

DOI: 10.13376/j.cblls/2015024

文章编号: 1004-0374(2015)02-0168-06

# 促线粒体融合蛋白在线粒体融合和细胞凋亡中的作用

张喆<sup>1,2</sup>, 孙易<sup>1,2</sup>, 季浏<sup>1,2\*</sup>

(1 华东师范大学体育与健康学院“青少年健康评价与运动干预”教育部重点实验室, 上海 200241; 2 华东师范大学体育与健康学院, 上海 200241)

**摘要:** 一直以来, 线粒体动态变化都备受关注, 这不仅关系到线粒体本身, 也与细胞的整体状态密切相关。线粒体动态变化主要指线粒体的分裂和融合, 该过程涉及一系列蛋白质。在线粒体融合中, 目前研究得较深入的促线粒体融合蛋白主要有 Mfn1、Mfn2 和 OPA1。随着研究的深入, 发现这 3 种蛋白质不仅对于线粒体融合有重要作用, 在细胞凋亡过程中也扮演着重要角色。现就 Mfn1、Mfn2 和 OPA1 的促线粒体融合作用及其与细胞凋亡的关系作详细阐述。

**关键词:** 促线粒体融合蛋白; 线粒体融合; 细胞凋亡

**中图分类号:** Q255; Q81 **文献标志码:** A

## The dual roles of mitochondrial fusion proteins in mitochondrial fusion and apoptosis

ZHANG Zhe<sup>1,2</sup>, SUN Yi<sup>1,2</sup>, JI Liu<sup>1,2\*</sup>

(1 Key Laboratory of Adolescent Health Assessment and Exercise Intervention, Ministry of Education, East China Normal University, Shanghai 200241, China; 2 College of Physical Education & Health, East China Normal University, Shanghai 200241, China)

**Abstract:** Mitochondrial dynamics has always been the focus of research, which is not only related to mitochondria themselves, but also is the key to maintaining normal cellular metabolism. Mitochondrial fission and fusion are two important mitochondrial events, in which a series of proteins are involved. Based on previous studies, we have come to the conclusion that mitochondrial fusion proteins not only play an important role in mitochondrial fusion, but also are vital to the changes during apoptosis. This article mainly focuses on Mfn1, Mfn2 and OPA1, and discusses their effects on mitochondrial fusion and apoptosis.

**Key words:** mitochondrial fusion protein; mitochondrial fusion; apoptosis

线粒体 (mitochondria) 是细胞内重要且特殊的一个细胞器, 在能进行有氧呼吸的酵母细胞、原核生物以及高等动植物细胞中均存在。若干介导线粒体融合和分裂的基因一开始都是在酵母细胞中发现, 随后在哺乳动物中被鉴定<sup>[1]</sup>。在哺乳动物中参与线粒体融合的蛋白质主要包括 Mfn1、Mfn2 和视神经萎缩相关蛋白 1 (optic atrophy, OPA1)<sup>[2]</sup>。近年来学者们不仅深入研究此类蛋白质对线粒体融合的作用, 同时, 也揭示了此类蛋白质的其他调节作用, 现已证实 Mfn1、Mfn2 和 OPA1 与细胞凋亡也密切相关。以下将分别围绕这 3 种蛋白质的线粒体融合

作用及其对细胞凋亡的调节作用作一综述。

Mfn1 和 Mfn2 结构类似, 包括一个鸟苷三磷酸酶 (guanosine triphosphatase, GTPase) 结构域、数个螺旋状结构域和 1 个跨膜区。它们的 N 端是 GTPase, 其结构与其余 GTPase 一样, 有 5 个保守的区域——G1~G5<sup>[3]</sup>。

收稿日期: 2014-10-10; 修回日期: 2014-11-11

基金项目: 青少年健康评价与运动干预教育部重点实验室建设项目(40500-541235-14203/004); 青少年 POWER 工程协同创新中心项目(44801400/012)

\*通信作者: E-mail: jliu@tyxx.ecnu.edu.cn

Mgm1p/OPA1 蛋白结构包括 N 端的线粒体信号肽 (mitochondrial import sequence, MIS)、2 个疏水区、1 个 GTPase 结构域、1 个中间区和 C 末端的 GED 结构域。现已证明, OPA1 有 8 个剪切体, 可简单分为两种亚型, 分别是 long isoform(l-OPA1) 和 short isoform(s-OPA1), 前者相对分子质量较大, 后者相对分子质量较小<sup>[3-4]</sup>。

## 1 Mfns、OPA1 与线粒体融合

线粒体融合有两个步骤: 外膜的融合和内膜的融合, 这是两个独立事件。Mfn1 和 Mfn2 位于线粒体外膜, 主要调控线粒体外膜的融合, 而 OPA1 则介导线粒体内膜的融合<sup>[5]</sup>, 相关机制的研究已在近年取得重大进展。

### 1.1 Mfn1 和 Mfn2 对线粒体融合的调节作用

Mfn1 和 Mfn2 高度同源, 均是相对分子质量大的 GTPase。GTPase 区域的 G1~G5 一旦发生关键氨基酸的改变, 会使 Mfn1 和 Mfn2 彻底丧失功能, 从而影响线粒体的融合<sup>[6]</sup>。Koshiba 等<sup>[7]</sup>和 Pich 等<sup>[8]</sup>还发现, Mfn1 和 Mfn2 的 C 端  $\alpha$  螺旋区域在线粒体聚集过程中起着重要的作用, 它们能形成同源或异源二聚体, 从而使两个线粒体相互靠近, 进而融合。Mfn1 和 Mfn2 的功能有一定的不同之处, 敲除 Mfn1 和 Mfn2 可阻碍线粒体融合, 并导致不同类型的线粒体片段化<sup>[9]</sup>。有研究证实, Mfn1 基因敲除后线粒体呈小球形或短管状; 而 Mfn2 基因敲除后线粒体形态不一, 有大有小。但若 Mfn1 基因敲除的小鼠重新表达 Mfn1 基因, 片断化的线粒体将恢复为长管状; 然而, 如果敲除 Mfn2 的小鼠重新表达 Mfn2 基因, 虽会有明显的恢复, 但程度不如重新表达 Mfn1 基因<sup>[10]</sup>。而 Ishihara 等<sup>[11]</sup>则发现, Mfn1 和 Mfn2 在 GTPase 活性和 GTP 结合能力上有所不同, Mfn1 水解 GTP 较快, 但 Mfn2 与 GTP 的结合能力较强, 这可能可以解释 Otera 和 Mihara<sup>[10]</sup>的研究结果。不仅如此, Yue 等<sup>[12]</sup>在近年的非常规发现为 Mfns 与线粒体融合的研究提供了新的思路, 他们使用 S3(一种新的 Wnt 信号通路小分子抑制剂) 抑制去泛素化酶 (USP30), 使得 Mfns 虽能被泛素化, 但无法以依赖蛋白酶体的方式被降解, 可诱导缺乏 Mfn1 或 Mfn2 的细胞中的线粒体发生融合, 维持线粒体网络。

新近的研究发现, G $\beta$ 2 蛋白 (guanine nucleotide binding protein- $\beta$  subunit2) 位于线粒体表面, 其活性区

域 (active domain, AD) 可与 Mfn1 的结合区域 (binding domain, BD) 发生重构, 调节 Mfn1 在线粒体膜表面的迁移和线粒体融合, 但 G $\beta$ 2 无法与 Mfn2 相互作用<sup>[13]</sup>。而近年关于 Mfn2 介导线粒体融合的研究则涉及了内质网与线粒体之间的细胞器交流。细胞中物理性连接线粒体和内质网的结构是 MAM (mitochondria-associated ER membrane)。现已发现, 内质网-线粒体之间联系的建立对于线粒体融合很重要<sup>[14]</sup>, 而 Mfn2 在该结构中发挥重要作用<sup>[15]</sup>。此外, MAM 亦是 Ca<sup>2+</sup> 信号传递、凋亡发生的关键<sup>[16]</sup>。另外, Hoppins 等<sup>[17]</sup>发现 Bcl-2 家族成员 Bax 也可以促进线粒体融合, 且此调节作用只能通过同型 Mfn2 反式复合物 (homotypic Mfn2 trans complex) 来实现。以上说明 Mfn1 和 Mfn2 在介导线粒体融合的过程中有一定分工。

### 1.2 OPA1 对线粒体融合的调节作用

OPA1 常以溶解形式定位于线粒体膜间隙, 或贴附于线粒体内膜<sup>[18]</sup>, 主要介导线粒体内膜的融合。在 Mfn2 敲除的细胞中, 由 OPA1 和 Mfn1 组成的内外膜融合机制仍完整, 并提供了相对低程度的融合<sup>[19]</sup>, 这或许也可以解释敲除 Mfn1 和敲除 Mfn2 后线粒体形态不同的现象<sup>[16]</sup>。OPA1 介导线粒体融合也须通过结合和 (或) 水解 GTP, GTP 酶结构域的突变同样会减弱或消除 OPA1 促进线粒体融合的能力<sup>[4]</sup>, 且 OPA1 的 GED 结构域的突变也会抑制 OPA1 介导的线粒体融合<sup>[20]</sup>。

另外, 已有若干研究指出, 在 OPA1 介导线粒体融合的过程中, 长亚型 OPA1(l-OPA1) 很关键, 短亚型 OPA1(s-OPA1) 尽管不能介导线粒体融合, 但仍有一定调节辅助作用。Duvezin-Caubet 等<sup>[21]</sup>也认为, 虽还不能确定每个线粒体内 l-OPA1 和 s-OPA1 的比例, 但可以确定的是, 若细胞丢失所有 l-OPA1, 线粒体网络会出现片段化, 线粒体呼吸率降低, 进而引起凋亡。Zorzano 等<sup>[3]</sup>则认为, OPA1 长、短亚型间比例的良好平衡很重要。值得一提的是, 最近有学者推测, OPA1 可能通过影响脂代谢从而调节线粒体膜的构成、膜流动性及其融合能力<sup>[22]</sup>。这也成为研究 OPA1 调控线粒体融合作用新的视角。

Mfn1、Mfn2 以及 OPA1 不仅对线粒体融合发挥着各自的作用, 且这 3 者之间在线粒体融合过程中也存在着相互作用<sup>[23]</sup>。这 3 种蛋白质的 GTPase 区域保守残基的突变会阻碍 Mfns-OPA1 复合物的形成, 从而抑制线粒体的融合<sup>[24]</sup>。

## 2 Mfns、OPA1与细胞凋亡

线粒体融合可保护细胞免于死亡,而细胞凋亡则可抑制线粒体融合<sup>[25]</sup>。随着研究的不断深入,促线粒体融合蛋白与细胞凋亡之间的机制被陆续揭示。

### 2.1 Mfns与细胞凋亡

当敲除 Mfn1、Mfn2 或利用 shRNA(small hairpin RNA) 下调 Mfn1 和 Mfn2 的表达时,不仅线粒体会出现片段化,同时细胞对凋亡信号的敏感性也增强<sup>[26]</sup>。以下将对 Mfn1、Mfn2 在细胞凋亡中的机制作用进行分类阐述。

#### 2.1.1 Mfns与Bcl-2家族

Bcl-2 家族成员主要包括两大类,一类家族成员主要有 Bcl-2、Bcl-xl、Bcl-w 和 Mcl-1, 此类蛋白质能促进细胞存活;另一类如 Bax、Bad、Bak、Bid、Bik 和 Bim 已被划定为促凋亡蛋白<sup>[27]</sup>。Mfn1 和 Mfn2 与细胞凋亡的联系枢纽之一就是 Bax/Bak。在凋亡早期阶段, Bax 会从细胞质转位至线粒体外膜,与 Mfn2、动力相关蛋白 1(dynamamin-related protein 1, Drp1) 等形成潜在的分裂位点,进而 Bax 的 N 端被激活,使得线粒体发生片段化<sup>[28]</sup>。除此之外,研究还发现凋亡过程中 Mfn1 也与 Bax 相互作用, Sugioka 等<sup>[29]</sup> 就发现大鼠过表达 Mfn1 不仅可以抑制线粒体内细胞色素 C 的释放,还可以阻止 Bax 从胞浆至线粒体的转位,以及凋亡刺激信号所诱导的 Bax 的低聚化。Ryu 等<sup>[30]</sup> 的研究结果则有不同之处,该研究发现在凋亡过程中, Mfn1 正常生理表达时可抑制 Bax 蛋白 N 端的激活,但不能抑制 Bax 的转位,而过表达 Mfn1 却会导致其 GTPase 区域发生点突变,反而无法抑制 Bax N 端的激活。这提示 Mfn1 在线粒体外膜以依赖 GTPase 的方式调节 Bax 的激活,从而影响细胞凋亡。而在凋亡信号的刺激下, Bak 可与 Mfn2 分离,转而与 Mfn1 作用,从而促进线粒体的片段化,但 Bak 的 BH3 结构域的突变可以抑制 Bak 与 Mfn2 的解离,从而阻断线粒体的片段化<sup>[26]</sup>。

不仅如此, Bak 对于 Bid 诱导的线粒体外膜渗透性改变和细胞色素 C 的释放都很关键。细胞中 Mfn2 正常表达时, Bak 在线粒体外膜均匀分布,但若敲除 Mfn1 或 Mfn2, 会出现 Bak 在线粒体外膜分布不均匀的现象,从而使得依赖 Bid 的凋亡调节信号异常。但当 Bak 分布不均的线粒体与正常线粒体融合后,可再度获得 Bid 敏感性,正常介导凋亡。

因此, Mfn1 和 Mfn2 对于线粒体外膜蛋白 Bak 的分布至关重要,并且当融合活力降低时,凋亡的调节异常也与线粒体外膜蛋白相关<sup>[31]</sup>。此外,该研究中还有些意想不到的发现,研究人员分别在敲除 Mfn1 和 Mfn2 的细胞,以及野生型细胞中转染绿色荧光标记的细胞色素 C, 随后加入 tBid, 发现两种细胞均在 10 min 内完全释放膜间细胞色素 C, 但动力学不同,野生型细胞的最大释放效率大于 Mfn1 和 Mfn2 基因敲除的细胞,这源于在敲除 Mfn1 和 Mfn2 的细胞中,线粒体对于 Bak 的输入发生异常,从而使得 Bid 调节的凋亡信号异常<sup>[31]</sup>。

#### 2.1.2 Mfn2与细胞凋亡

近年发现, Mfn2 与凋亡的关系不仅仅局限于 Bcl-2 蛋白家族, Mfn2 还可通过其他途径调节细胞凋亡。Leboucher 等<sup>[32]</sup> 认为细胞在应激下, Mfn2 可被 c-Jun 氨基末端激酶 (JNK) 磷酸化,导致泛素介导的蛋白酶体降解 Mfn2, 引起线粒体片段化和细胞凋亡。并且该团队指出,细胞内调控线粒体动态变化和凋亡的信号通路相似,且都是通过磷酸化并降解线粒体融合组件来实现的。他们还发现,若使 Mfn2 基因突变为无法被磷酸化且具有一定稳定性的话,则可避免细胞凋亡。

此外,前文已述及 Mfn2 是连接内质网和线粒体的关键物质,敲除 Mfn2 会引起内质网片断化,使得线粒体的钙离子输入受阻<sup>[33]</sup>。线粒体钙离子超载是凋亡和内质网-线粒体之间联系的关键<sup>[16]</sup>,若诱导  $Ca^{2+}$  持续从内质网转运至线粒体导致线粒体  $Ca^{2+}$  超载,可导致线粒体渗透性转换孔 (mitochondrial permeability transition pore, mPTP) 开放,细胞色素 C 释放,最终引起凋亡<sup>[34]</sup>。且在凋亡过程中,内质网和线粒体之间的交界面增加<sup>[35]</sup>,而 Mfn2 是结合两者的关键,因此, Mfn2 可能参与到依赖钙离子的细胞凋亡是一项合理的假设。de Brito 等<sup>[36]</sup> 也的确发现,过表达 Mfn2 可增强内质网和线粒体的联系,以及细胞对钙离子的反应,从而增强细胞对依赖钙离子凋亡的敏感性。

以上说明 Mfn1 和 Mfn2 与细胞凋亡的密切联系是毋庸置疑的,但 Mfn1 和 Mfn2 影响细胞凋亡的途径却不尽相同, Mfn1 更多的是抑制 Bax 的 N 端,而 Mfn2 更多的是通过 Bak、JNK 磷酸化以及钙离子途径来调控凋亡,并且, Mfn1 和 Mfn2 均可通过调节 Bak 在线粒体外膜的分布来影响 Bid 介导的凋亡信号通路。



## 2.2 OPA1与细胞凋亡的关系

### 2.2.1 OPA1与细胞色素C

细胞色素 C 与细胞凋亡的作用早已被证实, 正常情况下, 细胞色素 C 以水溶性蛋白形式存在于线粒体中, 通过带负电荷的磷脂 (主要是心磷脂) 结合在线粒体内膜的表面<sup>[37]</sup>。当应激等发生时, 细胞色素 C 从线粒体中释放进入胞浆, 引起细胞凋亡。

后续研究又证实线粒体中绝大多数细胞色素 C 存在于线粒体嵴腔中, 线粒体嵴的重塑或嵴连接点的开放, 可促使内膜间隙细胞色素 C 的释放<sup>[38]</sup>。而 OPA1 不仅可以介导线粒体融合, 还是线粒体的“塑形蛋白”, 它可以稳定线粒体嵴, 从而阻止细胞色素 C 的释放并避免凋亡<sup>[18,39]</sup>。Frezza 等<sup>[40]</sup>发现, 下调 OPA1 的表达可导致线粒体嵴破坏、线粒体断裂, 从而增加线粒体对凋亡刺激的敏感性, 而且在细胞凋亡的早期, OPA1 的寡聚物被破坏, 线粒体嵴变宽, 细胞色素 C 释放到内膜间隙。随后 Knott 等<sup>[41]</sup>通过电镜观察到, 在凋亡情况下, 通常是管状或薄层样结构的线粒体嵴变得略圆或片段化, 然后消失, 这说明 OPA1 除了可介导线粒体融合外, 还能通过稳定线粒体嵴的结构, 减少线粒体结构的破坏, 从而抑制细胞凋亡<sup>[25]</sup>。

此外, 线粒体内的早老素相关菱形样蛋白 (presenilin associated rhomboid like, PARL) 与 OPA1 密不可分<sup>[22]</sup>。Cipolat 等<sup>[42]</sup>通过对 PARL 基因敲除的小鼠的研究发现, PARL 在 OPA1 的修饰作用和内膜的重构中发挥重要的作用, 该研究指出 PARL 参与 OPA1 寡聚物的形成并维持线粒体嵴的结构;

敲除 PARL 虽对线粒体形态无明显影响, 但在促凋亡情况下更易释放细胞色素 C, 且过表达 OPA1 不能缓解这一情况。Civitarese 等<sup>[43]</sup>又发现, 敲除 PARL 基因的小鼠的骨骼肌出现线粒体嵴畸形、线粒体含量降低等情况。综合上述研究, 我们不难推测在 OPA1 稳定线粒体嵴过程中, PARL 发挥了关键作用。Sanjuan 等<sup>[44]</sup>最近指出, 在 PARL 基因敲除的小鼠中, 肌膜间隙 OPA1 堆积, 却无法阻止细胞色素 C 的释放和凋亡, 且在应激状态时, 细胞可通过 OPA1/PARL 的途径介导线粒体嵴的重塑, 从而下调细胞凋亡的发生。

### 2.2.2 OPA1与Bax/Bak

OPA1 与细胞凋亡的联系除了通过细胞色素 C 外, 也与 Bcl-2 家族成员 Bax/Bak 有关。Yamaguchi 和 Perkins<sup>[45]</sup>总结了凋亡时 Bax/Bak 与 OPA1 共同调节细胞色素 C 的作用: 正常情况下, OPA1 寡聚物聚集, 嵴连接处未改变, 线粒体外膜上有 Bax 和 Bak 组成的渗透性孔道, 心磷脂大部分存在于内膜上 (图 1A); 而凋亡发生时, 内膜被氧化, 内膜上的心磷脂丢失, 细胞色素 C 也从内膜释放, 随后通过开放的嵴连接处从外膜 Bax/Bak 孔道进入细胞质 (图 1B)。Renault 等<sup>[46]</sup>通过独特的线粒体分离技术提取纯化的大量膜片段和线粒体, 也证实了 Bax/Bak 存在于线粒体外膜形成的含脂质孔道内。Westphal 等<sup>[47]</sup>也指出, 未来研究凋亡期间 Bax/Bak 如何调节线粒体通透性将很有必要。

综上所述, 在凋亡过程中, 线粒体融合蛋白相关的凋亡系统主要由 Mfn1、Mfn2 和 OPA1 与细胞色素 C、Bax/Bak 构成, 现总结如表 1。

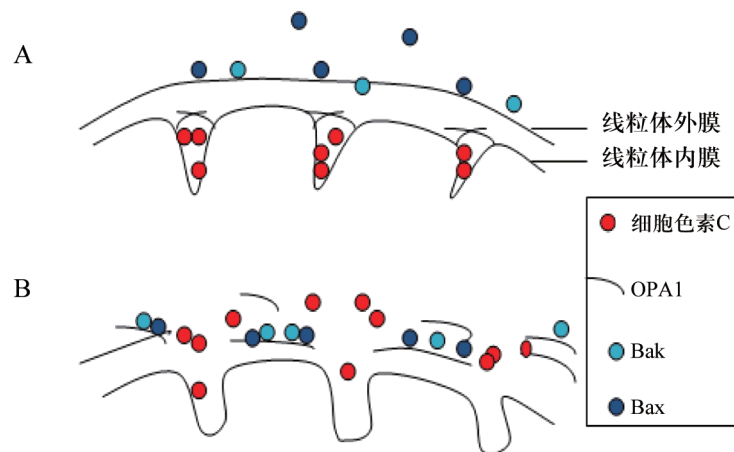


图1 线粒体正常状态时(A)和发生凋亡时(B)

表1 Mfn1、Mfn2、OPA1在正常和凋亡时的相互关系对比

	正常时	凋亡时
Mfn1、Bak	分离	结合
Mfn1、Bax	抑制Bax N端激活	无法抑制Bax N端激活
Mfn2、Bak	结合	分离
Mfn2、Bax	Bax主要位于细胞质	两者形成潜在分裂位点
Mfn2	未被磷酸化	JNK磷酸化Mfn2, Mfn2降解, 线粒体片断化, 细胞凋亡
OPA1	稳定线粒体嵴(PARL), 细胞色素C主要存在于线粒体嵴腔内	嵴连接处改变, 细胞色素C释放
Bax/Bak 渗透性孔道	关闭	开放

### 3 总结与展望

促线粒体融合相关蛋白 Mfn1、Mfn2 和 OPA1 的促线粒体融合作用均与其结构中的 GTPase 区域密不可分, 其中 Mfn1 介导的线粒体融合还与 G $\beta$ 2 蛋白有关, Mfn2 的 C 端也是介导线粒体融合的关键。另外, Mfn2 结合内质网和线粒体也与依赖 Mfn2 的融合有关。现已明确 l-OPA1 可促进线粒体融合, 但关于 s-OPA1 的作用及长、短亚型比例如何影响线粒体融合的机制仍未明。再者, 已证实在线粒体融合过程中 Mfn1、Mfn2 和 OPA1 可相互作用形成复合物, 促进融合。

除此之外, Mfn1、Mfn2 和 OPA1 还分别与细胞凋亡过程中 Bax 的激活、钙离子途径依赖的凋亡、细胞色素 C 的释放以及 Bax/Bak 孔道等密切相关。其中, Mfn1 可调节 Bax N 端的激活, 但关于 Mfn1 是否能抑制 Bax 转位的研究结果不尽相同; 而 Mfn2 是连接内质网和线粒体的关键物质, 很可能参与了依赖钙离子的细胞凋亡, 同时, Mfn2 的磷酸化降解亦是线粒体片断化和细胞凋亡的开始; 并且, Mfn1 和 Mfn2 均可通过调节 Bak 在线粒体外膜的分布来影响 Bid 介导的凋亡信号通路; OPA1 则主要通过稳定线粒体嵴结构调节细胞色素 C 的释放, 从而影响细胞凋亡, 这与 PARL 对 OPA1 的修饰作用以及 Bax/Bak 构成的线粒体外膜孔道均有关。综上, Mfn1、Mfn2 和 OPA1 无论是在线粒体融合还是细胞凋亡方面的作用都既有交叉, 又有分工, 它们可以感受多种信号刺激, 调节线粒体结构和代谢来适应细胞需要, 因此深入研究细胞内信号以及 Mfns 和 OPA1 的调节机制有较大意义。

#### [参 考 文 献]

[1] Yaffe MP. The machinery of mitochondrial inheritance

- and behavior. *Science*, 1999, 283(5407): 1493-7
- [2] Santel A, Fuller MT. Control of mitochondrial morphology by a human mitofusin. *J Cell Sci.*, 2001, 114(Pt 5): 867-74
- [3] Zorzano A, Liesa M, Sebastian D, et al. Mitochondrial fusion proteins: dual regulators of morphology and metabolism. *Semin Cell Dev Biol*, 2010, 21(6): 566-74
- [4] Mcquibban GA, Saurya S, Freeman M. Mitochondrial membrane remodelling regulated by a conserved rhomboid protease. *Nature*, 2003, 423(6939): 537-41
- [5] Malka F, Guillery O, Cifuentes-Diaz C, et al. Separate fusion of outer and inner mitochondrial membranes. *EMBO Rep*, 2005, 6(9): 853-9
- [6] Rojo M, Legros F, Chateau D, et al. Membrane topology and mitochondrial targeting of mitofusins, ubiquitous mammalian homologs of the transmembrane GTPase Fzo. *J Cell Sci*, 2002, 115(Pt 8): 1663-74
- [7] Koshiba T, Detmer SA, Kaiser JT, et al. Structural basis of mitochondrial tethering by mitofusin complexes. *Science*, 2004, 305(5685): 858-62
- [8] Pich S, Bach D, Briones P, et al. The Charcot-Marie-Tooth type 2A gene product, Mfn2, up-regulates fuel oxidation through expression of OXPHOS system. *Hum Mol Genet*, 2005, 14(11): 1405-15
- [9] Chen H, Chomyn A, Chan DC. Disruption of fusion results in mitochondrial heterogeneity and dysfunction. *J Biol Chem*, 2005, 280(28): 26185-92
- [10] Otera H, Mihara K. Mitochondrial dynamics: functional link with apoptosis. *Int J Cell Biol*, 2012, 2012: 821676
- [11] Ishihara N, Eura Y, Mihara K. Mitofusin 1 and 2 play distinct roles in mitochondrial fusion reactions via GTPase activity. *J Cell Sci*, 2004, 117(Pt 26): 6535-46
- [12] Yue W, Chen Z, Liu H, et al. A small natural molecule promotes mitochondrial fusion through inhibition of the deubiquitinase USP30. *Cell Res*, 2014, 24(4): 482-96
- [13] Zhang J, Liu W, Liu J, et al. G-protein beta2 subunit interacts with mitofusin 1 to regulate mitochondrial fusion. *Nat Commun*, 2010, 1: 101
- [14] Marchi S, Patergnani S, Pinton P. The endoplasmic reticulum-mitochondria connection: One touch, multiple functions. *Biochim Biophys Acta*, 2014, 1837(4): 461-9
- [15] Sugiura A, Nagashima S, Tokuyama T, et al. MITOL regulates endoplasmic reticulum-mitochondria contacts

- via Mitofusin2. *Mol Cell*, 2013, 51(1): 20-34
- [16] Naon D, Scorrano L. At the right distance: ER-mitochondria juxtaposition in cell life and death. *Biochim Biophys Acta*, 2014, 1843(10): 2184-94
- [17] Hoppins S, Edlich F, Cleland MM, et al. The soluble form of Bax regulates mitochondrial fusion via MFN2 homotypic complexes. *Mol Cell*, 2011, 41(2): 150-60
- [18] Akepati VR, Muller EC, Otto A, et al. Characterization of OPA1 isoforms isolated from mouse tissues. *J Neurochem*, 2008, 106(1): 372-3
- [19] Cipolat S, Martins de Brito O, Dal Zilio B, et al. OPA1 requires mitofusin 1 to promote mitochondrial fusion. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101(45): 15927-32
- [20] Wong ED, Wagner JA, Scott SV, et al. The intramitochondrial dynamin-related GTPase, Mgm1p, is a component of a protein complex that mediates mitochondrial fusion. *J Cell Biol*, 2003, 160(3): 303-11
- [21] Duvezin-Caubet S, Jagasia R, Wagener J, et al. Proteolytic processing of OPA1 links mitochondrial dysfunction to alterations in mitochondrial morphology. *J Biol Chem*, 2006, 281(49): 37972-9
- [22] Belenguer P, Pellegrini L. The dynamin GTPase OPA1: more than mitochondria? *Biochim Biophys Acta*, 2013, 1833(1): 176-83
- [23] Guillery O, Malka F, Landes T, et al. Metalloprotease-mediated OPA1 processing is modulated by the mitochondrial membrane potential. *Biol Cell*, 2008, 100(5): 315-25
- [24] Neuspiel M, Zunino R, Gangaraju S, et al. Activated mitofusin 2 signals mitochondrial fusion, interferes with Bax activation, and reduces susceptibility to radical induced depolarization. *J Biol Chem*, 2005, 280(26): 25060-70
- [25] Nunnari J, Suomalainen A. Mitochondria: in sickness and in health. *Cell*, 2012, 148(6): 1145-59
- [26] Brooks C, Wei Q, Feng 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
- [27] Martinou JC, Youle RJ. Mitochondria in apoptosis: Bcl-2 family members and mitochondrial dynamics. *Dev Cell*, 2011, 21(1): 92-101
- [28] Karbowski M, Jeong SY, Youle RJ. Endophilin B1 is required for the maintenance of mitochondrial morphology. *J Cell Biol*, 2004, 166(7): 1027-39
- [29] Sugioka R, Shimizu S, Tsujimoto Y. Fzo1, a protein involved in mitochondrial fusion, inhibits apoptosis. *J Biol Chem*, 2004, 279(50): 52726-34
- [30] Ryu SW, Choi K, Park JH, et al. Mitofusin 1 inhibits an apoptosis-associated amino-terminal conformational change in Bax, but not its mitochondrial translocation, in a GTPase-dependent manner. *Cancer Lett*, 2012, 323(1): 62-8
- [31] Weaver D, Eisner V, Liu X, et al. Distribution and apoptotic function of outer membrane proteins depend on mitochondrial fusion. *Mol Cell*, 2014, 54(5): 870-8
- [32] Leboucher GP, Tsai YC, Yang M, et al. Stress-induced phosphorylation and proteasomal degradation of mitofusin 2 facilitates mitochondrial fragmentation and apoptosis. *Mol Cell*, 2012, 47(4): 547-57
- [33] de Brito OM, Scorrano L. Mitofusin 2 tethers endoplasmic reticulum to mitochondria. *Nature*, 2008, 456(7222): 605-10
- [34] Szalai G, Krishnamurthy R, Hajnoczky G. Apoptosis driven by IP(3)-linked mitochondrial calcium signals. *EMBO J*, 1999, 18(22): 6349-61
- [35] Zampese E, Fasolato C, Kipanyula MJ, et al. Presenilin 2 modulates endoplasmic reticulum (ER)-mitochondria interactions and Ca<sup>2+</sup> cross-talk. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108(7): 2777-82
- [36] de Brito OM, Scorrano L. Mitofusin 2 tethers endoplasmic reticulum to mitochondria. *Nature*, 2008, 456(7222): 605-10
- [37] Paradies G, Paradies V, De Benedictis V, et al. Functional role of cardiolipin in mitochondrial bioenergetics. *Biochim Biophys Acta*, 2014, 1837(4): 408-17
- [38] Panieri E, Gogvadze V, Norberg E, et al. Reactive oxygen species generated in different compartments induce cell death, survival, or senescence. *Free Radic Biol Med*, 2013, 57: 176-87
- [39] Delettre C, Lenaers G, Griffoin JM, et al. Nuclear gene OPA1, encoding a mitochondrial dynamin-related protein, is mutated in dominant optic atrophy. *Nat Genet*, 2000, 26(2): 207-10
- [40] Frezza C, Cipolat S, Martins de Brito O, et al. OPA1 controls apoptotic cristae remodeling independently from mitochondrial fusion. *Cell*, 2006, 126(1): 177-89
- [41] Knott AB, Perkins G, Schwarzenbacher R, et al. Mitochondrial fragmentation in neurodegeneration. *Nat Rev Neurosci*, 2008, 9(7): 505-18
- [42] Cipolat S, Rudka T, Hartmann D, et al. Mitochondrial rhomboid PARL regulates cytochrome c release during apoptosis via OPA1-dependent cristae remodeling. *Cell*, 2006, 126(1): 163-75
- [43] Civitarese AE, Maclean PS, Carling S, et al. Regulation of skeletal muscle oxidative capacity and insulin signaling by the mitochondrial rhomboid protease PARL. *Cell Metab*, 2010, 11(5): 412-26
- [44] Sanjuan SL, Scorrano L. The antiapoptotic OPA1/Parl couple participates in mitochondrial adaptation to heat shock. *Biochim Biophys Acta*, 2012, 1817(10): 1886-93
- [45] Yamaguchi R, Perkins G. Dynamics of mitochondrial structure during apoptosis and the enigma of Opa1. *Biochim Biophys Acta*, 2009, 1787(8): 963-72
- [46] Renault TT, Floros KV, Chipuk JE. BAK/BAX activation and cytochrome c release assays using isolated mitochondria. *Methods*, 2013, 61(2): 146-55
- [47] Westphal D, Dewson G, Czabotar PE, et al. Molecular biology of Bax and Bak activation and action. *Biochim Biophys Acta*, 2011, 1813(4): 521-31