

What keeps intracellular traffic running smoothly?

细胞内膜系统的跨膜分子运输

曹禹*, 夏莹

中国科学院上海生命科学研究院生物化学与细胞生物学研究所, 国家蛋白质科学中心, 分子生物学国家重点实验室, 上海 201210

* 联系人, E-mail: yu.cao@sibcb.ac.cn

2016-06-13 收稿, 2016-07-25 修回, 2016-07-27 接受, 2016-08-16 网络版发表

中国科学院科技服务网络计划(STS 计划)(KFJ-EW-ST5-074)、中国科学院战略先导专项(B类)(XDB03030100)、国家自然科学基金重大项目(41190081)和“第三极环境(TPE)”国际计划资助

摘要 细胞是执行生命功能的基本单位, 各种生物分子在脂膜包被的区域内有序协调地行使功能, 从而构成了生物活动的基础. 脂分子层不仅具有隔绝内外形成微环境的屏障作用, 而且还通过受控的跨膜物质运输与信号转导而发挥交通枢纽的功能, 实现了膜内外物质与信息交换的精细调节. 除此之外, 脂分子层由于其形成的疏水环境还为大量的脂溶性生物小分子的合成与代谢提供了加工场所. 细胞内膜系统的物质运输是一个高度受控的复杂物流网络, 所运输的底物涵盖了无机小分子、有机小分子和生物大分子等众多物质, 其运输效率和调节机制与细胞发挥正常功能以及疾病发生发展具有重要关系. 由于分子定位、原位成像和蛋白质样品获取方面的困难, 目前对于细胞内膜运输系统的研究与了解只是冰山一角. 本文就细胞内各膜系统间发生运输和交换的信号分子、营养物质及生物大分子的研究进展做了综述, 并且期待在细胞内膜系统研究上新技术新方法的发现.

关键词 内膜系统, 膜蛋白, 跨膜转运, 代谢

细胞是执行生命功能的基本单位, 除特殊形式(如病毒)外, 地球上所有的生命体都是由细胞构成的. 细胞在本质上是由磷脂膜包被的一团大分子溶液, 各种生物分子功能在其中的有序协调行使共同构成了宏观生命现象的基础. 磷脂膜是基本上连续的二维面结构, 其不仅将细胞内物质与细胞外环境相隔离, 而且还在细胞内通过折叠-弯曲-融合形成多种亚细胞结构, 例如细胞核和其他多种细胞器, 这些不同位置的磷脂膜在一起构成了细胞的膜系统. 由于细胞的膜系统是一个疏水性较强的结构, 因此对于水溶性小分子和生物大分子起到了非常良好的屏障作用, 膜两侧自发进行的该类物质交换几乎可以忽略不计. 在这种情况下, 由跨膜蛋白质所实施的分子输送对于合理地将各种维持生命活动必须的物质分配至各自的目的地起到了至关重要的作用. 长期以来负责细胞内外物质与信息交

换的跨细胞膜分子过程受到了较多关注, 大量的跨细胞膜过程的结构基础和功能调控得到了良好的阐明, 例如GPCR介导的信号转导过程、钾离子通道的导电原理、葡萄糖转运体的转运机制, 等等. 与之成对比的是, 由于在分子定位、原位成像和蛋白质样品获取方面的困难, 细胞内的各种跨膜过程研究目前进展较为缓慢, 对于细胞器内外和细胞器之间物质与信息交换的具体分子机理的了解刚刚起步.

1 细胞内跨膜转运

在细胞内的各膜系统间进行频繁运输的物质主要为信号分子(如钙离子)、营养物质(如葡萄糖分子)以及生物大分子(如蛋白质). 这些分子的有序输送是细胞正常代谢并发挥其特有功能的重要前提, 其功能紊乱与异常是多种重要疾病的成因.

引用格式: 曹禹, 夏莹. 细胞内膜系统的跨膜分子运输. 科学通报, 2016, 61: 2762-2766

Cao Y, Xia Y. The molecular transportation across intracellular membrane system (in Chinese). Chin Sci Bull, 2016, 61: 2762-2766, doi: 10.1360/N972016-00696

1.1 离子转运

作为具备多种生理作用的荷电小分子, 钙离子在细胞各区室内浓度的维持和变化的精细调控决定了细胞多种正常功能的发挥, 如细胞分化与凋亡、卵子受精、肌细胞兴奋等. 为了确保钙离子在细胞内的有序流动, 细胞内膜系统上存在着大量的钙离子运输系统用于对其浓度进行调控. 作为细胞内最重要的钙库, 内质网通过吸收和释放钙离子调节着多种细胞功能, 如肌肉收缩, 神经兴奋、细胞分泌等. 内质网的内向钙离子摄取通过钙离子释放激活型钙通道(Ca^{2+} -release-activated Ca^{2+} channel, CRAC)来实施, 这一过程通过内质网上的钙感知蛋白STIM根据内质网内的钙浓度来激活CRAC蛋白的通道开放, 从而实现在钙储量下降情况下的钙离子重吸收^[1]. 内质网的外向钙离子释放主要通过两种机制实现: 信号分子激活的释放途径, 本途径主要通过内质网膜上的 IP_3 受体钙通道受到信号分子 IP_3 的激活而启动钙释放^[2], 或通过Ryanodine受体钙通道而受到多种其他信号分子的激活而启动^[3]; 钙库超量激活的释放途径, 本途径主要是在内质网内钙浓度过高的情况下启动向细胞质的钙释放以保护内质网内的正常生理活动, 这一过程的分子机制长期并不明朗, 其关键性的跨膜转运分子刚刚才被鉴定为TMCO1 (Transmembrane and coiled-coil domain-containing protein 1), 这一蛋白可能是通过在钙浓度升高的情况下发生四聚化形成钙通道的方式来启动钙“过载”情况下的释放过程^[4]. 除内质网外, 另一重要的钙离子内膜系统是线粒体. 线粒体是细胞内重要的钙库. 当细胞质中钙离子浓度升高时, 可通过线粒体上单向转运体(Mitochondria Uniporter, MCU)复合物通过核心的MCU1五聚体通道将其运输至线粒体内, 防止胞内钙离子浓度过高对细胞造成损伤^[5], 而线粒体内的磷酸根可以结合钙离子防止其在线粒体内的高浓度造成生化反应的异常; 线粒体向细胞质的钙释放则是通过钠钙交换转运蛋白($\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -exchange protein, NCX)和不依赖钠离子的钙转运蛋白共同完成^[6].

1.2 生物小分子转运

细胞内部各细胞器之间还存在着十分频繁的有机小分子运输活动, 如能源物质, 包括多种糖类、辅酶、磷酸核苷等, 以及代谢中间物和产物, 包括丙酮

酸、柠檬酸、乳酸、血红素等. 其中糖类分子的跨高尔基体膜运输在进化上对于哺乳动物而言至关重要, 这是因为哺乳动物的高尔基体是乳糖合成的主要场所, 而作为乳糖合成的前体分子, 葡萄糖不仅需要进行跨质膜运输进入细胞, 而且必须高效地进一步转运进入高尔基体才能实现快速有效地合成乳糖, 并进一步经过加工形成繁衍后代所必须的乳汁. 高尔基体的其他重要的生物功能, 如O连接糖基化加工过程, 也需要葡萄糖分子的参与. 葡萄糖分子在被摄入细胞后可以以两种形式进入高尔基体. (i) 主要以葡萄糖分子的形式被糖转运体运输, 催化这一过程的主要为1型葡萄糖转运体(GLUT1, Glucose transporter type 1)^[7], 但是由于新近发现的SWEET家族葡萄糖转运体更多地定位于高尔基体膜^[8], 因此该转运过程很可能是由这两种蛋白共同负责; (ii) 部分地经加工后以UDP-半乳糖形式被核苷化糖类转运体SLC35A2与SLC35B2所运输^[9]. 这两种运输途径受到葡萄糖水平、激素水平以及多种细胞因子介导的信号通路的调控, 如促乳激素可改变GLUT1在细胞内的蛋白质合成后运输, 从而提高其在高尔基体上的表达水平; 而病原入侵等原因引发的炎症反应所产生的多种细胞因子则可以大幅下调上述转运蛋白的表达水平和细胞内定位, 从而减少乳糖的生成^[10]. 在与营养物质摄入相对的另一方面, 细胞内膜系统中各种代谢活动所产生的中间物、产物和副产物也存在着再运输至新位置或者迅速清除的需求. 例如, 作为糖酵解的产物, 处于细胞质中的丙酮酸面临着滞留原地以进行无氧氧化作用或者进入线粒体以进行有氧氧化作用的分支命运, 而后者需要高效迅速地穿越线粒体膜以加入TCA循环, 这一过程主要由线粒体丙酮酸转运体(MPC, Mitochondrial pyruvate carrier)催化进行^[11], MPC的功能受损毫无意外地可能导致乳酸中毒和过丙酮酸症; 而线粒体内代谢活动所产生的各种产物, 例如苹果酸、柠檬酸、氧化戊二酸等, 均需要穿过线粒体膜进入细胞质来启动多种合成代谢途径, 这一跨膜过程主要由线粒体转运蛋白SLC25A家族的多个成员来完成^[12].

1.3 生物大分子转运

除各种生物活性小分子外, 细胞内的膜系统还承担着另一项至关重要的运输功能, 即蛋白质分子的转运与分选过程. 蛋白质的肽链合成主要是在内

质网中进行的,新生肽链经过折叠、加工、组装后,一般会根据其生物功能而被定向输送至不同的位置,例如细胞膜中、细胞外、细胞核内,这一过程的有序完成依赖于内质网、高尔基体、囊泡、细胞核上的多组蛋白质机器的精密合作.与此同时,在内质网内折叠过程中发生错误的“问题”多肽链同样需要经过甄别、重折叠、泛素化等过程并转运出内质网进行降解,这一过程对于维持细胞的正常生理活动十分重要,一旦受阻而出现大量错折叠肽链滞留的状况将导致细胞健康受损,直至发生死亡或凋亡.在内质网中存在着两组功能系统负责这一过程,分别为内质网质量监控系统(ERQC, ER quality control)和内质网相关降解系统(ERAD, ER associated degradation)^[13].对这两个系统行使功能的分子机制目前人们仅窥一角,尚未形成较为系统的了解.目前只鉴定出大量蛋白质参与其中,例如分子伴侣、二硫键酶、糖基化酶、多肽转运体蛋白、泛素化酶和大量的辅助性蛋白质.当蛋白质由于突变、折叠失误等原因导致其处于非天然构象的时候,这一“问题”肽链将受到较为特殊的糖基化标记(如, N连接糖基末端的葡萄糖加入^[13])并通过位于内质网膜上的肽链转运体(例如Derlin转运蛋白^[14])排入细胞质,在这一转运过程中,多数底物肽链还将受到泛素化修饰,最终被运输至细胞质的泛素化肽链将被蛋白酶体复合物捕获并完成降解过程^[15].这一蛋白质的细胞内运输-分选-回收处理过程对于细胞健康状态十分重要,其中发生的错误与多种疾病相关.一个著名的例子是囊性纤维化,这种疾病患者大多数在编码囊性纤维化转导调节因子蛋白(Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator, CFTR)的基因上存在着重要的氨基酸突变,例如最

著名的第508位氨基酸缺失突变,这一突变并不导致该蛋白活性的完全丧失,但是其所引发的构象变化却使得ERQC系统认为该突变蛋白质为变性蛋白,继而启动ERAD过程将其大部分导入降解过程,导致CFTR无法到达细胞膜行使正常功能并引起疾病^[16].著名的天价药物ORKAMBI™就是针对这一过程,通过其有效成分lumacaftor来稳定化CFTR $\Delta 508$ 突变的构象来取得对囊性纤维化的治疗效果^[17].

2 问题与展望

细胞内膜系统的物质运输是处于一个高度受控的复杂物流网络之中的重要生理过程,这一过程的流畅运转是细胞各项功能正常行使的前提.然而,由于当前存在的技术障碍,人们对细胞内膜系统物质运输认识相对匮乏,主要的障碍存在于:(i)膜蛋白结构解析与功能分析的困难.近十年来,虽然膜蛋白的结构生物学领域取得了较大突破,一系列重要的膜蛋白获得了高分辨的三维结构和较为可信的功能描述,但是这些成就基本上局限于细胞膜上的跨膜蛋白质研究,对于辅助细胞内膜系统转运的蛋白质的研究由于表达、纯化和结构分析的困难而进展缓慢;(ii)针对细胞内膜系统中各种化学物质的活体定量手段目前仍有欠缺,在无法准确获知各细胞器内的转运底物(例如,葡萄糖、柠檬酸等)的浓度并对其进行实时跟踪的情况下,很难系统地完成细胞内膜运输系统的功能图谱,目前所能做的只能是针对某一两种转运体蛋白进行功能分析.相信在这两个领域中出现的新技术新方法将会有助于人们对于细胞内运输的认识与了解,并在此基础上提出这一过程紊乱所引发疾病的治疗方案.

参考文献

- 1 Gudlur A, Zhou Y, Hogan P G. STIM-ORAI interactions that control the CRAC channel. *Curr Top Membr*, 2013, 71: 33–58
- 2 Mikoshiba K. IP3 receptor/ Ca^{2+} channel: From discovery to new signaling concepts. *J Neurochem*, 2007, 102: 1426–1446
- 3 Lanner J T. Ryanodine receptor physiology and its role in disease. *Adv Exp Med Biol*, 2012, 740: 217–234
- 4 Wang Q C, Zheng Q, Tan H, et al. TMCO1 is an ER Ca^{2+} load-activated Ca^{2+} channel. *Cell*, 2016, 165: 1454–1466
- 5 Oxenoid K, Dong Y, Cao C, et al. Architecture of the mitochondrial calcium uniporter. *Nature*, 2016, 533: 269–273
- 6 Xu H, Martinoia E, Szabo I. Organellar channels and transporters. *Cell Calcium*, 2015, 58: 1–10
- 7 Zhao F Q. Biology of glucose transport in the mammary gland. *J Mammary Gland Biol Neoplasia*, 2014, 19: 3–17
- 8 Chen L Q, Hou B H, Lalonde S, et al. Sugar transporters for intercellular exchange and nutrition of pathogens. *Nature*, 2010, 468: 527–532
- 9 Mohammad M A, Hadsell D L, Haymond M W. Gene regulation of UDP-galactose synthesis and transport: Potential rate-limiting processes in initiation of milk production in humans. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2012, 303: E365–E376

-
- 10 Kobayashi K, Kuki C, Oyama S, et al. Pro-inflammatory cytokine TNF- α is a key inhibitory factor for lactose synthesis pathway in lactating mammary epithelial cells. *Exp Cell Res*, 2016, 340: 295–304
 - 11 Bricker D K, Taylor E B, Schell J C, et al. A mitochondrial pyruvate carrier required for pyruvate uptake in yeast, *Drosophila*, and humans. *Science*, 2012, 337: 96–100
 - 12 Gutierrez-Aguilar M, Baines C P. Physiological and pathological roles of mitochondrial SLC25 carriers. *Biochem J*, 2013, 454: 371–386
 - 13 Vembar S S, Brodsky J L. One step at a time: endoplasmic reticulum-associated degradation. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2008, 9: 944–957
 - 14 Bernardi K M, Forster M L, Lencer W I, et al. Derlin-1 facilitates the retro-translocation of cholera toxin. *Mol Biol Cell*, 2008, 19: 877–884
 - 15 Kravtsova-Ivantsiv Y, Ciechanover A. Non-canonical ubiquitin-based signals for proteasomal degradation. *J Cell Sci*, 2012, 125: 539–548
 - 16 Wang B, Heath-Engel H, Zhang D, et al. BAP31 interacts with Sec61 translocons and promotes retrotranslocation of CFTR Δ F508 via the derlin-1 complex. *Cell*, 2008, 133: 1080–1092
 - 17 Brodsky J L, Frizzell R A. A combination therapy for cystic fibrosis. *Cell*, 2015, 163: 17



曹 离

1999年毕业于南开大学，获理学学士学位；2004年毕业于中国科学院生物物理研究所，获生物化学专业理学博士学位；2005~2011年于美国哥伦比亚大学进行博士后深造，主要从事膜转运蛋白的结构生物学以及功能研究；2011~2013年于美国辉瑞制药公司担任博士后研究员；2013~2014年于默克雪兰诺(美国)公司担任II级研究员；2014年回国加入中国科学院上海生物化学与细胞生物学研究所国家蛋白质科学中心(上海)担任研究员、博士生导师和研究组长，2015年获选中组部“千人计划(青年项目)”与上海市“浦江人才”计划。目前主要研究方向为膜蛋白结构生物学与生物医学。

The molecular transportation across intracellular membrane system

CAO Yu & XIA Ying

State Key Laboratory of Molecular Biology, National Center for Protein Science Shanghai, Institute of Biochemistry and Cell Biology, Shanghai Institutes for Biological Sciences, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 201210, China

Intracellular membranes constitute a complicate system which defines the cellular compartments, such as mitochondria, lysosome and endoplasmic reticulum (ER), and restricts biological active substrates within specific locations to conduct their physiological roles. Due to the hydrophobic property of the membranes, most of the enclosed molecules are unable to pass through the “lipidic walls” spontaneously and thus their traveling among different cell locations should be facilitated by the protein machinery across the intracellular membranes. In respect to eukaryotic cells, various transportation systems have evolved to orchestrate the complex traffic network connecting different cellular compartments in an efficient and organized way, including active transporter, passive transporter, channels, etc., which catalyze the transmembrane permeation of critical nutrient molecules, ions and even macromolecules. On the other hand, the lipidic environment within the membrane makes it a perfect place for biochemical reaction involving the hydrophobic molecules, such as the synthesis of steroids and sphingomyelins. The proper function of intracellular transportation systems is critical for cells to maintain a healthy metabolism, conduct their physiological activities in organism, and keep on the right track of cell fate, such as proliferation, differentiation and apoptosis. For example, the metabolism reactions in mitochondria require a sufficient supplies of biochemical substrates (e.g., pyruvate) to generate energy for cells, as well as a quick cleanup for the products and by products of the reaction to complete the cycles. The dysfunction of the systems could result in abnormal status of cell organelles: insufficient nutrition supplies would slow down the energy generation; excessive accumulation of certain molecules within mitochondria and ERs would be toxic and thus disturb the biological activities therein; incorrect traffic of proteins would cause their improper localization and lead to pathological process and diseases, such as cystic fibrosis resulting from the inappropriate localization of cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR), and viral invasion by cytomegalovirus which can hijack the ER-associated degradation system to eliminate MHC I molecules by inducing MHC I to stray into cytoplasm instead of its proper destination, cell membrane, thus weakening the immune recognition of the cell. The research in the field of intracellular transportation runs far behind the progress of transportation across the cell membrane due to the difficulties in quantitation of the molecules inside cell compartments, live imaging on the dynamic change of cell organelle contents, and purification of membrane protein localized on intracellular membranes, and thus the breakthrough in the related technologies will prompt our understanding on the intracellular traffic greatly.

intracellular membrane, membrane proteins, transmembrane transportation, metabolism

doi: 10.1360/N972016-00696