



液-液相分离调节免疫细胞活化和关键信号传导的研究进展*

李静怡, 周陈晨[△]

口腔疾病防治全国重点实验室 国家口腔疾病临床医学研究中心 四川大学华西口腔医院(成都 610041)

【摘要】 液-液相分离(liquid-liquid phase separation, LLPS)是指在细胞内某些蛋白质或蛋白质-RNA复合物通过多价相互作用,形成具有不同组分和性质的相分离液滴的过程。近年来,LLPS在免疫调控中的作用受到广泛关注。相比于其他领域的相分离相关研究,对LLPS与免疫系统研究仍有限。本文首先介绍与免疫系统相关的LLPS的基本特征,其次探讨了LLPS在先天性免疫相关信号通路和适应性免疫细胞中的功能。LLPS在免疫信号传导、免疫细胞活化和抗原呈递过程中发挥关键作用,包括促进信号分子的聚集、调节信号传导的强度和持续时间,以及影响免疫细胞的功能状态。LLPS的发现为解释免疫系统的激活机制提供了新的理论基础,有望了解细胞防御机制带来新的视角。深入研究LLPS在免疫系统中的作用机制,不仅有助于更全面地理解免疫应答过程,还为开发新型免疫疗法和治疗自身免疫疾病提供了潜在的靶点和策略。

【关键词】 液-液相分离 生物分子凝聚体 免疫系统 综述

Latest Findings on the Role of Liquid-Liquid Phase Separation in the Regulation of Immune Cell Activation and Key Signaling LI Jingyi, ZHOU Chenchen[△]. State Key Laboratory of Oral Diseases & National Clinical Research Center for Oral Diseases, West China Hospital of Stomatology, Sichuan University, Chengdu 610041, China

[△] Corresponding author, E-mail: chenchenzhou5510@scu.edu.cn

【Abstract】 Liquid-liquid phase separation (LLPS) is a process in which certain proteins or protein-RNA complexes form phase-separated droplets with different components and properties through multivalent interactions within a cell. In recent years, the role of LLPS in immunomodulation has received extensive attention. Compared with phase separation-related studies in other fields, limited research has been done on LLPS and the immune system. In this review, we first introduced the basic characteristics of LLPS associated with the immune system, and then explored the functions of LLPS in innate immune-related signaling pathways and adaptive immune cells. LLPS plays a crucial role in immune signal transduction, immune cell activation, and antigen presentation. It is involved in facilitating the aggregation of signaling molecules, regulating the intensity and duration of signal transduction, and influencing the functional state of immune cells. The discovery of LLPS provides a new theoretical basis for elucidating the activation mechanism of the immune system and is expected to bring new perspectives for understanding the cellular defense mechanisms. In-depth investigation of the role of LLPS in the immune system not only helps us gain a more comprehensive understanding of the immune response process, but also provides potential targets and strategies for the development of new immunotherapies and the treatment of autoimmune diseases.

【Key words】 Liquid-liquid phase separation Biomolecular condensates Immune system Review

液-液相分离(liquid-liquid phase separation, LLPS)是普遍存在于生物细胞中的一种现象,受多价弱相互作用驱动将蛋白质或核酸分隔形成生物分子凝聚物(biomolecular condensates, BMC),从而有序、高效地调节生物反应^[1]。相分离大致可分为二维和三维结构。二维结构主要存在于细胞膜上,如T细胞微体,其主要功能是促进T细胞活化^[2]。三维相分离结构存在于细胞质和细胞核内,比如存在于细胞质中的P颗粒、应激颗粒^[3]。同时,先天免疫应答等多种过程中都有相分离结构形成^[4]。免

疫系统是机体防御病原体入侵、清除肿瘤细胞和维持自身稳定的重要防线。免疫系统的功能通过其各个组成部分的协同作用来实现,包括抗原呈递、淋巴细胞活化、免疫分子形成、免疫效应等一系列生理过程^[5-6]。为触发免疫应答并维持机体稳态,免疫细胞必须精确地感知、响应和适应环境刺激。这需要高度精确和高效的信号传导机制。近年来,LLPS作为一种新发现的细胞内生物分子的组织方式,已被证实在先天性免疫信号传导、免疫细胞成熟和活化中扮演重要角色。本文将阐述LLPS在免疫系统的最新研究进展,重点探讨LLPS如何参与和调控各种免疫过程,包括模式识别受体信号通路、细胞因子信号传导、T细胞和B细胞活化等。通过梳理这些研究成果,旨在揭示LLPS在免疫系统中的普遍性和重要性,为理解免

* 国家自然科学基金(No. 82222015、No. 82171001)和四川大学华西口腔医学(学)院人才队伍建设科研经费(No. RCDWJS2023-1)资助

[△] 通信作者, E-mail: chenchenzhou5510@scu.edu.cn

出版日期: 2024-11-20

疫调控机制和开发新型免疫疗法提供新的思路。

1 LLPS的介绍

有序的细胞反应是生物体实现各种生命活动的基础。细胞结构和功能的时空分离对确保亚细胞区隔和正常生理功能至关重要^[7]。细胞区室由大量有膜细胞器和无膜细胞器(membraneless organelles, MLOs)组成。有膜细胞器由单层或双层生物膜包裹,与周围环境有效隔离,高效地发挥其生理功能^[8]。最近发现,生物大分子通过LLPS形成的MLOs也为细胞反应提供了独立空间,包括核仁、应激颗粒和P颗粒^[9-10]。由于无需跨膜运输,MLOs能够与周围环境产生更快、更频繁的物质交换^[11]。MLOs通过液相的形成和分解实现细胞生物功能的动态调节^[12]。

LLPS是细胞生物学中的一个重要概念,最初在物理和化学领域被提出,它是指在细胞内部,某些蛋白质或蛋白质-核酸复合物的浓度超过阈值时,从均质溶液中自发分离成两种不同浓度的相,即高浓度相和低浓度相,并且这两种相会发生动态交换^[13]。HYMAN团队在2009年通过线虫P颗粒观察到了相分离行为^[14];随后不久,蛋白质、核仁、RNA颗粒、应激颗粒等的相分离也被陆续报道,自此,LLPS成为了靶向细胞过程的新焦点。LLPS形成的驱动力主要来自生物大分子之间的多价相互作用。这种多价相互作用主要由以下结构引起:①固有无序区(internal disordered region, IDR),又称低复杂度区(low complexity region, LCR)^[15]。IDR是蛋白质中的一种特殊结构域,具有较低的区域复杂性,它们不形成稳定的二级或三级结构,而是以高度动态和无序的状态存在。这些特征使IDR能够与多种不同的分子相互作用,同时能够快速响应环境变化^[16]。IDR的异常功能与多种疾病有关,包括神经退行性疾病和某些类型的癌症。在病理状态下,IDR可能由于突变或翻译后修饰(post-translational modifications, PTMs)的改变而影响LLPS,进而影响细胞生化功能^[17]。②折叠蛋白质中的线性重复结构域。这些结构域在蛋白质中以重复的模式出现,通常由一系列氨基酸序列组成,这些序列在蛋白质的三维结构中可能形成特定的二级或三级结构^[18]。具有线性重复结构域的折叠蛋白质通过柔性连接体串联在一起,通过特定的氨基酸序列和结构模式增加LLPS的特异性^[1]。③含RNA的重复序列,它们广泛参与了富含RNA/蛋白质MLOs的形成^[19-20]。此外,LLPS的状态也受生物大分子浓度,环境因素如pH、温度、盐浓度及细胞内因素如PTMs、RNA等调控^[21]。

越来越多的研究表明,LLPS与免疫细胞成熟和活化、免疫相关信号通路的激活、免疫调节、神经退行性疾

病和肿瘤发生有关^[22]。在多种免疫应答场景中,LLPS通过维持信号分子的浓度阈值来精细调控免疫细胞的激活状态,从而避免异常或过度的信号传导。这种功能在DNA传感途径中尤为突出,如环GMP-AMP合成酶(cyclic GMP-AMP synthase, cGAS)-干扰素基因刺激因子(stimulator of interferon genes, STING)-干扰素调节因子3(interferon regulatory factor 3, IRF3)^[3]。在先天性免疫反应网络中的枢纽蛋白中,有很大一部分是可以诱导LLPS的固有无序蛋白(intrinsically disordered proteins, IDPs)或含有IDR的蛋白^[23]。在T细胞表面,T细胞集群的形成与T细胞活化连接蛋白(linker for activation of T cells, LAT)、生长因子受体结合蛋白(growth factor receptor-bound protein 2, Grb2)和SOS1(son of sevenless 1)的多价相互作用密切相关^[24]。在B细胞受体信号通路中B细胞连接蛋白(B cell linker, BLNK)是液体凝聚体^[25]。

2 LLPS调节免疫细胞活化和关键信号传导

2.1 LLPS在免疫细胞信号传导中的功能

2.1.1 LLPS参与了RLR信号通路的关键阶段

视黄酸诱导基因 I 样受体(retinoic acid-inducible gene I-like receptors, RLR)是细胞质中的RNA感受器,在抗病毒宿主反应中发挥关键作用^[26]。RLR家族包括3个成员:视黄酸诱导基因 I (retinoic acid-inducible gene I, RIG-I)、黑色素瘤分化相关蛋白5(melanoma differentiation-associated protein 5, MDA5)以及遗传学和生理学实验室蛋白2(laboratory of genetics and physiology 2, LGP2)。RIG-I 和MDA5在识别病毒的双链RNA(dsRNA)后,发生K63链接的泛素化、构象变化和四聚化,进而与线粒体抗病毒信号蛋白(mitochondrial antiviral signaling protein, MAVS)相互作用,激活TANK结合激酶1(TANK binding kinase 1, TBK1)和IRF3,进而激活 I 型干扰素(type I interferons, IFN- I)通路。同时,这一过程也可能通过激活I κ B激酶(I κ B kinase, IKK)复合物,间接激活核因子- κ B(NF-kappaB, NF- κ B),从而诱导炎症细胞因子的表达^[27]。

最新研究表明,LLPS参与了RLR信号通路几个关键阶段。HOU等^[28]通过电子显微镜观察到,在仙台病毒(SeV)感染HEK293T细胞期间,MAVS在线粒体上形成朊病毒样聚集体,这些聚集体由自我延续的纤维状聚合物构成。这些纤维状结构的形成可能是LLPS的终端和不可逆阶段,它们通过朊病毒样聚集体激活MAVS,是信号传导的一个关键步骤。接着,DAI等^[27]发现,MAVS可以在体外和细胞内经历LLPS。WANG等^[29]使用TUBE1技术,发现SARS2-NP过表达显著减少了多泛素化形式的MAVS;

又通过SDD-AGE和免疫共沉淀实验发现, SARS2-NP通过干扰MAVS的LLPS, 减弱了MAVS的激活状态, 促进免疫逃逸。LLPS在RLR信号通路中的另一个关键作用体现在E3连接酶TRIM25(tripartite motif containing 25)上, TRIM25可通过其PRY/SPRY结构域与RNA结合, 触发LLPS, 进而招募RIG- I 进行凝聚^[30]。此外, MAVS的上游相互作用的RIG- I 和MDA5也具有LLPS的潜力, BERKE等^[31]和PEISLEY等^[32]通过电子显微镜已观察到二者都会形成信号传导能力强的丝状物, 与MAVS纤维协同作用。

2.1.2 NEMO相分离在NF- κ B信号通路中的作用

NF- κ B是细胞内重要的核转录因子, 它在免疫反应、炎症反应、细胞凋亡、应激反应、肿瘤发生等多种生物学过程中发挥着核心作用。经典NF- κ B信号通路在未激活的状态下, NF- κ B与抑制蛋白(inhibitor of κ B, I κ B)结合, 存在于细胞质中^[33]。核因子 κ B关键调节因子(NF- κ B essential modulator, NEMO)是IKK复合体的调节亚基。当细胞受到体内外各种刺激, NEMO在泛素化后能够寡聚化, 形成NEMO信号体, 激活IKK复合体, 导致I κ B蛋白的磷酸化和随后的泛素化降解^[34]。这一过程释放了NF- κ B, 使其能够转移到细胞核中并与其相关的DNA序列结合以诱导靶基因转录。

最新研究表明, NEMO信号体的形成与LLPS的形成密切相关^[35]。当细胞受到病原体感染或其他刺激时, E3泛素连接酶会被激活, 催化合成K63连接的多泛素链或线性多泛素链。NEMO含有两个泛素结合域(UBDs), 即NEMO泛素结合(NUB)域和锌指(ZF)域, 这两个结构域通过与多泛素链的多价相互作用形成LLPS。在体外实验中, DU等^[36]将纯化的NEMO蛋白与合成的多泛素链混合, 观察到NEMO形成了液态的凝聚体或液滴。在细胞内, NEMO的LLPS同样发生。研究人员通过CRISPR-Cas9技术在U2OS细胞中敲入带有mCherry标签的NEMO基因, 建立了U2OSmCherry-NEMO Knock-in细胞系, 在IL-1 β 或TNF α 刺激下, NEMO在细胞内形成了凝聚体, 这些凝聚体具有液态的特性, 能够动态融合。研究人员还发现人类免疫缺陷相关的NEMO突变体在体外和细胞内的LLPS实验中显示出弱的相分离能力, 并且不能有效地激活IKK, 表明NEMO的相分离对NF- κ B信号转导至关重要^[36]。

2.1.3 LLPS调控cGAS-STING通路

cGAS-STING通路是感知来自病原体或细胞内致病或受损DNA的主要细胞通路。DNA与cGAS的结合会产生第二信使环鸟苷单磷酸腺苷单磷酸(2'3'-cGMP-AMP, cGAMP), cGAMP结合内质网表面的STING并使其转位

至高尔基体, 在高尔基体中, STING进一步发生寡聚化和构象变化, 形成更大的信号复合物。这种复合物随后招募TBK1, TBK1磷酸化IRF3, 进一步诱导IFN- I 和炎症细胞因子的产生^[37]。DU等^[4]通过荧光恢复后光漂白(FRAP)实验和细胞内LLPS实验观察到了体内外cGAS-DNA相分离液滴的形成。实验结果进一步表明, cGAS和DNA的多价相互作用受cGAS的N端IDR、C端结构域中已确定的3个DNA结合位点、DNA长度和游离锌离子的影响。ZHOU等^[38]发现在功能上, cGAS-DNA相分离形成的液滴能够使3'-核酸修复外切酶1(three prime repair exonuclease 1, TREX1)分离到液滴的最外层, 限制TREX1对DNA的接触和降解, 同时在液滴中心保持高浓度的dsDNA与cGAS相互作用, 从而增强了cGAS的活性。进而得出结论, 保护DNA免受TREX1降解可能是cGAS LLPS促进DNA感知的主要模式。研究人员通过免疫亲和纯化技术和免疫荧光染色实验发现, 除DNA外, 多种RNA结合蛋白虽然不能诱导cGAS产生cGAMP, 但也可与cGAS发生LLPS^[38], 来微调cGAS的活性。

YU等^[39]发现, cGAMP作为STING的激活剂, 其浓度的增加促进了STING在内质网膜上形成具有高度有序的“拼图”样球形生物凝聚体。研究人员通过基因编辑技术构建STING缺失或突变的细胞模型, 发现STING蛋白的IDR和二聚化域促进STING分子间的相互作用, 增强了凝聚体的形成。STING相分离在功能上与cGAS相分离不同, STING凝聚体能够在空间上将STING-TBK1与IRF3分离, 从而防止先天性免疫的过度激活^[39]。

2.2 LLPS参与免疫细胞的活化

2.2.1 LAT簇相分离调控TCR信号通路

T细胞抗原受体(T cell receptor, TCR)信号通路是T细胞激活和发挥功能的关键调节机制。在该通路中, 下游效应蛋白通过LLPS形成动态簇发挥作用^[40]。TCR识别并与MHC-抗原肽复合物结合后触发TCR的激活, 这使其在内的免疫受体酪氨酸激活基序(immunoreceptor tyrosine-based activation motif, ITAM)酪氨酸残基被Lck和Fyn等Src家族蛋白酪氨酸激酶磷酸化^[41]。磷酸化的ITAM招募并激活蛋白激酶C相关蛋白(ZAP-70), 进一步磷酸化LAT上的酪氨酸残基, 特别是Tyr191。LAT上的磷酸化酪氨酸残基作为结合位点, 招募含有SH2/SH3结构域的信号分子, 如磷脂酶C γ 1(phospholipase C gamma 1, PLC γ 1)、Grb2、Gads和SLP76, 最终促进了信号级联反应的启动, 激活了包括MAPK、PI3K-AKT、钙信号等在内的多个信号通路^[42-43]。上述蛋白之间的多价相互作用驱动了LAT簇的形成^[44]。

PLC γ 1是TCR信号通路下游中的一个重要分子,它在TCR激活后被招募到TCR-CD3复合体附近的LAT簇中,被ZAP-70磷酸化。激活的PLC γ 1催化磷脂酰肌醇4,5-二磷酸水解,生成两个重要的第二信使:肌醇三磷酸(inositol trisphosphate, IP3)和二酰基甘油(diacyl glycerol, DAG),进一步引发钙离子和蛋白激酶C(protein kinase C, PKC)信号通路的激活^[45]。PLC γ 1可以通过两种方式促进LAT相分离。其一, BRAIMAN等^[46]利用生化方法和实时荧光成像相结合的方法,发现在Vav1、c-Cbl和SLP76的参与下, PLC γ 1的SH3或C端SH2结构域都是稳定PLC γ 1招募所必需的。PLC γ 1通过其SH2结构域与LAT直接交联,促进LAT簇相分离,从而增强TCR信号的传递。其二,由于PLC γ 1带负电荷,可以排斥同带负电荷的CD45,所以PLC γ 1通过保护LAT免受磷酸酶CD45的去磷酸化,从而稳定LAT的活性状态,并促进LAT依赖的ERK活化和SLP76磷酸化^[24]。在LAT簇内,除电荷外,蛋白质大小等其他原因也会导致类似的排斥作用。此外, LAT簇通过延长SOS1与N-WASP(neuron Wiskott-Aldrich syndrome protein)在膜上的驻留时间,来促进其下游信号传导,分别激活RAS信号通路和肌动蛋白的重构^[46-47]。值得注意的是,鉴于自然杀伤细胞和肥大细胞受体通路与T细胞具有几乎相同的LAT聚集机制, ZENG等^[24]推测PLC γ 1可能在这些细胞类型中也扮演着相似的角色。因此, LAT簇在免疫细胞信号传导中的复杂作用值得进一步深入研究,以全面理解其在免疫应答中的调控机制。

2.2.2 SLP65相分离调控BCR信号通路

在适应性免疫系统中, B细胞也扮演着至关重要的角色,它们通过表面的B细胞抗原受体(B-cell receptor, BCR)识别并结合特定的抗原,从而激活复杂的信号级联反应。在这个过程中, 支架蛋白脾酪氨酸激酶连接蛋白(src homology 2 domain-containing leukocyte phosphoprotein of 65 kDa, SLP65)起着核心作用,它不仅参与信号转导,还通过相分离机制在B细胞激活中发挥独特作用^[48]。

SLP65是一种含有SH2结构域的65 kDa蛋白,也被称为BLNK。SLP65的多功能性部分归因于其含有的多个酪氨酸磷酸化位点和脯氨酸丰富结构域,这些区域富含IDR,是相分离的关键结构特征^[49]。WONG等^[50]研究表明,与TCR激活后在质膜上形成LAT簇不同,在静息B细胞中, SLP65通过其脯氨酸富集基序(proline-rich motif, PRM)和CIN85(Cbl-interacting protein of 85 kDa)三聚体中的九个SH3结构域多价相互作用,在该研究中,研究员利用共聚焦荧光显微镜观察标记有Atto 430LS的SLP65与

CIN85及脂质囊泡(SUVs)混合后的相分离现象。结果表明,在无脂质囊泡的情况下, SLP65与CIN85在60 $\mu\text{mol/L}$ 浓度时开始发生相分离。当加入SUVs时,相分离的浓度阈值降低至0.5 $\mu\text{mol/L}$,表明脂质囊泡显著促进了相分离过程。重要的是,这一浓度与SLP65和CIN85在DG75和原代人类B细胞中的内源性浓度相似。因此, SLP65和CIN85在体外发生相分离的蛋白质浓度在体内也能找到,但只有在囊泡存在的情况下才能发生。此外,该研究表明, SLP65的N端脂质结合域具有独特的弯曲结构,能够特异性地识别和结合具有高度弯曲的膜表面,如内吞小泡或细胞膜的局部凹陷处,这种锚定机制对SLP65的相分离过程至关重要^[50]。同时,这些结果也支持SLP65凝聚物在促进钙信号传导和潜在的其他下游信号通路中的功能。

3 小结与展望

LLPS作为一种细胞内生物分子组织的新机制,在免疫学领域的相关研究取得了显著进展,使我们从新的维度进一步认识免疫系统的激活机制。本文探讨了LLPS如何参与和调控各种免疫过程,包括LLPS驱动形成的生物分子凝聚体以时空控制方式灵活调节先天免疫信号通路,如cGAS-STING-IRF3信号通路、RLR信号通路和NF- κ B信号通路,以及LAT簇和SLP65相分离在TCR和BCR信号通路传导中的作用。然而,仍有许多关于相分离和免疫系统的问题需要进一步探索和解答。例如, LLPS在细胞内的时间空间协调机制尚不清楚,特别是cGAS-STING通路中的协调。LLPS的不同形式(液滴、凝胶、细丝)是否存在功能上的差异,以及这些差异如何影响免疫信号的传递和调节。同时,同一个通路中存在多个生物分子凝聚体,他们之间如何进行信息传递,也是值得深入探讨的问题。

目前已发展出多种调控相分离的策略:①通过化学小分子,如1,6-己二醇干扰蛋白质间的疏水相互作用;②利用磷酸化、泛素化等翻译后修饰调节蛋白质的带电性质;③通过RNA结合蛋白的特异性设计RNA分子调节相分离;④使用蛋白质工程方法,如结构域突变或融合蛋白设计来调控相分离。这些策略为自身免疫疾病、炎症反应等免疫相关疾病的治疗提供了新的思路,但其特异性和临床应用效果仍需进一步研究验证。

总之,随着新兴技术的发展,如单分子成像、超分辨率显微镜和蛋白质组学等,未来我们将更精确地观察和分析LLPS在细胞内的行为。LLPS在免疫学领域的研究将有望揭示更多关于免疫调控的分子机制,为免疫相关疾病的治疗提供新的策略和靶点。

* * *

作者贡献声明 李静怡负责调查研究、初稿写作和审读与编辑写作, 周陈晨负责论文构思、经费获取、提供资源、监督指导和审读与编辑写作。所有作者已经同意将文章提交给本刊, 且对将要发表的本进行最终定稿, 并同意对工作的所有方面负责。

Author contribution LI Jingyi is responsible for investigation, writing--original draft, and writing--review and editing. ZHOU Chenchen is responsible for conceptualization, funding acquisition, resources, supervision, and writing--review and editing. All authors consented to the submission of the article to the Journal. All authors approved the final version to be published and agreed to take responsibility for all aspects of the work.

利益冲突 本文作者周陈晨是本刊编委会青年编委, 该在编辑评审过程中所有流程严格按照期刊政策进行, 且未经其本人经手处理。除此之外, 所有作者均声明不存在利益冲突。

Declaration of conflicting interests ZHOU Chenchen is a member of the Junior Editorial Board of the journal. All processes involved in the editing and reviewing of this article were carried out in strict compliance with the journal's policies and there was no inappropriate personal involvement by the author. Other than this, all authors declare no competing interests.

参 考 文 献

- [1] LI P, BANJADE S, CHENG H C, *et al.* Phase transitions in the assembly of multivalent signalling proteins. *Nature*, 2012, 483(7389): 336-340. doi: [10.1038/nature10879](https://doi.org/10.1038/nature10879).
- [2] SU X, DITLEV J A, HUI E, *et al.* Phase separation of signaling molecules promotes T cell receptor signal transduction. *Science*, 2016, 352(6285): 595-599. doi: [10.1126/science.aad9964](https://doi.org/10.1126/science.aad9964).
- [3] PROTTER D S W, PARKER R. Principles and properties of stress granules. *Trends Cell Biol*, 2016, 26(9): 668-679. doi: [10.1016/j.tcb.2016.05.004](https://doi.org/10.1016/j.tcb.2016.05.004).
- [4] DU M, CHEN Z J. DNA-induced liquid phase condensation of cGAS activates innate immune signaling. *Science*, 2018, 361(6403): 704-709. doi: [10.1126/science.aat1022](https://doi.org/10.1126/science.aat1022).
- [5] BONILLA F A, OETTGEN H C. Adaptive immunity. *J Allergy Clin Immunol*, 2010, 125(2 Suppl 2): S33-40. doi: [10.1016/j.jaci.2009.09.017](https://doi.org/10.1016/j.jaci.2009.09.017).
- [6] SHARIF H, WANG L, WANG W L, *et al.* Structural mechanism for NEK7-licensed activation of NLRP3 inflammasome. *Nature*, 2019, 570(7761): 338-343. doi: [10.1038/s41586-019-1295-z](https://doi.org/10.1038/s41586-019-1295-z).
- [7] BANANI S F, LEE H O, HYMAN A A, *et al.* Biomolecular condensates: organizers of cellular biochemistry. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2017, 18(5): 285-298. doi: [10.1038/nrm.2017.7](https://doi.org/10.1038/nrm.2017.7).
- [8] Van MEER G, VOELKER D R, FEIGENSON G W. Membrane lipids: where they are and how they behave. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2008, 9(2): 112-124. doi: [10.1038/nrm2330](https://doi.org/10.1038/nrm2330).
- [9] HIROSE T, NINOMIYA K, NAKAGAWA S, *et al.* A guide to membraneless organelles and their various roles in gene regulation. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2023, 24(4): 288-304. doi: [10.1038/s41580-022-00558-8](https://doi.org/10.1038/s41580-022-00558-8).
- [10] GOMES E, SHORTER J. The molecular language of membraneless organelles. *J Biol Chem*, 2019, 294(18): 7115-7127. doi: [10.1074/jbc.TM118.001192](https://doi.org/10.1074/jbc.TM118.001192).
- [11] ZBINDEN A, PÉREZ-BERLANGA M, De ROSSI P, *et al.* Phase separation and neurodegenerative diseases: a disturbance in the force. *Dev Cell*, 2020, 55(1): 45-68. doi: [10.1016/j.devcel.2020.09.014](https://doi.org/10.1016/j.devcel.2020.09.014).
- [12] NOTT T J, CRAGGS T D, BALDWIN A J. Membraneless organelles can melt nucleic acid duplexes and act as biomolecular filters. *Nat Chem*, 2016, 8(6): 569-575. doi: [10.1038/nchem.2519](https://doi.org/10.1038/nchem.2519).
- [13] ALBERTI S, GLADFELTER A, MITTAG T. Considerations and challenges in studying liquid-liquid phase separation and biomolecular condensates. *Cell*, 2019, 176(3): 419-434. doi: [10.1016/j.cell.2018.12.035](https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.12.035).
- [14] BRANGWYNNE C P, ECKMANN C R, COURSON D S, *et al.* Germline P granules are liquid droplets that localize by controlled dissolution/condensation. *Science*, 2009, 324(5935): 1729-1732. doi: [10.1126/science.1172046](https://doi.org/10.1126/science.1172046).
- [15] SABARI B R, DALL AGNESE A, BOIJIA A, *et al.* Coactivator condensation at super-enhancers links phase separation and gene control. *Science*, 2018, 361(6400): eaar3958. doi: [10.1126/science.aar3958](https://doi.org/10.1126/science.aar3958).
- [16] HOLEHOUSE A S, KRAGELUND B B. The molecular basis for cellular function of intrinsically disordered protein regions. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2024, 25(3): 187-211. doi: [10.1038/s41580-023-00673-0](https://doi.org/10.1038/s41580-023-00673-0).
- [17] YAN X, ZHANG M, WANG D. Interplay between posttranslational modifications and liquid-liquid phase separation in tumors. *Cancer Lett*, 2024, 584: 216614. doi: [10.1016/j.canlet.2024.216614](https://doi.org/10.1016/j.canlet.2024.216614).
- [18] MONDAL S, NARAYAN K, BOTTERBUSCH S, *et al.* Multivalent interactions between molecular components involved in fast endophilin mediated endocytosis drive protein phase separation. *Nat Commun*, 2022, 13(1): 5017. doi: [10.1038/s41467-022-32529-0](https://doi.org/10.1038/s41467-022-32529-0).
- [19] WANG J, CHOI J M, HOLEHOUSE A S, *et al.* A molecular grammar governing the driving forces for phase separation of prion-like RNA binding proteins. *Cell*, 2018, 174(3): 688-699.e16. doi: [10.1016/j.cell.2018.06.006](https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.06.006).
- [20] LIN Y, PROTTER D S W, ROSEN M K, *et al.* Formation and maturation of phase-separated liquid droplets by RNA-binding proteins. *Mol Cell*, 2015, 60(2): 208-219. doi: [10.1016/j.molcel.2015.08.018](https://doi.org/10.1016/j.molcel.2015.08.018).
- [21] REN J, ZHANG Z, ZONG Z, *et al.* Emerging implications of phase separation in cancer. *Adv Sci (Weinh)*, 2022, 9(31): e2202855. doi: [10.1002/advs.202202855](https://doi.org/10.1002/advs.202202855).
- [22] DING M, XU W, PEI G, *et al.* Long way up: rethink diseases in light of phase separation and phase transition. *Protein Cell*, 2024, 15(7): 475-492. doi: [10.1093/procel/pwad057](https://doi.org/10.1093/procel/pwad057).
- [23] LIU D, LUM K K, TREEN N, *et al.* IFI16 phase separation via multi-phosphorylation drives innate immune signaling. *Nucleic Acids Res*, 2023, 51(13): 6819-6840. doi: [10.1093/nar/gkad449](https://doi.org/10.1093/nar/gkad449).
- [24] ZENG L, PALAIA I, ŠARIĆ A, *et al.* PLCγ1 promotes phase separation of T cell signaling components. *J Cell Biol*, 2021, 220(6): e202009154. doi: [10.1083/jcb.202009154](https://doi.org/10.1083/jcb.202009154).
- [25] SHELBY S A, CASTELLO-SERRANO I, WISSER K C, *et al.* Membrane phase separation drives responsive assembly of receptor signaling domains. *Nat Chem Biol*, 2023, 19(6): 750-758. doi: [10.1038/s41589-023-01268-8](https://doi.org/10.1038/s41589-023-01268-8).
- [26] ONOMOTO K, ONOGUCHI K, YONEYAMA M. Regulation of RIG-I-like receptor-mediated signaling: interaction between host and viral

- factors. *Cell Mol Immunol*, 2021, 18(3): 539-555. doi: [10.1038/s41423-020-00602-7](https://doi.org/10.1038/s41423-020-00602-7).
- [27] DAI T, ZHANG L, RAN Y, *et al*. MAVS deSUMOylation by SENP1 inhibits its aggregation and antagonizes IRF3 activation. *Nat Struct Mol Biol*, 2023, 30(6): 785-799. doi: [10.1038/s41594-023-00988-8](https://doi.org/10.1038/s41594-023-00988-8).
- [28] HOU F, SUN L, ZHENG H, *et al*. MAVS forms functional prion-like aggregates to activate and propagate antiviral innate immune response. *Cell*, 2011, 146(3): 448-461. doi: [10.1016/j.cell.2011.06.041](https://doi.org/10.1016/j.cell.2011.06.041).
- [29] WANG S, DAI T, QIN Z, *et al*. Targeting liquid-liquid phase separation of SARS-CoV-2 nucleocapsid protein promotes innate antiviral immunity by elevating MAVS activity. *Nat Cell Biol*, 2021, 23(7): 718-732. doi: [10.1038/s41556-021-00710-0](https://doi.org/10.1038/s41556-021-00710-0).
- [30] CHEN S T, CHEN L, LIN D S, *et al*. NLRP12 regulates anti-viral RIG-I activation via interaction with TRIM2. *Cell Host Microbe*, 2019, 25(4): 602-616. e7. doi: [10.1016/j.chom.2019.02.013](https://doi.org/10.1016/j.chom.2019.02.013).
- [31] BERKE I C, YU X, MODIS Y, *et al*. MDA5 assembles into a polar helical filament on dsRNA. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2012, 109(45): 18437-18441. doi: [10.1073/pnas.1212186109](https://doi.org/10.1073/pnas.1212186109).
- [32] PEISLEY A, WU B, YAO H, *et al*. RIG-I forms signaling-competent filaments in an ATP-dependent, ubiquitin-independent manner. *Mol Cell*, 2013, 51(5): 573-583. doi: [10.1016/j.molcel.2013.07.024](https://doi.org/10.1016/j.molcel.2013.07.024).
- [33] ZHANG Q, LENARDO M J, BALTIMORE D. 30 years of NF- κ B: a blossoming of relevance to human pathobiology. *Cell*, 2017, 168(1/2): 37-57. doi: [10.1016/j.cell.2016.12.012](https://doi.org/10.1016/j.cell.2016.12.012).
- [34] HARDING O, HOLZER E, RILEY J F, *et al*. Damaged mitochondria recruit the effector NEMO to activate NF- κ B signaling. *Mol Cell*, 2023, 83(17): 3188-3204. e7. doi: [10.1016/j.molcel.2023.08.005](https://doi.org/10.1016/j.molcel.2023.08.005).
- [35] GOEL S, OLIVA R, JEGANATHAN S, *et al*. Linear ubiquitination induces NEMO phase separation to activate NF- κ B signaling. *Life Sci Alliance*, 2023, 6(4): e202201607. doi: [10.26508/lsa.202201607](https://doi.org/10.26508/lsa.202201607).
- [36] DU M, EA C K, FANG Y, *et al*. Liquid phase separation of NEMO induced by polyubiquitin chains activates NF- κ B. *Mol Cell*, 2022, 82(13): 2415-2426. e5. doi: [10.1016/j.molcel.2022.03.037](https://doi.org/10.1016/j.molcel.2022.03.037).
- [37] CHEN C, XU P. Cellular functions of cGAS-STING signaling. *Trends Cell Biol*, 2023, 33(8): 630-648. doi: [10.1016/j.tcb.2022.11.001](https://doi.org/10.1016/j.tcb.2022.11.001).
- [38] ZHOU W, MOHR L, MACIEJOWSKI J, *et al*. cGAS phase separation inhibits TREX1-mediated DNA degradation and enhances cytosolic DNA sensing. *Mol Cell*, 2021, 81(4): 739-755. e7. doi: [10.1016/j.molcel.2021.01.024](https://doi.org/10.1016/j.molcel.2021.01.024).
- [39] CHEN H, XU X, HU W, *et al*. Self-programmed dynamics of T cell receptor condensation. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2023, 120(28): e2217301120. doi: [10.1073/pnas.2217301120](https://doi.org/10.1073/pnas.2217301120).
- [40] YU X, ZHANG L, SHEN J, *et al*. The STING phase-separator suppresses innate immune signalling. *Nat Cell Biol*, 2021, 23(4): 330-340. doi: [10.1038/s41556-021-00659-0](https://doi.org/10.1038/s41556-021-00659-0).
- [41] FASBENDER F, CLAUS M, WINGERT S, *et al*. Differential requirements for src-family kinases in SYK or ZAP70-mediated SLP-76 phosphorylation in lymphocytes. *Front Immunol*, 2017, 7(8): 789. doi: [10.3389/fimmu.2017.00789](https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.00789).
- [42] BILAL M Y, ZHANG E Y, DINKEL B, *et al*. GADS is required for TCR-mediated calcium influx and cytokine release, but not cellular adhesion, in human T cells. *Cel Signal*, 2015, 27(4): 841-850. doi: [10.1016/j.cellsig.2015.01.012](https://doi.org/10.1016/j.cellsig.2015.01.012).
- [43] YABLONSKI D. Bridging the gap: modulatory roles of the Grb2-family adaptor, Grabs, in cellular and allergic immune responses. *Front Immunol*, 2019, 25(10): 1704. doi: [10.3389/fimmu.2019.01704](https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.01704).
- [44] DITLEV J A, VEGA A R, KÖSTER D V, *et al*. A composition-dependent molecular clutch between T cell signaling condensates and actin. *ELife*, 2019, 8: e42695. doi: [10.7554/eLife.42695](https://doi.org/10.7554/eLife.42695).
- [45] LU W, HELOU Y A, SHRINIVAS K, *et al*. The phosphatidylinositol-transfer protein Nir3 promotes PI(4, 5)P(2) replenishment in response to TCR signaling during T cell development and survival. *Nat Immunol*, 2023, 24(1): 136-147. doi: [10.1038/s41590-022-01372-2](https://doi.org/10.1038/s41590-022-01372-2).
- [46] BRAIMAN A, BARDA-SAAD M, SOMMERS C L, *et al*. Recruitment and activation of PLCgamma1 in T cells: a new insight into old domains. *EMBO J*, 2006, 25(4): 774-784. doi: [10.1038/sj.emboj.7600978](https://doi.org/10.1038/sj.emboj.7600978).
- [47] HUANG W Y C, ALVAREZ S, KONDO Y, *et al*. A molecular assembly phase transition and kinetic proofreading modulate ras activation by SOS. *Science*, 2019, 363(6431): 1098-1103. doi: [10.1126/science.aau5721](https://doi.org/10.1126/science.aau5721).
- [48] OELLERICH T, BREMES V, NEUMANN K, *et al*. The B-cell antigen receptor signals through a preformed transducer module of SLP65 and CIN85. *EMBO J*, 2011, 30(17): 3620-3634. doi: [10.1038/emboj.2011.251](https://doi.org/10.1038/emboj.2011.251).
- [49] SIEME D, ENGELKE M, REZAEI-GHALEH N, *et al*. Autoinhibition in the signal transducer CIN85 modulates B cell activation. *J Am Chem Soc*, 2024, 146(1): 399-409. doi: [10.1021/jacs.3c09586](https://doi.org/10.1021/jacs.3c09586).
- [50] WONG L E, BHATT A, ERDMANN P S, *et al*. Tripartite phase separation of two signal effectors with vesicles priming B cell responsiveness. *Nat Commun*, 2020, 11(1): 848. doi: [10.1038/s41467-020-14544-1](https://doi.org/10.1038/s41467-020-14544-1).

(2024-09-22 收稿, 2024-11-07 修回)

编辑 姜 恬



开放获取 本文使用遵循知识共享署名—非商业性使用 4.0 国际许可协议 (CC BY-NC 4.0), 详细信息请访问

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>。

OPEN ACCESS This article is licensed for use under Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International license (CC BY-NC 4.0). For more information, visit <https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>.

© 2024 《四川大学学报(医学版)》编辑部

Editorial Office of *Journal of Sichuan University (Medical Sciences)*