



新型细胞骨架分隔丝的结构和功能研究进展

刘雨楠, 欧光朔*

清华大学生命科学学院, 北京 100084

* 联系人, E-mail: guangshuo.ou@gmail.com

收稿日期: 2014-08-27; 接受日期: 2014-09-12

国家重大科学研究计划(批准号: 2011CB964804)资助项目

doi: 10.1360/052014-136

摘要 细胞骨架是细胞内的蛋白纤维网状结构, 包括人们熟知的微管、微丝和中间纤维. 目前研究表明分隔丝(septin filaments)是一类在真核生物中广泛分布的蛋白纤维, 逐渐被认为是一种新型细胞骨架结构. 分隔丝由可结合 GTP 的分隔丝蛋白单体(Septin)聚合形成异源复合体, 进一步组装成纤维丝. 分隔丝可形成纤维束, 环状或笼状等结构, 并与细胞膜或其他细胞骨架成分发生相互作用. 在细胞内, 分隔丝参与胞质分裂、细胞迁移、神经元发育和免疫等重要生理及病理过程. 分隔丝结构或功能的异常与多种人类疾病如肿瘤等密切相关. 本文将从分隔丝的结构、组装调控、功能及与人类疾病的关系等方面综述近年的研究进展.

关键词

分隔丝
细胞骨架
GTP 结合蛋白
纤维组装
人类疾病

1 分隔丝蛋白的发现

1971 年, Lee Hartwell^[1]在筛选控制芽殖酵母 *Saccharomyces cerevisiae* 细胞周期缺陷的温度敏感突变体时, 发现了 *cdc3*, *cdc10*, *cdc11* 和 *cdc12* 基因的突变导致胞质分裂失败, 从而形成多核细胞. 通过电子显微镜观察发现这些基因的蛋白产物能在细胞膜内表面聚合成直径约 10 nm 高度有序的纤维状结构, 然后聚集在酵母的芽颈部位形成环状结构, 将子细胞与母细胞分隔开^[2-5]. 因此, 这种蛋白被 John Pringle 命名为 Septin.

迄今为止, 分隔丝蛋白基因已被广泛的发现于除陆生植物以外的真核生物中. 表 1 总结了分隔丝蛋白基因在酵母、线虫、果蝇、爪蟾模式生物和人类中的分布. 多数分隔丝蛋白基因进行可变剪接, 产生种类更加繁多的分隔丝蛋白, 而且不同剪切体的分布

具有组织特异性^[6]. 值得一提的是, 线虫和果蝇的分隔丝蛋白基因数目少于酵母, 提示分隔丝蛋白基因在特定的进化途径中发生了丢失. 人类的 13 种分隔丝蛋白基因根据序列的相似度可分为 SEPT2, SEPT3, SEPT6 和 SEPT7 四个亚家族^[6]. 在小鼠中抑制某种单体的表达后, 相同亚家族的单体表达量随之上调而不同亚家族的单体表达量下调^[7]. 分隔丝蛋白单体表达量的自我调节现象可能与不同单体的功能差异有关.

2 分隔丝的基本结构

2.1 单体

分隔丝蛋白单体的分子量约为 30~65 kD, 属于 GTP 酶超家族, 与 Ras 蛋白类似^[8]. 所有哺乳动物的分隔丝蛋白的核心结构都包含 GTP 结合域、可与磷

引用格式: 刘雨楠, 欧光朔, 等. 新型细胞骨架分隔丝的结构和功能研究进展. 中国科学: 生命科学, 2014, 44: 1010-1019

Liu Y N, Ou G S. Structure and function of a novel cytoskeletal component septin filaments. SCIENTIA SINICA Vitae, 2014, 44: 1010-1019, doi: 10.1360/052014-136

脂酰肌醇结合的碱性氨基酸区和一段称为 Septin 独有元件的高度保守的序列. 分隔丝蛋白的 N 端序列富含脯氨酸, C 端为卷曲螺旋结构, 两端序列的长度和组成在不同蛋白中有较大差异(图 1A). SEPT3 亚家族缺乏 C 端卷曲螺旋结构.

2.2 复合体

分隔丝蛋白可通过不同种单体间的相互作用形成异源复合体, 如酵母中的八聚体^[9], 线虫中的四聚体^[10]和哺乳动物中的六聚体^[11]. 2007 年哺乳动物分隔丝蛋白异源六聚体的精细结构被成功解析^[11], 揭示了分隔丝蛋白单体间的聚合机制. 两分子 SEPT2 之间通过 N 端和 C 端形成的 NC 接合面结合, 再分别

与 SEPT6 通过 GTP 酶结构域形成的 G 接合面(图 1B)结合, SEPT6 与 SEPT7 通过 NC 接合面结合, 从而串联形成无极性的 SEPT7-SEPT6-SEPT2-SEPT2-SEPT6-SEPT7 异源六聚体. 分隔丝蛋白的异源六聚体可通过 SEPT7 的 G 接合面互相结合而形成纤维丝. 研究显示属于 SEPT3 亚家族的 SEPT9 可通过 G 接合面与六聚体两端的 SEPT7 结合形成八聚体^[12]. SEPT9 表达量的上升可增加分隔丝蛋白复合体中八聚体所占的比例^[13]. 但在酵母分隔丝蛋白八聚体中, 与 SEPT3 亚家族蛋白同源的 Cdc10 位于八聚体的中央, 而与 SEPT2 亚家族同源的 Cdc11 却位于八聚体的两端(图 1C). 分隔丝蛋白单体的组装方式揭示其异源复合体是无极性的, 从而导致分隔丝纤维也是无极性的.

表 1 模式生物和人类基因组中的分隔丝基因

物种	基因名称
芽殖酵母 <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>CDC3, CDC10, CDC11, CDC12, SHS1, SPR3, SPR28</i>
秀丽隐杆线虫 <i>Caenorhabditis elegans</i>	<i>unc-59, unc-61</i>
黑腹果蝇 <i>Drosophila melanogaster</i>	<i>pnut, Sep1, Sep2, Sep4, Sep5</i>
非洲爪蟾 <i>Xenopus laevis</i>	<i>sept2, sept5, sept6, sept7, sept8, sept9, sept10, sept11, sept12</i>
人类 <i>Homo sapiens</i>	SEPT2 亚家族: <i>SEPT1, SEPT2, SEPT4, SEPT5</i>
	SEPT3 亚家族: <i>SEPT3, SEPT9, SEPT12</i>
	SEPT6 亚家族: <i>SEPT6, SEPT8, SEPT11, SEPT14</i>
	SEPT7 亚家族: <i>SEPT7</i>

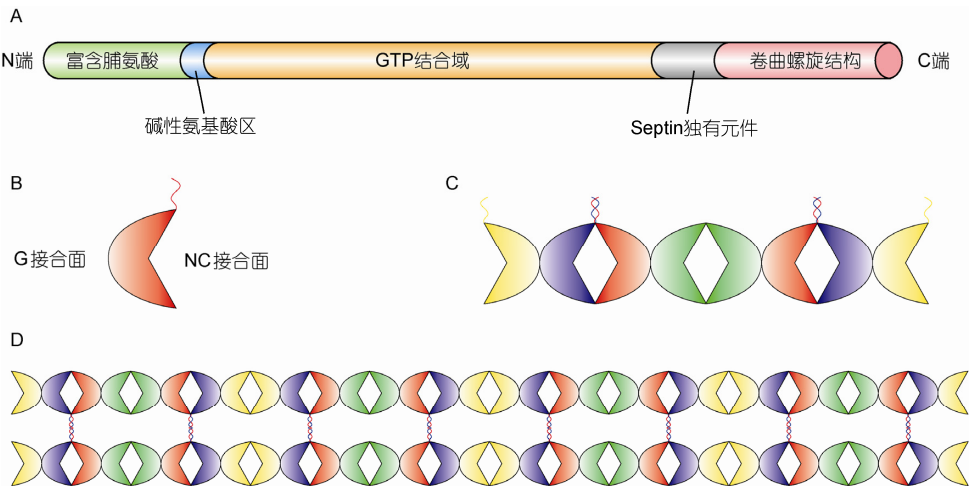


图 1 分隔丝蛋白结构与组装

A: 分隔丝蛋白单体的组成^[15]. 其中 N 端区域(绿色)和 C 端卷曲螺旋(粉红色)在不同种分隔丝蛋白中差异较大; B: 分隔丝蛋白单体的结构, 表明与其他分隔丝蛋白相互作用的接合面位置, 并特别画出 C 端卷曲螺旋结构; C: 酵母中的分隔丝蛋白八聚体. 黄色、蓝色、红色和绿色分别表示 Cdc11, Cdc12, Cdc3 和 Cdc10. 其中, Cdc10 缺乏 C 端卷曲螺旋结构; D: 酵母中的分隔丝纤维. Cdc11 的 C 端卷曲螺旋结构未被证实参与分隔丝纤维的组装^[9]

2.3 分隔丝纤维

对酵母分隔丝的研究发现, 分隔丝蛋白八聚体之间的结合机制有两种: 一种是两段平行的八聚体通过位于相同位置的 Cdc3 和 Cdc12 的卷曲螺旋结构的相互作用而配对, 另一种是八聚体两端的 Cdc11 通过 NC 接合面首尾相接. 分隔丝蛋白八聚体通过两种机制的共同作用组装成纤维束(图 1D)^[9]. 体外实验观察到, 分隔丝可自组装形成直径约 0.7 μm 的环和螺旋结构. 该自组装过程不可逆, 也不被 GTP 水解调控^[14]. 因此, 分隔丝比微管或微丝细胞骨架更加稳定.

2.4 高级结构

分隔丝纤维在体内可进一步形成纤维束、环状、网格状、笼状和沙漏状结构等更加复杂的结构, 参与胞质分裂等多种重要生理过程. 在酵母出芽生殖过程中, 分裂面的位置是由分裂前在细胞膜上形成的分隔丝环的位置决定的. 芽细胞从分隔丝环内长出, 而分隔丝环始终围绕在芽颈处^[16]. 细胞分裂时, 分隔丝在胞质分裂沟处形成沙漏状结构. 荧光偏振显微成像技术观测分裂过程中酵母细胞的沙漏状结构(图 2A), 发现分隔丝在沙漏状结构中沿分裂轴方向形成有序排列, 然后在胞质分裂前发生 90° 转动, 分离形成两个平行于分裂面的环状结构(图 2B), 标志胞质分裂的开始^[17]. 分隔丝环指示胞质分裂的位置, 而分裂所需的收缩力是由肌动球蛋白所提供; 胞质分裂完成后, 分隔丝在子细胞中仍有残留^[4]. 在不与胞外基质发生黏连的间期细胞中, 分隔丝定位于细胞皮质, 在微管的支持下形成细胞膜静态区域上的光盘状结构, 在细胞与胞外基质结合时转变为其他结构^[18].

3 分隔丝组装的调控

3.1 GTP 水解

分隔丝蛋白的 GTP 结合域与 Ras 蛋白的 GTP 结合域极为相似. GTP 水解影响 G 和 NC 接合面的构象, 进而增强分隔丝蛋白单体间结合的稳定性, 促进分隔丝蛋白寡聚体和纤维的形成. 缺少 78 位的苏氨酸残基的 SEPT6 亚家族蛋白不能水解 GTP, 从而始终与 GTP 结合而不受其水解调控^[19].

3.2 翻译后修饰

细胞体内的多种翻译后修饰, 例如磷酸化、SUMO 化、泛素化和乙酰化, 能够影响分隔丝蛋白单体或复合体间的相互作用, 从而调控分隔丝的组装.

分隔丝蛋白的磷酸化修饰是目前广泛研究的翻译后修饰. 2002 年 Tang 等人^[20]发现 Cdc3 可以被细胞周期蛋白依赖性激酶 Cdc28 磷酸化, 促进细胞周期中旧分隔丝环的解聚. Yves Barral 发现另外两种激酶 Gin4 和 Cla4 也可对多种分隔丝进行磷酸化修饰^[21], 而且 Cdc28 对 Cdc11 的磷酸化修饰需要依赖于之前 Gin4 的修饰^[22]. Cdc10 的磷酸化增强分隔丝蛋白的相互作用^[23]而稳定分隔丝环的结构. 对酵母分隔丝蛋白不同氨基酸残基的磷酸化可以使分隔丝组装成不同的高级结构, 例如环或者网格状结构^[24]. 分隔丝蛋白的磷酸化位点突变后, 胞质分裂和细胞形态会出现异常. 因此, 分隔丝蛋白的磷酸化修饰通过调控分隔丝蛋白复合体之间的相互作用, 影响分隔丝的自组装时固定态与动态的转变, 控制分隔丝高级结构的形成.

酵母分隔丝蛋白可以被 SUMO 化修饰^[25]. 多种分隔丝蛋白单体在细胞分裂的 G2 期向 M 期转化时被 SUMO 化, 在胞质分裂时去 SUMO 化. 将分隔丝蛋白的 SUMO 化位点全部突变后, 分隔丝环在胞质分裂前形成, 由此推测 SUMO 化促进分隔丝的降解^[26]. Siz1 蛋白被发现通过与泛素化中 E3 因子相似的过程, 促进分隔丝蛋白的 SUMO 化^[27], 而与 E2 因子结合的蛋白 Ubc9 通过自 SUMO 化抑制分隔丝蛋白的 SUMO 化^[28]. 因此细胞可通过调节分隔丝蛋白的 SUMO 化程度来调控分隔丝的聚合和解聚.

此外, 分隔丝蛋白的泛素化也可能是调控其降解的重要方式. Parkin 是一种具有 E3 泛素连接酶活性的蛋白, 其突变会导致帕金森综合症. 研究发现 Parkin 对 SEPT5 的泛素化促进了 SEPT5 的降解^[29]. 多种酵母分隔丝蛋白可被乙酰化酶修饰, 其修饰位点突变后, 胞质分裂沟处的分隔丝环不能正常形成和定位, 导致细胞分裂异常^[30].

4 与其他细胞组分的相互作用

分隔丝与其他细胞组分的结合会影响分隔丝及其结合组分的组装、定位与功能. 第一个被发现能调

控哺乳动物分隔丝蛋白组装的蛋白是 Rho GTP 酶结合蛋白(binders of Rho GTPases, Borgs). Borgs 可以直接与 SEPT6 或 SEPT7 结合, 促进分隔丝的聚合^[31]. Borg 蛋白是 GTP 酶 Cdc42 的一类效应器, Cdc42 可以阻止 Borg 蛋白与分隔丝蛋白的结合而对该过程进行负调控.

分隔丝可以与其他细胞骨架结构和细胞膜结合. 分隔丝通过 Anillin 和肌球蛋白 II (Myosin II) 等与微丝结合. Anillin 通过 C 端的 PH 结构域结合分隔丝, 并通过 N 端结构域与肌球蛋白 II 及微丝结合, 调控分隔丝与肌动蛋白之间的相互作用^[13]. SEPT2 可直接结合并激活 Myosin II, 同时促进分隔丝的组装和与微丝的结合^[32]. Anillin 在胞质分裂时与分隔丝蛋白和肌动蛋白共定位于胞质分裂沟, 但在分裂间期只定位于细胞核中^[33]. 因此, 在分裂期或间期的细胞中, Myosin II 很可能是调控分隔丝与微丝结合的决定性因子^[34].

最近的研究发现, 分隔丝可与微丝直接结合并使微丝弯曲形成胞质分裂沟处的环状结构^[35]. 分隔丝通过 C 端卷曲螺旋结构域与 Anillin 等接头蛋白连接, 进而与肌动蛋白纤维形成复合体, 该过程不消耗 GTP. 此时, 分隔丝形成直径约 7 nm 的纤维结构并与微丝共定位. 用药物破坏微丝组装后, 分隔丝从复合体上脱落, 弯曲乃至恢复成与体外组装相似的环状结构. 分隔丝的两种组装模式在特定条件下可以相互转换^[13].

在胞质分裂过程中 SEPT9 可与微管蛋白共定位于中心纺锤体^[36]. 生化分析表明, SEPT 通过 GTP 结合域直接与微管结合, 该过程不受 GTP 酶活性的影响. 使用秋水仙素抑制微管聚合的同时也破坏了分隔丝的结构^[37], 而抑制微管解聚的紫杉酚会增加分隔丝的数量^[17]. 然而抑制 SEPT9 的表达并不影响微管的定位和结构稳定性^[12,36]. 此后发现 SEPT6 的表达被抑制后, 微管的稳定性反而增强. 该过程与微管相关蛋白 4(microtubule-associated protein 4, MAP4)有关. MAP4 可通过富含脯氨酸的 C 端结构域与微管结合而稳定微管的结构, 该结构域也可以结合 SEPT2 或 SEPT2-SEPT6-SEPT7 异源三聚体. 因此, MAP4 与分隔丝的结合会竞争性抑制其与微管的结合, 从而降低微管的稳定性^[38]. 在极性上皮细胞中, 分隔丝通过抑制微管正极的解聚来调控微管组装, 控制微管的延伸方向和细胞膜定位^[39].

分隔丝可以通过接头蛋白如脂筏上的动力蛋白成分与细胞膜结合^[40]. 分隔丝蛋白也可通过碱性氨基酸区特异地结合生物膜上的磷脂酰肌醇-4,5-二磷酸(PIP2)和磷脂酰肌醇-3,4,5-三磷酸, 此过程受 GTP 水解调控^[41]. 在体外富含 PIP2 的脂质单分子层上, 纯化的酵母分隔丝蛋白八聚体可聚合成纤维, 其超微结构与体内观察到的纤维相似^[42]. 研究发现 PIP2 主要通过 SEPT2 的 N 端区域与分隔丝相互作用, 并促进分隔丝在脂质单分子层上的聚合与组装^[43]. 将纯化的分隔丝蛋白加入含有 PIP2 的脂质体中, 观察到分隔丝在磷脂膜上成圆周排列, 介导脂质体转化为管状结构^[44]. 由此可见, 分隔丝的组装和磷脂膜的形状有相互依赖的关系, 磷脂促进分隔丝的聚合, 分隔丝通过限制脂质的流动性来控制磷脂膜的形状.

5 分隔丝的功能

5.1 募集蛋白

分隔丝可以作为支架募集蛋白促进蛋白间的相互作用. 许多调控酵母细胞分裂的关键蛋白如 Cdc5 和 Hsl1 等蛋白激酶及其他酶类有序地结合在芽颈处的分隔丝环上^[45,46]. SEPT2 与细胞膜上的载体蛋白谷氨酸天冬氨酸转运体(GLAST)结合调控 GLAST 在细胞膜上的定位, 进而影响小脑的信号传导过程^[47]. 在哺乳动物细胞有丝分裂时, 定位于赤道板的分隔丝募集中心粒结合蛋白 E 调控染色体的聚集和分离^[48]. 在细胞质中, 分隔丝纤维束可与细胞因子信号转导抑制蛋白 7(suppressor of cytokine signaling 7, SOCS7)直接结合, 限制 SOCS7 和参与微丝组织的接头蛋白 NCK 的结合, 扰乱分隔丝的组装导致 SOCS7 和 NCK 在细胞核中的聚集和微丝应力纤维组织的破坏^[49]. 此外, NCK 在细胞核中直接或间接激活肿瘤细胞抑制因子 p53, 从而在细胞周期的 DNA 损伤检验点系统中发挥作用. 因此, Septin-SOCS7-NCK 通路联合了细胞的形态建成与有丝分裂的 DNA 损伤检验点机制^[50].

5.2 扩散屏障

胞质分裂时分隔丝环分布于肌动球蛋白环的两侧, 作为分隔分裂位点两侧细胞皮层的屏障^[51]. 分隔丝在酵母芽颈处形成的屏障阻隔了芽细胞独有的膜蛋白向母细胞的扩散^[52]. 分隔丝也能在芽颈的光面

内质网上形成扩散屏障^[53]。细胞中的分隔丝扩散屏障保证了出芽酵母分裂与生长的极性。

5.3 精子鞭毛结构

分隔丝是精子终环的主要成分。终环是与细胞膜结合的环状结构, 位于精子尾部中段与主段之间, 可以防止精子运动过程中线粒体鞘向尾端的移动(图 2C)。SEPT4 基因敲除小鼠的精子形成过程中尾部的分化出现异常, 终环消失, 并失去运动能力, 从而导致不育^[54]。在弱精子症患者的精子中也发现了终环的解体, 由此可推测, 分隔丝环组装的失调与弱精子症有一定关系^[55]。

5.4 纤毛形成

2010 年 Nelson 等人^[56]发现, SEPT2 定位在纤毛基部形成膜蛋白扩散屏障(图 2D), 将纤毛膜与细胞膜的其他区域分隔开。纤毛基部形成的分隔丝环可以募集与纤毛类疾病相关的 9 种蛋白形成复合体, 其功能为限制蛋白在纤毛膜与细胞膜的其他区域之间的扩散, 从而维持纤毛的特殊形态与功能^[57]。有趣的是, SEPT2 为保持微管蛋白的多聚谷氨酸修饰所必须, 而这种翻译后修饰与人类纤毛类疾病直接相关^[58]。

5.5 细胞迁移

脊椎动物胚胎的发育过程中, 细胞平面极化(planar cell polarity, PCP)信号通路控制胚胎细胞的共同迁移。PCP 蛋白 Fritz 可以控制分隔丝的定位来参与纤毛形成和细胞平面极化^[59]。分隔丝在质膜出泡时促进其收缩, 调节细胞的持续迁移^[60]。SEPT7 的缺乏降低了 T 细胞质膜的稳定性, 使其频繁出泡, 导致迁移异常^[61]。最近的研究发现, 在原肠胚间叶细胞中, 定位受 PCP 通路控制的 SEPT7 可以划分细胞皮质不同区域中的肌动球蛋白, 缩短特定细胞连接的, 促进细胞之间的交错接合和集中延伸(convergent extension)^[62]。

5.6 神经元发育

树突棘是树突上形成突触的部位, 其基部也存在分隔丝环^[63]。SEPT7 与 SEPT5, SEPT11 共定位于树突分支点和树突棘基部^[64]。SEPT7 的过表达和敲降分别促进和抑制了树突分支的形态发生。在感觉神经元轴突侧枝的分支过程中, SEPT6 和 SEPT7 在丝状伪

足形成的起始点聚集并形成环^[65](图 2E)。SEPT6 募集调控肌动蛋白聚合的皮动蛋白, 促进微丝在分支处的形成^[66]; SEPT7 则通过募集微管蛋白去乙酰化酶 HDAC6 而对微管的稳定性进行负调节, 促进微管向丝状伪足内的延伸^[67]。因此, 分隔丝介导并协调微丝和微管骨架在分支起始点的重组, 进而促进轴突分支的形成。

5.7 胞内物质运输与分泌

1999 年 William Trimble 等发现 SEPT2 和 SEPT5 可以直接与胞外分泌复合体(exocyst complex)以及作为 SNARE 蛋白主要成员之一的 syntaxin 结合而抑制细胞内物质的分泌^[68]。SEPT5 的磷酸化可抑制该过程^[69]。Syntaxin 与 SEPT5 结合的区域也能结合另一种 SNARE 蛋白 SNAP。SEPT5 和 SNAP 与 syntaxin 的结合分别限制囊泡的流动性和促进 SNARE 复合体的形成。所以, 分隔丝和 SNAP-25 在结合 syntaxin 上的竞争可以调控分泌过程中囊泡的运输^[70]。分隔丝在细胞分泌中的作用与神经递质和血小板的释放等重要的生理活动相关^[71]。

5.8 免疫

侵入性细菌通过利用被侵入细胞内微丝骨架的重组来入侵细胞并在宿主细胞内运动。分隔丝在这种入侵中发挥重要作用。细菌通过内吞作用进入细胞时, 微丝在细胞膜内陷区域的周围形成, 促进内吞作用。而分隔丝可形成与自组装时相似的环境围绕在微丝骨架周围^[72]。SEPT2 或 SEPT11 表达量的下降分别能降低或促进该过程^[73], 显示了不同亚家族的分隔丝蛋白功能上的差异。但该过程是否受 GTP 水解调控仍不清楚。细菌从内吞泡逃逸进入细胞质后, 通过微丝组装成的尾巴在宿主细胞内运动。此时分隔丝环可围绕在细菌周围组装成笼状结构(图 2F), 阻止微丝尾巴的形成, 限制细菌的运动, 使得靶向病原体更容易被细胞的自吞噬作用清除^[74]。但是到目前为止, 分隔丝在细菌入侵时起的具体作用及机制仍然很少被研究。

6 分隔丝与疾病

分隔丝基因表达或蛋白结构的异常可以引发肿

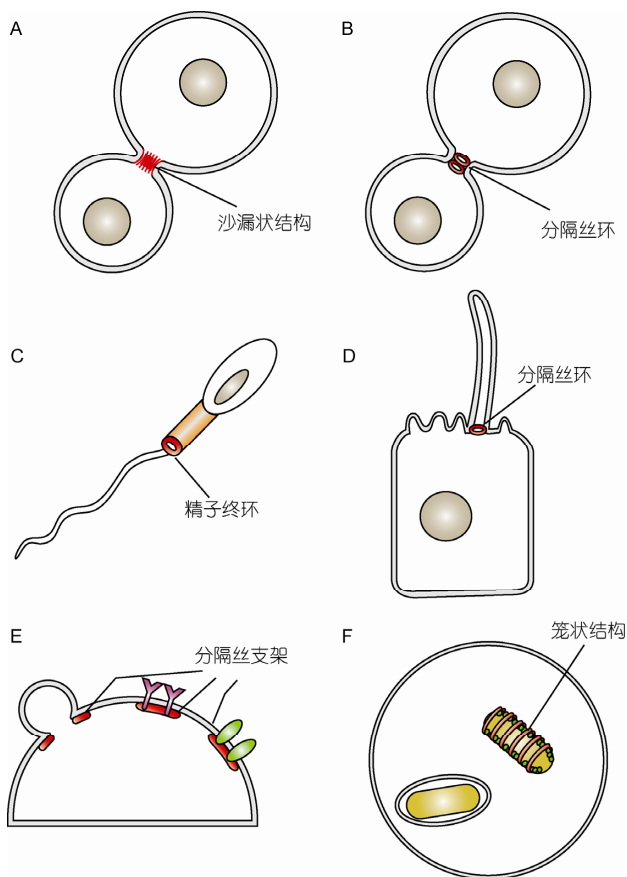


图 2 分隔丝高级结构、胞内定位及功能^[15]

分隔丝以红色表示, 细胞核以灰色表示. A, B: 分隔丝在胞质分裂中形成的沙漏状结构(A)和分隔丝环(B); C, D: 分隔丝环在精子(C)和纤毛(D)形成中的定位及作用, 橙色表示线粒体; E: 细胞内分隔丝作为支架募集蛋白, 如以紫色表示的受体和以绿色表示的通道蛋白等; F: 在免疫中, 分隔丝环形成笼状结构, 限制胞质中的细菌运动, 其中细菌以黄色表示, 肌动蛋白以绿色表示.

瘤、感染、 神经系统疾病和男性不育症等疾病.

6.1 肿瘤

对分隔丝蛋白基因家族在 35 种肿瘤的表达情况分析显示, 大多数肿瘤中的分隔丝蛋白表达量都有变化, SEPT2, SEPT8, SEPT9 和 SEPT11 的表达量明显上调而 SEPT4 和 SEPT10 的表达量下调, 提示分隔丝基因与肿瘤的发生相关^[75]. 血液中的异常甲基化 SEPT9 基因可以作为检测结直肠癌的标志物^[76]. 通过 SEPT9 检测结直肠癌的方法安全有效并可检测癌前病变^[77,78], 已成为一种有良好的发展前景的癌症检测手段.

6.2 感染

分隔丝在细菌侵入细胞时的功能揭示了感染时细胞的一个新的防御机制, 可能在由细菌等病原体引起的感染性疾病中起重要作用. 对分隔丝在免疫过程中作用的研究, 会帮助我们更好地理解细菌感染细胞的机制, 尤其是细菌如何控制和利用宿主细胞的细胞骨架来实现进入细胞和在胞内运动, 以及宿主细胞如何防御细菌对自身的利用.

6.3 神经系统疾病

分隔丝蛋白的异常与多种神经系统疾病有关. 阿尔兹海默症的重要表型是突触相关蛋白的丧失和神经元纤维缠结. 分隔丝蛋白与 SNAP 的竞争性相互作用可能是阿尔兹海默症早期患者中 SNAP 蛋白的表达量下降^[79]的因素. 分隔丝蛋白可以调控神经元树突和轴突分支的形成, 故分隔丝蛋白的异常表达可能导致神经元纤维缠结. 此外, 因为 Parkin 在线粒体自噬中起重要作用, 帕金森综合症中的神经功能紊乱可能是由分隔丝聚集引起的自噬缺陷导致的^[29]. 遗传性神经肌肉萎缩的发生是 SEPT9 的突变^[80]和异常表达引起的单基因遗传性疾病^[81]. 这一点证实了分隔丝与神经系统疾病的直接关系.

6.4 男性不育症

上文叙述了分隔丝在精子尾部中的重要作用. 许多研究也发现分隔丝蛋白的异常会导致精子结构与运动缺陷^[82]进而造成男性不育.

7 展望

近年的研究表明分隔丝, 是一种新型细胞骨架结构, 但是对于分隔丝在细胞中的作用机制还缺乏清晰的认识. 分隔丝可与微管和微丝结合, 进而调控这两种细胞骨架的动态^[83], 深入研究分隔丝对微管和微丝的动态调控机制将会有助于我们了解细胞骨架系统的整体作用. 分隔丝形成的高级结构调控胞质分裂, 细胞迁移等重要过程, 而对分隔丝调控这些细胞生物学现象的机制研究仍然不够深入. 分隔丝纤维的组装过程受 GTP 水解、翻译后修饰等一系列因素的调控, 分隔丝的聚合-解聚动态过程的调控也是一个重要的方向. 分隔丝基因表达的异常与包括肿瘤和阿尔兹海默症在内的许多疾病相关, SEPT9 的

异常表达已可用于诊断肿瘤。但是分隔丝在疾病发生中的作用还很少被研究。因此, 对分隔丝的进一步

研究将帮助我们更加透彻地理解分隔丝在细胞生理活动中的作用, 为疾病的诊断和治疗提供新的帮助。

参考文献

- 1 Hartwell L H. Genetic control of cell division cycle in yeast IV. Genes controlling bud emergence and cytokinesis. *Exp Cell Res*, 1971, 69: 265–276
- 2 Byers B, Goetsch L. Highly ordered ring of membrane-associated filaments in budding yeast. *J Cell Biol*, 1976, 69: 717–721
- 3 Haarer B K, Pringle J R. Immunofluorescence localization of the *Saccharomyces cerevisiae* CDC12 gene product to the vicinity of the 10-nm filaments in the mother-bud neck. *Mol Cell Biol*, 1987, 7: 3678–3687
- 4 Kim H B, Haarer B K, Pringle J R. Cellular morphogenesis in the *Saccharomyces cerevisiae* cell cycle: localization of the CDC3 gene product and the timing of events at the budding site. *J Cell Biol*, 1991, 112: 535–544
- 5 Ford S K, Pringle J R. Cellular morphogenesis in the *Saccharomyces cerevisiae* cell cycle: localization of the CDC11 gene product and the timing of events at the budding site. *Dev Genet*, 1991, 12: 281–292
- 6 Russell S E, Hall P A. Septin genomics: a road less travelled. *Biol Chem*, 2011, 392: 763–767
- 7 Peng X R, Jia Z, Zhang Y, et al. The septin CDCrel-1 is dispensable for normal development and neurotransmitter release. *Mol Cell Biol*, 2002, 22: 378–387
- 8 Yu W B. Research progresses on septin family. *Hereditas (Beijing)*, 2009, 30: 1097–1107
- 9 Bertin A, McMurray M A, Grob P, et al. *Saccharomyces cerevisiae* septins: supramolecular organization of heterooligomers and the mechanism of filament assembly. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105: 8274–8279
- 10 John C M, Hite R K, Weirich C S, et al. The *Caenorhabditis elegans* septin complex is nonpolar. *The EMBO Journal*, 2007, 26: 3296–3307
- 11 Sirajuddin M, Farkasovsky M, Hauer F, et al. Structural insight into filament formation by mammalian septins. *Nature*, 2007, 449: 311–315
- 12 Kim M S, Froese C D, Estey M P, et al. SEPT9 occupies the terminal positions in septin octamers and mediates polymerization-dependent functions in abscission. *J Cell Biol*, 2011, 195: 815–826
- 13 Sellin M E, Stenmark S, Gullberg M. Mammalian SEPT9 isoforms direct microtubule-dependent arrangements of septin core heteromers. *Mol Biol Cell*, 2012, 23: 4242–4255
- 14 Kinoshita M, Field C M, Coughlin M L, et al. Self-and actin-templated assembly of mammalian septins. *Dev Cell*, 2002, 3: 791–802
- 15 Mostowy S, Cossart P. Septins: the fourth component of the cytoskeleton. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2012, 13: 183–194
- 16 Chant J. Septin scaffolds and cleavage planes in *Saccharomyces*. *Cell*, 1996, 84: 187–190
- 17 Vrabioiu A M, Mitchison T J. Structural insights into yeast septin organization from polarized fluorescence microscopy. *Nature*, 2006, 443: 466–469
- 18 Sellin M E, Holmfeldt P, Stenmark S, et al. Microtubules support a disk-like septin arrangement at the plasma membrane of mammalian cells. *Mol Biol Cell*, 2011, 22: 4588–4601
- 19 Sirajuddin M, Farkasovsky M, Zent E, et al. GTP-induced conformational changes in septins and implications for function. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106: 16592–16597
- 20 Tang C, Reed S. Phosphorylation of the septin cdc3 in g1 by the cdc28 kinase is essential for efficient septin ring disassembly. *Cell Cycle*, 2002, 1: 42–49
- 21 Dobbelaere J, Gentry M S, Hallberg R L, et al. Phosphorylation-dependent regulation of septin dynamics during the cell cycle. *Dev Cell*, 2003, 4: 345–357
- 22 Sinha I, Wang Y M, Philp R, et al. Cyclin-dependent kinases control septin phosphorylation in *Candida albicans* hyphal development. *Dev Cell*, 2007, 13: 421–432
- 23 Chi A, Huttenhower C, Geer L Y, et al. Analysis of phosphorylation sites on proteins from *Saccharomyces cerevisiae* by electron transfer dissociation (ETD) mass spectrometry. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104: 2193–2198
- 24 Garcia G, Bertin A, Li Z, et al. Subunit-dependent modulation of septin assembly: budding yeast septin Shs1 promotes ring and gauze formation. *J Cell Biol*, 2011, 195: 993–1004
- 25 Takahashi Y, Iwase M, Konishi M, et al. Smt3, a SUMO-1 homolog, is conjugated to Cdc3, a component of septin rings at the mother-bud neck in budding yeast. *Biochem Biophys Res Commun*, 1999, 259: 582–587
- 26 Johnson E S, Blobel G. Cell cycle-regulated attachment of the ubiquitin-related protein SUMO to the yeast septins. *J Cell Biol*, 1999, 147: 981–994
- 27 Johnson E S, Gupta A A. An E3-like factor that promotes SUMO conjugation to the yeast septins. *Cell*, 2001, 106: 735–744
- 28 Ho C W, Chen H T, Hwang J. UBC9 autSUMOylation negatively regulates SUMOylation of septins in *Saccharomyces cerevisiae*. *J Biol Chem*, 2011,

286: 21826–21834

- 29 Zhang Y, Gao J, Chung K K, et al. Parkin functions as an E2-dependent ubiquitin-protein ligase and promotes the degradation of the synaptic vesicle-associated protein, CDCrel-1. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, 97: 13354–13359
- 30 Mitchell L, Lau A, Lambert J P, et al. Regulation of septin dynamics by the *Saccharomyces cerevisiae* lysine acetyltransferase NuA4. *PLoS One*, 2011, 6: e25336
- 31 Joberty G, Perlungher R R, Sheffield P J, et al. Borg proteins control septin organization and are negatively regulated by Cdc42. *Nat Cell Biol*, 2001, 3: 861–866
- 32 Joo E, Surka M C, Trimble W S. Mammalian SEPT2 is required for scaffolding nonmuscle myosin II and its kinases. *Dev Cell*, 2007, 13: 677–690
- 33 Oegema K, Savoian M S, Mitchison T J, et al. Functional analysis of a human homologue of the *Drosophila* actin binding protein anillin suggests a role in cytokinesis. *J Cell Biol*, 2000, 150: 539–551
- 34 Saarikangas J, Barral Y. The emerging functions of septins in metazoans. *Embo Reports*, 2011, 12: 1118–1126
- 35 Mavrikis M, Azou-Gros Y, Tsai F C, et al. Septins promote F-actin ring formation by crosslinking actin filaments into curved bundles. *Nat Cell Biol*, 2014, 16: 322–334
- 36 Surka M C, Tsang C W, Trimble W S. The mammalian septin MSF localizes with microtubules and is required for completion of cytokinesis. *Mol Biol Cell*, 2002, 13: 3532–3545
- 37 Nagata K, Kawajiri A, Matsui S, et al. Filament formation of MSF-A, a mammalian septin, in human mammary epithelial cells depends on interactions with microtubules. *J Biol Chem*, 2003, 278: 18538–18543
- 38 Kremer B E, Haystead T, Macara I G. Mammalian septins regulate microtubule stability through interaction with the microtubule-binding protein MAP4. *Mol Biol Cell*, 2005, 16: 4648–4659
- 39 Bowen J R, Hwang D, Bai X, et al. Septin GTPases spatially guide microtubule organization and plus end dynamics in polarizing epithelia. *J Cell Biol*, 2011, 194: 187–197
- 40 Maimaitiyiming M, Kobayashi Y, Kumanogoh H, et al. Identification of dynamin as a septin-binding protein. *Neurosci Lett*, 2013, 534: 322–326
- 41 Zhang J, Kong C, Xie H, et al. Phosphatidylinositol polyphosphate binding to the mammalian septin H5 is modulated by GTP. *Curr Biol*, 1999, 9: 1458–1467
- 42 Bertin A, McMurray M A, Pierson J, et al. Three-dimensional ultrastructure of the septin filament network in *Saccharomyces cerevisiae*. *Mol Biol Cell*, 2012, 23: 423–432
- 43 Bertin A, McMurray M A, Thai L, et al. Phosphatidylinositol-4, 5-bisphosphate promotes budding yeast septin filament assembly and organization. *J Mol Biol*, 2010, 404: 711–731
- 44 Tanaka-Takiguchi Y, Kinoshita M, Takiguchi K. Septin-mediated uniform bracing of phospholipid membranes. *Curr Biol*, 2009, 19: 140–145
- 45 Cid V c J, Jiménez J, Molina M, et al. Orchestrating the cell cycle in yeast: sequential localization of key mitotic regulators at the spindle pole and the bud neck. *Microbiology*, 2002, 148: 2647–2659
- 46 Kinoshita M. Diversity of septin scaffolds. *Curr Opin Cell Biol*, 2006, 18: 54–60
- 47 Kinoshita N, Kimura K, Matsumoto N, et al. Mammalian septin Sept2 modulates the activity of GLAST, a glutamate transporter in astrocytes. *Genes Cells*, 2004, 9: 1–14
- 48 Spiliotis E T, Kinoshita M, Nelson W J. A mitotic septin scaffold required for Mammalian chromosome congression and segregation. *Science*, 2005, 307: 1781–1785
- 49 Kremer B E, Adang L A, Macara I G. Septins regulate actin organization and cell-cycle arrest through nuclear accumulation of NCK mediated by SOCS7. *Cell*, 2007, 130: 837–850
- 50 Kinoshita M, Takeda S. Connecting the dots between septins and the DNA damage checkpoint. *Cell*, 2007, 130: 777–779
- 51 Dobbelaere J, Barral Y. Spatial coordination of cytokinetic events by compartmentalization of the cell cortex. *Science*, 2004, 305: 393–396
- 52 Takizawa P A, DeRisi J L, Wilhelm J E, et al. Plasma membrane compartmentalization in yeast by messenger RNA transport and a septin diffusion barrier. *Science*, 2000, 290: 341–344
- 53 Luedeke C, Frei S B, Sbalzarini I, et al. Septin-dependent compartmentalization of the endoplasmic reticulum during yeast polarized growth. *J Cell Biol*, 2005, 169: 897–908
- 54 Kissel H, Georgescu M, Larisch S, et al. The Sept4 septin locus is required for sperm terminal differentiation in Mice. *Dev Cell*, 2005, 8: 353–364
- 55 Ihara M, Kinoshita A, Yamada S, et al. Cortical organization by the septin cytoskeleton is essential for structural and mechanical integrity of mammalian spermatozoa. *Dev Cell*, 2005, 8: 343–352
- 56 Hu Q, Milenkovic L, Jin H, et al. A septin diffusion barrier at the base of the primary cilium maintains ciliary membrane protein distribution. *Science*, 2010, 329: 436–439
- 57 Chih B, Liu P, Chinn Y, et al. A ciliopathy complex at the transition zone protects the cilia as a privileged membrane domain. *Nat Cell Biol*, 2012, 14: 61–72

- 58 Spiliotis E T, Hunt S J, Hu Q, et al. Epithelial polarity requires septin coupling of vesicle transport to polyglutamylated microtubules. *J Cell Biol*, 2008, 180: 295–303
- 59 Kim S K, Shindo A, Park T J, et al. Planar cell polarity acts through septins to control collective cell movement and ciliogenesis. *Science*, 2010, 329: 1337–1340
- 60 Gilden J K, Peck S, Chen Y M, et al. The septin cytoskeleton facilitates membrane retraction during motility and blebbing. *J Cell Biol*, 2012, 196: 103–114
- 61 Tooley A J, Gilden J, Jacobelli J, et al. Amoeboid T lymphocytes require the septin cytoskeleton for cortical integrity and persistent motility. *Nat Cell Biol*, 2009, 11: 17–26
- 62 Shindo A, Wallingford J B. PCP and septins compartmentalize cortical actomyosin to direct collective cell movement. *Science*, 2014, 343: 649–652
- 63 Tada T, Simonetta A, Batterton M, et al. Role of septin cytoskeleton in spine morphogenesis and dendrite development in neurons. *Curr Biol*, 2007, 17: 1752–1758
- 64 Xie Y, Vessey J P, Konecna A, et al. The GTP-binding protein Septin 7 is critical for dendrite branching and dendritic-spine morphology. *Curr Biol*, 2007, 17: 1746–1751
- 65 Cho S J, Lee H, Dutta S, et al. Septin 6 regulates the cytoarchitecture of neurons through localization at dendritic branch points and bases of protrusions. *Mol Cells*, 2011, 32: 89–98
- 66 Hu J, Bai X, Bowen J R, et al. Septin-driven coordination of actin and microtubule remodeling regulates the collateral branching of axons. *Curr Biol*, 2012, 22: 1109–1115
- 67 Ageta-Ishihara N, Miyata T, Ohshima C, et al. Septins promote dendrite and axon development by negatively regulating microtubule stability via HDAC6-mediated deacetylation. *Nat Commun*, 2013, 4: 2532
- 68 Beites C L, Xie H, Bowser R, et al. The septin CDCrel-1 binds syntaxin and inhibits exocytosis. *Nat Neurosci*, 1999, 2: 434–439
- 69 Amin N D, Zheng Y L, Kesavapany S, et al. Cyclin-dependent kinase 5 phosphorylation of human septin SEPT5 (hCDCrel-1) modulates exocytosis. *J Neurosci*, 2008, 28: 3631–3643
- 70 Beites C, Campbell K, Trimble W. The septin Sept5/CDCrel-1 competes with alpha-SNAP for binding to the SNARE complex. *Biochem J*, 2005, 385: 347–353
- 71 Dent J, Kato K, Peng XR, et al. A prototypic platelet septin and its participation in secretion. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99: 3064–3069
- 72 Mostowy S, Tham T N, Danckaert A, et al. Septins regulate bacterial entry into host cells. *PLoS One*, 2009, 4: e4196
- 73 Mostowy S, Danckaert A, Tham T N, et al. Septin 11 restricts InlB-mediated invasion by *Listeria*. *J Biol Chem*, 2009, 284: 11613–11621
- 74 Mostowy S, Bonazzi M, Hamon M A, et al. Entrapment of intracytosolic bacteria by septin cage-like structures. *Cell Host Microbe*, 2010, 8: 433–444
- 75 Liu M, Shen S, Chen F, et al. Linking the septin expression with carcinogenesis. *Mol Biol Rep*, 2010, 37: 3601–3608
- 76 deVos T, Tetzner R, Model F, et al. Circulating methylated SEPT9 DNA in plasma is a biomarker for colorectal cancer. *Clin Chem*, 2009, 55: 1337–1346
- 77 Tanzer M, Balluff B, Distler J, et al. Performance of epigenetic markers SEPT9 and ALX4 in plasma for detection of colorectal precancerous lesions. *PLoS One*, 2010, 5: e9061
- 78 Church T R, Wandell M, Lofton-Day C, et al. Prospective evaluation of methylated SEPT9 in plasma for detection of asymptomatic colorectal cancer. *Gut*, 2014, 63: 317–325
- 79 Engmann O, Hortobagyi T, Thompson A J, et al. Cyclin-dependent kinase 5 activator p25 is generated during memory formation and is reduced at an early stage in Alzheimer's Disease. *Biol Psychiatry*, 2011, 70: 159–168
- 80 Kuhlenbaumer G, Hannibal M C, Nelis E, et al. Mutations in SEPT9 cause hereditary neuralgic amyotrophy. *Nat Genet*, 2005, 37: 1044–1046
- 81 Laccone F, Hannibal M C, Neesen J, et al. Dysmorphic syndrome of hereditary neuralgic amyotrophy associated with a SEPT9 gene mutation—a family study. *Clin Genet*, 2008, 74: 279–283
- 82 Chao H C A, Lin Y H, Kuo Y C, et al. The expression pattern of SEPT7 correlates with sperm morphology. *J Assist Reprod Genet*, 2010, 27: 299–307
- 83 Silverman-Gavrila RV, Silverman-Gavrila LB. Septins: new microtubule interacting partners. *Sci World J*, 2008, 8: 611–620

Structure and Function of a Novel Cytoskeletal Component Septin Filaments

LIU YuNan & OU GuangShuo

School of Life Sciences, Tsinghua University, Beijing 100084, China

Cytoskeleton consists of microtubules, microfilaments and intermediate filaments and regulates multiple cellular events such as cell division and motility. Septin filaments have been considered as a novel type of cytoskeleton component as septin monomers are GTP-binding proteins that assemble into hetero-oligomeric complexes and filaments. Septin filaments widely distribute in eukaryotic cells and form highly ordered structures such as bundles, rings and cages. Septin filaments interact with other cytoskeletal components and cell membrane and play essential roles in cytokinesis, cell migration, neural development, immune response and other physiological processes. Emerging evidence indicates that the abnormality of septin filaments is associated with various human diseases including cancers. Here, we summarize the recent progress in understanding septin structure, organization and function and discuss its relationship with diseases.

septin, cytoskeleton, GTP binding protein, filament assembly, disease

doi: 10.1360/052014-136