

内质网出口输出分泌蛋白的机制与神经退行性疾病

杨璇,王玉波,赵海军,徐向纯,崔贺斌,宋彬彬,于佳

摘要 内质网是蛋白分泌通路上的第一个场所,对细胞内蛋白质平衡和细胞功能的维持有着重要意义。细胞内蛋白质失衡可导致多种神经退行性疾病的发生,如阿尔茨海默病、帕金森病和亨廷顿病。蛋白质在合成后被整合进入内质网腔,经过修饰和折叠,在内质网膜上装配、出芽的COPII有被小泡包裹离开内质网被运送至高尔基体。内质网上COPII有被小泡形成的部位被称为内质网出口。本文将对内质网出口的结构、形成、功能的调节以及其与神经退行性疾病相关蛋白的关系进行综述。

关键词 神经退行性病;内质网出口;COPII有被小泡;蛋白分泌;Sec16

中图分类号 R741;R741.02;R742 **文献标识码** A **DOI** 10.16780/j.cnki.sjssgncj.2019.06.010

杨璇,王玉波,赵海军,等.内质网出口输出分泌蛋白的机制与神经退行性疾病[J].神经损伤与功能重建,2019,14(6):303-306.

内质网是胞质内由膜组成的一系列片状或管状的囊腔,彼此相通形成一个隔离于细胞基质的管道系统。蛋白质合成后进入内质网腔,经过修饰和折叠,由在内质网膜上装配的COPII有被小泡包裹离开内质网,随后被运送至高尔基体。内质网上COPII有被小泡形成的部位被称为内质网出口(endoplasmic reticulum exit sites,ERES)。细胞内蛋白质失衡可导致多种神经退行性疾病的发生,如阿尔茨海默病、帕金森病和亨廷顿病。因此作为蛋白分泌的第一步,理解ERES的结构、形成以及功能的调节对于深入研究多种神经退行性疾病的发病机制有着重要的意义。

1 ERES的结构

ERES属于粗面内质网,但并无核糖体附着。目前认为ERES不仅包括内质网膜部分,还包括未与内质网高尔基体中间体融合的COPII包被的小管泡膜结构。在光镜下,可观察到ERES位于内质网的边缘,典型特征是有COPII包被的小泡出芽^[1]。ERES并非均一地分布于内质网表面,在酿酒酵母菌中观察发现ERES呈聚集的点状结构分布于内质网上,进一步发现ERES主要分布在高曲率的内质网膜上^[2]。所有真核生物的细胞中均有ERES,但在不同种属细胞间的数量存在差异。酵母菌细胞通常只有数个ERES,而在哺乳动物细胞中一般会有数百个ERES,这些ERES遍布于细胞质并且在胞核周围分布较多。在神经元中,ERES还分布在树突中^[3]。ERES结构相对稳定,直径大约0.5 μm,如果2个ERES发生碰撞,会融合形成一个较大的结构,但这一结构会发生收缩最终变为直径约为0.5 μm,利用延时成像技术观察发现ERES几乎不发生移动^[4]。

2 ERES输出分泌蛋白的分子机制

内质网输出蛋白至高尔基体是由COPII有被小

泡介导的。COPII也称外被蛋白II,是由多个蛋白组装形成的复合物,构成COPII的蛋白有Sec23/Sec24、Sec13/Sec31。COPII的组装需要小G蛋白Sar1参与。在内质网上存在鸟嘌呤交换因子Sec12,Sec12是II型跨膜蛋白,在哺乳动物细胞中,Sec12集中分布在ERES。Sec12通过其WD40结构域和Sar1相互作用,将Sar1锚定于ERES,促使Sar1和GTP结合使其激活,暴露其两亲性螺旋,促使Sar1插入到内质网膜中,导致内质网膜变形,以便于随后膜发生裂变。GTP-Sar1通过和Sec23之间的直接相互作用将Sec23/Sec24异源二聚体募集到ERES,形成COPII有被小泡的内层结构。Sec23是Sar1的GTP酶活化蛋白(GTPase-activating protein, GAP),而Sec24则可和货物蛋白或货物蛋白受体相结合,将货物蛋白包裹进入囊泡。随后,Sec13/Sec31异源二聚体也被募集到ERES形成COPII有被小泡的外层结构,至此COPII有被小泡完成组装。Sec13/Sec31可大大提高Sec23对Sar1的激活作用,促使COPII有被小泡从ERES释放^[1]。

3 Sec16在ERES输出分泌蛋白中的重要作用

体外实验已证实将纯化的Sec23/Sec24、Sec13/Sec31和GTP结合状态的Sar1加入到脂质小体中就足以形成有被小泡。但是,在体外COPII有被小泡的组装所需Sec23/Sec24、Sec13/Sec31和Sar1的浓度较高,提示还有其他存在于内质网中的因子促进COPII有被小泡的组装。Sec16就是一个在ERES的形成和维持以及COPII有被小泡组装中起到至关重要作用的蛋白^[5]。

3.1 Sec16的表达和结构

Sec16是在温度敏感的酿酒酵母中首次被鉴定出,Sec16几乎在所有真核生物中均有表达。在细胞内,Sec16仅表达于ERES,因此可作为ERES的特异性标记物。Watson等^[6]通过细胞组分提取实验证

作者单位

北京中医药大学附属北京老年医院老年病临床与康复研究所

北京 100095

基金项目

北京市自然科学基金资助项目(No.7184221);

国家自然科学基金资助项目

(No.81601117);

北京市百千万人才工程资助项目(No.2017A14);

北京市科技新星计划资助项目(No.Z181100006218045);

北京市医院管理局临床医学发展专项(“扬帆计划”,No.ZYLYX201833);

北京市卫生系统高层次卫生技术人才资助项目(No.2015-3-117);

北京老年医院院内课题(No.2016bjllyy-青-5、No.2017bjllyy-青-2)

收稿日期

2018-11-25

通讯作者

王玉波

wangyubo5223@

163.com

于佳

jyu319@163.com

实内源性 Sec16 可利用高盐或碱性溶液提取,而不需要 Triton-X-100,提示 Sec16 并非分布于内质网膜中,而是和内质网膜紧密相连。

Sec16 的分子量约为 240 KD,在不同种属间存在差异。哺乳动物有 2 个编码同源 SEC16 蛋白的基因,分别编码 SEC16A 和 SEC16B。SEC16A 是分子量为 231 KD 的大分子蛋白,其结构和功能与其他生物中的 Sec16 相似,而 SEC16B 的分子量仅为 117 KD^[5]。

Sec16 主要由 3 个结构域组成,从氨基(N)端到羧基(C)端依次为 ERES 定位结构域(ERES localization domain,ELD)、中间保守结构域(central conserved domain,CCD)和羧基端保守结构域(C-terminal conserved domain,CTCD)。ELD 通常由 300 个氨基酸残基组成,对于 Sec16 定位于 ERES 至关重要。Ivan 等^[7]进一步明确了果蝇 Sec16 定位于 ERES 主要是依赖 ELD 中富含精氨酸的 860-925 位氨基酸残基。但是,仅有 ELD 并不能有效的将 Sec16 定位于 ERES,Sec16 的定位还需要 CCD。CCD 通常由 400~500 个氨基酸残基组成,在不同物种间高度保守。Yorimitsu 等^[8]发现在酵母中 Sec16 可通过位于其 CCD 形成同源二聚体。Bharucha 等^[9]将酵母 ELD 分别和 CCD 或 FK506 结合蛋白(FKBP)相融合,FKBP 只能以单体形式存在而不能形成二聚体。结果发现 ELD-CCD 可正常定位于 ERES,仅表达 ELD 也可定位于 ERES,但其效率要明显低于 ELD-CCD,而 ELD-FKBP 却在胞浆中弥散分布,不能定位于 ERES,提示在酵母中 Sec16 CCD 所介导的 Sec16 的同源二聚化对其定位于 ERES 是必须的。但在其他生物如果蝇、人,Sec16 定位于 ERES 不需其发生二聚化,提示在果蝇和哺乳动物中存在其他机制^[7,10]。Maeda 等^[5]发现 Hela 细胞中位于 ERES 的 TANGO1 可与 Sec16 CCD 相互作用,从而协助 Sec16 定位于 ERES^[11]。CTCD 是指位于 C 端的 158-226 个氨基酸,哺乳动物的 SEC16B 无此结构域。

3.2 Sec16 参与 ERES 的形成和维持

多项研究表明,在不同的种属中,Sec16 对于 ERES 的组装和形态的维持起到关键作用。Ivan 等^[7]敲减了果蝇 S2 细胞中 Sec16,结果发现细胞中大部分 Sec23 呈弥散的小荧光点样分布;而在电镜下也无法观察到 ERES 及 COPII 有被小泡。Sealey-Cardona 等^[12]也发现敲减布氏锥虫中 Sec16 导致 Sec24 标记的 ERES 长度明显缩短。Bhattacharyya 等^[13]观察到在 Hela 细胞中敲减 Sec16A 或 Sec16B 导致几乎所有细胞内 ERES 消失。尽管如此,Budnik 等^[14]发现 Sec16B 并不能代偿 Sec16A 在 ERES 的形成中起到的作用,因而 Sec16B 可能有一些特异性的功能,但是目前仍未能明确。

Connerly 等^[15]发现温度敏感性的 Sec16 P1092L 突变导致酵母菌中 Sec12 的分布呈弥散装,表明 Sec16 P1092L 突变破坏了 ERES 的组装。进一步研究发现,Sec16 P1092L 突变导致 ERES 形成速度发生改变,在野生型酵母菌中每小时约有 3.3 个 ERES 形成,而在 Sec16 P1092L 突变的酵母菌中每小时有 40 个 ERES 形成^[9]。此外,在表达野生型 Sec16 的酵母菌中的,ERES 收缩较缓慢,半衰期约为 11 min;而在表达 Sec16 P1092L 的酵母菌中

ERES 的收缩半衰期仅为 20 s,过快的收缩导致 ERES 的尺寸明显减小^[9]。据此推测 Sec16 P1092L 导致 ERES 的形成和收缩均显著加速,但是 ERES 收缩加速要远远高于形成加速,因此破坏了 ERES 的正常形态。

3.3 Sec16 调节 COPII 有被小泡的组装

目前已在酵母菌细胞中证实 Sec16 和 Sec12、Sar1、Sec23/Sec24、Sec13/Sec31 均存在直接相互作用;在人类细胞中,Sec16 也和 Sec12、Sec13 和 Sec23 有直接相互作用,提示 Sec16 可直接作用于 COPII 有被小泡蛋白调节 ERES 输出分泌蛋白^[5]。

在果蝇 S2 细胞中,研究者检测到敲减 Sar1 或 Sec23 均未改变 Sec16 的定位。但是反过来,敲减 Sec16 会导致 Sar1 发生异位。而当将 Sec16 和内体定位结构域 FYVE 相融合并表达于果蝇 S2 细胞,则 Sar1 被募集至内体当中^[7]。Montegna 等^[16]观察发现在毕氏酵母菌中过表达 Sec12 会导致 Sec12 在整个内质网中均有分布,而在酵母菌中过表达 Sec16 则可以促使 Sec12 正确分布于 ERES。以上结果证明,Sec16 在 ERES 的定位并不依赖于 COPII 有被小泡组装所需蛋白,而是 COPII 有被小泡组装所需蛋白定位于 ERES 必需 Sec16 的存在。

Sec16 可作为支架募集 COPII 有被小泡组装所需蛋白。Supek 等^[17]发现在体外有 Sec16 存在情况下,Sec23/Sec24 和 Sec13/Sec31 均可以有效被募集至脂质小体中;在电镜下观察发现在无 Sec16 存在情况下,仅有 10.5% 的脂质小体表现出 COPII 有被小泡特征,而在 Sec16 存在情况下,有 27.5% 的脂质小体表现出 COPII 有被小泡特征,上述结果提示 Sec16 可募集 COPII 有被小泡组装所需蛋白,促进 COPII 有被小泡完成组装。

Yorimitsu 等^[8]利用体外脂质小体实验观察发现 Sec16 在 Sec31 存在情况下可以抑制 Sar1 活性,提示 Sec16 对 Sar1 活性的抑制是通过作用于 Sec31 实现的。Kung 等^[18]利用酵母双杂交实验观察到 Sec24 突变体 Sec24-m11(无法和 Sec16 结合发生相互作用)可降低 Sec16 对 Sec31 的抑制作用,因此推测 Sec24 和 Sec16 结合发生相互作用可以抑制 Sec31 激活 Sar1。

4 ERES 输出分泌蛋白的调节机制

4.1 内质网应激对 ERES 输出分泌蛋白的调节

目前,内质网应激对 ERES 输出分泌蛋白的影响存在争议。细胞内蛋白的过度表达可引起内质网应激,Farhan 等^[19]发现在 Hela 细胞中过表达 γ 氨基丁酸转运体 1(GABA transporter 1, GAT1)导致细胞内 Sec24 和 Sec16 的水平明显升高,同时 ERES 的大小和数目均显著增加,提示在内质网应激过程中 ERES 功能上调。Amodio 等^[20]则利用毒胡萝卜素(thapsigargin, TG)或二硫苏糖醇(Dithiothreitol, DTT)诱导人肝癌 huh7 细胞发生内质网应激,结果发现细胞膜成分中的 Sar1、Sec23 和 Sec31 的含量均显著下降,提示内质网应激降低了 COPII 有被小泡组装蛋白与膜的结合,抑制 COPII 有被小泡组装。

事实上,上述相反的结果可能是由诱导内质网应激的方式不同所引起的。TG 是一个肌浆网/内质网 Ca^{2+} -ATP 酶抑制剂,会破坏内质网 Ca^{2+} 稳态,内质网中的大量热休克蛋白需要依赖

Ca²⁺发挥功能;DTT破坏内质网内氧化还原环境,抑制二硫键形成。只有正确折叠的蛋白才能够刺激COPII有被小泡的形成,以上药物都破坏了内质网正常的内环境,抑制蛋白的正常折叠过程,使得蛋白无法输出^[21]。而在Farhan等^[19]的研究中,内质网应激是由蛋白折叠过载引起的,内质网本身的功能并未受到破坏,因此可以增加ERES的蛋白输出。

Farhan等^[19]还发现ERES功能的提升需要未折叠蛋白反应(unfolded protein response, UPR)的参与。他们发现过表达GAT1可以诱导Hela细胞中剪接的X盒结合蛋白(spliced X-box binding protein1, XBP1s)的生成,提示UPR已被激活。在肌醇需求酶1(inositol-requiring enzyme 1, IRE1)表达缺失的小鼠胚胎成纤维细胞中过表达GAT1无法使ERES数目增加,提示UPR激活对于蛋白过载诱导ERES功能必不可少。

4.2 细胞自噬对ERES输出分泌蛋白的调节

细胞自噬和早期分泌相关,大部分研究着眼于早期分泌途径如何参与自噬体的形成,但近年来的研究显示自噬也可调节早期分泌途径。Joo等^[22]发现在自噬起始因子UNC-51样酶(unc-51 like kinase 1, ULK1)基因敲除小鼠胚胎成纤维细胞中,Sec16A以及Sec24阳性的点状结构数目明显下降,同时抗Endo H的血清素转运体(serotonin transporter, SERT)水平明显下降,提示ULK1基因敲除抑制了ERES形成以及蛋白分泌。ULK1能够磷酸化Sec16A S846位点,Sec16A S846A突变导致细胞内Sec24阳性的点状结构数目明显下降,而Sec16A S846D的作用则正相反,同时Sec16A S846D还可修复ULK1基因敲除小鼠胚胎成纤维细胞中ERES的功能。这表明ULK1促进ERES输出分泌蛋白是通过磷酸化Sec16A介导的。但Gan等^[23]的研究得到了相反的结果。他们发现过表达ULK1会抑制内质网输出水泡性口炎病毒G蛋白(vesicular stomatitis virus G protein, VSVG),ULK1能够磷酸化Sec23A S207位点,降低Sec23A和Sec31A的结合,进而抑制ERES和COPII有被小泡的组装,抑制ERES输出分泌蛋白。上述相矛盾的结论目前仍未有合理解释,可能是由于两项研究在不同的实验体系中。因而自噬对ERES输出分泌蛋白是促进或是抑制,细胞自噬是否还作用于其他ERES相关蛋白需要进一步探索。

4.3 MAPK家族对ERES输出分泌蛋白的调节

Farhan等^[24]发现细胞外信号调节激酶2(extracellular regulated kinase 2, ERK2)敲减的Hela细胞中ERES的数目下降了约30%,同时转铁蛋白受体从内质网至高尔基体的运输受抑制;ERK2可使Sec16 T415位点发生磷酸化,在Hela细胞中表达Sec16磷酸化失活突变T415I降低了细胞内ERES数目,表明ERK2通过磷酸化Sec16促进ERES形成,提高蛋白分泌。

MAPK家族中还有另一个成员也被证实调节了ERES。Zacharogianni等^[25]经鉴定发现ERK7能够调节果蝇S2细胞的早期分泌通路。ERK7可以和Sec16的C端相互作用,导致Sec16无法定位于ERES,而是在胞浆中弥散分布,进而抑制ERES形成。但是Sec16的C端并不介导其在ERES的定位,因而ERK7与Sec16相互作用的具体机制仍需要进一步明确。

5 ERES与神经退行性疾病

神经退行性疾病是一组由慢性进行性中枢神经系统退行性变性而产生的疾病,其主要特征是中枢神经系统不断进展的神经元变性、坏死和丢失,从而引起运动、感觉及认知和行为障碍,常见的有阿尔茨海默病、帕金森病、亨廷顿氏病、肌萎缩性脊髓侧索硬化症等。神经退行性疾病的发病机制十分复杂,神经退行性疾病相关蛋白基因突变和环境因素可能共同导致疾病的发生和进展。尽管目前对ERES功能障碍在神经退行性病中的作用尚不明确,但近年来的研究结果显示,神经退行性疾病相关蛋白富含亮氨酸重复序列激酶2(leucine-rich repeat kinase 2, LRRK2)和p150glued调节了ERES输出分泌蛋白的过程。

LRRK2突变是PD最为常见的遗传因素。Kim等^[26]发现敲减HEK293细胞中LRRK2导致自噬相关蛋白p62在细胞内大量积聚,而培养基中的p62显著降低,提示敲减LRRK2抑制p62的分泌。Cho等^[27]利用质谱分析鉴定并利用免疫共沉淀实验证实LRRK2和Sec16A存在相互作用。在小鼠胚胎成纤维细胞中,LRRK2基因敲除或R1441C突变导致Sec16A在胞浆中弥散分布,无法锚定于ERES,同时VGSG输出明显延迟。在小鼠海马神经元中也存在相同机制,LRRK2表达缺失破坏了树突中ERES的形成,并且抑制了谷氨酸受体的分泌。

p150glued是动力蛋白激活蛋白最大的亚基。p150glued突变已被证实与Perry综合征(一种特殊帕金森综合征)、肌萎缩侧索硬化症、进行性核上性麻痹等神经退行性病相关^[28]。Watson等^[29]发现p150glued通过其C端与Sec23相互作用,介导ERES和微管相连,促进蛋白从内质网至高尔基体的运输。此外,Verissimo等^[30]发现p150glued还有稳定COPII有被小泡在ERES组装的功能,且这一效应不依赖于p150glued和微管的相互作用。而利用p150glued C端片段竞争性抑制p150glued与Sec23的相互作用显著降低了ERES对分泌蛋白的输出。

ERES功能异常会导致蛋白无法正常被输出,大量沉积在内质网中,从而导致或加剧内质网应激。Joo等^[22]发现ULK1通过磷酸化Sec16A促进ERES的形成,而ULK1表达缺失抑制ERES的形成以及蛋白输出,导致细胞核中CHOP大量增加,提示内质网应激的发生;而过表达Sec16A则可明显逆转这一现象。内质网应激是神经退行性病的一个共同病理过程,因而可以推测ERES功能异常可能通过引起或加剧内质网应激参与神经退行性病发病。此外,ERES功能障碍还会导致重要的神经元膜蛋白,如谷氨酸受体无法被分泌运送表达于膜上^[27],从而影响神经传递,加剧神经退行性病变。近来的研究发现LRRK2突变可导致多巴胺能神经元胞膜上多巴胺受体及多巴胺转运体表达异常^[31,32],这一现象可能也是由LRRK2对ERES功能的调节功能介导的,因此在今后的研究中明确LRRK2对蛋白分泌的调节对于阐述帕金森病的发病机制有重要意义。

6 小结

ERES作为内质网上COPII有被小泡形成的部位,是蛋白分泌的重要环节,Sec16是ERES的关键蛋白,Sec16可通过和多个

COPII有被小泡组装蛋白Sec12、Sar1、Sec23/Sec24、Sec13/Sec31相互作用,对上述蛋白进行募集或通过调节Sar1活性以形成或维持ERES。ERES的功能受到内质网应激、细胞自噬、以及MAPK信号通路的调节。此外,神经退行性疾病相关蛋白LRRK2和p150glued也作用于ERES。这种机制有着重要的病理意义,LRRK2和p150glued对ERES的调节可能会导致多个神经元膜蛋白如谷氨酸受体、多巴胺受体、多巴胺转运体等在胞膜上异常分布;或多种蛋白在内质网中沉积诱发内质网应激,从而参与多种神经退行性病的发病。因此,明确LRRK2和p150glued以及其他神经退行性疾病相关蛋白调节蛋白分泌的机制是未来研究神经退行性病的发病机制的一个重要方向。

参考文献

- [1] D'Arcangelo JG, Stahmer KR, Miller EA. Vesicle-mediated export from the ER: COPII coat function and regulation[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2013, 1833: 2464-2472.
- [2] Suda Y, Kurokawa K, Nakano A. Regulation of ER-Golgi Transport Dynamics by GTPases in Budding Yeast[J]. *Front Cell Dev Biol*, 2017, 5: 122.
- [3] Aridor M, Guzik AK, Bielli A, et al. Endoplasmic reticulum export site formation and function in dendrites[J]. *J Neurosci*, 2004, 24: 3770-3776.
- [4] Glick BS. Integrated self-organization of transitional ER and early Golgi compartments[J]. *Bioessays*, 2014, 36: 129-133.
- [5] Sprangers J, Rabouille C. SEC16 in COPII coat dynamics at ER exit sites[J]. *Biochem Soc Trans*, 2015, 43: 97-103.
- [6] Watson P, Townley AK, Koka P, et al. Sec16 defines endoplasmic reticulum exit sites and is required for secretory cargo export in mammalian cells[J]. *Traffic*, 2006, 7: 1678-1687.
- [7] Ivan V, de Voer G, Xanthakis D, et al. Drosophila Sec16 mediates the biogenesis of tER sites upstream of Sar1 through an arginine-rich motif[J]. *Mol Biol Cell*, 2008, 19: 4352-4365.
- [8] Yorimitsu T, Sato K. Insights into structural and regulatory roles of Sec16 in COPII vesicle formation at ER exit sites[J]. *Mol Biol Cell*, 2012, 23: 2930-2942.
- [9] Bharucha N, Liu Y, Papanikou E, et al. Sec16 influences transitional ER sites by regulating rather than organizing COPII[J]. *Mol Biol Cell*, 2013, 24: 3406-3419.
- [10] Hughes H, Budnik A, Schmidt K, et al. Organisation of human ER-exit sites: requirements for the localisation of Sec16 to transitional ER[J]. *J Cell Sci*, 2009, 122: 2924-2934.
- [11] Maeda M, Katada T, Saito K. TANGO1 recruits Sec16 to coordinately organize ER exit sites for efficient secretion[J]. *J Cell Biol*, 2017, 216: 1731-1743.
- [12] Sealey-Cardona M, Schmidt K, Demmel L, et al. Sec16 determines the size and functioning of the Golgi in the protist parasite, *Trypanosoma brucei*[J]. *Traffic*, 2014, 15: 613-629.
- [13] Bhattacharyya D, Glick BS. Two mammalian Sec16 homologues have nonredundant functions in endoplasmic reticulum (ER) export and transitional ER organization[J]. *Mol Biol Cell*, 2007, 18: 839-849.
- [14] Budnik A, Heesom KJ, Stephens DJ. Characterization of human Sec16B: indications of specialized, non-redundant functions[J]. *Sci Rep*, 2011, 1: 77.
- [15] Connerly PL, Esaki M, Montegna EA, et al. Sec16 is a determinant of transitional ER organization[J]. *Curr Biol*, 2005, 15: 1439-1447.
- [16] Montegna EA, Bhavé M, Liu Y, et al. Sec12 binds to Sec16 at transitional ER sites[J]. *PLoS One*, 2012, 7: e31156.
- [17] Supek F, Madden DT, Hamamoto S, et al. Sec16p potentiates the action of COPII proteins to bud transport vesicles[J]. *J Cell Biol*, 2002, 158: 1029-1038.
- [18] Kung LF, Pagant S, Futai E, et al. Sec24p and Sec16p cooperate to regulate the GTP cycle of the COPII coat[J]. *EMBO J*, 2012, 31: 1014-1027.
- [19] Farhan H, Weiss M, Tani K, et al. Adaptation of endoplasmic reticulum exit sites to acute and chronic increases in cargo load[J]. *EMBO J*, 2008, 27: 2043-2054.
- [20] Amodio G, Venditti R, De Matteis MA, et al. Endoplasmic reticulum stress reduces COPII vesicle formation and modifies Sec23a cycling at ERESs[J]. *FEBS Lett*, 2013, 587: 3261-3266.
- [21] Shaheen A. Effect of the unfolded protein response on ER protein export: a potential new mechanism to relieve ER stress[J]. *Cell Stress Chaperones*, 2018, 23: 797-806.
- [22] Joo JH, Wang B, Frankel E, et al. The Noncanonical Role of ULK/ATG1 in ER-to-Golgi Trafficking Is Essential for Cellular Homeostasis[J]. *Mol Cell*, 2016, 62: 491-506.
- [23] Gan W, Zhang C, Siu KY, et al. ULK1 phosphorylates Sec23A and mediates autophagy-induced inhibition of ER-to-Golgi traffic[J]. *BMC Cell Biol*, 2017, 18: 22.
- [24] Farhan H, Wendeler MW, Mitrovic S, et al. MAPK signaling to the early secretory pathway revealed by kinase/phosphatase functional screening[J]. *J Cell Biol*, 2010, 189: 997-1011.
- [25] Zacharogianni M, Kondylis V, Tang Y, et al. ERK7 is a negative regulator of protein secretion in response to amino-acid starvation by modulating Sec16 membrane association[J]. *EMBO J*, 2011, 30: 3684-3700.
- [26] Kim MJ, Deng HX, Wong YC, et al. The Parkinson's disease-linked protein TMEM230 is required for Rab8a-mediated secretory vesicle trafficking and retromer trafficking[J]. *Hum Mol Genet*, 2017, 26: 729-741.
- [27] Cho HJ, Yu J, Xie C, et al. Leucine-rich repeat kinase 2 regulates Sec16A at ER exit sites to allow ER-Golgi export[J]. *EMBO J*, 2014, 33: 2314-2331.
- [28] Jaarsma D, Hoogenraad CC. Cytoplasmic dynein and its regulatory proteins in Golgi pathology in nervous system disorders[J]. *Front Neurosci*, 2015, 9: 397.
- [29] Watson P, Forster R, Palmer KJ, et al. Coupling of ER exit to microtubules through direct interaction of COPII with dynactin[J]. *Nat Cell Biol*, 2005, 7: 48-55.
- [30] Verissimo F, Halavaty A, Pepperkok R, et al. A microtubule-independent role of p150glued in secretory cargo concentration at endoplasmic reticulum exit sites[J]. *J Cell Sci*, 2015, 128: 4160-4170.
- [31] Beccano-Kelly DA, Volta M, Munsie LN, et al. LRRK2 overexpression alters glutamatergic presynaptic plasticity, striatal dopamine tone, postsynaptic signal transduction, motor activity and memory[J]. *Hum Mol Genet*, 2015, 24: 1336-1349.
- [32] Liu G, Sgobio C, Gu X, et al. Selective expression of Parkinson's disease-related Leucine-rich repeat kinase 2 G2019S missense mutation in midbrain dopaminergic neurons impairs dopamine release and dopaminergic gene expression[J]. *Hum Mol Genet*, 2015, 24: 5299-5312.

(本文编辑:唐颖馨)