

Abstract

Mitochondria harbor cellular pathways that are of the utmost importance for cellular performance. In an extremely dynamic way, they continuously communicate with other organelles and with the cytosolic compartment in order to integrate signals and meet cellular metabolic needs. This cooperation is vital, and its failure can have detrimental consequences for the cell. A key player of this dynamism is Mitofusin 2 (MFN2). Besides being essential for mediation of mitochondrial membrane fusion, MFN2 participates in other mitochondrial processes such as interorganellar communication and mitophagy and, in a still unclear way, it impacts many others, as for example oxidative phosphorylation and cell death. Additionally, mutations in this gene cause the neuropathy Charcot-Marie-Tooth type 2A (CMT2A) and low levels of MFN2 are largely associated with disease. Here, we report a novel role of MFN2 in regulation of protein quality control. Besides significantly harming mitochondrial functionality, by fragmenting mitochondria and impairing its oxidative phosphorylation, depletion of MFN2 led to impaired proteostasis. The levels of several outer membrane mitochondrial proteins were affected by loss of MFN2, as well as their stability, in basal and stress conditions. Cells depleted for MFN2 accumulated protein aggregates, a source of cytotoxicity, in agreement with the reduced cellular proliferation capacity of these cells. Although the protein aggregates could not be rescued by a series of cellular treatments, they seem to be mimicked in WT cells under proteasomal blockage. Supportive of this, we uncovered an interaction of MFN2 with several quality control factors such as the proteasome, the AAA-ATPase p97 and cytosolic chaperones, as well as their co-factors. Finally, the mitophagy-inducing kinase PINK1 was found accumulated in MFN2 depleted cells, accompanied by mitophagy upregulation. Interestingly, its accumulation in cells under lipotoxicity, associated with increased mitophagy, was relieved in the presence of MFN2. We therefore postulate that the identification of this novel role suggests that MFN2 levels can be targeted for therapeutical approaches. Although this role did not seem to be significant in the context of CMT2A, we discovered the upregulation of the apoptotic machinery in cells expressing CMT2A mutations, which sensitizes them for cell death.

Zusammenfassung

Mitochondrien beherbergen Signalwege, die für die zelluläre Leistung von größter Bedeutung sind. Auf äußerst dynamische Weise kommunizieren sie ständig mit anderen Organellen und mit dem Zytosol, um Signale zu integrieren und den zellulären Stoffwechselbedarf zu decken. Diese Zusammenarbeit ist lebenswichtig, und ihr Versagen kann schädliche Folgen für die Zelle haben. Ein wichtiger Akteur in dieser Dynamik ist Mitofusin 2 (MFN2). MFN2 ist nicht nur wesentlich für die Fusion der mitochondrialen Membran, sondern auch an anderen mitochondrialen Prozessen wie der interorganellen Kommunikation und Mitophagie beteiligt und beeinflusst auf noch unklare Weise viele andere Prozesse, wie zum Beispiel die oxidative Phosphorylierung und den Zelltod. Darüber hinaus verursachen Mutationen in diesem Gen die Neuropathie Charcot-Marie-Tooth Typ 2A (CMT2A), und niedriger MFN2-Proteingehalt werden weitgehend mit der Krankheit in Verbindung gebracht. Hier berichten wir über eine neue Rolle von MFN2 bei der Regulierung der Proteinqualitätskontrolle. Neben einer signifikanten Beeinträchtigung der mitochondrialen Funktionalität durch Fragmentierung der Mitochondrien und Beeinträchtigung der oxidativen Phosphorylierung führte der Abbau von MFN2 zu einer gestörten Proteostase. Die Konzentrationen mehrerer mitochondrialer Außenmembranproteine wurden durch den Verlust von MFN2 beeinträchtigt, ebenso wie ihre Stabilität unter Basal- und Stressbedingungen. Zellen, denen MFN2 entzogen wurde, akkumulierten Proteinaggregate, eine Quelle von Zytotoxizität, was mit der verringerten zellulären Proliferationskapazität dieser Zellen übereinstimmt. Obwohl die Proteinaggregate durch eine Reihe von zellulären Behandlungen nicht gerettet werden konnten, scheinen sie in WT-Zellen unter proteasomaler Inhibition nachgeahmt zu werden. Als Beleg dafür konnten wir eine Interaktion von MFN2 mit mehreren Qualitätskontrollfaktoren wie dem Proteasom, der AAA-ATPas p97 und zytosolischen Chaperonen sowie deren Kofaktoren aufdecken. Letztlich wurde festgestellt, dass die Mitophagie-induzierende Kinase PINK1 in MFN2-depletierten Zellen akkumuliert, was mit einer Hochregulierung von Mitophagie einhergeht. Interessanterweise wird die Kumulation von PINK1 in Zellen, die unter Lipotoxizität leiden und mit erhöhter Mitophagie einhergehen, durch die Anwesenheit von MFN2 verringert. Wir vermuten daher, dass die Identifizierung dieser neuartigen Rolle darauf hindeutet, dass die MFN2-Konzentration für therapeutische Ansätze genutzt werden kann. Obwohl diese Rolle im Zusammenhang mit CMT2A nicht von Bedeutung zu sein schien, konnten wir eine Hochregulierung der apoptotischen Maschinerie in Zellen, die CMT2A-Mutationen exprimieren zeigen, was sie für den Zelltod sensibilisiert.