

von Anja Schäfer  
und Andreas  
Reichert

Mitochondrien sind die Kraftwerke unserer Zellen. In ihnen findet die Zellatmung statt, die unseren Körper mit lebenswichtiger Energie versorgt. **■** Zusätzlich teilen sich die Zellorganellen und verschmelzen wieder miteinander im Minutentakt. Was aber passiert, wenn Teile dieses dynamischen Geflechts Defekte aufweisen? Die Antwort dazu könnte ein Protein sein, das auf zwei verschiedene Weisen in die Mitochondrien-Membranen eingebaut wird. Liegt keine kurze Form des Proteins vor, ist das ein Hinweis dafür, dass die Organellen defekt sind.

Die Mitochondrien verbrennen die mit der Nahrung zugeführten Kohlenhydrate und Fette unter Verbrauch von Sauerstoff zu Kohlendioxid und Wasser. Bei diesem Vorgang, der Zellatmung, wird über eine Reihe von Proteinkomplexen ein elektrochemisches Potenzial aufgebaut, das zur Produktion des Energieträgers ATP (Adenosinriphosphat) genutzt wird. ATP kann aus den Mitochondrien abtransportiert werden und steht somit als eine Art Treibstoff für alle Stoffwechselprozesse zur Verfügung. Die Arbeit der Mitochondrien

ist der Hauptgrund für unseren täglichen Sauerstoffbedarf. Außerdem tragen die Nano-Kraftwerke der Zelle dazu bei, unsere Körpertemperatur auf 37 °C aufrechtzuerhalten.

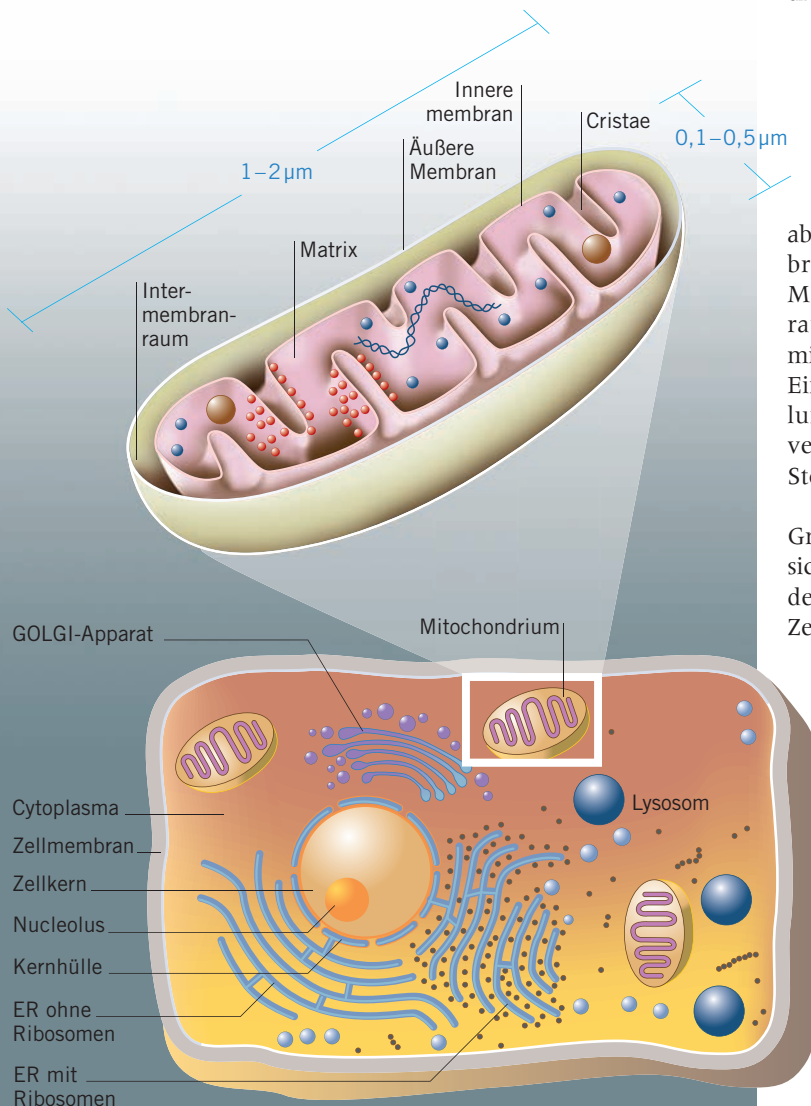
Aufgrund dieser zentralen Funktionen ist es nicht verwunderlich, dass eine Reihe von Krankheiten beim Menschen durch den Funktionsverlust von Mitochondrien verursacht oder beeinflusst wird. Das sind in erster Linie neurologische oder muskuläre Erkrankungen, aber auch Diabetes, Fettleibigkeit, verschiedene Formen von Krebs und Alterungsprozesse. Folglich ist es von immenser Bedeutung zu verstehen, wie Mitochondrien funktionieren, wie sie ihre Funktionalität aufrechterhalten und gegebenenfalls repariert oder entsorgt werden können. Dem können wir am Wissenschaftsstandort Frankfurt hervorragend nachgehen, da sich einige international ausgewiesene Forschungsgruppen in den Fachbereichen Medizin, Biologie, Chemie und am Max-Planck-Institut für Biophysik mit verschiedenen Aspekten der mitochondrialen Biologie befassen. In zahlreichen interdisziplinären Kooperationen wird so versucht, dieses komplexe System besser zu verstehen.

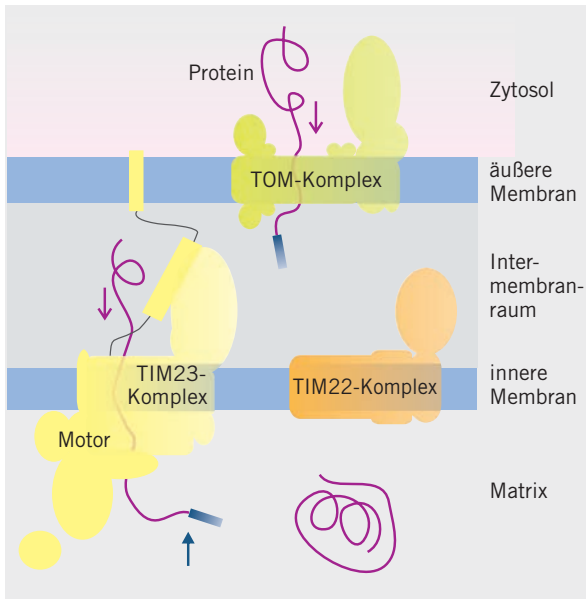
#### Wie die Mitochondrien in die Zelle kamen

Zellorganellen sind durch eine oder mehrere biologische Membranen vom Rest der Zelle, dem Zytoplasma, abgegrenzt. Dadurch entstehen Kompartimente, durch die verschiedenste biochemische Reaktionen gleichzeitig, aber räumlich voneinander getrennt ablaufen können. Mitochondrien sind von zwei Membranen umgeben, einer äußeren und einer inneren Membran, zwischen denen sich der Intermembranraum befindet. Die innere Membran umschließt die mitochondriale Matrix und weist zusätzlich zahlreiche Einstülpungen (Cristae) auf. **■** Durch diese Unterteilungen entstehen auch in den Mitochondrien selbst verschiedene Kompartimente, welche auf bestimmte Stoffwechselfvorgänge spezialisiert sind.

Mitochondrien können in den Zellen nicht von Grund auf neu gebildet werden, sondern vermehren sich durch Einbau neuer Bausteine in schon bestehende Mitochondrien. Diese werden dann im Zuge der Zellteilung jeweils an die entstehenden Tochterzellen verteilt und somit weitervererbt. Der Ursprung der Mitochondrien, die in allen Pflanzen und Tieren vorkommen, wird durch die Endosymbiontentheorie beschrieben. Demnach nahm vor etwa 1,5 Milliarden Jahren ein Vorläufer einer heutigen eukaryontischen Zelle ein den  $\alpha$ -Proteobakterien ähnliches Bakterium in sich

**■** Schematische Darstellung einer tierischen eukaryontischen Zelle und eines Mitochondriums. Eukaryontische Zellen enthalten verschiedene Organellen wie den Zellkern, das Endoplasmatische Retikulum, Lysosomen und Mitochondrien. Die Mitochondrien sind durch zwei Membranen, die äußere und die innere Membran, vom Zytoplasma der Zelle abgegrenzt. Die innere Membran enthält Einstülpungen (Cristae) und umschließt die mitochondriale Matrix.





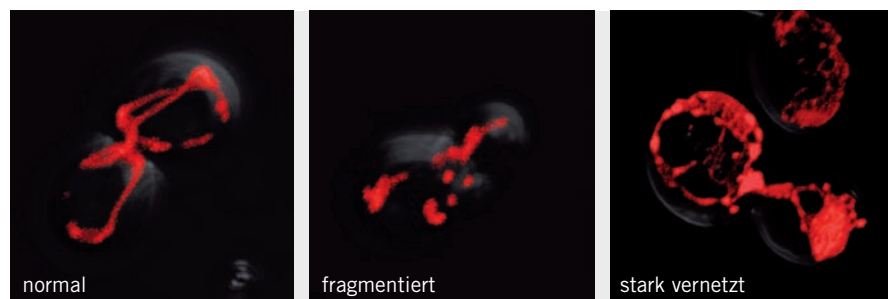
Translokasen zum Import von Proteinen in Mitochondrien. Schematische Darstellung der Translokasen der äußeren und inneren Membran von Mitochondrien (blaue Balken). In der äußeren Membran befindet sich der TOM-Komplex (translocase of the outer membrane, grün), der Proteine (lila) durch diese Membran importiert. In der inneren Membran sind die TIM-Komplexe (translocase of the inner membrane) zu finden. Der TIM23-Komplex (gelb) importiert Proteine mit aminoterminalen Signalsequenzen (blaues Rechteck) durch die innere Membran in die Matrix beziehungsweise inseriert Proteine in diese Membran. Für den Import in die Matrix wird der Importmotor auf der Matrixseite der inneren Membran benötigt. Die Signalsequenz des importierten Proteins wird in der Matrix abgespalten (blauer Pfeil). Der Import von Proteinen ohne Signalsequenz erfolgt durch den TIM22-Komplex (orange).

### Ein dynamisches Geflecht

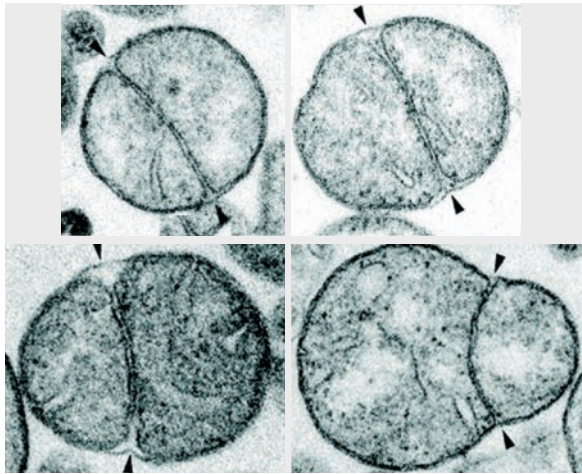
Eine Besonderheit der Mitochondrien ist ihr ausgeprägtes dynamisches Verhalten innerhalb der Zelle. Entgegen der häufigen Darstellung als einzelne, eiförmige Strukturen bilden sie ein tubuläres Netzwerk aus, das einem stetigen Gestaltwandel unterliegt. Mitochondrien sind in der Lage, sich zu teilen und wieder miteinander zu fusionieren. Diese Prozesse laufen innerhalb einer Zelle etwa im Minutenrhythmus ab. Da sich Teilung und Fusion in einem Gleichgewicht befinden, bleibt die tubuläre Struktur des mitochondrialen Netzwerks erhalten. Wird jedoch die Teilung unterdrückt, bildet sich eine stark verzweigte, Fischernetz-artige Struktur aus. Umgekehrt fragmentieren Mitochondrien zu kleinen, vereinzelt Gebilden, wenn keine Fusion mehr stattfinden kann. Man nimmt an, dass die mitochondriale Dynamik der Verteilung von Proteinen, DNA-Molekülen und anderen Stoffen dient. Sie ist auch entscheidend für die Vererbung der Organellen und deren Verteilung innerhalb der Zellen. So müssen Mitochondrien fragmentieren, damit sie zum Beispiel innerhalb der langen Nervenzellen zu entlegenen Enden wie den Synapsen transportiert werden können. Dort stellen sie die Energie zur Verfügung, die für die Signalübertragung zu anderen Nervenzellen notwendig ist.

auf. So entstand eine Symbiose, welche vermutlich durch den Austausch von Stoffwechselprodukten beiden Partnern zu Überlebensvorteilen verholfen hat [siehe auch Enrico Schleiff »Der Weg zum grünen Kraftwerk«, Seite 35]. Die bakterielle Erbinformation wurde im Laufe der Zeit zum größten Teil in den Zellkern der eukaryontischen Zelle transferiert. Einige Bereiche des ursprünglichen Bakteriengenoms blieben jedoch erhalten und zeugen auch heute noch von der Entstehung der Mitochondrien. Die mitochondriale DNA der Bäckerhefe *Saccharomyces cerevisiae* trägt die genetische Information zur Synthese von lediglich acht Proteinen, die jedoch fast alle essenzielle Bestandteile der Proteinkomplexe sind, welche die in den Mitochondrien ablaufende Zellatmung bewerkstelligen. Beim Menschen sind es 13 essenzielle Proteine.

Die weitaus meisten der Proteine in Mitochondrien werden jedoch durch die DNA des Zellkerns (genomische DNA) codiert und an den Ribosomen, den Proteinsynthesemaschinen, im Zytosol synthetisiert. Erst dann werden sie an ihren Bestimmungsort in den Mitochondrien transportiert. Für diesen Import in Mitochondrien und ihre Membranen existieren spezifische Komplexe, welche die Proteine zu den unterschiedlichen mitochondrialen Kompartimenten dirigieren. So dient zum Beispiel der TOM-Komplex (translocase of the outer membrane) dem Transport durch die Außenmembran und die TIM-Komplexe (translocase of the inner membrane) TIM23 und TIM22 der Translokation von Proteinen durch die Innenmembran in die Matrix beziehungsweise der Insertion in die Innenmembran. Damit Proteine an ihren jeweiligen Zielort gelangen, besitzen sie meist spezifische Signalsequenzen. Nach dem Transport durch den TOM- und den TIM23-Komplex gelangt das Protein in die Matrix, wo die Signalsequenz abgespalten wird. Manche Proteine enthalten jedoch zusätzlich zur Signalsequenz hydrophobe (Wasser abweisende) Bereiche, welche in die ebenfalls hydrophoben Membranen integriert werden. Enthält ein Protein eine solche Transmembrandomäne, stoppt in vielen Fällen der Import während der Translokation durch den TIM23-Komplex, und die Transmembrandomäne wird lateral in die mitochondriale Innenmembran integriert.



Morphologie von Mitochondrien. Fluoreszenzmikroskopische Aufnahmen von Mitochondrien aus der Hefe *Saccharomyces cerevisiae*. Die Mitochondrien wurden mit einem rot fluoreszierenden, mitochondrialen Protein (mt-dsRED) sichtbar gemacht. Links sind Zellen mit tubulären Mitochondrien gezeigt (normal). In der Mitte sind Zellen mit fragmentierten Mitochondrien zu sehen (fragmentiert). Die Fusion ist blockiert, die Teilung findet unvermindert statt, so dass die Mitochondrien vereinzelt werden. Die Mitochondrien im rechten Bild haben eine Fischernetz-artige Struktur (stark vernetzt), da sich die Mitochondrien nicht mehr teilen können, Fusion jedoch weiter stattfindet.



Die Teilung und Fusion von Mitochondrien wird durch spezialisierte Proteine bewerkstelligt. Bei der Teilung werden spiralartige Strukturen um einen mitochondrialen Tubulus gebildet, durch deren Verengung schließlich zwei Teile entstehen. Da Mitochondrien von zwei Membranen umgeben sind, stellt ihre Fusion eine besondere Herausforderung dar. Tatsächlich sind die Fusion der äußeren und der inneren Membran zwei voneinander trennbare Vorgänge. Mit Hilfe elektronenmikroskopischer Aufnahmen kann man Mitochondrien beobachten, deren Außenmembranen bereits fusioniert sind, während die Innenmembranen noch getrennt sind und einander gegenüberliegen. Bei der Fusion bringen spezialisierte Proteine der Außen- beziehungsweise Innenmembran diese einander näher, so dass sie schließlich miteinander verschmelzen. Für die Innenmembranfusion ist das Protein Mgm1, eine Dynamin-ähnliche GTPase, verantwortlich. Ist in Hefezellen kein Mgm1 vorhanden, liegen die Mitochondrien fragmentiert vor, da sie sich zwar weiter teilen, aber nicht mehr miteinander fusionieren können.

### Ein Protein mit zwei Identitäten

Unsere Arbeitsgruppe hat sich in den letzten Jahren mit der Erforschung der molekularen Mechanismen und der Regulation der Fusion von Mitochondrien in Säugerzellen und in der Bäckerhefe befasst. Hier möchten wir im Besonderen auf die Funktion des Proteins

Elektronenmikroskopische Aufnahmen von Mitochondrien aus der Hefe *Saccharomyces cerevisiae* mit fusionierten Außenmembranen. Jeweils zwei Mitochondrien sind teilweise miteinander fusioniert. Die äußeren Membranen sind bereits zu einer gemeinsamen äußeren Membran verschmolzen, während die inneren Membranen noch getrennt vorliegen. Die schwarzen Pfeile deuten auf Regionen mit durchgehender äußerer Membran, die zwei nahe aneinanderliegende innere Membranen umschließt.

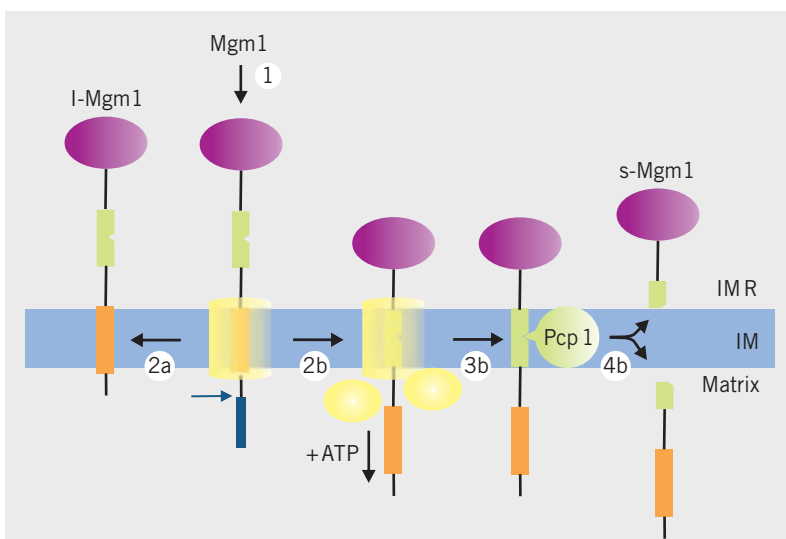
Mgm1 der Bäckerhefe näher eingehen. Mgm1 existiert in zwei Formen, einer langen und einer kurzen (l-Mgm1 und s-Mgm1). Das Protein besitzt an seinem Amino-Terminus eine Signalsequenz für den Import in Mitochondrien. Dadurch wird es zunächst durch die Außenmembran transportiert. Das aminoterminal Ende von Mgm1 gelangt mit der TIM23-Translokase in die Matrix, wo die Signalsequenz abgespalten wird. Mgm1 besitzt eine Transmembrandomäne nahe der Signalsequenz, wodurch der Import durch TIM23 stoppt. An dieser Stelle kann die Transmembrandomäne von Mgm1 in die mitochondriale Innenmembran integriert werden. Das so entstandene Protein ist l-Mgm1.

Alternativ kann Mgm1 aber weiter durch TIM23 transportiert werden. Erreicht dann ein zweites Transmembranbereich die Membran, wird dieser in die Innenmembran integriert. Ebenfalls in der Innenmembran befindet sich eine Protease, also ein Enzym, welches andere Proteine spalten kann. Diese Protease (Pcp1) spaltet Mgm1 innerhalb des integrierten Transmembransegments, und es entsteht s-Mgm1. Die Protease gehört zur Familie der Rhomboidproteasen, einer konservierten Klasse von Intramembran-Proteasen, und diese wie auch die Spaltstelle des Substrats sind in die hydrophobe, also stark Wasser abweisende, Membran eingebettet. Da die Spaltung von Proteinen aber eine hydrolytische Reaktion, also eine Spaltung mithilfe von Wasser, darstellt, ist die Spaltung von Proteinen innerhalb von Membranen eine Besonderheit. Beide Formen von Mgm1 befinden sich nach dem Import im Intermembranraum der Mitochondrien, wobei l-Mgm1 in der Innenmembran verankert ist und s-Mgm1 nicht. Auf diese Weise entstehen aus einem Vorläuferprotein zwei Formen, weshalb wir diesen Mechanismus als alternative Topogenese von Mgm1 bezeichnen.

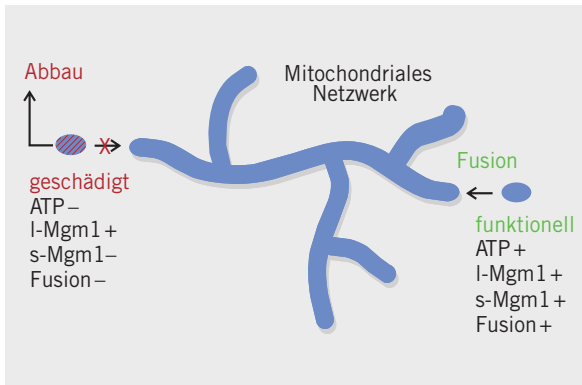
### Defekte Mitochondrien isolieren

Wir konnten weiterhin zeigen, dass beide Formen von Mgm1 für die Fusion von Mitochondrien benötigt werden. Ist nur eine der beiden Formen vorhanden, so fragmentieren die Mitochondrien, da sie sich weiter teilen, aber nicht mehr miteinander fusionieren können.

Alternative Topogenese von Mgm1. Bildung der beiden Formen von Mgm1 durch alternative Topogenese. Mgm1 wird durch den TIM23-Komplex (gelb) über die innere Membran (IM) importiert (1). Die Signalsequenz (dunkelblau) wird in der Matrix abgespalten. Das erste Transmembransegment von Mgm1 (orange) kann in die innere Membran integriert werden (2a), und es entsteht l-Mgm1. Mgm1 kann alternativ weiterimportiert werden, bis sein zweites Transmembransegment (grün) die innere Membran erreicht (2b). Dafür wird der Importmotor (gelbe Ellipsen) und ATP benötigt. Das zweite Transmembransegment wird dann in der Membran durch die Rhomboidprotease Pcp1 gespalten (3b), und es entsteht s-Mgm1 (4b).







Qualitätskontrolle von Mitochondrien. Das mitochondriale Netzwerk einer Zelle (blau) ist dynamisch und wird durch ständige Fusion und Teilung aufrechterhalten. Geschädigte Fragmente können weniger ATP bilden und besitzen auch weniger s-Mgm1. Solche Fragmente können nicht mehr mit dem mitochondrialen Netzwerk fusionieren und werden vermutlich selektiv abgebaut. Fragmente, welche voll funktionell sind, bilden genügend ATP und s-Mgm1. Sie können wieder mit dem mitochondrialen Netzwerk fusionieren und werden nicht abgebaut. Auf diese Weise könnte die Qualität von Mitochondrien innerhalb einer Zelle gesichert werden.

Für die Bildung von s-Mgm1 wird der Importmotor in der mitochondrialen Matrix benötigt, ein Proteinkomplex, der dafür sorgt, dass Mgm1 weiter durch die TIM23-Translokase nach innen gezogen wird. Der Importmotor verbraucht chemische Energie in Form von ATP. In einem Hefestamm, der nur geringe Mengen an ATP herstellen kann, wird infolgedessen auch weniger s-Mgm1 gebildet. Die Mitochondrien fusionieren aufgrund dieses Mangels nicht mehr und fragmentieren. Durch die Entschlüsselung dieses Mechanismus konnten wir erstmalig auf molekularer Ebene die Morphologie von Mitochondrien mit deren Funktionsfähigkeit verknüpfen.

Was könnte die physiologische Bedeutung einer solchen Verknüpfung sein? Mitochondrien nehmen mit der Zeit Schaden, der vor allem durch reaktive Sauerstoffspezies (ROS) entsteht. Diese werden bei den Prozessen der Zellatmung als toxisches Nebenprodukt gebildet. Sie können unter anderem die Proteinkomplexe, die für die Gewinnung von ATP verantwortlich sind, beschädigen, wodurch wiederum vermehrt ROS produziert werden. Durch diesen Kreislauf akkumulieren mit der Zeit Schäden an den Mitochondrien, die sich unter anderem durch eine verminderte Produktion von ATP zeigen. Und hier schließt sich der Kreis zu den bereits vorgestellten molekularen Mechanismen: Weniger ATP bedeutet weniger s-Mgm1 und nachlassende Fusion. Die betroffenen Mitochondrien werden isoliert, was auch sinnvoll erscheint, da sie für die Zellen potenziell gefährlich sein können. Genau dies wird durch die alternative Topogenese von Mgm1 vermittelt. Interessanterweise scheint auch in höheren Organismen eine solche räumliche Abtrennung geschädigter Mitochondrien zu erfolgen, und wir konnten zeigen, dass dies durch OPA1, das homologe Protein zu Mgm1 im Menschen, erfolgt. Mutationen in dem OPA1-Gen beim Menschen führen zu einer schweren Neuropathie des optischen Nerven und damit meist zu Sehstörungen bis hin zum Erblinden der betroffenen Patienten.

### Wohin mit ausgedienten Mitochondrien?

Wir gehen davon aus, dass die ausgesonderten Mitochondrien nach ihrer räumlichen Abtrennung selektiv entfernt werden. Dies geschieht vermutlich durch Mitophagie, einen zellulären Prozess, bei dem Mitochondrien in spezialisierte Organellen, die Lysosomen, transportiert werden und dort abgebaut werden. So könnten womöglich auch geschädigte Mitochondrien aus Zellen entfernt und damit die weitere Schädigung durch ROS verringert werden. Zusätzlich entstehen

durch diese Art des »Recyclings« wieder neue Zellbausteine wie Aminosäuren und Lipide.

Wie genau entschieden wird, welche mitochondrialen Fragmente für den Abbau bestimmt sind und inwieweit dies in Zusammenhang mit der Dynamik von Mitochondrien stehen könnte, sind zukünftige Themen unserer Forschung. Auch ist bisher noch unklar, warum Mgm1 in zwei Formen vorliegt und welches die spezifischen Funktionen der jeweiligen Form bei der Fusion von Mitochondrien sind. Unser Ziel ist es, künftig zu verstehen, wie die Qualitätskontrolle von Mitochondrien erfolgt. Sie trägt dazu bei, dass unsere Zellen und damit unser Körper einen komplexen Energiehaushalt aufrechterhalten können. ♦

### Die Autoren

**Dr. Anja Schäfer**, 31, studierte Biologie an der Technischen Universität Darmstadt. Ihre Diplomarbeit machte sie am Max-Planck-Institut für Biochemie in Martinsried in der Abteilung für Zellbiologie von Prof. Erich Nigg zum humanen Tumorsuppressor LATS1. Ihre Dissertation schrieb sie an der Ludwig-Maximilians-Universität München bei Prof. Walter Neupert. Im Exzellenzcluster »Makromolekulare Komplexe« der Goethe-Universität arbeitet sie in der Gruppe von Prof. Andreas Reichert an der mitochondrialen Rhomboidprotease Pcp1 und der Rolle der beiden Isoformen von Mgm1.

**Prof. Dr. Andreas Reichert**, 40, wurde im Oktober 2007 im Rahmen des Exzellenzclusters »Macromolekulare Komplexe« auf die Professur für Mitochondriale Biologie, Fachbereich Medizin der Goethe-Universität, berufen. Er studierte Biochemie an der Universität Bayreuth und der University of Delaware, USA. 1999 promovierte er am Zoologischen Institut der Ludwig-Maximilians-Universität München über das Thema »Prozessierung und Reparatur von tRNAs in menschlichen Mitochondrien« bei Prof. Svante Pääbo. Anschließend war er als Post-Doktorand am Max-Planck-Institut für Evolutionäre Anthropologie in Leipzig, Arbeitsgruppe Prof. Mario Mörl, beschäftigt. Im Dezember 2000 setzte Andreas Reichert seine Forschungen als wissenschaftlicher Assistent bei Prof. Walter Neupert am Adolf-Butenandt-Institut für Physiologische Chemie der Ludwig-Maximilians-Universität München fort. In Frankfurt plant Andreas Reichert unter anderem zu klären, auf welche Weise die Morphologie von Mitochondrien reguliert wird und welche makromolekularen Komplexe dafür notwendig sind. Ein weiterer Aspekt ist die Frage, ob Mitochondrien einer Qualitätskontrolle unterliegen und wenn ja, wie dies auf molekularer Ebene erfolgt.

A\_Schaefer@zbc.kgu.de  
reichert@zbc.kgu.de  
www.zbc.kgu.de/mitochondrialebiologie