

综述

鸟嘌呤核苷酸交换因子C3G生物学功能研究进展

吴国金 安 输 杨 洋 刘 莹 徐天瑞* 郭晓汐*

(昆明理工大学生命科学与技术学院细胞信号传导实验室, 昆明 650500)

摘要 Crk SH3域结合鸟嘌呤核苷酸交换因子[v-Crk sarcoma virus CT10 oncogene homolog (avian) SH3-domain-binding guanine nucleotide exchange factor, C3G]属于鸟嘌呤核苷酸交换因子(guanine nucleotide exchange factors, GEFs), 是一种在细胞内普遍表达的蛋白质分子。C3G激活小GTP酶并参与各种信号所触发的通路, 对哺乳动物胚胎发育和许多组织的细胞功能来说, 都是必不可少的。C3G参与细胞的黏附和迁移, 细胞连接的维持, 突起的生长等需要细胞骨架重构重要生物功能的调控。在细胞信号转导通路中, C3G的功能不仅依赖其催化活性, 更重要的是, C3G在不同细胞类型中与不同的蛋白质相互作用, 从而激活相应的信号转导通路。该文总结了目前C3G研究的最新进展, 并概述了C3G的不同表达亚型对癌症、心脏病的影响及其生物功能背后的分子作用机制。对C3G及其相互作用蛋白质的研究将为卵巢癌、心脏病等疾病的诊断和治疗提供重要的科学依据。

关键词 Crk SH3域结合鸟嘌呤核苷酸交换因子; 鸟嘌呤核苷酸交换因子; GTP酶; Rap

Biological Function of the Guanine Nucleotide Exchange Factor C3G

Wu Guojin, An Shu, Yang Yang, Liu Ying, Xu Tianrui*, Guo Xiaoxi*

(Cell Signaling Lab, Faculty of Life Science and Technology, Kunming University of Science and Technology, Kunming 650500, China)

Abstract C3G [v-Crk sarcoma virus CT10 oncogene homolog (avian) SH3-domain-binding guanine nucleotide exchange factor] belonging to GEFs (guanine nucleotide exchange factors), a protein is ubiquitously expressed in various cells. C3G activates small GTPase and is involved in pathways triggered by a variety of signals. It is essential for mammalian embryonic development and many cellular functions in adult tissues. C3G participates in regulating functions that require cytoskeletal remodeling such as adhesion, migration, maintenance of cell junctions, neurite growth and vesicle traffic. In signaling pathways, C3G serves functions dependent on catalytic activity as well as protein interaction and can therefore integrate signals necessary for the execution of more than one cellular function. This article summarizes the most updated knowledge about C3G, and describes the differential expression of C3G in cancer, heart disease and other diseases, providing an overview of the molecular mechanism of its action. Studies of C3G protein interaction will provide important scientific basis for the diagnosis

收稿日期: 2015-12-11 接受日期: 2016-02-06

国家自然科学基金(批准号: U1302225、81460253、814602417、81473342)、云南省高端科技人才基金(批准号: 2012HA008)、云南省教育厅科学研究基金项目(批准号: 2013J065)和昆明理工大学科技处2013年度省级人才培养项目(批准号: kksy201326121)资助的课题

*通讯作者。Tel: 0871-65939327, E-mail: xtrgfq@hotmail.com; Tel: 15391332986, E-mail: gxxzmcn@me.com

Received: December 11, 2015 Accepted: February 6, 2016

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.U1302225, 81460253, 81460417, 81473342), High-end Scientific and Technological Personnel Foundation of Yunnan (Grant No.2012HA008), Yunnan Provincial Department of Education Fund for Scientific Research Project (Grant No.2013J065), 2013 Annual Kunming University of Science and Technology Provincial Talent Training Project (Grant No.kksy201326121)

*Corresponding authors. Tel: +86-871-65939327, E-mail: xtrgfq@hotmail.com; Tel: +86-15391332986, E-mail: gxxzmcn@me.com

网络出版时间: 2016-04-07 15:54:05 URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20160407.1554.008.html>

and treatment of ovarian cancer, heart disease and other diseases.

Keywords C3G; GEFs; GTPase; Rap

1 C3G

1.1 C3G概述

Crk SH3域结合鸟嘌呤核苷酸交换因子(v-Crk sarcoma virus CT10 oncogene homolog (avian) SH3-domain-binding guanine nucleotide exchange factor, C3G)是第一个被发现的Rap GEFs(Ras-related protein guanine nucleotide exchange factors),也是第一个被证明的包含CDC25同源模体的Rap1(Ras-related protein 1)鸟苷酸交换因子;小分子GTP酶是单体GTP结合蛋白,其分子量为20~40 kDa,又称小G蛋白,真核生物细胞小G蛋白主要包含5个家族: Ras、Rho、Ran、Sar1/Arf和Rab^[1]。且Rap(Ras-related protein)属于Ras家族。小G蛋白有GTP结合的活性形式和GDP结合的无活性形式,其功能的行使依赖于一类蛋白质的调节,称为鸟苷酸交换因子(guanine-nucleotide-exchange factors, GEFs),GEFs催化GDP的释放和GTP的结合,从而活化小G蛋白^[2]。GEFs的发挥需要一些上游信号分子,如信号接头蛋白的活化并将其转运至行使功能区。最上游的信号定位GEFs并作用于特定GTP酶,因此,GEFs的作用主要是将来自受体的信号向下游转导^[3]。

GEFs按其作用主要可分为Ras GEFs、Rho GEFs等。Ras GEFs的一个共同特征是存在一个CDC25同源结构域,它和Ras交换模体(Ras exchange-er motif, REM)一起帮助催化GTP结合小G蛋白。此外,Rap GEFs有多个模块结构域帮助蛋白质和脂质的相互作用,并参与它们的调节^[4]。C3G在结构上不仅含有CDC25同源模体,且在N-端有能与E-钙黏着蛋白相互作用的序列,C-末端有催化结构域,中间则是多个富含脯氨酸的序列^[5-7]。通过这些富含脯氨酸的序列,C3G能与多种蛋白质如Crk、c-Abl(the mammalian genome-abelson murine leukemia viral oncogene homolog)、Hck(hemopoietic cell kinase)和Cas(CRISPR associated)等相互作用^[6]。C3G又被称为Rap GEF1,但是和其他Rap GEFs(图1A)相比,它缺少了与模块化蛋白质相互作用的结构域。在Rap GEFs中发现的结构域一般是DEP(disheveled-EGL-10-pleckstrin domain)、cNB-L(cyclic nucleotide-binding domain-like)和PDZ(PSD-95/Dig/ZO-1)结构。图1显示了C3G与其他典型Rap GEFs在结构上的差异。

1.2 C3G的亚型和表达

人源C3G基因表达两种不同的亚型,分子量约

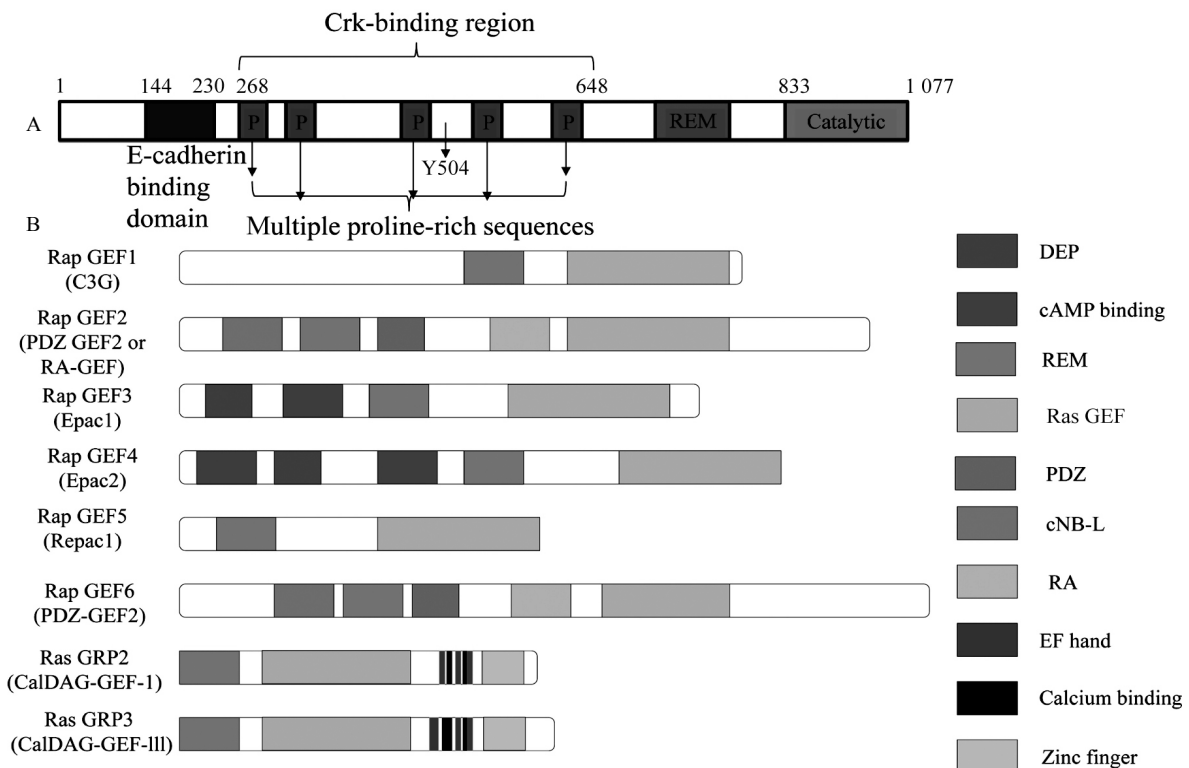


图1 C3G与其他典型Rap GEFs的分子结构差异

Fig.1 C3G different from other typical molecular structure of Rap GEFs

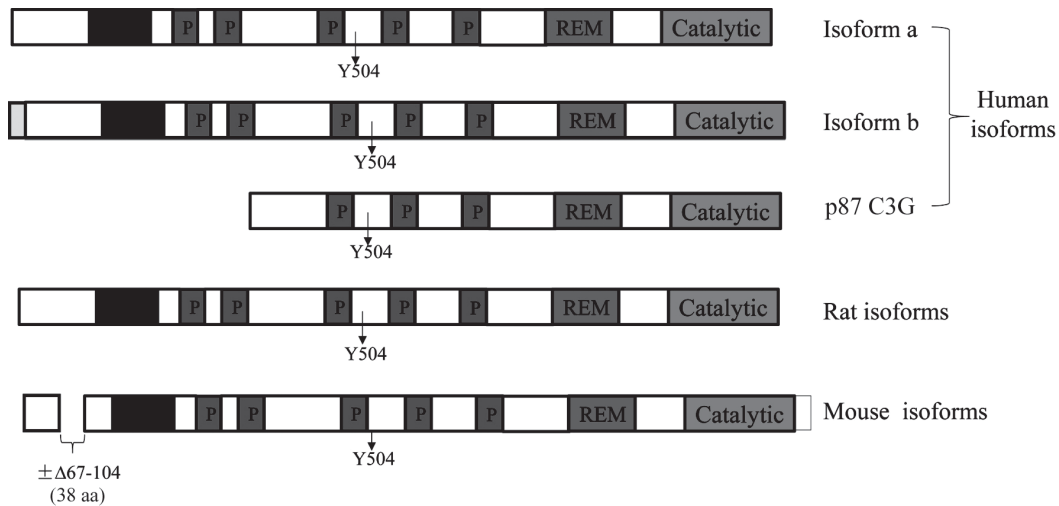


图2 特征哺乳动物中C3G的亚型

Fig.2 Characterized of C3G subtypes in mammals

为140 kDa。它们核心区域都有多个富含脯氨酸的序列,该序列与含有SH3结构域的蛋白质相互作用。Crk、Hck、c-Abl和Cas都是已知的直接与C3G核心区域相互作用的分子^[8]。C3G的N-末端残基是负责与E-钙黏着蛋白相互作用的,这表明N-端序列也有助于蛋白质的相互作用^[9]。人源C3G基因包含24个外显子,跨越163 Kb。亚型a的转录mRNA大小为6 085 bp;亚型b为6 256 bp。2个亚型的出现是由于可变剪接,并且主要不同之处在于N-端,其中亚型a的3个氨基酸由亚型b的21个氨基酸所取代(图2)。C3G的各亚型已在多种生物体内被鉴定,在它的催化结构域具有高度保守性;在脊椎动物中的C3G脯氨酸富集区域和E-钙黏蛋白结合结构域是保守的;然而在无脊椎动物中,某些公认SH3结合的脯氨酸富集区具有保守性,但E-钙黏蛋白结合结构域保守性较差^[8]。因此,C3G在脊椎动物中可能具有更多的功能。

虽然C3G广泛表达,但表达水平上存在组织特异性。鼠组织中主要普遍表达7 Kb的转录亚型并且在有些组织中表达4 Kb的转录亚型^[10]。这种亚型被发现主要存在于睾丸和大脑,其他组织并没有这些发现。目前,这些亚型所承担的具体功能还没有详细的报道。在小鼠组织中,大多数组织中的N-端插入和不插入114 bp这2种转录产物都表达。C3G在脑、心脏、肝脏和肌肉均是高表达的,但在脂肪组织、肾脏和脾脏中均低表达^[11]。

C3G广泛表达于各种人体组织器官中,但其中7.5 Kb转录产物的水平显示出成人骨骼肌和大脑、

胚胎心脏和胎盘中高表达,在肝脏中则低表达^[4]。一种短的87 kDa的亚型p87由一个4.4 Kb的mRNA转录编码表达于骨髓白血病细胞,它缺乏全长C3G N-末端的305个氨基酸^[12]。这种缺乏前两段多个富含脯氨酸区的变体是通过第三富含脯氨酸的序列与Bcr-Abl相互作用。在慢性粒细胞性白血病(chronic myelogenous leukemia, CML)治疗过程中,p87亚型在不同的病程中显示出不同的表达水平,这提示C3G在CML的发病机制中起到一定作用。

2 C3G信号通路

各种刺激物如生长因子、细胞因子、整合素、神经营养因子、激素和机械应力均能激活C3G介导的信号通路。已知由C3G调节的GTP酶有Ras家族成员Rap1、Rap2、R-Ras、TC-21及Rho家族成员TC10(ras homolog family member Q),这些均能导致促分裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)和其他效应途径的激活^[8]。一般情况下,GEFs对小G蛋白的作用具有高度的专一性,但C3G是一个特殊的例子,除了Ras家族GTP酶还靶向另一个Rho家庭的成员。在过去的十几年中,一些研究已经清楚地说明了C3G参与多个信号的通路和调节多种细胞的功能。通过胞外信号调节激酶(extracellular regulated protein kinase, ERK)、c-Jun氨基末端激酶(c-Jun N-terminal kinase, JNK)和Rac通路的激活(图3),C3G在整合素介导的细胞黏附和迁移中起关键作用,也调节细胞增殖、分化和凋亡。这些细胞特性常常与细胞骨架重组相关,或者是由其

导致的。

2.1 C3G的调节

研究表明, 小鼠的2种C3G亚型表达被发现于脂肪细胞分化期间, 而这2种亚型的区别在于N-端是否缺少114 bp这一片段, 它们的mRNAs存在于所有的小鼠组织中, 可变剪接造成了两种C3G mRNAs及亚型的出现^[12]。在神经母细胞瘤(neuroblastoma, NB)细胞分化中, C3G蛋白质水平也有增加^[13]。对人呼吸道上皮细胞用角质形成细胞生长因子处理可以观察到C3G基因表达成倍增加, 这表明C3G表达可以在转录水平被调控^[14]。在宫颈鳞状细胞癌组织中, C3G的表达由于上游调控序列的甲基化出现减少^[15]。一些GEFs的表达似乎存在相互作用的关系。敲除Rac中GEFs的DOCK-180可导致C3G表达水平的增加, 从而改变许多细胞功能(如卵巢癌细胞细胞增殖和迁移降低^[6])。

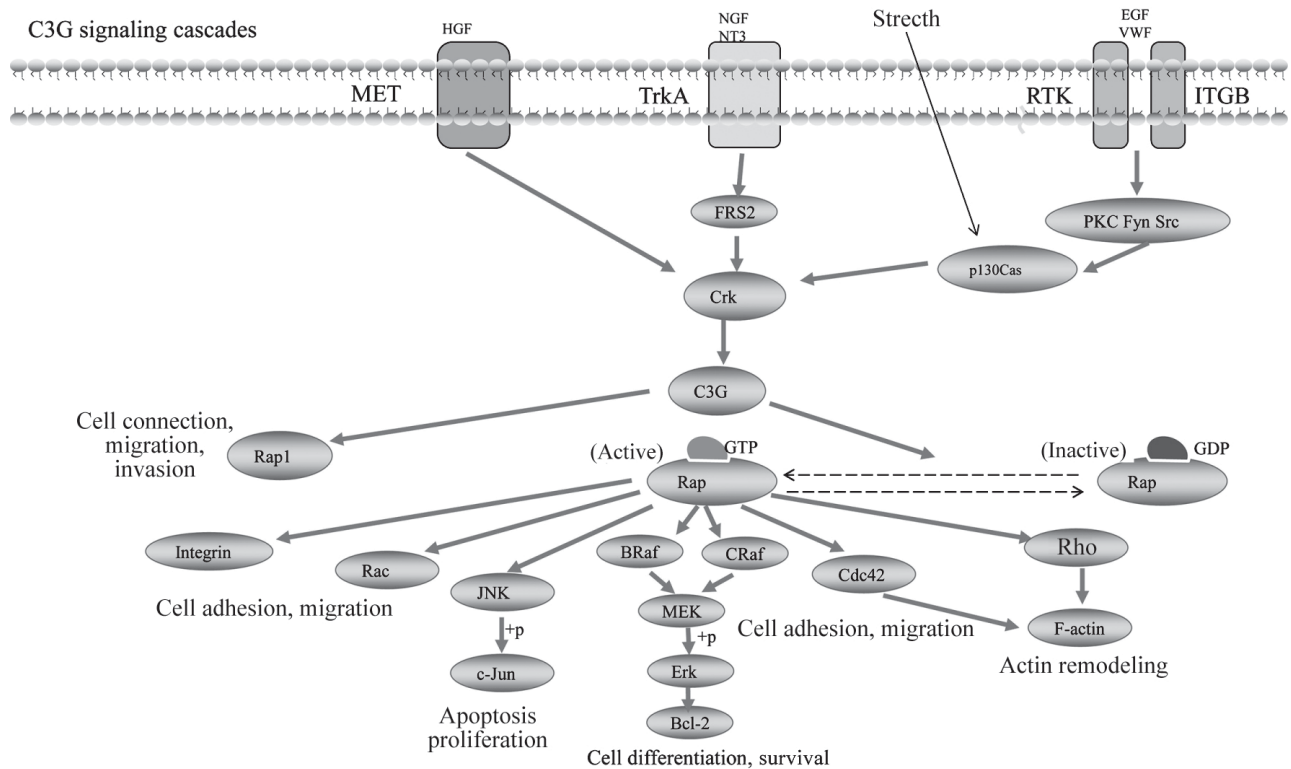
大部分Rap家族的GEFs是多结构域蛋白质, 而且其活化是通过蛋白质-类脂相互作用调控的: 包括第二信使的结合、翻译后修饰和亚细胞定位。C3G的活化已被证明是通过在第504位酪氨酸磷酸化、膜定位和通过与接头蛋白Crk的相互作用来调

节的^[16]。C3GY504磷酸化的激酶已经发现有C-Src、Hck、Fyn和c-Abl^[8]。人类C3G与大鼠和小鼠在Y504的周围序列是不完全保守的, 表明在C3G调控中有种属特异性。除了Y504之外, C3G上也存在其他可被磷酸化的酪氨酸位点, 但这些位点磷酸化所起的作用尚不明确^[17]。

2.2 C3G特殊的信号调节

C3G对特定GTP酶激活的调节是个复杂的过程。C3G通过v-Crk的变构与细胞膜形成组成性结合^[18]。在v-Crk NIH 3T3细胞中, C3G的表达增强了JNK的激活和v-Crk的变构。因为C3G的催化域是必要但又独立于Rap1的, 这提示我们, C3G可以与其他GTPase相互作用。在不同的刺激(黏附依赖等)下, 这种C3G与GTPase之间的相互作用也会随之发生变化^[19-20]。

C3G也受到自身调节。已知C3G酶活性是由其非催化序列负调节的, 敲除非催化序列导致了其组成性催化活性^[16]。C3G也可受其特定的胞内结构域的调节而被活化^[21-22]。前人研究均表明, C3G定位于胞质中, 但近期研究更新了这一观点。他们认为, 在上皮细胞中, C3G过表达诱发丝状伪足且定位于



HGF: 肝细胞生长因子。
HGF: hepatocyte growth factor.

图3 C3G信号传导通路图
Fig.3 C3G signaling pathway diagram

丝状伪足尖端。过钒酸盐(pervanadate, PV)诱发丝状伪足显示, pC3G(C3G在Y504磷酸化)定位至其尖端, 说明了C3G在丝状伪足功能中的作用。在细胞凋亡过程中, C3G被Src家族激酶(Src family kinases, SFKs)或c-Abl磷酸化后, 证明了C3G也定位于皮质肌动蛋白细胞骨架, 高尔基体和细胞回缩的片状伪足^[13,17,23]。

多分子复合物的形成是激活C3G的主要方式。目前, 已确定有几种蛋白质与C3G直接或间接地相互作用, 它们参与多种通路并指导行使特定生物学功能。由于刺激的不同, 所形成的含C3G多分子复合物的组成也不尽相同^[19]。PC12细胞用表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)刺激后, 形成一个含有Crk、C3G、Rap1和B-Raf的短暂复合物; 而神经生长因子(nerve growth factor, NGF)刺激则形成了一个含有成纤维细胞生长因子受体底物2(fibroblast growth factor receptor substrate 2, FRS2)、Crk、C3G、Rap1和B-Raf的稳定复合物, 从而使MAPK通路活化时间延长^[24]。在哺乳动物细胞中, C3G通过其富含脯氨酸结构域与 β -catenin相互作用形成复合物; 且C3G可以负调控 β -catenin信号通路, 也可以被 β -catenin抑制表达形成一个反馈回路^[25]。

3 C3G在生物中的功能及影响

3.1 肌动蛋白重塑

细胞骨架重塑调节了细胞的可塑性和细胞分化、迁移和黏附相关的功能。C3G在上皮细胞中调节细胞骨架重组诱导丝状伪足形成, 在神经母细胞瘤中, 促进了神经突起生长^[26]。有证据表明, 在上皮细胞系中C3G表达导致了依赖于完整肌动蛋白骨架的丝状伪足形成, 这一结果表明, C3G参与肌动蛋白重排相关信号通路^[11]。PV处理诱发丝状伪足形成, pC3G定位于皮质肌动蛋白细胞骨架和丝状伪足的尖端^[27]。神经细胞通过微丝和微管的大量变化来实现和保持其独特的形态。神经突起生长也依赖于丝状伪足的生长锥。在人类NB细胞中, C3G表达导致其形态分化成神经细胞和细胞分裂周期蛋白42(cell division cycle 42, Cdc42), 并且N-Wasp依赖的信号也参与了该过程^[13]。C3G也需要c-Abl的诱导形成丝状伪足。研究表明, C3G可以通过靶向N-Wasp转导信号到肌动蛋白, 但TC10、Cdc42蛋白是Rho GTP酶家族中的一员, Cdc42激活与丝状伪

足的形成相关。在C3G表达细胞中, 细胞表现出应力纤维的损失表明, 在这些细胞中, C3G可以改变肌动蛋白动力学。C3G抑制转化的功能依赖于其在皮层下肌动蛋白细胞骨架的定位, 且与蛋白磷酸酶2A有关。在酵母双杂交实验中也表明了C3G可以直接与肌动蛋白相互作用^[21]。

C3G的靶标蛋白在肌动蛋白的调节中也起作用。例如, Rap1通过参与不同的效应调节肌动蛋白重塑, Rap2B通过钙相关的Erk1/2信号通路促进人类乳腺癌细胞增殖、迁移和侵袭^[28]。C3G-Rap1依赖Rac、Cdc42的激活被发现参与黏连衔接, 它们的激活分别通过GEFs、Vav2和FRG来实现, Rap1通过控制肌球蛋白II的活性和肌动蛋白组织增强内皮细胞连接^[29]。与神经元有关的C3G诱导形态学变化是通过Cdc42介导信号到肌动蛋白来实现的^[13]。TC10活化调节F-肌动蛋白动力学和轴突生长, Rho GTP酶及肌动蛋白促进囊泡高效运输^[30]。膜突由Exo70和TC10之间的相互作用引起^[31]。在培养的哺乳动物细胞中, Rap2结合TRAF2/Nck互作激酶(Traf2 and NCK interacting kinase, TNIK)引起细胞骨架的变化^[32]。在B细胞中, Rap活化需要佛波醇酯诱导的肌动蛋白聚合及形态变化^[28]。Rap1定位于细胞连接处, 是连接形成和破坏的一个关键调节器^[33]。研究表明, C3G转导至肌动蛋白的信号由C3G与一些分子如Crk、Hck、Src和c-Abl等相互作用后加强, 这也证实了C3G参与了肌动蛋白重塑。因此, 肌动蛋白和C3G之间存在相互调节的现象。一方面, 多聚化的肌动蛋白成为C3G活化的平台; 另一方面, 活化的C3G导致靶向激活肌动蛋白动力学的改变。这些变化又将调节多种细胞功能。

3.2 黏附和迁移

C3G作为Rap GTP酶的调节剂, 在整合信号、细胞黏附和迁移中起重要作用。在Ba/F3造血细胞中C3G的磷酸化作为对黏附于纤连蛋白和过表达的反应使迁移增强, 且在慢性骨髓性白血病细胞的黏着斑(focal adhesion, FA)中C3G-p38 α MAPK通路蛋白及Bcr-Abl相互作用调节细胞黏附^[11]; 在小鼠32D细胞中通过R-Ras介导VLA-4和VLA-5的活化使C3G过度表达, 增加了纤连蛋白黏附^[11]。C3G的过表达显著减少了肾小球上皮细胞的扩散, 降低了细胞E-钙黏蛋白的表达和增强了它们的迁移^[34]。用v-Crk处理的细胞中C3G定位于局部黏附引起了

MAPK和JNK的异常激活^[35]。用金属蛋白酶2的组织抑制剂(tissue inhibitor of metalloproteinase 2, TIMP2)处理的人微血管内皮细胞中C3G诱导RECK表达且减少细胞迁移,在非小细胞肺癌细胞中TIMP2调控转录模式和提高E-cadherin/ β -catenin复合体的表达^[36]。C3G也参与依赖SFK调节的细胞黏附。

3.3 与人类疾病的关系

3.3.1 与癌症的关系 Crk接头蛋白可以接受多种细胞表面受体的刺激,是信号转导关键的参与者。它们通过其SH3区域与效应分子(如C3G)介导T细胞黏附,调节淋巴细胞外渗及炎症部位聚集^[37]。C3G将跨膜受体和细胞内GTPase家族成员参与的信号通路联系起来,从而调控不同细胞作用,如细胞增殖、分化、黏附、凋亡等。在不同的癌症中,C3G有不同的作用。C3G的敲除抑制了SKOV3(卵巢癌细胞)细胞的侵袭,也降低Rap1活性和基质金属蛋白酶-2(matrix metalloproteinase-2, MMP-2)和MMP-9的分泌。而C3G介导Rap1激活可通过促进MMP-2和MMP-9的分泌导致浆液性卵巢癌(serous ovarian cancer, SOC)的发生^[38]。在小细胞肺癌中,发现C3G的过表达和扩增,表明C3G具有致癌作用;但在宫颈鳞状细胞癌及胃肠癌症组织中C3G水平降低,C3G水平降低的原因是上游调节基因序列的频繁甲基化^[39]。C3G在高侵袭乳腺癌细胞中过表达可诱导神经元细胞的表型特征并抑制其迁移^[40]。在慢性淋巴细胞白血病样本基因表达谱中显示C3G随着病情恶化表达下调^[41]。总之,对C3G作用机制的研究可能会对多种癌症的治疗有益。

3.3.2 与心脏疾病的关系 研究表明,整合素(integrin) β_1 亚基及其下游分子如整合素连接激酶(integrin-linked kinase, ILK)和黏着斑激酶(focal adhesion kinase, FAK)具有阻滞梗死后心肌重塑、缺血性心肌病以及心脏衰竭的作用;C3G蛋白是整合素通路中的一员,它具有整合素的一些特性,也可参加这些过程^[42]。整合素信号通路激活后通过接头蛋白CrkSH3区域与C3G结合^[43],C3G蛋白活化下游的Rap1等GTP酶,催化Rap1-GDP转化为Rap1-GTP,促进心肌细胞生长,且C3G蛋白可参与细胞骨架的重塑。研究表明,C3G过表达在H9C2心肌细胞中具有促进增殖、存活和抗凋亡的作用;其机制是在心肌细胞中C3G激活其下游促存活信号分子p-ERK1/2有

关^[44]。因此,C3G可能作为心脏疾病的一个潜在治疗靶点。

3.3.3 在胚胎发育的作用 一些研究者通过基因敲除等手段对C3G在哺乳动物体内的功能进行了研究。C3G^{-/-}纯合的小鼠在胚胎期的前7.5 d内死亡,而在敲除C3G基因的同时将人源C3G基因转入受精卵后,大部分胚胎均可成活,这表明C3G对哺乳动物的发育有显著的作用^[45]。在敲除C3G基因的小鼠胚胎成纤维细胞中出现了细胞黏附受损,细胞迁移加速的现象。这些现象因Rap1、Rap2或R-Ras的表达及活化受到抑制,说明在早期胚胎发育和胚胎成纤维细胞的黏附及扩散等生物学过程中依赖C3G的GTP酶的活化是必不可少的。事实上,在胚胎发育过程中C3G通过激活Rap1对胚胎致死发挥作用,而其他的Rap GEFs无此功能^[45]。

4 总结与展望

大量实验数据表明,C3G具有包括调节肌动蛋白骨架的重组等许多细胞功能。因此在细胞中,C3G调节细胞结构、黏附和迁移并最终决定了细胞形态,C3G的这些功能在胚胎发育过程及其他疾病中是至关重要的。事实上,C3G参与不同信号通路的应答,表明它对组织类型的决定作用,同时也解释了多器官系统的缺陷发展导致的早期胚胎致死。由于C3G对哺乳动物发育的重要性,我们推测人类发育缺陷可能与C3G的变异有关。调查流产胎儿C3G的突变或表达变化可能有助于确定C3G在人类胚胎发育中发挥的作用。

目前已证实,一些可以结合GEFs的小分子抑制剂和选择性激动剂可以发挥作用。C3G是一个广泛表达的分子,在各种信号所触发的通路中起作用,由于C3G在不同疾病中表现不同的特性,因此在治疗时应该针对其特性来处理。我们可以利用小分子拮抗剂或激动剂来处理以观察疾病的发展趋势。而在心肌细胞中,表达C3G可以促进其存活,降低其凋亡。随着对C3G参与通路的研究,以C3G为靶点的疾病治疗前景将逐渐展开为卵巢癌、心脏病、宫颈鳞状细胞癌等疾病的治疗提供更多的手段与方法。

参考文献 (References)

- 1 Tanaka S, Morishita T, Hashimoto Y, Hattori S, Nakamura S,

- Shibuya M, *et al.* C3G, a guanine nucleotide-releasing protein expressed ubiquitously, binds to the Src homology 3 domains of CRK and GRB2/ASH proteins. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91(8): 3443-7.
- 2 Kiyokawa E, Hashimoto Y, Kobayashi S, Sugimura H, Kurata T, Matsuda M. Activation of Rac1 by a Crk SH3-binding protein, DOCK180. *Genes Dev* 1998; 12(21): 3331-6.
 - 3 Raaijmakers JH, Bos JL. Specificity in Ras and Rap signaling. *J Biol Chem* 2009; 284(17): 10995-9.
 - 4 Shao X, Miao M, Qi X, Chen Z. Ras-proximate-1 GTPase-activating protein and Rac2 may play pivotal roles in the initial development of myelodysplastic syndrome. *Oncol Lett* 2012; 4(2): 289-98.
 - 5 Neukomm LJ, Zeng S, Frei AP, Huegli PA, Hengartner MO. Small GTPase CDC-42 promotes apoptotic cell corpse clearance in response to PAT-2 and CED-1 in *C. elegans*. *Cell Death Differ* 2014; 21(6): 845-53.
 - 6 Wang H, Linghu H, Wang J, Che YL, Xiang TX, Tang WX, *et al.* The role of Crk/Dock180/Rac1 pathway in the malignant behavior of human ovarian cancer cell SKOV3. *Tumour Biol* 2010; 31(1): 59-67.
 - 7 Takai S, Tanaka M, Sugimura H, Yamada K, Naito Y, Kino I, *et al.* Mapping of the human C3G gene coding a guanine nucleotide releasing protein for Ras family to 9q34.3 by fluorescence in situ hybridization. *Hum Genet* 1994; 94(5): 549-50.
 - 8 Radha V, Mitra A, Dayma K, Sasikumar K. Signalling to actin: Role of C3G, a multitasking guanine-nucleotide-exchange factor. *Biosci Rep* 2011; 31(4): 231-44.
 - 9 Hogan C, Serpente N, Cogram P, Hosking CR, Bialucha CU, Feller SM, *et al.* Rap1 regulates the formation of E-cadherin-based cell-cell contacts. *Mol Cell Biol* 2004; 24(15): 6690-700.
 - 10 Shivakrupa, Singh R, Swarup G. Identification of a novel splice variant of C3G which shows tissue-specific expression. *DNA Cell Biol* 1999; 18(9): 701-8.
 - 11 Maia V, Ortiz-Rivero S, Sanz M, Gutierrez-Berzal J, Alvarez-Fernandez I, Gutierrez-Herrero S, *et al.* C3G forms complexes with Bcr-Abl and p38alpha MAPK at the focal adhesions in chronic myeloid leukemia cells: Implication in the regulation of leukemic cell adhesion. *Cell Commun Signal* 2013; 11(1): 9.
 - 12 Zhai B, Huo H, Liao K. C3G, a guanine nucleotide exchange factor bound to adapter molecule c-Crk, has two alternative splicing forms. *Biochem Biophys Res Commun* 2001; 286(1): 61-6.
 - 13 Radha V, Rajanna A, Gupta RK, Dayma K, Raman T. The guanine nucleotide exchange factor, C3G regulates differentiation and survival of human neuroblastoma cells. *J Neurochem* 2008; 107(5): 1424-35.
 - 14 Prince LS, Karp PH, Moninger TO, Welsh MJ. KGF alters gene expression in human airway epithelia: Potential regulation of the inflammatory response. *Physiol Genomics* 2001; 6(2): 81-9.
 - 15 Okino K, Nagai H, Nakayama H, Doi D, Yoneyama K, Konishi H, *et al.* Inactivation of Crk SH3 domain-binding guanine nucleotide-releasing factor (C3G) in cervical squamous cell carcinoma. *Int J Gynecol Cancer* 2006; 16(2): 763-71.
 - 16 Ichiba T, Hashimoto Y, Nakaya M, Kuraishi Y, Tanaka S, Kurata T, *et al.* Activation of C3G guanine nucleotide exchange factor for Rap1 by phosphorylation of tyrosine 504. *J Biol Chem* 1999; 274(20): 14376-81.
 - 17 Mitra A, Radha V. F-actin-binding domain of c-Abl regulates localized phosphorylation of C3G: Role of C3G in c-Abl-mediated cell death. *Oncogene* 2010; 29(32): 4528-42.
 - 18 Tanaka S, Ouchi T, Hanafusa H. Downstream of Crk adaptor signaling pathway: Activation of Jun kinase by v-Crk through the guanine nucleotide exchange protein C3G. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94(6): 2356-61.
 - 19 Okada S, Matsuda M, Anafi M, Pawson T, Pessin JE. Insulin regulates the dynamic balance between Ras and Rap1 signaling by coordinating the assembly states of the Grb2-SOS and CrkII-C3G complexes. *EMBO J* 1998; 17(9): 2554-65.
 - 20 Buensuceso CS, O'Toole TE. The association of CRKII with C3G can be regulated by integrins and defines a novel means to regulate the mitogen-activated protein kinases. *J Biol Chem* 2000; 275(17): 13118-25.
 - 21 Martin-Encabo S, Santos E, Guerrero C. C3G mediated suppression of malignant transformation involves activation of PP2A phosphatases at the subcortical actin cytoskeleton. *Exp Cell Res* 2007; 313(18): 3881-91.
 - 22 Bivona TG, Wiener HH, Ahearn IM, Silletti J, Chiu VK, Philips MR. Rap1 up-regulation and activation on plasma membrane regulates T cell adhesion. *J Cell Biol* 2004; 164(3): 461-70.
 - 23 Radha V, Rajanna A, Swarup G. Phosphorylated guanine nucleotide exchange factor C3G, induced by pervanadate and Src family kinases localizes to the Golgi and subcortical actin cytoskeleton. *BMC Cell Biol* 2004; 5: 31.
 - 24 Kao S, Jaiswal RK, Kolch W, Landreth GE. Identification of the mechanisms regulating the differential activation of the mapk cascade by epidermal growth factor and nerve growth factor in PC12 cells. *J Biol Chem* 2001; 276(21): 18169-77.
 - 25 Dayma K, Ramadhas A, Sasikumar K, Radha V. Reciprocal negative regulation between the guanine nucleotide exchange factor C3G and beta-catenin. *Genes Cancer* 2012; 3(9/10): 564-77.
 - 26 Radha V, Rajanna A, Mitra A, Rangaraj N, Swarup G. C3G is required for c-Abl-induced filopodia and its overexpression promotes filopodia formation. *Exp Cell Res* 2007; 313(11): 2476-92.
 - 27 Lubber B, Candidus S, Handschuh G, Mentele E, Hutzler P, Feller S, *et al.* Tumor-derived mutated E-cadherin influences beta-catenin localization and increases susceptibility to actin cytoskeletal changes induced by pervanadate. *Cell Adhes Commun* 2000; 7(5): 391-408.
 - 28 Di J, Huang H, Qu D, Tang J, Cao W, Lu Z, *et al.* Rap2B promotes proliferation, migration, and invasion of human breast cancer through calcium-related ERK1/2 signaling pathway. *Sci Rep* 2015; 5: 12363.
 - 29 Ando K, Fukuhara S, Moriya T, Obara Y, Nakahata N, Mochizuki N. Rap1 potentiates endothelial cell junctions by spatially controlling myosin II activity and actin organization. *J Cell Biol* 2013; 202(6): 901-16.
 - 30 Croise P, Estay-Ahumada C, Gasman S, Ory S. Rho GTPases, phosphoinositides, and actin: A tripartite framework for efficient vesicular trafficking. *Small GTPases* 2014; 5: e29469.
 - 31 Fujita A, Koinuma S, Yasuda S, Nagai H, Kamiguchi H, Wada N, *et al.* GTP hydrolysis of TC10 promotes neurite outgrowth through exocytic fusion of Rab11- and L1-containing vesicles

- by releasing exocyst component Exo70. *PLoS One* 2013; 8(11): e79689.
- 32 Takahashi H, Ishikawa T, Ishiguro M, Okazaki S, Mogushi K, Kobayashi H, *et al.* Prognostic significance of Traf2- and Nck-interacting kinase (TNIK) in colorectal cancer. *BMC Cancer* 2015; 15: 794.
- 33 Pannekoek WJ, Kooistra MR, Zwartkruis FJ, Bos JL. Cell-cell junction formation: the role of Rap1 and Rap1 guanine nucleotide exchange factors. *Biochim Biophys Acta* 2009; 1788(4): 790-6.
- 34 Rufanova VA, Lianos E, Alexanian A, Sorokina E, Sharma M, McGinty A, *et al.* C3G overexpression in glomerular epithelial cells during anti-GBM-induced glomerulonephritis. *Kidney Int* 2009; 75(1): 31-40.
- 35 Nievers MG, Birge RB, Greulich H, Verkleij AJ, Hanafusa H, van Bergen en Henegouwen PM. v-Crk-induced cell transformation: Changes in focal adhesion composition and signaling. *J Cell Sci* 1997; 110(Pt 3): 389-99.
- 36 Bourboulia D, Han H, Jensen-Taubman S, Gavil N, Isaac B, Wei B, *et al.* TIMP-2 modulates cancer cell transcriptional profile and enhances E-cadherin/beta-catenin complex expression in A549 lung cancer cells. *Oncotarget* 2013; 4(1): 163-73.
- 37 Braiman A, Isakov N. The Role of Crk Adaptor Proteins in T-Cell Adhesion and Migration. *Front Immunol* 2015; 6: 509.
- 38 Che YL, Luo SJ, Li G, Cheng M, Gao YM, Li XM, *et al.* The C3G/Rap1 pathway promotes secretion of MMP-2 and MMP-9 and is involved in serous ovarian cancer metastasis. *Cancer Lett* 2015; 359(2): 241-9.
- 39 Samuelsson J, Alonso S, Ruiz-Larroya T, Cheung TH, Wong YF, Perucho M. Frequent somatic demethylation of RAPGEF1/C3G intronic sequences in gastrointestinal and gynecological cancer. *Int J Oncol* 2011; 38(6): 1575-7.
- 40 Dayma K, Radha V. Cytoskeletal remodeling by C3G to induce neurite-like extensions and inhibit motility in highly invasive breast carcinoma cells. *Biochim Biophys Acta* 2011; 1813(3): 456-65.
- 41 Chuang HY, Rassenti L, Salcedo M, Licon K, Kohlmann A, Haferlach T, *et al.* Subnetwork-based analysis of chronic lymphocytic leukemia identifies pathways that associate with disease progression. *Blood* 2012; 120(13): 2639-49.
- 42 Wang L, Li G, Wang Z, Liu X, Zhao W. Elevated expression of C3G protein in the peri-infarct myocardium of rats. *Med Sci Monit Basic Res* 2013; 19: 1-5.
- 43 Hakim ZS, DiMichele LA, Rojas M, Meredith D, Mack CP, Taylor JM. FAK regulates cardiomyocyte survival following ischemia/reperfusion. *J Mol Cell Cardiol* 2009; 46(2): 241-8.
- 44 Zhang X, Li G, Zhang L, Yang D, Zhang Z, Yan A, *et al.* C3G overexpression promotes the survival of rat-derived H9C2 cardiomyocytes by p-ERK1/2. *Cell Biol Int* 2013; 37(10): 1106-13.
- 45 Ohba Y, Ikuta K, Ogura A, Matsuda J, Mochizuki N, Nagashima K, *et al.* Requirement for C3G-dependent Rap1 activation for cell adhesion and embryogenesis. *EMBO J* 2001; 20(13): 3333-41.