Mitochondriale Proteinbiogenese

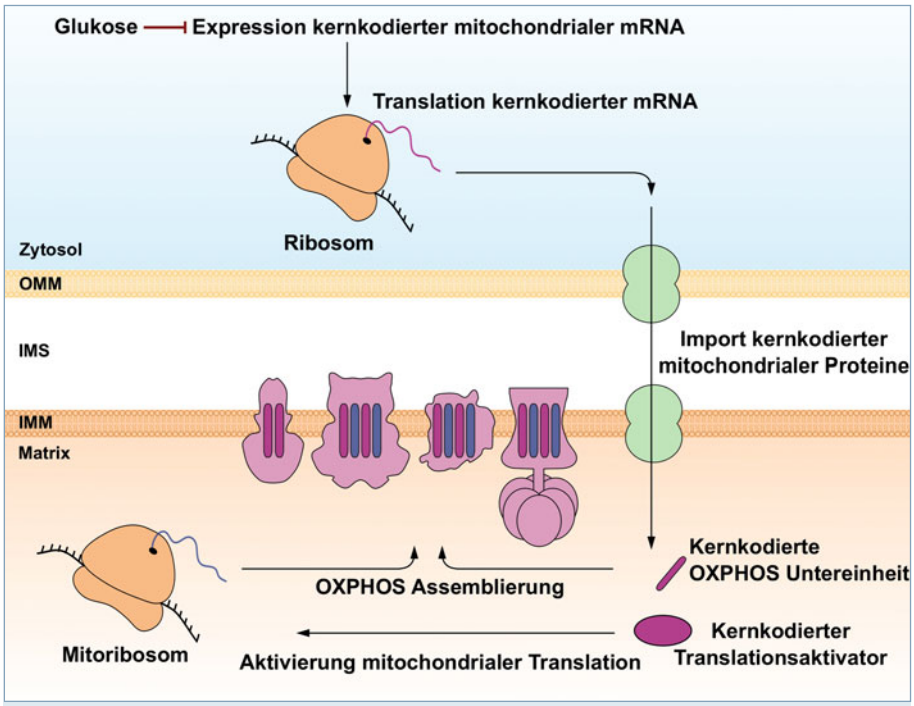
Fließbandfertigung von Atmungskettenkomplexen in Mitochondrien

ANDREAS AUFSCHNAITER, MARTIN OTT
DEPARTMENT OF BIOCHEMISTRY AND BIOPHYSICS, STOCKHOLM UNIVERSITY;
DEPARTMENT OF MEDICAL BIOCHEMISTRY AND CELL BIOLOGY, SAHLGRENSKA ACADEMY, GOTHENBURG UNIVERSITY, SCHWEDEN

A key function of mitochondria consists of energy conversion, performed with the help of the respiratory chain and the ATP synthase. Biogenesis of these essential molecular machines requires expression of nuclear and mitochondrially encoded genes. We describe our current understanding how these processes are coordinated and how they are organized in specific areas of the inner membrane to facilitate the assembly of these sophisticated complexes.

DOI: 10.1007/s12268-022-1783-9
© Die Autoren 2022

Mitochondrien spielen eine zentrale Rolle im Energiehaushalt vieler Eukaryoten. Die letzten Schritte der zellulären Energieumwandlung werden von den Atmungskettenkomplexen bewerkstelligt, um den Großteil des zellulären ATPs zu generieren. Diese Proteinkomplexe benötigen eine hochkomplizierte Biogenese, da ihre Untereinheiten sowohl kerncodiert sind, als auch von mitochondrialen Genen stammen. Damit die Assemblierung effizient funktioniert, haben sich faszinierende Mechanismen ausgebildet, die beide genetischen Systeme koordinieren und die Untereinheiten in einer geregelten Form zueinander führen.



▲ **Abb. 1:** Übersicht über die Abläufe mitochondrialer Proteinbiosynthese und die Koordination der Translation kern- und mitochondrial codierter Proteine. Die Biosynthese der Atmungskettenkomplexe folgt einer klaren Hierarchie und Sequenz. Dabei werden kerncodierte Proteine in Mitochondrien importiert, die dann schrittweise zu multimeren Komplexen zusammengeführt werden. Gleichzeitig sind Import von Proteinen, deren Assemblierung und die Synthese mitochondrial-codierten Proteine miteinander koodiniert. OMM: äußere mitochondriale Membran; IMS: mitochondrialer Intermembranraum; IMM: innere mitochondriale Membran.

Zelluläre Koordination zweier genetischer Systeme

Oxidative Phosphorylierung ist der energetisch günstigste Weg, chemische Energie in ATP umzuwandeln, kann aber in Fällen von akut hohem Energiebedarf auch umgangen werden, um ATP mittels Gärung zu gewinnen. Die Bäckerhefe z. B. verwendet vornehmlich Traubenzucker als Energiequelle. Falls Traubenzucker vorhanden ist, werden Gene für die mitochondriale Biogenese unterdrückt. Ist der Traubenzucker verbraucht, wird der Metabolismus umprogrammiert und eine massive Induktion der mitochondrialen Biogenese ist die Folge, da – neben anderen Enzymen – große Mengen Atmungskettenkomplexe und ATP-Synthasen hergestellt werden (**Abb. 1**).

Damit die Komplexassemblierung effizient funktioniert, muss die Expression der kern- und der mitochondrial codierten Untereinheiten abgestimmt sein. Diese Koordination folgt einer klaren Hierarchie, wobei der Import kerncodierter Proteine die Synthese der mitochondrial codierten Proteine stimuliert. Dieser Mechanismus beruht auf Translationsaktivatoren, spezialisierte Proteine, die zwei unterschiedliche molekulare Funktionen ausüben: sie vermitteln effektive Translation einer bestimmten, mitochondrial codierten mRNA und können „ihr“ Translationsprodukt binden. Durch die Bindung des Aktivators in einem Assemblierungsintermediat nimmt er nicht mehr an der Translationsaktivierung teil. Erst wenn das Translationsprodukt weiter assembliert wird, wird auch der Aktivator abgelöst und

kann eine neue Translationsrunde initiieren [1].

Die Fließbänder der Atmungskettenassemblierung

Die meisten mitochondrialen Genome codieren für sehr hydrophobe Untereinheiten der Atmungsketten, die Schlüsselfunktionen in diesen Komplexen übernehmen. Die mitochondriale Cytochrom-*c*-Reduktase besteht aus drei katalytischen Untereinheiten für den Elektronentransport mithilfe von Redox-Ko-Faktoren, sowie sieben kerncodierten Untereinheiten. Alle diese Proteine und Redox-Ko-Faktoren müssen in einer klar definierten Sequenz zusammenkommen, um eine funktionelle Cytochrom-*c*-Reduktase zu bilden – ähnlich einem Fließband in der Automobilindustrie. Dabei werden die Zwischenschritte häufig von Assemblierungsfaktoren vermittelt, die den wachsenden Komplex vorübergehend stabilisieren und sicherstellen, dass die nächste Untereinheit eine geeignete Interaktionsoberfläche vorfindet.

Bei der Cytochrom-*c*-Reduktase dient das mitochondrial codierte Cytochrom *b* als Kern der Biogenese [2]. Das neusynthetisierte Protein wird zuerst vom Cbp3/Cbp6-Komplex gebunden (**Abb. 2**), der das Protein in einer Konformation stabilisiert, die die Insertion der beiden Häm-Ko-Faktoren ermöglicht. Ein weiterer Assemblierungsfaktor, Cbp4 bindet an das gereifte Cytochrom *b*, um die beiden Hämgruppen zu stabilisieren. Dadurch verändert sich die Konformation von Cytochrom *b* so, dass der Cbp3/Cbp6-Komplex abgelöst und die erste kerncodierte Untereinheit binden kann. Nunmehr werden die anderen Untereinheiten Schritt für Schritt hinzugefügt, bis die Assemblierung abgeschlossen ist.

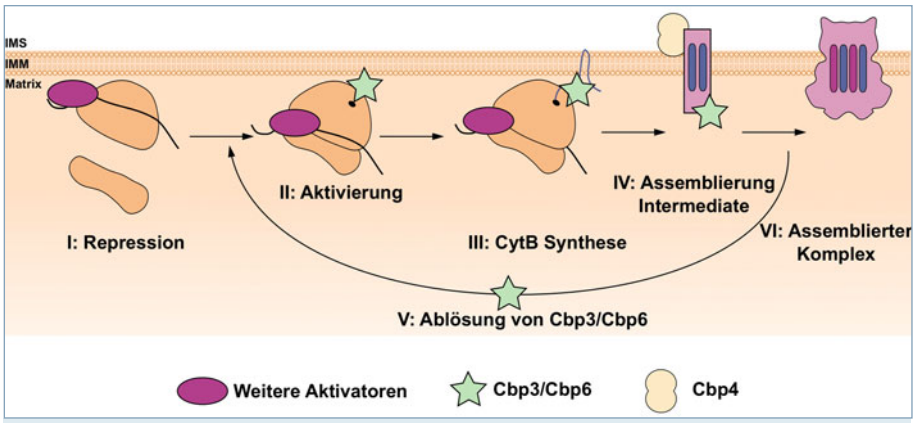
Der Tunnelausgang mitochondrialer Ribosomen als Schnittstelle zwischen Synthese und Reifung

Der Cbp3-Cbp6-Komplex bindet an den Tunnelausgang der großen Untereinheit des mitochondrialen Ribosoms, um mit dem neusynthetisierten Cytochrom *b* effizient zu interagieren [3]. Diese Interaktion führt zur Freisetzung der Cytochrom-*b*-codierenden mRNA, die ebenfalls an den Tunnelausgang binden kann [4]. Diese Freisetzung ermöglicht dann deren Translationsinitiation, die wiederum spezifische Protein involviert.

Die Lokalisierung dieses Regulationsmechanismus an den Tunnelausgang ist ein weiteres Beispiel für die strategische Bedeutung dieser Stelle am Ribosom [5]. Der Tunnelausgang repräsentiert hierbei den Übergang von Synthese zur Reifung des neuen Proteins (**Abb. 3**). Hier binden eine Reihe früher Biogenesefaktoren, um das neusynthetisierte Protein in die unterschiedlichen Biogenesewege zu dirigieren. Diese reichen von Translokase-vermittelter Membraninsertion über N-terminale Prozessierung zu kotranslationaler Faltung und Assemblierung. Im Fall des mitochondrialen Ribosomes sind sogar spezifische Assemblierungsfaktoren an den Tunnelausgang gebunden, um die

Hier steht
eine Anzeige.

Springer



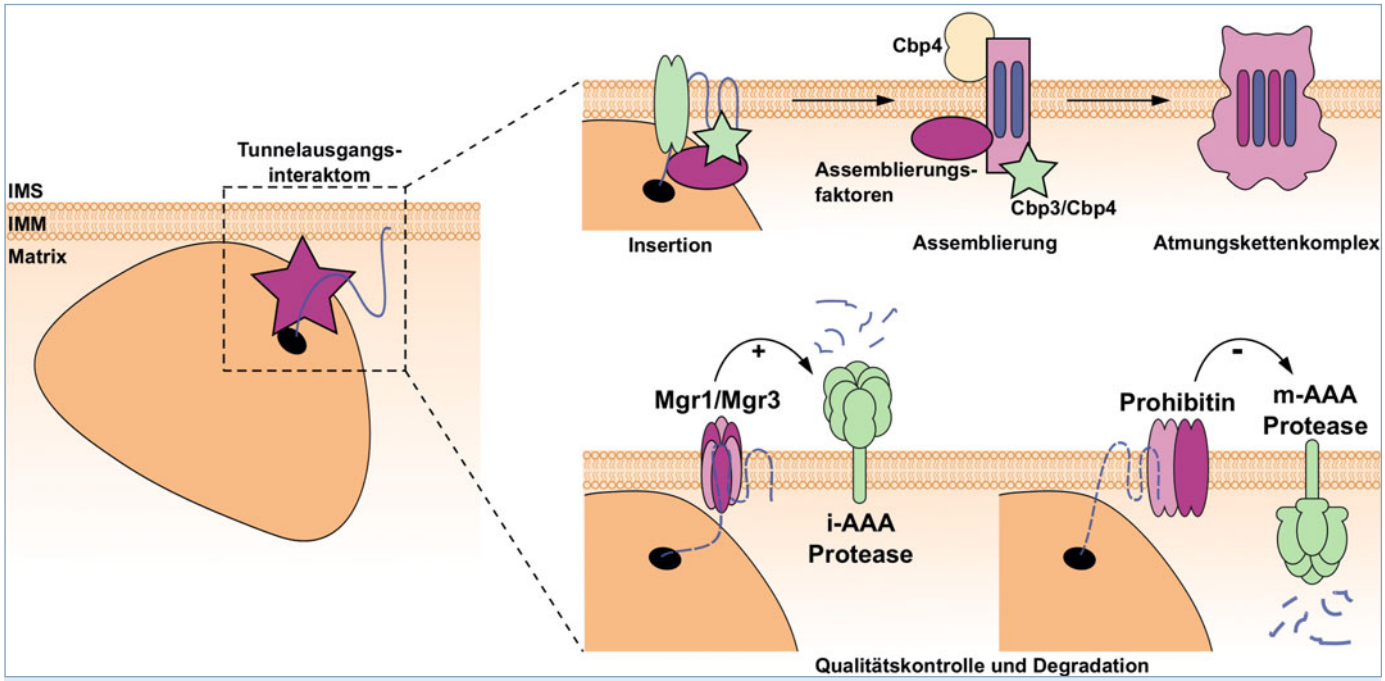
▲ **Abb. 2:** Prinzipien der Biogenese mitochondrialer Atmungskettenkomplexe anhand des Beispiels der Cytochrom-*c*-Reduktase. Ein Fließband-ähnlicher Prozess mit komplexen regulatorischen Vorgängen ist verantwortlich für die Assemblierung der Cytochrom-*c*-Reduktase. Dabei wird neusynthetisiertes Cytochrome *b*, ein mitochondrial-codiertes Protein, vom Cbp3/Cbp6-Komplex gebunden, was das Protein in einer Konformation stabilisiert. Die Insertion der beiden Hämgruppen fürt zur Ablösung von Cbp3/Cbp6, und die ersten kern-codierten Proteine der Cytochrom-*c*-Reduktase können in den heranreifenden Komplex eingebaut werden. Es folgt ein schrittweißer Einbau weiterer Untereinheiten, bis zur Fertigstellung des Komplexes. IMS: mitochondrialer Intermembranraum; IMM: innere mitochondriale Membran.

neusynthetisierten Proteine direkt in die Atmungskettenproduktion zu leiten.

Qualitätskontrolle mitochondrieller Proteinsynthese und Alterung

Das Aufrechterhalten der Qualitätskontrolle von mitochondrial codierten Proteinen ist entscheidend für die Gewährleistung mitochondrialer Funktion und zellulärer Fitness. Da ein Großteil des mitochondrialen Proteoms nicht für das Ubiquitin/Proteasom-System zugänglich ist, benötigen Mitochondrien ein spezialisiertes System, um beschädigte oder überflüssige Proteine zu degradieren. Ein Teil dieses Systems sind evolutionär hoch konservierte Enzyme aus der AAA-Familie, wie Chaperonen, die i-AAA-Protease (Yme1 in Hefe) und die m-AAA-Protease (Yta10 und Yta12) [6]. Da mitochondrial codierte Proteine kotranslational in die innere mitochondriale Membran inseriert werden, sind die membranständigen i-AAA- und m-AAA-Protease-Komplexe essenziell für die Qualitätskontrolle und ihre Abwesenheit führt zur Akkumulation von dysfunktionalen Elektronentransportkomplexen [7]. Unsere Untersuchungen der räumlichen Organisation von mitochondrialer Genexpression zeigten [8], dass neben Proteinen für die Assemblierung der mitochondrialen Atmungskette auch wichtige Faktoren für die Qualitätskontrolle dieser Proteine in räumlicher Nähe zum Tunnelausgang des mitochondrialen Ribosoms liegen, einschließlich der i-AAA-Protease und m-AAA-Protease (**Abb. 3**). Dies spiegelt die unmittelbare funktionale Kopplung aus mitochondrialer Proteinbiosynthese, Qualitätskontrolle und Assemblierung der Atmungskette wider.

Insbesondere für die m-AAA-Protease wurde gezeigt, dass deren Aktivität wichtig ist, um die Akkumulation von neu synthetisierten mitochondrial codierten Proteinen in der inneren mitochondrialen Membran zu ver-



▲ **Abb. 3:** Organisation der mitochondrialen Proteinbiosynthese, Assemblierung der Atmungskette und deren Qualitätskontrolle am Tunnelausgang des mitochondrialen Ribosoms. Der Proteinnetzwerk am Tunnelausgang des Mitoribosoms einhaltet nicht nur Proteine und Assemblierungsfaktor für die fließbandähnliche Fertigung der Atmungskettenkomplexe, sondern auch Faktoren für die Proteinqualitätskontrolle. Dies beinhaltet u. a. Proteasen und deren Kofaktoren, welche mitochondrial codierte Proteine effizient degradieren können, falls diese nicht für die Assemblierung von Atmungskettenkomplexen verwendet werden können. IMS: mitochondrialer Intermembranraum; IMM: innere mitochondriale Membran.

hindern. Eine Einschränkung dieser Funktion führt zu einer Reduktion des mitochondrialen Transmembranpotenzials und der Proteinbiosynthese, Fragmentation des mitochondrialen Netzwerks und einer Beeinträchtigung der zellulären Proliferation und Fitness [9]. Ebenso ist die m-AAA-Protease verantwortlich für die Degradation von Atmungskettenkomplexen und deren mitochondrial codierten Komponenten bei etwaigen Proteindefekten, etwa durch Mutationen von Cox1 [10]. Die m-AAA-Protease bildet einen Komplex mit dem multimeren Protein Prohibitin. Prohibitin reduziert dabei die Aktivität der m-AAA-Protease und könnte möglicherweise als eine Art membranständiges Chaperon die Faltung neu synthetisierter Proteine begünstigen [11]. Genaue molekulare Mechanismen hierfür sind jedoch noch weitgehend unbekannt und eine der großen offenen Fragen in der Qualitätskontrolle mitochondrial codierter Proteine.

Literatur

[1] Ott M, Amunts A, Brown A (2016) Organization and regulation of mitochondrial protein synthesis. Annu Rev Biochem 85: 77–101
[2] Ndi M, Marin-Buera L, Salvatori R et al. (2018) Biogenesis of the bc1 complex of the mitochondrial respiratory chain. J Mol Biol 430: 3892–3905
[3] Gruschke S, Kehrein K, Römpler K et al. (2011) Cbp3-Cbp6 interacts with the yeast mitochondrial ribosomal tunnel exit and promotes cytochrome b synthesis and assembly. J Cell Biol 193: 1101–1114
[4] Salvatori R, Kehrein K, Singh AP et al. (2020) Molecular wiring of a mitochondrial translational feedback loop. Mol Cell 77: 887–900.e5
[5] Kramer G, Shiber A, Bukau B (2019) Mechanisms of cotranslational maturation of newly synthesized proteins. Annu Rev Biochem 88: 337–364
[6] Glynn SE (2017) Multifunctional mitochondrial AAA proteases. Front Mol Biosci 4: 34
[7] Quirós PM, Langer T, López-Otín C (2015) New roles for mitochondrial proteases in health, ageing and disease. Nat Rev Mol Cell Biol 16: 345–359
[8] Singh AP, Salvatori R, Aftab W et al. (2020) Molecular connectivity of mitochondrial gene expression and OXPHOS biogenesis. Mol Cell 79: 1051–1065.e10
[9] Richter U, Lahtinen T, Marttinen P et al. (2015) Quality control of mitochondrial protein synthesis is required for membrane integrity and cell fitness. J Cell Biol 211: 373–389
[10] Hornig-Do HT, Tatsuta T, Buckermann A et al. (2012) Nonsense mutations in the COX1 subunit impair the stability of respiratory chain complexes rather than their assembly. EMBO J 31: 1293–1307
[11] Nijtmans LGJ (2000) Prohibitins act as a membrane-bound chaperone for the stabilization of mitochondrial proteins. EMBO J 19: 2444–2451

Funding note: Open Access funding enabled and organized by University of Gothenburg.

Open Access: Dieser Artikel wird unter der Creative Commons Namensnennung 4.0 International Lizenz veröffentlicht, welche die Nutzung, Vervielfältigung, Bearbeitung, Verbreitung und Wiedergabe in jeglichem Medium und Format erlaubt, sofern Sie den/die ursprünglichen Autor(en) und die Quelle ordnungsgemäß nennen, einen Link zur Creative Commons Lizenz beifügen und angeben, ob Änderungen vorgenommen wurden. Die in diesem Artikel enthaltenen Bilder und sonstiges Drittmaterial unterliegen ebenfalls der genannten Creative Commons Lizenz, sofern sich aus der Abbildungslegende nichts anderes ergibt. Sofern das betreffende Material nicht unter der genannten Creative Commons Lizenz steht und die betreffende Handlung nicht nach gesetzlichen Vorschriften erlaubt ist, ist für die oben aufgeführten Weiterverwendungen des Materials die Einwilligung des jeweiligen Rechteinhabers einzuholen. Weitere Details zur Lizenz entnehmen Sie bitte der Lizenzinformation auf http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.de.

Korrespondenzadresse:
Prof. Dr. Martin Ott
Department of Medical Biochemistry and Cell Biology
Institute for Biomedicine
Sahlgrenska Academy
University of Gothenburg
Medicinaregatan 9A
SE-41390 Göteborg
martin.ott@gu.se
www.martinottlab.com

AUTOREN

Andreas Aufschnaiter
2010–2013 Bachelorstudium Molekularbiologie und **2013–2015** Masterstudium Biochemie und molekulare Biomedizin an der TU Graz, Österreich. **2015–2019** Doktorat an der Universität Graz in Biochemie und molekulare Biomedizin unter Anleitung von Prof. Dr. S. Büttner. Seit **2019** Postdoktorand an der Stockholm Universität/Schweden im Labor von Prof. Dr. M. Ott.

Martin Ott
1996–2005 Biologiestudium mit anschließender Promotion. **2006–2007** Postdoktorand am Karolinska Institut/Schweden im Labor von Prof. Dr. S. Orrenius. **2008–2011** Gruppenleiter an der TU Kaiserslautern. Seit **2011** assoziierter, seit **2015** Professor an der Universität Stockholm/Schweden. Seit **2020** Professor am Institut for Biomedicine an der Universität Göteborg/Schweden.

Hier steht eine Anzeige.

Springer