



细胞力学蛋白相分离的研究进展*

罗国文, 周陈晨[△]

口腔疾病研究国家重点实验室 国家口腔疾病临床医学研究中心 四川大学华西口腔医院(成都 610041)

【摘要】 细胞对力学刺激做出相应的反应很大程度上取决于细胞自身的结构,细胞内丰富的力学蛋白在响应外界力学信号刺激中也起着关键作用。液-液相分离(liquid-liquid phase separation, LLPS)是蛋白质或蛋白质-RNA复合物自发分离形成两个不同的“相”的过程,即共同存在的低浓度相和高浓度相。研究发现无膜细胞器通过LLPS来形成并维持自身结构,并调节内部的生化活动。LLPS作为一种细胞内调节生物大分子生化反应的新机制,在调控细胞力学蛋白响应中发挥着至关重要的作用。它通过生物大分子之间的多价相互作用形成高浓度的液相凝聚体,进而调控细胞内一系列生命活动。已有研究表明多种细胞力学蛋白通过LLPS响应外界力学信号,进而影响细胞生长、增殖、扩散、迁移、凋亡等生物学行为。除了介绍细胞力学、液-液相分离的发生机制外,本综述还从含LIM结构域的蛋白1(LIM domain-containing protein 1, LIMD1)相分离调控黏着斑成熟和力学信号转导、闭锁小带蛋白(zonula occludens, ZO)相分离调控细胞间紧密连接、Hippo信号通路的力学蛋白相分离调控细胞增殖和凋亡等方面介绍细胞力学蛋白相分离的最新进展。LLPS的提出不仅解释了细胞内无膜细胞器的形成机制,更为理解细胞内生理或病理的生物学功能提供了新的解题思路。但LLPS驱动黏着斑和细胞边缘动力学的分子机制仍然不完全明了,体外条件下的LLPS能否在机体生理条件下发生仍未明确,通过LLPS解释细胞内多种分子的相互作用仍存在困难,这些方向的研究有待开展。

【关键词】 液-液相分离 细胞力学 细胞力学蛋白 综述

Latest Findings on Phase Separation of Cytomechanical Proteins LUO Guowen, ZHOU Chenchen[△]. State Key Laboratory of Oral Diseases & National Clinical Research Center for Oral Diseases, West China Hospital of Stomatology, Sichuan University, Chengdu 610041, China

[△] Corresponding author, E-mail: chenchenzhou5510@scu.edu.cn

【Abstract】 The cellular response to mechanical stimuli depends largely on the structure of the cell itself and the abundance of intracellular cytomechanical proteins also plays a key role in the response to the stimulation of external mechanical signals. Liquid-liquid phase separation (LLPS) is the process by which proteins or protein-RNA complexes spontaneously separate and form two distinct "phases", ie, a low-concentration phase coexisting with a high-concentration phase. According to published findings, membrane-free organelles form and maintain their structures and regulate their internal biochemical activities through LLPS. LLPS, a novel mechanism for intracellular regulation of the biochemical reactions of biomacromolecules, plays a crucial role in modulating the responses of cytomechanical proteins. LLPS leads to the formation of highly concentrated liquid-phase condensates through multivalent interactions between biomacromolecules, thereby regulating a series of intracellular life activities. It has been reported that a variety of cytomechanical proteins respond to external mechanical signals through LLPS, which in turn affects biological behaviors such as cell growth, proliferation, spreading, migration, and apoptosis. Herein, we introduced the mechanisms of cytomechanics and LLPS. In addition, we presented the latest findings on cytomechanical protein phase separation, covering such issues as the regulation of focal adhesion maturation and mechanical signal transduction by LIM domain-containing protein 1 (LIMD1) phase separation, the regulation of intercellular tight junctions by zonula occludens (ZO) phase separation, and the regulation of cell proliferation and apoptosis by cytomechanical protein phase separation of the Hippo signaling pathway. The proposition of LLPS provides an explanation for the formation mechanism of intracellular membraneless organelles and supplies new approaches to understanding the biological functions of intracellular physiology or pathology. However, the molecular mechanisms by which LLPS drives focal adhesions and cell-edge dynamics are still not fully understood. It is not clear whether LLPS under *in vitro* conditions can occur under physiological conditions of organisms. There are still difficulties to be overcome in using LLPS to explain the interactions of multiple intracellular molecules. Researchers should pursue answers to these questions in the future.

【Key words】 Liquid-liquid phase separation Cytomechanics Cytomechanical protein Review

液-液相分离(liquid-liquid phase separation, LLPS)在生物学中是指蛋白质和核酸等生物大分子在细胞内聚集

的一种特殊状态。细胞中的相分离指的是由弱相互作用的蛋白质或核酸聚集在一起,当达到一定浓度后产生相变,形成生物分子聚集物,从而调控一系列生物学反应。细胞由磷脂,胆固醇和蛋白质组成的细胞膜所包裹,具有高度的流动性,再加上细胞内部的复杂组成,通常将细胞

* 国家自然科学基金项目(No. 82222015, No. 82171001)资助

[△] 通信作者, E-mail: chenchenzhou5510@scu.edu.cn

出版日期: 2024-01-20

视为黏弹性材料。因此,在力学刺激下,细胞应变是一个复杂的过程。研究表明,细胞通过多种细胞力学蛋白对外界的力学刺激做出相应的反应。然而,力学蛋白响应外界力学刺激的具体机制尚未完全阐明,蛋白相分离也许是解释细胞力学响应的全新思路。本综述讨论了 LLPS 在细胞力学中的最新研究进展。

1 细胞力学的介绍

细胞力学是生物力学的一个重要分支,主要研究在机械荷载作用下细胞的变形及细胞的黏弹性、黏附力等力学特性,以及外界应力对细胞生长、迁移、分化、老化、凋亡等生物学行为的调节机制。生物体内具有复杂的力学微环境,这使得组织内的细胞持续地暴露于外力^[1],例如流体剪切力、细胞外基质来源的力以及拉伸力等。细胞感受到力学刺激后,便将这些力学刺激信号转化为生物信号,从而在特定时间和空间上激活细胞内一系列的连锁反应,最后影响细胞功能^[2]。细胞在受力变形后显示出增加的应力/应变斜率,在一定范围内,应力与应变成正相关^[3]。

细胞对力学刺激做出相应的反应很大程度上取决于细胞自身的结构。细胞膜由磷脂、蛋白质和胆固醇构成。独特的磷脂双分子层结构使其具有高度的流动性,在应力作用下显示出较高的黏弹性^[4]。因此,细胞容易在力学载荷的刺激下发生变形,进而影响细胞内的生物学过程。细胞质作为多孔黏性的流体有利于细胞发生缓慢的变形,相反,这种弹性且类固体样的特性也能够抵抗快速的变形^[5]。除此之外,细胞内细胞骨架网络、细胞核以及有膜细胞器都可以表现出弹性性质^[6-8]。

另外,细胞内丰富的力学蛋白在响应外界力学信号刺激中也起着关键作用。细胞受外界力学刺激后,细胞膜上的整合素与钙黏蛋白等被胞外配体所激活,其细胞内的结构域尾与纤维状的肌动蛋白结合^[9-10]。与此同时,活化的肌球蛋白突起,即肌球蛋白交叉桥,与附近的肌动蛋白微丝相互作用形成一个复合骨架,在 ATP 水解驱动作用下,对细胞外机械力进行转导与响应,细胞内骨架继而做出一系列变化,从而改变细胞的生物学行为^[11-13]。

2 LLPS 的介绍

细胞是生物体结构和功能的基本单元,细胞中的各种成分在时空上聚集以执行各种功能。为了实现结构和功能的区室化,细胞进化出了有膜细胞器和无膜细胞器。有膜细胞器将特定蛋白、核酸等物质通过双层脂质膜包裹起来以发挥正常的功能。然而,无膜细胞器缺乏

膜结构,却也能自主地控制内部生化活动并与周围的细胞质发生分子交换。近些年的研究揭示了无膜细胞器发生的生理学基础。无膜细胞器通过 LLPS 来形成并维持自身结构,并调节内部的生化活动^[14]。

通过 LLPS 形成的生物分子聚集物已经成为亚细胞组织和生化反应时空控制的重要机制^[15-16]。LLPS 是蛋白质或蛋白质-RNA 复合物自发分离形成两个不同的“相”的过程,即共同存在的低浓度相和高浓度相。LLPS 的发生在很大程度上依赖溶液中生物大分子的浓度、溶液所处的环境以及其物理化学性质,比如: pH、盐离子浓度、温度以及溶液中存在的其他蛋白质或核酸^[17-18]。当溶液中的生物大分子低于一个特定的浓度时,无论在什么样的温度和 pH 等条件下都不能发生相分离。然而,当高于这一浓度后,在合适的 pH 以及温度等条件下就能发生 LLPS。在形成生物分子冷凝物后,该体系中便有了两种存在形式,一种是形成的聚集物中较高浓度的“密”相,另一种是在溶液中散在低浓度的“稀”相。这两种存在形式并非一成不变,而可以随着外界条件的变化而发生相互转化^[19-21]。

LLPS 是由生物大分子之间的多价相互作用所驱动的,这类分子之间可以形成互作分子聚集物,这些聚集物中分子浓度不断升高,直至达到所在溶液体系的析出极限后,就会以 LLPS 的形式从溶液中析出^[22]。发生多价相互作用的蛋白质有其独特的结构特点,较为多见的可以发生 LLPS 的蛋白则以内部无序区(internal disordered region, IDR)为特点,又称低复杂度区(low complexity region, LCR)^[23-25]。LCR 是具有相分离能力的蛋白中一类常见的一级结构域,不能形成一个能量相对较低、单一的三维折叠结构而呈现出高度的可变性。所以,这些蛋白的构象能量常常与其一级序列相同,一级氨基酸序列决定了蛋白的相变能力,典型的决定性因素包括疏水性氨基酸的组成和模式等^[26-28]。

最近的研究表明,LLPS 在人类健康和疾病中起着至关重要的作用。LLPS 的生物学功能在细胞生理活动过程中可以发挥重要作用,例如可以感知环境的变化并对环境的变化做出快速响应,调节基因表达,控制信号传导以及促进细胞骨架的形成等^[29]。在当有外力作用于细胞时,细胞骨架结构做出相应调整,力学蛋白发生相分离,调控细胞的一系列生物学行为。

3 细胞力学蛋白相分离

3.1 LIMD1 相分离调控黏着斑成熟和力学信号转导

黏着斑(focal adhesions, FAs)是位于上皮细胞紧密连

接的下方,将细胞与细胞外基质连接起来,并通过肌动蛋白和整联蛋白起作用的结构。FAs由幼稚的黏着斑复合物成熟形成,包含整合素和一些其他分子^[30-31]。成熟的FAs表现出有序的超微结构,其中力传递层夹在整联蛋白层和肌动蛋白缔合层之间^[32]。FAs在细胞扩散和迁移过程中起着非常重要的作用。

含LIM结构域的蛋白1(LIM domain-containing protein 1, LIMD1)是含LIM结构域的蛋白家族成员和肿瘤抑制因子,在细胞内可以作为支架蛋白介导多种蛋白互作^[33]。WANG等^[34]的研究证明了力学信号可以诱导LIMD1在FAs富集并发生相分离,进而调控黏着斑的动态成熟、机械力学转导以及细胞迁移。免疫荧光染色显示LIMD1聚集物和FAs的标记分子桩蛋白(Paxillin)产生很好的共定位。LIMD1聚集物的荧光信号在单个FA内的分布更偏向于后部,这表明它参与了FAs的成熟过程^[32]。体外纯化蛋白实验也表明了LIMD1可以发生相分离并表现出类似液滴的特征。LIMD1可以通过相分离选择性地富集FAs上的特定蛋白组分,从而实现其成熟和功能。当把LIMD1的IDR区域与FUS上的IDR区域进行交换,合成的嵌合蛋白仍然能很好地形成生物分子聚集物,这表明了多价相互作用在LLPS发生过程中的关键作用。然而,当截断LIMD1的LIM位点和IDR结构域,发现其不能像全长LIMD1一样修复FAs动力学。

3.2 ZO相分离调控细胞间紧密连接

细胞连接是指相邻细胞以及细胞与细胞外基质之间的胞膜接触区特化形成的连接结构。细胞连接对于维持细胞和组织结构的完整性,加强细胞间的机械关联和调节细胞功能等方面非常重要^[35]。其中紧密连接主要存在于上皮细胞间连接的最顶端,包括闭合蛋白、密封蛋白、黏附分子等蛋白,其中闭锁小带蛋白(zonula occludens, ZO)属于细胞内的连接蛋白,其将肌动蛋白微丝以及闭合蛋白、密封蛋白、黏附分子的胞内区域连接起来^[36]。

BEUTEL等^[37]的研究发现ZO可以通过相分离形成与细胞膜相互作用的区室化结构,继而选择性地招募紧密连接相关蛋白,从而促进紧密连接的形成。当在细胞中过表达ZO后,如果表达量较低,外源表达的ZO可以定位到了紧密连接位点;如果表达量较高,外源表达的ZO也可以定位到非紧密连接位点形成液滴并可以发生漂白后荧光恢复。当使用红海海绵素A(Latrunculin A)抑制肌动蛋白的聚合后,F-肌动蛋白与ZO形成了高度富集的串珠状结构;除去Latrunculin A后,便恢复原来的细胞膜环状结构。

ZO在紧密连接处高度富集后发生相分离,那最开始的ZO是怎样逆浓度梯度从胞质聚集到紧密连接位点处呢?SCHWAYER等^[38]在发育中的斑马鱼胚胎中发现连接细胞的肌动球蛋白骨架的张力增大后,便可诱导卵黄囊胚层内的ZO-1向紧密连接处聚集并发生相分离,从而将非紧密连接处的ZO-1向紧密连接位点处转运。

3.3 Hippo信号通路的力学蛋白相分离调控细胞增殖和凋亡

Hippo信号通路是在黑腹果蝇中经遗传鉴定而发现的一条发育信号通路,其能响应细胞接触抑制、渗透压应激以及机械力等多种力学信号,从而调控细胞增殖和凋亡,影响组织生长和再生修复等生物学行为^[39-40]。其中,血管动素(angiomotin, AMOT)与肾脏和脑蛋白(kidney and brain protein, KIBRA)作为Hippo信号通路的上游调控蛋白,其通过相分离富集Hippo信号通路的核心激酶级联组分丝裂原活化蛋白激酶/支架蛋白复合物(MST/SAV complex)或大型肿瘤抑制因子/髓鞘相关少突胶质细胞碱性蛋白复合物(LATS/MOB complex),从而激活Hippo信号通路。另外,酪氨酸蛋白激酶相关蛋白(Yes-associated protein, YAP)和具有PDZ结合基序的转录共激活因子(transcriptional coactivator with PDZ-binding motif, TAZ)作为Hippo信号通路的下游调控蛋白,同样通过相分离调控靶基因表达。

研究发现,细胞接触抑制通过降低细胞骨架的F-肌动蛋白水平来促进AMOT的LLPS,从而激活Hippo信号通路以调控组织生长以及再生修复^[41]。在高细胞密度状态下,F-肌动蛋白水平显著下降,细胞内青色荧光蛋白(CFP)标记的AMOT(CFP-AMOT)形成聚集体。这些CFP-AMOT聚集体在荧光漂白后能快速恢复,即表明它们是通过LLPS形成的生物分子聚集体。进一步研究发现AMOT的LLPS是由其 α -螺旋卷曲结构介导的。体外蛋白纯化实验发现纯化的重组CFP-AMOT蛋白在体外也能通过LLPS形成液状聚集体。当在体外纯化系统中加入F-肌动蛋白后,CFP-AMOT会结合F-肌动蛋白而不形成聚集体,这表明F-肌动蛋白可以通过结合AMOT以抑制其发生LLPS。另外,通过山梨糖醇产生的渗透压刺激可以诱导细胞内黄色荧光蛋白(YFP)标记的KIBRA(YFP-KIBRA)形成聚集体^[42]。YFP-KIBRA聚集体显示出类似液体的特征,可以发生漂白后荧光恢复和液滴融合现象,证明了渗透压应激的确诱导了YFP-KIBRA发生相分离。在去除渗透压应激后,YFP-KIBRA聚集体消失^[41]。体外重构的YFP-KIBRA聚集体也可以富集Hippo信号通路的关键组分。

AMOT 和 KIBRA 可以通过 AMOT 的 PY 基序和 KIBRA 的两个 WW 结构域相互结合^[43]。在细胞接触抑制或渗透压应激下,细胞内KIBRA聚集体和AMOT聚集体都能合并成双相AMOT/KIBRA凝聚体。类似于AMOT或KIBRA单相聚集体,体外重构的AMOT/KIBRA双相缩合物可以富集MST/SAV复合物、LATS/MOB复合物以及YAP,表明双相缩合物在浓缩并激活Hippo激酶级联组分中的潜在作用^[41]。

YAP和TAZ是旁系同源物,具有相似的结构域以及部分重叠的功能,并且类似地受到Hippo激酶的调节,是Hippo信号通路下游的关键转录效应因子^[44-45]。已有研究表明,YAP和TAZ可以通过不同的模式相分离,控制时间和空间特异性靶基因的表达,从而调控细胞增殖和凋亡来控制器官大小^[46-47]。同时多项研究表明YAP和TAZ对机械力刺激敏感。CAI等^[47]研究报道,在高渗透压刺激几秒后,细胞内的YAP迅速在细胞质和细胞核中发生相分离,形成大且圆的生物分子凝聚物,并招募转录因子TEA域家族成员1(TEAD1)和YAP相关共激活因子(包括TAZ),从而诱导YAP特异性增殖基因的转录。然而,LU等^[48]报告称,TAZ具有更强的相分离能力,在没有高渗透压刺激的情况下,TAZ仍然可以在细胞中形成相分离的缩合物以驱动靶基因转录。

4 小结和展望

在过去的十年中,LLPS逐渐成为一个新兴且有吸引力的领域。LLPS的提出不仅解释了细胞内无膜细胞器的形成机制,更为理解细胞内生理或病理的生物学功能提供了新的解题思路。越来越多的研究逐步揭示了LLPS的生物学功能,但仍有许多具有LLPS潜力的蛋白质尚待进一步的研究。

在细胞力学领域,相分离似乎是一种便捷的可以去调节发生在运动细胞前端事件的时空行为。然而到目前为止所发现的有限的观察结果还远远不足,LLPS驱动黏着斑和细胞边缘动力学的分子机制仍然不完全明了,更广泛且深入的研究亟待开展。除此之外,在进行LLPS研究上,仍然有一些问题亟待解决。比如体外条件下发生的LLPS是否真的能在机体生理条件下发生?细胞内多种分子的相互作用,是否可以通过LLPS解释这种多组分互作行为?

总而言之,LLPS是一个年轻且发展迅速的领域,相信随着研究进展,我们能更好地理解LLPS的生物学功能。新发现可能对理解细胞力学行为和机体病理事件,比如肿瘤细胞增殖和扩散,具有至关重要的意义。

* * *

作者贡献声明 罗国文负责调查研究、初稿写作和审读与编辑写作,周晨晨负责论文构思、经费获取、提供资源、监督指导和审读与编辑写作。所有作者已经同意将文章提交给本刊,且对将要发表的版本进行最终定稿,并同意对工作的所有方面负责。

Author Contribution LUO Guowen is responsible for investigation, writing--original draft, and writing--review and editing. ZHOU Chenchen is responsible for conceptualization, funding acquisition, resources, supervision, and writing--review and editing. All authors consented to the submission of the article to the Journal. All authors approved the final version to be published and agreed to take responsibility for all aspects of the work.

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

Declaration of Conflicting Interests All authors declare no competing interests.

参 考 文 献

- [1] BUTCHER D T, ALLISTON T, WEAVER V M. A tense situation: forcing tumour progression. *Nat Rev Cancer*, 2009, 9(2): 108-122. doi: 10.1038/nrc2544.
- [2] JANMEY P A, MCCULLOCH C A. Cell mechanics: integrating cell responses to mechanical stimuli. *Annu Rev Biomed Eng*, 2007, 9: 1-34. doi: 10.1146/annurev.bioeng.9.060906.151927.
- [3] MARTINAC B, NIKOLAEV Y A, SILVANI G, et al. Cell membrane mechanics and mechanosensory transduction. *Curr Top Membr*, 2020, 86: 83-141. doi: 10.1016/bs.ctm.2020.08.002.
- [4] HAREENDRANATH S, SATHIAN S P. Dynamic response of red blood cells in health and disease. *Soft Matter*, 2023, 19(6): 1219-1230. doi: 10.1039/d2sm01090a.
- [5] CLARK A G, PALUCH E. Mechanics and regulation of cell shape during the cell cycle. *Results Probl Cell Differ*, 2011, 53: 31-73. doi: 10.1007/978-3-642-19065-0_3.
- [6] CAILLE N, THOUMINE O, TARDY Y, et al. Contribution of the nucleus to the mechanical properties of endothelial cells. *J Biomech*, 2002, 35(2): 177-187. doi: 10.1016/s0021-9290(01)00201-9.
- [7] INGBER D E, TENSEGRITY I. Cell structure and hierarchical systems biology. *J Cell Sci*, 2003, 116(Pt 7): 1157-1173. doi: 10.1242/jcs.00359.
- [8] MITCHISON T J, CHARRAS G T, MAHADEVAN L. Implications of a poroelastic cytoplasm for the dynamics of animal cell shape. *Semin Cell Dev Biol*, 2008, 19(3): 215-223. doi: 10.1016/j.semcdb.2008.01.008.
- [9] CHANGÉDE R, SHEETZ M. Integrin and cadherin clusters: a robust way to organize adhesions for cell mechanics. *Bioessays*, 2017, 39(1): 1-12. doi: 10.1002/bies.201600123.
- [10] MUI K L, CHEN C S, ASSOIAN R K. The mechanical regulation of integrin-cadherin crosstalk organizes cells, signaling and forces. *J Cell Sci*, 2016, 129(6): 1093-1100. doi: 10.1242/jcs.183699.
- [11] GUHATHAKURTA P, PROCHNIEWICZ E, THOMAS D D. Actin-myosin interaction: structure, function and drug discovery. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(9): 2628. doi: 10.3390/ijms19092628.
- [12] SQUIRE J. Special Issue: The actin-myosin interaction in muscle: background and overview. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(22): 5715. doi: 10.3390/ijms20225715.
- [13] ROOT D D. The dance of actin and myosin: a structural and spectroscopic perspective. *Cell Biochem Biophys*, 2002, 37(2): 111-139. doi: 10.1385/cbb:37:2:111.
- [14] BOEYNAEMS S, ALBERTI S, FAWZI N L, et al. Protein phase separation: a new phase in cell biology. *Trends Cell Biol*, 2018, 28(6):

- 420–435. doi: [10.1016/j.tcb.2018.02.004](https://doi.org/10.1016/j.tcb.2018.02.004).
- [15] BANANI S F, LEE H O, HYMAN A A, *et al.* Biomolecular condensates: organizers of cellular biochemistry. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2017, 18(5): 285–298. doi: [10.1038/nrm.2017.7](https://doi.org/10.1038/nrm.2017.7).
- [16] KATO M, MCKNIGHT S L. A solid-state conceptualization of information transfer from gene to message to protein. *Annu Rev Biochem*, 2018, 87: 351–390. doi: [10.1146/annurev-biochem-061516-044700](https://doi.org/10.1146/annurev-biochem-061516-044700).
- [17] ALBERTI S, GLADFELTER A, MITTAG T. Considerations and challenges in studying liquid-liquid phase separation and biomolecular condensates. *Cell*, 2019, 176(3): 419–434. doi: [10.1016/j.cell.2018.12.035](https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.12.035).
- [18] SHIN Y, BRANGWYNNE C P. Liquid phase condensation in cell physiology and disease. *Science*, 2017, 357(6357): eaaf4382. doi: [10.1126/science.aaf4382](https://doi.org/10.1126/science.aaf4382).
- [19] FRANZMANN T M, ALBERTI S. Prion-like low-complexity sequences: key regulators of protein solubility and phase behavior. *J Biol Chem*, 2019, 294(18): 7128–7136. doi: [10.1074/jbc.TM118.001190](https://doi.org/10.1074/jbc.TM118.001190).
- [20] RUFF K M, ROBERTS S, CHILKOTI A, *et al.* Advances in understanding stimulus-responsive phase behavior of intrinsically disordered protein polymers. *J Mol Biol*, 2018, 430(23): 4619–4635. doi: [10.1016/j.jmb.2018.06.031](https://doi.org/10.1016/j.jmb.2018.06.031).
- [21] NOTT T J, PETSALAKI E, FARBER P, *et al.* Phase transition of a disordered nuage protein generates environmentally responsive membraneless organelles. *Mol Cell*, 2015, 57(5): 936–947. doi: [10.1016/j.molcel.2015.01.013](https://doi.org/10.1016/j.molcel.2015.01.013).
- [22] TANIUE K, AKIMITSU N. Aberrant phase separation and cancer. *FEBS J*, 2022, 289(1): 17–39. doi: [10.1111/febs.15765](https://doi.org/10.1111/febs.15765).
- [23] ELBAUM-GARFINKLE S, KIM Y, SZCZEPANIAK K, *et al.* The disordered P granule protein LAF-1 drives phase separation into droplets with tunable viscosity and dynamics. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2015, 112(23): 7189–7194. doi: [10.1073/pnas.1504822112](https://doi.org/10.1073/pnas.1504822112).
- [24] SMITH J, CALIDAS D, SCHMIDT H, *et al.* Spatial patterning of P granules by RNA-induced phase separation of the intrinsically-disordered protein MEG-3. *Elife*, 2016, 5: e21337. doi: [10.7554/eLife.21337](https://doi.org/10.7554/eLife.21337).
- [25] WANG J, CHOI J M, HOLEHOUSE A S, *et al.* A molecular grammar governing the driving forces for phase separation of prion-like RNA binding proteins. *Cell*, 2018, 174(3): 688–699.e16. doi: [10.1016/j.cell.2018.06.006](https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.06.006).
- [26] HARMON T S, HOLEHOUSE A S, ROSEN M K, *et al.* Intrinsically disordered linkers determine the interplay between phase separation and gelation in multivalent proteins. *Elife*, 2017, 6: e30294. doi: [10.7554/eLife.30294](https://doi.org/10.7554/eLife.30294).
- [27] LIN Y, CURRIE S L, ROSEN M K. Intrinsically disordered sequences enable modulation of protein phase separation through distributed tyrosine motifs. *J Biol Chem*, 2017, 292(46): 19110–19120. doi: [10.1074/jbc.M117.800466](https://doi.org/10.1074/jbc.M117.800466).
- [28] PAK C W, KOSNO M, HOLEHOUSE A S, *et al.* Sequence determinants of intracellular phase separation by complex coacervation of a disordered protein. *Mol Cell*, 2016, 63(1): 72–85. doi: [10.1016/j.molcel.2016.05.042](https://doi.org/10.1016/j.molcel.2016.05.042).
- [29] WANG B, ZHANG L, DAI T, *et al.* Liquid-liquid phase separation in human health and diseases. *Signal Transduct Target Ther*, 2021, 6(1): 290. doi: [10.1038/s41392-021-00678-1](https://doi.org/10.1038/s41392-021-00678-1).
- [30] CHANGEDE R, XU X, MARGADANT F, *et al.* Nascent integrin adhesions form on all matrix rigidities after integrin activation. *Dev Cell*, 2015, 35(5): 614–621. doi: [10.1016/j.devcel.2015.11.001](https://doi.org/10.1016/j.devcel.2015.11.001).
- [31] CHOI C K, VICENTE-MANZANARES M, ZARENO J, *et al.* Actin and alpha-actinin orchestrate the assembly and maturation of nascent adhesions in a myosin II motor-independent manner. *Nat Cell Biol*, 2008, 10(9): 1039–1050. doi: [10.1038/ncb1763](https://doi.org/10.1038/ncb1763).
- [32] KANCHANAWONG P, SHTENGL G, PASAPERA A M, *et al.* Nanoscale architecture of integrin-based cell adhesions. *Nature*, 2010, 468(7323): 580–584. doi: [10.1038/nature09621](https://doi.org/10.1038/nature09621).
- [33] SUN X, PHUA D Y Z, AXIOTAKIS L, Jr, *et al.* Mechanosensing through direct binding of tensed F-actin by LIM domains. *Dev Cell*, 2020, 55(4): 468–482.e7. doi: [10.1016/j.devcel.2020.09.022](https://doi.org/10.1016/j.devcel.2020.09.022).
- [34] WANG Y, ZHANG C, YANG W, *et al.* LIMD1 phase separation contributes to cellular mechanics and durotaxis by regulating focal adhesion dynamics in response to force. *Dev Cell*, 2021, 56(9): 1313–1325.e7. doi: [10.1016/j.devcel.2021.04.002](https://doi.org/10.1016/j.devcel.2021.04.002).
- [35] ANDERSON J M, Van ITALLIE C M. Physiology and function of the tight junction. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2009, 1(2): a002584. doi: [10.1101/cshperspect.a002584](https://doi.org/10.1101/cshperspect.a002584).
- [36] FANNING A S, ANDERSON J M. Zonula occludens-1 and -2 are cytosolic scaffolds that regulate the assembly of cellular junctions. *Ann N Y Acad Sci*, 2009, 1165: 113–120. doi: [10.1111/j.1749-6632.2009.04440.x](https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2009.04440.x).
- [37] BEUTEL O, MARASPINI R, POMBO-GARCÍA K, *et al.* Phase separation of zonula occludens proteins drives formation of tight junctions. *Cell*, 2019, 179(4): 923–936.e11. doi: [10.1016/j.cell.2019.10.011](https://doi.org/10.1016/j.cell.2019.10.011).
- [38] SCHWAYER C, SHAMIPOUR S, PRANJIC-FERSCHA K, *et al.* Mechanosensation of tight junctions depends on ZO-1 phase separation and flow. *Cell*, 2019, 179(4): 937–952.e18. doi: [10.1016/j.cell.2019.10.006](https://doi.org/10.1016/j.cell.2019.10.006).
- [39] MOYA I M, HALDER G. Hippo-YAP/TAZ signalling in organ regeneration and regenerative medicine. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2019, 20(4): 211–226. doi: [10.1038/s41580-018-0086-y](https://doi.org/10.1038/s41580-018-0086-y).
- [40] HARVEY K F, HARIHARAN I K. The hippo pathway. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2012, 4(8): a011288. doi: [10.1101/cshperspect.a011288](https://doi.org/10.1101/cshperspect.a011288).
- [41] WANG L, CHOI K, SU T, *et al.* Multiphase coalescence mediates Hippo pathway activation. *Cell*, 2022, 185(23): 4376–4393.e18. doi: [10.1016/j.cell.2022.09.036](https://doi.org/10.1016/j.cell.2022.09.036).
- [42] HONG A W, MENG Z, YUAN H X, *et al.* Osmotic stress-induced phosphorylation by NLK at Ser128 activates YAP. *EMBO Rep*, 2017, 18(1): 72–86. doi: [10.15252/embr.201642681](https://doi.org/10.15252/embr.201642681).
- [43] COUZENS A L, KNIGHT J D, KEAN M J, *et al.* Protein interaction network of the mammalian Hippo pathway reveals mechanisms of kinase-phosphatase interactions. *Sci Signal*, 2013, 6(302): rs15. doi: [10.1126/scisignal.2004712](https://doi.org/10.1126/scisignal.2004712).
- [44] ZHAO B, WEI X, LI W, *et al.* Inactivation of YAP oncoprotein by the Hippo pathway is involved in cell contact inhibition and tissue growth control. *Genes Dev*, 2007, 21(21): 2747–2761. doi: [10.1101/gad.1602907](https://doi.org/10.1101/gad.1602907).
- [45] PLOUFFE S W, LIN K C, MOORE J L, 3rd, *et al.* The Hippo pathway effector proteins YAP and TAZ have both distinct and overlapping functions in the cell. *J Biol Chem*, 2018, 293(28): 11230–11240. doi: [10.1074/jbc.RA118.002715](https://doi.org/10.1074/jbc.RA118.002715).
- [46] FRANKLIN J M, GUAN K L. YAP/TAZ phase separation for transcription. *Nat Cell Biol*, 2020, 22(4): 357–358. doi: [10.1038/s41556-020-0498-8](https://doi.org/10.1038/s41556-020-0498-8).
- [47] CAI D, FELICIANO D, DONG P, *et al.* Phase separation of YAP reorganizes genome topology for long-term YAP target gene expression. *Nat Cell Biol*, 2019, 21(12): 1578–1589. doi: [10.1038/s41556-019-0433-z](https://doi.org/10.1038/s41556-019-0433-z).
- [48] LU Y, WU T, GUTMAN O, *et al.* Phase separation of TAZ compartmentalizes the transcription machinery to promote gene expression. *Nat Cell Biol*, 2020, 22(4): 453–464. doi: [10.1038/s41556-020-0485-0](https://doi.org/10.1038/s41556-020-0485-0).

(2023 – 12 – 11收稿, 2024 – 01 – 03修回)

编辑 吕熙



开放获取

Open Access

© 2024 《四川大学学报(医学版)》编辑部 版权所有

Editorial Office of Journal of Sichuan University (Medical Science)