



宋质银, 博士, 武汉大学教授, 博士生导师。2005年在中国科学技术大学获得理学博士学位, 2005~2010年在美国加州理工学院从事博士后研究。2011年入选湖北省楚天学者计划, 2014年获湖北省自然科学“杰青”基金。宋质银团队主要研究线粒体形态、结构和功能, 并探索线粒体与人类重大疾病(如肿瘤、代谢、神经退行性和心血管等疾病)的关系, 取得了一系列创新性科研成果。以调控线粒体形态和结构的关键蛋白为切入点, 开发线粒体研究新技术新方法, 并建立脂肪肝、肝炎、心衰、肿瘤、神经退行性疾病等的体外细胞模型和小鼠动物模型, 重点研究线粒体在脂肪肝、肝炎、心衰、肿瘤及神经退行性疾病的发生发展中作用及分子机制, 探索相关疾病新的干预及治疗方案和靶点。相关论文发表在*J Cell Biol*、*EMBO J*、*Autophagy*、*EMBO Rep*、*Cell Rep*、*Cell Death Differ*、*Oncogene*、*Mol Biol Cell*和*J Biol Chem*等杂志上。
<http://www.bio.whu.edu.cn/info/1191/4338.htm>

线粒体动力学与细胞凋亡

郑凯[#] 杨梅桂[#] 闫朝君 汤明亮^{*} 宋质银^{*}
(武汉大学生命科学学院, 武汉 430072)

摘要 线粒体是普遍存在于真核细胞中的双层膜细胞器, 通过氧化磷酸化为细胞提供能量。线粒体是高度动态的细胞器, 通过持续的融合和分裂改变自身形态来适应各种应激条件以满足细胞的能量代谢及其他生物学需求, 这种生物学过程被称为线粒体动力学。细胞凋亡是细胞程序性的死亡方式, 而线粒体在内源性细胞凋亡途径中扮演着重要的角色。在受到细胞内部(DNA突变)或者外部刺激时, 线粒体外膜通透性改变并释放凋亡因子, 如细胞色素C、Smac、AIF等, 进而激活细胞凋亡信号通路, 促进细胞凋亡。细胞凋亡过程中线粒体形态发生改变, 可从管状向颗粒状转变, 并伴随着线粒体嵴重构。线粒体形态是由Mfn1、Mfn2、OPA1、Drp1等多种GTP蛋白调控, 这些蛋白同时也参与细胞凋亡调控。此外, 细胞凋亡调控蛋白如Bax、Bak、Bcl-2等蛋白也可调控线粒体形态。该文主要回顾和阐述细胞凋亡与线粒体动力学的发展历程、基本知识以及它们之间的内在联系。

关键词 线粒体动力学; 细胞凋亡; Bcl-2; Drp1

Mitochondrial Dynamics and Apoptosis

Zheng Kai[#], Yang Meigui[#], Yan Chaojun, Tang Mingliang^{*}, Song Zhiyin^{*}
(College of Life Sciences, Wuhan University, Wuhan 430072, China)

Abstract Mitochondria are double membrane organelles, which provide energy of cells through producing

国家自然科学基金(批准号: 91854107、31671393)和湖北省自然科学基金(批准号: 2014CFA023)资助的课题

[#]共同第一作者

^{*}通讯作者。Tel: 027-68752235, E-mail: mingliang.tang@whu.edu.cn; songzy@whu.edu.cn

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.91854107, 31671393) and the Hubei Natural Science Foundation (Grant No.2014CFA023)

[#]These authors contributed equally to this work

^{*}Corresponding authors. Tel: +86-27-68752235, E-mail: mingliang.tang@whu.edu.cn; songzy@whu.edu.cn

网络出版时间: 2019-09-12 12:20:27

URL: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20190912.1220.010.html>

ATP via oxidative phosphorylation. Mitochondria are highly dynamic organelles that continuously fuse and divide to meet the energy metabolism and other biological requirements of cells. This biological process is called mitochondrial dynamics. Apoptosis is a programmed cell death, and mitochondria plays an important role in apoptosis. Upon the internal (DNA mutation) or external stimuli, mitochondrial outer membrane permeability changes and releases apoptotic factors, such as cytochromin c, Smac, AIF, etc., thereby activating apoptosis signaling pathways and promoting apoptosis. During apoptosis, the shape of mitochondria changes from tubular to fragmented, accompanied by mitochondrial cristae remodeling. Mitochondrial dynamics is regulated by Mfn1, Mfn2, OPA1, Drp1 and other GTP proteins, which also regulate apoptosis. In addition, apoptosis regulators, such as Bax, Bak, and bcl-2, can also regulate mitochondrial dynamics. This review discusses the basic knowledge and the relationship between apoptosis and mitochondrial dynamics.

Keywords mitochondrial dynamics; apoptosis; Bcl-2; Drp1

1 线粒体概述

线粒体是普遍存在于真核生物中的双层膜细胞器,通过氧化磷酸化为机体提供能量,被称作“能量工厂”。不仅如此,线粒体还参与钙稳态、细胞周期、细胞凋亡、天然免疫等信号通路调控^[1]。线粒体是高度动态的细胞器,并持续进行融合与分裂以维持线粒体正常形态及功能,这对于维持细胞的稳态是至关重要的^[2-3]。近期的研究表明,在细胞凋亡早期出现了线粒体的断裂以及线粒体嵴重构,而且线粒体动力学调控蛋白也积极参与了细胞凋亡过程。线粒体在细胞内源性凋亡中处于中心地位,在细胞凋亡过程中,线粒体的膜通透性由Bcl-2蛋白家族成员调控,并伴随着线粒体的形态学和超微结构变化:如线粒体片段化、线粒体嵴重构以及嵴连接点(crista junction)的扩大^[4]。

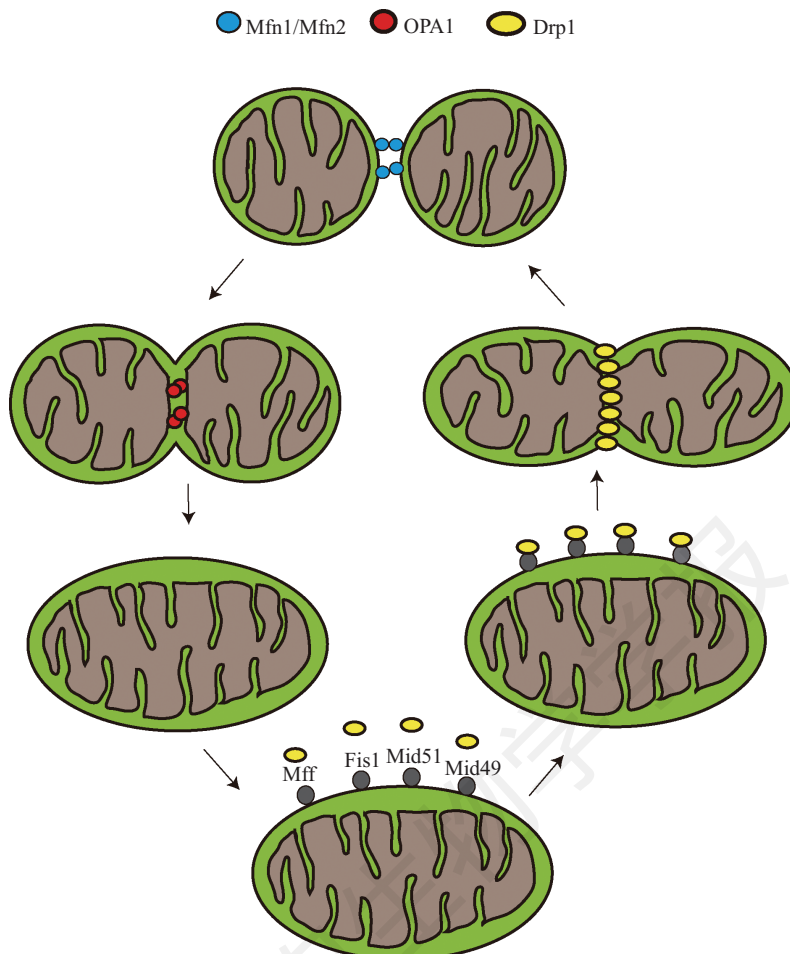
2 细胞凋亡

细胞凋亡是细胞程序性死亡的其中一条途径。它会引起细胞皱缩、核碎裂和染色质片段化,最终形成凋亡小体^[5-6]。上世纪90年代,王晓东课题组^[7-8]发现,细胞色素C(cytochrome c, Cyt c)介导的半胱氨酸蛋白水解酶(caspases)激活途径,揭示了线粒体在细胞凋亡中的重要作用。之后,英国科学家悉尼·布雷内、约翰·苏尔斯顿和美国科学家罗伯特·霍维茨,他们为研究器官发育和程序性细胞死亡过程中的基因调控作出了重大贡献,并因此获得了2002年诺贝尔生理学或医学奖。线粒体不仅是细胞的代谢和能量工厂,而且它还处于细胞凋亡的中心地位。在受到DNA损伤、生长因子缺陷等凋亡刺激时,Bcl-2蛋

白家族促凋亡成员引发死亡效应物Bax和Bak的寡聚化,形成寡聚复合物,并从细胞质中转移到线粒体外膜上,该寡聚复合物使线粒体外膜通透性改变,从而介导Cyt c、Smac、HtrA2(又被称为Omi)以及AIF等凋亡相关因子从线粒体释放到细胞质基质中,进而激活一系列caspases,起始由线粒体引发的细胞凋亡内源途径^[9-12]。此外,线粒体基因组(mitochondrial DNA, mtDNA)在细胞凋亡过程中可从线粒体中释放到细胞质基质中,引起自身免疫疾病^[13]。此外,线粒体是活性氧(reactive oxygen species, ROS)的主要来源,同时也会受到ROS的攻击^[14],过量ROS的产生会使线粒体损伤,降低线粒体膜电位,并下调ATP合成,随后导致细胞凋亡^[15]。近年来,线粒体-内质网互作受到了高度关注,这种互作机制调节着线粒体-内质网间Ca²⁺信号传导以及细胞凋亡调控等^[16-18]。

3 线粒体动力学及其调控机制

线粒体动力学是本世纪新兴的一门学科,它的主要内容是:线粒体是一种高度动态的细胞器,在细胞中持续性的进行融合和分裂。线粒体通过融合和分裂来调控自身的形态、数量、分布和功能等^[19]。线粒体通过两种截然相反的方式来调控线粒体的形态^[3]。当融合增多或者分裂减少时都会促进线粒体形成延长的管状结构(tubular),而当融合减少而分裂增多时,线粒体则呈现为颗粒状结构(fragment)^[20]。线粒体的融合和分裂可由高度保守的GTPase蛋白家族调控,GTPase蛋白家族通过自我组装和水解GTP来完成线粒体内外膜的重塑(图1)。线粒体的融合可分为两个部分:线粒体外膜的融合和线粒体内膜



线粒体融合初期, 两个线粒体相互靠近, 其外膜上的融合调控蛋白Mfn1/Mfn2彼此结合, 使外膜开始逐渐融合。随后, 在内膜融合蛋白OPA1的作用下, 实现了线粒体的内膜融合。最终两个线粒体合二为一, 完成内外膜的融合。当线粒体分裂开始时, 胞质中的Drp1会被招募至线粒体外膜表面, 与外膜表面上的线粒体分裂因子Fis1、Mff、Mid49和Mid51等蛋白结合, 并导致线粒体的内外膜向内凹陷。Drp1聚集在凹陷部位, 最终导致内外膜的断裂, 使一个线粒体分裂成两个子线粒体。

In the early stage of mitochondrial fusion, two mitochondria are close to each other, meanwhile, mitochondrial fusion regulator Mfn1/Mfn2 bind to each other on the outer membrane, making the outer membrane gradually fuse. Subsequently, OPA1, which locates at mitochondrial inner-membrane, mediates mitochondrial inner-membrane fusion. Eventually, two mitochondria are fused into one. When mitochondrial fission begins, cytosolic Drp1 are recruited to the outer membrane of mitochondria by Fis1, Mff, Mid49, and Mid51 etc., Drp1 then mediates mitochondrial division, splitting one mitochondria into two mitochondria.

图1 线粒体融合和分裂示意图

Fig.1 The mode of mitochondrial fusion and fission

的融合。线粒体外膜的融合是由定位在线粒体外膜的GTPase蛋白Mfn1(mitofusin 1)和Mfn2(mitofusin 2)来完成的; 而线粒体内膜的融合则是由OPA1(optic atrophy 1)来完成的^[21](图1)。不同于线粒体融合, 线粒体分裂是由定位在细胞质基质中的一种分子质量为80 kDa的Drp1(dynammin-1-like protein 1)介导完成。线粒体外膜上分布着能够募集Drp1的受体蛋白: 线粒体分裂因子Mff(mitochondrial fission factor)、Mid49/51(mitochondrial dynamics protein of 49 and 51 kDa)和Fis1(mitochondrial fission protein 1), 这些蛋白可以募集Drp1到线粒体外膜上并且进一步形成

螺旋环状的结构, 再通过水解GTP驱动线粒体缢缩与切断(图1)。

3.1 线粒体融合

线粒体融合的发生包括外膜融合和内膜融合两步。这两个过程相互协调, 几乎同时发生。当前的研究已知主要有三种与动力学相关的GTPases蛋白介导线粒体融合, 分别是Mfn1和Mfn2以及OPA1。其中Mfn1和Mfn2介导线粒体外膜的融合, 这两个蛋白在结构和功能上非常相似。细胞中缺失Mfn1或Mfn2均能导致线粒体片段化, 呈现颗粒状; 而同时缺失两者的线粒体无融合功能, 导致更严重的线粒

体片段化现象,而且线粒体功能也严重受损^[22]。研究发现,Mfn1在线粒体融合能力上更优于Mfn2,而且OPA1介导的融合更依赖于Mfn1而不是Mfn2。Mfn1和Mfn2结构上都主要是由五个结构域组成: N-端保守的GTP酶催化结合域、C-端两次跨膜结构域和两个疏水的七肽重复区(HR1和HR2)。Mfn1和Mfn2通常通过HR2结构域相互作用形成同源或异源二聚体,并依赖于GTPase水解从而介导外膜的融合进程^[3]。

内膜的融合是由定位在线粒体内膜上的OPA1介导的。OPA1也属于GTPase蛋白,通过N-端的跨膜结构域锚定在线粒体内膜上,它的GTP结合域和GTPase功能域都暴露于膜间隙^[23]。缺失OPA1不仅会导致线粒体融合能力减弱,使得线粒体呈现片段化,而且也会导致线粒体内膜结构发生异常。研究结果发现,未剪切的长形式OPA1(L-OPA1)可被线粒体膜间隙蛋白酶OMA1和ATP依赖的锌金属蛋白酶YME1L在不同位点剪切,生成短形式OPA1(S-OPA1)^[24-25];此外,OMA1和YME1L也可降解OPA1。细胞可通过L-OPA1与S-OPA1的比例调控线粒体融合及线粒体嵴结构等功能。

线粒体的融合产生管状或细长的线粒体,它们相互连接形成一个动态网络。正常情况下,线粒体的融合和分裂处于一个动态的平衡,一旦这种平衡被破坏,则会导致线粒体片段化。线粒体融合可以在线粒体之间交换线粒体内物质,包括蛋白、脂质及其他小分子。线粒体之间的mtDNA、蛋白质、脂质和代谢物的交换对于维持线粒体自身的遗传及理化性质非常重要。这一过程有助于优化线粒体功能,避免衰老过程中mtDNA突变造成的损伤累积。此外,线粒体融合也可以通过阻止线粒体自噬来挽救一些功能损伤的线粒体。

3.2 线粒体分裂

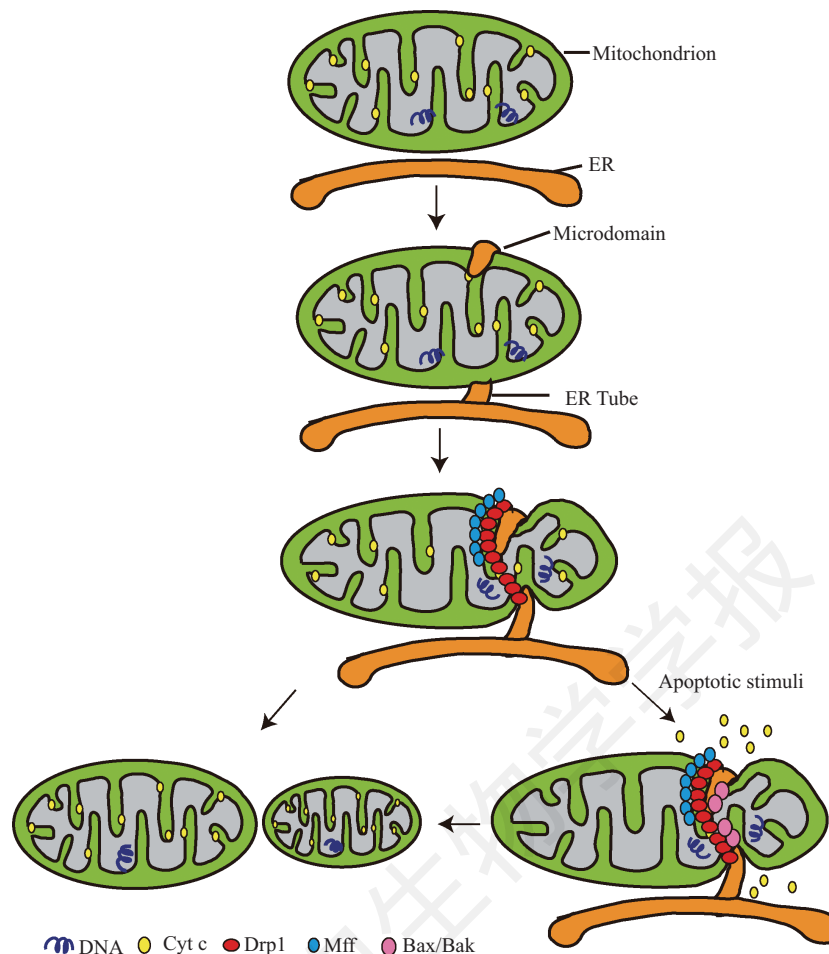
介导线粒体分裂的蛋白首次在酵母遗传筛选中被鉴定出来,后来在线虫中针对这些蛋白进行了深入的功能研究,并将这些研究扩展到哺乳动物细胞中,发现Drp1、Mff以及Fis1是哺乳动物线粒体分裂的主要调控分子^[3]。Drp1包含动力蛋白家族GTPases的几个特征域,包括GTPase域、中心域和GTPase效应域。Drp1需要线粒体外膜蛋白即Drp1受体招募到线粒体外膜上。目前已发现Mff、Fis1以及MID49/51可以作为受体募集Drp1。被募集的Drp1

在线粒体外膜上聚集形成螺旋环状,通过GTPase结构域水解GTP将线粒体分裂成两个子线粒体。Drp1结构中没有线粒体定位序列,大部分的Drp1是以可溶性蛋白的形式驻留在细胞质中,只有很少一部分定位于线粒体外膜,这些少量Drp1所在的位置,就是线粒体将来可能发生分裂的位点。抑制Drp1的表达,可以导致线粒体分裂减少,融合相对增加,线粒体主要呈现为长管状及网络形态。

线粒体分裂机制研究广受关注,特别是分裂位点的决定一直是科学家重点关注的问题。最新研究发现,内质网(ER)与线粒体分裂位点有接触,而且接触点环绕线粒体一圈^[26]。不仅如此,敲除Drp1或Mff,内质网和线粒体依然密切接触,说明内质网和线粒体的接触是在线粒体分裂的早期,早于Drp1被募集到线粒体上。近期的报道也表明,线粒体分裂位点是在线粒体与内质网接触的位点,而且该机制在酵母和哺乳动物细胞中是高度保守的。也有研究发现,微丝也参与了线粒体的分裂,抑制纤维状肌动蛋白(F-actin)的聚合能明显地抑制线粒体分裂和Drp1的募集^[27]。有研究指出,肌动蛋白聚合相关的蛋白INF2(ER-localized inverted formin 2)参与了线粒体的分裂,而且参与了Drp1的激活。此外,最新的研究指出,溶酶体与线粒体接触位点也调控线粒体分裂,其中Rab7扮演重要角色^[28]。

4 线粒体动力学与细胞凋亡

在过去的研究中发现,细胞凋亡和线粒体动力学之间存在密切联系。研究报道表明,在细胞凋亡早期,Bcl-2蛋白家族成员Bax在caspases被激活之前,会从细胞质转移到线粒体上^[29-30];同时Drp1和Endophilin B1也会从细胞质转移到线粒体即将发生分裂的位点,进而介导线粒体分裂。抑制Drp1的活性,不仅会抑制线粒体的分裂而且还会抑制caspases的激活和细胞死亡的过程^[31]。另外,高表达线粒体外膜融合蛋白Mfn1和Mfn2促进线粒体融合也可抑制细胞凋亡的进程;下调线粒体内膜融合蛋白OPA1导致线粒体融合受阻,引起线粒体片段化以及线粒体嵴重构,进而促进Cyt c自发释放和细胞凋亡^[32]。此外,在线虫发育的细胞程序性死亡的过程中会出现线粒体片段化。在酵母中,发现Dnm1(Drp1在酵母中的同源蛋白)可促进酵母细胞的死亡^[33]。综上所述,这些结果表明,线粒体分裂/融合参与了细胞



在凋亡发生前期, 内质网向线粒体靠近。随后, 内质网向线粒体伸出长管缠住线粒体, 与线粒体形成microdomain, 并导致接触位点向内凹陷。在正常情况下, Drp1被Mff等蛋白募集至线粒体上microdomain的凹陷处, 在Drp1的作用下, 线粒体分裂成两个不同的子线粒体。然而, 在诱导凋亡的情况下, Bax/Bak被招募至microdomain附近, 并在线粒体外膜上打孔, 导致Cyt c的释放。

At the early stage of apoptosis, endoplasmic reticulum (ER) contacts mitochondrion. Subsequently, ER tube is extended to entangle mitochondria, forming microdomain with mitochondria and causing the contact site to sag inward. Normally, Drp1 is recruited to mitochondria by mitochondrial outer membrane proteins Mff etc. Under the action of Drp1, mitochondrion divide into two different mitochondria. However, during apoptosis, Bax/Bak is recruited to the vicinity of microdomain and form pores in the outer membrane of mitochondria, then leading to the release of Cyt c from mitochondria.

图2 线粒体动力学与细胞凋亡模式图

Fig.2 The relationship between mitochondrial dynamics and apoptosis

凋亡调控。

4.1 线粒体分裂与细胞凋亡

Drp1作为一种重要的线粒体分裂蛋白, 除了会影响线粒体形态, 还参与细胞凋亡的调控。在Drp1被募集到线粒体外膜之前, 内质网小管包裹线粒体并标记线粒体分裂位点, 这种现象也被称为ER相关线粒体分裂(endoplasmic reticulum related mitochondrial fission), 并且该过程从酵母到人类都是高度保守的^[26]。随后, Drp1去磷酸化后被募集到线粒体的外膜, 定位在线粒体的分裂位点, 参与细胞凋亡过程^[34](图2)。有研究表明, 下调人类结肠癌细胞中Drp1的表达, 会导致结肠癌细胞中Cyt c释放进而促

进细胞凋亡^[35]。在小鼠模型中, 肝特异性Drp1基因敲除小鼠可防止Sence诱导的细胞凋亡和肝损伤^[36]; 而大鼠实验中发现, Drp1的抑制可阻碍Cyt c和AIF依赖的线粒体凋亡途径, 减少心脏骤停后的脑缺血性损伤^[37]。这些结果表明, Drp1介导的线粒体分裂调控细胞凋亡。

Drp1介导的线粒体分裂如何调控细胞凋亡? 研究表明, Drp1通过促进含有心磷脂的膜的半融合来刺激由tBid引发的Bax寡聚化, 然后通过在线粒体分裂期间形成的膜半融合中间体释放Cyt c^[38], 从而启动细胞凋亡。在细胞凋亡过程中, Drp1在线粒体片段化的产生过程中发挥着重要作用^[39], 且线粒

体片段化是发生在Cyt c释放之后^[40-41]。细胞凋亡早期, Drp1从细胞质被募集到线粒体外膜以触发线粒体分裂^[42]。当细胞凋亡发生时, Drp1的缺失会抑制线粒体片段化的产生, 并使线粒体延伸。据报道, RNA干扰抑制Drp1的表达, 或者高表达Drp1突变体(K38A)以及Drp1的化学抑制剂都可有效地延缓线粒体片段化的产生^[43]。不论是过表达Drp1突变体(K38A)或者下调Drp1的表达, 均会影响Cyt c的释放和之后的细胞凋亡进程^[44]。说明Drp1介导的线粒体分裂是各类型哺乳动物细胞细胞凋亡过程所必需的。

在细胞凋亡过程中, 另外一些线粒体分裂相关蛋白, 如Fis1、Mff和MID51等也会协调Drp1介导线粒体分裂。Fis1作为另一种线粒体分裂蛋白, 过表达Fis1可以诱导线粒体分裂和细胞凋亡, 并会使许多凋亡药物对细胞凋亡失去敏感性^[45]。如果下调Fis1, 则会减少Bax转移到线粒体, 减少细胞凋亡^[46]。在病理刺激条件下, Fis1主要与Drp1相互作用, 导致线粒体分裂过多、ROS产生、氧化应激以及线粒体膜电势下降^[47]。而且有研究发现, 如果阻断Drp1/Fis1介导的线粒体分裂可以减少内质网应激反应, 从而促进细胞存活^[48]。此外, Fis1还可通过与内质网上的Bap31相互作用, 并促进其切割成促细胞凋亡的p20Bap31, 从线粒体向内质网传递凋亡信号^[49]。

4.1.1 细胞凋亡与线粒体形态 Bcl-2家族蛋白对线粒体形态具有调节作用。其家族成员促凋亡蛋白Bax在凋亡过程中首先被募集至线粒体外膜, 通过与线粒体分裂因子的相互作用, 阻断线粒体融合进而诱导线粒体片段化^[50]。Bcl-2家族的另外两个成员Bcl-2和Bcl-x1也可以抑制线粒体片段化, 其抑制作用则取决于Bak的存在。在Bax和Bak同时缺失的细胞系中, Bak在恢复线粒体片段化方面比Bax更有效。Bak与Mfn1和Mfn2间存在相互作用, 在凋亡过程中, Bak与Mfn2解离, 而Bak中BH3结构域的突变阻止了其Mfn2的解离并减弱了线粒体的分裂活性^[51]。Bak和Bax的激活导致线粒体外膜形成孔道, 这些孔道导致线粒体内膜膨胀, 进一步使Cyt c以及线粒体基质的内容物释放到细胞质中^[50]。

通过对细胞死亡过程中Bax和Bak亚细胞定位的分析, 可以获得线粒体分裂和细胞凋亡之间的直接联系。Bax通常分布在细胞质溶胶中并均匀围绕在线粒体外膜周围^[51]; Bak不存在于细胞质中, 主要

与正常细胞中的线粒体有关, 一般情况下Bak均匀分布在线粒体外膜周围。但是在细胞凋亡的早期阶段, caspase活化之前, Bax和Bak聚集在线粒体外膜上形成大的聚集点^[52]。有报道指出, 这些聚集点与Drp1和Mfn2在线粒体分裂位点有共定位^[53]。该发现将Bcl-2蛋白家族中一些成员的亚细胞定位与线粒体分裂机制联系起来, 进一步证实了线粒体在细胞凋亡过程中会发生大量的分裂, 同时也说明了Bax和Bak极有可能是起始线粒体分裂过程的关键因子。

在哺乳动物细胞凋亡过程中, 线粒体释放的Cyt c是caspase级联反应的主要激活因子。细胞凋亡过程中, Bax被募集至线粒体外膜进一步形成大的聚集点, 并诱导Cyt c释放, 并同时伴随线粒体片段化^[54]。在线虫的生长发育过程中, 发现了程序性细胞死亡期间有线粒体片段化的现象^[55]。如果抑制凋亡蛋白酶激活因子-1(apoptosis protease-activating factor-1, Apaf1)同源物CED-4或者CED-3的活性来阻止细胞死亡, 线粒体片段化仍能发生, 这表明, 线粒体片段化发生在细胞凋亡早期。Endophilin B1也被称为Bif-1和SH3GLB1, 属于参与内吞囊泡形成的家族成员, 同时也是一种直接将线粒体形态改变过程与细胞凋亡诱导联系起来的蛋白质。Endophilin B1是维持线粒体形态的重要蛋白^[56], 也是一种新型的Bax/Bak激活剂, 它的缺失会使Cyt c的释放减少, 并抑制Bax/Bak构象变化和细胞凋亡的线粒体途径^[57]。而Endophilin B1过表达会抑制caspase-3活性, 促进细胞存活从而减少细胞凋亡^[58]。不仅如此, Endophilin B1在细胞营养缺陷时, 还参与了不依赖于caspase的细胞凋亡与自噬的调节^[59]。

4.1.2 线粒体嵴重塑与细胞凋亡 Cyt c释放是诱导细胞凋亡的关键环节。正常情况下, Cyt c大部分定位在线粒体嵴中, 线粒体嵴与内膜接触的区域(crista junction)很窄, 限制了Cyt c的释放。OPA1是线粒体内膜融合关键调控蛋白, 此外, OPA1在线粒体嵴生成及形态维持方面起着重要作用。OPA1可通过寡聚化形成寡聚体来调节细胞凋亡过程中的线粒体嵴重塑^[60-61], 此外, OPA1缺失可以扩大线粒体嵴面积^[62]。OPA1高表达会抑制凋亡刺激物诱导线粒体嵴重塑, 进而减少Cyt c的释放、减弱线粒体功能损伤以及降低高代谢活性器官对细胞凋亡的反应, 防止肌肉萎缩、心脏或脑缺血以及肝细胞凋亡^[63]。OPA1不会干扰线粒体Bax和Bak的激活, 但

它控制线粒体嵴的形状, 保持它们在细胞凋亡过程中的紧密连接^[64]。需要指出的是, 很多凋亡刺激物可导致细胞内OPA1的剪切和降解, 进而诱导线粒体嵴重塑, 促进Cyt c释放。另外, Bcl-2蛋白家族的成员Bid和Bik可介导线粒体嵴形态调控。凋亡早期, 线粒体嵴重塑其形态, 并且嵴与线粒体内膜接触的区域(crista junction)被扩张, 而且这部分区域可被Bid和Bik的BH3结构域识别, 然后进一步刺激线粒体释放Cyt c^[65]。抑制Drp1可防止由于Bik过表达引起的线粒体嵴扩张。综上所述, 在细胞凋亡过程中, 线粒体嵴重塑可明显促进Cyt c释放, 进而促进细胞凋亡。

4.2 线粒体融合与细胞凋亡

细胞分裂会促进细胞凋亡的发生, 而也有证据表明抑制线粒体融合会促进细胞凋亡。在线粒体应激条件下, 线粒体融合蛋白Mfn1的减少使细胞对凋亡更加敏感, 并且Mfn1高表达也促进了这些细胞的死亡, 这表明, Mfn1蛋白水平变化可调控细胞凋亡^[58]。另外, 研究证实, Mfn2高表达触发Ca²⁺从内质网流入线粒体, 促进MPTP开放和Cyt c释放, 进一步使caspase-3激活, 从而诱导肝癌细胞凋亡^[66]。此外, OPA1作为线粒体融合蛋白, 不仅在线粒体内膜融合和维持线粒体嵴结构中发挥着重要作用, 它对细胞凋亡的调控也至关重要。OPA1的缺失诱导线粒体嵴异常以及自发凋亡^[67]。OPA1的下调可促进细胞凋亡, 而高表达OPA1可抑制Cyt c的释放^[68-69], 可以保护细胞免受凋亡刺激物诱导的细胞凋亡^[64,70]。这充分说明, OPA1可以独立于线粒体融合中的作用来阻断细胞凋亡。OPA1的这种抗凋亡功能归因于含OPA1复合物的形成, 该复合物维持嵴的结构并将Cyt c隔离在线粒体嵴空间中^[71-72]。在线粒体与促凋亡的仅含BH3结构域的蛋白孵育后, OPA1复合物快速解离, 导致Cyt c从线粒体嵴间隙中转移到线粒体内膜空间, 随后通过线粒体外膜释放到细胞质中。另外, 有文章报道称, 以Bax或Bak依赖性方式发生的Bnip3与OPA1相互作用, 可破坏OPA1寡聚体形成并诱导线粒体嵴重塑, 触发Cyt c的转移, 促进线粒体片段化和引发细胞凋亡^[72-73]。有趣的是, OPA1寡聚化也受代谢需求的调节, 可以通过刺激来保护细胞免受饥饿诱导的细胞死亡^[68]。总之, OPA1缺失可以使细胞对细胞凋亡更加敏感, 而高表达则可以起到抑制细胞凋亡的作用。

4.3 内质网-线粒体接触调控线粒体分裂及细胞凋亡

内质网是细胞内另一种非常重要的细胞器, 它不仅参与细胞内蛋白质和脂质的合成, 还与线粒体之间存在密切联系。线粒体与内质网之间存在接触, 此接触为线粒体与内质网间的信号传递和物质交换提供了机会, 这种接触同时也启动线粒体分裂。通过电子显微镜和断层扫描观察酿酒酵母中内质网和线粒体之间接触的三维结构, 发现在它们的接触部位, 内质网几乎完全包围线粒体外膜, 使线粒体在接触位点处被收缩(图2)。当通过RNA干扰抑制Drp1, 从而减少Drp1招募到线粒体时, 这样仍会引起线粒体的收缩, 即线粒体的这种收缩是Drp1非依赖性的^[74]。这充分证明, 线粒体分裂位点发生在内质网和线粒体接触并收缩的位置。而线粒体的收缩, 引起Drp1受体Mif在ER和线粒体接触部位积聚, 并招募细胞质基质中的Drp1聚集到此接触位点^[30], 最终完成线粒体的分裂(图2)。整个分裂过程, 伴随着mtDNA位置的动态变化。mtDNA在线粒体分裂开始前完成复制, 并被分裂至子代线粒体中, 随后在远离分裂位点处进行分布, 通过此过程, 线粒体实现了mtDNA的转移。这也充分表明, 哺乳动物细胞中的线粒体中, mtDNA的分布与内质网-线粒体接触有关。此外, 内质网-线粒体接触促进Drp1被募集到线粒体外膜, 然后Drp1可通过稳定膜束缚和通过半融合来促进体外Bax寡聚化, 改变线粒体外膜通透性, 进而引起大量Cyt c外流, 引起细胞凋亡^[75](图2)。

5 讨论

线粒体分裂是细胞凋亡过程中至关重要的一步。首先, 线粒体片段化发生在哺乳动物细胞的多种凋亡过程以及线虫生在发育过程中细胞程序性死亡期间。其次, 调控线粒体分裂的两个关键蛋白Drp1和Fis1介导细胞凋亡过程, 并且是诱导细胞凋亡所必需的。Drp1、Bax和Bak在线粒体的共定位进一步说明, 线粒体分裂是细胞凋亡过程中线粒体动态调控重要特征。在凋亡早期, Drp1和Bax都从胞质转移到相同的线粒体分裂位点。然而, 线粒体在正常细胞中经历着不断分裂和融合, 可以通过例如抑制呼吸复合物或者提高细胞溶质Ca²⁺水平来诱导线粒体片段化而不诱导细胞凋亡。因此, 线粒体分裂本身不会诱导细胞凋亡。因此, 可以推测, Bax和

Bak与Drp1一起易位到分裂位点可能是线粒体分裂促进细胞凋亡的必要条件之一。

那么,线粒体分裂过程如何激活caspases?哺乳动物细胞凋亡的一个标志是Cyt c释放到细胞质中。线粒体外膜释放相关蛋白是否涉及线粒体分裂?一种可能性是Bax和Bak通过改变分裂机制以打开通道来诱导Cyt c释放,该通道允许蛋白通过裂变灶进而释放出来。或者,根据图2中的模型,Bax和Bak可能裂解从分裂部位发出的狭窄囊泡或小管,进而促进Cyt c释放。另外,线粒体分裂和融合蛋白可能还以其他方式参与caspases的激活。由于Bcl-2可以在没有Apaf1的情况下阻断细胞凋亡,因此可能存在有替代caspases激活的过程,其独立于线粒体外膜去极化但受线粒体分裂机制的调节。另一个问题来自关于线虫的研究,Cyt c释放并未涉及caspases的活化,但在其细胞凋亡期间的线粒体片段化却和Bcl-2家族成员有关。

线粒体分裂机制和Bcl-2蛋白家族的功能有交叉,而且线粒体分裂过程可能促进Cyt c释放进而诱发细胞凋亡。尽管在细胞凋亡过程中会发生明显的线粒体分裂,但是在一些报道中指出,抑制线粒体分裂可以起到抑制细胞凋亡的作用,说明分裂在激活caspases诱发的细胞凋亡过程中的关键作用。后期研究将着重于线粒体分裂机制如何参与细胞程序性死亡。

调控线粒体分裂和融合的分子机器正在被逐步揭示,对于这些分子机器的进一步研究能为探索线粒体动力学的生物学功能如蛋白质和DNA质量监控、程序性细胞死亡、衰老、自噬和ROS生产等提供有力的工具。多项实验数据表明,线粒体本身的形态改变并不直接参与细胞凋亡,但细胞凋亡过程中伴随着线粒体形态及结构变化。在细胞凋亡过程中,凋亡调控蛋白如Bcl-2家族蛋白如何介导线粒体形态调控及结构重塑是非常重要的科学问题,目前相关调控机制还不清楚,需要进一步研究探索。此外,探索细胞凋亡机器与线粒体动力学系统的协调作用及相互联系,对于进一步揭示线粒体调控的细胞凋亡机制具有重要作用。

参考文献 (References)

- 1 Weinberg SE, Chandel NS. Targeting mitochondria metabolism for cancer therapy. *Nat Chem Biol* 2015; 11(1): 9-15.
- 2 Detmer SA, Chan DC. Functions and dysfunctions of mitochondrial dynamics. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2007; 8(11): 870-9.
- 3 Chan DC. Mitochondrial fusion and fission in mammals. *Annu Rev Cell Dev Biol* 2006; 22: 79-99.
- 4 Martinou JC, Youle RJ. Mitochondria in apoptosis: Bcl-2 family members and mitochondrial dynamics. *Dev Cell* 2011; 21(1): 92-101.
- 5 Kerr JF, Wyllie AH, Currie AR. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. *Brit J Cancer* 1972; 26(4): 239-57.
- 6 Taylor RC, Cullen SP, Martin SJ. Apoptosis: controlled demolition at the cellular level. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2008; 9(3): 231-41.
- 7 Liu X, Kim CN, Yang J, Jemerson R, Wang X. Induction of apoptotic program in cell-free extracts: requirement for dATP and cytochrome c. *Cell* 1996; 86(1): 147-57.
- 8 Du C, Fang M, Li Y, Li L, Wang X. Smac, a mitochondrial protein that promotes cytochrome c-dependent caspase activation by eliminating IAP inhibition. *Cell* 2000; 102(1): 33-42.
- 9 Hao Z, Duncan GS, Chang CC, Elia A, Fang M, Wakeham A, et al. Specific ablation of the apoptotic functions of cytochrome C reveals a differential requirement for cytochrome C and Apaf-1 in apoptosis. *Cell* 2005; 121(4): 579-91.
- 10 Wu G, Chai J, Suber TL, Wu JW, Du C, Wang X, et al. Structural basis of IAP recognition by Smac/DIABLO. *Nature* 2000; 408(6815): 1008-12.
- 11 Wan J, Cui J, Wang L, Wu K, Hong X, Zou Y, et al. Excessive mitochondrial fragmentation triggered by erlotinib promotes pancreatic cancer PANC-1 cell apoptosis via activating the mROS-HtrA2/Omi pathways. *Cancer Cell Int* 2018; 18: 165.
- 12 Koren E, Yosefzon Y, Ankawa R, Soteriou D, Jacob A, Nevelsky A, et al. ARTS mediates apoptosis and regeneration of the intestinal stem cell niche. *Nature Commun* 2018; 9(1): 4582.
- 13 McArthur K, Whitehead LW, Heddleston JM, Li L, Padman BS, Oorschot V, et al. BAK/BAX macropores facilitate mitochondrial herniation and mtDNA efflux during apoptosis. *Science* 2018; 359(6378): 604-7.
- 14 Paradies G, Paradies V, Ruggiero FM, Petrosillo G. Mitochondrial bioenergetics decay in aging: beneficial effect of melatonin. *Cell Mol Life Sci Cmls* 2017; 74(Suppl 2): 1-15.
- 15 Callista Y, Wen Y, Siegfried H. The intrinsic apoptosis pathway mediates the pro-longevity response to mitochondrial ROS in *C. elegans*. *Cell* 2014; 157(4): 897-909.
- 16 Suzanne H, Jodi N. Cell biology. Mitochondrial dynamics and apoptosis: the ER connection. *Science* 2012; 337(6098): 1052-4.
- 17 Hayashi T, Su TP. Sigma-1 receptor chaperones at the ER-mitochondrion interface regulate Ca²⁺ signaling and cell survival. *Cell* 2007; 131(3): 596-610.
- 18 Marchi S, Patergnani S, Pinton P. The endoplasmic reticulum-mitochondria connection: One touch, multiple functions. *Biochim Biophys Acta* 2014; 1837(4): 461-9.
- 19 Chan DC. Mitochondria: dynamic organelles in disease, aging, and development. *Cell* 2006; 125(7): 1241-52.
- 20 Shutt TE, McBride HM. Staying cool in difficult times: mitochondrial dynamics, quality control and the stress response. *BBA-Bio Membranes* 2013; 1833(2): 417-24.
- 21 Hoppins S, Lackner L, Nunnari J. The machines that divide and

- fuse mitochondria. *Annu Rev Biochem* 2007; 76: 751-80.
- 22 Hoppins S. The regulation of mitochondrial dynamics. *Curr Opin Cell Biol* 2014; 29(29C): 46-52.
- 23 Alexander C, Di PUT, Mayer S, Moore ARM, Kellner U, Leo-Kottler B, *et al.* OPA1, encoding a dynamin-related GTPase, is mutated in autosomal dominant optic atrophy linked to chromosome 3q28. *Am J Ophthalmol* 2001; 131(2): 289.
- 24 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): 749-55.
- 25 Zhang K, Li H, Song Z. Membrane depolarization activates the mitochondrial protease OMA1 by stimulating self-cleavage. *EMBO Rep* 2014; 15(5): 576-85.
- 26 Friedman JR, Lackner LL, Matthew W, Dibenedetto JR, Jodi N, Voeltz GK. ER tubules mark sites of mitochondrial division. *Science* 2011; 334(6054): 358-62.
- 27 Chakrabarti R, Ji WK, Stan RV, de Juan Sanz J, Ryan TA, Higgs HN. INF2-mediated actin polymerization at the ER stimulates mitochondrial calcium uptake, inner membrane constriction, and division. *J Cell Biol* 2018; 217(1): 251-68.
- 28 Wong YC, Ysselstein D, Krainc D. Mitochondria-lysosome contacts regulate mitochondrial fission via RAB7 GTP hydrolysis. *Nature* 2018; 554(7692): 382-6.
- 29 Martinou JC, Youle RJ. Which came first, the cytochrome c release or the mitochondrial fission? *Cell Death Differ* 2006; 13(8): 1291-5.
- 30 Hoppins S, Nunnari J. Mitochondrial dynamics and apoptosis--the ER connection. *Science* 2012; 337(6098): 1052-4.
- 31 Suen DF, Norris KL, Youle RJ. Mitochondrial dynamics and apoptosis. *Genes Dev* 2008; 22(12): 1577-90.
- 32 Jian F, Chen D, Chen L, Yan C, Lu B, Zhu Y, *et al.* Sam50 regulates PINK1-Parkin-mediated mitophagy by controlling PINK1 stability and mitochondrial morphology. *Cell Rep* 2018; 23(10): 2989-3005.
- 33 Fanjiang Y, Cheng WC, Lee SJ, Qi B, Pevsner J, McCaffery JM, *et al.* Mitochondrial fission proteins regulate programmed cell death in yeast. *Genes Dev* 2004; 18(22): 2785-97.
- 34 Julien P, Rodolfo Z, Ayumu S, Sevan M, Shore GC, McBride HM. MAPL SUMOylation of Drp1 stabilizes an ER/mitochondrial platform required for cell death. *Mol Cell* 2015; 59(6): 941-55.
- 35 Inoue-Yamauchi A, Oda H. Depletion of mitochondrial fission factor DRP1 causes increased apoptosis in human colon cancer cells. *Biochem Biophysical Res Co* 2012; 421(1): 81-5.
- 36 Yang X, Wang H, Ni HM, Xiong A, Wang Z, Sesaki H, *et al.* Inhibition of Drp1 protects against senecionine-induced mitochondria-mediated apoptosis in primary hepatocytes and in mice. *Redox Biol* 2017; 12: 264-73.
- 37 Li Y, Wang P, Wei J, Fan R, Zuo Y, Shi M, *et al.* Inhibition of Drp1 by Mdivi-1 attenuates cerebral ischemic injury via inhibition of the mitochondria-dependent apoptotic pathway after cardiac arrest. *Neuroscience* 2015; 311: 67-74.
- 38 Montessuit S, Somasekharan SP, Terrones O, Lucken-Ardjoman-de S, Herzig S, Schwarzenbacher R, *et al.* Membrane remodeling induced by the dynamin-related protein Drp1 stimulates Bax oligomerization. *Cell* 2010; 142(6): 889-901.
- 39 Frank S, Gaume B, Bergmann-Leitner ES, Leitner WW, Robert EG, Catez F, *et al.* The role of dynamin-related protein 1, a mediator of mitochondrial fission, in apoptosis. *Dev Cell* 2001; 1(4): 515-25.
- 40 Arnoult D, Grodet A, Lee YJ, Estaquier J, Blackstone C. Release of OPA1 during apoptosis participates in the rapid and complete release of cytochrome c and subsequent mitochondrial fragmentation. *J Biol Chem* 2005; 280(42): 35742-50.
- 41 Ishihara N, Nomura M, Jofuku A, Kato H, Suzuki SO, Masuda K, *et al.* Mitochondrial fission factor Drp1 is essential for embryonic development and synapse formation in mice. *Nat Cell Biol* 2009; 11(8): 958-66.
- 42 Arnoult D, Rismanchi N, Grodet A, Roberts RG, Seeburg DP, Estaquier J, *et al.* Bax/Bak-dependent release of DDP/TIMM8a promotes Drp1-mediated mitochondrial fission and mitoptosis during programmed cell death. *Curr Biol* 2005; 15(23): 2112-8.
- 43 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): 466-76.
- 44 De Palma C, Falcone S, Pisoni S, Cipolat S, Panzeri C, Pambianco S, *et al.* Nitric oxide inhibition of Drp1-mediated mitochondrial fission is critical for myogenic differentiation. *Cell Death Differ* 2010; 17: 1684-96.
- 45 Sheridan C, Delivani P, Cullen SP, Martin SJ. Bax- or Bak-induced mitochondrial fission can be uncoupled from cytochrome release. *Mol Cell* 2008; 31(4): 570-85.
- 46 Wang K, Long B, Jiao JQ, Wang JX, Liu JP, Li Q, *et al.* miR-484 regulates mitochondrial network through targeting Fis1. *Nature Comm* 2012; 3(1): 781.
- 47 Xin Q, Nir Q, Yu-Chin S, Daria MR. A novel Drp1 inhibitor diminishes aberrant mitochondrial fission and neurotoxicity. *J Cell Science* 2013; 126(3): 789-802.
- 48 Joshi AU, Saw NL, Vogel H, Cunningham AD, Shamloo M, Mochly-Rosen D. Inhibition of Drp1/Fis1 interaction slows progression of amyotrophic lateral sclerosis. *EMBO Mol Med* 2018; 10(3): e8166.
- 49 Ryota I, Anne-Laure MM, Christoph D, Evangelos P, Stefan G. Fis1 and Bap31 bridge the mitochondria-ER interface to establish a platform for apoptosis induction. *EMBO J* 2014; 30(3): 556-68.
- 50 Brooks C, Dong Z. Regulation of mitochondrial morphological dynamics during apoptosis by Bcl-2 family proteins: a key in Bak? *Cell Cycle* 2007; 6(24): 3043-7.
- 51 Brooks C, Wei Q, Feng L, Dong G, Tao Y, Mei L, *et al.* Bak regulates mitochondrial morphology and pathology during apoptosis by interacting with mitofusins. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007; 104(28): 11649-54.
- 52 Nechushtan A, Smith CL, Lamensdorf I, Yoon SH, Youle RJ. Bax and Bak coalesce into novel mitochondria-associated clusters during apoptosis. *J Cell Biol* 2001; 153(6): 1265-76.
- 53 Mariusz K, Yang-Ja L, Brigitte G, Seon-Yong J, Stephan F, Amotz N, *et al.* Spatial and temporal association of Bax with mitochondrial fission sites, Drp1, and Mfn2 during apoptosis. *J Cell Biol* 2002; 159(6): 931-8.
- 54 Mariusz K, Damien A, Hsiuchen C, Chan DC, Smith CL, Youle RJ. Quantitation of mitochondrial dynamics by photolabeling of individual organelles shows that mitochondrial fusion is blocked during the Bax activation phase of apoptosis. *J Cell Biol* 2004; 164(4): 493-9.

- 55 Ravi J, Phillip G, Benedikt W, Barbara C. DRP-1-mediated mitochondrial fragmentation during EGL-1-induced cell death in *C. elegans*. *Nature* 2005; 433(7027): 754-60.
- 56 Mariusz K, Seon-Yong J, Youle RJ. Endophilin B1 is required for the maintenance of mitochondrial morphology. *J Cell Biol* 2004; 166(7): 1027-39.
- 57 Takahashi Y, Karbowski MH, Kazi A, Wu J, Sebti SM, Youle RJ, *et al.* Loss of Bif-1 suppresses Bax/Bak conformational change and mitochondrial apoptosis. *Mol Cell Biol* 2005; 25(21): 9369-82.
- 58 Wang DB, Takuma U, Chizuru K, Sopher BL, Lee RJ, Murphy SP, *et al.* Bax interacting factor-1 promotes survival and mitochondrial elongation in neurons. *J Neuroscience* 2014; 34(7): 2674-83.
- 59 Yoshinori T, Domenico C, Norimasa M, Cualing HD, Mei S, Yuya S, *et al.* Bif-1 interacts with Beclin 1 through UVRAG and regulates autophagy and tumorigenesis. *Nat Cell Biol* 2007; 9(10): 1142-51.
- 60 Olichon A, Baricault L, Gas N, Guillou E, Valette A, Belenguer P, *et al.* Loss of OPA1 perturbs the mitochondrial inner membrane structure and integrity, leading to cytochrome c release and apoptosis. *J Biol Chem* 2003; 278(10): 7743-6.
- 61 Cipolat S, Rudka T, Hartmann D, Costa V, Serneels L, Craessaerts K, *et al.* Mitochondrial rhomboid PARL regulates cytochrome c release during apoptosis via OPA1-dependent cristae remodeling. *Cell* 2006; 126(1): 163-75.
- 62 Olichon A, Emorine LJ, Descoins E, Pelloquin L, Bricchese L, Gas N, *et al.* The human dynamin-related protein OPA1 is anchored to the mitochondrial inner membrane facing the intermembrane space. *FEBS Lett* 2002; 523(1): 171-6.
- 63 Varanita T, Soriano ME, Romanello V, Zaglia T, Quintana-Cabrera R, Semenzato M, *et al.* The OPA1-dependent mitochondrial cristae remodeling pathway controls atrophic, apoptotic, and ischemic tissue damage. *Cell Metab* 2015; 21(6): 834-44.
- 64 Frezza C, Cipolat S, Martins de Brito O, Micaroni M, Beznoussenko GV, Rudka T, *et al.* OPA1 controls apoptotic cristae remodeling independently from mitochondrial fusion. *Cell* 2006; 126(1): 177-89.
- 65 Scorrano L, Ashiya M, Buttler 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.
- 66 Wang W, Xie Q, Zhou X, Yao J, Zhu X, Huang P, *et al.* Mitofusin-2 triggers mitochondria Ca^{2+} influx from the endoplasmic reticulum to induce apoptosis in hepatocellular carcinoma cells. *Cancer Letters* 2015; 358(1): 47-58.
- 67 Christian F, Sara C, Olga MDB, Massimo M, Beznoussenko GV, Tomasz R, *et al.* OPA1 controls apoptotic cristae remodeling independently from mitochondrial fusion. *Cell* 2006; 126(1): 177-89.
- 68 Griparic L, van der Wel NN, Orozco IJ, Peters PJ, van der Blik AM. Loss of the intermembrane space protein Mgm1/OPA1 induces swelling and localized constrictions along the lengths of mitochondria. *J Biol Chem* 2004; 279(18): 18792-8.
- 69 Faccenda D, Nakamura J, Gorini G, Dhoot GK, Piacentini M, Yoshida M, *et al.* Control of mitochondrial remodeling by the ATPase inhibitory factor 1 unveils a pro-survival relay via OPA1. *Cell Rep* 2017; 18(8): 1869-83.
- 70 Cleland MM, Norris KL, Karbowski M, Wang C, Suen DF, Jiao S, *et al.* Bcl-2 family interaction with the mitochondrial morphogenesis machinery. *Cell Death Differ* 2011; 18(2): 235-47.
- 71 Belenguer P, Pellegrini L. The dynamin GTPase OPA1: more than mitochondria? *BBA-Bio Membranes* 2013; 1833(1): 176-83.
- 72 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.
- 73 Patten DA, Wong J, Khacho M, Soubannier V, Mailloux RJ, Pilon-Larose K, *et al.* OPA1-dependent cristae modulation is essential for cellular adaptation to metabolic demand. *EMBO J* 2014; 33(22): 2676-91.
- 74 Friedman JR, Lackner LL, West M, DiBenedetto JR, Nunnari J, Voeltz GK. ER tubules mark sites of mitochondrial division. *Science* 2011; 334(6054): 358-62.
- 75 Lewis SC, Uchiyama LF, Nunnari J. ER-mitochondria contacts couple mtDNA synthesis with mitochondrial division in human cells. *Science* 2016; 353(6296): aaf5549.