

# TBC 蛋白家族成员在人类疾病发生发展中的作用

施梦婷<sup>1,2</sup>, 张莹<sup>2</sup>, 周钢桥<sup>1,2</sup>

1. 广西医科大学研究生院, 南宁 530021

2. 军事科学院军事医学研究院辐射医学研究所, 蛋白质组学国家重点实验室, 国家蛋白质科学中心(北京), 北京 100850

**摘要:** TBC(Tre-2/Bub2/Cdc16)是真核生物中普遍存在的一种由 200 个氨基酸残基组成的保守性蛋白质结构域, 含有该结构域的蛋白质被称为 TBC 蛋白。TBC 蛋白具有 GTPase 激活活性, 可促进小 G 蛋白 Rab-GTP 水解为 Rab-GDP, 从而参与特异的胞内转运过程。在哺乳动物中, 部分 TBC 蛋白具有十分重要的作用, 其功能异常与人类疾病的发生发展密切相关。本文主要介绍了哺乳动物 TBC 蛋白的结构和功能, 以及近年来 TBC 蛋白在人类疾病发生发展中的作用, 以期深入解析 TBC 蛋白的致病机制提供参考。

**关键词:** Rab; TBC; GTP 酶激活蛋白; 转运

## The critical roles of TBC proteins in human diseases

Mengting Shi<sup>1,2</sup>, Ying Zhang<sup>2</sup>, Gangqiao Zhou<sup>1,2</sup>

1. Graduate School, Guangxi Medical University, Nanning 530021, China

2. National Center for Protein Sciences, the State Key Lab of Proteomics, Beijing Institute of Radiation Medicine, Beijing 100850, China

**Abstract:** The Tre-2/Bub2/Cdc16 (TBC) domain is a conserved protein motif consisting of approximately 200 amino acids, and is present in many eukaryotic proteins. TBC domain-containing proteins (TBC proteins) function as GTPase activating proteins (GAPs) for the small GTPase Rab, which can promote the hydrolysis of Rab-GTP to Rab-GDP in regulation of specific intracellular trafficking pathways. Several TBC proteins play important roles in cellular functions in mammals, and defects of which are closely associated with numerous disease processes. In this review, we summarize the structures and functions of the mammalian TBC proteins and recent advances in understanding their critical roles in the development of human diseases. This review serves as a reference for further investigations on the functions of TBC proteins in disease pathogenesis.

**Keywords:** Rab; TBC; GTPase activating protein; trafficking

收稿日期: 2017-10-22; 修回日期: 2017-12-12

基金项目: 国家自然科学基金资助(编号: 81401981, 81672369)资助[Supported by the National Science Foundation of China (Nos. 81401981, 81672369)]

作者简介: 施梦婷, 硕士研究生, 专业方向: 分子生物学。E-mail: 1300815579@qq.com

张莹, 博士, 研究方向: 分子生物学。E-mail: zhangying1982@163.com

施梦婷和张莹为并列第一作者。

通讯作者: 周钢桥, 研究员, 博士生导师, 研究方向: 分子生物学。Tel: 010-66931201; E-mail: zhougq114@126.com

DOI: 10.16288/j.ycz.17-343

网络出版时间: 2017/12/27 9:53:34

URI: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.1913.R.20171227.0952.010.html>

Rab 是真核细胞中一类进化保守的小 G 蛋白 (small GTPases), 主要参与细胞内膜泡的形成、膜泡向靶细胞器的移动, 以及与特定靶膜的锚定等一系列细胞内运输过程。该过程涉及 Rab 蛋白在激活状态 Rab-GTP 和失活状态 Rab-GDP 之间的循环。细胞质中 GTP 的水平较高, GTP 优先占据鸟嘌呤核苷酸结合域; 鸟嘌呤核苷酸交换因子 (guanine nucleotide exchange factor, GEF) 可促进 GDP 解离, 加速 GDP 到 GTP 的转变, 促使 Rab-GTP 的形成。Rab-GTP 被结合到膜泡表面, 与膜上特定的 Rab 效应分子 (Rab effector) 结合, 并将膜泡锚定到靶膜上, 进而发生膜泡融合。膜泡融合发生后, 一类被称为 GTP 酶激活蛋白 (GTPase activating protein, GAP) 的分子将促进 Rab-GTP 水解为 Rab-GDP, 并将其释放到细胞质中, 然后再进行下一轮的 GDP-GTP 交换、结合和水解循环 (图 1)。Rab 蛋白家族共有 70 多个成员, 具有相似的结构、功能及鸟苷酸结合能力。由于各自的亚细胞定位、Rab 效应分子、GEFs 和 GAPs 不同, Rab 蛋白具有了不同的生物学功能<sup>[1]</sup>。

Rab 效应分子和 GEFs 在结构上没有相似的结构特征, 但 GAPs 普遍含有一个保守性蛋白结构域—Tre2-Bub2-Cdc16(TBC)。该结构域最早在酵母细胞中被发现, 是癌基因 tre-2、酵母的细胞周期调控蛋白 Bub2 及 Cdc16 的共同保守域<sup>[2]</sup>, 也是酵母细胞 GAPs (也称为 GYPs, GAP for Ypt proteins) 的共有结构域。人们将含有 TBC 结构域的蛋白统称为 TBC 家族蛋白。本文对 TBC 家族蛋白的结构、功能及其在疾病中的作用和意义进行了综述。

已有研究表明, TBC 蛋白广泛存在于多种物种中, 例如 TBC1D15, 分别在人 (*Homo sapiens*)、小鼠 (*Mus musculus*) 和条纹斑竹鲨 (*Chiloscyllium plagiosum*) 等中被发现。同时, 同一物种中含有多个 TBC 蛋白家族成员。通过序列同源性分析预测, 人类中至少存在 40 种含有 TBC 结构域的蛋白 (图 2)。目前, 其大部分成员的作用底物及功能尚不清楚。

## 1 TBC 家族蛋白的结构特征

TBC 结构域由约 200 个氨基酸残基组成。晶体学结构研究发现, 该结构域中含有两个十分重要的

已有研究表明, TBC 蛋白广泛存在于多种物种中, 例如 TBC1D15, 分别在人 (*Homo sapiens*)、小鼠 (*Mus musculus*) 和条纹斑竹鲨 (*Chiloscyllium plagiosum*) 等中被发现。同时, 同一物种中含有多个 TBC 蛋白家族成员。通过序列同源性分析预测, 人类中至少存在 40 种含有 TBC 结构域的蛋白 (图 2)。目前, 其大部分成员的作用底物及功能尚不清楚。

TBC 结构域由约 200 个氨基酸残基组成。晶体学结构研究发现, 该结构域中含有两个十分重要的

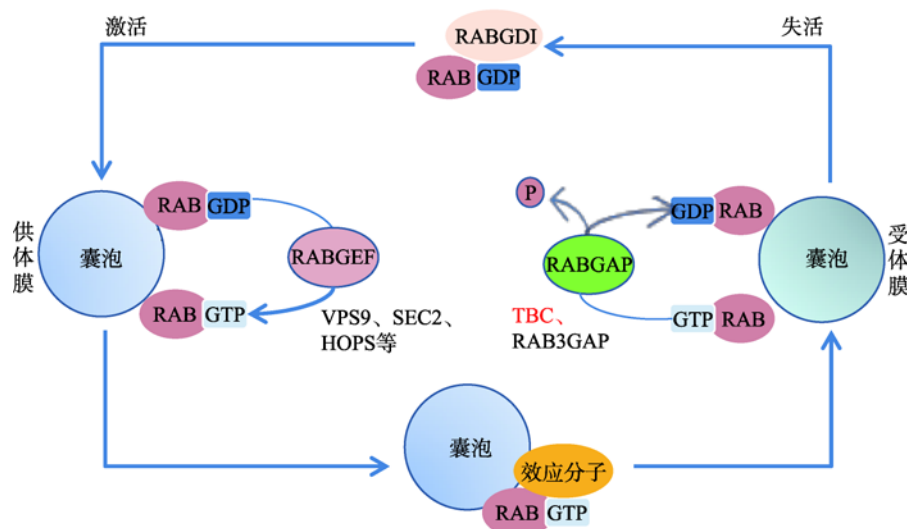


图 1 Rab 循环

Fig. 1 Rab cycle

Rab 在 GDP 结合的非活性状态和 GTP 结合的活性状态之间循环。两种状态之间的循环由激活酶 GEF (如 VPS9、SEC2、HOPS 蛋白复合物) 和失活酶 GAP (如 TBC、RAB3GAP 蛋白) 调节。Rab 特异性 GDP 解离抑制剂 (RABGDI) 促进从受体膜向供体膜募集 Rab-GDP。Rab 特异性鸟嘌呤核苷酸交换因子 (RABGEF) 通过与细胞内丰富的 GTP 结合形成激活的 Rab-GTP。Rab 特异性 GTP 酶激活蛋白 (RABGAP, 如包含 Tre2-Bub2-Cdc16(TBC) 结构域的蛋白) 可促进 GTP 水解。RABGAP: Rab 特异性 GTP 酶激活蛋白 (Rab-specific GTPase activating protein); RABGDI: Rab 特异性 GDP 解离抑制剂 (Rab-specific GDP dissociation inhibitor); RABGEF: Rab 特异性鸟嘌呤核苷酸交换因子 (Rab-specific guanine nucleotide exchange factor)。

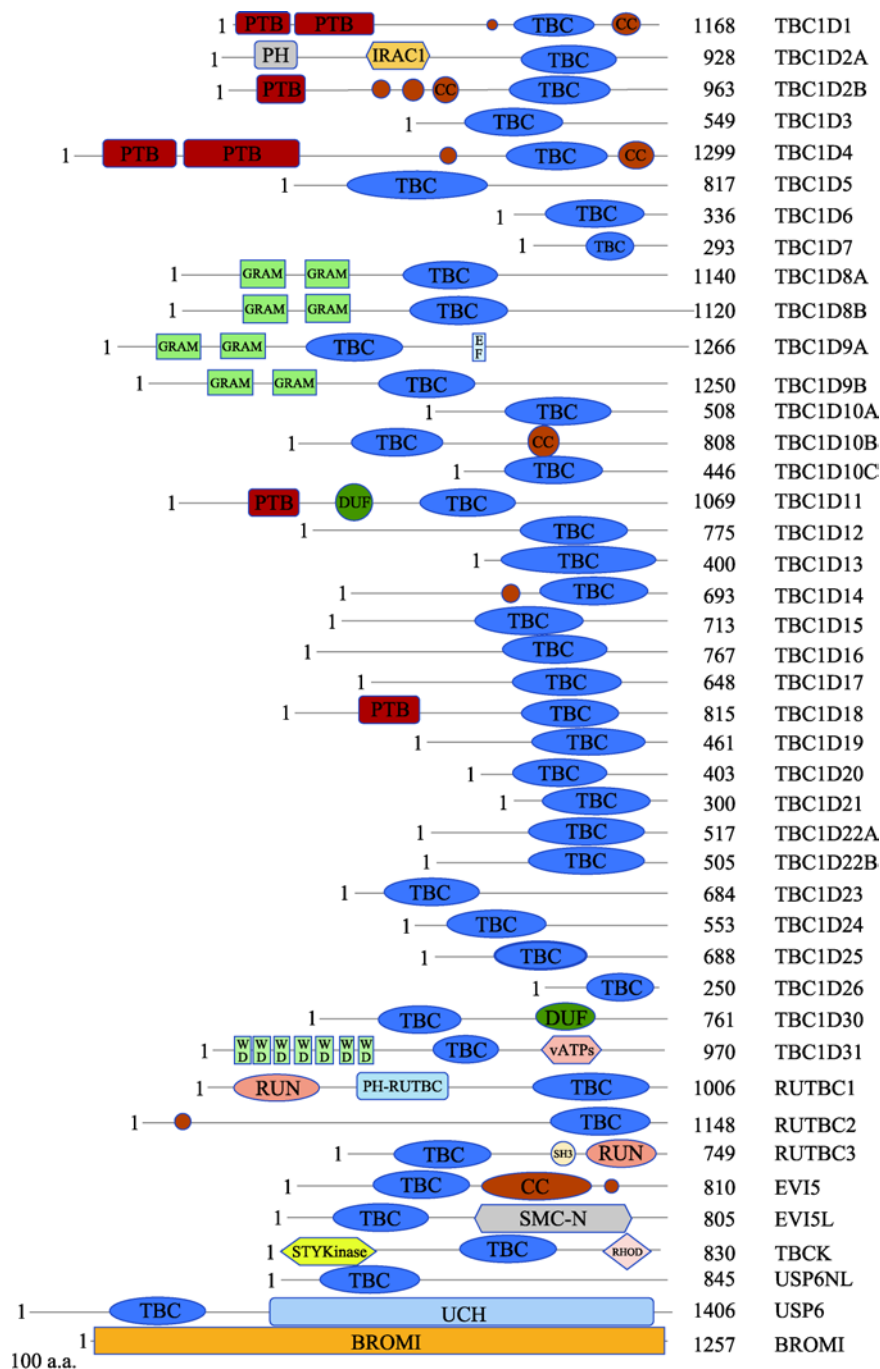


图 2 人类 TBC 蛋白的结构域示意图

Fig. 2 Structure of human TBC proteins

通过使用 HPRD(<http://www.hprd.org/>)和 NCBI(<http://www.ncbi.nih.gov/protein>)两个数据库查询含有 TBC 结构域的蛋白质,然后绘制其蛋白质结构域示意图。BROMI: 广泛的蛋白质(broad-minded protein);CC: 卷曲螺旋(coiled-coil);DUF: 未知功能结构域蛋白家族(domain of unknown function);GRAM: 岩藻糖基转移酶(gucosyl transferases);IRAC1: 与 RAC1 相互作用(interaction with RAC1);PH: pleckstrin 同源结构域(pleckstrin homology domain);PTB: 磷酸酪氨酸结合结构域(phosphotyrosine-binding domain);RHOD: 硫氰酸同源结构域(rhodanese homology domain);RUN: Run 结构域(Run domain);SH3: Src 同源结构域 3(Src homology 3 domain);SMC-N: SMC 的 N 端结构域(RecF/RecN/SMC N terminal domain);STYKase: Ser/Thr/Tyr 激酶(Ser/Thr/Tyr kinase);TBC: Tre2-Bub2-Cdc16 结构域(Tre2-Bub2-Cdc16 domain);vATPs: ATP 合成酶亚基(ATP synthase E/31 kDa subunit);UBP: 泛素 C-末端水解酶(ubiquitin C-terminal hydrolase);WD: WD40 结构域(WD40 domain)。

催化残基精氨酸(R)和谷氨酰胺(Q), 分别被称为 R 指和 Q 指。它们可将 Rabs 稳定在过渡态并催化 Rabs 的 GTP 水解, 其中精氨酸是其 Rab-GAP 活性最重要的决定因素<sup>[3]</sup>。将鲨鱼 TBC1D15-GAP 结构域的 R 和 Q 分别突变成丙氨酸(A)和赖氨酸(K)后, 其 GAP 活性消失<sup>[4]</sup>。一半以上的 TBC 家族成员均含有这两个指型结构, 被称为经典型 TBC 蛋白(也称 RQ 型)。然而也有部分 TBC 蛋白不含有 R 指和/或 Q 指, 这类蛋白被称为非经典的 TBC 蛋白。依据 TBC 蛋白所含有的结构域特征可细分为 RX 型、RR 型、XR 型、XQ 型和 XX 型(其中 X 代表该区域不含有催化残基精氨酸和谷氨酰胺)。目前对非经典的 TBC 蛋白调控 Rabs 的机制还知之甚少, 它们可能通过其他机制行使 GAP 活性的作用。

TBC 家族蛋白除了含有 TBC 结构域以外, 通常还含有其他结构域, 包括 PH(pleckstrin homology domain)、CC(coiled-coil)、PTB(phosphotyrosine-binding domain)或者 GRAM(gucosyl transferases)结构域等, 这些结构域对 TBC 蛋白的亚细胞定位以及功能调节十分重要。TBC1D2C/ARMUS 的 PH 结构域可与 E 钙粘素结合, 将 ARMUS 定位到粘着连接处<sup>[5]</sup>。TBC1D2B 的 CC 结构域可与 Rab22A 结合, 这种结合并不促进 Rab22A 上 GTP 的水解, 而是将 TBC1D2B 绑定到特定的囊泡中<sup>[6]</sup>。TBC1D11 的 PTB 结构域可与 Rab36 结合, 从而将 TBC1D11 绑定到含 Rab36 的核周囊泡或高尔基体上<sup>[6]</sup>。

## 2 TBC 家族蛋白的主要生化功能、生物学作用及其特征

最初在酵母中的研究发现 TBC 蛋白具有 GAP 活性, 能催化 Rab-GTP 水解为 Rab-GDP, 是 Rab 蛋白的负调控分子。随后, 在哺乳动物细胞中也发现了大量的 TBC 蛋白, 目前在人类中发现的 TBC 蛋白已多达 40 余种。大部分 TBC 蛋白是特异 Rab 蛋白的负调控分子, 能选择性促进特定 Rab 蛋白的水解和失活。尽管最初酵母 GYPs 的体外生化实验显示其只有较弱的底物特异性, 但遗传学和细胞生物学研究显示, 不同的 GYPs 参与了完全不同的转运过程, 其功能在体内具有明显的特异性。例如, 在

体外实验中, GYP7p 与 YPT7p 的结合只有部分特异性, 但在体内实验中 GYP7p 与蛋白激酶 YCK3p 一起调控 YPT7p, 参与液泡融合过程的调节<sup>[7,8]</sup>。此外, TBC 蛋白也参与不同 Rab 之间或者 Rab 与其他小 G 蛋白之间的信号传递。由此可见, TBC 家族成员参与了众多的生物学过程, 包括纤毛的形成、大胞饮、免疫突触的形成、胞质分裂和细胞自噬等(表 1)。

TBC 蛋白特异调控膜泡转运的过程和方式十分复杂, 但大致具有以下两点特征: (1)同一 TBC 蛋白可能参与调控多个 Rab 蛋白的活性, 而同一 Rab 蛋白也可能受到不同 TBC 蛋白的调节。例如, RN-tre 是第一个被确定参与内吞过程的 GAP, 它调节 Rab5 的活性, 并参与调控依赖于 Rab5 的 EGFR 内吞过程<sup>[9]</sup>。也有研究显示 RN-tre 可通过调控 Rab43 的活性, 参与志贺氏毒素(Shiga toxin)的胞内转运过程<sup>[10]</sup>。RN-tre 对上述两种特异性底物的选择性调节需要其他效应分子的参与。RabGAP-5 是 Rab5 的另一个 GAP 蛋白, 它具有高度的底物特异性<sup>[10,11]</sup>。RNA 干扰和过表达实验显示, RabGAP-5 可特异性阻断 EGFR 的转运过程, 但对其他内吞作用无影响<sup>[11]</sup>。(2)同一 TBC 蛋白可参与多种生物学过程, 同一生物学过程也可由多种不同的 TBC 蛋白完成。例如, RN-tre 可调节大胞饮和 EGFR 的内吞作用; TBC1D10 可调节微绒毛结构、外泌体的分泌和黑色素体的运输。TBC1D7、EVI5-L 和 TBC1D30 可分别作为 Rab17、Rab23 和 Rab8 的 GAP 蛋白发挥作用, 参与纤毛的形成。参与志贺氏毒素吸收的 TBC 蛋白则多达 6 种, 包括 EVI5、RN-tre/USP6NL、TBC1D10A-C 和 TBC1D17; 另外, TBC1D3、RN-tre 和 TBC1D16 均参与 EGFR 的胞内转运过程(表 1)。

综上所述, 每个 TBC 蛋白对特异 Rab 蛋白的调控作用十分复杂, 该过程可能受到上游的信号通路、蛋白分子的亚细胞定位、其他蛋白分子的协同等多方面的共同影响。因此, 全面解析 TBC 蛋白的调控作用还有待更多深入和全面的研究。

## 3 TBC 家族蛋白在疾病发生发展中的作用

由 Rab3A、Rab7、Rab23、Rab27A、Rab38 和 Rab39B 等 Rab 蛋白或其效应分子 GDI(GDP disso-

表 1 TBC 蛋白的底物和功能

Table 1 Substrates and functions of mammalian TBC proteins

TBC	底物	功能	疾病	参考文献
TBC1D1	Rab2A、Rab8A、Rab8B、Rab10、Rab14	GLUT4 的运输	2 型糖尿病；突变后易诱发肥胖	[12~14]
TBC1D2	Rab7	E 钙黏素的降解	在前列腺癌中高表达	[5,15]
TBC1D2B		与自噬小体相关		[16]
TBC1D3 (PRC17)	Rab5	大胞饮；抑制 EGFR 的降解	在前列腺癌和乳腺癌中高表达；骨髓增生异常综合症中存在基因扩增	[17~20]
TBC1D4	Rab2A、Rab8A、Rab10、Rab14	GLUT4 的运输；胰腺 $\beta$ 细胞 PKB 信号的效应分子	在过敏性皮炎患者的 T 细胞中表达上调	[21~25]
TBC1D6		生长激素调节其表达		[26]
TBC1D7		纤毛的形成；结合 TSC1；与自噬小体相关	在肺癌中高表达	[16,27]
TBC1D8			骨质疏松症的易感基因	[28]
TBC1D9	Rab7、Rab9			[29]
TBC1D9B	Rab11a	基底外侧到顶端的转胞吞作用		[30]
TBC1D10A	Rab27A、Rab35	黑色素体的运输 ;调节微绒毛结构和外泌体		[31, 32]
TBC1D10B	Rab3A、Rab3、Rab22A、Rab27A、Rab31、Rab27B	黑色素体的运输 ;外泌体分泌 ;调节胰腺腺泡细胞中的胞吐作用	志贺氏毒素的吸收	[33]
TBC1D10C	Rab35	T 细胞回收途径；免疫突触的形成；外泌体分泌		[31,34]
GAPCEN (TBC1D11)	Rab2、Rab4、Rab6、Rab11、Rab36	微管和高尔基体在细胞周期中的运动；调节纺锤体检测点		[35,36]
TBC1D12	Rab11	神经突触的生长		[37]
TBC1D15	Rab7、Rab11	与自噬小体相关；调节突触发育		[38]
TBC1D16	Rab4A、Rab5C	调节 EGFR 的降解、活化和信号	黑色素瘤中有扩增	[39~41]
TBC1D17	Rab21	志贺氏毒素的吸收		[42]
TBC1D18	Rab22A、Rab34、Rab39B			[32]
TBC1D20	Rab1、Rab2	内质网膜运输	丙肝病毒的复制；参与自噬体的成熟	[43~45]
TBC1D23			卡氏肺孢子虫感染中表达下调；高微卫星不稳定性肿瘤中有突变	[46]
TBC1D24		调节神经突触的长度和分支	遗传性婴儿肌阵挛癫痫患者中有突变	[47,48]
TBC1D25	Rab2A、Rab13、Rab34、Rab33A、Rab33B	自噬体的成熟	滑膜肉瘤组织中有断点	[49]
TBC1D30	Rab8A	纤毛的形成		[50]
RABGAP5	Rab5A、Rab5B、Rab5C	内吞作用		[42]
EVI5	Rab35、Rab11	胞质分裂	志贺氏毒素的吸收	[42,51]
EVI5-like	Rab4A、Rab7、Rab10、Rab23	纤毛的形成		[50]
TRE2 (USP6, TRE17)		内吞作用	尤文氏肉瘤中有易位；动脉瘤样骨囊肿中表达上调	[52]
RN-TRE (USP6NL)	Rab1、Rab2、Rab3A、Rab5A、Rab28、Rab41、Rab43	EGFR 的内吞；大胞饮；志贺氏毒素的吸收		[9,42]

GLUT4 :葡萄糖转运蛋白 4(glucose transporter 4) ;EGFR :表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor) ;PKB :蛋白激酶 B(protein kinase B) ; TSC1 : 结节性硬化症 1(tuberous sclerosis complex 1)。



ciation inhibitor)、REP(Rab escort protein)和 GGTA(geranyl geranyl transferase  $\alpha$ -subunit)等介导的膜泡转运功能障碍,已被广泛报道与人类疾病密切相关。TBC/Rab-GAPs 蛋白的生物学功能十分重要,与多种信号转导通路联系紧密,其失调会导致肥胖<sup>[12,14]</sup>、病毒或细菌感染<sup>[10,44,45]</sup>、癫痫<sup>[53]</sup>、过敏性皮炎<sup>[23]</sup>和肿瘤<sup>[54~57]</sup>等疾病。TBC 蛋白家族的部分基因在疾病中存在基因突变<sup>[46,58,59]</sup>、遗传学关联<sup>[18,28,60]</sup>、拷贝数扩增<sup>[19,55]</sup>或者表达异常<sup>[19,23,27]</sup>,同时与病毒蛋白的结合<sup>[44,45]</sup>和磷酸化修饰<sup>[13]</sup>也会导致 TBC/Rab-GAPs 蛋白 GAP 活性的改变。TBC 蛋白与疾病发生发展的相关性提示它可能作为疾病治疗的候选靶标。

TBC1D4(AS160)和 TBC1D1 是哺乳动物中细胞学功能或生理学功能研究较清楚的 TBC 蛋白。它们对血液中葡萄糖水平的调节十分重要,其功能异常可影响胰岛素的作用和葡萄糖的摄取,从而引起肥胖或消瘦。TBC1D4 是 AKT 的底物,参与了胰岛素刺激后的葡萄糖转运蛋白 4(glucose transporter 4, GLUT4)向细胞质膜的运输<sup>[61]</sup>。GLUT4 的运输对脂肪细胞中葡萄糖的摄入十分关键,可降低血液中葡萄糖的水平。突变分析证明 AKT 的磷酸化和 TBC1D4 的 GAP 活性是 GLUT4 转运过程所必需的<sup>[62]</sup>。在脂肪细胞 3T3-L1 中 Rab10 是 TBC1D4 的靶标<sup>[63,64]</sup>,而肌细胞 L6 中 Rab8A 和 Rab14 参与 GLUT4 的转运<sup>[65]</sup>,这表明 TBC1D4 的作用靶标具有细胞特异性。在静息状态下, TBC1D4 通过不断促进 Rab10 失活来抑制 GLUT4 转运至质膜。胰岛素刺激后, AKT 被激活,使 TBC1D4 磷酸化并失去 Rab10-GAP 活性,从而导致活化的 Rab10-GTP 介导 GLUT4 转运到质膜。TBC1D1 是 TBC1D4 的同源物,在肌细胞中大量表达,其识别的特异性底物与 TBC1D4 相似,也参与肌细胞中 GLUT4 的转运<sup>[13]</sup>。在一种瘦小型小鼠中 *TBC1D1* 基因存在突变<sup>[66]</sup> 胰岛素耐药患者中 *TBC1D4* 基因存在截短型突变<sup>[67]</sup>。

TBC1D20 可与丙型肝炎病毒(hepatitis C virus, HCV)的 NS5A 蛋白相互作用<sup>[45]</sup>,是 Rab1 的 GAP 蛋白(Rab1-GAP)。Rab1 主要负责从内质网向高尔基体的运输,过表达 TBC1D20 可阻断内质网中水疱性口炎病毒(vesicular stomatitis virus, VSV)G 蛋白的转运。敲低 Rab1 可显著降低细胞中 HCV 的 RNA 水平,提

示 Rab1 在 HCV 复制中起重要作用<sup>[44]</sup>。敲低 TBC1D20 也可严重损害 HCV 的 RNA 复制,但对细胞生存无显著影响<sup>[45]</sup>。上述结果表明, NS5A 与 TBC1D20 相互作用可促进 HCV 病毒的 RNA 复制 因此针对 TBC1D20 的靶向治疗可能成为抗 HCV 感染的新策略。

TBC1D24 在大脑皮层发育和突触前神经传递中起重要作用,该基因的突变可导致早发性癫痫并伴随不同程度的智力障碍、听力损失、皮层肌阵挛和小脑共济失调,是 DOORS 综合征(具有耳聋、指甲营养不良、骨营养不良、智力低下和癫痫发作等症状)的致病因素之一<sup>[47,48,58]</sup>。果蝇中 Skywalker 蛋白是人类 TBC1D24 的直系同源物,蛋白质结构研究发现 Skywalker 的 TBC 结构域中含有一个阳离子口袋,可直接结合质膜上 4、5 位发生磷酸化的磷酸肌醇[PI(4,5)P<sub>2</sub> 和 PI(3,4,5)P<sub>3</sub>]。Skywalker 基因的突变可影响其编码蛋白与质膜的结合,引起果蝇严重的神经缺陷,包括突触小泡的运输受损和癫痫<sup>[68]</sup>。

TBC 家族蛋白还与多种肿瘤的发生发展密切相关,其中大多数发挥癌蛋白的功能,参与调控细胞的恶性转化或转移。TBC/Rab-GAPs 在恶性肿瘤中的作用可能与其对 Rabs 的调控有直接的联系,这些调控可促进受体蛋白在细胞与细胞间、细胞与基质间的动态转运和回收,从而引起细胞发生侵袭。此外,很多癌基因信号通路的组分,如 EGFR、RAS 和 RAC,均定位于胞吞泡或者需要被正确转运至细胞膜或粘附位点<sup>[20,69]</sup>。例如, TBC1D3(也称 PRC17, prostate cancer gene 17)是 Rab5 的 GAP,它在转移性前列腺癌中上调表达,过表达 TBC1D3 可促进 NIH3T3 细胞在体外或体内的生长,促进其接触抑制现象丢失。将 TBC1D3 的 GAP 结构域突变失活后,其上述促癌作用消失<sup>[55]</sup>。分子机制研究显示, TBC1D3 过表达可抑制 EGFR 的泛素化、延迟降解,从而增强 EGFR 信号通路、促进细胞增殖<sup>[20]</sup>。再如,生物信息学分析显示 TBC1D16 为黑色素瘤的驱动基因,可促进黑色素瘤细胞生长<sup>[57]</sup>。表观遗传学研究显示, *TBC1D16* 的甲基化状态与黑色素瘤的进程相关<sup>[39~41]</sup>。在转移性黑色素瘤中 *TBC1D16* 处于低甲基化状态,使得 *TBC1D16-47KD* 高表达,从而加速黑色素瘤细胞在体外和体内的生长和转移。TBC1D16-47KD 对 Rab4A 和 Rab5C 具有 GAP 活性,促进 EGFR 的降

解。*TBC1D16-47KD* 启动子区甲基化水平低的黑色素瘤患者预后更差,但对 BRAF 和 MEK 抑制剂的敏感性更高<sup>[40]</sup>。又如,TBC1D7 是 Rab17 的 GAP,能显著促进肺癌细胞的生长、在肺癌组织中显著高表达、与患者的不良预后显著相关<sup>[27]</sup>。TBC1D7 可与 TSC1(Tuberous sclerosis complex 1, 结节性硬化症 1)相互作用,这种相互作用对 TBC1D7 蛋白的稳定十分重要<sup>[27]</sup>。含有 TBC1D7 第 152~171 位氨基酸的多肽可以抑制 TBC1D7-TSC1 复合体的形成,有效抑制肺癌细胞的生长。因此,抑制 TBC1D7 或者 TBC1D7-TSC1 复合体的形成有可能成为肺癌治疗的新策略<sup>[27]</sup>。

#### 4 结语与展望

近年来,针对 TBC 家族蛋白的研究越来越多。人们逐渐认识到,TBC 蛋白不仅可作为 Rab 的负调控分子,还可在膜泡运输,以及不同信号转导通路的协调中发挥效应分子或支架蛋白的作用。解析细胞中受 TBC 蛋白特异识别的 Rab 蛋白或与 TBC 蛋白相互作用的蛋白,有助于人们全面认识 TBC 的时空调节特征。更重要的是,TBC 家族蛋白功能异常是多种疾病的重要驱动因素之一。鉴于某些 TBC 蛋白可选择性调节某些关键的膜泡转运过程,它们有成为生物标志物或治疗靶标的潜能。然而,迄今为止尚无针对 TBC 蛋白的特异性药物被开发出来。TBC 蛋白的活性可能受到翻译后修饰、蛋白质定位变化、GAP 结构域失活突变等影响,针对这些过程的研究,有可能为靶向 TBC 蛋白的疾病治疗药物的研发开辟新的方向。

#### 参考文献(References):

- [1] Tzeng HT, Wang YC. Rab-mediated vesicle trafficking in cancer. *J Bio Med*, 2016, 23(1): 70. [DOI]
- [2] Richardson PM, Zon LI. Molecular cloning of a cDNA with a novel domain present in the tre-2 oncogene and the yeast cell cycle regulators BUB2 and cdc16. *Oncogene*, 1995, 11(6): 1139–1148. [DOI]
- [3] Pan X, Eathiraj S, Munson M, Lambright DG. TBC- domain GAPs for Rab GTPases accelerate GTP hydrolysis by a dual-finger mechanism. *Nature*, 2006, 442 (7100): 303–306. [DOI]
- [4] Chen YN, Gu X, Zhou XE, Wang W, Cheng D, Ge Y, Ye F, Xu HE, Lv Z. Crystal structure of TBC1D15 GTPase-activating protein (GAP) domain and its activity on Rab GTPases. *Protein Sci*, 2017, 26(4): 834–846. [DOI]
- [5] Frasa MA, Maximiano FC, Smolarczyk K, Francis RE, Betson ME, Lozano E, Goldenring J, Seabra MC, Rak A, Ahmadian MR. Armus is a Rac1 effector that inactivates Rab7 and regulates E-cadherin degradation. *Curr Biol*, 2010, 20(3): 198–208. [DOI]
- [6] Kanno E, Ishibashi K, Kobayashi H, Matsui T, Ohbayashi N, Fukuda M. Comprehensive screening for novel rab-binding proteins by GST pull-down assay using 60 different mammalian Rabs. *Traffic*, 2010, 11(4): 491–507. [DOI]
- [7] Eitzen G, Will E, Gallwitz D, Haas A, Wickner W. Sequential action of two GTPases to promote vacuole docking and fusion. *EMBO J*, 2000, 19(24): 6713–6720. [DOI]
- [8] Brett CL, Plemel RL, Lobingier BT, Vignali M, Fields S, Merz AJ. Efficient termination of vacuolar Rab GTPase signaling requires coordinated action by a GAP and a protein kinase. *J Cell Biol*, 2008, 182(6): 1141–1151. [DOI]
- [9] Lanzetti L, Rybin V, Malabarba MG, Christoforidis S, Scita G, Zerial M, Di Fiore PP. The Eps8 protein coordinates EGF receptor signalling through Rac and trafficking through Rab5. *Nature*, 2000, 408(6810): 374–377. [DOI]
- [10] Fuchs E, Haas AK, Spooner RA, Yoshimura S, Lord JM, Barr FA. Specific Rab GTPase-activating proteins define the Shiga toxin and epidermal growth factor uptake pathways. *J Cell Biol*, 2007, 177(6): 1133–1143. [DOI]
- [11] Haas AK, Fuchs E, Kopajtich R, Barr FA. A GTPase-activating protein controls Rab5 function in endocytic trafficking. *Nat Cell Biol*, 2005, 7(9): 887–893. [DOI]
- [12] Meyre D, Farge M, Lecoecur C, Proenca C, Durand E, Allegaert F, Tichet J, Marre M, Balkau B, Weill J, Delplanque J, Froguel P. R125W coding variant in TBC1D1 confers risk for familial obesity and contributes to linkage on chromosome 4p14 in the French population. *Hum Mol Genet*, 2008, 17(12): 1798–1802. [DOI]
- [13] Peck GR, Chavez JA, Roach WG, Budnik BA, Lane WS, Karlsson HK, Zierath JR, Lienhard GE. Insulin-stimulated phosphorylation of the Rab GTPase-activating protein TBC1D1 regulates GLUT4 translocation. *J Biol Chem*, 2009, 284(44): 30016–30023. [DOI]
- [14] Stone S, Abkevich V, Russell DL, Riley R, Timms K, Tran T, Trem D, Frank D, Jammulapati S, Neff CD, Iliev D, Gress R, He G, Frech GC, Adams TD, Skolnick MH,

- Lanchbury JS, Gutin A, Hunt SC, Shattuck D. TBC1D1 is a candidate for a severe obesity gene and evidence for a gene/gene interaction in obesity predisposition. *Hum Mol Genet*, 2006, 15(18): 2709–2720. [DOI]
- [15] Zhou Y, Toth M, Hamman MS, Monahan SJ, Lodge PA, Boynton AL, Salgaller ML. Serological cloning of PARIS-1: a new TBC domain-containing, immunogenic tumor antigen from a prostate cancer cell line. *Biochem Bioph Res Co*, 2002, 290(2): 830–838. [DOI]
- [16] Behrends C, Sowa ME, Gygi SP, Harper JW. Network organization of the human autophagy system. *Nature*, 2010, 466(7302): 68. [DOI]
- [17] Frittoli E, Palamidessi A, Pizzigoni A, Lanzetti L, Garrè M, Troglio F, Troilo A, Fukuda M, Di Fiore PP, Scita G. The primate-specific protein TBC1D3 is required for optimal macropinocytosis in a novel ARF6-dependent pathway. *Mol Biol Cell*, 2008, 19(4): 1304–1316. [DOI]
- [18] Hodzic D, Kong C, Wainszelbaum MJ, Charron AJ, Su X, Stahl PD. TBC1D3, a hominoid oncoprotein, is encoded by a cluster of paralogues located on chromosome 17q12. *Genomics*, 2006, 88(6): 731–736. [DOI]
- [19] Starczynowski DT, Vercauteren S, Telenius A, Sung S, Tohyama K, Brooks-Wilson A, Spinelli JJ, Eaves CJ, Eaves AC, Horsman DE, Lam WL, Karsan A. High-resolution whole genome tiling path array CGH analysis of CD34+ cells from patients with low-risk myelodysplastic syndromes reveals cryptic copy number alterations and predicts overall and leukemia-free survival. *Blood*, 2008, 112(8): 3412–3424. [DOI]
- [20] Wainszelbaum MJ, Charron AJ, Kong C, Kirkpatrick DS, Srikanth P, Barbieri MA, Gygi SP, Stahl PD. The hominoid-specific oncogene TBC1D3 activates Ras and modulates epidermal growth factor receptor signaling and trafficking. *J Biol Chem*, 2008, 283(19): 13233–13242. [DOI]
- [21] Bouzakri K, Ribaux P, Tomas A, Parnaud G, Rickenbach K, Halban PA. Rab GTPase-activating protein AS160 is a major downstream effector of protein kinase B/Akt signaling in pancreatic  $\beta$ -cells. *Diabetes*, 2008, 57(5): 1195–1204. [DOI]
- [22] Larance M, Ramm G, Stöckli J, van Dam EM, Winata S, Wasinger V, Simpson F, Graham M, Junutula JR, Guilhaus M. Characterization of the role of the Rab GTPase-activating protein AS160 in insulin-regulated GLUT4 trafficking. *J Biol Chem*, 2005, 280(45): 37803–37813. [DOI]
- [23] Matsumoto Y, Imai Y, Lu Yoshida N, Sugita Y, Tanaka T, Tsujimoto G, Saito H, Oshida T. Upregulation of the transcript level of GTPase activating protein KIAA0603 in T cells from patients with atopic dermatitis. *FEBS Lett*, 2004, 572(1-3): 135–140. [DOI]
- [24] Mäinea CP, Sano H, Kane S, Sano E, Fukuda M, Peränen J, Lane WS, Lienhard GE. AS160, the Akt substrate regulating GLUT4 translocation, has a functional Rab GTPase-activating protein domain. *Biochem J*, 2005, 391(1): 87–93. [DOI]
- [25] Sun Y, Bilan PJ, Liu Z, Klip A. Rab8A and Rab13 are activated by insulin and regulate GLUT4 translocation in muscle cells. *P Natl A Sci*, 2010, 107(46): 19909–19914. [DOI]
- [26] Lu C, Kasik J, Stephan DA, Yang S, Sperling MA, Menon RK. Grtp1, a novel gene regulated by growth hormone. *Endocrinology*, 2001, 142(10): 4568–4571. [DOI]
- [27] Sato N, Koinuma J, Ito T, Tsuchiya E, Kondo S, Nakamura Y, Daigo Y. Activation of an oncogenic TBC1D7 (TBC1 domain family, member 7) protein in pulmonary carcinogenesis. *Gene Chromosome Canc*, 2010, 49(4): 353–367. [DOI]
- [28] Hsu Y-H, Zillikens MC, Wilson SG, Farber CR, Demissie S, Soranzo N, Bianchi EN, Grundberg E, Liang L, Richards JB. An integration of genome-wide association study and gene expression profiling to prioritize the discovery of novel susceptibility Loci for osteoporosis-related traits. *PLoS Genet*, 2010, 6(6): e1000977. [DOI]
- [29] Nakamura Y, Asano A, Hosaka Y, Takeuchi T, Iwanaga T, Yamano Y. Expression and intracellular localization of TBC1D9, a Rab GTPase-accelerating protein, in mouse testes. *Exp Anim(Tokyo)*, 2015, 64(4): 415–424. [DOI]
- [30] Gallo LI, Liao Y, Ruiz WG, Clayton DR, Li M, Liu Y-J, Jiang Y, Fukuda M, Apodaca G, Yin X-M. TBC1D9B functions as a GTPase-activating protein for Rab11a in polarized MDCK cells. *Mol Biol Cell*, 2014, 25(23): 3779–3797. [DOI]
- [31] Hsu C, Morohashi Y, Yoshimura S-i, Manrique-Hoyos N, Jung S, Lauterbach MA, Bakhti M, Grønborg M, Möbius W, Rhee J. Regulation of exosome secretion by Rab35 and its GTPase-activating proteins TBC1D10A–C. *J Cell Biol*, 2010, 189(2): 223–232. [DOI]
- [32] Itoh T, Satoh M, Kanno E, Fukuda M. Screening for target Rabs of TBC (Tre - 2/Bub2/Cdc16) domain - containing proteins based on their Rab - binding activity. *Genes Cells*, 2006, 11(9): 1023–1037. [DOI]
- [33] Hou Y, Chen X, Tolmachova T, Ernst SA, Williams JA. EPI64B acts as a GTPase-activating protein for Rab27B in pancreatic acinar cells. *J Biol Chem*, 2013, 288(27): 19548–19557. [DOI]
- [34] Patino-Lopez G, Dong X, Ben-Aissa K, Bernot KM, Itoh T, Fukuda M, Kruhlak MJ, Samelson LE, Shaw S. Rab35 and



- its GAP EPI64C in T cells regulate receptor recycling and immunological synapse formation. *J Biol Chem*, 2008, 283(26): 18323–18330. [DOI]
- [35] Cuif MH, Possmayer F, Zander H, Bordes N, Jollivet F, Couedel - Courteille A, Janoueix - Lerosey I, Langsley G, Bornens M, Goud B. Characterization of GAPCenA, a GTPase activating protein for Rab6, part of which associates with the centrosome. *EMBO J*, 1999, 18(7): 1772–1782. [DOI]
- [36] Miserey - Lenkei S, Cou  del - Courteille A, Del Nery E, Bardin S, Piel M, Racine V, Sibarita JB, Perez F, Bornens M, Goud B. A role for the Rab6AGTPase in the inactivation of the Mad2 - spindle checkpoint. *EMBO J*, 2006, 25(2): 278–289. [DOI]
- [37] Oguchi ME, Noguchi K, Fukuda M. TBC1D12 is a novel Rab11-binding protein that modulates neurite outgrowth of PC12 cells. *PLoS one*, 2017, 12(4): e0174883. [DOI]
- [38] Lee M-J, Jang S, Nahm M, Yoon J-H, Lee S. Tbc1d15–17 regulates synaptic development at the Drosophila neuromuscular junction. *Mol cells*, 2013, 36(2): 163–168. [DOI]
- [39] Jeremian R, Chen YA, De Luca V, Vincent JB, Kennedy JL, Zai CC, Strauss J. Investigation of correlations between DNA methylation, suicidal behavior and aging. *Bipolar Disord*, 2017, 19(1): 32–40. [DOI]
- [40] Vizoso M, Ferreira HJ, Lopez-Serra P, Carmona FJ, Martinez-Cardus A, Girotti MR, Villanueva A, Guil S, Moutinho C, Liz J, Portela A, Heyn H, Moran S, Vidal A, Martinez-Iniesta M, Manzano JL, Fernandez-Figueras MT, Elez E, Munoz-Couselo E, Botella-Estrada R, Berrocal A, Ponten F, Oord J, Gallagher WM, Frederick DT, Flaherty KT, McDermott U, Lorigan P, Marais R, Esteller M. Epigenetic activation of a cryptic TBC1D16 transcript enhances melanoma progression by targeting EGFR. *Nat Med*, 2015, 21(7): 741–750. [DOI]
- [41] Wouters J, Vizoso M, Martinez-Cardus A, Carmona FJ, Govaere O, Laguna T, Joseph J, Dynodt P, Aura C, Foth M, Cloots R, van den Hurk K, Balint B, Murphy IG, McDermott EW, Sheahan K, Jirstrom K, Nodin B, Mallya-Udupi G, van den Oord JJ, Gallagher WM, Esteller M. Comprehensive DNA methylation study identifies novel progression-related and prognostic markers for cutaneous melanoma. *BMC Med*, 2017, 15(1): 101. [DOI]
- [42] Fuchs E, Haas AK, Spooner RA, Yoshimura S-i, Lord JM, Barr FA. Specific Rab GTPase-activating proteins define the Shiga toxin and epidermal growth factor uptake pathways. *J Cell Biol*, 2007, 177(6): 1133–1143. [DOI]
- [43] Sidjanin D, Park AK, Ronchetti A, Martins J, Jackson WT. TBC1D20 mediates autophagy as a key regulator of autophagosome maturation. *Autophagy*, 2016, 12(10): 1759–1775. [DOI]
- [44] Sklan EH, Serrano RL, Einav S, Pfeffer SR, Lambright DG, Glenn JS. TBC1D20 is a Rab1 GTPase-activating protein that mediates hepatitis C virus replication. *J Biol Chem*, 2007, 282(50): 36354–36361. [DOI]
- [45] Sklan EH, Staschke K, Oakes TM, Elazar M, Winters M, Aroeti B, Danieli T, Glenn JS. A Rab-GAP TBC domain protein binds hepatitis C virus NS5A and mediates viral replication. *J Virol*, 2007, 81(20): 11096–11105. [DOI]
- [46] Shin N, You KT, Lee H, Kim WK, Song M, Choi HJ, Rhee H, Nam SW, Kim H. Identification of frequently mutated genes with relevance to nonsense mediated mRNA decay in the high microsatellite instability cancers. *Int J Cancer*, 2011, 128(12): 2872–2880. [DOI]
- [47] Campeau PM, Kasperaviciute D, Lu JT, Burrage LC, Kim C, Hori M, Powell BR, Stewart F, Felix TM, van den Ende J, Wisniewska M, Kayserili H, Rump P, Nampoothiri S, Aftimos S, Mey A, Nair LD, Begleiter ML, De Bie I, Meenakshi G, Murray ML, Repetto GM, Golabi M, Blair E, Male A, Giuliano F, Kariminejad A, Newman WG, Bhaskar SS, Dickerson JE, Kerr B, Banka S, Giltay JC, Wieczorek D, Tostevin A, Wiszniewska J, Cheung SW, Hennekam RC, Gibbs RA, Lee BH, Sisodiya SM. The genetic basis of DOORS syndrome: an exome-sequencing study. *Lancet Neurol*, 2014, 13(1): 44–58. [DOI]
- [48] Lozano R, Herman K, Rothfuss M, Rieger H, Bayrak-Toydemir P, Aprile D, Fruscione F, Zara F, Fassio A. Clinical intrafamilial variability in lethal familial neonatal seizure disorder caused by TBC1D24 mutations. *Am J Med Genet A*, 2016, 170(12): 3207–3214. [DOI]
- [49] Itoh T, Kanno E, Uemura T, Waguri S, Fukuda M. OATL1, a novel autophagosome-resident Rab33B-GAP, regulates autophagosomal maturation. *J Cell Biol*, 2011, 192(5): 839–853. [DOI]
- [50] Yoshimura S-i, Egerer J, Fuchs E, Haas AK, Barr FA. Functional dissection of Rab GTPases involved in primary cilium formation. *J Cell Biol*, 2007, 178(3): 363–369. [DOI]
- [51] Faltar SL, Sossey-Alaoui K, Ranalli TA, Cowell JK. EVI5 protein associates with the INCENP-aurora B kinase-survivin chromosomal passenger complex and is involved in the completion of cytokinesis. *Exp Cell Res*, 2006, 312(12): 2325–2335. [DOI]
- [52] Martinu L, Masuda-Robens JM, Robertson SE, Santy LC, Casanova JE, Chou MM. The TBC (Tre-2/Bub2/Cdc16) domain protein TRE17 regulates plasma membrane-endosomal trafficking through activation of Arf6. *Mol Cell Biol*, 2004, 24(22): 9752–9762. [DOI]

- [53] Mucha BE, Hennekam RCM, Sisodiya S, Campeau PM. TBC1D24-Related Disorders. In: Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, Wallace SE, Bean LJH, Mefford HC, Stephens K, Amemiya A, Ledbetter N, editors. GeneReviews? [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993–2017. [DOI]
- [54] Oliveira AM, Hsi BL, Weremowicz S, Rosenberg AE, Dal Cin P, Joseph N, Bridge JA, Perez-Atayde AR, Fletcher JA. USP6 (Tre2) fusion oncogenes in aneurysmal bone cyst. *Cancer Res*, 2004, 64(6): 1920–1923. [DOI]
- [55] Pei L, Peng Y, Yang Y, Ling XB, Van Eyndhoven WG, Nguyen KC, Rubin M, Hoey T, Powers S, Li J. PRC17, a novel oncogene encoding a Rab GTPase-activating protein, is amplified in prostate cancer. *Cancer Res*, 2002, 62 (19): 5420–5424. [DOI]
- [56] Nakamura T, Hillova J, Mariage-Samson R, Onno M, Huebner K, Cannizzaro LA, Boghosian-Sell L, Croce CM, Hill M. A novel transcriptional unit of the tre oncogene widely expressed in human cancer cells. *Oncogene*, 1992, 7(4): 733–741. [DOI]
- [57] Akavia UD, Litvin O, Kim J, Sanchez-Garcia F, Kotliar D, Causton HC, Pochanard P, Mozes E, Garraway LA, Pe'er D. An integrated approach to uncover drivers of cancer. *Cell*, 2010, 143(6): 1005–1017. [DOI]
- [58] Corbett MA, Bahlo M, Jolly L, Afawi Z, Gardner AE, Oliver KL, Tan S, Coffey A, Mulley JC, Dibbens LM, Simri W, Shalata A, Kivity S, Jackson GD, Berkovic SF, Gecz J. A focal epilepsy and intellectual disability syndrome is due to a mutation in TBC1D24. *Am J Hum Genet*, 2010, 87(3): 371–375. [DOI]
- [59] Falace A, Filipello F, La Padula V, Vanni N, Madia F, De Pietri Tonelli D, de Falco FA, Striano P, Dagna Bricarelli F, Minetti C, Benfenati F, Fassio A, Zara F. TBC1D24, an ARF6-interacting protein, is mutated in familial infantile myoclonic epilepsy. *Am J Hum Genet*, 2010, 87(3): 365–370. [DOI]
- [60] Dechamps C, Bach S, Portetelle D, Vandenbol M. The Tre2 oncoprotein, implicated in Ewing's sarcoma, interacts with two components of the cytoskeleton. *Biotechnol Lett*, 2006, 28(4): 223–231. [DOI]
- [61] Kane S, Sano H, Liu SC, Asara JM, Lane WS, Garner CC, Lienhard GE. A method to identify serine kinase substrates. Akt phosphorylates a novel adipocyte protein with a Rab GTPase-activating protein (GAP) domain. *J Biol Chem*, 2002, 277(25): 22115–22118. [DOI]
- [62] Sano H, Kane S, Sano E, Miinea CP, Asara JM, Lane WS, Garner CW, Lienhard GE. Insulin-stimulated phosphorylation of a Rab GTPase-activating protein regulates GLUT4 translocation. *J Biol Chem*, 2003, 278(17): 14599–14602. [DOI]
- [63] Sano H, Roach WG, Peck GR, Fukuda M, Lienhard GE. Rab10 in insulin-stimulated GLUT4 translocation. *Biochem J*, 2008, 411(1): 89–95. [DOI]
- [64] Sano H, Eguez L, Teruel MN, Fukuda M, Chuang TD, Chavez JA, Lienhard GE, McGraw TE. Rab10, a target of the AS160 Rab GAP, is required for insulin-stimulated translocation of GLUT4 to the adipocyte plasma membrane. *Cell Metab*, 2007, 5(4): 293–303. [DOI]
- [65] Randhawa VK, Ishikura S, Talior-Volodarsky I, Cheng AW, Patel N, Hartwig JH, Klip A. GLUT4 vesicle recruitment and fusion are differentially regulated by Rac, AS160, and Rab8A in muscle cells. *J Biol Chem*, 2008, 283(40): 27208–27219. [DOI]
- [66] Chadt A, Leicht K, Deshmukh A, Jiang LQ, Scherneck S, Bernhardt U, Dreja T, Vogel H, Schmolz K, Kluge R, Zierath JR, Hultschig C, Hoeber RC, Schurmann A, Joost HG, Al-Hasani H. Tbc1d1 mutation in lean mouse strain confers leanness and protects from diet-induced obesity. *Nat Genet*, 2008, 40(11): 1354–1359. [DOI]
- [67] Dash S, Sano H, Rochford JJ, Semple RK, Yeo G, Hyden CS, Soos MA, Clark J, Rodin A, Langenberg C, Druet C, Fawcett KA, Tung YC, Wareham NJ, Barroso I, Lienhard GE, O'Rahilly S, Savage DB. A truncation mutation in TBC1D4 in a family with acanthosis nigricans and postprandial hyperinsulinemia. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2009, 106(23): 9350–9355. [DOI]
- [68] Fischer B, Luthy K, Paesmans J, De Koninck C, Maes I, Swerts J, Kuenen S, Uytterhoeven V, Verstreken P, Versees W. Skywalker-TBC1D24 has a lipid-binding pocket mutated in epilepsy and required for synaptic function. *Nat Struct Mol Biol*, 2016, 23(11): 965–973. [DOI]
- [69] Palamidessi A, Frittoli E, Garre M, Faretta M, Mione M, Testa I, Diaspro A, Lanzetti L, Scita G, Di Fiore PP. Endocytic trafficking of Rac is required for the spatial restriction of signaling in cell migration. *Cell*, 2008, 134(1): 135–147. [DOI]