

# Regulation of Mitochondrial Outer Membrane Fusion by the Mitofusin Fzo1

## Zusammenfassung

Mitochondrien sind essentielle Organellen in allen eukaryotischen Zellen. Sie bilden ein tubuläres und dynamisches Netzwerk, das ständig durch Fusions- und Teilungsprozesse verändert wird. Teilung und Fusion mitochondrialer Membranen wird von einer Klasse von GTPases, den dynamin-ähnlichen Proteinen vermittelt. Die Fusion der äußeren mitochondrialen Membran wird von den dynamin-ähnlichen Mitofusinen (Fzo1 in Hefe) vermittelt. In der Hefe sind neben Fzo1 noch zwei weitere Proteine, Ugo1 und Mdm30, an der Fusion beteiligt. Ugo1 ist ein integrales Protein in der äußeren Membran, während Mdm30 ein zytosolisches F-Box Protein ist, das E3 Ubiquitinligase Aktivität besitzt, den Abbau von Fzo1 vermittelt und damit die mitochondriale Fusion reguliert.

Um den grundlegenden Mechanismus der Membranfusion durch Fzo1 zu verstehen, wurde die Funktion der Ubiquitylierung, der Oligomerisierung und der GTPase Aktivität von Fzo1 sowie die Rolle der Interaktionspartner Ugo1 und Mdm30 bestimmt. Diese Untersuchungen führen zum ersten umfassenden Model der Fusion der äußeren mitochondrialen Membran. Zunächst bildet Fzo1 abhängig von GTP Bindung und dem Interaktionspartner Ugo1 ein Homo-Dimer in der äußeren Membran. Die Dimerisierung schützt Fzo1 gegen den proteolytischen Abbau. Im nächsten Schritt binden die Fzo1 Dimere in gegenüberliegenden mitochondrialen Membranen aneinander und ermöglichen auf diese Weise eine Anlagerung beider Membranen. Die Hydrolyse von GTP durch Fzo1 führt zu einer Änderung der Konformation des Proteins, die die Mdm30 abhängige Ubiquitylierung von Fzo1 ermöglicht. Der Fusionsprozess wird anschließend durch den Abbau von Fzo1 vollendet, was auf einen nicht-zyklischen Mechanismus in der Fusion der äußeren Membran schließen lässt.

Es konnte gezeigt werden, dass in diesem Prozess die Ubiquitylierung von dem konservierten Lysin 464 essentiell für die Funktion von Fzo1 ist. Mit den deubiquitylierenden Enzymen Ubp2 und Ubp12 wurden zwei neue Faktoren identifiziert, die die Ubiquitylierung von Fzo1 regulieren. Ubp2 schützt Fzo1 vor

proteasomalem Abbau und unterstützt dadurch die mitochondriale Fusion. Ubp12 hingegen limitiert die Fusionsrate, in dem es die Mdm30 abhängigen ubiquitylierten Formen von Fzo1 entfernt, welche die Fusion unterstützen. Zudem wird Fzo1 von verschiedenen E3 Ligasen ubiquityliert, die entweder proteasomalen Abbau oder mitochondriale Fusion fördern.

Zusammenfassend zeigen die Untersuchungen, dass die Fusion der äußeren mitochondrialen Membran in einzelne Schritte unterteilt werden kann und durch Ubiquitylierung von Fzo1 in vielfältiger Weise reguliert wird.