

Abstract

English

Mitochondria are central hubs in cell death regulation, coordinating metabolic remodeling with apoptotic signaling. During intrinsic apoptosis, mitochondrial outer membrane (MOM) permeabilization (MOMP) mediated by BAX and BAK enables the release of apoptotic factors into the cytosol. While DRP1 has been shown to colocalize at those apoptotic foci, the involvement of additional proteins remains unclear. Following MOMP, caspase activation dismantles the cell. However, concomitantly mitochondrial DNA (mtDNA) can also escape, triggering inflammatory signaling which is usually suppressed by these caspases. How the mitochondrial inner membrane (MIM) becomes permeabilized (MIMP) to allow mtDNA release during apoptosis, however is not known. Notably, in pyroptotic cell death, pore-forming gasdermins (GSDMs) have recently been reported to be implicated in mitochondrial damage and mtDNA release. Combining complexome profiling, biochemical assays, and high-resolution imaging, we mapped dynamic changes in mitochondrial organization, identified GSDME targeting mitochondria during apoptosis, and defined the role of GSDME in this process. We show that caspase-3-cleaved N-terminal fragments of GSDME accumulate at apoptotic mitochondria and permeabilize both the outer and, remarkably, inner membrane. We find that, in contrast to WT cells, GSDME loss attenuates *cristae* swelling, MIM extrusion, and mtDNA release into the cytosol during apoptosis, thereby reducing cGAS/STING pathway activation and downstream inflammatory responses under caspase inhibition. Together, our findings reveal GSDME as a key effector of MIMP and mtDNA release during apoptosis, linking mitochondrial membrane remodeling to inflammatory signaling during apoptosis.

Deutsch

Mitochondrien sind zentrale Knotenpunkte in der Regulierung des Zelltods und koordinieren den Stoffwechselumorganisation mit der Apoptose-Signalübertragung. Während der intrinsischen Apoptose ermöglicht die durch BAX und BAK initiierte Permeabilisierung der äußeren Mitochondrienmembran (engl. MOMP) die Freisetzung von Apoptosefaktoren in das Zytosol. Während DRP1 nachweislich an diesen Apoptose-Brennpunkte kolokalisiert, bleibt die Beteiligung weiterer Proteine unklar. Nach MOMP wird die Zelle durch die Aktivierung von Caspasen abgebaut. Gleichzeitig kann jedoch auch mitochondriale DNA (mtDNA) entweichen und Entzündungssignale auslösen, die normalerweise durch diese Caspasen unterdrückt werden. Wie die innere Mitochondrienmembran (engl. MIM) permeabilisiert wird (engl. MIMP), um die Freisetzung von mtDNA während der Apoptose zu ermöglichen, ist jedoch nicht bekannt. Bemerkenswert ist, dass kürzlich publiziert wurde, dass porenbildende Gasdermine (engl. GSDMs) beim pyroptotischen Zelltod an der Schädigung der Mitochondrien und der Freisetzung von mtDNA beteiligt sind. Durch die Kombination von „complexome profiling“, biochemischen Assays und hochauflösender Bildgebung haben wir dynamische Veränderungen in der mitochondrialen Organisation abgebildet, identifiziert, dass GSDME während der Apoptose Mitochondrien anvisiert, und die Rolle von GSDME in diesem Prozess definiert. Wir zeigen, dass durch Caspase-3 gespaltene N-terminale Fragmente von GSDME sich an apoptotischen Mitochondrien anreichern und sowohl die äußere als auch, bemerkenswerterweise, die innere Membran permeabilisieren. Wir stellen fest, dass im Gegensatz zu WT-Zellen der Verlust von GSDME die Schwellung der Cristae, die MIM-Extrusion und die Freisetzung von mtDNA in das Zytosol während der Apoptose abschwächt und dadurch die Aktivierung des cGAS/STING-Signalwegs und die sich daraus resultierenden Entzündungsreaktionen unter Caspase-Hemmung reduziert. Zusammengefasst zeigen unsere Ergebnisse, dass GSDME der Hauptauslöser der MIMP und der mtDNA-Freisetzung während der Apoptose ist und die Umorganisation der Mitochondrienmembran mit der Entzündungssignalübertragung während der Apoptose verbindet.