



胡俊杰, 中国科学院生物物理研究所研究员、博士生导师。2000年毕业于复旦大学生命科学学院生物化学系。2005年于纽约大学药理学系获博士学位。2005年至2008年于哈佛医学院从事博士后研究工作。曾获得HHMI国际青年科学家奖、国家自然科学基金委杰出青年科学基金以及中组部万人计划“青年拔尖人才”称号, 并于2016年入选“长江学者奖励计划”青年学者项目。该实验室采用细胞生物学、生物化学及结构生物学等多种方法深入研究内质网塑形和重装的分子机制、内质网的形态与功能的关联以及与内质网功能相关的疾病, 相关研究成果发表在*PNAS*、*Nature Structural & Molecular Biology*、*Journal of Cell Biology*、*eLife*等刊物上。

http://www.ibp.cas.cn/ktzz/ktzz_HK/201307/t20130705_3893477.html

内质网相关细胞器互作的研究进展

颜冰 胡俊杰*

(中国科学院生物物理研究所, 生物大分子国家重点实验室, 北京 100101)

摘要 真核细胞中内质网是由片状和管状两种不同形态组成的连续的生物膜结构, 参与细胞内蛋白质和脂质的合成以及钙离子稳态的调控等。内质网通过蛋白-蛋白及蛋白-脂质的相互作用与多种膜性细胞结构建立膜接触位点, 进行物质的交换、信号转导、膜动态性调控等生理活动。内质网与膜性细胞结构互作的缺陷也会引发许多人类重大疾病。该文介绍了内质网与一系列膜性细胞结构接触位点形成的分子机制及其潜在功能。

关键词 内质网; 细胞器; 膜接触位点; 相互作用

Advances in the Organelle Interactions Connected by Endoplasmic Reticulum

Yan Bing, Hu Junjie*

(National Laboratory of Biomacromolecules, Institute of Biophysics, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China)

Abstract The endoplasmic reticulum (ER) in eukaryotes is a continuous membrane system that is connected by sheets and tubules. It plays critical roles in protein and lipid biosynthesis and in the regulation of calcium homeostasis. Membrane contact sites (MCSs) are formed between the ER and multiple membrane-bound organelles through protein-protein and protein-lipid interactions. These contacts are involved in physiological processes such as material transfer, signaling transduction and membrane dynamics. Defects in ER-mediated organelle contacts are linked to pathogenesis of several human diseases. This review summarizes the molecular

国家自然科学基金(批准号: 31700729)资助的课题

*通讯作者。Tel: 010-64886852, E-mail: huj@ibp.ac.cn

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.37100729)

*Corresponding author. Tel: +86-10-64886852, E-mail: huj@ibp.ac.cn

网络出版时间: 2019-02-21 14:56:28

URL: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20190221.1456.022.html>

mechanisms and potential functions of the interactions between the ER and other membrane-bound organelles.

Keywords endoplasmic reticulum; organelle; membrane contact site; interaction

真核细胞中充满了由生物膜包裹形成的膜性细胞结构(organelles), 如细胞核膜(nuclear envelope, NE)、内质网(endoplasmic reticulum, ER)、高尔基体(Golgi)、线粒体(mitochondria)、溶酶体(lysosome)、脂滴(lipid droplet, LD)、过氧化物酶体(Peroxisome)、内吞体(endosome)等。这些由膜包被的亚细胞结构也组成了细胞内膜体系。细胞内部的膜的存在将细胞分隔成为一个个独立的区室化空间, 保证了细胞内各项生理活动高效稳定的运行。在很长一段时间内, 对细胞器功能的研究大都围绕某一独立的结构展开, 没有涉及亚细胞结构之间的关联和通讯对细胞生理活动的重要影响。细胞器互作的发现提示我们, 不同的细胞器之间可以在形态上相互接触, 协同发挥相应的生理功能。本文将围绕内质网这一重要细胞结构对其形态和功能调控以及其关联的细胞器互作的研究进展进行综述。

1 细胞器互作的研究背景

囊泡运输是膜性细胞器之间的一种重要的通讯方式。细胞器通过产生囊泡及与囊泡的融合交换蛋白质和脂质, 完成蛋白转运、内吞、分泌等生理活动。在利用透射电镜技术观察细胞的过程中, 人们也很快发现了不同的细胞器膜之间会有直接的接触。这些接触通常保持膜间较近的距离(约30 nm), 却不发生膜融合, 并伴有物质的交换和膜的动态性调控, 我们将这种细胞器之间通过膜接触位点(membrane contact sites, MCSs)发生的相互联系称为细胞器互作(organelle interactions)^[1-2]。

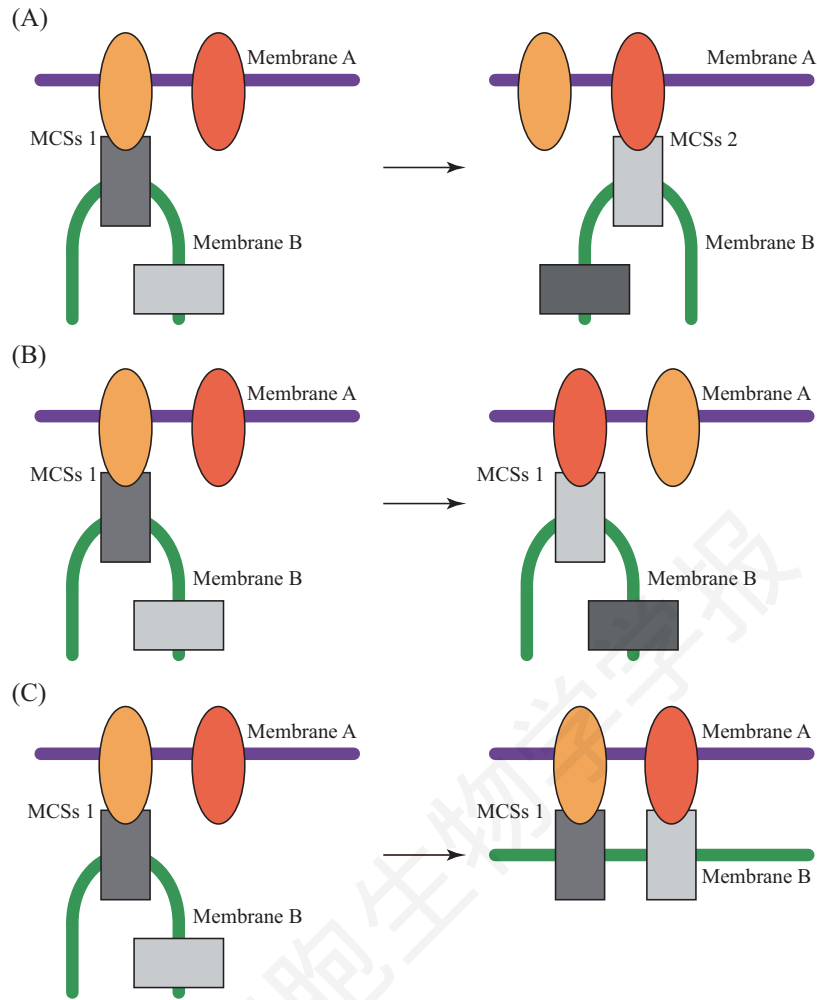
随着活细胞显微成像技术和超高分辨率显微成像技术的发展和运用, 越来越多的细胞器互作方式被发现。细胞器也不再是被生物膜分隔开的孤立的功能结构, 许多细胞生理活动, 如蛋白和脂质的转运、细胞器的融合和断裂、钙信号调控等, 需要在不同的细胞器之间协调开展, 这些过程都依赖于对细胞器互作的精确调控。不同的细胞器可以在膜接触位点形成稳定或瞬时的接触(图1A), 并在此进行物质交换或信号转导。膜接触位点的形成则依赖于蛋白-蛋白或蛋白-脂质的相互作用(图1A), 因此, 在膜接触位点富集的蛋白和脂质直接参与了细胞器互

作的调控。细胞器互作具有高度动态性, 同类型的膜接触位点可以由不同的蛋白-蛋白或蛋白-脂质相互作用来介导(图1A和表1); 而不同类型的膜接触位点有时也可以由同一组分子间相互作用来形成(表1); 较稳定的膜接触位点会根据细胞的不同需求, 富集不同的组分(图1B); 很多膜接触位点具有形态特异性, 如内质网参与的细胞器互作大多借助管状内质网, 但稳定接触的需求增加后, 也可以演变成更大接触面积的片状位点(图1C)。细胞器互作的异常通常会引发细胞功能的紊乱, 甚至引起细胞凋亡, 导致许多疾病的发生。对细胞器互作的调控机制和功能的研究, 有利于我们在细胞和分子层面揭示生命活动的本质、了解疾病的发生发展。

2 内质网是关联细胞器互作网络的重要结构

内质网是真核细胞里最大的细胞器, 弥散分布在整个胞质区域, 在细胞蛋白和脂质的合成、钙信号调控等过程中发挥了重要的作用。在形态上, 内质网由片状和管状两种结构连接组成。片状内质网主要定位在细胞核周的区域, 向内与外核膜相连; 而管状内质网则通常连接形成网络结构, 遍及整个胞质中。作为细胞内膜系统中最核心的组分, 内质网以囊泡运输的方式参与蛋白质分泌和脂质转运, 通过钙通道蛋白和钙离子泵调控细胞钙离子稳态。同样地, 内质网也可以通过与多种细胞器建立直接的膜接触位点, 进行蛋白、脂质和钙离子的转运, 并将这些局部的细胞器互作联系成为细胞器动态互作网络, 将细胞内不同细胞器内部的区室化功能区域关联成为一个整体, 保证了细胞内各项生理活动协调稳定地进行。而内质网的形态结构对于其关联细胞器互作网络至关重要。

内质网形态的维持受到多种蛋白的调控。在细胞中, 内质网管状结构的直径仅有30~50 nm, 这种高曲度膜结构的形成需要成管蛋白Rtns(reticulons)以及REEPs(receptor expression enhancing proteins)的帮助^[3]。在细胞中过表达内质网成管蛋白可以产生更多的管状内质网结构, 而将酵母Yop1p(REEP5/DP1的同源蛋白)和Rtn1p(Rtn的同源蛋白)在体外重组到



MCSs: 膜接触位点。
MCSs: membrane contact sites.

图 1 细胞器互动的动态特征

Fig.1 Characteristic dynamics of organellar interactions

人工脂质体上,也可以诱导脂质体的成管^[4]。这些成管蛋白均含有由两个串联的疏水跨膜区组成的RHD(reticulon-homology domain)结构域。这种发卡状的跨膜区像楔子一样嵌入到内质网膜中,使得RHD结构域在膜外页(朝向胞质的一侧)中占据的空间要比膜内页(内质网腔一侧)中占据的空间大,由此引发膜的弯曲。此外,RHD蛋白还可以通过形成同源或异源寡聚体,塑造高曲度的膜结构^[5-6]。

片状内质网的形成则需要在两片平面的膜结构之间保持较为恒定的距离,同时在两片膜连接处维持较高的膜曲度。在哺乳动物细胞中,Rtns和REEPs蛋白会定位在内质网片状结构的边缘,维持膜边缘的高曲度结构^[7]。Climp63是主要定位在片状内质网的整合膜蛋白,相互平行的两侧内质网膜上定位的Climp63可以通过其在内质网腔中的coiled

coil结构域相互作用,维系片状内质网的厚度^[7-8]。此外,片状内质网定位的p180和kinectin被认为可以保持片状内质网膜的平整性^[7]。

内质网管状网络的形成依赖内质网的同源膜融合作用,内质网膜上的dynamin超家族蛋白ATL(Altastin)被发现在介导内质网同源膜融合上起着重要的作用^[9-10]。ATL在哺乳动物细胞中包括ATL1、ATL2和ATL3三个成员,在酵母和植物细胞中的同源蛋白分别为Sey1p和RHD3^[11-12]。在细胞中敲除ATL或过表达显性负突变体,可以使管状内质网变成长而不分叉的结构。对ATL1和Sey1p蛋白晶体结构的解析揭示了ATL介导同源膜融合的动态过程^[13-16]。定位于不同膜上的ATL蛋白通过其N-端的GTP酶结构域结合GTP进而形成同源二聚体结构,随后GTP的水解引起的蛋白螺旋束结构域构象变

表1 内质网相关细胞器互作的分子基础和功能

Table 1 Molecular basis and function of ER connected organellar interactions

细胞结构 Cellular structures	介导互作的蛋白和脂质 Proteins and lipids	细胞功能 Cellular functions
Plasma membrane	ER: STIM, VAPs, E-Syts, ORP5 Plasma membrane: Orai, NIR2/PA*, SAC1, PI**	Store operated calcium entry, lipids transfer, receptor tyrosine kinase activity
Mitochondria	ER: Mmm1/Mmm12, IP3R Mitochondria: Mdm10/Mdm34, MCU	Mitochondria fission, calcium transfer, lipids transfer
Golgi	ER: VAPs, OSBP Golgi: PI**	Lipids transfer
Endosome	ER: VAPs, ORP5, protrudin, SAC1, TMCC1 Endosome: ORP1L, STARD3, Rab7, PI**, Coronin 1C	Calcium transfer, lipids transfer, receptor tyrosine kinase activity, tubular ER mobility
Lipid droplets	ER: seipin/Fld1p Lipid droplets: phospholipids	Lipid droplets biogenesis, lipid transfer, protein translocation
Peroxisome	ER: Pex30p	Peroxisome biogenesis, lipids transfer

PA*: 磷脂酸; PI**: 磷脂酰肌醇。

PA*: phosphatidic acid; PI**: phosphatidyl inositol.

化, 将膜拉近并融合。

总体来说, 内质网塑形蛋白的协同调控, 奠定了内质网参与的细胞器互动的重要形态和动态基础, 一些互动主要发生在内质网管状区域, 而另一些则倾向于利用片状结构(图1C)。互动区域的形态特征也与互动的生理功能紧密关联。

3 内质网关联的细胞器互动分子机制

内质网结构, 尤其是管状网络, 由于其分布于细胞的各个角落而成为细胞器互动的重要参与者。近期的研究发现, 内质网与质膜、线粒体、高尔基体、内吞体、脂滴及过氧化物酶体等细胞器间均可形成膜接触位点(表1和图2), 并发挥不同的生理功能。

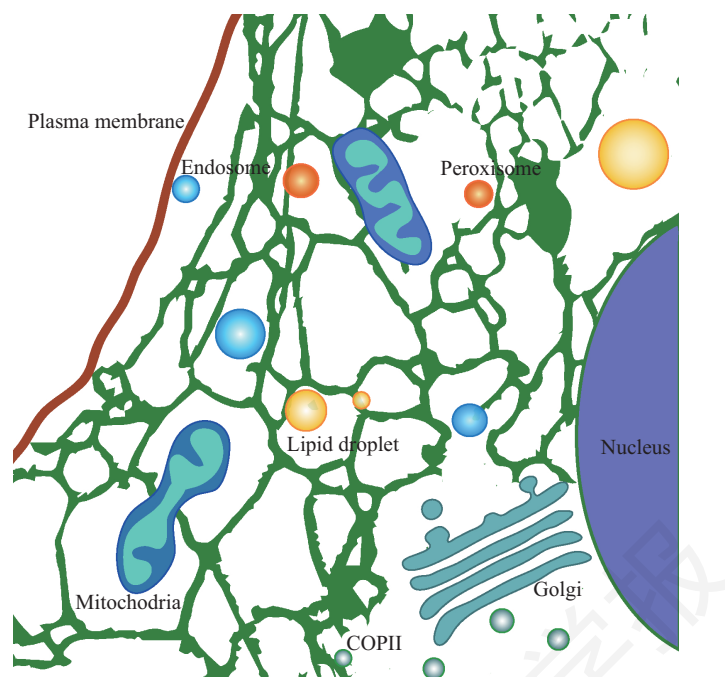
3.1 内质网与细胞质膜的相互作用

许多细胞外周的内质网都会与细胞质膜有相互作用。在酵母中, 大片(20%~40%)的质膜都与细胞外周的内质网接触在一起, 因此也被称为皮层内质网(cortical ER)^[17], 而在动物细胞中, 也存在小部分定位于外周的内质网与细胞质膜相互接触。内质网和细胞质膜的相互作用可以被多种不同的蛋白介导, 这也表明, 内质网-质膜的接触发挥着多种不同的细胞生理功能, 其中主要包括细胞内钙离子信号的调控以及脂质的转运和脂质稳态的维持。

内质网和质膜之间存在许多种介导脂质转运的蛋白。其中一类磷脂酰肌醇转运蛋白(phosphatidylinositol transfer proteins, PITPs, 如Nir2和Nir3)参与了内质网-质膜脂质稳态的调控。该家族蛋

白一方面可以通过其FFAT模序结合内质网上的VAPs(vesicle-associated proteins); 另一方面通过DDHD结构域结合质膜上的PA、DAG等脂质成分, 从而建立起内质网-质膜的接触位点, 进而利用其PITP结构域将内质网上的PI转运到质膜, 同时还可以将质膜上合成的PA转运到内质网。这样在磷脂酶C(PLC)激活的时候, 可以保证质膜上的PI(4,5)P2得到补充, 而又能将DAG激酶(DAG kinase)以DAG为底物合成的PA及时转运出膜^[18-21]。在Nir2敲低的细胞中, 由于PA从质膜回收的途径被抑制, 导致了PA向PI的转换受到影响^[20-21]。

另外一类介导内质网-质膜脂质转运的蛋白称为延伸的突触结合蛋白(extended synaptotagmins, E-syts)。哺乳动物细胞中, E-syts家族包括三个成员——E-syt1、E-syt2和E-syt3。E-syts蛋白N-端含有一个内质网膜锚定的发卡结构, 该结构使得它们能够驻留在内质网膜上, 并形成同源或异源二聚体。此外, 还有包含一个SMP(synaptotagmin-like mitochondrial-lipid-binding protein)结构域以及多个C2结构域^[22-24]。E-syt1蛋白的第三个C2结构域(C2C domain)能够结合钙离子, 并以钙离子依赖的方式结合到质膜上的PI(4,5)P2, 从而介导了内质网与质膜的接触, 并在此基础上通过其SMP结构域介导脂质的转运^[25]。利用纯化蛋白进行的体外研究表明, E-syt1可以双向转运包括DAG在内的甘油酯类, 而对脂质亲水头部的集团没有选择性^[24,26]。内质网膜蛋白TMEM24同样也包含一个SMP结构域和一个钙离子依赖的C2结构



图中绿色指示管状和片状内质网形成的网络结构。内质网与细胞质膜(plasma membrane)、内吞体(endosome)、脂滴(lipid droplet)、线粒体(mitochondria)、高尔基体(Golgi)和过氧化物酶体(Peroxisome)均有膜接触位点,发生相互作用。

The ER network, including tubules and sheets, is shown in green. The interacting membranes include plasma membrane, endosomes, lipid droplet, mitochondria, Golgi and peroxisome.

图2 内质网与其他细胞器互动示意图

Fig.2 Diagram for organellar interactions between the ER and other membrane-bound organelles

域,能够介导PI(4,5)P₂由内质网向质膜的转运^[27]。

OSBP(oxysterol-binding protein)及ORP(OSBP-related protein)蛋白则负责将磷脂酰丝氨酸(phosphatidylserine, PS)从内质网转运到质膜的胞质侧。这类蛋白通过FFAT模序结合到内质网的VAPs蛋白,同时通过其PH结构域与质膜上的PI4P相互作用,从而促进内质网与质膜接触的形成^[28-29]。

钙库操纵的钙内流(store-operated Ca²⁺ entry, SOCE)是细胞外钙离子进入细胞的主要方式之一。当内质网腔中的钙离子浓度下降时,会激活细胞质膜上的钙离子通道,促进胞外钙离子进入细胞,调控细胞钙信号通路,并对钙库流失的钙离子进行补充。研究表明,内质网膜蛋白STIM1是一个感受内质网腔钙离子浓度并激活质膜钙离子通道蛋白Orai的重要因子^[30-33]。STIM1可以通过其内质网腔内部分结合内质网腔钙离子,当内质网膜钙离子释放进入胞质导致内质网腔内钙离子浓度下降时,STIM1可以形成寡聚体,并在微管末端结合蛋白EB1的介导下沿微管运动至内质网-质膜接触区域,激活质膜上的钙离子通道Orai^[30-31]。管状内质网形态调控蛋白Rtn4a和ATL的缺失都会引起SOCE的减弱^[32-33]。

3.2 内质网-线粒体的互作

在真核细胞中,内质网与线粒体的动态相互作用是遍及整个细胞质中的。内质网上与线粒体相互作用的区域被称为MAM(mitochondria-associated ER membrane)。最新的一些研究表明,内质网通过MAM接触线粒体外膜,参与调节线粒体的动态变化和线粒体功能^[34-35]。在酵母中,内质网与线粒体的联系是由ERMES(ER-mitochondrial encounter structure)蛋白复合体介导的^[36]。ERMES蛋白复合体至少由四个蛋白组成,其中包括定位于线粒体外膜的Mdm10和Mdm34,以及整合在内质网膜上的Mmm1和胞质蛋白Mdm12^[37]。Mmm1、Mdm12以及Mdm34都包含一个SMP结构域,缺失SMP结构域的Mmm1蛋白不能正确地定位在内质网-线粒体接触位点上,这表明,SMP结构域可能参与了这些蛋白在内质网-线粒体接触位点上的定位^[38]。在酵母中,内质网与线粒体之间的脂质转运也依赖这些含有SMP结构域的ERMES复合体蛋白^[39]。然而在高等真核细胞中,内质网-线粒体接触位点上的蛋白组成仍然不是很清楚。

线粒体处在不断的融合和分离的动态变化

中, 这些过程受到线粒体膜上的融合相关蛋白[如MFN1(mitofusin 1)、MFN2和OPA1(optic atrophy 1)]和分裂相关蛋白1(dynammin-related protein 1, DRP1)的调控。DRP1(酵母中的同源蛋白为Dnm1)本是一个胞质蛋白, 但它可以被募集到线粒体的外膜上, 进而通过水解GTP引起自身构象变化, 促进线粒体分裂^[40-41]。过去, DRP1是如何被募集到线粒体外膜上, 并准确定位在线粒体分裂位置的机制一直不是很清楚。最近的研究发现, 管状内质网与线粒体的接触位点与DRP1在线粒体外膜上的定位具有明显的相关性, 管状内质网接触线粒体的位置也通常会发生线粒体的断裂, 而且管状内质网与线粒体的接触并不依赖线粒体外膜上的分裂相关蛋白MFF(mitochondrial fission factor)和DRP1^[42-44]。这些结果提示, 内质网-线粒体的互作引发了DRP1在线粒体外膜的募集, 并由此促进了线粒体的分裂。

此外, 内质网-线粒体相互作用也影响了线粒体的融合。Dynammin超家族成员MFN1和MFN2可以介导线粒体栓连, 并进一步促进线粒体外膜的融合^[45]。有报道认为, MFN2蛋白不仅定位在线粒体外膜, 也会有部分定位在内质网膜及MAM区域, MAM区域的MFN2可以通过与线粒体外膜上的MFN2或MFN1形成同源或异源二聚体, 稳定内质网-线粒体接触位点。在缺失MFN2的细胞中, 内质网-线粒体接触位点明显的减少, 而应用超高分辨率显微成像技术, 也能观察到依赖内质网的线粒体融合现象^[46-47]。不过, MFN2在稳定内质网-线粒体接触位点中更有可能通过调控线粒体动态而间接地发挥作用, 其自身是否能部分定位内质网还有待确认。

内质网是细胞内最主要的钙离子储存库, 内质网腔中的钙离子可以通过内质网-线粒体的相互作用释放进入线粒体^[48]。内质网膜上肌醇-3-磷酸受体(inositol trisphosphate receptor, IP3R)的激活可以刺激钙离子从内质网腔中释放出来, 同时通过线粒体外膜上的离子通道蛋白VDAC1摄取进入线粒体膜间隙(intermembrane space, IMS), 利用活细胞钙离子探针可以直接观察到这种现象^[49-50]。同时, 增加内质网-线粒体的接触, 可以促进这种钙离子的单向传递。内质网可以通过向线粒体的钙离子转运, 调控线粒体内多种钙离子依赖的蛋白活性, 而且线粒体钙离子的调控也直接作用于DRP1介导的线粒体断裂和细胞凋亡过程中线粒体细胞色素c的释放^[51]。

此外, 在自噬小体形成时, 其标记蛋白ATG14、ATG5和DFCP1会转移到MAM区域, 而抑制内质网-线粒体接触位点的形成则会影响自噬小体的形成, 这表明, 内质网与线粒体的互作还参与到了自噬的生理过程中^[52]。

3.3 内质网-高尔基体的互作

内质网是蛋白质合成的主要场所, 而高尔基体则是分泌蛋白的中转站, 内质网与高尔基体之间存在着以双向膜泡运输为主的物质交流途径, 这种膜泡运输保证了分泌蛋白分选、回收途径以及高尔基体的生物发生的正常进行。许多研究表明, 内质网与高尔基体之间也存在着不依赖膜泡的交流途径。内质网与高尔基体的接触位点发生在片状内质网与高尔基体反式膜囊结构(trans-Golgi, TG), 这种接触主要由一些脂质转运蛋白介导, 并进行内质网到高尔基体的脂质转运^[53]。其中, CERT是最早被鉴定出介导内质网到高尔基体脂质转运的蛋白。CERT一方面通过其N-端的PH结构域结合TG膜上的PI4P; 另一方面通过FFAT模序结合内质网膜蛋白VAPA和VAPB。在此基础上, 利用C-端START结构域将内质网上合成的神经酰胺(ceramide)转运到高尔基体上, 用于合成鞘磷脂(sphingomyelin)^[54]。而在酵母中, 一个含有SMP结构域的蛋白Nvj2d也可以将内质网上的神经酰胺(ceramide)转运到高尔基体^[55]。OSBPs(oxysterol-binding proteins)也同样含有能结合PI4P的PH结构域以及结合VAPs的FFAT模序, 不同的是, OSBPs利用其ORD(oxysterol-related domain)结构域将内质网上的胆固醇(cholesterol)转运到TG, 此外, 还能将TG膜上富集的PI4P转运到内质网膜上, 进而被内质网膜蛋白Sac1降解。用25-OH sterols刺激过表达VAPA和OSBP的细胞, 可以明显地增加内质网与高尔基体的接触面积, 这表明, 内质网与高尔基体间的脂质转运蛋白直接介导了内质网与高尔基体的互作^[56]。然而, 是否有其他的蛋白复合体也参与形成并稳定内质网-高尔基体接触位点, 仍然不是很清楚。

3.4 内质网-内吞体的互作

真核细胞中的内质网与内吞体有非常多的接触位点, 这些接触位点既参与内吞体的断裂和沿微管运输等动态变化, 也影响了胆固醇和钙离子的转运。此外, 内吞体上的部分受体也需借助内质网定位的磷酸酶进行去磷酸化修饰。

与内质网-高尔基体互作相似, 内质网上的VAPs蛋白也参与了内质网与内吞体的部分接触位点的形成。ORP1L和STARD3均是定位于内吞体上的固醇结合蛋白, 可以通过其FFAT模序结合内质网膜上的VAPs蛋白, 介导内吞体与内质网的相互作用^[57-59]。在晚期内吞体(late endosome)上, ORP1L与Rab7和Rab7效应蛋白RILP形成复合体, 并通过RILP结合微管马达蛋白dynein/dynactin复合物的p150^{Glued}亚基。当LEs处于低胆固醇水平时, ORP1L与VAP-A的相互作用会增强, 进而引起RILP与p150^{Glued}的解离, LEs朝向细胞核的沿微管负向运输被终止, 从而促进了内吞体朝向细胞外周的沿微管正向运输。除了内吞体上的FFAT模序蛋白, VAPs蛋白也可以与内质网膜上的FFAT模序蛋白protrudin相互作用, protrudin则可以与内吞体的PI3P和Rab7蛋白相互作用, 介导内质网-内吞体接触位点的形成^[60-61]。在此结构的基础上, 微管马达蛋白kinesin与LEs的FYCO1的结合, 介导LEs沿微管正向运输到细胞外周区域。这种内质网-内吞体相互作用方式不仅影响内吞体在细胞中的分布, 管状内质网也可能以“搭便车(hitchhiking)”的方式借助内吞体进行沿微管的运输, 促进自身管状网络的形成^[47]。

另外, 定位的内质网膜上的磷酸酶PTP1B也可以跟内吞体上的表皮生长因子受体(epithelial growth factor receptor, EGFR)和粒细胞集落刺激因子受体(granulocyte colony stimulating factor receptors, G-CSFRs)直接结合, 并在此接触位点上催化受体胞质区发生去磷酸化修饰, 抑制EGFR的活性, 避免了其下游信号通路的持续性激活引起的细胞分裂异常^[62]。

内质网上的固醇结合蛋白ORP5可以与内吞体上的NPC1或Hrs蛋白相互作用, 并在此接触位点上介导胆固醇从LEs上转运到内质网。ORP5蛋白或Hrs蛋白的缺失都会引起固醇在内吞体上的聚集^[63]。此外, 内质网-内吞体接触位点还会发生钙离子的转运, 这也保证了内吞相关细胞器内一些钙信号调控的生理活动的正常进行^[64]。

内质网的形态的变化可以通过对内质网-内吞体接触位点影响内吞体的动态性。在哺乳动物细胞中, 过表达Rtn4a可以导致细胞内管状内质网的增加, 也引起了内吞体动态性下降^[65]。同样在植物细胞中敲除内质网同源膜融合蛋白RHD3也会产生相

似的表型^[66]。在内吞体的出芽分裂的过程中, 内质网蛋白TMCC1可以跟定位在内吞体上的蛋白Coronin 1C相互作用, 并被招募到内质网-内吞体膜接触位点, 促进了微丝介导的内吞体的出芽分裂以及货物分选运输^[67]。

3.5 内质网-脂滴的互作

真核细胞中, 脂滴的生物发生被认为是从内质网起始的。中性脂在内质网膜上合成, 并逐渐在磷脂双分子层中间积累, 新生的脂滴出芽的方式从内质网上发生进入胞质中。而胞质中的脂滴又可以与内质网建立起相互作用, 通过接触位点进行脂质转运, 帮助脂滴生长^[68]。Seipin可以定位并稳定内质网与脂滴的接触位点, 帮助蛋白和脂质转入生长的脂滴^[69-70]。而在酵母中的seipin同源蛋白Fld1则可以跟内质网蛋白Ldb16形成复合体, 共同稳定内质网-脂滴接触位点^[71-72]。

3.6 内质网-过氧化物酶体的互作

细胞内的过氧化物酶体的生物发生有两种已知的方式, 一种是直接来自于内质网, 另一种则是通过已有的过氧化物酶体进行分裂^[73]。过氧化物酶体还可以囊泡运输的方式接受来自内质网的脂质和蛋白, 促进自身的成熟。此外, 也有实验表明, 内质网与过氧化物酶体之间存在着不依赖囊泡的物质转运, 这种转运发生在内质网与过氧化物酶体的接触位点上。在酵母中, Pex30蛋白可以与管状内质网蛋白Rtn1、Rtn2和Yop1形成复合体, 并定位在内质网-过氧化物酶体接触位点^[74-75]。然而, 内质网与过氧化物酶体互作的分子机制和功能还有待于进一步的揭示。

4 总结与展望

细胞器近距离接触在一起的现象虽然很早就被发现, 但细胞器互作的功能和机制直到近些年才逐渐被揭示。细胞器稳态和功能的维持依赖彼此间的相互接触和物质转运, 细胞器互作也成为了细胞生物学研究的热点领域。内质网作为细胞内最大的、单一的、连续的膜囊结构, 可以与许多细胞器发生相互作用。内质网作为蛋白、脂质的合成场所以及钙离子的贮存场所, 可以通过细胞互作的方式, 向其他细胞器转运脂质、蛋白、钙离子等。此外, 内质网参与的细胞器互作还参与了细胞器融合、断裂等生物膜的动态性调控。内质网与不同细胞器均存在相互作用, 通过细胞器互作将细胞内的膜性细胞结

构广泛地联系在一起,确保了各个细胞器功能上地协同进行。内质网关联的细胞器互作也依赖于对内质网形态的调控。

细胞内同样存在着不依赖于内质网的细胞器互作现象,如线粒体-溶酶体互作、溶酶体-过氧化物酶体互作等,这些细胞器互作同样对细胞生理活动具有重要的意义。随着超高分辨率显微技术的应用,许多新的细胞器互作形式被发现,但对介导细胞器互作的分子机制以及细胞器互作的生理功能仍然缺乏深入的研究。在内质网关联的细胞器互作中,我们对内质网与其他细胞器建立起的瞬时或稳定的膜接触位点的调控机制的了解仍然很有限,同样也不清楚不同的内质网结构(片状或管状)在介导不同细胞器互作中扮演的角色,这些问题都有待于新的实验证据来解释和说明。

参考文献 (References)

- Helle SC, Kanfer G, Kolar K, Lang A, Michel AH, Kornmann B. Organization and function of membrane contact sites. *Biochim Biophys Acta* 2013; 1833(11): 2526-41.
- Elbaz Y, Schuldiner M. Staying in touch: the molecular era of organelle contact sites. *Trends Biochem Sci* 2011; 36(11): 616-23.
- Voeltz GK, Prinz WA, Shibata Y, Rist JM, Rapoport TA. A class of membrane proteins shaping the tubular endoplasmic reticulum. *Cell* 2006; 124(3): 573-86.
- Hu J, Shibata Y, Voss C, Shemesh T, Li Z, Coughlin M, *et al.* Membrane proteins of the endoplasmic reticulum induce high-curvature tubules. *Science* 2008; 319(5867): 1247-50.
- Shibata Y, Voss C, Rist JM, Hu J, Rapoport TA, Prinz WA, *et al.* The reticulon and DPL1/Yop1p proteins form immobile oligomers in the tubular endoplasmic reticulum. *J Biol Chem* 2008; 283(27): 18892-904.
- Brady JP, Claridge JK, Smith PG, Schnell JR. A conserved amphipathic helix is required for membrane tubule formation by Yop1p. *Proc Natl Acad Sci USA* 2015; 112(7): E639-48.
- Shibata Y, Shemesh T, Prinz WA, Palazzo AF, Kozlov MM, Rapoport TA. Mechanisms determining the morphology of the peripheral ER. *Cell* 2010; 143(5): 774-88.
- Klopfenstein DR, Klumperman J, Lustig A, Kammerer RA, Oorschot V, Hauri HP. Subdomain-specific localization of CLIMP-63 (p63) in the endoplasmic reticulum is mediated by its luminal alpha-helical segment. *J Cell Biol* 2001; 153(6): 1287-300.
- Hu J, Shibata Y, Zhu PP, Voss C, Rismanchi N, Prinz WA, *et al.* A class of dynamin-like GTPases involved in the generation of the tubular ER network. *Cell* 2009; 138(3): 549-61.
- Orso G, Pendin D, Liu S, Tosetto J, Moss TJ, Faust JE, *et al.* Homotypic fusion of ER membranes requires the dynamin-like GTPase atlastin. *Nature* 2009; 460(7258): 978-83.
- Anwar K, Klemm RW, Condon A, Severin KN, Zhang M, Ghirlando R, *et al.* The dynamin-like GTPase Sey1p mediates homotypic ER fusion in *S. cerevisiae*. *J Cell Biol* 2012; 197(2): 209-17.
- Zhang M, Wu F, Shi J, Zhu Y, Zhu Z, Gong Q, *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): 713-20.
- Bian X, Klemm RW, Liu TY, Zhang M, Sun S, Sui X, *et al.* Structures of the atlastin GTPase provide insight into homotypic fusion of endoplasmic reticulum membranes. *Proc Natl Acad Sci USA* 2011; 108(10): 3976-81.
- Liu TY, Bian X, Sun S, Hu X, Klemm RW, Prinz WA, *et al.* Lipid interaction of the C terminus and association of the transmembrane segments facilitate atlastin-mediated homotypic endoplasmic reticulum fusion. *Proc Natl Acad Sci USA* 2012; 109(32): E2146-54.
- Liu TY, Bian X, Romano FB, Shemesh T, Rapoport TA, Hu J. Cis and trans interactions between atlastin molecules during membrane fusion. *Proc Natl Acad Sci USA* 2015; 112(15): E1851-60.
- Yan L, Sun S, Wang W, Shi J, Hu X, Wang S, *et al.* Structures of the yeast dynamin-like GTPase Sey1p provide insight into homotypic ER fusion. *J Cell Biol* 2015; 210(6): 961-72.
- West M, Zurek N, Hoenger A, Voeltz GK. A 3D analysis of yeast ER structure reveals how ER domains are organized by membrane curvature. *J Cell Biol* 2011; 193(2): 333-46.
- Kim S, Kedan A, Marom M, Gavert N, Keinan O, Selitrennik M, *et al.* The phosphatidylinositol-transfer protein Nir2 binds phosphatidic acid and positively regulates phosphoinositide signalling. *EMBO Rep* 2013; 14(10): 891-9.
- Chang CL, Hsieh TS, Yang TT, Rothberg KG, Azizoglu DB, Volk E, *et al.* Feedback regulation of receptor-induced Ca²⁺ signaling mediated by E-Syt1 and Nir2 at endoplasmic reticulum-plasma membrane junctions. *Cell Rep* 2013; 5(3): 813-25.
- Chang CL, Liou J. Phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate homeostasis regulated by Nir2 and Nir3 proteins at endoplasmic reticulum-plasma membrane junctions. *J Biol Chem* 2015; 290(23): 14289-301.
- Kim YJ, Guzman-Hernandez ML, Wisniewski E, Balla T. Phosphatidylinositol-phosphatidic acid exchange by Nir2 at ER-PM contact sites maintains phosphoinositide signaling competence. *Dev Cell* 2015; 33(5): 549-61.
- Giordano F, Saheki Y, Idevall-Hagren O, Colombo SF, Pirruccello M, Milosevic I, *et al.* PI(4,5)P(2)-dependent and Ca²⁺-regulated ER-PM interactions mediated by the extended synaptotagmins. *Cell* 2013; 153(7): 1494-509.
- Idevall-Hagren O, Lu A, Xie B, De Camilli P. Triggered Ca²⁺ influx is required for extended synaptotagmin 1-induced ER-plasma membrane tethering. *EMBO J* 2015; 34(17): 2291-305.
- Wang QC, Zheng QX, Tan HY, Zhang B, Li XL, Yang YX, *et al.* TMCO1 is an ER Ca²⁺ load-activated Ca²⁺ channel. *Cell* 2016; 165(6): 1454-66.
- Schauder CM, Wu X, Saheki Y, Narayanaswamy P, Torta F, Wenk MR, *et al.* Structure of a lipid-bound extended synaptotagmin indicates a role in lipid transfer. *Nature* 2014; 510(7506): 552-5.
- Saheki Y, Bian X, Schauder CM, Sawaki Y, Surma MA, Klose C, *et al.* Control of plasma membrane lipid homeostasis by the extended synaptotagmins. *Nat Cell Biol* 2016; 18(5): 504-15.

- 27 Lees JA, Messa M, Sun EW, Wheeler H, Torta F, Wenk MR, *et al.* Lipid transport by TMEM24 at ER-plasma membrane contacts regulates pulsatile insulin secretion. *Science* 2017; doi: 10.1126/science.aah6171.
- 28 Chung J, Torta F, Masai K, Lucast L, Czaplá H, Tanner LB, *et al.* Intracellular transport. PI4P/phosphatidylserine countertransport at ORP5- and ORP8-mediated ER-plasma membrane contacts. *Science* 2015; 349(6246): 428-32.
- 29 Moser von Filseck J, Copic A, Delfosse V, Vanni S, Jackson CL, Bourguet W, *et al.* Intracellular transport. Phosphatidylserine transport by ORP/Osh proteins is driven by phosphatidylinositol 4-phosphate. *Science* 2015; 349(6246): 432-6.
- 30 Carrasco S, Meyer T. STIM proteins and the endoplasmic reticulum-plasma membrane junctions. *Annu Rev Biochem* 2011; 80: 973-1000.
- 31 Grigoriev I, Gouveia SM, van der Vaart B, Demmers J, Smyth JT, Honnappa S, *et al.* STIM1 is a MT-plus-end-tracking protein involved in remodeling of the ER. *Curr Biol* 2008; 18(3): 177-82.
- 32 Jozsef L, Tashiro K, Kuo A, Park EJ, Skoura A, Albinsson S, *et al.* Reticulon 4 is necessary for endoplasmic reticulum tubulation, STIM1-Orai1 coupling, and store-operated calcium entry. *J Biol Chem* 2014; 289(13): 9380-95.
- 33 Li J, Yan B, Si H, Peng X, Zhang SL, Hu J. Atlastin regulates store-operated calcium entry for nerve growth factor-induced neurite outgrowth. *Sci Rep* 2017; 7: 43490.
- 34 Bononi A, Missiroli S, Poletti F, Suski JM, Agnoletto C, Bonora M, *et al.* Mitochondria-associated membranes (MAMs) as hotspot Ca²⁺ signaling units. *Adv Exp Med Biol* 2012; 740: 411-37.
- 35 Raturi A, Simmen T. Where the endoplasmic reticulum and the mitochondrion tie the knot: the mitochondria-associated membrane (MAM). *Biochim Biophys Acta* 2013; 1833(1): 213-24.
- 36 Kornmann B, Currie E, Collins SR, Schuldiner M, Nunnari J, Weissman JS, *et al.* An ER-mitochondria tethering complex revealed by a synthetic biology screen. *Science* 2009; 325(5939): 477-81.
- 37 Kornmann B, Walter P. ERMES-mediated ER-mitochondria contacts: molecular hubs for the regulation of mitochondrial biology. *J Cell Sci* 2010; 123(Pt 9): 1389-93.
- 38 Toulmay A, Prinz WA. A conserved membrane-binding domain targets proteins to organelle contact sites. *J Cell Sci* 2012; 125(Pt1): 49-58.
- 39 AhYoung AP, Jiang J, Zhang J, Khoi Dang X, Loo JA, Zhou ZH, *et al.* Conserved SMP domains of the ERMES complex bind phospholipids and mediate tether assembly. *Proc Natl Acad Sci USA* 2015; 112(25): E3179-88.
- 40 Ingerman E, Perkins EM, Marino M, Mears JA, McCaffery JM, Hinshaw JE, *et al.* Dnm1 forms spirals that are structurally tailored to fit mitochondria. *J Cell Biol* 2005; 170(7): 1021-7.
- 41 Smirnova E, Griparic L, Shurland DL, van der Bliek AM. Dynamin-related protein Drp1 is required for mitochondrial division in mammalian cells. *Mol Biol Cell* 2001; 12(8): 2245-56.
- 42 Friedman JR, Lackner LL, West M, DiBenedetto JR, Nunnari J, Voeltz GK. ER tubules mark sites of mitochondrial division. *Science* 2011; 334(6054): 358-62.
- 43 Tieu Q, Nunnari J. Mdv1p is a WD repeat protein that interacts with the dynamin-related GTPase, Dnm1p, to trigger mitochondrial division. *J Cell Biol* 2000; 151(2): 353-66.
- 44 Otera H, Wang C, Cleland MM, Setoguchi K, Yokota S, Youle RJ, *et al.* Mff is an essential factor for mitochondrial recruitment of Drp1 during mitochondrial fission in mammalian cells. *J Cell Biol* 2010; 191(6): 1141-58.
- 45 Chen H, Detmer SA, Ewald AJ, Griffin EE, Fraser SE, Chan DC. Mitofusins Mfn1 and Mfn2 coordinately regulate mitochondrial fusion and are essential for embryonic development. *J Cell Biol* 2003; 160(2): 189-200.
- 46 de Brito OM, Scorrano L. Mitofusin 2 tethers endoplasmic reticulum to mitochondria. *Nature* 2008; 456(7222): 605-10.
- 47 Guo Y, Li D, Zhang S, Yang Y, Liu JJ, Wang X, *et al.* Visualizing intracellular organelle and cytoskeletal interactions at nanoscale resolution on millisecond timescales. *Cell* 2018; 175(5): 1430-42.
- 48 Rizzuto R, Pinton P, Carrington W, Fay FS, Fogarty KE, Lifshitz LM, *et al.* Close contacts with the endoplasmic reticulum as determinants of mitochondrial Ca²⁺ responses. *Science* 1998; 280(5370): 1763-6.
- 49 Szabadkai G, Bianchi K, Varnai P, De Stefani D, Wieckowski MR, Cavagna D, *et al.* Chaperone-mediated coupling of endoplasmic reticulum and mitochondrial Ca²⁺ channels. *J Cell Biol* 2006; 175(6): 901-11.
- 50 Csordas G, Varnai P, Golenar T, Roy S, Purkins G, Schneider TG, *et al.* Imaging interorganelle contacts and local calcium dynamics at the ER-mitochondrial interface. *Mol Cell* 2010; 39(1): 121-32.
- 51 Montessuit S, Somasekharan SP, Terrones O, Lucken-Ardjomande S, Herzig S, Schwarzenbacher R, *et al.* Membrane remodeling induced by the dynamin-related protein Drp1 stimulates Bax oligomerization. *Cell* 2010; 142(6): 889-901.
- 52 Hamasaki M, Furuta N, Matsuda A, Nezu A, Yamamoto A, Fujita N, *et al.* Autophagosomes form at ER-mitochondria contact sites. *Nature* 2013; 495(7441): 389-93.
- 53 De Matteis MA, Rega LR. Endoplasmic reticulum-Golgi complex membrane contact sites. *Curr Opin Cell Biol* 2015; 35: 43-50.
- 54 Hanada K, Kumagai K, Tomishige N, Yamaji T. CERT-mediated trafficking of ceramide. *Biochim Biophys Acta* 2009; 1791(7): 684-91.
- 55 Liu LK, Choudhary V, Toulmay A, Prinz WA. An inducible ER-Golgi tether facilitates ceramide transport to alleviate lipotoxicity. *J Cell Biol* 2017; 216(1): 131-47.
- 56 Mesmin B, Bigay J, Moser von Filseck J, Lacas-Gervais S, Drin G, Antonny B. A four-step cycle driven by PI(4)P hydrolysis directs sterol/PI(4)P exchange by the ER-Golgi tether OSBP. *Cell* 2013; 155(4): 830-43.
- 57 Rocha N, Kuijl C, van der Kant R, Janssen L, Houben D, Janssen H, *et al.* Cholesterol sensor ORP1L contacts the ER protein VAP to control Rab7-RILP-p150 Glued and late endosome positioning. *J Cell Biol* 2009; 185(7): 1209-25.
- 58 Alpy F, Rousseau A, Schwab Y, Legueux F, Stoll I, Wendling C, *et al.* STARD3 or STARD3NL and VAP form a novel molecular tether between late endosomes and the ER. *J Cell Sci* 2013; 126(Pt 23): 5500-12.
- 59 Wilhelm LP, Wendling C, Védie B, Kobayashi T, Chenard MP, Tomasetto C, *et al.* STARD3 mediates endoplasmic reticulum-

- to-endosome cholesterol transport at membrane contact sites. *EMBO J* 2017; 36(10): 1412-33.
- 60 Raiborg C, Wenzel EM, Pedersen NM, Olsvik H, Schink KO, Schultz SW, *et al.* Repeated ER-endosome contacts promote endosome translocation and neurite outgrowth. *Nature* 2015; 520(7546): 234-8.
- 61 Raiborg C, Wenzel EM, Pedersen NM, Stenmark H. ER-endosome contact sites in endosome positioning and protrusion outgrowth. *Biochem Soc Trans* 2016; 44(2): 441-6.
- 62 Friedman JR, Dibenedetto JR, West M, Rowland AA, Voeltz GK. Endoplasmic reticulum-endosome contact increases as endosomes traffic and mature. *Mol Biol Cell* 2013; 24(7): 1030-40.
- 63 Du X, Kumar J, Ferguson C, Schulz TA, Ong YS, Hong W, *et al.* A role for oxysterol-binding protein-related protein 5 in endosomal cholesterol trafficking. *J Cell Biol* 2011; 192(1): 121-35.
- 64 van der Kant R, Neefjes J. Small regulators, major consequences - Ca^{2+} and cholesterol at the endosome-ER interface. *J Cell Sci* 2014; 127(Pt 5): 929-38.
- 65 Rowland AA, Chitwood PJ, Phillips MJ, Voeltz GK. ER contact sites define the position and timing of endosome fission. *Cell* 2014; 159(5): 1027-41.
- 66 Stefano G, Renna L, Lai Y, Slabaugh E, Mannino N, Buono RA, *et al.* ER network homeostasis is critical for plant endosome streaming and endocytosis. *Cell Discov* 2015; 1: 15033.
- 67 Hoyer MJ, Chitwood PJ, Ebmeier CC, Striepen JF, Qi RZ, Old WM, *et al.* A novel class of ER membrane proteins regulates ER-associated endosome fission. *Cell* 2018; 175(1): 254-65, e14.
- 68 Walther TC, Chung J, Farese RV, Jr. Lipid droplet biogenesis. *Annu Rev Cell Dev Biol* 2017; 33: 491-510.
- 69 Wang H, Becuwe M, Housden BE, Chitraju C, Porras AJ, Graham MM, *et al.* Seipin is required for converting nascent to mature lipid droplets. *Elife* 2016; doi: 10.7554/eLife.16582.
- 70 Salo VT, Belevich I, Li S, Karhinen L, Vihinen H, Vigouroux C, *et al.* Seipin regulates ER-lipid droplet contacts and cargo delivery. *EMBO J* 2016; 35(24): 2699-716.
- 71 Wang CW, Miao YH, Chang YS. Control of lipid droplet size in budding yeast requires the collaboration between Fld1 and Ldb16. *J Cell Sci* 2014; 127(Pt 6): 1214-28.
- 72 Grippa A, Buxo L, Mora G, Funaya C, Idriissi FZ, Mancuso F, *et al.* The seipin complex Fld1/Ldb16 stabilizes ER-lipid droplet contact sites. *J Cell Biol* 2015; 211(4): 829-44.
- 73 Motley AM, Hettema EH. Yeast peroxisomes multiply by growth and division. *J Cell Biol* 2007; 178(3): 399-410.
- 74 David C, Koch J, Oeljeklaus S, Laernsack A, Melchior S, Wiese S, *et al.* A combined approach of quantitative interaction proteomics and live-cell imaging reveals a regulatory role for endoplasmic reticulum (ER) reticulon homology proteins in peroxisome biogenesis. *Mol Cell Proteomics* 2013; 12(9): 2408-25.
- 75 Yan M, Rachubinski DA, Joshi S, Rachubinski RA, Subramani S. Dysferlin domain-containing proteins, Pex30p and Pex31p, localized to two compartments, control the number and size of oleate-induced peroxisomes in *Pichia pastoris*. *Mol Biol Cell* 2008; 19(3): 885-98.