

www.pibb.ac.cn

与神经退行性疾病相关的 RNA 结合蛋白 在线粒体损伤中的作用 *

朱 笠 1)** 邓健文 1,2) 王 鹏 1,2) 刘江红 1) Jane Y. Wu^{1,3)**}

 (¹⁾中国科学院生物物理研究所,脑与认知科学国家重点实验室,北京 100101; ²⁾中国科学院大学,北京 100049;
 ³⁾ Department of Neurology, Center for Genetic Medicine, Lurie Cancer Center, Northwestern University Feinberg School of Medicine, Chicago, IL 60611, USA)

摘要 线粒体是细胞内制造能量的细胞器,它还负责各种细胞信号的整合,参与协调多种复杂的细胞功能.线粒体是动态变化的,连续不断地进行分裂与融合,这是其功能维持和增殖遗传的关键.在过去 20 年中,参与线粒体分裂与融合的核心因 子陆续被发现,它们在进化上高度保守,但是在形成分裂与融合复合物中的详细分子机制还有待于深入研究.线粒体分裂与 融合的动态变化,是线粒体质量控制的重要组成部分,其动态平衡在细胞发育和稳态维持中起重要作用.线粒体动态变化失 衡和功能失调,则会导致多种神经退行性疾病的发生.这些研究的发现为探索线粒体生物学及与疾病的关系开拓了令人振奋 的新方向.

关键词 RNA 结合蛋白(RBPs),呼吸链复合物,线粒体融合与分裂,线粒体损伤,神经退行性疾病 学科分类号 Q189 DOI: 10.16476/j.pibb.2016.0084

近年来,线粒体动态变化的研究越来越受到重 视,其中参与线粒体分裂和融合的多个关键基因陆 续被发现,如参与线粒体外膜融合的 MFN1、 MFN2 和内膜融合的 OPA1,参与线粒体分裂的 DRP1、Mff 和 FIS1 等,还有一些因子参与调控线 粒体的动态变化11-2.线粒体损伤作为导致细胞及 机体老化(aging)的关键因素之一,是因为线粒体呼 吸链生产 ATP 时也产生了大量的副产物活性氧 (reactive oxygen species, ROS). 由于神经元活动需 要消耗大量的氧,在氧化压力下 ROS 的过量产生 是几乎所有神经退行性病变的主要因素¹³. 而细胞中 的线粒体则通过融合来中和部分线粒体的损伤和自 发产生的线粒体基因突变,通过分裂进而清除不能 修复的损伤线粒体,因此线粒体的动态变化与 ROS 导致的老化线粒体抗衡,从而维持细胞中多 数线粒体的正常功能,乃至神经元的健康.参与线 粒体稳态维持的分裂和融合过程发生缺陷,则会不 可避免地影响神经元的功能,从而导致遗传因素相 关及老化相关的多种神经退行性疾病,如阿尔茨海

默病(Alzheimer disease, AD,即我们常说的老年 痴呆症)、帕金森病(Parkinson disease, PD)、亨廷 顿病(Huntington disease, HD)、肌萎缩侧索硬化 (amyotrophic lateral sclerosis, ALS)和额颞叶变性病 (frontotemporal lobar degeneration, FTLD)等^[4-7].在 本综述中,作者首先阐述了线粒体作为细胞的动力 工厂,线粒体双层膜系统和线粒体膜上呼吸链复合 物的结构、功能和调控;然后,描述了线粒体作为 细胞代谢与死亡调控的关键信号站,参与线粒体能 合与分裂的关键因子,及线粒体动态变化与细胞稳 态的关系;最后,综述线粒体功能缺陷与损伤在细 胞老化和神经退行疾病中的重要作用.

^{*}国家自然科学基金资助项目(91132710). **通讯联系人.

朱 笠. Tel: 010-64888303, Fax: 010-64888031 E-mail: zhuli@moon.ibp.ac.cn

Jane Y. Wu. Tel: 1-312-503-0684, E-mail: jane-wu@northwestern.edu 收稿日期: 2016-03-18, 接受日期: 2016-03-29

1 在细胞中(特别是神经元),线粒体是主要的动力工厂

线粒体是细胞内制造能量的细胞器.通过特殊的双层膜,线粒体将电化学势能转化为生物化学能,并储存于三磷酸腺苷(adenosine triphosphate, ATP)中.通过呼吸链复合物上($I \sim IV$)的电子传递产生 ATP 是所有真核细胞的基本过程,因此,线粒体的主要任务就是负责细胞能量代谢的调控.除此之外,线粒体还负责信号整合,参与协调多种复杂的细胞功能,包括程序性细胞死亡调控(programmed cell death)、钙离子稳态(calcium homeostasis)和细胞内活性氧(reactive oxygen species, ROS)的制造和控制^[8].

线粒体作为最主要的动力工厂生产 ATP,为 大脑中的各种细胞(特别是神经元)提供能量,满足 其巨大的能量需求.ATP 合成在多个亚基组成的 蛋白质机器上进行,这个蛋白质机器被称为 ATP 合成酶复合物(ATP synthase complex V),从细菌 到人类,这一复合物高度保守^[9-10].

ATP 合成酶复合物定位于线粒体内膜,由两 部分组成,F。嵌入内膜中,而F₁伸出膜外在线粒 体基质中.ATP 合成酶复合物的形成即是 F。和 F1 亚复合物的组装.牛线粒体 ATP 合成酶 F₁ 的晶体 结构显示, F_1 是一个 α 3 β 3 六聚体, 由 3 个 α 亚基 和3个β亚基组成,其中α亚基作为调控亚基起 作用, 而 β 亚基行使催化功能¹⁰⁰.3 个 β 亚基的催 化位点代表3个不同的核苷酸结合状态. 第一个位 点由 Mg·ATP 的类似物 AMP-PNP 占据,称为 β_T 位点; 第二个结合 Mg·ADP, 称为 β_D 位点; 第三 个是空位,不结合核苷酸,称为 βε^[11]. 蛋白质晶体 学还显示, β_T 和 β_D 处于关闭构象, 其中 C 端结构 域抬起并靠近核苷酸结合结构域,而 β_E 处于开放 构象^[12].在ATP 合成中,F。马达将质子或钠离子 的电子梯度转变为扭转力矩,推动作为 ATP 发生 器的 F₁ 马达旋转. 在这一过程中, 3 种 β 亚基的 构象按次序改变,在一个转动循环中每个β亚基 依次采取不同亲和性构象生成3个分子 ATP^[13].此 外,线粒体 ATP 合成酶通常会以多聚体或二聚体 的形式存在,这样会大大地提高 ATP 生成的速率, 而 ATP 合成酶的多聚体形式能否组装还关乎到线 粒体嵴的形态是否正常.利用酵母细胞的研究,将 ATP 合成酶中参与形成多聚体的亚基突变,线粒

体嵴的结构出现异常, ATP 的生成受到严重抑 制^[14-15].

当线粒体呼吸链被破坏,线粒体膜电势降低到低于阈值,ATP 合成酶可能发生反向作用,通过 水解 ATP 泵出质子过膜,从而维持线粒体膜电势^[16].但是,一种抑制剂蛋白 IF1 可以参与抑制 F₁-ATPase 的活性.IF1 是一个同源二聚体,它结 合 F₁ 复合物的 β 和 γ 亚基,抑制 ATP 水解,通过 消耗膜电势保存 ATP^[17-18].

2 在细胞代谢和细胞死亡调控过程中,线 粒体是关键信号工作站

2.1 线粒体分裂-融合是高度动态过程

关于线粒体起源的一个广泛接受的假说是内共 生(endosymbiotic)理论^[19].这个理论从进化角度认 为,线粒体从曾经的原核细胞进入真核细胞中,与 之共生变成细胞器^[20-21].线粒体由两套膜系统组 成,外膜保护系统和含有氧化磷酸化机器用于合成 ATP 的内膜系统.大多数线粒体膜蛋白是由细胞 核 DNA(nDNA)编码,在细胞质中生成前体蛋白质 并运输到线粒体中;而另一小部分线粒体蛋白质是 由线粒体 DNA(mtDNA)编码,在线粒体蛋白质是 由线粒体 DNA(mtDNA)编码,在线粒体基质中合 成^[22].线粒体膜来自细胞内最大的膜结合细胞 器——内质网(endoplasmic reticulum, ER)^[23-24].线 粒体的形成和功能都是由内质网 - 线粒体连接 (junction of ER-mitochondria)协调的^[25-27].

线粒体形成广大的细胞内网络并经历高度动态的分裂-融合(fission-fusion)过程^[2,28-30].精确调控的分裂-融合平衡维持了线粒体的增殖、重新分布和更新,使细胞适应持续不断的环境变化.

线粒体融合包含线粒体内膜(inner mitochondrial membranes, IMM)和外膜(outer mitochondrial membranes, OMM)两套膜系统的动态变化.参与线粒体外膜融合的一个重要因子是跨膜的GTP酶(transmembrane GTPase),Fzo1(在果蝇和酵母中称作fuzzyonion)或MFN1和MFN2(在哺乳动物中称作mitofusin1和mitofusin2);而蛋白动力素相关的GTP酶(dynamin-related GTPase),Mgm1(在酵母中称mitochondrial genome maintenance protein 1)或Opa1(在哺乳动物中称 optic atrophy 1)则在线粒体内膜融合和嵴结构改变中起关键作用.Fzo1或Opa1基因的突变抑制线粒体融合,导致线粒体片段化的增加^[31-32].Fzo1/MFN属含有GTP结合结构域的GTP酶家族.MFN1和

MFN2 通过它们的 coiled-coil 结构域发生相互作 用,形成同源(homo)和异源(hetero)寡聚体复合物, 启动线粒体外膜的融合^[33].而 Mgm1 的寡聚化则介 导线粒体内膜的融合^[34].Ugo1(酵母中分子质量为 58 ku 的一个蛋白,其哺乳动物的同源蛋白还未发 现)参与外膜融合及使 Fzo1 和 Mgm1 建立连接^[35]. MitoPLD,磷脂酶 D(phospholipase D)家族成员之 一,由 Pld6 编码,通过其 C 端跨膜锚定结合在外 膜上而 N 端面向细胞质,也参与线粒体融合^[36].

研究已发现几个基因参与调控线粒体分裂.细 胞质中的蛋白动力素相关蛋白 1, Drp1(在线虫、 果蝇和哺乳动物中称 dynamin-related protein 1)或 Dnm1(在酵母中称 dynamin 1),在大多数真核细胞 中是调控线粒体分裂的关键因子四.在管状线粒体 周围, Dnm1 和 Drp1 都会组装成环形的螺旋结构 从而启动分裂活动^[38-40]. Dnm1 是一个可溶性蛋白, 它含有一个保守的 GTP 酶结构域、螺旋结构域和 GTP 感受器结构域(GTP effector domain, GED). 体外研究表明,在结合不可水解的 GTP 类似物时, Dnm1 自我组装成寡聚体的螺旋结构,在线粒体周 围汇聚成灶,通过 GTP 水解依赖的机制使膜封 闭[41]. 在酵母中, Dnm1 被招募, 通过与2个蛋白 Fis1(mitochondrial fission 1)^[42]和 Mdv1(mitochondria division protein 1)^[43]相互作用,在线粒体表面组装 成螺旋样的结构. Fis1 是一个分子质量 17 ku 的蛋 白质,它定位于线粒体外膜上,通过其 N 端结构 域与细胞质中的配体蛋白 Mdv1 相互作用,促进 Dnm1-GTP 募聚体的组装^[32,44].在哺乳动物细胞中, 则需要外膜受体蛋白 MiD49/MiD51(mitochondrial dynamics proteins of 49 and 51 ku) 和 Mff (mitochondrial fission factor)的参与, Drp1 才能被招 募到分裂位点啊. 其他参与线粒体分裂的因 子还有 MTP8 (mitochondrial protein 18 ku)^[40]和 GDAP1 (ganglioside-induced differentiation-associated protein 1)^[47],它们分别定位于线粒体的内膜和外 膜,但其参与线粒体膜分裂的具体作用仍需深入研 究^[30]. 到目前为止, 主导线粒体内膜分裂的蛋白仍 然未被发现,因此完全了解线粒体的融合-分裂机 制还需要进一步的探索和研究.

2.2 在发育和稳态维持中,线粒体动态变化的重要作用

在胚胎发育过程中,线粒体融合起关键作用^[2].缺失 Mfn1或 Mfn2的小鼠,由于胎盘发育缺陷而在妊娠中期死亡.在这一模型中,表达 Mfn1

或 Mfn2 突变的细胞中,线粒体正常膜电势丧失^[48].与 RNAi 介导的 Opa1 下调相似,缺失 Mfn1 或 Mfn2 的细胞,线粒体融合无法进行、氧化磷酸 化能力大大降低、细胞生长缓慢^[49].这些研究结果 表明线粒体分裂 - 融合动态过程不仅维持线粒体形态,而且对细胞生长和组织发育有重要影响.

线粒体分裂在发育过程中也必不可少^[2].在线 虫成虫进行 Drp1 的 RNAi 实验,导致后代胚胎致 死;而注射了 Drp1 dsRNA 的卵在生长到 100 个细 胞之前通常就已死亡^[50].缺失 Drp1 的小鼠前脑发 育异常,胚胎期 12.5 天死亡,而神经细胞 特异 性缺失 Drp1 的小鼠出生后即刻死亡^[51].在 Drp1 缺 失的胚胎成纤维细胞中,线粒体形成巨大的网络; 在 Drp1 特异性损伤的小脑,浦肯野细胞含有的线 粒体是几个巨大的网状结构,而不是正常情况下短 小的管状结构^[52].这些研究表明线粒体分裂的关键 组分 Drp1 在胚胎发育和突触形成中起非常重要的 作用.

在子代线粒体产生和去除损伤线粒体并维持线 粒体质量过程中,线粒体分裂-融合的动态过程也 起到重要作用.当细胞处于极端压力的情况下,细 胞程序性死亡或细胞凋亡过程启动.在细胞凋亡 中,线粒体发生片段化才能使外膜破裂,细胞色素 c(cytochrome c)和其他促凋亡因子从线粒体膜之间 的空腔释放到细胞质中,从而启动下游信号通路. 在一系列生物体中,发现 Drp1 的下调或功能失 调都会导致细胞凋亡水平降低,包括酵母^[53]、线 虫^[54]、果蝇^[55]和哺乳动物^[56].促凋亡调控因子 BAX 和 BAK 与 Drp1 及 Mfn 相互作用,进一步支持了 线粒体分裂与细胞凋亡的联系^[57-59].

3 线粒体功能失衡与神经退行性疾病

生理条件下,线粒体分裂-融合的动态过程是 受到高度调控的,以便维持线粒体正常的形态与功 能,并且满足细胞生长、增殖和分化中的各种能量 需求^[28,α-61].比如在有丝分裂时,线粒体分裂发生 在早期,而线粒体融合则发生在晚期,线粒体网络 发生重构,随后分配到子代细胞中.在此过程中, Drp1 的第 585 位丝氨酸被 CDK1/cyclinB 磷酸化. 下调 Drp1 蛋白水平或 Drp1 第 585 位丝氨酸突变 成丙氨酸(S585A)都会降低有丝分裂过程中线粒体 的分裂^[62].此外,在培养的海马神经元中,增加的 细胞外钾离子浓度会引发 Drp1 第 600 位丝氨酸被 CaMK1α 磷酸化,并使 Drp1 从细胞质转移到线粒 体,引起线粒体分裂⁶³. Drp1 缺失小鼠的实验表明, Drp1 依赖的线粒体分裂对神经发育过程中神 经突和突触形成起到重要作用⁵¹.

大量新证据表明,线粒体分裂-融合动态变化 的失衡与神经退行性疾病密切相关啊,比如阿尔茨 海默病 (Alzheimer disease, AD)、帕金森病 (Parkinson disease, PD)、 亨廷顿病 (Huntington disease, HD)和肌萎缩侧索硬化(amyotrophic lateral sclerosis, ALS)等等^[00, 65-68]. 在 AD 中, β 淀粉样蛋 白聚集,使线粒体分裂因子 Fis1 上调,而线粒体 融合因子 Mfns 和 Opal 却发生下调,通过亚硝酰 化的 Drp1^{69-74]}.此外, AD 中由于 Tau 蛋白的过磷 酸化,CDK5 增加[75-76],而CDK5 是线粒体分裂的 上游调节因子,因此 AD 中线粒体分裂增 加[77-78]. PINK1(PTEN-induced kinase 1)和 Parkin 的突变与 遗传性 PD 有关[24,79]. 在 PD 的果蝇模型中, PINK1 和 Parkin 通过促进分裂和抑制融合在线粒体动态 过程中起重要作用^[80-82]. 而在 Parkin 缺失和 Parkin 突变这两个模型小鼠中,线粒体都表现出形态异常 和呼吸缺陷^[83].在HD中,突变的Huntingtin通过 提高 Drp1 和 Fis1、降低 Mfn1 和 Opa1 引起线粒体 片段化^[84]. 而且, 突变的 Huntingtin 与 Drp1 相互 作用, 增强其 GTP 酶活力, 触发线粒体片段化, 这一过程可被 dominant-negative 突变体 K38A-Drp1 或者 Mfn2 挽救^[85-86].

在 ALS 研究中,对 NSC-34 类运动神经元细胞进行实验,表达 G93A-SOD1 突变引起线粒体片段化^[87].而且来自 G93A-SOD1 突变小鼠的神经元,轴突和胞体中的线粒体融合受损,逆向轴突运输受损,运动频率和速度降低^[88].此外,与 ALS 密切相关的 TDP-43 蛋白异常沉积可引起多种神经退行性疾病,此类被统称为 TDP-43 蛋白病的细胞和动物模型中,都发现了线粒体异常^[89-91].同时非正常的线粒体也在 ALS 患者组织样本中发现^[92].另一种与 ALS 密切相关的 RNA 结合蛋 FUS 的异常沉积也引起统称为 FUS 蛋白病的多种神经退行性疾病,在此疾病小鼠模型的运动神经元中,也发现了线粒体的片段化^[93].这些结果说明,RNA 结合蛋白 TDP-43 和 FUS 与线粒体损伤有重要关系,但是其中的分子机制仍需深入研究.

编码线粒体分裂和融合关键蛋白基因的突变, 也与神经退行性疾病密切相关. Opa1 的突变引起 常染色体显性视神经萎缩(autosomal dominant optic atrophy, ADOA), Mfn2 的突变则导致进行性腓肌 萎缩症 (Charcot-Marie-Tooth disease type 2A, CMT2A)^[94-96]. ADOA 患者的视觉进行性受损,这是由于视神经(optic nerve)和视网膜神经节(retinal ganglion)细胞退化变性造成的.而 ADOA-plus 表型更严重,表现为耳聋且运动功能受损,此突变发生在 Opa1 的 GTP 酶活性结构域. CMT2A 患者表现出外周神经病变(peripheral neuropathy),引起肌无力、感觉及运动神经元的轴突发生退化.

神经退行性疾病致病基因中,与线粒体损伤相 关的多是在细胞质中表达,比如 SOD1、Aβ等. 虽然一些报道显示,TDP-43蛋白病的细胞和动物 模型实验发现了线粒体的集聚和沉积,但是线粒体 损伤在此类疾病中是致病诱因还是结果并不清楚. 中国科学院生物物理研究所吴瑛课题组最新的研究 结果显示,核定位的 RNA 结合蛋白 FUS(fused in sarcoma),当其表达调控出现异常或者发生突变, FUS 就会出核、并被转运到线粒体中,引起线粒体 损伤¹⁹⁷.这一研究结果揭示了核定位 RNA 结合蛋 白与线粒体损伤是有联系的.此外,他们的研究还 鉴定出与 FUS 相互作用的线粒体分子伴侣蛋白 HSP60, 是它介导 FUS 的线粒体定位并诱导线粒 体损伤. 运用 FUS 转基因果蝇模型进行实验,发 现下调 HSP60 不仅可以挽救线粒体损伤,还可以 缓解果蝇幼虫的运动能力.因此,从细胞模型、动 物模型和 FTLD-FUS 患者脑组织的免疫电镜检测 等多个层面,他们得到了令人信服的证据,那就是 线粒体损伤代表了这一组与核定位 RNA 结合蛋白 相关的神经退行性疾病中先前未知却极其关键的 特征.

4 线粒体生物学的模型系统:细胞和动物 模型

酵母和果蝇是研究线粒体生物学的两个强大的 遗传学模型.线粒体分裂和融合机器的大部分关键 组分都是在酵母和果蝇中发现和鉴定的.这些线粒 体基因的绝大多数在哺乳动物中也是保守的,它们 的同源蛋白在哺乳动物细胞(包括神经元)中也都进 行了验证.中国科学院生物物理研究所吴瑛课题组 自主建立了 TDP-43 蛋白病的转基因果蝇模型和 FUS 蛋白病的酵母及转基因果蝇模型,重现了 TDP-43 和 FUS 相关的 ALS 和 FTLD 的重要神经病 理学和诊断特征^[9-100].运用生物化学和遗传学相结 合的方法,他们证明了 FUS 与线粒体分子伴侣 HSP60 相互作用,且 FUS 定位于线粒体由 HSP60

Prog. Biochem. Biophys.

介导. 在表达人源 FUS 的果蝇模型中,下调 HSP60 同源基因的表达可以减少定位于果蝇细胞线 粒体中的 FUS,并且挽救线粒体缺陷及果蝇的神经 退行性表型(图 1). 结合来自其他研究组已报道的 实验结果,他们提出线粒体损伤可能代表了包括 FTLD-FUS 和 ALS-FUS 的 FUS 蛋白病不同形式的 一个关键事件^[97].



Fig.1 A working model for FUS-induced mitochondrial damage^[97] 图 1 细胞核 DNA/RNA 结合蛋白 FUS 诱导线粒体损伤的分子机制模式图^[97]

他们建立的 TDP-43 和 FUS 蛋白病的果蝇模型,可为识别疾病修饰基因和筛选小分子药物提供强大且有效的动物模型.这些已经完成的研究显示,基于线粒体损伤的检测和恢复将有可能发展出更有效的诊断和治疗策略,为治疗 FUS 蛋白病和 其他与线粒体损伤有关的毁灭性神经退行性疾病提供重要线索.

5 小结与展望

越来越多的证据显示,不同的神经退行性疾病可能有相似的病理学机制.比如 RNA 结合蛋白 TDP-43,除了在大部分 ALS 病例和一半左右 FTLD 病例中发生其异常变化外,在 20%~50%的 AD 患者和一小部分 PD 和 HD 患者中也发现了 TDP-43 的异常.虽然基因变异导致不同疾病表型 的机制是一个非常活跃的研究领域,但是 RNA 结 合蛋白参与的调控网络失衡可能在多种疾病的发生 发展中起到关键的作用.同样,多种形式的线粒体

损伤与一系列神经退行性疾病密切相关,如在 AD、PD、FTLD和ALS等都发现线粒体功能缺失 和代谢失衡是这些神经退行性疾病的病理学原因, 但是线粒体损伤在这些疾病中启动或促进神经细胞 退化变性的分子机制仍需进一步研究.因此,针对 线粒体损伤和功能失调导致多种神经退行性疾病的 共有机制开展深入研究,不仅为揭示这些神经疾病 的致病机理提供重要线索,还会为发展诊断和治疗 这些毁灭性疾病的策略建立基础,这样才能有助于 缓解老龄化社会的巨大负担.

在中国当前人口加速老龄化的关键时期,神经 退行性疾病的发病率显著增加,已成为不可忽视的 危害中国人口健康的巨大社会问题.为了发展治疗 神经退行性疾病的有效方法,系统性地积极研究对 理解这些疾病分子病理机制关系极为重大.因此, 面对老龄化社会中受神经退行性疾病影响的人数急 剧增加的挑战,急需对这些研究领域提供更大的资 金投入和资源支持.

参考文献

- Westermann B. Mitochondrial fusion and fission in cell life and death. Nature Reviews Molecular Cell Biology, 2010, 11 (12): 872–884
- [2] Pernas L, Scorrano L. Mito-morphosis: mitochondrial fusion, fission, and cristae remodeling as key mediators of cellular function. Annual Review of Physiology, 2016, 78(1): 505–531
- [3] Federico A, Cardaioli E, Da Pozzo P, *et al.* Mitochondria, oxidative stress and neurodegeneration. Journal of the Neurological Sciences, 2012, **322**(1–2): 254–262
- [4] Lin M T, Beal M F. Mitochondrial dysfunction and oxidative stress in neurodegenerative diseases. Nature, 2006, 443(7113): 787–795
- [5] Rodolfo C, Ciccosanti F, Giacomo G D, et al. Proteomic analysis of mitochondrial dysfunction in neurodegenerative diseases. Expert Review of Proteomics, 2010, 7(4): 519–542
- [6] Deng H, Xiu X, Jankovic J. Genetic convergence of Parkinson's disease and lysosomal storage disorders. Molecular Neurobiology, 2014, 51(3): 1554–1568
- [7] Chaturvedi R K, Flint Beal M. Mitochondrial diseases of the brain. Free Radical Biology and Medicine, 2013, 63: 1–29
- [8] Chandel N. Mitochondria as signaling organelles. BMC Biology, 2014, 12(1): 34
- [9] Boyer P D. The binding change mechanism for ATP synthase some probabilities and possibilities. Biochimica et Biophysica Acta, 1993, 1140(3): 215–250
- [10] Walker J E, Saraste M, Runswick M J, et al. Distantly related sequences in the alpha- and beta-subunits of ATP synthase, myosin, kinases and other ATP-requiring enzymes and a common nucleotide binding fold. The EMBO Journal, 1982, 1(8): 945–951
- [11] Noji H, Yoshida M. The rotary machine in the cell, ATP synthase. Journal of Biological Chemistry, 2001, 276(3): 1665–1668
- [12] Abrahams J P, Leslie A G W, Lutter R, *et al.* Structure at 2.8 Å resolution of F1-ATPase from bovine heart mitochondria. Nature, 1994, **370**(6491): 621–628
- [13] Dimroth P, von Ballmoos C, Meier T. Catalytic and mechanical cycles in F-ATP synthases. EMBO Reports, 2006, 7(3): 276–282
- [14] Paumard P, Vaillier J, Coulary B, *et al.* The ATP synthase is involved in generating mitochondrial cristae morphology. EMBO J, 2002, 21(3): 221–230
- [15] Strauss M, Hofhaus G, Schroder R R, *et al.* Dimer ribbons of ATP synthase shape the inner mitochondrial membrane. EMBO J, 2008, 27(7): 1154–1160
- [16] Devenish R J, Prescott M, Rodgers A J W. The structure and function of mitochondrial $F_1F_0\text{-}ATP$ synthases. In International Review of Cell and Molecular Biology (Academic Press), 2008: 1–58
- [17] Campanella M, Casswell E, Chong S, et al. Regulation of mitochondrial structure and function by the F₁F₀-ATPase inhibitor protein, IF1. Cell Metabolism, 2008, 8(1): 13–25
- [18] Campanella M, Parker N, Tan C H, et al. IF1: setting the pace of the F₁F₀-ATP synthase. Trends in Biochemical Sciences, 2009, 34(7):

343-350

- [19] Mereschkowsky C. Über natur und ursprung der chromatophoren im pflanzenreiche. Biol Centralbl, 1905, 25: 593–604
- [20] Martin W F, Garg S, Zimorski V. Endosymbiotic theories for eukaryote origin. Philosophical Transactions of the Royal Society of London B: Biological Sciences, 2015, 370(1678): 20140330
- [21] Zimorski V, Ku C, Martin W F, *et al.* Endosymbiotic theory for organelle origins. Current Opinion in Microbiology, 2014, 22: 38–48
- [22] Bohnert M, Pfanner N, van der Laan M. Mitochondrial machineries for insertion of membrane proteins. Current Opinion in Structural Biology, 2015, 33: 92–102
- [23] Hoppins S, Collins S R, Cassidy-Stone A, *et al.* A mitochondrialfocused genetic interaction map reveals a scaffold-like complex required for inner membrane organization in mitochondria. The Journal of Cell Biology, 2011, **195**(2): 323–340
- [24] van der Laan M, Bohnert M, Wiedemann N, et al. Role of MINOS in mitochondrial membrane architecture and biogenesis. Trends in Cell Biology, 2012, 22(4): 185–192
- [25] Elbaz Y, Schuldiner M. Staying in touch: the molecular era of organelle contact sites. Trends in Biochemical Sciences, 2011, 36(11): 616–623
- [26] Csordás G, Renken C, Várnai P, et al. Structural and functional features and significance of the physical linkage between ER and mitochondria. The Journal of Cell Biology, 2006, 174(7): 915–921
- [27] Rowland A A, Voeltz G K. Endoplasmic reticulum-mitochondria contacts: function of the junction. Nature Reviews Molecular Cell Biology, 2012, 13(10): 607–625
- [28] Bereiter-Hahn J, Voth M. Dynamics of mitochondria in living cells: shape changes, dislocations, fusion, and fission of mitochondria. Microsc Res Tech, 1994, 27(3): 198–219
- [29] Mishra P, Chan D C. Metabolic regulation of mitochondrial dynamics. The Journal of Cell Biology, 2016, 212(4): 379–387
- [30] Wai T, Langer T. Mitochondrial dynamics and metabolic regulation. Trends in Endocrinology & Metabolism, 2016, 27(2): 105–117
- [31] Davies V J, Hollins A J, Piechota M J, et al. Opa1 deficiency in a mouse model of autosomal dominant optic atrophy impairs mitochondrial morphology, optic nerve structure and visual function. Human Molecular Genetics, 2007, 16(11): 1307–1318
- [32] Griffin E E, Graumann J, Chan D C. The WD40 protein Caf4p is a component of the mitochondrial fission machinery and recruits Dnm1p to mitochondria. The Journal of Cell Biology, 2005, 170(2): 237–248
- [33] Koshiba T, Detmer S A, Kaiser J T, et al. Structural basis of mitochondrial tethering by mitofusin complexes. Science (New York, NY), 2004, **305**(5685): 858–862
- [34] Meeusen S, DeVay R, Block J, et al. Mitochondrial innermembrane fusion and crista maintenance requires the dynamin-related GTPase Mgm1. Cell, 2006, 127(2): 383–395
- [35] Sesaki H, Jensen R E. UGO1 encodes an outer membrane protein required for mitochondrial fusion. The Journal of Cell Biology,

2001, 152(6): 1123-1134

- [36] Choi S Y, Huang P, Jenkins G M, et al. A common lipid links Mfn-mediated mitochondrial fusion and SNARE-regulated exocytosis. Nat Cell Biol, 2006, 8(11): 1255–1262
- [37] Smirnova E, Shurland D L, Ryazantsev S N, *et al.* A human dynamin-related protein controls the distribution of mitochondria. The Journal of Cell Biology, 1998, **143**(2): 351–358
- [38] Bleazard W, McCaffery J M, King E J, et al. The dynamin-related GTPase Dnm1 regulates mitochondrial fission in yeast. Nat Cell Biol, 1999, 1(5): 298–304
- [39] Sesaki H, Jensen R E. Division versus Fusion: Dnm1p and Fzo1p antagonistically regulate mitochondrial shape. The Journal of Cell Biology, 1999, 147(4): 699–706
- [40] Smirnova E, Griparic L, Shurland D L, et al. Dynamin-related Protein Drp1 is required for mitochondrial division in mammalian cells. Molecular Biology of the Cell, 2001, 12(8): 2245–2256
- [41] Ingerman E, Perkins E M, Marino M, *et al.* Dnm1 forms spirals that are structurally tailored to fit mitochondria. The Journal of Cell Biology, 2005, **170**(7): 1021–1027
- [42] Mozdy A D, McCaffery J M, Shaw J M. Dnm1p gtpase-mediated mitochondrial fission is a multi-step process requiring the novel integral membrane component Fis1p. The Journal of Cell Biology, 2000, 151(2): 367–380
- [43] Tieu Q, Nunnari J. Mdv1p is a Wd repeat protein that interacts with the dynamin-related Gtpase, Dnm1p, to trigger mitochondrial division. The Journal of Cell Biology, 2000, 151(2): 353–366
- [44] Naylor K, Ingerman E, Okreglak V, et al. Mdv1 interacts with assembled Dnm1 to promote mitochondrial division. Journal of Biological Chemistry, 2006, 281(4): 2177–2183
- [45] Elgass K, Pakay J, Ryan M T, et al. Recent advances into the understanding of mitochondrial fission. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research, 2013, 1833(1): 150–161
- [46] Tondera D, Czauderna F, Paulick K, et al. The mitochondrial protein MTP18 contributes to mitochondrial fission in mammalian cells. Journal of Cell Science, 2005, 118(14): 3049–3059
- [47] Niemann A, Ruegg M, La Padula V, et al. Ganglioside-induced differentiation associated protein 1 is a regulator of the mitochondrial network: new implications for Charcot-Marie-Tooth disease. The Journal of Cell Biology, 2005, **170**(7): 1067–1078
- [48] Chen H, Detmer S A, Ewald A J, et al. Mitofusins Mfn1 and Mfn2 coordinately regulate mitochondrial fusion and are essential for embryonic development. The Journal of Cell Biology, 2003, 160(2): 189–200
- [49] Chen H, Chomyn A, Chan D C. Disruption of fusion results in mitochondrial heterogeneity and dysfunction. Journal of Biological Chemistry, 2005, 280(28): 26185–26192
- [50] Labrousse A M, Zappaterra M D, Rube D A, et al. C. elegans dynamin-related protein DRP-1 controls severing of the mitochondrial outer membrane. Molecular Cell, 1999, 4 (5): 815–826
- [51] Ishihara N, Nomura M, Jofuku A, et al. Mitochondrial fission factor Drp1 is essential for embryonic development and synapse

formation in mice. Nat Cell Biol, 2009, 11(8): 958-966

- [52] Wakabayashi J, Zhang Z, Wakabayashi N, et al. The dynaminrelated GTPase Drp1 is required for embryonic and brain development in mice. The Journal of Cell Biology, 2009, 186(6): 805–816
- [53] Fannjiang Y, Cheng W C, Lee S J, *et al.* Mitochondrial fission proteins regulate programmed cell death in yeast. Genes & Development, 2004, **18**(22): 2785–2797
- [54] Jagasia R, Grote P, Westermann B, et al. DRP- 1- mediated mitochondrial fragmentation during EGL-1-induced cell death in *C. elegans*. Nature, 2005, 433(7027): 754–760
- [55] Goyal G, Fell B, Sarin A, et al. Role of mitochondrial remodeling in programmed cell death in *Drosophila* melanogaster. Developmental Cell, 2007, **12**(5): 807–816
- [56] Frank S, Gaume B, Bergmann-Leitner E S, et al. The role of dynamin-related protein 1, a mediator of mitochondrial fission, in Apoptosis. Developmental Cell, 2001, 1(4): 515–525
- [57] Brooks C, Wei Q, Feng L, et al. Bak regulates mitochondrial morphology and pathology during apoptosis by interacting with mitofusins. Proc Natl Acad Sci USA, 2007, 104(28): 11649–11654
- [58] Karbowski M, Lee Y J, Gaume B, et al. Spatial and temporal association of Bax with mitochondrial fission sites, Drp1, and Mfn2 during apoptosis. The Journal of Cell Biology, 2002, 159 (6): 931–938
- [59] Karbowski M, Norris K L, Cleland M M, et al. Role of Bax and Bak in mitochondrial morphogenesis. Nature, 2006, 443 (7112): 658–662
- [60] Knott A B, Bossy-Wetzel E. Impairing the mitochondrial fission and fusion balance: a new mechanism of neurodegeneration. Annals of the New York Academy of Sciences, 2008, 1147(1): 283–292
- [61] Mitra K. Mitochondrial fission-fusion as an emerging key regulator of cell proliferation and differentiation. Bioessays, 2013, 35 (1): 955–964
- [62] Taguchi N, Ishihara N, Jofuku A, *et al.* Mitotic Phosphorylation of dynamin-related GTPase Drp1 participates in mitochondrial fission. Journal of Biological Chemistry, 2007, 282(15): 11521–11529
- [63] Han X J, Lu Y F, Li S A, *et al.* CaM kinase Iα-induced phosphorylation of Drp1 regulates mitochondrial morphology. The Journal of Cell Biology, 2008, **182**(3): 573–585
- [64] Bertholet A M, Delerue T, Millet A M, et al. Mitochondrial fusion/ fission dynamics in neurodegeneration and neuronal plasticity. Neurobiology of Disease, 2015, pii:S0969–9961 (15): 30063– 30069
- [65] Bossy-Wetzel E, Barsoum M J, Godzik A, *et al.* Mitochondrial fission in apoptosis, neurodegeneration and aging. Current Opinion in Cell Biology, 2003, **15**(6): 706–716
- [66] Chen H, Chan D C. Mitochondrial dynamics-fusion, fission, movement, and mitophagy-in neurodegenerative diseases. Human Molecular Genetics, 2009, 18(R2): R169–R176
- [67] Menzies F M, Cookson M R, Taylor R W, *et al.* Mitochondrial dysfunction in a cell culture model of familial amyotrophic lateral sclerosis. Brain: a Journal of Neurology, 2002, **125**(7): 1522–1533

- [68] Aksoy H, Dean G, Elian M, et al. A4T mutation in the SOD1 gene causing familial amyotrophic lateral sclerosis. Neuroepidemiology, 2003, 22(4): 235–238
- [69] Cho D H, Nakamura T, Fang J, et al. S-nitrosylation of Drp1 mediates β-amyloid-related mitochondrial fission and neuronal injury. Science (New York, NY), 2009, 324(5923): 102–105
- [70] Manczak M, Anekonda T S, Henson E, *et al.* Mitochondria are a direct site of A β accumulation in Alzheimer's disease neurons: implications for free radical generation and oxidative damage in disease progression. Human Molecular Genetics, 2006 , **15** (9): 1437–1449
- [71] Nakamura T, Cieplak P, Cho D H, et al. S-Nitrosylation of Drp1 links excessive mitochondrial fission to neuronal injury in neurodegeneration. Mitochondrion, 2010, 10(5): 573–578
- [72] Wang X, Su B, Fujioka H, et al. Dynamin-like protein 1 reduction underlies mitochondrial morphology and distribution abnormalities in fibroblasts from sporadic Alzheimer's disease patients. Am J Pathol, 2008, **173**(2): 470–482
- [73]Wang X, Su B, Lee H G, et al. Impaired balance of mitochondrial fission and fusion in Alzheimer's disease. J Neurosci, 2009b, 29(28): 9090–9103
- [74] Wang X, Su B, Zheng L, et al. The role of abnormal mitochondrial dynamics in the pathogenesis of Alzheimer's disease. Journal of Neurochemistry, 2009c, 109(Suppl 1): 153–159
- [75] Gong C X, Iqbal K. Hyperphosphorylation of microtubuleassociated protein tau: a promising therapeutic target for Alzheimer disease. Current Medicinal Chemistry, 2008, 15(23): 2321–2328
- [76] Tsai L H, Lee M S, Cruz J. Cdk5, a therapeutic target for Alzheimer's disease? Biochimica et Biophysica Acta (BBA) -Proteins and Proteomics, 2004, 1697(1-2): 137-142
- [77] Meuer K, Suppanz I E, Lingor P, et al. Cyclin-dependent kinase 5 is an upstream regulator of mitochondrial fission during neuronal apoptosis. Cell Death Differ, 2007, 14(4): 651–661
- [78] Sun K H, De Pablo Y, Vincent F, et al. Deregulated Cdk5 promotes oxidative stress and mitochondrial dysfunction. Journal of Neurochemistry, 2008, 107(1): 265–278
- [79] Dodson M W, Guo M. Pink1, Parkin, DJ-1 and mitochondrial dysfunction in Parkinson's disease. Current Opinion in Neurobiology, 2007, 17(3): 331–337
- [80] Deng H, Dodson M W, Huang H, et al. The Parkinson's disease genes pink1 and parkin promote mitochondrial fission and/or inhibit fusion in *Drosophila*. Proc Natl Acad Sci USA, 2008, 105(38): 14503–14508
- [81] Poole A C, Thomas R E, Andrews L A, et al. The PINK1/Parkin pathway regulates mitochondrial morphology. Proc Natl Acad Sci USA, 2008, 105(5): 1638–1643
- [82] Yang Y, Ouyang Y, Yang L, et al. Pink1 regulates mitochondrial dynamics through interaction with the fission/fusion machinery. Proc Natl Acad Sci USA, 2008, 105(19): 7070–7075
- [83] Palacino J J, Sagi D, Goldberg M S, et al. Mitochondrial dysfunction and oxidative damage in parkin-deficient mice. Journal of Biological Chemistry, 2004, 279(18): 18614–18622

- [84]Costa V, Giacomello M, Hudec R, et al. Mitochondrial fission and cristae disruption increase the response of cell models of Huntington's disease to apoptotic stimuli. EMBO Molecular Medicine, 2010, 2(12): 490–503
- [85]Song W, Chen J, Petrilli A, et al. Mutant huntingtin binds the mitochondrial fission GTPase dynamin-related protein-1 and increases its enzymatic activity. Nature Medicine, 2011, 17(3): 377–382
- [86] Wang H, Lim P J, Karbowski M, et al. Effects of overexpression of Huntingtin proteins on mitochondrial integrity. Human Molecular Genetics, 2009a, 18(4): 737–752
- [87] Raimondi A, Mangolini A, Rizzardini M, et al. Cell culture models to investigate the selective vulnerability of motoneuronal mitochondria to familial ALS-linked G93ASOD1. European Journal of Neuroscience, 2006, 24(2): 387–399
- [88] Magrané J, Sahawneh M A, Przedborski S, et al. Mitochondrial dynamics and bioenergetic dysfunction is associated with synaptic alterations in mutant SOD1 motor neurons. The Journal of Neuroscience: the Official Journal of the Society for Neuroscience, 2012, 32(1): 229–242
- [89] Lu J, Duan W, Guo Y, et al. Mitochondrial dysfunction in human TDP-43 transfected NSC34 cell lines and the protective effect of dimethoxy curcumin. Brain Research Bulletin, 2012, 89 (5–6): 185–190
- [90] Shan X, Chiang P M, Price D L, et al. Altered distributions of Gemini of coiled bodies and mitochondria in motor neurons of TDP-43 transgenic mice. Proc Natl Acad Sci USA, 2010, 107(37): 16325–16330
- [91] Xu Y F, Gendron T F, Zhang Y J, et al. Wild-type human TDP-43 expression causes TDP-43 phosphorylation, mitochondrial aggregation, motor deficits and early mortality in transgenic mice. The Journal of Neuroscience: the Official Journal of the Society for Neuroscience, 2010, **30**(32): 10851–10859
- [92] Huang E J, Zhang J, Geser F, et al. Extensive FUS-immunoreactive pathology in juvenile amyotrophic lateral sclerosis with basophilic inclusions. Brain Pathology, 2010, 20(6): 1069–1076
- [93] Tradewell M L, Yu Z, Tibshirani M, et al. Arginine methylation by PRMT1 regulates nuclear-cytoplasmic localization and toxicity of FUS/TLS harbouring ALS-linked mutations. Human Molecular Genetics, 2012, 21(1): 136–149
- [94] Alexander C, Votruba M, Pesch U E A, et al. OPA1, encoding a dynamin-related GTPase, is mutated in autosomal dominant optic atrophy linked to chromosome 3q28. Nature Genetics, 2000, 26(2): 211–215
- [95] Delettre C, Lenaers G, Griffoin J M, et al. Nuclear gene OPA1, encoding a mitochondrial dynamin-related protein, is mutated in dominant optic atrophy. Nature Genetics, 2000, 26(2): 207–210
- [96] Züchner S, Mersiyanova I V, Muglia M, et al. Mutations in the mitochondrial GTPase mitofusin 2 cause Charcot-Marie-Tooth neuropathy type 2A. Nature Genetics, 2004, 36(5): 449–451
- [97] Deng J, Yang M, Chen Y, et al. FUS Interacts with HSP60 to promote mitochondrial damage. PLoS Genetics, 2015,

11(9): e1005357

[98]Li Y, Ray P, Rao E J, *et al.* A *Drosophila* model for TDP-43 proteinopathy. Proc Natl Acad Sci USA, 2010, **107**(7): 3169–3174
[99] Chen Y, Yang M, Deng J, *et al.* Expression of human FUS protein in *Drosophila* leads to progressive neurodegeneration. Protein &

Cell, 2011, **2**(6): 477–486

[100] Fushimi K, Long C, Jayaram N, *et al.* Expression of human FUS/TLS in yeast leads to protein aggregation and cytotoxicity, recapitulating key features of FUS proteinopathy. Protein Cell, 2011, 2(2): 141–149

Mitochondrial Damage Induced by RNA Binding Proteins Which Are Associated With Neurodegenerative Diseases^{*}

ZHU Li^{1)**}, DENG Jian-Wen^{1,2}, WANG Peng^{1,2}, LIU Jiang-Hong¹, Jane Y. Wu^{1,3)**}

 (¹⁾ State Key Laboratory of Brain & Cognitive Science, Institute of Biophysics, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China;
 ²⁾ University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049;
 ³⁾ Department of Neurology, Center for Genetic Medicine, Lurie Cancer Center, Northwestern University Feinberg School of Medicine, Chicago, IL 60611, USA)

Abstract The mitochondria are the energy-generating organelles in the cytoplasm of the cell. They also serve as signaling organelles that coordinate complex cellular functions. Mitochondria are highly dynamic and undergo fusion and fission processes continuously, which is crucial for the maintenance of mitochondrial homeostasis and the balance of mitochondrial turnover. Although most of the evolutionarily conserved core components of the mitochondrial fusion and fission machineries have been identified in the past decade, the mechanistic insights into their molecular functions remain to be investigated. Mitochondrial fusion and fission (collectively termed mitochondrial dynamics) takes part in cellular quality control system and play a key role in the development of the cell, tissue and organism. Dysfunctions of mitochondrial dynamics are implicated in various inherited and age-related neurodegenerative diseases. Thus, the research in the relationship between mitochondrial biology and diseases will remain an exciting field in the coming years.

Key words RNA binding proteins (RBPs), respiration chain complexes, mitochondrial fission and fusion, mitochondrial damage, neurodegenerative diseases **DOI**: 10.16476/j.pibb.2016.0084

^{*} This work was supported by a grant from The National Natural Science Foundation of China (91132710). **Corresponding author.

ZHU Li. Tel: 86-10-64888303, Fax: 86-10-64888031, E-mail: zhuli@moon.ibp.ac.cn

Jane Wu. Tel: 1-312-503-0684, E-mail: jane-wu@northwestern.edu

Received: March 18, 2016 Accepted: March 29, 2016