



细胞内的运输系统: 2013 年诺贝尔生理学或医学奖解析

刘贝^①, 宋姘莉^②, 徐涛^{①②*}

① 华中科技大学生命科学与技术学院, 分子生物物理教育部重点实验室, 武汉 430074;

② 中国科学院生物物理研究所, 生物大分子国家重点实验室, 北京 100101

* 联系人, E-mail: xutao@ibp.ac.cn

2013 年 10 月 7 日, 瑞典皇家科学院将 2013 年度的诺贝尔生理学或医学奖颁发给阐明了“细胞内囊泡运输的调节机制”的 3 位科学家: James E. Rothman, Randy W. Schekman 和 Thomas C. Südhof, 以奖励他们在该领域做出的杰出贡献。

在漫长的生命进化中, 生命体从简单的原核生物进化到拥有复杂内膜系统的真核生物, 用了 21.6 亿年, 可见内膜系统及其之间的转换和交流对于真核生物生命的维持和调控起着至关重要的作用。长期以来, 科学家对细胞内的各个细胞器如何既能维持其各自独立性, 又能有条不紊地进行相互通信以保证细胞内复杂功能的实现而不断地进行研究和发现。历史上, “囊泡转运”及其相关研究已获得了 4 次诺贝尔生理学或医学奖, 分别是 1970 年、1974 年、1999 年和 2013 年。早在 1970 年, Bernard Katz, Ulf von Euler 和 Julius Axelrod 三人由于发现了神经末梢中的体液性传递物质及其贮存、释放和抑制机理获得生理学或医学奖。1974 年, Albert Claude, Christian de Duve 和 George E. Palade 三人因为揭示了细胞的内膜结构和功能组织获得了诺贝尔生理学或医学奖。1999 年, Günter Blobel 被授予诺贝尔生理学或医学奖, 以表彰他发现了蛋白质存在内在信号来控制其在细胞内的传递和定位。2013 年的生理学或医学奖则是授予了发现细胞内的物流系统“囊泡转运”的 3 位科学家 James E. Rothman, Randy W. Schekman 和 Thomas C. Südhof。

生物膜构成了细胞以及各细胞器之间的屏障, 从而使一些重要的生命活动能在一个个相对独立的区间内进行。这些独立区间的出现体现了生物进化的选择, 但同时也形成了细胞内各细胞器之间, 细胞与细胞之间的信号、物质和能量交换的需求。细胞内外物质交换主要是通过膜包裹的囊泡转运系统完成的。细胞内的大分子物质和一部分小分子物质往往包裹在囊膜内或位于囊膜上(如受体、离子通道等), 借助囊泡的运输及与细胞膜的融合实现胞内或跨膜转运。囊泡的转运系统相当于细胞内的物流系统, 具有重要的生理意义。例如: 突触小泡在钙离子的刺激下释放神经递质传递神经信息; 致密性大囊泡储存内分泌激素, 并通过将激素释放到血液循环中实现体内的激素调控; 免疫细胞内的免疫因子、细胞因子等也是储存在大囊泡中, 在免疫应答与防卫中起重要作用; 细胞膜上的重要功能蛋

白, 如受体、离子通道、转运体等也是通过囊泡胞吐或胞吞实现上膜或下膜, 对于细胞信号转导的调节具有重要意义。近年来发现, 神经元的生长也需要一类囊泡的参与, 该囊泡与细胞膜的不断融合为神经突起的生长提供脂膜的支撑, 此外病毒侵入细胞实际上也是一个膜转运和膜融合的生物学过程。由此可见, 细胞内囊泡转运和融合是一个受精细调控的生物学过程, 而且也是一个具有重要生理意义的基本生命活动。

James E. Rothman, Randy W. Schekman 和 Thomas C. Südhof 三人的主要贡献在于通过不同的技术手段(体内遗传学筛选或体外重组), 在不同细胞体系中(酵母细胞或哺乳动物细胞)发现了囊泡转运的关键调控蛋白及调控机制^[1-6]。

Rothman 课题组主要以哺乳动物细胞为模式生物。Rothman 最重要的工作在于发现了在囊泡锚定和融合过程中起决定性作用的蛋白质复合物——SNARE 复合体, 并通过体外生化重组的方法揭示了囊泡融合过程中的特异性。他们首先在细胞质中纯化出可溶性蛋白 NSF, 随后发现 NSF 能够识别 NSF 附着蛋白 SNAP, 它们对囊泡与细胞膜的融合起着重要的调节作用。有趣的是, 哺乳动物细胞中的 NSF 蛋白正是 Schekman 在酵母筛选中获得的 SEC18 的同源蛋白, 而 SNAP 在酵母中的同源蛋白正是 SEC17。进一步, Rothman 通过体外重组的方法证明了囊泡与细胞膜的融合过程是高度特异的, 需要 SNARE 复合体的特异性识别并实现融合。他提出囊泡膜融合的过程需要细胞膜上的 t-SNARE 蛋白与囊泡上的 v-SNARE 蛋白识别并相互作用, 这也揭示了囊泡融合所需要的最小结构单元。

Schekman 课题组以酵母为模式生物, 通过遗传学筛选发现了一系列参与细胞内囊泡转运的的调控基因——SEC 家族基因。这些调控基因可以被分为 3 大类, 分别控制细胞内囊泡转运系统的不同环节, 包括囊泡在高尔基体上的转运、囊泡在内质网和高尔基体之间的转运以及囊泡到细胞膜上的转运。Schekman 后续的研究又进一步阐明了 7 个参与囊泡在内质网和高尔基体之间转运时形成和融合的 Sec 基因, 例如 *Sec17* 和 *Sec18* 就在囊泡融合过程中扮演重要角色。

Südhof 实验室发现了触发突触囊泡融合的钙感受器

(synaptotagmin), 并揭示了钙离子如何调节神经元中神经递质的释放. Synaptotagmin 作为一个感受钙离子的蛋白, 能够快速准确地响应钙信号并触发囊泡与细胞膜的融合过程, 实现神经递质的释放并完成神经信息的传递. 除了突触结合蛋白之外, Südhof 还发现了一系列与 SNARE 相互作用的蛋白, 包括与 Schekman 发现的 SEC 蛋白相互作用的 MUNC18 和 MUNC13 蛋白等. MUNC18 和 MUNC13 都是囊泡融合所必需的蛋白, 它们与 SNARE 蛋白复合体相互作用形成一个更大的分子机器, 其可能的作用是帮助 SNARE 复合体的形成, 但具体的作用机制仍然不明, 仍是该领域需要解决的重要科学问题.

James E. Rothman, Randy W. Schekman 和 Thomas C. Südhof 的发现揭示了真核细胞中普遍存在的生命活动: 细胞内的物质如何进行精细的运输从而行使功能. 他们的获奖对推动囊泡转运领域的研究具有重要的意义. 2005 年 *Science* 杂志总结了未来 25 年需要回答的 125 个重要科学问题, 其中的一个问题是“维持细胞内运输畅通的机制是什么”(What keeps intracellular traffic running smoothly?). 对该问题的进一步解释是: “Membranes inside cells transport key nutrients around, and through various cell compartments without sticking to each other or losing their way. Insights into how membranes stay on track could help conquer diseases”. 这段话说明两层意思: 一层意思是细胞内物质运输主要是靠生物膜来完成的, 而生物膜产生形变、形成运输囊泡、在拥挤的胞内环境和各个细胞器之间穿梭而又不会迷路都依赖于多个蛋白质机器的保障, 然而目前还有很多这类的蛋白质机器仍是未知的, 这些蛋白质机器如何工

作更需要人们去揭示; 另一层意思是膜转运与多种疾病相关, 揭秘这些蛋白质机器的构成和分子机制对人类征服疾病具有重要意义. 2013 年诺贝尔生理学或医学奖颁发给囊泡转运领域并不意味着人们对细胞内复杂的物质转运系统已经非常了解了, 相反正是对这一研究方向的重要性的肯定, 同时也将开启新一轮对细胞内的运输机制探索的征程. 前期的研究已经搭建了囊泡转运研究的初期框架, 随着新的成像技术和遗传操作技术的发展, 囊泡转运过程中很多尚未被揭示的问题将会被进一步阐明, 必将对相关疾病的研究和治疗提供新的理论依据和治疗方向.

另外值得一提的是, 任何一个科学问题都会经历提出假设、实验论证的过程, 而后续的实验很有可能会对前期的假设甚至结论产生挑战. 比如前面提到的 SNARE 复合体介导的囊泡上膜过程, 虽然 Rothman 很早就提出了 t-SNARE 和 v-SNARE 相互作用的模型, 但是他最初认为 SNARE 蛋白的相互作用是反式(*trans*-)的而且依赖 ATP, 但是随后的很多研究表明 SNARE 复合体是顺式(*cis*-)结构, 而且最后的囊泡与膜融合过程是不需要 ATP 参与的^[7,8]. 随后越来越多的实验数据也从各个方面不断地补充和修正着 SNARE 作用模型, 才形成了如今比较完善的囊泡融合分子机制^[9]. 这对青年科学家的启示在于: (1) 任何领域的科学研究更需要的是尊重事实而不是迷信权威, 科学技术是在不断进步的, 后人只有勇于挑战权威, 大胆假设, 小心论证, 才能不断推动人类社会的进步; (2) 科学问题一旦选准后, 应该长期坚持、锲而不舍, 直到该问题得到完美的解答, 得到大家的认可. 三位诺贝尔奖得主针对同一个科学问题工作了将近 30 年, 直到今天仍在继续.

推荐阅读文献

- 1 Kaiser C A, Schekman R. Distinct sets of SEC genes govern transport vesicle formation and fusion early in the secretory pathway. *Cell*, 1990, 61: 723–733
- 2 Perin M S, Fried V A, Mignery G A, et al. Phospholipid binding by a synaptic vesicle protein homologous to the regulatory region of protein kinase C. *Nature*, 1990, 345: 260–263
- 3 Söllner T, Whiteheart S W, Brunner M, et al. SNAP receptors implicated in vesicle targeting and fusion. *Nature*, 1993, 362: 318–324
- 4 Novick P, Schekman R. Secretion and cell-surface growth are blocked in a temperature-sensitive mutant of *Saccharomyces cerevisiae*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1979, 76: 1858–1862
- 5 Balch W E, Dunphy W G, Braell W A, et al. Reconstitution of the transport of protein between successive compartments of the Golgi measured by the coupled incorporation of *N*-acetylglucosamine. *Cell*, 1984, 39: 405–416
- 6 Hata Y, Slaughter A, Südhof T C. Synaptic vesicle fusion complex contains unc-18 homologue bound to syntaxin. *Nature*, 1993, 366: 25
- 7 Xu T, Binz T, Niemann H, et al. Multiple kinetic components of exocytosis distinguished by neurotoxin sensitivity. *Nat Neurosci*, 1998, 1: 192–200
- 8 Sutton R B, Fasshauer D, Jahn R, et al. Crystal structure of a SNARE complex involved in synaptic exocytosis at 2.4 Å resolution. *Nature*, 1998, 395: 347–353
- 9 Xu T, Rammner B, Margittai M, et al. Inhibition of SNARE complex assembly differentially affects kinetic components of exocytosis. *Cell*, 1999, 99: 713–722