

**综 述**

## 线粒体分裂和融合相关蛋白质的研究进展

赵丽, 周巧霞, 王拴, 严赫, 王雪尔, 范飞, 黄飞骏\*

四川大学华西基础医学与法医学院法医病理学教研室, 成都 610041

**摘要:** 线粒体是多细胞生物的一个重要组成部分, 它对细胞以及机体的健康具有十分重要的作用。线粒体可以产生能量, 介导钙和活性氧信号转导, 甚至调控细胞凋亡。近年来研究显示, 线粒体在细胞中处于不断分裂与融合的状态, 并且可以在细胞内重新分布, 线粒体的这种特性统称为线粒体动力学。线粒体动力学对维持线粒体各种功能极其重要, 成为了近年来的研究热点。本文重点综述了哺乳动物细胞内线粒体分裂和融合相关蛋白质的结构以及生物学功能。

**关键词:** 线粒体动力学; 线粒体分裂; 线粒体融合; 动力相关蛋白1; 视神经萎缩蛋白1; 融合蛋白1/2

**中图分类号:** R3

## Research progress of mitochondrial fission and fusion related proteins

ZHAO Li, ZHOU Qiao-Xia, WANG Shuan, YAN He, WANG Xue-Er, FAN Fei, HUANG Fei-Jun\*

*Department of Forensic Pathology, West China School of Basic Science and Forensic Medicine, Sichuan University, Chengdu 610041, China*

**Abstract:** Mitochondria are an essential component of multicellular life and play important roles in the health of the cells and the body. Mitochondria can produce energy by oxidative phosphorylation, mediate calcium and reactive oxygen signal transduction, and regulate cell apoptosis. Recent studies indicate that mitochondria continually change their shapes and distribution by fission and fusion, which are collectively termed mitochondrial dynamics. Mitochondrial dynamics play critical roles in maintaining mitochondrial function. This review focuses on the structure and biological functions of mitochondrial fission and fusion related proteins in mammal cells.

**Key words:** mitochondrial dynamics; mitochondrial fission; mitochondrial fusion; dynamin-related protein 1; optic atrophy 1; mitofusin-1/2

线粒体是一个具有双层膜结构的细胞器, 它的状态对细胞的存活和死亡息息相关。在活体细胞中, 线粒体并不是一成不变的, 其形态会随着机体、器官系统以及生理环境改变而改变。它不断分裂和融合, 在细胞中形成了一种网络状的作用模式, 可以在细胞中重新分布以最大限度地满足细胞的需求。线粒体这种不断的分裂和融合状态以及在细胞中重新分布的特性称为线粒体动力学。线粒体动力学不仅可以维持线粒体 DNA、氧化呼吸作用、细胞内生物合成、细胞内钙信号通路转导, 而且在胚胎发

育、细胞凋亡以及神经细胞重塑过程中也是必不可少的, 对线粒体、细胞的健康以及生物体的正常运转至关重要。线粒体分裂和融合的不平衡常常导致线粒体结构改变和功能障碍: 线粒体融合异常会引起线粒体分裂成碎片状, 线粒体的分裂障碍会导致巨大线粒体形成。

线粒体动力学相关的主要蛋白质均为具有 GTP 酶功能的动力蛋白质家族成员, 它们分子量比较大, 主要包括动力相关蛋白 1 (dynamin-related protein 1, DRP1)、视神经萎缩蛋白 1 (optic atrophy 1, OPA1)

和融合蛋白 1/2 (mitofusin-1/2, MFN1/2)<sup>[1-3]</sup>。DRP1 介导线粒体分裂, MFN1/2 和 OPA1 分别介导线粒体外膜和内膜的融合。经过二十多年的研究, 关于线粒体分裂和融合的研究已经取得了很大进展, 但是, 这些过程的基本分子机制还有待进一步的探索。

## 1 线粒体分裂的调节机制

新的线粒体不是从头合成的, 而是由已经存在的线粒体分裂产生的, 这种方式和细胞的产生方式类似。线粒体分裂就是线粒体膜的断裂使线粒体基质和线粒体 DNA 重新分配在两个新的线粒体的过程。线粒体分裂对维持线粒体 DNA 及线粒体膜电位的稳定至关重要, 它可以使受损的线粒体 DNA 以及去极化的线粒体膜在分裂时聚集到一个子线粒体中, 并进一步通过泛素化-蛋白酶系统或者自噬作用消除, 从而维持了线粒体的正常功能<sup>[4-6]</sup>。

DRP1 是哺乳动物中线粒体分裂的主要执行者, 它是由人类 12 号染色体、小鼠的 16 号染色体的 *DNM1L* 基因编码产生的。它主要存在于胞浆, 在线粒体分裂时才移位到线粒体的表面。去除细胞中 DRP1 可以导致线粒体的融合, 形成体积巨大的线粒体。DRP1 基因敲除的小鼠胚胎在大约 11.5 d 时死亡, 这主要是由于心肌细胞搏动频率下降所致<sup>[7]</sup>。此外, 小鼠选择性 DRP1 基因敲除研究显示, DRP1 缺失可以引起小鼠心腔扩张、小脑发育迟缓以及大脑皮层细胞过早凋亡等现象<sup>[7,8]</sup>。此外, Twig 等<sup>[9]</sup> 研究显示, DRP1 显性负性突变可以阻碍线粒体自噬的发生, 这为我们研究线粒体分裂与线粒体自噬的关系提供了方向。

### 1.1 DRP1 蛋白的结构及其调节机制

DRP1 从 N 端到 C 端主要包含四个区域: GTP 酶区、中间区、多变区和 GTP 酶效应区 (图 1A)。根据 DRP1 蛋白的空间结构, DRP1 又可以分为 GTP 酶区、信号元件束区以及茎区。信号元件束由 GTP 酶区起始段、中间区以及 GTP 酶效应区的三部分片段组成, 它是 GTP 酶区和茎区的连接部位; 茎区顶端包括两个环状结构, L2<sup>S</sup> 和一个由 b- 插入部分组成的环状结构, 这两个环状结构可能与 DRP1 多聚物的形成以及线粒体膜的靶向连接有关<sup>[10,11]</sup>。

在哺乳动物中, DRP1 存在多种亚型, 这是由 mRNA 前体经过选择性剪接编码形成的。选择性剪接的部位存在于 GTP 酶区的 A- 插入部分和多变区的 B- 插入部分, 这两个部位经过剪接后可以形成

不同的亚型<sup>[12]</sup>。DRP1 亚型在组织中存在一定程度的组织特异性, 在脑组织中以长链型 DRP1 为主, 在其余组织中则以短链型为主<sup>[12]</sup>。在生理条件下, DRP1 以二聚体和多聚体两种存在形式共存于细胞中, DRP1 的二聚体形式可以引起线粒体膜重塑, 而 DRP1 多聚体则会促进 GTPase 活性从而诱导线粒体分裂<sup>[13]</sup>。

DRP1 的翻译后调控机制包括磷酸化、SUMO (small ubiquitin-like modifier) 化、亚硝基化以及泛素化等修饰, 其中以磷酸化为主。现阶段学者们已发现了 DRP1 的四个主要磷酸化位点, 它们分别位于 DRP1 的第 600、616、637、693 位的丝氨酸残基<sup>[14-18]</sup>。这四个位点丝氨酸残基的磷酸化都具有不同的作用, 甚至同一位点的磷酸化可以引起相反的作用。例如, DRP1 第 600 位点丝氨酸残基可以在钙调蛋白依赖的蛋白激酶 I $\alpha$  (calmodulin-dependent protein kinase I $\alpha$ , CAMK I $\alpha$ ) 的作用下发生磷酸化, 促进 DRP1 转运到线粒体外膜从而促进线粒体分裂<sup>[14]</sup>; 线粒体外膜上 DRP1 第 616 位丝氨酸残基可以在钙调蛋白依赖的蛋白激酶 II (calmodulin-dependent protein kinase II, CAMK II)、细胞周期蛋白依赖性激酶 1 (cyclin dependent kinase 1, Cdk1)、蛋白激酶 C $\delta$  (protein kinase C isoform  $\delta$ , PKC $\delta$ ) 等作用下发生磷酸化, 同样可以引发线粒体分裂<sup>[15,16]</sup>; DRP1 第 637 位丝氨酸残基可以被蛋白激酶 A (protein kinase A, PKA) 磷酸化, 可使 DRP1 远离线粒体, 从而抑制线粒体的分裂, 然而 CAMK II 使 DRP1 这个位点的磷酸化可以增强线粒体分裂<sup>[15,17]</sup>; 糖原合成酶激酶 3 $\beta$  (glycogen synthase kinase 3 $\beta$ , GSK3 $\beta$ ) 可以使 DRP1 第 693 位丝氨酸残基磷酸化, 抑制 GTP 水解、阻止线粒体分裂, 可导致细胞凋亡<sup>[18]</sup>。此外, DRP1 第 656 位丝氨酸的磷酸化对神经元的生长也存在调节作用: PKA/A 型激酶锚定蛋白 1 (PKA/A kinase anchoring protein 1, AKAP1) 促进了 DRP1 磷酸化, 可促进树突的生长, 同时减少突触的数量和密度; 而蛋白磷酸化酶 2A (protein phosphatase 2A, PP2A)/B $\beta$ 2 促进 DRP1 去磷酸化, 可以在减缓树突生长的同时增强突触的形成<sup>[19]</sup>。以上研究表明, DRP1 的相互作用有可能与磷酸化介导的构象变化有关, 但是否存在其他的修饰位点, 还有待进一步研究。

### 1.2 DRP1 介导的线粒体分裂

DRP1 属于核 DNA 编码的蛋白质, 存在于胞浆当中, 只有在线粒体分裂时才会转移到线粒体表面

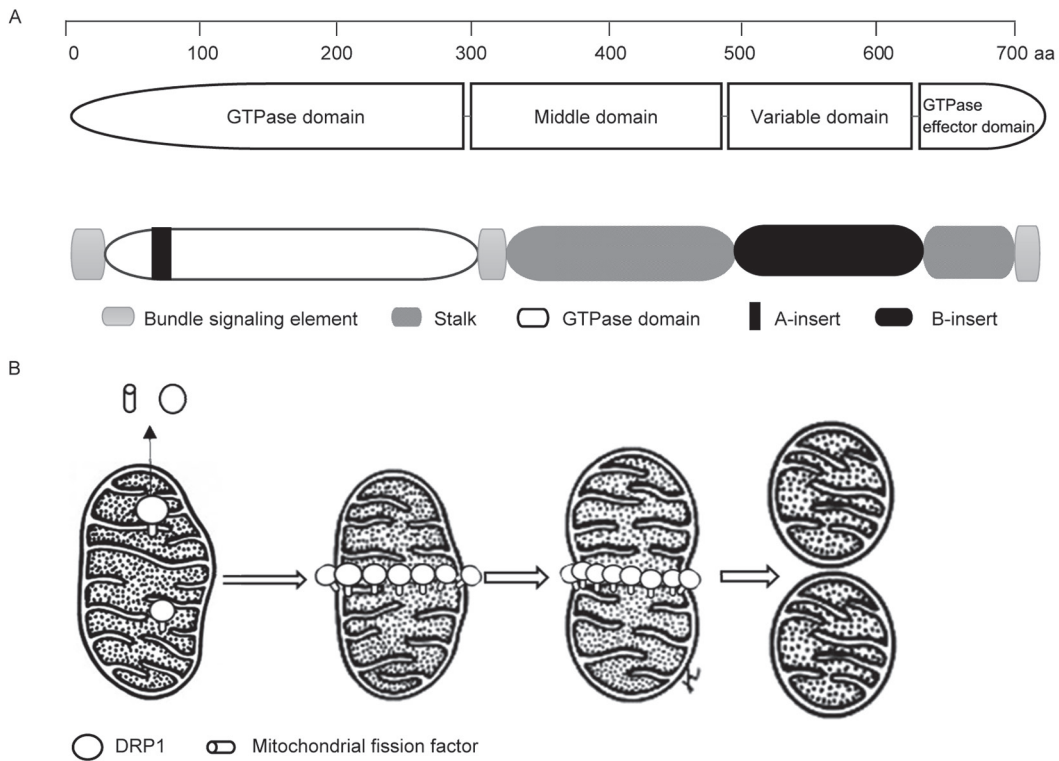


图 1. 动力相关蛋白1 (DRP1)的结构及线粒体分裂示意图

Fig. 1. Dynamin-related protein 1 (DRP1) structure and mitochondrial fission. *A*: Domain structure of DRP1. *B*: Diagram of mitochondrial fission. DRP1 and mitochondrial anchoring protein form a complex on the surface of mitochondrion, which forms a ring-like assembly in the fission site of mitochondrion. The ring-like polymer contracts and splits the mitochondrion eventually.

参与线粒体的分裂, DRP1 介导的线粒体分裂过程大致如下 (图 1B): (1) DRP1 从胞浆转运到将要分裂的线粒体表面, 并与其受体结合形成复合物; (2) DRP1 与受体的复合物通过胞浆转运到线粒体分裂的位点; (3) DRP1 在线粒体的周围组装成环状多聚物; (4) 在 GTP 水解作用下, DRP1 环状多聚物收缩, 最终线粒体分裂。此外, 研究显示, 在线粒体分裂位点周围有内质网小管包绕, 而且内质网还可以辅助  $\text{Ca}^{2+}$  进入线粒体, 进而将 DRP1 招募到线粒体表面<sup>[20, 21]</sup>。这表明, 线粒体分裂与内质网有关, 但是具体机制还不清楚。当 DRP1 被激活时, 线粒体直径逐渐减小, 最终线粒体不均匀分裂产生两个膜电位不等的子线粒体, 但是 DRP1 螺旋环沿线粒体的长度没有显著改变<sup>[9, 22]</sup>。Lee 等<sup>[23]</sup> 研究显示 DRP1 仅使线粒体膜处于收缩状态, 而动力学蛋白 2 (dynamin-2, dyn2) 可以使线粒体膜最终分裂。这个新发现为以后的研究也提供了新方向。

由于 DRP1 并不具有线粒体膜锚定功能, 而且环状 DRP1 多聚物没有其他蛋白的参与, 这就需要其他的线粒体膜锚定蛋白将 DRP1 招募到线粒体表

面<sup>[24]</sup>。最近几年研究显示, 哺乳动物中由线粒体分裂蛋白 1 (mitochondrial fission 1 protein, Fis1)、49/51 kDa 的线粒体 N 末端锚定蛋白 (N-terminally anchored mitochondrial dynamics proteins of 49 and 51 kDa, MID49/51) 和线粒体分裂因子 (mitochondrial fission factor, MFF) 招募 DRP1<sup>[25–27]</sup>。在哺乳动物细胞中依赖 DRP1 线粒体分裂的具体分子机制还不太清楚, 但是 DRP1 相关受体的研究得到一定进展。Fis1 普遍存在于线粒体外膜, 并可以竞争性地结合 MID51, 从而提高 DRP1 的活性<sup>[28]</sup>, 但是在人体中 Fis1 的功能仍存在争议。Mai 等<sup>[29]</sup> 研究显示, Fis1 敲除可以增加线粒体内小管的相互联系, 而过度表达则会增加线粒体的分裂; 但 Osellame 等<sup>[30]</sup> 则认为在人体细胞中 DRP1 的活性不受 Fis1 沉默或过表达的影响。此外, Shen 等<sup>[31]</sup> 研究显示, 在细胞应激时, Fis1 可以引发线粒体自噬。MFF 过度表达可诱导线粒体的分裂, 而 MID51 或 MID49 的过度表达可使线粒体拉伸<sup>[32]</sup>; 在 MFF 或 MID49/51 无表达的细胞系中线粒体分裂部分受到抑制, 但在 MFF/MID49/51 无表达的细胞系中线粒体分裂完全被抑制, 这表明

MID49/51 和 MFF 对 DRP1 的作用是相互独立的但又存在一定的协作关系<sup>[33-35]</sup>。随后的 Loson 等<sup>[36]</sup> 研究显示, MID49/51 具有不同的功能, MID51 可以结合一个二磷酸腺苷, MID49 可以招募 DRP1 到线粒体表面。

## 2 线粒体融合的调节机制

与线粒体分裂相比, 线粒体融合是一个更复杂的过程。线粒体具有双层膜结构, 线粒体内、外膜的融合是独立进行的, 分别由 OPA1、MFN1/2 介导完成的。虽然两个融合过程是分开的, 但却高度协调。有研究者发现在线粒体融合过程中, OPA1 和 MFN1/2 可以相互作用, 这可能是引起线粒体内外膜融合高度协调的一种调节机制<sup>[37]</sup>。此外, 有研究显示, MFN1/2 均缺乏的细胞线粒体外、内膜融合均出现障碍, 而在 OPA1 缺乏的细胞中, 巨大的线粒体外膜中存在许多独立只具有内膜的线粒体, 这表明线粒体融合需要线粒体融合相关蛋白质来完成<sup>[38]</sup>。线粒体融合的主要目的是交换它们的基质(主要是遗传物质)。这样, 线粒体可以通过交叉互补的方式来挽救线粒体, 并减轻细胞环境改变带来的损害。

### 2.1 线粒体外膜的融合

线粒体外膜的融合是由 MFN1/2 介导完成的, MFN1 是由人类和小鼠 3 号染色体的 *MFN1* 基因编码的, 而 MFN2 是由人类 1 号、小鼠 4 号染色体的 *MFN2* 基因编码形成的<sup>[39]</sup>。有趣的是, MFN1 在线粒体外膜融合过程中似乎发挥着更重要的作用, 因为相比较 MFN2 来说, 抑制 MFN1 基因表达可以导致线粒体更明显的分裂, 但是, 诱导细胞中 MFN2 过表达可以弥补细胞中 MFN1 完全缺失带来的影响<sup>[3]</sup>。*MFN1*、*MFN2* 基因敲除小鼠分别在胚胎期 11.5 和 12.5 d 时由于胎盘发育不良而死亡, 而 *MFN1/2* 双基因敲除小鼠会更快死亡, 这表明这两个蛋白在胚胎发育的早期阶段的功能可能有不重复的部分<sup>[3]</sup>。*MFN1* 和 *MFN2* 基因敲除的胚胎还表现出发育迟缓和畸形<sup>[3]</sup>。此外, *MFN2* 基因突变可引起进行性神经性腓骨肌萎缩症 2A 型<sup>[40]</sup>。

MFN1/2 从 N 端到 C 端主要包含: GTP 酶区、中间区、跨膜区以及 GTP 酶效应区(图 2A), 其中存在两处七肽重复片段(heptad repeat, HR), 一处位于中间区称为 HR1, 一处位于 C 端的 GTP 酶效应区称为 HR2<sup>[41]</sup>。最初, 有学者发现 MFN1 的 HR2 是一个反平行的二聚体的螺旋结构, 由此猜测融合

的线粒体通过 HR2 形成 MFN-MFN 相互作用的结构, 然后通过 GTP 水解使线粒体融合<sup>[41]</sup>。但是最近研究显示, MFN1 的晶体结构主要包括 GTP 酶区、跨膜区以及两个螺旋束, 其中由四个螺旋结构组成螺旋束称为螺旋束 1, 另一个称为螺旋束 2<sup>[42, 43]</sup>。螺旋束 1 中两个螺旋结构由 GTP 酶区的 N-末端延伸形成, 一个来自于 GTP 酶区的末端, 还有一个由 HR2 形成。而 HR1 是螺旋束 2 的组成部分<sup>[42, 43]</sup>。这些结构的发现为线粒体外膜融合分子机制的了解提供了很大的帮助。

### 2.2 线粒体内膜融合

线粒体内膜的融合主要是由 OPA1 来介导的。OPA1 由人类的 3 号染色体、小鼠的 16 号染色体的 *OPA1* 基因编码形成的。OPA1 是在线粒体胞浆中形成前体蛋白, 然后被转运到线粒体发挥作用。OPA1 除了可以介导线粒体内膜的融合外, 还可以维持线粒体嵴的正常形态。*OPA1* 基因敲除小鼠在胚胎期 13.5 d 左右发生死亡, 并会导致视网膜神经节细胞的萎缩和缺失, 这说明视网膜神经节细胞和早期胚胎的生存至关重要<sup>[52, 53]</sup>。*OPA1* 基因突变会导致常染色体显性视神经萎缩<sup>[54]</sup>。

#### 2.2.1 OPA1 的结构及其调节

OPA1 从 N 端到 C 端主要包含: 导入肽、跨膜区、选择性剪切区、螺旋结构区、GTP 酶区、中间区以及 GTP 酶效应区(图 2B)。OPA1 的 N 端导入肽可以将其导入线粒体膜间隙, 在其导入过程中, 导入肽被线粒体加工肽酶水解形成长片段的 OPA1 蛋白(L-OPA1), L-OPA1 跨膜区可将其锚定在线粒体内膜上, 但它的主要部分还是位于线粒体膜间隙<sup>[55]</sup>(图 2C)。L-OPA1 在跨膜结构域的下流水解可产生短片段的 OPA1(S-OPA1), 它存在于线粒体膜间隙, 具有线粒体嵴的重塑作用。OPA1 分子选择性剪切区存在三个裂解位点 S1、S2 和 S3, 位点 S1 是由位于线粒体内膜的金属蛋白酶 *oma1* 裂解, 位点 S2 和 S3 则由位于膜间隙的金属蛋白酶 *yme111* 裂解<sup>[54, 56, 57]</sup>。所有的 S-OPA1 亚型都会在 S1 位点裂解, 只有部分亚型会在 S2 或 S3 位点裂解<sup>[57]</sup>。OPA1 已经确定具有八个亚型, 所有亚型都位于线粒体膜间隙<sup>[58]</sup>。L-OPA1 具有膜锚定作用, 当 L-OPA1 水解形成 S-OPA1 后会失去线粒体融合功能, 但是, S-OPA1 可以维持氧化磷酸化功能以及维持线粒体嵴的正常结构以及功能。由上可知, 蛋白质裂解是 OPA1 介导线粒体内膜融合的主要调节机制<sup>[59, 60]</sup>。此外, 不同长度

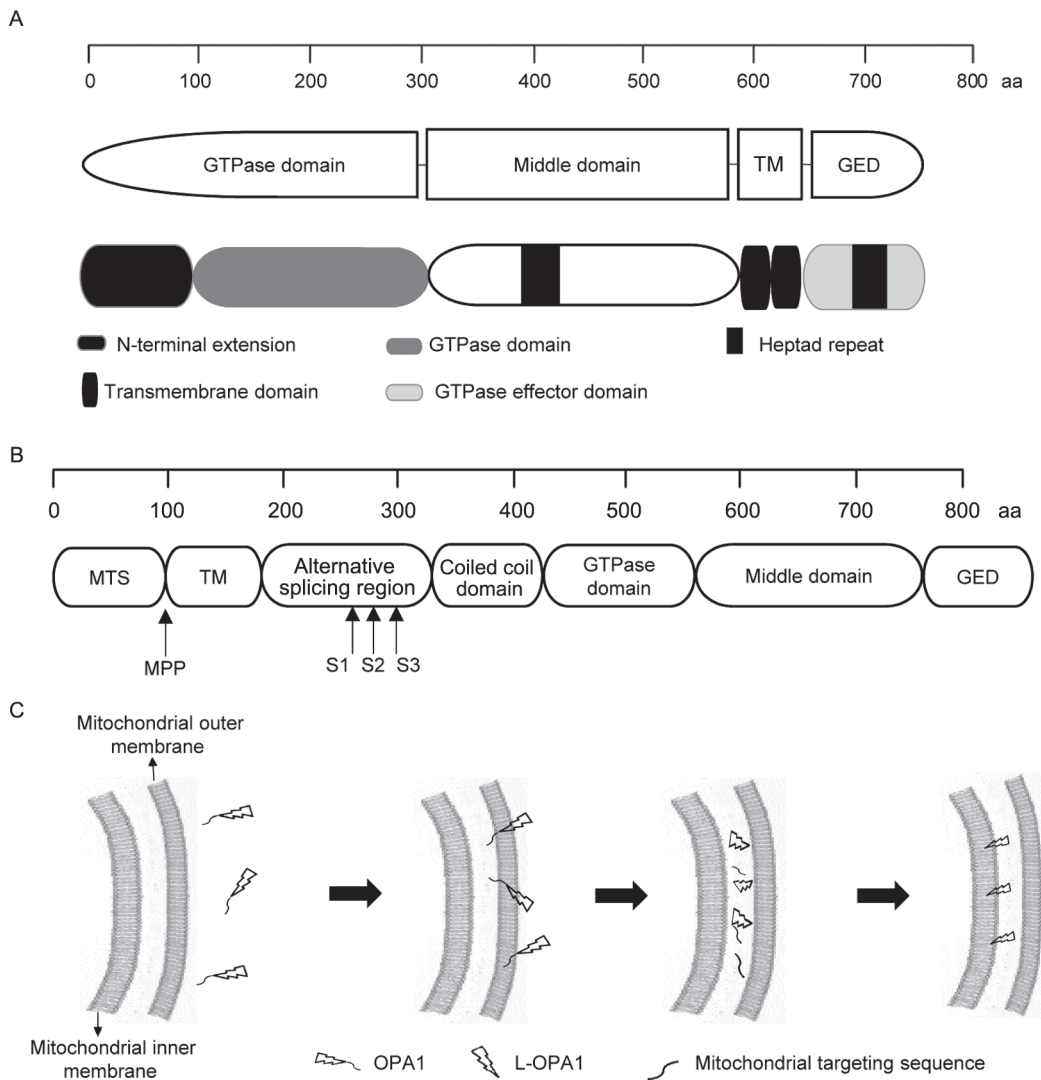


图 2. 融合蛋白1/2 (MFN1/2)、视神经萎缩蛋白1 (OPA1)的蛋白结构示意图及L-OPA1的形成过程

Fig. 2. Domain structures of mitofusin-1/2 (MFN1/2, *A*) and optic atrophy 1 (OPA1, *B*), as well as the formation of long isoforms of OPA1 (L-OPA1, *C*). MTS, mitochondrial targeting sequence; MPP, matrix processing peptidase; TM, transmembrane domain; GED, GTPase effector domain.

的 OPA1 亚型在线粒体动力学中的具体作用目前还不明确。

### 2.2.2 OPA1介导的线粒体内膜融合

与其它线粒体动力学相关蛋白质不同, OPA1介导的线粒体内膜融合不是通过 OPA1-OPA1 的形式来完成的, 但是这种形式的作用对线粒体嵴的维持却十分重要<sup>[40, 61]</sup>。有研究显示, L-OPA1 与心磷脂丰富的线粒体外膜区域作用时会具有融合功能, 线粒体内膜的融合需要 OPA1 和心磷脂的相互作用<sup>[61, 62]</sup>。Ban 等<sup>[61]</sup>发现只要一个线粒体内膜中存在 OPA1, 另一个线粒体内膜中存在足够的心磷脂, 两个线粒体内膜就会发生融合, 但是其具体机制尚不

清楚(图 3)。线粒体内膜富含心磷脂, 约占总磷脂含量 18%~25%, 远远高于线粒体外膜, 加之在线粒体内膜融合时不会与线粒体外膜以外的膜结构接触, 造成的这种蛋白质-磷脂相互作用的特异性<sup>[63]</sup>。在正常环境下, 线粒体融合需要 L-OPA1 和 S-OPA1 相互配合来完成, 但是在特殊的应激环境下, 只存在 L-OPA1 也可以使线粒体融合<sup>[64, 65]</sup>。L-OPA1 和 S-OPA1 在线粒体内膜融合中的关系需要进一步研究。

## 3 结语

线粒体动力学的运行情况对细胞及机体的生存和死亡都至关重要。线粒体分裂和融合虽然是分别

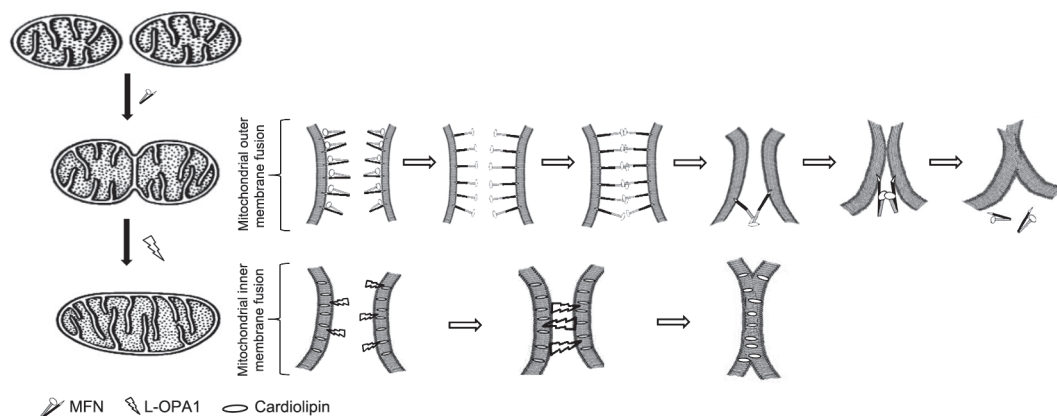


图 3. 线粒体融合示意图

Fig. 3. Diagram of mitochondrial fusion. Mitochondrial fusion includes fusion of mitochondrial outer membrane (OM) and inner membrane (IM). Fusion of the OM is carried out by MFN1/2, whereas fusion of the IM involves an interaction between OPA1 on one side and cardiolipin on the other side.

进行的但却高度协调。有研究显示，抑制细胞中 DRP1 表达可以引起 MFN1/2 的减少以及 L-OPA1 水解形成 S-OPA1，使细胞中 MFN1/2 以及 L-OPA1 的水平降低，这表明细胞中线粒体分裂和融合相关蛋白质存在一定的平衡机制，保持线粒体分裂和融合平衡，以防止过度的线粒体分裂和融合引起细胞功能失调<sup>[50, 66]</sup>。但是在机体更复杂的细胞环境中，线粒体分裂与融合协调的机制目前还不清楚。

线粒体动力学近年来一直是细胞生物学的研究热点。线粒体动力学相关蛋白质的功能可以通过转录后修饰以及水解等作用来调节，但是，这些经过加工的蛋白质对线粒体的具体作用还有待进一步整合研究。此外，由于这些蛋白质的三维结构只得到了部分研究，还需要我们继续研究其结构，以更全面地了解其作用机制。

### 参考文献

- Rodius F, Claudepierre T, Rosas-Vargas H, Cisneros B, Montanez C, Dreyfus H, Mornet D, Rendon A. Dystrophins in developing retina: Dp260 expression correlates with synaptic maturation. *Neuroreport* 1997; 8(9-10): 2383-2387.
- Alexander C, Votruba M, Pesch UE, Thiselton DL, Mayer S, Moore A, Rodriguez M, Kellner U, Leo-Kottler B, Auburger G, Bhattacharya SS, Wissinger B. OPA1, encoding a dynamin-related GTPase, is mutated in autosomal dominant optic atrophy linked to chromosome 3q28. *Nat Genet* 2000; 26(2): 211-215.
- Chen H, Detmer SA, Ewald AJ, Griffin EE, Fraser SE, Chan DC. Mitofusins MFN1 and MFN2 coordinately regulate mitochondrial fusion and are essential for embryonic development. *J Cell Biol* 2003; 160(2): 189-200.
- Egan DF, Shackelford DB, Mihaylova MM, Gelino SR, Kohnz RA, Mair W, Vasquez DS, Joshi A, Gwinn DM, Taylor R, Asara JM, Fitzpatrick J, Dillin A, Viollet B, Kundu M, Hansen M, Shaw RJ. Phosphorylation of ULK1 (hATG1) by AMP-activated protein kinase connects energy sensing to mitophagy. *Science* 2011; 331(6016): 456-461.
- Nargund AM, Pellegrino MW, Fiorese CJ, Nargund AM, Pellegrino MW, Fiorese CJ, Baker BM, Haynes CM. Mitochondrial import efficiency of ATFS-1 regulates mitochondrial UPR activation. *Science* 2012; 337(6094): 587-590.
- Tanaka A, Cleland MM, Xu S, Narendra DP, Suen DF, Karbowski M, Youle RJ. Proteasome and p97 mediate mitophagy and degradation of mitofusins induced by Parkin. *J Cell Biol* 2010; 191: 1367-1380.
- Wakabayashi J, Zhang Z, Wakabayashi N, Tamura Y, Fukaya M, Kensler TW, Iijima M, Sesaki H. The dynamin-related GTPase DRP1 is required for embryonic and brain development in mice. *J Cell Biol* 2009; 186(6): 805-816.
- Ishihara N, Nomura M, Jofuku A, Kato H, Suzuki SO, Masuda K, Otera H, Nakanishi Y, Nonaka I, Goto Y, Taguchi N, Morinaga H, Maeda M, Takayanagi R, Yokota S, Mihara K. Mitochondrial fission factor DRP1 is essential for embryonic development and synapse formation in mice. *Nat Cell Biol* 2009; 11(8): 958-966.
- Twig G, Elorza A, Molina AJA, Mohamed H, Wikstrom JD, Walzer G, Stiles L, Haigh SE, Katz S, Las G, Alroy J, Wu M, Py BF, Yuan JY, Deeney JT, Corkey BE, Shirihai OS. Fission and selective fusion govern mitochondrial segregation and elimination by autophagy. *EMBO J* 2008; 27: 433-446.
- Fröhlich C, Grabiger S, Schwefel D, Faelber K, Rosenbaum E, Mears J, Rocks O, Daumke O. Structural insights into

- oligomerization and mitochondrial remodelling of dynamin 1-like protein. *EMBO J* 2013; 32(9): 1280–1292.
- 11 Clinton RW, Francy CA, Ramachandran R, Qi X, Mears JA. Dynamin-related protein 1 oligomerization in solution impairs functional interactions with membrane-anchored mitochondrial fission factor. *J Biol Chem* 2016; 291(1): 478–492.
  - 12 Uo T, Dworzak J, Kinoshita C, Inman DM, Kinoshita Y, Horner PJ, Morrison RS. DRP1 levels constitutively regulate mitochondrial dynamics and cell survival in cortical neurons. *Exp Neurol* 2009; 218(2): 274–285.
  - 13 Macdonald PJ, Stepanyants N, Mehrotra N, Mears JA, Qi X, Sesaki H, Ramachandran R. A dimeric equilibrium intermediate nucleates DRP1 reassembly on mitochondrial membranes for fission. *Mol Biol Cell* 2014; 25(12): 1905–1915.
  - 14 Han XJ, Lu YF, Li SA, Kaitsuka T, Sato Y, Tomizawa K, Naim AC, Takei K, Matsui H, Matsushita M. CaM kinase I alpha-induced phosphorylation of DRP1 regulates mitochondrial morphology. *J Cell Biol* 2008; 182(3): 573–585.
  - 15 Bo T, Yamamori T, Suzuki M, Sakai Y, Yamamoto K, Inanami O. Calmodulin-dependent protein kinase II (CaMKII) mediates radiation-induced mitochondrial fission by regulating the phosphorylation of dynamin-related protein 1 (Drp1) at serine 616. *Biochem Biophys Res Commun* 2018; 495(2): 1601–1607.
  - 16 Zaja I, Bai X, Liu Y, Kikuchi C, Dosenovic S, Yan Y, Canfield SG, Bosnjak ZJ. Cdk1, PKC $\delta$  and calcineurin-mediated Drp1 pathway contributes to mitochondrial fission-induced cardiomyocyte death. *Biochem Biophys Res Commun* 2014; 453(4): 710–721.
  - 17 Chang CR, Blackstone C. Cyclic AMP-dependent protein kinase phosphorylation of DRP1 regulates its GTPase activity and mitochondrial morphology. *J Biol Chem* 2007; 282(30): 21583–21587.
  - 18 Chou CH, Lin CC, Yang MC, Wei CC, Liao HD, Lin RC, Tu WY, Kao TC, Hsu CM, Cheng JT, Chou AK, Lee CI, Loh JK, Hwang SL, Hong YR. GSK3 $\beta$ -mediated DRP1 phosphorylation induced elongated mitochondrial morphology against oxidative stress. *PLoS One* 2012; 7(11): e49112.
  - 19 Dickey AS, Strack S. PKA/AKAP1 and PP2A/B $\beta$ 2 regulate neuronal morphogenesis via DRP1 phosphorylation and mitochondrial bioenergetics. *J Neurosci* 2011; 31(44): 15716–15726.
  - 20 Friedman JR, Lackner LL, West M, DiBenedetto JR, Nunari J, Voeltz GK. ER tubules mark sites of mitochondrial division. *Science* 2011; 334(6054): 358–362.
  - 21 Ortiz-Sandoval CG, Hughes SC, Dacks JB, Simmen T. Interaction with the effector dynamin-related protein 1 (DRP1) is an ancient function of Rab32 subfamily proteins. *Cell Logist* 2014; 4(4): e986399.
  - 22 Rosenbloom AB, Lee SH, To M, Lee A, Shin JY, Bustamante C. Optimized two-color super resolution imaging of DRP1 during mitochondrial fission with a slow-switching Dronpa variant. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2014; 111(36): 13093–13098.
  - 23 Lee JE, Westrate LM, Wu H, Page C, Voeltz GK. Multiple dynamin family members collaborate to drive mitochondrial diversion. *Nature* 2016; 540(7631): 139–143.
  - 24 Macdonald PJ, Francy CA, Stepanyants N, Lehman L, Baglio A, Mears JA, Qi X, Ramachandran R. Distinct splice variants of dynamin-related protein 1 differentially utilize mitochondrial fission factor as an effector of cooperative GTPase activity. *J Biol Chem* 2016; 291(1): 493–507.
  - 25 Stojanovski D, Koutsopoulos OS, Okamoto K, Ryan MT. Levels of human Fis1 at the mitochondrial outer membrane regulate mitochondrial morphology. *J Cell Sci* 2004; 117(Pt 7): 1201–1210.
  - 26 Palmer CS, Osellame LD, Laine D, Koutsopoulos OS, Frazier AE, Ryan MT. MID49 and MID51, new components of the mitochondrial fission machinery. *EMBO Rep* 2011; 12(6): 565–573.
  - 27 Gandre-Babbe S, van der Blik AM. The novel tail-anchored membrane protein Mff controls mitochondrial and peroxisomal fission in mammalian cells. *Mol Biol Cell* 2008; 19(6): 2402–2412.
  - 28 Zhang Z, Liu L, Wu S, Xing D. DRP1, Mff, Fis1, and MID51 are coordinated to mediate mitochondrial fission during UV irradiation-induced apoptosis. *FASEB J* 2016; 30(1): 466–476.
  - 29 Mai S, Klinkenberg M, Auburger G, Bereiter-Hahn J, Jendrach M. Decreased expression of DRP1 and Fis1 mediates mitochondrial elongation in senescent cells and enhances resistance to oxidative stress through PINK1. *J Cell Sci* 2010; 123(Pt 6): 917–926.
  - 30 Osellame LD, Singh AP, Stroud DA, Palmer CS, Stojanovski D, Ramachandran R, Ryan MT. Cooperative and independent roles of the DRP1 adaptors Mff, MID49 and MID51 in mitochondrial fission. *J Cell Sci* 2016; 129(11): 2170–2181.
  - 31 Shen Q, Yamano K, Head BP, Kawajiri S, Cheung JTM, Wang C, Choa JH, Hattoric N, Youle RJ, Blika AM. Mutations in Fis1 disrupt orderly disposal of defective mitochondria. *Mol Biol Cell* 2014; 25: 145–159.
  - 32 Otera H, Wang C, Cleland MM, Setoguchi K, Yokota S, Youle RJ, Mihara K. Mff is an essential factor for mitochondrial recruitment of DRP1 during mitochondrial fission in mammalian cells. *J Cell Biol* 2010; 191(6): 1141–1158.
  - 33 Koirala S, Guo Q, Kalia R, Bui HT, Eckert DM, Frost A, Shaw JM. Interchangeable adaptors regulate mitochondri-

- al dynamin assembly for membrane scission. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2013; 110(5): E1342–E1351.
- 34 Palmer CS, Elgass KD, Parton RG, Osellame LD, Stojanovski D, Ryan MT. Adaptor proteins MID49 and MID51 can act independently of Mff and Fis1 in DRP1 recruitment and are specific for mitochondrial fission. *J Biol Chem* 2013; 288(38): 27584–27593.
- 35 Otera H, Miyata N, Kuge O, Mihara K. DRP1-dependent mitochondrial fission via MID49/51 is essential for apoptotic cristae remodeling. *J Cell Biol* 2016; 212(5): 531–544.
- 36 Loson OC, Meng S, Ngo H, Liu R, Kaiser JT, Chan DC. Crystal structure and functional analysis of MID49, a receptor for the mitochondrial fission protein DRP1. *Protein Sci* 2015; 24(3): 386–394.
- 37 Guillery O, Malka F, Landes T, Guillou E, Blackstone C, Lombès A, Belenguer P, Arnoult D, Rojo M. Metalloprotease-mediated OPA1 processing is modulated by the mitochondrial membrane potential. *Biol Cell* 2008; 100(5): 315–325.
- 38 Song Z, Ghochani M, McCaffery JM, Frey TG, Chan DC. Mitofusins and OPA1 mediate sequential steps in mitochondrial membrane fusion. *Mol Biol Cell* 2009; 20(15): 3525–3532.
- 39 Reddy PH, Reddy TP, Manczak M, Calkins MJ, Shirendeb U, Mao P. Dynamin-related protein 1 and mitochondrial fragmentation in neurodegenerative diseases. *Brain Res Rev* 2011; 67(1–2): 103–118.
- 40 Züchner S, Mersyanova IV, Muglia M, Bissar-Tadmouri N, Rochelle J, Dadali EL, Zappia M, Nelis E, Patitucci A, Senderek J, Parman Y, Evgrafov O, Jonghe PD, Takahashi Y, Tsuji S, Pericak-Vance MA, Quattrone A, Battaloglu E, Polyakov AV, Timmerman V, Schröder JM, Vance JM. Mutations in the mitochondrial GTPase mitofusin 2 cause Charcot-Marie-Tooth neuropathy type 2A. *Nat Genet* 2004; 36(5): 449–451.
- 41 Koshiba T, Detmer SA, Kaiser JT, Chen H, McCaffery JM, Chan DC. Structural basis of mitochondrial tethering by mitofusin complexes. *Science* 2014; 305(5685): 858–862.
- 42 Qi Y, Yan L, Yu C, Guo X, Zhou X, Hu X, Huang X, Rao Z, Lou Z, Hu J. Structures of human mitofusin 1 provide insight into mitochondrial tethering. *J Cell Biol* 2016; 215(5): 621–629.
- 43 Cao YL, Meng S, Chen Y, Feng JX, Gu DD, Yu B, Li YJ, Yang JY, Liao S, Chan DC, Gao S. MFN1 structures reveal nucleotide-triggered dimerization critical for mitochondrial fusion. *Nature* 2017; 42(7641): 372–376.
- 44 Hernandez-Alvarez MI, Paz JC, Sebastian D, Muñoz JP, Liesa M, Segalés J, Palacín M, Zorzano A. Glucocorticoid modulation of mitochondrial function in hepatoma cells requires the mitochondrial fission protein DRP1. *Antioxid Redox Signal* 2013; 19(4): 366–378.
- 45 Li J, Li Y, Jiao J, Wang J, Li Y, Qin D, Li P. Mitofusin 1 is negatively regulated by microRNA 140 in cardiomyocyte apoptosis. *Mol Cell Biol* 2014; 34(10): 1788–1799.
- 46 Soriano FX, Soriano FX, Fernandez-Pascual S, Sancho A, Naon D, Vila-Caballer M, González-Navarro H, Portugal J, Andrés V, Palacín M, Zorzano A. The promoter activity of human MFN2 depends on Sp1 in vascular smooth muscle cells. *Cardiovasc Res* 2012; 94(1): 38–47.
- 47 Soriano FX, Liesa M, Bach D, Chan DC, Palacín M, Zorzano A. Evidence for a mitochondrial regulatory pathway defined by peroxisome proliferator-activated receptor-gamma coactivator-1 alpha, estrogen-related receptor-alpha, and mitofusin 2. *Diabetes* 2006; 55(6): 1783–1791.
- 48 Park YY, Cho H. Mitofusin 1 is degraded at G2/M phase through ubiquitylation by MARCH5. *Cell Div* 2012; 7(1): 25.
- 49 Gegg ME, Cooper JM, Chau KY, Rojo M, Schapira AH, Tananman JW. Mitofusin 1 and mitofusin 2 are ubiquitinated in a PINK1/parkin-dependent manner upon induction of mitophagy. *Hum Mol Genet* 2010; 19(24): 4861–4870.
- 50 Saita S, Ishihara T, Maeda M, Iemura S, Natsume T, Mihara K, Ishihara N. Distinct types of protease systems are involved in homeostasis regulation of mitochondrial morphology via balanced fusion and fission. *Genes Cell* 2016; 21(5): 408–424.
- 51 Sugiura A, Nagashima S, Tokuyama T, Amo T, Matsuki Y, Ishido S, Kudo Y, McBride HM, Fukuda T, Matsushita N, Inatome R, Yanagi S. MITOL regulates endoplasmic reticulum-mitochondria contacts via Mitofusin2. *Mol Cell* 2013; 51(1): 20–34.
- 52 White KE, Davies VJ, Hogan VE, Piechota MJ, Nichols PP, Turnbull DM, Votruba M. OPA1 deficiency associated with increased autophagy in retinal ganglion cells in a murine model of dominant optic atrophy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2009; 50(6): 2567–2571.
- 53 Williams PA, Piechota M, von Ruhland C, Taylor E, Morgan JE, Votruba M. OPA1 is essential for retinal ganglion cell synaptic architecture and connectivity. *Brain* 2012; 135(Pt 2): 493–505.
- 54 Delettre C, Lenaers G, Griffoin J-M, Gigarel N, Lorenzo C, Belenguer P, Pelloquin L, Grosgeorge J, Turc-Carel C, Perret E, Astarie-Dequeker C, Lasquelles L, Arnaud B, Ducommun B, Kaplan J, Hamel CP. Nuclear gene OPA1, encoding a mitochondrial dynamin-related protein, is mutated in dominant optic atrophy. *Nat Genet* 2000; 26(2): 207–210.
- 55 Delettre C, Griffoin JM, Kaplan J, Dollfus H, Lorenz B, Faivre L, Lenaers G, Belenguer P, Hamel CP. Mutation spectrum and splicing variants in the OPA1 gene. *Hum Genet*



- 2001; 109(6): 584–591.
- 56 Griparic L, Kanazawa T, van der Blik AM. Regulation of the mitochondrial dynamin-like protein OPA1 by proteolytic cleavage. *J Cell Biol* 2007; 178(5): 757–764.
- 57 Ishihara N, Fujita Y, Oka T, Mihara K. Regulation of mitochondrial morphology through proteolytic cleavage of OPA1. *EMBO J* 2006; 25(13): 2966–2977.
- 58 Cécile D, Jean-Michel G, Josseline K, Dollfus H, Lorenz B, Faivre L, Lenaers G, Belenguer P, Hamel CP. Mutation spectrum and splicing variants in the OPA1 gene. *Human Genetics* 2001; 109(6): 584–591.
- 59 Satoh M, Hamamoto T, Seo N, Kagawa Y, Endo H. Differential sublocalization of the dynamin-related protein OPA1 isoforms in mitochondria. *Biochem Biophys Res Commun* 2003; 300(2): 482–493.
- 60 Lee H, Smith SB, Yoon Y. The short variant of the mitochondrial dynamin OPA1 maintains mitochondrial energetics and cristae structure. *J Biol Chem* 2017; 292(17): 7115–7130.
- 61 Ban T, Ishihara T, Kohno H, Saita S, Ichimura A, Maenaka K, Oka T, Mihara K, Ishihara N. Molecular basis of selective mitochondrial fusion by heterotypic action between OPA1 and cardiolipin. *Nat Cell Biol* 2017; 19(7): 856–863.
- 62 Ban T, Heymann JA, Song Z, Hinshaw JE, Chan DC. OPA1 disease alleles causing dominant optic atrophy have defects in cardiolipin-stimulated GTP hydrolysis and membrane tubulation. *Hum Mol Genet* 2010; 19(11): 2113–2122.
- 63 Ardail D, Privat JP, Egret-Charlier M, Levrat C, Lerme F, Louisot P. Mitochondrial contact sites. Lipid composition and dynamics. *J Biol Chem* 1990; 265(31): 18797–18802.
- 64 Song Z, Chen H, Fiket M, Alexander C, Chan DC. OPA1 processing controls mitochondrial fusion and is regulated by mRNA splicing, membrane potential, and Yme1L. *J Cell Biol* 2007; 178(5): 749–755.
- 65 Tondera D, Grandemange S, Jourdain A, Karbowski M, Mattenberger Y, Herzig S, Da Cruz S, Clerc P, Raschke I, Merkwirth C, Ehses S, Krause F, Chan DC, Alexander C, Bauer C, Youle R, Langer T, Martinou JC. SLP-2 is required for stress-induced mitochondrial hyperfusion. *EMBO J* 2009; 28(11): 1589–1600.
- 66 Mopert K, Hajek P, Frank S, Chen C, Kaufmann J, Santel A. Loss of DRP1 function alters OPA1 processing and changes mitochondrial membrane organization. *Exp Cell Res* 2009; 315(13): 2165–2180.