

# 酵母线粒体的磷脂转运

李昊根<sup>1)</sup>, 甘毅<sup>2)\*</sup>

(<sup>1)</sup> 浙江农林大学林业与生物技术学院, 杭州 311300; <sup>2)</sup> 浙江农林大学农业与食品科学学院, 杭州 311300)

**摘要** 线粒体是一种由两层膜包被的细胞器,其功能和结构的稳定性取决于线粒体膜上精确的磷脂组成及分布。线粒体膜上的大部分脂类物质由内质网合成,既而转运到线粒体。而部分脂类利用内质网上产生的前体,在线粒体内膜上合成。由此可见,线粒体膜脂的生物合成需要线粒体与内质网以及线粒体外膜(outer mitochondrial membrane, OMM)与内膜(inner mitochondrial membrane, IMM)之间进行大量的脂质转运。目前认为,这种运输过程既可在拴系因子(tether factors)形成的膜结合部位(membrane contact sites, MCSs)内发生,也可借助脂质转运蛋白(lipid transfer proteins, LTPs)完成。近年来,研究者以酵母为对象,建立了多种线粒体磷脂转运(phospholipid trafficking)的模型,这使人们初步理解了线粒体磷脂转运的机制。本综述总结了酵母线粒体磷脂转运的最新发现,并对这些磷脂转运的模型进行了讨论,以期为今后深入了解线粒体脂类代谢提供参考。

**关键词** 酵母; 磷脂转运; 线粒体; 膜接触点; 磷脂转运蛋白

**中图分类号** Q545

## Mitochondrial Phospholipid Trafficking in *Saccharomyces cerevisiae*

LI Hao-Gen<sup>1)</sup>, GAN Yi<sup>2)\*</sup>

(<sup>1)</sup> School of Forestry and Bio-technology, Zhejiang A&F University, Hangzhou 311300, China;  
<sup>2)</sup> School of Agriculture and Food Science, Zhejiang A&F University, Hangzhou 311300, China)

**Abstract** Mitochondria are double-membrane organelles, whose function and architecture rely on the precise distribution and composition of phospholipids. The majority of lipids of the mitochondrial membrane are synthesized in the endoplasmic reticulum (ER) and transported to the mitochondria, whereas a portion of lipids are synthesized in the inner membrane of mitochondria from ER-derived precursors. Thus, the biosynthesis of mitochondrial membrane phospholipids requires extensive lipid exchange between the ER and mitochondria as well as between the outer and the inner mitochondrial membranes. This process is thought to occur at membrane contact sites by membrane tether factors or with the aid of lipid transfer proteins. Over recent years, multiple models for lipid trafficking have been established on the basis of the findings from the yeast, thus generating a preliminary insight of the mechanisms controlling mitochondrial lipid trafficking. In this review, we summarize the latest discoveries of mitochondrial phospholipid trafficking and discuss the models of phospholipid trafficking in *Saccharomyces cerevisiae*, hoping to provide a basis for deep understanding of mitochondrial lipid metabolism in the future.

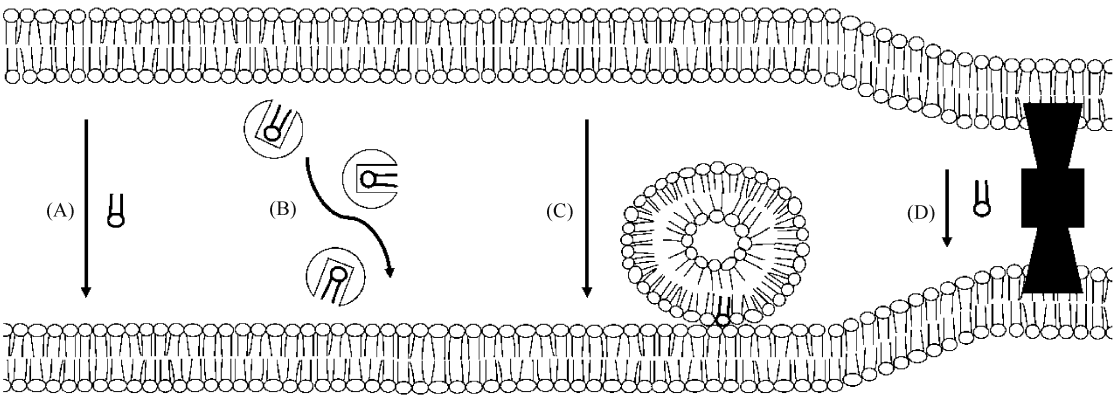
收稿日期: 2018-06-28; 修回日期: 2018-09-07; 接受日期: 2018-09-13  
浙江省自然科学基金(No.LQ15C020002); 浙江农林大学科研发展基金(No.2014FR007)  
\* 通讯作者 Tel: 15968185398; E-mail: zjuganyi@163.com  
Received: June 28, 2018; Revised: September 7, 2018; Accepted: September 13, 2018  
Supported by Zhejiang Provincial Natural Science Foundation of China (No.LQ15C020002) and the Scientific Research Fund of Zhejiang A&F University (No.2014FR007)  
\* Corresponding author Tel: 15968185398; E-mail: zjuganyi@163.com

**Key words** *Saccharomyces cerevisiae*; phospholipid trafficking; mitochondria; membrane contact sites; phospholipid transfer proteins

线粒体作为一种重要的亚细胞器,在细胞内参与了氧化磷酸化、代谢合成、信号转导以及细胞凋亡等多项生物过程,对真核细胞的存活至关重要<sup>[1]</sup>。从起源上看,内共生学说认为,线粒体源于被原始真核细胞吞噬了的原始  $\alpha$ -变形菌 ( $\alpha$ -proteobacterium),这种原始  $\alpha$ -变形菌不但未被宿主细胞消化分解,反而与其建立起稳定的共生关系,并最终进化成细胞器<sup>[2]</sup>。因此,与革兰氏阴性菌相似,线粒体也具有双层膜结构:线粒体的外膜(outer mitochondrial membrane, OMM)和高度折叠的内膜(inner mitochondrial membrane, IMM)将其分为膜间隙(inter membrane space, IMM)和基质(matrix)两个区室,各自行使着不同的功能<sup>[3]</sup>。线粒体膜是一个具有极高的可塑性的膜系统,它在细胞内形成一个动态的网状结构,同时不断地融合与分裂,以适应细胞的生理需求<sup>[4]</sup>。近年来,随着对线粒体膜脂结构和功能研究的不断深入,研究者发现线粒体磷脂的组分及功能是相对稳定的<sup>[5, 6]</sup>。这些磷脂,部分可以在线粒体上合成,但这些磷脂的合成前体,以及其它所需的磷脂还是需要从内质网上转运而来<sup>[7]</sup>。那么,线粒体是如何来调控和分配其内源合成以及外来运输的磷脂,用以维持这种独特而稳定的膜脂结构呢?近年来,围绕这一问题,研究者们以酵母为研究对象,对线粒体内的磷脂代谢过程进行了大量研究,并提出了很多作用机制模型。

总体而言,细胞内的脂质运输模型主要分为以

下 4 种:(1)磷脂单分子的扩散(diffusion)模型;(2)脂质转运蛋白(lipid transfer proteins, LTPs)转运模型;(3)运输小泡(transport vesicle)膜融合模型;(4)膜间紧密接触(10~30 nm)形成膜连接部位(membrane contact sites, MCSs)转运模型<sup>[8]</sup>(见 Fig.1)。1997 年,通过对人工膜的研究,Bai 等发现:作为一种两性分子,磷脂想要横跨液相在两层生物膜之间扩散是几乎不可能的<sup>[9]</sup>。但是,失去一条酰基碳链的溶血磷脂,却能在两层膜间快速地扩散<sup>[10]</sup>。Taz1p 是一个与心磷脂(cardiolipin, CL)成熟相关的酶,它可以 将磷脂酰胆碱(phosphatidylcholine, PC)的脂酰基碳链转移到单溶血心磷脂(monolysocardiolipin, MLCL)上,形成成熟的心磷脂和溶血磷脂酰胆碱(lysophosphatidylcholine, LPC)。因此,线粒体有可能利用这种转运方式,来转运磷脂酰胆碱<sup>[11]</sup>。但关于这方面的研究仍很少。另一方面,线粒体可通过其囊泡(mitochondrial-derived vesicles, MDVs),来运送物质到溶酶体或过氧化物酶体上,这种囊泡可能参与了脂质的运输。但这还缺乏足够的实验证据支持<sup>[12]</sup>。而通过脂质转运蛋白、膜连接部位进行膜脂转运,是目前两种研究较多的线粒体磷脂转运方式。本文从线粒体外膜与其他细胞器之间的脂类转运,以及线粒体内外膜之间的磷脂转运两个方面,总结近年来在酵母中开展的相关研究,希望为今后线粒体脂类代谢的研究提供参考。

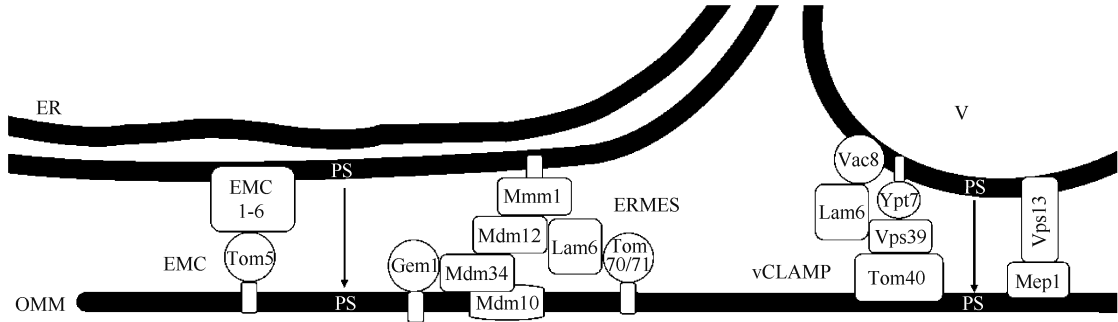


**Fig.1 Different routes of lipid trafficking between membranes** Arrow lines indicate the orientation of lipid trafficking. (A) The lipid molecule is spontaneously diffused between two membranes. (B) The lipid molecule from one membrane can be extracted by lipid transfer proteins and inserted into another membrane. (C) The lipids can be included into a small vesicle and transported from one membrane to another membrane through vesicle fusion and fission. (D) The lipid molecule transfer between two membranes can be facilitated with the aid of tethering proteins

1 线粒体外膜与其他细胞器膜间的脂类运输

酵母细胞中每一个细胞器的膜脂组分都不尽相同,而酵母细胞膜脂合成场所主要在内质网和线粒体,所以这种差异的形成必须依赖于磷脂在细胞器间的转运<sup>[13]</sup>。目前的研究认为,线粒体与其他细胞

器之间的脂类运输主要通过膜连接部位完成,包括ERMES(ER-mitochondria encounter structure)复合物和内质网膜蛋白复合物(endoplasmic reticulum membrane protein complex, EMC)参与的线粒体与内质网之间的磷脂运输,以及vCLAMP(vacuole and mitochondria patch)复合物参与的线粒体与液泡间的磷脂运输(见 Fig.2)。



**Fig.2 Network of phospholipid trafficking between the mitochondria and other organelles in the *Saccharomyces cerevisiae***  
Arrow lines indicate the orientation of lipid trafficking. Phosphatidylserine (PS) from the endoplasmic reticulum (ER) is directly transported to mitochondria via the ER-mitochondria encounter structure (ERMES) complex or endoplasmic reticulum membrane protein complex (EMC) complex. Alternatively, PS can make a detour to vacuoles (V) and is then be transported to mitochondria via the vacuole and mitochondria patch (vCLAMP) complex. In the ERMES complex, Mmm1, Mdm12 and Mdm34 form a hydrophobic cavity and interact with Mdm10, tethering ER and the outer mitochondrial membrane (OMM) together with a regulatory subunit, Gem1. The EMC complex, comprising of six subunits (EMC1-6), tethers the ER and the OMM by associating with the Tom5 protein. The vCLAMP complex factor Vps39 requires Ypt7 in vacuole and Tom40 in mitochondria to form a Ypt7-Vps39-Tom40 subcomplex, which facilitates the interaction of Vps13 with Mep1. Lam6 regulating the formation of the ERMES complex and the vCLAMP complex likely through interaction with Tom70/71 in mitochondria and Vac8 in vacuoles, respectively

1.1 ERMES 复合物

线粒体和内质网是酵母细胞内磷脂合成的主要场所,二者之间必然存在着紧密的联系。ERMES 复合物可以将内质网膜与线粒体外膜拴系(tether)在一起,形成膜连接部位,以完成两个细胞器之间的磷脂交换<sup>[14]</sup>。ERMES 复合物由 4 个核心亚基 Mdm10p (mitochondrial distribution and morphology protein 10)、Mdm34p/Mmm2p、Mdm12p、Mmm1p (maintenance of mitochondrial morphology protein 1) 和一个相对松散的 GTP 酶 Gem1p (Mitochondrial Rho GTPase 1) 五部分组成。荧光定位显示,ERMES 复合物并不是均匀地分布在线粒体和内质网膜之间的,而是形成不连续分布的点状结构,以确保脂质的跨膜运输<sup>[14]</sup>。4 个核心亚基中的任何一个缺失,都会导致 ERMES 复合物结构不稳定,进而使线粒体形态出现异常,证明这 4 个亚基对线粒体形态维持至关重要<sup>[14]</sup>。缺失 Gem1p 不会导致 ERMES 复合物结构不稳定,但会使其数目减少,并且单个复合物的尺寸增大。这表明,Gem1p 可能负责调节 ERMES 复合物的大小和数量<sup>[15]</sup>。

编码 ERMES 复合物亚基的基因均与编码催化生成磷脂酰乙醇胺(phosphatidylethanolamine, PE)的磷脂酰丝氨酸脱羧酶(PS decarboxylase, PSD)的基因存在互作,且缺失任何一个核心亚基不仅使线粒体结构异常,还会使磷脂从内质网转运到线粒体的速率降低 20% 到 50%<sup>[14]</sup>。当在 ERMES 突变体中表达一个人造的无功能的拴系蛋白“ChiMERA (construct helping in mitochondria-ER association)”时,磷脂转运的速率会获得一定的恢复。这表明,ERMES 复合物可能本身并不参与磷脂的跨膜运输,而只是为磷脂的跨膜运输提供一个紧密的环境<sup>[14]</sup>。但通过生物信息学研究发现:Mdm34p/Mmm2p、Mdm12p 和 Mmm1p 结构中含有一种新型结构域——SMP (synaptotagmin-like, mitochondrial and lipid-binding proteins) 结构域,它属于 TULIP (tubular lipid-binding proteins) 超级家族,可以结合并转运脂质<sup>[16]</sup>。相关研究也证明,Mmm1p 和 Mdm12p 都可以结合磷脂,并且还会互作以形成复合体<sup>[17]</sup>。因此,ERMES 复合物不但可以拴系线粒体外膜与内质网膜以促进脂质运输,还有可能通过 Mmm1p、



Mdm12p 和 Mdm34p 三个亚基形成脂质运输的“隧道”,并与 Mdm10p 互作以完成脂质的跨膜运输<sup>[18,19]</sup>。

### 1.2 vCLAMP 复合物

线粒体自身能合成所需的磷脂酰乙醇胺,它由定位于线粒体内膜上的磷脂酰丝氨酸脱羧酶催化磷脂酰丝氨酸(phosphatidylserine, PS)脱羧产生,而磷脂酰丝氨酸的合成场所又位于内质网,所以线粒体要保持自身磷脂酰乙醇胺的动态平衡,就需要从内质网上运输磷脂酰丝氨酸<sup>[20]</sup>。Nguyen 等<sup>[21]</sup>通过标记实验发现,缺失 ERMES 复合物对线粒体内磷脂酰丝氨酸生成磷脂酰乙醇胺的速率几乎未见影响。这就表明,除了 ERMES 复合物以外,可能还存在其他的拴系复合物来协助磷脂酰丝氨酸的跨膜转运。最近,由 2 个实验室分别用不同方法发现了一种新的拴系复合物,并将其命名为 vCLAMP 复合物<sup>[22,23]</sup>。当 ERMES 缺失时,内质网上合成的磷脂酰丝氨酸首先通过囊泡运输转运到液泡膜上。然后,再利用 vCLAMP 复合物将磷脂酰丝氨酸“绕路”转运到线粒体上<sup>[24,25]</sup>。vCLAMP 复合物主要由两部分组成:一部分由膜泡蛋白分选关联蛋白(vacuolar protein sorting, Vps) Vps39p 通过与液泡上的 Rab GTP 结合蛋白 Ypt7p,以及线粒体外膜转位酶复合物(translocase of the outer membrane, TOM)的核心亚基 Tom40p 互作,将线粒体与液泡拴系在一起<sup>[25]</sup>;拴紧所形成的膜结合部位会促进液泡膜上的 Vps13p 和线粒体上的 Mdm10 互补蛋白(Mdm10 complementing protein, Mcp) Mcp1p 互作,以进行磷脂转运<sup>[26,27]</sup>。

vCLAMP 复合物的数量取决于酵母细胞的代谢状态。当酵母进行呼吸生长时,Vps39p 磷酸化,vCLAMP 复合物的数量显著减少,同时 ERMES 复合物的数量则会增加<sup>[22]</sup>。这表明,ERMES 复合物与 vCLAMP 复合物之间存在着一种此消彼长的关系,这种关系有可能是受 Lam6p\Ltc1p 的调控<sup>[28,29]</sup>。Lam6p\Ltc1p 分别与位于线粒体外膜上 TOM 复合物中的 Tom70p/71p 亚基,以及位于液泡的液泡蛋白(vacuolar protein) Vac8p 互作,控制 ERMES 复合物和 vCLAMP 复合物的相对数量<sup>[28,30]</sup>。同时,突变 ERMES 复合物和 vCLAMP 复合物会导致磷脂酰丝氨酸聚集在内质网膜,并最终导致酵母细胞死亡<sup>[22,23]</sup>。通过对 Vps39 突变体的研究发现,vCLAMP 复合物对缺氮处理时的细胞生理至关重要,这可能是因为胁迫下细胞需要将大量代谢物质

运送到液泡以进行代谢所导致的<sup>[25]</sup>。

### 1.3 内质网膜蛋白复合物

虽然缺失 ERMES 复合物对线粒体磷脂转运未见显著影响,但如果同时缺失 ERMES 复合物以及内质网成型蛋白(ER-shaping protein),则会使磷脂酰丝氨酸从内质网转运到线粒体的速度大大下降,这表明内质网结构形态的正常对于线粒体磷脂的转运非常重要<sup>[31]</sup>。最近,通过基因筛选及互作研究发现,由内质网上的 6 个内质网膜蛋白(EMC1-6)组成的 EMC 复合物可能参与了内质网膜和线粒体外膜间的磷脂运输<sup>[32]</sup>。而 EMC 复合物对内质网上的蛋白质折叠至关重要<sup>[33]</sup>。

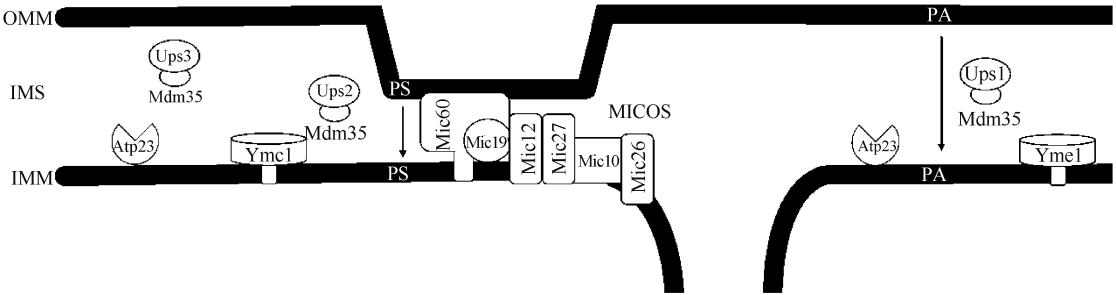
每个 EMC 蛋白质都与线粒体外膜上的 Tom5p 亚基互作,拴系线粒体和内质网;并且缺失多个 EMC 蛋白质会使细胞产生一系列的缺陷,如线粒体功能受阻、磷脂酰丝氨酸生成磷脂酰乙醇胺的速率降低,线粒体与内质网的膜连接部位减少等。这表明,6 个 EMC 蛋白质可能需要共同作用才能协助脂质的跨膜运输<sup>[32]</sup>。当在 EMC 复合物的突变体细胞中表达无功能的拴系蛋白“ChiMERA”时,磷脂酰丝氨酸生成磷脂酰乙醇胺的速率可以得到恢复<sup>[32]</sup>。同时,缺失 EMC 复合物和 ERMES 复合物,会使磷脂酰丝氨酸的转运严重受阻,并最终导致酵母细胞的死亡<sup>[32]</sup>。上述研究结果表明,EMC 复合物可能在线粒体磷脂转运中扮演着重要角色,且其与 ERMES 复合物相互独立。

## 2 线粒体外膜和内膜间的脂质运输

线粒体内膜和外膜存在功能上的差异,且不同磷脂对线粒体功能的影响也不同。因此,磷脂在这两层膜上的分布也是不对称的<sup>[34]</sup>。这种不对称性表明,两者间可能存在着某种脂质交换的机制。研究发现,除了通过线粒体接触部位与嵴组织系统(mitochondrial contact site and cristae organizing system, MICOS)形成膜连接部位在内膜和外膜之间进行磷脂转运外,线粒体还可以通过脂质转运蛋白 UPS 转运磷脂,以维持这种磷脂的不对称分布(见 Fig.3)。

### 2.1 线粒体接触部位与嵴组织系统

线粒体合成磷脂的主要场所在它的内膜,并且相关的合成前体还需要从细胞器外输入。因此,线粒体的外膜和内膜间存在着频繁的脂类交换<sup>[35]</sup>。早在 20 多年前,就有研究者通过体外研究证实,线粒体内膜与外膜可形成膜连接部位并涉及到脂类的运输<sup>[36]</sup>。直



**Fig.3 Phospholipid trafficking between the mitochondrial outer and inner membranes in the *Saccharomyces cerevisiae***  
Arrow lines indicate the orientation of lipid trafficking. The Ups1-mdm35 complex mediates the transport of phosphatidic acid (PA) from the outer mitochondrial membrane (OMM) to the inner mitochondrial membrane (IMM) across the mitochondrial intermembrane space (IMS). The mitochondrial contact site and cristae organizing system (MICOS) complex facilitates phosphatidylserine (PS) transport from the OMM to IMM by forming the membrane contact site. The Ups2-Mdm35 complex enhances PS transport in response to the cellular metabolic state. The main function of Ups3p in phospholipid trafficking is currently unknown. The MICOS complex consisting of the two core components, Mic10 and Mic60 and the four components: Mic19, Mic26, Mic27, and Mic12 tethers the OMM-IMM by interacting with many OMM proteins. Members of the UPS protein family (Ups1, Ups2, Ups3) binding to Mdm35 are resistant to proteolysis by IMM proteases (Yme1, Atp23)

到最近几年才鉴定出了一种拴系复合物——MICOS 复合物<sup>[37]</sup>。MICOS 复合物位于线粒体内膜,可以分为 2 个亚复合体,Mic10 亚复合体和 Mic60 亚复合体<sup>[38]</sup>。Mic10 亚复合体由 Mic10p、Mic12p、Mic26p 和 Mic27p 四个亚基组成,主要为嵴连接点 (cristae junctions, CJs) 的形成提供结构基础;Mic60 亚复合体则对于形成 MCSs 至关重要,包括 Mic60p 和 Mic19p 两个亚基<sup>[38]</sup>。MICOS 复合物可以与线粒体外膜上的许多蛋白质 (Por1p、Tom40p、Sam50p 等) 互作,拴系线粒体的外膜与内膜<sup>[37]</sup>。

编码 MICOS 复合物的基因与编码 ERMES 复合物的基因之间存在强烈的互作,并且其与编码参与心磷脂合成的磷脂酰甘油磷酸磷酸酶 (phosphatidylglycerophosphate phosphatase, PGPP) Gep4p 和心磷脂合成酶 (CL synthase, CLs) Crd1p 的基因也存在着互作。由此推断,MICOS 复合物与线粒体膜的脂类代谢,特别是心磷脂的合成可能有一定的联系<sup>[39, 40]</sup>。缺失 MICOS 复合物并不影响磷脂酰丝氨酸脱羧酶 Psd1p 的活性,但却会使线粒体磷脂酰乙醇胺的生成速率显著减缓<sup>[41]</sup>。同时缺失 MICOS 复合物以及酵母细胞内的另一个磷脂酰丝氨酸脱羧酶 Psd2p,会使酵母细胞启动替代途径 (alternative pathway),即利用外源乙醇胺合成磷脂酰乙醇胺,成为乙醇胺营养缺陷型<sup>[41]</sup>。当在突变体中表达一个人造的蛋白质拴系线粒体外膜和内膜时,酵母细胞可以在无乙醇胺的培养基上生长<sup>[41, 42]</sup>。上述结果表明,MICOS 复合物可以为酵母内磷脂酰丝氨酸脱羧酶催化磷脂酰丝氨酸生成磷脂

酰乙醇胺提供一个紧密的环境,以确保细胞内磷脂酰乙醇胺的动态平衡<sup>[41]</sup>。

一般认为,生物膜间形成膜连接部位,有利于磷脂合成前体的运输,转运到另一层膜上的合成前体在上面受到相应酶的催化。但是最近有学者认为,只要两层膜间的间距足够近,定位于一层膜上的酶可以通过膜连接部位去催化另一层膜上的合成前体,这种机制被称为反向活性 (in trans activity)<sup>[43]</sup>。磷脂酰丝氨酸脱羧酶 Psd1p 由  $\alpha$  和  $\beta$  两个亚基组成, $\beta$  亚基锚定在线粒体内膜上并与位于膜间隙的  $\alpha$  亚基相结合<sup>[44]</sup>。Aaltonen 等<sup>[41]</sup>利用脂质体研究发现,磷脂酰丝氨酸脱羧酶 Psd1p 可以催化其他脂质体上的磷脂酰丝氨酸脱羧生成磷脂酰乙醇胺。这表明,MICOS 复合物很有可能是为这种反向活性提供了紧密的环境,不过这仍需要进一步的实验来证明。

2.2 UPS 脂质转运蛋白

除了利用膜连接部位外,酵母线粒体膜内的脂质运输还能通过脂质转运蛋白质来完成。UPS 蛋白是位于线粒体膜间隙 (intermembrane space, IMS) 的脂质转运蛋白家族,由 Ups1p、Ups2p/Gep1p 和 Ups3p/Gep2p 三个成员组成。编码 UPS 蛋白的基因定位于细胞核。UPS 蛋白运输到线粒体膜间隙需要另一个线粒体膜间隙蛋白 Mdm35p 的协助<sup>[45]</sup>。同时,与 Mdm35p 结合也可以稳定 UPS 蛋白,使其免于被位于线粒体内膜的 i-AAA 蛋白酶 Yme1p 和 Atp23p 降解<sup>[45]</sup>。因此,UPS 蛋白需要与 Mdm35p 结合形成复合体才可以执行磷脂运输的功能<sup>[46]</sup>。

体外研究发现,Ups1-Mdm35 复合体可以与磷

脂酸 (phosphatidic acid, PA) 结合,促进磷脂酸的运输<sup>[47]</sup>。缺少 Ups1p 使心磷脂的合成受阻<sup>[48,49]</sup>。通过分析 Ups1-mdm35 复合体的晶体结构也发现, Ups1p 中有一个与磷脂酸特异结合的结构域<sup>[50]</sup>。上述发现表明, Ups1-Mdm35 复合体可能通过转运心磷脂的合成前体磷脂酸参与了线粒体心磷脂的合成。有趣的是,高浓度的心磷脂会促使 Ups1p 与心磷脂其中的两条链结合,而心磷脂的另外两条链则留在膜上,使 Ups1p 无法与 Mdm35p 结合,进而受到蛋白酶的水解,酵母线粒体可能利用这种机制来调节心磷脂的动态平衡<sup>[47,50]</sup>。

缺少 Ups2p 会使磷脂酰乙醇胺的含量减少<sup>[49,51]</sup>。根据 Ups1-Mdm35 复合体的功能推断, Ups2-Mdm35 复合体很有可能参与了磷脂酰丝氨酸的运输。通过体外研究也证实了这一猜想<sup>[41]</sup>。缺失 Ups2p 并不影响磷脂酰丝氨酸生成磷脂酰乙醇胺的总体水平<sup>[51]</sup>。但同时缺失 Ups2p 和 Mdm35p,会使酵母细胞无法在非发酵碳源下生长<sup>[52]</sup>。这意味着,线粒体内磷脂酰乙醇胺的生成可能主要依赖 MICOS 复合物,而当酵母细胞进行呼吸生长时, Ups2-Mdm35 复合体才变得非常重要<sup>[52]</sup>。

Ups3p 在磷脂转运中的具体功能目前尚不清楚,且缺少 Ups3p 对于线粒体磷脂组分没有多大的影响,但过表达 Ups3p 可以部分恢复 Ups2p 缺失所造成的缺陷。这表明, Ups3p 可能与 Ups2p 在功能上存在一定的冗余性<sup>[46,49]</sup>。

### 3 问题与展望

线粒体是酵母细胞内重要的脂类合成场所。线粒体的磷脂转运对其本身的功能乃至整个细胞的存活都十分重要。虽然近年研究发现了一些涉及线粒体磷脂转运的复合物,但是否还存在其它未知的转运复合物? 线粒体产生的囊泡是否涉及到脂类转运等问题仍需要研究发掘。酵母线粒体可以合成磷脂酰乙醇胺和心磷脂,而合成二者的前体,磷脂酰丝氨酸和磷脂酸需要从内质网运输到线粒体内膜上。近年来发现,线粒体磷脂转运模型都是基于这两条合成途径研究得来的,目前尚不清楚线粒体所合成的磷脂是如何转运到其它生物膜上的。此外,线粒体膜的磷脂组成与其它生物膜类似。因此,将线粒体不能自身合成的磷脂转运到线粒体膜上,并控制其相对含量的机制也亟待解决。最后,对于磷脂分子如何在磷脂双分子层的外叶 (outer leaflet) 和内叶 (inner leaflet) 间的转运研究现在还处于空白状态。

除了上述未知的问题外,对于已知磷脂转运模型的研究也面临着许多新的挑战。首先,ERMES 复合物、EMC 复合物和 vCLAMP 复合物共同组成了磷脂酰丝氨酸从内质网运输到线粒体外膜的转运网络。三者在线粒体运输中所占的比重与如何互相配合,以及是否还涉及其它磷脂的转运等问题都是未来的研究方向。其次, MICOS 复合物究竟是将磷脂酰丝氨酸从线粒体外膜转运到内膜上,还是将线粒体的内膜和外膜拴系形成膜结合位点,为位于线粒体内膜的磷脂酰丝氨酸脱羧酶催化外膜的磷脂酰丝氨酸提供便利? 这个问题目前还存在着一定的争议。此外,位于线粒体膜间隙的 UPS 脂质转运蛋白家族调控线粒体内外膜磷脂动态平衡的机制,以及 Ups3p 的具体功能等问题也尚不清楚。综上所述,我们所知的线粒体膜脂转运模型仅仅是整个磷脂转运网络的冰山一角。未来更深入的探究不仅对细胞内磷脂代谢的研究十分重要,而且对于理解线粒体的功能甚至整个细胞的稳态平衡 (cell homeostasis) 的维持机制都有重要的意义。

### 参考文献 (References)

- [1] Galluzzi L, Kepp O, Trojel-Hansen C, *et al.* Mitochondrial control of cellular life, stress, and death [J]. *Circ Res*, 2012, **111**(9): 1198-1207
- [2] Dolezal P, Likic V, Tachezy J, *et al.* Evolution of the molecular machines for protein import into mitochondria [J]. *Science*, 2006, **313**(5785): 314-318
- [3] Monteiro JP, Oliveira PJ, Jurado AS. Mitochondrial membrane lipid remodeling in pathophysiology: a new target for diet and therapeutic interventions [J]. *Prog Lipid Res*, 2013, **52**(4): 513-528
- [4] Chan DC. Fusion and fission: interlinked processes critical for mitochondrial health [J]. *Annu Rev Genet*, 2012, **46**: 265-287
- [5] Tuller G, Nemec T, Hrastnik C, *et al.* Lipid composition of subcellular membranes of an FY1679-derived haploid yeast wild-type strain grown on different carbon sources [J]. *Yeast*, 1999, **15**(14): 1555-1564
- [6] Martensson CU, Doan KN, Becker T. Effects of lipids on mitochondrial functions [J]. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Biol Lipids*, 2017, **1862**(1): 102-113
- [7] Henry SA, Kohlwein SD, Carman GM. Metabolism and regulation of glycerolipids in the yeast *Saccharomyces cerevisiae* [J]. *Genetics*, 2012, **190**(2): 317-349
- [8] Sprong H, van der Sluijs P, van Meer G. How proteins move lipids and lipids move proteins [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2001, **2**(7): 504-513
- [9] Bai J, Pagano RE. Measurement of spontaneous transfer and transbilayer movement of BODIPY-labeled lipids in lipid vesicles [J]. *Biochemistry*, 1997, **36**(29): 8840-8848
- [10] McLean LR, Phillips MC. Kinetics of phosphatidylcholine and lysophosphatidylcholine exchange between unilamellar vesicles [J]. *Biochemistry*, 1984, **23**(20): 4624-4630
- [11] Testet E, Laroche-Traineau J, Noubhani A, *et al.* Ypr140wp, 'the yeast tafazzin', displays a mitochondrial lysophosphatidylcholine (lyso-PC) acyltransferase activity related to triacylglycerol and mitochondrial lipid synthesis [J]. *Biochem J*, 2005, **387**(Pt 3): 617-626



- [12] Sugiura A, McLelland GL, Fon EA, *et al.* A new pathway for mitochondrial quality control: mitochondrial-derived vesicles[J]. *EMBO J*, 2014, **33**(19): 2142-2156
- [13] Zinser E, Sperka-Gottlieb CD, Fasch EV, *et al.* Phospholipid synthesis and lipid composition of subcellular membranes in the unicellular eukaryote *Saccharomyces cerevisiae*[J]. *J Bacteriol*, 1991, **173**(6): 2026-2034
- [14] Kornmann B, Currie E, Collins SR, *et al.* An ER-mitochondria tethering complex revealed by a synthetic biology screen[J]. *Science*, 2009, **325**(5939): 477-481
- [15] Kornmann B, Osman C, Walter P. The conserved GTPase Gem1 regulates endoplasmic reticulum- mitochondria connections[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2011, **108**(34): 14151-14156
- [16] Alva V, Lupas AN. The TULIP superfamily of eukaryotic lipid-binding proteins as a mediator of lipid sensing and transport[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2016, **1861**(8 Pt B): 913-923
- [17] Kawano S, Tamura Y, Kojima R, *et al.* Structure-function insights into direct lipid transfer between membranes by Mmm1-Mdm12 of ERMES[J]. *J Cell Biol* 2018, **217**(3): 959-974
- [18] Ellenrieder L, Opalinski L, Becker L, *et al.* Separating mitochondrial protein assembly and endoplasmic reticulum tethering by selective coupling of Mdm10[J]. *Nat Commun*, 2016, **7**: 13021
- [19] Endo T, Tamura Y, Kawano S. Phospholipid transfer by ERMES components[J]. *Aging (Albany)*, 2018, **10**(4): 528-529
- [20] Friedman JR, Kannan M, Toulmay A, *et al.* Lipid homeostasis is maintained by dual targeting of the mitochondrial PE biosynthesis enzyme to the ER[J]. *Dev Cell*, 2018, **44**(2): 261-270.e6
- [21] Nguyen TT, Lewandowska A, Choi JY, *et al.* Gem1 and ERMES do not directly affect phosphatidylserine transport from ER to mitochondria or mitochondrial inheritance[J]. *Traffic*, 2012, **13**(6): 880-890
- [22] Honscher C, Mari M, Auffarth K, *et al.* Cellular metabolism regulates contact sites between vacuoles and mitochondria[J]. *Dev Cell*, 2014, **30**(1): 86-94
- [23] Elbaz-Alon Y, Rosenfeld-Gur E, Shinder V, *et al.* A dynamic interface between vacuoles and mitochondria in yeast[J]. *Dev Cell*, 2014, **30**(1): 95-102
- [24] Klecker T, Westermann B. Mitochondria are clamped to vacuoles for lipid transport[J]. *Dev Cell*, 2014, **30**(1): 1-2
- [25] Gonzalez Montoro A, Auffarth K, Honscher C, *et al.* Vps39 interacts with Tom40 to establish one of two functionally distinct vacuole-mitochondria contact sites[J]. *Dev Cell*, 2018, **45**(5): 621-636.e7
- [26] John Peter AT, Herrmann B, Antunes D, *et al.* Vps13-Mcp1 interact at vacuole-mitochondria interfaces and bypass ER-mitochondria contact sites[J]. *J Cell Biol*, 2017, **216**(10): 3219-3229
- [27] Bean BDM, Dziurdzik SK, Kolehmainen KL, *et al.* Competitive organelle-specific adaptors recruit Vps13 to membrane contact sites[J]. *J Cell Biol*, 2018, **217**(10): 3593-3607
- [28] Elbaz-Alon Y, Eisenberg-Bord M, Shinder V, *et al.* Lam6 regulates the extent of contacts between organelles[J]. *Cell Rep*, 2015, **12**(1): 7-14
- [29] Gatta AT, Wong LH, Sere YY, *et al.* A new family of StART domain proteins at membrane contact sites has a role in ER-PM sterol transport[J]. *Elife*, 2015, 4. doi:10.7754/elife.07253
- [30] Murley A, Sarsam RD, Toulmay A, *et al.* Ltc1 is an ER-localized sterol transporter and a component of ER-mitochondria and ER-vacuole contacts[J]. *J Cell Biol*, 2015, **209**(4): 539-548
- [31] Voss C, Lahiri S, Young BP, *et al.* ER-shaping proteins facilitate lipid exchange between the ER and mitochondria in *S. cerevisiae*[J]. *J Cell Sci*, 2012, **125**(Pt 20): 4791-4799
- [32] Lahiri S, Chao JT, Tavassoli S, *et al.* A conserved endoplasmic reticulum membrane protein complex (EMC) facilitates phospholipid transfer from the ER to mitochondria[J]. *PLoS Biol*, 2014, **12**(10): e1001969
- [33] Jonikas MC, Collins SR, Denic V, *et al.* Comprehensive characterization of genes required for protein folding in the endoplasmic reticulum[J]. *Science*, 2009, **323**(5922): 1693-1697
- [34] Yamaji-Hasegawa A, Tsujimoto M. Asymmetric distribution of phospholipids in biomembranes[J]. *Biol Pharm Bull*, 2006, **29**(8): 1547-1553
- [35] Zinser E, Daum G. Isolation and biochemical characterization of organelles from the yeast, *Saccharomyces cerevisiae*[J]. *Yeast*, 1995, **11**(6): 493-536
- [36] Simbeni R, Paltauf F, Daum G. Intramitochondrial transfer of phospholipids in the yeast, *Saccharomyces cerevisiae*[J]. *J Biol Chem*, 1990, **265**(1): 281-285
- [37] Harner M, Korner C, Walther D, *et al.* The mitochondrial contact site complex, a determinant of mitochondrial architecture[J]. *EMBO J*, 2011, **30**(21): 4356-4370
- [38] van der Laan M, Horvath SE, Pfanner N. Mitochondrial contact site and cristae organizing system[J]. *Curr Opin Cell Biol*, 2016, **41**: 33-42
- [39] Hoppins S, Collins SR, Cassidy-Stone A, *et al.* A mitochondrial-focused genetic interaction map reveals a scaffold-like complex required for inner membrane organization in mitochondria[J]. *J Cell Biol*, 2011, **195**(2): 323-340
- [40] Rampelt H, Wollweber F, Gerke C, *et al.* Assembly of the mitochondrial cristae organizer Mic10 is regulated by Mic26-Mic27 antagonism and cardiolipin[J]. *J Mol Biol*, 2018, **430**(13): 1883-1890
- [41] Aaltonen MJ, Friedman JR, Osman C, *et al.* MICOS and phospholipid transfer by Ups2-Mdm35 organize membrane lipid synthesis in mitochondria[J]. *J Cell Biol*, 2016, **213**(5): 525-534
- [42] Carman GM, Han GS. Regulation of phospholipid synthesis in the yeast *saccharomyces cerevisiae*[J]. *Annu Rev Biochem*, 2011, **80**: 859-883
- [43] Tavassoli S, Chao JT, Young BP, *et al.* Plasma membrane--endoplasmic reticulum contact sites regulate phosphatidylcholine synthesis[J]. *EMBO Rep*, 2013, **14**(5): 434-440
- [44] Horvath SE, Bottinger L, Vogtle FN, *et al.* Processing and topology of the yeast mitochondrial phosphatidylserine decarboxylase 1 [J]. *J Biol Chem*, 2012, **287**(44): 36744-36755
- [45] Potting C, Wilmes C, Engmann T, *et al.* Regulation of mitochondrial phospholipids by Ups1/PRELI-like proteins depends on proteolysis and Mdm35[J]. *EMBO J*, 2010, **29**(17): 2888-2898
- [46] Tamura Y, Iijima M, Sesaki H. Mdm35p imports Ups proteins into the mitochondrial intermembrane space by functional complex formation[J]. *EMBO J*, 2010, **29**(17): 2875-2887
- [47] Connerth M, Tatsuta T, Haag M, *et al.* Intramitochondrial transport of phosphatidic acid in yeast by a lipid transfer protein[J]. *Science*, 2012, **338**(6108): 815-818
- [48] Tamura Y, Endo T, Iijima M, *et al.* Ups1p and Ups2p antagonistically regulate cardiolipin metabolism in mitochondria[J]. *J Cell Biol*, 2009, **185**(6): 1029-1045
- [49] Osman C, Haag M, Potting C, *et al.* The genetic interactome of prohibitins: coordinated control of cardiolipin and phosphatidylethanolamine by conserved regulators in mitochondria[J]. *J Cell Biol*, 2009, **184**(4): 583-596
- [50] Yu F, He F, Yao H, *et al.* Structural basis of intramitochondrial phosphatidic acid transport mediated by Ups1-Mdm35 complex[J]. *EMBO Rep*, 2015, **16**(7): 813-823
- [51] Tamura Y, Onguka O, Hobbs AE, *et al.* Role for two conserved intermembrane space proteins, Ups1p and Ups2p, [corrected] in intra-mitochondrial phospholipid trafficking[J]. *J Biol Chem*, 2012, **287**(19): 15205-15218
- [52] Miyata N, Watanabe Y, Tamura Y, *et al.* Phosphatidylserine transport by Ups2-Mdm35 in respiration- active mitochondria[J]. *J Cell Biol*, 2016, **214**(1): 77-88