

## Mitochondriale Dysfunktion

# Morphologie von Mitochondrien – Regulation, Funktion und Dynamik

ANDREAS S. REICHERT

ADOLF-BUTENANDT-INSTITUT FÜR PHYSIOLOGISCHE CHEMIE, LMU MÜNCHEN

Mitochondrien bilden in den meisten Zellen ein tubuläres Netzwerk, das durch ein Gleichgewicht an Fusions- und Teilungsprozessen aufrechterhalten wird. Änderungen der Morphologie und Funktionsstörung von Mitochondrien sind mit einer Vielzahl von Krankheiten beim Menschen assoziiert. Wie diese Prozesse zusammenhängen, ist bisher unzureichend geklärt. Insbesondere ist unklar, was mit geschädigten Mitochondrien in der Zelle passiert und wie sie sich von intakten Mitochondrien unterscheiden. Eine zentrale Rolle für die Regulation der mitochondrialen Morphologie spielt dabei die mitochondriale Dynamamin-ähnliche GTPase Mgm1/OPA1.

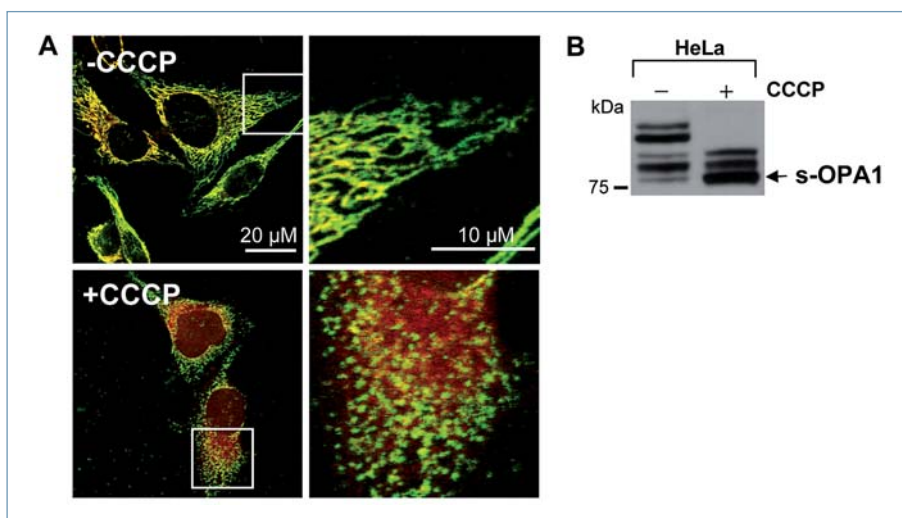
■ Mitochondrien sind von einer äußeren und einer inneren Membran umhüllt und üben zahlreiche essenzielle Funktionen in eukaryotischen Zellen aus. So wird durch das Zusammenspiel der Atmungskettenkomplexe und der  $F_1F_0$ -ATP-Synthase fast der gesam-

te Anteil an intrazellulärer Energie in Form von ATP generiert. Weiterhin finden in diesen Organellen bedeutende Stoffwechselwege statt, wie der Krebszyklus, die Häm-Biosynthese, die  $\beta$ -Oxidation von Fettsäuren, die Synthese einiger Aminosäuren und von

Eisen-Schwefel-Zentren. Auch beim programmierten Zelltod spielen Mitochondrien eine zentrale Rolle.

In Anbetracht der zahlreichen fundamentalen Funktionen von Mitochondrien ist es nicht erstaunlich, dass viele Myopathien und Neuropathien, verschiedene Krebsformen, Diabetes, Fettleibigkeit und Alterungsprozesse mit mitochondrialen Dysfunktionen assoziiert sind<sup>[1]</sup>. Interessanterweise werden in vielen dieser Krankheiten veränderte Strukturen von Mitochondrien beobachtet. Störungen der Morphogenese von Mitochondrien wurden in den letzten Jahren als mögliche Ursache für verschiedene neurodegenerative Krankheiten vorgeschlagen. Auch scheinen genetische Defekte der Fusion oder Teilung von Mitochondrien eine wichtige Rolle bei einer Reihe von Krankheiten zu spielen, wie bei Charcot-Marie-Tooth Neuropathie Typ 2A, Charcot-Marie-Tooth Neuropathie Typ 4A und Optikusatrophie Typ 1<sup>[2-5]</sup>.

Mitochondrien bilden in den meisten Zellen zahlreicher Organismen ein dynamisches tubuläres Netzwerk aus<sup>[6]</sup>. Zur Erhaltung dieses Netzwerks sind koordinierte Fusions- und Teilungsprozesse der Mitochondrien notwendig<sup>[7]</sup>. In der Bäckerhefe (*Saccharomyces cerevisiae*) sind Fusions- und Teilungsereignisse unter normalen Wachstumsbedingungen im Gleichgewicht und ereignen sich etwa alle 1–2 min pro Zelle<sup>[7]</sup>. Dieser Dynamik wird eine wichtige funktionelle Bedeutung zugeordnet. So ermöglicht die ständige, dynamische Reorganisation des Netzwerks eine Durchmischung mitochondrialer Komponenten und so eine Komplementation geschädigter Genprodukte. Die Fusion von Mitochondrien ist außerdem sowohl für die Spermatogenese als auch die Vererbung der mitochondrialen DNA notwendig<sup>[6,7]</sup>. Die Teilung von Mitochondrien ist vermutlich für den Transport von Mitochondrien, wie er z. B. in den langen Axonen von Neuronen notwendig ist, von Vorteil. Kürzlich wurde auch eine wichtige Rolle der Fusion und Teilung von Mitochondrien bei der Regulation der Apoptose beschrieben. Alle diese Beispiele zeigen,



▲ **Abb. 1:** Änderung der mitochondrialen Morphologie nach Dissipation des Membranpotenzials. In HeLa-Zellen wurde das mitochondriale Membranpotenzial ( $\Delta\psi$ ) mit CCCP dissipiert (+ CCCP) oder nicht (- CCCP). **A,** Das normalerweise tubuläre Netzwerk der Mitochondrien (oben) fragmentiert nach CCCP-Behandlung zu einzelnen Mitochondrien (unten). Mitochondrien wurden mittels Immunfluoreszenzmarkierung für Cytochrom c (Grün) und Färbung mit Mitotracker (Rot) sichtbar gemacht. Rechts ist jeweils der angedeutete Ausschnitt in 4-facher Vergrößerung gezeigt. **B,** Lange Isoformen von OPA1 werden nach CCCP-Behandlung proteolytisch zu kurzen Isoformen prozessiert.

welch große Bedeutung Veränderungen der mitochondrialen Morphologie zu haben scheinen. Dennoch muss man sich vergegenwärtigen, dass Fusions- und Teilungsereignisse der Mitochondrien kontinuierlich abzulaufen scheinen und diese Prozesse energieaufwändig sind. Es stellt sich also die Frage, warum Änderungen der mitochondrialen Morphologie nicht nur bei Bedarf, sondern fortwährend erfolgen. Ist die mitochondriale Morphologie reguliert und wenn ja, wie erfolgt dies auf molekularer Ebene?

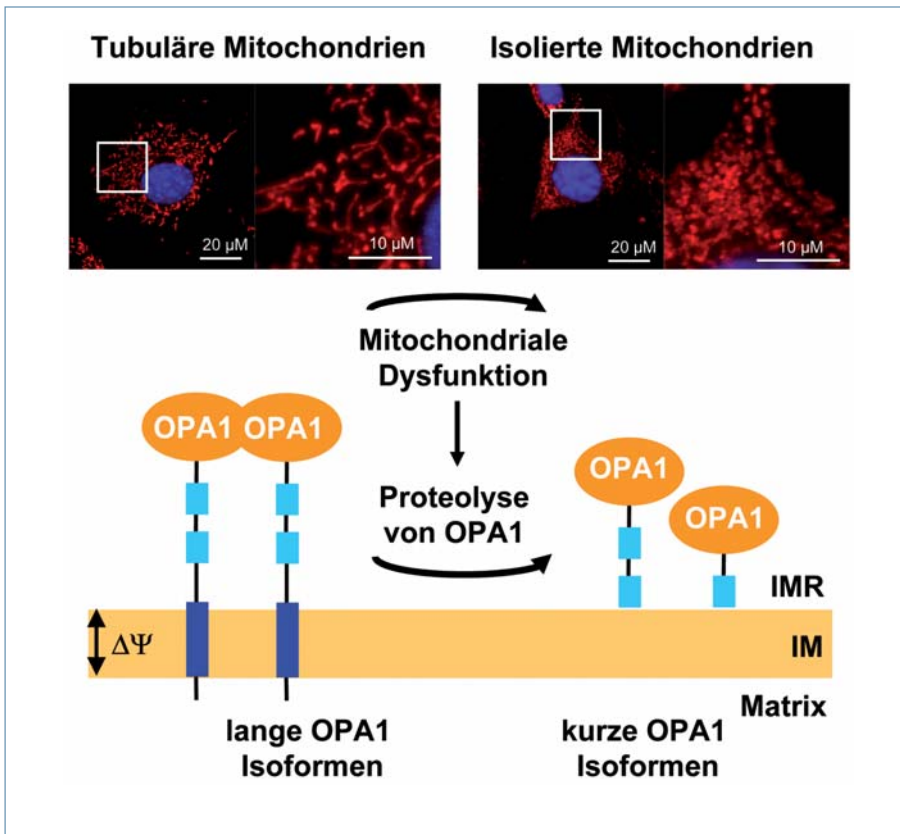
### **Kopplung von Bioenergetik und Morphologie der Mitochondrien in der Bäckerhefe**

Eine Komponente, die für die Fusion der Mitochondrien in der Bäckerhefe essenziell ist, ist die Dynamin-ähnliche GTPase Mgm1. Die Deletion von MGM1 führt zur Fragmentierung und zur Aggregation von Mitochondrien sowie zum Verlust der mitochondrialen DNA. Mgm1 liegt in zwei Isoformen vor, wobei diese in der Innenmembran bzw. dem Intermembranraum lokalisiert sind. Wir konnten bereits früher zeigen, dass diese beiden Isoformen für die Funktion von Mgm1 notwendig sind<sup>[8]</sup>. Die Bildung der kurzen Isoform von Mgm1 hängt interessanterweise vom ATP-Gehalt in den Mitochondrien ab und erfolgt durch die Rhomboidprotease Pcp1 mittels Intramembran-Proteolyse<sup>[8, 9]</sup>. Wir schlagen ein Modell vor („Alternative Topogenese“), durch das der bioenergetische Zustand von Mitochondrien mit deren Morphologie gekoppelt ist. Ein möglicher Vorteil einer solchen Kopplung könnte sein, dass so die Fusion und damit wiederum die Weitergabe von geschädigter mitochondrialer DNA verhindert werden könnte. Außerdem werden geschädigte Mitochondrien so allein schon räumlich vom intakten Netzwerk isoliert, wodurch weitere Schädigungen minimiert werden könnten. Insgesamt erlaubt ein solcher Mechanismus die Unterscheidung von funktionalen und dysfunktionalen Mitochondrien.

### **Unterscheidung von funktionalen und dysfunktionalen Mitochondrien im Menschen**

Das orthologe Protein von Mgm1 im Menschen, OPA1, hat ebenfalls eine zentrale Rolle für die Fusion der Mitochondrien und kommt in langen und kurzen Isoformen vor. Mutationen in OPA1 führen zu auto-

somal-dominanter Optikusatrophie Typ 1<sup>[2, 3]</sup>. Nach unseren Erkenntnissen, die wir mithilfe des Modellorganismus der Bäckerhefe gewinnen konnten, stellte sich für uns die Frage, ob auch in Menschen die Funktionalität und die Morphologie der Mitochondrien über OPA1 gekoppelt sind. In einem ersten Ansatz untersuchten wir ein etabliertes Modellsystem für das MERRF-Syndrom (*myoclonic epilepsy and ragged red fiber syndrome*), eine mitochondrial verursachte Krankheit mit typischen Symptomen wie Myopathien, Kardiomyopathien, Taubheit, Bewegungsstörungen, Demenz und Diabetes<sup>[1]</sup>. Tatsächlich war in MERRF-Zellen, nicht aber in den Kontrollen, das normalerweise tubuläre Netzwerk weitgehend fragmentiert; zugleich beobachteten wir eine proteolytische Prozessierung von langen in kurze Isoformen von OPA1<sup>[10]</sup>. Sowohl die Änderung der Morphologie der Mitochondrien als auch die proteolytische Prozessierung von OPA1 kann auch durch Dissipation des mitochondrialen Membranpotenzials mittels CCCP (Carbonylcyanid-m-chlorophenylhydrazon) sehr schnell (15–30 min) erzeugt werden (**Abb. 1**). Als Nächstes untersuchten wir, ob Ähnliches auch in einem Alterungsmodell beobachtet werden kann, das ebenfalls auf mitochondrialer Dysfunktion beruht. Dazu wurden Zellen von genetisch veränderten Mäusen, die eine mitochondriale DNA-Polymerase  $\gamma$  mit einer 3- bis 5-mal höheren Fehlerrate haben, verwendet. Solche Mäuse zeigen eine beschleunigte Alterung. Sie haben eine weniger als halb so lange Lebensdauer und zeigen den verfrühten Beginn typischer alterungsbezogener Symptome wie Gewichtsverlust, verringerten subkutanen Fettgehalt, Haarausfall, Wirbelsäulenverkrümmung, Osteoporose, Anämie, reduzierte Fertilität und Herzvergrößerung<sup>[11]</sup>. In immortalisierten Fibroblasten dieser Mäuse fanden wir, wie schon bei den MERRF-Zellen, eine deutliche Fragmentierung der Mitochondrien, die mit der Prozessierung von langen Isoformen von OPA1 in kurze einherging (**Abb. 2**). Auch in anderen Krankheitsmodellen und bei Patienten mit mitochondrialen Erkrankungen wurde eine vermehrte Prozessierung von langen OPA1-Isoformen beobachtet. Wir konnten zeigen, dass bei verschiedenen Arten mitochondrialer Funktionsstörungen OPA1 proteolytisch prozessiert wird, dadurch Mitochondrien nicht mehr fusionieren können und somit räum-



▲ **Abb. 2:** Morphologie und Funktionalität von Mitochondrien. Durch verschiedene Arten mitochondrialer Dysfunktion wird die proteolytische Prozessierung von langen zu kurzen Isoformen von OPA1 induziert. Auf diese Weise wird OPA1 inaktiviert und damit die Fusion von Mitochondrien inhibiert. Als Folge können bioenergetisch geschädigte Mitochondrien nicht mehr mit dem intakten Netzwerk fusionieren und werden räumlich separiert. So könnten weitere Schädigungen an intakten Mitochondrien, z. B. durch reaktive Sauerstoffradikale, minimiert werden. Außerdem würde so die selektive Entfernung geschädigter Mitochondrien durch Autophagie ermöglicht. Als Beispiel sind Mitochondrien von Fibroblasten einer Kontrollmaus (links) und einer „Mutator“-Maus (siehe Text, rechts) gezeigt (Mitochondrien: Rot, Zellkern: Blau). Das normalerweise tubuläre Netzwerk der Mitochondrien ist in „Mutator“-Zellen verändert und zeigt eher isolierte Mitochondrien. Auch hier werden vermehrt kurze Formen von OPA1 proteolytisch gebildet<sup>[10]</sup>. IMR, Intermembranraum; IM, Innenmembran.

lich vom intakten Netzwerk isoliert werden<sup>[10]</sup>. Die physiologische Bedeutung dieses Prozesses ist bisher nicht bekannt. Wir postulieren jedoch, dass auf diese Weise eine Schädigung noch funktionaler Mitochondrien, z. B. durch entstehende reaktive Sauerstoffradikale, minimiert wird. Außerdem wird möglicherweise so die Voraussetzung geschaffen, dass geschädigte Mitochondrien innerhalb der Zelle, z. B. durch Autophagie, entfernt werden können. Dies wäre gleichbedeutend mit einer grundlegenden Funktion von OPA1 bei der Qualitätskontrolle von Mitochondrien. Ob letzterer Aspekt der Hypothese tatsächlich zutrifft, müssen jedoch zukünftige Studien noch zeigen.

### Danksagung

Ich danke allen Mitarbeitern meiner Arbeitsgruppe und meinen Lehrern und Mentoren.

Im Rahmen der vorgestellten Arbeiten möchte ich besonders Mark Herlan (Mgm1), Stéphane Duvezin-Caubet (OPA1) und meinen Kooperationspartnern und Koautoren meinen Dank aussprechen. Weiterhin danke ich der DFG, dem BMFT, der Friedrich-Baur-Stiftung und der LMU München für die erhaltenen Finanzmittel. ■

### Literatur

- [1] Wallace, D. C. (2005): A mitochondrial paradigm of metabolic and degenerative diseases, aging, and cancer: a dawn for evolutionary medicine. *Annu. Rev. Genet.* 39: 359–407.
- [2] Alexander, C., Votruba, M., Pesch, U. E., Thielson, D. L., Mayer, S., Moore, A., Rodriguez, M., Kellner, U., Leo-Kottler, B., Auburger, G., Bhattacharya, S. S., Wissinger, B. (2000): OPA1, encoding a dynamin-related GTPase, is mutated in autosomal dominant optic atrophy linked to chromosome 3q28. *Nat. Genet.* 26: 211–215.
- [3] Delettre, C., Lenaers, G., Griffoin, J. M., Gigarel, N., Lorenzo, C., Belenguer, P., Pelloquin, L., Grosgeorge, J., Turc-Carel, C., Perret, E., Astarie-Dequeker, C., Lasquelle, L., Arnaud, B., Ducommun, B., Kaplan, J., Hamel, C. P. (2000):

Nuclear gene OPA1, encoding a mitochondrial dynamin-related protein, is mutated in dominant optic atrophy. *Nat. Genet.* 26: 207–210.

[4] Niemann, A., Ruegg, M., La Padula, V., Schenone, A., Suter, U. (2005): Ganglioside-induced differentiation associated protein 1 is a regulator of the mitochondrial network: new implications for Charcot-Marie-Tooth disease. *J. Cell Biol.* 170: 1067–1078.

[5] Zuchner, S., Mersiyanova, I. V., Muglia, M., Bissar-Tadmouri, N., Rochelle, J., Dadali, E. L., Zappia, M., Nelis, E., Patitucci, A., Senderek, J., Parman, Y., Evgrafov, O., Jonghe, P. D., Takahashi, Y., Tsuji, S., Pericak-Vance, M. A., Quattrone, A., Battaloglu, E., Polyakov, A. V., Timmerman, V., Schroder, J. M., Vance, J. M., Battaloglu, E. (2004): Mutations in the mitochondrial GTPase mitofusin 2 cause Charcot-Marie-Tooth neuropathy type 2A. *Nat. Genet.* 36: 449–451.

[6] Okamoto, K., Shaw, J. M. (2005): Mitochondrial morphology and dynamics in yeast and multicellular eukaryotes. *Annu. Rev. Genet.* 39: 503–536.

[7] Nunnari, J., Marshall, W. F., Straight, A., Murray, A., Sedat, J. W., Walter, P. (1997): Mitochondrial transmission during mating in *Saccharomyces cerevisiae* is determined by mitochondrial fusion and fission and the intramitochondrial segregation of mitochondrial DNA. *Mol. Biol. Cell* 8: 1233–1242.

[8] Herlan, M., Vogel, F., Bornhövd, C., Neupert, W., Reichert, A. S. (2003): Processing of Mgm1 by the rhomboid-type protease Pcp1 is required for maintenance of mitochondrial morphology and of mitochondrial DNA. *J. Biol. Chem.* 278: 27781–27788.

[9] Herlan, M., Bornhövd, C., Hell, K., Neupert, W., Reichert, A. S. (2004): Alternative topogenesis of Mgm1 and mitochondrial morphology depend on ATP and a functional import motor. *J. Cell Biol.* 165: 167–173.

[10] Duvezin-Caubet, S., Jagasia, R., Wagener, J., Hofmann, S., Trifunovic, A., Hansson, A., Chomyn, A., Bauer, M. F., Attardi, G., Larsson, N. G., Neupert, W., Reichert, A. S. (2006): Proteolytic processing of OPA1 links mitochondrial dysfunction to alterations in mitochondrial morphology. *J. Biol. Chem.* 281: 37972–37979.

[11] Trifunovic, A., Wredenberg, A., Falkenberg, M., Spelbrink, J. N., Rovio, A. T., Bruder, C. E., Bohlooly, Y. M., Gidlof, S., Oldfors, A., Wibom, R., Tornell, J., Jacobs, H. T., Larsson, N. G. (2004): Premature ageing in mice expressing defective mitochondrial DNA polymerase. *Nature* 429: 417–423.

### Korrespondenzadresse:

Dr. Andreas S. Reichert  
Adolf-Butenandt-Institut für Physiologische Chemie  
LMU München  
Butenandtstr. 5  
D-81377 München  
Tel.: 089-2180-77100  
Fax: 089-2180-77093  
Andreas.Reichert@med.uni-muenchen.de  
<http://adolfbutenandtinstitut.de>

### AUTOR



#### Andreas S. Reichert

Jahrgang 1969. Studium der Biochemie in Bayreuth und Delaware, USA. 1999 Promotion bei Svante Pääbo am Zoologischen Institut der LMU München. 1999–2000 Postdoktorand bei Mario Mörl am Max-Planck-Institut für Evolutionäre Anthropologie, Leipzig. Seit 2000 bei Walter Neupert als Gruppenleiter am Adolf-Butenandt-Institut für Physiologische Chemie, LMU München.