

# 微管微丝交联因子 1 的结构与功能

蹇爱荣 胡丽芳 商 澎\*

(西北工业大学生命科学院, 空间生物实验模拟技术国防重点学科实验室, 西安 710072)

**摘要** 微管微丝交联因子 1 (microtubule actin cross-linking factor 1, MACF1) 是一种新的细胞骨架交联蛋白, 属于血影斑蛋白(spectraplakin)家族成员之一, 包含 3 个基本结构域即 N 末端结构域、杆状结构域及 C 末端结构域。其主要功能是交联微丝微管细胞骨架, 参与细胞信号转导、蛋白质运输、胚胎发育以及疾病发生等过程。近年来, MACF1 在细胞骨架动力学过程中的作用备受关注。现就该分子的结构与功能的最新研究进展进行综述。

**关键词** 微管微丝交联因子 1; 细胞骨架; 信号转导; 微丝; 微管

真核细胞包含复杂的纤维网络结构, 即由微丝、微管和中间纤维等组成的细胞骨架系统。此外还有一些交联这些纤维并将其锚定在不同膜结构上的蛋白质。这些交联蛋白属于斑蛋白(plakin 或 spectraplakin)家族。迄今为止, 七种哺乳动物细胞中的 plakins 家族成员已经被证实, 分别是 desmoplakin, plectin、bullous pemphigoid antigen 1 (BPAG1)、envoplakin、periplakin、epiplakin 以及微管微丝交联因子 1 (microtubule actin cross-linking factor 1, MACF1)<sup>[1]</sup>。MACF1 是一种非常重要的细胞连接因子, 可结合微丝及微管细胞骨架组分, 在协调细胞的发育及维持组织的完整性中有重要作用<sup>[2,3]</sup>。MACF1 作为一种新的细胞骨架连接因子, 是第一个被证实广泛表达且能够结合微丝和微管细胞骨架网络的蛋白质, 其主要功能是参与细胞信号转导, 调节微管-微丝动力学, 并参与胚胎发育以及疾病发生。近年来, 有关 MACF1 的研究得到越来越多的关注。

## 1 MACF1 基因

MACF1 是一种新的细胞骨架交联分子, 又名 ACF7 (actin cross-linking family 7)、620 kDa actin-binding protein、ABP620、FLJ45612、FLJ46776、KIAA0465、KIAA1251、macrophin-1、OFC4 及 trabeculin- $\alpha$  等。该基因 1995 年由 Byers 等<sup>[4]</sup>应用简并引物介导的 PCR 技术首次将其部分 cDNA 分离, 并将其命名为 ACF7。其基因定位于 1p31-32 上, 至少包含 102 个外显子, 全长 270 kb, MACF1 基因具有网蛋白(plectin)和肌营养不良蛋白(dystrophin)两类骨架蛋白的结构特点<sup>[5]</sup>。序列比较证实 ACF7 不属于任

何已有的蛋白质家族, 而是在蛋白质超家族中代表一个新的种类。随后, 小鼠的 ACF7 全长 cDNA, 又名 mACF7 (mouse actin cross-linking family 7) 被克隆出来, 其编码 608 kDa 的蛋白质<sup>[6,7]</sup>。人类 MACF1 的 cDNA 也相继通过两种不同的形式被克隆出来, 分别命名为 trabeculin 和 macrophin<sup>[8,9]</sup>。

## 2 MACF1 的基本结构

### 2.1 MACF1 基因和蛋白异构体

MACF1 是一种含有多个结构域的骨架交联蛋白, 至少包含一个微丝和一个微管结合结构域, 由 4 433 个氨基酸组成, 主要在上皮组织中表达, 不连续的分布于细胞周围的微丝及微管骨架上<sup>[10]</sup>。MACF1 作为微丝交联因子超家族成员之一, 既能与微丝连接, 也能与微管相连<sup>[11,12]</sup>。MACF1 的 C 末端含有一个微管结合位点以及一个能够交联微管和微丝的结构, 该结构包含 CH 结构域和微管结合区<sup>[10,12]</sup>。

Lin 等<sup>[11]</sup>通过分析小鼠 MACF1 基因序列发现 MACF1 至少包含 100 个外显子, 并发现 MACF1 存在一个新的选择性剪切异构体并将其命名为 MACF1b, 将原有的命名为 MACF1a。MACF1b 结构除了在分子中间包含 PRD (plakin or plectin repeats domain) 外, 与 MACF1a 完全相同。MACF1b 在成年组织中高水平广泛表达, 包括脑、肺、心脏、脾脏、肾脏、胸腺、子宫及胎盘等组织, 尤其是在肺组织中表达水

收稿日期: 2007-11-06 接受日期: 2007-12-29

国家自然科学基金资助项目(No.30670520)

\* 通讯作者。Tel: 029-88460391, Fax: 029-88460332, E-mail:

shangpeng@nwpu.edu.cn

平极高; 研究还表明 MACF1b 主要定位于高尔基体, MACF1b 主要通过其 PRD 的 N 末端与高尔基体结合。MACF1b 包含三个全长和两个部分 PRD, 现在还没有关于 PRD 与中间纤维相互作用的研究报道。Sun 等<sup>[12]</sup>研究发现编码一个多肽的人 cDNA 克隆 (KIAA0728) 的 68% 氨基酸与人 MACF1 相同, 且与 MACF1 的 cDNA 3' 末端具有高度同源性, 包括 4 个 spectrin repeats 和完整的 C 末端结构域, Sun 将其命名为 MACF2, MACF2 定位于人 6 号染色体。MACF1 和 MACF2 在染色体定位以及转录本核苷酸序列上的不同, 提示人 MACF1 和 MACF2 是来自两种不同基因的编码产物。

## 2.2 MACF1 的基本结构域

在结构上, MACF1 包含 3 个结构域<sup>[12]</sup>。

### 2.2.1 N 末端结构域

含有一个钙结合蛋白型的微丝结合结构域 (calponin type actin-binding domain) 和一个 plakin 结构域。微丝结合结构域 (actin-binding domain, ABD) 由两个钙结合蛋白同源 (calponin homology, CH) 结构域组成, 与 spectrin 家族成员的 ABD 结构域同源。MACF1 存在很多不同的 ABD 选择性剪切形式, 在某种情况下只含有一个 CH 结构域而不能与 actin 纤维结合。plakin 结构域含有 6 个  $\alpha$  螺旋片段 (NN, Z, Y, X, W 和 V), 组成反平行的螺旋束<sup>[13]</sup>。Plakin 结构域中最保守区域存在于 NN 和 X 之间, 包括 Z 束和 Y 束及相关序列。除了 epiplakin 外, 所有家族成员含有 plakin 结构域, 该结构域在靶向 plakin 和特定细胞连接中起非常重要的作用。

### 2.2.2 杆状结构域

由 23 个 dystrophin-like spectrin 重复单元组成, spectrin 重复单元是 spectrin 家族特有的结构域, 可以在反平行形式中介导两个分子的二聚体化, 并且赋予分子弹性以适应细胞膜的形状。但是含有 24 个 spectrin repeats 的 dystrophin 被认为存在一个单体, 每个 spectrin 重复单元由 3 个  $\alpha$  螺旋通过两个 loop 区域连接起来<sup>[14]</sup>。

### 2.2.3 C 末端结构域

含有两个钙调素样 EF-hand 钙结合模体 (calmodulin-like EF-hand calcium binding motifs) 和一个与 Gas2 和 GAR22 区域同源的 GAR 结构域。Sun 等<sup>[12]</sup>已证明 GAR 结构域能与微管相结合, 虽然并未发现 MACF1 的 C 末端结构域与其他已知微管结合蛋白的同源性。他们采用瞬时转染及体外结合方法研究了 MACF1 的微管结合结构域的特点, 结果表明 MACF1 的 C 末端至少包含两个微管结合区域, 一个 GAR 结构域和一个含有甘氨酸-丝氨酸-精氨酸 (GSR) 重复序列的结构域。GAR 在 plakin 和 Gas2 家族成员中非常普遍。GSR 模体存在于 GSR 结构域中, 其在 MACF1、BPAG1 及 plectin 中起连接微管的作用。在 desmoplakin 中, GSR 模体也许在调节 PRD 与中间纤维的相互作用中起非常重要的作用<sup>[3]</sup>。

## 3 MACF1 的功能

### 3.1 MACF1 连接微丝及微管细胞骨架

MACF1 可能通过调节微管骨架的组装, 进而使微管骨架和微丝骨架交联<sup>[12]</sup>。虽然微丝和微管之间存在连接的假设在很多年前已经被提出<sup>[13]</sup>, 但 MACF1/ACF7 是第一个被证实广泛表达且能够结合微丝和微管细胞骨架网络的蛋白质, 而且 MACF1/ACF7 能选择性地限制与微丝微管之间的相互作用<sup>[10]</sup>。近来研究证据表明 ACF7 与果蝇的 kakapo 同源, 参与表皮-肌肉的黏附及神经肌肉的连接<sup>[7]</sup>; kakapo/ACF7 在表皮角质细胞及胚胎发育后期高表达, 尤其是在位置特异性的整合素结合位点及肌肉黏附位点表达最强, 与微管、微丝在黏着斑中平行交叉分布, 且定位在富含整合素的黏着斑位点<sup>[15,16]</sup>。kakapo/ACF7 具有进化上的保守功能, 可将微丝微管骨架连接到整合素  $\alpha\beta 1$  介导的细胞黏附位点<sup>[17]</sup>。研究表明 kakapo/ACF7 与微丝和微管之间的连接是直接的。这些研究提示 ACF7/kakapo 在整合素、微丝及微管之间起着关键的连接作用<sup>[15,16]</sup>。

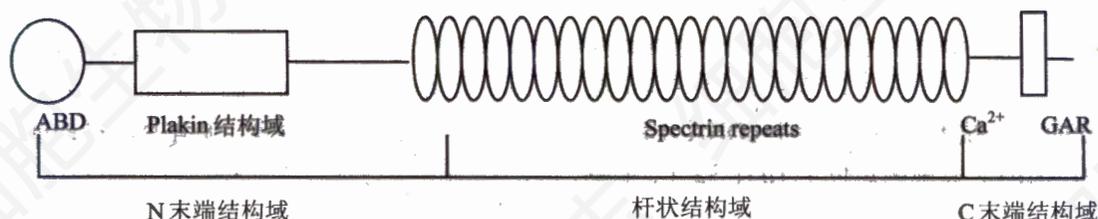


图1 MACF1 结构域模式图<sup>[12]</sup>

N 末端头部包含一个 ABD 和 plakin 结构域; 杆状结构域由 23 个 dystrophin-like spectrin 重复单元; C 末端尾部由两个 EF-hand 模体及 GAR 结构域。

Kodama 等<sup>[17]</sup>研究表明, ACF7/MACF1 是微管-微丝动力学的关键整合者, ACF7/MACF1 以两种方式维持其下游的稳定效应, 即直接与微管结合或与微管-微丝交联。他们发现在内胚层细胞中, ACF7 沿着微管结合, 但是当细胞极化时, 其主要聚集在微管末端及细胞边缘。当细胞缺失 ACF7 时, 微管仍然与末端结合蛋白 1 (end binding protein 1, EB 1) 和 CLIP170 相结合, 但是微管既不沿着微丝极化方向生长, 也不暂停生长或束缚在富含肌动蛋白的皮质区, 这种状态是极不稳定的, 此时微管具有倾斜的细胞质轨迹以及动力学的不稳定性。对于损伤反应, ACF7 缺失导致微管、微管组织中心(MTOC)和高尔基体的极化不完全; ACF7 缺失的细胞可以活化, 但活化信号不能持久以协调细胞迁移。因此, 微管的稳定依赖于 ACF7, ACF7 具有的微丝、微管结合结构域对正常的微管位置及其动力学的维持是必须的。

### 3.2 MACF1 参与信号转导

Chen 等<sup>[18]</sup>利用剔除 MACF1 基因的小鼠, 研究发现 MACF1 参与了 Wnt 信号通路, 并作为一个调节因子负责 Axin 及其相关复合物从胞浆到细胞膜的转位。在培养的细胞中 MACF1 的下调导致 Wnt 诱导的 TCF/ $\beta$ -连环蛋白转录活化下降。在培养成纤维细胞中, 微管以重组来应对信号通路的活化。已证实 Rho 效应分子 mDia 在稳定微管的定向中是非常重要的。但是 mDia 构成型活化形式在 MACF1 缺失时不能促进微管的稳定, 这提示 MACF1 可能是 mDia 下游的一个效应分子。研究发现, 缺失 MACF1 的 HeLa 细胞, 分布于细胞表层的微管末端结合蛋白 CLASP2 信号较正常细胞的弱, 这表明 MACF1 在 CLASP2 上游调控其在细胞中的定位。这些结果揭示了 MACF1 的主要作用是通过调节微管稳定性以应对信号通路的激活, 其具体的信号通路目前还不清楚<sup>[19]</sup>。

### 3.3 MACF1 将 rapsyn 锚定到突触后膜细胞骨架上

Antolik 等<sup>[20, 21]</sup>通过电镜和免疫组织化学实验技术研究表明, 在培养的肌管中 ACF7 是独特的  $\beta$ -spectrin-like 蛋白, 主要存在于突触后膜皱褶峭上以及乙酰胆碱受体簇 (AChRs) 上。受体相连突触蛋白 (rapsyn) 与 ACF7 的结合没有影响 rapsyn 的卷曲螺旋结构域 (CC) 与 AChRs 的结合, rapsyn 可能通过直接或间接与 ACF7 结合将 AChRs 连接到细胞骨架上。但是介导这种相互作用的 ACF7 结构域目前还不清楚<sup>[21]</sup>。Antolik 等<sup>[22]</sup>通过表面等离子共振 (SPR) 及铺覆蛋白

印迹等技术 (blot overlay assay), 研究表明 rapsyn 通过与 ACF7 的相互作用被连接到突触后膜细胞骨架上。这些结果提示在哺乳动物骨骼肌中, 通过 ACF7 介导的 rapsyn 与细胞骨架的连接, 最终使 AChRs 被固定到细胞膜上。

### 3.4 MACF1 为肌醇锚定蛋白转运提供分子连接

Kakinuma 等<sup>[23]</sup>研究表明 MACF1 的分布与 p230 重叠在高尔基体复合体上。p230 定位于转运高尔基体网络 (TGN) 的囊泡上, 囊泡上的 p230 通过 MACF1 从 TGN 沿着微管束、膜下肌动蛋白网络到细胞膜, 被转运到细胞其它部位。这些结果提示, MACF1 的 C 末端结构域与 TGN p230 的 N 端相互作用, 为肌醇锚定蛋白 (GPI-anchored proteins) 沿着微管微丝从 TGN 转运到细胞周边提供了分子连接。Lin 等<sup>[1]</sup>也报道在 H460 肺癌细胞中 MACF1 环绕细胞核呈点状分布于整个胞浆, 并与高尔基体复合体及微管骨架共定位。

### 3.5 MACF1 与发育

Chen 等<sup>[18]</sup>研究发现 MACF1 在神经组织、胚胎发育期第 8.5 天 (E8.5) 的胚胎前肠及头褶和胚胎 7.5 天时的原条中高表达。MACF1<sup>-/-</sup>小鼠在原肠胚形成期死亡, 并且在胚胎 7.5 天时表现出滞育, 同时伴有原条、原结和中胚叶缺陷。Bernier 等<sup>[6]</sup>通过原位杂交实验研究小鼠 ACF7 基因的发育表达谱, 结果表明在 8.5 天的小鼠胚胎中 ACF7 转录子主要在生皮肌节和神经褶皱处。在发育晚期, ACF7 主要表达在神经肌肉组织, 出生前在肺的 II 型小泡细胞上表达明显上调。因此, ACF7 在神经、肌肉和肺的发育中起着非常重要的作用。

### 3.6 MACF1 与疾病

MACF1 的变异所导致的疾病现还没有报道。剔除 MACF1 基因可能导致早期胚胎死亡。MACF1 在信号转导中的作用提示 MACF1 可能参与了肿瘤的发生。近来在乳腺癌及结肠癌普查中显示, 12% 的乳腺癌肿瘤 MACF1 发生突变, 尽管 MACF1 在肿瘤中的作用还未得到证实<sup>[24]</sup>。此外, 已经证实 MACF1 是 Disc1 基因相互作用子的一部分, 既能与 Disc1 基因相互作用, 也能与 dysbindin 基因相互作用, 已经在精神分裂症疾病中检测到这种相互作用产生的新基因产物<sup>[25]</sup>。

## 4 小结

MACF1 作为一种新的细胞骨架连接蛋白, 在细

胞信号转导、微管-微丝解聚和聚合动力学过程的调节、分子转运过程、胚胎发育以及疾病发生中起重要作用。从1995年该分子发现至今,国际上相关研究文献不足30篇,且大部分研究是2000年以后的,多数集中于MACF1结构及组织定位,关于其功能及其作用机制研究较少,也不深入。而在国内,该领域则是一片空白,很少有人从事这方面的研究。通过MACF1的最新研究进展,作者提出一些设想:MACF1可能是一个骨架信号转导分子,参与调节哺乳动物细胞骨架动力学过程;MACF1可能参与了多种信号通路,在胚胎发育及疾病发生中起重要作用;MACF1在神经轴突发育以及肌腱细胞分化中起重要作用。

关于该分子还有许多问题亟待研究:如MACF1的结构;MACF1在信号转导、发育等过程的作用及其机制;MACF1如何调节微丝微管动力学过程等。如能解决这些问题,对于研究细胞骨架之间的相互作用以及由细胞骨架组装和去组装发生变化而导致疾病发生具有非常重要的意义,同时可以填补我国在该领域的研究空白,取得创新性的研究成果。

## 参考文献 (References)

- [1] Lin CM *et al. J Cell Sci*, 2005, **118**: 3727
- [2] Jefferson JJ *et al. Nat Rev Mol Cell Biol*, 2004, **5**: 542
- [3] Leung CL *et al. Trends Cell Biol*, 2002, **12**: 37
- [4] Byers TJ *et al. FEBS Lett*, 1995, **368**: 500
- [5] Gong TW *et al. Mamm Genome*, 2001, **12**: 852
- [6] Bernier G *et al. Genomics*, 1996, **38**: 19
- [7] Leung CL *et al. J Cell Biol*, 1999, **147**: 1275
- [8] Okuda TS *et al. Biochem Biophys Res Commun*, 1999, **264**: 568
- [9] Sun Y *et al. J Biol Chem*, 1999, **274**: 33522
- [10] Karakesisoglou I *et al. J Cell Biol*, 2000, **149**: 195
- [11] Bernier G *et al. Dev Dyn*, 2000, **219**: 216
- [12] Sun D *et al. J Cell Sci*, 2001, **114**: 161
- [13] Kaverina I *et al. J Cell Biol*, 1998, **142**: 181
- [14] Waterman-Storer CM *et al. J Cell Biol*, 1997, **139**: 417
- [15] Strumpf D *et al. J Cell Biol*, 1998, **143**: 1259
- [16] Karakesisoglou I *et al. J Cell Biol*, 2000, **149**: 195
- [17] Kodama A *et al. Cell*, 2003, **115**: 343
- [18] Chen HJ *et al. Genes Dev*, 2006, **20**: 1933
- [19] Drabek K *et al. Curr Biol*, 2006, **16**: 2259
- [20] Antolik C *et al. Neuroscience*, 2006, **141**: 87
- [21] Bloch RJ *et al. J Cell Biol*, 1989, **108**: 481
- [22] Antolik C *et al. Neuroscience*, 2007, **145**: 56
- [23] Kakinuma T *et al. Exp Cell Res*, 2004, **298**: 388
- [24] Sjöblom T *et al. Science*, 2006, **314**: 268
- [25] Camargo LM *et al. Mol Psychiatry*, 2007, **12**: 74

## The Structure and Functions of Microtubule Actin Cross-linking Factor 1

Ai-Rong Qian, Li-Fang Hu, Peng Shang\*

(Key Laboratory for Space Biosciences & Biotechnology, Faculty of Life Sciences,  
Northwestern Polytechnical University, Xi'an 710072, China)

**Abstract** Microtubule actin cross-linking factor 1 (MACF1) is a novel cytoskeletal linker protein and belongs to spectraplakins family. Structurally, MACF1 contains 3 domains, namely an N-terminal domain, a rod domain and a C-terminal domain. MACF1 takes an important role in associating with both actin microfilaments and microtubules and participating in signal transduction, protein transportation, embryonic development and disease occurrence. Recently the roles of MACF1 in regulating microtubule-actin dynamics have been paid much more attention. This review focuses on the latest research progress of the structure and functions of MACF1.

**Key words** microtubule actin cross-linking factor 1; cytoskeleton; signal transduction; microfilament; microtubule

Received: November 6, 2007

Accepted: December 29, 2007

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (No.30670520)

\*Corresponding author. Tel: 86-29-88460391, Fax: 86-29-88460332, E-mail: shangpeng@nwpu.edu.cn