



发动蛋白及其蛋白超家族的功能*

杨紫雁¹⁾ 蒋昭泓¹⁾ 周倩仪¹⁾ 陈志明^{1,2)**}

(¹⁾ 南华大学基础医学院细胞生物学与遗传学教研室, 衡阳 421000; (²⁾ 国家卫健委出生缺陷研究与预防重点实验室, 长沙 410008)

摘要 发动蛋白 (dynamin) 作为一种复杂的多结构域蛋白质, 因其在促进内吞囊泡形成和断裂, 诱导囊泡从质膜脱离过程中发挥重要功能而广为人知。其经典功能是在网格蛋白介导型胞吞作用中发挥“膜剪刀”的作用, 但是由于其结构和功能的多样性, 不同同源异构体间具有组织表达和分布差异性, 促使其广泛参与细胞内重要的生理过程, 因此具有重要的研究价值。近期研究揭示了发动蛋白的一些非经典功能, 包括参与调控网格蛋白介导型胞吞作用 (clathrin-mediated endocytosis, CME) 的早期阶段、影响肌动蛋白细胞骨架和细胞分裂等。本文主要综述了发动蛋白在 CME 膜剪切过程中发挥经典功能的最新进展, 总结了其非经典功能的挖掘现状, 同时阐述了其他发动蛋白超家族蛋白 (dynamin superfamily protein, DSP) 成员的功能, 如抵抗病原体入侵、参与调控线粒体、过氧化物酶体、液泡膜的分裂, 以及线粒体、内质网、液泡、过氧化物酶体膜的融合, 此外, DSP 成员也在调节细胞器间的物质运输, 介导细菌胞质分裂和囊泡分泌等方面发挥功能。本综述通过对 DSP 成员功能的总结和梳理, 将为人类疾病相关的分子机制研究提供思路。

关键词 发动蛋白, 胞吞作用, 膜剪刀, 发动蛋白超家族蛋白

中图分类号 Q2, Q4, Q6

DOI: 10.16476/j.pibb.2024.0054

细胞由动态且有弹性的磷脂双层膜包裹, 其内部由膜分隔成的细胞器为不同的生命活动过程提供场所, 膜的裂变和融合是细胞的重要生命过程, 细胞通过改变膜结构和细胞器的形态、功能, 实现细胞之间的信号传递、物质运输和能量转换等生命活动^[1]。该过程由膜张力、膜曲率、膜成分以及细胞骨架的动力学等多种因素共同调节, 其中可结合 GTP 的发动蛋白 (dynamin) 通过蛋白质-蛋白质相互作用被招募到膜上, 并进行自我组装和收缩形成围绕囊泡颈部的螺旋状聚合物, 从而介导膜的分裂和融合^[2-3]。

发动蛋白最初被鉴定为一种胞质蛋白, 是与小牛的脑部提取物中微管共同纯化而来的 GTP 酶, 可利用水解 GTP 的能量作用于细胞的生命过程^[4]。由于其在酵母和哺乳动物细胞中都保守表达, 因此在各个生命活动中发挥重要功能^[5]。目前对于发动蛋白功能的研究多数聚焦在网格蛋白介导型胞吞作用 (clathrin-mediated endocytosis, CME) 进程的后期, 即通过促进囊泡形成和分裂, 诱导囊泡从质膜脱离的经典功能^[2-3, 6-7]。本文将介绍发动蛋白

的多种非经典功能以及其他发动蛋白超家族蛋白 (dynamin superfamily proteins, DSP) 的功能, 以期为全面解析发动蛋白功能提供理论支持。

1 发动蛋白的结构特征

发动蛋白是一种具有多结构域的大分子蛋白质 (~100 ku), 属于 DSP。该家族蛋白结构上由多个结构域组成, 其中 GTP 酶活结构域 (GTPase domain) 和螺旋束茎 (helical bundle “stalk”) 是每个家族成员都包含的 2 个保守结构域, 在胞吞作用、细胞器的膜裂变和融合、细菌胞质分裂、病原体先天免疫反应和调节细胞骨架中发挥着重要功能^[5]。根据结构和功能的相似性, DSP 通常以经典发动蛋白和发动蛋白相关蛋白 (dynamin-related protein, Drp) 分类^[8], 但是越来越多的证据表明,

* 国家自然科学基金 (32200564) 和湖南省自然科学基金 (2024JJ2045, 2022JJ40357) 资助项目。

** 通讯联系人。

Tel: 15021616366, E-mail: zhiming.chen@usc.edu.cn

收稿日期: 2024-02-17, 接受日期: 2024-04-22

在动物进化的过程中 Drp 是早于发动蛋白存在的^[9]。

发动蛋白的结构包括 GTP 酶活结构域 (GTPase domain)、中间结构域 (middle domain)、pleckstrin 同源性 (pleckstrin homology domain,

PHD) 结构域、GTP 酶活效应结构域 (GTPase effector domain, GED) 和富含脯氨酸的结构域 (proline-rich domain, PRD)^[6] (图 1)。五个不同结构域在具有特定作用的同时, 也互相辅助以适应复杂的功能需求 (图 2, 表 1)。

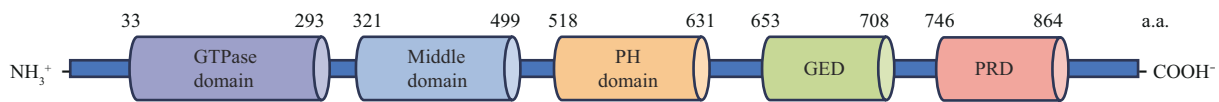


Fig. 1 The domain structure of dynamin 1

图1 Dynamin 1的结构特征

在哺乳类动物细胞中发动蛋白存在三个同源异构体, 即 dynamin 1、2、3, 它们具有组织表达和功能特异性^[10] (图 2)。Dynamin 1 在神经元中选择性高表达, 其功能失常与多种神经系统疾病密切相关, 例如肌萎缩侧索硬化、阿尔茨海默病和自闭症等^[11]。Dynamin 2 广泛表达于各种细胞, 主要介导物质的跨膜运输。研究显示, dynamin 2 可以促

进胞质分裂、细胞增殖和迁移, 在肿瘤细胞中过度表达^[12]。Dynamin 3 主要存在于大脑、睾丸, 而在其他组织中含量较低, 如肺^[6]。发动蛋白的细胞定位与其功能密切相关, 其中膜定位的蛋白质主要与膜重塑有关, 而非膜蛋白可在胞质内形成螺旋状聚合物以调节肌动蛋白 (actin) 细胞骨架、与细胞抗病毒功能有关等^[2]。

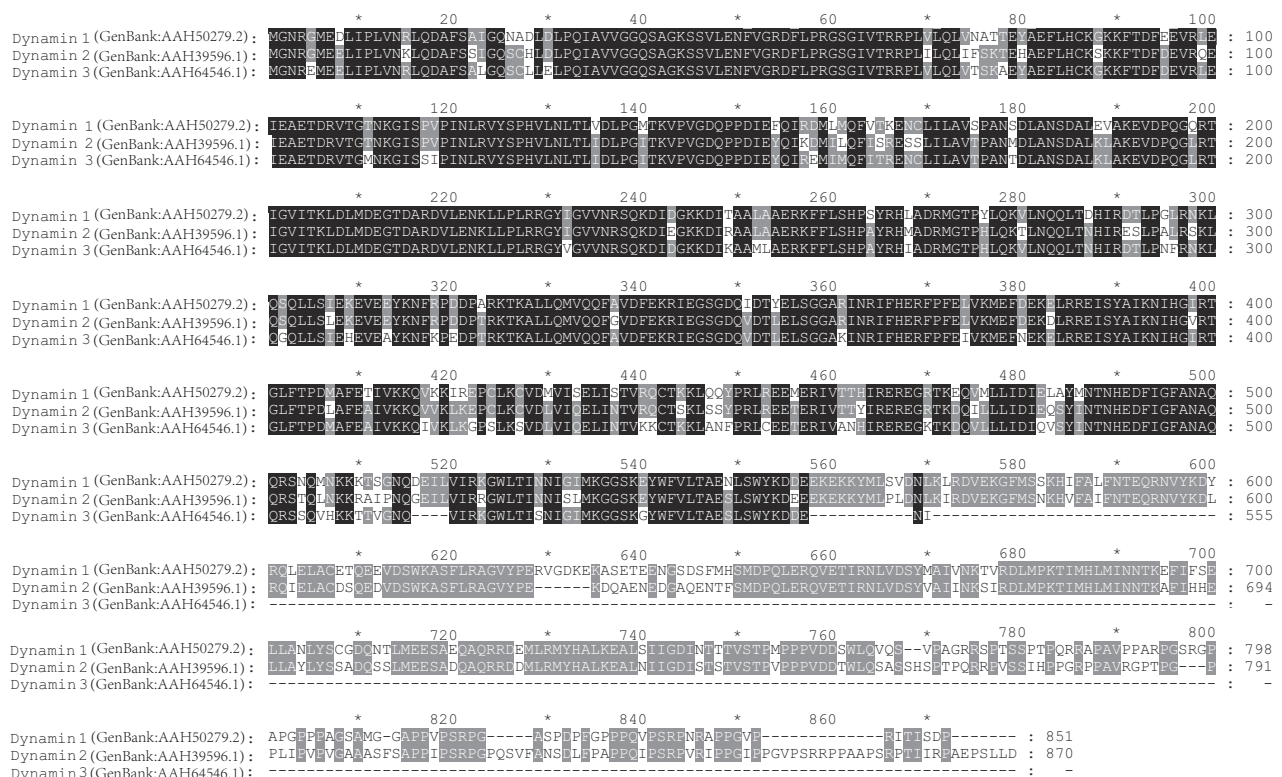


Fig. 2 The alignments of amino acid sequences of dynamin isoforms

图2 发动蛋白同源异构体间的氨基酸序列对比

Table 1 Functions and mutations of dynamin domains
表1 发动蛋白各结构域的功能特征与关键突变位点

结构域	功能	突变体	参考文献
GTPase	促进GTP水解 与GED结构域互作 促进自组装	K44A、T65A、T141D、K142A、K535、	[5, 13]
Middle	与GED结构域互作	G358R、E368K/Q、R369Q/W、F3789V、R465W	[14]
PH	靶向膜 与膜结合 膜曲率传感器 膜分裂 调节肌动蛋白	K535A、I553A、Y600L、K562E	[5, 13, 15-16]
GED	调节GTP酶活 参与寡聚化 促进自组装	E650K	[14, 17]
PRD	靶向膜 与SH3结构域结合 调节肌动蛋白组装	P746stop、D555del3、K554fs	[13-14, 18]

2 发动蛋白的经典功能

发动蛋白是一种大型的 GTP 酶，其经典功能是在 CME 进程中发挥“膜剪刀”的作用^[2-3]。CME 是网格蛋白在细胞质膜上内凹闭合，组装成网格蛋白包被小窝（clathrin-coated pit，CCP），进而脱离质膜形成包裹着货物的网格蛋白包被囊泡（clathrin-coated vesicle，CCV），内吞到细胞内的各个部位发挥功能的过程^[19]。囊泡断裂是 CME 分裂过程形成囊泡与膜分离的关键步骤^[19]，也是内吞囊泡形成的最后阶段。发动蛋白在膜内陷位点形成螺旋环并激活 GTP 酶活性，随后将 CCP 中的货物释放到细胞内部，在 CME 囊泡断裂中发挥重要作用^[2-3]。

研究表明，发动蛋白在细胞膜上切割未成熟囊泡的颈部，成为囊泡断裂的主要驱动力。发动蛋白介导膜形态学和动力学变化，如：发动蛋白在细胞质中会自发组装成螺线圈状态并招募到质膜上，但是当 GTP 激活后就会使发动蛋白在内凹膜颈处产生弯曲和收缩，并且这种单纯的形态学的变化会随着 GTP 的含量增加和时间延长，进而转变为膜断裂的动力学变化^[6]。此外，通过分析 CME 货物（Au nanorods）在不同阶段移动的动态变化，揭示了发动蛋白会在囊泡断裂的阶段引起未成熟囊泡在细胞膜上的扭曲，是通过多种分子协同作用^[20]。

一系列结构生物学实验也证实了以上猜想，如：Kong 等^[7]解析了发动蛋白的结构，有助于理解发动蛋白在膜上的结构组装过程，并观察了相邻发动蛋白螺旋丝与 GTP 的结合能力，提出了发动蛋白在膜断裂中产生物理扭矩力^[21]，发挥分子马达的功能^[3, 19]。

对于发动蛋白经典功能的研究主要通过引入荧光标签的活细胞成像^[22]、冷冻电镜^[23]和高速原子力显微镜（HS-AFM）^[24]等技术手段进行解析。尽管目前对于其导致膜裂变的精确机制仍存在争议，但过去几十年的研究基本形成了共识的观点：发动蛋白切断膜主要是通过结构变化和 GTP 水解解聚引起的各种机械力引起^[25]。最近研究通过单分子福斯特共振能量转移（single-molecule Förster resonance energy transfer，smFRET）对 Drp 进行量化表征后，模拟出发动蛋白的工作模型，解析了 GTP 存在时发动蛋白对内凹膜颈的紧密收缩和内凹半径的大小^[26]。除此以外，发动蛋白介导的膜裂变机制模型还未形成共识，两种讨论较为广泛的类型是：a. “收缩酶/棘轮模型”^[27]。该模型认为发动蛋白充当分子马达的功能，膜的收缩是由于 GTP 水解提供能量，直接作用于发动蛋白螺旋状聚合物中每个螺旋的滑动，导致螺旋的收缩和扭转，而裂变是通过膜的自发融合来实现。b. “两阶段模型”^[28]。该模型认为膜收缩过程是组装介导的，而裂变是螺旋状聚合物的分解介导的。发动蛋

白通过组装形成螺旋状聚合物,将与之相结合的脂质形成半分裂状态,然后利用GTP结构域水解提供的能量,诱导不稳定的半分裂状态收缩转变为从膜上解离的完全分裂状态。两种模型的主要争论点在于发动蛋白在GTP水解后的构象变化在断裂中的目的不同,但是最近的理论研究表明,这两种冲突的模型似乎可以用同一种理论解释其一致性:发动蛋白在内凹膜颈处形成螺旋状形态促进膜形变,同时发动蛋白的PH结构域在膜上插入,两者协助产生能量促进膜的切断^[20, 29]。但是由于缺乏PH结构域的发动蛋白只能收缩但不能切断CCV,所以PH结构域是否能通过疏水相互作用在膜上的插入,以调控囊泡的催化分裂还存在争议^[2]。

3 发动蛋白的非经典功能

发动蛋白的功能研究多数聚焦在CME后期促进囊泡形成和分裂,除此以外,发动蛋白家族成员还具有许多其他功能,包括调控CME早期阶段、线粒体融合和胞质分裂过程等,以下将分别展开介绍。

3.1 发动蛋白调控CME早期阶段

发动蛋白在CME早期阶段发挥功能^[30-31],并且越来越多的研究报道了发动蛋白不同家族成员对早期功能的影响程度也不尽相同^[30]。前期研究表明,dynamin 1和dynamin 2均在非神经元细胞中调节CME早期阶段^[31],其中dynamin 2的PRD结构域对于靶向未成熟CCP至关重要,而dynamin 1在内凹膜处募集并且诱导膜曲率产生,在维持CCP稳定方面发挥功能^[30]。最新研究报道,货物在从胞质募集到膜上的过程中,dynamin 1是介导其快速募集的关键蛋白质,并且这种与质膜的相互作用是由发挥衔接功能的syndapin 1因子介导^[32]。Dynamin 1的剪接体之一dynamin 1xA不仅是介导快速内吞作用的因子^[32],而且通过其C端20个延伸的氨基酸与内吞蛋白(endophilin)相互作用,从而实现快速内吞作用^[33-34]。除此以外,dynamin 1还被发现可在神经突触传递过程中的包被小窝形成阶段控制内吞囊泡的大小^[16],也是介导内吞作用和信号转导关联的重要因子^[31]。最新研究报道了发动蛋白在介导CME膜出芽^[35-36]中提供拉力和收缩力,使扁平膜向内凹陷形成 $\Lambda \rightarrow \Omega \rightarrow O$ 型囊泡,以控制囊泡出芽的速度、大小和数量^[37],其功能

由钙结合蛋白对其磷酸化/去磷酸化修饰激活^[35]。值得探究的是,先前研究揭示了突触素(synaptojanin)和endophilin均参与膜颈的形成^[38],而且肌动蛋白也在此提供拉力,但是它们如何协同促进膜出芽的分子机制还不清晰^[35]。

3.2 发动蛋白影响肌动蛋白细胞骨架

发动蛋白可调节肌动蛋白丝聚集成束^[18, 39],在维持细胞结构和功能方面发挥着至关重要的作用。肌动蛋白细胞骨架在很大程度上控制着细胞的机械特性,并通过改变自身结构影响真核细胞中多种细胞生物学过程^[18, 40]。发动蛋白可以与肌动蛋白相互作用形成聚合物^[41],但是二者结合方式多样:a. dynamin 2可直接与肌动蛋白结合,把肌动蛋白丝捆绑成束来改变细胞骨架的物理性质,从而影响细胞形态^[42];b. 发动蛋白可将细胞骨架蛋白(cortactin、Arp 2/3等^[39])募集后与之结合,来调节细胞骨架重塑过程。近期研究报道了后者的详细机制:GTP释放能量后使发动蛋白的组装螺旋解聚,同时促进Arp2/3介导的肌动蛋白聚合以调节肌动蛋白细胞骨架^[18]。此外,dynamin 2介导的肌动蛋白和膜之间的相互作用不仅对肌动蛋白束的形成至关重要,而且K562E突变会降低其对脂质膜的亲和力,导致肌动蛋白解体^[16]。有研究表明,dynamin 2还可调节肌动蛋白细胞骨架促进肿瘤细胞迁移^[39],也可通过与cortactin、Arp 2/3相互作用调节肺癌、膀胱癌等侵袭性伪足的形成^[39, 43],同时,dynamin 1-cortactin复合物可以稳定肌动蛋白束参与细胞迁移^[44-45],从而影响癌细胞的细胞形态。

4 其他发动蛋白超家族蛋白(DSP)成员的功能

DSP成员以其结构和特性的不同,在调节哺乳动物和酵母细胞生命活动中发挥广泛的功能,主要可分为三大类,即“介导膜裂变”、“介导膜融合”、“非膜依赖性功能”^[2, 46](图3)。以上发动蛋白“膜剪切”的经典功能和“调控CME早期、线粒体融合和胞质分裂过程等”的非经典功能,是当前发动蛋白较为深入和广泛的功能研究部分,但除此之外,其他家族成员也参与诸如细胞内囊泡运输、大型细胞器的裂变和融合(例如线粒体和叶绿体)、胞质分裂以及细胞免疫调节等^[2]。

4.1 Drp1调控线粒体分裂

在哺乳动物中, 发动蛋白相关蛋白1 (dynamin-related protein1, Drp1) 是介导线粒体融合和分裂的关键因子^[47-49]。Drp1被线粒体外膜(OMM)上的蛋白质募集到线粒体表面^[50], 从细胞质转移到线粒体的过程发生寡聚化使脂质体变形^[5, 51], 从而引起线粒体分裂。招募Drp1的4种蛋白为: Fis1、Mff、MiD49和MiD51^[52]。最新研究证实了MiD49和MiD51会更加特异性招募Drp1以促进线粒体分裂^[53], 而Mff则选择性结合寡聚化的Drp1^[54], Fis1直接与Drp1相互作用以促进线粒体裂变^[55]。近期研究报道了Drp1的招募和寡聚化是诱导线粒体裂变的主要因素, 该过程受到磷酸化、SUMO化、泛素化和S-亚硝基化等一系列翻译后修饰(PTM)的调节^[56]。与发动蛋白经典功能类似, 寡聚化的螺旋状Drp1会促进自身GTP水解^[57-58], 通过形成环状结构包裹和收缩线粒体外膜以将其切割^[59], 为线粒体膜融合和分裂提供驱动力^[60-61]。Drp1不仅对线粒体和过氧化物酶体的膜收缩^[62]功能相对独立, 即不需要其他发动蛋白的辅助^[57], 而且还参与线粒体中钙含量调节^[63-64]过程。越来越多的证据表明, 由Drp1功能异常引起的线粒体功能障碍与癌症相关疾病密切相关, 例如: Drp1磷酸化会影响线粒体裂变和卵巢癌的侵袭^[65]; 最近的一项研究在肺癌患者细胞中发现了Drp1错义变体G362D和G379K^[66]; 在结直肠癌、乳腺癌、肺癌以及急性淋巴细胞白血病中也发现Drp1磷酸化异常导致的线粒体过度分裂^[67-68], 不过最新研究出的线粒体分裂抑制剂(MIDI)将解决这个问题, 即MIDI通过破坏Drp1与其线粒体受体蛋白的相互作用, 有效阻止由线粒体毒素诱导的线粒体分裂, 并恢复携带致病蛋白细胞的线粒体形态^[69]。最新研究分析了Drp1的GTPase和中间结构域(MD)中的6个与疾病相关的突变, 揭示了关键位点对幼儿严重的神经缺陷, 全面了解了Drp1这一重要蛋白质不同功能位点的重要性^[70]。

4.2 调控过氧化物酶体分裂

过氧化物酶体分裂包括伸长、收缩和裂变三个步骤^[50]。Drp1、Dnm1p、Drp3A、Drp5B等DSP是介导其裂变的重要因子^[2], 其中Drp1参与形成环状结构, 由自身ATP裂解提供能量收缩和挤压过氧化物酶体^[71], 促进过氧化物酶体裂变^[72]。近期研究发现, 过氧化物酶体和叶绿体分裂具有某些共

同的膜分裂机制^[73], Drp1、Fis1和Mff均是线粒体和过氧化物酶体的形态调节因子^[71, 74]。介导线粒体分裂的关键蛋白是DRP5B, 它在拟南芥中的同源蛋白是ARC5 (accumulation and replication of chloroplasts 5)^[75]。

4.3 调控线粒体和内质网的膜融合

DSP在酵母和哺乳动物细胞中广泛表达, 也可介导真核生物中线粒体和内质网的膜融合, 其中线粒体融合蛋白1/2 (mitofusins1/2, Mfn1/2)^[76]、fuzzy onions1 (Fzo1p, yeast)^[76]、视神经萎缩蛋白1 (optic atrophy1, OPA1) 和线粒体基因组维持蛋白1 (mitochondrial genome maintenancel, Mgm1p, yeast) 等是介导线粒体融合的关键蛋白质^[2, 5]。近期研究发现, Mfn1/2与线粒体和内质网膜的变化以及内质网应激信号的调节也有关联^[77], 并且Mfn1/2的突变会导致腓骨肌萎缩症等疾病的发生^[77]。介导内质网膜融合的调节因子是Atlantins (ATL1-3)、sey1p、根毛缺陷蛋白3 (root hair defective 3, RHD3) 等^[2, 78], 它们分别是哺乳动物、酵母和植物细胞的DSP成员。

4.4 其他DSP成员的功能

其他DSP成员的功能研究较少, 目前研究有以下几个方面: a. 黏病毒抗性蛋白A/B (myxovirus resistanceA/B, MxA/B, mammals) 和哺乳动物鸟苷酸结合蛋白 (guanylate binding proteins, GBPs)^[5]可抵抗病原体的入侵^[5]。MxA和MxB抗RNA病毒活性取决于GTP结合和水解, 分别抵抗流感 (influenza virus, FLU) 和HIV-1病毒。近期研究报道了人类GBP1 (hGBP1) 可调节先天免疫功能^[79], 有助于增强细胞对弓形虫的免疫力^[80], 也参与受损吞噬体和溶酶体的修复^[81], 这些发现增加了此功能的理论依据和可信度。b. 仅酵母中表达的液泡蛋白拣选1蛋白 (vacuolar protein sorting1, Vps1p) 可介导液泡裂变和融合^[5, 82-83]、参与过氧化物酶体的裂变和融合, 并且是调节内体到高尔基体运输所必需的。之前报道了其定位于质膜上的内吞位点, 与网格蛋白等内吞蛋白相互作用, 并影响内吞蛋白的寿命和募集^[82], 但是最新研究证明了Vps1p并不是膜分裂所必需的^[82]。c. 介导细菌胞质分裂和囊泡分泌^[5]。参与此过程的DSP成员是细菌动力蛋白样蛋白 (bacterial dynamin-like protein, BDLP), 包括DynA、DynB和LeoA/B/C。

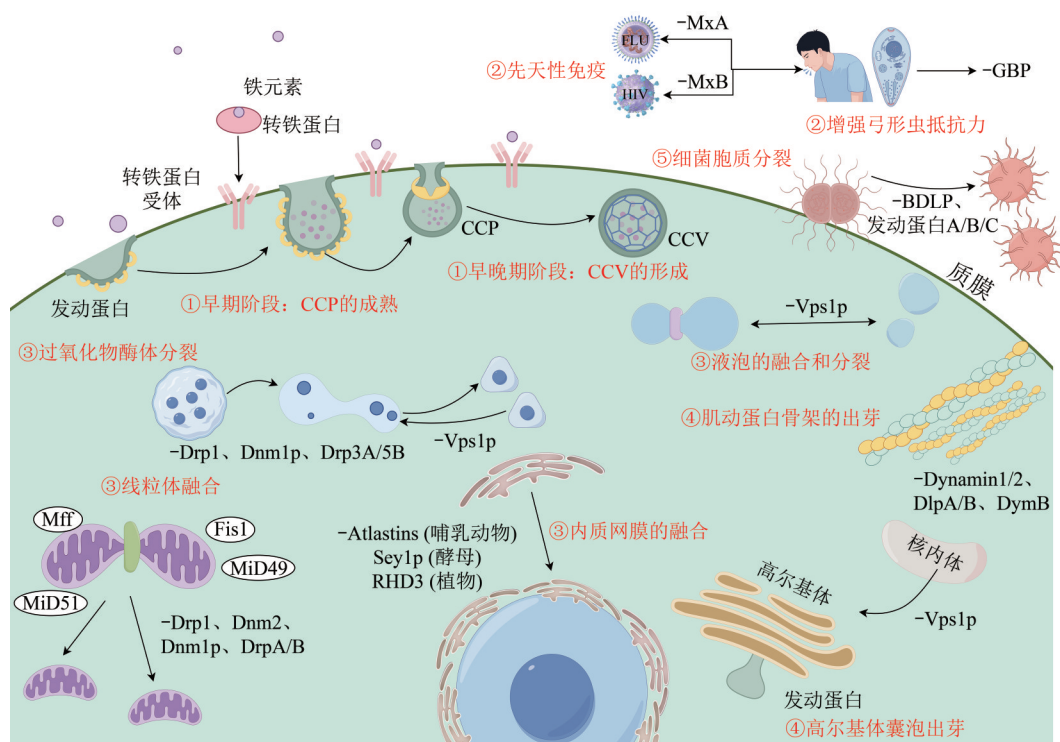


Fig. 3 Summary of the cellular processes mediated by the dynamin superfamily proteins (DSPs)

图3 发动蛋白超家族蛋白介导的细胞过程概要

DSP介导的细胞过程包括：①CME早期CCP形成和成熟，以及晚期囊泡断裂的CCV形成阶段（如：dynamin）；②参与流感病毒和HIV的先天性免疫和增强弓形虫抵抗力（如：MxA、MxB、GBP）；③细胞器的融合和分裂，如线粒体，内质网，液泡，早期内体等（如Drp1、Dnm2、Dnm1p、DrpA/B、Atlastins、Sey1p、RHD3、Vps1p、Drp3A/5B）；④参与肌动蛋白细胞骨架、高尔基体的出芽（如：dynamin1/2、DlpA/B、DymB）；⑤介导细菌胞质分裂（如：BDLP）等。本图由Figdraw绘制。

5 总结与展望

发动蛋白家族功能多样，广泛参与细胞内重要生物学过程，其中在CME进程中的功能是目前最为广泛和深入的研究，在其他重要生命过程如细胞分裂、细胞迁移、细胞信号转导等也有所体现。

尽管关于发动蛋白的研究已经超过30年，其分子基础的结构研究基本确定，但是其大多功能研究仅在初步的发现阶段，具体的分子机制还存在许多有待考究和争议之处。以下几个方向将是未来研究的重点：a. 发动蛋白家族庞大且具有物种间差异，那么不同家族成员发挥的功能是否存在特异性和关联性，调控其发挥不同细胞功能的机制是什么？b. 发动蛋白主要在膜重构过程中发挥功能，其间膜的形态和结构会发生连续的动态变化，目前的生化和成像技术手段各有利弊，是否能有效开发更高时空分辨率的成像技术和测量方法，通过更有说服力的视频成像和数据来直观解释当下的一些机制

争论？c. 影响发动蛋白参与不同细胞生物学过程的因子有哪些？它们的整体调控系统是怎样运行的？d. 发动蛋白家族与多种疾病的发生发展密切相关，包括癌症、神经退行性疾病和心血管疾病等，但是当下大多集中在基础研究阶段，未来是否可利用与临床病例相结合的技术路线，来对抗疾病或改善人类健康？

总之，细胞膜作为细胞的最外层屏障，与细胞间通讯和物质运输等重要生命过程紧密关联，发动蛋白在其中发挥的生物学功能已经深入人心，但是目前的研究还处于初步探索阶段，以上问题的解决将会挖掘出发动蛋白更为全面的功能，也为人类开发新药物进行疾病诊疗提供思路。

参 考 文 献

- [1] Khurana H, Pucadyil T J. "Gearing" up for dynamin-catalyzed membrane fission. *Curr Opin Cell Biol*, 2023, **83**: 102204
- [2] Ramachandran R, Schmid S L. The dynamin superfamily. *Curr Biol*, 2018, **28**(8): R411-R416

- [3] Antony B, Burd C, De Camilli P, *et al.* Membrane fission by dynamin: what we know and what we need to know. *EMBO J*, 2016, **35**(21): 2270-2284
- [4] Shpetner H S, Vallee R B. Identification of dynamin, a novel mechanochemical enzyme that mediates interactions between microtubules. *Cell*, 1989, **59**(3): 421-432
- [5] Jimah J R, Hinshaw J E. Structural insights into the mechanism of dynamin superfamily proteins. *Trends Cell Biol*, 2019, **29**(3): 257-273
- [6] Perrais D. Cellular and structural insight into dynamin function during endocytic vesicle formation: a tale of 50 years of investigation. *Biosci Rep*, 2022, **42**(11): BSR20211227
- [7] Kong L, Sochacki K A, Wang H, *et al.* Cryo-EM of the dynamin polymer assembled on lipid membrane. *Nature*, 2018, **560**(7717): 258-262
- [8] Williams M, Kim K. From membranes to organelles: emerging roles for dynamin-like proteins in diverse cellular processes. *Eur J Cell Biol*, 2014, **93**(7): 267-277
- [9] Fonseca T B, Sánchez-Guerrero Á, Milosevic I, *et al.* Mitochondrial fission requires DRP1 but not dynamins. *Nature*, 2019, **570**(7761): E34-E42
- [10] Singh M, Jadhav H R, Bhatt T. Dynamin functions and ligands: classical mechanisms behind. *Mol Pharmacol*, 2017, **91**(2): 123-134
- [11] Mei D, Parrini E, Bianchini C, *et al.* Autism and mild epilepsy associated with a *de novo* missense pathogenic variant in the GTPase effector domain of DNM1. *Am J Med Genet C Semin Med Genet*, 2023. DOI: 10.1002/ajmg.c.32044
- [12] Xu B, Teng L H, Silva S D, *et al.* The significance of dynamin 2 expression for prostate cancer progression, prognostication, and therapeutic targeting. *Cancer Med*, 2014, **3**(1): 14-24
- [13] Mühlbach H, Mohr C A, Ruzsics Z, *et al.* Dominant-negative proteins in herpesviruses-from assigning gene function to intracellular immunization. *Viruses*, 2009, **1**(3): 420-440
- [14] González-Jamett A M, Momboisse F, Haro-Acuña V, *et al.* Dynamin-2 function and dysfunction along the secretory pathway. *Front Endocrinol*, 2013, **4**: 126
- [15] Liu Y W, Neumann S, Ramachandran R, *et al.* Differential curvature sensing and generating activities of dynamin isoforms provide opportunities for tissue-specific regulation. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, **108**(26): E234-E242
- [16] Hamasaki E, Wakita N, Yasuoka H, *et al.* The lipid-binding defective dynamin 2 mutant in Charcot-Marie-tooth disease impairs proper actin bundling and actin organization in glomerular podocytes. *Front Cell Dev Biol*, 2022, **10**: 884509
- [17] González-Jamett A M, Haro-Acuña V, Momboisse F, *et al.* Dynamin-2 in nervous system disorders. *J Neurochem*, 2014, **128**(2): 210-223
- [18] Zhang R, Lee D M, Jimah J R, *et al.* Dynamin regulates the dynamics and mechanical strength of the actin cytoskeleton as a multifilament actin-bundling protein. *Nat Cell Biol*, 2020, **22**(6): 674-688
- [19] Kaksonen M, Roux A. Mechanisms of clathrin-mediated endocytosis. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2018, **19**(5): 313-326
- [20] Cheng X, Chen K, Dong B, *et al.* Dynamin-dependent vesicle twist at the final stage of clathrin-mediated endocytosis. *Nat Cell Biol*, 2021, **23**(8): 859-869
- [21] Morlot S, Galli V, Klein M, *et al.* Membrane shape at the edge of the dynamin helix sets location and duration of the fission reaction. *Cell*, 2012, **151**(3): 619-629
- [22] Mettlen M, Danuser G. Imaging and modeling the dynamics of clathrin-mediated endocytosis. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2014, **6**(12): a017038
- [23] Mendez J H, Chua E Y D, Paraan M, *et al.* Automated pipelines for rapid evaluation during cryoEM data acquisition. *Curr Opin Struct Biol*, 2023, **83**: 102729
- [24] Ohkubo T, Shiina T, Kawaguchi K, *et al.* Visualizing intramolecular dynamics of membrane proteins. *Int J Mol Sci*, 2022, **23**(23): 14539
- [25] Fujise K, Noguchi S, Takeda T. Centronuclear myopathy caused by defective membrane remodelling of dynamin 2 and BIN1 variants. *Int J Mol Sci*, 2022, **23**(11): 6274
- [26] Ganichkin O M, Vancraenenbroeck R, Rosenblum G, *et al.* Quantification and demonstration of the collective constriction-by-ratchet mechanism in the dynamin molecular motor. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2021, **118**(28): e2101144118
- [27] Chappie J S, Mears J A, Fang S, *et al.* A pseudoatomic model of the dynamin polymer identifies a hydrolysis-dependent powerstroke. *Cell*, 2011, **147**(1): 209-222
- [28] Mattila J P, Shnyrova A V, Sundborger A C, *et al.* A hemi-fission intermediate links two mechanistically distinct stages of membrane fission. *Nature*, 2015, **524**(7563): 109-113
- [29] Pannuzzo M, McDargh Z A, Deserno M. The role of scaffold reshaping and disassembly in dynamin driven membrane fission. *Elife*, 2018, **7**: e39441
- [30] Chen Z, Mino R E, Mettlen M, *et al.* Wbox2: a clathrin terminal domain-derived peptide inhibitor of clathrin-mediated endocytosis. *J Cell Biol*, 2020, **219**(9): e201908189
- [31] Srinivasan S, Burckhardt C J, Bhawe M, *et al.* A noncanonical role for dynamin-1 in regulating early stages of clathrin-mediated endocytosis in non-neuronal cells. *PLoS Biol*, 2018, **16**(4): e2005377
- [32] Imoto Y, Raychaudhuri S, Ma Y, *et al.* Dynamin is primed at endocytic sites for ultrafast endocytosis. *Neuron*, 2022, **110**(17): 2815-2835.e13
- [33] Watanabe S, Liu Q, Davis M W, *et al.* Ultrafast endocytosis at *Caenorhabditis elegans* neuromuscular junctions. *Elife*, 2013, **2**: e00723
- [34] Imoto Y, Xue J, Luo L, *et al.* Dynamin 1xA interacts with Endophilin A1 *via* its spliced long C-terminus for ultrafast endocytosis. *EMBO J*, 2024. DOI: 10.1038/s44318-024-00145-x
- [35] Wu L G, Chan C Y. Membrane transformations of fusion and budding. *Nat Commun*, 2024, **15**(1): 21
- [36] Brunger A T, Choi U B, Lai Y, *et al.* Molecular mechanisms of fast

- neurotransmitter release. *Annu Rev Biophys*, 2018, **47**: 469-497
- [37] Shin W, Zucker B, Kundu N, *et al.* Molecular mechanics underlying flat-to-round membrane budding in live secretory cells. *Nat Commun*, 2022, **13**(1): 3697
- [38] Watanabe S, Mamer L E, Raychaudhuri S, *et al.* Synaptojanin and endophilin mediate neck formation during ultrafast endocytosis. *Neuron*, 2018, **98**(6): 1184-1197.e6
- [39] Burton K M, Cao H, Chen J, *et al.* Dynamin 2 interacts with α -actinin 4 to drive tumor cell invasion. *Mol Biol Cell*, 2020, **31**(6): 439-451
- [40] Dogterom M, Koenderink G H. Actin-microtubule crosstalk in cell biology. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2019, **20**(1): 38-54
- [41] Kurklesky S, Chen J, McNiven M A. Growth cone morphology and spreading are regulated by a dynamin-cortactin complex at point contacts in hippocampal neurons. *J Neurochem*, 2011, **117**(1): 48-60
- [42] Chuang M C, Lin S S, Ohniwa R L, *et al.* Tks5 and Dynamin-2 enhance actin bundle rigidity in invadosomes to promote myoblast fusion. *J Cell Biol*, 2019, **218**(5): 1670-1685
- [43] Zhang Y, Nolan M, Yamada H, *et al.* Dynamin2 GTPase contributes to invadopodia formation in invasive bladder cancer cells. *Biochem Biophys Res Commun*, 2016, **480**(3): 409-414
- [44] Yamada H, Abe T, Satoh A, *et al.* Stabilization of actin bundles by a dynamin 1/cortactin ring complex is necessary for growth cone filopodia. *J Neurosci*, 2013, **33**(10): 4514-4526
- [45] Yamada H, Takeda T, Michiue H, *et al.* Actin bundling by dynamin 2 and cortactin is implicated in cell migration by stabilizing filopodia in human non-small cell lung carcinoma cells. *Int J Oncol*, 2016, **49**(3): 877-886
- [46] Katic A, Hüsler D, Letourneur F, *et al.* Dictyostelium dynamin superfamily GTPases implicated in vesicle trafficking and host-pathogen interactions. *Front Cell Dev Biol*, 2021, **9**: 731964
- [47] Adaniya S M, Jin O U, Cypress M W, *et al.* Posttranslational modifications of mitochondrial fission and fusion proteins in cardiac physiology and pathophysiology. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2019, **316**(5): C583-C604
- [48] Zeng H, Chen J X. Sirtuin 3, endothelial metabolic reprogramming, and heart failure with preserved ejection fraction. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2019, **74**(4): 315-323
- [49] Chan D C. Mitochondrial dynamics and its involvement in disease. *Annu Rev Pathol*, 2020, **15**: 235-259
- [50] Wang H, Luo W, Chen H, *et al.* Mitochondrial dynamics and mitochondrial autophagy: molecular structure, orchestrating mechanism and related disorders. *Mitochondrion*, 2024, **75**: 101847
- [51] Zerihun M, Sukumaran S, Qvit N. The Drp1-mediated mitochondrial fission protein interactome as an emerging core player in mitochondrial dynamics and cardiovascular disease therapy. *Int J Mol Sci*, 2023, **24**(6): 5785
- [52] Hao S, Huang H, Ma R Y, *et al.* Multifaceted functions of Drp1 in hypoxia/ischemia-induced mitochondrial quality imbalance: from regulatory mechanism to targeted therapeutic strategy. *Mil Med Res*, 2023, **10**(1): 46
- [53] Palmer C S, Elgass K D, Parton R G, *et al.* Adaptor proteins MiD49 and MiD51 can act independently of mff and Fis1 in Drp1 recruitment and are specific for mitochondrial fission. *J Biol Chem*, 2013, **288**(38): 27584-27593
- [54] Liu R, Chan D C. The mitochondrial fission receptor Mff selectively recruits oligomerized Drp1. *Mol Biol Cell*, 2015, **26**(24): 4466-4477
- [55] Nolden K A, Harwig M C, Hill R B. Human Fis1 directly interacts with Drp1 in an evolutionarily conserved manner to promote mitochondrial fission. *J Biol Chem*, 2023, **299**(12): 105380
- [56] Peng Y, Liu H, Liu J, *et al.* Post-translational modifications on mitochondrial metabolic enzymes in cancer. *Free Radic Biol Med*, 2022, **179**: 11-23
- [57] Kamerkar S C, Kraus F, Sharpe A J, *et al.* Dynamin-related protein 1 has membrane constricting and severing abilities sufficient for mitochondrial and peroxisomal fission. *Nat Commun*, 2018, **9**(1): 5239
- [58] Francy C A, Alvarez F J D, Zhou L, *et al.* The mechanoenzymatic core of dynamin-related protein 1 comprises the minimal machinery required for membrane constriction. *J Biol Chem*, 2015, **290**(18): 11692-11703
- [59] Basu K, Lajoie D, Aumentado-Armstrong T, *et al.* Molecular mechanism of DRP1 assembly studied *in vitro* by cryo-electron microscopy. *PLoS One*, 2017, **12**(6): e0179397
- [60] Serasinghe M N, Chipuk J E. Mitochondrial fission in human diseases. *Handb Exp Pharmacol*, 2017, **240**: 159-188
- [61] Seo B J, Yoon S H, Do J T. Mitochondrial dynamics in stem cells and differentiation. *Int J Mol Sci*, 2018, **19**(12): 3893
- [62] Li X, Gould S J. The dynamin-like GTPase DLP1 is essential for peroxisome division and is recruited to peroxisomes in part by PEX11. *J Biol Chem*, 2003, **278**(19): 17012-17020
- [63] Favaro G, Romanello V, Varanita T, *et al.* DRP1-mediated mitochondrial shape controls calcium homeostasis and muscle mass. *Nat Commun*, 2019, **10**(1): 2576
- [64] Shields L Y, Li H, Nguyen K, *et al.* Mitochondrial fission is a critical modulator of mutant APP-induced neural toxicity. *J Biol Chem*, 2021, **296**: 100469
- [65] Bandopadhyay S, Prasad P, Ray U, *et al.* SIRT6 promotes mitochondrial fission and subsequent cellular invasion in ovarian cancer. *FEBS Open Bio*, 2022, **12**(9): 1657-1676
- [66] Liang X, Dang S. Mitochondrial dynamics related genes - *MFN1*, *MFN2* and *DRP1* polymorphisms are associated with risk of lung cancer. *Pharmgenomics Pers Med*, 2021, **14**: 695-703
- [67] Ma Y, Wang L, Jia R. The role of mitochondrial dynamics in human cancers. *Am J Cancer Res*, 2020, **10**(5): 1278-1293
- [68] Chang Y J, Chen K W, Chen L. Mitochondrial ROS1 increases mitochondrial fission and respiration in oral squamous cancer carcinoma. *Cancers*, 2020, **12**(10): 2845
- [69] Yang J, Chen P, Cao Y, *et al.* Chemical inhibition of mitochondrial fission *via* targeting the DRP1-receptor interaction. *Cell Chem Biol*, 2023, **30**(3): 278-294.e11

- [70] Bauer B L, Rochon K, Liu J C, *et al.* Disease-associated mutations in Drp1 have fundamentally different effects on the mitochondrial fission machinery. *Hum Mol Genet*, 2023, **32**(12): 1975-1987
- [71] Fujiki Y, Abe Y, Imoto Y, *et al.* Recent insights into peroxisome biogenesis and associated diseases. *J Cell Sci*, 2020, **133**(9): jcs236943
- [72] Imoto Y, Abe Y, Honsho M, *et al.* Onsite GTP fuelling via DYNAMO1 drives division of mitochondria and peroxisomes. *Nat Commun*, 2018, **9**(1): 4634
- [73] Subramani S, Shukla N, Farre J C. Convergent and divergent mechanisms of peroxisomal and mitochondrial division. *J Cell Biol*, 2023, **222**(9): e202304076
- [74] Giacomello M, Pyakurel A, Glytsou C, *et al.* The cell biology of mitochondrial membrane dynamics. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2020, **21**(4): 204-224
- [75] Osteryoung K W, Pyke K A. Division and dynamic morphology of plastids. *Annu Rev Plant Biol*, 2014, **65**: 443-472
- [76] Dhananjay S, Neumann B, Chandhok G. Novel putative interactors of FZO-1/mitofusin 2 identified using large-scale yeast two-hybrid screening in *C. elegans*. *MicroPubl Biol*, 2022, **2022**: 10.17912/micropub.biology.000674
- [77] Chandhok G, Lazarou M, Neumann B. Structure, function, and regulation of mitofusin-2 in health and disease. *Biol Rev Camb Philos Soc*, 2018, **93**(2): 933-949
- [78] Zhang M, Wu F, Shi J, *et al.* ROOT HAIR DEFECTIVE3 family of dynamin-like GTPases mediates homotypic endoplasmic reticulum fusion and is essential for Arabidopsis development. *Plant Physiol*, 2013, **163**(2): 713-720
- [79] Praefcke G J K. Regulation of innate immune functions by guanylate-binding proteins. *Int J Med Microbiol*, 2018, **308**(1): 237-245
- [80] Qin A, Lai D H, Liu Q, *et al.* Guanylate-binding protein 1 (GBP1) contributes to the immunity of human mesenchymal stromal cells against *Toxoplasma gondii*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2017, **114**(6): 1365-1370
- [81] Buijze H, Brinkmann V, Hurwitz R, *et al.* Human GBP1 is involved in the repair of damaged phagosomes/endolysosomes. *Int J Mol Sci*, 2023, **24**(11): 9701
- [82] Menon D, Hummel D, Kaksonen M. Regulation of membrane scission in yeast endocytosis. *Mol Biol Cell*, 2022, **33**(12): ar114
- [83] Zieger M, Mayer A. Yeast vacuoles fragment in an asymmetrical two-phase process with distinct protein requirements. *Mol Biol Cell*, 2012, **23**(17): 3438-3449

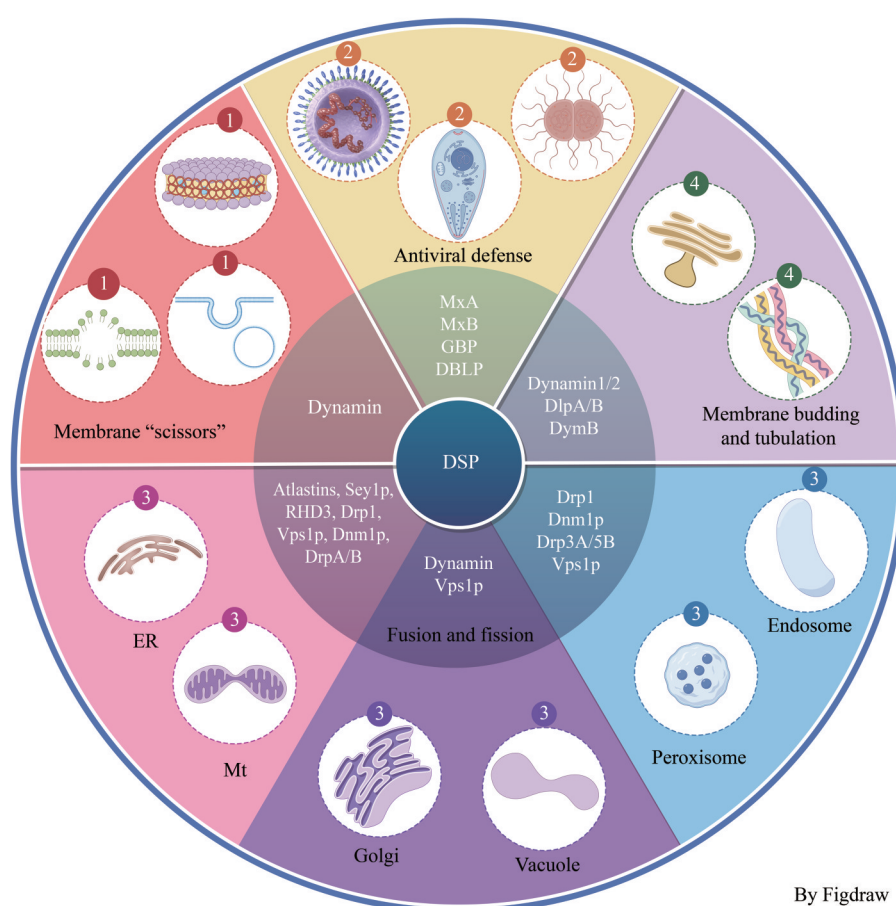
Functions of Dynamin and Its Family Proteins*

YANG Zi-Yan¹⁾, JIANG Zhao-Hong¹⁾, ZHOU Qian-Yi¹⁾, CHEN Zhi-Ming^{1,2)**}

⁽¹⁾Institute of Cytology and Genetics, School of Basic Medical Sciences, University of South China, Hengyang 421000, China;

⁽²⁾NHC Key Laboratory of Birth Defect for Research and Prevention, Changsha 410008, China)

Graphical abstract



Abstract The dynamin superfamily protein (DSP) encompasses a group of large GTPases that are involved in various membrane remodeling processes within the cell. These proteins are characterized by their ability to hydrolyze GTP, which provides the energy necessary for their function in membrane fission, fusion, and tubulation activities. Dynamin superfamily proteins play critical roles in cellular processes such as endocytosis,

* This work was supported by grants from The National Natural Science Foundation of China (32200564) and The Natural Science Foundation of Hunan Province (2024JJ2045, 2022JJ40357).

** Corresponding author.

Tel: 86-15021616366, E-mail: zhiming.chen@usc.edu.cn

Received: February 17, 2024 Accepted: April 22, 2024

organelle division, and vesicle trafficking. It is typically classified into classical dynamins and dynamin-related proteins (Drp), which have distinct roles and structural features. Understanding these proteins is crucial for comprehending their functions in cellular processes, particularly in membrane dynamics and organelle maintenance. Classical dynamins are primarily involved in clathrin-mediated endocytosis (CME), a process crucial for the internalization of receptors and other membrane components from the cell surface into the cell. These proteins are best known for their role in pinching off vesicles from the plasma membrane. Structurally, classical dynamins are composed of a GTPase domain, a middle domain, a pleckstrin homology (PH) domain that binds phosphoinositides, a GTPase effector domain (GED), and a proline-rich domain (PRD) that interacts with SH3 domain-containing proteins. Functionally, the classical dynamins wrap around the neck of budding vesicles, using GTP hydrolysis to constrict and eventually acting as a “membrane scissor” to cut the vesicle from the membrane. In mammals, there are three major isoforms: dynamin 1 (predominantly expressed in neurons), dynamin 2 (ubiquitously expressed), and dynamin 3 (expressed in testes, lungs, and neurons). Recent studies have also revealed some non-classical functions of classical dynamins, such as regulating the initiation and stabilization of clathrin-coated pits (CCPs) at the early stages of CME, influencing the formation of the actin cytoskeleton and cell division. Drps share structural similarities with classical dynamins but are involved in a variety of different cellular processes, primarily related to the maintenance and remodeling of organelles, and can be mainly categorized into “mediating membrane fission”, “mediating membrane fusion” and “non-membrane-dependent functions”. Proteins like Drp1 are crucial for mitochondrial division, while others like Fis1, Mfn1, and Mfn2 are involved in mitochondrial and peroxisomal fission and fusion processes, which are essential for the maintenance of mitochondrial and peroxisomal integrity and affect energy production and apoptosis. Proteins like the Mx protein family exhibit antiviral properties by interfering with viral replication or assembly, which is critical for the innate immune response to viral infections. Some other proteins are involved in the formation of tubular structures from membranes, which is crucial for the maintenance of organelle morphology, particularly in the endoplasmic reticulum and Golgi apparatus. Studies on dynamin superfamily proteins have been extensive and have significantly advanced our understanding of cellular biology, disease mechanisms, and therapeutic potential. These studies encompass a broad range of disciplines, including molecular biology, biochemistry, cell biology, genetics, and pharmacology. By comprehensively summarizing and organizing the structural features and functions of various members of the dynamin superfamily protein, this review not only deepens the understanding of its molecular mechanisms, but also provides valuable insights for clinical drug research related to human diseases, potentially driving further advancements in the field.

Key words dynamin, endocytosis, membrane scissor, dynamin superfamily protein

DOI: 10.16476/j.pibb.2024.0054