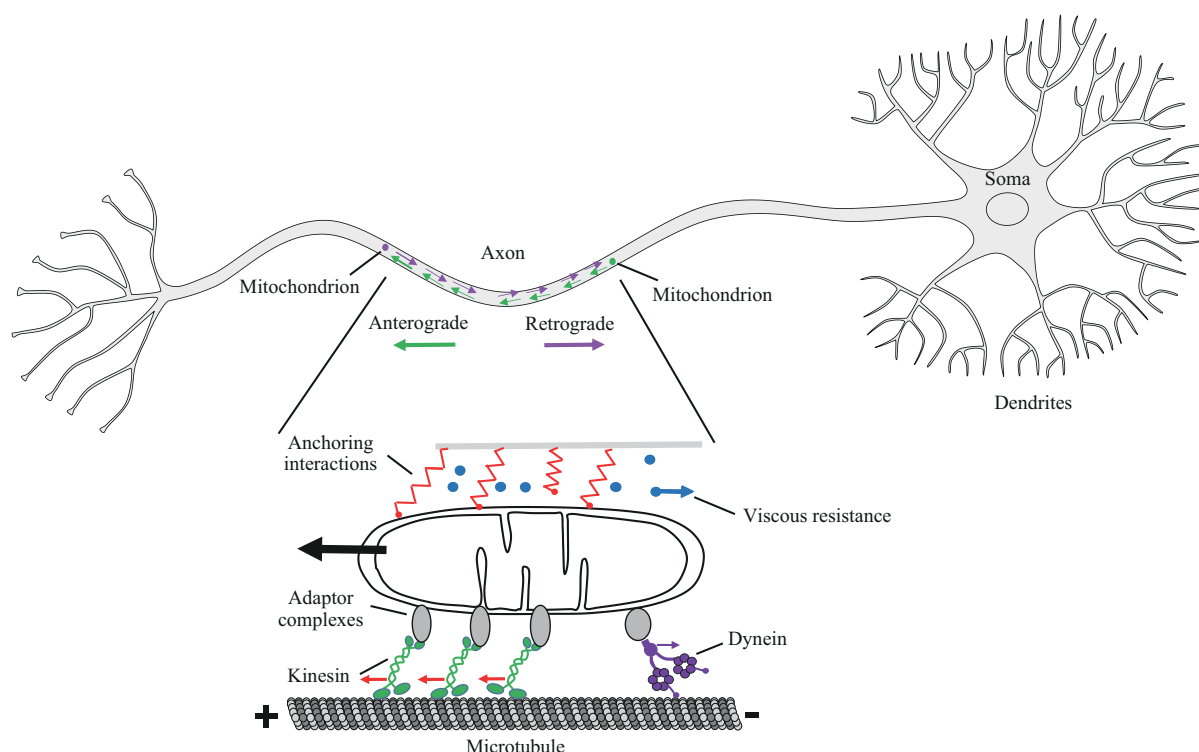
- [39] Manka S W, Moores C A. Pseudo-repeats in doublecortin make distinct mechanistic contributions to microtubule regulation. *EMBO Rep*, 2020, **21**(12): e51534
- [40] Luo Y, Xiang S, Hooikaas P J, *et al.* Direct observation of dynamic protein interactions involving human microtubules using solid-state NMR spectroscopy. *Nat Commun*, 2020, **11**(1): 18
- [41] Sirajuddin M, Rice L M, Vale R D. Regulation of microtubule motors by tubulin isotypes and post-translational modifications. *Nat Cell Biol*, 2014, **16**(4): 335-344
- [42] Sheng Z H. Mitochondrial trafficking and anchoring in neurons: new insight and implications. *J Cell Biol*, 2014, **204**(7): 1087-1098
- [43] Wang H, Lim P J, Karbowski M, *et al.* Effects of overexpression of huntingtin proteins on mitochondrial integrity. *Hum Mol Genet*, 2009, **18**(4): 737-752
- [44] Wang X, Winter D, Ashrafi G, *et al.* PINK1 and Parkin target Miro for phosphorylation and degradation to arrest mitochondrial motility. *Cell*, 2011, **147**(4): 893-906
- [45] Pekkurnaz G, Trinidad J C, Wang X, *et al.* Glucose regulates mitochondrial motility via Milton modification by O-GlcNAc transferase. *Cell*, 2014, **158**(1): 54-68
- [46] Iyer S P N, Hart G W. Roles of the tetratricopeptide repeat domain in O-GlcNAc transferase targeting and protein substrate specificity. *J Biol Chem*, 2003, **278**(27): 24608-24616
- [47] Weisová P, Concannon C G, Devocelle M, *et al.* Regulation of glucose transporter 3 surface expression by the AMP-activated protein kinase mediates tolerance to glutamate excitation in neurons. *J Neurosci*, 2009, **29**(9): 2997-3008
- [48] Hotulainen P, Hoogenraad C C. Actin in dendritic spines: connecting dynamics to function. *J Cell Biol*, 2010, **189**(4): 619-629
- [49] Kevenaar J T, Hoogenraad C C. The axonal cytoskeleton: from organization to function. *Front Mol Neurosci*, 2015, **8**: 44
- [50] Hammer J A, Sellers J R. Walking to work: roles for class V myosins as cargo transporters. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2011, **13**(1): 13-26
- [51] Li Z, Okamoto K I, Hayashi Y, *et al.* The importance of dendritic mitochondria in the morphogenesis and plasticity of spines and synapses. *Cell*, 2004, **119**(6): 873-887
- [52] Sung J Y, Engmann O, Teylan M A, *et al.* WAVE1 controls neuronal activity-induced mitochondrial distribution in dendritic spines. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, **105**(8): 3112-3116
- [53] Quintero O A, DiVito M M, Adikes R C, *et al.* Human Myo19 is a novel myosin that associates with mitochondria. *Curr Biol*, 2009, **19**(23): 2008-2013
- [54] Wu Y H, Ren, X Y, Shi P, *et al.* Regulation of mitochondrial structure by the actin cytoskeleton. *Cytoskeleton*, 2023, **81**(4-5): 206-214
- [55] Yuan A, Rao M V, Veeranna, *et al.* Neurofilaments at a glance. *J Cell Sci*, 2012, **125**(pt 14): 3257-3263
- [56] Nekrasova O E, Mendez M G, Chernov Ivanenko I S, *et al.* Vimentin intermediate filaments modulate the motility of mitochondria. *MBoC*, 2011, **22**(13): 2282-2289
- [57] Lackner L L, Ping H, Graef M, *et al.* Endoplasmic reticulum-associated mitochondria-cortex tether functions in the distribution and inheritance of mitochondria. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, **110**(6): E458-E467
- [58] Bassot A, Chen J, Takahashi-Yamashiro K, *et al.* The endoplasmic reticulum kinase PERK interacts with the oxidoreductase ERO1 to metabolically adapt mitochondria. *Cell Rep*, 2023, **42**(1): 111899
- [59] Yepuri G, Ramirez L M, Theophall G G, *et al.* DIAPH1-MFN2 interaction regulates mitochondria-SR/ER contact and modulates ischemic/hypoxic stress. *Nat Commun*, 2023, **14**(1): 6900
- [60] Kornmann B, Osman C, Walter P. The conserved GTPase Gem1 regulates endoplasmic reticulum-mitochondria connections. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, **108**(34): 14151-14156
- [61] Friedman J R, Webster B M, Mastrorad D N, *et al.* ER sliding dynamics and ER-mitochondrial contacts occur on acetylated microtubules. *J Cell Biol*, 2010, **190**(3): 363-375
- [62] Wortman J C, Shrestha U M, Barry D M, *et al.* Axonal transport: how high microtubule density can compensate for boundary effects in small-caliber axons. *Biophys J*, 2014, **106**(4): 813-823
- [63] Shubeita G T, Tran S L, Xu J, *et al.* Consequences of motor copy number on the intracellular transport of kinesin-1-driven lipid droplets. *Cell*, 2008, **135**(6): 1098-1107
- [64] Pain J. An introduction to magneto fluid mechanics. *Nature*, 1967, **214**(5083):54
- [65] Narayanareddy B R J, Vartiainen S, Hariri N, *et al.* A biophysical analysis of mitochondrial movement: differences between transport in neuronal cell bodies versus processes. *Traffic*, 2014, **15**(7): 762-771
- [66] Nafstad P H, Blackstad T W. Distribution of mitochondria in pyramidal cells and boutons in hippocampal cortex. *Z Zellforsch Mikrosk Anat*, 1966, **73**(2): 234-245
- [67] Banerjee R, Mukherjee A, Nagotu S. Mitochondrial dynamics and its impact on human health and diseases: inside the DRP1 blackbox. *J Mol Med*, 2022, **100**(1): 1-21
- [68] Fontana F, Anselmi M, Limonta P. Unraveling the peculiar features of mitochondrial metabolism and dynamics in prostate cancer. *Cancers*, 2023, **15**(4): 1192
- [69] Coelho P, Fão L, Mota S, *et al.* Mitochondrial function and dynamics in neural stem cells and neurogenesis: implications for neurodegenerative diseases. *Ageing Res Rev*, 2022, **80**: 101667
- [70] Popov V, Medvedev N I, Davies H A, *et al.* Mitochondria form a filamentous reticular network in hippocampal dendrites but are present as discrete bodies in axons: a three-dimensional ultrastructural study. *J Comp Neurol*, 2005, **492**(1): 50-65
- [71] Yoon B C, Jung H, Dwivedy A, *et al.* Local translation of extranuclear lamin B promotes axon maintenance. *Cell*, 2012, **148**(4): 752-764
- [72] Rangaraju V, Calloway N, Ryan T A. Activity-driven local ATP synthesis is required for synaptic function. *Cell*, 2014, **156**(4): 825-835
- [73] Akter M, Hasan M, Ramkrishnan A S, *et al.* Astrocyte and L-lactate in the anterior cingulate cortex modulate schema memory and neuronal mitochondrial biogenesis. *Elife*, 2023, **12**: e85751
- [74] Shemesh O A, Erez H, Ginzburg I, *et al.* Tau-induced traffic jams reflect organelles accumulation at points of microtubule polar mismatching. *Traffic*, 2008, **9**(4): 458-471

Mechanobiology of Long-distance Mitochondria Transport in Neuronal Axon^{*}

ZHAO Hu-Cheng^{**}, SUN Yan-Li, QIAN Shu-Le, FENG Xi-Qiao^{**}

(Institute of Biomechanics and Medical Engineering, Department of Engineering Mechanics, School of Aerospace Engineering,
Tsinghua University, Beijing 100084, China)

Graphical abstract



Abstract As polar cells, neurons are composed of a cell body, dendritic networks, and long, branched axons. To maintain normal physiological functions throughout the lifespan of vertebrates, differentiated neurons require substantial energy to sustain resting potential and synaptic transmission. Neurons predominantly rely on ATP generated through mitochondrial oxidative phosphorylation for energy. They transport and accumulate healthy mitochondria to energy-demanding areas, such as the presynaptic terminals of axon branches, through long-distance transport and anchoring, while reversing the transport of aged or damaged mitochondria in the axon

^{*} This work was supported by grants from The National Natural Science Foundation of China (12072176, 12211530450, 12032014, 11921002).

^{**} Corresponding author.

ZHAO Hu-Cheng. Tel: 86-18710004946, E-mail: zhaohc@mail.tsinghua.edu.cn

FENG Xi-Qiao. Tel: 86-10-62782934, E-mail: fengxq@mail.tsinghua.edu.cn

Received: February 11, 2024 Accepted: April 8, 2024

terminals back to the soma for degradation. This article, integrating authors' research, discusses from a mechanical perspective how mitochondria overcome resistance to achieve long-distance transport along axons under the influence of driving forces. The review covers topics such as microtubule polarity, microtubule motor proteins, mitochondrial docking protein complexes, interactions between mitochondria and anchoring proteins, intracellular resistance, interactions between mitochondria and the endoplasmic reticulum, and aspects of mitochondrial biogenesis, fission, fusion, division, and quality control. These novel perspectives will provide important insights for understanding neurological diseases caused by mitochondrial transport dysfunctions.

Key words mitochondrial transport, axon, driving force, anchoring

DOI: 10.16476/j.pibb.2024.0053