

N-WASP-IQGAP1复合体及其在调控细胞骨架协作中的作用

夏凡 董波 彭鸿哲*

(中国海洋大学海洋生命学院, 海洋生物遗传学与育种教育部重点实验室, 青岛 266003)

摘要 细胞骨架由肌动蛋白丝(微丝)、微管和中间丝构成, 是细胞的主要支持结构。细胞骨架在细胞迁移、形变、增殖、极性建立等多种细胞行为中发挥着至关重要的作用。其中, 微丝和微管系统的调控并非孤立, 而是通过多种途径协同作用的。近年来, 细胞骨架的协作机制逐渐成为骨架动态调控研究中的热点, 大量细胞骨架调节蛋白被发现参与骨架协作。N-WASP蛋白参与微丝成核和分枝产生。IQGAP1蛋白具有微丝和微管的交联能力, 具有同时调控微丝微管骨架系统动态的功能, 且N-WASP和IQGAP1可以形成复合体发挥功能。该文综述了N-WASP和IQGAP1在细胞骨架调控中的功能, 以及二者对细胞行为和组织器官形态发生的调控机制, 提出了N-WASP-IQGAP1复合体是一个潜在的细胞骨架协同调控单元, 而海鞘脊索细胞可作为探究该复合体调控骨架协作机制的理想模型。

关键词 N-WASP; IQGAP1; 细胞骨架; 微丝; 微管; 海鞘

N-WASP-IQGAP1 Complex and Its Function in Coordinating Cytoskeleton Crosstalk

XIA Fan, DONG Bo, PENG Hongzhe*

(MOE Key Laboratory of Marine Genetics and Breeding, College of Marine Life Sciences, Ocean University of China, Qingdao 266003, China)

Abstract Cytoskeleton, including F-actin (microfilament), microtubule and intermediate filament, is the main intracellular supporting structure. Cytoskeleton plays an essential role in driving various of cell behaviors, such as cell migration, cell shape changing, cell proliferation and polarity establishment. The crosstalk between actin cytoskeleton and microtubules was coordinated in multiple molecular mechanisms, which was considered as a key problem in cytoskeleton dynamic regulation research. In previous study, a large number of cytoskeleton-associated proteins was found regulating actin cytoskeleton and microtubules crosstalk. N-WASP protein is involved in the nucleation and branching of microfilaments. IQGAP1 protein plays as not only a cross linker between F-actin and microtubules, but also a regulator of cytoskeleton dynamics. Researches has proved the N-WASP and IQGAP1 functioning as a complex in some cell behavior regulation. This review, focused on the N-WASP-IQGAP1 complex, introduced its structure and molecular mechanisms in cytoskeleton regulation, summarized the function of N-WASP and IQGAP1 in driving different cell behavior and tissue morphogenesis, and proposed the N-WASP-IQGAP1 complex as a potential “key regulating unit” in coordinating cytoskeleton crosstalk. This reveiw also suggested the

收稿日期: 2025-02-17

接受日期: 2025-04-01

崂山实验室科技创新项目(批准号: LSKJ202203002)资助的课题

*通信作者。Tel: 15505422982, E-mail: penghongzhe@ouc.edu.cn

Received: February 17, 2025

Accepted: April 1, 2025

This work was supported by the Science & Technology Innovation Project of Laoshan Laboratory (Grant No.LSKJ202203002)

*Corresponding author. Tel: +86-15505422982, E-mail: penghongzhe@ouc.edu.cn

Ciona notochord cells as a powerful model for exploring the role of N-WASP-IQGAP1 complex in cytoskeleton crosstalk.

Keywords N-WASP; IQGAP1; cytoskeleton; microfilaments; microtubule; *Ciona*

细胞骨架由微丝、微管和中间丝构成,是细胞的主要支持结构,能够帮助细胞承受外力、维持细胞内部结构有序性,并参与细胞增殖、细胞迁移、细胞形变或极性建立等重要的生物学过程^[1]。

微丝和微管在细胞中都存在单体形式,即肌动蛋白和 α 、 β 微管蛋白,单体形式通过聚合形成骨架纤维发挥功能。微丝骨架系统和微管骨架系统均具有动态不稳定性,可在细胞中动态组装或重组,从而驱动或适应不同的细胞过程^[1]。微丝和微管的聚合和解聚受到骨架调节蛋白的调控。微丝的聚合主要受到小GTP酶,如Cdc42、Rac1和RhoA的调控,它们能够结合不同的效应蛋白,直接调控微丝的结构与功能^[2]。小GTP酶往往存在两种形式:GTP结合形式为活性形式,GDP结合形式为非活性形式,这两种形式的小GTP酶能够通过GTP酶激活蛋白(GTPase-activating protein, GAP)和鸟苷酸交换因子(guanine nucleotide exchange factor, GEF)实现互相转换,从而实现对接微丝网络复杂的调控^[3]。微管由 α 、 β 微管蛋白组成,GTP- β 微管蛋白是微管聚合的基础。GTP与 β -tubulin结合时,微管蛋白处于稳定状态。当 β -tubulin水解为GDP结合形式时,微管变得不稳定,容易发生解聚^[4]。微管也存在多种被小GTP酶调节的效应蛋白,例如CLIP170能够与微管正端结合从而稳定微管,同时它的稳定结合受Cdc42/Rac1调控^[5]。

微丝和微管系统的动态不是被孤立调控的,而是在细胞中相互协同的。根据上述内容,微丝和微管系统的动态同时受到小GTP酶调控,它们是微丝、微管协同调控的一个重要调节枢纽。除此之外,微丝和微管之间还可被连接蛋白或蛋白复合体进行物理交联。在这种连接方式中,起到连接作用的蛋白有时会锚定微管正端^[6],这种锚定能够将微管沿着微丝生长的方向进行定向^[7]。皮质肌动蛋白和微管互相锚定,这种锚定一方面能够促进物质向细胞边界的运输,另一方面也稳定了微管正端。另一种机制通过微丝和微管中的一方将另一方的调控蛋白定位至特定的位置。例如,在巨噬细胞中,微管正端结合蛋白CLIP170能够介导mDia1蛋白参与刺激肌动蛋白的组装^[8]。

近年来,微丝与微管相互协调,以及二者被协同调控的机制逐渐成为细胞生物学的热点,对该问题的解答有助于更加深入地理解多种细胞过程的驱动机制,并阐释细胞骨架系统及其调控网络如何作为一个整体在细胞行为驱动中扮演重要角色。

Wiskott-Aldrich综合征蛋白(Wiskott-Aldrich syndrome protein, WASP)和含有IQ基序的GTP酶活化蛋白1(IQ motif containing GTPase activating protein 1, IQGAP1)在哺乳动物中已被广泛研究^[9-10]。N-WASP蛋白是一个WASP家族的肌动蛋白成核促进剂,其在自抑制被解除时能够通过Arp2/3促进微丝分支,调控微丝网络的聚合^[10]。而IQGAP1被证明具有微丝和微管的直接、间接的结合或交联活性,通过直接对细胞骨架进行交联或者充当胞内信号转导支架蛋白的方式调节细胞骨架的动态^[11-13]。IQGAP1和N-WASP被证明是存在相互作用的,且IQGAP1能够解除N-WASP的自抑制作用,促进N-WASP发挥功能^[14-15]。本论文综述了近些年对IQGAP1和N-WASP的细胞骨架动态以及随之产生的生物学过程的调控作用的研究,提出了N-WASP-IQGAP1复合体是一个潜在的细胞骨架协同调控单元,参与微管系统和微丝系统的互作调控,并提出了海鞘脊索组织是研究该复合体调控细胞骨架协作模式的理想模型,以期为未来的细胞骨架互作研究提供参考。

1 N-WASP蛋白是重要的微丝成核促进因子

WASP家族蛋白是一类重要的微丝成核促进因子^[10]。微丝从头组装或分支产生过程,需要首先形成肌动蛋白二聚体、三聚体乃至四聚体的“核”^[16],因此成核促进因子的参与至关重要。1994年,WASP家族中的WASP作为Wiskott-Aldrich综合征(Wiskott-Aldrich syndrome, WAS)的突变基因被首次鉴定出来^[17]。随后,通过蛋白组学查找生长因子受体结合蛋白2(growth factor receptor-bound protein 2, Grb2)的Src3同源结构域(Src homology 3 domain, SH3)互作蛋白,鉴定出了WASP家族另一成员——神经WASP(neural Wiskott-Aldrich syndrome protein, N-

WASP)。N-WASP不仅仅在神经系统中表达,也在各种其他组织中广泛存在,但是由于该蛋白在大脑中表达最多,因而得名N-WASP^[18]。

N-WASP具有的主要结构域包括VCA结构域、Cdc42以及Rac交互结合结构域(以下简称CRIB或GBD结构域)、基础结构域(以下简称B结构域)、富含脯氨酸结构域(以下简称PRD结构域)以及WASP蛋白同源1结构域(以下简称WH1结构域)。在肌动蛋白成核促进这一功能上, N-WASP蛋白最重要的结构域是位于蛋白C-端的VCA结构域^[10]。该结构域由verprolin同源序列(以下简称V同源序列)、肌动蛋白丝切蛋白同源区(central sequences, C)以及酸性区域(acidic sequences, A)组成, 并因此得名。该结构域中, verprolin同源序列能够和肌动蛋白单体(G-肌动蛋白)结合, 肌动蛋白丝切蛋白同源区以及酸性区域(CA)能够结合Arp2/3, 进而协同产生成核促进活性^[19]。Arp2/3由Arp2、Arp3、ArpC1、ArpC2、ArpC3、ArpC4和ArpC5七个亚基组成, 是细胞中广泛存在的微丝成核剂^[20]。肌动蛋白三聚体的形成是肌动蛋白成核的主要限速步骤。Arp2/3复合物中含有肌动蛋白单体的相似物Arp2以及Arp3亚基^[20], 因而WASP蛋白家族蛋白能够通过VCA结构域聚集Arp2/3以及一个肌动蛋白单体形成三聚体结构, 为肌动蛋白成核提供了良好稳定的条件。相比于只含有一个V同源序列的WASP蛋白, N-WASP蛋白具有两个V同源序列, 这种结构被证明具有更强的肌动蛋白结合活性^[21]。

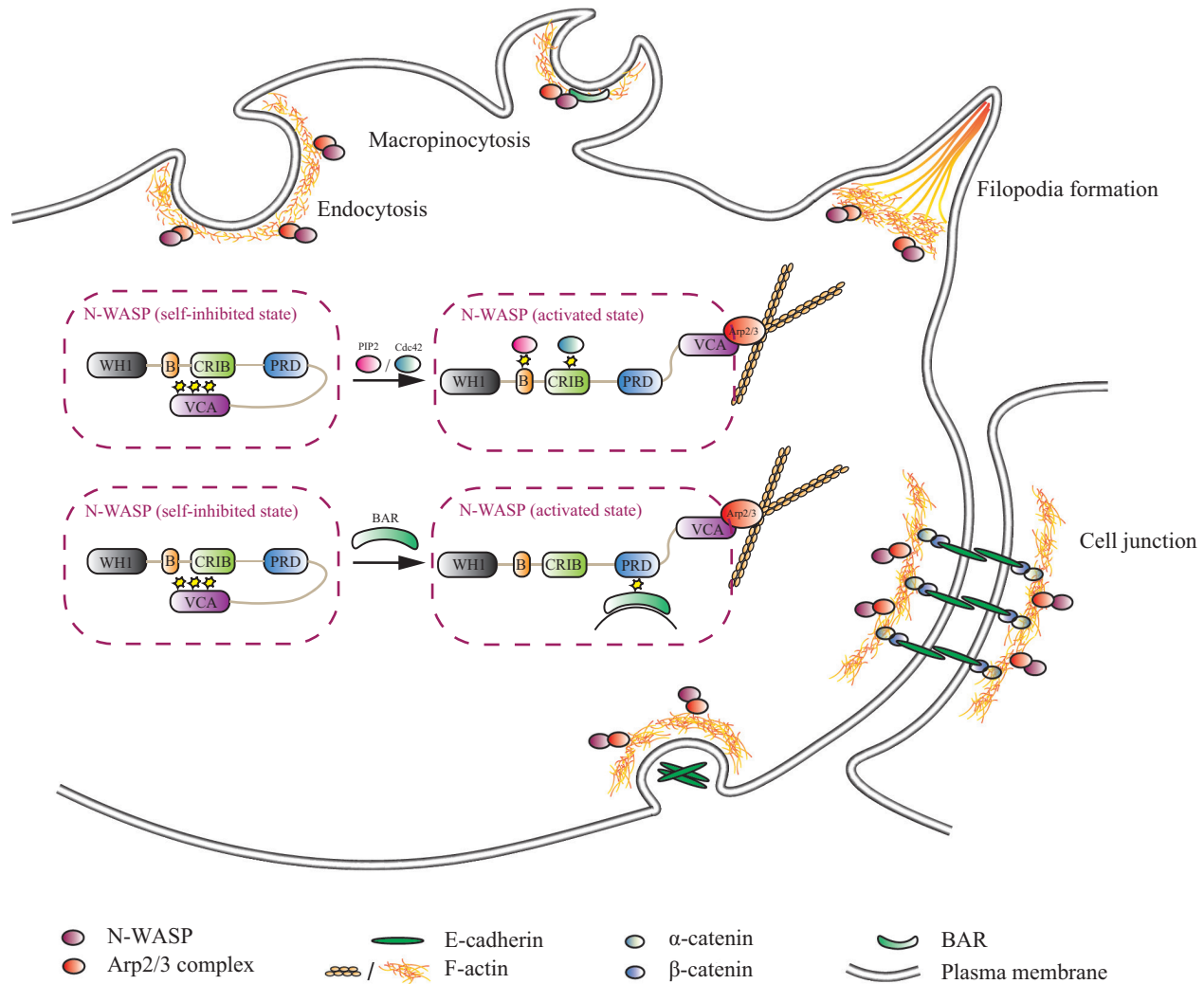
WASP家族中蛋白的肌动蛋白成核活性受到分子内自抑制调控^[21](图1)。对于N-WASP而言, 由于两个串联的V同源区段带来的更强大的肌动蛋白成核活性, 这种自抑制至关重要, 以防出现不必要的细胞形态发生过程或细胞运动过程。起初, 人们在COS7细胞中发现过表达N-WASP蛋白能够促进Cdc42依赖的刺状丝状足的形成^[22], 该证据让人们将N-WASP活性与Arp2/3活性、Cdc42蛋白活性联系起来。这充分暗示了体外分离的N-WASP活性受到分子内互作导致的自抑制调控, 而活性形式的小GTP酶能够解除这种抑制作用。人们随后发现GBD结构域能够与VCA结构域部分结合, 实现N-WASP分子的自抑制^[21](图1)。

多种机制参与解除N-WASP的自抑制, 从而激活其微丝成核活性。活性形式的小GTP酶与GBD结构域的结合和VCA结构域的结合互相排斥, 从而实

现VCA结构域的释放, 进而导致N-WASP自抑制状态的解除^[21], 从而显著提高肌动蛋白成核效率。除了小GTP酶结合的GBD结构域外, B结构域在调节N-WASP蛋白活性上也起到类似的重要作用。B结构域在一级结构位置上紧邻GBD结构域的N-端, 它对N-WASP活性影响的研究起于人们发现磷脂酰肌醇-4,5-二磷酸(以下简称PIP2)的加入能够增强N-WASP蛋白的成核活性。这暗示着存在另一个能与PIP2结合的结构域, 其具有与GBD结构域类似的分子功能^[23]。研究发现, 这个可与PIP2产生互作从而促进VCA结构域释放的结构域是B结构域。PIP2与小GTP酶对于N-WASP蛋白VCA活性的激活并不是独立发挥功能的, 相反, 它们以协同形式解除N-WASP蛋白的自抑制作用^[23]。N-WASP对自抑制的解除极其敏感。一项研究表明, 其与Arp2/3的结合在自抑制并未完全解除时就开始了^[24]。

能够解除或减少N-WASP蛋白自抑制作用的结构域并不只有B结构域、CRIB结构域。位于VCA结构域N末端的PRD能够与含有Src同源3(Src homology 3 domain, SH3)结构域的蛋白互作。例如接头蛋白非催化激酶1(non-catalytic region of tyrosine kinase adaptor protein 1, NCK1)、酪氨酸激酶衔接蛋白2非催化区域(non-catalytic region of tyrosine kinase adaptor protein 2, NCK2)、膜变形因子(F-BAR、N-BAR等)^[25-26](图1), 这些蛋白能够通过与PRD互作解除N-WASP蛋白的自抑制状态, 其中的一些蛋白, 如膜变形因子还能够引导N-WASP蛋白在特定曲率的膜位置定位并发挥功能^[27]。磷酸化对N-WASP蛋白发挥功能有不同的调节作用。N-WASP能够被Src家族激酶磷酸化, 当N-WASP的第253位酪氨酸(Y253)被磷酸化时, 能够呈现出不依赖Cdc42、PIP2的自抑制解除。但与此同时, 磷酸化的N-WASP蛋白易受到泛素依赖性蛋白酶体的降解^[28]。因此, 磷酸化对N-WASP蛋白同时具有正向和负向的调控作用。

许多蛋白参与N-WASP自抑制态的稳定, 从而降低N-WASP的成核促进活性。N-WASP蛋白N-端的WH1结构域主要参与非活性构象的稳定。例如, WH1结构域能够结合WASP相互作用蛋白(以下简称WIP)。WIP具有将N-WASP稳定在非活性构象的功能, 从而提高N-WASP的自抑制程度^[29]。GTP结合形式的Cdc42能够体外激活N-WASP蛋白, 但无法



WH1: WASP蛋白同源1结构域; B: 基础结构域; CRIB: Cdc42以及Rac交互结合结构域; PRD: 富含脯氨酸结构域; VCA: VCA结构域。N-WASP被小GTP酶(Cdc42、Rac1)、PIP2、BAR蛋白激活解除自抑制, 并与Arp2/3复合体结合促进微丝分支, 从而参与内吞作用、巨型胞饮作用、丝状伪足的发生与形成, 以及帮助稳定细胞连接。

WH1: WASP protein homology 1 domain; B: basic domain; CRIB: Cdc42 and Rac interaction binding domain; PRD: proline-rich domain; VCA: VCA domain. N-WASP is activated by small GTPases (Cdc42, Rac1), PIP2, and BAR proteins to release autoinhibition, and binds to the Arp2/3 complex to promote microfilament branching, thereby participating in endocytosis, giant pinocytosis, the occurrence and formation of filopodia, and helping to stabilize cell connections.

图1 N-WASP蛋白活性调控及其生物学功能

Fig.1 Regulation of N-WASP protein activity and its biological function

激活N-WASP/WIP复合体^[29]。WIP除了能够增强N-WASP蛋白的自抑制外, 还能够通过包裹在N-WASP蛋白WH1互作位点周围, 保护N-WASP免受蛋白酶的降解, WAS患者在WASP蛋白的WH1结构域的互作位置发生了高频突变, 这会导致WASP蛋白不受保护而被降解, 从而丧失正常WASP蛋白功能, 进而产生肌动蛋白骨架形态学缺陷^[30-31]。

2 N-WASP蛋白参与多种细胞过程调控

N-WASP蛋白以其特殊的微丝成核活性, 在细

胞伪足形成、细胞连接重组、内吞和巨型胞饮作用等多种细胞过程中发挥重要功能, 广泛参与细胞迁移、形变等行为调控。

2.1 N-WASP调控细胞伪足形成

在早期研究中, N-WASP被发现能够有效增加细胞丝状伪足的数量(图1)。丝状伪足是用于环境探索、传感和黏附的狭窄结构^[32]。过表达的N-WASP能够定位在丝状足基部的肌动蛋白网位置, 并显著增加细胞产生的丝状伪足^[22]。丝状伪足的形成依赖一种被称为“趋同伸长”的生物学模型。在这种模型中, N-

WASP与GFP结合的小GTP酶(如Cdc42)结合,产生肌动蛋白微丝的树状分枝,随后这些分枝中的一部分将会被其他肌动蛋白结合蛋白结合、捆绑成为微丝束,这样的微丝束能够为丝状伪足提供支撑^[22]。Arp2/3-N-WASP-Cdc42途径可能不是丝状足形成所必需的途径,因为在一些缺乏Cdc42、N-WASP、Arp2/3的细胞中,丝状足仍能正常形成^[33],但是这种依赖Cdc42和其他G蛋白的丝状伪足形成模型能减缓其他肌动蛋白成核促进因子(例如能够促进微丝伸长的Formin家族蛋白mDia1/2/3等)的自抑制作用^[34-35]。这说明丝状伪足的多种形成模型能够在不同条件下、不同细胞类型中协同发挥功能,从而调控细胞形态。另外,虽然不是板状伪足形成的主要功能分子,但是N-WASP能通过结合Arp2/3,帮助板足形成。它被证明能够挽救缺失WASP的巨噬细胞板状伪足产生的表型^[36-37],同时N-WASP的激活也会产生片状伪足样的膜褶皱^[38]。

2.2 N-WASP调控细胞连接形成

在细胞连接的正确破坏和重组调控中,N-WASP也起到了至关重要的作用(图1)。N-WASP可以在细胞黏附连接位置通过调节细胞骨架的重塑,动态调整细胞间的连接,维持细胞之间的稳定连接。黏附连接中,E-cadherin是主要的黏附分子^[39]。E-cadherin通过其胞内结构与 β -连环蛋白(β -catenin)和 α -连环蛋白(α -catenin)结合,后者又能够与胞内的肌动蛋白骨架结合,稳定黏附连接位置的机械结构^[39]。在这个结构里,N-WASP已被证明可以稳定新形成的肌动蛋白丝,并促进它们参与对E-cadherin依赖性的黏附连接,提高其附近环状肌动蛋白强度,从而提高黏附连接稳定性^[40]。另一种E-cadherin相关的机制与N-WASP能够介导黏附连接相关蛋白的内吞有关。研究发现上皮细胞系中N-WASP的化学抑制或敲降导致E-cadherin和肌动蛋白丝难以向新生黏附连接传递,也难以被正确内吞^[41],这体现出N-WASP在黏附连接蛋白递送中的重要作用。总的来说,缺失N-WASP的成纤维细胞表现出了明显的黏附连接功能失调,这证明了其在E-cadherin介导的黏附连接过程中具有重要作用^[42]。另外,在桥粒连接中,肌动蛋白网络与桥粒的连接蛋白(如desmoplakin)结合,形成一个强有力的机械支持结构。N-WASP通过与Cdc42等小G蛋白结合,激活Arp2/3复合体促进肌动蛋白的聚合,从而增强桥粒连接的稳定性,保证细胞迁移和形态变化中桥粒连接的机械强度^[42-43]。

最后,一个很有意思的观点是,N-WASP蛋白在细胞连接过程中不止作为一个能够促进肌动蛋白聚合的因子存在。更重要的是,N-WASP作为上游小GTP酶信号的效应蛋白,来自自小GTP酶(如Cdc42)的信号转换为对细胞骨架的直接调控^[44]。通过这种方式,N-WASP蛋白在细胞中成为了连接信号转导过程与细胞骨架组织的重要蛋白。

2.3 N-WASP调控细胞内吞

细胞膜的形态变化除了在细胞运动和探索环境中发挥关键作用外,还帮助细胞外物质内吞进入细胞。研究发现,N-WASP蛋白广泛分布在内吞作用发生位置的膜内侧^[38],这说明N-WASP蛋白对细胞内吞作用具有广泛而重要的功能。N-WASP对内吞作用的调控机制主要依次通过激活肌动蛋白聚合、调节膜的曲率的途径实现(图1)。

N-WASP通过与小GTP酶Cdc42相互作用,从而激活Arp2/3复合物促进细胞蛋白聚合,这是其在胞吞作用中最为关键的功能之一。F-肌动蛋白在预定位置的正确聚合,能够在该位置形成一个向内的机械张力,引导膜在该处向内弯曲,进而向内折叠形成内吞小泡^[45]。Arp2/3的作用则更进一步:经过N-WASP的激活,Arp2/3复合物能够在F-肌动蛋白上形成分枝,使肌动蛋白形成更加复杂的网状结构。这样的结构能够进一步推动膜弯曲,帮助内吞顺利完成^[46]。事实上,研究表明内吞作用中发挥功能的N-WASP除了被小GTP酶激活外,有的也会通过如Syn-dapins在多脯氨酸结构域激活,并通过聚合微丝促进内吞作用^[47]。

2.4 N-WASP调控巨型胞饮

在巨型胞饮(macropinocytosis)过程中,N-WASP定位在边缘内侧通过聚合肌动蛋白,帮助膜形成突出的伪足并向内包裹外部物质,从而形成内吞小泡^[48](图1)。一些N-WASP缺陷的小鼠胚胎成纤维细胞表现出异常的胞饮褶皱边形成,这个过程中细胞感知到周围的物质后,主动向外伸出一局部突出伪足,并反向形成内吞小泡,完成物质的摄入^[38]。上述过程中,N-WASP在控制膜弯曲时,离不开互作的BAR蛋白的帮助:BAR蛋白通过其弯曲的BAR结构域直接与膜结合,募集N-WASP上膜,帮助提高膜曲率和促进突起形成^[25]。BAR结构域的表面通常带有正电荷,可以与膜上的负电荷相互作用,促进膜的结合,从而调控膜表面曲率^[49]。内吞过程中,由

N-WASP蛋白形成局部的突起(伪足或膜褶皱),此时N-WASP通过促进肌动蛋白聚合,在膜内侧生成张力,推动膜的突起。而后,BAR蛋白通过其BAR结构域以及蛋白本身的弯曲形态直接促进膜的弯曲,使膜局部形成适合内吞的曲率^[49],最终这两个蛋白协作协调膜形态,产生正确形成的内吞小泡。

此外,N-WASP在内吞过程中起到了连接细胞骨架和膜表面的桥梁作用,协调肌动蛋白和膜的重塑。在Clathrin蛋白介导的膜内吞作用过程中,当Clathrin蛋白与Clathrin适配器蛋白(如AP-2)结合形成了稳定的笼状结构^[50],促进膜曲率的稳定后,N-WASP能够通过促进肌动蛋白在内部聚合帮助膜向内凹陷,在笼状结构解聚后,小泡脱离膜表面^[51]。

3 IQGAP1是微丝与微管系统协同调控的“枢纽”

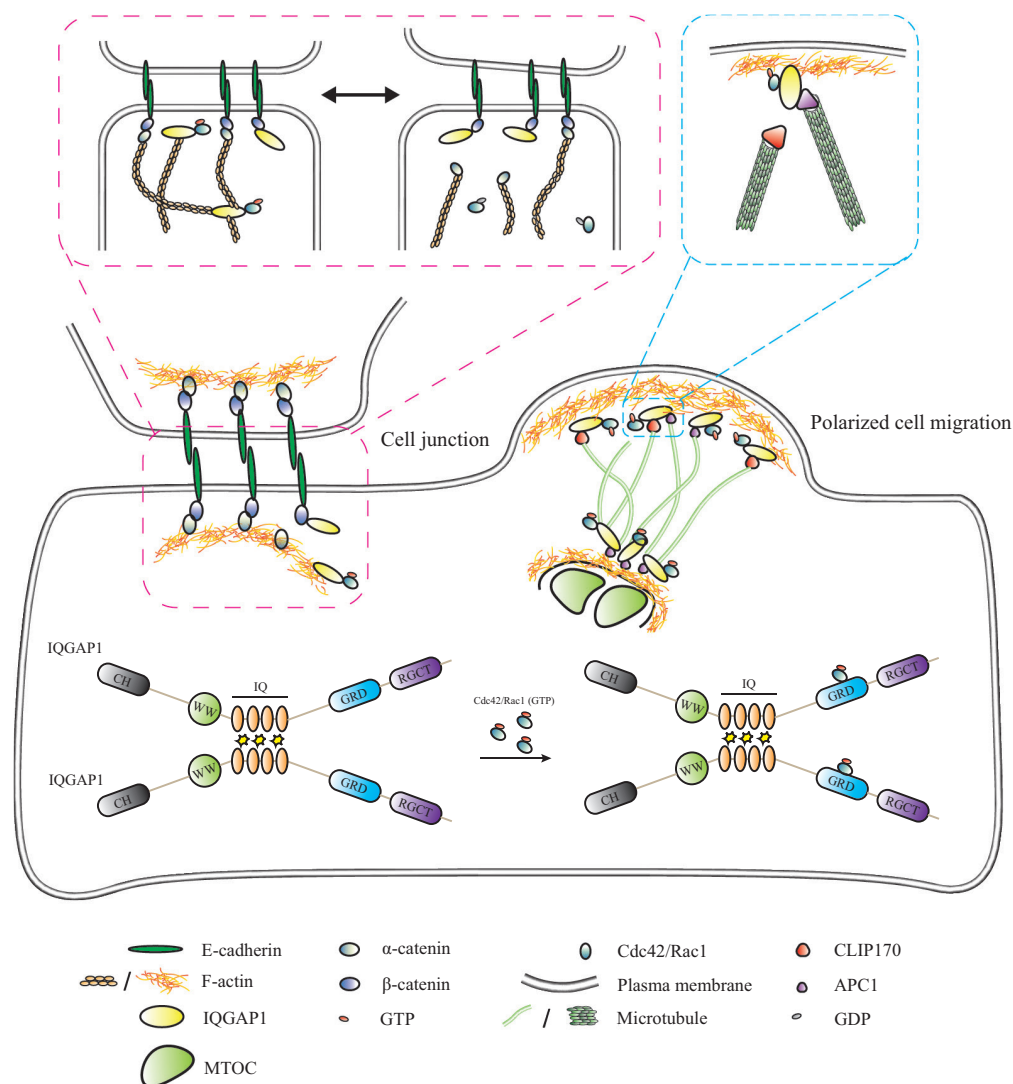
IQGAP蛋白家族是一个由三个成员(IQGAP1、IQGAP2和IQGAP3)组成的蛋白家族。IQGAP1在哺乳动物中是普遍表达的,IQGAP2只在肝脏和睾丸中表达,而IQGAP3主要分布于大脑和肺中^[52]。其中,IQGAP1蛋白在哺乳动物中被深入研究。IQGAP1蛋白的结构域在IQGAP家族中是高度保守的,主要结构域包含一个calponin同源结构域(calponin homology, CH)、WW结构域、包含多个IQ基序的IQ结构域(isomeric quality domain)、与Cdc42以及Rac交互结合结构域[Ras GTPase-activating protein(GAP)-related domain, GRD]以及RasGAP_C末端结构域(Ras GTPase-activating protein C-terminal domain, RGCT)^[9]。结构域层面的保守性可能使它们的功能产生冗余,事实也正是如此,IQGAP1或IQGAP2基因缺失的小鼠并不会产生显著的表型,在IQGAP2敲除的小鼠中,过表达IQGAP1能够补偿IQGAP2的缺失^[20]。

IQGAP家族的名字源于它们具有一个或多个IQ结构域。而“IQGAP”中“GAP”的命名则有两个原因:第一是来源于IQGAP家族中保守的RasGAP-C(RGCT)结构域,该结构域位于IQGAP的C-端,这个结构域与GAP家族中的RasGAP结构域同源^[9]。另一个原因是,在IQGAP1一开始被发现时,研究者发现它具有与小GTP酶(如Cdc42和Rac)相互作用的能力^[53],这使得它在某种程度上类似于经典的GAP(图2)。当时,研究者们认为这种IQGAP1与小GTP酶的相互作用类似于其他GAP蛋白对小GTP酶的调

控作用,因此将其命名为GAP。然而,后续研究发现IQGAP1并不具备GAP活性,而是一个GTP酶效应蛋白(effector),这可能是由于IQGAP1的RasGAP结构域缺乏发挥GAP活性重要的精氨酸指结构^[54]。IQGAP1通过直接调节Cdc42、Rac等小GTP酶的活性,而非催化它们的GTP水解来调控细胞骨架、细胞迁移等生物学过程^[55]。有趣的是,与GAP活性正好相反,IQGAP1与这些GTP酶的GTP结合形式相互作用,并促进它们维持在活跃的GTP结合状态^[56](图2)。例如,IQGAP1能和GTP结合形式的Rac和Cdc42结合并使它们稳定在激活态,从而帮助它们发挥肌动蛋白聚合功能,进而影响细胞迁移和细胞骨架重塑,许多需要被小GTP酶激活的蛋白(例如上文介绍的N-WASP)也由此与IQGAP1产生了极为密切的联系^[14]。

IQGAP通过其不同结构域与微丝、微管或其调控蛋白互作,成为协调微丝和微管系统之间的“枢纽”,进而直接调控一些复杂的生物学功能。IQGAP1能够直接与细胞骨架蛋白互作,而它与微丝主要互作的结构域是CH结构域^[11]。IQGAP1上的CH结构域也能够帮助IQGAP与微丝结合。更进一步地,IQGAP1能够通过IQ结构域发生自聚合,这也就赋予了IQGAP1交联微丝的功能,且这种功能能够被IQGAP结合的活性Cdc42或Rac1增强^[57]。这些效应共同调控了IQGAP1对微丝的直接结合、交联功能。最近的一项研究中发现,IQGAP的CH结构域及其C-端的另一肌动蛋白相关模块共同参与调控胞质分裂期间IQGAP的定位以及肌动球蛋白环的组装和拆卸^[58]。IQGAP与微管主要以间接方式结合,依赖的结构域是RGCT结构域,该结构域被证明可与微管正端结合蛋白CLIP170蛋白发生互作。有研究表明,在迁移的上皮细胞中,IQGAP1在细胞前缘积累并与CLIP170蛋白结合,从而将Cdc42等小GTP酶以及皮质肌动蛋白细胞骨架与微管细胞骨架联系起来^[12](图2)。

除了与细胞骨架结合外,IQGAP1能够通过和小GTP酶发生相互作用或作为一些重要信号通路的枢纽调控细胞骨架的组织形式。GRD结构域能够允许IQGAP1与Cdc42、Rac1蛋白相互作用,而这种相互作用正如上文所说,能够将这些小GTP酶稳定在与GTP结合的激活态^[13],因此,IQGAP1是这些小GTP酶良好的效应子,IQGAP1的结合能够调节小GTP酶的活性并影响它们的定位。另外,IQGAP1在一些重



CH: calponin同源结构域; WW: WW结构域; IQ: 包含多个IQ基序的IQ结构域; GRD: 与Cdc42以及Rac交互结合结构域; RGCT: RasGAP_C末端结构域。IQGAP能够通过IQ结构域发生自聚合, 并通过GRD结构域结合GTP结合形式小GTP酶从而发挥功能。IQGAP通过与β-连环蛋白结合的方式, 调控细胞连接的形成和稳定。GTP结合形式小GTP酶能够帮助稳定IQGAP1与APC1、CLIP170的相互作用, 并由此结合微管, 帮助细胞顺利发生极化迁移。

CH: calponin homologous domain; WW: WW domain; IQ: IQ domain containing multiple IQ motifs; GRD: domain that interacts with Cdc42 and Rac; RGCT: RasGAP_C-terminal domain. IQGAP can self-polymerize through the IQ domain and bind to the GTP-bound small GTPase through the GRD domain to exert its function. IQGAP regulates the formation and stability of cell junctions by binding to β-catenin to destroy cell junctions. The GTP-bound small GTPase stably bound by IQGAP1 can stabilize the binding of IQGAP1 to APC1 and CLIP170, thereby binding to microtubules and helping cells to undergo polarized migration smoothly.

图2 IQGAP1的结构、活性调控及细胞学功能

Fig.2 Structure, activity regulation and cellular function of IQGAP1

要信号通路中也能起到支架蛋白的作用, 包括参与受体酪氨酸激酶信号转导、促进EGFR和HER2的致瘤性信号转导^[59]、刺激VEGF、PDGF和FGF信号以增强细胞运动性^[60]。此外, 它还在PI3K/Akt信号通路、MAPK信号通路中发挥功能, 促进信号转导、细胞迁移及细胞增殖。在MAPK信号通路中, IQGAP1能够通过IQ基序结合MEK蛋白, 通过WW结构域结

合ERK蛋白, 从而成为该信号通路中重要的支架蛋白, IQGAP1蛋白介导ERK活化刺激细胞增殖、迁移和侵袭, 并促进肿瘤发生^[60]。类似地, 在PI3K/Akt信号通路中, IQGAP1作为该通路的支架蛋白, 通过IQ基序结合1型磷脂酰肌醇磷酸激酶(type I phosphatidylinositol phosphate kinase, PIPKI), 通过WW结构域结合I类磷脂酰肌醇3-激酶(class I phosphatidylinositol

3-kinase, PI3K), 催化磷脂酰肌醇(phosphatidylinositol kinase, PI)形成PIP3, 此外, IQGAP1还可结合PDK1和Akt促进Akt激活。IQGAP1对Akt活化的作用还在于, 它能够作为支架与哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin, mTOR)互作, 催化Akt的活化, 最终刺激细胞的迁移和增殖^[60]。

IQGAP1还可以与一些重要的细胞骨架调节蛋白(例如Dia1和N-WASP)结合。Dia1是Formin家族的一员, 具有维持肌动蛋白聚合的活性。Dia1的DID结构域与DAD结构域会发生结合导致自抑制^[61], 而Dia1与RhoA蛋白的结合能够解除这种自抑制, 实现Dia1的激活。在此基础上, IQGAP1能够与Dia1蛋白的DID结构域发生互作, 并将激活状态的Dia1蛋白聚集到特定的亚细胞位置, 促使Dia1正确发挥促进肌动蛋白丝延伸的功能^[62]。

4 IQGAP1通过影响细胞骨架调控细胞行为

4.1 IQGAP1通过影响细胞骨架调控细胞连接

IQGAP1在细胞-细胞交接处分布, 它能在这里调控E-cadherin介导的细胞连接^[63](图2)。E-cadherin是跨膜蛋白, 分为胞内区和胞外区。E-cadherin蛋白的胞外区主要由串联的cadherin结构域构成, 并且其活性受到钙离子的调控^[64]。而E-cadherin蛋白的胞内区不是独立存在的, 它需要与 α -连环蛋白(α -catenin)、 β -连环蛋白(β -catenin)构成E-cadherin- β -连环蛋白- α -连环蛋白复合体, 再由 α -连环蛋白连接皮质细胞骨架, 从而将E-cadherin固定在细胞连接位置上^[65]。IQGAP1有 β -连环蛋白结合活性, 并且IQGAP1与 β -连环蛋白的结合会减弱 β -连环蛋白与 α -连环蛋白的连接强度, 使 α -连环蛋白从E-cadherin- β -连环蛋白- α -连环蛋白复合物上解离下来^[63]。在EL细胞中过表达IQGAP1时, 发现EL细胞中 α -catenin与E-cadherin- β -连环蛋白复合物出现了分离^[63]。 α -连环蛋白与 β -连环蛋白的正确结合对细胞黏附连接强度至关重要。 α -catenin缺乏的小鼠畸胎瘤F9细胞呈现分散的表型, 而在此基础上过表达 α -catenin进行营救后, 细胞之间的细胞连接被正确恢复。因此, IQGAP1对细胞黏附连接存在负调控^[66-67]。

IQGAP1对黏附连接的负调控本身也被调控: 激活的Rac1和Cdc42与IQGAP1结合能够降低IQGAP1与 β -连环蛋白的结合能力, 从而对细胞连

接进行正调控, 换言之, IQGAP1蛋白、 α -连环蛋白与E-cadherin- β -连环蛋白复合物结合的比例, 动态调节着细胞连接的强度: 使用RNAi抑制细胞中IQGAP1、Rac1的功能, 发现MDCKII细胞中细胞接触位置的F-肌动蛋白、E-cadherin和 β -连环蛋白的积累减少了^[55-56]。另外, 在IQGAP1或Rac1被敲低的细胞中, 佛波醇-12-十四烷酰-13-乙酸酯(phorbol 12-myristate 13-acetate, TPA)诱导的细胞分离速度相比野生型明显加快^[56]。另一项研究表明, 相比于顺式结合的E-cadherin蛋白, 反式结合的E-cadherin蛋白不会被内吞入细胞中的一个重要原因就是IQGAP1-Rac/Cdc42复合物对细胞骨架的调控作用^[68]。这些证据说明, IQGAP1与Rac1蛋白对于细胞间黏附作用都是必要的。

GTP结合形式的Rac1蛋白会与IQGAP1结合, 同时这种形式的IQGAP1通过自组织等效效应, 能够对肌动蛋白丝产生束缚作用, 当GTP结合形式的Rac1蛋白减少时(如使用TPA或HGF等胞外信号处理细胞), IQGAP1对肌动蛋白丝的结合会变得松散, 而它在此时又减少了E-cadherin- β -连环蛋白复合物与 α -连环蛋白-肌动蛋白网络之间的联系, 增加了胞内的E-cadherin- β -连环蛋白-IQGAP1复合物: 使用HGF或TPA处理细胞, 可以观察到GTP结合的Rac1水平降低、Rac1与IQGAP1关联的比例降低, 同时观察到IQGAP1与 β -catenin复合物的比例增加^[66,69-70]。这相当于极大地切断了肌动蛋白细胞骨架网络 and E-cadherin介导的细胞连接之间的关系, 在这种情况下, IQGAP1对稳定细胞连接起负调节作用。

反过来, 当GTP结合形式的Rac1蛋白数量充足时, 由于IQGAP1本身具有抗GTP酶活性^[13], 它能够在细胞黏附连接位置稳定GTP结合形式Rac1蛋白的数量, 进一步抑制IQGAP1与 β -连环蛋白的结合。这增加了E-cadherin- β -连环蛋白- α -连环蛋白复合物水平, 稳定了该处的细胞连接^[69-70]。

4.2 IQGAP1通过调控骨架协同帮助细胞迁移

细胞定向迁移时, 伴随着诸多生物学过程的发生。细胞极化过程中伴随着细胞骨架的动态调节、信号分子的极性运输、细胞连接的重塑等。除此之外, 细胞迁移时还发生了微管组织中心(microtubule organizing center, MTOC)高尔基体重新定向。这些过程都与细胞骨架有关, 细胞迁移需要微管向迁移方向靠近并与皮质锚定, 进而运输关键蛋白、膜泡

到迁移位置,故细胞骨架的调控至关重要^[71]。除了微丝细胞骨架外,微管细胞骨架同样需要进行调控和重整^[72]。微管正端对细胞前缘皮质的感知和细胞极性的建立对正确发生细胞迁移非常重要。微管正端对细胞前缘的感知需要微管正端结合蛋白如 CLIP170 的帮助^[73],它们能够在细胞皮质帮助细胞捕获微管^[74-75],从而促进如膜运输、一些关键蛋白运输和内体循环等重要过程。

在细胞迁移极化的细胞中, IQGAP1 在迁移方向的前缘分布^[76]。这可能说明, IQGAP1 蛋白对细胞的定向迁移有重要功能(图2)。IQGAP1 对于微管的调控与微管结合蛋白的结合活性有关,也与小 GTP 酶活性有关。在体外, IQGAP1 蛋白能够通过 CLIP170 蛋白与微管结合^[77]。使用 RNAi 方法敲降 IQGAP1 蛋白后, GFP-CLIP-170 复合物在迁移细胞前缘减少了^[78],这说明 IQGAP1 通过与 CLIP170 蛋白的结合参与了细胞前缘的微管锚定。因此, IQGAP1 可以作为极化细胞前缘肌动蛋白网络和微管之间的连接物存在。这种作用并不是广泛的,因为 IQGAP1 与 CLIP170 蛋白稳定的结合需要 GTP 结合形式的 Cdc42/Rac1 蛋白的帮助。在细胞中过表达组成型活性的 IQGAP1 蛋白,发现细胞产生多个极化前缘^[12]。这说明 Rac1/Cdc42 是微管调控的上游信号,其通过结合 IQGAP 发挥作用, Cdc42/Rac1-IQGAP1 复合体而非 IQGAP1 是 CLIP170-微管正端结合的真正位点^[12]。

细胞迁移时, MTOC 和高尔基体的重新定向也非常重要。在这个过程里, Cdc42 的激活起到重要作用,它能够通过间接稳定 APC 蛋白来调节 MTOC 的重新定向^[78]。APC 是人类结肠中重要的肿瘤抑制因子,它能够定位在皮质区域微管聚集的位置^[79]并稳定该处的微管阵列,促使该处稳定的微管拉动 MTOC,实现 MTOC 的重新定位^[80-81]。IQGAP1 能够与 APC 产生互作,并在迁移细胞的前缘共定位。APC 能与 GTP 结合形式的 Rac1/Cdc42、IQGAP1 形成复合体共同调节细胞骨架^[75]:使用 RNAi 对 IQGAP1 或 APC 蛋白进行敲降后,发现 MTOC 和高尔基体的重定向受阻,同时皮质位置微管的定向被破坏、微丝网络也无法正常形成^[55]。这说明 IQGAP1 能够帮助 APC 正确定位在细胞迁移方向特定位置的皮质上。

综上所述, IQGAP1 在细胞迁移中通过与

CLIP170 互作锚定微管,将微管定位到正确的位置,并通过与 APC 蛋白互作稳定微管(图2)。同时 APC 在此处与腺瘤性息肉病蛋白刺激的鸟苷酸交换因子 1(ad-enomatous polyposis coli-stimulated guanine nucleotide exchange factor 1, Asef1)结合,激活其 Rac1 GEF 活性^[82],进而在该处形成稳定的肌动蛋白网络,防止微管向外过度延伸,从而形成细胞膜的异常突起。这个过程同时伴随着小 GTP 酶调控 IQGAP1 的活性,在该处协同调控建立了稳定的细胞骨架结构。

5 N-WASP-IQGAP1 复合体是一个潜在的细胞骨架协同调控单元

研究发现,在细胞板状伪足形成过程中, IQGAP1 和 N-WASP 存在互作,从而促进 N-WASP 介导的 Arp2/3 依赖性的肌动蛋白丝分支。目前二者互作位置并不明晰,有文章指出 IQGAP1 的 N-端位置有一区域能够直接与 N-WASP 蛋白产生结合,这种结合有趣的地方在于,全长 IQGAP1、2-71 号氨基酸小肽以及缺失 1-157 号氨基酸的 IQGAP1 缺失体均能与 N-WASP 发生互作。这可能暗示 IQGAP1 与 N-WASP 的互作不是依赖某一个结构域独立完成的^[15]。IQGAP1 与 N-WASP 的 CRIB 结构域的互作能够有效帮助 N-WASP 释放 VCA 结构域,从而实现 N-WASP 自抑制的解除^[14]。IQGAP1 与 N-WASP 都能够与小 GTP 酶(如 Cdc42)结合,而事实证明 Cdc42 的加入能够促进 IQGAP1 参与的 N-WASP 激活^[14]。值得注意的是,这样的促进作用可能依赖于 IQGAP1 与 Cdc42 的结合,而非 Cdc42 直接对 N-WASP 的激活^[14]。IQGAP1 与 N-WASP 的互作位点与 Cdc42 在 N-WASP 上的结合位点重叠,暗示 IQGAP 与稳定的 Cdc42 一同结合在 N-WASP 的 CRIB 位置,从而维持了 N-WASP 的激活状态,最终促进了板状伪足的形成^[15]。

一些研究指向 N-WASP 与 IQGAP1 作为一个复合体共同调控细胞骨架协同。IQGAP1 一方面具有稳定小 GTP 酶的 GTP 结合形式的功能^[13],一方面能够直接或间接结合和交联细胞骨架网络^[11-12,57],这使它具有帮助调控肌动蛋白细胞骨架和微管动态的潜力。而 N-WASP 作为 IQGAP1 在细胞中保守的相互作用蛋白,能够有效地被 IQGAP1 激活,从而促进肌动蛋白细胞骨架分支^[14-15]。这些特性赋予了 N-WASP/IQGAP1 复合体成为细胞骨架协同调控单元的潜力。在细胞连接中, IQGAP1 与 N-WASP 均在黏附连接位置存在定位,它们都与 E-cadherin 或 α/β -连环蛋白有关^[40,63]。此

外, 二者的敲降或敲除均会抑制正确的细胞连接的形成^[42,63]。更有趣的是, IQGAP1对黏附连接的影响非常依赖于细胞连接位置小GTP酶的活性状态, 而IQGAP1本身就具有通过GTP结合形式的小GTP酶激活N-WASP功能的能力, 这暗示在细胞连接发生过程中, IQGAP1和N-WASP作为复合体发挥功能^[55-56](图3A)。另外, 在内吞过程发生时, N-WASP和IQGAP1都发挥了关键功能。内吞作用同时需要肌动蛋白细胞骨架参与的膜内陷和微管细胞骨架参与的一些关键物质的运输, 如囊泡运输和一些内吞关键蛋白质的运输^[83]。N-WASP与IQGAP1均能够促进内吞作用的正常发生。N-WASP对内吞作用的功能我们在2.3中已经介绍, 当IQGAP1被沉默时, MIN6细胞的内吞作用被抑制, IQGAP1对微管的锚定功能在这个过程中可能起着重要作用^[84](图3A)。最后, 在一些生物学过程中, IQGAP1和N-WASP很有可能潜在地通过相互作用促进细胞骨架协同的发生。例如, 在细胞迁移过程中, IQGAP1能够通过锚定微管细胞骨架促进迁移前缘的定位从而促进细胞迁移, 而激活态的N-WASP也被证明能够促进细胞迁移^[85](图3A)。

细胞骨架在细胞中不是单独发挥功能的。相反, 微丝和微管之间存在大量的协同作用以及相互调控作用。

肌动蛋白和微管之间存在一些能够在物理上交联二者的分子。这样的物理连接是由一些具有微丝和微管结合能力的蛋白复合物介导的。在这种连接方式中, 起到连接作用的蛋白有时会锚定微管正端, 这种锚定能够将微管沿着微丝生长的方向进行定向^[7]。此外, 皮质肌动蛋白位置需要和微管互相锚定。这种锚定一方面能够促进物质向细胞边界的运输, 并为细胞形态维持提供一定的物理强度, 另一方面也稳定了微管正端, 抑制了微管向外继续伸长, 直到靶向质膜, 甚至影响了细胞形态, 这一点在4.2中被详细叙述。反过来, 微丝也可以通过影响细胞形态影响微管细胞骨架的动态。例如, 与细胞圆度相关的几何效应对于分裂细胞中微管纺锤体的形成和定位很重要^[86]。除了直接对微丝、微管进行交联外, 微丝-微管的协同还能够由一些共同的调控因子协调。例如, 在巨噬细胞中, 微管正端结合蛋白CLIP170能够介导mDia1蛋白参与刺激肌动蛋白的组装^[8]。另外, 微管和肌动蛋白丝都被一些小GTP酶调节。小GTP酶对肌动蛋白细胞骨架的调节上文

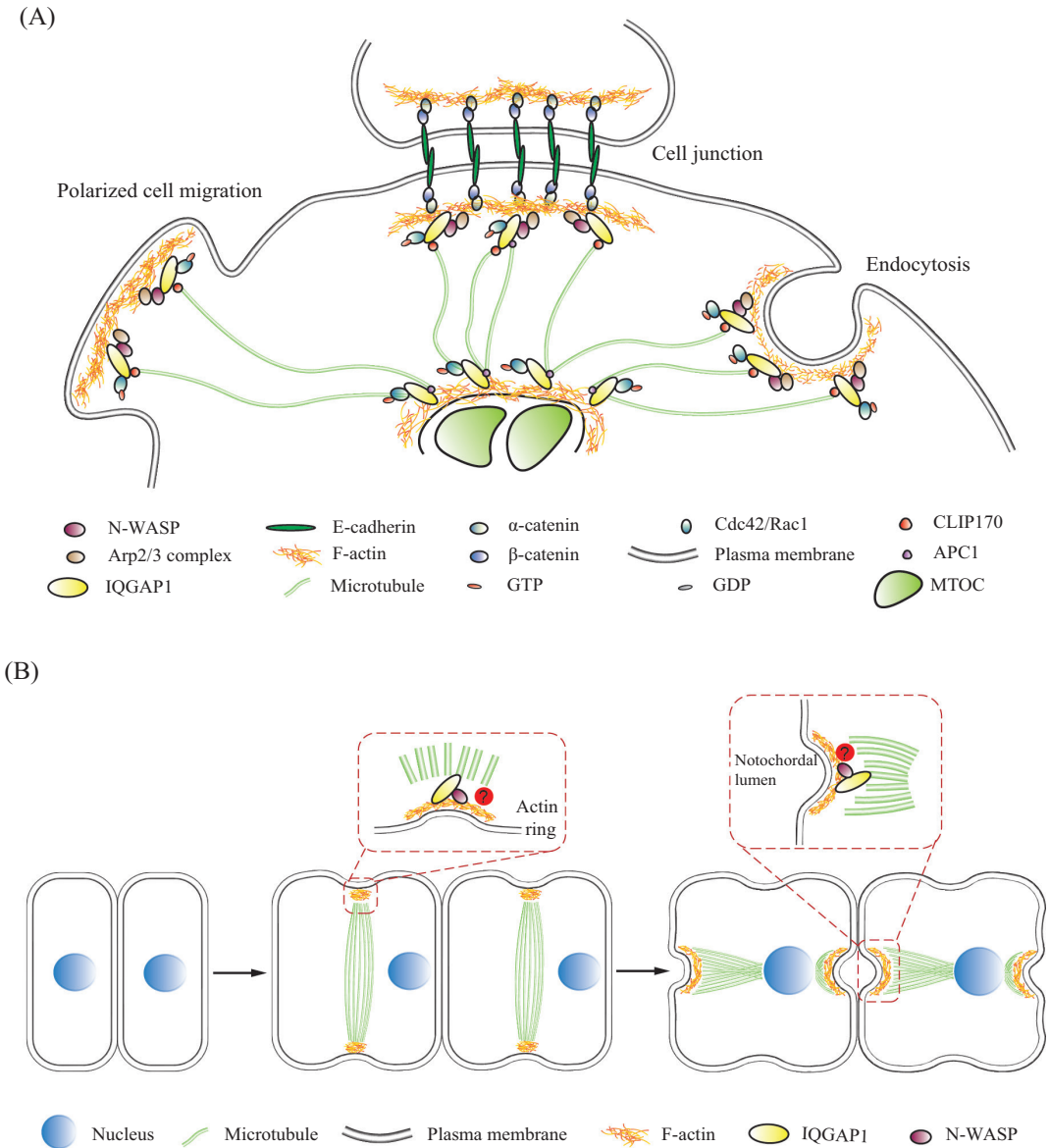
中我们已经有所提及。而小GTP酶主要通过影响微管末端动态调控微管, 并通过调节微管相关蛋白(microtubule-associated proteins, MAPs)来实现, 微管相关蛋白主要能够调控游离微管蛋白池, 从而实现调节微管网络动态的作用^[87]。总之, 小GTP酶家族的成员能够将微管与微丝的动态活性连接起来, 起到协同调控细胞骨架间动态的作用。

以往研究中, 也存在着一些微丝、微管协同蛋白以及复合体。例如Plectin能够直接交联微丝、微管以调节细胞刚度, 并使其产生收缩力, 生长停滞特异性蛋白2(growth arrest specific protein 2, GAS2)对微丝、微管的交联作用能够帮助细胞正确形成黏着斑^[88]。但是这些细胞骨架交联蛋白往往只具有对微丝微管在物理上交联的功能, 而N-WASP-IQGAP1复合体在对微丝、微管进行交联的同时具有调控其动态, 进一步调整细胞骨架网络的分布、机械强度的潜力, 因而具有较为广阔的研究前景。

在其他更多的生物学过程如极性建立、细胞分裂过程中, 肌动蛋白细胞骨架和微管细胞骨架也存在广泛的相互作用。以N-WASP-IQGAP1复合体作为切入点对细胞骨架之间的协调动态进行研究也许能够帮助我们更好地理解这些生物学过程发生的机制, 以及更深入地了解细胞骨架协作的意义。

6 N-WASP-IQGAP1复合体参与胚胎组织器官形态发生

N-WASP-IQGAP1复合体在胚胎组织器官的形态发生中发挥着重要功能。以神经系统发生为例, N-WASP蛋白在中枢神经系统树突棘和突触的发育中起着关键作用。在大鼠海马体神经元树突棘和突触形成过程中, 当抑制N-WASP中负责与Arp2/3结合的C-端VCA结构域时, 发现树突棘和突触的形成显著减少。类似地, Cdc42表达水平降低也会导致棘和突触形成缺陷^[89]。IQGAP1也对神经系统发生有重要作用, 在海马体神经元中, IQGAP1的减少会导致树突尖端数量减少, 但是并不影响树突长度^[90]。在大鼠海马体中, IQGAP1的CH结构域能够通过和N-WASP-Arp2/3复合物的相互作用, 促进树突棘头部形成, 而IQGAP1的GRD结构域对于突触延伸至关重要^[91]。这说明IQGAP1能够与N-WASP一同促进神经系统的发育。另外, IQGAP1与其互作蛋白Lis1(lissencephaly 1)在轴突和生长锥中共定位^[92]。Lis1是神经发生、神经元存



A: IQGAP1和N-WASP在细胞极化迁移、细胞连接、细胞内吞作用等多种生物学过程中可能作为潜在复合体发挥功能。细胞极化迁移过程中, IQGAP-N-WASP复合体可能连接微管, 定位于皮质区, 并帮助该处微丝分支, 形成更加稳定的微丝网络, 防止微管进一步延伸。细胞连接过程中, 稳定结合GTP形式小GTP酶的IQGAP可能通过微管与N-WASP共定位于皮质, 稳定细胞连接。内吞作用过程中, IQGAP也能够通过类似方法帮助N-WASP聚合微丝, 给细胞足够的机械力完成内吞作用。B: 海鞘脊索发生过程是研究N-WASP-IQGAP1复合体的理想模型。在脊索细胞延伸和脊索管腔形成过程中, 在微丝环位置和脊索细胞顶端膜位置均有微丝、微管协作, 且N-WASP-IQGAP1复合体存在于脊索细胞中。

A: IQGAP1 and N-WASP may function as potential complexes in a variety of biological processes such as cell polarization migration, cell connection, and cell endocytosis. During cell polarization migration, IQGAP may connect microtubules and N-WASP to co-localize in the cortex, and help the microfilaments branch there to form a more stable microfilament network to prevent further extension of microtubules. During cell connection, IQGAP, which stably binds to small GTP enzymes in the form of GTP, may co-localize with N-WASP in the cortex through microtubules to stabilize cell connection. During endocytosis, IQGAP can also help N-WASP polymerize microfilaments in a similar way, giving cells enough mechanical force to complete endocytosis. B: the process of notochordogenesis in the *Ciona* is an excellent model for studying the N-WASP-IQGAP1 complex. During the extension of notochord cells and the formation of the notochord lumen, microfilaments and microtubules cooperate at the microfilament ring position and at the apical membrane of notochord cells, and the N-WASP-IQGAP1 complex exists in notochord cells.

图3 N-WASP-IQGAP1复合体是一个潜在的细胞骨架协同调控单元

Fig.3 The N-WASP-IQGAP1 complex is a potential cytoskeletal co-regulatory unit

活和神经元迁移所必需的^[93], IQGAP1可与Lis1发生相互作用, 而IQGAP1的敲低会阻碍神经元运动过程^[92]。

N-WASP和IQGAP1在上皮组织的形态发生中

同样有重要作用。例如, N-WASP蛋白能够通过影响细胞连接来调节单层血管内皮的完整性。实验发现当N-WASP被消耗后, 跨内皮电阻增加, 这表明单

层内皮的完整性被破坏。这种破坏具体表现为细胞连接宽度增加,且细胞连接位置的F-肌动蛋白和E-cadherin的分布出现异常^[94]。IQGAP1对上皮细胞形态发生的功能也有研究报道。在盘基网柄菌中,IQGAP1及其互作蛋白cortexillin I在 α -连环蛋白和 β -连环蛋白的下游发挥作用,并将肌球蛋白II从基底外侧皮质中排除,促进肌球蛋白II的顶端积累,最终促进上皮形态发生^[95]。在上皮细胞形态发生中,N-WASP与IQGAP均有重要作用,但二者是否形成复合体共同发挥功能尚未见报道,值得进一步研究关注。

N-WASP和IQGAP1在早期胚胎发育过程中也发挥重要作用。在小鼠卵母细胞发育和成熟过程中,IQGAP1定位于细胞质和细胞皮质,而在减数分裂、有丝分裂过程中,IQGAP1定位于缢缩环位置。利用Toxin B抑制Cdc42的结合活性导致了IQGAP1定位的变化,并最终导致了皮质肌动蛋白消失^[96]。N-WASP缺失同样抑制小鼠卵母细胞第二次减数分裂的完成,从而导致卵细胞无法正常成熟^[97]。另外,在猪卵母细胞中,同样发现抑制N-WASP会影响卵母细胞成熟过程中肌动蛋白介导的胞质分裂,抑制第一极体的正常排出,并扰乱细胞周期^[98]。

在人类疾病中,IQGAP与N-WASP作为复合体也被报道。 β 1-整合素能够帮助人类前列腺和乳腺癌细胞在体外剪切应力条件下黏附于血管内皮,而NWASP和IQGAP1作用于Cdc42的下游,通过细胞外信号调节激酶(extracellular signal-regulated kinase, ERK)/黏着斑激酶信号以及心肌素相关转录因子/血清反应因子(myocardin-related transcription factor/serum response factor, MRTF/SRF)来增加 β 1整合素的表达水平,从而促进人类癌细胞的扩散和转移^[99]。

N-WASP与IQGAP1蛋白均是细胞骨架系统的重要调控分子,二者又可形成复合体作为细胞骨架的协同调控单元,广泛参与如细胞迁移、细胞分裂增殖、细胞连接建立、细胞极性建立等多种细胞行为的调控,这些细胞行为是组织器官形态发生的关键事件。因此,N-WASP-IQGAP1复合体是胚胎发育过程中的关键角色,逐渐获得研究关注。

7 总结及展望

细胞骨架,特别是微丝、微管细骨架系统的协同调控广泛存在于不同细胞中,通过产生并传递机械力驱动多种细胞行为,促进包括细胞连接的形成

和稳定、细胞极化和迁移、内吞作用和巨型胞饮作用等多种生物学过程(图3A),但是它们二者之间产生协同的具体分子机制仍不清楚,具体有以下几个亟待解决的问题。

首先,微丝和微管能够被一些多结构域蛋白或复合体直接交联,也可以间接通过调控骨架动态予以协调。细胞骨架系统的直接交联往往可以形成稳定的机械力传递结构,而细胞骨架动态的调控则控制机械力的产生。然而,直接交联与间接动态调控之间是如何平衡,从而共同服务于特定细胞行为驱动的尚未可知。N-WASP-IQGAP1具有结合并交联微丝、微管的能力,同时具有调控微丝细胞骨架分支和锚定稳定微管的功能,兼具直接交联和间接调控动态的功能,很可能是二者平衡的枢纽分子,值得进一步探究其发挥功能的具体机制。

其次,微丝和微管是如何利用相对保守的分子工具形成多样的骨架协作模式,以适应不同细胞行为的? N-WASP/IQGAP1复合体广泛参与细胞连接、细胞伪足形成等多种细胞过程,并在其中发挥了交联微丝和微管以及调控微丝分支等不同作用。作为一个多结构域的复杂蛋白复合体,N-WASP-IQGAP1复合体通过其丰富的结合不同骨架调控蛋白的能力,实现不同骨架协作模式。例如该复合体能够通过IQGAP1与CLIP170的结合,进而间接结合和稳定微管正端,调控微管动态。或者,该复合体能够通过Arp2/3促进微丝分支,调控微丝细胞骨架动态。因此,我们提出N-WASP-IQGAP1可能作为一个细胞骨架调控的基础元件,作为细胞切换骨架协作模式的“枢纽”。该蛋白复合体可以作为一个很好的入手点,用于探究细胞如何经由少数保守的核心骨架结合蛋白,“模块化”地调动不同骨架调控分子工具箱,从而帮助细胞迅速切换行为状态。

海鞘脊索管腔的形成过程是研究N-WASP-IQGAP1如何通过协调骨架系统,调控组织形态发生的理想模型。海鞘(*Ciona*)是脊索动物门被囊动物亚门海鞘纲物种的总称,其进化地位十分特殊,介于无脊椎动物和脊椎动物之间。海鞘的脊索发生过程复杂而独特。海鞘胚胎发育过程中,脊索经由复杂的细胞行为由一个细胞团发育为内皮包被的中空脊索管:首先海鞘脊索在神经胚形成的早期由20个细胞发生第一次分裂,最终形成排列成四排的40个脊索细胞。而后在神经胚中后期,脊索细胞向着前后轴

发生延伸,并在背腹轴变窄,脊索盘边缘细胞向胚胎中轴线内陷。接下来,40个脊索细胞相互间插,形成一系列单层细胞圆柱体。一系列单层细胞形成后,细胞中部开始形成微丝环,细胞向前后轴发生伸长,并在接下来的过程产生顶端-基底极性,其细胞连接位置的中部成为顶端膜。顶端膜之间的细胞连接断开,并伴随顶端膜向细胞内部凹陷,形成管腔。管腔膨胀到一定程度后,细胞开始向两侧迁移,最终形成一整条完整贯通的脊索管^[100](图3B)。

相比于脊椎动物,海鞘幼体至成体身体透明,便于进行显微摄影,为研究N-WASP-IQGAP1复合体创造了有利条件。另外,海鞘研究手段多样、研究平台成熟,能够进行电穿孔、显微注射转基因实验,同时具有大量可以驱动基因组织特异性表达的特异性启动子,可以支持基因的功能探究。此外,与脊椎动物中成熟的模式动物相比,海鞘遗传学技术并不成熟,较难找到稳定品系进行遗传学相关实验。

在海鞘脊索管腔发生过程中,存在多个微丝、微管协调互作的事件。例如,在脊索细胞延伸过程中,细胞中部会形成肌动球蛋白构成的缢缩环^[101-102],而缢缩环收缩可提供机械力驱动细胞延伸^[102]。几乎与此同时地,微管会在细胞中部位置呈现出平行排列^[101],这种结构可能调控细胞延伸速度。除此之外,在脊索管腔初始形成并膨胀过程中,肌动蛋白会在管腔附近聚集,同时微管同样在管腔附近聚集,由细胞核向顶端膜位置分布锚定,这种结构可能能够帮助细胞向顶端膜位置正确地运输物质,并为管腔正确膨胀产生机械力(图3B)^[101]。然而,细胞骨架的协同调控关键分子仍未被识别,调控机制亦不明晰。以往研究发现,玻璃海鞘(*Ciona robusta*)的IQGAP1和N-WASP均是脊索组织命运决定的关键转录因子Brachyury的下游蛋白,二者在海鞘脊索中均表达并在脊索发生过程中发挥功能^[103],是海鞘脊索中微丝与微管系统协调的潜在调控分子。海鞘脊索的正确发生离不开微丝、微管的相互锚定,同时也伴随着细胞骨架动态的调控,包括微丝、微管的聚合、解聚^[101]。这两种协同作用的同时发生与N-WASP-IQGAP1的功能相呼应,因此在海鞘中对N-WASP-IQGAP1复合体的时空表达、分子功能以及其上下游互作分子深入研究有助于我们深入了解海鞘脊索发生过程中细胞骨架的协同作用,并进一步地了解以下这些问题。这种作用由什么信号介导发生?由

什么信号维持细胞骨架的持续运动?细胞骨架协同产生的机械力如何被细胞精准控制?海鞘发生过程中涉及的多种细胞骨架协同过程是否由相似的过程调控?

总之,海鞘脊索管腔发生这一模型为细胞骨架互作研究提供了大量生物学场景,便于探究N-WASP-IQGAP1复合体对细胞骨架协作的调控以及对组织器官形态发生的作用,值得进一步关注。

参考文献 (References)

- [1] CONBOY J P, ISTÚRIZ PETITJEAN I, VAN DER NET A, et al. How cytoskeletal crosstalk makes cells move: bridging cell-free and cell studies [J]. *Biophys Rev*, 2024, 5(2): 021307.
- [2] TAPON N, HALL A. Rho, Rac and Cdc42 GTPases regulate the organization of the actin cytoskeleton [J]. *Curr Opin Cell Biol*, 1997, 9(1): 86-92.
- [3] BOS J L, REHMANN H, WITTINGHOFFER A. GEFs and GAPs: critical elements in the control of small G proteins [J]. *Cell*, 2007, 129(5): 865-77.
- [4] NOGALES E, WHITTAKER M, MILLIGAN R A, et al. High-resolution model of the microtubule [J]. *Cell*, 1999, 96(1): 79-88.
- [5] FOLKER E S, BAKER B M, GOODSON H V. Interactions between CLIP-170, tubulin, and microtubules: implications for the mechanism of Clip-170 plus-end tracking behavior [J]. *Mol Biol Cell*, 2005, 16(11): 5373-84.
- [6] SUOZZI K C, WU X, FUCHS E. Spectraplakins: master orchestrators of cytoskeletal dynamics [J]. *J Cell Biol*, 2012, 197(4): 465-75.
- [7] LÓPEZ M P, HUBER F, GRIGORIEV I, et al. Actin-microtubule coordination at growing microtubule ends [J]. *Nat Commun*, 2014, 5(1): 4778.
- [8] HENTY-RIDILLA J L, RANKOVA A, ESKIN J A, et al. Accelerated actin filament polymerization from microtubule plus ends [J]. *Science*, 2016, 352(6288): 1004-9.
- [9] HEDMAN A C, SMITH J M, SACKS D B. The biology of IQGAP proteins: beyond the cytoskeleton [J]. *EMBO Rep*, 2015, 16(4): 427-46.
- [10] CARLIER M F, DUCRUIX A, PANTALONI D. Signalling to actin: the Cdc42-N-WASP-Arp2/3 connection [J]. *Chem Biol*, 1999, 6(9): R235-40.
- [11] MATEER S C, MORRIS L E, CROMER D A, et al. Actin filament binding by a monomeric IQGAP1 fragment with a single calponin homology domain [J]. *Cell Motil Cytoskel*, 2004, 58(4): 231-41.
- [12] FUKATA M, WATANABE T, NORITAKE J, et al. Rac1 and Cdc42 capture microtubules through IQGAP1 and CLIP-170 [J]. *Cell*, 2002, 109(7): 873-85.
- [13] MATARAZA J M, BRIGGS M W, LI Z, et al. Identification and characterization of the Cdc42-binding site of IQGAP1 [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2003, 305(2): 315-21.
- [14] LE CLAINCHE C, SCHLAEPFER D, FERRARI A, et al. IQGAP1 stimulates actin assembly through the N-WASP-Arp2/3 pathway [J]. *J Biol Chem*, 2007, 282(1): 426-35.

- [15] BENSEÑOR L B, KAN H M, WANG N, et al. IQGAP1 regulates cell motility by linking growth factor signaling to actin assembly [J]. *J Cell Sci*, 2007, 120(4): 658-69.
- [16] CAMPELLONE K G, LEBEK N M, KING V L. Branching out in different directions: emerging cellular functions for the Arp2/3 complex and WASP-family actin nucleation factors [J]. *Eur J Cell Biol*, 2023, 102(2): 151301.
- [17] DERRY J M J, OCHS H D, FRANCKE U. Isolation of a novel gene mutated in Wiskott-Aldrich syndrome [J]. *Cell*, 1994, 78(4): 635-44.
- [18] MIKI H, MIURA K, TAKENAWA T. N-WASP, a novel actin-depolymerizing protein, regulates the cortical cytoskeletal rearrangement in a PIP2-dependent manner downstream of tyrosine kinases [J]. *EMBO J*, 1996, 15(19): 5326-35.
- [19] WEAVER A M, HEUSER J E, KARGINOV A V, et al. Interaction of cortactin and N-WASP with Arp2/3 complex [J]. *Curr Biol*, 2002, 12(15): 1270-8.
- [20] CAMPELLONE K G, WELCH M D. A nucleator arms race: cellular control of actin assembly [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2010, 11(4): 237-51.
- [21] PADRICK S B, ROSEN M K. Physical mechanisms of signal integration by WASP family proteins [J]. *Annu Rev Biochem*, 2010, 79(1): 707-35.
- [22] MIKI H, SASAKI T, TAKAI Y, et al. Induction of filopodium formation by a WASP-related actin-depolymerizing protein N-WASP [J]. *Nature*, 1998, 391(6662): 93-6.
- [23] ROHATGI R, HO H H, KIRSCHNER M W. Mechanism of N-WASP activation by CDC42 and phosphatidylinositol 4, 5-bisphosphate [J]. *J Cell Biol*, 2000, 150(6): 1299-310.
- [24] DEY S, ZHOU H X. N-WASP is competent for downstream signaling before full release from autoinhibition [J]. *J Chem Phys*, 2023, 158(9): 091105.
- [25] SIM P F, CHEK M F, NGUYEN N T H, et al. The SH3 binding site in front of the WH1 domain contributes to the membrane binding of the BAR domain protein endophilin A2 [J]. *J Biochem*, 2024, 175(1): 57-67.
- [26] TOMASEVIC N, JIA Z, RUSSELL A, et al. Differential regulation of WASP and N-WASP by Cdc42, Rac1, Nck, and PI(4,5)P2 [J]. *Biochem*, 2007, 46(11): 3494-502.
- [27] CHEN Y, AARDEMA J, COREY S J. Biochemical and functional significance of F-BAR domain proteins interaction with WASP/N-WASP [J]. *Semin Cell Dev Biol*, 2013, 24(4): 280-6.
- [28] DOVAS A, COX D. Regulation of WASP by phosphorylation: activation or other functions [J]? *Commun Integr Biol*, 2010, 3(2): 101-5.
- [29] MARTINEZ-QUILES N, ROHATGI R, ANTÓN I M, et al. WIP regulates N-WASP-mediated actin polymerization and filopodium formation [J]. *Nat Cell Biol*, 2001, 3(5): 484-91.
- [30] STEWART D M, TIAN L, NELSON D L. Mutations that cause the Wiskott-Aldrich syndrome impair the interaction of Wiskott-Aldrich syndrome protein (WASP) with WASP interacting protein [J]. *J Immunol*, 1999, 162(8): 5019-24.
- [31] REICHER B, JOSEPH N, DAVID A, et al. Ubiquitylation-dependent negative regulation of WASP is essential for actin cytoskeleton dynamics [J]. *Mol Cell Biol*, 2012, 32(15): 3153-63.
- [32] PRATIWI L, ELISA E, SUTANTO H. Probing the protrusions: lamellipodia and filopodia in cancer invasion and beyond [J]. *Mech Biol Med*, 2024, 2(2): 100064.
- [33] CZUCHRA A, WU X, MEYER H, et al. Cdc42 is not essential for filopodium formation, directed migration, cell polarization, and mitosis in fibroblastoid cells [J]. *Mol Biol Cell*, 2005, 16(10): 4473-84.
- [34] DIMCHEV V, LAHMANN I, KOESTLER S A, et al. Induced Arp2/3 complex depletion increases FMNL2/3 formin expression and filopodia formation [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2021, 9: 634708.
- [35] YANG J K. Death effector domain for the assembly of death-inducing signaling complex [J]. *Apoptosis*, 2015, 20: 235-9.
- [36] MACHESKY L M, INSALL R H. Scar1 and the related Wiskott-Aldrich syndrome protein, WASP, regulate the actin cytoskeleton through the Arp2/3 complex [J]. *Curr Biol*, 1998, 8(25): 1347-56.
- [37] ISAAC B M, ISHIHARA D, NUSBLAT L M, et al. N-WASP has the ability to compensate for the loss of WASP in macrophage podosome formation and chemotaxis [J]. *Exp Cell Res*, 2010, 316(20): 3406-16.
- [38] LEGG J A, BOMPARD G, DAWSON J, et al. N-WASP involvement in dorsal ruffle formation in mouse embryonic fibroblasts [J]. *Mol Biol Cell*, 2007, 18(2): 678-87.
- [39] ZHANG N, HÄRING M, WOLF F, et al. Dynamics and functions of E-cadherin complexes in epithelial cell and tissue morphogenesis [J]. *Mar Life Sci Technol*, 2023, 5(4): 585-601.
- [40] KOVACS E M, VERMA S, ALI R G, et al. N-WASP regulates the epithelial junctional actin cytoskeleton through a non-canonical post-nucleation pathway [J]. *Nat Cell Biol*, 2011, 13(8): 934-43.
- [41] OTANI T, ICHII T, AONO S, et al. Cdc42 GEF Tuba regulates the junctional configuration of simple epithelial cells [J]. *J Cell Biol*, 2006, 175(1): 135-46.
- [42] MISRA A, LIM R P Z, WU Z, et al. N-WASP plays a critical role in fibroblast adhesion and spreading [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2007, 364(4): 908-12.
- [43] RAMESH N, MASSAAD M J, KUMAR L, et al. Binding of the WASP/N-WASP-interacting protein WIP to actin regulates focal adhesion assembly and adhesion [J]. *Mol Cell Biol*, 2014, 34(14): 2600-10.
- [44] ROHATGI R, MA L, MIKI H, et al. The interaction between N-WASP and the Arp2/3 complex links Cdc42-dependent signals to actin assembly [J]. *Cell*, 1999, 97(2): 221-31.
- [45] MOOREN O L, GALLETTA B J, COOPER J A. Roles for actin assembly in endocytosis [J]. *Annu Rev Biochem*, 2012, 81(1): 661-86.
- [46] TAUNTON J, ROWNING B A, COUGHLIN M L, et al. Actin-dependent propulsion of endosomes and lysosomes by recruitment of N-Wasp [J]. *J Cell Biol*, 2000, 148(3): 519-30.
- [47] KESSELS M M, QUALMANN B. Syndapins integrate N-WASP in receptor-mediated endocytosis [J]. *EMBO J*, 2002, 21: 6083-94.
- [48] KAY R R. Macropinocytosis: biology and mechanisms [J]. *Cells Dev*, 2021, 168: 203713.
- [49] GALLOP J L, JAO C C, KENT H M, et al. Mechanism of endophilin N-BAR domain-mediated membrane curvature [J]. *EMBO J*, 2006, 25(12): 2898-910.
- [50] KAKSONEN M, TORET C P, DRUBIN D G. A modular design for the clathrin-and actin-mediated endocytosis machinery [J].

- Cell, 2005, 123(2): 305-20.
- [51] MERRIFIELD C J, QUALMANN B, KESSELS M M, et al. Neural Wiskott Aldrich syndrome protein (N-WASP) and the Arp2/3 complex are recruited to sites of clathrin-mediated endocytosis in cultured fibroblasts [J]. *Eur J Cell Biol*, 2004, 83(1): 13-8.
 - [52] WHITE C D, BROWN M D, SACKS D B. IQGAPs in cancer: a family of scaffold proteins underlying tumorigenesis [J]. *FEBS Lett*, 2009, 583(12): 1817-24.
 - [53] KURODA S, FUKATA M, KOBAYASHI K, et al. Identification of IQGAP as a putative target for the small GTPases, Cdc42 and Rac1 [J]. *J Biol Chem*, 1996, 271(38): 23363-7.
 - [54] KURELLA V B, RICHARD J M, PARKE C L, et al. Crystal structure of the GTPase-activating protein-related domain from IQGAP1 [J]. *J Biol Chem*, 2009, 284(22): 14857-65.
 - [55] NORITAKE J, WATANABE T, SATO K, et al. IQGAP1: a key regulator of adhesion and migration [J]. *J Cell Sci*, 2005, 118(10): 2085-92.
 - [56] NORITAKE J, FUKATA M, SATO K, et al. Positive role of IQGAP1, an effector of Rac1, in actin-meshwork formation at sites of cell-cell contact [J]. *Mol Biol Cell*, 2004, 15(3): 1065-76.
 - [57] REN J G, LI Z, CRIMMINS D L, et al. Self-association of IQGAP1: characterization and functional sequelae [J]. *J Biol Chem*, 2005, 280(41): 34548-57.
 - [58] WANG K, OKADA H, WLOKA C, et al. Unraveling the mechanisms and evolution of a two-domain module in IQGAP proteins for controlling eukaryotic cytokinesis [J]. *Cell Rep*, 2023, 42(12): 113510.
 - [59] YERRAMILI V S, LIN G, REISINGER J L, et al. The scaffolding protein IQGAP1 enhances EGFR signaling by promoting oligomerization and preventing degradation [J]. *J Biol Chem*, 2024, 300(11): 107844.
 - [60] THINES L, ROUSHAR F J, HEDMAN A C, et al. The IQGAP scaffolds: critical nodes bridging receptor activation to cellular signaling [J]. *J Cell Biol*, 2023, 222(6): e202205062.
 - [61] GOODE B L, ECK M J. Mechanism and function of formins in the control of actin assembly [J]. *Annu Rev Biochem*, 2007, 76(1): 593-627.
 - [62] PIMM M L, HAARER B K, NOBLES A D, et al. Coordination of actin plus-end dynamics by IQGAP1, formin, and capping protein [J]. *J Cell Biol*, 2024, 223(9): e202305065.
 - [63] KURODA S, FUKATA M, NAKAGAWA M, et al. Role of IQGAP1, a target of the small GTPases Cdc42 and Rac1, in regulation of E-cadherin-mediated cell-cell adhesion [J]. *Science*, 1998, 281(5378): 832-5.
 - [64] ADAMS C L, NELSON W J. Cytomechanics of cadherin-mediated cell-cell adhesion [J]. *Curr Opin Cell Biol*, 1998, 10(5): 572-7.
 - [65] STEINBERG M S, MCNUTT P M. Cadherins and their connections: adhesion junctions have broader functions [J]. *Curr Opin Cell Biol*, 1999, 11(5): 554-60.
 - [66] FUKATA M, NAKAGAWA M, ITOH N, et al. Involvement of IQGAP1, an effector of Rac1 and Cdc42 GTPases, in cell-cell dissociation during cell scattering [J]. *Mol Cell Biol*, 2001, 21(6): 2165-83.
 - [67] LI S, WANG Q, CHAKLADAR A, et al. Gastric hyperplasia in mice lacking the putative Cdc42 effector IQGAP1 [J]. *Mol Cell Biol*, 2000, 20(2): 697-701.
 - [68] IZUMI G, SAKISAKA T, BABA T, et al. Endocytosis of E-cadherin regulated by Rac and Cdc42 small G proteins through IQGAP1 and actin filaments [J]. *J Cell Biol*, 2004, 166(2): 237-48.
 - [69] LI Z, KIM S H, HIGGINS J M G, et al. IQGAP1 and calmodulin modulate E-cadherin function [J]. *J Biol Chem*, 1999, 274(53): 37885-92.
 - [70] NAKAGAWA M, FUKATA M, YAMAGA M, et al. Recruitment and activation of Rac1 by the formation of E-cadherin-mediated cell-cell adhesion sites [J]. *J Cell Sci*, 2001, 114(10): 1829-38.
 - [71] GUNDERSEN G G. Evolutionary conservation of microtubule-capture mechanisms [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2002, 3(4): 296-304.
 - [72] GOODE B L, DRUBIN D G, BARNES G. Functional cooperation between the microtubule and actin cytoskeletons [J]. *Curr Opin Cell Biol*, 2000, 12(1): 63-71.
 - [73] PEREZ F, DIAMANTOPOULOS G S, STALDER R, et al. CLIP-170 highlights growing microtubule ends *in vivo* [J]. *Cell*, 1999, 96(4): 517-27.
 - [74] SCHUYLER S C, PELLMAN D. Microtubule "plus-end-tracking proteins": the end is just the beginning [J]. *Cell*, 2001, 105(4): 421-4.
 - [75] SCHUYLER S C, PELLMAN D. Search, capture and signal: games microtubules and centrosomes play [J]. *J Cell Sci*, 2001, 114(2): 247-55.
 - [76] MATARAZA J M, BRIGGS M W, LI Z, et al. IQGAP1 promotes cell motility and invasion [J]. *J Biol Chem*, 2003, 278(42): 41237-45.
 - [77] GUNDERSEN G G. Microtubule capture: IQGAP and CLIP-170 expand the repertoire [J]. *Curr Biol*, 2002, 12(19): R645-7.
 - [78] WATANABE T, WANG S, NORITAKE J, et al. Interaction with IQGAP1 links APC to Rac1, Cdc42, and actin filaments during cell polarization and migration [J]. *Dev Cell*, 2004, 7(6): 871-83.
 - [79] BARTH A I M, SIEMERS K A, NELSON W J. Dissecting interactions between EB1, microtubules and APC in cortical clusters at the plasma membrane [J]. *J Cell Sci*, 2002, 115(8): 1583-90.
 - [80] MIMORI-KIYOSUE Y, SHIINA N, TSUKITA S. Adenomatous polyposis coli (APC) protein moves along microtubules and concentrates at their growing ends in epithelial cells [J]. *J Cell Biol*, 2000, 148(3): 505-18.
 - [81] PALAZZO A F, JOSEPH H L, CHEN Y J, et al. Cdc42, dynein, and dynactin regulate MTOC reorientation independent of Rho-regulated microtubule stabilization [J]. *Curr Biol*, 2001, 11(19): 1536-41.
 - [82] KAWASAKI Y, SENDA T, ISHIDATE T, et al. Asef, a link between the tumor suppressor APC and G-protein signaling [J]. *Science*, 2000, 289(5482): 1194-7.
 - [83] APODACA G. Endocytic traffic in polarized epithelial cells: role of the actin and microtubule cytoskeleton [J]. *Traffic*, 2001, 2(3): 149-59.
 - [84] KIMURA T, YAMAOKA M, TANIGUCHI S, et al. Activated Cdc42-bound IQGAP1 determines the cellular endocytic site [J]. *Mol Cell Biol*, 2013, 33(24): 4834-43.
 - [85] KOWALSKI J R, EGILE C, GIL S, et al. Cortactin regulates cell migration through activation of N-WASP [J]. *J Cell Sci*, 2005, 118(1): 79-87.

- [86] CHANET S, SHARAN R, KHAN Z, et al. Myosin 2-induced mitotic rounding enables columnar epithelial cells to interpret cortical spindle positioning cues [J]. *Curr Biol*, 2017, 27(21): 3350-8, e3.
- [87] GOODSON H V, JONASSON E M. Microtubules and microtubule-associated proteins [J]. *Cold Spring Harbor Perspect Biol*, 2018, 10(6): a022608.
- [88] DOGTEROM M, KOENDERINK G H. Actin-microtubule crosstalk in cell biology [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2019, 20(1): 38-54.
- [89] WEGNER A M, NEBHAN C A, HU L, et al. N-WASP and the arp2/3 complex are critical regulators of actin in the development of dendritic spines and synapses [J]. *J Biol Chem*, 2008, 283(23): 15912-20.
- [90] SWIECH L, BLAZEJCZYK M, URBANSKA M, et al. CLIP-170 and IQGAP1 cooperatively regulate dendrite morphology [J]. *J Neurosci*, 2011, 31(12): 4555-68.
- [91] JAUSORO I, MESTRES I, QUASSOLLO G, et al. Regulation of spine density and morphology by IQGAP1 protein domains [J]. *PLoS One*, 2013, 8(2): e56574.
- [92] KHOLMANSEKH S S, KOELLER H B, WYNshaw-BORIS A, et al. Calcium-dependent interaction of Lis1 with IQGAP1 and Cdc42 promotes neuronal motility [J]. *Nat Neurosci*, 2006, 9(1): 50-7.
- [93] WYNshaw-BORIS A, PRAMPARO T, YOUN Y H, et al. Lissencephaly: mechanistic insights from animal models and potential therapeutic strategies [J]. *Semin Cell Dev Biol*, 2010, 21(8): 823-30.
- [94] MOOREN O L, KIM J, LI J, et al. Role of N-WASP in endothelial monolayer formation and integrity [J]. *J Biol Chem*, 2015, 290(30): 18796-805.
- [95] DICKINSON D J, ROBINSON D N, NELSON W J, et al. α -catenin and IQGAP regulate myosin localization to control epithelial tube morphogenesis in *Dictyostelium* [J]. *Dev Cell*, 2012, 23(3): 533-46.
- [96] BIELAK-ZMIJEWSKA A, KOLANO A, SZCZEPANSKA K, et al. Cdc42 protein acts upstream of IQGAP1 and regulates cytokinesis in mouse oocytes and embryos [J]. *Dev Biol*, 2008, 322(1): 21-32.
- [97] WANG Z B, MA X S, HU M W, et al. Oocyte-specific deletion of N-WASP does not affect oocyte polarity, but causes failure of meiosis II completion [J]. *Mol Hum Reprod*, 2016, 22(9): 613-21.
- [98] WANG Q C, WAN X, JIA R X, et al. Inhibition of N-WASP affects actin-mediated cytokinesis during porcine oocyte maturation [J]. *Theriogenology*, 2020, 144: 132-8.
- [99] CERUTTI C, LUCOTTI S, MENENDEZ S T, et al. IQGAP1 and NWASP promote human cancer cell dissemination and metastasis by regulating β 1-integrin via FAK and MRTF/SRF [J]. *Cell Rep*, 2024, 43(4): 113989.
- [100] 董波. 海洋模式动物海鞘及其脊索发育与调控[J]. 科学通报 (DONG B. Cellular process and gene regulatory network of notochord development in a marine model animal: *Ciona intestinalis* (in Chinese) [J]. *Chin Sci Bull*), 2015, 60: 1167-79.
- [101] DONG B, DENG W, JIANG D. Distinct cytoskeleton populations extensive crosstalk control *Ciona* notochord tubulogenesis [J]. *Development*, 2011, 138: 1631-41.
- [102] SEHRING I M, DONG B, DENKER E, et al. An equatorial contractile mechanism drives cell elongation but not cell division [J]. *PLoS Biol*, 2014, 12(2): e1001781.
- [103] HOTTA K, TAKAHASHI H, SATOH N, et al. Brachyury-downstream gene sets in a chordate, *Ciona intestinalis*: integrating notochord specification, morphogenesis and chordate evolution [J]. *Evol Dev*, 2008, 10(1): 37-51.