



# 内质网-高尔基体中间体功能研究进展

郑健飞, 孙瑜昕, 刘磊, 陶旋, 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

\* 联系人, E-mail: liangge@mail.tsinghua.edu.cn

收稿日期: 2021-05-21; 接受日期: 2021-07-23; 网络版发表日期: 2021-10-27

国家自然科学基金“细胞器互作网络及其功能研究”重大研究计划培育项目(批准号: 91854114)和科技部重大研发计划(批准号: 2019YFA0508602)项目资助

**摘要** 内质网-高尔基体中间体(ERGIC)的发现来自于对病毒蛋白胞内转运的研究. 最初认为ERGIC是内质网和高尔基体之间的膜泡运输分选站, 主要调控早期分泌途径中的货物分选及双向运输. 随着研究的深入, 发现ERGIC在细胞应激条件下发挥其他重要细胞学功能, 包括在自噬过程中调控早期自噬体膜的形成, 以及在非经典蛋白分泌途径中扮演蛋白跨膜转运的膜泡载体. 多项研究证明包括新冠病毒在内的冠状病毒利用宿主细胞的ERGIC作为其装配位点, 实现复制和包装. 除此之外, 研究提示ERGIC也参与蛋白质量控制, 而且可能以内质网漩涡等其他的内膜体形式存在, 并调控细胞应激条件下的内膜系统稳态平衡. 虽然ERGIC多个功能被发现, 但是我们对ERGIC的功能认知只是冰山一角, 尤其是对ERGIC不同生理和病理状态下结构动态和功能调控尚不清楚. 本文将对ERGIC的细胞学功能以及分子调控机制进行总结和讨论.

**关键词** ERGIC, 膜泡运输, RAB, 自噬, COP II, 非经典蛋白分泌, TMED, 冠状病毒

20世纪60年代, Palade等人<sup>[1]</sup>发现蛋白分泌过程中途经内质网(endoplasmic reticulum, ER)和高尔基体(Golgi), 开启了膜泡运输研究领域. 参与内质网和高尔基体膜泡运输的分子机器在进化上比较保守, 如COP(coat protein complex)包被, 但其调控的膜结构在不同的真核细胞中存在一定差别, 其中物种间存在较大差异的一个内膜体是存在于内质网和高尔基体之间的一个中间膜区室, 称为内质网-高尔基体中间体(endoplasmic reticulum-Golgi intermediate compartment, ERGIC)<sup>[2,3]</sup>. 在非脊椎动物细胞中, 如植物和芽殖酵母(budding yeast), 高尔基体独立分布并位于内质网排出

点(ER exit site, ERES)附近, 以进行短距离的内质网-高尔基体通讯, 其内膜系统通常没有典型的ERGIC结构<sup>[4,5]</sup>. 而在脊椎动物细胞中, 内质网遍布整个细胞质, 高尔基体则在微管组织中心(microtubule-organizing center, MTOC)附近形成一条连续的带(Golgi ribbon), 因此有很大一部分ERES(在培养的哺乳动物细胞中约有一半)存在于细胞外围, 需要长距离的运输才能达到高尔基体<sup>[2,4,6]</sup>. ERGIC在哺乳动物细胞中有较为广泛的存在, 因此也有观点认为ERGIC在进化上的出现可能是为了适应哺乳动物等体积较大的动物细胞中内质网到高尔基体的长距离通讯<sup>[2,4,6]</sup>.

引用格式: 郑健飞, 孙瑜昕, 刘磊, 等. 内质网-高尔基体中间体功能研究进展. 中国科学: 生命科学, 2022, 52: 28–45

Zheng J F, Sun Y X, Liu L, et al. Diversified roles of the ER-Golgi intermediate compartment (in Chinese). Sci Sin Vitae, 2022, 52: 28–45, doi: 10.1360/SSV-2021-0156

ERGIC的出现使得内质网-高尔基体膜泡运输系统变得更加复杂, 而且功能多样. 由于ERGIC的发现源于对内质网和高尔基体间蛋白运输的研究, 早期的目光主要关注在ERGIC调控分泌途径中蛋白质分选及双向运输、蛋白折叠和质量控制、O-糖基化的起始、N-糖基化的修饰以及黏多糖和脂质的合成等方面<sup>[6,7]</sup>. 值得注意的是, 近年来研究表明ERGIC也参与多种与内质网-高尔基体运输途径不直接相关的细胞事件, 如自噬体的形成、蛋白非经典分泌和冠状病毒包装等<sup>[6,8,9]</sup>. 这些研究提示ERGIC是个多功能细胞器, 在调节膜泡运输稳态和细胞应激相关过程中扮演重要角色, 也可能是宿主细胞内被病原体靶向和利用的重要内膜体之一. 本文将对ERGIC的功能研究进展进行总结及讨论.

## 1 ERGIC的发现

ERGIC内膜体最初是在病毒蛋白膜泡运输研究中被发现的. 20世纪80年代, Saraste等人<sup>[10,11]</sup>在对SFV病毒(semliki forest virus)膜蛋白ts-1温度敏感型突变体的转运研究中发现, SFV的膜蛋白途经一个前高尔基体泡(pre-Golgi vacuole). 尤其是在15℃时, ts-1温度敏感型突变体可离开内质网, 驻留在前高尔基体泡, 而不进入到高尔基体. 与此同时, Tooze等人<sup>[12]</sup>发现MHV病毒粒子(mouse hepatitis virus)组装过程中首先在内质网和顺式(*cis*)高尔基体之间的管泡状膜区室中出芽. 随后的糖基化研究中发现31℃处理可以阻止MHV病毒进入高尔基体, 并阻止其E1糖蛋白发生高尔基体上的半乳糖和唾液酸修饰, 但不影响其N-乙酰半乳糖胺(N-acetyl-galactosamine, GalNAc)修饰. 鉴于GalNAc修饰不发生在内质网, 这项数据提示MHV E1糖蛋白的GalNAc修饰可能发生在内质网和高尔基体之间的一个内膜区室内<sup>[13]</sup>. 这些研究揭示内质网和高尔基体之间存在着一个中间膜结构, 可能在内质网-高尔基体运输和蛋白糖基化修饰等方面发挥着独特的功能.

随后的研究中, Hauri课题组使用Caco-2细胞纯化的高尔基体作为抗原获得了一个单克隆抗体, 可识别一个分子量大小为53 kD的膜蛋白(即ERGIC-53<sup>[14]</sup>), 并可特异标记*cis*-Golgi附近的管泡状(tubulo-vesicular)区室<sup>[15]</sup>. 随后, Hauri课题组<sup>[16]</sup>在VSV病毒(vesicular stomatitis virus)G蛋白温度敏感型突变体(tsO45-VSV-

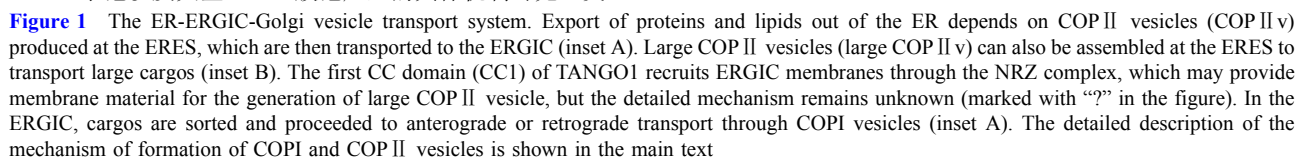
G)的运输研究中发现, 在15℃时, tsO45-VSV-G定位于ERGIC-53阳性的膜区室内, 电子显微镜成像发现该膜区室为一个紧靠高尔基体的管泡状紧密结构. 一项同时进行的研究中, Saraste等人<sup>[17]</sup>得到了针对大鼠胰腺*cis*-Golgi亚组分的多克隆抗体, 该抗体可识别一种称为P58的58 kD大小的蛋白. 随后的研究发现P58是大鼠中ERGIC-53的直系同源物, 与ERGIC-53具有89%的序列相似性<sup>[18]</sup>. 同样, 在15℃时, SFV ts-1温度敏感型E1糖蛋白会滞留在P58阳性的管泡状结构内<sup>[19]</sup>. 生化分析表明, ERGIC膜的蛋白质组成不同于邻近的内质网和高尔基体<sup>[20]</sup>. 通过电子显微镜对ERGIC的超微结构进行分析也表明ERGIC是一个独立的结构, 与内质网和高尔基体并不连续, 但其大小具有较大的异质性<sup>[7,21]</sup>. 总之, 这些研究结果表明内质网-高尔基体运输过程中存在一个中间膜区室, 称为内质网-高尔基体中间体(endoplasmic reticulum-Golgi intermediate compartment, ERGIC)、中间体(intermediate compartment, IC)或VTCs (vesicular tubular clusters)<sup>[6,22]</sup>. 下文统一用ERGIC来表示该膜区室.

## 2 ERGIC在调节内质网-高尔基体膜泡运输中的功能

大多膜蛋白、分泌蛋白和脂类在内质网合成, 途经内质网-高尔基体膜泡运输至细胞不同部位. ERGIC定位于内质网和高尔基体之间, 在调控货物分选和膜泡运输过程中起重要作用. 在该过程中, 货物在ERES处富集并分选至COP II (coat protein complex II)小泡, 随后运输至ERGIC. ERGIC会对货物运输的方向性进行选择: 如果货物是错误分选运输至ERGIC(如含有KDEL序列的内质网蛋白), ERGIC会产生反向运输(retrograde transport)的COP I小泡将货物运回至内质网; 对于正确分选的货物, ERGIC通过COP I小泡顺向运输(anterograde transport)至*cis*-Golgi, 通过*trans*-Golgi网络输送到细胞内特定的区域(如溶酶体、细胞膜、内吞体等)或细胞外基质中<sup>[5,23,24]</sup>(图1).

### 2.1 COP II 小泡: 货物从内质网运送至ERGIC的载体

COP II 小泡承载内质网到ERGIC的运输, 也是哺乳动物细胞分泌膜泡运输途径的第一步, COP II 小泡



产生的分子机制在其他综述中已有详述<sup>[4,5,23,24]</sup>, 这里仅作简要介绍. COP II 小泡产生于内质网上特化的 ERES 区域. ERES 通常与 ERGIC 邻近, 其紧密联系由寡聚化的 TFG(Trk-fused gene)蛋白调控, 保证 ERES 上产生 COP II 小泡有效靶向 ERGIC<sup>[25]</sup>. COP II 包被蛋白体的组装始于一种小的 Ras 样 GTP 酶 SAR1(secretion-associated RAS-related 1)的活化, 产生 GTP 结合形式的 SAR1(SAR1-GTP), 该过程由 ERES 上的鸟嘌呤核苷酸交换因子(guanine nucleotide exchange factor, GEF) SEC12 介导. 激活的 SAR1 可通过与 SEC23 的相互作用招募 SEC23-SEC24 异源二聚体形成 COP II 小泡的内包被蛋白体, 其中 SEC24 可作为货物受体帮助特定货物的分选和富集<sup>[26]</sup>. COP II 小泡的内包被组装完成后可进一步招募 SEC13-SEC31 异源四聚体形成外包被, 随后内外包被蛋白体多聚化形成笼状结构导致膜泡出芽. 最后, SAR1 水解自身结合的 GTP 并促进 COP II 小泡从内质网分离(图 1A). SAR1 水解 GTP 受到 GTP 酶激活蛋白(GTPase-activating protein, GAP) SEC23 的刺激, 并且 SEC31 的结合可进一步促进 SAR1-GTP 的水解<sup>[23,27]</sup>. COP II 小泡从内质网分离后, TFG 促进 SEC13-SEC31 外包被蛋白体解离, 但是 SEC23-SEC24 内包被复合体仍然保留在上面<sup>[28]</sup>. TRAPP(transport protein particle)复合体通过与内包被复合体 SEC23 的相互作用将 COP II 小泡靶向到 ERGIC 上, 随后在 SNARE 蛋白复合体的介导下 COP II 小泡与 ERGIC 融合<sup>[23,29]</sup>.

除了作为 COP II 的接收站外, ERGIC 被报道在特定情况下可调控 COP II 小泡的大小. 通常 COP II 小泡的直径约为 60~80 nm, 但细胞内多种大的货物的分泌均依赖于 COP II 膜泡, 如胶原蛋白(collagen, 长度约 300~400 nm)<sup>[30]</sup>, 这种情形下需要特定的调控机制增加 COP II 膜泡的体积. 多项研究对于大型 COP II 膜泡产生的调节进行了一定的解释, 如 SEC31 泛素化<sup>[31]</sup>、SAR1A 和 B 同源蛋白的选择<sup>[32]</sup>和 TANGO1(transport and Golgi organization protein 1)等特殊货物受体的调控<sup>[33]</sup>等, 其共识是通过减缓 SAR1 对于 GTP 的水解速率, 增加 COP II 包被的合成时间和 COP II 膜泡的体积. COP II 膜泡体积的增加需要膜材料补给, 最近的研究提示 ERGIC 在 TANGO1 介导大型 COP II 膜泡产生过程中可能起到补充膜材料的作用. TANGO1 是定位于 ERES 的膜蛋白, 对于胶原蛋白的分泌起到重要调控作

用. TANGO1 内质网腔内的 SH3 结构域通过与分子伴侣 Hsp47 的相互作用结合胶原蛋白<sup>[34]</sup>, 胞质侧 TANGO1 的第二个 CC(coiled-coil)结构域结合 cTAGE5(cutaneous T-cell lymphoma-associated antigen 5), 同时 TANGO1 和 cTAGE5 的羧基端 PRD(proline-rich domains)结构域与 COP II 的 SEC23-SEC24 内包被相互作用阻止其和 SEC13-SEC31 的结合及后续的 SAR1-GTP 水解, 抑制 COP II 过早出芽从而促进大型 COP II 膜泡产生<sup>[35,36]</sup>. 值得注意的是, TANGO1 的第一个 CC 结构域内的 TEER(tether for ERGIC at the ER)区域可通过与 NRZ(NBAS, RINT1, ZW10)复合体的相互作用将 ERGIC 膜招募至含有胶原蛋白的大型 COP II 膜泡<sup>[37,38]</sup>(图 1B). 尚待明确的问题是 ERGIC 上哪个蛋白结合 TEER 和 NRZ, 以及 ERGIC 被招募到大型 COP II 膜泡如何完成膜融合供给膜材料.

## 2.2 COPI 小泡: 货物离开 ERGIC 的运送载体

货物从 ERGIC 离开后, 可继续顺向运输至 *cis*-Golgi, 或者逆向运输回到内质网, 该过程是由 ERGIC 上产生的 COP I 小泡介导的<sup>[39]</sup>. 此外, ERGIC 还可接收高尔基体产生的 COP I 小泡. 同样地, COP I 小泡的详细介绍可见其他综述文章<sup>[40~42]</sup>, 这里仅作简介. COP I 小泡的形成依赖于 ARF1(ADP-ribosylation factor 1)GTP 酶的活化. ARF1 被含有保守 SEC7 结构域的 GEFs(如定位于 *cis*-Golgi 和 ERGIC 的 GBF1)激活后, 发生构象变化, 其豆蔻酰化的氨基端的两亲螺旋暴露, 帮助其稳定地锚定在膜上, 并随后将 COPI 包被蛋白体招募到膜上<sup>[43,44]</sup>. COP I 包被由 7 个亚基( $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\beta'$ -,  $\gamma$ -,  $\delta$ -,  $\epsilon$ -,  $\zeta$ -COP)组成, 也称为外壳复合体(coatomer), 并且在胞质中以预先组装好的七聚体形式存在, 其中  $\gamma$ -COP,  $\delta$ -COP,  $\zeta$ -COP 和  $\beta$ -COP 四聚体构成内包被,  $\alpha$ -COP,  $\beta'$ -COP 和  $\epsilon$ -COP 三聚体构成外包被<sup>[4]</sup>(图 1A). 与 COP II 类似, COP I 包被从膜泡上解离依赖 ARF1 对 GTP 的水解<sup>[45]</sup>, 这也是 COP I 小泡和膜受体融合的先决条件, 该过程由 ARF GAPs(ARF GTPase-activating proteins)介导<sup>[43]</sup>. 除 ARF1 外, ARF3, ARF4 和 ARF5 在体外也可介导 COP I 小泡的形成<sup>[46]</sup>. 以不同组合形式沉默 ARF1, ARF3, ARF4 和 ARF5 基因会以不同的方式影响内质网和高尔基体之间的顺向和反向运输<sup>[47]</sup>. 此外, COP I 包被也具有多种不同的亚型<sup>[2,43]</sup>, 这些不同的 ARF 蛋白和 COP I 包被可能与蛋白分选有关.

### 2.3 受体分子: ERGIC货物分选的执行者

ERGIC-53是最早鉴定出来的ERGIC内源标志性蛋白, 又名LMAN1(lectin mannose-binding protein 1), 可作为膜受体介导内质网内可溶性糖蛋白的输出<sup>[48]</sup>. ERGIC-53为I型跨膜蛋白, 其羧基端的胞质侧肽段含有KKFF序列, 可通过与COP II和COP I包被的结合而在内质网和ERGIC/cis-Golgi之间循环运输; 其位于腔内的大氨基酸凝集素结构域可通过Ca<sup>2+</sup>依赖的方式结合甘露糖<sup>[2,6]</sup>. ERGIC-53在内质网内合成后可形成二聚体或六聚体, 寡聚化对于ERGIC-53从内质网中有效输出是必需的<sup>[49,50]</sup>. 除此之外, ERGIC-53与货物(如pro-cathepsin Z)的结合与pH有关<sup>[51]</sup>: 货物在高pH和高Ca<sup>2+</sup>浓度的内质网中结合ERGIC-53, 而在低pH和Ca<sup>2+</sup>浓度的ERGIC腔内货物将从ERGIC-53上解离<sup>[6,7]</sup>.

P24/TMED(transmembrane emp24 domain)蛋白家族是一个真核生物中普遍存在的I型跨膜蛋白家族, 在内质网和高尔基体之间的双向运输及蛋白分选上均发挥重要功能<sup>[52]</sup>. TMED家族在脊椎动物中包含10个成员, 根据序列同源性可分为 $\alpha$ (TMED4/9/11),  $\beta$ (TMED2),  $\gamma$ (TMED1/3/5/6/7)和 $\delta$ (TMED10)四个亚家族<sup>[53,54]</sup>. 人基因组内TMED11基因的可读框内含有一个提前的终止密码子, 因此TMED11蛋白在人里面可能并不存在<sup>[55]</sup>. TMED家族成员之间可形成复杂的异源寡聚体(如TMED2/10异源二聚体、包含四个亚家族成员的异源四聚体), 对其正确定位及稳定性十分重要<sup>[54]</sup>. TMED家族成员在结构上比较相似, 包括腔内的GOLD(Golgi dynamics)结构域和CC结构域、单个跨膜结构域以及位于胞质侧的肽段<sup>[53,54]</sup>. 其中GOLD和CC结构域与运输货物的识别以及TMED家族成员间的异源寡聚化有关<sup>[56,57]</sup>; 有研究显示TMED2的跨膜区与鞘磷脂SM18有特异性的相互作用<sup>[58]</sup>, 并且该相互作用可调节其跨膜区的二聚化<sup>[59]</sup>. 胞质端肽段含有保守的与ERGIC-53类似的COP I和COP II结合序列(其中大疏水氨基酸-苯丙氨酸序列主要参与COP II的结合, 双碱性氨基酸序列参与COP I的结合), 使得TMED家族蛋白可在内质网、ERGIC和cis-Golgi之间有效地循环运输<sup>[54,60]</sup>. TMED家族成员可作为蛋白受体介导GPI(glycosylphosphatidylinositol)锚定蛋白、Wnt蛋白、G蛋白偶联受体和Toll样受体等货物的运输<sup>[54]</sup>. TMED家族蛋白也参与COP I小泡的形成<sup>[61]</sup>以

及细胞内膜系统形态的调控, 尤其是对ERGIC和高尔基体结构的调节<sup>[52,54]</sup>.

KDEL受体是7次跨膜蛋白, 对货物的反向运输至关重要. KDEL受体位于胞质侧的羧基端肽段含有双赖氨酸序列, 可结合COPI, 其结合依赖于PKA对其邻近丝氨酸残基(S209)的磷酸化<sup>[62]</sup>; 位于腔内的部分可结合羧基端具有KDEL四肽序列的可溶性蛋白, 从而介导特定货物通过COP I小泡反向运输到内质网<sup>[63]</sup>. KDEL受体与货物的结合和解离受到pH的调控, 可在偏酸性的ERGIC或高尔基体腔内(pH约6.5~6.8)与货物结合, 随后在内质网腔内(pH约7.2~7.4)将货物释放出去<sup>[64,65]</sup>. 此外, 货物的结合可诱导KDEL受体的寡聚化, 并且促进其和Arf1的相互作用以及COPI的招募<sup>[66,67]</sup>. 同时KDEL受体也可与TMED家族成员结合并共同促进COP I小泡的产生<sup>[54]</sup>. 在哺乳动物细胞中含有三种不同的KDEL受体, 具有不同的底物特异性, 可帮助细胞实现更高效的反向运输<sup>[68]</sup>. 此外, KDEL受体可直接参与信号转导调控内质网和高尔基体之间顺向和反向运输的动态平衡<sup>[69]</sup>以及通过激活小G蛋白Gao调节细胞突起形成相关的膜泡运输<sup>[70]</sup>.

### 2.4 RAB1和RAB2: ERGIC形态维持和功能调控的分子开关

在经典的内质网-ERGIC-高尔基体蛋白运输和分选过程中, RAB小GTP酶的GTP活化和GDP抑制状态, 以及调节RAB GTP水解循环的GEF, GAP和RAB的效应蛋白(effector)发挥着重要功能<sup>[71,72]</sup>. RAB1和RAB2定位在ERGIC和高尔基体上, 调节ERGIC和高尔基体的形态完整性和内质网-高尔基体间的膜泡运输<sup>[71]</sup>. 在ERGIC形态完整性维持方面, RAB1和RAB2通过与具有膜栓(membrane tether)功能的蛋白(如GM130, TRAPP复合体和GRASP55/65等)相互作用调节ERGIC膜泡融合和细胞内分布<sup>[71,72]</sup>. 在调节膜泡运输方面, RAB1和RAB2可帮助招募外壳复合体调节COP I小泡的形成<sup>[73,74]</sup>, 并控制ERGIC向内质网和高尔基体的双向运输<sup>[6,75]</sup>. 此外, RAB1和RAB2及其效应蛋白(如golgin-45, GM130, GRASP55/65, P115和giantin)协同调节内质网产生的COP II小泡准确靶向ERGIC, 以及ERGIC产生的COP I小泡准确靶向高尔基体<sup>[71,76]</sup>. 在细胞自噬(autophagy)过程中, RAB1蛋白可能调节ERGIC产生的自噬体小泡靶向自噬体(autophagosome)的

形成; 而RAB2通过激活自噬信号上游调节因子ULK1调节自噬体的产生, 并通过结合自噬下游因子RUBCNL/PACER和STX17(syntaxin 17)调节自噬溶酶体(autolysosome)的产生<sup>[77,78]</sup>. 在非经典蛋白分泌过程中, RAB1A标记的ERGIC和内吞循环体(recycling endosome)具有直接的联系, 可能在不依赖高尔基体膜泡运输的非经典分泌中起调控作用<sup>[79]</sup>. 详见如下“ERGIC膜系统调节自噬体的产生”以及“ERGIC作为非经典分泌膜泡载体”部分.

### 3 ERGIC膜系统调节自噬体的产生

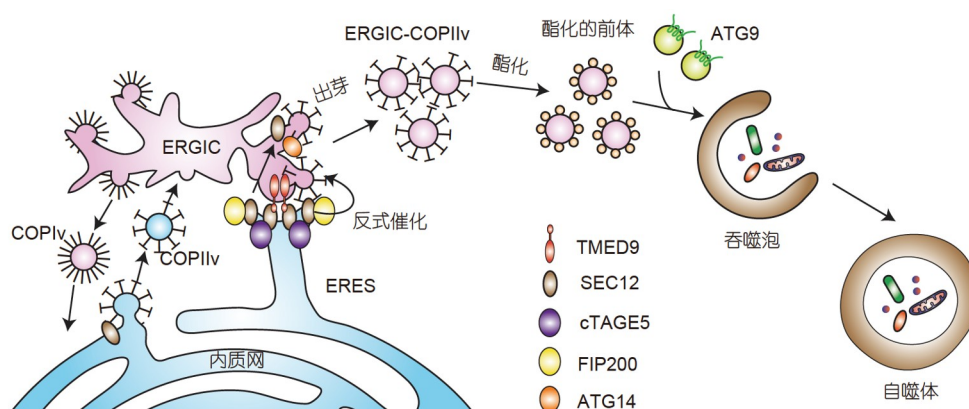
自噬(macroautophagy)是细胞内通过形成双层膜自噬体包裹细胞内的组分(包括细胞质、细胞器和核酸等)并运送到溶酶体(或酵母和植物中的液泡)进行批量降解的过程<sup>[80]</sup>. 自噬对维持细胞的稳态及压力条件下的存活至关重要, 也因此其调节异常和神经退行性疾病、癌症、糖尿病等多种疾病相关<sup>[81]</sup>. 大隅良典20世纪90年代筛选了自噬相关基因(autophagy-related genes, Atg genes), 并于2016年获得了诺贝尔奖. 自噬的关键步骤是双层膜自噬体的形成, 其基本过程包括: (i) 上游信号的激活(如饥饿、低氧和病原体入侵等); (ii) 膜前体产生并在自噬体组装位点PAS(pre-autophagosomal structure/phagophore assembly site)成核(nucleation)产生杯状的自噬体前体, 称为吞噬泡(phagophore)或隔离膜(isolation membrane); (iii) 自噬体前体膜延伸闭合完成双层膜自噬体的形成<sup>[80,82]</sup>. 自噬体产生需要膜原料的从头合成和组装, 自20世纪50年代自噬现象发现以来, 一直没有解决的问题是: 自噬体的膜来源于细胞内的哪些细胞器? 虽然已有研究表明细胞内多种细胞器(如内质网、高尔基体、线粒体、细胞质膜等)与自噬体的形成有关, 提示可能是自噬体的膜来源<sup>[80,83]</sup>, 但是这些研究主要基于具有显著形态特征的吞噬泡或者自噬体和相关细胞器的定位关联性, 该领域内一直缺少直接功能性的实验手段证明某个细胞器直接产生自噬体膜, 尤其是对于自噬最早期还没有形成显著自噬相关特征的内膜系统如何在自噬信号下转变为自噬体的前体这一关键问题仍然知之甚少. 近年来, 多项研究表明ERGIC可作为自噬体产生早期的重要膜来源.

为了鉴定早期自噬体形成的膜来源, 研究人员试

图建立一种功能性研究系统, 分析某个细胞器和自噬体膜产生的因果关系. 自噬体产生的一个重要步骤是LC3蛋白的酯化并结合在自噬体膜和诸多膜前体上<sup>[84,85]</sup>. 研究人员建立了一种分析LC3酯化研究自噬体膜产生的体外重构系统. 该系统在体外可以模拟出细胞内自噬的多个调节过程, 如饥饿诱导、PI3K依赖和ULK蛋白调节等. 基于此系统, 研究人员分离了细胞内的细胞器和内膜体, 逐一分析其促进LC3酯化的活性. 有趣的是先前报道的参与自噬体形成的细胞器(包括内质网、高尔基体和线粒体等)对于促进LC3酯化的活性不高, 相反一个先前自噬领域没有关注过的内膜体ERGIC有很高的LC3酯化活性, 提示ERGIC是自噬体膜的重要来源之一<sup>[86,87]</sup>(图2). 在另一项超高分辨成像研究中, 研究人员发现ERGIC与自噬早期膜前体ATG9膜泡以及ULK1复合体亚基ATG13密切相关<sup>[88]</sup>, 提示ERGIC产生的LC3酯化膜可能和ATG9膜泡在自噬体膜成核阶段相互协作融合产生吞噬泡. 近期的一项研究利用类似的体外重建LC3酯化的系统发现ERGIC是调控cGAS-STING通路激活诱导自噬的重要内膜体. cGAS-STING通路激活可引起STING转运到ERGIC上, 含有STING的ERGIC可作为自噬体的膜来源进而促进自噬体的形成, 这对于胞质中DNA和病毒的清除十分重要<sup>[89]</sup>. 这些研究提示ERGIC可能参与不同信号调控的自噬过程.

ERGIC是管泡状结构, 和自噬体的双层膜结构截然不同. ERGIC作为自噬体的膜来源是如何提供膜材料的? 研究发现, ERGIC可招募关键的早期自噬因子ATG14, 这对于PI3P的产生及后续的LC3酯化和自噬体生成十分重要<sup>[86]</sup>. PI3K通路可以激活COP II小泡产生的起始因子SEC12蛋白从ERES转运到ERGIC上催化产生ERGIC来源的COP II小泡. 这类ERGIC-COP II小泡比较特殊, 有很高的促进LC3酯化的活性, 提示其功能不同于ERES来源的参与内质网-高尔基体运输的COP II小泡, 可能是自噬体膜的前体<sup>[90,91]</sup>(图2). COP II小泡参与自噬也被其他研究所揭示, 如两项研究发现自噬体的形成依赖于SAR1以及功能正常的ERES<sup>[92,93]</sup>.

常态下调控COP II蛋白体产生的关键因子SEC12的定位是受到严格调控定位在ERES上的, 其在饥饿条件下转运到ERGIC的调控机制还不清楚. 有研究提示饥饿条件下自噬蛋白FIP200可以调节ERES发生形变



**图 2** ERGIC介导自噬体前体产生的模型(修改自参考文献[94,95]). 在饥饿条件下, ERES会变大并与ERGIC紧密互作, 该过程依赖FIP200, cTAGE5以及TMED9与SEC12的相互作用. ERES的重塑导致SEC12转运到ERGIC上, 从而介导ERGIC-COP II小泡(ERGIC-COP II v)的组装. 同时ERES上的SEC12可反式激活ERGIC-COP II小泡的产生. ERGIC-COP II小泡可作为LC3酯化的底物, 进而为自噬体的形成提供膜来源

**Figure 2** A proposed model for the ERGIC-mediated generation of autophagosomal precursor membranes (modified from refs. [94,95]). Under starvation, the ERES is enlarged and associates tightly with the ERGIC, the process of which is dependent on FIP200, cTAGE5 and TMED9. The remodeling of the ERES leads to the relocation of SEC12 to the ERGIC, which mediates the assembly of ERGIC-COP II vesicles as a substrate for LC3 lipidation, a potential membrane source for the formation of autophagosomes. Meanwhile, the ERES-localized SEC12 directly transactivates COP II assembly on the ERGIC as another mechanism for the generation of ERGIC-COP II vesicles

并与ERGIC产生紧密的联系, 推测该过程可能会打破常态下对于SEC12在ERES定位的限制, 促进SEC12从ERES到ERGIC的转运, 催化自噬相关的ERGIC-COP II小泡产生. 同时, ERES上的cTAGE5蛋白与SEC12的结合对于ERES的形态维持和自噬是必要的<sup>[94]</sup>(图2). 最新的数据表明定位于ERGIC上的膜蛋白TMED9可通过与SEC12的相互作用介导ERES和ERGIC膜的紧密互作(近至2~5 nm距离), 该过程对自噬体的形成至关重要, 可以使ERES上的SEC12反式催化ERGIC上的ERGIC-COP II小泡的产生<sup>[95]</sup>(图2). 除此之外, 也有研究发现饥饿情况下, ULK1会磷酸化COP II内包被蛋白SEC23B, 从而使其定位于ERGIC并促进自噬体产生<sup>[96]</sup>. 这些研究揭示COP II包被在ERGIC上的组装依赖细胞自噬的调控因子对于COP II多个调节因子的调控.

以上研究提示ERES-ERGIC-COP II膜系统对于自噬体膜的产生起到重要调节作用. 酵母研究表明类似的膜系统也调控自噬过程. 早在21世纪初期, 大隅良典课题组<sup>[97]</sup>在酵母中发现, COP II小泡形成相关蛋白Sec12, Sec23和Sec24调控自噬的过程. 随后, 研究表明PAS和隔离膜的边缘与ERES密切相关<sup>[98,99]</sup>. 最近一项研究表明, 酵母膜蛋白Ax12可以通过COP II小泡从内质网转移到自噬体膜上, 直接证明COP II小泡是

自噬体膜来源<sup>[100]</sup>. 因此ERES-ERGIC-COP II膜系统参与自噬可能是一项进化上保守的机制.

ERGIC产生的COP II小泡是如何靶向到PAS/吞噬泡上的呢? 以酵母为系统的研究给出了部分提示. RAB1在酵母中的同源蛋白Ypt1及其自噬特异性的GEF TRAPPIII复合体定位于PAS<sup>[101]</sup>, 并且可与Atg1复合体的亚基(如Atg1和Atg11)以及Atg9相互作用, 对于PAS的组装以及自噬体的生物发生十分重要<sup>[102~104]</sup>. 同时, TRAPPIII复合体可结合COP II的Sec23亚基<sup>[105]</sup>. 此外, Ypt1可招募蛋白激酶Hrr25到膜上, 并激活其激酶活性<sup>[106]</sup>, COP II亚基Sec24被Hrr25磷酸化后可与Atg9结合, 从而利用COP II小泡促进自噬体的形成<sup>[107]</sup>. 这些研究表明复杂的蛋白相互作用可促进COP II小泡靶向到PAS/吞噬泡上帮助自噬体的生物发生, 并且可能与Atg9膜泡(Atg9膜泡是细胞内自噬体起始的重要膜来源)具有协同作用<sup>[108]</sup>. 哺乳动物中, 与酵母同源的TRAPPIII复合体和RAB1同样也与自噬体的形成密切相关<sup>[92,109]</sup>, 可能存在着与酵母类似的机制介导COP II小泡参与自噬体的形成.

#### 4 ERGIC作为非经典分泌膜泡载体

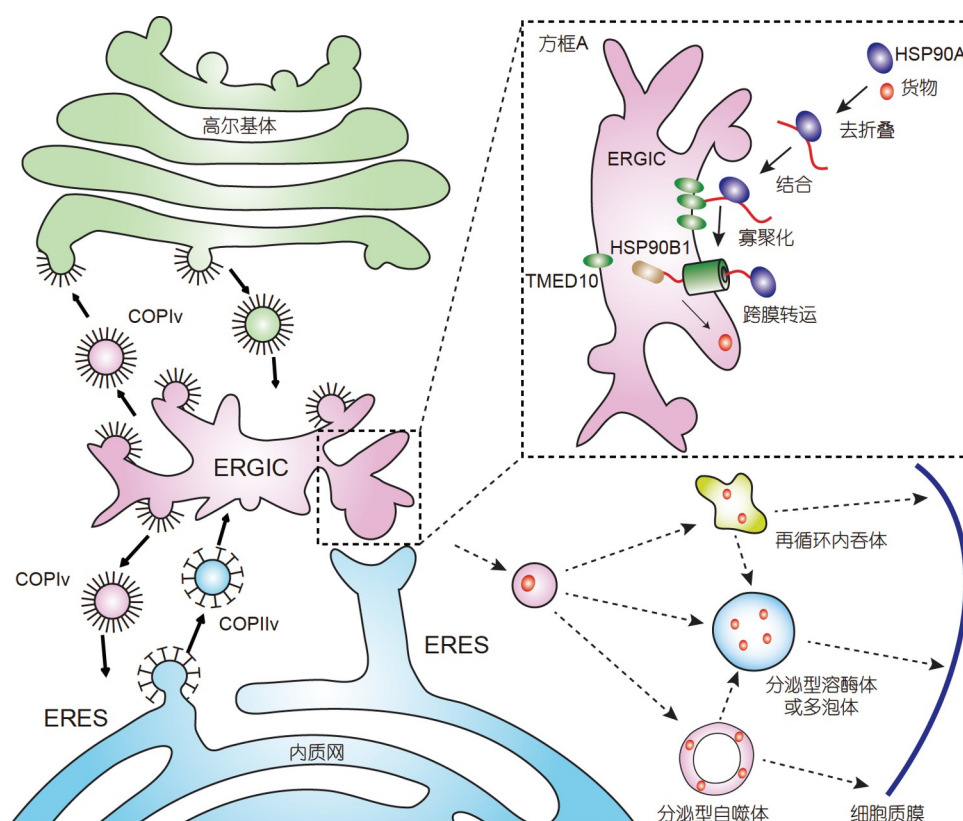
蛋白分泌是一种进化上保守的细胞间通讯机制.

在真核生物中, 通常所说的分泌蛋白具有信号肽(signal peptide), 可使其通过SEC61易位子(translocon)进入内质网, 经过加工和修饰后通过内质网-高尔基体膜泡运输途径完成分泌, 该通路也被称为经典分泌途径(conventional secretion). 有趣的是, 最近研究发现许多不含信号肽的胞质蛋白可通过不依赖于内质网到高尔基体运输的途径被分泌到细胞外, 这些分泌途径统称为非经典蛋白分泌(unconventional protein secretion, UPS)<sup>[110,111]</sup>. UPS往往发生在细胞应激过程中, 参与细胞内蛋白稳态的维持, 并且通过UPS分泌的蛋白参与多种生物学过程(如免疫反应、病毒感染和脂质代谢等), 也因此UPS与炎症疾病、神经退行性疾病和癌症等疾病相关<sup>[112]</sup>. UPS途径主要分为两大类, 其中一大类为非膜泡运输依赖型UPS. 在该分泌途径中, 分泌因子可以直接跨越细胞质膜被释放到细胞外. 其典型代表通路有两条: 一条是GSDMD(gasdermin D)活化后在细胞质膜打孔导致细胞内小蛋白(尤其是炎症因子)的释放<sup>[113]</sup>; 另一条是FGF2为代表的通过结合细胞质膜上的PI(4,5)P<sub>2</sub>使蛋白自行穿越细胞膜的途径<sup>[114]</sup>. 该类型UPS分子通路已有综述详细介绍<sup>[115~117]</sup>. 另一大类为膜泡运输介导的UPS, 研究揭示膜泡载体, 包括多泡体(multi-vesicular body, MVB)、分泌型自噬体(secretory autophagosome)和分泌型溶酶体(secretory lysosome)等, 可参与非经典分泌相关膜泡运输通路<sup>[111]</sup>. 膜泡运输介导的UPS中存在两个关键问题: 没有信号肽的蛋白怎么靶向和进入膜泡运输途径? 细胞内哪个内膜体是UPS蛋白进入的膜泡运输的始发站?

近期的研究揭示ERGIC和相关膜蛋白在UPS的膜泡运输调控中发挥着重要的功能. 促炎症细胞因子IL-1 $\beta$ (interleukin-1 $\beta$ )在机体炎症反应中发挥着重要的调节功能, 同时也是第一个被报道的UPS分泌蛋白<sup>[118]</sup>. IL-1 $\beta$ 可通过非膜泡依赖和膜泡运输途径分泌到细胞外: 前者, IL-1 $\beta$ 通过细胞质膜上GSDMD的氨基端片段形成的孔释放到胞外<sup>[119]</sup>; 后者, 研究报道IL-1 $\beta$ 可通过分泌型溶酶体、分泌型自噬体和多泡体等途径释放到细胞外<sup>[111]</sup>. 研究人员对于IL-1 $\beta$ 如何进入膜泡载体进行了研究, 发现IL-1 $\beta$ 进入分泌型自噬体过程中不通过吞噬泡的摄取, 而是依赖蛋白的去折叠和跨膜转运, 提示细胞内很可能存在着一个类似于SEC61易位子的蛋白通道帮助非经典分泌蛋白货物进入膜泡载体. 而且IL-1 $\beta$ 似乎首先进入一个前体膜泡, 随后演变成分泌型

自噬体<sup>[120]</sup>. 进一步研究发现, 膜蛋白TMED10参与IL-1 $\beta$ 以及一系列其他非经典分泌因子(包括IL-1家族的细胞因子; 半乳糖凝集素(galectin), HSPB5, Tau和Annexin A1)的分泌. 这些分泌因子具有一个保守的14氨基酸序列参与TMED10介导的非经典分泌. 尤为重要是TMED10在细胞内定位于ERGIC, 可以通过寡聚化形成蛋白转运体将非经典分泌货物跨膜转运进入ERGIC腔内. 该过程中, 细胞质的HSP90A参与货物去折叠, 而ERGIC腔内的HSP90B1帮助货物跨越ERGIC膜进入腔内. 此跨膜转运通路被命名为THU(TMED10-channeled UPS), 其中ERGIC上的膜蛋白TMED10和腔内的HSP90B1在非经典分泌货物跨膜转运进入膜泡过程中起重要调节作用, ERGIC本身是参与非经典分泌的膜泡运输起始的膜泡载体<sup>[9]</sup>(图3). 与此类似的是在酿酒酵母研究中发现, 饥饿过程中一个受Grh1蛋白(哺乳动物GRASP同源蛋白)调控的管泡结构内膜体在ERES周围形成, 研究人员命名为CUPS(compartment for unconventional protein secretion)<sup>[121]</sup>. 研究提示CUPS可能是酵母非经典分泌蛋白进入膜泡转运的起始点<sup>[122]</sup>. CUPS的结构、定位和功能提示其可能为一个类ERGIC内膜体.

目前尚不清楚货物进入ERGIC以后如何被运输到细胞外. 由于UPS膜泡运输不通过高尔基体, 因此ERGIC产生的膜泡具有特殊性, 而非靶向高尔基体的COPI小泡. 以上自噬部分内容提到ERGIC参与自噬体的形成(见: ERGIC膜系统调节自噬体的产生), 一种可能的机制是ERGIC通过形成ERGIC-COP II将非经典分泌货物运输至自噬体, 但是相关自噬体形成过程中是如何调控并区分降解和分泌功能的尚待阐明. 除此可能性外, 也有研究揭示有一部分特化的ERGIC(RAB1A标记)定位于中心体附近, 称为pcIC(pericentrosomal IC), 并且与RAB11标记的内吞循环体位置紧靠<sup>[71,79]</sup>. 研究表明, pcIC和内吞循环体之间可能直接进行双向的物质交换<sup>[79,123]</sup>. 这种ERGIC介导的直通细胞内吞循环途径的机制在神经细胞中广泛存在, 如在NGF(nerve growth factor)诱导分化的PC21细胞中, ERGIC和ERES选择性地分布于生长的神经突, 但COPI和高尔基体仍位于胞体, 表明在其神经突部分存在着不经过高尔基体的运输途径<sup>[124]</sup>. 此外, 神经元中数百种膜蛋白(包括神经递质受体、黏附蛋白、电压门控离子通道等)以高甘露糖的形式存在于细胞表面, 而且运



**图3** ERGIC参与蛋白非经典分泌的模型(修改自参考文献[9])。除了介导内质网-高尔基体经典分泌途径外(左侧), ERGIC也参与蛋白的非经典分泌。非经典分泌蛋白货物在胞质中HSP90A的作用下, 发生去折叠, 随后与位于ERGIC上的膜蛋白TMED10结合, 进而诱发TMED10寡聚化形成蛋白通道。在HSP90B1的帮助下, 货物通过TMED10蛋白通道转位进入到ERGIC腔内(右上方方框A)。随后货物可通过内吞循环体、分泌型自噬体、分泌型溶酶体和多泡体等途径分泌到细胞外(右下)

**Figure 3** A model for how ERGIC acts as a vesicle carrier for protein translocation in UPS (modified from ref. [9]). In addition to mediating the ER-Golgi conventional secretion pathway (on the left), the ERGIC is also involved in unconventional protein secretion. The leaderless protein cargo is unfolded with the aid of HSP90A in the cytoplasm, and then binds to the membrane protein TMED10 on the ERGIC. Cargo binding induces the oligomerization of TMED10 to form a protein channel. With the help of HSP90B1, the cargo is translocated into the lumen of the ERGIC through the TMED10 protein channel (inset A). The cargo can then be secreted out of the cell by recycling endosomes, secretory autophagosomes, secretory lysosomes or multivesicular bodies (MVBs) (lower right)

输过程不受经典分泌途径抑制剂BFA(Brefeldin A)的抑制, 提示这些蛋白很可能通过不经过高尔基体的途径到达细胞质膜<sup>[125]</sup>。大多数神经元树突缺乏高尔基体, 但含有ERGIC和内吞循环体, 并且通常在位置上邻近<sup>[126,127]</sup>。而且神经元树突中GluA1(AMPA-type glutamate receptor)运输到质膜上不依赖高尔基体, 但依赖于ERGIC和内吞循环体的协同作用<sup>[127]</sup>。此外, 在树突状细胞中, ERGIC上富集的SNARE蛋白SEC22B可与吞噬体(phagosomes)上的SNARE蛋白STX4(syntaxin 4)相互作用介导ERGIC膜组分和吞噬体融合, 进而影响抗原的交叉呈递<sup>[128]</sup>。这些研究表明ERGIC可以介导参与不经过高尔基体的运输途径, 通过与内吞体-溶酶

体系统(endolysosomal system)直接进行物质运输来介导非经典蛋白货物的分泌。ERGIC是如何协同调控高尔基体运输、非经典分泌和细胞自噬的尚待深入研究。

## 5 ERGIC与冠状病毒组装

研究发现冠状病毒在ERGIC向内出芽组装并获得包膜, 之后通过囊泡运输途径被释放到胞外<sup>[129]</sup>。如前面“ERGIC的发现”部分内容所述, 早期研究中, 研究人员通过电子显微镜观察感染MHV的细胞发现MHV病毒在胞内组装, 且与分泌途径的主要细胞器内质网和

高尔基体有关<sup>[130]</sup>. 细致的电子显微镜分析发现病毒的出芽开始于内质网和高尔基体界面的多形性管泡状结构<sup>[12]</sup>. 在病毒感染的早期, 这一结构是MHV组装的唯一部位<sup>[12]</sup>, 随后发现ERGIC-53存在于这一结构中<sup>[131,132]</sup>. 后续研究发现ERGIC-53可以被包装进冠状病毒粒子中, 甚至可能是其传染性所必需的<sup>[133]</sup>.

Klumperman等人<sup>[132]</sup>研究了四种冠状病毒(分别属于 $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ 属), 发现它们都以ERGIC作为组装位点. 重要的是, 导致严重人类疾病的SARS-CoV, MERS-CoV和SARS-CoV-2也被证明在ERGIC进行组装<sup>[134,135]</sup>. 在内质网上合成之后, 组成病毒包膜的主要结构蛋白S (spike), M(membrane)和E(envelope)通过ERES进入转运囊泡, 之后被运送到ERGIC, 但是具体的机制并不是很清楚<sup>[136]</sup>. 随后, 被N蛋白(nucleocapsid)包裹的病毒基因组向含有结构蛋白的ERGIC内出芽, 形成成熟的病毒粒子<sup>[137]</sup>. 出芽过程可能主要基于病毒结构蛋白之间的特定相互作用<sup>[137,138]</sup>. 非结构蛋白(nonstructural proteins, NSPs)和辅助蛋白(ORFs)也可能辅助病毒的组装, 如通过与货物受体或其他运输机制相互作用, 或通过影响脂质的生物合成<sup>[8,129]</sup>. 此外, ERGIC特殊的脂质组成(如磷脂酰肌醇)被认为也可能在病毒出芽中发挥重要作用<sup>[139]</sup>.

病毒在ERGIC组装之后需要借助宿主细胞的分泌途径释放. 一种途径是由ERGIC产生膜泡将病毒运送至高尔基体, 通过经典分泌途径到达胞外. 通过这一途径的前提是具有结构和功能完整的高尔基体, 如莫能菌素(monensin)干扰高尔基体, 并抑制传染性肠胃炎病毒(transmissible gastroenteritis virus, TGEV)的释放<sup>[131]</sup>. 然而, 病毒感染的后期, 高尔基体会发生解聚与碎片化<sup>[140]</sup>. 最近的一项研究表明, BFA不影响包括SARS-CoV-2在内的 $\beta$ 冠状病毒从细胞内释放, 研究者提出冠状病毒的释放不依赖于经典的生物合成-分泌途径, 而是与内吞体-溶酶体系统有关: 病毒通过类溶酶体细胞器释放<sup>[141]</sup>. 内吞循环体已经被证明支持多种病毒的组装和释放<sup>[142]</sup>. 如上“ERGIC作为非经典分泌膜泡载体”部分内容所述, ERGIC在空间上与RAB11标记的内吞循环体紧密相关, 即使用BFA使高尔基体堆叠解聚, 这些动态膜网络仍然存在<sup>[6,127]</sup>. 因此, 这一抗BFA的ERGIC-内吞循环体互作连接形成了绕过高尔基体的非经典分泌通路的基础, 病毒颗粒可能直接从ERGIC被转运到内吞循环体. 但是, 这又会面临另

一个问题: 如何保证病毒糖蛋白正确的修饰和加工? 例如, 尽管SARS-CoV高糖基化S蛋白的聚糖模式具有高度异质性, 但该蛋白的末端会受到高尔基体酶的修饰<sup>[143]</sup>. 一种可能是病毒感染通过改变ERGIC和高尔基体腔内的环境(如pH)导致高尔基体内的酶重新分布, 病毒蛋白直接在ERGIC完成修饰<sup>[144,145]</sup>. 虽然多项研究表明冠状病毒使用ERGIC作为它们的出芽组装位点, 但这些研究更多依赖电子显微镜等较为模糊的证据, 仍需更多有力的证据. 此外, 冠状病毒在ERGIC组装的精确亚区以及这一偏好性的意义和决定因素也有待深入研究.

## 6 ERGIC的其他功能

### 6.1 ERGIC和蛋白质质量控制

除了以上功能外, ERGIC也可与内质网协同对蛋白质的折叠和组装进行监测, 以确保到达高尔基体蛋白的正常运作<sup>[2,6]</sup>. 葡萄糖苷酶 II (glucosidase II, Glc II) 和UDP-葡萄糖糖蛋白糖基转移酶(UDP-glucose glycoprotein glucosyltransferase)是糖蛋白质量控制系统的两个关键蛋白<sup>[146]</sup>. 免疫电子显微镜显示这两个蛋白除了在内质网上有广泛的分布外, 在ERGIC上也有明显的定位, 但在高尔基体上没有明显的信号, 表明ERGIC可能参与糖蛋白的质量控制<sup>[147,148]</sup>. 此外, ERGIC中含有多种具有KDEL序列的分子伴侣, 如BiP (immunoglobulin binding protein), GRP94 (glucose-regulated protein of 94kDa), PDI (protein disulphide isomerase) 和钙网蛋白(calreticulin)<sup>[148,149]</sup>, 可能参与介导未折叠的蛋白质货物通过KDEL受体运送回内质网, 从而实现蛋白质质量控制<sup>[6]</sup>. 研究表明, ERGIC参与将错误折叠的tsO45-VSV-G蛋白运输回内质网, 该过程由BiP调控<sup>[150]</sup>. 此外, BiP和ERp44(PDI家族成员)分别可与未组装的TCR $\alpha$  (T-cell antigen receptor  $\alpha$  chain) 和IgM相互作用, 并介导其通过KDEL受体返回内质网<sup>[151,152]</sup>. BiP的反向运输也与神经发育以及神经退行性疾病息息相关<sup>[153]</sup>. 此外, V2抗利尿激素受体的突变体和神经退行性疾病相关的TREM2突变体可离开内质网进入ERGIC, 但并不能正常到达细胞质膜, 并且可通过COP I 小泡返回内质网, 表明ERGIC在膜蛋白的质量和监控上也发挥着重要的功能<sup>[154,155]</sup>. 多项研究表明错误折叠的蛋白(如 $\Delta$ F508 CFTR突变体、MHC-

I 类分子(major histocompatibility complex class I)和胰岛素原)均被驻留在ERGIC内<sup>[2]</sup>, 并且ERGIC可能参与错误折叠的MHC-I 类分子的泛素化降解<sup>[156]</sup>. 这些研究表明ERGIC可参与蛋白的质量控制, 对于细胞内的蛋白稳态至关重要.

## 6.2 内质网漩涡: 内质网应激产生的类ERGIC结构

细胞内含有复杂的质量控制系统确保新合成的蛋白质以正确的折叠形式运输到特定的位置, 内质网内过量的错误折叠蛋白的积累会导致内质网应激(ER stress), 并激活UPR(unfolded protein response)<sup>[157]</sup>. UPR主要有三条调节通路, 分别由IRE1, PERK和ATF6介导. UPR通过增加内质网的蛋白折叠能力, 短暂降低细胞整体蛋白合成, 以及增加错误折叠蛋白降解等方式重建细胞蛋白稳态平衡<sup>[158]</sup>. 有研究表明, 酵母和哺乳动物细胞中内质网应激可诱导内质网漩涡(ER whorls)的产生<sup>[159,160]</sup>. 哺乳动物细胞中内质网漩涡的形成依赖于PERK激酶的活性, 并且需要SAR1和COP II组分促进内质网出芽形成管泡状的内质网漩涡前体, 随后通过SEC22B介导的融合形成内质网漩涡, 并且可能通过滞留SEC61来抑制细胞内的整体蛋白翻译水平<sup>[160]</sup>. 内质网漩涡形成的COP II调控, SNARE蛋白SEC22B的参与, 以及其高膜曲率(curvature)和ERGIC类似, 提示内质网漩涡可能是一类特殊的ERGIC.

## 7 讨论与展望

作为细胞内分布广泛且高度动态的内膜系统成员, ERGIC在细胞内发挥着多种多样的功能. 除了常态下调控内质网-高尔基体运输外, ERGIC在细胞应激状态下也发挥重要的功能, 包括维持细胞稳态(自噬)和传递细胞应激信号(非经典蛋白分泌). 这些功能的发挥主要依赖于ERGIC调控膜泡运输和分选的功能, 因此ERGIC可能是决定常态和应激条件下内膜系统膜泡转运和导向的重要枢纽, 并调节内膜系统常态和应激

条件下的系统功能转换. 鉴于ERGIC在内膜调控中的决定性作用, 病原体(如冠状病毒等)通过劫持ERGIC篡改宿主细胞的内膜系统功能, 用于自身繁殖. 目前对ERGIC功能和结构动态的了解还处于初级阶段, 还不清楚ERGIC如何发挥多种细胞学功能, 以及在调控不同生理功能和不同病理状态下的行为差异. 鉴于ERGIC在进化上的出现可能是为了应对哺乳动物细胞中内质网和高尔基体间的长距离通讯而面临的生存压力, 并且ERGIC参与细胞自噬、非经典分泌、蛋白质质量控制以及冠状病毒的装配等功能均与应激条件相关. 此外, 应激条件可诱导CUPS和内质网漩涡等类ERGIC结构的形成以帮助维持细胞稳态. 因此, 我们提议将ERGIC, CUPS, 内质网漩涡等在应激条件下由内质网衍生而来的结构统称为SICER(stress-induced compartment from the ER).

此外, 我们对于ERGIC不同物种间的存在形式也不清楚: (i) 非脊椎动物虽然没有明显的ERGIC结构, 但是其细胞内含有ERGIC功能调节的关键蛋白因子(如ERGIC-53, KDEL受体和TMED家族蛋白等), 因此尚不确定ERGIC是否以其他的形式存在于非脊椎动物细胞中, 或者通过某种压力条件诱导出来, 如酵母细胞中被饥饿诱导出现的参与非经典分泌的CUPS膜结构可能是ERGIC的一种特殊形式<sup>[121,122]</sup>; (ii) ERGIC在哺乳动物细胞中的存在和功能已经有多方面的报道, 但是尚不清楚除了哺乳动物外, 其他脊椎动物的细胞中是否存在ERGIC, 以及其结构和功能是什么.

近年来光学和电子显微镜等成像技术的快速发展有助于对ERGIC的形态和结构动态变化, 以及不同条件下的ERGIC功能分区调控进行深入研究, 深入揭示ERGIC的功能, 并发现ERGIC可能存在的其他内膜体形式(如CUPS和内质网漩涡等). 对于不同物种ERGIC的存在形式和功能研究将有助于了解ERGIC在进化中的结构功能演变和物种复杂性的关系. 最后, 研究ERGIC不同生理和病理条件的结构功能调控, 将全方面揭示ERGIC生理功能以及病理状态下的异常, 为诊治相关人类疾病提供理论依据和新思路.

## 参考文献

- 1 Jamieson J D, Palade G E. Intracellular transport of secretory proteins in the pancreatic exocrine cell. *J Cell Biol*, 1967, 34: 577-596
- 2 Saraste J, Marie M. Intermediate compartment: a sorting station between the endoplasmic reticulum and the Golgi apparatus. *Encyclopedia Cell*

- Biol, 2016, 2: 168–182
- 3 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. *BioEssays*, 2018, 40: 1800004
  - 4 Brandizzi F, Barlowe C. Organization of the ER-Golgi interface for membrane traffic control. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2013, 14: 382–392
  - 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 Biochem*, 2019, 165: 109–114
  - 6 Saraste J, Marie M. Intermediate compartment (IC): from pre-Golgi vacuoles to a semi-autonomous membrane system. *Histochem Cell Biol*, 2018, 150: 407–430
  - 7 Appenzeller-Herzog C, Hauri H P. The ER-Golgi intermediate compartment (ERGIC): in search of its identity and function. *J Cell Sci*, 2006, 119: 2173–2183
  - 8 Sicari D, Chatziioannou A, Koutsandreas T, et al. Correction: Role of the early secretory pathway in SARS-CoV-2 infection. *J Cell Biol*, 2020, 219
  - 9 Zhang M, Liu L, Lin X, et al. A translocation pathway for vesicle-mediated unconventional protein secretion. *Cell*, 2020, 181: 637–652.e15
  - 10 Saraste J, Kuismanen E. Pre- and post-golgi vacuoles operate in the transport of semliki forest virus membrane glycoproteins to the cell surface. *Cell*, 1984, 38: 535–549
  - 11 Saraste J, Hedman K. Intracellular vesicles involved in the transport of Semliki Forest virus membrane proteins to the cell surface. *EMBO J*, 1983, 2: 2001–2006
  - 12 Tooze J, Tooze S, Warren G. Replication of coronavirus MHV-A59 in sac-cells: determination of the first site of budding of progeny virions. *Eur J Cell Biol*, 1984, 33: 281–293
  - 13 Tooze S A, Tooze J, Warren G. Site of addition of *N*-acetyl-galactosamine to the E1 glycoprotein of mouse hepatitis virus-A59. *J Cell Biol*, 1988, 106: 1475–1487
  - 14 Schindler R, Itin C, Zerial M, et al. ERGIC-53, a membrane protein of the ER-Golgi intermediate compartment, carries an ER retention motif. *Eur J Cell Biol*, 1993, 61: 1–9
  - 15 Schweizer A, Fransen J A, Bächli 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 Cell Biol*, 1988, 107: 1643–1653
  - 16 Schweizer A, Fransen J A, Matter K, et al. Identification of an intermediate compartment involved in protein transport from endoplasmic reticulum to Golgi apparatus. *Eur J Cell Biol*, 1990, 53: 185–196
  - 17 Saraste J, Palade G E, Farquhar M G. Antibodies to rat pancreas Golgi subfractions: identification of a 58-kD *cis*-Golgi protein. *J Cell Biol*, 1987, 105: 2021–2029
  - 18 Lahtinen U, Hellman U, Wernstedt C, et al. Molecular cloning and expression of a 58-kDa *cis*-Golgi and intermediate compartment protein. *J Biol Chem*, 1996, 271: 4031–4037
  - 19 Saraste J, Svensson K. Distribution of the intermediate elements operating in ER to Golgi transport. *J Cell Sci*, 1991, 100: 415–430
  - 20 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 Cell Biol*, 1991, 113: 45–54
  - 21 Sessa 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 Cell Sci*, 1994, 107: 517–528
  - 22 Klumperman J. Transport between ER and Golgi. *Curr Opin Cell Biol*, 2000, 12: 445–449
  - 23 Zanetti G, Pahuja K B, Studer S, et al. COP II and the regulation of protein sorting in mammals. *Nat Cell Biol*, 2011, 14: 20–28
  - 24 Peotter J, Kasberg W, Pustova I, et al. COP II-mediated trafficking at the ER/ERGIC interface. *Traffic*, 2019, 20: 491–503
  - 25 Johnson A, Bhattacharya N, Hanna M, et al. TFG clusters COP II-coated transport carriers and promotes early secretory pathway organization. *EMBO J*, 2015, 34: 811–827
  - 26 Miller E A, Beilharz T H, Malkus P N, et al. Multiple cargo binding sites on the COP II subunit Sec24p ensure capture of diverse membrane proteins into transport vesicles. *Cell*, 2003, 114: 497–509
  - 27 Antonny B, Madden D, Hamamoto S, et al. Dynamics of the COP II coat with GTP and stable analogues. *Nat Cell Biol*, 2001, 3: 531–537
  - 28 Hanna M G, Block S, Frankel E B, et al. TFG facilitates outer coat disassembly on COP II transport carriers to promote tethering and fusion with ER-Golgi intermediate compartments. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2017, 114: E7707–E7716

- 29 Cai H, Yu S, Menon S, et al. TRAPPI tethers COP II vesicles by binding the coat subunit Sec23. *Nature*, 2007, 445: 941–944
- 30 McCaughey J, Stephens D J. ER-to-Golgi transport: a sizeable problem. *Trends Cell Biol*, 2019, 29: 940–953
- 31 Jin L, Pahuja K B, Wickliffe K E, et al. Ubiquitin-dependent regulation of COP II coat size and function. *Nature*, 2012, 482: 495–500
- 32 Levy E, Poinot P, Spahis S. Chylomicron retention disease. *Curr Opin Lipidol*, 2019, 30: 134–139
- 33 Saito K, Chen M, Bard F, et al. TANGO1 facilitates cargo loading at endoplasmic reticulum exit sites. *Cell*, 2009, 136: 891–902
- 34 Ishikawa Y, Ito S, Nagata K, et al. Intracellular mechanisms of molecular recognition and sorting for transport of large extracellular matrix molecules. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2016, 113: E6036–E6044
- 35 Saito K, Yamashiro K, Ichikawa Y, et al. cTAGE5 mediates collagen secretion through interaction with TANGO1 at endoplasmic reticulum exit sites. *Mol Biol Cell*, 2011, 22: 2301–2308
- 36 Ma W, Goldberg J. TANGO1/cTAGE5 receptor as a polyvalent template for assembly of large COP II coats. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2016, 113: 10061–10066
- 37 Raote I, Ortega-Bellido M, Santos A J, et al. TANGO1 builds a machine for collagen export by recruiting and spatially organizing COP II, tethers and membranes. *eLife*, 2018, 7: e32723
- 38 Santos A J M, Raote I, Scarpa M, et al. TANGO1 recruits ERGIC membranes to the endoplasmic reticulum for procollagen export. *eLife*, 2015, 4: e10982
- 39 Lord C, Ferro-Novick S, Miller E A. The highly conserved COP II coat complex sorts cargo from the endoplasmic reticulum and targets it to the golgi. *Cold Spring Harbor Perspect Biol*, 2013, 5: a013367
- 40 Arakel E C, Schwappach B. Formation of COPI-coated vesicles at a glance. *J Cell Sci*, 2018, 131
- 41 Hsu V W, Lee S Y, Yang J S. The evolving understanding of COPI vesicle formation. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2009, 10: 360–364
- 42 Béthune J, Wieland F T. Assembly of COP I and COP II vesicular coat proteins on membranes. *Annu Rev Biophys*, 2018, 47: 63–83
- 43 Beck R, Ravet M, Wieland F T, et al. The COPI system: molecular mechanisms and function. *FEBS Lett*, 2009, 583: 2701–2709
- 44 D'Souza-Schorey C, Chavrier P. ARF proteins: roles in membrane traffic and beyond. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2006, 7: 347–358
- 45 Tanigawa G, Orci L, Amherdt M, et al. Hydrolysis of bound GTP by ARF protein triggers uncoating of Golgi-derived COP-coated vesicles. *J Cell Biol*, 1993, 123: 1365–1371
- 46 Popoff V, Langer J D, Reckmann I, et al. Several ADP-ribosylation factor (Arf) isoforms support COPI vesicle formation. *J Biol Chem*, 2011, 286: 35634–35642
- 47 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. *Mol Biol Cell*, 2005, 16: 4495–4508
- 48 Appenzeller C, Andersson H, Kappeler F, et al. The lectin ERGIC-53 is a cargo transport receptor for glycoproteins. *Nat Cell Biol*, 1999, 1: 330–334
- 49 Hauri H P, Kappeler F, Andersson H, et al. ERGIC-53 and traffic in the secretory pathway. *J Cell Sci*, 2000, 113: 587–596
- 50 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 Cell Sci*, 2003, 116: 4429–4440
- 51 Appenzeller-Herzog C, Roche A C, Nufer O, et al. pH-induced conversion of the transport lectin ERGIC-53 triggers glycoprotein release. *J Biol Chem*, 2004, 279: 12943–12950
- 52 Strating J R P M, Martens G J M. The p24 family and selective transport processes at the ER-Golgi interface. *Biol Cell*, 2009, 101: 495–509
- 53 Aber R, Chan W, Mugisha S, et al. Transmembrane emp24 domain proteins in development and disease. *Genet Res*, 2019, 101: e14
- 54 Pastor-Cantizano N, Montesinos J C, Bernat-Silvestre C, et al. p24 family proteins: key players in the regulation of trafficking along the secretory pathway. *Protoplasma*, 2016, 253: 967–985
- 55 Strating J R P M, van Bakel N H M, Leunissen J A M, et al. A comprehensive overview of the vertebrate p24 family: identification of a novel tissue-specifically expressed member. *Mol Biol Evol*, 2009, 26: 1707–1714
- 56 Nagae M, Hirata T, Morita-Matsumoto K, et al. 3D Structure and Interaction of p24 $\beta$  and p24 $\delta$  Golgi dynamics domains: implication for p24 complex formation and cargo transport. *J Mol Biol*, 2016, 428: 4087–4099
- 57 Theiler R, Fujita M, Nagae M, et al. The  $\alpha$ -helical region in p24 $\gamma$ 2 subunit of p24 protein cargo receptor is pivotal for the recognition and transport of glycosylphosphatidylinositol-anchored proteins. *J Biol Chem*, 2014, 289: 16835–16843
- 58 Contreras F X, Ernst A M, Haberkant P, et al. Molecular recognition of a single sphingolipid species by a protein's transmembrane domain.

- [Nature](#), 2012, 481: 525–529
- 59 Pannwitt S, Stangl M, Schneider D. Lipid binding controls dimerization of the coat protein p24 transmembrane helix. [Biophys J](#), 2019, 117: 1554–1562
  - 60 Dominguez M, Dejgaard K, Füllekrug J, et al. gp25L/emp24/p24 protein family members of the cis-Golgi network bind both COP I and II coatomer. [J Cell Biol](#), 1998, 140: 751–765
  - 61 Popoff V, Adolf F, Brügger B, et al. COPI budding within the Golgi stack. [Cold Spring Harbor Perspect Biol](#), 2011, 3: a005231
  - 62 Cabrera M, Muñoz M, Hidalgo J, et al. The retrieval function of the KDEL receptor requires PKA phosphorylation of its C-terminus. [Mol Biol Cell](#), 2003, 14: 4114–4125
  - 63 Lewis M J, Pelham H R B. Ligand-induced redistribution of a human KDEL receptor from the Golgi complex to the endoplasmic reticulum. [Cell](#), 1992, 68: 353–364
  - 64 Gomez-Navarro N, Miller E. Protein sorting at the ER-Golgi interface. [J Cell Biol](#), 2016, 215: 769–778
  - 65 Wilson D W, Lewis M J, Pelham H R. pH-dependent binding of KDEL to its receptor in vitro. [J Biol Chem](#), 1993, 268: 7465–7468
  - 66 Capitani M, Sallese M. The KDEL receptor: new functions for an old protein. [FEBS Lett](#), 2009, 583: 3863–3871
  - 67 Majoul I, Straub M, Hell S W, et al. KDEL-cargo regulates interactions between proteins involved in COPI vesicle traffic. [Dev Cell](#), 2001, 1: 139–153
  - 68 Raykhel I, Alanen H, Salo K, et al. A molecular specificity code for the three mammalian KDEL receptors. [J Cell Biol](#), 2007, 179: 1193–1204
  - 69 Cancino J, Capalbo A, Di Campli A, et al. Control systems of membrane transport at the interface between the endoplasmic reticulum and the Golgi. [Dev Cell](#), 2014, 30: 280–294
  - 70 Solis G P, Bilousov O, Koval A, et al. Golgi-resident Gao promotes protrusive membrane dynamics. [Cell](#), 2017, 170: 939–955.e24
  - 71 Saraste J. Spatial and functional aspects of ER-Golgi rabs and tethers. [Front Cell Dev Biol](#), 2016, 4: 28
  - 72 Gillingham A K, Sinka R, Torres I L, et al. Toward a comprehensive map of the effectors of rab GTPases. [Dev Cell](#), 2014, 31: 358–373
  - 73 Tisdale E J, Jackson M R. Rab2 protein enhances coatomer recruitment to pre-Golgi intermediates. [J Biol Chem](#), 1998, 273: 17269–17277
  - 74 Monetta P, Slavin I, Romero N, et al. Rab1b interacts with GBF1 and modulates both ARF1 dynamics and COPI association. [Mol Biol Cell](#), 2007, 18: 2400–2410
  - 75 Goud B, Liu S, Storrie B. Rab proteins as major determinants of the Golgi complex structure. [Small GTPases](#), 2018, 9: 66–75
  - 76 Hutagalung A H, Novick P J. Role of Rab GTPases in membrane traffic and cell physiology. [Physiol Rev](#), 2011, 91: 119–149
  - 77 Lőrincz P, Tóth S, Benkő P, et al. Rab2 promotes autophagic and endocytic lysosomal degradation. [J Cell Biol](#), 2017, 216: 1937–1947
  - 78 Ding X, Jiang X, Tian R, et al. RAB2 regulates the formation of autophagosome and autolysosome in mammalian cells. [Autophagy](#), 2019, 15: 1774–1786
  - 79 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. [Mol Biol Cell](#), 2009, 20: 4458–4470
  - 80 Nakatogawa H. Mechanisms governing autophagosome biogenesis. [Nat Rev Mol Cell Biol](#), 2020, 21: 439–458
  - 81 Levine B, Kroemer G. Biological functions of autophagy genes: a disease perspective. [Cell](#), 2019, 176: 11–42
  - 82 Dikic I, Elazar Z. Mechanism and medical implications of mammalian autophagy. [Nat Rev Mol Cell Biol](#), 2018, 19: 349–364
  - 83 Ge L, Baskaran S, Schekman R, et al. The protein-vesicle network of autophagy. [Curr Opin Cell Biol](#), 2014, 29: 18–24
  - 84 Brier L W, Zhang M, Ge L. Mechanistically dissecting autophagy: insights from *in vitro* reconstitution. [J Mol Biol](#), 2016, 428: 1700–1713
  - 85 Kabeya Y, Mizushima N, Ueno T, et al. LC3, a mammalian homologue of yeast Apg8p, is localized in autophagosome membranes after processing. [EMBO J](#), 2000, 19: 5720–5728
  - 86 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. [eLife](#), 2013, 2: e00947
  - 87 Ge L, Schekman R. The ER-Golgi intermediate compartment feeds the phagophore membrane. [Autophagy](#), 2014, 10: 170–172
  - 88 Karaniasos E, Walker S A, Okkenhaug H, et al. Autophagy initiation by ULK complex assembly on ER tubulovesicular regions marked by ATG9 vesicles. [Nat Commun](#), 2016, 7: 12420
  - 89 Gui X, Yang H, Li T, et al. Autophagy induction via STING trafficking is a primordial function of the cGAS pathway. [Nature](#), 2019, 567: 262–266
  - 90 Ge L, Zhang M, Schekman R. Phosphatidylinositol 3-kinase and COPII generate LC3 lipidation vesicles from the ER-Golgi intermediate

- p>compartment.
- [eLife](#)
- , 2014, 3: e04135
- 91 Ge L, Wilz L, Schekman R. Biogenesis of autophagosomal precursors for LC3 lipidation from the ER-Golgi intermediate compartment. [Autophagy](#), 2015, 11: 2372–2374
  - 92 Zoppino F C, Damián Militello R, Slavin I, et al. Autophagosome formation depends on the small GTPase Rab1 and functional ER exit sites. [Traffic](#), 2010, 11: 1246–1261
  - 93 Stadel D, Millarte V, Tillmann K D, et al. TECPR2 cooperates with LC3C to regulate COP II -dependent ER export. [Mol Cell](#), 2015, 60: 89–104
  - 94 Ge L, Zhang M, Kenny S J, et al. Remodeling of ER-exit sites initiates a membrane supply pathway for autophagosome biogenesis. [EMBO Rep](#), 2017, 18: 1586–1603
  - 95 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. [Cell Res](#), 2021, 24: 1–20
  - 96 Jeong Y T, Simoneschi D, Keegan S, et al. The ULK1-FBXW5-SEC23B nexus controls autophagy. [eLife](#), 2018, 7: e42253
  - 97 Ishihara N, Hamasaki M, Yokota S, et al. Autophagosome requires specific early Sec proteins for its formation and NSF/SNARE for vacuolar fusion. [Mol Biol Cell](#), 2001, 12: 3690–3702
  - 98 Graef M, Friedman J R, Graham C, et al. ER exit sites are physical and functional core autophagosome biogenesis components. [Mol Biol Cell](#), 2013, 24: 2918–2931
  - 99 Suzuki K, Akioka M, Kondo-Kakuta C, et al. Fine mapping of autophagy-related proteins during autophagosome formation in *Saccharomyces cerevisiae*. [J Cell Sci](#), 2013, 126: 2534–2544
  - 100 Shima T, Kirisako H, Nakatogawa H. COP II vesicles contribute to autophagosomal membranes. [J Cell Biol](#), 2019, 218: 1503–1510
  - 101 Lynch-Day M A, Bhandari D, Menon S, et al. Trs85 directs a Ypt1 GEF, TRAPPIII, to the phagophore to promote autophagy. [Proc Natl Acad Sci USA](#), 2010, 107: 7811–7816
  - 102 Lipatova Z, Belogortseva N, Zhang X Q, et al. Regulation of selective autophagy onset by a Ypt/Rab GTPase module. [Proc Natl Acad Sci USA](#), 2012, 109: 6981–6986
  - 103 Kakuta S, Yamamoto H, Negishi L, et al. Atg9 vesicles recruit vesicle-tethering proteins Trs85 and Ypt1 to the autophagosome formation site. [J Biol Chem](#), 2012, 287: 44261–44269
  - 104 Wang J, Menon S, Yamasaki A, et al. Ypt1 recruits the Atg1 kinase to the preautophagosomal structure. [Proc Natl Acad Sci USA](#), 2013, 110: 9800–9805
  - 105 Tan D, Cai Y, Wang J, et al. The EM structure of the TRAPPIII complex leads to the identification of a requirement for COP II vesicles on the macroautophagy pathway. [Proc Natl Acad Sci USA](#), 2013, 110: 19432–19437
  - 106 Wang J, Davis S, Menon S, et al. Ypt1/Rab1 regulates Hrr25/CK1δ kinase activity in ER-Golgi traffic and macroautophagy. [J Cell Biol](#), 2015, 210: 273–285
  - 107 Davis S, Wang J, Zhu M, et al. Sec24 phosphorylation regulates autophagosome abundance during nutrient deprivation. [eLife](#), 2016, 5: e21167
  - 108 Hurley J H, Young L N. Mechanisms of autophagy initiation. [Annu Rev Biochem](#), 2017, 86: 225–244
  - 109 Lamb C A, Nühlen S, Judith D, et al. TBC 1D14 regulates autophagy via the TRAPP complex and ATG9 traffic. [EMBO J](#), 2016, 35: 281–301
  - 110 Rabouille C. Pathways of unconventional protein secretion. [Trends Cell Biol](#), 2017, 27: 230–240
  - 111 Zhang M, Schekman R. Unconventional secretion, unconventional solutions. [Science](#), 2013, 340: 559–561
  - 112 Kim J, Gee H Y, Lee M G. Unconventional protein secretion-new insights into the pathogenesis and therapeutic targets of human diseases. [J Cell Sci](#), 2018, 131
  - 113 Ding J, Wang K, Liu W, et al. Pore-forming activity and structural autoinhibition of the gasdermin family. [Nature](#), 2016, 535: 111–116
  - 114 Steringer J P, Nickel W. A direct gateway into the extracellular space: unconventional secretion of FGF2 through self-sustained plasma membrane pores. [Semin Cell Dev Biol](#), 2018, 83: 3–7
  - 115 Dimou E, Nickel W. Unconventional mechanisms of eukaryotic protein secretion. [Curr Biol](#), 2018, 28: R406–R410
  - 116 Brough D, Pelegrin P, Nickel W. An emerging case for membrane pore formation as a common mechanism for the unconventional secretion of FGF2 and IL-1β. [J Cell Sci](#), 2017, 130: 3197–3202
  - 117 Pallotta M T, Nickel W. FGF2 and IL-1β-explorers of unconventional secretory pathways at a glance. [J Cell Sci](#), 2020, 133: jcs250449
  - 118 Rubartelli A, Cozzolino F, Talio M, et al. A novel secretory pathway for interleukin-1 beta, a protein lacking a signal sequence. [EMBO J](#), 1990, 9: 1503–1510

- 119 Evavold C L, Ruan J, Tan Y, et al. The pore-forming protein gasdermin D regulates interleukin-1 secretion from living macrophages. *Immunity*, 2018, 48: 35–44.e6
- 120 Zhang M, Kenny S J, Ge L, et al. Translocation of interleukin-1 $\beta$  into a vesicle intermediate in autophagy-mediated secretion. *eLife*, 2015, 4: e11205
- 121 Bruns C, McCaffery J M, Curwin A J, et al. Biogenesis of a novel compartment for autophagosome-mediated unconventional protein secretion. *J Cell Biol*, 2011, 195: 979–992
- 122 Curwin A J, Brouwers N, Alonso Y Adell M, et al. ESCRT-III drives the final stages of CUPS maturation for unconventional protein secretion. *eLife*, 2016, 5: e16299
- 123 Saraste J, Dale H A, Bazzocco S, et al. Emerging new roles of the pre-Golgi intermediate compartment in biosynthetic-secretory trafficking. *FEBS Lett*, 2009, 583: 3804–3810
- 124 Sannerud R, Marie M, Nizak C, et al. Rab1 defines a novel pathway connecting the pre-Golgi intermediate compartment with the cell periphery. *Mol Biol Cell*, 2006, 17: 1514–1526
- 125 Hanus C, Geptin H, Tushev G, et al. Unconventional secretory processing diversifies neuronal ion channel properties. *Elife*, 2016, 5
- 126 Hanus C, Kochen L, Tom Dieck S, et al. Synaptic control of secretory trafficking in dendrites. *Cell Rep*, 2014, 7: 1771–1778
- 127 Bowen A B, Bourke A M, Hiester B G, et al. Golgi-independent secretory trafficking through recycling endosomes in neuronal dendrites and spines. *eLife*, 2017, 6: e27362
- 128 Cebrian I, Visentin G, Blanchard N, et al. Sec22b regulates phagosomal maturation and antigen crosspresentation by dendritic cells. *Cell*, 2011, 147: 1355–1368
- 129 Hogue B G, Machamer C E. Coronavirus structural proteins and virus assembly. In: Perlman S, Gallagher T, Snijder E J, eds. Nidoviruses. Washington DC: ASM Press, 2007. 179–200
- 130 Sturman L S, Holmes K V. The molecular biology of coronaviruses. *Adv Virus Res*, 1983, 28: 35–112
- 131 Salanueva I J, Carrascosa J L, Risco C. Structural maturation of the transmissible gastroenteritis coronavirus. *J Virol*, 1999, 73: 7952–7964
- 132 Klumperman J, Locker J K, Meijer A, et al. Coronavirus M proteins accumulate in the Golgi complex beyond the site of virion budding. *J Virol*, 1994, 68: 6523–6534
- 133 Klaus J P, Eisenhauer P, Russo J, et al. The intracellular cargo receptor ERGIC-53 is required for the production of infectious arenavirus, coronavirus, and filovirus particles. *Cell Host Microbe*, 2013, 14: 522–534
- 134 Stertz S, Reichelt M, Spiegel M, et al. The intracellular sites of early replication and budding of SARS-coronavirus. *Virology*, 2007, 361: 304–315
- 135 Klein S, Cortese M, Winter S L, et al. SARS-CoV-2 structure and replication characterized by *in situ* cryo-electron tomography. *Nat Commun*, 2020, 11: 5885
- 136 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 Gen Virol*, 2005, 86: 1423–1434
- 137 de Haan C A, Rottier P J. Molecular interactions in the assembly of coronaviruses. *Adv Virus Res*, 2005, 64: 165–230
- 138 Ujike M, Taguchi F. Incorporation of spike and membrane glycoproteins into coronavirus virions. *Viruses*, 2015, 7: 1700–1725
- 139 Cluett E B, Kuismanen E, Machamer C E. Heterogeneous distribution of the unusual phospholipid semilysobisphosphatidic acid through the Golgi complex. *Mol Biol Cell*, 1997, 8: 2233–2240
- 140 Cortese M, Lee J Y, Cerikan B, et al. Integrative imaging reveals SARS-CoV-2-induced reshaping of subcellular morphologies. *Cell Host Microbe*, 2020, 28: 853–866.e5
- 141 Ghosh S, Dellibovi-Ragheb T A, Kerviel A, et al.  $\beta$ -coronaviruses use lysosomes for egress instead of the biosynthetic secretory pathway. *Cell*, 2020, 183: 1520–1535.e14
- 142 Vale-Costa S, Amorim M J. Recycling endosomes and viral infection. *Viruses*, 2016, 8: 64
- 143 Ritchie G, Harvey D J, Feldmann F, et al. Identification of N-linked carbohydrates from severe acute respiratory syndrome (SARS) spike glycoprotein. *Virology*, 2010, 399: 257–269
- 144 Kellokumpu S. Golgi pH, ion and redox homeostasis: how much do they really matter? *Front Cell Dev Biol*, 2019, 7: 93
- 145 Westerbeck J W, Machamer C E. The infectious bronchitis coronavirus envelope protein alters Golgi pH to protect the spike protein and promote the release of infectious virus. *J Virol*, 2019, 93

- 146 Roth J, Zuber C. Quality control of glycoprotein folding and ERAD: the role of N-glycan handling, EDEM1 and OS-9. *Histochem Cell Biol*, 2017, 147: 269–284
- 147 Lucocq J M, Brada D, Roth J. Immunolocalization of the oligosaccharide trimming enzyme glucosidase II. *J Cell Biol*, 1986, 102: 2137–2146
- 148 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. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, 98: 10710–10715
- 149 Breuza L, Halbeisen R, Jenö 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 Biol Chem*, 2004, 279: 47242–47253
- 150 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 Cell Biol*, 1994, 126: 41–52
- 151 Yamamoto K, Fujii R, Toyofuku Y, et al. The KDEL receptor mediates a retrieval mechanism that contributes to quality control at the endoplasmic reticulum. *EMBO J*, 2001, 20: 3082–3091
- 152 Vavassori S, Cortini M, Masui S, et al. A pH-regulated quality control cycle for surveillance of secretory protein assembly. *Mol Cell*, 2013, 50: 783–792
- 153 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. *Front Mol Neurosci*, 2017, 10: 222
- 154 Sirkis D W, Aparicio R E, Schekman R. Neurodegeneration-associated mutant TREM2 proteins abortively cycle between the ER and ER-Golgi intermediate compartment. *Mol Biol Cell*, 2017, 28: 2723–2733
- 155 Hermosilla R, Oueslati M, Donalies U, et al. Disease-causing V2 vasopressin receptors are retained in different compartments of the early secretory pathway. *Traffic*, 2004, 5: 993–1005
- 156 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 Cell Biol*, 1995, 131: 1403–1419
- 157 Sun Z, Brodsky J L. Protein quality control in the secretory pathway. *J Cell Biol*, 2019, 218: 3171–3187
- 158 Karagöz 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. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2019, 11: a033886
- 159 Bernales S, McDonald K L, Walter P. Autophagy counterbalances endoplasmic reticulum expansion during the unfolded protein response. *PLoS Biol*, 2006, 4: e423
- 160 Xu F, Du W, Zou Q, et al. COP II mitigates ER stress by promoting formation of ER whorls. *Cell Res*, 2021, 31: 141–156

## Diversified roles of the ER-Golgi intermediate compartment

ZHENG JianFei, SUN YuXin, LIU Lei, TAO Xuan & GE Liang

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

Endoplasmic reticulum-Golgi intermediate compartment (ERGIC) was identified from studies of virus membrane protein trafficking. Initially ERGIC was thought as an intermediate station for vesicle transport between the endoplasmic reticulum (ER) and the Golgi by regulating cargo sorting and bidirectional traffic in the early secretory pathway. Recently, ERGIC has been found to play essential roles in regulating several key cellular processes under stress conditions. Firstly, ERGIC is a key membrane source for the early stage of autophagosome biogenesis in autophagy. Secondly, ERGIC acts as the membrane carrier for the translocation of secretory cargoes in the vesicle in unconventional protein secretion. Coronaviruses, including the SARS-CoV-2, utilize ERGIC in the host cell as the assembly station for expansion. In addition, ERGIC also regulates protein quality control and may exist in other forms of endomembranes, e.g. the ER whorl, to control endomembrane homeostasis under stress condition. Although multiple functions of ERGIC have been identified, our knowledge on this topic is still in the infant stage. Especially, it remains to be known how the dynamics and functions of ERGIC are regulated under physiological and pathological conditions. Here, we summarize and discuss the current known and unknown aspects of ERGIC.

**ERGIC, vesicle transport, RAB, autophagy, COP II, unconventional protein secretion, TMED, coronavirus**

**doi:** [10.1360/SSV-2021-0156](https://doi.org/10.1360/SSV-2021-0156)