

第537次学术讨论会·膜性细胞器及其亚结构的动态调控机制

膜性细胞器及其亚结构的动态调控机制 国内研究进展

陈扬, 俞立*

清华大学生命科学学院, 生物膜与膜生物工程国家重点实验室, 清华大学-北京大学生命科学联合中心, 北京 100084

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

2017-02-17 收稿, 2017-03-31 修回, 2017-04-01 接受, 2017-05-12 网络版发表



摘要 细胞内复杂的生命过程, 几乎全部由细胞内功能特化的细胞器完成或与之相关。在活细胞中, 膜性细胞器组成成分不断变化。膜性细胞器之间存在频繁的物质交换和功能联系, 构成功能网络, 执行复杂的生物学过程。膜性细胞器结构或功能的紊乱, 有可能导致整个细胞功能紊乱, 严重时导致细胞死亡, 进而导致机体许多重大疾病的发生。因此, 对于膜性细胞器发生、结构特征和功能的研究是细胞生物学的基础, 也是理解生命过程的基础, 其分子细胞机制的阐明也对于理解相关疾病的发生机制, 治疗方法有重要作用。本文将围绕“膜性细胞器及其亚结构的动态调控机制”这一主题, 从膜性细胞器的形成、维持和调控、膜性细胞器之间的转运和互作及膜性细胞器研究的新技术新方法3个方面综述膜性细胞器的国内研究现状。并讨论膜性细胞器领域今后的研究方向和科学问题, 分析当前所面临的机遇和挑战以及今后的发展方向和可能的突破点, 提出我国膜性细胞器领域研究的战略性建议。

关键词 膜性细胞器, 形成, 调控, 转运, 互作, 新技术

细胞是生命的基本单位, 细胞内复杂的生命过程, 几乎全部由细胞内功能特化的细胞器完成或与之相关。膜性细胞器是除核糖体和细胞骨架以外的所有细胞器, 是由膜包裹的、相对局域化的空间结构, 高效而精确地行使细胞分裂、增殖、呼吸作用、衰老和凋亡, 物质合成、分选、运输、分解, 信号转导等生物学功能。例如, 细胞内物质运输是由内质网、高尔基体、胞内体、溶酶体和囊泡等细胞器组成的途径所完成: 内质网是细胞内蛋白质的合成和加工场所; 高尔基体是蛋白质翻译后修饰和货物运输的中心; 胞内体是内吞途径的交通和分选枢纽, 并参与信号分子活性的调节; 溶酶体是多种物质运输的终点, 负责蛋白质降解、衰老或损伤细胞器和入侵病毒或细菌的降解, 还参与自吞噬作用、胞吐作用或细胞分泌;

囊泡是物质运输的执行者, 通过细胞骨架和动力蛋白的作用而得以转运。线粒体是细胞进行有氧呼吸的主要场所, 是能量代谢的核心, 也是细胞凋亡的调控中心。细胞核是细胞分裂、增殖和信号调控的中心。在活细胞中, 膜性细胞器组成成分在不断地变化之中, 细胞动力和生命活力的体现正是来源于这些膜性细胞器的动态变化。膜性细胞器之间存在频繁的物质交换和功能联系, 构成功能网络, 执行复杂的生物学过程。膜性细胞器结构或功能的紊乱, 有可能导致整个细胞功能紊乱, 严重时导致细胞死亡, 进而导致机体许多重大疾病的发生, 如神经退行性疾病、糖尿病与代谢性疾病、免疫缺陷、感染性疾病等。因此, 对膜性细胞器发生、结构特征和功能的研究是细胞生物学的基础, 也是理解生命过程的基础, 其分子细胞

引用格式: 陈扬, 俞立. 膜性细胞器及其亚结构的动态调控机制国内研究进展. 科学通报, 2017, 62: 2055-2062

Chen Y, Yu L. Research progress of membranous organelles and their subcellular structures in China (in Chinese). Chin Sci Bull, 2017, 62: 2055-2062, doi: 10.1360/N972016-01068

机制的阐明也对理解相关疾病的发生机制, 治疗方法有重要作用.

膜性细胞器的生成和功能研究一直是生命科学研究的热点领域. 经典细胞生物学研究在膜性细胞器的结构与功能方面有了很好的发展, 但大部分研究多局限于静态的观察. 而膜性细胞器是一种高度动态的结构体系, 不同细胞器通过膜转运和直接的相互作用, 进行物质、能量和信息的交换. 只有追溯这些细胞器发生的动态过程, 才能更好地理解细胞功能和生命现象. 近年来, 国际上对于细胞器生物学的研究, 注重利用电子显微镜等光、电新技术及分子细胞生物学技术, 实现活细胞成像、高分辨成像等新方法, 研究细胞器的发生过程、结构特征、亚细胞定位及其动态变化. 随着活细胞成像等技术的发展, 人们对囊泡运输的动态过程有了更进一步的认识, 但对其确切的分子细胞生物学机制及其与其他细胞器发生的关系目前了解得还很粗浅.

通过多年的努力, 我国在膜性细胞器生物学领域取得了长足的发展, 尤其在细胞自噬、线粒体、细胞核、溶酶体、高尔基体和内质网等细胞器的研究中取得了重要进展, 形成了赶超国际前沿的势头. 目前, 国内已建立了有关膜性细胞器研究的特色平台和资源库, 为该领域的发展创造了重要条件. 近年来, 随着国外一批优秀中青年科学家的回国发展, 已在该领域形成了良好的工作积累和团队力量, 并取得了一些重要研究成果, 发表在*Cell*, *Nature*, *Science*, *Neuron*, *Cell Metabolism*, *Nature Cell Biology*, *Nature Neuroscience*, *Journal of Cell Biology*, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *Autophagy*等杂志上.

本文将围绕“膜性细胞器及其亚结构的动态调控机制”这一主题, 从膜性细胞器的形成、维持和调控、膜性细胞器之间的转运和互作和膜性细胞器研究的新技术新方法3个方面综述膜性细胞器的国内研究现状, 并讨论“膜性细胞器领域今后的研究方向和科学问题”, 分析当前所面临的机遇和挑战以及今后的发展方向和可能的突破点, 提出我国膜性细胞器领域研究的战略性建议.

1 膜性细胞器的形成、维持和调控

生物膜是一种动态的结构体系, 处于不断的更新与重构之中. 膜性细胞器具有特征性的形态. 例

如, 溶酶体和过氧化物酶体的结构为相对简单的圆球形, 自噬体具有独特的双层膜包裹的球状结构, 高尔基体则由扁平的囊状结构叠加而成, 内质网有管状和片状结构相互连接, 而线粒体则通常呈管网状, 其内膜又形成凹凸不平的嵴状结构. 膜性细胞器的形状高度动态, 在细胞迁移、分裂和生长等过程中发生剧烈的形态改变, 但是在细胞处于稳定状态下又具有其特征性的稳定形态. 越来越多的证据表明, 细胞器的膜形态与其各种功能有着直接的关联, 膜性细胞器的形态建成和维持是细胞生物学最基本而又最重要的问题. 这些多种形态的膜性细胞器的形成的基本单位归于膜曲度的改变. 膜脂分子的构成, 膜脂分子与蛋白质的相互作用是膜形状形成和维持的关键. 特异性膜脂分子在脂双层膜的不对称分布可以产生膜曲度. 蛋白质也可以通过改变膜脂的分布, 间接产生膜脂的不对称分布从而产生膜曲度. 蛋白质也可以直接与生物膜相互作用产生膜曲度, 例如, 通过驱动蛋白对膜施加机械力, 从而在平滑的膜上产生细管状结构; 或者通过结构具有曲度的蛋白质相互组装成为有曲度的表面, 并与膜结合, 使膜同时产生曲度. 例如, 含有BAR结构域的蛋白可以通过自身的聚合和与膜的相互作用, 使生物膜发生重构, 产生出正或者负曲度; 或者通过疏水区插入膜的方法, 产生楔形的区域. Sun研究组^[1]在膜曲度发生方面取得突破, 发现了除上述方式以外的非传统的由PH结构域和BAR结构域共同介导的膜曲度产生的方式: 由BAR结构域介导蛋白质的聚合, 由相邻的PH结构域介导膜的结合和曲度产生. 又如内质网是由连续的单层膜结构围绕而成的独立功能单位, 一端为细胞的核膜, 另一端则逐渐向外延伸至细胞质膜, 并形成纵横交错的网络结构, 形态主要包括片状和管状. 该领域的重大突破来自于2006年Rapoport研究组^[2]在管状内质网形成方面的发现. 胡俊杰师承于Dr. Rapoport, 纯化了两个成管膜蛋白reticulons和DP1/Yop1p, 与其研究组其他成员^[3]成功建立了体外重构系统, 发现纯化的蛋白在体外与脂质重组后能形成管状膜结构. Hu研究组^[4~6]还发现, 嵌膜GTP酶atlastin等参与了内质网管状网络的形成, 这些蛋白的缺失或突变导致内质网分叉减少. Hu研究组采用细胞生物学、生物化学及结构生物学等多种方法深入研究内质网塑形和重装的分子机制, 内质网的形态与功能的关联, 以及与内质网功能相关的疾病. Yu研

究组^[7]发现,新的线粒体动态管化,是一种依赖马达蛋白KIF5B的新的线粒体动态行为。KIF5B介导从线粒体膜上生成高度动态的细管状膜结构,管状膜结构在Mitofusion的调控下互相融合,生成线粒体网状结构。用纯化的线粒体,KIF5B和聚合的微管在体外实验系统中可重构线粒体管网状结构。细胞自噬是一个复杂的生物学过程,涉及欧米茄体、自噬体、自噬溶酶体等膜性细胞器的形成,动态变化和功能,是目前国内研究的热点领域。Yu研究组^[8~11]自2010年发现自噬性溶酶体再生现象,详细阐述了Clathrin以及其辅助蛋白和PI(4,5)P2介导的膜蛋白分选、脂类转换、自噬溶酶体膜表面曲度骤变发生管化起始和原溶酶体生成中的过程,表明溶酶体不仅是传统的球形,也可以以管状结构存在。Yu研究组^[12]最近研究还发现了细胞骨架微丝蛋白对自噬性溶酶体独特的双层膜包裹的球状结构的支撑作用,也是膜性细胞器的形态形成和维持的重要方面。Wang研究组^[13]发现,PI3P磷酸酶的活性对于自噬体的成熟和自噬溶酶体的形成有重要作用。除了对于传统的膜性细胞器的形态功能进行研究之外,Yu研究组^[14]于2014年发现新细胞器迁移体,是在细胞定向迁移的过程中产生的收缩丝的末端或中间某个位置上会长出一个或多个单层膜囊泡结构,直径大约为1~3 μm ,具有重要的生物学功能。迁移体的形成涉及复杂的膜曲度动态变化和重构,对迁移体形态维持,调控机制的研究对于其功能具有重要的意义。除生物范畴内的膜动态调控,物理学调控手段,如光、超声也可以对细胞的膜结构产生力学扰动^[15]。

2 膜性细胞器之间的转运和互作

膜性细胞器通过膜结构进行隔离,形成区域化具有独特功能的结构,从而高效地完成,如ATP的生成,脂质的合成、降解,蛋白运输等功能。然而,不同细胞器之间并不是结构和功能上单独存在的个体,越来越多的证据表明,膜性细胞器之间通过囊泡运输和直接接触进行物质沟通和信号传递,形成一个有机的细胞内网络,对于发挥其功能如调节细胞代谢、信号转导、物质平衡、细胞命运决定和病原体防御等有重要作用。细胞器膜结构形成特化的膜区域,从而发生锚定和信号交换也是目前研究的亮点。例如,线粒体和内质网特化结构形成MAM(mitochondria-associated membranes)接触,内质网和细胞膜直接接

触的特化区域。再如证据显示,线粒体与过氧化物酶体的物理连接,线粒体与过氧化物酶体之间通过蛋白质复合体介导的直接接触,脂滴与线粒体、内质网、胞内体和质膜的直接接触,自噬体与溶酶体的接触和融合,或者是线粒体源的囊泡(MDV)等都是细胞器互作的典型例子。过去几年在内膜系统的动态平衡方面取得了一系列新的进展,从而对内膜系统间的转运和互作有了更深入的了解。如阐明了多细胞器间协同进行的膜构建、转运与融合过程的细胞自噬。细胞自噬过程涉及多个细胞器的共同参与:线粒体和内质网的直接接触位点对于细胞自噬的发生有重要作用。自噬体与溶酶体融合形成自噬性溶酶体,自噬性溶酶体成管再生。选择性细胞自噬降解受损的胞内体、线粒体、内质网、脂滴。自噬在细胞非经典途径的分泌中还占有一席之地。近年来,细胞自噬领域的研究在国内成为热点:Chen研究组^[16~18]发现,线粒体膜上FUNDC1为新的介导线粒体自噬的受体,并对线粒体自噬发生的分子机制和生理意义进行了深入的探索。Wang研究组^[19]关注在线虫(*Caenorhabditis elegans*)发育过程中的细胞自噬参与体细胞和生殖细胞的程序性死亡,研究发现自噬在生殖细胞凋亡引发的基因毒性刺激中起作用,线虫自噬突变体中生殖细胞的凋亡减弱,细胞凋亡缺失的情况下,自噬对于生殖细胞的生理性死亡又有重要作用。Liu研究组^[20]发现了自噬标志性分子LC3的乙酰化和去乙酰化调控以及其在胞质和细胞核内的定位对于自噬过程的调控机制。Zhu研究组^[21~23]发现,细胞质中的FOXO1的修饰对于自噬发生的调控作用。Yu研究组^[24]和Lin研究组^[25]发现,自噬重要蛋白TIP60(ATG3)的乙酰化对于自噬的调控作用。目前对于细胞自噬的研究多集中于以酵母或者体外培养的哺乳动物细胞作为模式生物。然而通过此手段鉴定出的自噬重要基因无法对多细胞生物特有的细胞自噬过程和调控作出阐释。Zhang研究组^[26~29]利用线虫为模式生物,鉴定出一系列多细胞生物自噬特有的自噬新基因,并在多细胞生物模型中研究新基因的功能以及在单细胞生物中不存在的新的自噬行为。多细胞生物内具有不同的形态和胞内组成。在多系胞生物体系中研究细胞自噬,并将周边细胞的反应和信号和环境因素整合起来,该研究组的工作为研究细胞自噬在不同范式下的功能提供了重要基础。

另外,细胞内吞过程涉及一系列的蛋白复合物

组装和膜形变与不同细胞器,如内吞体、溶酶体、细胞膜之间的互动,也是国内研究膜性细胞器转运和互作的重点领域。Chen研究组^[30]研究了TGF- β 受体内吞与转运,并与Fang研究组^[31]合作用单分子成像方法观测膜上受体;Duan研究组^[32~34]发现,内吞在神经退行性疾病中的作用;Hong研究组^[35~37]揭示了内吞调控神经元兴奋性的机制;Xu研究组^[38]和Lin研究组^[39]发表研究了Glut4囊泡转运的机制;Diao研究组^[40]揭示了SNARE蛋白介导囊泡锚定的机制;Lin研究组^[41]发展了单分子示踪技术分析植物细胞内吞机制。Song研究组^[42]于2015年发现了小肠胆固醇吸收通过类似的内吞机制。溶酶体syt7蛋白特异性结合过氧化物酶体膜上的PI(4,5)P₂,从而介导了溶酶体和过氧化物酶体的接触,使得胆固醇可以从溶酶体向过氧化物酶体运输。此研究发现了胆固醇在胞内运输的重要途径,为胆固醇运输障碍导致的疾病的研究提供了重要的生理学理论基础。Chong研究组^[43]在研究植物细胞膜内吞介导的G蛋白信号过程种,发现水稻(*Oryza sativa*)中定位于细胞膜的低温感受器蛋白COLD1,在冷刺激下,细胞膜流动性以及COLD1蛋白结构发生变化,激活钙离子通道,触发下游耐寒防御反应,是对植物感知外界刺激反应的细胞膜蛋白精准调节很好的诠释。Song研究组和Chong研究组的研究均被评选为2015年中国生命科学领域十大进展(来源:中国科协生命科学学会联合体公布2015年度中国生命科学领域十大进展。doi: 10.16607/j.cnki.1674-6708.2016.03.001)。

3 膜性细胞器研究的新技术新方法

当前的膜性细胞器的研究关注于其生成、转运、循环、降解等各步骤的分子机制和动态过程,其进展更有赖于新技术新方法的发展和运用,特别是近几年发展迅速的超分辨光学成像技术、电子显微镜技术、光电关联显微技术等。

3.1 蛋白质标记技术

根据标签的不同,蛋白质标记主要分为荧光蛋白标记和化学小分子标记。荧光蛋白标记方法利用荧光蛋白作为标签,可以方便地监测目标蛋白在细胞中的定位和转运过程,Xu研究组^[44]研究荧光蛋白(m)Eos2,并在此基础上发展出mEos3.1和mEos3.2,单体性质更好,荧光更亮,效率更高,更适用于超分

辨显微镜成像。化学小分子标记是通过能与特定蛋白质或肽段能特异结合的小分子,实现对这些特定蛋白质或含有肽段的蛋白质的特异性标记技术,如SNAP^[45],CLIP-tag^[46]等。

具有特殊光化学性质的标签可以有不同的用途,例如,Killer Red荧光蛋白除了可用于定位研究外,还可利用光激活致失活技术(chromophore-assisted laser inactivation, CALI)失活目标蛋白^[47]。miniSOG标签可同时进行荧光定位和电子显微镜中目标蛋白的标记^[48],势必推动光学显微镜和电子显微镜结合技术的发展。

3.2 基因密码子扩展及非天然氨基酸技术

通过基因密码扩展技术在活体蛋白中引入非天然氨基酸,是实现蛋白质标记技术革命的重要契机^[49,50]。由于只用单个非天然氨基酸标记目标蛋白,对目标蛋白质的干扰最小,避免荧光蛋白由于体积大对目标蛋白造成的影响;更重要的是借助化学合成的荧光基团所具有的高吸收常数、高量子产率、可调的吸收及发射波长,有可能使超分辨荧光成像技术的定位精度达到1~10 nm。通过在目标蛋白的关键位点引入具有光活性的氨基酸,可以使研究者们利用光学手段实现对其功能的高时空精度调控;通过在目标蛋白的关键位点引入具有光交联活性的氨基酸,有利于研究蛋白质的动态相互作用。

3.3 蛋白质相互作用检测

蛋白质相互作用检测的方法很多,经典研究方法包括双杂交系统、噬菌体展示技术、免疫共沉淀技术以及化学交联技术等。近年来,一些基于物理方法的检测技术逐渐发展成熟,如荧光共振能量转移技术(fluorescence resonance energy transfer, FRET)、表面等离子共振和等温滴定量热技术、核磁共振技术等。特别是,FRET技术还可以用于在活细胞内监测细胞器动态变化过程,如用于检测膜融合过程的SNARE复合物的FRET探针等^[51,52]。

3.4 超高分辨率光学成像技术

近年来,随着成像方法和计算机算法的改进,超高分辨率显微镜的出现,弥补了电子显微镜和普通光学显微镜分辨率之间的空缺。这些技术包括了结构照明显微镜(structured illumination microscopy,

SIM), 基于单分子定位成像的超分辨率显微成像方法(photoactivated localization microscopy/stochastic optical reconstruction microscopy, PALM/STORM)和通过改变点扩散函数来提高成像分辨率的方法(stimulated emission depletion, STED). 超高分辨率显微镜的优势在于样品制备与普通荧光显微镜相兼容, 获得的图像与普通荧光显微镜具有可比性. 然而其缺点在于由于其原理在于用时间分辨率换取空间分辨率, 导致成像时间长、光毒性大、荧光分子的光漂白现象严重, 或者仅能应用于固定的细胞上, 因此无法满足对于活细胞动态实时超高分辨率的成像的需求. 最近, 霍华德·休斯医学研究所(The Howard Hughes Medical Institute, HHMI)的Betzig研究组^[53]发展了新型的结构光激活非线性SIM技术, 克服了SIM原本的缺点, 提高了时间和空间分辨率, 获得了活细胞中动态超分辨成像. 利用光可调控荧光分子在发光状态转换过程中对照明光的非线性响应特性. 首先用结构光激活(patterned activation)荧光分子, 其次用另外一个周期及相位完全一致的结构光激发(patterned excitation)已经被激活的荧光分子, 从而使其辐射荧光光子, 并转换到非激活状态. 运用两束重叠的结构光照明的方式使得分辨率可以提高到45~60 nm, 同时保持1 s以下的成像速度, 在荧光分子被漂白前连续采集20~40幅超分辨率图像. 或者运用高数值孔径的物镜, 并结合光全内反射效应, 对绿色和红色荧光蛋白分别达到85和95 nm的分辨率. 这种方法仅需要9幅原始图像重建一幅高分辨率图像, 从而可以达到50 Hz的成像速率, 并且可以连续采集几百幅高分辨率图像; 另外一个独特的优点是, 它可以运用于任何的荧光标记分子, 而不仅局限于光可调控的荧光分子, 从而适用于更广泛的生物样品. 这些方法可以在过去没有到达的分辨率条件下连续地观测很多生物过程, 如clathrin和caveolin介导的胞吞过程, Rab5a修饰的内吞体, 以及它们与细胞骨架的相互作用; 线粒体分裂过程的三维超分辨率图像等.

3.5 光电联用成像技术

电子显微镜成像只能显示被观测细胞的所有结构, 很难特异性标记某种结构或者蛋白, 在阐述分子机制上用途有限. 光电联用技术可以对同一个样品进行光学成像和电子成像, 直接观察到荧光标记的特定蛋白的定位以及其与亚细胞结构的关系, 甚至对于相

关蛋白质进行原位蛋白质结构的解析, 大大提高了信息量和准确度. Xu研究组^[44,54]结合光谱学、生物物理以及电子显微镜等有关技术, 发展新的超高分辨显微成像技术和光学显微镜电子显微镜相关显微成像技术, 具有国际领先水平.

4 膜性细胞器今后的研究方向和科学问题

4.1 膜性细胞器的形成、维持和调控方面

膜性细胞器及其亚结构的动态变化(运动、分裂和融合及质量控制), 揭示一系列动态膜融合的精细调控过程以及再生过程. 例如, 细胞内吞过程中, 早、晚期内含体的融合、转换以及循环的作用机制; 线粒体等细胞器的融合和分裂, 与细胞不同生长条件的关系和受不同信号刺激的调控; 自吞噬膜同溶酶体膜的融合、自吞噬体膜结构的解聚、自吞噬性溶酶体再生. 溶酶体形态及动态变化在重要细胞学过程, 如细胞自噬、病原菌及病毒侵染中的作用.

4.2 参与内膜系统的形成、转运、重构、融合及其他与膜相关的生物学功能方面发挥重要作用的新因子及其机制

鉴定参与内膜系统的形成、转运、重构、融合及其他与膜相关的生物学功能方面发挥重要作用的新因子, 并阐明其作用的分子机制; 发现膜性细胞器新功能: 越来越多的信号分子被发现在一些膜性细胞器(溶酶体、线粒体、高尔基体)上, 但对这类定位的意义还不十分清楚, 暗示着这些膜性细胞器有特异的信号调控作用; 发现新的膜性细胞器.

4.3 膜性细胞器之间的物质、能量和信息交换互作

膜性细胞器之间的物质、能量和信息交换互作是目前研究的热点, 内膜系统内物质、能量的交换可能是发现膜性细胞器新功能, 发现新的信号通路或新的代谢途径等的重要突破点.

4.4 膜性细胞器研究的新技术新方法

功能和机制的阐明离不开技术创新, 单分子、超分辨成像技术的改进促进了活细胞内细胞器动态变化和分子机制的阐明. 先前该领域的研究主要集中在酵母和转化的细胞系中, 新技术的发展推动了在多细胞生物发育过程中研究细胞内膜系统是

如何整合发育信号和外界条件来维持细胞和机体的动态平衡.

4.5 膜性细胞器的重构

对膜性细胞器的半体外或者完全体外重构,得到具有生物学功能的膜性细胞器,标志着人们对于膜性细胞器形态的生成和维持的分子机制,功能调控的分子机器等具备了足够清晰的了解.同时体外重构的细胞器系统为细胞器的进一步功能研究提供可精确

体外调控和操作、高分辨率、干扰最小的研究平台.

4.6 膜性细胞器及其亚结构在细胞分泌、代谢、分裂、分化、死亡等过程中的功能及其机制

膜性细胞器及其亚结构在细胞分泌、代谢、分裂、分化、死亡等过程中的功能和其功能紊乱与重大疾病的发生机制,同时系统研究不同生理及病理条件下膜性细胞器的形成及功能,鉴定参与调控此类过程的关键因子并阐明其作用的分子机制是重要的研究方向.

参考文献

- Pang X, Fan J, Zhang Y, et al. A PH domain in ACAP1 possesses key features of the BAR domain in promoting membrane curvature. *Dev Cell*, 2014, 31: 73–86
- Shibata Y, Voeltz G K, Rapoport T A. Rough sheets and smooth tubules. *Cell*, 2006, 126: 435–439
- Hu J, Shibata Y, Voss C, et al. Membrane proteins of the endoplasmic reticulum induce high-curvature tubules. *Science*, 2008, 319: 1247–1250
- Hu J, Shibata Y, Zhu P P, et al. A class of dynamin-like GTPases involved in the generation of the tubular ER network. *Cell*, 2009, 138: 549–561
- Shibata Y, Hu J, Kozlov M M, et al. Mechanisms shaping the membranes of cellular organelles. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 2009, 25: 329–354
- Hu J, Prinz W A, Rapoport T A. Weaving the web of ER tubules. *Cell*, 2011, 147: 1226–1231
- Wang C, Du W, Su Q P, et al. Dynamic tubulation of mitochondria drives mitochondrial network formation. *Cell Res*, 2015, 25: 1108–1120
- Yu L, McPhee C K, Zheng L, et al. Termination of autophagy and reformation of lysosomes regulated by mtor. *Nature*, 2010, 465: 942–946
- Du W, Su Q P, Chen Y, et al. Kinesin 1 drives autolysosome tubulation. *Dev cell*, 2016, 37: 326–336
- Rong Y, Liu M, Ma L, et al. Clathrin and phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate regulate autophagic lysosome reformation. *Nat Cell Biol*, 2012, 14: 924–934
- Rong Y, McPhee C K, Deng S, et al. Spinster is required for autophagic lysosome reformation and mtor reactivation following starvation. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108: 7826–7831
- Mi N, Chen Y, Wang S, et al. Capz regulates autophagosomal membrane shaping by promoting actin assembly inside the isolation membrane. *Nat Cell Biol*, 2015, 17: 1112–1123
- Wu Y, Cheng S, Zhao H, et al. Pi3p phosphatase activity is required for autophagosome maturation and autolysosome formation. *EMBO Rep*, 2014, 15: 973–981
- Ma L, Li Y, Peng J, et al. Discovery of the migrasome, an organelle mediating release of cytoplasmic contents during cell migration. *Cell Res*, 2015, 25: 24–38
- Hu Y, Wan J M, Yu A C. Cytomechanical perturbations during low-intensity ultrasound pulsing. *Ultrasound Med Biol*, 2014, 40: 1587–1598
- Liu L, Feng D, Chen G, et al. Mitochondrial outer-membrane protein FUNDC1 mediates hypoxia-induced mitophagy in mammalian cells. *Nat Cell Biol*, 2012, 14: 177–185
- Chen M, Chen Z, Wang Y, et al. Mitophagy receptor FUNDC1 regulates mitochondrial dynamics and mitophagy. *Autophagy*, 2016, 12: 689–702
- Feng D, Liu L, Zhu Y, et al. Molecular signaling toward mitophagy and its physiological significance. *Exp Cell Res*, 2013, 319: 1697–1705
- Wang H, Lu Q, Cheng S, et al. Autophagy activity contributes to programmed cell death in *Caenorhabditis elegans*. *Autophagy*, 2013, 9: 1975–1982
- Huang R, Xu Y, Wan W, et al. Deacetylation of nuclear LC3 drives autophagy initiation under starvation. *Mol Cell*, 2015, 57: 456–466
- Zhao Y, Yang J, Liao W, et al. Cytosolic FOXO1 is essential for the induction of autophagy and tumour suppressor activity. *Nat Cell Biol*, 2010, 12: 665–675
- Zhou J, Liao W, Yang J, et al. FOXO3 induces FOXO1-dependent autophagy by activating the AKT1 signaling pathway. *Autophagy*, 2012, 8: 1712–1723
- Zhao Y, Li X, Ma K, et al. The axis of MAPK1/3-XBP1u-FOXO1 controls autophagic dynamics in cancer cells. *Autophagy*, 2013, 9: 794–796
- Yi C, Ma M, Ran L, et al. Function and molecular mechanism of acetylation in autophagy regulation. *Science*, 2012, 336: 474–477

- 25 Lin S Y, Li T Y, Liu Q, et al. GSK3-TIP60-ULK1 signaling pathway links growth factor deprivation to autophagy. *Science*, 2012, 336: 477–481
- 26 Tian Y, Li Z, Hu W, et al. *C. elegans* screen identifies autophagy genes specific to multicellular organisms. *Cell*, 2010, 141: 1042–1055
- 27 Zhao H, Zhao Y G, Wang X, et al. Mice deficient in EPG5 exhibit selective neuronal vulnerability to degeneration. *J Cell Biol*, 2013, 200: 731–741
- 28 Lin L, Yang P, Huang X, et al. The scaffold protein EPG-7 links cargo-receptor complexes with the autophagic assembly machinery. *J Cell Biol*, 2013, 201: 113–129
- 29 Guo B, Liang Q, Li L, et al. O-GlcNAc-modification of SNAP-29 regulates autophagosome maturation. *Nat Cell Biol*, 2014, 16: 1215–1226
- 30 Zhang W, Jiang Y, Wang Q, et al. Single-molecule imaging reveals transforming growth factor-beta-induced type II receptor dimerization. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106: 15679–15683
- 31 Zhang S, Fei T, Zhang L, et al. Smad7 antagonizes transforming growth factor beta signaling in the nucleus by interfering with functional Smad-DNA complex formation. *Mol Cell Biol*, 2007, 27: 4488–4499
- 32 Li H Q, Chen C, Dou Y, et al. P2Y4 receptor-mediated pinocytosis contributes to amyloid beta-induced self-uptake by microglia. *Mol Cell Biol*, 2013, 33: 4282–4293
- 33 Zhu B, Xu D, Deng X, et al. CXCL12 enhances human neural progenitor cell survival through a CXCR7- and CXCR4-mediated endocytotic signaling pathway. *Stem Cells*, 2012, 30: 2571–2583
- 34 Song A H, Wang D, Chen G, et al. A selective filter for cytoplasmic transport at the axon initial segment. *Cell*, 2009, 136: 1148–1160
- 35 Wang X, Zhao Y, Zhang X, et al. Loss of sorting nexin 27 contributes to excitatory synaptic dysfunction by modulating glutamate receptor recycling in down's syndrome. *Nat Med*, 2013, 19: 473–480
- 36 Loo L S, Tang N, Al-Haddawi M, et al. A role for sorting nexin 27 in AMPA receptor trafficking. *Nat Commun*, 2014, 5: 3176
- 37 Hussain N K, Diering G H, Sole J, et al. Sorting nexin 27 regulates basal and activity-dependent trafficking of ampars. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2014, 111: 11840–11845
- 38 Bai L, Wang Y, Fan J, et al. Dissecting multiple steps of GLUT4 trafficking and identifying the sites of insulin action. *Cell Metab*, 2007, 5: 47–57
- 39 Guo H L, Zhang C, Liu Q, et al. The Axin/TNKS complex interacts with KIF3A and is required for insulin-stimulated GLUT4 translocation. *Cell Res*, 2012, 22: 1246–1257
- 40 Diao J, Su Z, Ishitsuka Y, et al. A single-vesicle content mixing assay for snare-mediated membrane fusion. *Nat Commun*, 2010, 1: 54
- 41 Li X, Wang X, Yang Y, et al. Single-molecule analysis of PIP2;1 dynamics and partitioning reveals multiple modes of *Arabidopsis* plasma membrane aquaporin regulation. *Plant cell*, 2011, 23: 3780–3797
- 42 Chu B B, Liao Y C, Qi W, et al. Cholesterol transport through lysosome-peroxisome membrane contacts. *Cell*, 2015, 161: 291–306
- 43 Ma Y, Dai X, Xu Y, et al. Cold1 confers chilling tolerance in rice. *Cell*, 2015, 160: 1209–1221
- 44 Zhang M, Chang H, Zhang Y, et al. Rational design of true monomeric and bright photoactivatable fluorescent proteins. *Nat Methods*, 2012, 9: 727–729
- 45 Keppler A, Gendreizig S, Gronemeyer T, et al. A general method for the covalent labeling of fusion proteins with small molecules *in vivo*. *Nat Biotechnol*, 2003, 21: 86–89
- 46 Gautier A, Juillerat A, Heinis C, et al. An engineered protein tag for multiprotein labeling in living cells. *Chem Biol*, 2008, 15: 128–136
- 47 Bulina M E, Chudakov D M, Britanova O V, et al. A genetically encoded photosensitizer. *Nat Biotechnol*, 2006, 24: 95–99
- 48 Shu X, Lev-Ram V, Deerinck T J, et al. A genetically encoded tag for correlated light and electron microscopy of intact cells, tissues, and organisms. *PLoS Biol*, 2011, 9: e1001041
- 49 Chin J W. Expanding and reprogramming the genetic code of cells and animals. *Annu Rev Biochem*, 2014, 83: 379–408
- 50 Davis L, Chin J W. Designer proteins: Applications of genetic code expansion in cell biology. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2012, 13: 168–182
- 51 Degtyar V, Hafez I M, Bray C, et al. Dance of the SNAREs: Assembly and rearrangements detected with FRET at neuronal synapses. *J Neurosci*, 2013, 33: 5507–5523
- 52 van den Bogaart G, Holt M G, Bunt G, et al. One SNARE complex is sufficient for membrane fusion. *Nat Struct Mol Biol*, 2010, 17: 358–364
- 53 Li D, Shao L, Chen B C, et al. Advanced imaging. Extended-resolution structured illumination imaging of endocytic and cytoskeletal dynamics. *Science*, 2015, 349: aab3500
- 54 Chang H, Zhang M, Ji W, et al. A unique series of reversibly switchable fluorescent proteins with beneficial properties for various applications. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, 109: 4455–4460

Summary for “膜性细胞器及其亚结构的动态调控机制国内研究进展”

Research progress of membranous organelles and their subcellular structures in China

CHEN Yang & YU Li*

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

* Corresponding author, E-mail: liyulab@mail.tsinghua.edu.cn

Most of the complicated processes in living cells are conducted by or related to specialized membranous organelles, which are highly dynamic. Different organelles frequently exchange contents and are connected to form a functional network which carries out critical biological processes. Organelle dysfunction may cause cell death or human diseases. Thus, understanding organelle formation and the structural characteristics and functions of specialized organelles is the basis of interpreting cellular biological processes, and will facilitate the development of disease therapies. The mechanisms underlying the formation and function of membranous organelle are hot spots in life science research. Previous studies have been based on observations of static organelles. However, a proper understanding of dynamic organelle functions requires analysis of live cells. New techniques including electron microscopy, correlative light and electron microscopy, live-cell imaging and super-resolution microscopy have been introduced to study membranous organelles. Chinese scientists have made great breakthroughs in this field and their findings have been published in high-level journals including *Cell*, *Nature*, *Science*, *Neuron*, *Cell Metabolism*, *Nature Cell Biology*, *Nature Neuroscience*, *Journal of Cell Biology*, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *Autophagy*, etc. In this review, we will summarize the progress made by Chinese scientists in understanding the dynamic regulation of cellular organelles. With respect to organelle shaping, we will summarize the mechanisms involved in determining the tubuloreticular structure of the endoplasmic reticulum, mitochondrial dynamic tubulation, autophagosome formation, autophagic lysosome reformation, lysosome tubulation, and biogenesis of the migrasome, a newly discovered organelle. With respect to organelle interactions, we will focus on those that occur in the autophagy process, for example the interactions of autophagosomes with autolysosomes, and the interactions of autophagosomes with endosomes, mitochondria, endoplasmic reticulum and lipid droplets in selective autophagy processes. We also discuss the mutual interactions between endosomes, lysosomes and the plasma membrane. These new discoveries are supported by new technologies. We will mainly review the imaging techniques developed in China, including protein labeling, genetic code expansion, and super-resolution microscopy, especially extended-resolution structured illumination imaging and correlative light and electron microscopy. Last but not least, we will highlight future opportunities and challenges, novel research directions and possible breakthroughs in membranous organelle research. These include identifying new molecules associated with intracellular membranous organelles, exploring new functions of known organelles, uncovering the mechanisms governing exchange of contents between organelles, reconstituting membranous organelles *in vitro*, dissecting the physiological roles of membranous organelles, and examining organelle formation and function in different pathological conditions.

membranous organelle, formation, regulation, transportation, interaction, new technology

doi: 10.1360/N972016-01068