

线粒体-内质网结构偶联的研究进展

薛 亮 尹长城*

(北京大学医学部基础医学院生物物理学系, 北京 100191)

摘要 线粒体-内质网结构偶联, 是指线粒体外膜与内质网膜之间形成的紧密物理连接。通过“募集”数十种蛋白质(mitofusion2、IP3R、grp75、PACS-2等)构成细胞器间的偶联“平台”, 将线粒体和内质网功能联系起来。其中, 富集磷脂合成酶与磷脂代谢联系密切; 形成高钙离子微区, 利于细胞器间 Ca^{2+} 转运, 影响钙信号通路, 从而决定细胞命运; 调控线粒体形态, 尤其是线粒体解离过程; 此外, 线粒体-内质网结构偶联异常还与细胞凋亡、疾病等有关。

关键词 线粒体; 内质网; 结构偶联; 钙信号; 磷脂代谢

Progress in the Study of Mitochondria-endoplasmic Reticulum Physical Coupling

Xue Liang, Yin Changcheng*

(Department of Biophysics, School of Basic Medical Sciences, Peking University, Beijing 100191, China)

Abstract Physical contacts between mitochondria and endoplasmic reticulum, also referred as MAMs, have become an emerging issue in mitochondria research. Dozens of proteins are recruited within the contact, including mitofusion2, IP3R, grp75, PACS-2 etc., which provide structural basis for cell signaling. Especially enriched in phospholipid synthases, MAMs are believed to be fundamental to lipid metabolism. It also has been recognized that mitochondria uptake Ca^{2+} preferentially from the microdomains of elevated Ca^{2+} concentration that exist around these contacts. Besides, it has been found that some cellular processes such as apoptosis are related with mitochondria-endoplasmic reticulum physical coupling.

Key words mitochondria; endoplasmic reticulum; physical coupling; calcium signaling; lipid metabolism

真核细胞需要不同细胞器相互“协作”, 因此, 细胞器间功能乃至结构上的偶联是细胞生物学研究的热点问题^[1]。线粒体作为最重要的细胞器之一, 与内质网在生命活动中联系密切。七十年代, 在电镜下看到, 线粒体外膜和内质网膜紧密接触^[2-3]。由于时代限制, 对相关功能尚不清楚。后来, Vance^[4]分离得到这种内质网与线粒体相互偶联的膜组分, 并命名为MAM(mitochondria associated membrane); 后续研

究发现, MAM在某些磷脂代谢中具有重要作用^[5-6]。随着电镜断层成像技术的进步, 人们发现, 在特定部位, 线粒体外膜与内质网膜间存在特殊的物理(蛋白质)连接, 称为线粒体-内质网结构偶联(mitochondria-endoplasmic reticulum physical coupling)^[7-8]。通过荧光显微镜技术, Rizzuto等^[9-10]发现, 线粒体-内质网间物理偶联的部位形成高浓度的 Ca^{2+} 微区, 后来证明其可以影响细胞钙信号^[11-13]。现在认为, 线粒体-内质

收稿日期: 2013-09-05 接受日期: 2013-09-29

国家重点基础研究发展计划(批准号: 2012CB917200)资助的课题

*通讯作者。Tel: 010-82801394, E-mail: ccyin@hsc.pku.edu.cn

Received: September 5, 2013 Accepted: September 29, 2013

This work was supported by the Major State Basic Research Development, Program Ministry of Science & Technology of China (Grant No.2012CB917200)

*Corresponding author. Tel: +86-10-82801394, E-mail: ccyin@hsc.pku.edu.cn

网络出版时间: 2013-11-22 10:52 URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20131122.1052.002.html>

网结构偶联与钙信号调控、线粒体形态调控^[14]、内质网应激^[15-16]、神经退行性疾病^[17]等都有密切联系。

1 线粒体-内质网结构偶联的功能

1.1 磷脂合成转运

大多数磷脂合成是在内质网上完成的,极少数在线粒体上,但也需要内质网成分参与。一般认为,内质网与线粒体间磷脂转运不依靠囊泡,而是某些部位紧密接触,以促进磷脂转运。比如磷脂酰胆碱(PC)和磷脂酰乙醇胺(PE)的合成,依赖分别位于线粒体外膜和内质网膜上的几种酶,并需要在两类膜间转运多次^[1,18-19]。因此,内质网与线粒体之间的紧密连接对于细胞正常磷脂代谢是必需的。酵母中的研究发现,位于线粒体外膜或内质网膜上的四种蛋白质Mmm1/Mdm10/Mdm12/Mdm34形成复合物ERMES(endoplasmic reticulum-mitochondria encounter structure),在磷脂转运中可能起到结构连接的作用^[20]。如果将其基因敲除,线粒体-内质网结构偶联解离,磷脂代谢异常。突变株中,分别人为地在线粒体外膜和内质网膜上表达可以相互作用的外源蛋白质分子,形成“人造”连接可将线粒体与内质网恢复结构偶联,磷脂代谢恢复正常^[21-22]。总之,线粒体-内质网结构偶联使得细胞器间磷脂转运具有空间上的便利,对细胞磷脂代谢有重要作用。

1.2 钙信号相关

Ca²⁺主要储存在内质网中,兴奋时释放到胞浆

中形成钙信号,影响广泛的生理过程^[23]。线粒体摄取并储存少量Ca²⁺。一方面, Ca²⁺可以调节线粒体的代谢状态;另一方面,线粒体对Ca²⁺的摄取也会改变钙信号^[24]。胞浆内Ca²⁺浓度总是维持在很低的水平,而且线粒体膜摄取Ca²⁺的亲合性也非常小^[11];但是实验表明:在内质网上IP3R介导的Ca²⁺释放过程中,尽管胞浆内总体Ca²⁺浓度变化不大,但线粒体内的Ca²⁺浓度明显升高,似乎相互矛盾^[9]。为解释相关问题,Rizzut等^[9]基于荧光显微镜观察认为,线粒体与内质网间存在局部的高Ca²⁺区域,简称高钙微区(Ca²⁺ microdomain)。如图1所示,在局部位置线粒体外膜与内质网膜高度靠近,内质网释放的Ca²⁺在较短的扩散范围内保持较高浓度,从而能被线粒体所摄取。后来发现,线粒体-内质网结构偶联中的蛋白质很多都是与Ca²⁺相关的^[19],比如IP3R、VDAC、Ca²⁺-binding chaperonin等,它们形成有效的细胞器间Ca²⁺转运机制。

线粒体中, Ca²⁺主要影响氧化呼吸链中几类脱氢酶,一定浓度内可以促进ATP合成^[25-28]。正常情况下,由IP3R介导释放的Ca²⁺对能量代谢等是必需的,如果将IP3R突变掉,线粒体功能异常^[29];另一方面,如果线粒体Ca²⁺过载,活性氧(ROS)剧增,可能导致细胞凋亡^[25]。Csordas等^[13,30]巧妙运用外源分子制造更紧密的“人造”连接,使线粒体-内质网结构偶联中膜间距变得更近,发现线粒体内Ca²⁺浓度明显升高,相关功能异常。如果用蛋白酶水解使得物理连

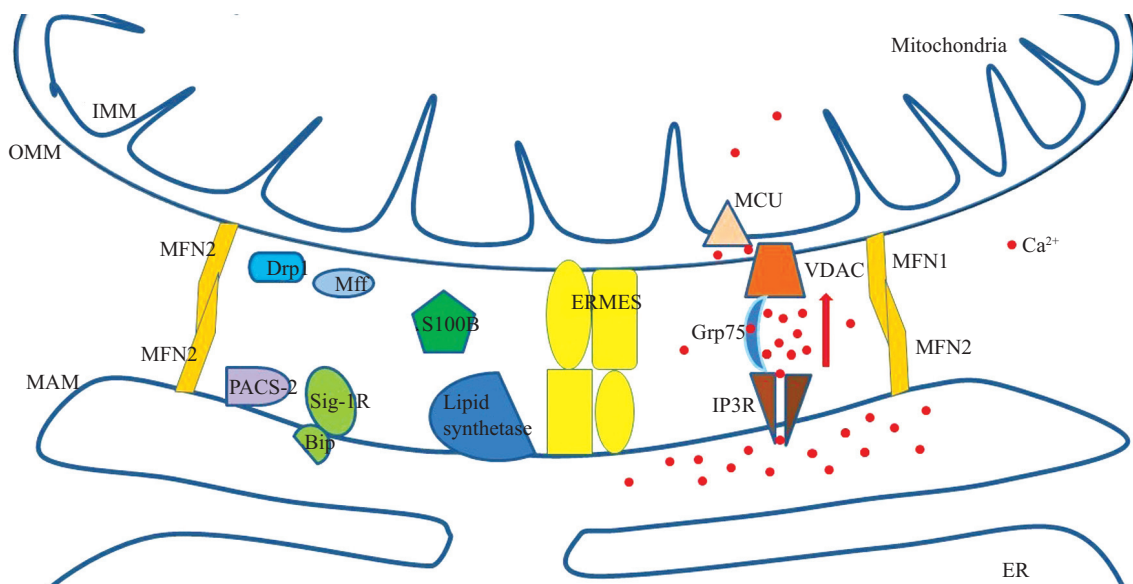


图1 线粒体-内质网物理偶联的结构模式图

Fig.1 Schematic representation of the physical coupling between mitochondria and endoplasmic reticulum

接解离, 结构偶联变得不紧密, 线粒体则无法有效摄取 Ca^{2+} 。上述结果表明: 线粒体-内质网结构偶联异常, 比如某些重要蛋白质的缺失或膜间距变化, 对于钙信号以及线粒体功能具有重要影响。

Ca^{2+} 、内质网、线粒体间存在复杂的相互联系, 除了 Ca^{2+} 能调节线粒体功能外, 钙信号也受到线粒体的影响^[31]。如果将内质网-线粒体结构偶联破坏, 内质网腔内 Ca^{2+} 明显升高, 钙信号幅度变大。因此, 线粒体-内质网结构偶联不仅提供了 Ca^{2+} 转运的平台, 而且将两个细胞器功能偶联起来, 在多层面上影响细胞生命活动^[32]。也有研究表明, Ca^{2+} 可以调控结构偶联: 低浓度下易解离, 高浓度下易形成, 无疑增加了相关问题的复杂性^[33]。

1.3 线粒体形态功能调节

线粒体总是经历着分裂(fission)和融合(fusion)的过程, 两者间的动态平衡影响线粒体的分布和形态, 进而决定其生理状态。人们早就观察到, 内质网会对线粒体的形态功能产生深远影响, 但相关的机制并不明确, 线粒体-内质网结构偶联的相关研究为这一问题提供了新的解释。Friedman等^[14]发现, 在荧光显微镜下线粒体fission起始部位与线粒体-内质网结构偶联部位位置高度重叠; 通过电镜三维重构结果, 可见管状内质网在线粒体fission起始部位形成“缠绕”。他们推测, 线粒体与内质网结构偶联形成后, 内质网“缠绕”促使线粒体局部收缩, 并逐步“募集”fission相关蛋白Drp1/Dnm1、Mff等, 最后将线粒体一分为二。线粒体的融合也受到线粒体-内质网结构偶联相关蛋白的调控, 比如线粒体融合蛋白mitofusin2(MFN2)。MFN2在结构偶联中富集, 起到重要的物理连接作用; 另一方面, 其本身也和mitofusin1(MFN1)共同控制线粒体融合^[34]。如果将其基因敲除, 不仅会导致结构偶联解离, 也会导致线粒体结构功能异常^[35-36]。

此外, 在酵母细胞中发现: ERMES跟Gem1存在相互作用, 而Gem1在哺乳动物中的同源物MIRO能调控线粒体沿微管(microtubule)运动。有趣的是, MIRO/Gem1都有 Ca^{2+} 结合位点, 受到不同浓度 Ca^{2+} 的调节, 线粒体-内质网结构偶联处高浓度的 Ca^{2+} microdomain对线粒体运动的影响也不容忽视^[1]。肌肉细胞中, 线粒体沿Z线规则分布^[37]。原因可能是线粒体与钙释放单位CRU上的内质网结构偶联, CRU在Z线附近规则分布, 从而造成了线粒体的规则分布^[24,38]。

1.4 多功能的分子基础

如前所述, 线粒体-内质网结构偶联在细胞信号转导等过程中发挥重要作用。结构偶联提供了相互作用的平台, 但相关功能的实现抑或其本身的形成, 都依赖具体的蛋白质分子作为功能载体。如表1所示, 大约几十种蛋白质富集于其中, 归纳起来, 可以分为钙信号相关、磷脂代谢相关、线粒体形态相关等几大类。值得注意的是, 不同蛋白质分子之间不是彼此孤立的, 结构或功能上有复杂的相互影响, 也可能形成大的功能复合体, 共同决定功能的多样性。

2 线粒体-内质网结构偶联的结构基础

2.1 线粒体-内质网结构偶联的形态结构

对线粒体-内质网结构偶联的研究主要依赖于荧光显微镜和电子显微镜, 但是由于荧光显微镜较低的分辨率以及传统电镜样品制备的限制, 现有的认识只能达到定性或半定量的层次, 总结如下:

(1) 荧光显微镜下, 线粒体和某些内质网区域位置高度重叠^[9], 彼此相互“连接”, 细胞动态过程中也不分离^[41]。这种高的共定位性不是巧合, 而是由于特定的物理连接在起作用。在电镜图中, 结构偶联是不连续的, 以簇状密度的形式呈现; 细胞器间不发生膜融合, 保持稳定的膜间距^[24,30]。

(2) 线粒体-内质网结构偶联普遍存在于不同的细胞中^[6,8,12,28], 并且几乎所有的线粒体都或多或少与内质网膜相偶联^[7,13]; 在骨骼肌细胞中, 表现为线粒体与钙离子释放单位CRU的偶联^[38,42-43], 应该是一种特化形式。

(3) 与内质网偶联的线粒体外膜面积占总外膜面积的比例从4%~20%不等^[9], 该比例也可能更高, 但一般不会完全“覆盖”; 并且会受到其他因素的调节, 比如 Ca^{2+} 浓度^[33]; 偶联部位的连续长度变化很大, 一般几十到几百纳米。

(4) 线粒体外膜和内质网膜之间距离基本保持不变, 一般认为在10 nm左右^[7,30,43]; 一些内质网区域, 如粗面内质网, 膜间距变大为25 nm左右^[30], 可能有核糖体或其他蛋白质复合物分布其间, 但尚需验证。10 nm左右的膜间距可能是优化的结果, 跟 Ca^{2+} 有效扩散范围等有关。

(5) 线粒体的内膜与外膜在某些部位也存在紧密连接^[7,44], 有趣的是, 线粒体-内质网结构偶联部位

表1 结构与功能相关蛋白质分子总结

Table 1 Proteins and complexes involved in mitochondria-endoplasmic reticulum physical contacts

基本分类 Functions	蛋白质或复合物 Proteins	相关研究进展 Notes
Physical tether	mitofusion1/2 ^[36,46,47]	Physical tether in mammalian cells MFN1/2 form dimers between endoplasmic reticulum and mitochondrial outer membrane
	ERMES ^[20]	Complex composed of Mdm34/Mdm10/Mdm12/Mnm1; physical tether in yeast; interacts with Gem1
Ca ²⁺ signaling	Grp75 ^[48]	Forms a complex with IP3R and VDAC
	BAP31 ^[49]	Interacts with Fis1 physically
	VDAC, MCU, RyR IP3R, SERCA ^[19,23]	Channels or pumps for Ca ²⁺ transport; physically or functionally coupled within physical coupling
	Sigma-1R ^[51]	Sigma-1R interacts with Bip; regulates Ca ²⁺ release of IP3R
	Calnexin, ERp44	Ca ²⁺ -binding Chaperonin, enriched in physical contacts
	S100B ^[18-19]	Calcium binding protein, interacts with SERCA
	PACS-2 ^[50]	Gene knockout causes mitochondria fragmentation and uncoupling from endoplasmic reticulum
Lipid metabolism	Presenilin-2 ^[17]	Enriched in MAM, related with AD
	FACL4, ACAT1, PSS1/2, DGAT2 ^[18-19]	Lipid synthetase, especially enriched in MAM
Mitochondrial morphology	Drp1/Dnm1 ^[14]	Essential to mitochondrial fission; Recruited, when fission is started
	mitofusion1/2 ^[36,46]	MFN1/2 regulate fusion of mitochondria

与线粒体内外膜紧密连接部位高度重叠^[45], 可能跟Ca²⁺转运有关, 因为, 外膜通透性高, 真正限制线粒体Ca²⁺摄取效率的是内膜上的通道。因此, 除了线粒体外膜与内质网膜形成的结构偶联之外, 还可能存在更复杂的细胞内膜系统的偶联机制。

2.2 起物理连接作用的蛋白质

线粒体与内质网的结构偶联存在一个动态过程, 新的不断形成, 已经形成的也会不断解离。功能相关蛋白质分子的“募集”或“组合”需要线粒体-内质网结构偶联在动态过程中保持正常的形态结构^[13]; 而正常的形态结构则依赖某些作为物理连接的蛋白质分子。如表1所示, 现在认为起物理连接作用的蛋白质主要包括mitofusion2、ERMES、grp75、BAP31等。de Brito等^[35]发现, mitofusin2在结构偶联处富集, 基因敲除后线粒体-内质网结构偶联膜间距变大, 并导致线粒体和内质网形态异常, 因此推测分别位于线粒体外膜和内质网膜上的两个mitofusin2分子形成的二聚体将两者连接起来。多数实验支持mitofusin2起到重要的物理连接的作用^[36,46]; 亦有发现mitofusin2并不是偶联所必需的^[47], 还可能有更多的蛋白质分子参与。Kornmann等^[20]在酵母中发现, 复合物ERMES也可能作为物理连接存在, 影响细胞磷

脂代谢和钙信号。Gyorgy等^[48]发现, 分子伴侣grp75连接位于内置网膜上的钙释放通道IP3R和位于线粒体外膜上的孔蛋白VDAC形成复合物, 在两类膜中间可能起到物理连接作用。另外, BAP31和Fis1相互作用, 影响分选蛋白PACS-2功能, 也可能作为一种物理连接^[49]。总之, 特定蛋白质起到重要的物理连接的作用, 但以上提到的只是几种可能的参考, 确切的结论还需要进一步的研究。

3 线粒体-内质网结构偶联功能异常与疾病

越来越多的细胞过程发现, 有线粒体-内质网结构偶联参与其中, 比如内质网应激、细胞凋亡、自噬体形成等。内质网合成某些蛋白质时需要合适的氧化还原环境, 以帮助其正确折叠。线粒体-内质网结构偶联可能与此有关, 某些细胞中结构偶联异常, 内质网中不能正确折叠的新生蛋白过度聚集, 就会导致内质网应激反应^[15]。细胞凋亡过程与线粒体联系密切, 比如线粒体Ca²⁺过载最终会诱导凋亡。鉴于对线粒体Ca²⁺摄取的决定性影响, 一些实验证据表明线粒体-内质网结构偶联可能参与细胞凋亡过程^[16]。Hamasaki等^[39]发现, 哺乳动物细胞内, 自噬

体特异地在线粒体-内质网结构偶联部位形成。尽管还存在争议, 但这一发现有助于增进对细胞自噬机制的认识。

神经系统退行性疾病是一类和线粒体关系十分密切的疾病^[40], 比如帕金森病和阿尔兹海默症。关于该类疾病致病机制有很多假说, 但毫无例外, 在这些疾病中都表现出线粒体形态功能异常、钙信号紊乱等现象, 有人大胆预测线粒体-内质网结构偶联异常可能是导致该病的直接诱因^[17]。尽管还需要证明, 但相关的研究有望为神经退行性疾病发病机制提供新的解释。

4 总结与展望

内质网和线粒体都是执行多种细胞功能的单位, 它们之间信号的转导和功能的协调影响整个细胞生命过程。线粒体-内质网结构偶联与钙信号通路、磷脂代谢、线粒体形态功能调控、细胞凋亡等密切联系, 其背后有复杂的结构基础和分子机制。总之, 结构偶联不仅为两者相互作用提供了空间基础, 也在很多层面上深刻影响线粒体或内质网的形态功能。

线粒体-内质网结构偶联的相关研究解释了一些现象, 但还有很多问题需要明确。首先, 在细胞动态过程中, 结构偶联不断形成和解离, 跟细胞微环境有关, 但对其形成机制还缺乏更加准确全面的认识。再者, 结构偶联形成与维系中, 什么分子是决定因素, 蛋白质如何相互作用构成物理连接。然后, 结构偶联的多种功能源于其中蛋白质分子的多样性, 它们之间如何募集、如何组合、如何随环境变化。最终, 作为细胞内信号转导的平台, 结构偶联在线粒体和内质网间建立了复杂的相互作用网络, 影响多种细胞功能, 因此需要更系统、更定量地描述动态过程。更重要的是, 某些疾病被发现有线粒体-内质网结构偶联直接或间接参与其中, 功能异常与相关疾病的研究可以帮助我们寻找新的治疗策略。

参考文献 (References)

- Rowland AA, Voeltz GK. Endoplasmic reticulum-mitochondria contacts: Function of the junction. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2012; 13(10): 607-25.
- Morré DJ, Merritt W, Lembi C. Connections between mitochondria and endoplasmic reticulum in rat liver and onion stem. *Protoplasma* 1971; 73(1): 43-9.
- Montisano DF, Cascarano J, Pickett CB, James TW. Association between mitochondria and rough endoplasmic reticulum in rat liver. *Anat Rec* 1982; 203(4): 441-50.
- Vance JE. Phospholipid synthesis in a membrane fraction associated with mitochondria. *J Biol Chem* 1990; 265(13): 7248-56.
- Rusiñol AE, Cui Z, Chen MH, Vance JE. A unique mitochondria-associated membrane fraction from rat liver has a high capacity for lipid synthesis and contains pre-Golgi secretory proteins including nascent lipoproteins. *J Biol Chem* 1994; 269(4): 27494-502.
- Achleitner G, Gaigg B, Krasser A, Kainersdorfer E, Kohlwein SD, Perktold A, *et al.* Association between the endoplasmic reticulum and mitochondria of yeast facilitates interorganelle transport of phospholipids through membrane contact. *Eur J Biochem* 1999; 264(2): 545-53.
- Perkins G, Renken C, Martone ME, Young SJ, Ellisman M, Frey T. Electron tomography of neuronal mitochondria: Three-dimensional structure and organization of cristae and membrane contacts. *J Struct Biol* 1997; 119(3): 260-72.
- Mannella CA, Buttle K, Rath BK, Marko M. Electron microscopic tomography of rat-liver mitochondria and their interactions with the endoplasmic reticulum. *BioFactors* 1998; 8(3/4): 225-8.
- Rizzuto R. Close contacts with the endoplasmic reticulum as determinants of mitochondrial Ca^{2+} responses. *Science* 1998; 280(5370): 1763-6.
- Rizzuto R, Brini M, Murgia M, Pozzan T. Microdomains with high Ca^{2+} close to IP₃-sensitive channels that are sensed by neighboring mitochondria. *Science* 1993; 262(5134): 744-7.
- Rizzuto R, Duchen MR, Pozzan T. Flirting in little space: the ER/mitochondria Ca^{2+} liaison. *Sci STKE* 2004; 2004(215): re1.
- Garcia-Perez C, Hajnoczky G, Csordas G. Physical coupling supports the local Ca^{2+} transfer between sarcoplasmic reticulum subdomains and the mitochondria in heart muscle. *J Biol Chem* 2008; 283(47): 32771-80.
- Csordás G, Várnai P, Golenár T, Roy S, Purkins G, Schneider TG, *et al.* Imaging interorganelle contacts and local calcium dynamics at the ER-mitochondrial interface. *Mol Cell* 2010; 39(1): 121-32.
- Friedman JR, Lackner LL, West M, DiBenedetto JR, Nunnari J, Voeltz GK. ER tubules mark sites of mitochondrial division. *Science* 2011; 334(6054): 358-362.
- Simmen T, Lynes EM, Gesson K, Thomas G. Oxidative protein folding in the endoplasmic reticulum: Tight links to the mitochondria-associated membrane (MAM). *Biochim Biophys Acta* 2010; 1798(8): 1465-73.
- Pizzo P, Pozzan T. Mitochondria-endoplasmic reticulum choreography: Structure and signaling dynamics. *Trends Cell Biol* 2007; 17(10): 511-7.
- Schon EA, Area-Gomez E. Mitochondria-associated ER membranes in Alzheimer disease. *Mol Cell Neurosci* 2012; 55: 26-36.
- Hayashi T, Rizzuto R, Hajnoczky G, Su TP. MAM: more than just a housekeeper. *Trends Cell Biol* 2009; 19(2): 81-8.
- Raturi A, Simmen T. Where the endoplasmic reticulum and the mitochondrion tie the knot: the mitochondria-associated membrane (MAM). *Biochim Biophys Acta* 2013; 1833(1): 213-24.
- Kornmann B, Currie E, Collins SR, Schuldiner M, Nunnari J, Weissman JS, *et al.* An ER-mitochondria tethering complex revealed by a synthetic biology screen. *Science* 2009; 325(5939): 477-81.
- Stroud DA, Oeljeklaus S, Wiese S, Bohnert M, Lewandowski U,

- Sickmann A, *et al.* Composition and topology of the endoplasmic reticulum-mitochondria encounter structure. *J Mol Biol* 2011; 413(4): 743-50.
- 22 Voss C, Lahiri S, Young BP, Loewen CJ, Prinz WA. ER-shaping proteins facilitate lipid exchange between the ER and mitochondria in *S. cerevisiae*. *J Cell Sci* 2012; 125(20): 4791-9.
- 23 Clapham DE. Calcium signaling. *Cell* 2007; 131(6): 1047-58.
- 24 Boncompagni S, Rossi AE, Micaroni M, Beznoussenko GV, Polishchuk RS, Dirksen RT, *et al.* Mitochondria are linked to calcium stores in striated muscle by developmentally regulated tethering structures. *Mol Biol Cell* 2009; 20(3): 1058-67.
- 25 Brookes PS, Yoon Y, Robotham JL, Anders MW, Sheu SS. Calcium, ATP, and ROS: A mitochondrial love-hate triangle. *Am J Physiol Cell Physiol* 2004; 287(4): C817-33.
- 26 Dirksen RT. Sarcoplasmic reticulum-mitochondrial through-space coupling in skeletal muscle. *Appl Physiol Nutr Metab* 2009; 34(3): 389-95.
- 27 Giorgi C, De Stefani D, Bononi A, Rizzuto R, Pinton P. Structural and functional link between the mitochondrial network and the endoplasmic reticulum. *Int J Biochem Cell Biol* 2009; 41(10): 1817-27.
- 28 de Meis L, Ketzer LA, da Costa RM, de Andrade IR, Benchimol M. Fusion of the endoplasmic reticulum and mitochondrial outer membrane in rats brown adipose tissue: Activation of thermogenesis by Ca^{2+} . *PLoS One* 2010; 5(3): e9439.
- 29 Cardenas C, Miller RA, Smith I, Bui T, Molgo J, Muller M, *et al.* Essential regulation of cell bioenergetics by constitutive InsP3 receptor Ca^{2+} transfer to mitochondria. *Cell* 2010; 142(2): 270-83.
- 30 Csordas G, Renken C, Varnai P, Walter L, Weaver D, Buttle KF, *et al.* Structural and functional features and significance of the physical linkage between ER and mitochondria. *J Cell Biol* 2006; 174(7): 915-21.
- 31 Walsh C, Barrow S, Voronina S, Chvanov M, Petersen OH, Tepikin A. Modulation of calcium signalling by mitochondria. *Biochim Biophys Acta* 2009; 1787(11): 1374-82.
- 32 Rizzuto R, Marchi S, Bonora M, Aguiari P, Bononi A, De Stefani D, *et al.* Ca^{2+} transfer from the ER to mitochondria: When, how and why. *Biochim Biophys Acta* 2009; 1787(11): 1342-51.
- 33 Wang HJ, Guay G, Pogan L, Sauvé R, Nabi IR. Calcium regulates the association between mitochondria and a smooth subdomain of the endoplasmic reticulum. *J Cell Biol* 2000; 150(6): 1489-98.
- 34 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.
- 35 de Brito OM, Scorrano L. Mitofusin 2 tethers endoplasmic reticulum to mitochondria. *Nature* 2008; 456(7222): 605-10.
- 36 Sebastian D, Hernandez-Alvarez MI, Segales J, Sorianoello E, Munoz JP, Sala D, *et al.* Mitofusin 2 (Mfn2) links mitochondrial and endoplasmic reticulum function with insulin signaling and is essential for normal glucose homeostasis. *Proc Natl Acad Sci USA* 2012; 109(14): 5523-8.
- 37 Vendelin M, Beraud N, Guerrero K, Andrienko T, Kuznetsov AV, Olivares J, *et al.* Mitochondrial regular arrangement in muscle cells: A "crystal-like" pattern. *Am J Physiol Cell Physiol* 2005; 288(3): C757-67.
- 38 Franzini-Armstrong C, Boncompagni S. The evolution of the mitochondria-to-calcium release units relationship in vertebrate skeletal muscles. *J Biomed Biotechnol* 2011; 2011: 830573.
- 39 Hamasaki M, Furuta N, Matsuda A, Nezu A, Yamamoto A, Fujita N, *et al.* Autophagosomes form at ER-mitochondria contact sites. *Nature* 2013; 495(7441): 389-93.
- 40 Morais VA, de Strooper B. Mitochondria dysfunction and neurodegenerative disorders: Cause or consequence. *J Alzheimer's Dis* 2010; 20(0): 255-63.
- 41 Friedman JR, Webster BM, Mastronarde DN, Verhey KJ, Voeltz GK. ER sliding dynamics and ER-mitochondrial contacts occur on acetylated microtubules. *J Cell Biol* 2010; 190(3): 363-75.
- 42 Parfenov AS, Salnikov V, Lederer WJ, Lukiyanenko V. Aqueous diffusion pathways as a part of the ventricular cell ultrastructure. *Biophys J* 2006; 90(3): 1107-19.
- 43 Ramesh V, Sharma V, Sheu SS, Franzini-Armstrong C. Structural proximity of mitochondria to calcium release units in rat ventricular myocardium may suggest a role in Ca^{2+} sequestration. *Ann N Y Acad Sci* 1998; 853: 341-4.
- 44 Harner M, Korner C, Walther D, Mokranjac D, Kaesmacher J, Welsch U, *et al.* The mitochondrial contact site complex, a determinant of mitochondrial architecture. *EMBO J* 2011; 30(21): 4356-70.
- 45 Garcia-Perez C, Schneider TG, Hajnoczky G, Csordas G. Alignment of sarcoplasmic reticulum-mitochondrial junctions with mitochondrial contact points. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2011; 301(5): H1907-15.
- 46 Chen Y, Csordás G, Jowdy C, Schneider TG, Csordás N, Wang W, *et al.* Mitofusin 2-containing mitochondrial-reticular microdomains direct rapid cardiomyocyte bioenergetic responses via interorganelle Ca^{2+} crosstalk/novelty and significance. *Circ Res* 2012; 111(7): 863-75.
- 47 Cosson P, Marchetti A, Ravazzola M, Orci L. Mitofusin-2 independent juxtaposition of endoplasmic reticulum and mitochondria: An ultrastructural study. *PLoS One* 2012; 7(9): e46293.
- 48 Szabadkai G, Bianchi K, Varnai P, De Stefani D, Wieckowski MR, Cavagna D, *et al.* Chaperone-mediated coupling of endoplasmic reticulum and mitochondrial Ca^{2+} channels. *J Cell Biol* 2006; 175(6): 901-11.
- 49 Patergnani S, Suski JM, Agnoletto C, Bononi A, Bonora M, De Marchi E, *et al.* Calcium signaling around Mitochondria Associated Membranes (MAMs). *Cell Commun Signal* 2011; 9(1): 19.
- 50 Simmen T, Aslan JE, Blagoveshchenskaya AD. PACS-2 controls endoplasmic reticulum-mitochondria communication and Bid-mediated apoptosis. *EMBO J* 2005; 24(1): 717-29.
- 51 Hayashi T, Su TP. Sigma-1 receptor chaperones at the ER-mitochondrion interface regulate Ca^{2+} signaling and cell survival. *Cell* 2007; 131(3): 596-610.