

文章编号: 1004-0374(2011)11-1081-07

内质网膜形态维持的分子机制

隋学武, 胡俊杰*

(南开大学生命科学学院遗传学和细胞生物学系, 天津市蛋白质科学重点实验室, 天津 300071)

摘要:内质网 (endoplasmic reticulum, ER) 是广泛存在于真核生物中的一类形态多样、功能重要的细胞器。内质网的连续膜系统由细胞核核膜、核周区域和外周区域组成。从形态上来看, 内质网可以分为片状及管状两种结构, 并且这两种形态又发挥着不同的生理功效。近年来的一些研究逐渐揭示了内质网这一复杂膜结构维持的机制, 许多新发现的蛋白参与到内质网形态的维持过程中, 其中整合膜蛋白 reticulons 和 DP1/Yop1p 既能诱导内质网管状结构的形成, 又可能参与片状内质网的塑形, 而 atlastins 和 Sey1p 则通过介导膜融合促进内质网管状网络的构建。更重要的是, 一类称做遗传性痉挛性截瘫的人类神经退行性疾病与内质网形态的完整性有直接的关联。以近年来的研究结果为基础, 对内质网膜形态的维持机制进行简要阐述。

关键词: 内质网; 管状内质网; 片状内质网; reticulons; DP1/Yop1p; atlastins/Sey1p

中图分类号: Q739 **文献标志码:** A

Molecular mechanisms for shaping the ER membranes

SUI Xue-Wu, HU Jun-Jie*

(Department of Genetics and Cell Biology, Tianjin Key Laboratory of Protein Science, Nankai University, Tianjin 300071, China)

Abstract: The endoplasmic reticulum (ER) is morphologically and functionally conserved organelle. It is comprised by a continuous membrane system with nuclear envelop, perinuclear region and peripheral region. Morphologically speaking, the ER can be divided into two different compartments: tubules and sheets, which may play different physiological roles. Recent studies gradually unveil the mechanisms of how the ER morphology was generated, and many new proteins have been identified in this process. Two families of integral membrane proteins, the reticulons and DP1/Yop1, are involved in generating ER tubules as well as sheets. In addition, atlastins and Sey1p facilitate tubular network formation by mediating ER membrane fusion. More importantly, a neuronal degenerative disease called hereditary spastic paraplegia is directly linked to the integrity of the ER. Based on recent findings, we will discuss the molecular mechanisms of how ER is shaped and maintained.

Key words: endoplasmic reticulum; tubular ER; sheet ER; reticulons; DP1/Yop1p; atlastins/Sey1p

1 内质网及其形态特征

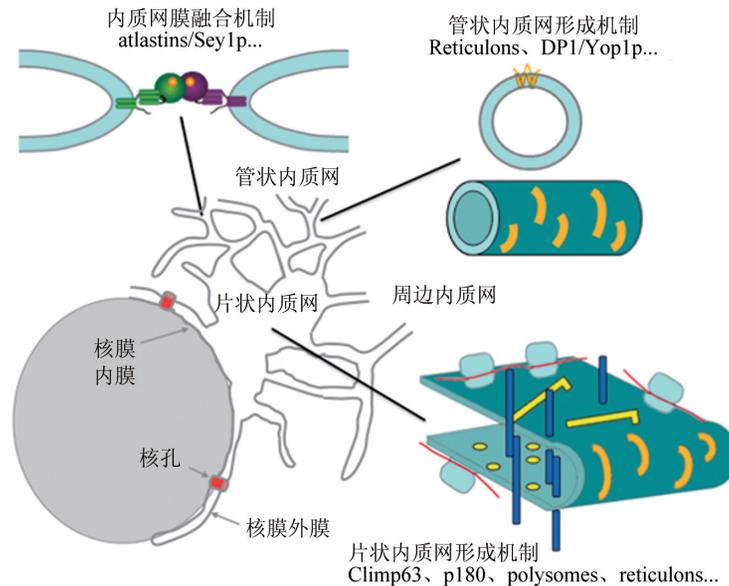
内质网 (endoplasmic reticulum, ER) 是广泛存在于真核细胞中的一类细胞器, 负责执行真核细胞内许多重要的生理过程, 例如细胞内分泌性蛋白、膜蛋白以及内膜系统组成性蛋白的合成, 新生蛋白质的质量控制、修饰及转运, 脂质的合成, 细胞内 Ca^{2+} 信号的调节, 以及细胞内毒素降解等生命活动^[1-2]。作为真核细胞内最庞大的细胞器之一, 内质网是由连续的单层膜结构围绕而成的独立功能单位, 其一

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 (图 1)。内质网与其他细胞器和亚细胞结构, 如高尔基体、溶酶体、线粒体和细胞骨架等有着密切的联系和信息交流。

收稿日期: 2011-05-31

基金项目: 国家重点基础研究发展计划 (“973” 项目) (2010CB833702)

*通信作者: E-mail: huj@nankai.edu.cn



图中显示了内质网的主要组成部分、管状与片状结构的分布等，内质网塑形的不同机制与已知参与的主要蛋白被分别放大显示和标注。

图1 内质网膜系统形态的模式图

由于内质网在细胞内所发挥的重要功能，其缺陷也与一些人类疾病密切相关。

内质网主要由核膜、核周内质网和周边内质网组成。从膜表面有无核糖体存在来划分，内质网结构包括两个亚类：有核糖体附着的粗面内质网(rough ER/RER)和无核糖体附着的滑面内质网(smooth ER/SER)^[1,3]。此外，从形态角度来说，内质网也可分为管状和片状两种结构^[1-2](图1)。由于核体积较大，且内外核膜间的距离较为恒定，核膜通常被看作片状结构。在细胞核周边，以扁平膜囊的形式存在的片状内质网较为集中；而在细胞外周，内质网更多以管状的形式存在，连接成纵横交错的网络，并延伸至细胞各个角落。两种内质网的划分方式间也存在一定的联系，一般粗面内质网被认为是片状结构，而滑面内质网则多为管状结构。更重要的是，对细胞内核糖体功能的抑制，在一定程度上影响了片状内质网的分布^[4-5]。然而，目前还没有直接的实验证据将两类内质网相对应地联系在一起。

形态不同的内质网组分在细胞内承担着不同的生理功能：粗面内质网由于其上分布着大量合成蛋白质的核糖体，是新生蛋白质主要的合成场所。细胞中绝大部分分泌性蛋白、膜蛋白等在此处合成。因此，在胰腺细胞(分泌胰岛素)和浆细胞(分泌抗体)中，粗面内质网发生大规模的增殖，占据了这些细胞中内质网的绝大多数。滑面内质网主要负

责脂类、固醇类物质的合成，当细胞需要大量合成脂质时，滑面内质网的量会激增^[1]。滑面或管状内质网往往还作为出芽位点，将新合成的物质如新生蛋白质或脂类向高尔基体等细胞器转运，同时它们还具有调控 Ca^{2+} 代谢的作用^[2]。

不同细胞内的内质网形态会有所不同，如酵母细胞中的内质网主要存在于核周和质膜附近两个区域，细胞体内存在少量管状结构将两个内质网区域相互连接^[1,6]；而高等真核生物的细胞内则遍布着内质网。同时，内质网也是一个高度动态性的膜系统，其膜结构在不断地进行融合和分裂^[7-8]。内质网的高度动态性也体现在细胞分裂等时期。在有丝分裂过程中，包括核膜在内的内质网需要经历解体和重建的过程。有报道显示，在CHO细胞有丝分裂过程中，片状内质网几乎全部转化为管状内质网^[5]；而另有报道表明存在与此相反的从管状向片状内质网的变化^[9]。虽然这种形态的相互转换可能与细胞类型有关，但是这种形态学上的变化也证明了内质网的高度动态性。

2 管状内质网形态的维持机制

真核细胞中有许多细胞器具有自身特定的外形特征：溶酶体和过氧化物酶体可以被看作简单的球状；其他一些细胞器则具有相对复杂的形态，比如线粒体形成丝带状体系，高尔基体则是由扁平膜囊

叠加而成的体系等; 而膜形态最为复杂的细胞器则是内质网。内质网的膜不仅具有形态多样性, 而且也是一个高度动态的体系, 再加上其功能较为重要, 这些都使得内质网成为膜塑形与重装的一个非常有代表性的研究对象。

内质网的管状网络这种特殊而复杂的形态究竟是如何产生并维持的呢? 近年来的研究发现了两组富集于管状内质网的膜蛋白: *reticulons* 和 *DP1/Yop1p* 通过诱导膜的曲度来形成内质网的管状结构^[10-12](图 1, 右上角); 而 *atlastins* 和 *Sey1p* 则介导内质网膜之间的融合, 从而促使内质网管的网络化^[13](图 1, 左上角)。本文将简述对这些膜蛋白功能与机制的研究, 并探讨对内质网管状结构相关生理功能的认知。

2.1 *Reticulons* 家族蛋白与 *DP1/Yop1p* 家族蛋白参与管状内质网的生成

相比片状内质网, 管状内质网在横截面上有着很高的膜曲度^[3,10-11], 因此, 管状内质网的形成必然依赖一种能够诱导膜曲度的机制。这方面的探索在 2006 年有了重大突破, *Voeltz* 等^[10]通过对蛋白质半胱氨酸残基巯基基团的化学修饰, 首次发现了体外内质网管状网络的形成能够被阻断, 继而借助质谱等方法将靶蛋白鉴定为整合膜蛋白 *RTN4a*。该蛋白大多定位于内质网管状区域, 却不在片状的核膜等区域出现; *RTN4a* 的抗体也能在体外阻断内质网管的形成。*RTN4a* 属于 *reticulons* 家族蛋白, 在真核生物内普遍存在并较为保守, 高等动物中有 *RTN1~4* 四个基因, 且每个基因又有一些不同的选择性剪接产物, 酵母细胞内则有 *RTN1* 和 *RTN2* 两个基因^[10,14-16]。

进一步研究发现, *reticulons* 与另一个膜蛋白家族发生相互作用^[10], 该家族包括哺乳动物中的六个与 *DP1/TB2/REEP5* 同源的蛋白家族成员^[17-18], 以及酵母细胞中的同源蛋白 *Yop1p*^[19]。这两个家族的蛋白在真核细胞中都是内质网最丰富的膜蛋白之一, 并且选择性地分布于管状内质网; 过表达其中某些蛋白导致管状内质网增加, 并会伴随片状内质网含量相对减少; 而酵母细胞内这些蛋白的缺失会导致管状内质网剧烈减少^[10]。更重要的是, 体外实验表明, 纯化的酵母 *Rtn1p* 或 *Yop1p* 在重组到脂质体内后, 都能诱导脂膜形成管状结构^[11]。以上结果均表明, *reticulons* 和 *DP1/Yop1p* 是形成管状内质网形态的重要因子。因此, 这两类膜蛋白也被称之为内质网的成管膜蛋白。

虽然这两个蛋白家族的成员间在蛋白质序列上几乎没有同源性, 但是 *DP1/Yop1p* 家族蛋白与 *reticulons* 类似, 都含有由两个疏水区段和一个连接序列组成的保守区域。这两个疏水片段的长度在 30~35 个氨基酸, 而通常一个跨膜螺旋为 20 个氨基酸, 因此这些疏水片段既不能只穿膜一次又不够穿膜两次, 很可能形成疏水的“发夹”状结构^[9]。生化实验证明, 保守区域两端及中间的连接片段均朝向胞浆, 这与发夹结构的假设相吻合^[10]。“发夹”状结构通常在膜外页占的面积要比膜内页多很多, 从而导致膜脂的不均匀分布及曲度的形成。这种机制也被称为“疏水插入”机制 (*hydroponic insertion*) (图 1, 右上角)。

化学交联和蔗糖密度梯度实验表明, 这些蛋白的单体之间可以发生同源或异源聚合, 从而形成大的蛋白复合体^[11-12]。推测这些蛋白多聚体可能形成特定的形态, 并起到类似于脚手架 (*scaffold*) 的作用来维持膜的曲度和相对连续均一的形态。根据管状膜结构仍具有流动性的事实, 本课题组假设这些成管膜蛋白的多聚体并不形成连续不断的环状或螺旋状结构, 而是可能形成弓形结构 (*arc*)。该模型机制既能体现成管膜蛋白的脚手架功能, 又不妨碍管状区域膜的流动性, 因此比较好地解释了成管膜蛋白如何促使管状内质网的形成和维持^[11,20](图 1, 右上角)。综上所述, 成管膜蛋白通过疏水插入机制和蛋白质之间聚合形成弓形脚手架的机制, 塑造了管状内质网的形态。当然, 这些模型只是假设, 只有获取了这些蛋白的结构信息等, 才能真正地分辨这些模型的正确性。值得一提的是, 这些曲膜的方式在囊泡形成曲膜的过程中也经常发生, 然而囊泡的形成是个瞬时的过程, 而内质网等细胞器的塑形却要求相对稳定。因此, 参与囊泡形成的曲膜蛋白大多是可溶性的膜结合蛋白, 而参与细胞器膜塑形的往往是整合膜蛋白。

除了“疏水插入”和“脚手架”模型, 膜曲度还可以由脂质分子的不对称分布而形成^[21-22], 但是产生像管状内质网那样具有大范围的高曲度结构, 如仅仅通过膜组分的不对称分布是很难实现的^[23]。此外, 细胞骨架也可以对膜产生机械力, 从而使膜产生有曲度的管状结构^[20-22], 例如膜可以通过马达类蛋白与细胞骨架相连, 然后在沿着细胞骨架运动时产生管状结构; 膜也可以直接与正在伸长的微管结构偶联, 并导致管状膜结构的延伸^[24-25]。在酵母细胞内, 如果解聚微丝系统, 内质网的形态并不会

发生变化^[7]；但在高等动物细胞内，如果解聚微管，内质网会向核周方向缩回并完全变成片状结构^[24]，而在成管膜蛋白过表达的情况下，对微管骨架的解聚并不完全破坏内质网的管状形态^[12]。由此可见，细胞骨架也在一定程度上参与了内质网管状结构的形成与维持。

2.2 Dynamin家族GTPase嵌膜蛋白在维持管状内质网形态上的作用

除了上述结构性蛋白对管状内质网的形态产生的作用之外，管状的ER之间可以通过膜的融合从而形成管状内质网特有的“三向通道”(three-way junction)结构。管状内质网的动态性与囊泡的形成与运输相类似，是一个膜不断融合与分裂的过程，膜融合过程也被证明与膜的形态密切相关^[26-28]。很多蛋白已经被发现具有促进膜融合的功能，如p97/p47/VCI135蛋白复合体、Syntaxin、BNIP1/Sec20等^[29]。研究人员发现了一组叫做atlastin的嵌膜GTPase蛋白对内质网管状网络的形成有着重要的作用^[30]，它们能与上文所述的成管蛋白相互作用^[13]。Atlastin在高等动物体中有三个家族成员，线虫和果蝇等则仅有一个atlastin基因^[30]。在酵母等没有atlastin的真核生物中，研究人员还发现了一个名为Sey1p的atlastin同源蛋白，而Sey1p在植物细胞内的同源蛋白则是RHD3^[30-31]。

序列比对揭示，atlastins、Sey1p和RHD3属于Dynamin GTP酶超家族的GBP亚类。GTP酶一般都具有四个保守的标志性序列，其中第四个序列G4参与了与GTP核糖的结合，而GBP亚类蛋白都拥有由Arg和Asp组成的独特的G4序列^[32]。从分子构架上，atlastin与Sey1p由N端的GTP酶结构域、一段中间部分、两段跨膜区以及一段短的C端区域构成^[13,31]。Atlastin家族蛋白通过跨膜区与成管膜蛋白相互作用，其两个跨膜螺旋的连接区域也非常短，类似上文提及的发夹状结构，因此Atlastin富集于管状内质网中。Atlastins的敲低或者突变都会导致内质网管状结构的分枝减少，而体外内质网重组实验也表明atlastins的抗体能够抑制内质网网络的形成；酵母细胞如果缺失Sey1p和任一成管膜蛋白Rtn1p或Yop1p会导致管状内质网的缺失。这些研究表明，atlastins和Sey1p可能通过诱导管状内质网的分叉形成来影响管状内质网网络的形态^[13]。事实上，最新的研究发现，果蝇的atlastin不仅与高等动物的atlastin有相似功能，还能在纯化重组到脂质体后在体外直接诱导膜融合^[33]。由此

可见，atlastin能够介导内质网的同源膜融合。

生物膜融合的机制研究主要集中于异源膜融合，例如SNARE的复合物介导膜泡和靶细胞器的融合，又如病毒蛋白介导病毒颗粒与细胞质膜的融合。这些融合反应基本都通过“螺旋拉链”一般的分子构象变化使不同膜靠近。然而，对同源膜融合机制的研究相对较少，作用方式也不太清楚。两个不同的研究组分别解析了人类atlastin-1胞浆结构域的结构，并开始揭开同源膜融合的神秘面纱^[34-35]。Atlastin的胞浆区由N端的GTP酶，C端三个 α 螺旋组成的螺旋束，以及两者间的连接片段构成。Atlastin在不同的结晶条件下以两种构象存在。一种构象中，GTP酶形成面对面的二聚体，而螺旋束以交叉的形式与对应分子的GTP酶底部作用，整个二聚体呈剪刀状；两个分子的C端，即跨膜区连接处，靠得非常近，两个分子可以假设为在同一膜内。另一种构象中，GTP酶形成同样的二聚体，而螺旋束却与同分子的GTP酶作用，其C端分别指向相反的方向，两个分子可以推测为在相邻的不同膜内^[34-35]。生化实验，尤其是胰酶保护和化学交联证明了两种构象的存在^[35]。因此，由以上数据推测出一个简单的融合模型：GTP结合诱导atlastin的二聚化，并将两个相邻的膜拉到一起；GTP水解发生后，游离磷酸释放，从而引发GTP酶的构象变化；这一变化破坏了螺旋束与同分子的作用，而又允许其与对应分子的GTP酶相互作用；与螺旋束相连的跨膜区由此将原先相对的膜拉到一侧，并变得极其接近，膜融合也因此得以发生(图1，左上角)。体外融合实验进一步验证了GTP水解诱导的构象变化与atlastin的融合功能直接相关^[35]。当然，同源膜融合的具体机制还有待进一步研究。

重要的是，atlastin-1与一种叫做遗传性痉挛性截瘫(hereditary spastic paraplegia, HSP)的人类疾病有直接关联，HSP的症状是运动性神经的轴突发生退化，导致下肢的麻木和瘫痪。研究表明，很多早发性纯HSP病人体内都伴有atlastin-1基因的突变，并且这些突变大多集中于GTP酶结构域中^[36-37]。根据结构信息，本课题组发现atlastin-1的突变主要定位于GTP酶二聚化的界面，以及螺旋束与GTP酶相互作用的界面。因此，atlastin-1的结构较好地解释了这些突变的致病机理^[38]。另外两个诱发HSP的高突变基因包括Spastin和REEP1，Spastin可以通过调控微管稳定性来影响内质网的形态^[39]，而REEP1则是成管膜蛋白家族的成员之一^[10]。所以，

有充分理由推断, HSP 疾病的发生可能与内质网的形态变化相关。此外, *atlastin* 家族在人体各组织都有表达, 但突变导致的病变最显著地发生于轴突内, 而 *Sey1p* 的植物同源蛋白 *RHD3* 又能引发根毛细胞变短变弯^[40], 可见内质网的完整性在具有长突触的细胞内变得尤其重要。

3 片状内质网的产生及维持机制

与管状内质网的形成类似, 片状内质网也需要相应的机制来维持其形态。与管状内质网不同的是, 片状内质网的膜曲度远远低于管状内质网。值得注意的是, 片状内质网所包含的核孔周围以及扁平膜囊边缘处都有着与管状内质网相同的高的膜曲度存在^[20]。研究发现, 参与诱导管状内质网的 *reticulons* 与 *DP1/Yop1* 家族蛋白也可能参与了片状内质网的维持, 而成管膜蛋白也确实在片状内质网的边缘被发现^[4]。

另外, 分布于片状内质网膜并与细胞质交界的膜蛋白也会对片状的维持产生作用。对于核膜外侧的片状内质网而言, 这些定位于片状内质网的膜蛋白通过其自身所含有的胞浆区结构域实现扁平的“脚手架”功能, 来维持片层状形态(图 1, 右下角)^[4,20]。比如在酵母体内的 *caine p180* 蛋白, 该蛋白包含一个长的可以相互作用的胞浆结构域, 当其过表达时, 酵母细胞内附着有核糖体的片层状形态的内质网增加^[41]; 而粗面内质网表面的转译核糖体也倾向于附着在面积较大、曲度较缓的片状内质网上, 对蛋白质翻译或核糖体组装的变动能导致片状内质网形态的一些变化, 与核糖体偶联的蛋白质转运相关复合物也往往更多地出现在片状内质网中^[5,20]。

另外, 与高尔基体的片层状结构产生并维持的机制类似, 分布于片状内质网的膜蛋白通过其腔内部的结构域相互作用, 形成类似于“蛋白桥”的结构, 横跨在两个片层膜的腔内, 从而达到维持片状形态的目的, 这种机制也被广泛地认为可以对片状形态的维持及产生发挥作用(图 1, 右下角)。一些研究也发现了这些类似于“蛋白桥”的蛋白确实存在于内质网^[42]。*Shibata* 等^[4]的研究结果表明, 表达于内质网腔内的 *Climp63* 蛋白通过其内质网腔内结构域的相互作用, 形成类似于脚手架蛋白的多聚体, 使得腔内维持一定的距离; 细胞中过表达 *Climp63* 会伴随片状内质网的急速增加; 虽然降低 *Climp63* 的表达不会造成片状内质网相对数量的减少, 但是

与哺乳动物细胞中片状内质网片层之间的距离相比 (~50 nm), 低水平的 *Climp63* 表达则会使片层膜之间的距离加大。该项研究不仅证实了这种机制的合理性, 同时也揭示了必定有其他的蛋白组分参与到了片层状内质网形态的维持中。

值得一提的是, *Climp63* 与成管膜蛋白类似, 并不在核膜中出现。而对于核膜而言, 其片状形态可以由其与染色质和核纤层的相互作用而得以维持, 同时, 核孔复合物 (NPC) 也可能对核膜片层状的维持发挥重要作用。除此之外, 一种特异性分布于内层核膜的膜蛋白 *SUN*, 被认为是维持核膜片层状形态的主要参与者, 当降低其在细胞内的表达, 会使得核膜形态发生缺陷^[43]; 同时, *SUN* 蛋白可以与分布于外层核膜的 *Nesprins/KASH* 蛋白相互作用, 形成核膜腔内类似“蛋白桥”的结构, 而 *Nesprins* 蛋白同时也负责细胞核与细胞骨架的联系^[43-44]。因此, 这些结构性蛋白通过复杂的相互作用使核膜的形态得以维持。

4 结论与展望

综上所述, 本文简要探讨了内质网的形态维持机制, 介绍了近年来该领域一系列的发现, 提出了蛋白质在生物膜塑形方面几种可能的机制, 并揭示了蛋白质在内质网形态的产生及维持方面发挥的重要作用。除了内质网之外, 真核细胞中仍然存在许多其他具有复杂形态的细胞器, 比如线粒体与高尔基体, 而这些细胞器特殊形态的维持也需要相关蛋白的参与。在这里探讨的内质网形态的维持机制也并不仅仅局限于内质网这一单独的细胞器, 这些机制可能为细胞器特殊形态的维持所通用。

虽然近年来在内质网塑形方面的研究取得了重大的进展, 一系列蛋白的发现也为认识内质网及其他细胞器如何维持其负责的形态方面提供了许多重要的线索和思路, 但是有很多问题仍然没有得到比较好的解释。比如, 片状内质网形态更为精确的维持机制是什么; 产生曲率的结构性蛋白如 *reticulons* 和介导膜融合的 *atlastin-1/Sey1p*, 其功能的发挥是否受其他蛋白组分或者信号通路的调节; 细胞骨架在维持内质网形态方面的具体作用是什么; 膜结构特殊形态的维持是否与相应细胞器发挥其功能紧密相关; 一些人类疾病的产生是否与这些细胞器形态的改变有直接的联系。诸如此类的问题都需要更深入的研究。相信随着技术的不断进步与应用, 对膜塑形的机理以及细胞器特殊形态的维持机制的研究

将会越来越深入，同时这些研究成果也会为相应人类疾病的预防与治疗提供新的思路 and 手段。

[参 考 文 献]

- [1] Baumann O, Walz B. Endoplasmic reticulum of animal cells and its organization into structural and functional domains. *Int Rev Cytol*, 2001, 205: 149-214
- [2] Voeltz GK, Rolls MM, Rapoport TA. Structural organization of the endoplasmic reticulum. *EMBO Rep*, 2002, 3(10): 944-50
- [3] Shibata Y, Voeltz GK, Rapoport TA. Rough sheets and smooth tubules. *Cell*, 2006, 126(3): 435-9
- [4] Shibata Y, Shemesh T, Prinz WA, et al. Mechanisms determining the morphology of the peripheral ER. *Cell*, 2010, 143(5): 774-88
- [5] Puhka M, Vihinen H, Joensuu M, et al. Endoplasmic reticulum remains continuous and undergoes sheet-to-tubule transformation during cell division in mammalian cells. *J Cell Biol*, 2007, 179(5): 895-909
- [6] Estrada de Martin P, Novick P, Ferro-Novick S. The organization, structure, and inheritance of the ER in higher and lower eukaryotes. *Biochem Cell Biol*, 2005, 83(6): 752-61
- [7] Prinz WA, Grzyb L, Veenhuis M, et al. Mutants affecting the structure of the cortical endoplasmic reticulum in *Saccharomyces cerevisiae*. *J Cell Biol*, 2000, 150(3): 461-74
- [8] Lee C, Chen LB. Dynamic behavior of endoplasmic reticulum in living cells. *Cell*, 1988, 54(1): 37-46
- [9] Lu L, Ladinsky MS, Kirchhausen T. Cisternal organization of the endoplasmic reticulum during mitosis. *Mol Biol Cell*, 2009, 20(15): 3471-80
- [10] Voeltz GK, Prinz WA, Shibata Y, et al. A class of membrane proteins shaping the tubular endoplasmic reticulum. *Cell*, 2006, 124(3): 573-86
- [11] Hu J, Shibata Y, Voss C, et al. Membrane proteins of the endoplasmic reticulum induce high-curvature tubules. *Science*, 2008, 319(5867): 1247-50
- [12] Shibata Y, Voss C, Rist JM, et al. The reticulon and DP1/Yop1p proteins form immobile oligomers in the tubular endoplasmic reticulum. *J Biol Chem*, 2008, 283(27): 18892-904
- [13] Hu J, Shibata Y, Zhu PP, et al. A class of dynamin-like GTPases involved in the generation of the tubular ER network. *Cell*, 2009, 138(3): 549-61
- [14] Oertle T, Schwab ME. Nogo and its parTnners. *Trends Cell Biol*, 2003, 13(4): 187-94
- [15] Oertle T, Klinger M, Stuermer CA, et al. A reticular rhapsody: phylogenetic evolution and nomenclature of the *RTN/Nogo* gene family. *FASEB J*, 2003, 17(10): 1238-47
- [16] van de Velde HJ, Roebroek AJ, Senden NH, et al. NSP-encoded reticulons, neuroendocrine proteins of a novel gene family associated with membranes of the endoplasmic reticulum. *J Cell Sci*, 1994, 107 (Pt 9): 2403-16
- [17] Joslyn G, Carlson M, Thliveris A, et al. Identification of deletion mutations and three new genes at the familial polyposis locus. *Cell*, 1991, 66(3): 601-13
- [18] Park SH, Zhu PP, Parker RL, et al. Hereditary spastic paraplegia proteins REEP1, spastin, and atlastin-1 coordinate microtubule interactions with the tubular ER network. *J Clin Invest*, 2010, 120(4): 1097-110
- [19] Calero M, Whittaker GR, Collins RN. Yop1p, the yeast homolog of the polyposis locus protein 1, interacts with Yip1p and negatively regulates cell growth. *J Biol Chem*, 2001, 276(15): 12100-12
- [20] Shibata Y, Hu J, Kozlov MM, et al. Mechanisms shaping the membranes of cellular organelles. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 2009, 25: 329-54
- [21] Zimmerberg J, Kozlov MM. How proteins produce cellular membrane curvature. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2006, 7(1): 9-19
- [22] McMahon HT, Gallop JL. Membrane curvature and mechanisms of dynamic cell membrane remodelling. *Nature*, 2005, 438(7068): 590-6
- [23] van Meer G, Voelker DR, Feigenson GW. Membrane lipids: where they are and how they behave. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2008, 9(2): 112-24
- [24] Terasaki M, Chen LB, Fujiwara K. Microtubules and the endoplasmic reticulum are highly interdependent structures. *J Cell Biol*, 1986, 103(4): 1557-68
- [25] Waterman-Storer CM, Salmon ED. Endoplasmic reticulum membrane tubules are distributed by microtubules in living cells using three distinct mechanisms. *Curr Biol*, 1998, 8(14): 798-806
- [26] Chernomordik LV, Kozlov MM. Membrane hemifusion: crossing a chasm in two leaps. *Cell*, 2005, 123(3): 375-82
- [27] Chernomordik LV, Kozlov MM. Mechanics of membrane fusion. *Nat Struct Mol Biol*, 2008, 15(7): 675-83
- [28] Chernomordik LV, Zimmerberg J, Kozlov MM. Membranes of the world unite! *J Cell Biol*, 2006, 175(2): 201-7
- [29] Vedrenne C, Hauri HP. Morphogenesis of the endoplasmic reticulum: beyond active membrane expansion. *Traffic*, 2006, 7(6): 639-46
- [30] Rismanchi N, Soderblom C, Stadler J, et al. Atlastin GTPases are required for Golgi apparatus and ER morphogenesis. *Hum Mol Genet*, 2008, 17(11): 1591-604
- [31] Zhu PP, Patterson A, Lavoie B, et al. Cellular localization, oligomerization, and membrane association of the hereditary spastic paraplegia 3A (SPG3A) protein atlastin. *J Biol Chem*, 2003, 278(49): 49063-71
- [32] Praefcke GJ, McMahon HT. The dynamin superfamily: universal membrane tubulation and fission molecules? *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2004, 5(2): 133-47
- [33] Orso G, Pendin D, Liu S, et al. Homotypic fusion of ER membranes requires the dynamin-like GTPase atlastin. *Nature*, 2009, 460(7258): 978-83
- [34] Byrnes LJ, Sondermann H. Structural basis for the nucleotide-dependent dimerization of the large G protein atlastin-1/SPG3A. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108(6): 2216-21
- [35] Bian X, Klemm RW, Liu TY, et al. Structures of the

- atlastin GTPase provide insight into homotypic fusion of endoplasmic reticulum membranes. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108(10): 3976-81
- [36] Guelly C, Zhu PP, Leonardis L, et al. Targeted high-throughput sequencing identifies mutations in atlastin-1 as a cause of hereditary sensory neuropathy type I. *Am J Hum Genet*, 2011, 88(1): 99-105
- [37] Smith BN, Bevan S, Vance C, et al. Four novel SPG3A/atlastin mutations identified in autosomal dominant hereditary spastic paraplegia kindreds with intra-familial variability in age of onset and complex phenotype. *Clin Genet*, 2009, 75(5): 485-9
- [38] Zhu PP, Soderblom C, Tao-Cheng JH, et al. SPG3A protein atlastin-1 is enriched in growth cones and promotes axon elongation during neuronal development. *Hum Mol Genet*, 2006, 15(8): 1343-53
- [39] Beetz C, Schule R, Deconinck T, et al. REEP1 mutation spectrum and genotype/phenotype correlation in hereditary spastic paraplegia type 31. *Brain*, 2008, 131(Pt 4): 1078-86
- [40] Yuen CY, Sedbrook JC, Perrin RM, et al. Loss-of-function mutations of ROOT HAIR DEFECTIVE3 suppress root waving, skewing, and epidermal cell file rotation in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 2005, 138(2): 701-14
- [41] Becker F, Block-Alper L, Nakamura G, et al. Expression of the 180-kD ribosome receptor induces membrane proliferation and increased secretory activity in yeast. *J Cell Biol*, 1999, 146(2): 273-84
- [42] Senda T, Yoshinaga-Hirabayashi T. Intermembrane bridges within membrane organelles revealed by quick-freeze deep-etch electron microscopy. *Anat Rec*, 1998, 251(3): 339-45
- [43] Crisp M, Liu Q, Roux K, et al. Coupling of the nucleus and cytoplasm: role of the LINC complex. *J Cell Biol*, 2006, 172(1): 41-53
- [44] Padmakumar VC, Libotte T, Lu W, et al. The inner nuclear membrane protein Sun1 mediates the anchorage of Nesprin-2 to the nuclear envelope. *J Cell Sci*, 2005, 118(Pt 15): 3419-30