

刘冀珑,上海科技大学生命科学与技术学院教授。2007年在牛津大学建立实验室,于2016年加入上海科技大学。2007年在果蝇细胞里偶然发现一种蛇形亚细胞结构,并于2010年将之命名为"cytoophidium"("细胞蛇",复数"cytoophidia")。 自此,他和他的团队利用果蝇、酵母、古菌和哺乳动物等多种生物进行研究以 期全方位理解细胞蛇。

http://cytoophidia.com/

https://slst.shanghaitech.edu.cn/ljl/

# 细胞蛇

刘輩珑1,2\*

(<sup>1</sup>上海科技大学生命科学与技术学院,上海 201210; <sup>2</sup>英国牛津大学医学部生理解剖遗传学系,牛津 OX1 3PT)

**摘要** 随着成像技术以及分析技术的发展,人们对细胞的认识也越来越深入。在经典的有 膜细胞器发现几十年甚至一百年以后,越来越多的无膜细胞器被发现。这篇文章着重阐述一个新 型的无膜细胞器细胞蛇的发现、分布和进化保守性,并探讨细胞蛇和代谢纤维的结构、功能和应用。 关键词 细胞蛇; CTP 合酶; 代谢纤维; 代谢调控; 果蝇

# Cytoophidia

LIU Jilong<sup>1,2\*</sup>

(<sup>1</sup>School of Life Science and Technology, ShanghaiTech University, Shanghai 201210, China; <sup>2</sup>Department of Physiology, Anatomy and Genetics, University of Oxford, Oxford OX1 3PT, UK)

**Abstract** With the development of imaging and analytical techniques, the understanding of cells is becoming increasingly profound. Decades or even a hundred years after the discovery of classic membranous organelles, more and more membraneless organelles have been discovered. This review focuses on the discovery, distribution, and evolutionary conservatism of a new type of membraneless organelle, the cytoophidium, and explores the structure, function, and application of cytoophidia and metabolic filaments.

Keywords cytoophidium; CTP synthase; metabolic filament; metabolic regulation; Drosophila

# 1 细胞蛇的发现

2003年1月到2007年8月,我在美国卡内基研究 所 Joseph GALL教授的实验室做博士后研究。我们

在果蝇细胞的细胞核里找到了在人的细胞里发现了 一百多年的柯哈体(Cajal body)<sup>[1]</sup>。其间我们发现并 命名了两种亚细胞结构:细胞核里的组蛋白位点体

收稿日期: 2023-11-02 接受日期: 2023-12-13

\*通信作者。Tel: 021-20684533, E-mail: liujl3@shanghaitech.edu.cn, jilong.liu@dpag.ox.ac.uk

Received: November 2, 2023 Accepted: December 13, 2023

国家自然科学基金(批准号: 32370744、32350710195)和英国医学理事会(批准号: MC\_UU\_12021/3、MC\_U137788471)资助的课题

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.32370744, 32350710195) and the UK Medical Research Council (Grant No.MC\_UU\_12021/3, MC\_U137788471)

<sup>\*</sup>Corresponding author. Tel: +86-21-20684533, E-mail: liujl3@shanghaitech.edu.cn, jilong.liu@dpag.ox.ac.uk

(histone locus body)和细胞质里的U体(U body)<sup>[1-2]</sup>。 我们发现,U体常常与细胞质里的P体(P body)联系 在一起<sup>[2]</sup>。

2007年8月,我在英国牛津大学建立实验室,以 果蝇为模型研究与RNA生成调控相关的细胞亚结构。为了进一步探索U体和P体的功能关系,我用不 同的抗体来分别标记这两种结构<sup>[3]</sup>。其中一个标记 P体成分的抗体在雌性果蝇的卵巢的三种主要细胞 (即滤泡细胞、护理细胞和卵母细胞)中出现交叉识 别,染出一些细长条的结构。几乎每个滤泡细胞有 且只有一根细长结构,其分布及数量让我怀疑该细 长结构是纤毛。

之后我花了将近两年时间想证明这些结构是 纤毛。如果该结构是纤毛,我们应该可以观察到其 一端会像纤毛一样与中心粒靠近。然而令人意外的 是,或者说令人沮丧的是,我发现滤泡细胞的这个细 长结构与中心粒并没有对应的空间关系,提示该结 构不是纤毛。

不光是在滤泡细胞中,实际上在生殖细胞如护 理细胞和卵母细胞里也存在有大量的细长结构。在 光学显微镜下,我们可以观察到在果蝇的护理细胞 和卵母细胞中有两类细长结构:一类相对比较粗大, 数量相对较少;而另外一类比较短小(类似于线粒体 大小),但是量特别多。

经过一系列的标记,我发现这个结构在果蝇的 雌性生殖系统的不同细胞里广泛分布。鉴于它的 形状是像蛇形的,参考一名同事的建议,我将这个 细长结构命名为"cytoophidium"。该英文词是由两 个希腊语汇衍生而来的。"cyto"是希腊语的"细胞"; "ophidium"是希腊语的"蛇"。因此"cytoophidium"的 意思是"细胞蛇"。细胞蛇英文的单数形式是"cytoophidium",其复数形式为"cytoophidia"。

进一步我发现细胞蛇里包含代谢酶 CTP合酶。 CTP合酶是产生核苷酸CTP的关键酶, CTP可以通过 CTP合酶从UTP从头合成。CTP是一种类似于 ATP 的高能分子。ATP合酶定位于细胞器, 如线粒体和 叶绿体。CTP合酶作为一种生物化学教科书中的经 典代谢酶, 已经被广泛研究了 70年<sup>[4-13]</sup>。相比之下, 人们对CTP合酶的亚细胞分布知之甚少。

2010年我发表论文,文中描述了CTP合酶在果 蝇细胞中形成细胞蛇<sup>[14]</sup>。细胞蛇不仅存在于果蝇卵 巢的主要细胞类型中,而且广泛存在于其他组织,如 大脑、肠道、气管、睾丸、副腺、唾液腺和淋巴腺中。同一年稍后,来自美国的两个研究团队报道在 细菌和酿酒酵母中CTP合酶也形成类似细胞蛇的纤 维状结构<sup>[15-16]</sup>。

# 2 细胞蛇的分布

在果蝇的一龄幼虫和二龄幼虫的很多组织里 面,细胞蛇是普遍存在的<sup>[17]</sup>。而在三龄幼虫中,细胞 蛇的分布是有选择性的。例如,三龄幼虫大脑干细 胞里细胞蛇分布丰富,而在分化的神经细胞里细胞 蛇明显变少乃至消失<sup>[18]</sup>。在三龄幼虫唾液腺里,根 部二倍体的细胞有细胞蛇,暗示细胞蛇在增殖旺盛 的细胞里,或许与DNA复制有关<sup>[14,17]</sup>。在唾液腺大 的多倍体细胞中细胞蛇分布减少或消失。在三龄幼 虫脂肪体中,细胞蛇大多分布在细胞和细胞交界的 地方<sup>[17]</sup>(图1)。在果蝇成虫的肠道内,细胞蛇多分布 在干细胞里<sup>[19]</sup>。

在雌性果蝇生殖系统里面,细胞蛇分布在滤泡 细胞、护理细胞和卵母细胞中<sup>[14]</sup>。细胞蛇在早期滤 泡细胞里有零星分布,平均每个细胞包含一个,然而 长度比较短。当滤泡细胞发育到10A阶段,细胞蛇 的长度达到最大<sup>[20]</sup>。很有意思的是,在10B阶段细胞 蛇骤然消失<sup>[20-21]</sup>。

我们实验室有项工作表明,细胞蛇的分布与转录因子*MYC*(myelocytomatosis)基因的表达量是正相关的。例如10B阶段的滤泡细胞核中的*MYC*表达量也骤然降低<sup>[20]</sup>。如果过量表达*MYC*,则可以在11和12阶段的滤泡细胞中重新出现细胞蛇。在早期滤泡细胞中,过量表达*MYC*可以让细胞蛇长度增加<sup>[20]</sup>。 敲低*MYC*则使细胞蛇的长度缩短<sup>[20]</sup>。

在卵室和卵室之间有单列柄细胞相连,每个端 部柄细胞与卵室上的两个极细胞毗邻。有意思的是, 在柄细胞和极细胞里不能形成细胞蛇,对应的这些 细胞的*MYC*表达量也相对较低<sup>[22]</sup>。*MYC*的表达与细 胞蛇的形成和维持呈正相关。MYC本身分布在细 胞核,它调控很多基因,包括与生长相关的基因。一 个可能的解释是MYC蛋白结合CTP合酶基因,调节 CTP合酶的mRNA表达,从而影响CTP合酶蛋白量, 进而影响细胞蛇的形成。

在护理细胞和卵母细胞里可以观察到粗大和 细小的两类细胞蛇,两者之间保持动态平衡<sup>[14]</sup>。此 外,细胞蛇还可以通过细胞间的细胞质桥梁在细胞



图1 细胞蛇(CTP合酶, 红色)位于果蝇脂肪体细胞的边界(绿色)(细胞核显示为白色; 原图由刘竞男提供) Fig.1 Cytoophidia (CTP synthase, red) locate at the boundary (green) of *Drosophila* fat body cells (cell nuclei appear white; image provided by LIU Jingnan)

之间穿行<sup>[23]</sup>。即便在过量表达CTP合酶导致细胞蛇 变长变粗的情形下,我们也可以观察到细胞蛇从护 理细胞通过细胞质桥梁转运到卵母细胞的现象,说 明细胞蛇对卵的发育重要<sup>[23]</sup>。在雄性果蝇生殖系统 睾丸顶部的细胞中明显分布有细胞蛇,但在精子发生 后期不明显<sup>[14,24-25]</sup>。在雄性附腺的主要细胞中可以观 察到细胞蛇,其分布于细胞与细胞交界区域<sup>[24-25]</sup>。

除了果蝇外,在别的物种里面我们也发现了细胞蛇。在斑马鱼中,CTP合酶两个亚型都能够在培养的细胞中形成细胞蛇<sup>[26]</sup>。在正常条件下,细胞蛇存在于仔鱼和成鱼的多个组织中,而用CTP合酶抑制剂6-二氮杂-5-氧代-1-异亮氨酸(DON)处理可以在某些组织中诱导形成更多的细胞蛇。

在人类癌症如肝癌细胞中的细胞蛇比较丰富, 然而在临近的健康组织中细胞蛇就相对比较少<sup>[27]</sup>。 通过检查成年小鼠的主要器官,研究发现细胞蛇在 特定胸腺细胞群中增多<sup>[28]</sup>。这些细胞经历快速的细 胞增殖,其中细胞蛇的形成与活跃的糖酵解代谢有 关。在人的细胞和酵母细胞中,我们也发现细胞蛇 同时存在于细胞质和细胞核中<sup>[29-30]</sup>。

# 3 细胞蛇的保守性

CTP合酶是非常保守的代谢酶。细胞蛇的保守 性表现在CTP合酶可以在细菌、古菌和真核生物所 有三个生命域的细胞里形成细胞蛇<sup>[14-16,25-26,31-33]</sup>。

以嗜盐古菌西班牙盐盒菌为例,研究发现CTP

合酶可以在该古菌细胞中形成长条形的结构,形态 上与真核细胞中观察的细胞蛇一致<sup>[33]</sup>。有意思的 是,在高盐浓度里培养嗜盐古菌,出现细胞蛇的细 胞比例不高;但是在低盐浓度下培养嗜盐古菌,形 成细胞蛇的细胞比例急剧增加。来源于大肠杆菌 的CTP合酶如果表达在嗜盐古菌里也能形成细胞 蛇,说明CTP合酶在异种环境中也具备形成细胞蛇 的能力。

在细菌如新月弧菌和大肠杆菌等中,CTP合酶 都能够形成细胞蛇结构<sup>[15]</sup>。在新月弧菌中细胞蛇 主要分布在弧形的内侧。GITAI实验室<sup>[15]</sup>发现CTP 合酶过量表达或者发生突变会改变细胞蛇的形态, 也会进一步影响细胞的形状。由此研究者提出在 新月弧菌中,细胞蛇对于维持细胞形态起了关键作 用。在杆状的大肠杆菌里面,CTP合酶可以形成明 显的细胞蛇,但其分布规律没有像新月弧菌那么突 出。

在真核生物中,我们目前已知以CTP合酶为主的细胞蛇存在于果蝇的不同组织里面,以及脊椎动物斑马鱼、小鼠、大鼠和人类的细胞中<sup>[14,16-17,21,25-26,30]</sup>。 细胞蛇也在植物细胞中被发现<sup>[34]</sup>。在真菌如酿酒酵母和裂殖酵母的细胞中CTP合酶都可以形成细胞蛇<sup>[16,29,35-42]</sup>。

#### 4 细胞蛇稳态调控

在裂殖酵母中, CTP合酶不但在细胞质里形成

细胞蛇,也在细胞核里形成细胞蛇<sup>[29]</sup>。有意思的是, 在细胞质和细胞核中分别只有一根细胞蛇。因此, 当裂殖酵母细胞在一分为二的时候,细胞质细胞蛇 和细胞核细胞蛇是如何传到下一代的呢?

令人惊讶的是,研究观察到细胞质和细胞核的 细胞蛇在细胞分裂过程中都是不对称遗传的<sup>[29]</sup>。延 时研究表明,细胞蛇是动态的<sup>[29]</sup>。一旦母细胞分裂, 细胞质和细胞核的细胞蛇就会独立地遗传到两个子 细胞中的一个中去。尽管这两个子细胞在形态上彼 此不同,但它们从母细胞继承细胞蛇的机会相似,这 表明细胞蛇的分配是一个随机过程。

因此在两个子代细胞中, 按细胞蛇的有无组合 有四种:(1)有细胞质细胞蛇, 有细胞核细胞蛇;(2) 有细胞质细胞蛇, 无细胞核细胞蛇;(3)无细胞质细 胞蛇, 有细胞核细胞蛇;(4)无细胞质细胞蛇, 无细胞 核细胞蛇。如果从细胞质细胞蛇的角度来看, 长时 间动态成像显示, 没有遗传到细胞蛇的那个细胞在 分裂后不久逐渐出现点状的结构, 这些点状结构是 动态的、跳跃的, 它们可以加长, 然后融合, 最后到 一定的时间会在细胞质中形成一个大的单根的细胞 蛇。

相反,对于遗传有细胞质细胞蛇的那个子代细胞,细胞蛇的数量保持稳定,长度也基本稳定。这个细胞如果继续分裂,老的细胞蛇可以传给两个子代细胞中的一个,如此周而复始。如果从细胞蛇的维持角度来讲,这个细胞蛇是"长生不老"的。当然,CTP合酶分子是如何进出细胞蛇来维持其稳态的则需要进一步研究。

裂殖酵母和酿酒酵母细胞中细胞蛇的出现与 其生长状态有关,但是两种细胞中细胞蛇的维持 时期非常不同。在裂殖酵母中,绝大多数对数生长 期的细胞有明显的细胞蛇,但是到平台期细胞蛇 在大多数细胞里消失<sup>[29,35]</sup>。在酿酒酵母中的对数 生长期的细胞中出现细胞蛇的几率比较小;而在 平台期出现细胞蛇的细胞比例显著增多<sup>[41]</sup>。以谷氨 酰胺利用酶为例,培养条件会影响代谢纤维的出现 和其长度<sup>[39,41]</sup>。包括CTP合酶在内,另几个谷氨酰胺 利用酶也出现在对数期较少而平台期细胞蛇增多的 现象<sup>[41]</sup>。

对比细胞蛇在裂殖酵母和酿酒酵母中的不同 表现可能会给细胞蛇的组装机制研究提供思路。培 养基的不同条件,如pH值、渗透压、关键化合物、 温度等,以及细胞周期的差别都有可能导致细胞蛇 的组装出现波动<sup>[29,36-42]</sup>。一方面很多代谢酶形成细 胞蛇是保守的<sup>[13,27]</sup>;但另一方面细胞蛇具体的调控 机制也显示了复杂性。

# 5 细胞蛇与代谢纤维

CTP合酶在细胞里面能够形成蛇形结构,这在 光学显微镜下可以观察到。纯化后的CTP合酶在 体外合适的条件(比如与底物、产物或者异构调节 因子结合)下,利用电子显微镜可以观察到纯化后的 CTP合酶中的纤维状的结构。为了区分这两个层次 的结构,我们把细胞蛇定义为在光学显微镜下就能 够看到的细微结构,而把在电子显微镜下才能看到 的细长结构称为"(代谢)纤维"<sup>[43]</sup>。包括CTP合酶在内, 越来越多的代谢酶被发现可以形成代谢纤维。

除了这一区别外,细胞蛇与纤维拥有如下三个 共同的基本特征:(1)细胞蛇与代谢纤维均为长条形 结构(不同于球形或点状结构);(2)细胞蛇与代谢纤 维均为无膜结构(不同于经典的有膜细胞器);(3)细 胞蛇与代谢纤维均以代谢酶为基本组成成分(以区 别于传统的非代谢酶的细胞骨架)。

关于代谢纤维和细胞蛇如何组装以及两者之间的关系仍然有很大的空白。我们最近的一项研究表明,细胞蛇呈现出网格状的结构<sup>[44]</sup>。细胞蛇可能是多重代谢纤维的动态组合,其具体排列规则需要进一步研究。

# 6 代谢纤维的结构

果蝇CTP合酶结合底物和产物均可以在体外形成纤维<sup>[45]</sup>。CTP合酶包括氨连接酶结构域和谷氨酰胺酰胺转移酶结构域。CTP合酶的活性受四个核苷酸和谷氨酰胺结合的调节。谷氨酰胺作为氨供体用于UTP向CTP的ATP依赖性转化,而第四核苷酸GTP则作为变构激活剂。我们利用冷冻电镜解析CTP合酶的高分辨结构<sup>[46]</sup>(图2)。底物结合和产物结合的果蝇CTP合酶纤维两者的构象有很大差别<sup>[45-46]</sup>。虽然两者均是以X形状的CTP合酶四聚体为基本单位的螺旋,但是两者的旋转角度和上升距离均不同。

GTP和氨基酸残基之间的相互作用表明,GTP 通过直接阻断氨泄漏和稳定氨通道来协调两个结 构域的反应<sup>[46]</sup>(图3)。此外,利用冷冻电镜也捕捉到 了ATP依赖性UTP磷酸化中间体,并确定了氨连接



图2 CTP合酶四个分子组成X型的四聚体结构(绘图: 刘卓佳)

Fig.2 The four molecules of CTP synthase form an X-type tetramer structure (illustrated by LIU Julia)



图3 GTP像塞子一样堵住CTP合酶中的氨气通道出口(绘图: 刘卓佳) Fig.3 GTP acts as a stopper to block the outlet of the ammonia channel in CTP synthase (illustrated by LIU Julia)

酶上的相互作用残基<sup>[46]</sup>。在ATP结合位点的非经典 CTP结合表明了另一层的反馈抑制关系。

双功能酶Δ<sup>1</sup>-吡咯啉-5-羧酸合成酶(Δ<sup>1</sup>-pyrroline-5-carboxylate synthase, P5CS)对脯氨酸和鸟氨酸的合 成至关重要,在人类健康和农业中发挥着重要作用。 P5CS编码基因(*ALDH18A1*)的致病性突变会导致人 类的神经皮肤综合征和皮肤松弛结缔组织疾病的产 生,P5CS缺乏会严重损害植物抵抗逆境的能力。我 们最近发现P5CS在体内形成细胞蛇,在体外形成代 谢纤维<sup>[47]</sup>。

P5CS有两个结构域,分别为GK(glutamate kinase)和GPR(γ-glutamyl phosphate reductase)。使用 冷冻电子显微镜,我们解析了果蝇全长P5CS在三种 状态下的结构。我们分别观察到了GK和GPR结构 域不同的配体结合状态和构象变化<sup>[48]</sup>。P5CS四聚 体呈哑铃状结构,其中四个GK在之间形成哑铃把 手,四个GPK以两两组合的形式分别在两端形成哑 铃主体。这个哑铃结构在游离状态下是不稳定的。

但是,果蝇P5CS的四聚体可以组装成双螺旋结构,并通过多个界面保持稳定。干扰这些界面的 点突变阻止了P5CS组装为纤维,并大大降低了酶活 性。研究结果表明,形成代谢纤维对GK和GPR结构 域之间的配位至关重要,为P5CS纤维的催化功能提 供了结构基础<sup>[48]</sup>。

植物拟南芥的P5CS在体外也可以形成纤维<sup>[49]</sup>。 结构解析发现, 拟南芥P5CS纤维的构象和果蝇P5CS 纤维的构象有很大的不同<sup>[49]</sup>。在拟南芥P5CS纤维中, GK结构域本身单独就可以形成纤维, 不依赖于其与 GPR的相互关系<sup>[49]</sup>。此外, 拟南芥P5CS纤维的构象 和果蝇P5CS纤维中相邻四聚体旋转的角度也不一 样。在拟南芥P5CS纤维中, 相邻四聚体以近乎90度 角旋转, 相邻四聚体之间的GK和GK之间的作用力 比较大, 足够维持这个纤维状的结构<sup>[49]</sup>。

磷酸核糖焦磷酸是嘌呤和嘧啶核苷酸、组氨酸、色氨酸以及辅因子NAD和NADP生物合成的关键中间体。PRPP合成酶(PRPS)将焦磷酸基团从ATP转移到核糖-5-磷酸上,产生5-磷酸核糖-1-焦磷酸(PRPP),这是几种代谢产物(包括核苷酸、二核苷酸和一些氨基酸)生物合成的关键中间体。PRPS的异常调节与人类疾病,包括Arts综合征、视网膜营养不良和痛风性关节炎等有关。PRPS可以在真核生物和原核生物中形成细胞蛇<sup>[50]</sup>。

利用冷冻电镜,大肠杆菌PRPS的两种不同的纤 维结构得到解析<sup>[50]</sup>。这两种纤维的形成是由不同配 体的结合控制的。一种纤维类型对变构抑制具有抗 性。结构比较揭示了调节柔性环的构象变化,其可 能调节变构抑制剂和底物ATP的结合。一个非经典 变构AMP/ADP结合位点可以稳定调节柔性环的构 象。

人类基因组中编码有三种PRPS亚型。虽然人 PRPS1(human PRPS1, hPRPS1)和人PRPS2(hPRPRS2) 在大多数组织中表达,但人PRPS3(hPRPDS3)仅在睾 丸中表达。尽管 hPRPS1和 hPRPS2具有95%的序列 同一性,但hPRPS3已被证明对变构抑制不太敏感,并 且在某些癌症中在翻译水平上特异性上调。

hPRPS2六聚体在具有变构/竞争性抑制剂ADP 的条件下堆叠成纤维<sup>[51]</sup>。ADP在经典变构位点和催 化活性位点的结合模式被清楚地确定。破坏六聚体 间相互作用的点突变阻止hPRPS2聚合并导致催化 活性显著降低。hPRPS1也能在体外形成纤维,其结 构最近也被解析<sup>[52]</sup>。

# 7 细胞蛇的功能

果蝇是一个非常好的遗传学模式生物。果蝇遗 传学为我们理解细胞蛇的功能提供了很好的实验手 段。下面着重以果蝇为代表来讲述细胞蛇在不同组 织细胞里的功能。

#### 7.1 细胞蛇与脂肪体细胞黏连

果蝇幼虫脂肪体细胞分布有细胞蛇。在一龄和 二龄幼虫里其脂肪体的细胞有大量细胞蛇,但在三 龄幼虫的脂肪体里则相对少一点<sup>[17]</sup>。在三龄幼虫的 脂肪体里,CTP合酶可以形成细胞蛇,主要分布在细 胞皮层,以及细胞和细胞交界处。我们最近的工作 发现,如果把CTP合酶敲低则会导致细胞蛇解聚,也 会让脂肪体的细胞之间出现间隙,影响细胞黏着<sup>[53]</sup>。 如果对CTP合酶四聚体相互作用界面的关键氨基酸 残基进行点突变,让细胞蛇不能形成,也会影响细胞 黏着,让细胞之间出现空隙<sup>[53]</sup>。

进一步研究表明,CTP合酶和细胞蛇组装影 响整合素分布和四型胶原的点状沉积。四型胶原 和整合素信号共同调节脂肪体细胞中细胞蛇的组 装<sup>[53]</sup>。因此,细胞蛇组装与整合素黏着复合物出 现正反馈,从而耦合果蝇脂肪组织的组织结构和代 谢<sup>[53]</sup>(图4)。



A: 对照脂肪组织的示意图, 其组织和结构基于由胶原IV整合素结合介导的紧密脂肪细胞基质黏着。A': 一种信号反馈回路, 涉及细胞外基质中的细胞蛇和IV型胶原。细胞蛇促进IV型胶原mRNA的表达和蛋白质沉积, 而这反过来又通过与其整合素的结合, 对脂肪细胞的黏着至关重要。 IV型胶原的结合激活整合素信号转导, 整合素信号转导通过包括PINCH和ILK在内的下游成分促进细胞蛇的形成。此外, 细胞蛇的形成是一个 多步骤的过程, 包括早期的不依赖整合素的步骤, 其中不稳定的(U)单体和四聚体形成稳定的(S)聚合物; 它还包括整合素信号依赖的后期步骤, 其中CTPS的聚合物形式经历更高阶的组装步骤, 并形成显微镜下更易见的代谢纤维。B: 突变脂肪组织, 细胞–基质黏着作用减弱, 组织和组织 结构有缺陷。B': 脂肪细胞黏着可以通过沿着信号反馈回路的任何一个步骤而减弱。2022研究中实验操作的步骤用红色和星号(\*)标记。结果 显示, 整合素介导的细胞黏着减少, 导致脂肪结构缺陷。

A: schematic diagram of the control adipose tissue, whose organization and architecture is based on tight adipocyte-matrix adhesions as mediated by collagen IV-integrin binding. A': a signaling feedback looping involving both cytoophidia and Collagen IV in the extracellular matrix. Cytoophidium promotes Col IV (collagen IV) mRNA expression and protein deposition, which in turn, via binding to integrin, is essential for adipocyte adhesion. Binding by collagen IV activates integrin signaling, which via downstream components including PINCH and ILK, promotes cytoophidium formation. Furthermore, cytoophidium formation is a multistep process, including an early, integrin-independent step where unstable (U) monomers and tetramers form stable (S) polymers. It also include a late step that is integrin signaling dependent, where the polymer forms of CTPS undergo a higher order assembling step and form the microscopically more visible metabolic filaments. B: mutant adipose tissue with weakened cell-matrix adhesion and defective organization and tissue architecture. B': adipocyte adhesion can be weakened by any one of the steps along the signaling feedback loop. The steps that were experimentally manipulated in the current study were marked in red and by an asterisk (\*). As a result, integrin-mediated cell adhesion is reduced, resulting in defective adipose architecture.

图4 细胞蛇组装与整合素黏着复合物出现正反馈,从而耦合果蝇脂肪组织的组织结构和代谢(绘图: 刘竞男) Fig.4 Positive feedback between cytoophidium assembly and integrin adhesion complex, coupling the tissue structure and metabolism of *Drosophila* adipose tissue (illustrated by LIU Jingnan)

# 7.2 细胞蛇与体重维持

果蝇也是一种有效的代谢性疾病模型。高脂 饮食诱导的肥胖是一种包括遗传、生理、行为和环 境在内的多因素疾病。CTP合酶在脂肪体中发挥作用, 在调节果蝇的体重和饥饿抵抗力方面至关重要<sup>[54]</sup>。 给果蝇饲喂高脂食物可以诱导肥胖、促进CTP合酶 转录,并使得幼虫脂肪细胞中的细胞蛇增长<sup>[54]</sup>。

消耗脂肪体内的CTP合酶可以预防高脂食物饲

喂诱导的肥胖,包括体重增加、脂肪细胞膨胀和脂质积聚<sup>[54]</sup>。此外,不能形成细胞蛇的CTP合酶突变也可阻止脂肪细胞扩张并下调脂肪生成基因表达<sup>[54]</sup>。这些发现不仅在CTP合酶和脂质稳态之间建立功能联系,而且提示通过操纵细胞蛇的组装来治疗高脂饮食诱导的肥胖中的潜在作用。

**7.3 细胞蛇与滤泡上皮的极性及完整** 果蝇雌性生殖系统的滤泡上皮具有顶端和基 底极性。在滤泡细胞中,细胞蛇分布在基底侧。如 果顶端极性调节因子被敲低,细胞蛇就会变得不稳 定并分布异常<sup>[55]</sup>。敲除基底外侧极性调节因子可干 扰细胞极性,但是对细胞蛇维持没有显著影响。研 究结果表明,细胞蛇是通过滤泡上皮顶端极性调节 因子实现基底外侧的极化分布来维持的。

如果CTP合酶点突变造成细胞蛇解聚,我们就 会观察到滤泡细胞的侵入和异质性增加。这种缺陷 与CTP合酶形成代谢纤维和细胞蛇的能力有关<sup>[56]</sup>。 滤泡上皮的完整性受到损伤,影响细胞之间的均匀 应力。在野生型果蝇里,典型的滤泡细胞一般是六 边棱柱形。如果细胞蛇不能均匀地在各个滤泡细胞 形成,就会出现有的滤泡细胞变成四边、五边形或 者是七边、八边棱柱形等形状。综合数据表明,细 胞蛇在维持滤泡上皮的完整性方面发挥着重要作 用。

#### 7.4 细胞蛇与副腺主细胞的双核系统

尽管大多数细胞是单核细胞,但细胞核可以以 双核甚至多核的形式存在,以对不同的生理过程作 出反应。果蝇的雄性副腺是产生精液的器官,其主 要细胞为双核细胞。CTP合酶在雄性副腺双核主细 胞中形成细胞蛇,其主要位于细胞边界<sup>[25]</sup>。

破坏细胞蛇形成的CTP合酶点突变导致主细胞的成核模式发生了变化,包括单核和双核的垂直分布。尽管过表达CTP合酶H355A点突变可以恢复 CTP合酶蛋白的水平,但它既不会形成细胞蛇,也不 会消除异常的成核模式。因此,在雄性果蝇的副腺 主细胞中,细胞蛇的形成和双核化的维持之间存在 着意想不到的功能联系。

#### 7.5 细胞蛇与大脑发育

在果蝇幼虫视叶的神经上皮干细胞中有大量的细胞蛇。CTP合酶是中枢神经系统正常视叶发育 所必需的<sup>[18]</sup>。在CTP合酶突变或敲降情况之下,幼 虫大脑变小且视叶发育不全。过表达CTP合酶也会 损害视叶的发育,特别是通过阻断其从神经上皮向 神经母细胞的过渡<sup>[18]</sup>。总之,CTP合酶的正常剂量 和形成细胞蛇的能力在维持果蝇的视叶稳态中发 挥作用<sup>[18]</sup>。

#### 7.6 细胞蛇与肠道稳态

CTP 合酶在果蝇中肠的一个细胞亚群中形成 细胞蛇。细胞蛇以相似的比例存在于肠干细胞和 成肠细胞中<sup>[19]</sup>。饥饿后再喂养和右旋糖酐硫酸钠 喂养均可诱导肠干细胞增殖并延长细胞蛇。敲除 CTP合酶可抑制肠干细胞增殖。破坏细胞蛇可以 抑制右旋糖酐硫酸钠诱导的肠干细胞增殖。因此, CTP合酶的表达水平和形成细胞蛇对果蝇的肠道稳 态非常重要<sup>[19]</sup>。

致癌因子Ras调节果蝇肠道中细胞蛇的形成。 过表达活性Ras在肠干细胞和成肠细胞中诱导细长 且丰富的细胞蛇<sup>[57]</sup>。敲除这两种细胞中的CTP合酶 可抑制活性Ras异位表达诱导的过度增殖表型。此 外,在过表达活性Ras的背景下,破坏细胞蛇的形 成增加了增殖细胞的数量。这些结果证明了Ras、 CTP合酶及细胞蛇之间的联系。

#### 8 未来展望

对于细胞蛇领域的思考可以参见一些综述文 献<sup>[31-32,43,58-59]</sup>。对于细胞蛇的未来展望,我也想从几 个方面来考虑。

第一个是关于了解细胞蛇的基本特征。细胞蛇 可以被视为细胞内分离的一种基本方式。形成细胞 蛇的特性并不局限于CTP合酶,许多代谢酶也具有 形成细胞蛇的特性。细胞蛇的形成不同于传统的基 于膜的分离方法和典型的液-液相分离。还有许多 有趣的科学问题有待回答。例如,为什么一些代谢 酶可以形成细胞蛇,而另一些则不能?同一种代谢 酶可以在不同的条件下或用不同的配体形成构象截 然不同的代谢纤维;这些具有不同构象的代谢纤维 是如何重新被组装并组装成细胞蛇的?除了代谢纤 维外,细胞蛇中还有其他非常重要的成分可以像胶 水一样将代谢纤维粘在一起吗?细胞蛇的分子是如 何与外界交流的?

第二个是细胞蛇组装的调控。除了pH值、渗 透压、水势能、离子浓度和温度等环境因素外,许 多基因可能也对细胞蛇的组装具有促进或抑制作 用。大规模全基因组筛选是寻找细胞蛇组装关键因 素的有效策略。不同代谢酶组装和解聚成纤维和细 胞蛇是否有统一的逻辑?细胞蛇的组装有顺序吗? 如果有,如何维护此顺序?不同代谢酶形成的细胞 蛇之间是否存在协同关系?

第三个是细胞蛇与经典膜细胞器之间的关系。 例如,细胞蛇与内质网、线粒体、高尔基体和溶酶 体等细胞器之间是否存在空间和功能关联?细胞蛇 的产生和解聚与这些细胞器有关吗? 除了对细胞蛇的基础研究外,它们在医学、农 业和材料方面的应用仍有很大潜力。细胞蛇的形成 为代谢酶的调节增加了一层新的内容。我们能否利 用形成细胞蛇的特性,人工操纵关键酶,从而影响病 理的发生,为医学和制药领域提供思路。在农业中, 细胞蛇的形成调控在育种、植物抗逆性和抗旱性方 面也具有潜在的应用价值。

值得一提的是,作为一种小型代谢纤维,它具 有自组装和协同组装的特点。我们可以利用细胞蛇 的组装特性来制造用于药物递送的微型材料和用于 小蛋白质的冷冻电镜支架吗?细胞蛇可以用来在细 胞内制备小分子机器来执行特定任务吗?自2007年 发现细胞蛇以来,仅仅过去了16年。关于细胞蛇的 基本特征、它们在细胞和组织水平上的功能以及它 们在医学、农业、材料和其他领域的应用,仍有许 多有趣的问题需要探索。

#### 参考文献 (References)

- LIU J L, MURPHY C, BUSZCZAK M, et al. The Drosophila melanogaster Cajal body [J]. J Cell Biol, 2006, 172(6): 875-84.
- [2] LIU J L, GALL J G. U bodies are cytoplasmic structures that contain uridine-rich small nuclear ribonucleoproteins and associate with P bodies [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2007. 104(28): 11655-9.
- [3] LEE L, DAVIES S E, LIU J L. The spinal muscular atrophy protein SMN affects *Drosophila* germline nuclear organization through the U body-P body pathway [J]. Dev Biol, 2009, 332(1): 142-55.
- [4] WILLIAMS J C, KIZAKI H, WEBER G, et al. Increased CTP synthetase activity in cancer cells [J]. Nature, 1978, 271(5640): 71-3.
- [5] WEINFELD H, SAVAGE C R, MCPARTLAND R. CTP synthetase of bovine calf liver [J]. Methods Enzymol, 1978, 51: 84-90.
- [6] LEVITZKI A, KOSHLAND D E, Jr. Role of an allosteric effector. Guanosine triphosphate activation in cytosine triphosphate synthetase [J]. Biochemistry, 1972, 11(2): 241-6.
- [7] LEVITZKI A, KOSHLAND D E, Jr. Ligand-induced dimer-totetramer transformation in cytosine triphosphate synthetase [J]. Biochemistry, 1972, 11(2): 247-53.
- [8] LEVITZKI A, STALLCUP W B, KOSHLAND D E, Jr. Halfof-the-sites reactivity and the conformational states of cytidine triphosphate synthetase [J]. Biochemistry, 1971, 10(18): 3371-8.
- [9] LEVITZKI A, KOSHLAND D E, Jr. Cytidine triphosphate synthetase. Covalent intermediates and mechanisms of action [J]. Biochemistry, 1971, 10(18): 3365-71.
- [10] SAVAGE C R, WEINFELD H. Purification and properties of mammalian liver cytidine triphosphate synthetase [J]. J Biol Chem, 1970, 245(10): 2529-35.
- [11] LEVITZKI A, KOSHLAND D E, Jr. Negative cooperativity in regulatory enzymes [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1969, 62(4):

1121-8.

- [12] LONG C W, PARDEE A B. Cytidine triphosphate synthetase of *Escherichia coli* B. I. Purification and kinetics [J]. J Biol Chem, 1967, 242(20): 4715-21.
- [13] CHAKRABORTY K, HURLBERT R B. Role of glutamine in the biosynthesis of cytidine nucleotides in *Escherichia coli* [J]. Biochim Biophys Acta, 1961, 47: 607-9.
- [14] LIU J L, Intracellular compartmentation of CTP synthase in *Drosophila* [J]. J Genet Genomics, 2010, 37(5): 281-96.
- [15] INGERSON MAHAR M, BRIEGEL A, WERNER JOHN N, et al. The metabolic enzyme CTP synthase forms cytoskeletal filaments [J]. Nat Cell Biol, 2010, 12(8): 739-46.
- [16] NOREE C, SATO B K, RISA M BROYE R M, et al. Identification of novel filament-forming proteins in *Saccharomyces cerevisiae* and *Drosophila* melanogaster [J]. J Cell Biol, 2010, 190(4): 541-51.
- [17] ZHANG Y B, LIU J N, LIU J L. The atlas of cytoophidia in *Drosophila* larvae [J]. J Genet Genomics, 2020, 47(6): 321-31.
- [18] TASTAN O Y, LIU J L. CTP synthase is required for optic lobe homeostasis in *Drosophila* [J]. J Genet Genomics, 2015, 42(5): 261-74.
- [19] ZHOU Y F, LIU J N, ZHANG Y B, et al. *Drosophila* intestinal homeostasis requires CTP synthase [J]. Exp Cell Res, 2021, 408(1): 112838.
- [20] AUGHEY G N, GRICE S J, LIU J L. The interplay between Myc and CTP synthase in *Drosophila* [J]. PLoS Genet, 2016, 12(2): e1005867.
- [21] AZZAM G, LIU J L. Only one isoform of *Drosophila melano-gaster* CTP synthase forms the cytoophidium [J]. PLoS Genet, 2013, 9(2): e1003256.
- [22] WU Z, LIU J L. CTP synthase does not form cytoophidia in Drosophila interfollicular stalks [J]. Exp Cell Res, 2022, 418(1): 113250.
- [23] WU Z, LIU J L. Cytoophidia respond to nutrient stress in *Drosophila* [J]. Exp Cell Res, 2019, 376(2): 159-67.
- [24] YOU D D, ZHOU X L, WANG Q Q, et al. Cytoophidia safeguard binucleation of *Drosophila* male accessory gland cells [J]. Exp Cell Res, 2023, 422(1): 113433.
- [25] CHEN K N, JING ZHANG J, TASTAN Ö Y, et al. Glutamine analogs promote cytoophidium assembly in human and *Drosophila* cells [J]. J Genet Genomics, 2011, 38(9): 391-402.
- [26] CHANG C C, KEPPEKE G D, ANTOS C L, et al. CTPS forms the cytoophidium in zebrafish [J]. Exp Cell Res, 2021, 405(2): 112684.
- [27] CHANG C C, ZHEGN Y M, PENG M, et al. CTP synthase forms the cytoophidium in human hepatocellular carcinoma [J]. Exp Cell Res, 2017, 361(2): 292-9.
- [28] PENG M, CHANG C C, LIU J L, et al. CTPS and IMPDH form cytoophidia in developmental thymocytes [J]. Exp Cell Res, 2021, 405(1): 112662.
- [29] ZHANG J, HULME L, LIU J L. Asymmetric inheritance of cytoophidia in *Schizosaccharomyces* pombe [J]. Biol Open, 2014, 3(11): 1092-7.
- [30] GOU K M, CHANG C C, SHEN Q J, et al. CTP synthase forms cytoophidia in the cytoplasm and nucleus [J]. Exp Cell Res, 2014, 323(1): 242-53.
- [31] LIU J L. The enigmatic cytoophidium: compartmentation of CTP

- [32] LIU J L. The cytoophidium and its kind: filamentation and compartmentation of metabolic enzymes [J]. Annu Rev Cell Dev Biol, 2016, 32: 349-72.
- [33] ZHOU S, XIANG H, LIU J L. CTP synthase forms cytoophidia in archaea [J]. J Genet Genomics, 2020, 47(4): 213-23.
- [34] DAUMANN, M, HICKL D, ZIMMER D, et al. Characterization of filament-forming CTP synthases from *Arabidopsis thaliana* [J]. Plant J, 2018, 96(2): 316-28.
- [35] ANDREADIS C, LI T, LIU J L. Ubiquitination regulates cytoophidium assembly in *Schizosaccharomyces* pombe [J]. Exp Cell Res, 2022, 420(1): 113337.
- [36] LI Y L, LIU J L. Hypoosmolality impedes cytoophidium integrity during nitrogen starvation [J]. Yeast, 2021, 38(4): 276-89.
- [37] FENG H C, ANDREADIS C, LIU J L. Histone transcription regulator Slm9 is required for cytoophidium biogenesis [J]. Exp Cell Res, 2021, 403(1): 112582.
- [38] ANDREADIS C, HULME L, WENSLEY K, et al. The TOR pathway modulates cytoophidium formation in *Schizosaccharomyces* pombe [J]. J Biol Chem, 2019, 294(40): 14686-703.
- [39] ZHANG S, DING K, SHEN Q J, et al. Filamentation of asparagine synthetase in *Saccharomyces cerevisiae* [J]. PLoS Genet, 2018, 14(10): e1007737.
- [40] LI H, YE F F, REN J Y, et al. Active transport of cytoophidia in *Schizosaccharomyces* pombe [J]. FASEB J, 2018, 32(11): 5891-8.
- [41] SHEN Q J, KASSIM H, HUANG Y, et al. Filamentation of metabolic enzymes in *Saccharomyces* cerevisiae [J]. J Genet Genomics, 2016, 43(6): 393-404.
- [42] DENG R, LI Y L, LIU J L. Cytoophidia influence cell cycle and size in *Schizosaccharomyces* pombe [J]. Int J Mol Sci, 2024, 25(1): 608.
- [43] GUO C J, LIU J L. Cytoophidia and filaments: you must unlearn what you have learned [J]. Biochem Soc Trans, 2023, 51(3): 1245-56.
- [44] Fang Y F, Li Y L, Li X M, et al. Super-resolution imaging reveals dynamic reticular cytoophidia [J]. Int J Mol Sci, 2022, 23(19): 11698.
- [45] ZHOU X, GUO C J, HU H H, et al. Drosophila CTP synthase can form distinct substrate-and product-bound filaments [J]. J

Genet Genomics, 2019, 46(11): 537-45.

- [46] ZHOU X, GUO C J, CHANG C C, et al. Structural basis for ligand binding modes of CTP synthase [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2021, 118(30): e2026621118.
- [47] ZHANG B, TASTAN Ö Y, ZHOU X, et al. The proline synthesis enzyme P5CS forms cytoophidia in *Drosophila* [J]. J Genet Genomics, 2020, 47(3): 131-43.
- [48] ZHONG J, GUO C J, ZHOU X, et al. Structural basis of dynamic P5CS filaments [J]. eLife, 2022, 11: e76107.
- [49] GUO C J, ZHANG T Y, LENG Q Q, et al. Dynamic AtP5CS2 filament facilitates substrate channeling [J]. bioRxiv, 2023, doi: https://doi.org/10.1101/2023.09.07.556688.
- [50] HU H H, ZHOU X, YIN B Q, et al. Filamentation modulates allosteric regulation of PRPS [J]. eLife, 2022, 11: e79552.
- [51] LU G M, HU H H, CHANG C C, et al. Structural basis of human PRPS2 filaments [J]. Cell Biosci, 2023, 13(1): 100.
- [52] HVORECNY K L, HARGETT K, QUISPE J D, et al. Human PRPS1 filaments stabilize allosteric sites to regulate activity [J]. Nat Struct Mol Biol, 2023, 30(3): 391-402.
- [53] LIU J N, ZHANG Y B, ZHOU Y F, et al. Cytoophidia coupling adipose architecture and metabolism [J]. Cell Mol Life Sci, 2022. 79(10): 534.
- [54] LIU J N, ZHANG Y B, WANG Q Q, et al. Fat body-specific reduction of CTPS alleviates HFD-induced obesity [J]. eLife, 2023, 12: e85293.
- [55] WANG Q Q, ZHAO P Y, TASTAN Ö Y, et al. Polarised maintenance of cytoophidia in *Drosophila* follicle epithelia [J]. Exp Cell Res, 2021, 402(2): 112564.
- [56] WANG Q Q, YOU D D, LIU J L. Cytoophidia maintain the integrity of *Drosophila* follicle epithelium [J]. Int J Mol Sci, 2022, 23(23): 15282.
- [57] ZHOU Y, LIU J, LIU J L. Connecting Ras and CTP synthase in Drosophila [J]. Exp Cell Res, 2022, 416(1): 113155.
- [58] AUGHEY G N, LIU J L. Metabolic regulation via enzyme filamentation [J]. Crit Rev Biochem Mol Biol, 2015, 51(4): 282-93.
- [59] BEARNE S L, GUO C J, LIU J L. GTP-dependent regulation of CTP synthase: evolving insights into allosteric activation and NH(3) translocation [J]. Biomolecules, 2022, 12(5): 647.