DOI:10. 12289/j. issn. 1008-0392. 22060

·专家述评·

相分离视角下的应激颗粒研究进展

勾泓荃, 卞知玄, 孙奋勇
(同济大学附属第十人民医院检验科,上海 200072)

【摘要】应激颗粒(stress granules, SGs)是真核细胞响应应激刺激时翻译起始受到抑制而形成的非翻译信使核糖核蛋白(messenger ribonucleoprotein, mRNP)的聚集体。它动态地将翻译停滞的信使 RNA(messenger RNA, mRNA)和一些蛋白质隔离到与周围细胞质环境不同的细胞区室中,同时通过蛋白质-蛋白质相互作用募集一些信号通路中的重要组分以调控细胞生存状态。而这一区室的形成和解离过程依赖于细胞内部的相分离。本文就应激颗粒、相分离、相分离在应激颗粒的组装和疾病机制中的作用及研究手段等方面进行综述,为探究应激颗粒与相分离之间的关系提供参考。

【关键词】应激颗粒; 液-液相分离; RNP 颗粒; 内在无序区域; 生物凝集物
【中图分类号】R35 【文献标志码】A 【文章编号】1008 - 0392(2022)05 - 0603 - 08

Advances of stress granules from the perspective of phase separation

GOU Hongquan, *BIAN Zhixuan*, *SUN Fenyong*
(Clinical Laboratory, Shanghai Tenth People's Hospital, School of Medicine, Tongji University, Shanghai 200072, China)

【Abstract】 Stress granules(SGs) are untranslated messenger ribonucleoprotein(mRNP) condensates that formed in eukaryotic cells with an inhibition of translation initiation in response to stressors. SGs dynamically isolate translationally stalled mRNAs and proteins from surrounding cytoplasm into cellular compartments. Meanwhile, SGs regulates cell survival through the recruitment of essential components in some signaling pathways by the interaction between proteins. However, the assembly and disassembly of the cellular compartments rely on intercellular phase separation. This article reviews SGs, phase separation, the roles of phase separation in the assembly and pathological mechanism of SGs and their research methods to provide information for the relationship between SGs and phase separation.

【Key words】 stress granules; liquid-liquid phase separations; ribonucleoprotein granules; intrinsically disordered region; biomolecular condensates

既往研究表明,mRNA 常在细胞核中加工完成并出核进入细胞质,mRNA 的生命周期一般持续到在细胞质中翻译成蛋白质,最后被降解[1]。但最近的研究发现,mRNA 在进入细胞质后存在不同的结局。一部分 mRNA 被设定为“立即翻译”,进入细胞质后立即合成蛋白质并随之被降解或被储存。同时,还有一部分 mRNA 被设定为“延迟翻译”,即进入细胞质后暂时不参与翻译过程,并被包装成核糖核蛋白(ribonucleoprotein, RNP)颗粒,直到环境或某些特定条件激活其蛋白质翻译过程[2]。这些 RNP 颗粒是各种 RNA 和蛋白质的无膜聚集体,它们存在于细胞核和细胞质中,由蛋白质-蛋白质和

收稿日期:2022-02-17
基金项目:国家自然科学基金重点项目(81930066)
作者简介:勾泓荃(2000—),男,博士研究生. E-mail:gouhq0120@163. com
通信作者:孙奋勇(1970—),男,教授,博士,博士生导师,研究员,上海医学会分子诊断学专科分会候任主委. E-mail:sunfenyong@263. net

RNA-RNA 之间的一系列相互作用形成[3]。RNP 颗粒包括一些核颗粒如核仁、Cajal 小体等以及一些存在于细胞质的颗粒如应激颗粒(stress granules, SGs)和 P 小体等[4]。

真核生物在面对各种外界胁迫(如热刺激、氧化应激、病毒感染、辐射等)时会做出特定的反应,整体翻译水平被抑制而应激反应相关因子的表达上调,导致细胞质中翻译抑制的 mRNA 水平升高,最终形成被称为 SGs 的细胞质凝聚物[5-7]。因此,SGs 是真核细胞在发生应激反应时所形成的凝聚物,它包含许多非翻译 mRNA、翻译起始的组分和一些影响 mRNA 功能的蛋白质[8]。由于 SGs 的形成使一些组分在胞质中的局部浓度升高,这些组分的相互作用水平会增强以加快反应的效率。例如在病毒诱导的应激反应中,细胞的蛋白质翻译受到抑制,同时 SGs 中的真核起始因子 2α(eukaryotic initiation factor 2α, eIF2α)激酶可高效激活 NF-κB 和 IRF3 这两个先天免疫信号通路上的关键分子以招募抗病毒蛋白,启动抗病毒反应[9]。了解 SGs 可以帮助进一步理解真核细胞在应对特殊环境时的复杂生物学过程。本综述探讨了 SGs 的结构、组分及其形成,并强调了其与相分离之间的关系。

1　SGs 的结构与组分

近几年的研究证实 RNA 颗粒的积累依赖于液-液相分离(liquid-liquid phase separations, LLPS)模式,mRNA 与具有低复杂性结构域的蛋白质结合所形成的复合物在细胞质中发生相变而形成液滴[10]。这些在应激条件下在局部形成的液滴细胞器,增加了 RNA 和蛋白质的局部浓度,从而有利于下游通路的相互作用[11]并发挥不同功能,如 DNA 修复[12],跨膜信号转导[13]等,并在应激条件停止时溶解[14]。有研究指出 SGs 的形成也是一种相分离过程,由于任何大于二聚体的组装都需要多价相互作用才能形成,而 SGs 是通过翻译沉默的 mRNP 交联形成的,组分之间的多价相互作用通过相分离得以形成高阶结构[7]。SGs 的这种高阶内部结构又被分为两部分,一是通过显微镜技术发现的中心具有更高浓度的蛋白质与 mRNA 区域的"核心"结构,二是核心结构周围环绕着的略显松散但更富有动态性的"外壳"结构[7,15]。SGs 在初形成时可能先通过 LLPS 以多价的、弱的相互作用形成一个动态的"外壳"结构。随着时间的推移,低复杂性结构域的蛋白质在内部持续过饱和,一个乏动态、更稳定的第二相会成熟,从而产生 SGs 的"核心"结构[7,16]。在"外壳"结构中的组分可以与所在的环境组分快速交换,因此更为动态,见图 1。而"核心"结构更为稳定,在这一结构中,G3BP 蛋白被认为是 SGs 核心网络中最高中心性的蛋白质,并且 G3BP1 在存在游离 RNA 的情况下,强烈自发相分离,并促进了细胞中 SGs 的组装[17-18]。相似的,在与神经退行性疾病密切相关的 SGs 中发现了蛋白质浓度依赖性相分离驱动 SGs 的组装,并且该蛋白质浓度存在最低阈值[19]。由此可见,相分离在 SGs 的组装中承担了重要的角色。

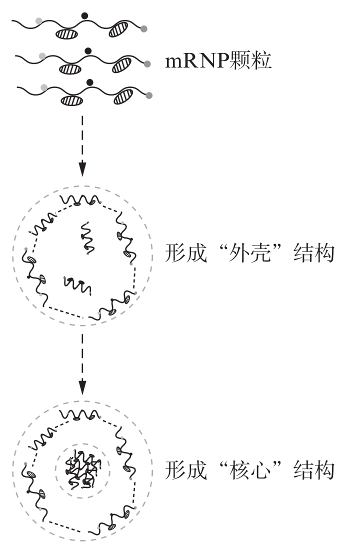

图 1　SGs 内部结构的形成
Fig. 1　Formation of SGs internal structure

2　SGs 的组装与解聚是一种相分离过程

2.1　相分离的概念

就像水里的油一般,细胞内的物质可以被分离成一个个液滴,而这开创了细胞生物学的新纪元[20]。Brangwynne 等[21]于 2009 年发现细胞内颗粒会像液体那样融合,并以一种特殊的方式让细胞内的特定分子聚集起来,从而在"混乱"的细胞内部创造"秩序"。从分子角度可以更好地理解相分离,大分子与大分子以及与溶液间普遍存在着弱的、低亲和力的、缺乏特异性的相互作用。当大分子间的相互作用弱于大分子与溶质之间的相互作用时,则意味着大分子可与任何浓度的溶液混溶,即该溶液是该大分子的良好溶剂。反之亦然,当大分子间的相互作用强于大分子与溶质之间的相互作用时,则意味着大分子溶解度有限,倾向于发生相分离[22]。在这样的体系中,当大分子与大分子在获得对其有

利的能量后便可克服溶液保持均匀混合的熵趋势，然后发生相分离现象。因此在一个大分子与溶剂的混合体系中将会分成两相：大体积、低浓度的“稀释相”和小体积、高浓度的“浓缩相”。这样的相分离状态将会保持平衡，两相中的化学势能相等，因此在体系中会存在持续的浓缩隔室，形成液滴[23]。这些大分子凝聚形成的浓缩隔室提供了一个高浓度的“浓缩相”反应条件，提供了一个独特的细胞生化反应环境，起到催化作用。例如 Strulson 等[24]通过建立体外细胞隔室调控 RNA 局部浓度，使核酶裂解活性增加了约 70 倍；Lu 等[25]认为相分离是控制转录与 RNA 加工的枢纽。

分散在细胞质或核质（“稀释相”）中的 RNA 分子与蛋白质分子通过相分离组装形成 RNP 颗粒（“浓缩相”）[19,26]。这些 RNP 颗粒中的驱动蛋白通常包含内在无序区域（intrinsically disordered region，IDR），这些 IDR 与多价相互作用驱动的相分离蛋白形成有关[23,26]。SGs 中的 RNA 结合蛋白（RNA-binding proteins，RBPs）上的多个 IDR 与 SGs 发生 LLPS 密切相关。Saito 等[27]证明了 RNA 解旋酶 DDX3X（DEAD-box helicase 3 X-linked）的 N 端 IDR 区域乙酰化会阻碍 SGs 的相分离过程。这些无序区域的翻译后修饰（posttranslational modifications，PTMs）可以调控相分离蛋白的组装与分解，因此 IDR 在 SGs 形成中具有重要作用[23]。此外，已有不少研究发现相分离与疾病密切相关，如一些神经退行性疾病[28-32]、肿瘤[31,33-37]、感染性疾病[38-39]、遗传性疾病[40-41]等都存在异常的相分离过程。

2.2　SGs 的组装

当细胞内整体翻译水平受到抑制时，非翻译的 mRNP 相互交联聚集，形成 SGs[7]。多项研究证明，G3BP 是 SGs 蛋白质网络中的核心，其在 SGs 组装中作为关键分子发挥作用[17,42-43]。G3BP 是一种含有 3 个 IDR 的蛋白，由 4 个结构域构成，其中主要由核转运因子 2（nuclear transport factor 2，NTF2）样和 RNA 识别区（RNA recognition motif，RRM）这两个结构域介导了其向 SGs 中募集[44]。NTF2 结构域可介导与自身的相互作用，其通过与内源性 G3BP 相结合而被招募到 SGs 中[45]。RRM 结构可凭借其与 RNA 的结合能力被募集至具有高浓度 RNA 的 SGs 中[46]。Yang 等[17]证明 G3BP1 在 SGs 的组装中起到分子开关的作用，G3BP1 通过响应胞内 RNA 浓度的升高，诱导 RNA 依赖性相分离发生从而启动 SGs 的组装。在正常的生理环境中，细胞质中游离的非翻译 mRNA 浓度较低，G3BP 蛋白呈紧凑的“关闭”构象，抑制其激活相分离的功能。在应激条件诱导的整体翻译停滞和多核糖体解离时，RNA 会与 G3BP 结合引起 G3BP 的构象转变成“开放”构象，从而允许其参与其他蛋白质-RNA 或蛋白质-蛋白质相互作用[47]。缺乏 G3BP 的细胞无法响应 eIF2α 而无法形成 SGs，但在渗透压应激中这类细胞仍然具有形成 SGs 的能力，这暗示存在其他的 SGs 组装途径[43]。Yang 等[65]在葡萄糖缺乏的应激条件下于酵母中发现 Pbp1（PolyA binding protein-binding protein 1）可促进 SGs 的组装，但在热休克应激期间抑制 SGs 的形成。这提示 SGs 在不同的环境条件下可通过不同的途径进行组装，但这都与可发生 LLPS 的蛋白密切相关。

2.3　SGs 的解聚

虽然已经有大量研究关注于细胞在各种压力条件下的 SGs 组装机制，但是对于 SGs 的解聚过程关注较少。Wheeler 等[16]利用活细胞成像观察亚砷酸钠处理 60 min 后置于正常培养基中 SGs 的变化，发现较大的 SGs 被分解为较小的颗粒，随后这些小颗粒发生解聚或被清除。SGs 的外壳会首先消散，边缘出现丝状结构，随后其核心部分被分解或清除[16]。许多伴侣蛋白可影响 SGs 的解聚。Walters 等[48]发现热休克蛋白 70（heat shock protein 70，HSP70）和热休克蛋白 40（heat shock protein 40，HSP40）这两类伴侣蛋白均在 SGs 中积累，这些蛋白的缺陷可能导致 SGs 的分解和清除减少。但 HSP40 的两种不同的折叠（Ydj1 蛋白和 Sis1 蛋白）在 SGs 解聚中的功能存在差异。Ydj1 促进 SGs 的分解和细胞整体翻译水平的恢复，而 Sis1 蛋白促进 SGs 的靶向自噬清除[48]。这揭示了 SGs 中不同结构可以导致 SGs 不同的结局。

此外，SGs 的命运及其解聚机制也取决于其形成的原因和组装的持续时间。例如通过慢性压力或疾病突变产生的颗粒，会被自噬依赖性降解清除。而短时间刺激形成的颗粒会迅速分解以回收组分。研究报道在热休克的情况下，SGs 中的 G3BP1 发生泛素化修饰，解聚时，泛素化 G3BP1 退出颗粒核心并降解，SGs 网络内的驱动力降低到相分离的渗透阈值以下，促使细胞分解 SGs 并在消除应激后重新启动正常的细胞活动[5]。SGs 的清除异常会使胞内蛋白质异常凝聚。Marmor-Kollet 等[49]利用基于工

程抗坏血酸过氧化物酶(engineered ascorbate peroxidase, APEX)的距离依赖性标记蛋白质组学的方法,通过对 SGs 解聚的时间轴分析揭示了 9 号染色体开放阅读框 72(chromosome 9 open reading frame 72, C9orf72)对 SGs 解聚的影响以及其对于肌萎缩侧索硬化症发病的影响。这也提示了 SGs 的解聚或清除异常可能会导致某些疾病。

3 相分离与 SGs 的研究方法

研究 SGs 的方法多样,有研究利用亚砷酸盐诱导人骨肉瘤细胞 U2OS 细胞中 SG 的组装,使用小干扰 RNA(small interfering RNAs, siRNA)筛选的方法鉴定了 101 个与 SG 组装有关的人类基因[50]。也可以采用亲和层纯化的方法(如通过 GFP 标记 G3BP)与质谱分析结合使用,以确定 SG 中所富集的蛋白质[15]。相似的,Goodier 等[51]利用酵母双杂交系统通过与 SGs 蛋白 LINE-1 ORF1p(long interspersed element-1 open reading frame 1 protein)进行免疫共沉淀确定了几种 RBPs 和 SGs 相关蛋白质。然而,最直接的研究方法是基于显微镜成像的观察方法,活细胞和固定细胞成像都可以提供相分离和 SGs 的最直接证据。如 Markmiller 等[52]在亚砷酸钠和热休克诱导的应激中利用高通量显微镜确定了 150 种先前未知的 SGs。随着技术的革新,Wheeler 等[53]对观察方式加以改进,将 CRISPR-Cas9(clustered regularly interspaced short palindromic repeats-associated protein 9)技术、微筏阵列以及高内涵成像结合,开发了新技术"Craft-ID"(CRISPR-based microRaft followed by guide RNA identification)。该技术通过分离含有大于 12 000 条的单个导向 RNA(single-guide RNA, sgRNA)的基因克隆微筏确定了影响 SGs 组装的 RBPs。

鉴于 SGs 与相分离之间的紧密关系,利用 SGs 的相分离特性可进一步挖掘其组分。如 Kato 等[54]利用生物素化的异噁唑诱导细胞裂解物内的 LLPS,通过物理方法分离沉淀和上清液以此分析 RNA 和蛋白质的组成。Molliex 等[19]通过在 SGs 中引入 hnRNPA1(heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A1),促进 SGs 的相分离以观察 SGs 的组装和其在疾病中的机制。而近几年兴起的生物信息学预测手段,拓宽了研究思路,开启了对基因与蛋白研究的新认识。Boncella 等[55]利用应激诱导的 RNP 颗粒氨基酸组成成分预测朊病毒样结构域(prion-like domains, PrLD)组装倾向,挖掘 PrLD 对 SGs 的定位。Yang 等[56]利用距离依赖性生物素分析方法绘制了基于距离的高密度互作图谱,揭示了 1 792 种蛋白质的 7 424 种近距离相互作用并定义了 114 种 SGs 中的核心组分。Kuechler 等[57]分析了近期发表的来自酵母与哺乳动物 SGs 的蛋白质组学数据定义了一种哺乳动物颗粒 z 分数(mammalian granule z-score, MaGS),该分数可以用于预测某种蛋白相分离进入 SGs 的可能性。

4 SGs 的相分离与疾病

SGs 的异常相分离与组装会为细胞创造不利于增殖的环境,从而导致疾病状态。如 Schneider 等[58]发现突变的 RBM20(RNA-binding motif protein-20)会促进心肌细胞中 SGs 的相分离形成,阻止细胞增殖,最大限度地减少能量消耗并停止所有非必要的细胞功能,从而导致先天性扩张型心肌病。相似的,在肌萎缩侧索硬化症的患者中肉瘤蛋白(fused in sarcoma, FUS)的蛋白甲基化缺失会促进 FUS 的相分离,增强其与 SGs 的结合并抑制 TNPO1(transportin-1)这一抑制 FUS 异常相分离的细胞质伴侣,从而导致 FUS 融合蛋白的大量积累[59-64]。而并非所有突变均会增强相分离而导致疾病状态,Yang 等[65]发现青霉素结合蛋白 1(penicillin-binding protein 1, Pbp1)的突变会减弱其相分离作用而导致线粒体功能障碍,并使细胞在营养应激期间的适应能力降低。

SGs 也与肿瘤密切相关,肿瘤细胞应对与适应压力的能力对肿瘤进展具有重要作用,肿瘤细胞会遇到以缺氧、高渗、营养缺乏等特征为敌的肿瘤微环境,此时这些应激状态都有可能触发 SGs 的形成[66]。尤为重要的是,SGs 是肿瘤细胞应对放化疗所产生的一种反应[6],SGs 常常是为了增强细胞的生存能力而产生的,因此这种颗粒的产生可能会无意中影响肿瘤的治疗[67]。如 Shi 等[68]在前列腺癌中发现斑点型锌指结构蛋白(speckle-type POZ protein, SPOP)突变会上调 SGs 的组装以增强肿瘤细胞的存活率和对多西他赛的耐药性。而 Li 等[69]发现 MG53[又称 TRIM72(tripartite motif containing 72)]可通过调节非小细胞肺癌中的 G3BP2 活性抑制肿瘤中 SGs 的形成,从而增强肿瘤细胞对顺铂治疗的敏感性。因此,抑制 SGs 在肿瘤细胞中的组装或许可以成为一种新的肿瘤治疗方式。

由此可见,SGs 可以作为一种潜在的治疗靶点,

通过清除或降解这些异常积累的蛋白以治疗疾病，而在一些研究中已经发现异常的 SGs 被靶向至溶酶体降解，这或许可以成为一种潜在的治疗方式[70-71,80]。Fang 等[72]通过利用具有芳香基团的平面分子抑制 TDP-43（TAR-DNA binding protein 43）在肌萎缩侧索硬化症（amyotrophic lateral sclerosis，ALS）和额颞叶痴呆（frontotemporal dementia，FTD）中的累积，并以此调控了 SGs 相关分子的招募，而 TDP-43 被证明在 ALS 和 FTD 等脑病中发挥重要的调控作用[60]，这也提示了 SGs 作为靶点在临床治疗中的可行性。近年来，纳米材料已被证明是一种新兴的疾病诊疗手段，可以利用其选择性结合以及其独特的细胞膜渗透作用，起到靶向治疗的作用[73-74]。Dittrich 等[75]利用 CD3ac 肽基质、由 Flutax-2 一种癌症治疗药物分子构成的包埋货物和一个标记有 Alexa Fluor 568 荧光染料的铁蛋白冠（Tfn-AF568）组装成一种可以被细胞摄取并利用相分离机制将药物输送至细胞中的纳米颗粒（nano particle，NP）。也有研究表明，许多不同材料构成 NP 都可以与参与 RNA 加工机制的蛋白质发生相互作用，同时在与这些 NP 相关蛋白质组中，观察到了许多 IDR 结构，与天然 SGs 蛋白质组存在密切的相关性[76]。相似的，Klein 等[77]发现基于二氧化硅制备的 NP 与 IDR 和 RBPs 之间具有高亲和力并且可捕获一些与 SGs 相关的 RBPs，诸如多聚腺苷酸结合蛋白［poly（A）-binding protein，PABP1］、RNA 结合蛋白肉瘤融合/脂肪肉瘤转运蛋白以及真核转录起始因子 3（eukaryotic initiation factor，eIF3），它们均被证明在 SGs 组装中发挥重要作用[62,78-79]。这些证据表明，可以通过 NP 与 IDR 及 RBPs 等相关蛋白结合，调节胞内的相分离行为，从而干预诸如 SGs 等生物分子聚集体的组装与解聚，或许可以为疾病的诊疗提供新的思路。

5　总结与展望

细胞内调控蛋白质的合成以适应不断变化的外界条件对细胞的生长和生存至关重要，此过程需要对 mRNA 翻译进行快速协调及特异和局部化的重编程。尽管现在已对这种调控的机制有所了解，但由于 SGs 的动态性以及其缺乏细胞膜的特性，很难直接对其进行研究。因此，今后可从分析不同应激条件下 SGs 中的特征性蛋白组或基因组入手，挖掘其与其他蛋白的相互作用关系，探究其发生相分离的启动因素。同时也可以针对 SGs 对于细胞的生存影响，寻找 SGs 潜在的治疗靶点，或许可以成为一种全新的治疗手段。

【参考文献】

［1］ MOORE M J. From birth to death：the complex lives of eukaryotic mRNAs［J］. Science，2005，309（5740）：1514-1518.

［2］ ANDERSON P，KEDERSHA N. RNA granules［J］. J Cell Biol，2006，172（6）：803-808.

［3］ TAUBER D，TAUBER G，PARKER R. Mechanisms and regulation of RNA condensation in RNP granule formation［J］. Trends Biochem Sci，2020，45（9）：764-778.

［4］ SPECTOR D L. SnapShot：cellular bodies［J］. Cell，2006，127（5）：1071.

［5］ MAXWELL B A，GWON Y，MISHRA A，et al. Ubiquitination is essential for recovery of cellular activities after heat shock［J］. Science，2021，372（6549）：eabc3593.

［6］ IVANOV P，KEDERSHA N，ANDERSON P. Stress granules and processing bodies in translational control［J］. Cold Spring Harb Perspect Biol，2019，11（5）：a032813.

［7］ PROTTER D S W，PARKER R. Principles and properties of stress granules［J］. Trends Cell Biol，2016，26（9）：668-679.

［8］ BUCHAN J R，PARKER R. Eukaryotic stress granules：the ins and outs of translation［J］. Mol Cell，2009，36（6）：932-941.

［9］ EIERMANN N，HANEKE K，SUN Z Z，et al. Dance with the devil：stress granules and signaling in antiviral responses［J］. Viruses，2020，12（9）：E984.

［10］ HYMAN A A，SIMONS K. Cell biology. Beyond oil and water—phase transitions in cells［J］. Science，2012，337（6098）：1047-1049.

［11］ NIEWIDOK B，IGAEV M，PEREIRA DA GRACA A，et al. Single-molecule imaging reveals dynamic biphasic partition of RNA-binding proteins in stress granules［J］. J Cell Biol，2018，217（4）：1303-1318.

［12］ ALTMEYER M，NEELSEN K J，TELONI F，et al. Liquid demixing of intrinsically disordered proteins is seeded by poly（ADP-ribose）［J］. Nat Commun，2015，6：8088.

［13］ BANJADE S，ROSEN M K. Phase transitions of multivalent proteins can promote clustering of membrane

receptors[J]. Elife, 2014,3: e04123.
[14] WIPPICH F, BODENMILLER B, TRAJKOVSKA M G, et al. Dual specificity kinase DYRK3 couples stress granule condensation/dissolution to mTORC1 signaling [J]. Cell, 2013,152(4): 791-805.
[15] JAIN S, WHEELER J R, WALTERS R W, et al. ATPase-modulated stress granules contain a diverse proteome and substructure[J]. Cell, 2016,164(3): 487-498.
[16] WHEELER J R, MATHENY T, JAIN S, et al. Distinct stages in stress granule assembly and disassembly [J]. Elife, 2016,5: e18413.
[17] YANG P G, MATHIEU C, KOLAITIS R M, et al. G3BP1 is a tunable switch that triggers phase separation to assemble stress granules[J]. Cell, 2020,181(2): 325-345. e28.
[18] CIRILLO L, CIEREN A, BARBIERI S, et al. UBAP2L forms distinct cores that act in nucleating stress granules upstream of G3BP1[J]. Curr Biol, 2020,30(4): 698-707. e6.
[19] MOLLIEX A, TEMIROV J, LEE J H, et al. Phase separation by low complexity domains promotes stress granule assembly and drives pathological fibrillization [J]. Cell, 2015,163(1): 123-133.
[20] DOLGIN E. What lava lamps and vinaigrette can teach us about cell biology[J]. Nature, 2018,555(7696): 300-302.
[21] BRANGWYNNE C P, ECKMANN C R, COURSON D S, et al. Germline P granules are liquid droplets that localize by controlled dissolution/condensation [J]. Science, 2009,324(5935): 1729-1732.
[22] FLORY P J. Thermodynamics of high polymer solutions[J]. J Chem Phys, 1942,10(1): 51-61.
[23] BANANI S F, LEE H O, HYMAN A A, et al. Biomolecular condensates: organizers of cellular biochemistry[J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2017,18(5): 285-298.
[24] STRULSON C A, MOLDEN R C, KEATING C D, et al. RNA catalysis through compartmentalization[J]. Nat Chem, 2012,4(11): 941-946.
[25] LU H S, YU D, HANSEN A S, et al. Phase-separation mechanism for C-terminal hyperphosphorylation of RNA polymerase Ⅱ[J]. Nature, 2018,558(7709): 318-323.
[26] LIN Y, PROTTER D S W, ROSEN M K, et al. Formation and maturation of phase-separated liquid droplets by RNA-binding proteins[J]. Mol Cell, 2015,60(2): 208-219.
[27] SAITO M, HESS D, EGLINGER J, et al. Acetylation of intrinsically disordered regions regulates phase separation[J]. Nat Chem Biol, 2019,15(1): 51-61.
[28] PATEL A, LEE H O, JAWERTH L, et al. A liquid-to-solid phase transition of the ALS protein FUS accelerated by disease mutation[J]. Cell, 2015,162(5): 1066-1077.
[29] AGUZZI A, ALTMEYER M. Phase separation: linking cellular compartmentalization to disease [J]. Trends Cell Biol, 2016,26(7): 547-558.
[30] RAMASWAMI M, TAYLOR J P, PARKER R. Altered ribostasis: rna-protein granules in degenerative disorders[J]. Cell, 2013,154(4): 727-736.
[31] SPANNL S, TERESHCHENKO M, MASTROMARCO G J, et al. Biomolecular condensates in neurodegeneration and cancer[J]. Traffic, 2019,20(12): 890-911.
[32] MURRAY D T, KATO M, LIN Y, et al. Structure of FUS protein fibrils and its relevance to self-assembly and phase separation of low-complexity domains[J]. Cell, 2017,171(3): 615-627. e16.
[33] FANG Z S, ZHANG Z, LIANG Z J, et al. Liquid-liquid phase separation-related genes associated with tumor grade and prognosis in hepatocellular carcinoma: a bioinformatic study[J]. Int J Gen Med, 2021,14: 9671-9679.
[34] HINDSON J. Glycogen phase separation and liver cancer[J]. Nat Rev Gastroenterol Hepatol, 2021,18(12): 831.
[35] BOIJA A, KLEIN I A, YOUNG R A. Biomolecular condensates and cancer[J]. Cancer Cell, 2021,39(2): 174-192.
[36] JIANG S, FAGMAN J B, CHEN C Y, et al. Protein phase separation and its role in tumorigenesis[J]. Elife, 2020,9: e60264.
[37] TSANG B, PRITIŠANAC I, SCHERER S W, et al. Phase separation as a missing mechanism for interpretation of disease mutations[J]. Cell, 2020,183(7): 1742-1756.
[38] ALBERTI S, DORMANN D. Liquid-liquid phase separation in disease[J]. Annu Rev Genet, 2019,53: 171-194.
[39] BROCCA S, GRANDORI R, LONGHI S, et al. Liquid-liquid phase separation by intrinsically disordered protein regions of viruses: roles in viral life cycle and control of virus-host interactions[J]. Int J Mol Sci, 2020,21(23): E9045.

[40] BASU S, MACKOWIAK S D, NISKANEN H, et al. Unblending of transcriptional condensates in human repeat expansion disease[J]. Cell, 2020,181(5):1062-1079. e30.

[41] SO C, CHENG S Y, SCHUH M. Phase separation during germline development[J]. Trends Cell Biol, 2021,31(4):254-268.

[42] GUILLÉN-BOIXET J, KOPACH A, HOLEHOUSE A S, et al. RNA-induced conformational switching and clustering of G3BP drive stress granule assembly by condensation[J]. Cell, 2020,181(2):346-361. e17.

[43] KEDERSHA N, PANAS M D, ACHORN C A, et al. G3BP-Caprin1-USP10 complexes mediate stress granule condensation and associate with 40S subunits[J]. J Cell Biol, 2016,212(7):845-860.

[44] TOURRIÈRE H, CHEBLI K, ZEKRI L, et al. The RasGAP-associated endoribonuclease G3BP assembles stress granules[J]. J Cell Biol, 2003,160(6):823-831.

[45] STEWART M, KENT H M, MCCOY A J. Structural basis for molecular recognition between nuclear transport factor 2(NTF2) and the GDP-bound form of the ras-family GTPase ran[J]. J Mol Biol, 1998,277(3):635-646.

[46] ORTEGA A D, WILLERS I M, SALA S, et al. Human G3BP1 interacts with beta-F1-ATPase mRNA and inhibits its translation[J]. J Cell Sci, 2010,123(Pt 16):2685-2696.

[47] HOFMANN S, KEDERSHA N, ANDERSON P, et al. Molecular mechanisms of stress granule assembly and disassembly[J]. Biochim Biophys Acta Mol Cell Res, 2021,1868(1):118876.

[48] WALTERS R W, MUHLRAD D, GARCIA J, et al. Differential effects of Ydj1 and Sis1 on Hsp70-mediated clearance of stress granules in *Saccharomyces cerevisiae*[J]. RNA, 2015,21(9):1660-1671.

[49] MARMOR-KOLLET H, SIANY A, KEDERSHA N, et al. Spatiotemporal proteomic analysis of stress granule disassembly using APEX reveals regulation by SUMOylation and links to ALS pathogenesis[J]. Mol Cell, 2020,80(5):876-891. e6.

[50] OHN T, KEDERSHA N, HICKMAN T, et al. A functional RNAi screen links O-GlcNAc modification of ribosomal proteins to stress granule and processing body assembly[J]. Nat Cell Biol, 2008,10(10):1224-1231.

[51] GOODIER J L, ZHANG L L, VETTER M R, et al. LINE-1 ORF1 protein localizes in stress granules with other RNA-binding proteins, including components of RNA interference RNA-induced silencing complex[J]. Mol Cell Biol, 2007,27(18):6469-6483.

[52] MARKMILLER S, SOLTANIEH S, SERVER K L, et al. Context-dependent and disease-specific diversity in protein interactions within stress granules[J]. Cell, 2018,172(3):590-604. e13.

[53] WHEELER E C, VU A Q, EINSTEIN J M, et al. Pooled CRISPR screens with imaging on microraft arrays reveals stress granule-regulatory factors[J]. Nat Methods, 2020,17(6):636-642.

[54] KATO M, HAN T W, XIE S H, et al. Cell-free formation of RNA granules: low complexity sequence domains form dynamic fibers within hydrogels[J]. Cell, 2012,149(4):753-767.

[55] BONCELLA A E, SHATTUCK J E, CASCARINA S M, et al. Composition-based prediction and rational manipulation of prion-like domain recruitment to stress granules[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2020,117(11):5826-5835.

[56] YOUN J Y, DUNHAM W H, HONG S J, et al. High-density proximity mapping reveals the subcellular organization of mRNA-associated granules and bodies[J]. Mol Cell, 2018,69(3):517-532. e11.

[57] KUECHLER E R, BUDZYŃSKA P M, BERNARDINI J P, et al. Distinct features of stress granule proteins predict localization in membraneless organelles[J]. J Mol Biol, 2020,432(7):2349-2368.

[58] SCHNEIDER J W, OOMMEN S, QURESHI M Y, et al. Dysregulated ribonucleoprotein granules promote cardiomyopathy in RBM20 gene-edited pigs[J]. Nat Med, 2020,26(11):1788-1800.

[59] HOFWEBER M, HUTTEN S, BOURGEOIS B, et al. Phase separation of FUS is suppressed by its nuclear import receptor and arginine methylation[J]. Cell, 2018,173(3):706-719. e13.

[60] PORTZ B, LEE B L, SHORTER J. FUS and TDP-43 phases in health and disease[J]. Trends Biochem Sci, 2021,46(7):550-563.

[61] BOSCO D A, LEMAY N, KO H K, et al. Mutant FUS proteins that cause amyotrophic lateral sclerosis incorporate into stress granules[J]. Hum Mol Genet, 2010,19(21):4160-4175.

[62] BARON D M, KAUSHANSKY L J, WARD C L, et al. Amyotrophic lateral sclerosis-linked FUS/TLS alters stress granule assembly and dynamics[J]. Mol

Neurodegener, 2013,8: 30.

[63] LI Y R, KING O D, SHORTER J, et al. Stress Granules as crucibles of ALS pathogenesis[J]. J Cell Biol, 2013,201(3): 361-372.

[64] GAL J, ZHANG J Y, KWINTER D M, et al. Nuclear localization sequence of FUS and induction of stress granules by ALS mutants[J]. Neurobiol Aging, 2011, 32(12): 2323. e27-2323. e40.

[65] YANG Y S, KATO M, WU X, et al. Yeast ataxin-2 forms an intracellular condensate required for the inhibition of TORC1 signaling during respiratory growth [J]. Cell, 2019,177(3): 697-710. e17.

[66] GAO X M, JIANG L, GONG Y L, et al. Stress granule: a promising target for cancer treatment[J]. Br J Pharmacol, 2019,176(23): 4421-4433.

[67] GRABOCKA E, BAR-SAGI D. Mutant KRAS enhances tumor cell fitness by upregulating stress granules [J]. Cell, 2016,167(7): 1803-1813. e12.

[68] SHI Q, ZHU Y S, MA J, et al. Prostate cancer-associated SPOP mutations enhance cancer cell survival and docetaxel resistance by upregulating Caprin1-dependent stress granule assembly [J]. Mol Cancer, 2019, 18 (1): 170.

[69] LI H C, LIN P H, GUPTA P, et al. MG53 suppresses tumor progression and stress granule formation by modulating G3BP2 activity in non-small cell lung cancer [J]. Mol Cancer, 2021,20(1): 118.

[70] BUCHAN J R, KOLAITIS R M, TAYLOR J P, et al. Eukaryotic stress granules are cleared by autophagy and Cdc48/VCP function[J]. Cell, 2013,153(7): 1461-1474.

[71] SEGUIN S J, MORELLI F F, VINET J, et al. Inhibition of autophagy, lysosome and VCP function impairs stress granule assembly[J]. Cell Death Differ, 2014, 21(12): 1838-1851.

[72] FANG M Y, MARKMILLER S, VU A Q, et al. Small-molecule modulation of TDP-43 recruitment to stress granules prevents persistent TDP-43 accumulation in ALS/FTD[J]. Neuron, 2019,103(5): 802-819. e11.

[73] ENDOH T, OHTSUKI T. Cellular siRNA delivery using cell-penetrating peptides modified for endosomal escape[J]. Adv Drug Deliv Rev, 2009,61(9): 704-709.

[74] PEER D, KARP J M, HONG S, et al. Nanocarriers as an emerging platform for cancer therapy [J]. Nat Nanotechnol, 2007,2(12): 751-760.

[75] DITTRICH C, BURCKHARDT C J, DANUSER G. Delivery of membrane impermeable cargo into CHO cells by peptide nanoparticles targeted by a protein corona[J]. Biomaterials, 2012,33(9): 2746-2753.

[76] ROMASHCHENKO A V, KAN T W, PETROVSKI D V, et al. Nanoparticles associate with intrinsically disordered RNA-binding proteins[J]. ACS Nano, 2017, 11(2): 1328-1339.

[77] KLEIN G, MATHÉ C, BIOLA-CLIER M, et al. RNA-binding proteins are a major target of silica nanoparticles in cell extracts[J]. Nanotoxicology, 2016,10 (10): 1555-1564.

[78] NAKANO S, SHINDE A, ITO H, et al. Messenger RNA degradation may be inhibited in sporadic inclusion body myositis[J]. Neurology, 2005,65(3): 420-425.

[79] KEDERSHA N, STOECKLIN G, AYODELE M, et al. Stress granules and processing bodies are dynamically linked sites of mRNP remodeling[J]. J Cell Biol, 2005,169(6): 871-884.

[80] 吴晗,孙奋勇. 生物大分子相分离及其药物靶向技术研究进展[J]. 同济大学学报(医学版),2022,43(2): 151-156.