

**СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ АППАРАТА ГОЛЬДЖИ\***

© *Е. С. Снигиревская, Ю. Я. Соколова, Я. Ю. Комиссарчик*

*Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург;  
электронный адрес: snigir@mail.cytspb.rssi.ru*

В обзоре рассматриваются современные данные о структуре и функции аппарата Гольджи (АГ). Обсуждаются возможные пути транспорта белков через АГ, существующие модели его структурно-функциональной организации, его биогенез, посттрансляционная модификация и сортировка белков и липидов, регуляция процессов их транспорта, участие в этих процессах белков окаймления COPI, COPII и клатрина, а также белков слияния (SNAREs) и малых ГТФаз (ARF, SAR1). Кроме того, в обзоре акцентируется внимание на ультраструктурных характеристиках АГ и их изменениях при различных функциональных состояниях клетки и физиологических воздействиях. В обзор включены результаты собственных исследований, посвященных возможному участию АГ в водном транспорте, а также структуре атипичного АГ паразитических протистов — микроспоридий.

Ключевые слова: аппарат Гольджи, внутриклеточный транспорт, ультраструктура клетки, эпителий, микроспоридии, иммуноцитохимия, электронная и конфокальная микроскопия.

Принятые сокращения: АГ — аппарат Гольджи, ARF — фактор рибозилирования АДФ, CGN — циссеть АГ, COPI или COPII — белки окаймления I или II типа, ER — эндоплазматический ретикулум, ERGIC — промежуточный компартмент между ER и АГ, FRET — Фёрстеровский безызлучательный перенос энергии, GFP — зеленый флуоресцентный белок, KDEL — сигнальный мотив резидентных белков ER, Man-6-P или M6P — маннозо-6-фосфат, NSF — фактор, чувствительный к N-этилмалеимиду, SNAP — растворимый белок прикрепления, NSF — фактор, чувствительный к N-этилмалеимиду, SNAP — растворимый белок прикрепления NSF, PC — проколлаген, SNARE — рецептор к SNAP, tER — переходный ER, t-SNARE — SNARE мишени, v-SNARE — SNARE пузырька, TGN — транссеть АГ, VSVG — гликопротеин вируса везикулярного стоматита, VTC — везикуло-тубулярный кластер.

Вместе с эндоплазматическим ретикулумом (ER) и плазматической мембраной аппарат Гольджи (АГ) составляет единую мембранную систему клетки, в пределах которой происходят процессы обмена белками и липидами с помощью направленного и регулируемого внутриклеточного мембранного транспорта. При этом каждая из мембранных органелл характеризуется уникальным составом белков и липидов. Основная функция АГ — его участие в секреции продуктов, синтезируемых в клетке. Выполнению этой функции способствуют высокая специализация этой органеллы и способность ее к трансформациям в ответ на изменяющиеся нужды клеток.

Аппарат Гольджи, названный сначала сетчатым аппаратом, был обнаружен в 1898 г. итальянским ученым Камилло Гольджи (Golgi, 1898) в клетках Пуркиньи при использовании изобретенного им метода серебрения. За разработку этого метода для изучения нервных клеток и за работу по тонкой анатомии центральной нервной системы, в которую вошли данные по обнаружению сетчатого аппарата, в 1906 г. Гольджи вместе с Рамон-Кахалем получили Нобелевскую премию по физиологии и медицине.

Начиная с 1902 г., когда был предложен новый метод выявления «сетчатого аппарата» с помощью осмирования (Kopsh, 1902), появляется довольно много работ, посвященных его исследованию. Было показано, что АГ встречается не только в нервных клетках, но и во всех других. На широком сравнительном и экспериментальном материале Д. Н. Насонов, в частности, продемонстрировал постоянную связь возникновения гранул секрета с элементами АГ и сделал очень важное предположение о том, что материал для формирования гранул приходит в АГ извне, из каких-то других внутриклеточных структур (Nassonov, 1923). В те годы было еще неясно, где происходит основной синтез белков в клетке.

Современный этап в изучении ультраструктуры АГ с помощью электронного микроскопа начинается с 1950-х годов. В период так называемой Золотой эры электронно-микроскопических исследований (60—70-е годы XX в.) получен ряд существенных результатов, касающихся ультраструктурной и иммуноцитохимической организации АГ, что позволило создать ряд моделей его структурно-функциональной организации. Конец 1960-х—начало 1970-х годов были ознаменованы работами Паладе с сотрудниками, посвященными изучению ультраструктуры АГ и его взаимоотношений с другими органеллами в экзокринных клетках поджелудочной железы. Паладе

\* Статья перепечатывается из № 1, т. 48, 2006 г. из-за технического дефекта рисунков.

были открыты векторный транспорт секреторных продуктов, существование везикулярного транспорта и роль АГ в концентрировании и упаковке синтезированных белков в секреторные гранулы (Palade, Jamison, 1967; Palade, 1975). Уже в середине 1960-х годов была изучена роль АГ в гликозилировании секретируемых клеткой веществ (гликолипидов и гликопротеинов) (Neutra, Leblond, 1966). Механизмы слияния различных везикулярных компартментов впервые были охарактеризованы на нервных терминалях, на примере высвобождения нейротрансмиттеров (Söllner et al., 1993).

В последние годы широко используются различные структурно-химические подходы для изучения процессов внутриклеточного транспорта и его регуляции, процессов внутриклеточной сигнализации: иммунная электронная и конфокальная микроскопия, коррелятивная световая электронная микроскопия, электронно-микроскопическая томография, мечение секретируемых продуктов (карга) зеленым флуоресцентным белком (GFP) и наблюдение живого материала с помощью конфокального микроскопа и киносъемки, использование фотобличинга для изучения мобильности белков *in vivo*. В это же время широкое применение получил высокоразрешающий флуоресцентный метод, позволяющий анализировать взаимодействие белков *in vivo* на расстоянии порядка 6 нм, основанный на принципе Фёрстеровского безызлучательного переноса энергии (FRET) (Vereb et al., 2004; Sato, Nacano, 2005).

Значительная часть биохимических и молекулярно-биологических данных получена на дрожжах с использованием различных температурочувствительных мутаций генов, отвечающих за разные этапы секреции, так называемых *sec*-мутантов (Pelham, 1999). На дрожжах выявлено большое количество белков, регулирующих процессы внутриклеточного транспорта и внутриклеточной сигнализации. Изучение секреторного аппарата дрожжей, ряда свободноживущих (Becker, Melkonian, 1996; Dacks et al., 2003) и особенно паразитических протистов, в частности *Giardia lamblia* (Lujan Tiuz, 2003), *Trichomonas vaginalis* (Benchimol et al., 2001), *Entamoeba histolytica* (Ghosh et al., 1999; Manning-Cela et al., 2003), *Plasmodium falciparum* (Banting et al., 1996), *Toxoplasma gondii* (Haager et al., 1999; Stedman et al., 2003), *Tripansomoma brucei* (McConville et al., 2002) и др., обладающих зачастую морфологически не выраженным или крайне аберрантным АГ со специализированными функциями, значительно способствовало пониманию принципов функционирования различных этапов внутриклеточной секреции и формулированию концепции «минимальных секреторных систем» (Banting et al., 1995; Lujan et al., 1995).

В настоящем обзоре мы попытались обобщить современные данные о структуре и функции АГ, опубликованные в ряде обзоров и экспериментальных статьях. Чтобы продемонстрировать альтернативные подходы к изучению роли и структурных вариаций АГ в эукариотных клетках, мы включили в обзор результаты собственных исследований, посвященных возможному участию АГ в водном транспорте, а также структуре атипичного АГ паразитических протистов — микроспоридий.

### Функциональная роль АГ

Основная функция АГ — его участие в секреторных процессах клетки. К настоящему времени динамика процессов транспорта карго прослежена достаточно полно,

хотя до сих пор имеется много неясных вопросов. Большинство исследователей принята следующая общая схема движения карго: синтезированные в эндоплазматическом ретикулуме (ER) белки концентрируются в сайтах выхода (exit sites) переходного ER (tER) благодаря активности коацерватного комплекса COPII и сопутствующих компонентов и транспортируются в промежуточный между ER и АГ компартмент (ERGIC), из которого они переходят в АГ в отпочковывающихся пузырьках, или по тубулярным структурам. Белки ковалентно модифицируются, проходя через цистерны АГ, и на транс-поверхности АГ сортируются и отправляются к местам своего назначения. Секреция белков требует массивного встраивания новых мембранных компонентов в плазматическую мембрану. Для восстановления баланса мембран служит конститутивный и рецепторопосредованный эндоцитоз (Orsi et al., 1981; Dumermuth, Moore, 1998). Эндо- и экзоцитозные пути переноса мембран имеют общие закономерности в направленности движения мембранных переносчиков к соответствующей мишени и в специфичности слияния и почкования. Основным местом встречи этих путей является АГ (Farquhar, Palade, 1998).

Через АГ проходят три группы белков: белки плазматической мембраны, белки, предназначенные на экспорт из клетки, и лизосомные ферменты. В нем происходит гликозилирование олигосахаридных цепей белков и липидов, сульфатирование ряда сахаров и тирозиновых остатков белков, а также активация предшественников полипептидных гормонов и нейропептидов.

Большинство белков начинает гликозилироваться в шероховатом ER посредством добавления к растущей полипептидной цепи N-связанных олигосахаридов (Kornfeld, Kornfeld, 1985). Если гликопротеин свернут в нужной конформации, он выходит из ER и направляется в АГ, где происходит его посттрансляционная модификация (processing).

В гликозилировании секретируемых продуктов принимают участие ферменты — гликозилтрансферазы. Они участвуют в ремоделировании N-связанных боковых олигосахаридных цепей и добавлении O-связанных гликанов и олигосахаридных частей протеогликанов и гликолипидов (Lippincott-Schwartz, Zaal, 2000; Aebi, Hennett, 2001; Opat et al., 2001; Van Vliet et al., 2003).

Кроме того, показано, что в модификации олигосахаридов участвуют ферменты  $\alpha$ -маннозидазы I и II, которые также являются резидентными белками АГ (Velasco et al., 1993; Van Vliet et al., 2003).

В АГ происходит также гликозилирование липидов. Липидный состав мембран ER, АГ и плазматической мембраны различается по количеству и качеству содержащихся в них фосфолипидов и холестерина (см. обзор: Lippincott-Schwartz, Zaal, 2000). В ER липиды обогащены глицерофосфолипидами, а ПМ содержит большое количество холестерина и гликофинголипидов. Показано также, что от цис- к транс-поверхности АГ в его мембранах увеличиваются концентрации сфингомиелина и холестерина, продуцирующихся из церамида и фосфатидилхолина ER с помощью фермента АГ сфингомиелин-синтазы (Futerman et al., 1990). В более поздних компартментах АГ синтезируются более зрелые гликофинголипиды, включающиеся затем в состав плазматической мембраны (Lannert et al., 1998). Связь холестерина со сфинголипидом приводит к сегрегации ненасыщенных липидов бислоя и образованию специализированных

липидно-протеиновых мембранных доменов, так называемых рафтов. При этом ненасыщенные глицеролипиды циркулируют таким образом, что этих специализированных доменов становится больше в транс-цистернах АГ и затем в плазматической мембране (Holthuis et al., 2001). Они играют существенную роль в таких клеточных процессах, как эндоцитоз, образование кавеол и кавеосом, мембранный транспорт и др.

### Структурно-химическая организация АГ

Мембранные компоненты АГ. АГ животных и растений характеризуется весьма сложной структурной организацией, представить себе которую можно лишь с помощью трехмерной реконструкции по ультратонким срезам. Он состоит из многих стопок (stacks) цистерн, связанных между собой в единую мембранную систему. В целом АГ представляет собой полусферу, основание которой обращено к ядру. В отличие от многоклеточных

организмов АГ дрожжей представлен изолированными единичными цистернами, окруженными мелкими пузырьками, тубулярной сетью, секреторными везикулами и гранулами (Preuss et al., 1992; Rambourg et al., 1993, 1996, 2001). И только у мутантов дрожжей *Sec7* и *Sec14* наблюдается структура, напоминающая стопку цистерн клеток млекопитающих (Rambourg et al., 1993, 1996).

Для АГ в отличие от других внутриклеточных оргanelл характерна полярность его структуры (рис. 1). Каждая стопка имеет два полюса: проксимальный (формирующийся) полюс, или цис-поверхность, и дистальный (зрелый), или транс-поверхность. Рассматривается всего 5 функционально различных компартментов АГ: промежуточные везикуло-тубулярные структуры (VTC или ERGIC — ER-Golgi intermediate compartment), цис (cis)-цистерна, срединные (medial) цистерны, транс (trans)-цистерна и тубулярная сеть, примыкающая к трансцистерне, — транссеть Гольджи (TGN). Обычно стопка цистерн слегка изогнута таким образом, что вогнутая трансповерхность обращена к ядру.

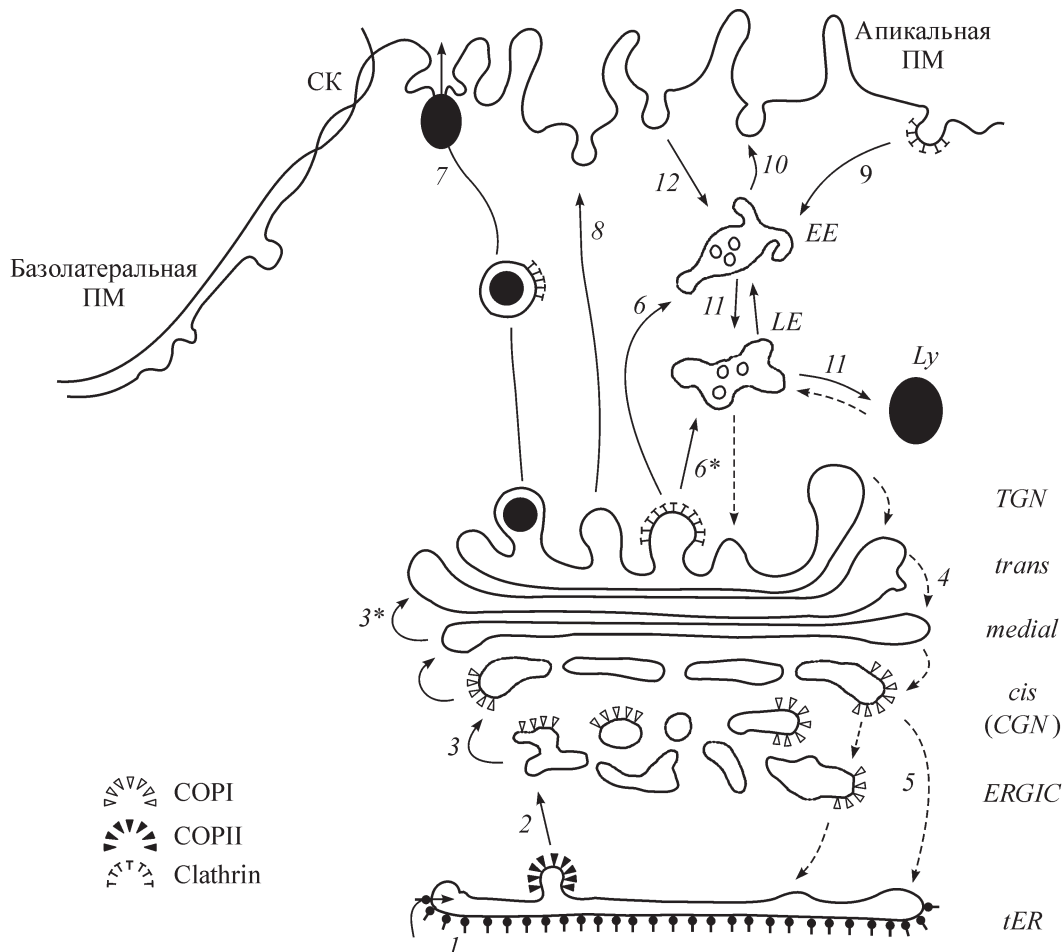


Рис. 1. Схематическое изображение аппарата Гольджи (АГ) и основных путей транспорта к, через и от АГ.

Изображены пять компартментов АГ: промежуточный (ERGIC), цис (cis), срединный (medial), транс (trans), транссеть Гольджи (TGN). 1 — вход синтезированных белков, мембранных гликопротеинов и лизосомных ферментов в цистерну переходного ЭР (tER), прилегающую к АГ, и 2 — их выход из ЭР в пузырьках, окаймленных COPII (антероградный транспортер); 3 — возможный транспорт карго от тубуло-везикулярных кластеров к цис-цистерне АГ в пузырьках COPI; 3\* — транспорт карго от более ранних к более поздним цистернам; 4 — возможный ретроградный везикулярный транспорт карго между цистернами АГ; 5 — возврат резидентных протеинов из АГ в tER с помощью пузырьков, окаймленных COPI (ретроградный транспорт); 6 и 6\* — перенос лизосомных ферментов с помощью окаймленных клатрином пузырьков соответственно в ранние (EE) и поздние (LE) эндосомы; 7 — регулируемая секреция секреторных гранул; 8 — конститутивное встраивание мембранных белков в апикальную плазматическую мембрану (ПМ); 9 — опосредованный рецептором эндоцитоз с помощью окаймленных клатрином пузырьков; 10 — возвращение ряда рецепторов из ранних эндосом в плазматическую мембрану; 11 — транспорт лигандов из EE в LE и в лизосомы (Ly); 12 — транспорт лигандов в неклатриновых пузырьках.



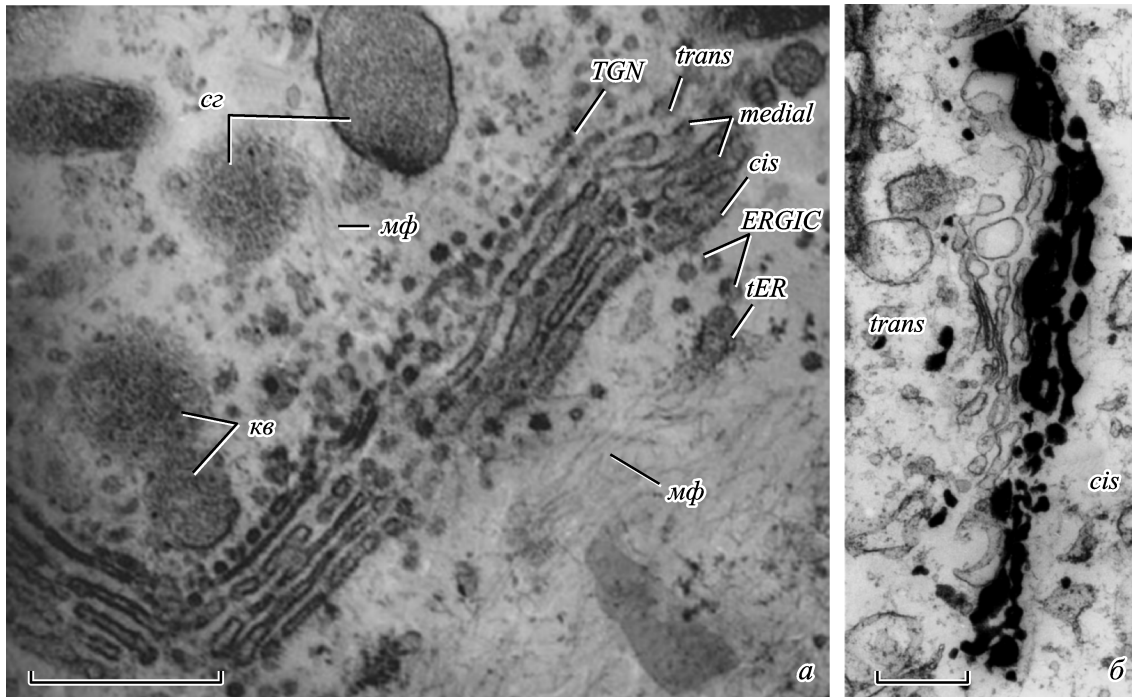


Рис. 2. АГ гранулярной клетки эпителия мочевого пузыря лягушки при исходно низкой водной проницаемости.

*a* — АГ состоит из пяти компартментов: промежуточного (ERGIC), цис (*cis*), срединного (*medial*), транс (*trans*) и транссети (TGN). Вблизи цисповерхности АГ располагается переходный ЭР (*tER*). Со стороны трансповерхности видны мелкие пузырьки, конденсированные вакуоли (*кв*) и секреторные гранулы (*c2*) с примыкающими к ним микрофиламентами (*mf*); *б* — длительное осмирование эпителия мочевого пузыря. Восстановленный осмий метит цискомпоненты АГ. Масштаб — 0,5 мкм.

Классическими объектами для изучения ультраструктуры АГ у многоклеточных являются секреторные (эндокринные, нейроэндокринные и экзокринные) эпителиальные клетки. Сравнительно морфофункциональные исследования таких клеток показали, что размер стопки прямо связан с секреторной активностью клетки. В среднем в составе АГ описывается от 3 до 8 цистерн (Farquhar, Palade, 1981), тогда как в активно секретирующих клетках стопка может состоять из большего количества цистерн. Например, в экзокринных клетках поджелудочной железы, слизистых клетках Бруннеровской железы кишки мыши и некоторых других насчитывается от 7 до 13 параллельных цистерн (Rambourg et al., 1987).

Стопка АГ гранулярной клетки эпителия мочевого пузыря лягушки состоит из 4—6 уплощенных цистерн, располагающихся параллельно друг другу на расстоянии 15—20 нм (рис. 2, *a*) (Snigirevskaya, Komissarcnik, 2000). Просвет цистерн также составляет 15—20 нм. Края цистерн несколько расширены (до 30—40 нм). Цистерны окружены как гладкими, так и окаймленными пузырьками диаметром 50—90 нм.

Краевые цис- и транс-компоненты отличаются от срединных более сложной структурой. Цис-цистерна АГ содержит поры и тубулярные компоненты, возможно, соединяющие ее с ER, а от транс-цистерны, как уже было сказано выше, отходит сеть разветвленных тубулярных структур (диаметром 30—40 нм) с отпочковывающимися от них мелкими пузырьками — транс-Гольджи сеть. К цис-поверхности АГ прилегает цистерна ER, у которой мембрана со стороны АГ лишена прикрепленных к ней рибосом, но содержит высокоорганизованные мембранные домены, так называемые сайты выхода (*exit sites*), и многочисленные мелкие почки, часто имеющие

слегка осмиофильное окаймление (Farquhar, Palade, 1981; Orci et al., 1991; Bahhykh et al., 1998; Tang et al., 1999). Это и есть так называемый переходный ER (*tER*).

Везикуло-тубулярный компартмент (VTC) является промежуточным элементом (ERGIC) между цистернами АГ и ER (Schweizer et al., 1990; Clermont et al., 1993; Bannikh et al., 1996; Bannikh, Balch, 1997; Mironov et al., 1997; Миронов и др., 1998; Hauri et al., 2000; Fan et al., 2003; Polischuk et al., 2003; Trucco et al., 2004). Он представлен мелкими пузырьками с окаймлением COPI и COPII, узкими и расширенными тубулами, а также крупными саккулярными структурами, которые, по-видимому, возникают посредством гомотипического слияния пузырьков, потерявших свое окаймление COPII (Stephens, Peperkok, 2002), или представляют собой крупные мембранные переносчики карго из ER в АГ. Они были визуализированы в области ERGIC с помощью методов электронной микроскопии (Saraste, Kuismanen, 1992; Bannykh et al., 1996; Hermo, Smith, 1998; Horstmann et al., 2003), а также при мечении секреторного продукта, в частности VSVG — зеленым флуоресцирующим белком GFP, на живых клетках в конфокальном микроскопе (Mironov et al., 1997, 2003; Presley et al., 1997; Scales et al., 1997; Klumperman, 2000; Trucco et al., 2004). Тубулярные связи описаны не только между ER и цис-цистерной, но также и между всеми цистернами АГ (Trucco et al., 2004).

К вогнутой транс-поверхности АГ примыкают его производные: секреторные гладкие пузырьки, окаймленные клатрином пузырьки, лизосомы, конденсированные вакуоли (или незрелые секреторные гранулы) и зрелые секреторные гранулы (рис. 1; 2, *a, б*). Мембранные белки упаковываются в мелкие пузырьки с прозрачным



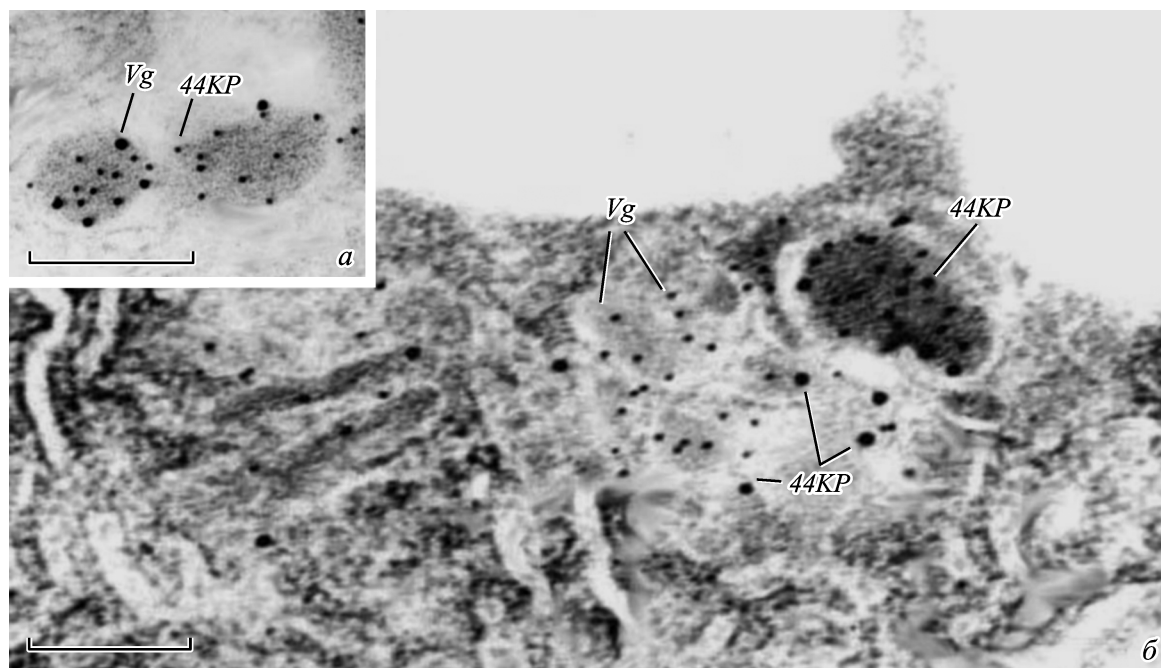


Рис. 3. Участки трофоцитов жирового тела комара в период вителлогенеза.

*a, б* — видна колокализация различных желточных белков, меченных соответствующими первыми и вторыми антителами, конъюгированными с коллоидным золотом разного размера: вителлогенина (*Vg*) (10 нм) и белка *44KP* (15 нм) в секреторных гранулах и в секреторных гранулах и цистернах АГ соответственно. Масштаб — 0.2 мкм.

содержимым и гладкой ограничивающей мембраной, которые, как традиционно считается, встраиваются в плазматическую мембрану конститутивным образом. Однако, используя коррелятивный подход, который позволяет наблюдать в световом и электронном микроскопах одни и те же структуры, Полищук и соавторы (Polischuk et al., 2000) показали, что большинство мембранных переносчиков, транспортирующих карго от АГ к плазматической мембране, имеет тубуло-саккулярную форму. Клатриновые пузырьки, содержащие лизосомные ферменты, сливаются с эндосомным компартментом, образуя лизосомы (Brown et al., 1986).

TGN является также местом формирования конденсированных вакуолей, которые после ряда изменений (размеров, химического состава и др.) превращаются в зрелые автономные секреторные гранулы (Orci et al., 1984, 1987; Tooze, 1998). Наличие секреторных гранул является характерной морфологической особенностью секреторных клеток. Размер гранул в разных клетках может варьировать, но они всегда имеют электронно-плотное содержимое. Иммуноцитохимическими методами конфокальной и электронной микроскопии локализованы различные белки в специализированных секреторных клетках, таких как ацинарные клетки поджелудочной железы (Orci et al., 1984, 1987; Ravazzola et al., 1984; Bendayan et al., 1995; Walse, Edvardson, 2002), питuitарные эндокринные клетки (Uchiyama et al., 1991) и др. В ряде случаев в одной и той же грануле сосуществуют разные белки. Например, в островковых клетках поджелудочной железы некоторые клетки А содержат гранулы, в которых с помощью иммуномечения коллоидным золотом выявлены одновременно глюкагон и панкреатический полипептид РР, тогда как в других клетках выявляется только глюкагон (Park, Bendayan, 1992). Аналогичная колокализация разных желточных белков в пределах од-

ной и той же гранулы описана и в трофоцитах жирового тела комаров в период вителлогенеза (Snigirevskaya et al., 1997; Raikhel, Snigirevskaya, 1998) (рис. 3, *a, б*).

Следует сказать о наиболее широко используемых в электронной микроскопии методах идентификации цис- и транскомпарментов АГ посредством цитохимических реакций. Так, при использовании метода длительной импрегнации клеток осмием цис-цистерны АГ и переходные компартменты между ER и АГ (VTC или ERGIC) в электронной микроскопии окрашиваются в черный цвет из-за аккумуляции восстановленного осмия (рис. 2, *б*). При исследовании специфических ферментов нуклеозиддифосфатазы (тиамин-пирофосфатазы) (Novikoff, Goldfisher, 1961; Friend, 1969), кислой фосфатазы (Friend, 1969) и NADПазы (Smith, 1980) продукты цитохимической реакции окрашивают в черный цвет трансцистерны.

В ряде работ отмечалось, что от цис- к транс-поверхности АГ толщина мембран увеличивается (Orci et al., 1981). Возможно, это связано с тем, что в пределах АГ имеется градиент распределения доменов, обогащенных сфинголипидами и холестерином (рафтов), концентрация которых растет от цис- к транс-поверхности (Nezil, Bloom, 1992; Holthuis et al., 2001).

Элементы цитоскелета. Важную роль в поддержании пространственной организации как экзо-, так и эндоцитозного путей в клетке отводят элементам цитоскелета — микротрубочкам и микрофиламентам (Thyberg, Moskalevsky, 1989; Lane, Allan, 1998; Lippincott-Schwartz, 1998; Снигиревская, Комиссарчик, 1999, 2003; Starnes, 2002). Показано, что связь компарментов АГ с микротрубочками и микрофиламентами является одной из его важных ультраструктурных характеристик (рис. 2, *a, б, a*). Предполагается, что имеет место ассоциация плюс-концов микротрубочек с мембранами АГ, в связи с чем стопка цистерн закоривается ими, а переме-

щение органеллы к centrosome осуществляется с помощью моторных белков. Еще в 1900 г. Баловицем была обнаружена связь сетчатого аппарата с centrosферой (Ballowitz, 1900). Автор считал, что сетчатый аппарат является опорой centrosферы, и дал ему название «центроформим». Сейчас установлена обратная зависимость — АГ удерживается в определенном положении в клетке с помощью микротрубочек, отходящих от centrosомы (рис. 6, а). Как показано в последние годы, положение АГ в клетке поддерживается моторными белками — цитоплазматическим динеином, который тянет органеллу в направлении минус-конца микротрубочек (Lippincott-Schwartz et al., 1990; Burkhardt et al., 1997; Allan et al., 2004), и кинезином, в основном двигающим его к плюс-концу (Feiguin et al., 1994). Таким образом, положение АГ в клетке определяется взаимодействием этих двух больших семейств крупномолекулярных моторных белков.

Участие микротрубочек в разных этапах секреторного пути было продемонстрировано в опытах по ингибированию секреции различными агентами, деполимеризующими их (Saraste, Svensson, 1991; Yang, Storrie, 1998). Так, действие нокадазола приводит к фрагментации АГ и распределению его остатков по цитоплазме, что нарушает нормальную секрецию белков (Minin, 1997; Cole et al., 1998; Lane, Allan, 1998; Storrie et al., 1998; Yang, Storrie, 1998; Robertson, Allan, 2000; Puri, Lindstedt, 2003). При отмычке реагента восстанавливается как исходное морфологическое состояние клетки, так и нормальная секреция белков. При этом, как подчеркивается в ряде работ, связанные с актином моторные белки в эти процессы не включаются (Turner, Tartakoff, 1989; Yang, Storrie, 1998). Как уже упоминалось, в транспорте мембранных переносчиков от ER к АГ и ретроградном транспорте пузырьков COPI по микротрубочкам участвуют моторные белки из группы кинезинов (см. обзор: Allan et al., 2004). Кроме того, кинезинам принадлежит основная роль и в транспортировке секреторных пузырьков от TGN к плазматической мембране (Hirokawa, 1998; Lane, Allan, 1998).

Важная роль микротрубочек в секреторном пути была продемонстрирована также на живых объектах с помощью конфокального микроскопа посредством прямой визуализации движения G-протеина вируса везикулярного стоматита (VSVG), меченного GFP, от ER к АГ в культуре клеток млекопитающих (Cole, Lippincott-Schwartz, 1995; Presley et al., 1997). Работа по мечению секреторных белков GFP и наблюдение их движения в конфокальном микроскопе подтвердили также старые электронно-микроскопические работы, выявившие физическую связь секреторных везикул с микротрубочками (Orci et al., 1973; Wacker et al., 1997). Рис. 6, б демонстрирует наличие такой связи между микротрубочкой и секреторной гранулой в гранулярной клетке эпителия мочевого пузыря лягушки.

Несмотря на то что данные об участии актина в секреции не такие четкие, как в эндоцитозном пути, предполагается, что актиновый цитоскелет также необходим для нормального функционирования АГ. При электронно-микроскопическом исследовании АГ гранулярных клеток мочевого пузыря лягушки микрофиламенты выявляются вблизи цистерн АГ и секреторных гранул, формирующихся на трансповерхности (рис. 1, а). Возможно, что одной из функций микрофиламентов является поддержание полярной структуры стопки АГ. Кроме того, показано, что разборка микрофиламентов может нару-

шать и различные этапы секреторного транспорта. Так, блокирование сборки актина ингибирует протеиновый транспорт через АГ как на раннем секреторном пути (Stamnes, 2002), так и на поздних этапах секреции белков (Howell, Thyhurst, 1980; Senda et al., 1989), что свидетельствует об участии актина как в транспорте везикул от ER к АГ, так и в пределах АГ и от АГ к плазматической мембране. В частности, иммуномечение актина показало, что актин тесно связан с ограничивающими мембранами незрелых и зрелых гранул в экзокринных клетках поджелудочной железы (Bendayan, 1985).

В литературе обсуждаются также и связи мембран АГ с актинсвязывающими белками типа анкирина, спектрина и др. Эти белки необходимы для сшивания (tethering) и организации самой актиновой сети, содержащей свои моторные белки, относящиеся к миозинам. В последние годы был сделан большой прогресс в идентификации специфических актинсвязывающих протеинов и сигнальных молекул секреторного пути (Lippincott-Schwartz, 1998; Stamnes, 2002; Allan et al., 2004). В обзоре Аллана с соавторами (Allan et al., 2004) суммируются накопленные к настоящему времени данные по моторным белкам, связанным с элементами цитоскелета и компонентами АГ.

Трехмерная реконструкция АГ. Для понимания пространственной организации АГ делаются попытки его трехмерной реконструкции по серийным ультратонким срезам. Однако структура АГ в секреторных клетках так сложна и содержит такое большое количество различных элементов, что реконструкция его представляет большие трудности. В 1980-е годы удалось лишь понять топографические связи между цис- и транс-компонентами АГ (Rambourg et al., 1981, 1987). Однако в последние годы эта задача стала более доступной для своего решения в связи с имеющимися удобными и надежными компьютерными программами трехмерной реконструкции изображения по серийным ультратонким срезам (3D reconstruction), а также внедрением электронно-микроскопической томографии и коррелятивной светозлектронной микроскопии. Так, в ряде работ приводятся данные по реконструкции АГ на основании большого количества ультратонких серийных срезов сверхбыстро замороженной клетки. Обнаруживались очень сложные взаимоотношения между различными компонентами АГ (Mironov et al., 1997, 2000; Trusso et al., 2004).

Анализ простейших моделей АГ. Трюкко с соавторами (Trusso et al., 2004) исследовали структурную организацию отдельной стопки АГ, распавшегося на фрагменты под действием нокадазола. Такая система не перегружена огромным количеством деталей, и ее соответственно легче реконструировать. В работе изучали два синхронизируемых секреторных белка: температурочувствительный вирусный гликопротеин VSVG (ts045-VSVG), который в связи с мелкими размерами может потенциально входить в пузырьки COPI и COPII, и макромолекулярный карго — проколлаген-I (PC), который слишком велик, чтобы разместиться в транспортных пузырьках. Элементы, которые на срезах выглядят как везикулы или тубуло-везикулы, с помощью электронной томографии визуализируются как тубулярные компоненты. Эти данные позволили сделать авторам принципиальный вывод о том, что транспортирующийся карго, входящий в АГ, индуцирует формирование межцистернальных связей в виде тубул, которые существуют только во время процесса транспортировки карго.



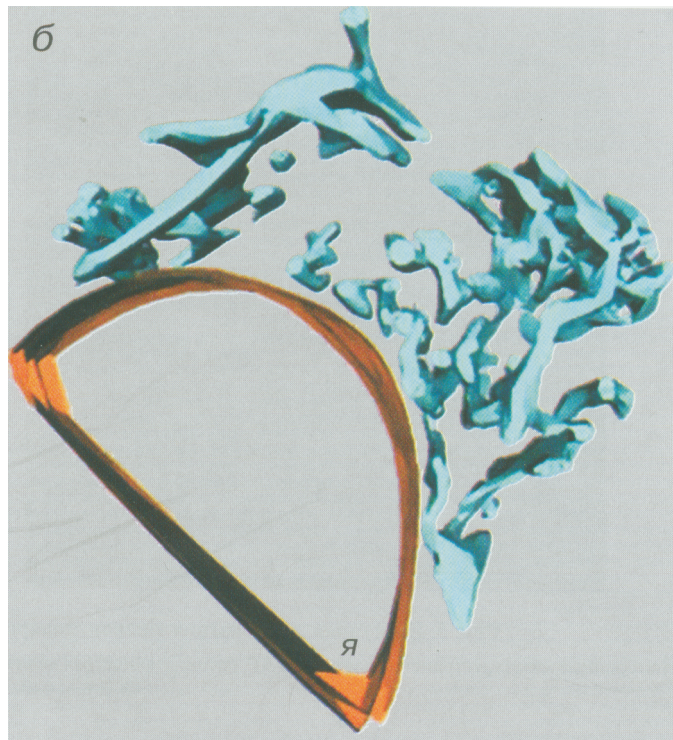
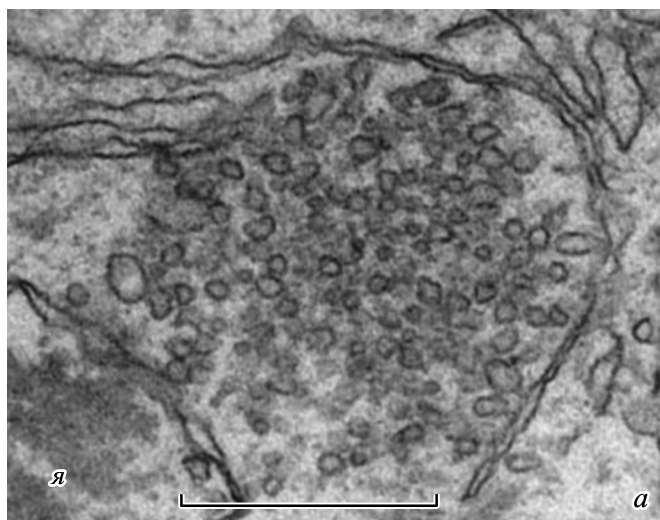


Рис. 4. АГ микроспоридии *Gryllus bimaculatus*.

*а* — кластеры тубуло-везикулярных структур, состоящих из гладких мембран, расположены в меронтах вблизи ядра (*я*); *б* — компьютерная трехмерная реконструкция таких кластеров демонстрирует, что данная структура представляет собой единую систему связанных друг с другом тубулярных компартментов, соединенных с перинуклеарным пространством. Масштаб — 1 мкм.

АГ микроспоридий. Удобным объектом для понимания структурной организации АГ методом трехмерной реконструкции оказались паразитические протисты микроспоридии. Микроспоридии (тип *Microsporidia*), которых совсем недавно относили к простейшим, вероятнее всего, являясь отдаленными родственниками низших грибов группы *Zygomycetes* (Keeling, 2003). Крайняя адаптация к паразитическому образу жизни у этих существ выражается в редукции генома и набора клеточных органелл. Так, общий объем их генома сравним с таковым у прокариот; это самые мелкие из известных эукариот, не имеющие ни митохондрий, ни лизосом, ни секреторных гранул. Жизненный цикл микроспоридий, в частности объекта нашего исследования — *Paranosema grylli* из сверчка *Gryllus bimaculatus* (Sokolova et al., 2003), — состоит из пролиферативных (мерогония) и спорогенных (спорогония) стадий. Внутриклеточное развитие паразита заканчивается формированием споры, способной к существованию во внешней среде благодаря сложноустроенной оболочке и особенностям обмена веществ, и несущей в себе зародыш — спороплазму, которая под воздействием адекватного стимула «впрыскивается» в клетку-мишень с помощью аппарата экстрезии — устройства, напоминающего шприц (Vavra, Larsson, 1999). Основным элементом аппарата экстрезии является полярная трубка, транспортирующая спороплазму в клетку хозяина. Так называемый везикулярный, или примитивный, АГ, состоящий из скопленных тубул и везикул, был отмечен у микроспоридий в связи с формированием полярной трубки во время спорогонии (Vavra, 1976; Vavra, Larsson, 1999). Позже цитохимически была показана транс-Гольджи природа этого компартмента (Takvorian, Cali, 1994, 1996). Нам удалось выявить компартменты АГ на пролиферативных и промежуточных стадиях развития микроспоридии *P. grylli* и показать, что таковыми являются перинуклеарное пространство (гомолог цис-компартамента АГ) и кластеры тубуло-везикулярных структур, состоящие из гладких мембран, расположен-

ные в меронтах вблизи ядра (рис. 4, *а*) (Sokolova et al., 2000, 2001; Соколова и др., 2001). Компьютерная трехмерная реконструкция по серийным срезам таких кластеров (программа IGL Ttace v1. 26b) продемонстрировала, что данная структура представляет собой единую систему соединенных друг с другом тубулярных компартментов, соединенных с перинуклеарным пространством (рис. 4, *б*). В целом организация этого компартмента напоминала тубулярно-сетчатые структуры, выявляемые в клетках *Saccharomyces cerevisiae* (Rambourg et al., 2001) и интерпретируемые как элементы транс-Гольджи. На промежуточных и спорогенных стадиях жизненного цикла микроспоридии выявлены более крупные скопления соединяющихся между собой мембранных профилей. В процессе морфогенеза аппарата экстрезии в созревающих спорах эти кластеры трансформируются в транс-цистерну, содержащую зачаток полярной трубки. Антитела против основного белка полярной трубки хорошо выявляются в тубулярных кластерах на стадиях спорогонии (рис. 5, *а, б*). Таким образом, анализ секреторного компонента микроспоридий несомненно свидетельствует о доминирующей роли тубулярного компартмента в организации АГ.

Резидентные белки компартментов АГ. Использование биохимических, цитохимических и иммуноцитохимических методов демонстрирует наличие специфических ферментов для разных компартментов АГ. В связи с тем что каждый компартмент АГ обладает своим собственным набором ферментов, являющихся интегральными белками мембран Гольджи, транспортируемые белки модифицируются последовательно.

Среди резидентных протеинов АГ наиболее богато представлены ферменты гликозилирования — гликозилтрансферазы (см. таблицу). В АГ описано 100—200 различных гликозилтрансфераз, распределенных по разным цистернам стопки, причем частично они перекрывают друг друга, локализуясь в одних и тех же цистернах (Rabouille et al., 1995; Zaal et al., 1999). Присутствие галакто-



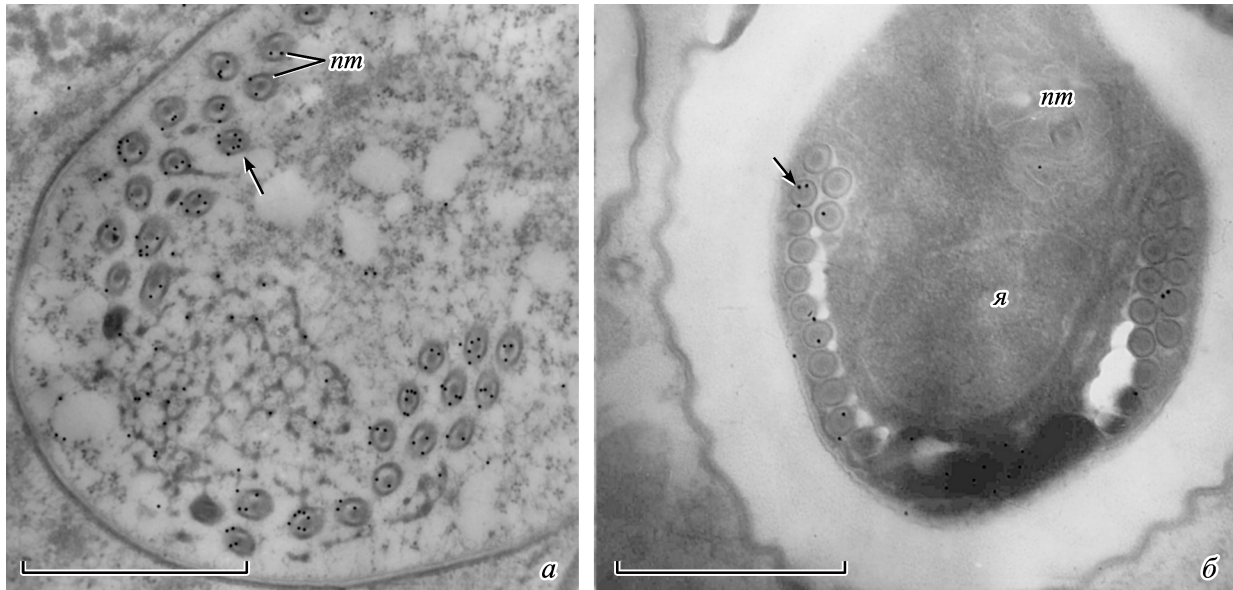


Рис. 5. Иммуная локализация белков полярной трубки у микроспоридии *Gryllus bimaculatus*.

Мембранные кластеры транскомпартамента АГ, располагающегося вблизи ядра (я), содержат зачаток полярной трубки (nt), содержащий меченые белки (стрелки). Масштаб — 1 мкм.

зил- и сиалилтрансфераз в трансцистернах и TGN АГ было впервые продемонстрировано с помощью иммунной электронной микроскопии (Roth, Berger, 1981; Roth et al., 1985). Они распределены по разным цистернам стопки, частично перекрывая друг друга и локализуясь в одних и тех же цистернах (Rabouille et al., 1995; Zaal et al., 1999). Одни из первых иммуноцитохимических работ продемонстрировали наличие галактозил- и сиалилтрансфераз в транс-цистернах АГ и TGN (Roth, Berger, 1981; Roth et al., 1985).

Другими модифицирующими ферментами являются также резидентные белки АГ  $\alpha$ -маннозидазы I и II, уча-

ствующие в процессинге олигосахаридов. Они описаны как маркеры следующих цистерн:  $\alpha$ -маннозидаза I — цис- и срединных компарментов,  $\alpha$ -маннозидаза II — срединных и транс-компарментов (Velasco et al., 1993). Фермент сфингомиелинсинтаза, участвующий в образовании сфингомиелина и диациглицерина из фосфатидилхолина и церамида, локализуется в цис-цистернах АГ (Futerman et al., 1990) (см. таблицу).

Во всех компартаментах АГ выявлен ряд рецепторов к резидентным белкам, способствующих их опосредованному рецептором возврату в исходные мембраны (см. таблицу). Так, рецепторы маннозо-6-фосфата (M6P), ко-

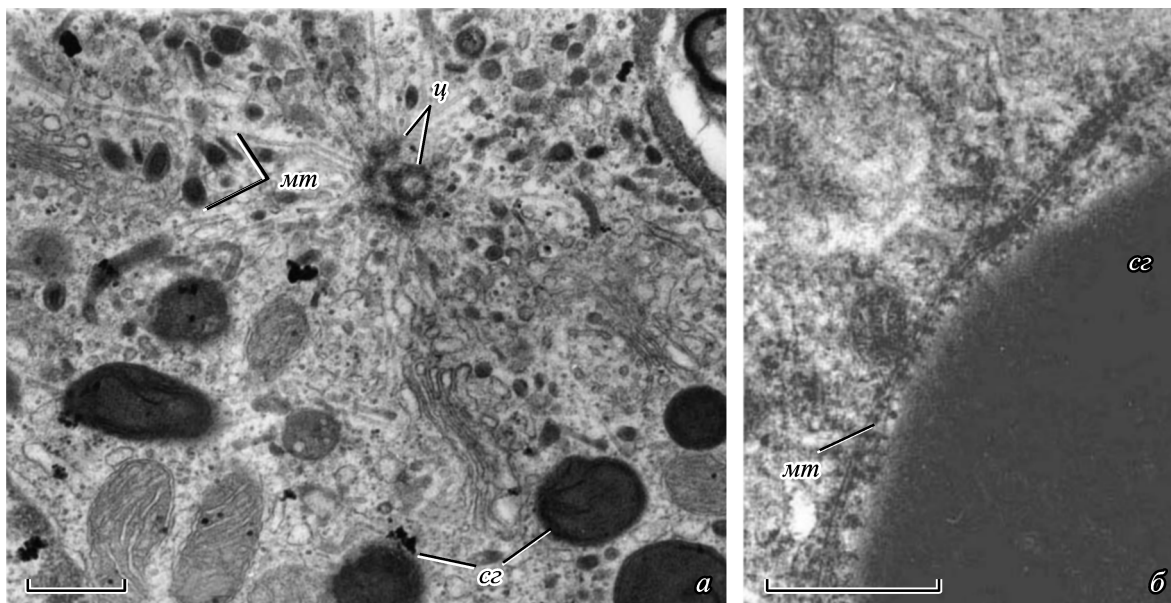


Рис. 6. Связь АГ эпителиальной клетки мочевого пузыря лягушки с микротрубочками.

а — связь элементов АГ с микротрубочками (mt), отходящими от центриолей (ц); б — ассоциация секреторных гранул (сг) гранулярных клеток эпителия мочевого пузыря лягушки с микротрубочками. Масштаб — 0.5 мкм.

## Распределение резидентных белков по компартментам АГ

Компартмент	Белки
Транссеть Гольджи	Рецепторы к М6Р, белки TGN38, p200, p230, адапторные белки AP1 и AP2, гликозилтрансферазы
Трансцистерны	Нуклеозиддифосфатаза (тиаминпирофосфатаза), гликозилтрансферазы, кислая фосфатаза, SNAREs, Rab6
Срединные цистерны	Маннозидаза II, гликозилтрансферазы, SNAREs, белок 160 кДа
Цис-цистерны	$\alpha$ -Маннозидаза I, гликозилтрансферазы, маннозо-6-фосфат, фосфотрансфераза, сфингомиелинсинтаза, рецепторы к последовательности KDEL, белки 53 и 58, SNAREs, Rab1, Rab2
Промежуточный компартмент	Рецепторы к KDEL, белки ERGIC 53 и 58, коагомерные комплексы COPI и COPII
Переходный ER	Рецепторы к KDEL, ERGIC 53 и 58, COPII

торый присоединяется к N-связанным олигосахаридам лизосомных гидролаз в цис-цистернах, локализованы в основном в транс-компартменте (Brown, Farquhar, 1987; Brown, 1990; Klumperman et al., 1998a, 1998b). Рецепторы к KDEL-мотиву С-терминали резидентных белков ER локализованы на мембранах цис-компартмента (Argent et al., 1994; Lord, Roberts, 1998). В промежуточном (ERGIC) и цис-компартменте описаны рецепторные белки Гольджи p53 (ERGIC-53) и p58 (ERGIC-58) (Saraste et al., 1987; Schweizer et al., 1988; Farquhar, Palade, 1998), в TGN — TGN38 (Luzio et al., 1990) и в срединных — белки с мол. массой 160 кДа (Kornfeld, Kornfeld, 1985), функционирующие аналогичным образом (см. таблицу).

В мембранах всех компартментов АГ выявляются малые ГТФазы и белки SNAREs, регулирующие транспорт белков через АГ и специфичность слияния различных мембранных структур. SNAREs — это интегральные мембранные белки, тогда как малые ГТФазы относят к периферическим белкам (см. таблицу).

К матричным белкам Гольджи, не включенным в таблицу, относят нерастворимые белки, располагающиеся по периферии мембран АГ и взаимодействующие друг с другом. Это так называемые GRASPs (Golgi ReAssembly Stacking Proteins) — белки, способствующие образованию стопки, и гольджины, в частности белки GM130 и p115, закоривающиеся на люминальной поверхности мембран (Lindstedt, Hauri, 1993; Slusarewicz et al., 1994; Nakamura et al., 1995; Kasap et al., 2004; Puri et al., 2004). В клетках млекопитающих GM130 и p115 в комплексе с джиантином (белком пузырьков, окаймленных COPI) образуют филаментозные пучки, связывающие сливающиеся везикулы (tethers).

## Ультраструктурные изменения АГ

Несмотря на свою сложную организацию, АГ может испытывать обратимые структурные перестройки как в процессе нормального функционирования, так и при экспериментальных воздействиях.

Перестройки АГ при митозе. Наиболее ярким примером изменений АГ в клеточном цикле является

разборка АГ при митозе в клетках млекопитающих, облегчающая, по мнению ряда исследователей, распределение его элементов между дочерними клетками (Warren, 1993; Shima et al., 1997, 1998; Zaal et al., 1999; Shorter, Warren, 2002). Известно, что в большинстве эукариотных клеток, за исключением растений и дрожжей, во время митоза ингибируются процессы секреции белков. Эти события сопровождаются дезинтеграцией АГ, причем белки АГ перераспределяются в ER, что демонстрируется данными иммуноцитохимического исследования митотических клеток (Zaal et al., 1999). При иммуноцитохимическом конфокальном и электронно-микроскопическом исследовании клеток, экспрессирующих GalTra-GFP (как маркер АГ), оказалось, что разным стадиям митоза соответствуют различные этапы разборки и сборки АГ. Так, в профазе АГ теряет центральное положение в клетке и распадается на фрагменты, располагающиеся по периферии клеток; между метафазой и телофазой фрагменты не видны, и белки АГ выявляются в распределенных по цитоплазме мембранах ER; во время поздней телофазы перед цитокинезом вновь появляются мелкие периферические фрагменты; после цитокинеза фрагменты сливаются в типичный АГ в каждой дочерней клетке (Zaal et al., 1999). Локализация белков АГ в ER во время первых двух стадий объясняет блокирование ранних этапов секреции белков во время митоза (Wadsworth, Sloboda, 1983; Warren, 1993; Rossanese, Glick, 2001). В литературе до сих пор дискутируется вопрос о судьбе резидентных белков АГ при его фрагментации в процессе митоза.

Разборка и сборка АГ во время прохождения клеткой фаз клеточного цикла являются удобной моделью для изучения биогенеза АГ и его взаимоотношений с клеточными органеллами. Оказалось, что обратимую фрагментацию АГ можно вызывать и экспериментально. АГ может разбираться при осмотическом шоке (Lee, Lindstedt, 1999), при воздействии брэфельдина и соединения H89 (Ward et al., 2001; Puri, Lindstedt, 2003), деполимеризации микротрубочек нокодазолом (Cole et al., 1998; Lippincott-Schwartz, 1998; Presley et al., 1998), при температурных сдвигах, изменяющих складчатость белков (Cole et al., 1998).

Фрагментация АГ при действии на клетки нокодазола. В ряде работ показано, что деполимеризация микротрубочек нокодазолом приводит к нарушению нормального положения АГ в клетке и обратимому ингибированию секреторных путей (Cole et al., 1998; Lippincott-Schwartz, 1998; Presley et al., 1998; Yang, Storgie, 1998). При этом АГ распадается на множество фрагментов, состоящих из коротких цистерн, напоминающих стопку АГ (Thyberg, Moskalevsky, 1989). Эти фрагменты распределяются по клетке, по периферии «сайтов выхода» на ER, где впоследствии регенерируют функционирующие мини-стаки АГ (Cole et al., 1996).

Коул и соавторы (Cole et al., 1998) обнаружили, что при разрушении микротрубочек параллельно с ингибированием ранних этапов секреции компоненты промежуточного компартмента АГ VTCs теряют свою способность к включению в АГ. Возможно, это связано с тем, что при действии нокодазола происходит нарушение интегральности микротрубочек и динактинового комплекса, наличие которых, как известно, является необходимым условием для транспорта VTCs в АГ (Burkhardt et al., 1997).

Нарушение структуры АГ под влиянием брэфельдина А. Метаболит грибов брэфельдин А, так



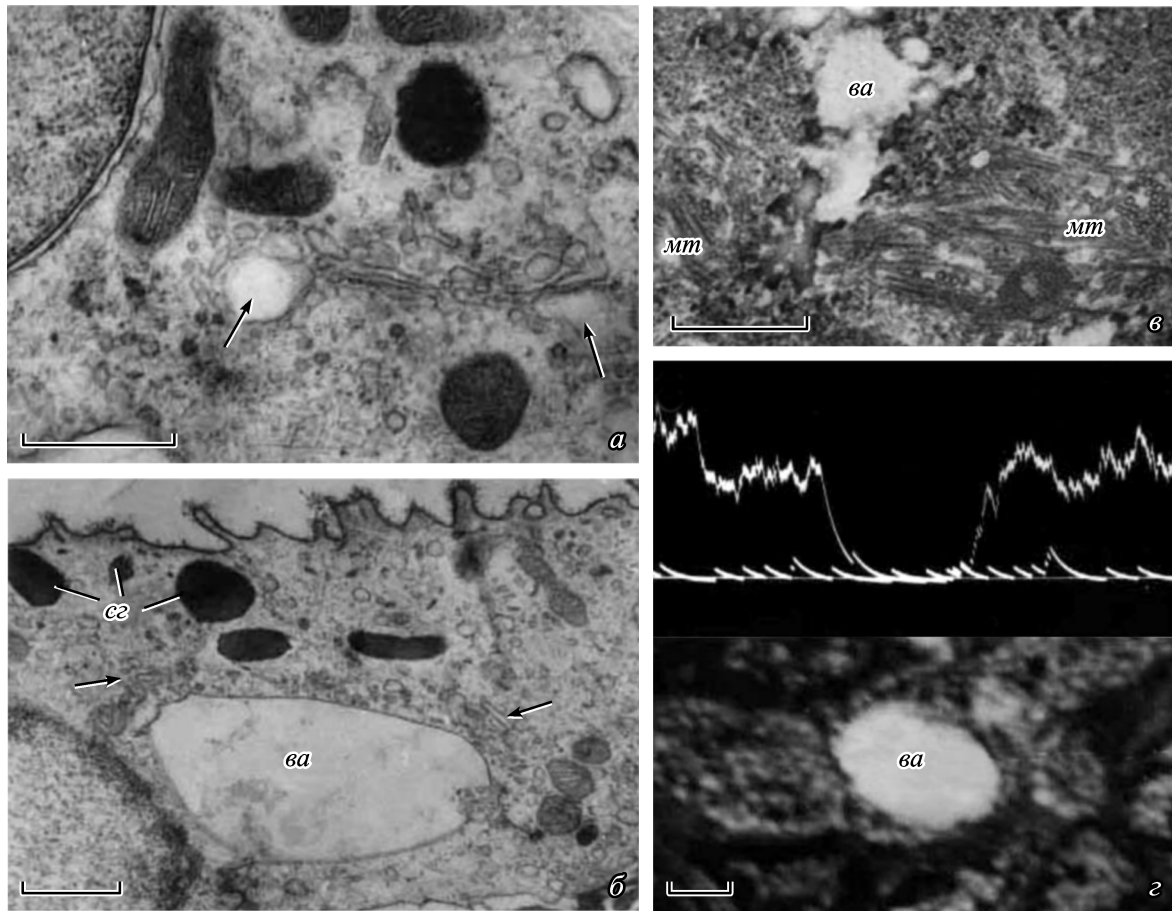


Рис. 7. Формирование гигантских вакуолей в гранулярных клетках при стимуляции водного транспорта через эпителий мочевого пузыря лягушки.

*a* — короткое (5 мин) действие вазотоцина вызывает небольшое набухание цис-цистерны АГ (стрелка); *б* — при максимальном увеличении потока воды через стенку мочевого пузыря лягушки в гранулярных клетках появляются гигантские вакуоли (*ва*), локализованные вблизи ядра (стрелками указаны элементы АГ); *в* — к мембранам вакуолей примыкает большое количество «толстых» (38 нм) микротрубочек (*мт*); *г* — анализ распределения ионов калия в гранулярных клетках после стимуляции вазотоцином транспорта воды через эпителий показывает, что внутри вакуоли концентрация калия резко снижена. Масштаб: *a–в* — 0.5 мкм; *г* — 5 мкм.

же как и нокодазол, обладает способностью обратимо блокировать некоторые этапы транспортных путей в клетке и существенно изменять структуру АГ. При воздействии брэфельдина цистерны АГ превращаются в мембранные тубулы, которые двигаются вдоль микротрубочек и сливаются с ER (Lippincott-Schwartz et al., 1990; Rothman, 1994). Это приводит к перераспределению компонентов АГ в ER и его исчезновению как самостоятельной органеллы. Формирование мембранных тубул, по-видимому, зависит от активности моторных белков (кинезина), связанных с микротрубочками. После отмывки брэфельдина все процессы в клетках восстанавливаются. Эффект, вызываемый брэфельдином, объясняется его способностью ингибировать связывание ARF и коатомеров с мембранами АГ, что препятствует отпочковыванию окаймленных пузырьков COPI (Rothman, 1994; Scheel et al., 1997). При этом происходит высвобождение ARF, которое и запускает массивное слияние цистерн АГ друг с другом и с ER.

Изменения ультраструктуры АГ при стимуляции внутриклеточного транспорта воды. Обратимую разборку АГ мы наблюдали при стимуляции антидиуретическим гормоном больших водных потоков через эпителий мочевого пузыря лягушки (Снигиревская

и др., 1982; Komissarchik et al., 1998). Этот эпителий является удобной моделью для изучения ультраструктурных основ внутриклеточного транспорта воды. Как и другие непроницаемые эпителии (эпителии собирательных трубок почки млекопитающих, мальпигиевых сосудов и прямой кишки ряда насекомых), эпителий мочевого пузыря лягушки обладает в норме очень низкой водной и ионной проницаемостью, связанной с особыми структурными свойствами апикальной мембраны этих клеток и соединяющих их специализированных межклеточных контактов (Комиссарчик и др., 1985). При действии антидиуретического гормона (вазотоцина) апикальная плазматическая мембрана клеток эпителия мочевого пузыря лягушки становится высокопроницаемой для воды, и при наличии осмотического градиента вода входит внутрь клеток (Снигиревская и др., 1982; Комиссарчик и др., 1985; Komissarchik et al., 1998; Snigirevskaya, Komissarchik, 2000). При этом клетки эпителия испытывают ряд изменений ультраструктуры и после отмывки гормона возвращаются к норме. Этот факт позволяет предположить, что клетки непроницаемого эпителия обладают каким-то внутриклеточным механизмом, спасающим их от осмотического шока. Полученные нами данные по изменению морфологии эпителиальных клеток



мочевого пузыря лягушки при стимуляции больших водных потоков через них демонстрируют участие АГ в спасении клеток. При увеличении водной проницаемости апикальной мембраны вода входит внутрь клеток, и они обводняются. Морфологически это выражается в просветлении их цитоплазмы и набухании внутриклеточных органелл, относящихся к вакуолярной системе. Наиболее впечатляющей является реакция АГ. Сначала (через 5 мин действия вазотоцина) его цис-цистерны слегка набухают, а затем (через 20 мин воздействия, на максимуме водного потока) превращаются в гигантские вакуоли, располагающиеся вблизи ядер (рис. 7, а, б). Связь этих вакуолей с пузырьками и цистернами Гольджи и расположение их около ядра свидетельствуют о том, что вакуоли образуются из цис-цистерн АГ. Чаще всего типичный АГ в таких клетках не выявляется, а вакуоли могут менять свои форму и положение в клетке. В редких случаях мы наблюдали слияние мембраны вакуоли с базолатеральной мембраной эпителиальной клетки и практически всегда — набухание базолатерального межклеточного пространства. При этом структура межклеточных контактов не нарушается (Снигиревская и др., 1982; Комиссарчик и др., 1985; Komissarchik et al., 1985, 1998).

Сравнительный анализ эпителия мочевого пузыря лягушки и клеток простейших показал, что морфологически наблюдаемые гигантские вакуоли напоминают сократительные вакуоли простейших, выводящие избытки гипотонической жидкости из клеток (Снигиревская, 1983). Так же как и у простейших, со стенками сократительных вакуолей связаны микротрубочки (рис. 7, в). Следует подчеркнуть, что гигантские вакуоли возникают только в условиях осмотического потока через эпителий от апикальной к базальной поверхности. Приложение гипотонического раствора к базальной стороне эпителия вызывает драматическое набухание клеток и всех внутриклеточных органелл, но никогда не приводит к возникновению крупных вакуолей.

Рентгеноспектральный анализ гигантских вакуолей в клетках мочевого пузыря лягушки показал, что их содержимое, так же как и содержимое сократительных вакуолей простейших, гипотонично за счет чрезвычайно низкой концентрации ионов калия по сравнению с их концентрацией в цитозоле (рис. 7, з) (Снигиревская, Комиссарчик, 1995; Snigirevskaya, Komissarchik, 2000; Komissarchik, Snigirevskaya, 2002). К сожалению, используемый нами спектрометр и метод препарирования объектов не позволили определить низкую концентрацию ионов натрия в цитозоле, чтобы сравнить ее с таковой в вакуолярной жидкости. На основании морфологического сходства и наличия в исследуемых вакуолях гипотонической жидкости нами было высказано предположение о том, что гигантские вакуоли эпителия мочевого пузыря лягушки могут иметь функциональное сходство с сократительными вакуолями простейших. В частности, они могут принимать участие в освобождении гранулярных клеток амфибий от лишней воды. Высказанное предположение об участии гигантских вакуолей, являющихся производными АГ гранулярных клеток мочевого пузыря лягушки, в экскреции воды экспериментально подтверждает идею Д. Н. Насонова о гомологии между АГ многоклеточных и сократительной вакуолюю простейших (Nassonov, 1923). Предполагая такую гомологию, Д. Н. Насонов писал, что, так же как выделительный аппарат одноклеточных организмов, АГ многоклеточных

собирает и выбрасывает вещества, вырабатываемые этой клеткой, но не нужные ей с ее эгоистической точки зрения (Nassonov, 1923, 1924).

К сожалению, на основании наших данных мы ничего не можем сказать о механизмах, обеспечивающих гипотонию вакуолярной жидкости. До сих пор этот вопрос не решен и для сократительных вакуолей простейших. В последние годы появились работы, в которых предполагается участие в создании гипотонии протонной помпы — вакуолярной АТФазы (v-ATPase), обнаруженной в мембранах сократительных вакуолей ряда простейших (Fok et al., 1993; Allen, Naitoh, 2002). На примере парамеции продемонстрировано, что ингибирование v-АТФазы конканамицином А подавляет деятельность сократительной вакуоли (Fok et al., 1995). Однако эти данные нуждаются в подтверждении.

Немногочисленные работы, посвященные изучению влияния гипо- и гиперосмотических условий на секреторный путь в клетке (Docherty, Snider, 1991; Lee, Lindstedt, 1999), свидетельствуют о том, что гипо- и гипертония ингибируют транспорт веществ из ER в АГ, тогда как ретроградный транспорт не нарушается. Таким образом, адаптивный ответ клетки на осмотический шок указывает на то, что транспортные процессы в клетке тесно сопряжены с ее объемом.

## Биогенез АГ

Одним из наиболее важных вопросов, возникающих при интерпретации результатов, полученных при разборке и повторной сборке АГ, является вопрос о его биогенезе (Rossanese, Glick, 2001; Altan-Bonnet et al., 2003, 2004; Puri et al., 2004). Возникает ли он *de novo* из ER или для его восстановления необходимо наличие в цитоплазме остатков белков АГ? Сторонники последней точки зрения считают, что АГ во время митоза распадается на мелкие фрагменты, связанные с центриолями, которые затем поровну распределяются между дочерними клетками (Dunphy, Rothman, 1985; Lucocq et al., 1987; Lucocq, Warren, 1987; Rabouille et al., 1995; Prescott et al., 2001). При анализе результатов работы с брефельдином А возникла идея сборки АГ на основе шаблона, который создается из матричных белков. Брефельдин блокирует ГТФазу (ARF1) и индуцирует перераспределение большинства белков АГ в ER (Peuroche et al., 1999). При этом оказалось, что матричные белки, такие как джиантин, GM130, GRASP65 и GRASP55, после исчезновения АГ выявляются в виде комплексов, связанных с остатками мембран, не относящихся к ER (Seeman et al., 2000, 2002; Casar et al., 2004). Комплексы такого типа могут служить матрицей для сборки остальных белков АГ, после чего к шаблону добавляются новые компоненты, а именно цистерны, возникающие из ER (Casar et al., 2004).

В последние годы наиболее широкое распространение получила другая гипотеза — сборка АГ *de novo* в отсутствие каких-либо предсуществующих структур (Cole et al., 1996; Lippincott-Schwartz, Smith, 1997; Altan-Bonnet et al., 2003, 2004; Puri et al., 2004). Эта гипотеза также основана на результатах опытов с брефельдином, но подтверждается опытами с дополнительной обработкой клеток соединением H89, которое блокирует экспорт белков из ER и аккумулирует в ER все белки АГ, в том числе и белки матрикса. При отмывке брефельдина и H89 АГ также восстанавливается. В восстановлении АГ существ-

венную роль играют те интегральные и периферические белки, которые происходят из ER. Сборка АГ *de novo* зависит от регуляторной активности малых ГТФаз, находящихся в ER (SAR1 и ARF1). Сначала в области переходного ER формируются экспортные домены, затем дифференцируются элементы ERGIC, и уже после этого возникает стопка цистерн. При восстановлении микротрубочек стопки АГ двигаются по ним в сторону центра, организуя микротрубочки, где они собираются в разветвленную сеть (Allan et al., 2004).

Чрезвычайно удобным модельным объектом для изучения биогенеза АГ оказались дрожжи. Поведение АГ и последовательность этапов секреторного пути дрожжей не находятся в такой большой зависимости от стадий клеточного цикла, как у высших многоклеточных. В то же время АГ дрожжей штаммов различных мутаций секреторного пути (*sec*-мутаций) претерпевает постоянные перестройки в ответ на изменения температуры окружающей среды (Rambourg et al., 1993, 1996; Morin-Ganet et al., 2000). Под влиянием мутации белков секреторного пути или экспериментальной блокировки синтеза многие из элементов АГ (мелкие пузырьки, тубулярные кластеры, сети с узлами, секреторные гранулы) исчезают в течение 4 или 10 мин при 37 или 20 °С соответственно. Это время совпадает со скоростью белкового синтеза при этих температурах (Novick et al., 1981). Посредством снижения температуры можно высвободить карго, после чего мембранные структуры АГ вновь появляются, причем даже в условиях отсутствия предсуществующих гомологичных структур, и это позволяет предположить, что АГ дрожжей также может возникать *de novo* (Pelham, 1998; Morin-Ganet et al., 2000).

В последние годы АГ рассматривается как органелла, существующая только в условиях динамического равновесия (Mironov et al., 1997; Glick, Malhotra, 1998; Lippincott-Schwartz et al., 1998; Altan-Bonnet et al., 2004; Lippincott-Schwartz, Zaal, 2004). Способность АГ трансформироваться в зависимости от условий определяется тем, что все белки, которые связаны с ним, существуют в нем временно, постоянно переходя из одного компартмента в другой. Поэтому условия, которые препятствуют входу или выходу тех или иных белков, будут приводить к исчезновению АГ как самостоятельной органеллы.

### Модели структурно-функциональной организации АГ

Более 50 лет дебатруется вопрос о том, каким образом синтезированные продукты двигаются через АГ. Существуют ли для них специфические переносчики или они перемещаются по цистернам АГ? Что происходит с резидентными белками — ферментами АГ? Каким образом сохраняется их локализация в определенных компартментах АГ? Для объяснения этих процессов существует несколько гипотез, из которых наибольшее признание получили везикулярная и матурационная модель.

**Матурационная модель.** Классическая модель прогрессии или созревания (*maturation*) цистерн была предложена в 1950-е годы французским исследователем Грассе (Grasse, 1957). По этой модели цис-цистерны АГ всегда формируются *de novo* и последовательно и конститутивно созревают к транс-поверхности. Согласно

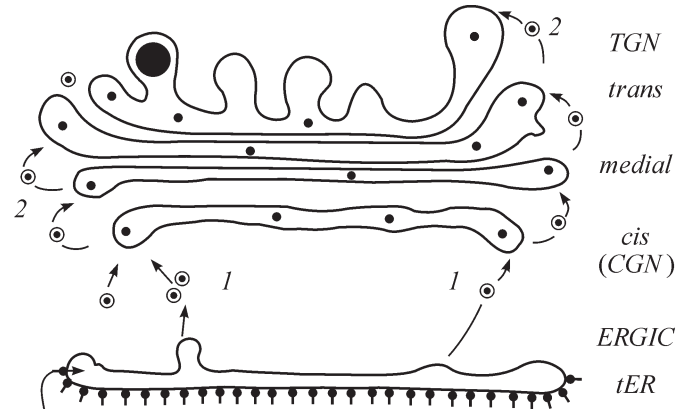


Рис. 8. Классическая везикулярная модель транспорта карго через АГ.

Стопка АГ состоит из стабильных *cis*-, *medial*-, *trans*-компартментов, TGN и примыкающего к цисповерхности АГ *tER*. Карго (черные кружки) переносится в пузырьках COPI. 1 — перенос карго от *tER* к цисповерхности, 2 — перенос карго между цистернами. Резидентные белки АГ изображены черными кружками с хвостами.

этой модели нет необходимости в антероградном везикулярном транспорте, чтобы поддерживать структурную и функциональную целостность АГ. Однако модель не объясняет уникальности каждой цистерны, содержащей свой индивидуальный набор ферментов. В настоящее время эта модель представляет в основном исторический интерес.

Везикулярная модель была предложена в 1975 г. Паладе (Palade, 1975) на основании изучения ультраструктуры АГ в экзокринных клетках поджелудочной железы. Паладе открыл векторный транспорт секреторных продуктов, показал существование везикулярного транспорта и продемонстрировал роль АГ в концентрировании и упаковке синтезированных белков в секреторные гранулы (рис. 8).

Представления о везикулярном транспорте белков через АГ получили широкое распространение среди исследователей внутриклеточного транспорта. В 1986 г. было продемонстрировано, что в антероградном транспорте через АГ участвуют не клатриновые пузырьки, как думали раньше, а пузырьки с окаймлением COPI (Orgi et al., 1986). Впоследствии убедительные доказательства в пользу везикулярной модели были получены в работах Ротмана с соавторами (Osterman et al., 1993; Rothman, 1994; Rothman, Wieland, 1996). Ими были получены данные о быстром переносе белков между двумя АГ в гетерокарионах, образованных в результате слияния двух клеток, а также в бесклеточных системах. Выделенные стопки Гольджи инкубировали с цитозолем и АТФ. Популяция донорских цистерн была получена из инфицированных VSV мутантных клеток, не имеющих нормальной глюкозаминацетилтрансферазы 1, а акцепторные стопки не содержали вирусного белка, но имели нормальную копию трансферазы. Чтобы белок перешел из цис-цистерны в срединную, к G-белку вирусной оболочки должны присоединиться остатки нормальной гликозилтрансферазы. По включению в G-белок радиоактивного остатка нормальной трансферазы можно судить о том, что действительно этот транспорт имеет место, причем в акцепторной стопке тоже. Электронная микроскопия показала, что от краев цистерн отшнуровываются неклатриновые окаймленные пузырьки, которые,

по-видимому, переносят вирусные белки между цистернами.

Несмотря на широкое признание везикулярной модели, существуют трудности в объяснении с ее помощью некоторых процессов внутриклеточного транспорта. Во-первых, как показало мечение карго GFP, в COPI-пузырьках не найдено секретируемых белков, но выявляются резидентные белки, в частности KDEL-рецептор (Scales et al., 1997; Presley et al., 1997). Во-вторых, в мутантных штаммах дрожжей с заблокированным геном, кодирующим необходимый компонент везикулярного транспорта — SNARE, не происходит нарушений в антероградном транспорте белков (Pelham, 1999). В-третьих, транспорт крупномолекулярных комплексов, таких как гликопротеиновые чешуйки на наружной поверхности клеток водоросли *Pleurochrysis schiffelii*, агрегаты проколлагена в фибробластах, аполипопротеины в клетках печени, макромолекулярные комплексы желточных белков в клетках жирового тела насекомых, полностью не может быть осуществлен COPI-пузырьками в связи с их малыми размерами (Hicks, 1966; Melkonian, Beker, 1991; Snigirevskaya, Raikhel, 1997; Bonfanti, Mironov et al., 1998; Hostman et al., 2002). Цитохимически эти крупные комплексы выявляются только в цистернах АГ и не обнаруживаются в везикулярных переносчиках. Поскольку перечисленные факты не могут быть объяснены везикулярной гипотезой, вновь возродился интерес к матурационной модели организации АГ.

Модель созревания цистерн (cisterna-maturation/progression). С учетом несостоятельности старых моделей в объяснении многих фактов была создана новая синтетическая модель — гибрид между везикулярной и матурационной (Mironov et al., 1997; Presley et al., 1997; Bonfanti et al., 1998; Glick, Malhotra, 1998; Polischuk et al., 2000). Согласно новой версии везикуло-матурационной модели, цис-цистерны АГ образуются de novo в результате слияния компартментов, произошедших из ER (рис. 9). Цистерны созревают и продвигаются к транс-полюсу АГ. Сформированные вновь транс-цистерны превращаются в мембранные переносчики секретируемых продуктов. Новая транс-цистерна возникает из предыдущей цистерны, подошедшей с цис-поверхности АГ. Однако не привлекая везикулярный транспорт, нельзя объяснить сохранение полярности АГ и постоянного ферментного состава определенных цистерн в состоянии его динамического равновесия (Farquhar, Palade, 1981; Glick, Malhotra, 1999).

Согласно везикуло-матурационной модели белки, синтезированные в ER, упаковываются в везикулы, окаймленные COPII в сайтах tER, которые затем входят в ERGIC, состоящий из везикуло-тубулярных кластеров (VTCs). Считается, что ERGIC образуется посредством гомотипического слияния везикул, потерявших окаймление COPII. Элементы ERGIC транслоцируются вдоль микротрубочек к АГ динеинопосредованным образом (Beznoussenko, Mironov, 2001), где они образуют цис-цистерны АГ (CGN). При созревании цистерн их ферменты (резидентные белки) возвращаются в предыдущие (ретроградный транспорт) в составе пузырьков с окаймлением COPI, поддерживая таким образом стабильный набор ферментов в разных цистернах АГ и ER (Malhotra et al., 1989; Bannykh, Balch, 1997; Mironov et al., 1997; Pelham, Rothman, 2000).

В последние годы появился ряд вариантов этой модели. Одна из последних — модель латеральной диффузии — обсуждается в работах Миронова с соавторами

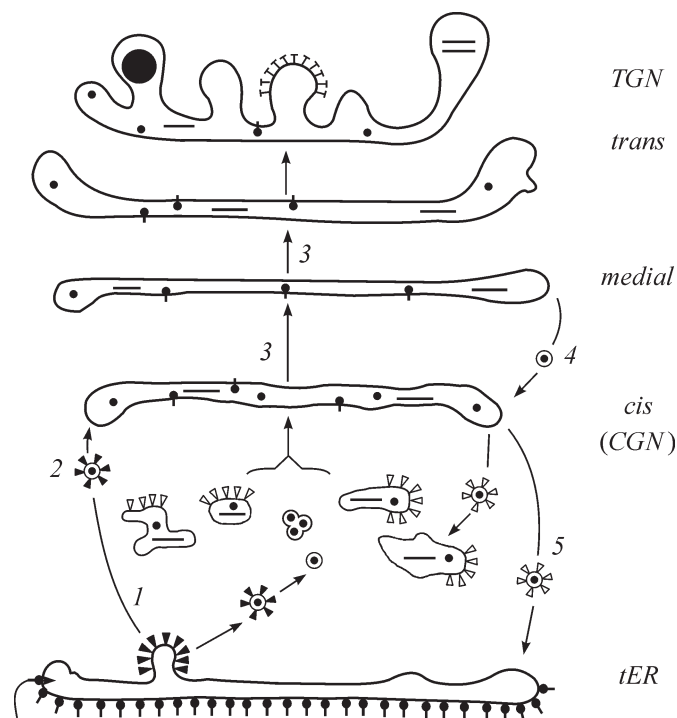


Рис. 9. Везикуло-матурационная модель, согласно которой цистерны АГ формируются de novo.

1 — пузырьки COPII переносят белки из tER в промежуточный компартмент (ERGIC); 2 — сливаясь друг с другом, везикуло-тубулярные элементы промежуточного компартмента образуют цис-цистерну, которая затем (3) перемещается с секреторными продуктами (малыми карго, изображенными в виде *кружков*, и крупномолекулярными комплексами, изображенными в виде *горизонтальных линий*) вперед, а ретроградные пузырьки COPI возвращают резидентные белки к более молодым цистернам (4) и к tER (5). На транс-поверхности АГ мембрана цистерн утилизируется в транспортные переносчики.

(Beznoussenko, Mironov, 2002; Trucco et al., 2004; Mironov et al., 2005). Эта модель основана на выявленной авторами непрерывности циркуляции ферментов АГ через тубулярные связи между цистернами. Непрерывность между компартментами АГ подтверждается также данными по непрерывному движению липидной флуоресцентной метки по его мембранам (Pagano et al., 1989). Другой вариант латерально-диффузионной модели основывается на различной способности ферментов АГ и карго диффундировать вдоль биосекреторной ленты и данных о том, что связи между компартментами временные и постоянно возобновляются (Beznoussenko, Mironov, 2002).

Итак, согласно везикулярной модели (рис. 8) АГ состоит из стабильных компартментов. Антероградные пузырьки COPI транспортируют карго вперед и при этом исключают резидентные белки, оставляя их в исходном компартменте. Согласно везикуло-матурационной модели (рис. 9) цистерны образуются на цис-поверхности АГ de novo, пузырьки COPII или более крупные мембранные переносчики доставляют синтезированные белки из ER в цис-цистерну, затем цистерна перемещается с карго вперед, а ретроградные пузырьки COPI возвращают резидентные белки к более молодым цистернам. На транс-поверхности мембрана цистерн утилизируется в транспортные пузырьки.

Модель созревания мембранных переносчиков (carrier maturation/progression) была выдвинута для объяснения данных о том, что такие различ-



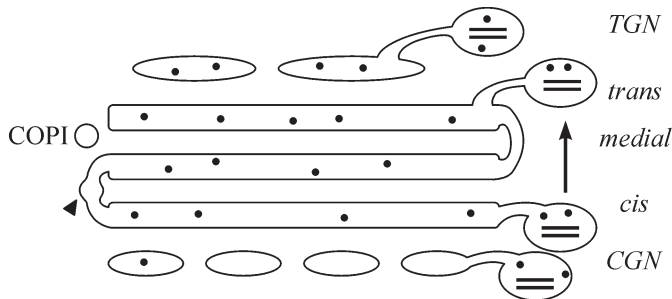


Рис. 10. Один из последних вариантов модели созревания переносчиков (carrier-maturation/progression model).

Модель демонстрирует перенос карго от цис-сети АГ к цис-, срединным транскомпартаментам и TGN. Поступление карго индуцирует образование интерцистернальных тубулярных связей и сплавление «карго-доменов» с промежуточными цистернами. В сплавлении цистерн важную роль играют пузырьки COPI (голова стрелки). Отрыв мембранных переносчиков по времени осуществляется после их сплавления с более дистальными компартаментами. Стрелкой указано направление созревания/прогрессии переносчиков и цистерн от проксимальной к дистальной поверхности АГ. Малые карго (VSVG) изображены в виде черных кружков, крупномолекулярные комплексы (PC) — в виде горизонтальных линий.

ные молекулы карго, как PC и VSVG, двигаются через АГ с одинаковой скоростью (Mironov et al., 2001, 2005). Согласно этой модели связи образуются только между двумя соседними цистернами (донором и акцептором) (рис. 10). Этот процесс может происходить благодаря доставке транспортных переносчиков из ER, которые образуют «карго-домены» внутри АГ. Переносчики сплавляются с промежуточным или цис-компарментом, образуя смешанный компармент. Следует указать, что в этой модели важное значение придается пузырькам COPI, которые индуцируют сплавление цистерн, образование интерцистернальных связей и сплавление «карго-доменов» с промежуточными цистернами. Сплавление «карго-доменов» с медиал-компарментом запускает процесс их отделения от промежуточного компартамента (Maga et al., 2001). В этой модели отрыв мембранных переносчиков по времени осуществляется после их сплавления с более дистальными компартаментами. Трюкко и соавторы (Trucco et al., 2004) показали, что как только переносчики из ER присоединяются к АГ, они запускают образование тубулярных связей соседних цистерн, через которые сливаются с ними мембраны переносчиков быстро перераспределяются. Роль тубул Гольджи в транспорте через АГ была подтверждена в экспериментах с ингибированием АДФ-рибозилирования дикумаролом, который селективно разрушает тубулярные компоненты Гольджи и таким образом ингибирует транспорт через АГ (Mironov et al., 2004).

В заключение следует сказать о том, что существует множество вариаций вышеописанных моделей (см. обзор: Beznoussenko, Mironov, 2002; Mironov et al., 2005), и их подробное обсуждение в настоящем обзоре не представляется возможным. Можно думать, что в клетках реализуются два или более механизмов anterograde и retrograde транспорта через АГ одновременно.

### Сортировка белков и регуляция процессов их транспорта в АГ

Как показано в приведенном выше кратком обзоре существующих моделей структурно-функциональной организации АГ, есть несколько возможных путей транс-

порта через него синтезированных в клетке белков: с помощью мелких транспортных пузырьков, крупных мембранных переносчиков, мембранных тубул, временно или постоянно соединяющих разные компартменты АГ, или посредством диффузии по непрерывному пространству цистерн и их мембран.

Роль окаймленных пузырьков и других типов переносчиков в транспорте белков через АГ. Одним из принципиальных шагов в мембранном транспорте белков и липидов является формирование транспортных везикул-переносчиков (carrier) на мембране органеллы-донора. В литературе описаны как гладкие мембранные пузырьки, участвующие в основном в конститутивных транспортных процессах, так и окаймленные, формирование и доставка которых к месту назначения управляются и регулируются сложными, до конца не выясненными механизмами. Показано, что существует несколько типов окаймления мембран отпочковывающихся пузырьков — это COPI, COPII и клатрин (Farquhar, Palade, 1998; Gorelick, Shugrue, 2001).

COPI представляет собой гептамерный цитозольный белковый комплекс, связанный с ГТФ-связывающим белком ARF1 (Orci et al., 1986; Malhotra et al., 1989; Donaldson et al., 1990; Pepperkok et al., 1993; Pelham, 1994). При обмене ГДФ на ГТФ с помощью обменного фактора GEF происходит почкование пузырька. Мембранно-связанный комплекс АРФ—ГТФ «рекрутирует» коатомерные комплексы, вызывающие деформацию мембран и образование пузырька (Orci et al., 1986). Белок p24 (еще один компонент этого комплекса) связывает коатомер с мембраной пузырька (Stammes et al., 1995; Kaiser et al., 2000). Активация процессов гидролиза ГТФ и диссоциации COPI под влиянием ARF1 происходит с помощью активирующего протеина GAP (Goldberg, 1999).

Окаймление COPII было описано при изучении секреторных мутантов дрожжей (Kaiser, Schekman, 1990). Генетический и биохимический анализ окаймления COPII, проведенный на дрожжах, показал, что COPII состоит из двух гетеродимерных комплексов — Sec23p/24p и Sec13p/31p (Barlowe et al., 1994; Pelham, 1999). В случае COPII малая ГТФаза SAR1p активируется интегральным протеином ER Sec12p, который катализирует обмен ГДФ на ГТФ (Barlowe, Schekman, 1993). Пузырек образуется после связи SAR1p-GTP с мембраной ER и последовательного рекрутирования Sec23/24 и Sec13/31 (Schekman, Orci, 1996). В качестве GAP выступает белок Sec23p. Так как пузырьки COPII могут аккумулировать карго, предполагается, что в них имеются рецепторы к ряду секреторируемых белков (Herrmann et al., 1999). С использованием конструкций Sec24p с зеленым флуоресцентным белком (GFP) изучена динамика меченого COPII в живых клетках млекопитающих и показано, что по сравнению с COPI это окаймление менее мобильно и более плотно связано с мембранами (Stephens et al., 2000).

Клатрин из всех типов окаймления везикул был идентифицирован первым при изучении опосредованного рецептором эндоцитоза (Farquhar, Palade, 1981). В биосекреторном пути он описан на пузырьках, доставляющих белки в лизосомы. Клатрин состоит из легкой и тяжелой цепей, которые собираются в трискелионы. Последние полимеризуются в полигональные сети. Через адапторные протеины AP1, представляющие собой гетеротетрамерный комплекс, клатрин связывается с мембраной, участвуя в ее деформации (Schmid, 1997; Farqu-

har, Palade, 1998; Gorelick, Shurgue, 2001; Robinson, Bonifacio, 2001).

Транспорт белков из ER в АГ. Долгое время считали, что перенос белков в проксимальные компартменты АГ из ER происходит конститутивно (bulk flow) (Rothman, 1984, 1994; Rothman, Wieland, 1996), но к концу 1990-х годов стали говорить о регуляции этого процесса и о том, что промежуточный компартмент между ER и АГ является первой сортировочной станцией внутриклеточного транспорта (Bedranek et al., 1995; Bannykh et al., 1998; Pelham, 1999). Предполагается, что на этом этапе секреторного пути клетка должна включать механизмы, которые позволили бы карго двигаться вперед, оставляя резидентные протеины в предыдущем компартменте или возвращая их из последующего, чтобы сохранить уникальность отдельных компартментов.

В последние годы появились данные о том, что выход белков из tER происходит в специализированных областях его мембран — сайтах выхода.

В многочисленных работах, посвященных изучению первых этапов транспорта белков из ER в АГ было показано, что в этих сайтах ER протеины в значительной степени сортируются и концентрируются. Это описано для растворимых белков, таких как альбумин, амилаза, хемотрипсин, секреторные протеины панкреаса (Mizuno, Singer, 1993; Martinez-Menàguez et al., 1999; Oprins et al., 2000; Horstmann et al., 2003), а также для мембранных белков, в частности для v-SNARE Sec22 (Campbell, Schekman, 1997) и гликопротеина вируса везикулярного стоматита (VSVG), который обогащается на выходе из ER в 10 раз (Balch et al., 1994; Horstmann et al., 2003).

Как было описано, существенную роль в аккумуляции секреторного продукта в местах формирования почек на ER играет комплекс белков окаймления COPII (Gorelick, Shugrue, 2001). Пузырьки COPII, отпочковавшиеся от ER, теряют свое окаймление и, сливаясь друг с другом, образуют тубуло-везикулярные компоненты (VTC) промежуточного компартмента ERGIC. В последнем встречаются как пузырьки COPII, так и COPI, возвращающие резидентные протеины ER в их исходное положение. Как предполагают, примерно 90 % всей площади мембран ERGIC возвращается обратно в ER (Warren, Mellman, 1999).

В настоящее время особое значение придается тубулярным элементам и крупным мембранным переносчикам, связывающим ER с цис-компаратментом АГ. Это в большой степени связано с тем, что транспорт некоторых крупных молекулярных комплексов, в частности ригидных тримеров проколлагена I (PC), нельзя объяснить их передвижением в мелких пузырьках с диаметром 60—80 нм (Mironov et al., 1997, 2003; Polischuk et al., 2003). При мечении зеленым белком GFP секретируемых белков, например VSVG, в культуре клеток млекопитающих было обнаружено, что по мере продвижения в сторону АГ переносчики изменяют свою форму, проявляясь и как пузырьки, и как тубулярные элементы (Mironov et al., 1997; Presley et al., 1997; Scales et al., 1997; Klumperman, 2000).

Изучая транспорт через клетку PC и VSVG, Миронов и соавторы (2003) охарактеризовали 4 типа переносчиков карго со следующей динамикой: 1-й — мешковидные расширения на мембране ER вблизи сайтов выхода; 2-й — длинные уплощенные мешочки, отходящие от ER, но связанные с ним; 3-й — тонкие мембранные тубулы, лишенные рибосом; 4-й — более сложные структуры,

состоящие из параллельно уложенных мешочков. Трехмерная реконструкция этих переносчиков, сделанная на основе ультратонких серийных срезов, показывает, что основным компартментом, транспортирующим белки из ER в АГ, являются тубулярные структуры, а не пузырьки COPII (Mironov et al., 2003; Trusco et al., 2004), хотя они также были обнаружены на этом материале. При этом пузырьки COPII не содержали карго, что противоречит общепринятым представлениям о роли этих пузырьков в anterogradном транспорте карго. Однако вблизи крупных мембранных переносчиков первого типа, связанных с ER, всегда было локализовано окаймление COPII, что позволило авторам высказать предположение об участии этого коатомера в их формировании и аккумуляции в этих участках карго (Mironov et al., 2003; Trusco et al., 2004). Во 2-м и 4-м типах переносчиков они обнаружили окаймление COPI, что может свидетельствовать о возврате некоторых белков в ER уже на этой стадии. Тем не менее конкретная роль COPII и COPI в этих процессах остается не совсем понятной. И только 3-й тип переносчиков — длинные тонкие тубулы — содержал молекулы переносимого карго (Mironov et al., 2003).

Транспорт карго через АГ. Введение в электронную микроскопию криофиксации и иммуноцитохимических методов позволило в 1970—1980-е годы локализовать ряд секреторных белков как в промежуточном компартменте, так и в цис-, срединных и транс-цистернах. К сожалению, результаты этих исследований в силу их противоречивости не позволяли сформулировать единую точку зрения о транспортных путях карго в пределах АГ. Предложенные гипотезы везикуло-матurationного транспорта белков базировались в основном на результатах по распределению белков карго в самих цистернах АГ (Clermont et al., 1993; Bonfanti et al., 1998). В качестве примера можно привести фотографию из работы одного из авторов этого обзора (Snigirevskaya, Raikhel, 1997), на которой продемонстрирована локализация желточных белков в различных цистернах АГ трофоцитов комара (рис. 7). Следует отметить, что в пузырьках, окружающих АГ, эти белки не выявлялись.

Проведенный в последнее время анализ синхронизированного транспорта PC и VSVG через стопку фрагментированного нокодазолом АГ показал, что указанные белки и их комплексы локализуются как в цистернах, так и тубулярных и везикулярных профилях (Mironov et al., 2001, 2003; Trusco et al., 2004). С помощью электронно-томографического исследования удалось убедиться в том, что тубулярные и везикулярные профили, наблюдаемые на ультратонких срезах, представляют собой тубулы, соединяющие соседние цистерны. На основании полученных данных авторами был сделан вывод о том, что тубулярные связи, возникающие между цистернами, могут включаться в секреторный путь в пределах АГ (Mironov et al., 2001, 2003; Trusco et al., 2004). Непрерывные тубулярные связи между цистернами АГ были выявлены и другими исследователями (Weidman, 1995; Hirschberg, 2000). Они прекрасно продемонстрированы в работах по трехмерной электронно-микроскопической реконструкции островковых  $\beta$ -клеток поджелудочной железы мыши после сверхбыстрого замораживания (при высоком давлении) и последующего замещения (freeze-substitution) (Marsh et al., 2004).

Транспорт белков из TGN. Как известно, белки, транспортирующиеся через АГ, ковалентно модифицируются ферментами и конденсируются в просвете

TGN. Затем они сортируются и направляются к соответствующим мишеням. Таким образом, эта область АГ может считаться второй сортировочной станцией после ERGIC. На TGN формируются множественные типы транспортных переносчиков: клатриновые пузырьки, содержащие лизосомные ферменты, конститутивные секреторные пузырьки с белками для плазматической мембраны, незрелые секреторные гранулы, которые открепляются от TGN и затем прогрессивно созревают, и др.

Клатриновые пузырьки доставляют содержащиеся в них кислые гидролазы к эндосомам, сливаются с ними и дают начало лизосомам. Именно на этом этапе в области TGN пересекаются эндо- и экзоцитозный пути.

Как показано в ряде работ, доставка белков и липидов к плазматической мембране осуществляется в транспортных мембранных переносчиках с помощью микротрубочек и кинезинзависимых моторных белков (см. обзор: Allan et al., 2004). При разрушении микротрубочек нокодазолом этот транспорт подавляется (Lane, Allan, 1998; Robertson, Allan, 2000).

Как уже было сказано выше, мембранные белки и липиды доставляются в плазматическую мембрану в прозрачных мелких пузырьках (Rothman, Wieland, 1996; Schekman, Orci, 1996) или в тубуло-саккулярных мембранных переносчиках (Hirschberg et al., 1998; Lippincott-Schwartz et al., 2000; Polischuk et al., 2003) конститутивным образом. Баланс белков и липидов плазматической мембраны восстанавливается в процессе эндоцитоза.

Основной вклад в проблему направленного движения мембранных протеинов из TGN в плазматическую мембрану сделан работами на клеточных культурах, главным образом на полярных клетках. Известно, что апикальные и базолатеральные участки их клеточных мембран разделены плотными контактами, которые препятствуют латеральной диффузии мембранных белков в пределах всей мембраны (см. обзор: Снигиревская, Комиссарчик, 1980). Поэтому встраивание белков должно быть строго направленным к той или иной области мембраны. Однако в литературе рассматриваются две возможности доставки белков в плазматическую мембрану — по прямому и непрямому путям (Mostov et al., 2000). Белки, секретлируемые по прямому пути, упаковываются в соответствующие мембранные переносчики и направляются к апикальной или базолатеральной поверхности клетки. Непрямой путь состоит из нескольких этапов. Сначала белки направляются к одной из поверхностей, обычно к базолатеральной. Отсюда они либо направляются непосредственно к апикальной области плазматической мембраны посредством транцитоза, либо эндоцитируются и доставляются к ранним эндосомам, затем к поздним эндосомам и лизосомам и только после этого доставляются к нужной области плазматической мембраны. Показано, что в клетках разных типов преобладает тот или иной способ доставки белков к клеточной поверхности. Так, MDCK утилизирует в основном прямой путь, тогда как кишечные клетки и гепатоциты реализуют непрямой путь (Mostov et al., 2000). Прямой путь белков к определенной области мембран хорошо демонстрируется в работах по изучению почкования вируса гриппа (*influenza virus*) и вируса везикулярного стоматита в клетках MDCK. Первый направляется к апикальной мембране, тогда как второй — к базолатеральной (Boulan, Sabatini, 1978; Mostov et al., 2000). Предполагается, что сигнальными белками для выбора

определенного направления служат как клеточные, так и вирусные белки.

Третий тип секреции — это регулируемый экзоцитоз секреторных гранул, который происходит после воздействия внешнего стимула (гормональные или электрические сигналы) (Molinete et al., 2000). Многочисленными работами с использованием иммунной электронной и конфокальной микроскопии были локализованы различные секреторные протеины и прослежены их транспортные пути (Geuze et al., 1979; Herbener et al., 1984; Tooze et al., 1991; Takano et al., 1996). Согласно данным некоторых авторов, при созревании гранул из них удаляются растворимые протеины, пептиды и мембранные протеины, которые являются компонентами незрелых гранул (Tooze et al., 2001). Удаленные пептиды и прогормоны могут секретироваться из клетки посредством так называемой конститутивно-подобной секреции, а удаление мембранных протеинов, таких как фурин, M6PRs, и связанных лизосомных ферментов из незрелых секреторных гранул происходит в окаймленных клатрином пузырьках (см.: Tooze et al., 2001). Они могут возвращаться в TGN или в эндосомы. Этот тип секреции назван сортировкой на выходе (*sorting for entry*) (Brands et al., 1982; Griffiths, Simons, 1986; Mellman, Simons, 1992; Molinete et al., 2000).

Механизмы сортировки белков карго. Основные процессы сортировки белков происходят в двух компартментах АГ — промежуточном (ERGIC) и на транс-полюсе, в TGN. В литературе рассматриваются два механизма сортировки карго и резидентных белков (Dumermuth, Moore, 1998; Stephens, 2000; Gorelick, Shurgue, 2001). Согласно первому резидентные белки остаются в исходном компартменте в результате сегрегации карго; согласно второму резидентные белки возвращаются посредством опосредованного рецептором механизма. Первый механизм предполагает, что пузырьки COPI осуществляют антероградный транспорт белков через АГ, не захватывая с собой резидентные белки. Селективное связывание карго и его сегрегация от резидентных белков осуществляются трансмембранным белком p24 (Kaiser, 2000).

В последние годы получила наибольшее распространение вторая идея, выдвинутая на основании экспериментов, проведенных на клетках млекопитающих (Tang et al., 1995; Klumperman et al., 1998b) и дрожжей (Pelham, 1995; Appenzeller et al., 1999). На основании этих работ было высказано мнение о том, что пузырьки COPI участвуют не в антероградном, а в ретроградном транспорте резидентных белков от ERGIC к ER (см. обзор: Pelham, 1994). Основанием для такого мнения послужили данные, согласно которым в пузырьках COPI не были найдены белки карго. В то же время в них были выявлены резидентные белки, в частности рецептор к растворимым белкам ER, содержащим сигнальный С-конец, — KDEL (у дрожжей HDEL), Erd2, рецепторы к белкам ERGIC53 (крыса) и p58 (дрожжи), белки слияния SNAREs (rBet и sec22) (Presley et al., 1997; Scales et al., 1997; Klumperman, 2000). Таким образом, рецепторные белки, встречающиеся в пузырьках COPI, распознают соответствующие сигнальные последовательности С-терминальных участков резидентных протеинов (KDEL/HDEL, ERGIC53 или p58), связываются с ними, и эти комплексы в составе пузырьков возвращаются к тем компартментам, из которых они произошли, а именно к цис-, ERGIC или ER, которые содержат вышеназванные регуляторные



протеины (Donaldson et al., 1990; Lahtinen et al., 1992; Pepperkok et al., 1993; Pelham, 1994; Bannykh, Balch, 1997; Klumperman et al., 1998b; Ladynsky et al., 1999; Hauri et al., 2000; Klumperman, 2000; Horstmann et al., 2003).

Сортировка лизосомных ферментов, вероятно, происходит с помощью рецепторов к маннозо-6-фосфату (MPRs), которые узнают маркер гидролаз M6P в TGN и селективно его возвращают (Traub, Cornfeld, 1997). Так же селективно возвращается из плазматической мембраны в TGN ее резидентный белок TGN38. Известно, что в цитоплазматическом конце этого белка расположена сигнальная последовательность с тирозиновым мотивом (SDYQRL), необходимая для его возврата в TGN (Bos et al., 1993). Возможно, в сортировке белков на TGN участвуют и липидные «рафты», в которых заякориваются мембранные протеины.

Специфичность транспорта и слияния пузырьков. Одним из наиболее важных вопросов при изучении внутриклеточного мембранного транспорта является специфичность слияния мембранных компартментов. Как показано в последние годы, эта специфичность определяется наличием соответствующих партнеров на мембранах сливающихся компартментов, так называемых SNAREs (SNAP-receptor). SNAREs — высококонсервативные белки, обнаруженные в клетках дрожжей, беспозвоночных и позвоночных животных. Большинство SNAREs — сверхспиральные интегральные мембранные белки с единственным трансмембранным доменом на С-терминали (Chen, Scheller, 2001; Paumet et al., 2001; Pelham, 2001).

Большой вклад в выяснение механизмов мембранного слияния транспортных пузырьков внесли исследования регулируемой нейросекреции (Söllner et al., 1993). Было показано, что имеются два класса SNAREs: v-SNAREs, локализующиеся в синаптических пузырьках (vesicular SNAREs), и t-SNAREs, локализующиеся в мембранах мишеней (пресинаптических мембранах), с которыми сливаются пузырьки (target SNAREs) (Chen, Scheller, 2001; Paumet et al., 2001; Pelham, 2001). Биохимический анализ синаптических окончаний показал, что в большинстве случаев роль t-SNARE на пресинаптической мембране клеток млекопитающих выполняет синтаксин, тогда как на синаптических везикулах (v-SNAREs) — синаптотагмин и синаптобrevин.

Взаимодействуя между собой, t- и v-SNARE образуют стабильные четырехспиральные пучки. Энергетические возможности для слияния SNARE обеспечиваются за счет гидролиза АТФ, опосредованного NSF (N-ethylmaleimide sensitive factor) (Whyte, Munro, 2002). По-видимому, конформационные изменения в t-SNAREs, осуществляемые за счет NSF, являются ключевым моментом в формировании и диссоциации комплекса двух SNAREs.

Удобную модель для изучения процессов слияния *in vitro* представляют собой клетки дрожжей, для которых характерны процессы слияния крупных вакуолей между собой, а также мелких пузырьков с вакуолями. С помощью методов геной инженерии можно создавать вакуоли, лишённые того или иного биохимического компонента комплекса слияния и таким образом изучать роль отдельных белков в процессе слияния. У дрожжей выявлено около 20 SNAREs, 8 из которых относятся к семейству синтаксинов, представляющих собой t-SNAREs (Pelham, 1999). Локализацию дрожжевых синтаксинов определяли иммунофлуоресценцией и субклеточным

фракционированием, а их партнеров (v-SNARE) — методом иммунопреципитации. У дрожжей среди факторов, необходимых для слияния мембран, выявлены протеины, гомологичные белкам комплекса слияния клеток млекопитающих: Sec18p — гомолог NSF, Sec17p — гомолог SNAP, pNuv1p — гомолог синаптобrevина, Vam3p — синтаксина. Аналогично NSF Sec18p участвует в диссоциации и формировании комплекса SNAREs при слиянии мембран (Nichols et al., 1997). На дрожжах было выявлено, что в каждой из сливающихся мембран должен быть обязательно по крайней мере один трансмембранный С-конец SNARE.

Предполагается, что пузырьки COPII, отпочковывающиеся от ER, содержат определенные v-SNARE, которые образуют комплекс с синтаксином (t-SNARE) раннего (проксимального) АГ, в результате чего происходит слияние пузырьков между собой и с цис-компаратментом АГ (Barlowe et al., 1994; Sogaard et al., 1994). Пузырьки COPI, которые селективно включают v-SNARE, доставленные в цистерны АГ из ER пузырьками COPII, переправляют их обратно в ER. Таким образом, SNAREs присутствуют на пузырьках, путешествующих в обоих направлениях, так как они должны вернуться к старту и снова использоваться.

Для того чтобы SNAREs двух везикул могли образовывать комплекс, их мембраны сначала должны прийти в тесный контакт. Такому контакту между пузырьком и мишенью до сборки белков слияния способствуют белки сшивания (tethers) (Pfeffer, 1999). Такие длинные фибриллярные мостики, связывающие пузырьки с мембранами АГ, были выявлены с помощью электронной микроскопии (Orci et al., 1998). В настоящее время в дрожжах идентифицированы три большие группы этих сверхспиральных белков (tethers), участвующих в секреторных процессах: Usa1p (гомолог у дрожжей — p115), Sec34p/Sec35p и TRAPP (Lowe, 2000). Белок p115 взаимодействует с джиантином на пузырьках COPI (Sonnichsen et al., 1998) и с GM130 на мембранах АГ (Nakamura et al., 1997). Хотя комплексы этих белков еще не изолированы, можно думать, что мостик (tether), соединяющий пузырек с мембраной АГ, состоит именно из этих трех молекул.

В последнее время благодаря использованию FRET (метода, основанного на изменении флуоресценции акцептора или донора при взаимодействии двух флуоресцирующих белков) были исследованы взаимодействия белков окаймления мембран COPII до их отпочковывания. В частности, на реконструированных липосомах изучали связывание и диссоциацию SEC23/24 и SNARE. Показано, что SEC23/24p диссоциирует от v-SNARE и комплексирует с t-SNARE медленнее, чем происходит гидролиз ГТФ посредством Sar1p (Sato, Nakano, 2005).

Предполагается, что SNARE являются центральным компонентом процессов слияния, в то время как малые ГТФазы, гетеротримерные G-белки и фосфоинозитиды играют регуляторную роль в транспортных процессах.

Участие малых ГТФаз в регуляции везикулярного транспорта. В последние годы показано, что существенная роль в процессах мембранного транспорта в эндо- и в экзоцитозном путях принадлежит малым ГТФазам, относящимся к семейству Rabs, или Ras-подобных ГТФаз (Sogaard et al., 1994; Darchen, Goud, 2000; Lipincott et al., 2000; Deneka, van der Sluijs, 2002; Pelham, 2002; Junutula et al., 2004). Их роль заключается в регуляции формирования и диссоциации белков окаймления на

мембранах пузырьков. Показано, что малая ГТФаза ARF входит в состав COPI, а ГТФаза SAR1 — в состав COPII (Pelham, Rothman, 2000; Spang, 2002).

Подобно другим ГТФазам, малые ГТФазы циркулируют между активным ГТФ-связанным состоянием (цитозольная форма) и неактивным ГДФ-связанным состоянием (мембранная форма). Когда ГТФаза гидролизует связанный ГТФ, коатомеры диссоциируют и неокаймленные пузырьки могут сливаться гомо- или гетеротипическим образом. Необходимой предпосылкой для слияния пузырьков наряду с удалением окаймления является узнавание специфическими белками слияния акцепторных пузырьков (v-SNARE) и соответствующих белков на мембране мишени (t-SNARE).

Регуляторная функция малых ГТФаз осуществляется через взаимодействие с широким набором эффекторов: фосфотидилинозитолкиназы, липазы, сигнальных киназ COPI, COPII, клатрина, анкирина, спектрина, белков сшивания.

Генетический подход к изучению внутриклеточного транспорта у дрожжей внес существенный вклад в понимание роли малых ГТФаз в клетке. В основном такого рода данные получены при анализе мутантов Sec4. Показано, что ген VPS34, кодирующий фосфатидилинозитол-3-ОН-киназу (один из эффекторных белков ГТФаз), контролирует сортировку и движение белков от транс-Гольджи через эндосомальные мембраны к вакуоли (Schu et al., 1993), тогда как ген Erd2 кодирует KDEL-рецептор (или его эквивалент у дрожжей — HDEL), который отвечает за возврат люменальных шаперонных протеинов, таких как BiP, из стопки АГ обратно в ER (Lewis, Pelham, 1990; Schekman, 2004).

Роль липидов в транспорте и сортировке белков. В последние годы большое внимание уделяется изучению роли липидов в формировании и слиянии мембранных переносчиков, созревании цистерн АГ, в диффузионном транспорте гидрофобных белков карго и резидентных белков в эндо- и экзоцитозном путях. Имеющиеся в литературе биохимические и генетические данные указывают на то, что регуляция содержания фосфатидной кислоты, диацилглицерола и фосфоинозитидов в мембране необходима для осуществления направленного транспорта белков как из ER в АГ, так и из АГ в другие клеточные компартменты (Roth, 1999). Возможно, в сортировке белков на TGN и их доставке в плазматическую мембрану важную роль играют специализированные домены на мембранах TGN и плазматической мембране, обогащенные сфинголипидами и холестерином, — «рафты», в которых заякорены многие апикальные протеины (Simons, Ikonen, 1997; Spang, 2002).

### Заключение

Введение новых подходов клеточной и молекулярной биологии к изучению АГ позволило выявить в последние 10—15 лет большое количество белков, регулирующих и поддерживающих его структуру и функцию. Сейчас известно более 700 различных типов белков, входящих в состав АГ. Несмотря на столь большие успехи в расшифровке их структурных и функциональных потенциалов, ряд важнейших вопросов, как это следует из приведенного обзора, остается нерешенным. Учитывая бурное развитие протеомики в наступившем столетии, можно ожидать в скором будущем открытий в АГ новых белков

и целых белковых семейств, участвующих в посттрансляционной модификации карго, в его внутриклеточном транспорте и т. д. Полная база данных белкового и липидного состава всех компартментов АГ наряду с соответствующим генетическим и физиологическим анализом транспортных и сортировочных процессов позволит лучше понять основные молекулярные механизмы, регулирующие селективное движение белков и липидов через АГ, их модификацию и сортировку. Многие вопросы, касающиеся секреторного транспорта, не могут быть решены на клеточных культурах, характеризующихся, как правило, слабой секреторной активностью. Поэтому необходимым аспектом будущих исследований, на наш взгляд, должен стать анализ альтернативных экспериментальных систем, таких как клетки протистов, дрожжей и специализированные клетки многоклеточных в норме и при физиологических нагрузках.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке ИНТАС (проект 99-1732) и Российского фонда фундаментальных исследований (проекты 03-04-49629 и 03-04-49422).

### Список литературы

- Комиссарчик Я. Ю., Снизиревская Е. С., Романов В. И., Сабинин Г. В. 1985. Анализ ультраструктурных изменений апикальной мембраны гранулярных клеток мочевого пузыря лягушки при стимулированном АДГ осмотическом потоке воды. Биол. мембраны. 2 (6) : 630—641.
- Миронов А. А., Комиссарчик Я. Ю., Миронов А. А., мл., Снизиревская Е. С., Луни А. 1998. Современные представления о структуре и функции пластинчатого комплекса. Цитология. 40 (6) : 483—496.
- Снизиревская Е. С. 1983. Сравнительный анализ структуры вакуолярной системы гранулярных клеток мочевого пузыря лягушки и комплекса сократительной вакуоли простейших. Цитология. 25 (8) : 889—895.
- Снизиревская Е. С., Комиссарчик Я. Ю. 1980. Ультраструктура специализированных межклеточных контактов. Цитология. 22 (9) : 1011—1136.
- Снизиревская Е. С., Комиссарчик Я. Ю. 1995. Морфофункциональный анализ изменений аппарата Гольджи в эпителиоцитах мочевого пузыря лягушки в условиях стимуляции транспорта воды вазопрессинном. Цитология. 37 (12) : 1216—1222.
- Снизиревская Е. С., Комиссарчик Я. Ю. 2003. Нецентросомальные микротрубочки в эпителиоцитах при изменении водной проницаемости. Биол. мембраны. 20 (1) : 41—45.
- Снизиревская Е. С., Комиссарчик Я. Ю., Наточин Ю. В., Шахматова Е. И. 1982. Электронно-микроскопическое исследование вакуолярной системы гранулярных клеток мочевого пузыря лягушки при действии АДГ. Цитология. 24 (3) : 252—256.
- Соколова Ю. Я., Снизиревская Е. С., Скарлато С. О., Комиссарчик Я. Ю., Миронов А. А. 2001. Необычайный аппарат Гольджи на пролиферативных стадиях жизненного цикла микроспоридий. Докл. РАН. 378 : 403—406 (290—293 in English).
- Aebi M., Hennett T. 2001. Congenital disorders of glycosylation: genetic model systems lead the way. Trends Cell Biol. 11 : 136—141.
- Allan V. J., Thomson H. M., McNiven M. A. 2004. Motoring around the Golgi. Nature Cell Biol. 4 : E236—E242.
- Allen R. D., Naitoh Y. 2002. Osmoregulation and contractile vacuoles of Protozoa. Int. Rev. Cytol. 215 : 351—393.
- Altan-Bonnet N., Phair R. D., Polischuk R. S., Weigert R., Lipincott-Schwartz J. 2003. A role for Arf1 in mitotic Golgi disassembly, chromosome segregation, and cytokinesis. PNAS. 100 : 13 314—13 319.

- Altan-Bonnet N., Sougrat R., Lippincott-Schwartz J. 2004. Molecular basis for Golgi maintenance and biogenesis. *Curr. Opin. Cell Biol.* 16 : 364—372.
- Appenzeller C., Andersson H., Kappeler F., Hauri H.-P. 1999. The lectin ERGIC-53 is a cargo transport receptor for glycoproteins. *Nature Cell Biol.* 1 : 330—334.
- Argent R. H., Roberts R., Wales J. D., Lord J. M. 1994. Introduction of a disulfide bond into ricin A chain decreases the cytotoxicity of the ricin holotoxin. *J. Biol. Chem.* 269 : 26 705—26 710.
- Aridor M., Fish K. N., Weissman J., Roberts T. H., Lippincott-Schwartz J., Balch W. E. 2001. The Sar1 GTPase coordinates biosynthetic cargo selection with endoplasmic reticulum export site assembly. *J. Cell Biol.* 52 : 213—229.
- Aridor M., Weissman J., Bannykh S., Nuoffer C., Balch W. E. 1998. Cargo selection by the COPII budding machinery during export from the ER. *J. Cell Biol.* 141 : 875—893.
- Ayala J. S. 1994. Transport and internal organization of membranes: vesicles, membrane networks and GTP-binding proteins. *J. Cell Sci.* 107 : 753—763.
- Balch W. E., McCaffery J. M., Plutner H., Farquhar M. 1994. Vesicular stomatitis virus glycoprotein is sorted and concentrated during export from the endoplasmic reticulum. *Cell.* 76 : 841—852.
- Ballowitz E. 1900. Bemerkung zu dem von Golgi und seinen Schölem beschriebenden «Apparato reticolare interno» der Ganglienen und Drüsenzelle. *Anat. Anz.* 18 : 177—181.
- Bannykh S. I., Balch W. E. 1997. Membrane dynamics at the endoplasmic reticulum-Golgi interface. *J. Cell Biol.* 138 : 1—4.
- Bannykh S. I., Noriuki N., Balch W. E. 1998. Getting into the Golgi. *Trends Cell Biol.* 8 : 19—35.
- Bannykh S. I., Rowe T., Balch W. E. 1996. The organization of endoplasmic reticulum export complexes. *J. Cell Biol.* 104 : 313—320.
- Banting G., Banting J., Lingelbach K. 1996. A minimalist view of the secretory pathway in *Plasmodium-Falciparum*. *Trends Cell Biol.* 5 : 340—343.
- Barlowe C., Orci L., Yeung T., Hosobuchi M., Hamamoto S., Salama N., Rexach M. F., Ravazzola M., Amherdt M., Schekman R. 1994. COPII: a membrane coat formed by Sec proteins that drive vesicle budding from the endoplasmic reticulum. *Cell.* 77 : 895—907.
- Barlowe C., Schekman R. 1993. SEC12 encodes a guanine-nucleotide-exchange factor essential for transport vesicle budding from the ER. *Nature.* 365 : 347—349.
- Becker B., Melkonian M. 1996. The secretory pathway of protists: spatial and functional organization and evolution. *Microbiol. Rev.* 60 : 697—703.
- Bedranek S. Y., Ravazzola M., Hosobuchi M., Amherdt M., Perrelet A., Schekman R., Orci L. 1995. COPI- and COPII-coated vesicles bud directly from the endoplasmic reticulum in yeast. *Cell.* 83 : 1183—1196.
- Benchimol M., Ribeiro K. C., Mariante R. M., Alderete J. F. 2001. Structure and division of the Golgi complex in *Trichomonas vaginalis* and *Trichomonas foetus*. *Eur. J. Cell Biol.* 80 : 593—607.
- Bendayan M. 1985. Ultrastructural localization of cytoskeletal proteins in pancreatic secretory cells. *Can. J. Biochem. Cell Biol.* 63 : 680—690.
- Bendayan M., Malide D., Ziv E., Levy E., Ben-Sasson R., Kalman R., Bar-On H., Chretien M., Seidah N. 1995. Immunocytochemical investigation of insulin secretion by pancreatic beta-cells on control and diabetic *Psammomys obesus*. *J. Histochem. Cytochem.* 43 : 771—784.
- Bezoussenko G. V., Mironov A. A. 2002. Models of intercellular transport and evolution of the Golgi complex. *Anat. Rec.* 268 : 226—238.
- Bonfanti L., Mironov A. A., Jr., Martinez-Menarquez J. A., Martella O., Fusella A., Baldassarre M., Buccione R., Geuze H. E., Mironov A. A., Luini A. 1998. Procollagen traverses the Golgi stack without leaving the lumen of cisternae: evidence for cisternal maturation. *Cell.* 95 : 993—1003.
- Bos K., Wraight C., Stanley K. K. 1993. TGN38 is maintained in the trans-Golgi network by a tyrosine-containing motif in the cytoplasmic domain. *EMBO J.* 12 : 2219—2228.
- Boulan E., Sabatini D. 1978. Asymmetric budding of viruses in epithelial monolayers: a model system for study of epithelial polarity. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 75 : 5071—5075.
- Brands R., Slot J. W., Geuze H. J. 1982. Immunocytochemical localization of beta-glucuronidase in the male rat preputial gland. *Eur. J. Cell Biol.* 27 : 213—220.
- Brown W. J. 1990. Cation-independent mannose 6-phosphate receptors are concentrated in trans Golgi elements in normal human and I-cell disease fibroblasts. *Eur. J. Cell Biol.* 51 : 201—210.
- Brown W. J., Farquhar M. G. 1987. The distribution of 215-kilodalton mannose 6-phosphate receptors within cis (heavy) and trans (light) Golgi subfractions varies in different cell types. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 84 : 9001—9005.
- Brown W. J., Goodhouse J., Farquhar M. G. 1986. Mannose 6-phosphate receptors for lysosomal enzymes cycle between the Golgi complex and endosomes. *J. Cell Biol.* 103 : 1235 : 1247.
- Burgess T. L., Kelly R. B. 1987. Constitutive and regulated secretion of proteins. *Annu. Rev. Cell Biol.* 3 : 243—293.
- Burhardt J., Echeverri C., Nilsson T., Valle R. 1997. Overexpression of the dynamin (p50) subunit of the dynactin complex disrupts dynein-dependent maintenance of membrane organelle distribution. *J. Cell Biol.* 139 : 469—484.
- Burr F., Puype M., Vanderkerckhove J., Warren G. 1997. GRASPs, a protein involved in the stacking of Golgi cisternae. *Cell.* 91 : 253—262.
- Campbell J. L., Schekman R. 1997. Selective packaging of cargo molecules into endoplasmic reticulum-derived COPII vesicles. *Biochemistry.* 94 : 837—842.
- Casap M., Thomas S., Danmaher E., Holton V., Jiang S., Storie B. 2004. Dynamic nucleation of Golgi apparatus assembly from the endoplasmic reticulum in interphase HeLa cells. *Traffic.* 5 : 595—613.
- Chen Y. A., Scheller R. H. 2001. SNARE-mediated membrane fusion. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2 : 98—106.
- Clermont Y., Rambourg A., Hermo L. 1994. Connections between the various elements of the cis- and mid-compartments of the Golgi apparatus of early rat spermatids. *Anat. Rec.* 240 : 469—480.
- Cole N. B., Ellenberg J., Song J., DiEuliis D., Lippincott-Schwartz J. 1998. Retrograde transport of Golgi-localized proteins in the ER. *J. Cell Biol.* 140 : 1—15.
- Cole N. B., Lippincott-Schwartz J. 1995. Organization of organelles and membrane traffic by microtubules. *Curr. Opin. Cell Biol.* 7 : 55—64.
- Cole N. B., Sciaky N., Marotta A., Song J., Lippincott-Schwartz J. 1996. Golgi dispersal during microtubule disruption: regeneration of Golgi stacks at peripheral endoplasmic reticulum exit sites. *Mol. Biol. Cell.* 7 : 631—650.
- Dacks J. B., Davis L. A. M., Sjogren A. M., Andersson J. O., Roger A. J., Doolittle W. F. 2003. Evidence for Golgi bodies in proposed «Golgi-lacking» lineages. *Proc. Royal Soc. London. Ser. B. Biol. Sci.* 270 : S168—S171.
- Darchen F., Goud B. 2000. Multiple aspects of Rab protein action in the secretory pathway: focus on Rab3 and Rab6. *Biochimie.* 82 : 375—384.
- Deneka M., van der Sluijs P. 2002. Rabing up endosomal membrane transport. *Nat. Cell Biol.* 4 : E33—E35.
- Docherty P. A., Snider M. D. 1991. Effects of hypertonic and sodium-free medium on transport of a membrane glycoprotein along the secretory pathway in cultured mammalian cells. *J. Cell. Physiol.* 146 : 34—42.
- Dominguez M., Dejgaard K., Füllekrug J., Dahan S., Fazel A., Paccard J. P., Thomas D. Y., Bergeron J. J. M., Nilsson T. 1998. gp25L/emp24/p24 protein family members of the cis-Golgi network bind both COPI and II coatomer. *J. Cell Biol.* 1140 : 7511—7565.
- Donaldson J. G., Lippincott-Schwartz J., Bloom G. S., Kreis T. E., Klausner R. D. 1990. Dissociation of a 110-kD peripheral membrane protein from the Golgi apparatus is an early event in Brefeldin A action. *J. Cell Biol.* 111 : 2295—2306.
- Dumermuth E., Moore H. P. 1998. Analysis of constitutive and constitutive-like secretion in semi-intact pituitary cells. *Methods.* 16 : 188—197.



- Dunphy W. G., Rothman J. E. 1985. Compartmental organization of the Golgi stack. *Cell*. 42 : 13—21.
- Espenshade P., Gimeno R., Holzmacher E., Teung P., Kaiser C. 1995. Yeast SEC16 gene encodes a multidomain vesicle coat protein that interacts with Sec23p. *J. Cell Biol.* 131 : 311—324.
- Fan J.-Y., Roth J., Zuber C. 2003. Ultrastructural analysis of transitional endoplasmic reticulum and pre-Golgi intermediates: a high-way for cars and trucks. In: *Histochem. Cell Biol.* Springer-Verlag, 43rd Symp. Soc. Histochemistry. Vienna, Austria, September, 2001. 1—15.
- Farquhar M. G., Palade G. E. 1981. The Golgi apparatus (complex) — (1954—1981) — from artifact to center stage. *J. Cell Biol.* 97 : 77s—103s.
- Farquhar M., Palade G. 1998. The Golgi apparatus: 100 years of progress and controversy. *Trends Cell Biol.* 8 : 2—10.
- Feiguin F., Ferreira A., Kosik K. S., Caceres A. 1994. Kinesin-mediated organelle translocation revealed by specific cellular manipulations. *J. Cell Biol.* 127 : 1021—1039.
- Fok A. K., Aihara M. S., Ishida M., Nolta K. V., Steck T. L., Allen R. D. 1995. The pegs on the decorated tubules of the contractile vacuole complex of *Paramecium* are proton pumps. *J. Cell Sci.* 108 : 3163—3170.
- Fok A. K., Clarke M., Ma L., Allen R. D. 1993. Vacuolar H<sup>+</sup>-ATPase of *Dyctiostelium discoideum*. A monoclonal antibody study. *J. Cell Sci.* 106 : 1103—1113.
- Friend D. S. 1969. Cytochemical staining of multivesicular body and Golgi vesicles. *J. Cell Biol.* 41 : 269—279.
- Fuchs H. 1902. Über das Epithel im Nebenhoden der Maus. *Anat. Hefte*. 19, Abt. 1 : 311—347.
- Futerman A. H., Stieger B., Hubbard A. L., Pagano R. E. 1990. Sphingomyelinsynthesis in rat liver occurs predominantly at the cis and medial cisternae of the Golgi apparatus. *J. Biol. Chem.* 265 : 8650—8657.
- Geuze J. J., Slot J. W., Tokuyasu K. T. 1979. Immunocytochemical localization of amylase and chymotrypsinogen in the exocrine pancreatic cell with special attention to the Golgi complex. *J. Cell Biol.* 82 : 697—707.
- Ghosh S. K., Field J., Frisardi M., Rosenthal B., Mai Z. M., Rogers R., Samuelson J. 1999. Chitinase secretion by encysting *Entamoeba invadens* and transfected *Entamoeba histolytica* trophozoites: localization of secretory vesicles, endoplasmic reticulum, and Golgi apparatus. *Infection and Immunity*. 67 : 3073—3081.
- Glick B. S. 2000. Organization of the Golgi apparatus. *Curr. Opin. Cell Biol.* 12 : 450—456.
- Glick B. S., Malhotra V. 1998. The curious status of the Golgi apparatus. *Cell*. 95 : 883—889.
- Goldberg J. 1999. Structural and functional analysis of the ARF1—ARFGAP complex reveals a role for coatomer in GTP hydrolysis. *Cell*. 96 : 893—902.
- Golgi C. 1898. Sur la structure des cellules nerveuses. *Arch. Ital. Biol.* 30 : 60—71.
- Gorelick F. S., Shurgue C. 2001. Exiting the endoplasmic reticulum. *Mol. Cell. Endocrinol.* 177 : 13—18.
- Grassè P.-P. 1957. Ultrastructure polarité et reproduction de l'appareil de Golgi. *C. R. Acad. Sci.* 245 : 1278—1281.
- Griffiths G., Simons K. 1986. The trans Golgi network: sorting at the exit site of the Golgi complex. *Science*. 34 : 438—443.
- Hager K. M., Striepen B., Tilney L. G., Roos D. S. 1999. The nuclear envelope serves as an intermediary between the ER and Golgi complex in the intracellular parasite *Toxoplasma gondii*. *J. Cell Sci.* 112 : 2631—2638.
- Hauri H.-P., Kappeler F., Andersson H., Appenzeller C. 2000. ERGIC-53 and traffic in the secretory pathway. *J. Cell Sci.* 113 : 587—596.
- Herbener G. H., Bendayan M., Feldhoff R. C. 1984. The intracellular pathway of vitellogenin secretion in the frog hepatocyte as revealed by protein A-gold immunocytochemistry. *J. Histochem. Cytochem.* 32 : 697—704.
- Hermo L., Smith C. E. 1998. The structure of the Golgi apparatus: a sperm's eye view in principal epithelial cells of the rat epididymis. *Histochem. Cell Biol.* 109 : 431—447.
- Herrmann J. M., Malkus P., Schekman R. 1999. Out of the ER — outfitters, escorts and guides. *Trends Cell Biol.* 9 : 5—7.
- Hicks R. M. 1966. The function of the Golgi complex in transitional epithelium. *J. Cell Biol.* 30 : 623—643.
- Hirokawa N. 1998. Kinesin and dynein superfamily proteins and the mechanism of organelle transport. *Science*. 279 : 519—526.
- Hirschberg K., Miller C. M., Ellenberg J., Presley J. F., Sig-gia E. D., Phair R. D., Lippincott-Schwartz J. 1998. Kinetic analysis of secretory protein traffic and characterization of Golgi to plasma membrane transport intermediates in living cells. *J. Cell Biol.* 143 : 1485—1503.
- Holthuis J. C., Pomorski T., Raggars R. J., Sprong H., Van Meer G. 2001. The organizing potential of sphingolipids in intracellular membrane transport. *Physiol. Rev.* 81 : 1689—1723.
- Horstmann H., Ng C. P., Tang B. L., Hong W. 2003. Ultrastructural characterization of endoplasmic reticulum-Golgi transport containers (EGTC). *J. Cell Sci.* 115 : 4263—4273.
- Howell S. L., Thyhurst M. 1980. The role of actin in the secretory cycle. *Horm. Metab. Res. Suppl.* 10 : 168—171.
- Jamieson J. D., Palade G. E. 1967. Intracellular transport of secretory proteins in the pancreatic exocrine cell. I. Role of the peripheral elements of the Golgi complex. *J. Cell Biol.* 34 : 577—596.
- Junutula J. R., De Mazière A. M., Peden A. A., Ervin K. E., Advani R. J., van Dijk S. M., Klumperman J., Scheller R. H. 2004. Rab14 is involved in membrane trafficking between the Golgi complex and endosomes. *Mol. Biol. Cell*. 15 : 2218—2229.
- Kaiser C. 2000. Thinking about p24 proteins and how transport vesicles select their cargo. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. 97 : 3783—3785.
- Kaiser C. A., Schekman R. 1990. Distinct sets of SEC genes govern transport vehicle formation and fusion early in the secretory pathway. *Cell*. 61 : 723—733.
- Kamal A., Goldstein L. S. 2000. Connecting vesicle transport to the cytoskeleton. *Curr. Opin. Cell Biol.* 12 : 503—508.
- Kasap M., Thomas S., Danaher E., Holton V., Jiang S., Storie B. 2004. Dynamic nucleation of Golgi apparatus assembly from the endoplasmic reticulum in interphase HeLa cells. *Traffic*. 5 : 595—605.
- Keeling P. J. 2003. Congruent evidence from alpha-tubulin and beta-tubulin gene phylogenies for a zygomycete origin of microsporidia. *Fung. Genetics Biol.* 38 : 298—309.
- Kelly R. B. 1985. Pathways of protein secretion in eukaryotes. *Science*. 230 : 25—32.
- Klumperman J. 2000. Transport between ER and Golgi. *Curr. Opin. Cell Biol.* 12 : 445—449.
- Klumperman J., Kuliawat R., Griffith J. M., Geuze H. J., Arvan P. 1998a. Mannose 6-phosphate receptors are sorted from immature secretory granules via adaptor protein AP-1, clathrin, and syntaxin 6-positive vesicles. *J. Cell Biol.* 141 : 359—371.
- Klumperman J., Schweizer A., Clausen H., Tang B. L., Hong W., Oorshot V., Hauri H. P. 1998b. The recycling pathway of protein ERGIC-53 and dynamics of the ER-Golgi intermediate compartment. *J. Cell Sci.* 111 : 3411—3425.
- Komissarchik Ya. Yu., Natochin Yu. V., Snigirevskaya E. S., Shakhmatova E. I. 1985. Specific vacuolation of frog urinary bladder cell after ADH-stimulation of water transport. *Gen. Physiol. Biophys.* 4 : 557—572.
- Komissarchik Ya. Yu., Snigirevskaya E. S. 2002. Giant vacuoles during ADH-induced transcellular bulk water flow across the epithelium of the frog urinary bladder. *Cell Biol. Int.* 26 : 373—383.
- Komissarchik Ya. Yu., Snigirevskaya E. S., Shakhmatova E. I., Natochin Yu. V. 1998. Ultrastructural correlates of increase in the epithelial osmotic water permeability without antidiuretic hormone (ADH). *Cell Tissue Res.* 293 : 517—524.
- Kopsch F. 1902. Die Darstellung des Bannennetzes in spinalen Ganglienzelle und anderen Körperzellen mittels Osmiumsäure. *Sitzungber. Preuss. Akad. Wiss. Phys. Math. Kl.* 40 : 929—935.
- Kornfeld R., Kornfeld S. 1985. Assembly of asparagine-linked oligosaccharides. *Annu. Rev. Biochem.* 54 : 631—664.
- Ladinsky M. S., Mastronarde D. N., McIntosh J. R., Howell K. E., Staehelin L. A. 1999. Golgi structure in three dimensions

- ons: functional insights from the normal rat kidney cell. *J. Cell Biol.* 144 : 1135—1149.
- Lahtinen U., Dahllof B., Saraste J. 1992. Characterization of a 58 kDa cis-Golgi protein in pancreatic exocrine cells. *J. Cell Sci.* 103 : 321—333.
- Lane J. D., Allan V. 1999. Microtubule-based ER motility in *Xenopus laevis*: activation of membrane-associated conventional kinesin during development. *Mol. Biol. Cell.* 10 : 1909—1922.
- Lannert H., Gorgas K., Meissner I., Wieland F. T., Jeckel D. 1998. Functional organization of the Golgi apparatus in glycosphingolipid biosynthesis. Lactosylceramide and subsequent glycosphingolipids are formed in the lumen of the late Golgi. *J. Biol. Chem.* 273 : 2939—2946.
- Lee T. H., Lindstedt A. D. 1999. Osmotically induced cell volume changes alter anterograde and retrograde transport, Golgi structure, and COPI dissociation. *Mol. Biol. Cell.* 10 : 1445—1462.
- Lewis M. J., Pelham H. R. 1992. Ligand-induced redistribution of a human KDEL receptor from the Golgi complex to the endoplasmic reticulum. *Cell.* 68 : 353—364.
- Lindstedt A. D., Hauri H. P. 1993. Giantin, a novel conserved Golgi membrane protein containing a cytoplasmic domain of at least 35 kDa. *Mol. Biol. Cell.* 4 : 679—692.
- Lippincott-Schwartz J. 1998. Cytoskeletal proteins and Golgi dynamics. *Curr. Biol.* 10 : 52—59.
- Lippincott-Schwartz J., Donaldson J. G., Schweizer A., Berger E. G., Hauri H. P., Yuan L. C., Klausner R. D. 1990. Microtubule-dependent retrograde transport of proteins into the ER in the presence of Brefeldin A suggests an ER recycling pathway. *Cell.* 60 : 821—836.
- Lippincott-Schwartz J., Presley J., Zaal K., Hirschberg K., Miller C., Ellenberg J. 1999. Monitoring the dynamics and mobility of membrane proteins tagged with green fluorescent protein. In: GFP biofluorescence: imaging, gene expression, and protein dynamics in living cells. New York: Acad. Press. 261—281.
- Lippincott-Schwartz J., Roberts T. H., Hirschberg K. 2000. Secretory protein trafficking and organelle dynamics in living cells. *Annu. Rev. Cell Develop. Biol.* 16 : 557—589.
- Lippincott-Schwartz J., Smith C. L. 1997. Insights into secretory and endocytic membrane traffic using green fluorescent protein chimeras. *Curr. Opin. Neurobiol.* 7 : 631—639.
- Lippincott-Schwartz J., Zaal K. J. 2000. Cell cycle maintenance and biogenesis of the Golgi complex. *Histochem. Cell Biol.* 114 : 93—103.
- Lord J. M., Roberts L. M. 1998. Toxin entry: retrograde transport through the secretory pathway. *J. Cell Biol.* 140 : 733—736.
- Lorra C., Huttner W. B. 1999. The mesh hypothesis of Golgi dynamics. *Nat. Cell Biol.* 1 : E113—E115.
- Lowe M. 2000. Membrane transport: tethers and TRAPPS. *Curr. Biol.* 10 : R407—R409.
- Lucocq J. M., Pryde J. G., Berger E. G., Warren G. 1987. A mitotic form of the Golgi apparatus in HeLa cells. *J. Cell Biol.* 104 : 865—874.
- Lucocq J. M., Warren G. 1987. Fragmentation and partitioning of the Golgi apparatus during mitosis in HeLa cells. *EMBO J.* 6 : 3239—3246.
- Lujan H. D., Marotta A., Mowatt M. R., Sciaky N., Lippincott-Schwartz J., Nash T. E. 1995. Developmental induction of Golgi structure and function in the primitive eukaryote *Giardia lamblia*. *J. Biol. Chem.* 270 : 4612—4618.
- Lujan H. D., Touz M. C. 2003. Protein trafficking in *Giardia lamblia*. *Cell. Microbiol.* 5 : 427—434.
- Luzio J. P., Brake B., Banting G., Howell K. E., Braghetta P., Stanley K. K. 1990. Identification, sequencing and expression of an integral membrane protein of the trans-Golgi network (TGN38). *Biochem. J.* 270 : 97—102.
- Malhotra V., Serafini T., Orci L., Shepherd J. C., Rothman J. E. 1989. Purification of a novel class of coated vesicles mediating biosynthetic protein transport through the Golgi stack. *Cell.* 58 : 329—336.
- Manning-Cela R., Marquez C., Franco E., Talamas-Rohana P., Meza I. 2003. BFA-sensitive and insensitive exocytic pathways in *Entamoeba histolytica* trophozoites: their relationship to pathogenesis. *Cell. Microbiol.* 5 : 921—932.
- Marsh B. J., Volkmann N., McIntosh J. R., Howell K. E. 2004. Direct continuities between cisternae at different levels of the Golgi complex in glucose-stimulated mouse islet beta cells. *PNAS.* 101 : 5565—5570.
- Martinez-Menàrquez J. A., Geuze H. J., Slot J. W., Klumperman J. 1999. Vesicular tubular clusters between the ER and Golgi mediate concentration of soluble secretory proteins by exclusion from COPI-coated vesicles. *Cell.* 98 : 81—90.
- McConville M. J., Ilgoutz S. C., Teasdale R. D., Foth B. J., Matthews A., Mullin K. A., Gleeson P. A. 2002. Targeting of the GRIP domain to the trans-Golgi network is conserved from protists to animals. *Eur. J. Cell Biol.* 81 : 485—495.
- McKanna J. A. 1976. Fine structure of fluid segregation organelles of *Paramecium* contractile vacuoles. *J. Ultrastruct. Res.* 54 : 1—10.
- Melkonian M., Becker B., Becker D. 1991. Scale formation in algae. *J. Electron. Microsc. Technol.* 17 : 15—23.
- Mellman I., Simons K. 1992. The Golgi complex: in vitro veritas? *Cell.* 68 : 829—840.
- Minin A. A. 1997. Dispersal of Golgi apparatus in nocodazole-treated fibroblasts is a kinesin-driven process. *J. Cell Sci.* 110 : 2495—2505.
- Mironov A. A., Beznoussenko G. V., Nicoziani P., Martella O., Trucco A., Kweon H. S., Di Giandomenico D., Polischuk R. S., Fusella A., Lupetti P., Berger E. G., Geeris W. J., Koster A. J., Burger K. N., Luini A. 2001. Small cargo proteins and large aggregates can traverse the Golgi by a common mechanism without leaving the lumen of cisternae. *J. Cell Biol.* 155 : 1225—1238.
- Mironov A. A., Beznoussenko G. V., Polischuk R. S., Trucco A. 2005. Intra-Golgi transport. A way to a new paradigm? *Mol. Cell. Res.* 1744 : 340—350.
- Mironov A. A., Colanzi A., Polischuk R. S., Beznoussenko G. V., Mironov A. A., Jr., Fusella A., Di Tullio G., Siletta M. G., Corda D., De Matteis M. A., Luini A. 2004. Dicumarol, an inhibitor of ADP-ribosylation of CtBP3/BARS, fragments Golgi non-compact tubular zones and inhibits intra-Golgi transport. *Eur. J. Cell Biol.* 83 : 263—279.
- Mironov A. A., Mironov A. A., Jr., Beznoussenko G. V., Trucco A., Lupetti P., Smith J. D., Geerts W. J., Koster A. J., Burger K. N., Martone M. E. 2003. ER-t-Golgi carries arise through direct En bloc protrusion and multistage maturation of specialized ER exit domains. *Develop. Cell.* 5 : 583—594.
- Mironov A. A., Polischuk R. S., Luini A. 2000. Visualizing membrane traffic *in vivo* by combined video fluorescence and 3D electron microscopy. *Trends Cell Biol.* 10 : 349—353.
- Mironov A. A., Weidman P., Luini A. 1997. Variations on the intracellular transport theme: maturing cisternae and trafficking tubules. *J. Cell Biol.* 138 : 481—484.
- Mizuno M., Singer S. J. 1993. A soluble secretory protein in first concentrated in the endoplasmic reticulum before transfer to the Golgi apparatus. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 90 : 5732—5736.
- Molinete M., Irminger J. C., Tooze S. A., Halban P. A. 2000. Trafficking/sorting and granule biogenesis in the beta-cell. *Semin. Cell Develop. Biol.* 11 : 243—251.
- Morin-Ganet M. N., Rambourg A., Deitz S. B., Franzusoff A., Kepes F. 2000. Morphogenesis and dynamics of the yeast Golgi apparatus. *Traffic.* 1 : 56—68.
- Mostov K. E., Verges M., Altschuler Y. 2000. Membrane traffic in polarized epithelial cells. *Curr. Opin. Cell Biol.* 12 : 483—490.
- Muñiz M., Riezman H. 2000. Intracellular transport of GPI-anchored proteins. *EMBO J.* 19 : 10—15.
- Nakamura N., Lowe M., Levine T. P., Rabouille C., Warren G. 1997. The vesicle docking protein p115 binds GM130, a cis-Golgi protein in mitotically regulated manner. *Cell.* 89 : 445—455.
- Nakamura N., Rabouille C., Watson R., Nilsson T., Hui N., Slusarewicz P., Kreis T. E., Warren G. 1995. Characterization of a cis-Golgi matrix protein, GM130. *J. Cell Biol.* 131 : 1715—1726.
- Nassonov D. N. 1923. Das Goldische Bannennetz und seine Beziehungen zu der Sekretion. Untersuchungen über einige Amphibiendrüsen. *Arch. Mirk. Anat. Entwickl. Mech.* 97 : 136—186.



- Nassonov D. N. 1924. Der Exkretionsapparat (kontraktile Vakuole) der Protozoa als Homologon der Goldischen Apparatus der Metazoozellen. Arch. Mikr. Anat. Entwickl. Mech. 103 : 437—482.
- Neutra M., Leblond C. P. 1966. Synthesis of the carbohydrate of mucus in the Golgi complex as shown by electron microscope radioautography of goblet cells from rats injected with glucose-H<sup>3</sup>. J. Cell Biol. 30 : 137—150.
- Nezil F. A., Bloom M. 1992. Combined influence of cholesterol and synthetic amphiphilic peptides upon bilayer thickness in model membranes. Biophys. J. 61 : 1176—1183.
- Nichols B. J., Ungermann C., Pelham H. R. B., Wickner W. T., Haas A. 1997. Homotypic vacuolar fusion mediated by t- and v-SNAREs. Nature. 387 : 199—202.
- Nishimura N., Balch W. E. 1997. A di-acidic signal required for selective export from the endoplasmic reticulum. Science. 277 : 556—558.
- Novick P., Ferro S., Schekman R. 1981. Order of events in the yeast secretory pathway. Cell. 25 : 461—469.
- Novikoff A. B., Goldfischer S. 1961. Nucleoside diphosphatase activity in the Golgi apparatus and its usefulness for cytological studies. Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 47 : 802.
- Opat A. S., Van Vliet C., Gleeson P. A. 2001. Trafficking and localization of resident Golgi glycosylation enzyme. Biochimie. 83 : 763—773.
- Oprins A., Rabouille C., Posthuma G., Klumperman J., Geuze H. J., Slot J. W. 2001. The ER to Golgi interface is the major concentration site of secretory proteins in the exocrine pancreatic cell. Traffic. 2 : 831—838.
- Orci L., Halban P., Amherdt M., Ravazzola M., Vassalli J. D., Perrelet A. 1984. A clathrin-coated, Golgi-related compartment of the insulin secreting cell accumulates proinsulin in the presence of monensin. Cell. 39 : 39—47.
- Orci L., Like A. A., Amherdt M., Blondel B., Kanazawa Y., Marliss E. B., Lambert A. E., Wollheim C. B., Renold A. E. 1973. Monolayer cell culture of neonatal rat pancreas: an ultrastructural and biochemical study of functioning endocrine cells. J. Ultrastruct. Res. 43 : 270—297.
- Orci L., Montesano R., Meda P., Malisse-Lagae F., Brown D., Perrelet A., Vassalli P. 1981. Heterogeneous distribution of filipin-cholesterol complexes across the cisternae of the Golgi apparatus. Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 78 : 293—297.
- Orci L., Perrelet A., Rothman J. E. 1998. Vesicles on strings: morphological evidence for processive transport within the Golgi stack. Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 95 : 2279—2283.
- Orci L., Ravazzola M., Amherdt M., Perrelet A., Powell S. K., Quinn D. L., Moore H. P. 1987. The trans-most cisternae of the Golgi complex: a compartment for sorting of secretory and plasma membrane proteins. Cell. 51 : 1039—1051.
- Orci L., Ravazzola M., Meda P., Holcomb C., Moore H. P., Hocke L., Schekman R. 1991. Mammalian Sec23p homologous is restricted to the endoplasmic reticulum transitional cytoplasm. Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 88 : 8611—8615.
- Orci L., Stamnes M., Ravazzola M., Amherdt M., Perrelet A., Söllner T. H., Rothman J. E. 1997. Bidirectional transport by distinct populations of COPI-coated vesicles. Cell. 90 : 335—349.
- Paccaud J. P., Reith W., Carpentier J. L., Amherdt M., Schekman R., Orci L. 1996. Cloning and functional characterization of mammalian homologues of the COPII component Sec23. Mol. Biol. Cell. 7 : 1535—1546.
- Pagano A., Letourneur F., Garcia-Estefania D., Carpentier J. L., Orci L., Paccaud J. 1999. SEC24 proteins and sorting at the endoplasmic reticulum. J. Biol. Chem. 274 : 7833—7840.
- Palade G. E. 1975. Intercellular aspects of the process of protein synthesis. Science. 189 : 347—354.
- Palmer K. J., Stephens D. J. 2004. Biogenesis of ER-to-Golgi transport carriers: complex roles of COPII in ER export. Trends Cell Biol. 14 : 57—61.
- Park I. S., Bendayan M. 1992. Characterization of the endocrine cells in the pancreatic-bile duct system of the rat. Anat. Rec. 232 : 247—256.
- Paumet F., Brugger B., Parlati F., McNew J. A., Sollner T. H., Rothman J. E. 2001. A t-SNARE of the endocytic pathway must be activated for fusion. J. Cell Biol. 155 : 961—968.
- Pelham H. R. B. 1994. About turn for the COPs? Cell. 79 : 1125—1127.
- Pelham H. R. B. 1995. Sorting and retrieval between the endoplasmic reticulum and Golgi apparatus. Curr. Opin. Cell Biol. 7 : 530—535.
- Pelham H. R. B. 1998. Getting through the Golgi complex. Trends Cell Biol. 8 : 45—49.
- Pelham H. R. B. 1999. The Croonian lecture 1999. Intracellular membrane traffic: getting proteins sorted. Phil. Trans. R. Soc. Lond. 354 : 1471—1478.
- Pelham H. R. B. 2001. SNAREs and the specificity of membrane fusion. Trends Cell Biol. 11 : 99—101.
- Pelham H. R. B. 2002. Insights from yeast endosomes. Curr. Opin. Cell Biol. 14 : 454—462.
- Pelham H. R., Rothman J. E. 2000. The debate about transport in the Golgi—two sides of the same coin? Cell. 74 : 71—82.
- Pepperkok R., Scheel J., Horstmann H., Hauri H. P., Griffiths G., Kreis T. E. 1993. Beta-COP is essential for biosynthetic membrane transport from the endoplasmic reticulum to the Golgi complex *in vivo*. Cell. 74 : 71—82.
- Peyroche A., Antony B., Robineau S., Acker J., Cherfils J., Jackson C. L. 1999. Brefeldin A acts to stabilize an abortive ARF-GDP-Sec7 domain protein complex: involvement of specific residues of the Sec7 domain. Mol. Cell. 3 : 275—285.
- Pfeffer S. R. 1999. Transport-vesicle targeting: tethers before snares. Nat. Cell Biol. 1 : E17—E22.
- Polischuk E. V., DiPentima A., Luini A., Polischuk R. S. 2003. Mechanism of constitutive export from the Golgi: bulk flow via the formation, protrusion, and en bloc cleavage of large trans-Golgi network tubular domains. Mol. Biol. Cell. 14 : 4470—4485.
- Polischuk R. S., Polischuk E. V., Marra P., Alberti S., Buccione R., Luini A., Mironov A. A. 2000. Correlative light-electron microscopy reveals the tubular-saccular ultrastructure of carriers operating between Golgi apparatus and plasma membrane. J. Cell Biol. 148 : 45—58.
- Prescott A. R., Farmaki T., Thomson C. C., James J., Paccaud J. P., Tang B.-L., Hong W., Quinn M., Ponnambalam S., Lucocq J. 2001. Evidence for prebudding arrest of ER export in animal cell mitosis and its role in generating Golgi partitioning intermediates. Traffic. 2 : 321—335.
- Presley J. F., Cole N. B., Schroer T. A., Hirshberg K., Zaal K. J., Lippincott-Schwartz J. 1997. ER-to-Golgi transport visualized in living cells. Nature. 389 : 81—85.
- Presley J. F., Smith C., Hirshberg K., Miller C., Cole N. B., Zaal K. J. M., Lippincott-Schwartz J. 1998. Golgi membrane dynamics. Mol. Biol. Cell. 9 : 1617—1626.
- Preuss D., Mulholland J., Franzusoff A., Segev N., Botstein D. 1992. Characterization of the *Saccharomyces* Golgi complex through the cell cycle by immunoelectron microscopy. Mol. Biol. Cell. 3 : 789—803.
- Puri S., Lindstedt A. D. 2003. Capacity of the Golgi apparatus for biogenesis from the endoplasmic reticulum. Mol. Biol. Cell. 14 : 5011—5018.
- Puri S., Telfer H., Velliste M., Murphy R. F., Lindstedt A. D. 2004. Dispersal of Golgi matrix proteins during mitotic Golgi disassembly. J. Cell Sci. 117 : 451—456.
- Rabouille C., Hui N., Hunte F., Kieckbush R., Berger E. G., Warren G., Nielsen A. 1995. Mapping the distribution of Golgi enzymes involved in the construction of complex oligosaccharides. J. Cell Biol. 108 : 1617—1627.
- Raikhel A. S., Snigirevskaya E. S. 1998. Vitellogenesis. In: Microscopic anatomy of Invertebrates. Insecta. New York: Wiley-Liss, Inc. 11C : 933—955.
- Rambourg A., Clermont Y., Hermo L. 1981. Three-dimensional structure of the Golgi apparatus. Methods Cell Biol. 23 : 155—166.
- Rambourg A., Clermont Y., Hermo L., Segretain D. 1987. Three-dimensional architecture of the Golgi apparatus and its components in mucous cells of Brunner's glands of the mouse. Amer. J. Anat. 179 : 95—107.



- Rambourg A., Clermont Y., Képès F. 1993. Modulation of the Golgi apparatus in *Saccharomyces cerevisiae* sec7 mutants as seen by three-dimensional electron microscopy. *Anat. Rec.* 237 : 441—452.
- Rambourg A., Clermont Y., Nicaud J. M., Gaillardin C., Kepes F. 1996. Transformations of membrane-bound organelles in sec14 mutants of the yeasts *Saccharomyces cerevisiae* and *Yarrowia lipolytica*. *Anat. Rec.* 245 : 448—458.
- Rambourg A., Jackson C. L., Clermont Y. 2001. Three dimensional configuration of the secretory pathway and segregation of secretion granules in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *J. Cell Sci.* 114 : 2231—2239.
- Ravaazola M., Perrelet A., Unger R. H., Orci L. 1984. Immunocytochemical characterization of secretory granule maturation in pancreatic A-cells. *Endocrinology.* 114 : 481—485.
- Robertson A. M., Allan V. J. 2000. Brefeldin A-dependent membrane tubule formation reconstituted *in vitro* driven by a cell cycle-regulated microtubule motor. *Mol. Biol. Cell.* 11 : 941—955.
- Robinson M. S., Bonifacino J. S. 2001. Adaptor-related proteins. *Curr. Opin. Cell Biol.* 13 : 444—453.
- Rossanese O. W., Glick B. S. 2001. Deconstructing Golgi inheritance. *Traffic.* 2 : 589—596.
- Roth J., Berger E. G. 1982. Immunocytochemical localization of galactosyltransferase in HeLa cells: codistribution with thiamine pyrophosphatase in trans-Golgi cisternae. *J. Cell Biol.* 92 : 223—229.
- Roth J., Taatjes D. J., Lucocq J. M., Weinstein J., Paulson J. C. 1985. Demonstration of an extensive trans-tubular network continuous with the Golgi apparatus stack that may function in glycosylation. *Cell.* 43 : 287—295.
- Roth M. G. 1999. Lipid regulators of membrane traffic through the Golgi complex. *Trends Cell Biol.* 9 : 174—179.
- Rothman J. E. 1994. Mechanisms of intracellular protein transport. *Nature.* 372 : 55—63.
- Rothman J. E., Urbani L. J., Brands R. 1984. Transport of protein between cytoplasmic membranes of fused cells: correspondence to processes reconstituted in a cell-free system. *J. Cell Biol.* 99 : 248—259.
- Rothman J. E., Wieland F. T. 1996. Protein sorting by transport vesicles. *Science.* 272 : 227—234.
- Salama N. R., Chuang J. S., Schekman R. W. 1997. SEC31 encodes an essential component of the COPII coat required for transport vesicle budding from the endoplasmic reticulum. *Mol. Biol. Cell.* 8 : 205—217.
- Saraste J., Palade G. E., Farquhar M. G. 1987. Antibodies to rat pancreas subfractions: identification of a 53 kDa cis-Golgi protein. *J. Cell Biol.* 105 : 2021—2029.
- Saraste J., Svensson K. 1991. Pathways of protein sorting and membrane traffic between the rough endoplasmic reticulum and the Golgi complex. *J. Cell Sci.* 100 : 415—430.
- Sato K., Nakano A. 2005. Dissection of COPII subunit-cargo assembly and disassembly kinetics during Sar1p-GTP hydrolysis. *Nature Struct. Mol. Biol.* 12 : 167—174.
- Scheel J., Pepperkok R., Lowe M., Griffiths G., Kreis T. E. 1997. Dissociation of coatomer from membranes is required for brefeldin A-induced transfer of Golgi enzymes to the endoplasmic reticulum. *J. Cell Biol.* 137 : 319—333.
- Schekman R. 1992. Genetic and biochemical analysis of vesicular traffic in yeast. *Curr. Opin. Cell Biol.* 4 : 587—592.
- Schekman R. 2004. Merging cultures in the study of membrane traffic. *Nature Cell Biol.* 6 : 483—486.
- Schekman R., Orci L. 1996. Coat proteins and vesicle budding. *Science.* 271 : 1526—1533.
- Schmid S. 1997. Clathrin-coated vesicle formation and protein sorting: an integrated process. *Annu. Rev. Biochem.* 66 : 511—548.
- Schu P. V., Takegawa K., Fry M. J., Stack J. H., Waterfield M. D., Emr S. D. 1993. Phosphatidylinositol 3-kinase encoded by yeast VPS34 gene essential for protein sorting. *Science.* 260 : 88—91.
- Schweizer A., Fransen J. A., Bächli T., Ginsel L., Hauri H.-P. 1988. Identification, by a monoclonal antibody, of a 53-kD protein associated with a tubulo-vesicular compartment at the cis-side of the Golgi apparatus. *J. Cell Biol.* 107 : 1643—1653.
- Schweizer A., Fransen J. A., Matter K., Kreis T. E., Ginsel L., Hauri H.-P. 1990. Identification of an intermediate compartment involved in protein transport from endoplasmic reticulum to Golgi apparatus. *Eur. J. Cell Biol.* 53 : 185—196.
- Seemann J., Jokitalo E. J., Warren G. 2000. The role of the tethering proteins p115 and GM130 in transport through the Golgi apparatus *in vivo*. *Mol. Biol. Cell.* 11 : 635—645.
- Seemann J., Pypaert M., Taguchi T., Malsam J., Warren G. 2002. Partitioning of the matrix fraction of the Golgi apparatus during mitosis in animal cells. *Science.* 295 : 848—851.
- Senda T., Fujita H., Ban T., Zhong C., Ishimura K., Kanda K., Sobue K. 1989. Ultrastructural and immunocytochemical studies on the cytoskeleton in the anterior pituitary of rats, with special regard to the relationship between actin filaments and secretory granules. *Cell Tissue Res.* 258 : 25—30.
- Shima D. T., Cabrera-Poch N., Pepperkok R., Warren G. 1998. An ordered inheritance strategy for the Golgi apparatus: visualization of mitotic disassembly reveals a role for the mitotic spindle. *J. Cell Biol.* 141 : 955—966.
- Shima D. T., Haldar K., Pepperkok R., Watson R., Warren G. 1997. Partitioning of the Golgi apparatus during mitosis in living HeLa cells. *J. Cell Biol.* 197 : 1211—1228.
- Shorter J., Warren G. 2002. Golgi architecture and inheritance. *Annu. Rev. Cell Develop. Biol.* 18 : 379—420.
- Shugrue C. A., Kolen E. R., Peters H., Czernik E., Kaiser C., Matovcik L., Hubbard A. L., Gorelik F. 1999. Identification of the putative mammalian orthologue of Sec31p, a component of the COPII coat. *J. Cell Sci.* 112 : 4547—4556.
- Simons K., Ikonen E. 1997. Functional rafts in cell membranes. *Nature.* 387 : 569—572.
- Slusarewicz P., Nilsson T., Hui N., Watson R., Warren G. 1994. Isolation of a matrix that binds medial Golgi enzymes. *J. Cell Biol.* 124 : 405—413.
- Smith C. E. 1980. Ultrastructural localization of nicotinamide adenine dinucleotide phosphatase (NADPase) activity to the intermediate saccules of the Golgi apparatus in rat incisor ameloblasts. *J. Histochem. Cytochem.* 28 : 16—26.
- Snigirevskaya E. S., Hays A. R., Raihkel A. S. 1997. Secretory and internalization pathways of mosquito yolk proteins. *Cell Tissue Res.* 290 : 129—142.
- Snigirevskaya E. S., Komissarchik Ya. Yu. 2000. Structural correlates of the transepithelial water transport. *Int. Rev. Cytol.* 198 : 203—275.
- Sogaard M., Tani K., Ye R. R., Geromanos S., Tempst P., Kirchhausen T., Rothman J. E., Söllner T. 1994. A Rab protein is required for the assembly of SNARE complexes in the docking of transport vesicles. *Cell.* 78 : 937—948.
- Sokolova Y. Y., Dolgikh V. V., Morzhina E. V., Nassonova E. S., Issi I. V., Terry R. S., Ironside J. E., Smith J. E., Vossbrinck C. R. 2003. Establishment of the new genus *Paranosema* based on the ultrastructure and molecular phylogeny of the type species *Paranosema grylli* Gen. Nov., Comb. Nov (Sokolova, Selezniiov, Dolgikh, Issi 1994), from the cricket *Gryllus bimaculatus* Deg. *J. Invertebr. Pathol.* 84 : 159—172.
- Sokolova Y., Snigirevskaya E., Morzhina E., Skarlato S., Mironov A., Komissarchik Y. 2001. Visualization of early Golgi compartments at proliferate and sporogenic stages of a microsporidian *Nosema grylli*. *J. Eukaryotic Microbiol.* 50 : 86S—87S.
- Söllner T., Whiteheart S. W., Brunner M., Erdjument-Bromage H., Geromanos S., Tempst P., Rothman J. E. 1993. SNAP receptors implicated in vesicle targeting and fusion. *Nature.* 362 : 318—324.
- Sönnichsen B., Lowe M., Levine T., Jamsa E., Dirac-Svejtstrup B., Warren G. 1998. A role for giantin in docking COPI vesicles to Golgi membranes. *J. Cell Biol.* 140 : 1013—1021.
- Spang A. 2002. ARF1 regulatory factors and COPI vesicle formation. *Curr. Opin. Cell Biol.* 14 : 423—427.
- Stamnes M. 2002. Regulating the actin cytoskeleton during vesicular transport. *Curr. Opin. Cell Biol.* 14 : 428—433.
- Stamnes M. A., Craighead M. W., Hoe M. H., Lampen N., Geromanos S., Tempst P., Rothman J. E. 1995. An integral membrane

component of coatmer-coated transport vesicles defines a family of proteins involved in budding. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 92 : 8011—8015.

Stedman T. T., Sussmann A. R., Joiner K. A. 2003. *Toxoplasma gondii* Rab6 mediates a retrograde pathway for sorting of constitutively secreted proteins to the Golgi complex. *J. Biol. Chem.* 278 : 5433—5443.

Stephens C. D. 2000. Forget the sailboard — let's go whiteboarding! *Dent Update.* 27 : 236—240.

Stephens D. J., Lin-Marq N., Pagano A., Pepperkok R., Paccaud J.-P. 2000. COPI-coated ER-to-Golgi transport complexes segregate from COPII in close proximity to ER exit sites. *J. Cell Sci.* 113 : 2177—2185.

Stephens D. J., Pepperkok R. 2002. Imaging of procollagen transport reveals COPI-dependent cargo sorting during ER-to-Golgi transport in mammalian cells. *J. Cell Sci.* 115 : 1149—1160.

Storrie B., White J., Rottger S., Stelzer E. H., Saganuma T., Nilsson T. 1998. Recycling of Golgi-resident glycosyltransferases through the ER reveals a novel pathway and provides an explanation for nocodazole-induced Golgi scattering. *J. Cell Biol.* 143 : 1505—1521.

Swaroop A., Yang-Feng T. L., Liu W., Gieser L., Barrow L. L., Chen K.-C., Agarwal N., Meisler M. H., Smith D. I. 1994. Molecular characterization of a novel human gene, SEC13R, related to the yeast secretory pathway gene SEC13, and mapping to a conserved linkage group on human chromosome 3p24-p25 and mouse chromosome 6. *Hum. Mol. Genet.* 3 : 1281—1286.

Takano K., Miyazaki T., Kuramoto K., Hand A. R. 1996. Secretory granule formation and synthesis pathway of secretory proteins in parotid gland cells. *Eur. J. Morphol.* 34 : 233—236.

Takvorian P. M., Cali A. 1994. Enzyme histochemical identification of the Golgi apparatus in the microsporidian, *Glugea stephani*. *J. Euk. Microbiol.* 41 : 63S—64S.

Takvorian P. M., Cali A. 1996. Polar tube formation and nucleoside diphosphatase activity in the microsporidian, *Glugea stephani*. *J. Euk. Microbiol.* 43 : 102S—103S.

Tang B. L., Peter F., Krijnse-Locker J., Low S. H., Griffiths G., Hong W. 1997. The mammalian homolog of yeast Sec13p is enriched in the intermediate compartment and is essential for protein transport from the endoplasmic reticulum to the Golgi apparatus. *Mol. Cell. Biol.* 17 : 256—266.

Thyberg J., Moskalewki S. 1989. Subpopulations of microtubules with differential sensitivity to nocodazole: role in the structural organization of the Golgi complex and the lysosomal system. *J. Submicrosc. Cytol. Pathol.* 21 : 259—274.

Tooze S. A. 1998. Biogenesis of secretory granules in the trans-Golgi network of neuroendocrine and endocrine cells. *Biochim. biophys. acta.* 1404 : 231—244.

Tooze S. A., Flatmark T., Tooze J., Huttner W. B. 1991. Characterization of the immature secretory granule, an intermediate in granule biogenesis. *J. Cell Biol.* 115 : 1491—1503.

Tooze S. A., Matens G. J. M., Huttner W. B. 2001. Secretory granule biogenesis: rafting to the SNARE. *Trends Cell Biol.* 11 : 116—122.

Traub L. M., Cornfeld S. 1997. The trans-Golgi network — a late secretory sorting station. *Curr. Opin. Cell Biol.* 9 : 527—533.

Trucco A., Polischuk R. S., Martella O., Di Pentima O., Fusella A., Di Giandomenico D., San Pietro E., Beznoussenko G. V., Po-

lischuk E. V., Baldassarre M., Buccione R., Geerts W. J. C., Koster A. J., Burger K. N. J., Mironov A. A., Luini A. 2004. Secretory traffic triggers the formation of tubular continuities across Golgi sub-compartments. *Nature Cell Biol.* 6 : 1071—1081.

Turner J. R., Tartakoff A. M. 1989. The response of the Golgi complex to microtubule alterations: the roles of metabolic energy and membrane traffic in Golgi complex organization. *J. Cell Biol.* 109 : 2081—2088.

Uchiyama T., Yoshino H., Takemoto M., Achiwa K. 1991. Synthesis of the 2',3'-dideoxynucleoside derivatives of the specific binding peptide part of CD4. *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo).* 39 : 3091—3093.

Urbe S., Tooze S. A., Barr F. A. 1997. Formation of secretory vesicles in the biosynthetic pathway. *Biochim. biophys. acta.* 1358 : 6—22.

Van Vilet C., Thonas E. C., Merino-Trigo A., Teasdale R. D., Gleeson P. A. 2003. Intracellular sorting and transport of proteins. *Progr. Biophys. Mol. Biol.* 82 : 1—45.

Vavra J. 1976. Study by electron microscope of the morphology and development of some *Microsporidia*. *C. R. Acad. Sci. Hebd. Scanees Acad. Sci. D.* 261 : 3467—3470.

Vavra J., Larsson J. I. R. 1999. Structure of the *Microsporidia*. In: *The Microsporidia and Microsporidiosis*. Washington, DC: ASM Press. 7—84.

Velasco A., Hendricks L., Moremen K. W., Tulsiani D. R., Touster O., Farquhar M. G. 1993. Cell type-dependent variations in the subcellular distribution of alpha-mannosidase I and II. *J. Cell Biol.* 122 : 211—220.

Vereb G., Matko J., Szollosi J. 2004. Cytometry of fluorescence resonance energy transfer. *Methods Cell Biol.* 75 : 105—152.

Wacker I., Kaether C., Kromer A., Migala A., Almers W., Gerdes H. H. 1997. Microtubule-dependent transport of secretory vesicles visualized in real time with a GFP-tagged secretory protein. *J. Cell Sci.* 110 : 1453—1463.

Wadsworth P., Sloboda R. D. 1983. Microinjection of fluorescent tubulin into dividing sea urchin cells. *J. Cell Biol.* 97 : 1249—1254.

Walse B., Edwardson J. M. 2002. The regulation of exocytosis in the pancreatic acinar cell. *Cell Signal.* 14 : 191—197.

Warren G. 1993. Cell biology. Bridging the gap. *Nature.* 362 : 297—298.

Warren G., Mellman I. 1999. Bulk flow redux? *Cell.* 98 : 125—127.

Weidman P. J. 1995. Anterograde transport through the Golgi complex: do Golgi tubules hold the key? *Trends Cell Biol.* 5 : 302—305.

Whyte J. R., Munro S. 2002. Vesicle tethering complexes in membrane traffic. *J. Cell Sci.* 115 : 2627—2637.

Yang W., Storrie B. 1998. Scattered Golgi elements during microtubule disruption are initially enriched in trans-Golgi proteins. *Mol. Biol. Cell.* 9 : 191—207.

Zaal K. J., Smith C. L., Polischuk R. S., Altan N., Cole N. B., Ellenberg J., Hirschberg K., Presley J. F., Roberts T. H., Siggia E., Phair R. D., Lippincott-Schwartz J. 1999. Golgi membranes are absorbed into and reemerge from the ER during mitosis. *Cell.* 99 : 589—601.

Поступила 31 V 2005

## STRUCTURAL-FUNCTIONAL ORGANIZATION OF GOLGI APPARATUS

E. S. Snigirevskaya, Yu. Ya. Sokolova, Ya. Yu. Komissarchik

Institute of Cytology RAS, St. Petersburg; e-mail: snigir@mail.cytspb.rssi.ru

This review is dedicated to the structure and function of Golgi apparatus (GA). It summarizes contemporary data published in numerous experimental papers and in several reviews. Possible ways of intra-Golgi transport of proteins, existent models of structural and functional organization of Golgi organelle, as well as the issues of

---

its biogenesis, posttranslational modification and sorting of proteins and lipids, and mechanisms of their trafficking are discussed. Special attention is paid to the role of coatomer proteins (COPI, COPII and clathrin), fusion proteins (SNAREs), and small GTPases (ARF, SAR1) in the secretory pathway. In addition, the phenomena of ultrastructural alterations of GA due to various functional conditions and physiological stimuli are specifically accented. We included in this review our original data on a probable involvement of GA in water transport, and on the organization of atypical GA in microsporidia — intracellular parasitic protists.

**Key words:** Golgi apparatus, intracellular transport, cell ultrastructure, epithelium, microsporidia, immunocytochemistry, electron and confocal microscopy.

---