线粒体蛋白质组及蛋白质量控制

庄天鹏[#] 魏曼丽[#] 贾振伟^{*} (内蒙古民族大学动物科技学院, 通辽 028043)

摘要 线粒体是哺乳动物细胞内重要细胞器,不仅通过氧化磷酸化产生ATP为细胞提供能量,也参与调节钙离子稳态、活性氧(reactive oxygen species, ROS)的产生、细胞应激反应和细胞死亡等过程,其功能障碍不仅导致多种人类疾病的发生,而且也能降低动物卵母细胞质量和早期胚胎发育能力。大量证据表明,线粒体的功能依赖于线粒体蛋白质组完整性和稳态。基于此,该文综述了线粒体蛋白组、线粒体蛋白转运,聚焦蛋白酶、分子伴侣、线粒体囊泡、线粒体自噬和线粒体 未折叠蛋白反应在帮助正确的蛋白质折叠,去除错误折叠或聚集的蛋白质和清除功能失调的线粒体方面的作用,为调控线粒体蛋白质量,从而维持线粒体健康、降低疾病发生提供理论依据。

关键词 线粒体蛋白质组;线粒体蛋白转运;蛋白质质量控制

Mitochondrial Proteome and Its Protein Quality Control

ZHUANG Tianpeng[#], WEI Manli[#], JIA Zhenwei*

(College of Animal Science and Technology, Inner Mongolia University for the Nationalities, Tongliao 028043, China)

Abstract Mitochondria are one of the important intracellular organelles in mammals, which not only provide energy for cells by generating ATP via oxidative phosphorylation, but also participate in the regulation of calcium homeostasis, ROS (reactive oxygen species) production, cell stress response and cell death. Mitochondria dysfunction not only leads to a variety of human diseases, but also reduces the quality of animal oocytes and early embryonic development competence. Numerous studies show that the function of mitochondria depends on the integrity and homeostasis of mitochondrial proteome. Based on this, this paper reviewed the mitochondrial proteome, mitochondrial protein transport and the formation of functional protein network, and highlighted the role of proteases, molecular chaperones, mitochondrial-derived vesicles, mitophagy and mitochondrial unfolded protein response in helping correct protein folding, removing misfolded or aggregated proteins and eliminating dysfunctional mitochondria. This might provide reference for maintaining mitochondrial health and reducing the occurance of disease incidence via the modulation of mitochondrial protein quality.

Keywords mitochondria proteome; mitochondria protein import; protein quality control

线粒体是具有双层膜的动态细胞器。线粒体具有多种功能,不仅通过氧化磷酸化产生ATP为细胞

提供能量,也参与调节钙离子稳态、活性氧(reactive oxygen species, ROS)的产生、细胞应激反应和细胞

收稿日期: 2020-08-27 接受日期: 2020-10-28

国家自然科学基金(批准号: 31760670)和内蒙古自然科学基金联合基金(批准号: 2019LH03018)资助的课题

#共同第一作者

[#]These authors contributed equally to this work

^{*}通讯作者。Tel: 0475-8314845, E-mail: zhenwei1999@sina.com

Received: August 27, 2020 Accepted: October 28, 2020

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.31760670) and the Natural Science Union Foundation of Inner Mongolia Autonomous Region (Grant No.2019LH03018)

^{*}Corresponding author. Tel: +86-475-8314845, E-mail: zhenwei1999@sina.com

URL: http://www.cjcb.org/arts.asp?id=5439

死亡等过程^[1]。因此,线粒体在维持细胞健康和活力 方面发挥了关键作用,其功能障碍不仅导致神经退 行性疾病、心血管疾病、肥胖症和II型糖尿病等多 种人类疾病的发生,而且也能降低动物卵母细胞质 量和早期胚胎发育能力^[2-3]。

许多证据表明,线粒体的功能依赖于线粒体蛋白质组完整性和稳态^[4-6]。因此,本文综述了线粒体 蛋白质组及其蛋白质质量控制机制,重点关注分子 伴侣蛋白、蛋白酶、线粒体衍生囊泡(mitochondriaderived vesicles, MDVs)及线粒体未折叠蛋白反应 (mitochondrial unfolded protein response, UPR^{mt})在调 控线粒体蛋白质方面的作用,为调控线粒体蛋白质 量降低人类疾病发生,提高动物卵母细胞质量和早 期胚胎发育能力提供理论基础。

1 线粒体蛋白质组

许多学者利用基因组学、质谱基础的蛋白质组 学和生物信息学鉴定哺乳动物线粒体蛋白质组^[7-9]。 但线粒体蛋白质的异质性、复杂性、组织特异性及 进化起源等因素,限制了对线粒体蛋白质的鉴定。 尽管如此,目前研究推测,哺乳动物线粒体蛋白质组 大约含有1 500个蛋白,这些蛋白被核基因组和线粒 体基因组编码^[10]。目前研究认为,线粒体蛋白质组 大部分被核基因组编码,在细胞质内转录、翻译后 在转位酶作用下转运至线粒体特定位点^[11]。线粒体 DNA(mitochondrial DNA, mtDNA),仅编码13个线粒 体蛋白,在线粒体内转录、翻译后成为呼吸链复合 体的重要蛋白组分; mtDNA也编码2个核糖体RNA、 22个转移RNA, 能够保证其编码的呼吸链复合体蛋 白顺利表达^[12]。为了使细胞线粒体编码蛋白基因表 达, 线粒体拥有使其DNA复制、转录和翻译的蛋白 系统, 这些蛋白组分主要被核基因组编码, 约占线粒 体蛋白组的1/3^[13]。另外, 研究推测, 核基因组编码 大约250个蛋白, 在维持线粒体基因组的表达方面发 挥了重要作用^[14]。因此, 调控核基因组与线粒体基 因组紧密协同表达保证正确高效的线粒体蛋白的合 成、转运、定位至线粒体特定区域, 进而维持正常 的线粒体功能。

线粒体是具有双层膜的动态细胞器,由外至内 被划分为线粒体外膜(outer mitochondrial membrane, OMM)、内膜(inner mitochondrial membrane, IMM)、 膜间隙(intermembrane space, IMS)及基质4个功能 区(图1)。目前研究认为, OMM大约含有140个蛋白, IMS大约含有130个可溶性蛋白、线粒体基质大约含 有500个蛋白, IMM大约含有800个蛋白, 由此可见线 粒体蛋白质大部分定位于IMM^[15]。目前研究已明确, IMM含有核基因组和线粒体基因组编码的所有呼吸 链复合体I、II、III、IV和ATP合成酶,其中呼吸链 复合体I是最大的呼吸复合物,并且与其他复合体相 互结合形成多种超级复合体[16]。目前研究认为,不 同组成形式的超级复合体在线粒体上存在的比例会 随着细胞状态的变化而不断调整,以满足细胞不同 生长状态下特定的能量需求[17]。另外, IMM也含有 线粒体接触位点和嵴组织系统、内膜转位酶及多种 蛋白酶和蛋白加工复合体等蛋白系统[15]。值得注意 的是,近年研究发现,线粒体内还含有许多微蛋白,



线粒体外膜大约含有140个蛋白;线粒体基质大约含有500个蛋白;线粒体膜间腔大约含有130个蛋白;线粒体内膜大约含有800个蛋白,由此可见线粒体蛋白质大部分定位于IMM。

OMM (the outer mitochondrial membrane) is estimated to contain about 100 proteins; about 500 proteins reside in the matrix of mitochondrion; IMS (intermembrane space) contains about 130 proteins; the large portion of mitochondrial proteins (about 800 proteins) localizes in the IMM (inner mitochondrial membrane).

图1 线粒体蛋白质组的分布 Fig.1 Distribution of mitochondrial proteome 这些蛋白主要定位于OMM或IMM,其中一些蛋白参与呼吸链复合体的装配、mtDNA的翻译、线粒体脂肪酸氧化以及内质网胁迫反应,但更多微蛋白的功能尚不确定,仍需深入探究^[15]。

2 线粒体蛋白转运

研究认为,核基因组编码的蛋白在细胞质内合成,经由特定的转运通路高效通过OMM和IMM,转运至线粒体特定区域^[18]。最初人们推测,这些蛋白质是沿着同一条通路被转运至线粒体的目的位置。然而,载有不同靶向信号的前体蛋白特性研究显示,线粒体含有至少五种蛋白转运酶系统,每种转运系统针对于转运蛋白的结构及被引导至线粒体的区域而对其特定蛋白区段具有特异性,且这些前体蛋白转运酶不是作为分开单元,而是与无数线粒体蛋白复合体联系而发挥作用^[19]。

目前研究发现,线粒体蛋白质组大部分(约60%) 核编码线粒体蛋白N-端具有被称为前序列的线粒 体靶向序列,这些线粒体前蛋白经由位于OMM的外 膜转位酶(translocase of the outer membrane, TOM) 和IMM的内膜转位酶(translocase of the outer membrane, TIM)的经典蛋白转运系统转运至线粒体^[20]。 TOM复合体形成一个由多亚基组成的二聚体或三 聚体结构,其中包括β桶状蛋白(TOM40),α螺旋膜整 合亚基蛋白(TOM5、TOM6、TOM7)以及受体蛋白 (TOM20、TOM22、TOM70)^[21]。线粒体前体蛋白 被线粒体外膜受体TOM20和TOM22识别,随后主要 在线粒体蛋白转运通道蛋白TOM40的作用下转运 通过OMM。线粒体前体蛋白通过OMM后在内膜 转位酶TIM23引导下通过IMM,同时线粒体膜电位 激活TIM23通道,驱动带有正电的前体蛋白进入线 粒体基质[22]。而且前体蛋白转运酶相关的马达蛋 白-线粒体热应激蛋白70(mitochondrial heat-shock protein 70, mtHSP70), 作为ATP依赖的分子伴侣连 接线粒体前体蛋白,促进其单向运动而转位至线粒 体基质,并在线粒体加工肽酶的作用下去除前体序 列^[19]。

3 分子伴侣参与线粒体蛋白质量控制

线粒体蛋白质转运至线粒体基质后,需要折叠 成天然构象才能发挥功能。然而,一定数量的蛋白 没有完成折叠反应而获得错误折叠构象。而且,在 热应激或毒物等胁迫条件下,未叠或错误折叠的蛋白数量将增加,导致蛋白质功能损伤,因此,为了维持正常的线粒体功能,线粒体质量控制系统将直接支持线粒体折叠反应,稳定新移入的未折叠蛋白。

目前研究已明确,线粒体含有分子伴侣网络维 持蛋白质正确折叠而确保其功能正常^[15]。HSP78 属于AAA蛋白家族成员, 是热应激条件线粒体蛋白 解聚与重折叠的关键分子伴侣。正常生长条件下, HSP78与线粒体蛋白酶协同参与选择性去除受损或 错误折叠的蛋白质,并协助mtHSP70转运蛋白质^[23]。 HSP70家族的蛋白是维持线粒体蛋白折叠的重要分 子伴侣, 通过与暴露的疏水斑块直接相互作用, 避免 线粒体蛋白折叠路径上的动力学陷阱而帮助蛋白质 复性,阻止聚集过程,从而稳定未折叠或错误折叠的 蛋白质^[24]。HSP70蛋白质通常N-端含有ATP合成酶 结构域, C-端含有底物结合域, 其与未折叠肽的结合 亲和力受ATP酶结构域核苷酸状态的变构调节, ATP 酶结构域ATP结合态与未折叠肽结合能力较低,而 ADP结合态具有与未折叠肽较高的结合力。目前研 究发现, mtHSP70是HSP70家族最关键的蛋白质, 不 仅参与线粒体蛋白的转运,而且与辅助因子HSP40 和核苷酸交换因子MGE1互作,结合未折叠底物多 肽,调控线粒体蛋白质折叠^[25]。

另外,研究表明,在热应激条件下,HSP78不仅 通过结合和稳定错误折叠的多肽链来防止蛋白质聚 集,随后这些蛋白在mtHSP70蛋白作用下重新折叠, 而且也能够恢复mtHSP70分子伴侣活性^[26]。HSP60 是重要的伴侣蛋白,缺失后导致线粒体积累大量聚 集性多肽,说明HSP60抵抗线粒体蛋白聚集^[27]。更重 要的是,研究发现,线粒体蛋白在mtHSP70作用下折 叠,随后需要HSP60与HSP10协作完成最终折叠^[28]。 综上所述,环境胁迫条件下,多种线粒体分子伴侣通 过协同作用来维持和恢复蛋白质功能,防止非折叠 蛋白在线粒体上的过度积累而增强线粒体功能。

4 蛋白酶参与线粒体蛋白质量控制

线粒体含有大量的蛋白酶,这些酶不仅通过去除前体序列来处理转运至线粒体的前体蛋白,使其正确折叠,而且能够消除错误折叠或损坏的蛋白质,进而维持正常线粒体功能。哺乳动物线粒体大约含有45种蛋白酶,其中大约25个蛋白酶完全定位于线粒体内,其他酶在线粒体与细胞质内穿梭。目前研

究发现,许多线粒体蛋白酶参与蛋白质运输、加工 和激活过程。例如,核基因组编码的线粒体蛋白由 细胞质转运至线粒体基质后,通常被位于线粒体基 质内的加工肽酶(mitochondrial processing peptidase, MPP)识别,并降解其前体序列,随后被线粒体中间 肽酶(mitochondrial intermediate peptidase, MIP)和X-脯氨酰氨肽酶3(X-Pro aminopeptidase 3, XPNPEP3) 进一步加工成熟^[20,29]。而且,一些蛋白被MMP加 工后,被线粒体内膜加工肽酶(processing peptidases mitochondrial inner membrane protease, IMMP)去除 疏水信号而转移至线粒体膜间腔[30]。然而,大部分 线粒体基因组编码的线粒体蛋白被IMMP加工成 熟^[20,29], 而且, 蛋氨酸氨基肽酶1D(met aminopeptidase 1D, METAP1D)参与了一些线粒体编码蛋白N-端蛋氨酸残基的去除过程,从而产生功能性线粒体 蛋白[31]。

另外,一些线粒体蛋白酶通过降解错误折叠和 装配的蛋白质及氧化胁迫破坏的蛋白质,从而控制线 粒体蛋白质质量。例如, IMM上有i-AAA和m-AAA 两种ATP依赖的AAA蛋白酶,是实施IMM蛋白质质量 控制的关键酶, 锚定在IMM中, 并降解受损的膜蛋白 和未装配的呼吸链亚基,维持呼吸链和线粒体嵴组 织系统等复合体装配及功能^[32]。这些蛋白酶缺失后, 将导致线粒体积累有缺陷的氧化磷酸化复合体[33]。 而且,这些AAA蛋白酶还具有促进线粒体蛋白质合 成、调节线粒体动力学和钙稳态的功能^[34-36]。Lon 蛋白酶样蛋白(Lon protease-like protein, LONP)是线 粒体基质中高度保守的丝氨酸肽酶,在胁迫条件下, LONP能够降解线粒体内错误折叠、氧化以及受损 的蛋白质,从而维持细胞活力。而且,在正常条件下, LONP也能降解细胞多种破坏或突变的酶蛋白。研 究发现,小鼠缺失LONP导致线粒体呼吸和氧化磷酸 化系统异常[37]。另外,线粒体基质还含有酪蛋白裂 解酶 P(caseinolytic protease P, CLPP), 与伴侣 ATP依 赖的CLP蛋白酶亚单位CLPX形成复合体, CLPP能够 降解错误折叠的蛋白质,但目前关于其具体功能尚 不确定。研究表明, CLPP基因突变后诱导CLPX和 mtDNA大量积累,导致小鼠不育、生长迟缓^[38]。前 序蛋白酶1(presequence protease 1, PITRM1)是重要的 寡肽酶,能够将上述ATP依赖的蛋白酶降解的肽进一 步分解为氨基酸。研究发现, PITRM1参与线粒体β 淀粉样蛋白的降解,从而维持正常的线粒体功能[39]。

此外,线粒体IMS也含有一些ATP依赖的蛋白酶,参与线粒体蛋白质质量控制。例如,HTRA2是一种保守的丝氨酸蛋白酶,位于线粒体IMS,参与降解被氧化的蛋白质,HTRA2缺失或功能异常将降低线粒体数量、膜电位,导致ATP水平下降,甚至诱导细胞凋亡^[40]。ATP23是位于线粒体IMS一种金属蛋白酶,研究发现,ATP23参与调控酵母ATP酶装配、线粒体磷脂代谢^[41],但其在哺乳动物细胞中的功能尚不明确。

5 线粒体自噬参与线粒体蛋白质量控制

综上所述,细胞能够在蛋白质水平上调控线粒 体蛋白质量,但其调控机制缺陷后将导致线粒体蛋 白质错误折叠,并聚集在线粒体内,从而影响呼吸链 复合体活性,诱导氧化胁迫,最终导致线粒体功能异 常。因此,细胞为了生存,通过启动自噬机制选择性 去除破坏的线粒体,进而维持线粒体质量与正常的 功能,此过程被称为线粒体自噬(mitophagy)。目前 研究已明确, mitophagy主要包括泛素介导的线粒体 自噬和自噬受体介导的线粒体自噬两条途径[42]。其 中PINK1/PARKIN介导的泛素途径是研究最广泛、 最深入的mitophagy机制。生理条件下, PARKIN作 为E3-泛素连接酶主要位于细胞质内, PINK1作为丝 氨酸/苏氨酸激酶,通过TOM通道转运至线粒体,被 线粒体内膜蛋白酶降解[43]。胁迫条件下,线粒体功 能受损导致去极化, 膜电位下降, PINK1聚集于受损 的线粒体外膜,将位于细胞质内的PARKIN募集至线 粒体外膜,并使PARKIN和泛素磷酸化^[44]。PARKIN 被激活后导致VDAC、TOM20、MFN 1/2、MIRO 等多种线粒体外膜蛋白质泛素化,进而募集OPTN、 NBR1、NDP52等泛素结合适配器蛋白与LC3蛋白 结合,加速形成自噬体,分解损伤的线粒体^[45](图2)。 然而,目前关于PARKIN介导的靶蛋白泛素化诱导的 mitophagy的机制尚不十分明确,仍需深入调查。

另外,哺乳动物线粒体外膜存在NIX、BNIP3 和FUNDC等多种自噬受体蛋白,这些自噬受体含有 保守的关键结构域——LIR结构域,通过直接结合微 管相关蛋白轻链3(microtubule-associated protein light chain 3, LC3),募集自噬体降解线粒体,通过非依赖 PINK1/PARKIN体系的方式调控线粒体自噬^[42]。早 期研究发现,NIX介导的mitophagy参与红细胞发育 过程中清除破坏的线粒体^[46]。近年研究表明,NIX 的LIR结构域磷酸化进一步促进其与LC3互作,说



线粒体膜电位下降, PINK1聚集于去极化的线粒体外膜, 将位于细胞质内的PARKIN募集至线粒体外膜, 并使PARKIN磷酸化, 激活的PARKIN泛 素化(ubiquitinate, UB)线粒体外膜蛋白而募集OPTN、NBR1、NDP52等受体蛋白与LC3蛋白结合, 形成自噬小体。

Upon loss of membrane potential, PINK1 accumulates on the surface of depolarized mitochondria and recruits PARKIN from the cytosol to outer mitochondrial membrane, thereby phosphorylating PARKIN. Activated PARKIN further UB (ubiquitinates) OMM proteins that recruit receptor proteins such as OPTN₅ NBR1 and NDP52. These receptor proteins induce the formation of autophagosome by binding to LC3.

> 图2 PINK1/PARKIN通路依赖的线粒体自噬 Fig.2 PINK1/PARKIN pathway dependent mitophagy

明NIX活性受到翻译后水平调控^[47]。更重要的是, 研究发现, mitophagy期间, NIX是 PARKIN的底物, PARKIN介导的NIX泛素化导致NBR被募集于破坏 的线粒体内,形成自噬体而清除线粒体^[48]。BNIP3 是NIX同源蛋白,介导了缺氧条件下的mitophagy^[49]。 值得注意的是, BNIP3过表达后导致细胞线粒体膜 电位下降,进而诱导mitophagy,说明BNIP3也能在激 活mitophagy通路方面发挥重要作用^[50]。更重要的是, 细胞缺氧条件下, BNIP3能够稳定线粒体PINK1水 平, 通过PINK1/PARKIN依赖的方式促进线粒体自 噬^[51]。FUNDC1作为重要的mitophagy受体,其蛋白 功能受磷酸化调控。研究发现,细胞缺氧或FCCP处 理诱导线粒体氧化磷酸化解偶联条件下, FUNDC1 募集ULK1至功能受损的线粒体,随后ULK1使其靠 近LIR的第17位丝氨酸磷酸化,从而诱导mitophagy^[52]。而且, FUNDC1也与DRP1和OPA1互作, 研究 发现,FUNDC1靠近LIR的第13位丝氨酸去磷酸化, 导致其与DRP1紧密结合,降低与OPA1互作,从而促 进线粒体分裂与自噬^[53]。然而,目前关于这些自噬 受体在不同生理条件下调控mitophagy的作用机制 尚不十分清楚,仍需深入探究。

此外,线粒体膜脂质在调控mitophagy方面也发 挥了重要作用。例如,研究发现,神经酰胺是OMM 一种生物活性鞘脂,与LC3B-II互作,通过选择性地 将含有LC3B-II的自噬体靶向线粒体,诱导线粒体 自噬^[54]。心磷脂是位于线粒体内重要的磷脂,其由 IMIM转移到OMM的外化过程在调节mitophagy方 面也发挥了重要作用。mitophagy诱导期间,外化的 心磷脂在线粒体表面与LC3结合形成的一个重要平 台而启动自噬体的形成,从而导致mitophagy^[55]。另 外,研究发现,Beclin 1是调控线粒体自噬的核心因 子,直接与OMM的心磷脂互作而调控线粒体自噬^[56], LC3B是一种自噬体膜结构蛋白,通过与心磷脂互作 转位至OMM^[57],这些研究结果进一步支持心磷脂在 调控mitophagy方面的作用。

6 线粒体衍生的囊泡参与线粒体蛋白质 量控制

近年来,研究指出MDVs含有破坏的线粒体外 膜、内膜和基质内蛋白质,被运输至溶酶体降解,是 维持线粒体质量的一种重要途径^[58]。值得注意的是, 研究发现, PINK1/PARKIN系统不仅调控了线粒体 的自噬,也参与MDVs的产生^[59]。据此提出假设,线 粒体自噬与MDVs生物合成协同维持细胞稳态,其 中线粒体自噬降解功能异常的线粒体,而MDVs的 产生将是在细胞器水平上降解线粒体之前控制线



损伤较轻、尚未去极化的线粒体可能产生线粒体衍生小泡(mitochondrial-derived vesicles, MDVs)。MDVs进入内溶体系统, 形成多泡体, 并作为 外泌体被释放到细胞外。

Mildly damaged, not yet depolarized mitochondria may generate MDVs (mitochondrial-derived vesicles). MDVs reach the endolysosomal system to form MVBs (multivesicular bodies), and then are released out of the extracellular space as exosomes.

图3 线粒体衍生囊泡的产生与释放 Fig.3 Generation and release of mitochondria-derived vesicles

粒体质量的一种补充机制^[60]。线粒体的命运可能 依赖其功能破坏程度, 损伤程度较轻的线粒体产生 MDVs转运至溶酶体(图3), 相反, 受损严重而释放促 凋亡因子和氧化因子的线粒体将分裂, 并通过线粒 体自噬途径被清除^[61]。

另外,细胞缺少Atg5、Rab9和Beclin等启动自 噬的蛋白或诱导线粒体分裂的因子DRP1仍旧能够 产生MDVs,暗示MDVs形成可能不需要线粒体去极 化、自噬或线粒体分裂^[58]。但目前关于MDVs生物 合成的分子机制尚不十分清楚。重要的是,氧化胁 迫条件下,线粒体受损的蛋白质聚集于线粒体膜,同 时心磷脂被氧化后改变线粒体膜的曲率,从而干扰 线粒体转运通道的功能,随后PINK1积累于线粒体 外膜而募集PARKIN,促进囊泡的形成,并在一些未 知蛋白质的作用下释放^[59],但目前关于这些参与囊 泡形成的关键蛋白尚未被确认,需要进一步鉴别。 此外,MDVs在不同组织细胞生理状态下的功能作 用尚不清楚,未来需要深入研究。

7 线粒体非折叠蛋白反应参与线粒体蛋 白质量控制

线粒体膜电位下降、mtDNA清除、线粒体积 累错误折叠蛋白或核与线粒体编码蛋白不平衡等胁 迫条件,应激信号将由线粒体转导至细胞核,诱导相 关基因表达恢复线粒体功能,此过程被称为UPR^{mt}。 UPR^{mt}被激活后诱导线粒体分子伴侣和蛋白酶表达, 调控线粒体蛋白质折叠、装配与降解,从而维持线 粒体蛋白质稳态,确保正常的线粒体功能^[62]。UPR^{mt} 的分子机制在秀丽隐杆线虫中研究最为广泛, 需要激活应激相关转录因子ATFS-1。ATFS-1含有线粒体和细胞核定位序列, 正常条件下, ATFS-1被转运 至线粒体而被蛋白酶LONP降解^[62]; 相反, 线粒体应 激条件下, ATFS-1被转位至细胞核, 结合DVE-1和 UBL-5诱导线粒体分子伴侣和蛋白酶、线粒体生 物合成、转运系统及糖酵解相关蛋白基因表达, 抑 制氧化磷酸化复合体蛋白基因表达^[63-64]。更重要的 是, 研究发现, UPR^{mt}激活后, ATFS-1也在线粒体内 积累, 并结合mtDNA抑制线粒体编码蛋白基因表达, 从而维持正常的线粒体功能^[65]。但线粒体应激激活 UPR^{mt}期间, ATFS-1如何逃避LONP降解与mtDNA结 合而调控线粒体编码蛋白基因表达尚不明确。

早期研究发现,哺乳动物细胞mtDNA缺失诱导 了核基因组编码的线粒体分子伴侣HSP60和HSP10 表达^[66];线粒体靶向过表达突变的基质蛋白鸟氨 酸氨甲酰转移酶上调了HSP60、HSP10、蛋白酶 CLPP和转录因子CHOP表达^[67],这些研究说明,哺 乳动物线粒体应激诱导了UPR^{mt}。而且,研究发现, YME1L1、PMPCB、核酸内切酶G和硫氧还蛋白2 等线粒体蛋白酶水平上调后也诱导了UPR^{mt[68]}。线 粒体应激条件下,*ATFS-1*基因敲除秀丽隐杆线虫, 转入人*ATF5*基因后能够恢复UPR^{mt},说明哺乳动物 ATFS-5是秀丽隐杆线虫ATFS-1直系同源蛋白^[69]。 更重要的是,CHOP促进转录因子ATFS-5表达,进一 步放大UPR^{mt}信号^[69]。生理条件下,ATF5位于哺乳 动物线粒体内,但由于目前检测技术的局限性,线粒 体应激条件下,是否也能由线粒体转位至细胞核尚 不确定。ATF4是ATF5的旁系同源蛋白,利用转录组 结合蛋白质组技术的研究发现,线粒体应激条件下, 激活了ATF4介导的转录反应,降低了相关线粒体蛋 白水平,暗示ATF4也参与了UPR^{mt}的激活,但UPR^{mt} 激活期间,ATF4、CHOP和ATF5之间的关系尚不确 定^[70]。这些研究结果说明,相对于线虫,哺乳动物 UPR^{mt}过程可能更复杂,多种转录因子参与了UPR^{mt} 调控。

此外,细胞质合成的蛋白质向线粒体转运能力 下降被认为是UPR^{mt}与线粒体自噬的中心过程。线 粒体自噬期间,这些功能异常的线粒体将被降解, 因此,线粒体失去蛋白转运能力危害较小。相反, UPR^{mt}激活需要分子伴侣和蛋白酶转运至线粒体, 从而维持线粒体健康,因此,线粒体输送ATFS-1或 ATFS-5至细胞,诱导UPR^{mt}而维持线粒体健康的能 力可能有限。假如线粒体应激期间, UPR^{mt}能够控 制整个线粒体网络, 分子伴侣和蛋白酶可能转运至 损伤较小的线粒体维持其健康, 而破坏较严重的线 粒体可能通过线粒体自噬途径降解。值得注意的 是,研究发现,UPR^{mt}促进了线粒体蛋白转运系统相 关基因表达^[62],暗示UPR^{mt}激活后,线粒体仍能够转 运蛋白,这将可能有利于恢复线粒体功能,即使线粒 体蛋白维持较低水平转运,破坏较严重的线粒体也 可能从转运的分子伴侣和蛋白酶获益。此外,由于 mtDNA突变、蛋白质错误折叠、mtHSP70水平下降 等胁迫条件均能诱导线粒体自噬和UPR^{mt[71-73]},说明 两者紧密关联,但两种机制如何共同调控线粒体蛋 白质量仍不清楚,尚需深入研究。

8 结语

综上所述,线粒体蛋白质稳态对各种生理过程 至关重要。线粒体蛋白质稳态失调将导致线粒体功 能障碍。因此,探究线粒体蛋白质稳态和线粒体蛋 白质质量控制的分子机制对理解线粒体的基本功 能和细胞对功能失调线粒体的反应十分关键。目 前己明确线粒体蛋白酶、分子伴侣、线粒体自噬、 MDVs和UPR^{mt}均参与线粒体蛋白质量调控,但仍 然缺乏这些过程在生理条件和线粒体损伤情况下 对线粒体蛋白质量控制贡献的全面了解。而且,这 些途径如何协同调控线粒体蛋白质量,产生功能线 粒体网络尚处于探索研究阶段,未来仍需深入调 查。

参考文献 (References)

- NUNNARI J, SUOMALAINEN A. Mitochondria: in sickness and in health [J]. Cell, 2012, 148(6): 1145-59.
- SANTOS T A, SHOURBAGY S E I, ST JOHN J C. Mitochondrial content reflects oocyte variability and fertilization outcome
 [J]. Fertil Steril, 2006, 85(3): 584-91.
- [3] Sedlackova L, Korolchuk V I. Mitochondrial quality control as a key determinant of cell survival [J]. Biochim Biophys Acta Mol Cell Res, 2019, 1866(4): 575-87.
- [4] ANAND R, LANGER T, BAKER M J. Proteolytic control of mitochondrial function and morphogenesis [J]. Biochim Biophys Acta, 2013, 1833(1): 195-204.
- [5] GOTTLIEB R A, BERNSTEIN D. Mitochondrial remodeling: rearranging, recycling, and reprogramming [J]. Cell Calcium, 2016, 60(2): 88-101.
- [6] LEBEAU J, RAINBOLT T K, WISEMAN R L. Coordinating mitochondrial biology through the stress-responsive regulation of mitochondrial proteases [J]. Int Rev Cell Mol Biol, 2018, 340: 79-128.
- [7] MOOTHA V K, BUNKENBORG J, OLSEN J V, et al. Integrated analysis of protein composition, tissue diversity, and gene regulation in mouse mitochondria [J]. Cell, 2003, 115(5): 629-40.
- [8] PAGLIARINI D J, CALVO S E, CHANG B, et al. A mitochondrial protein compendium elucidates complex I disease biology [J]. Cell, 2008, 134(1): 112-23.
- [9] GASTON D, TSAOUSIS A D, ROGER A J. Predicting proteomes of mitochondria and related organelles from genomic and expressed sequence tag data [J]. Methods Enzymol, 2009, 457: 21-47.
- [10] RHEE H W, ZOU P, UDESHI N D, et al. Proteomic mapping of mitochondria in living cells via spatially restricted enzymatic tagging [J]. Science, 2013, 339(6125): 1328-31.
- [11] BAKER B M, HAYNES C M. Mitochondrial protein quality control during biogenesis and aging [J]. Trends Biol Sci, 2011, 36(5): 254-61.
- [12] PARK C B, LARSSON N G. Mitochondrial DNA mutations in disease and aging [J]. J Cell Biol, 2011, 193(5): 809-18.
- [13] MICK D U, FOX T D, REHLING P. Inventory control: cytochrome c oxidase assembly regulates mitochondrial translation [J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2011, 12(1): 14-20.
- [14] MORGENSTERN M, STILLER S, LUBBERT P, et al. Definition of a high-confidence mitochondrial proteome at quantitative scale[J]. Cell Rep, 2017, 19(13): 2836-52.
- [15] JADIYA P, TOMAR D. Mitochondrial protein quality control mechanisms [J]. Genes (Basel), 2020, 11(5): 563.
- [16] LETTS J A, FIEDORCZUK K, SAZANOV L A. The architecture of respiratory supercomplexes [J]. Nature, 2016, 537(7622): 644-8.
- [17] LOBO-JARNE T, UGALDE C. Respiratory chain supercomplexes: structures, function and biogenesis [J]. Semin Cell Dev Biol, 2018, 76:179-90.
- [18] GREVEL A, PFANNER N, BECKER T. Coupling of import and assembly pathways in mitochondrial protein biogenesis [J]. Biol Chem, 2019, 401(1): 117-29.
- [19] PFANNER N, WARSCHEID B, WIEDEMANN N. Mitochondrial proteins: from biogenesis to functional networks [J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2019, 20(5): 267-84.

- [20] WIEDEMANN N, PFANNER N. Mitochondrial machineries for protein import and assembly [J]. Annu Rev Biochem, 2017, 86: 685-714.
- [21] ARAISO Y, TSUTSUMI A, QIU J, et al. Structure of the mitochondrial import gate reveals distinct preprotein paths [J]. Nature, 2019, 575(7782): 395-401.
- [22] RAMESH A, PELEH V, MARTINEZ-CABALLERO S, et al. A disulfide bond in the TIM23 complex is crucial for voltage gating and mitochondrial protein import [J]. J Cell Biol, 2016, 214(4): 417-31.
- [23] LEIDHOLD C, VON JANOWSKY B, BECKER D, et al. Structure and function of Hsp78, the mitochondrial ClpB homolog [J]. J Struct Biol, 2006, 156(1): 149-64.
- [24] MAYER M P. Hsp70 chaperone dynamics and molecular mechanism [J]. Trends Biochem Sci, 2013, 38(10): 507-14.
- [25] LIU Q, KRZEWSKA J, LIBEREK K, et al. Mitochondrial Hsp70 Ssc1: role in protein folding [J]. J Biol Chem, 2001, 276(9): 6112-8.
- [26] VON JANOWSKY B, MAJOR T, KNAPP K. The disaggregation activity of the mitochondrial ClpB homolog Hsp78 maintains Hsp70 function during heat stress [J]. J Mol Biol, 2006, 357(3): 793-807.
- [27] BENDER T, LEWRENZ I, FRANKEN S, et al. Mitochondrial enzymes are protected from stress-induced aggregation by mitochondrial chaperones and the Pim1/LON protease [J]. Mol Biol Cell, 2011, 22(5): 541-54.
- [28] VOOS W. Chaperone-protease networks in mitochondrial protein homeostasis [J]. Biochim Biophys Acta, 2013, 1833(2): 388-99.
- [29] VOGTLE F N, WORTELKAMP S, ZAHEDI R P, et al. Global analysis of the mitochondrial N-proteome identifies a processing peptidase critical for protein stability [J]. Cell, 2009, 139(2): 428-39.
- [30] NUNNARI J, FOX T D, WALTER P A. Mitochondrial protease with two catalytic subunits of nonoverlapping specificities [J]. Science, 1993, 262(5142): 1997-2004.
- [31] SERERO A, GIGLIONE C, SARDINI A, et al. An unusual peptide deformylase features in the human mitochondrial N-terminal methionine excision pathway [J]. J Biol Chem, 2003, 278(52): 52953-63.
- [32] LI H, RUAN Y, ZHANG K, et al. Mic60/Mitofilin determines MICOS assembly essential for mitochondrial dynamics and mtDNA nucleoid organization [J]. Cell Death Differ, 2016, 23(3): 380-92.
- [33] HORNIG-DO H T, TATSUTA T, BUCKERMANN A, et al. Nonsense mutations in the COX1 subunit impair the stability of respiratory chain complexes rather than their assembly [J]. EMBO J, 2012, 31(5): 1293-307.
- [34] RICHTER U, NG K Y, SUOMI F, et al. Mitochondrial stress response triggered by defects in protein synthesis quality control [J]. Life Sci Alliance, 2019, 2(1): e201800219.
- [35] CONSOLATO F, MALTECCA F, TULLI S, et al. m-AAA and i-AAA complexes coordinate to regulate OMA1, the stressactivated supervisor of mitochondrial dynamics [J]. J Cell Sci, 2018, 131(7): jcs213546.
- [36] PATRON M, SPRENGER H G, LANGER T. m-AAA proteases, mitochondrial calcium homeostasis and neurodegeneration [J]. Cell Res, 2018, 28(3): 296-306.
- [37] QUIRÓS P M, ESPAÑOL Y, ACÍN-PÉREZ R, et al. ATP-depen-

dent Lon protease controls tumor bioenergetics by reprogramming mitochondrial activity [J]. Cell Rep, 2014, 8(2): 542-56.

- [38] GISPERT S, PARGANLIJA D, KLINKENBERG M, et al. Loss of mitochondrial peptidase Clpp leads to infertility, hearing loss plus growth retardation via accumulation of CLPX, mtDNA and inflammatory factors [J]. Hum Mol Genet, 2013, 22(24): 4871-87.
- [39] FALKEVALL A, ALIKHANI N, BHUSHAN S, et al. Degradation of the amyloid β-protein by the novel mitochondrial peptidasome, PreP [J]. J Biol Chem, 2006, 281(39): 29096-104.
- [40] PLUN-FAVREAU H, BURCHELL V S, HOLMSTRÖM K M, et al. HtrA2 deficiency causes mitochondrial uncoupling through the F 1 F 0-ATP synthase and consequent ATP depletion [J]. Cell Death Dis, 2012, 3(6): e335.
- [41] DESHWAL S, FIEDLER K U, LANGER T. Mitochondrial proteases: multifaceted regulators of mitochondrial plasticity [J]. Annu Rev Biochem, 2020, 89: 501-28.
- [42] MA K, CHEN G, LI W, et al. Mitophagy, mitochondrial homeostasis, and cell fate [J]. Front Cell Dev Biol, 2020, 8: 467.
- [43] SEKINE S, YOULE R J. PINK1 import regulation; a fine system to convey mitochondrial stress to the cytosol [J]. BMC Biol, 2018, 16(1): 2.
- [44] KOYANO F, OKATSU K, KOSAKO H, et al. Ubiquitin is phosphorylated by PINK1 to activate parkin [J]. Nature, 2014, 510(7503):162-6.
- [45] NARENDRA D, TANAKA A, SUEN D F, et al. Parkin is recruited selectively to impaired mitochondria and promotes their autophagy [J]. J Cell Biol, 2008, 183(5): 795-803.
- [46] SANDOVAL H, THIAGARAJAN P, DASGUPTA S K, et al. Essential role for Nix in autophagic maturation of erythroid cells [J]. Nature, 2008, 454(7201): 232-35.
- [47] ROGOV V V, SUZUKI H, MARINKOVIC M, et al. Phosphorylation of the mitochondrial autophagy receptor Nix enhances its interaction with LC3 proteins [J]. Sci Rep, 2017, 7(1): 1131.
- [48] GAO F, CHEN D, SI J, et al. The mitochondrial protein Bnip3L is the substrate of Park2 and mediates mitophagy in Pink1/Park2 pathway [J]. Hum Mol Genet, 2015, 24(9): 2528-38.
- [49] QUINSAY M N, THOMAS R L, LEE Y, et al. Bnip3-mediated mitochondrial autophagy is independent of the mitochondrial permeability transition pore [J]. Autophagy, 2010, 6(7): 855-62.
- [50] RIKKA S, QUINSAY M N, THOMAS R L, et al. Bnip3 impairs mitochondrial bioenergetics and stimulates mitochondrial turnover [J]. Cell Death Differ, 2011, 18(4): 721-31.
- [51] ZHANG T, XUE L, LI L, et al. Bnip3 protein suppresses Pink1 kinase proteolytic cleavage to promote mitophagy [J]. J Biol Chem, 2016, 291(41): 21616-29.
- [52] WU W, TIAN W, HU Z, et al. Ulk1 translocates to mitochondria and phosphorylates Fundc1 to regulate mitophagy [J]. EMBO Rep, 2014, 15(5): 566-75.
- [53] CHEN M, CHEN Z, WANG Y, et al. Mitophagy receptor FUNDC1 regulates mitochondrial dynamics and mitophagy [J]. Autophagy, 2016, 12(4): 689-702.
- [54] SENTELLE R D, SENKAL C E, JIANG W, et al. Ceramide targets autophagosomes to mitochondria and induces lethal mitophagy [J]. Nat Chem Biol, 2012, 8(10): 831-8.
- [55] CHU C T, JI J, DAGDA R K, et al. Cardiolipin externalization to the outer mitochondrial membrane acts as an elimination signal

for mitophagy in neuronal cells [J]. Nat Cell Biol, 2013, 15(10): 1197-205.

- [56] HUANG W, CHOI W, HU W, et al. Crystal structure and biochemical analyses reveal Beelin 1 as a novel membrane binding protein [J]. Cell Res, 2012, 22(3): 473-89.
- [57] ANTON Z, LANDAJUELA A, HERVAS J H, et al. Human Atg8-cardiolipin interactions in mitophagy: specific properties of LC3B, GABARAPL2 and GABARAP [J]. Autophagy, 2016, 12(12): 2386-403.
- [58] SOUBANNIER V, MCLELLAND G L, ZUNINO R, et al. A vesicular transport pathway shuttles cargo from mitochondria to lysosomes [J]. Curr Biol, 2012, 22(2): 135-41.
- [59] SUGIURA A, MCLELLAND G L, FON E A, et al. A new pathway for mitochondrial quality control: Mitochondrial-derived vesicles [J]. EMBO J, 2014, 33(19): 2142-56.
- [60] BAIXAULI F, LÓPEZ-OTÍN C, MITTELBRUNN M. Exosomes and autophagy: coordinated mechanisms for the maintenance of cellular fitness [J]. Front Immunol, 2014, 5: 403.
- [61] PICCA A, GUERRA F, CALVANI R, et al. Mitochondrial Dysfunction and aging: insights from the analysis of extracellular vesicles [J]. Int J Mol Sci, 2019, 20(4): 805.
- [62] NARGUND A M, PELLEGRINO M W, FIORESE C J, et al. Mitochondrial import efficiency of ATFS-1 regulates mitochondrial UPR activation [J]. Science, 2012, 337(6094): 587-90.
- [63] HAYNES C M, PETROVA K, BENEDETTI C, et al. ClpP mediates activation of a mitochondrial unfolded protein response in C. elegans [J]. Developmental Cell, 2007, 13(4): 467-80.
- [64] BENEDETTI C, HAYNES C M, YANG Y, et al. Ubiquitin-like protein 5 positively regulates chaperone gene expression in the mitochondrial unfolded protein response [J]. Genetics, 2006, 174(1): 229-39.
- [65] NARGUND A M, FIORESE C J, PELLEGRINO M W, et al. Mitochondrial and nuclear accumulation of the transcription fac-

tor ATFS-1 promotes OXPHOS recovery during the UPR(mt) [J]. Mol cell, 2015, 58(1): 123-33.

- [66] MARTINUS R D, GARTH G P, WEBSTER T L, et al. Selective induction of mitochondrial chaperones in response to loss of the mitochondrial genome [J]. Eur J Biochem, 1996, 240(1): 98-103.
- [67] ZHAO Q, WANG J, LEVICHKIN I V, et al. A mitochondrial specific stress response in mammalian cells [J]. EMBO J, 2002, 21(17): 4411-9.
- [68] ALDRIDGE J E, HORIBE T, HOOGENRAAD N J. Discovery of genes activated by the mitochondrial unfolded protein response (mtUPR) and cognate promoter elements [J]. PLoS One, 2007, 2(9): e874.
- [69] FIORESE C J, SCHULZ A M, LIN Y F, et al. The transcription factor ATF5 mediates a mammalian mitochondrial UPR [J]. Curr Biol, 2016, 26(15): 2037-43.
- [70] QUIRÓS P M, PRADO M A, ZAMBONI N, et al. Multi-omics analysis identifies ATF4 as a key regulator of the mitochondrial stress response in mammals [J]. J Cell Biol, 2017, 216(7): 2027-45.
- [71] HAMALAINEN R H, MANNINEN T, KOIVUMAKI H, et al. Tissue- and cell-type-specific manifestations of heteroplasmic mtDNA 3243A>G mutation in human induced pluripotent stem cell-derived disease model [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2013, 110(38): E3622-30.
- [72] JIN S M, YOULE R J. The accumulation of misfolded proteins in the mitochondrial matrix is sensed by PINK1 to induce PARK2/ Parkin-mediated mitophagy of polarized mitochondria [J]. Autophagy, 2013, 9(11): 1750-7.
- [73] BURBULLA L F, FITZGERALD, J C, STEGEN K, et al. Mitochondrial proteolytic stress induced by loss of mortalin function is rescued by Parkin and PINK1 [J]. Cell Death Dis, 2014, 5(4): e1180.