



葛亮, 博士毕业于中国科学院分子细胞科学卓越创新中心(生物化学与细胞生物学研究所), 师从宋保亮院士, 随后, 在美国加州大学伯克利分校Randy Schekman(2013诺贝尔奖)实验室做博后研究。2017年底加入清华大学生命科学学院, 现为教研系列副教授。葛亮长期致力于膜生物学研究, 在国际影响力期刊(*Cell*、*eLife*和*Cell Research*等)发表30多篇学术论文, 现任中国生物物理学会亚细胞器分会副会长, 中国细胞生物学学会细胞器分会副秘书长, *Traffic*、*JGG*、《生物化学与生物物理进展》编委; 获得腾讯新基石探索奖、中国细胞生物学学会青年科学家奖、霍英东青年科学家奖、中国细胞生物学学会-普洛麦格创新基金、中源协和创新突破奖、NIH Pathway to Independence Award等学术荣誉; 获得国家自然科学基金细胞器互作重大研究计划集成项目(担任首席科学家)、国家杰出青年科学基金项目杰出青年基金、国家自然重点项目等项目资助。



李树林, 清华大学生命科学学院在读博士研究生, 师从葛亮副教授, 从事细胞自噬的分子机制、生物学功能以及生理病理条件下差异化调控机制的研究。博士阶段的科研成果发表在*Cell Research*、*Autophagy*等刊物上, 以第一作者身份发表论文4篇, 曾3次荣获研究生国家奖学金, 并获2023年清华大学“生命科学、医学、药学”博士生学术论坛优秀报告人等。

## 关于内质网-高尔基体中间体的已知与未知

李树林\* 葛亮\*

(清华大学生命科学学院, 清华大学-北京大学生命科学联合中心, 膜生物学国家重点实验室, 北京 100084)

**摘要** 内质网-高尔基体中间体(ERGIC)最初是在研究病毒蛋白胞内转运机制的过程中被发现的。由于其特殊的结构以及亚细胞定位, 早期研究认为它是内质网和高尔基体之间的“交通枢纽”, 其主要职能是为经典分泌路径中物质的分选和双向运输过程提供保障。而近期的探索揭示了ERGIC在细胞遭受胁迫时的一系列非经典功能: 参与调控自噬体膜的早期形成, 作为非经典分泌蛋白质的“集散地”等。多项研究揭示多种冠状病毒会“挟持”宿主的ERGIC, 将其作为复制和组装的平台。还有研究显示ERGIC在有关蛋白合成质控过程中发挥作用, 可能还会以内质网漩涡等多种内膜形态呈现, 从而协助细胞平衡内膜系统的稳态以应对外界压力。尽管人们已经认识到ERGIC结构的独特性以及功能的多样性, 但当前对其功能的理解仍然十分有限, 特别是ERGIC通过何种机制在不同生理和病理条件下协调其动态结构与多样功能仍不甚明了。该综述旨在全面概述ERGIC的细胞功能和分子调控机制, 并对相关议题进行探讨。

**关键词** 内质网-高尔基体中间体; 膜泡运输; 蛋白质非经典分泌; 细胞自噬

收稿日期: 2023-11-03

接受日期: 2023-12-12

国家自然科学基金(批准号: 92254302、32130023、32225013)资助的课题

\*通信作者。Tel: 010-62789019, E-mail: lsl19@mails.tsinghua.edu.cn; liangge@mail.tsinghua.edu.cn

Received: November 3, 2023

Accepted: December 12, 2023

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.92254302, 32130023, 32225013)

\*Corresponding authors. Tel: +86-10-62789019, E-mail: lsl19@mails.tsinghua.edu.cn; liangge@mail.tsinghua.edu.cn

## The Knowns and Unknowns of ER-Golgi Intermediate Compartment

LI Shulin\*, GE Liang\*

(School of Life Sciences, Tsinghua University, Tsinghua-Peking Center for Life Sciences,  
State Key Laboratory of Membrane Biology, Beijing 100084, China)

**Abstract** The ERGIC (endoplasmic reticulum-Golgi intermediate compartment) was initially discovered during the study of intracellular transport mechanisms of viral proteins. Early studies, due to its unique structure and subcellular localization, posited the ERGIC as a “transit hub” between the endoplasmic reticulum and the Golgi apparatus, playing roles in cargo sorting and bidirectional transport within the conventional secretory pathway. Subsequent research, however, unveiled a series of unconventional functions for ERGIC under cellular stress, such as modulating the early formation of autophagosomes and acting as a central hub for unconventional secretory proteins. Various studies have shown that many coronaviruses hijack the host’s ERGIC, using it as a platform for replication and assembly. Additionally, there’s evidence suggesting ERGIC’s involvement in protein synthesis quality control and its potential existence in different membrane structures like ER Whorl, ensuring cellular homeostasis under stress conditions. While the distinct structure and multifaceted functions of ERGIC have been recognized, the current understanding of its functionalities remains very limited. Specifically, the mechanisms through which ERGIC coordinates its dynamic structures and diverse functions under different physiological and pathological conditions are still not very clear. This review aims to provide a comprehensive overview of ERGIC’s cellular functions and molecular regulatory mechanisms and delve into related topics.

**Keywords** the ER-Golgi intermediate compartment; membrane traffic; unconventional protein secretion; autophagy

在20世纪60年代, PALADE等<sup>[1]</sup>首次详细描述了分泌蛋白经过内质网(endoplasmic reticulum, ER)以及高尔基(Golgi)复合体进行运输的路径, 这标志着膜泡运输领域研究的突破。ER到Golgi的膜泡运输涉及多种分子结构, 包括COP包被等, 在进化过程中显示出一定的保守性。但这些分子机器所调节的膜结构在不同真核细胞类型中会呈现差异。特别是, 存在一种定位于ER和Golgi之间的内膜结构, 被称为内质网-高尔基体中间体(endoplasmic reticulum-Golgi intermediate compartment, ERGIC), 在不同物种中此结构的差异较为显著<sup>[2-3]</sup>。在植物和芽殖酵母等无脊椎动物细胞中, Golgi结构并不集中, 而是散布在内质网排出站点(ER exit site, ERES)区域的周围, 这种布局实现了ER与Golgi间的短程通讯, 而这些细胞中的内膜系统往往缺乏标准的ERGIC形态<sup>[4-5]</sup>。在脊椎动物细胞内, 可以观察到细胞质中广泛分布的ER网络和Golgi。Golgi呈现为一串连续的结构, 靠近微管组织中心, 并形成了被称为高尔基带(Golgi ribbon)的结构。这种高尔基带结构是脊椎动物细胞中的典

型特征之一。基于哺乳动物细胞体外培养技术的研究表明, 大约一半的ERES位于细胞边缘区域, 这导致它们与Golgi的连接需要经过较远距离的传输过程<sup>[3-4,6]</sup>。由于哺乳动物中细胞普遍存在ERGIC, 有观点提出, ERGIC的出现可能是为了适应哺乳动物这类体积较大的生物细胞中ER至Golgi的长距离交流需求<sup>[3-4,6]</sup>。ERGIC的介入也使ER至Golgi的膜泡运输系统变得更为复杂和多功能化。ERGIC的发现源于对ER与Golgi之间蛋白质传递机制的研究, 早期研究集中于其在分泌活动中的功能, 特别是在选择性蛋白质运输、蛋白质的折叠与质量控制、糖基化修饰, 以及多糖和脂质合成的调控作用方面<sup>[6-7]</sup>。有趣的是, 最新研究指出ERGIC不仅仅在ER-Golgi的运输路径中发挥作用, 还在多种运输间接相关的细胞活动(包括自噬体生成、非经典蛋白质分泌、天然免疫反应激活以及冠状病毒的成熟等)中起着作用<sup>[6,8-11]</sup>。众多研究揭示, ERGIC这一细胞器具备多种功能, 在稳定膜泡运输以及帮助细胞应对胁迫等过程中发挥着关键作用, 因此ERGIC也成为病原体攻击宿主细胞

时的重要靶点。本综述旨在汇总和讨论关于 ERGIC 功能与调控机制方面的研究进展。

## 1 ERGIC的发现与研究历史

在20世纪80年代, SARASTE及其研究团队<sup>[12-13]</sup>通过一系列研究, 阐明了森林沙门氏病毒(*Semliki Forest virus*, SFV)膜蛋白在细胞内的转运途径。他们深入研究了ts-1这一温度敏感性突变体, 并发现了在较低温度(15 °C)下, 相关蛋白并不会直接从ER被转送至Golgi, 而是首先被转运至一个位于高尔基体前的泡状结构(pre-Golgi vacuole)内进行暂时存储。同一时期, TOOZE等<sup>[14]</sup>发现, 小鼠肝炎病毒(mouse hepatitis virus, MHV)的病毒粒子在组装过程中会首先在ER与cis-Golgi之间的管状膜泡结构中出现。在糖基化研究中, 研究人员观察到当MHV病毒在31 °C这一特定温度下时, 它进入Golgi的路径受到阻碍, 导致其E1糖蛋白的唾液酸和半乳糖修饰过程受阻。然而, 该温度条件似乎并不影响病毒N-乙酰半乳糖胺(*N*-acetyl-galactosamine, GalNAc)的修饰过程。由于GalNAc的修饰并不在ER中进行, 这一数据提示MHV E1糖蛋白的GalNAc修饰可能是在ER与Golgi之间的某个内膜区域内完成的<sup>[15]</sup>。这些发现表明, 在ER和Golgi之间确实存在一个中间的膜结构, 调控着ER至Golgi的运输过程以及蛋白质糖基化修饰。

随后, HAURI团队<sup>[16]</sup>利用从Caco-2细胞中提取的高尔基体作为抗原, 成功研制出一种单克隆抗体。这种抗体可以识别一种大约53 kDa的膜蛋白, 被命名为ERGIC-53。这种抗体在标记cis-Golgi附近的管状泡状结构方面表现出了特异性<sup>[17]</sup>。在研究囊泡性口炎病毒G蛋白质的温度敏感变体(tsO45-VSV-G)时, HAURI的团队<sup>[18]</sup>观察到在15 °C的低温下, 这种突变体主要集中在ERGIC-53阳性的膜结构中。随后, 在电镜下观察到一种紧邻Golgi的管泡状膜结构。与此同时, 研究者SARASTE等<sup>[19]</sup>成功研发出一种多克隆抗体, 该抗体针对大鼠胰腺的cis-Golgi, 并能够识别一种名为P58、分子量为58 kDa的蛋白。后续研究进一步证实, 大鼠中P58蛋白与人类ERGIC-53蛋白序列相似度高达89%, 显示出二者的高度同源性<sup>[20]</sup>。有趣的是, 当环境温度降至15 °C时, SFV ts-1的温度敏感型E1糖蛋白主要在P58阳性的管泡状结构中累积<sup>[21]</sup>。后续的生化研究揭示了ERGIC与其邻近的ER和Golgi在蛋白组成上有着显著不同<sup>[22]</sup>。深

入的电子显微镜观察和分析显示, ERGIC是一个独立的细胞结构, 它与ER和Golgi并不相连, 且在大小上表现出明显的异质性<sup>[7,23]</sup>。

综上所述, 这些研究成果均指向一个特殊的内膜中间体存在于ER和Golgi的运输途径中。这个结构被称为ERGIC、中间体(intermediate compartment, IC)或是囊泡管状簇集(vesicular tubular clusters, VTCs)<sup>[6,24]</sup>。在下文中, 我们将统一使用“ERGIC”来指代这一膜结构。

## 2 ERGIC的结构和功能

### 2.1 ERGIC的亚细胞定位与形态特征

早期借助于电子显微镜的研究将ERGIC描述为邻近cis-Golgi的管状囊泡簇(vesicular-tubular clusters, VTCs)<sup>[17]</sup>。而ERGIC-53在ERGIC上的高丰度分布使其成为ERGIC经典的标记物。通过活细胞荧光显微镜技术, 研究人员可以观察到ERGIC参与ER到Golgi的运输过程<sup>[25]</sup>。随着近年来超分辨显微成像技术的进步, 研究人员得以从更高的时空分辨率上对ERGIC进行观测。近期, YAN等<sup>[26]</sup>通过随机光学重建显微镜(stochastic optical reconstruction microscopy, STORM)技术观察到以SURF4为标志的特殊管状膜结构——管状ERGIC(tubular ER-Golgi intermediate compartment, t-ERGIC), 该结构具有较大的表面积与体积比、较快的细胞内运动速度和较强的ER-Golgi循环运输能力, t-ERGIC在SURF4结合货物的运输过程中发挥着关键作用。研究人员还发现SURF4可作为脂蛋白的“分泌受体”并与磷脂翻转酶TMEM41B形成复合物高效特异地调控血脂稳态<sup>[27-28]</sup>。这提示着脂蛋白的生成和转运或许与ERGIC的特殊结构以及动态特征存在某种“偶联”。回顾ERGIC的发现历史, 我们也可以得知ERGIC的亚细胞定位以及形态特征, 即定位于ER和Golgi的管泡状结构。但由于ERGIC在细胞中的活动是高度动态的, 而且其形态结构特征会随着细胞状态的改变而改变, 这给ERGIC的研究增加了难度。未来随着超分辨光学显微镜、电子显微镜以及两者联用等技术的突破, 更加精细、准确、全面的多维度ERGIC形态将会逐步呈现在我们面前。这将有助于我们进一步揭开这个独特而至关键的细胞器的神秘面纱。

### 2.2 ERGIC在膜泡运输中的功能

在内质网内, 众多分泌蛋白、膜蛋白及脂类分



子的合成过程得以完成,紧接着这些分子会被ER至Golgi的膜泡运输机制输送至细胞内特定位置。ERGIC作为ER与Golgi的“中转站”,在调控分子的精确分选及膜泡运输中扮演着至关重要的角色。运输时,它们首先集聚于ERES区域并被分选至COP II(coat protein complex II)小泡中,随后这些小泡将被送往ERGIC。ERGIC还决定着分子运输的路径:比如,当ER滞留蛋白(如带有KDEL标记序列)被误分到ERGIC,ERGIC将生成COP I(coat protein complex I)小泡以实现分子的反向运输(retrograde transport),即将其返送至ER。反之,对于正确分选分子,ERGIC通过COP I小泡实施顺向运输,首先将这些分子传递到cis-Golgi,然后它们会被送到细胞内特定的位置,如溶酶体或细胞膜,或者被运送至细胞外<sup>[5,29-30]</sup>(图1)。这种机制确保了蛋白质和其他重要分子能够高效、准确地被运送到特定细胞位置,同时也维持了细胞内各个复杂系统之间的平衡和协调。

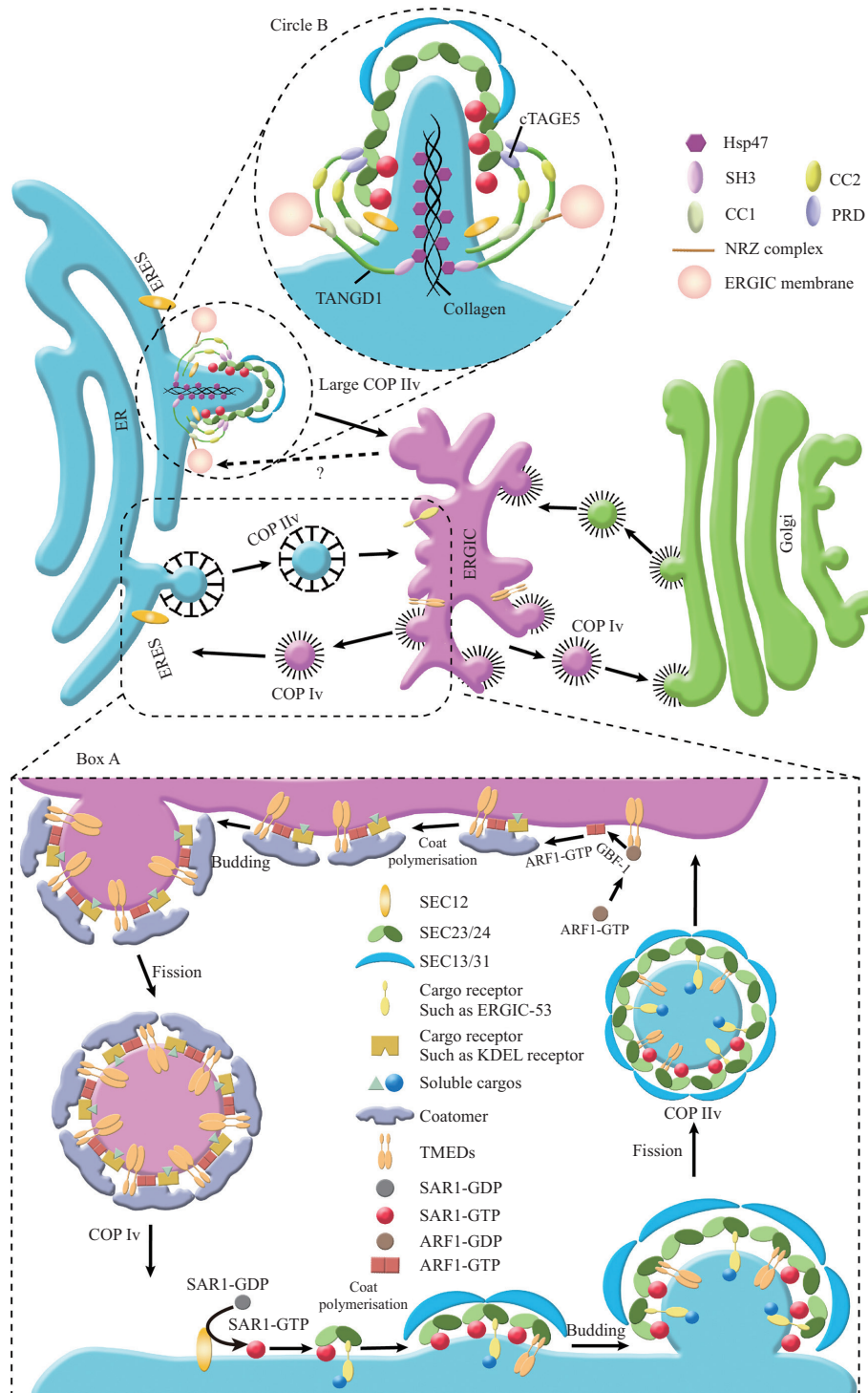
**2.2.1 ERGIC与蛋白质的质量控制** ERGIC与ER协作,共同监控蛋白质的折叠和组装,确保被运输到Golgi的蛋白质功能正常<sup>[3,6]</sup>。在蛋白质质量控制系统中,葡萄糖苷酶II(glucosidase II, GlsII)和UDP-葡萄糖糖蛋白糖基转移酶(UDP-glucose glycoprotein glucosyltransferase)发挥着关键作用<sup>[31]</sup>。通过免疫电镜技术可以观察到,这两种蛋白质不仅遍布于ER中,在ERGIC上丰度也较高,但并不明显分布于Golgi上。这项研究结果表明,ERGIC可能在糖蛋白质控过程中扮演角色<sup>[32]</sup>。此外,ERGIC中还包含多种带有KDEL序列的分子伴侣,例如免疫球蛋白结合蛋白(immunoglobulin binding protein, BiP)、94 kDa葡萄糖调节蛋白(glucose-regulated protein of 94 kDa, GRP94)、蛋白质二硫异构酶(protein disulfide isomerase, PDI)和钙网蛋白(calreticulin)<sup>[32-33]</sup>等。这些蛋白质负责将未正确折叠的蛋白质重新运回到ER以对其进行质量控制,这一过程通过KDEL受体实现<sup>[6]</sup>。研究发现,ERGIC参与错误折叠的tsO45-VSV-G蛋白质返回ER的过程,这一机制受到分子伴侣BiP的调控<sup>[34]</sup>。同时,BiP和PDI家族中的ERp44能与未充分组装的T细胞抗原受体 $\alpha$ 链(T-cell antigen receptor  $\alpha$  chain, TCR $\alpha$ )和IgM结合,通过KDEL受体将它们运回ER<sup>[35]</sup>。BiP不只是与神经发育相关,还与某些神经退行性疾病紧密相关<sup>[36]</sup>。有趣的是,一些突变蛋白,如V2抗利尿激素受体和与神经退行性疾病相关的TREM2,即

使被运达ERGIC,仍无法顺利到达细胞质膜,而是被COP I小泡带回ER<sup>[37-38]</sup>。此外,一些错误折叠的蛋白,比如 $\Delta F508$  CFTR突变体、MHC-I类分子和胰岛素原,也会在ERGIC中留滞<sup>[3]</sup>。还有证据表明,ERGIC还会涉及到MHC-I类分子错误折叠后的泛素化降解过程<sup>[39]</sup>。这一系列研究突出了ERGIC在蛋白质质量控制方面所扮演的关键角色,提示其对于保持细胞蛋白质的平衡状态具有不可或缺的重要性。

### 2.2.2 ERGIC上膜泡运输的执行人——COP II小泡和COP I小泡

COP II小泡负责从ER到ERGIC的运输,标志着哺乳动物细胞分泌途径的初始阶段。COP II小泡的相关分子机制在其他文献中已经详细描述<sup>[4-5,29-30]</sup>,本文仅进行简要概述。COP II小泡在ER的特定区域,即ERES生成,并且通常位于ERGIC附近。TFG(Trk-fused gene)蛋白的寡聚化调节了ERES与ERGIC之间的紧密连接,确保了从ERES产生的COP II小泡能够有效地靶向ERGIC<sup>[40]</sup>。COP II外壳组装的第一步是小Ras样GTP酶SAR1(secretion associated RAS-related 1)的活化过程。在这个阶段,SAR1与GTP结合,形成SAR1-GTP形式。SEC12,一种位于ERES的鸟嘌呤核苷酸交换因子(guanine nucleotide exchange factor, GEF),负责催化这一过程<sup>[41]</sup>。SAR1一旦被激活,会招募SEC23-SEC24异构二聚体,组成了COP II小泡的内层包被蛋白。在这个复合体中,SEC24作为货物受体,调控特定分子的选择性运输<sup>[41]</sup>。内层完全组装后,COP II复合体通过招募SEC13-SEC31蛋白异构四聚体来进一步形成外层包被蛋白,内层包被蛋白与外层包被蛋白通过聚合作用形成类似笼子的结构,有助于小泡的成熟并促进其从起始位置的释放(图1 Box A)。前期研究发现,SAR1蛋白上的GTP水解受到SEC23这一GTPase激活蛋白(GTPase-activating protein, GAP)的控制,并且SEC31能够通过与SAR1相互作用加速GTP的水解过程<sup>[30]</sup>。当COP II小泡从ER表面释放时,TFG促使SEC13-SEC31这一外层膜结构的解聚,同时SEC23-SEC24构成的内层保持稳定<sup>[42]</sup>。TRAPP(transport protein particle)复合体通过与内层包被蛋白复合体的SEC23互作,将COP II小泡定位到ERGIC,然后在SNARE(soluble N-ethylmaleimide-sensitive factor attachment protein receptors)蛋白复合体的帮助下,COP II小泡与ERGIC融合<sup>[30]</sup>。

ERGIC不仅是COP II的接收站,还有报道显示在



蛋白和脂质离开ER的过程通过ERES生成的COP II小泡(简称COP IIv)实现, 这些小泡随后被运送到ERGIC(见图中Box A)。此外, ERES也能产生用于携带大型物质的较大的COP II膜泡(large COP IIv)(见图中Circle B)。TANGO1的第一个卷曲螺旋结构域(CC1)在NRZ复合体的帮助下, 可能为大型COP II膜泡提供所需的膜组分, 尽管这一过程的具体细节仍不完全清楚(图中标为“?”的虚线)。ERGIC会对接收的货物进行分选, 并利用COP I小泡(简称COP Iv)进行物质的顺向或反向运输(见图中Box A)。

Proteins and lipids leave the ER through COP II vesicles (abbreviated as COP IIv) that are generated at the ERES, and these vesicles are then delivered to the ERGIC (see box A). The ERES can also produce large COP II vesicles (large COP IIv) for the transport of larger cargos (see circle B). The first coiled-coil domain (CC1) of TANGO1 can guide the ERGIC membrane to provide membrane material for large COP II vesicles through interacting with the NRZ complex, but the specific mechanism is not yet clear (the dashed line labeled with “?” in the diagram). The ERGIC sorts the cargo it receives and implements anterograde or retrograde transport of cargos through COP I vesicles (COP Iv) (see box A).

图1 ER-ERGIC-Golgi膜泡运输系统(根据参考文献[59]修改)

Fig.1 The ER-ERGIC-Golgi vesicular transport system (modified from reference [59])

特定条件下,它能调节COP II小泡的尺寸。通常,COP II小泡的直径为60~80 nm,但某些较大的细胞内货物[(例如长度300~400 nm的胶原蛋白(collagen)<sup>[43]</sup>]的分泌依赖于COP II载体。在这些情况下,需要特定的机制来增加COP II膜泡的体积。关于大型COP II膜泡生成的调控,已有若干研究提供了见解,包括SEC31的泛素化<sup>[44]</sup>、SAR1A和SAR1B同源蛋白的选择性<sup>[45]</sup>以及TANGO1(transport and Golgi organization protein 1)等特殊货物受体的调控<sup>[46]</sup>等。这些机制的共同点在于,它们通过减缓SAR1对GTP的水解速度,从而延长COP II外壳的组装时间以增大膜泡的体积。随着COP II膜泡体积的增加,对新材料的需求也随之上升。最新研究显示,在TANGO1的调控下形成的大型COP II膜泡,可能从ERGIC获得所需的膜材料。TANGO1是ERES定位的关键膜蛋白,调节胶原蛋白的分泌。它在ER腔内的SH3结构域可与Hsp47结合,进而促进胶原蛋白的结合<sup>[47]</sup>。另外,TANGO1在其细胞质一侧的第二个CC结构域(coiled-coil domain)被发现可以与cTAGE5(cutaneous T-cell lymphoma-associated antigen 5)发生相互作用,这一过程对膜泡的形成和功能至关重要。TANGO1和cTAGE5的羧基端包含了富脯氨酸的结构域(proline-rich domain, PRD),这使它们能与COP II的SEC23-SEC24复合体结合,以防止这些复合体与SEC13-SEC31互作,从而抑制SAR1-GTP的水解<sup>[48]</sup>。这一机制有助于避免COP II的过早出芽,支持形成较大的COP II小泡<sup>[48]</sup>。另外,值得一提的是,TANGO1中的首个CC结构域内含有TEER(tether for ERGIC at the ER)区域,该区域能与NRZ(NBAS、RINT1、ZW10)复合体结合,这有助于引导ERGIC膜结构到含胶原蛋白的大型COP II小泡处<sup>[49]</sup>(图1 Circle B)。然而尚不清楚的是,哪种ERGIC上的蛋白与TEER和NRZ结合,大型COP II膜泡如何与ERGIC完成膜融合以及ERGIC如何为其提供所需的膜材料。需要进一步的实验来阐明这些过程的具体机理。此外,最新研究表明转运机器COP II复合体可以通过非常规的“自限型”相分离,进而特异性调控脂蛋白的高效分泌<sup>[50]</sup>。结合ERGIC在膜泡运输中的特殊地位,这提示着我们ERGIC可能参与到很多重要的生理过程中。

货物在离开ERGIC后,可以继续向前被运输至*cis*-Golgi,或是被运回ER。这一过程主要由ERGIC产生的COP I小泡所调控<sup>[51]</sup>。值得注意的是,ERGIC

还能接收来自Golgi的COP I小泡。有关COP I小泡的更多细节同样可以在其他综述文章中找到<sup>[52]</sup>,本文将仅作简明概述。在COP I小泡的形成过程中,ARF1(ADP-ribosylation factor 1) GTP酶的活性至关重要。在存在SEC7结构域的GEFs(例如GBF1,存在于*cis*-Golgi和ERGIC)的作用下,ARF1会与GTP结合并发生构象变化,随后通过其氨基端的肉豆蔻酰化作用锚定在膜上,这样的定位有助于COP I蛋白包被向膜面集聚。COP I外壳蛋白是由七种不同的亚基(包括 $\alpha$ -、 $\beta$ -、 $\beta'$ -、 $\gamma$ -、 $\delta$ -、 $\epsilon$ -、 $\zeta$ -COP)构成的,它们共同组成了外壳复合体(coatomer)。在细胞质内,这些亚基预先组装成七聚体。其中,内层的包被蛋白是由 $\gamma$ -、 $\delta$ -、 $\zeta$ -和 $\beta$ -COP构成的,而外层的包被蛋白则由 $\alpha$ -、 $\beta'$ -和 $\epsilon$ -COP形成<sup>[4]</sup>(图1 Box A)。与COP II类似,COP I小泡的解聚过程受ARF1的GTP水解活动所调控,这是小泡与膜结构融合的关键步骤<sup>[53-54]</sup>。除了ARF1外,ARF3、ARF4和ARF5在体外实验中同样可以调控COP I小泡的生成<sup>[55]</sup>。以不同组合对ARF1、ARF3、ARF4和ARF5进行的敲低实验,揭示了这些不同ARF蛋白如何在多种层面上影响ER与Golgi之间的物质运输<sup>[56]</sup>。此外,COP I包被蛋白还存在多种亚型<sup>[3,54]</sup>,不同的ARF蛋白以及COP I包被蛋白可能与蛋白质的分选与运输功能相关。各种亚型的具体作用和机制仍需要更多的研究来揭示。

以上由ERES处出芽产生的COP II小泡、ERGIC/Golgi上产生的COP I小泡以及相关调节因子共同组成的往复于ER-Golgi系统的运输模型也被称为经典的囊泡运输模型(the classical vesicular transport model)。以上经典囊泡运输模型被大家广泛接受,近年来也有研究人员观察到仅定位于ERES颈部的COP II包被蛋白,它们负责将货物蛋白集中到运输囊泡中;进一步通过活细胞成像观察到分泌货物位于ERES产生的一系列连续管状结构中,而且这些结构上并无COP II成分<sup>[57-58]</sup>。由此研究人员又提出了隧道模型(the tunnel model),该模型中的ERES可以产生连续的管状结构,这些结构可能以小管的形式离开并随后招募COP I,或者可能与远端内膜系统(如:ERGIC)形成隧道,从而实现货物的运输。隧道模型较为合理地解释了大体积货物(如:I型胶原)的运输过程,对经典囊泡运输模型进行了补充与扩展。当然,隧道模型中还有很多问题需要进一步探究:受体-货物复合物通过COP II和COP I从ERES转运出



去的具体过程尚不清晰。ERES通过何种机制调整其尺寸以容纳大型货物同样需要进一步研究。隧道模型中COP I在顺向运输中的确切作用仍然不清楚。此外,隧道模型的提出主要基于模型细胞系中过表达的系统,因此需要使用内源性和生理水平的分泌成分进行进一步验证。综上所述,随着技术的发展与研究的推进,人们也越来越意识到ER-Golgi膜泡运输体系中可能同时存在多种类型的膜泡载体(泡状、管状以及隧道等)。新模型的提出并不是对旧模型的的全盘否定,恰恰相反,它是对经典模型的完善与补充。同时,这也向我们展示了细胞内蛋白运输路径的多样化和灵活性。这种多样性同时也可能赋予了ER到Golgi运输路径的鲁棒性,细胞可以根据货物的大小、数量或类型,以及细胞和环境背景来使用不同类型的膜泡载体承担相应功能。这可能解释了为什么不同的研究小组有时会得出相反的结论。未来的工作将解开所有这些未解之谜。

**2.2.3 ERGIC上膜泡运输的守卫——受体分子**  
细胞的多功能性取决于将不同蛋白质准确运输到其目的地。COP小泡为ERGIC上膜泡运输提供了执行力,那么对膜泡内所运货物进行严格的监管,让每一个货物“各得其所”同样是维持细胞内外稳态的重要环节。在这一过程中,一系列受体分子凭借其独特的理化性质、特异的互作配对以及精妙有序的动态调控担任着至关重要的膜泡运输“守卫”,保障货物可以在准确的时间出现在正确的空间中。

ERGIC-53,也被称为LMAN1(lectin mannose-binding protein 1),是最早被鉴定的ERGIC特有标志蛋白。它可以充当膜受体调节ER中可溶性糖蛋白的运出<sup>[60]</sup>。属于I型跨膜蛋白类的ERGIC-53,其在细胞质一侧的C末端具有KKFF序列,这一序列使其能够与COP II和COP I包被蛋白相结合,进而促使物质在ER、ERGIC和cis-Golgi之间进行循环式的运输。此外,该蛋白在其腔内端的大氨基端部分包含一个凝集素样结构域,该结构域能够通过依赖于Ca<sup>2+</sup>的方式特异性地与甘露糖结合<sup>[3,6]</sup>。在ER内,新合成的ERGIC-53可以组成二聚体或者六聚体结构,近期在预印本报道的工作解析了全长ERGIC-53结合货物时可呈四聚体状态的蛋白质结构,其寡聚化状态是ERGIC-53有效从ER中被运出的前提<sup>[61-62]</sup>。另外,有研究指出ERGIC-53与其运输的货物(例如procathepsin Z)之间的相互作用是pH依赖性的<sup>[63]</sup>。具

体来说,货物会在ER的高pH和高Ca<sup>2+</sup>条件下与ERGIC-53结合,而在ERGIC的低pH和低Ca<sup>2+</sup>环境中,货物则会从ERGIC-53上解离<sup>[6-7]</sup>。这种机制确保了在适当的细胞区域内对货物的有效捕捉与释放,对维持细胞内蛋白质运输的精确调控至关重要。

P24/TMED(transmembrane emp24 domain)蛋白家族是一系列在真核生物中广泛存在的I型跨膜蛋白,它们在ER到Golgi的蛋白质运输及其分选中起着至关重要的作用<sup>[64]</sup>。在脊椎动物中,这个家族包含10个成员,它们根据序列相似性分为 $\alpha$ (TMED4/9/11)、 $\beta$ (TMED2)、 $\gamma$ (TMED1/3/5/6/7)和 $\delta$ (TMED10)4个亚家族<sup>[65]</sup>。有趣的是,人类的TMED11基因由于终止密码子的提前可能不编码功能性蛋白质<sup>[66]</sup>。TMED蛋白能够组成不同的异源寡聚体,如TMED2和TMED10的二聚体,或者是跨亚家族的异源四聚体,这对它们在细胞内的定位和功能至关重要<sup>[65]</sup>。TMED家族蛋白质存在结构上的相似性,比如含有GOLD(Golgi dynamic)和CC结构域,一个跨膜结构域和短的胞质端序列<sup>[65]</sup>。GOLD和CC结构域被认为与识别货物和TMED蛋白的异源寡聚体形成有关<sup>[67-68]</sup>。研究还发现,TMED2的跨膜区可能会选择性地与某种特定的鞘磷脂SM18相互作用,影响其二聚化过程<sup>[69-70]</sup>。而TMED蛋白的胞质端序列则含有与ERGIC-53类似的保守序列,它们能够与COP I和COP II小泡结合。TMED蛋白的该特性使其能够在ER、ERGIC/cis-Golgi之间进行高效循环运输<sup>[65]</sup>。此外,TMED家族成员还可以作为多种货物蛋白的受体,包括GPI锚定蛋白(glycosylphosphatidylinositol)、Wnt蛋白、G蛋白偶联受体以及Toll样受体等<sup>[65]</sup>。最新研究报道,TMED10可以直接调控胰岛素样生长因子2(insulin-like growth factor 2, IGF2)在ER上分选进入COP II小泡的过程,而且参与调节trans-Golgi网络(trans-Golgi network, TGN)上货物受体的运输,直接与间接地调控着IGF2的分泌,进而影响着成肌细胞的分化<sup>[71]</sup>。同时,TMED蛋白还参与了COP I小泡的形成<sup>[72]</sup>,并在细胞内膜系统的形态调控中发挥重要作用,特别是在调节ERGIC和Golgi结构方面<sup>[64-65]</sup>。这些功能突显了TMED家族在维持细胞内复杂蛋白质运输网络中的重要性。

作为一种具有七个跨膜域的蛋白质,KDEL受体在引导蛋白分子逆向返回到ER的过程中扮演了关键角色。KDEL受体羧基端特有的双赖氨酸序

列使其能够与 COP I 小泡相互作用, 其结合依赖于蛋白激酶 A (protein kinase A, PKA) 对相邻丝氨酸残基 (S209) 的磷酸化<sup>[73]</sup>。KDEL 受体的腔内端识别并与含有 KDEL 信号的溶质蛋白结合, 这一过程促进了它们通过 COP I 小泡返回 ER 的运输<sup>[74]</sup>。KDEL 受体与货物的结合与解离受 pH 值调控。在 ERGIC 或 Golgi 的偏酸性环境中 (pH 6.5~6.8), KDEL 受体能够与货物结合, 而在 ER 的相对碱性环境 (pH 7.2~7.4) 中, 货物则会从受体上释放<sup>[75]</sup>。进一步研究表明, 与货物的结合促使 KDEL 受体蛋白发生寡聚化, 进而与 ARF1 结合并招募 COP I<sup>[76]</sup>。此外, KDEL 受体与 TMED 蛋白相互作用, 促进 COP I 小泡的形成<sup>[65]</sup>。哺乳动物中有三种 KDEL 受体, 它们对底物的特异识别使其能够更有效地进行逆向转运<sup>[77]</sup>。前期研究还发现, KDEL 受体在 ER 和 Golgi 之间的顺、反转运稳态中发挥重要作用, KDEL 受体还直接参与信号转导, 并通过激活小 G 蛋白 G $\alpha$  影响与细胞突起形成相关的膜泡运输过程<sup>[78]</sup>。

**2.2.4 ERGIC 上的分子开关——Rabs** 在 ER、ERGIC 和 Golgi 复合体之间进行的经典蛋白运输和分选过程中, RAB 小 GTP 酶在其 GTP 激活状态与 GDP 抑制状态之间的转换, 以及 GEF、GAP 和 RAB 效应蛋白对 RAB GTP 酶水解循环的调控, 都是核心要素<sup>[79]</sup>。特别是 RAB1 和 RAB2, 它们均定位于 ERGIC 和 Golgi 上, 且参与调节 ERGIC 与 Golgi 的形态稳定性, 并调控两者之间的囊泡运输<sup>[79]</sup>。RAB1/2 与一系列具有膜锚定功能的蛋白 (如 GM130、TRAPP、GRASP55/65 等) 结合, 调节 ERGIC 囊泡融合及胞内定位<sup>[79]</sup>。对于囊泡运输的调节, RAB1 和 RAB2 可促进包被蛋白的招募, 进而影响 COP I 小泡的生成<sup>[80-81]</sup>, 并协调着从 ERGIC 到 ER 和 Golgi 的双向运输<sup>[6]</sup>。除此之外, 在 ER 至 Golgi 的分泌途径中, RAB1/2 及其与 golgin-45、GM130、GRASP55/65、P115 以及 giantin 等效应蛋白的协作, 对于确保由 ER 起始的 COP II 小泡以及 ERGIC 启动的 COP I 小泡精确对接 ERGIC 与 Golgi 也至关重要<sup>[79]</sup>。在自噬过程中, RAB1 参与调控 ERGIC 处形成的自噬泡, 并影响其向自噬体发展成熟的过程; 而 RAB2 则通过 ULK1 激酶的调控作用影响自噬体的形成, 并与 RUBCNL/PACER、STX17 等下游分子互作, 促进自噬体与溶酶体的结合<sup>[82-83]</sup>。在 Golgi 不依赖的非经典分泌途径中, 标有 RAB1A 的 ERGIC 与内吞循环体间的直接联系表明

RAB1A 很可能在这一独立于 Golgi 膜泡运输的分泌过程中担任调节者<sup>[84]</sup>。以上这些机制突显了 RAB 蛋白在维持细胞内膜结构和功能中的多方面作用。更多的细节将在“ERGIC 在非经典蛋白质分泌中的功能”部分进行详述。

## 2.3 ERGIC 对于细胞自噬的调控

自噬 (macroautophagy) 是细胞内一种保守的降解性代谢途径。在细胞自噬过程中, 细胞内会形成一个特殊的双层膜结构——自噬体, 用以包裹和转运细胞内需要降解的成分 (如核酸、蛋白以及损伤的细胞器等) 至溶酶体 (在酵母和植物中是液泡), 最终实现对它们的批量降解<sup>[85]</sup>。细胞自噬在维护细胞稳态和应对各种压力条件中起着关键作用, 而其异常与神经退行性疾病、癌症、糖尿病等多种疾病密切相关<sup>[86]</sup>。在 1990 年代, 日本科学家大隅良典<sup>[85]</sup>成功地鉴定了多个与自噬相关的基因 (autophagy-related genes), 如 *Atg* 基因, 因此在 2016 年被授予诺贝尔生理学奖。

**2.3.1 ERGIC 是自噬体膜的重要来源** 在细胞自噬过程中, 自噬体形成是一个核心环节, 涉及以下主要步骤: (i) 对起始信号如营养不足、氧气缺乏或外来病原的响应; (ii) 在自噬体组装位点 (pre-autophagosomal structure or phagophore assembly site, PAS) 区域, 自噬膜的前体开始成核 (nucleation) 并集结, 形成被称作吞噬泡 (phagophore) 或隔离膜 (isolation membrane) 的自噬体前体结构; (iii) 自噬体前体通过膜的扩张 (elongation) 与闭合 (closure), 发展为成熟的双层膜自噬体<sup>[85,87]</sup>。自噬体的生成依赖于多种膜结构的参与。自从 20 世纪 50 年代细胞自噬现象首次被识别以来, 研究一直专注于确定哪些细胞结构为自噬体的形成提供必要的膜材料。初期的研究表明, 自噬体膜可能源自多种细胞结构, 包括 ER、Golgi、线粒体、核膜和细胞质膜<sup>[85,88]</sup>。然而, 这些研究主要基于自噬体或吞噬泡与这些细胞器之间的空间关联分析, 而直接证明特定细胞器作为自噬体膜来源的功能性实验证据则相对罕见。特别是在自噬的早期, 我们对内膜系统在未出现显著自噬特征时如何响应自噬诱导信号并转化为自噬体前体的理解仍非常有限。然而, 近年的研究成果逐渐揭示, ERGIC 可以作为自噬体早期生成过程中的关键膜来源。这些发现不仅为我们理解细胞自噬过程中的细胞内膜系统动态变化提供了新视角, 也为深入研究自噬与各



种疾病之间的关联打开了新的路径。

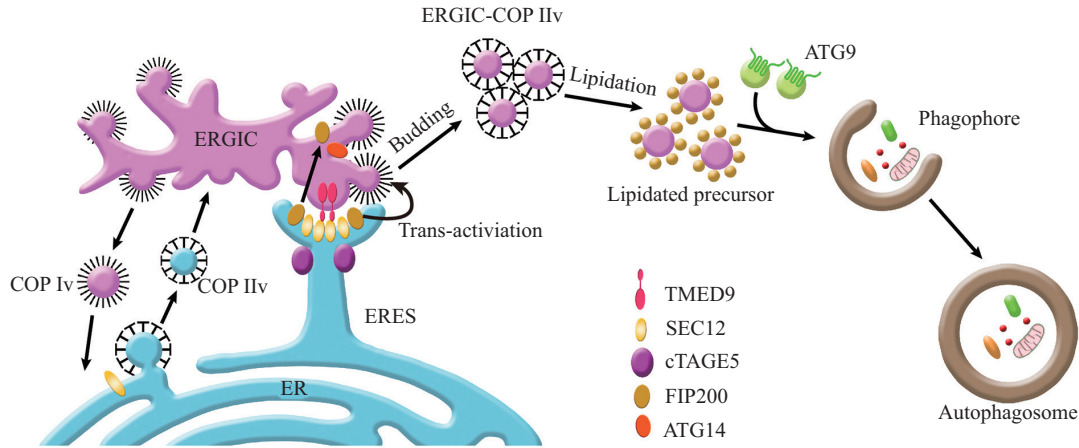
为了揭示细胞内膜组分与自噬膜结构形成之间的直接联系,科学家们致力于构建一个功能研究系统,目的是确定自噬体在初始形成阶段的膜来源。自噬体形成中的关键环节之一是LC3蛋白的酯化作用,它使得LC3能够与自噬体膜及多种膜前体结合<sup>[89-90]</sup>。为此,研究团队开发了一个标记LC3酯化的体外系统,用以模拟并研究自噬体膜的生成。该系统能在试管中再现细胞内的自噬调节过程,包括对饥饿的响应、PI3K的依赖性以及ULK蛋白的调控机制。利用此技术,结合细胞内膜结构的分离与纯化,研究人员探究了不同的细胞内膜结构在促进LC3酯化方面的功能,进而揭示了自噬体形成过程中关键的膜来源。值得注意的是,一些已知参与自噬体形成的细胞器(如ER、Golgi和线粒体)在促进LC3酯化方面表现并不突出。相反,之前在自噬研究中较少被关注的内膜结构ERGIC表现出了高度的LC3酯化活性,这意味着ERGIC可能是自噬体膜的主要来源之一<sup>[91-93]</sup>。借助超分辨成像技术,研究人员观察到ERGIC在自噬起始阶段与ATG9小泡及ULK1复合体内的ATG13组分间存在紧密联系<sup>[94]</sup>。这暗示ERGIC生成的LC3酯化膜可能与ATG9小泡一起,在自噬体成核阶段促进吞噬泡的形成。另外,cGAS-STING通路的激活引导STING向ERGIC迁移,这一过程将ERGIC变为自噬体膜的来源,加速自噬体的形成,对清除细胞内DNA和病毒至关重要<sup>[10]</sup>。最近的研究使用相似的体外重建系统揭示了ERGIC在激活cGAS-STING通路以触发自噬过程中的核心作用<sup>[10]</sup>。近期,研究发现激活的STING可以被包装到一种新型的内膜结构Rafeosome(RAB22A-mediated non-canonical autophagosome fused with early endosome)中并通过非经典分泌的方式被分泌到细胞外,而Rafeosome是由RAB22A介导的非经典自噬体与早期内吞体融合后形成的,这一过程在肿瘤免疫中发挥重要功能<sup>[95-96]</sup>。这些研究结果表明,ERGIC可能在由不同信号诱导的细胞自噬过程中为自噬体形成提供充足膜来源。

### 2.3.2 ERGIC上的COP II小泡——ERGIC-COP II小泡

虽然研究发现ERGIC可以为自噬体的形成提供重要的膜来源,但是ERGIC的管泡状膜与自噬体的双层膜在拓扑结构上有着显著差异。那么ERGIC是如何供应自噬体形成所需的膜成分的呢?研究表明,ERGIC可以招募自噬过程中至关重要的早期蛋

白ATG14,该事件对于产生PI3P、促进LC3酯化以及自噬体的后续成熟过程都是必不可少的<sup>[91]</sup>。PI3K通路能够触发SEC12蛋白——COP II小泡生成的关键启动因子——从ERES向ERGIC的转位,并促进产生一类新型的源自ERGIC的COP II小泡——ERGIC-COP II小泡。这种独特的ERGIC-COP II小泡表现出显著的促进LC3酯化的能力,暗示其功能与从ERES出发、负责ER至Golgi运输的COP II小泡不同。这些小泡很可能直接作为自噬体膜的前体<sup>[97-98]</sup>。在自噬过程中COP II小泡的作用也在其他研究中得到了证实。例如,有研究发现自噬体的形成不仅依赖于SAR1蛋白的正常功能,还需要ERES的参与<sup>[99-100]</sup>。这些发现进一步强调了ERGIC在自噬膜形成中的关键角色,提示了其自噬相关因子和蛋白复合体之间存在复杂的互动。

通常情况下,SEC12主要定位于ERES,且受到精确控制。然而在饥饿状态下,SEC12会转移到ERGIC,但其调控机制尚不清晰。研究发现,当处于饥饿状态时,自噬相关因子FIP200可以影响ERES的构造,促进其与ERGIC紧密联系。这可能使SEC12超出常态下ERES的定位局限,向ERGIC迁移,从而促进ERGIC-COP II小泡的形成并促进自噬过程。此外,cTAGE5蛋白在ERES上与SEC12结合,对维持ERES结构和自噬至关重要<sup>[101]</sup>。最近的工作还指出,ERGIC中的膜蛋白TMED9通过与SEC12直接互作,促成ERES与ERGIC之间的新型膜互作(membrane contact)——ERGIC-ERES膜互作,其最近距离为2~5 nm。这种新型的膜互作对自噬体的形成是至关重要的,它允许ERES上的SEC12通过反式激活(trans-activation)的方式,促进ERGIC上ERGIC-COP II小泡的生成(图2)<sup>[11,102-103]</sup>。另外,研究还显示,在饥饿状态下,ULK1会对COP II小泡中的SEC23B蛋白进行磷酸化,导致其重新定位至ERGIC,从而有助于自噬体的生成<sup>[104]</sup>。这些研究成果揭示了ERGIC-COP II小泡的形成依赖于自噬调节因子对COP II路径中多个调控蛋白的精细控制。这些发现强调了ERES-ERGIC-COP II膜网络在自噬膜形成中的中心调节作用,与酿酒酵母中发现的类似膜结构的调节功能相呼应。在21世纪初,大隅良典及其同事们<sup>[105]</sup>在酵母细胞中鉴定了一些关键蛋白(例如:Sec12、Sec23和Sec24),这些蛋白不仅对COP II小泡的形成至关重要,也在细胞自噬的调控中发挥作用。更深入的研究发现,PAS和隔离



在营养缺乏时, ERES发生重塑, 并与ERGIC相互作用产生新型膜互作。此过程需要TMED9与SEC12之间的直接互动, 以及FIP200和cTAGE5的协助。ERES的重塑导致SEC12转位到ERGIC, 从而促进ERGIC-COP II小泡(简称ERGIC-COP IIv)的生成。在ERGIC和ERES膜互作区域, ERES上的SEC12还可以通过反式激活来促进ERGIC-COP II小泡的形成。这些小泡作为LC3酯化的前体, 为自噬体提供了大量膜来源。

Upon starvation, the remodeled ERES interacts with ERGIC to form a new type of membrane contact, which relies on the direct interaction between TMED9 and SEC12, with the assistance of FIP200 and cTAGE5. The remodeling of ERES results in the re-localization of SEC12 to ERGIC, promoting the formation of ERGIC-COP II vesicles (ERGIC-COP IIv). At the same time, SEC12 on the ERES can promote the generation of ERGIC-COP II vesicles through trans-activation at the ERGIC-ERES membrane contact sites. ERGIC-COP II vesicles can serve as precursors for LC3 lipidation and provide a substantial membrane source for autophagosomes.

图2 ERGIC介导自噬体前体产生的模型(根据参考文献[11]修改)

Fig.2 Model of ERGIC-mediated autophagosome precursor generation (modified from reference [11])

膜的形成与ERES之间存在密切的关联<sup>[106-107]</sup>。近期研究表明, 酵母细胞膜蛋白Ax12可经COP II小泡自ER转运到自噬体膜上, 该研究为COP II小泡作为自噬体膜来源的观点提供了直接证据<sup>[108]</sup>。这些发现暗示ERES-ERGIC-COP II膜系统在细胞自噬过程中的作用可能在进化上是保守的。

COP II小泡精准定位至PAS或吞噬泡同样是关键所在。在酵母中的系列研究提供了一些线索: 酵母内, RAB1同源蛋白Ypt1及其针对自噬过程的GEF——TRAPP III复合体位于PAS区域<sup>[109]</sup>, 它们与Atg1复合体的成员(例如Atg1、Atg11)及Atg9互作, 在PAS的集聚和自噬体的形成过程中发挥着关键作用<sup>[110-112]</sup>。研究还发现, TRAPP III复合体可与COP II的Sec23亚基发生互作<sup>[113]</sup>。此外, Ypt1能在细胞膜上招募并激活激酶Hrr25<sup>[114]</sup>。Hrr25通过催化COP II中Sec24亚基的磷酸化修饰, 促进其与Atg9的结合, 进而加快COP II小泡促进自噬体形成的过程<sup>[115]</sup>。这些研究结果展示了一系列蛋白之间的相互作用如何助力于COP II小泡在PAS/吞噬泡的定位, 进而促进自噬体的形成, 并如何与Atg9膜泡(起始自噬体形成的关键膜来源之一)发挥协同作用<sup>[116]</sup>。在哺乳动物中, TRAPP III复合体和RAB1对自噬体的形成同样具有重要影响<sup>[100,117]</sup>。因此, 哺乳动物体内的机制可能与

酵母类似, 其中COP II小泡在自噬体的形成过程中起着关键作用。这一系列复杂的相互作用突显了自噬过程中分子层面的细致调控, 为深入理解自噬的分子机制提供了新视野。

#### 2.4 ERGIC在非经典蛋白质分泌中的功能

蛋白分泌是进化上十分保守的细胞间通讯方式。在真核生物中, 大多数分泌蛋白都带有一段特殊的氨基酸序列——信号肽(signal peptide), 并通过SEC61转运孔道(translocon)进入ER。之后, 这些蛋白质会在ER-Golgi间的膜泡运输系统中经历一系列加工与修饰, 最终完成分泌过程。这条通路也被称为经典分泌路径(classical secretion)<sup>[118-119]</sup>。最新研究显示, 许多无信号肽的胞质蛋白也能被分泌到细胞外, 而这并不依赖于传统的ER至Golgi运输途径。这些独特的分泌途径被统一归类为非经典蛋白分泌(unconventional protein secretion, UcPS)。在应激条件下, 非经典分泌过程是保持细胞内蛋白质平衡的关键机制。UcPS通路上的蛋白参与了机体的免疫、病毒感染和脂类代谢等。UcPS与许多疾病(如炎症、经退行性疾病和恶性肿瘤等)有着紧密的联系<sup>[120]</sup>。科学家们把UcPS分成了两大类。第一种类型为不依赖于膜泡运输的系统, 即分泌蛋白通过细胞膜被直接释放至胞外。在这一类型中,

存在两种主要的代表机制：第一种机制是激活的GSDMD(gasdermin D)在细胞表面形成通道，从而使小分子蛋白质，尤其是炎症相关细胞因子得以分泌到细胞外<sup>[121]</sup>，打孔过度最终会导致细胞焦亡<sup>[122]</sup>；第二种机制以FGF2为代表，蛋白质通过与细胞表面的PI(4,5)P2结合，实现自主跨膜运输<sup>[123]</sup>。这些非经典分泌方式的详细分子机制已在多篇综述文章中描述<sup>[124-126]</sup>。第二种类型为膜泡运输依赖的系统，如分泌型自噬体(secretory autophagosome)、分泌型溶酶体(secretory lysosome)以及多泡体(multi-vesicular body, MVB)等，都涉及依赖于膜泡运输的非经典蛋白分泌过程<sup>[118]</sup>。在依赖于膜泡运输的UcPS过程中，有2个重要的科学问题尚未明确。(1) 无信号肽蛋白是怎样被准确定位并转运至膜泡载体内的？(2) 非经典分泌蛋白的分泌过程起始于何处？上述问题的解答对于深入了解UcPS的作用机理具有重要意义。

**2.4.1 ERGIC——非经典分泌蛋白的“集散地”** 最新研究表明，ERGIC及其相关膜蛋白在UcPS膜泡运输中扮演着关键角色。白细胞介素-1 $\beta$ (interleukin-1 $\beta$ )是一种在身体炎症反应中起到关键调节作用的促炎因子，它也是首个被确认通过UcPS释放的蛋白质<sup>[127]</sup>。研究指出，IL-1 $\beta$ 可以通过两种机制被释放到细胞外：一种是通过GSDMD在细胞膜上形成的孔道直接释放<sup>[128]</sup>；而另一种则是通过诸如分泌型溶酶体、分泌型自噬体和多泡体等膜泡结构释放<sup>[118]</sup>。深入的研究发现，ERGIC上的TMED10对于非经典分泌过程至关重要，特别是在跨膜转运阶段；同时ERGIC也被视为非经典分泌膜泡运输的初始膜载体<sup>[9]</sup>。目前，蛋白从ERGIC到细胞外的转运机制仍不明确。由于UcPS的膜泡运输过程绕开了Golgi，因此从ERGIC产生的特殊膜泡并不是通往Golgi的COP I小泡。如先前部分所述，ERGIC在自噬体形成中扮演关键角色(参见2.3 ERGIC对于细胞自噬的调控)，因而推测ERGIC可能通过ERGIC-COP II小泡运输非经典的分泌蛋白进入自噬体。但是，自噬体在降解与分泌这两大去路的协调机制尚不清楚。研究指出，在中心体周围区域存在一个特定的ERGIC(由RAB1A标记)，这个区域被称为pcIC(pericentrosomal IC)，它与标记为RAB11的内吞循环体有着密切的联系<sup>[79,84]</sup>。基于这种观察，我们可以推测pcIC与内吞循环体之间可能直接进行物质传递。在神经细胞中，同样存在一种普遍的运输机制，该机制依赖于ERGIC系统，

并与细胞内吞循环系统直接相关。例如，当神经生长因子(nerve growth factor, NGF)促进PC12细胞的分化时，可以观察到ERGIC与ERES在神经突触部位高度集中，而Golgi和COP I蛋白则主要定位于细胞体，这种分布格局暗示了一种可能绕过Golgi的特殊运输路径<sup>[129]</sup>。另外，神经元表面存在数百种表面膜蛋白，这些蛋白包括神经递质受体、细胞黏附分子、电压门控离子通道等，它们通常以高度糖基化的形态存在。这些蛋白质的运输似乎不受传统的分泌途径抑制剂BFA(Brefeldin A)的影响，这表明它们可能通过一条非传统的路径被运送至细胞膜<sup>[130]</sup>。研究发现，许多神经元的树突结构并不含有Golgi；然而，这些树突中常常可以发现ERGIC和内吞循环体，它们在空间分布上通常是紧密相连的<sup>[131-132]</sup>。进一步的观察发现，在神经元树突中，GluA1(一种AMPA型谷氨酸接收器，AMPA-type glutamate receptor)被运输至细胞膜的过程并不依靠Golgi，而是依赖于ERGIC以及内吞循环体的协同作用<sup>[131]</sup>。在树突状细胞内，ERGIC上聚集的SNARE蛋白SEC22B通过与吞噬体上的STX4(syntaxin 4) SNARE蛋白的互动，促使ERGIC膜与吞噬体部分融合，这个过程对于抗原的交叉呈递有着显著影响<sup>[133]</sup>。这些发现表明，ERGIC有可能通过与内吞体-溶酶体系统的直接物质交流，对蛋白质的非经典分泌进行调控。在酿酒酵母的研究中，相似的现象同样也可观察到。在营养匮乏的条件下，在ERES附近有一种由Grh1蛋白(哺乳动物GRASP蛋白的同源物)调节的独特的管状小泡结构，这种结构被称作CUPS(compartment for unconventional protein secretion)<sup>[134]</sup>。这表明CUPS可能是酵母细胞中非经典分泌蛋白进入膜泡转运途径的起始点<sup>[135]</sup>。而将有关CUPS的结构定位特征以及功能特征等信息综合起来，这些信息均提示着CUPS是一个类ERGIC的内膜结构。以上这些均表明，ERGIC是一个进化上保守的非经典分泌蛋白“集散地”。但是，关于ERGIC如何在Golgi运输、非经典分泌和细胞自噬之间协同调控的具体机制，我们仍需更深入的研究。

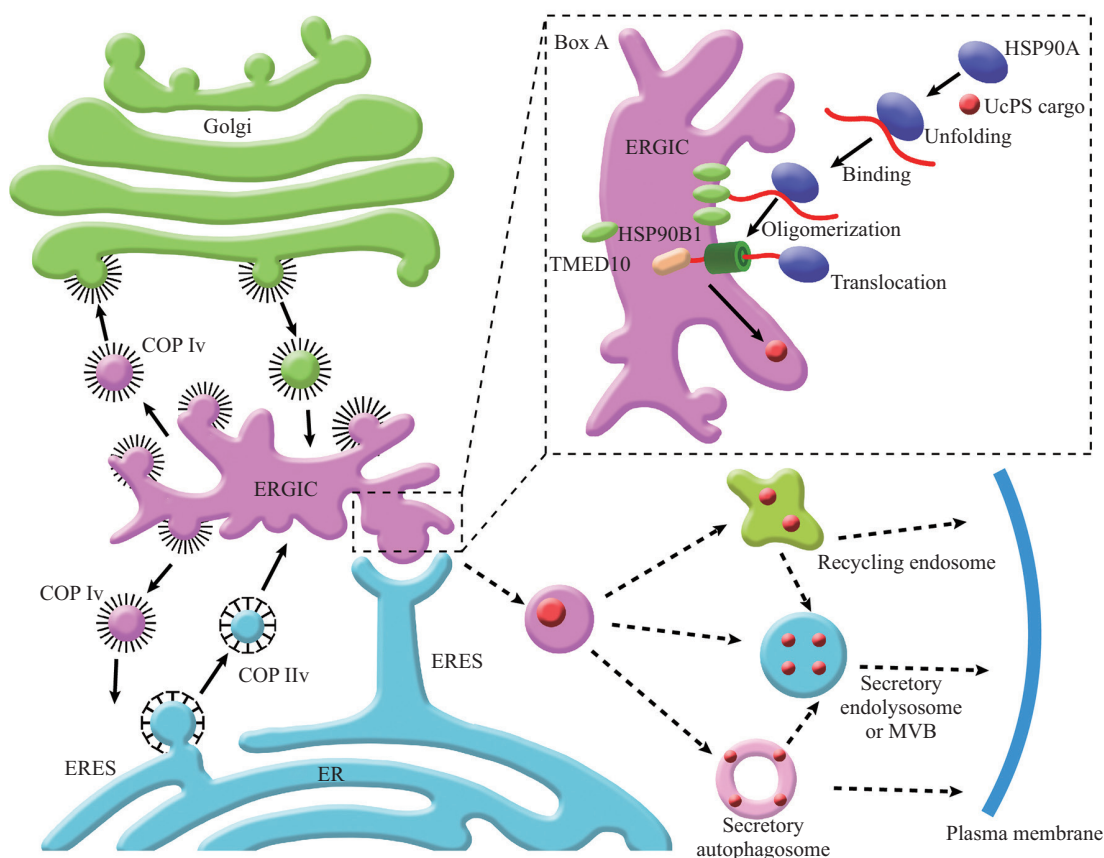
**2.4.2 ERGIC上的非经典蛋白质分泌通道** 研究人员深入探究了IL-1 $\beta$ 进入膜泡载体的方式，发现其并非传统的内吞作用，而是通过蛋白质去折叠和跨膜运输过程来实现的。这项研究揭示，细胞内可能存在一个与SEC61转运复合体类似的通道，它协助



非经典分泌蛋白质进入膜泡结构。IL-1 $\beta$ 的分泌起始于它被包裹在一个前体膜结构中,然后这个膜泡逐渐转变成一个分泌型自噬体<sup>[136]</sup>。进一步的研究发现了膜蛋白TMED10在IL-1 $\beta$ 及其他非经典分泌因子释放中的关键作用。这些分泌因子,包括IL-1家族蛋白、Galectins、Annexin A1、HSPB5以及Tau蛋白等,都有一个共同的、由14个氨基酸组成的序列,这个序列在TMED10介导的非经典分泌过程中扮演着必不可少的角色。定位在ERGIC上的TMED10可以发生寡聚化,最终形成了一种蛋白质通道,这一通道专门用于将细胞内的非经典分泌物质转运

到ERGIC内。在此机制中,HSP90A负责将蛋白质去折叠,而位于ERGIC的HSP90B1协助这些蛋白质向ERGIC膜内的转位。这一独特的跨膜转运途径被称为TMED10介导的非经典蛋白分泌(TMED10-channelled UcPS, THU)<sup>[9]</sup>(图3)。在酿酒酵母的研究中,研究人员发现饥饿时由Grh1蛋白调控形成的类ERGIC膜结构CUPS同样也参与非经典蛋白质分泌,而CUPS同时可作为酵母蛋白质非经典分泌起始点<sup>[134-135]</sup>,这提示其上也可能存在非经典蛋白质分泌通道。

非经典分泌蛋白,特别是ERGIC上THU通路介导的非经典分泌蛋白,分泌的信号是否有更加普适



ERGIC不仅在经典的从ER到Golgi的分泌途径中发挥作用(如图左侧所示),它也在非经典的蛋白质分泌过程中扮演着角色。在这个过程中,胞质中的HSP90A帮助非经典分泌蛋白解折叠,这些蛋白质接着与ERGIC表面的TMED10相结合,促进TMED10形成蛋白质通道。在HSP90B1的协助下,这些蛋白通过TMED10通道进入ERGIC内部(见Box A)。随后,这些分泌蛋白可能通过不同的路径进行转运,包括内吞循环体、分泌性自噬体、分泌性溶酶体和多泡体等机制,被运送到细胞外部环境中(参见图右下部分)。

In addition to coordinating the conventional secretory pathway from the ER to the Golgi (the left side of the figure), ERGIC also has a role in the unconventional protein secretion process. In this process, cytoplasmic HSP90A assists in the unfolding of unconventional secretory proteins, which then bind to TMED10 on the surface of the ERGIC, thereby promoting the formation of a protein channel by TMED10 oligomerization. With the aid of HSP90B1, these proteins translocate through the TMED10 channel into the ERGIC lumen (see box A). These proteins may then be released to the extracellular environment through various pathways including the recycling endosomes, secretory autophagosomes, secretory endolysosomes, and multivesicular bodies (illustrated on the bottom right).

图3 ERGIC在非经典蛋白分泌中的作用模型(根据参考文献[59]修改)

Fig.3 Model of ERGIC's role in unconventional protein secretion (modified from reference [59])

的共性？其分泌信号起始于何时？发生于何地？TMED蛋白寡聚化成通道的具体调控机制，以及在生理病理条件下行使的重要功能仍需要进一步探究与阐述。此外，对于非经典分泌的蛋白来讲，ERGIC上是否还有其他蛋白通道的存在？如果存在，它们之间如何进行分工？如何协调工作？相信这些问题的进一步阐述将给我们理解UcPS提供巨大的帮助，也将为以UcPS为靶点的临床转化提供理论指导。

## 2.5 ERGIC与病毒的组装

最新的研究揭示，冠状病毒在ERGIC上经历内向出芽和组装过程并获得病毒包膜。完成这一阶段后，病毒依靠细胞的囊泡运输机制被送至胞外环境<sup>[137]</sup>。正如之前“ERGIC的发现与研究历史”部分所提及，早期对于MHV感染细胞的研究揭示，MHV病毒是在细胞内组装且这一过程与细胞的关键分泌结构(如：ER和Golgi等)密切相关<sup>[138]</sup>。进一步电镜观察发现，病毒的出芽活动起始于ER与Golgi交界处，特别是在那些多形性的管泡状结构中<sup>[14]</sup>。研究表明，在病毒感染初期这些复杂结构是MHV组装的主要场所<sup>[14]</sup>。更重要的是，研究人员发现了ERGIC-53蛋白质位于这些特定结构中<sup>[139]</sup>。后续的研究结果显示ERGIC-53不仅被纳入冠状病毒粒子中，而且对病毒的传播和感染至关重要<sup>[140]</sup>。

在KLUMPERMAN等<sup>[141]</sup>研究人员的工作中，他们对属于冠状病毒科的 $\alpha$ 、 $\beta$ 和 $\gamma$ 三个属的四种病毒进行了深入分析。结果显示，这些病毒均以ERGIC作为其病毒粒子组装的场所。值得注意的是，已知导致人类重大疾病的几种冠状病毒，例如SARS-CoV、MERS-CoV以及SARS-CoV-2，也在ERGIC中完成它们的组装过程<sup>[142]</sup>。在病毒生命周期中，主要的结构蛋白，如S蛋白(spike)、M蛋白(membrane)和E蛋白(envelope)，首先在ER中被合成。这些蛋白在ERES处被包装进运输囊泡，随后被运输至ERGIC。然而，这一过程的具体机制尚不明确<sup>[143]</sup>。在N蛋白(nucleocapsid)的保护之下，病毒的遗传物质在ERGIC处向内出芽，并在该区域完成病毒粒子的进一步成熟<sup>[144]</sup>。这一向内出芽的过程，似乎极大地依赖于病毒结构蛋白质之间的特异性互作<sup>[144]</sup>。进一步地，冠状病毒中的非结构蛋白质(nonstructural proteins, NSPs)以及开放阅读框蛋白(open reading frame, ORF)也可能在病毒的组装过程中起到支持作用。它们可以通过与货物受体或其他细胞运输组件

的互作，或是通过调控脂质代谢，促进病毒的组装过程<sup>[8,137]</sup>。ERGIC的特殊脂质组成，尤其是其独有的磷脂酰肌醇成分，也被视为病毒出芽阶段的一个重要因素<sup>[145]</sup>。

病毒完成在ERGIC区域的组装后，会利用宿主细胞中的分泌机制进行释放。这一流程通常涉及ERGIC生成的膜泡携带病毒粒子至Golgi，后沿经典分泌途径被送往细胞外环境。Golgi的结构和功能的完整性对此过程至关重要，例如，使用莫能菌素(monensin)破坏Golgi的结构能有效阻止传染性胃肠炎冠状病毒(transmissible gastroenteritis coronavirus, TGEV)的释放<sup>[139]</sup>。但在病毒感染后期，Golgi往往出现解聚和碎片化现象<sup>[146]</sup>。这其中具体的机制并没有得到细致全面的解析。最新研究指出，包括SARS-CoV-2在内的 $\beta$ 冠状病毒释放过程并不受BFA影响，推测它们的释放并非依赖于传统的生物合成-分泌路径。相反，这些病毒可能通过涉及内吞体-溶酶体系统的机制，在类溶酶体的细胞器中实现释放<sup>[147]</sup>。已有研究证据指出，内吞循环体可以促进多种病毒的组装和释放<sup>[148]</sup>。正如先前提到的，ERGIC和RAB11标记的内吞循环体在结构上紧密相连，即使在BFA的干预下导致Golgi的结构解体，这些动态的膜结构仍然维持相互联系<sup>[6,131]</sup>。因此，这种对BFA具有抵抗性的ERGIC与内吞循环体的交互为不依赖于Golgi的非经典分泌路径奠定了基础。这暗示着病毒粒子可能能够直接从ERGIC转移到内吞循环体。这引发了另一个关键问题：病毒的糖蛋白是通过何种方式实现其正确的修饰和加工的？例如，SARS-CoV的S蛋白尽管在糖基化上表现出多样性，但它的末端加工仍然依赖于Golgi中的特定酶作用<sup>[149]</sup>。一种可能的假设是，病毒侵入后可能通过影响ERGIC与Golgi的微环境(比如改变pH值、离子浓度和脂质构成等)来引起高尔基体酶位置的重排，这样一来，病毒的蛋白就有可能在ERGIC中直接得到所需的修饰<sup>[150]</sup>。值得关注的是，许多研究指出，冠状病毒倾向于在ERGIC区域进行出芽和组装过程，但这些结论主要基于电子显微镜等技术的观察，这些方法可能不够全面甚至不够直接。因此，我们需要额外的数据来支持这一观点。此外，冠状病毒在ERGIC中组装的确切亚区域、这种偏好性的深层含义，以及影响其的决定性因素仍待进一步研究。

鉴于ERGIC在蛋白质质量控制、非经典蛋白质

分泌以及细胞自噬等过程中的重要功能,同时ERGIC又作为病毒组装的重要细胞结构,那么病毒感染之后的细胞中ERGIC的功能会受到何种影响?以及如何受到影响?以上这些问题都需要进一步的探究。

## 2.6 细胞应激状态下的类ERGIC结构

在细胞内部,一个精密的蛋白质控系统负责监督新合成蛋白质是否正确折叠,并确保它们送达预定的细胞位置。如果ER中积聚了过多未正确折叠的蛋白质,就会激发内质网应激(ER stress),此过程会激活一连串的事件,这些事件被统称为未折叠蛋白响应(unfolded protein response, UPR)<sup>[151]</sup>。UPR包括三个主要的调节机制,它们分别由IRE1、PERK和ATF6所介导。UPR的激活可通过几种方式恢复细胞内蛋白质的稳态平衡:它可以提升ER中蛋白质的折叠能力,暂时抑制全细胞的蛋白质合成,并加速错误折叠蛋白的降解过程<sup>[152]</sup>。当酵母和哺乳动物细胞内出现ER stress时,一种称作“内质网漩涡”(ER whorls)的特殊结构会被刺激产生<sup>[153-154]</sup>。在哺乳动物的细胞中,这些特殊结构的出现与PERK激酶的活化直接相关,它们的形成还依赖于SAR1蛋白和COP II复合体的作用,这些因素共同促进了管状ER whorl前体的产生。这些前体经SEC22B介导的膜融合后,最终发展为成熟的ER whorl。有趣的是,这个过程似乎可以通过限制SEC61的功能,进而抑制细胞内蛋白质的总体合成<sup>[153]</sup>。值得注意的是,内质网漩涡的形成依赖于COP II的调控和SNARE蛋白SEC22B的参与,而且它们具有高膜曲率(curvature),这与ERGIC的特性相似,因此也暗示内质网漩涡可能代表了一种特殊形式的ERGIC。同样,在营养匮乏酵母细胞中,研究人员观察到由Grh1蛋白所调控的管泡状膜结构CUPS(详见“ERGIC——非经典分泌蛋白的“集散地”部分),其结构、定位以及功能特征都暗示着CUPS可能是一种细胞在应激条件下由ER衍生而来的类ERGIC结构。因此,研究人员提议将ERGIC、CUPS、内质网漩涡等在应激条件下由ER特化而来的内膜结构统称为SICER(stress-induced compartment from the ER)<sup>[59]</sup>。

## 3 讨论与展望

ERGIC是细胞内广泛存在且高度动态的内膜系统组分,执行多种生物学功能。在正常生理状态下,它主要协调ER和Golgi之间的物质转运;而在细

胞面临胁迫时,ERGIC的作用变得更为重要,例如可通过细胞自噬恢复细胞稳态和通过介导非经典蛋白质分泌传递应激信号等。这些复杂功能基于ERGIC特有的管泡状结构和其在膜泡运输和货物分选上的能力。这一系列功能也使得ERGIC成为内膜系统在稳态和应激情况下调控膜泡运输和定向的中心枢纽,进而影响着细胞功能状态的转变。鉴于ERGIC在细胞内膜系统中的核心地位,某些病原体(如冠状病毒等)有可能通过影响ERGIC来改变宿主细胞内部膜系统的正常功能,从而促进其复制和传播。目前我们对ERGIC在各种细胞过程中的作用和其结构的动态变化仍知之甚少,特别是它在不同生理和病理条件下如何调节细胞的各种活动还有待进一步揭示。ERGIC的演化可能是对哺乳动物细胞内ER与Golgi复杂运输需求的适应,特别是考虑到其与ER和Golgi之间的长距离运输挑战。它与多种应激响应细胞过程有着直接的联系,涉及到细胞自噬、蛋白质非经典分泌、蛋白质稳态,以及病毒组装等方面。在一些特殊的应激状态中,可以观察到类似ERGIC的结构,如CUPS和内质网漩涡的形成,这些结构对于保持细胞内环境的稳定至关重要。

另外,我们还不太清楚ERGIC在不同物种中的具体形态特征以及这些异质性背后的深层原因。例如,(i)在非脊椎动物中,虽然没有观察到明显的ERGIC结构,但在这些细胞中存在明显的与ERGIC功能性同源的结构以及一些关键蛋白,这些蛋白(比如ERGIC-53、KDEL受体和TMED蛋白家族)在ERGIC功能调控中起着重要作用。因此,我们还不清楚在非脊椎动物细胞中ERGIC是否以不同的形态存在,或在特殊应激环境下被刺激而产生。比如,在酵母细胞遭遇饥饿时可能触发CUPS膜结构的产生,这一结构涉及到非经典的分泌路径,并且很有可能代表ERGIC的一种独特形式<sup>[134-35]</sup>。(ii)虽然哺乳动物细胞中ERGIC的结构和功能已经得到了深入探讨,但对于其他类型脊椎动物细胞内ERGIC的存在、结构特征及其作用机制的认识目前仍然非常有限。

最近,光学和电子显微镜技术取得了重大进展,这些成像技术的发展极大地深化了人们对ERGIC形态学特性、动态行为以及其在动态环境下的功能区



内质网漩涡等。结合生化分离以及组学技术,我们还可以对 ERGIC 的分子组成进行更加细致全面的分析,这将有助于我们理解 ERGIC 发挥功能的具体机制。深入研究不同物种中 ERGIC 的结构形态和生物学功能,将有助于我们更好地理解其在演化历程中的变化以及如何与生物复杂性相互作用的机制。未来,在数理交叉与生理深化的大方向下,探索 ERGIC 在各种生理和病理状态下的结构和功能调节机制,将有助于全面了解其在正常生理和病理状态下的作用,这将为相关人类疾病的诊断和治疗提供理论基础和新方向。

### 参考文献 (References)

- [1] JAMIESON J D, PALADE G E. Intracellular transport of secretory proteins in the pancreatic exocrine cell. I. Role of the peripheral elements of the Golgi complex [J]. *J Cell Biol*, 1967, 34(2): 577-96.
- [2] HANNA M G, PEOTTER J L, FRANKEL E B, et al. Membrane transport at an organelle interface in the early secretory pathway: take your coat off and stay a while: evolution of the metazoan early secretory pathway [J]. *Bioessays*, 2018, 40(7): e1800004.
- [3] SARASTE J, MARIE M. Intermediate compartment: a sorting station between the endoplasmic reticulum and the Golgi apparatus [J]. *Encyclopedia of Cell Biology*, 2016, 2: 168-82.
- [4] BRANDIZZI F, BARLOWE C. Organization of the ER-Golgi interface for membrane traffic control [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2013, 14(6): 382-92.
- [5] KUROKAWA K, NAKANO A. The ER exit sites are specialized ER zones for the transport of cargo proteins from the ER to the Golgi apparatus [J]. *J Biochem*, 2019, 165(2): 109-14.
- [6] SARASTE J, MARIE M. Intermediate compartment (IC): from pre-Golgi vacuoles to a semi-autonomous membrane system [J]. *Histochem Cell Biol*, 2018, 150(5): 407-30.
- [7] APPENZELLER-HERZOG C, HAURI H P. The ER-Golgi intermediate compartment (ERGIC): in search of its identity and function [J]. *J Cell Sci*, 2006, 119(Pt 11): 2173-83.
- [8] SICARI D, CHATZIOANNOU A, KOUTSANDREAS T, et al. Role of the early secretory pathway in SARS-CoV-2 infection [J]. *J Cell Biol*, 2020, 219(9): e202006005.
- [9] ZHANG M, LIU L, LIN X, et al. A translocation pathway for vesicle-mediated unconventional protein secretion [J]. *Cell*, 2020, 181(3): 637-52, e15.
- [10] GUI X, YANG H, LI T, et al. Autophagy induction via STING trafficking is a primordial function of the cGAS pathway [J]. *Nature*, 2019, 567(7747): 262-6.
- [11] LI S, YAN R, XU J, et al. A new type of ERGIC-ERES membrane contact mediated by TMED9 and SEC12 is required for autophagosome biogenesis [J]. *Cell Res*, 2022, 32(2): 119-38.
- [12] SARASTE J, KUISMANEN E. Pre- and post-Golgi vacuoles operate in the transport of *Semliki Forest* virus membrane glycoproteins to the cell surface [J]. *Cell*, 1984, 38(2): 535-49.
- [13] SARASTE J, HEDMAN K. Intracellular vesicles involved in the transport of *Semliki Forest* virus membrane proteins to the cell surface [J]. *EMBO J*, 1983, 2(11): 2001-6.
- [14] TOOZE J, TOOZE S, WARREN G. Replication of coronavirus MHV-A59 in sac- cells: determination of the first site of budding of progeny virions [J]. *Eur J Cell Biol*, 1984, 33(2): 281-93.
- [15] TOOZE S A, TOOZE J, WARREN G. Site of addition of N-acetyl-galactosamine to the E1 glycoprotein of mouse hepatitis virus-A59 [J]. *J Cell Biol*, 1988, 106(5): 1475-87.
- [16] SCHINDLER R, ITIN C, ZERIAL M, et al. ERGIC-53, a membrane protein of the ER-Golgi intermediate compartment, carries an ER retention motif [J]. *Eur J Cell Biol*, 1993, 61(1): 1-9.
- [17] SCHWEIZER A, FRANSEN J A, BACHI T, et al. Identification, by a monoclonal antibody, of a 53-kD protein associated with a tubulo-vesicular compartment at the *cis*-side of the Golgi apparatus [J]. *J Cell Biol*, 1988, 107(5): 1643-53.
- [18] SCHWEIZER A, FRANSEN J A, MATTER K, et al. Identification of an intermediate compartment involved in protein transport from endoplasmic reticulum to Golgi apparatus [J]. *Eur J Cell Biol*, 1990, 53(2): 185-96.
- [19] SARASTE J, PALADE G E, FARQUHAR M G. Antibodies to rat pancreas Golgi subfractions: identification of a 58-kD *cis*-Golgi protein [J]. *J Cell Biol*, 1987, 105(5): 2021-9.
- [20] LAHTINEN U, HELLMAN U, WERNSTEDT C, et al. Molecular cloning and expression of a 58-kDa *cis*-Golgi and intermediate compartment protein [J]. *J Biol Chem*, 1996, 271(8): 4031-7.
- [21] SARASTE J, SVENSSON K. Distribution of the intermediate elements operating in ER to Golgi transport [J]. *J Cell Sci*, 1991, 100 ( Pt 3): 415-30.
- [22] SCHWEIZER A, MATTER K, KETCHAM C M, et al. The isolated ER-Golgi intermediate compartment exhibits properties that are different from ER and *cis*-Golgi [J]. *J Cell Biol*, 1991, 113(1): 45-54.
- [23] SESSO A, DE FARIA F P, IWAMURA E S, et al. A three-dimensional reconstruction study of the rough ER-Golgi interface in serial thin sections of the pancreatic acinar cell of the rat [J]. *J Cell Sci*, 1994, 107(Pt 3): 517-28.
- [24] KLUMPERMAN J. Transport between ER and Golgi [J]. *Curr Opin Cell Biol*, 2000, 12(4): 445-9.
- [25] WEIGEL A V, CHANG C L, SHTENGEL G, et al. ER-to-Golgi protein delivery through an interwoven, tubular network extending from ER [J]. *Cell*, 2021, 184(9): 2412-29, e16.
- [26] YAN R, CHEN K, WANG B, et al. SURF4-induced tubular ERGIC selectively expedites ER-to-Golgi transport [J]. *Dev Cell*, 2022, 57(4): 512-25, e8.
- [27] HUANG D, XU B, LIU L, et al. TMEM41B acts as an ER scramblase required for lipoprotein biogenesis and lipid homeostasis [J]. *Cell Metab*, 2021, 33(8): 1655-70, e8.
- [28] WANG X, WANG H, XU B, et al. Receptor-mediated export of lipoproteins controls lipid homeostasis in mice and humans [J]. *Cell Metab*, 2021, 33(2): 350-66, e7.
- [29] PEOTTER J, KASBERG W, PUSTOVA I, et al. COPII-mediated trafficking at the ER/ERGIC interface [J]. *Traffic*, 2019, 20(7): 491-503.
- [30] ZANETTI G, PAHUJA K B, STUDER S, et al. COPII and the regulation of protein sorting in mammals [J]. *Nat Cell Biol*, 2011, 14(1): 20-8.
- [31] ROTH J, ZUBER C. Quality control of glycoprotein folding and

- ERAD: the role of N-glycan handling, EDEM1 and OS-9 [J]. *Histochem Cell Biol*, 2017, 147(2): 269-84.
- [32] ZUBER C, FAN J Y, GUHL B, et al. Immunolocalization of UDP-glucose:glycoprotein glucosyltransferase indicates involvement of pre-Golgi intermediates in protein quality control [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, 98(19): 10710-5.
- [33] BREUZA L, HALBEISEN R, JENO P, et al. Proteomics of endoplasmic reticulum-Golgi intermediate compartment (ERGIC) membranes from brefeldin A-treated HepG2 cells identifies ERGIC-32, a new cycling protein that interacts with human Erv46 [J]. *J Biol Chem*, 2004, 279(45): 47242-53.
- [34] HAMMOND C, HELENIUS A. Quality control in the secretory pathway: retention of a misfolded viral membrane glycoprotein involves cycling between the ER, intermediate compartment, and Golgi apparatus [J]. *J Cell Biol*, 1994, 126(1): 41-52.
- [35] YAMAMOTO K, FUJII R, TOYOFUKU Y, et al. The KDEL receptor mediates a retrieval mechanism that contributes to quality control at the endoplasmic reticulum [J]. *EMBO J*, 2001, 20(12): 3082-91.
- [36] JIN H, KOMITA M, AOE T. The role of bip retrieval by the kdel receptor in the early secretory pathway and its effect on protein quality control and neurodegeneration [J]. *Front Mol Neurosci*, 2017, 10: 222.
- [37] HERMOSILLA R, OUESLATI M, DONALIES U, et al. Disease-causing V<sub>2</sub> vasopressin receptors are retained in different compartments of the early secretory pathway [J]. *Traffic*, 2004, 5(12): 993-1005.
- [38] SIRKIS D W, APARICIO R E, SCHEKMAN R. Neurodegeneration-associated mutant TREM2 proteins abortively cycle between the ER and ER-Golgi intermediate compartment [J]. *Mol Biol Cell*, 2017, 28(20): 2723-33.
- [39] RAPOSO G, VAN SANTEN H M, LEIJENDEKKER R, et al. Misfolded major histocompatibility complex class I molecules accumulate in an expanded ER-Golgi intermediate compartment [J]. *J Cell Biol*, 1995, 131(6 Pt 1): 1403-19.
- [40] JOHNSON A, BHATTACHARYA N, HANNA M, et al. TFG clusters COPII-coated transport carriers and promotes early secretory pathway organization [J]. *EMBO J*, 2015, 34(6): 811-27.
- [41] MILLER E A, BEILHARZ T H, MALKUS P N, et al. Multiple cargo binding sites on the COPII subunit Sec24p ensure capture of diverse membrane proteins into transport vesicles [J]. *Cell*, 2003, 114(4): 497-509.
- [42] HANNA M G T, BLOCK S, FRANKEL E B, et al. TFG facilitates outer coat disassembly on COPII transport carriers to promote tethering and fusion with ER-Golgi intermediate compartments [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2017, 114(37): E7707-E16.
- [43] MCCAUGHEY J, STEPHENS D J. ER-to-Golgi transport: a sizeable problem [J]. *Trends Cell Biol*, 2019, 29(12): 940-53.
- [44] JIN L, PAHUJA K B, WICKLIFFE K E, et al. Ubiquitin-dependent regulation of COPII coat size and function [J]. *Nature*, 2012, 482(7386): 495-500.
- [45] LEVY E, POINSOT P, SPAHIS S. Chylomicron retention disease: genetics, biochemistry, and clinical spectrum [J]. *Curr Opin Lipidol*, 2019, 30(2): 134-9.
- [46] SAITO K, CHEN M, BARD F, et al. TANGO1 facilitates cargo loading at endoplasmic reticulum exit sites [J]. *Cell*, 2009, 136(5): 891-902.
- [47] ISHIKAWA Y, ITO S, NAGATA K, et al. Intracellular mechanisms of molecular recognition and sorting for transport of large extracellular matrix molecules [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2016, 113(41): E6036-E44.
- [48] MA W, GOLDBERG J. TANGO1/cTAGE5 receptor as a polyvalent template for assembly of large COPII coats [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2016, 113(36): 10061-6.
- [49] SANTOS A J, RAOTE I, SCARPA M, et al. TANGO1 recruits ERGIC membranes to the endoplasmic reticulum for procollagen export [J]. *eLife*, 2015, 4: e10982.
- [50] WANG X, HUANG R, WANG Y, et al. Manganese regulation of COPII condensation controls circulating lipid homeostasis [J]. *Nat Cell Biol*, 2023, 25: 1650-63.
- [51] LORD C, FERRO-NOVICK S, MILLER E A. The highly conserved COPII coat complex sorts cargo from the endoplasmic reticulum and targets it to the golgi [J]. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2013, 5(2): a013367.
- [52] ARAKEL E C, SCHWAPPACH B. Formation of COPI-coated vesicles at a glance [J]. *J Cell Sci*, 2018, 131(5): jcs209890.
- [53] TANIGAWA G, ORCI L, AMHERDT M, et al. Hydrolysis of bound GTP by ARF protein triggers uncoating of Golgi-derived COP-coated vesicles [J]. *J Cell Biol*, 1993, 123(6 Pt 1): 1365-71.
- [54] BECK R, RAWET M, WIELAND F T, et al. The COPI system: molecular mechanisms and function [J]. *FEBS Lett*, 2009, 583(17): 2701-9.
- [55] POPOFF V, LANGER J D, RECKMANN I, et al. Several ADP-ribosylation factor (Arf) isoforms support COPI vesicle formation [J]. *J Biol Chem*, 2011, 286(41): 35634-42.
- [56] VOLPICELLI-DALEY L A, LI Y, ZHANG C J, et al. Isoform-selective effects of the depletion of ADP-ribosylation factors 1-5 on membrane traffic [J]. *Mol Biol Cell*, 2005, 16(10): 4495-508.
- [57] WEIGEL A V, CHANG C L, SHTENDEL G, et al. ER-to-Golgi protein delivery through an interwoven, tubular network extending from ER [J]. *Cell*, 2021, 184(9): 2412-29, e16.
- [58] SHOMRON O, NEVO-YASSAF I, AVIAD T, et al. COPII collar defines the boundary between ER and ER exit site and does not coat cargo containers [J]. *J Cell Biol*, 2021, 220(6): e201907224.
- [59] ZHENG J, SUN Y, LIU L, et al. Diversified roles of the ER-Golgi intermediate compartment [J]. *SCIENTIA SINICA Vitae*, 2021.
- [60] HAURI H P, KAPPELER F, ANDERSSON H, et al. ERGIC-53 and traffic in the secretory pathway [J]. *J Cell Sci*, 2000, 113 (Pt 4): 587-96.
- [61] WATANABE S, KISE Y, YONEZAWA K, et al. Structure of full-length ERGIC-53 in complex with MCFD2 for cargo transport [J]. *bioRxiv*, 2023: 2023.08.27.554937.
- [62] NUFER O, KAPPELER F, GULDBRANDSEN S, et al. ER export of ERGIC-53 is controlled by cooperation of targeting determinants in all three of its domains [J]. *J Cell Sci*, 2003, 116(Pt 21): 4429-40.
- [63] APPENZELLER-HERZOG C, ROCHE A C, NUFER O, et al. pH-induced conversion of the transport lectin ERGIC-53 triggers glycoprotein release [J]. *J Biol Chem*, 2004, 279(13): 12943-50.
- [64] STRATING J R, MARTENS G J. The p24 family and selective transport processes at the ER-Golgi interface [J]. *Biol Cell*, 2009, 101(9): 495-509.
- [65] PASTOR-CANTIZANO N, MONTESINOS J C, BERNAT-SIL-

- VESTRE C, et al. p24 family proteins: key players in the regulation of trafficking along the secretory pathway [J]. *Protoplasma*, 2016, 253(4): 967-85.
- [66] STRATING J R, VAN BAKEL N H, LEUNISSEN J A, et al. A comprehensive overview of the vertebrate p24 family: identification of a novel tissue-specifically expressed member [J]. *Mol Biol Evol*, 2009, 26(8): 1707-14.
- [67] THEILER R, FUJITA M, NAGAE M, et al. The alpha-helical region in p24gamma2 subunit of p24 protein cargo receptor is pivotal for the recognition and transport of glycosylphosphatidylinositol-anchored proteins [J]. *J Biol Chem*, 2014, 289(24): 16835-43.
- [68] NAGAE M, HIRATA T, MORITA-MATSUMOTO K, et al. 3D structure and interaction of p24beta and p24delta golgi dynamics domains: implication for p24 complex formation and cargo transport [J]. *J Mol Biol*, 2016, 428(20): 4087-99.
- [69] CONTRERAS F X, ERNST A M, HABERKANT P, et al. Molecular recognition of a single sphingolipid species by a protein's transmembrane domain [J]. *Nature*, 2012, 481(7382): 525-9.
- [70] PANNWITT S, STANGL M, SCHNEIDER D. Lipid binding controls dimerization of the coat protein p24 transmembrane helix [J]. *Biophys J*, 2019, 117(9): 1554-62.
- [71] LI T, YANG F, HENG Y, et al. TMED10 mediates the trafficking of insulin-like growth factor 2 along the secretory pathway for myoblast differentiation [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2023, 120(46): e2215285120.
- [72] POPOFF V, ADOLF F, BRUGGER B, et al. COPI budding within the Golgi stack [J]. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2011, 3(11): a005231.
- [73] CABRERA M, MUNIZ M, HIDALGO J, et al. The retrieval function of the KDEL receptor requires PKA phosphorylation of its C-terminus [J]. *Mol Biol Cell*, 2003, 14(10): 4114-25.
- [74] LEWIS M J, PELHAM H R. Ligand-induced redistribution of a human KDEL receptor from the Golgi complex to the endoplasmic reticulum [J]. *Cell*, 1992, 68(2): 353-64.
- [75] GOMEZ-NAVARRO N, MILLER E. Protein sorting at the ER-Golgi interface [J]. *J Cell Biol*, 2016, 215(6): 769-78.
- [76] CAPITANI M, SALLESE M. The KDEL receptor: new functions for an old protein [J]. *FEBS Lett*, 2009, 583(23): 3863-71.
- [77] RAYKHEL I, ALANEN H, SALO K, et al. A molecular specificity code for the three mammalian KDEL receptors [J]. *J Cell Biol*, 2007, 179(6): 1193-204.
- [78] SOLIS G P, BILOUSOV O, KOVAL A, et al. Golgi-resident galphao promotes protrusive membrane dynamics [J]. *Cell*, 2017, 170(6): 1258.
- [79] SARASTE J. Spatial and functional aspects of ER-Golgi rabs and tethers [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2016, 4: 28.
- [80] MONETTA P, SLAVIN I, ROMERO N, et al. Rab1b interacts with GBF1 and modulates both ARF1 dynamics and COPI association [J]. *Mol Biol Cell*, 2007, 18(7): 2400-10.
- [81] TISDALE E J, JACKSON M R. Rab2 protein enhances coatomer recruitment to pre-Golgi intermediates [J]. *J Biol Chem*, 1998, 273(27): 17269-77.
- [82] DING X, JIANG X, TIAN R, et al. RAB2 regulates the formation of autophagosome and autolysosome in mammalian cells [J]. *Autophagy*, 2019, 15(10): 1774-86.
- [83] LORINCZ P, TOTHS S, BENKO P, et al. Rab2 promotes autophagic and endocytic lysosomal degradation [J]. *J Cell Biol*, 2017, 216(7): 1937-47.
- [84] MARIE M, DALE H A, SANNERUD R, et al. The function of the intermediate compartment in pre-Golgi trafficking involves its stable connection with the centrosome [J]. *Mol Biol Cell*, 2009, 20(20): 4458-70.
- [85] NAKATOGAWA H. Mechanisms governing autophagosome biogenesis [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2020, 21(8): 439-58.
- [86] LEVINE B, KROEMER G. Biological functions of autophagy genes: a disease perspective [J]. *Cell*, 2019, 176(1/2): 11-42.
- [87] GE L, BASKARAN S, SCHEKMAN R, et al. The protein-vesicle network of autophagy [J]. *Curr Opin Cell Biol*, 2014, 29: 18-24.
- [88] GOMEZ-SANCHEZ R, TOOZE S A, REGGIORI F. Membrane supply and remodeling during autophagosome biogenesis [J]. *Curr Opin Cell Biol*, 2021, 71: 112-9.
- [89] KABEYA Y, MIZUSHIMA N, UENO T, et al. LC3, a mammalian homologue of yeast Apg8p, is localized in autophagosome membranes after processing [J]. *EMBO J*, 2000, 19(21): 5720-8.
- [90] BRIER L W, ZHANG M, GE L. Mechanistically dissecting autophagy: insights from *in vitro* reconstitution [J]. *J Mol Biol*, 2016, 428(9 Pt A): 1700-13.
- [91] GE L, MELVILLE D, ZHANG M, et al. The ER-Golgi intermediate compartment is a key membrane source for the LC3 lipidation step of autophagosome biogenesis [J]. *eLife*, 2013, 2: e00947.
- [92] GE L, SCHEKMAN R. The ER-Golgi intermediate compartment feeds the phagophore membrane [J]. *Autophagy*, 2014, 10(1): 170-2.
- [93] HAN Y, LI S, GE L. Biogenesis of autophagosomes from the ERGIC membrane system [J]. *J Genet Genomics*, 2023, 50(1): 3-6.
- [94] KARANASIOS E, WALKER S A, OKKENHAUG H, et al. Autophagy initiation by ULK complex assembly on ER tubulovesicular regions marked by ATG9 vesicles [J]. *Nat Commun*, 2016, 7: 12420.
- [95] GAO Y, ZHENG X, CHANG B, et al. Intercellular transfer of activated STING triggered by RAB22A-mediated non-canonical autophagy promotes antitumor immunity [J]. *Cell Res*, 2022, 32(12): 1086-104.
- [96] HAN Y, ZHENG J, GE L. Activated STING1 rides the Rafeosome [J]. *Autophagy*, 2023, 19(12): 3230-3.
- [97] GE L, ZHANG M, SCHEKMAN R. Phosphatidylinositol 3-kinase and COPII generate LC3 lipidation vesicles from the ER-Golgi intermediate compartment [J]. *eLife*, 2014, 3: e04135.
- [98] GE L, WILZ L, SCHEKMAN R. Biogenesis of autophagosomal precursors for LC3 lipidation from the ER-Golgi intermediate compartment [J]. *Autophagy*, 2015, 11(12): 2372-4.
- [99] STADEL D, MILLARTE V, TILLMANN K D, et al. TECPR2 cooperates with LC3C to regulate COPII-dependent ER export [J]. *Mol Cell*, 2015, 60(1): 89-104.
- [100] ZOPPINO F C, MILITELLO R D, SLAVIN I, et al. Autophagosome formation depends on the small GTPase Rab1 and functional ER exit sites [J]. *Traffic*, 2010, 11(9): 1246-61.
- [101] GE L, ZHANG M, KENNY S J, et al. Remodeling of ER-exit sites initiates a membrane supply pathway for autophagosome biogenesis [J]. *EMBO Rep*, 2017, 18(9): 1586-603.



- [102] PURI C, RUBINSZTEIN D C. TMED9-SEC12, an important “contact” for autophagy [J]. *Cell Res*, 2022, 32(2): 111-2.
- [103] LI S, ZHANG M, GE L. A new type of membrane contact in the ER-Golgi system regulates autophagosome biogenesis [J]. *Autophagy*, 2021: 1-3.
- [104] JEONG Y T, SIMONESCHI D, KEEGAN S, et al. The ULK1-FBXW5-SEC23B nexus controls autophagy [J]. *eLife*, 2018, 7: e42253.
- [105] ISHIHARA N, HAMASAKI M, YOKOTA S, et al. Autophagosome requires specific early Sec proteins for its formation and NSF/SNARE for vacuolar fusion [J]. *Mol Biol Cell*, 2001, 12(11): 3690-702.
- [106] SUZUKI K, AKIOKA M, KONDO-KAKUTA C, et al. Fine mapping of autophagy-related proteins during autophagosome formation in *Saccharomyces cerevisiae* [J]. *J Cell Sci*, 2013, 126(Pt 11): 2534-44.
- [107] GRAEF M, FRIEDMAN J R, GRAHAM C, et al. ER exit sites are physical and functional core autophagosome biogenesis components [J]. *Mol Biol Cell*, 2013, 24(18): 2918-31.
- [108] SHIMA T, KIRISAKO H, NAKATOGAWA H. COPII vesicles contribute to autophagosomal membranes [J]. *J Cell Biol*, 2019, 218(5): 1503-10.
- [109] LYNCH-DAY M A, BHANDARI D, MENON S, et al. Trs85 directs a Ypt1 GEF, TRAPP3, to the phagophore to promote autophagy [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107(17): 7811-6.
- [110] WANG J, MENON S, YAMASAKI A, et al. Ypt1 recruits the Atg1 kinase to the preautophagosomal structure [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, 110(24): 9800-5.
- [111] KAKUTA S, YAMAMOTO H, NEGISHI L, et al. Atg9 vesicles recruit vesicle-tethering proteins Trs85 and Ypt1 to the autophagosome formation site [J]. *J Biol Chem*, 2012, 287(53): 44261-9.
- [112] LIPATOVA Z, BELOGORTSEVA N, ZHANG X Q, et al. Regulation of selective autophagy onset by a Ypt/Rab GTPase module [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, 109(18): 6981-6.
- [113] TAN D, CAI Y, WANG J, et al. The EM structure of the TRAPP3 complex leads to the identification of a requirement for COPII vesicles on the macroautophagy pathway [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, 110(48): 19432-7.
- [114] WANG J, DAVIS S, MENON S, et al. Ypt1/Rab1 regulates Hrr25/CK1delta kinase activity in ER-Golgi traffic and macroautophagy [J]. *J Cell Biol*, 2015, 210(2): 273-85.
- [115] DAVIS S, WANG J, ZHU M, et al. Sec24 phosphorylation regulates autophagosome abundance during nutrient deprivation [J]. *eLife*, 2016, 5: e21167.
- [116] HURLEY J H, YOUNG L N. Mechanisms of autophagy initiation [J]. *Annu Rev Biochem*, 2017, 86: 225-44.
- [117] LAMB C A, NUHLEN S, JUDITH D, et al. TBC1D14 regulates autophagy via the TRAPP complex and ATG9 traffic [J]. *EMBO J*, 2016, 35(3): 281-301.
- [118] ZHANG M, SCHEKMAN R. Cell biology. Unconventional secretion, unconventional solutions [J]. *Science*, 2013, 340(6132): 559-61.
- [119] ZHENG J, GE L. Diverse cellular strategies for the export of leaderless proteins [J]. *National Science Open*, 2022, 1(3): 4.
- [120] KIM J, GEE H Y, LEE M G. Unconventional protein secretion: new insights into the pathogenesis and therapeutic targets of human diseases [J]. *J Cell Sci*, 2018, 131(12): jcs213686.
- [121] DING J, WANG K, LIU W, et al. Pore-forming activity and structural autoinhibition of the gasdermin family [J]. *Nature*, 2016, 535(7610): 111-6.
- [122] SHI J, ZHAO Y, WANG K, et al. Cleavage of GSDMD by inflammatory caspases determines pyroptotic cell death [J]. *Nature*, 2015, 526(7575): 660-5.
- [123] STERINGER J P, NICKEL W. A direct gateway into the extracellular space: Unconventional secretion of FGF2 through self-sustained plasma membrane pores [J]. *Semin Cell Dev Biol*, 2018, 83: 3-7.
- [124] PALLOTTA M T, NICKEL W. FGF2 and IL-1beta-explorers of unconventional secretory pathways at a glance [J]. *J Cell Sci*, 2020, 133(21): jcs250449.
- [125] DIMOU E, NICKEL W. Unconventional mechanisms of eukaryotic protein secretion [J]. *Curr Biol*, 2018, 28(8): R406-R10.
- [126] WANG H, ZHANG M, GE L. Cholesterol: enhancing FGF2 translocation in unconventional secretion [J]. *J Cell Biol*, 2022, 221(11): e202210007.
- [127] RUBARTELLI A, COZZOLINO F, TALIO M, et al. A novel secretory pathway for interleukin-1 beta, a protein lacking a signal sequence [J]. *EMBO J*, 1990, 9(5): 1503-10.
- [128] EVAVOLD C L, RUAN J, TAN Y, et al. The pore-forming protein gasdermin D regulates interleukin-1 secretion from living macrophages [J]. *Immunity*, 2018, 48(1): 35-44, e6.
- [129] SANNERUD R, MARIE M, NIZAK C, et al. Rab1 defines a novel pathway connecting the pre-Golgi intermediate compartment with the cell periphery [J]. *Mol Biol Cell*, 2006, 17(4): 1514-26.
- [130] HANUS C, GEPTIN H, TUSHEV G, et al. Unconventional secretory processing diversifies neuronal ion channel properties [J]. *eLife*, 2016, doi: 10.7554/eLife.20609.
- [131] BOWEN A B, BOURKE A M, HIESTER B G, et al. Golgi-independent secretory trafficking through recycling endosomes in neuronal dendrites and spines [J]. *eLife*, 2017, 6: e27362.
- [132] HANUS C, KOCHEN L, TOM DIECK S, et al. Synaptic control of secretory trafficking in dendrites [J]. *Cell Rep*, 2014, 7(6): 1771-8.
- [133] CEBRIAN I, VISENTIN G, BLANCHARD N, et al. Sec22b regulates phagosomal maturation and antigen crosspresentation by dendritic cells [J]. *Cell*, 2011, 147(6): 1355-68.
- [134] BRUNS C, MCCAFFERY J M, CURWIN A J, et al. Biogenesis of a novel compartment for autophagosome-mediated unconventional protein secretion [J]. *J Cell Biol*, 2011, 195(6): 979-92.
- [135] CURWIN A J, BROUWERS N, ALONSO Y A M, et al. ESCRT-III drives the final stages of CUPS maturation for unconventional protein secretion [J]. *eLife*, 2016, 5: e16299.
- [136] ZHANG M, KENNY S J, GE L, et al. Translocation of interleukin-1beta into a vesicle intermediate in autophagy-mediated secretion [J]. *eLife*, 2015, 4: e11205.
- [137] HOGUE B G, MACHAMER C E. Coronavirus structural proteins and virus assembly [M]. *Nidoviruses*, 2007: 179-200.
- [138] STURMAN L S, HOLMES K V. The molecular biology of coronaviruses [J]. *Adv Virus Res*, 1983, 28: 35-112.
- [139] SALANUEVA I J, CARRASCOSA J L, RISCO C. Structural maturation of the transmissible gastroenteritis coronavirus [J]. *J Virol*, 1999, 73(10): 7952-64.
- [140] KLAUS J P, EISENHAUER P, RUSSO J, et al. The intracel-

- lular cargo receptor ERGIC-53 is required for the production of infectious arenavirus, coronavirus, and filovirus particles [J]. *Cell Host Microbe*, 2013, 14(5): 522-34.
- [141] KLUMPERMAN J, LOCKER J K, MEIJER A, et al. Coronavirus M proteins accumulate in the Golgi complex beyond the site of virion budding [J]. *J Virol*, 1994, 68(10): 6523-34.
- [142] KLEIN S, CORTESE M, WINTER S L, et al. SARS-CoV-2 structure and replication characterized by in situ cryo-electron tomography [J]. *Nat Commun*, 2020, 11(1): 5885.
- [143] NAL B, CHAN C, KIEN F, et al. Differential maturation and subcellular localization of severe acute respiratory syndrome coronavirus surface proteins S, M and E [J]. *J Gen Virol*, 2005, 86(Pt 5): 1423-34.
- [144] DE HAAN C A, ROTTIER P J. Molecular interactions in the assembly of coronaviruses [J]. *Adv Virus Res*, 2005, 64: 165-230.
- [145] CLUETT E B, KUISMANEN E, MACHAMER C E. Heterogeneous distribution of the unusual phospholipid semilysoisphosphatidic acid through the Golgi complex [J]. *Mol Biol Cell*, 1997, 8(11): 2233-40.
- [146] CORTESE M, LEE J Y, CERIKAN B, et al. Integrative imaging reveals SARS-CoV-2-induced reshaping of subcellular morphologies [J]. *Cell Host Microbe*, 2020, 28(6): 853-66.e5.
- [147] GHOSH S, DELLIBOVI-RAGHEB T A, KERVIEL A, et al. Beta-coronaviruses use lysosomes for egress instead of the biosynthetic secretory pathway [J]. *Cell*, 2020, 183(6): 1520-35.e14.
- [148] VALE-COSTA S, AMORIM M J. Recycling endosomes and viral infection [J]. *Viruses*, 2016, 8(3): 64.
- [149] RITCHIE G, HARVEY D J, FELDMANN F, et al. Identification of N-linked carbohydrates from severe acute respiratory syndrome (SARS) spike glycoprotein [J]. *Virology*, 2010, 399(2): 257-69.
- [150] KELLOKUMPU S. Golgi pH, ion and redox homeostasis: how much do they really matter[J]? *Front Cell Dev Biol*, 2019, 7: 93.
- [151] SUN Z, BRODSKY J L. Protein quality control in the secretory pathway [J]. *J Cell Biol*, 2019, 218(10): 3171-87.
- [152] KARAGOZ G E, ACOSTA-ALVEAR D, WALTER P. The unfolded protein response: detecting and responding to fluctuations in the protein-folding capacity of the endoplasmic reticulum [J]. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2019, 11(9): a033886.
- [153] XU F, DU W, ZOU Q, et al. COPII mitigates ER stress by promoting formation of ER whorls [J]. *Cell Res*, 2021, 31(2): 141-56.
- [154] BERNALES S, MCDONALD K L, WALTER P. Autophagy counterbalances endoplasmic reticulum expansion during the unfolded protein response [J]. *PLoS Biol*, 2006, 4(12): e423.