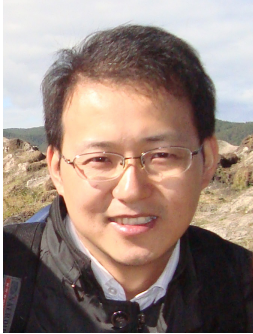


特约综述



本实验室以线粒体结构、动态变化及功能调控研究为中心, 开发和发展线粒体研究的新技术新方法, 利用基因敲除等技术建立线粒体功能异常引起的人类神经退行性疾病的细胞模型和小鼠动物模型, 重点研究线粒体相关神经退行性疾病发生发展的分子机制, 探索可能的新的疾病治疗方案和药物靶点。

http://www.bio.whu.edu.cn/News_reads.asp?cid=174&id=1585

MICOS复合物/线粒体内膜结构调控 关键复合物的研究进展

李荟晖 宋质银*

(武汉大学生命科学学院, 武汉 430072)

摘要 线粒体是具有双层膜结构的动态细胞器, 它是真核生物细胞内能量合成的重要场所。线粒体内膜向线粒体基质处突起形成线粒体嵴, 线粒体嵴在线粒体内整齐有序地排列, 是线粒体内产生ATP的重要场所, 但关于嵴的形成机制和生物学功能知之甚少。近年来新发现的MICOS复合物被认为是调控线粒体嵴形态的关键复合物, 并且发现MICOS复合物在细胞中发挥多种线粒体相关的生物学功能。该文重点介绍MICOS复合物的各个亚基蛋白和特性以及MICOS复合物的重要功能及其与人类重大疾病的关系, 以促进对于MICOS复合物的认识及探索。

关键词 线粒体; MICOS复合物; 线粒体嵴; 神经退行性疾病

MICOS Complex Is Essential for Regulation of Mitochondrial Membrane Organization

Li Huihui, Song Zhiyin*

(College of Life Sciences, Wuhan University, Wuhan 430072, China)

Abstract Mitochondrion is a dynamic double-membrane-bounded organelle; it is the main site of energy conversion in eukaryotic cell. Mitochondrial cristae are subcompartments of mitochondrial inner membrane. They are arranged orderly and are main sites of ATP production in mitochondria, but the mechanism of cristae formation is poorly known. Recently, MICOS complex was identified to be a key regulator in the cristae formation and

国家自然科学基金(批准号: 31471264、31171357)和湖北省自然科学基金“杰青”项目(批准号: 2014CFA023)资助的课题

*通讯作者。Tel: 027-68752235, E-mail: songzy@whu.edu.cn

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.31471264, 31171357) and the Hubei Natural Science Foundation (Grant No.2014CFA023)

*Corresponding author. Tel: +86-27-68752235, E-mail: songzy@whu.edu.cn

网络出版时间: 2015-09-09 16:09:42 URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20150909.1609.002.html>

morphology, and it played a serious of biological functions in cells. This review will focus on the subunits of MICOS complex, introducing the important functions of MICOS complex and its relationship with human diseases, and giving an overlook of understanding in MICOS complex.

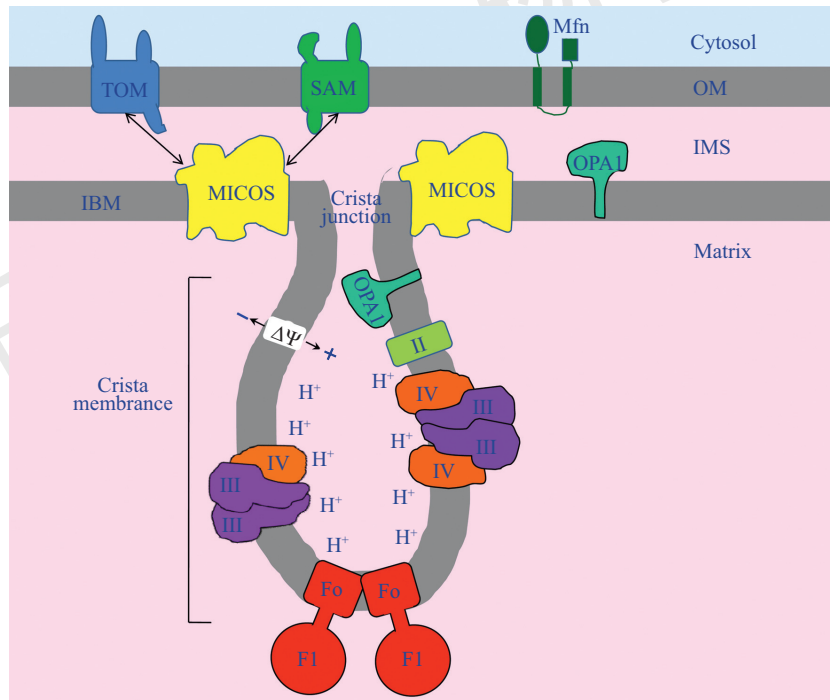
Keywords mitochondria; MICOS complex; mitochondrial cristae; neurodegenerative diseases

线粒体是存在于真核生物内的一种重要的细胞器,它是生物体的能量工厂,能将化学能转换成可被生物体利用的生物能,是氧化磷酸化产生ATP的重要场所^[1]。线粒体是一种动态细胞器,能不停地进行融合和分裂。线粒体通过控制融合和分裂的平衡来维持线粒体的形态和正常功能^[2]。一旦线粒体失去这种平衡,线粒体的功能以及信号通路都会受到不同程度的抑制。生物体内相当大部分的病变,包括癌症、衰老、神经退行性疾病、心血管疾病、代谢疾病等,都与线粒体融合分裂的异常有关^[3-4]。

线粒体是一种双层膜结构的细胞器,包括内膜和外膜^[5-6]。线粒体外膜的成分与其他真核生物细胞膜类似,含有大量的脂类^[7]。在线粒体外膜上,富

含有大量的线粒体蛋白运输系统,组成这些系统的是多种大型的复合物,包括: TOM(translocase of the outer membrane)、SAM(sorting and assembly machinery)等(图1)^[8-12]。线粒体内膜在物理性质和组成成分上则更接近于原核生物的细胞膜,线粒体的内膜区域根据功能可划分为靠近并平行于外膜的内边界膜(inner boundary membrane, IBM)以及向线粒体基质内凸起的嵴(cristae)^[13-16](图1)。在线粒体的嵴结构上,锚定着负责氧化磷酸化的一系列线粒体呼吸链超复合物(图1),因此,它是能量(ATP)产生的重要部位^[17-18]。

此外,线粒体嵴在细胞凋亡的过程中也具有重要的作用^[19-20]。线粒体嵴与内膜交界的颈状区域被



线粒体内膜包括内边界膜(IBM)、嵴和嵴连接点。线粒体超复合物I~IV以及FoF1-ATP合酶均富集在线粒体嵴。MICOS复合物定位于嵴连接点,并且其蛋白质结构域伸向线粒体膜间隙(IMS)。MICOS复合物对于线粒体嵴结构维护是至关重要的,并且其可与外膜蛋白复合物形成多个接触点。此外,Mfn和OPA1是线粒体融合的关键蛋白。

The mitochondrial inner membrane consists of the inner boundary membrane (IBM), cristae membrane and the connecting crista junction. The respiratory complex I~IV and the FoF1-ATP synthase are enriched in mitochondrial cristae membrane. The MICOS complex is located at crista junction and protein domains are exposed into the intermembrane space (IMS). MICOS is essential for maintenance of the cristae structure and forms multiple contact sites with outer membrane (OM) protein complexes. Mfn and OPA1 are required for mitochondrial membrane fusion.

图1 线粒体内膜结构嵴相关蛋白示意图

Fig.1 Mitochondrial cristae organizing system

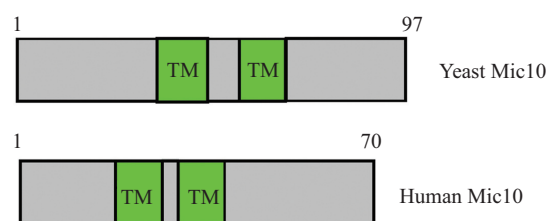
称为嵴连接点(cristae junctions, CJs)(图1)。嵴的连接点具有相似的尺寸和形状,直径一般在20~50 nm之间,多呈狭管状^[19]。CJs的形成被认为是存在于线粒体膜间隙与嵴内部的一道阀门,它控制着这两部分空间内物质的流动与交换,比如控制代谢产物如质子、ADP等的扩散^[21]。大量实验证据表明,由细胞色素C的释放所诱发的线粒体起始的内源性细胞凋亡,是依赖于嵴形态的变化以及嵴连接点(CJs)的扩张^[20]。线粒体在受到细胞凋亡信号的刺激后,线粒体会出现大范围的内膜重构,包括线粒体嵴形态的变化以及嵴连接点(CJs)口径的扩张,由此导致细胞色素C游离到线粒体膜间隙,进而经过外膜被释放到细胞基质,刺激下一步凋亡信号的传递^[20,22]。但长期以来,由于技术等条件限制,关于线粒体内膜嵴形成及形态调控机制仍很不清楚;此外,线粒体外膜和内膜之间的距离保持恒定,但内外膜如何联系及如何协同发挥功能也一直不清楚。

近年来,多个实验室鉴定了一个新的复合物MICOS,它定位在线粒体内膜并负责调控嵴的形态及嵴连接点的形成。MICOS复合物的亚基蛋白目前较为公认的是: Mic10、Mic60、Mic19、Mic27、Mic26以及Mic12^[23-29]。它们的共同点是都定位在线粒体内膜并与其他MICOS复合物亚基形成复合物,如果缺失它们则线粒体嵴的形态以及线粒体相关功能会出现异常。目前,关于MICOS复合物在线粒体内膜组装及形态维持中的作用和分子调控机制是线粒体领域的研究热点。本文将综合相关MICOS复合物的最新发现,阐述MICOS复合物的研究现状及研究进展。

1 MICOS复合物的主要组分

1.1 Mic10

Mic10, 又称Mio10/Mcs10/Mos1(酵母中)或MINOS1(哺乳动物中),首先在酵母中作为Mic60的结合蛋白而被发现,是定位在线粒体内膜的整合蛋白^[23]。近年来,在酵母中的研究结果显示, Mic10是MICOS复合物最核心的蛋白亚基之一,在维持线粒体的正常功能及嵴形态上具有重要作用。Mic10含有两个跨膜区(图2),两端伸向线粒体膜间隙,在每一个跨膜区上都富含大量保守的甘氨酸序列GxGxGxG,这种保守的甘氨酸序列最先是在ATP合酶中被发现的^[30];突变Mic10的这些GxGxGxG序列



TM: 跨膜结构域。
TM: transmembrane domain.

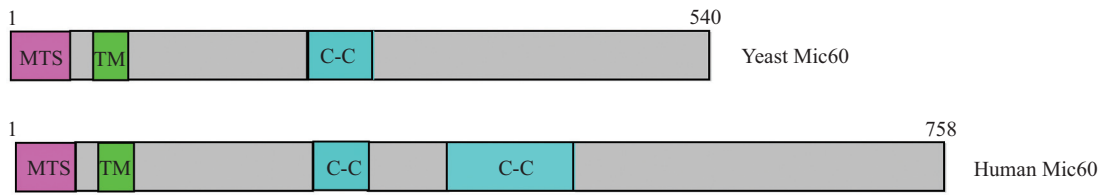
图2 Mic10结构示意图

Fig.2 The schematic representation of Mic10

后,线粒体内膜则无法弯曲^[31]。体内和体外的实验结果表明, Mic10可借助GxGxGxG序列形成寡聚物,并能在空间上弯曲线粒体内膜,使内膜形成发夹状的拓扑结构。正常细胞线粒体内, Mic10寡聚物与MICOS复合物紧密结合;如果在细胞中过表达(over-express)Mic10可使Mic10寡聚物增加,但对其他MICOS复合物亚基蛋白没有影响,并且参与组成装MICOS复合物的那部分Mic10的蛋白水平也没有变化^[31]。Michael Menecke研究组认为, Mic10寡聚物定位于嵴连接点两侧,共同将线粒体内膜向基质内拉伸,从而形成线粒体嵴^[32]。因此, Mic10这种特殊的蛋白结构与形成寡聚物的特点,可能是嵴形成的直接因素。

Mic10不仅与其他蛋白组装MICOS复合物,它还能与Mic12-26-27形成一种亚复合物^[33]。在酵母中研究发现,下调(knockdown)Mic10后,可导致另一种MICOS复合物亚基蛋白Mic27减少,且线粒体嵴形态改变,呈同心圆形态,并且嵴连接点减少;但下调Mic10后再恢复Mic27的蛋白水平后,异常的线粒体嵴形态并没有发生改变^[33]。此外,过表达Mic10后线粒体内膜形态出现改变,线粒体嵴变长并且呈现畸形。以上结果共同说明, Mic10作为MICOS复合物的核心亚基组分在维持线粒体嵴形态上具有重要作用,同时Mic10自身也是维持线粒体内膜形态的重要因素。

此外,在酵母中下调Mic10后线粒体DNA(mtDNA)出现聚集^[34],说明Mic10还在调控mtDNA的分布上发挥作用。有学者认为, mtDNA可能定位在线粒体嵴连接点附近,下调Mic10后可使线粒体嵴连接点消失,线粒体嵴与内膜的连接中断,进而减少线粒体嵴对于mtDNA的分区及束缚,从而导致mtDNA聚集^[34]。



MTS: 线粒体定位信号序列; TM: 跨膜结构域; C-C: 卷曲螺旋结构域。

MTS: mitochondrial targeting signal; TM: transmembrane domain; C-C: coiled-coil domain.

图3 Mic60结构示意图

Fig.3 The schematic representation of Mic60

1.2 Mic60

Mic60, 又称Fcj1(酵母中)或Mitofilin(哺乳动物中), 首先在哺乳动物细胞中被发现, 它在心脏组织中高度表达^[35-36]。Mic60具有线粒体定位序列, N-端锚定在线粒体内膜, 亲水区含有螺旋-螺旋区域(coiled-coil domain)(图3), C-端游离在线粒体膜间隙^[37-38]。Mic60的C-端则较为保守, 它可与FoF1-ATP合酶亚基 ϵ 相互结合^[39], 并且Mic60自身可通过C-端形成寡聚物。另外, 缺失Mic60的螺旋-螺旋区域后, 线粒体嵴连接点减少, 说明此区域是控制嵴连接点形成的关键区域。

Mic60是MICOS复合物中最新被发现参与调控线粒体嵴形态的关键蛋白。研究发现, 缺失Mic60可导致线粒体嵴连接点明显减少, 并且大多线粒体内嵴呈现同心圆形态^[37-39]; 进一步的研究证实, Mic60可与其他多种蛋白一起组装形成一个大复合物MICOS^[37,40]。有文献报道, FoF1-ATP合酶是维持线粒体嵴形态的重要因素; 在酵母中的研究发现, Mic60则可以通过影响FoF1-ATP合酶来调控线粒体嵴的形态^[41]。这些结果说明, Mic60是调控线粒体嵴形态及嵴连接点形成的关键蛋白^[40-41]。

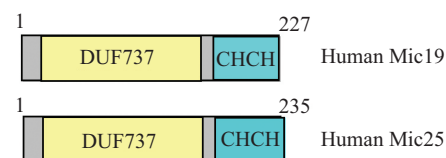
Mic60不仅调控线粒体嵴形态, 它还与线粒体外膜偶联, 参与蛋白在膜间隙的合成及运输。研究发现, 酵母Mic60的C-端能与TOB复合物(translocases of outer membrane β -barrel proteins)的核心亚基成分TOB55和TOB38相互作用^[42]; 缺失Mic60后, TOB复合物与线粒体内膜的联系减弱; 过表达Mic60会略微增强TOB复合物合成 β 折叠蛋白的能力; 此外, Mic60可与外膜转位酶TOM复合物的两种核心成分Tom40和Tom22相互作用^[38]; 同时, Mic60也能与内膜蛋白组装机Mia40相互作用并帮助Mia40在空间上接近TOM复合物, 提高蛋白加工效率^[39]。另外, 在Mic60缺失可抑制线粒体膜间隙运输的MIA复合

物的底物, 反之, 过表达Mic60会促进MIA途径的蛋白运输^[38]。因此, Mic60作为内外膜联系的支点, 在空间上拉近了负责蛋白折叠转运的相关复合物的距离, 进而增大了蛋白转运加工的效率。

1.3 Mic19

Mic19, 又称Aim13/Mcs19(酵母中)或CHCHD3(哺乳动物中), 它首先是作为PKA的底物被发现的, 后续的研究发现它属于MICOS复合物, 且是其中较为重要的亚基蛋白^[25,43]。Mic19在哺乳动物中较为保守, 人源和鼠源的Mic19相似性高达92%。与其他MICOS复合物亚基蛋白不同的是, Mic19没有跨膜区, 不属于整合膜蛋白, 它通过与其他亚基的结合而锚定在线粒体内膜上。Mic19在C-端含有一个保守的CHCH区域(图4), 这个区域被认为可能与线粒体蛋白向膜间隙的转运和定位有关^[43]。此外, 在Mic19的N-端含有豆蔻酰化的位点, 它促使细胞质基质中的Mic19与线粒体外膜转运复合物结合, 在CHCH区域的作用下通过外膜进入线粒体膜间隙^[43-44]。

Mic19与Mic60直接结合并调控Mic60在线粒体内膜上的分布; Mic19下调后, Mic60的蛋白水平也出现下降^[25], 说明Mic19可保持Mic60的蛋白稳定性; 此外, Mic19还能维持其他MICOS复合物亚基蛋白如Mic10和Mic25等蛋白的稳定性。最近在酵母中



CHCH: 卷曲螺旋卷曲螺旋结构域; DUF737: 未知功能区域。

CHCH: coiled-coil helix-coiled-coil helix domain; DUF737: the function of DUF737 domain is still unknown.

图4 Mic19和Mic25结构示意图

Fig.4 The schematic representation of human Mic19 and Mic25

的研究发现, Mic19作为MICOS复合物中唯一一个非膜整合蛋白, 在空间上既能直接与Mic60多聚体结合, 又能与MICOS亚复合物结合, 是Mic60多聚体与MICOS亚复合物结合的连接蛋白^[33]。这些结果说明, Mic19在MICOS复合物组装及稳定性方面起着非常重要的作用。另外, Mic19还参与调控MICOS复合物的拷贝数以及线粒体嵴连接点的空间位置^[33]。如果细胞中Mic19缺失, 将导致线粒体嵴形态异常和嵴连接点减少^[25]。

除此之外, Mic19的N-端能与线粒体外膜SAM复合物结合, 并且CHCH结构域参与和内膜蛋白Mia40的结合作用。在HeLa细胞中Mic19下调后, Sam50的蛋白水平也出现下降。因此, Mic19可能通过调控外膜上SAM复合物来调控蛋白的转运, 通过与内膜蛋白Mia40的结合来调控蛋白的加工。综上所述, Mic19在线粒体内外膜的蛋白转运及组装上也发挥重要的作用。

1.4 Mic25

Mic25, 又称CHCHD6, 是哺乳动物细胞中与Mic19高度同源的一种定位在线粒体内膜的蛋白(图4)。与Mic19相同的是, Mic25在C-端也有CHCH区域, 它通过C-端区域与MICOS复合物核心蛋白Mic60相互作用^[24]; 并且下调Mic25后, Mic60的蛋白水平也出现下降, 线粒体嵴形态发生异常, 嵴连接点(CJs)略微减少^[25]。因此, 在哺乳动物中, Mic25也属于MICOS复合物的亚基成分。下调Mic19不会影响线粒体ATP合成量, 但下调Mic25后线粒体ATP合成量明显降低^[24]。综上所述, 虽然Mic25与Mic19具有较高的同源性, 但是它们在具有相似功能的同时, 也具有差异性。

1.5 Mic27、Mic26和Mic12

Mic27[又称APOOL(哺乳动物中)]、Mic26[又称APOO(哺乳动物中)]以及Mic12(哺乳动物中没有同源物存在)也是MICOS复合物亚基成分^[33,45-46]。在酵母中的研究发现, MICOS复合物包括两个亚复合物, 一是由Mic60形成的多聚体, 另一个则是由Mic27/Mic10/Mic12共同组成的亚复合物^[33]。Mic27/Mic10/Mic12亚复合物中, Mic10负责稳定另外两种亚基; 另外, 心磷脂作为参与装配呼吸链复合物的重要成分, 可帮助Mic27组装进Mic27/Mic10/Mic12亚复合物, 并将它们定位在嵴连接点处。除了心磷脂以外, Mic27/Mic10/Mic12亚复合物的组装还需要呼吸

链复合物参与。此外, Mic27/Mic10/Mic12亚复合物可通过Mic19与其他MICOS复合物亚基成分相互结合。酵母中, Mic26和Mic27高度同源, 都含有一个保守的环状载脂蛋白区域, 能与脂类结合^[28,47]。哺乳动物中, 过表达Mic27后线粒体出现片段化, 嵴形态发生改变; 但下调Mic27、Mic26或者Mic12后, 对线粒体嵴形态的影响相对较弱, 因此推测它们不是嵴形态调控的关键因子。

2 MICOS复合物的主要功能

2.1 线粒体嵴形态调控的关键复合物

线粒体的内外膜及它们所包围的基质共同决定了线粒体的形态。线粒体的形态和功能具有一致性, 在不同的外界环境刺激及生理反应下, 线粒体通过调整自身的结构及形态变化来适应相应的环境刺激及生理变化^[48]。线粒体内膜在功能上的分区对维持线粒体的正常功能是至关重要的, 线粒体内部的结构也能与外界环境产生作用。内边界膜(IBM)和嵴(cristae)通过嵴连接点(CJs)紧密连接起来^[7]。目前已知能直接或间接影响线粒体嵴形态的因子包括: MICOS复合物、OPA1/Mgm1、Prohibitin1/2及FoF1-ATP合酶等。其中, Mic60被报道定位在嵴连接点(CJs)处并调控CJs的形成^[38]。在MICOS复合物亚基蛋白缺失的线粒体内会出现极为明显的嵴形态的改变: 如在酵母中或人肿瘤细胞HeLa中, 缺失Mic60可导致嵴不再与内边界膜(IBM)紧密连接而是游离在线粒体基质内, 嵴连接点(CJs)消失, 大部分嵴呈现同心圆状^[37,39]; 酵母中, 缺失Mic10后线粒体嵴出现异常, 且线粒体嵴连接点(CJs)消失^[29,32]; 人肿瘤细胞HeLa中, 下调Mic19则导致线粒体嵴形态异常及数目减少^[25]; 我们近期的研究发现, 在哺乳动物细胞MEF内分别下调MICOS复合物亚基成分Mic60、Mic19或Mic10后, 线粒体嵴连接点(CJs)明显减少, 且线粒体嵴数目也出现减少^[49]。这些结果说明, 下调MICOS复合物亚基成分后, 线粒体氧化磷酸化的功能也可能会受到抑制。

2.2 介导线粒体内外膜连接及通讯

线粒体的内外膜虽然作为独立的成分而存在, 但它们在功能上密切相关。线粒体的外膜与其他真核生物细胞器的膜成分类似, 含有较多的脂类及离子通道以及多种负责蛋白转运的复合物, 如TOM、SAM等^[50-51]。在线粒体内边界膜(IBM), 同样含有

多种复合物: 包括线粒体膜间隙组装复合物MIA、线粒体内膜转位酶TIM等, 它们负责运送相关线粒体蛋白经外膜至膜间隙并进一步折叠或转运, 这些复合物共同建立了线粒体内外膜之间的联系^[36,52]。N-端带有线粒体定位序列(mitochondrial targeting sequence, MTS)的线粒体前体蛋白进入到线粒体基质内是由定位在线粒体内膜上的TIM23复合物介导的^[9]; 在前体蛋白由线粒体外膜向内膜转运的过程中, 内膜复合物TIM23会与外膜转运复合物TOM建立空间联系, 将前体蛋白直接转运至线粒体基质^[53]。对于没有线粒体定位序列的线粒体蛋白来说, 它们的转运是通过转运复合物对其氨基酸序列内丰富的半胱氨酸的识别来进行的。这些蛋白首先经过线粒体外膜转运复合物TOM40进入到线粒体膜间隙, 在内膜的氧化还原酶Mia40的协同下完成进一步的折叠和转运。研究发现, 在HeLa细胞中MICOS复合物的亚基蛋白Mic60能与SAM复合物相互作用^[23-24]; 同样在酵母中, 也发现Mic60能与线粒体外膜上的TOM、SAM以及孔蛋白Porin具有相互作用^[23,54]; 此外, Mic60也可分别与TOM40和Mia40相互作用^[40], 且Mic60可调控Mia40对于线粒体蛋白的转运效率^[55]。由此可见, 虽然MICOS复合物并不能直接参与蛋白质的运输, 但这种由MICOS复合物建立的线粒体内外膜运输的连接, 为线粒体蛋白往嵴内的运输提供了便利^[40]。这些结果说明, MICOS复合物直接调控线粒体内外膜之间的连接。

MICOS复合物还可与其他外膜成分发生作用, 比如线粒体外膜融合蛋白Fzo1^[40]。在线粒体融合发生时, 还存在瞬时的内外膜之间的联系: 如哺乳动物细胞中外膜融合蛋白Mfn能与内膜融合蛋白OPA1瞬间结合, 以协调内外膜的共同融合, 抑制非正常的融合形态^[39,55-56]; 另外, Mic19能与OPA1结合^[25], 说明MICOS复合物在线粒体融合过程中可能介导线粒体内外膜之间的信号通讯, 保证线粒体外膜和内膜同时同位点发生融合。

因此, MICOS复合物不仅能调控线粒体嵴形成及结构, 同时也介导线粒体外膜与内膜的连接与通讯。

2.3 MICOS复合物与线粒体动力学

线粒体是一种不断动态变化的细胞器, 不停的进行融合和分裂并保持平衡, 使线粒体得以维持其正常的管状化的形态^[57]。在哺乳动物细胞中, 控制

线粒体融合的蛋白包括Mfn1、Mfn2及Opal^[58-60], 调控线粒体分裂的蛋白有Drp1、Mff、Fis1、Mid49和Mid51等^[61-64]。当线粒体融合活性大于分裂活性时, 线粒体的形态表现出长管状(tubular), 当线粒体分裂活性大于融合活性时, 其形态表现为片段化(fragmented)^[65]。在酵母细胞中的研究发现, Mic60和Mic10共同敲除后会出现小部分的球状巨型线粒体^[34]。我们近期的研究发现, 野生型的小鼠胚胎成纤维细胞(mouse embryonic fibroblasts, MEF)内管状化(tubular)的线粒体占约线粒体总数的70%, 短管状(short tubular)约27%, 而片段化(fragmented)线粒体只占约3%^[49]; 下调Mic60后, 管状化和短管状的线粒体分别下降到23%和12%, 而约60%的细胞内呈现球状巨型线粒体^[49]; 而下调Mic19后, 线粒体管状化减少至15%, 片段化约43%, 有约21%的细胞呈现球状巨型线粒体^[49]。这些结果说明, 哺乳动物细胞线粒体形态严格受到MICOS复合物的调控。进一步研究发现, 下调Mic60的MEF细胞线粒体融合和分裂的活性都显著降低, 并且介导线粒体融合和分裂的一些关键蛋白如Mfn2、OPA1、Drp1和Mid51等蛋白水平明显降低^[49]。综上所述, MICOS复合物在维持线粒体动力学的平衡上具有至关重要的作用。

2.4 MICOS复合物与mtDNA

人线粒体DNA(mtDNA)编码的13种蛋白是线粒体呼吸链复合物的重要组成部分, 其编码的22种tRNA和2种rRNA是线粒体翻译系统的重要组成部分, 因此, mtDNA在调控线粒体功能方面起着极其重要的作用^[66-67]。mtDNA周围被一系列相关蛋白包裹形成“mtDNA拟核”, mtDNA拟核一般在线粒体中呈现动态及均匀分布。我们的实验结果表明, 野生型MEF细胞内平均每个线粒体都含有至少一个mtDNA拟核结构, 而缺失Mic60的MEF细胞中, mtDNA拟核聚集到球形巨型线粒体中, 因此, 缺失Mic60的细胞内半数线粒体出现没有mtDNA拟核的现象, mtDNA拟核的分布也发生明显变化^[49]。进一步的研究证实, mtDNA拟核聚集后, 13种由mtDNA编码的线粒体基因转录水平受到不同程度的抑制^[49]。

mtDNA相关蛋白在调节mtDNA的正常功能方面具有重要的作用, 它们为mtDNA在线粒体内提供“运动”的支点, 可以在空间上压缩mtDNA的结构, 使其密切接触线粒体复制转录翻译系统, 以便充分地完成复制转录翻译^[68-70]。我们的实验发现,

缺失Mic60后mtDNA相关蛋白如mtSSB、Twinkle、ATAD3、PHB1和PHB2等出现明显下调^[49]。因此,我们认为, mtDNA转录活性受到抑制的原因可能是由于mtDNA相关蛋白的减少致使线粒体内mtDNA的转录装置的不完整,降低了转录水平,具体调控分子机制有待进一步探索和研究。

3 MICOS复合物与人类重大疾病的关系

线粒体是真核生物体内产生能量的重要场所,定位在线粒体内膜嵴上的大量呼吸链复合物源源不断地通过生化和细胞反应为机体的生命活动提供必不可少的生物能量;此外,线粒体还与细胞凋亡的发生有关^[19-20,71]。当线粒体无法维持其正常功能时,机体会受到严重的损伤,细胞体内重要的生命活动都会受到不同程度的抑制,从而可导致多种疾病:包括神经退行性疾病、心血管疾病、代谢性疾病及癌症等^[16,57,72-76]。

MICOS复合物是定位在线粒体内膜与嵴交界区域并控制嵴形态和嵴连接点形成的重要因素,目前, MICOS复合物也被报道与许多重大疾病的发生有关。唐氏综合征是较为常见的基因失调疾病,主要表现为精神发育迟滞。对患有唐氏综合征胎儿的小脑的研究发现, Mic60等蛋白出现双倍的下调,说明Mic60在诱导唐氏综合征的发生中具有一定的作用^[77-78]。精神分裂症是一种精神疾病,主要表现是个体在面对现实时会出现幻想、偏执或者离奇的幻想,出现混乱的语言和思维^[79]。DISC1在神经元的发育中起着重要作用,是诱导精神分裂症的重要蛋白^[80-82];研究发现, DISC1能与Mic60相互作用,并调控Mic60的稳定性,这提示了Mic60与精神分裂症的发生具有一定的联系^[83]。此外, Mic60的蛋白水平在一些神经退行性疾病中出现降低^[84],并且有报道Mic60在帕金森综合征等的发生中具有一定的作用^[85];这些结果说明, Mic60在神经退行性疾病的发生及发展过程中具有重要的作用。另外,对家族性肌萎缩疾病模型的线粒体蛋白质组学的分析发现, Mic19蛋白水平显著下调,说明Mic19与此类疾病的发生也具有一定的关系^[86]。线粒体嵴异常与多种心肌病相关。近期发现, Mic60是糖尿病性心肌病的关键因子^[87-88]。此外, MICOS复合物还与代谢性相关疾病息息相关。小鼠实验发现,在高脂饮食糖尿病小鼠肝脏中,线粒体内Mic60及Mic19的蛋白表达量

明显比对照小鼠提高很多^[89]。

目前,关于MICOS复合物异常引起相关疾病的病理机制还很不清楚。因此,探究MICOS复合物的生理功能及其分子机制,对MICOS复合物异常引起的相关人类疾病的病理机制的阐明及诊断治疗等都具有极其重要的科学意义及临床应用价值。

4 总结与展望

线粒体作为真核生物体内最重要的细胞器,为生物体提供源源不断的生物能。嵴结构的形成使线粒体空间结构进一步划分并行使不同的功能。MICOS复合物作为控制嵴形态的重要复合物,不仅调控嵴形成及正常形态的维持,还介导线粒体内外膜的连接和通讯,为两层膜之间的成分发生相互作用建立空间上的联系,为蛋白的转运及信号的传递提供支点。

除此之外, MICOS复合物还能影响线粒体动力学,而线粒体动力学和细胞内重大生命活动息息相关,说明MICOS的异常也会间接影响这些生命活动,包括细胞凋亡、衰老、自噬等等,但是具体的分子机制还有待后续的研究。此外, MICOS复合物在维持mtDNA的正常形态上也具有重要作用。MICOS复合物的异常也会引起包括神经退行性疾病、代谢和心血管等疾病,因此, MICOS复合物在相关疾病的发生发展中也具有至关重要的作用。综上所述,进一步研究MICOS在控制嵴形态上的具体过程,探寻在调控线粒体动力学以及mtDNA上的具体分子机制,深入发掘MICOS复合物作为内外膜通讯支点的重要功能,或许能为治疗由线粒体功能异常所引起的重大疾病找到合适的靶点及突破口。

参考文献 (References)

- 1 Dimmer KS, Scorrano L. (De)constructing mitochondria: What for? *Physiology* 2006; 21: 233-41.
- 2 Shutt TE, McBride HM. Staying cool in difficult times: Mitochondrial dynamics, quality control and the stress response. *Biochim Biophys Acta* 2013; 1833(2): 417-24.
- 3 Cho DH, Nakamura T, Lipton SA. Mitochondrial dynamics in cell death and neurodegeneration. *Cell Mol Life Sci* 2010; 67(20): 3435-47.
- 4 Ong SB, Hall AR, Hausenloy DJ. Mitochondrial dynamics in cardiovascular health and disease. *Antioxid Redox Signal* 2013; 19(4): 400-14.
- 5 Palade GE. The fine structure of mitochondria. *Anat Rec* 1952; 114(3): 427-51.
- 6 Hackenbrock CR. Chemical and physical fixation of isolated mi-

- tochondria in low-energy and high-energy states. *Proc Natl Acad Sci USA* 1968; 61(2): 598-605.
- 7 Zick M, Rabl R, Reichert AS. Cristae formation-linking ultra-structure and function of mitochondria. *Biochim Biophys Acta* 2009; 1793(1): 5-19.
- 8 Ha H, Hajek P, Bedwell DM, Burrows PD. A mitochondrial porin cDNA predicts the existence of multiple human porins. *J Biol Chem* 1993; 268(16): 12143-9.
- 9 Dolezal P, Likic V, Tachezy J, Lithgow T. Evolution of the molecular machines for protein import into mitochondria. *Science* 2006; 313(5785): 314-8.
- 10 Neupert W, Herrmann JM. Translocation of proteins into mitochondria. *Annu Rev Biochem* 2007; 76: 723-49.
- 11 Chacinska A, Koehler CM, Milenkovic D, Lithgow T, Pfanner N. Importing mitochondrial proteins: Machineries and mechanisms. *Cell* 2009; 138(4): 628-44.
- 12 Endo T, Yamano K, Kawano S. Structural insight into the mitochondrial protein import system. *Biochim Biophys Acta* 2011; 1808(3): 955-70.
- 13 Baker MJ, Frazier AE, Gulbis JM, Ryan MT. Mitochondrial protein-import machinery: Correlating structure with function. *Trends Cell Biol* 2007; 17(9): 456-64.
- 14 Werner S, Neupert W. Functional and biogenetical heterogeneity of the inner membrane of rat-liver mitochondria. *Eur J Biochem* 1972; 25(2): 379-96.
- 15 Frey TG, Mannella CA. The internal structure of mitochondria. *Trends Biochem Sci* 2000; 25(7): 319-24.
- 16 Hoppins S, Lackner L, Nunnari J. The machines that divide and fuse mitochondria. *Annu Rev Biochem* 2007; 76: 751-80.
- 17 Pellegrini L, Scorrano L. A cut short to death: Parl and Opa1 in the regulation of mitochondrial morphology and apoptosis. *Cell Death Differ* 2007; 14(7): 1275-84.
- 18 Davies KM, Strauss M, Daum B, Kief JH, Osiewacz HD, Rycovska A, *et al.* Macromolecular organization of ATP synthase and complex I in whole mitochondria. *Proc Natl Acad Sci USA* 2011; 108(34): 14121-6.
- 19 Scorrano L, Ashiya M, Buttle K, Weiler S, Oakes SA, Mannella CA, *et al.* A distinct pathway remodels mitochondrial cristae and mobilizes cytochrome c during apoptosis. *Dev Cell* 2002; 2(1): 55-67.
- 20 Yamaguchi R, Lartigue L, Perkins G, Scott RT, Dixit A, Kushnareva Y, *et al.* Opa1-mediated cristae opening is Bax/Bak and BH3 dependent, required for apoptosis, and independent of Bak oligomerization. *Mol Cell* 2008; 31(4): 557-69.
- 21 Mannella CA, Marko M, Buttle K. Reconsidering mitochondrial structure: New views of an old organelle. *Trends Biochem Sci* 1997; 22(2): 37-8.
- 22 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.
- 23 Alkhaja AK, Jans DC, Nikolov M, Vukotic M, Lytovchenko O, Ludewig F, *et al.* MINOS1 is a conserved component of mitofilin complexes and required for mitochondrial function and cristae organization. *Mol Biol Cell* 2012; 23(2): 247-57.
- 24 An J, Shi J, He Q, Lui K, Liu Y, Huang Y, *et al.* CHCM1/CH-CHD6, novel mitochondrial protein linked to regulation of mitofilin and mitochondrial cristae morphology. *J Biol Chem* 2012; 287(10): 7411-26.
- 25 Darshi M, Mendiola VL, Mackey MR, Murphy AN, Koller A, Perkins GA, *et al.* ChChd3, an inner mitochondrial membrane protein, is essential for maintaining crista integrity and mitochondrial function. *J Biol Chem* 2011; 286(4): 2918-32.
- 26 Head BP, Zulaika M, Ryazantsev S, van der Blik AM. A novel mitochondrial outer membrane protein, MOMA-1, that affects cristae morphology in *Caenorhabditis elegans*. *Mol Biol Cell* 2011; 22(6): 831-41.
- 27 Mun JY, Lee TH, Kim JH, Yoo BH, Bahk YY, Koo HS, *et al.* *Caenorhabditis elegans* mitofilin homologs control the morphology of mitochondrial cristae and influence reproduction and physiology. *J Cell Physiol* 2010; 224(3): 748-56.
- 28 Weber TA, Koob S, Heide H, Wittig I, Head B, van der Blik A, *et al.* APOOL is a cardiolipin-binding constituent of the Mitofilin/MINOS protein complex determining cristae morphology in mammalian mitochondria. *PLoS One* 2013; 8(5): e63683.
- 29 Hoppins S, Collins SR, Cassidy-Stone A, Hummel E, Devay RM, Lackner LL, *et al.* A mitochondrial-focused genetic interaction map reveals a scaffold-like complex required for inner membrane organization in mitochondria. *J Cell Biol* 2011; 195(2): 323-40.
- 30 Vonck J, von Nidda TK, Meier T, Matthey U, Mills DJ, Kuhlbrandt W, *et al.* Molecular architecture of the undecameric rotor of a bacterial Na⁺-ATP synthase. *J Mol Biol* 2002; 321(2): 307-16.
- 31 Bohnert M, Zerbes RM, Davies KM, Muhleip AW, Rampelt H, Horvath SE, *et al.* Central role of Mic10 in the mitochondrial contact site and cristae organizing system. *Cell Metab* 2015; 21(5): 747-55.
- 32 Barbot M, Jans DC, Schulz C, Denkert N, Kroppen B, Hoppert M, *et al.* Mic10 oligomerizes to bend mitochondrial inner membranes at cristae junctions. *Cell Metab* 2015; 21(5): 756-63.
- 33 Friedman JR, Mourier A, Yamada J, McCaffery JM, Nunnari J. MICOS coordinates with respiratory complexes and lipids to establish mitochondrial inner membrane architecture. *Elife* 2015; doi: 10.7554/eLife.07739.
- 34 Itoh K, Tamura Y, Iijima M, Sesaki H. Effects of Fcjl-Mos1 and mitochondrial division on aggregation of mitochondrial DNA nucleoids and organelle morphology. *Mol Biol Cell* 2013; 24(12): 1842-51.
- 35 Odgren PR, Toukatly G, Bangs PL, Gilmore R, Fey EG. Molecular characterization of mitofilin (HMP), a mitochondria-associated protein with predicted coiled coil and intermembrane space targeting domains. *J Cell Sci* 1996; 109(Pt 9): 2253-64.
- 36 Herrmann JM. MINOS is plus: A Mitofilin complex for mitochondrial membrane contacts. *Dev Cell* 2011; 21(4): 599-600.
- 37 John GB, Shang Y, Li L, Renken C, Mannella CA, Selker JM, *et al.* The mitochondrial inner membrane protein mitofilin controls cristae morphology. *Mol Biol Cell* 2005; 16(3): 1543-54.
- 38 von der Malsburg K, Muller JM, Bohnert M, Oeljeklaus S, Kwiatkowska P, Becker T, *et al.* Dual role of mitofilin in mitochondrial membrane organization and protein biogenesis. *Dev Cell* 2011; 21(4): 694-707.
- 39 Rabl R, Soubannier V, Scholz R, Vogel F, Mendl N, Vasiljev-Neumeyer A, *et al.* Formation of cristae and crista junctions in mitochondria depends on antagonism between Fcjl and Su e/g. *J Cell Biol* 2009; 185(6): 1047-63.
- 40 Harner M, Korner C, Walther D, Mokranjac D, Kaesmacher J, Welsch U, *et al.* The mitochondrial contact site complex, a de-

- terminant of mitochondrial architecture. *EMBO J* 2011; 30(21): 4356-70.
- 41 Paumard P, Vaillier J, Couly B, Schaeffer J, Soubannier V, Mueller DM, *et al.* The ATP synthase is involved in generating mitochondrial cristae morphology. *EMBO J* 2002; 21(3): 221-30.
- 42 Korner C, Barrera M, Dukanovic J, Eydt K, Harner M, Rabl R, *et al.* The C-terminal domain of Fcjl is required for formation of crista junctions and interacts with the TOB/SAM complex in mitochondria. *Mol Biol Cell* 2012; 23(11): 2143-55.
- 43 Schauble S, King CC, Darshi M, Koller A, Shah K, Taylor SS. Identification of ChChd3 as a novel substrate of the cAMP-dependent protein kinase (PKA) using an analog-sensitive catalytic subunit. *J Biol Chem* 2007; 282(20): 14952-9.
- 44 Hofmann S, Rothbauer U, Muhlenbein N, Baiker K, Hell K, Bauer MF. Functional and mutational characterization of human MIA40 acting during import into the mitochondrial intermembrane space. *J Mol Biol* 2005; 353(3): 517-28.
- 45 Koob S, Barrera M, Anand R, Reichert AS. Data supporting the role of the non-glycosylated isoform of MIC26 in determining cristae morphology. *Data Brief* 2015; 4: 135-9.
- 46 Koob S, Barrera M, Anand R, Reichert AS. The non-glycosylated isoform of MIC26 is a constituent of the mammalian MICOS complex and promotes formation of crista junctions. *Biochim Biophys Acta* 2015; 1853(7): 1551-63.
- 47 Resh MD. Fatty acylation of proteins: New insights into membrane targeting of myristoylated and palmitoylated proteins. *Biochim Biophys Acta* 1999; 1451(1): 1-16.
- 48 Mannella CA. The relevance of mitochondrial membrane topology to mitochondrial function. *Biochim Biophys Acta* 2006; 1762(2): 140-7.
- 49 Li H, Ruan Y, Zhang K, Jian F, Hu C, Miao L, *et al.* Mic60/mitofilin determines MICOS assembly essential for mitochondrial dynamics and mtDNA nucleoid organization. *Cell Death Differ* 2015; doi: 10.1038/cdd.2015.102.
- 50 Horvath SE, Daum G. Lipids of mitochondria. *Prog Lipid Res* 2013; 52(4): 590-614.
- 51 Harbauer AB, Zahedi RP, Sickmann A, Pfanner N, Meisinger C. The protein import machinery of mitochondria—a regulatory hub in metabolism, stress, and disease. *Cell Metab* 2014; 19(3): 357-72.
- 52 Wurm CA, Jakobs S. Differential protein distributions define two sub-compartments of the mitochondrial inner membrane in yeast. *FEBS Lett* 2006; 580(24): 5628-34.
- 53 Tamura Y, Harada Y, Shiota T, Yamano K, Watanabe K, Yokota M, *et al.* Tim23-Tim50 pair coordinates functions of translocators and motor proteins in mitochondrial protein import. *J Cell Biol* 2009; 184(1): 129-41.
- 54 Xie J, Marusich MF, Souda P, Whitelegge J, Capaldi RA. The mitochondrial inner membrane protein mitofilin exists as a complex with SAM50, metaxins 1 and 2, coiled-coil-helix coiled-coil-helix domain-containing protein 3 and 6 and DnaJC11. *FEBS Lett* 2007; 581(18): 3545-9.
- 55 Zerbes RM, Bohnert M, Stroud DA, von der Malsburg K, Kram A, Oeljeklaus S, *et al.* Role of MINOS in mitochondrial membrane architecture: Cristae morphology and outer membrane interactions differentially depend on mitofilin domains. *J Mol Biol* 2012; 422(2): 183-91.
- 56 Chacinska A, Pfannschmidt S, Wiedemann N, Kozjak V, Sanjuan Szklarz LK, Schulze-Specking A, *et al.* Essential role of Mia40 in import and assembly of mitochondrial intermembrane space proteins. *EMBO J* 2004; 23(19): 3735-46.
- 57 Westermann B. Mitochondrial fusion and fission in cell life and death. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2010; 11(12): 872-84.
- 58 Santel A, Fuller MT. Control of mitochondrial morphology by a human mitofusin. *J Cell Sci* 2001; 114(Pt 5): 867-74.
- 59 Santel A, Frank S, Gaume B, Herrler M, Youle RJ, Fuller MT. Mitofusin-1 protein is a generally expressed mediator of mitochondrial fusion in mammalian cells. *J Cell Sci* 2003; 116(Pt 13): 2763-74.
- 60 Cipolat S, Martins de Brito O, Dal Zilio B and Scorrano L. OPA1 requires mitofusin 1 to promote mitochondrial fusion. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; 101(45): 15927-32.
- 61 Cereghetti GM, Stangherlin A, Martins de Brito O, Chang CR, Blackstone C, Bernardi P, *et al.* Dephosphorylation by calcineurin regulates translocation of Drp1 to mitochondria. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008; 105(41): 15803-8.
- 62 Smirnova E, Griparic L, Shurland DL, van der Bliek AM. Dynamin-related protein Drp1 is required for mitochondrial division in mammalian cells. *Mol Biol Cell* 2001; 12(8): 2245-56.
- 63 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): 565-73.
- 64 Zhao J, Liu T, Jin S, Wang X, Qu M, Uhlen P, *et al.* Human MIEF1 recruits Drp1 to mitochondrial outer membranes and promotes mitochondrial fusion rather than fission. *EMBO J* 2011; 30(14): 2762-78.
- 65 Griparic L, van der Bliek AM. The many shapes of mitochondrial membranes. *Traffic* 2001; 2(4): 235-44.
- 66 Schwartz RM, Dayhoff MO. Origins of prokaryotes, eukaryotes, mitochondria, and chloroplasts. *Science* 1978; 199(4327): 395-403.
- 67 Anderson S, Bankier AT, Barrell BG, de Bruijn MH, Coulson AR, Drouin J, *et al.* Sequence and organization of the human mitochondrial genome. *Nature* 1981; 290(5806): 457-65.
- 68 Ekstrand MI, Falkenberg M, Rantanen A, Park CB, Gaspari M, Hultenby K, *et al.* Mitochondrial transcription factor A regulates mtDNA copy number in mammals. *Hum Mol Genet* 2004; 13(9): 935-44.
- 69 Ngo HB, Kaiser JT, Chan DC. The mitochondrial transcription and packaging factor Tfam imposes a U-turn on mitochondrial DNA. *Nat Struct Mol Biol* 2011; 18(11): 1290-6.
- 70 Rubio-Cosials A, Sidow JF, Jimenez-Menendez N, Fernandez-Millan P, Montoya J, Jacobs HT, *et al.* Human mitochondrial transcription factor A induces a U-turn structure in the light strand promoter. *Nat Struct Mol Biol* 2011; 18(11): 1281-9.
- 71 Frezza C, Cipolat S, Martins de Brito O, Micaroni M, Bezousenko GV, Rudka T, *et al.* OPA1 controls apoptotic cristae remodeling independently from mitochondrial fusion. *Cell* 2006; 126(1): 177-89.
- 72 Wallace DC. Mitochondrial DNA mutations in disease and aging. *Environ Mol Mutagen* 2010; 51(5): 440-50.
- 73 Wallace DC. Mitochondrial diseases in man and mouse. *Science* 1999; 283(5407): 1482-8.
- 74 Lin MT, Beal MF. Mitochondrial dysfunction and oxidative stress in neurodegenerative diseases. *Nature* 2006; 443(7113): 787-95.
- 75 Knott AB, Bossy-Wetzel E. Impairing the mitochondrial fission

- and fusion balance: A new mechanism of neurodegeneration. *Ann N Y Acad Sci* 2008; 1147: 283-92.
- 76 Okamoto K, Shaw JM. Mitochondrial morphology and dynamics in yeast and multicellular eukaryotes. *Annu Rev Genet* 2005; 39: 503-36.
- 77 Bernert G, Fountoulakis M, Lubec G. Manifold decreased protein levels of matrin 3, reduced motor protein HMP and hIark in fetal Down's syndrome brain. *Proteomics* 2002; 2(12): 1752-7.
- 78 Myung J, Gulesserian T, Fountoulakis M, Lubec G. Deranged hypothetical proteins Rik protein, Nit protein 2 and mitochondrial inner membrane protein, Mitofilin, in fetal Down syndrome brain. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)* 2003; 49(5): 739-46.
- 79 de Bildt A, Sytema S, Ketelaars C, Kraijer D, Mulder E, Volkmar F, *et al.* Interrelationship between Autism Diagnostic Observation Schedule-Generic (ADOS-G), Autism Diagnostic Interview-Revised (ADI-R), and the Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (DSM-IV-TR) classification in children and adolescents with mental retardation. *J Autism Dev Disord* 2004; 34(2): 129-37.
- 80 Kamiya A, Kubo K, Tomoda T, Takaki M, Youn R, Ozeki Y, *et al.* A schizophrenia-associated mutation of DISC1 perturbs cerebral cortex development. *Nat Cell Biol* 2005; 7(12): 1167-78.
- 81 Ozeki Y, Tomoda T, Kleiderlein J, Kamiya A, Bord L, Fujii K, *et al.* Disrupted-in-Schizophrenia-1 (DISC-1): Mutant truncation prevents binding to NudE-like (NUDEL) and inhibits neurite outgrowth. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; 100(1): 289-94.
- 82 Mao Y, Ge X, Frank CL, Madison JM, Koehler AN, Doud MK, *et al.* Disrupted in schizophrenia 1 regulates neuronal progenitor proliferation via modulation of GSK3beta/beta-catenin signaling. *Cell* 2009; 136(6): 1017-31.
- 83 Park YU, Jeong J, Lee H, Mun JY, Kim JH, Lee JS, *et al.* Disrupted-in-schizophrenia 1 (DISC1) plays essential roles in mitochondria in collaboration with Mitofilin. *Proc Natl Acad Sci USA* 2010; 107(41): 17785-90.
- 84 Baseler WA, Dabkowski ER, Williamson CL, Croston TL, Thapa D, Powell MJ, *et al.* Proteomic alterations of distinct mitochondrial subpopulations in the type 1 diabetic heart: Contribution of protein import dysfunction. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2011; 300(2): R186-200.
- 85 van Laar VS, Dukes AA, Cascio M, Hastings TG. Proteomic analysis of rat brain mitochondria following exposure to dopamine quinone: Implications for Parkinson disease. *Neurobiol Dis* 2008; 29(3): 477-89.
- 86 Fukada K, Zhang F, Vien A, Cashman NR, Zhu H. Mitochondrial proteomic analysis of a cell line model of familial amyotrophic lateral sclerosis. *Mol Cell Proteomics* 2004; 3(12): 1211-23.
- 87 Thapa D, Nichols CE, Lewis SE, Shepherd DL, Jagannathan R, Croston TL, *et al.* Transgenic overexpression of mitofilin attenuates diabetes mellitus-associated cardiac and mitochondria dysfunction. *J Mol Cell Cardiol* 2015; 79: 212-23.
- 88 Gorr MW, Wold LE. Mitofilin: Key factor in diabetic cardiomyopathy? *J Mol Cell Cardiol* 2015; 85: 292-3.
- 89 Guo Y, Darshi M, Ma Y, Perkins GA, Shen Z, Haushalter KJ, *et al.* Quantitative proteomic and functional analysis of liver mitochondria from high fat diet (HFD) diabetic mice. *Mol Cell Proteomics* 2013; 12(12): 3744-58.