

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE FÍSICA DE SÃO CARLOS

GABRIEL BATISTA

Revisão e análise de motivos de interação com proteínas do
citoesqueleto celular em septinas

São Carlos

2021

GABRIEL BATISTA

Revisão e análise de motivos de interação com proteínas do
citoesqueleto celular em septinas

Trabalho de conclusão de curso
apresentado ao Programa de Graduação
em Física do Instituto de Física de São
Carlos da Universidade de São Paulo,
para obtenção do título de Bacharel em
Física Biomolecular.

São Carlos

2021

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

RESUMO

As septinas são proteínas que ligam GTP, sendo ubíquas em animais e fungos, e desempenham um papel fundamental na citocinese, bem como na formação de barreiras de difusão, regulando assim muitos processos intracelulares importantes. As septinas são componentes do citoesqueleto, capazes de formar complexos que se polimerizam em filamentos, os quais se organizam em estruturas de maior complexidade para exercer suas funções. Em termos estruturais, as septinas apresentam um característico domínio central de ligação a nucleotídeos de guanina, que está diretamente envolvido na oligomerização. Além desse domínio G, as septinas possuem regiões N e C-terminais de comprimento e sequência variável, chamados de domínios N e C. Os domínios C podem ser estruturados, contendo sequências que se organizam em *coiled-coils*, e também têm mostrado certa importância no processo de montagem dos filamentos. Já o domínio N é o menos conhecido estruturalmente, mas parece funcionar como uma região importante de interação com outras proteínas do citoesqueleto, além de participar em interações com membranas. Assim, propomos neste trabalho, fazer um levantamento bibliográfico sobre os papéis funcionais atribuídos aos domínios N e C de septinas animais, aliado a uma busca e análise de potenciais motivos de interação de septinas com proteínas citoesqueléticas.

Palavras-chave: Septinas. Citoesqueleto. Motivos.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	4
METODOLOGIA	8
DESENVOLVIMENTO	8
CONCLUSÕES E CONSIDERAÇÕES FINAIS	16
REFERÊNCIAS	17

1. INTRODUÇÃO

A descoberta das septinas remonta à triagem realizada pelo Nobel Lee Hartwell, há 50 anos, por genes mutantes relacionados com fenótipos anômalos no ciclo de divisão celular da levedura *S. cerevisiae*. Denominados a princípio de CDC (da sigla em inglês para *Cell division cycle*), foram identificados 4 genes - CDC3, CDC10, CDC11 e CDC12 - cujos mutantes formavam brotamentos alongados e citocinese incompleta (Hartwell et al., 1970; Hartwell, 1971). Posteriormente, John Pringle clonou e caracterizou esses genes em leveduras (*Saccharomyces cerevisiae* e *Schizosaccharomyces pombe*) denominando seus produtos de *septinas*, em alusão à sua função na formação do septo (Pringle, 2008).

Existem 13 genes parálogos de septinas em humanos descritos até o momento. Porém, esse número pode não representar a diversidade de proteínas expressas devido ao *splicing* alternativo (Russel e Hall., 2011). Desde a descoberta dos genes da septinas em humanos, vários nomes foram utilizados para referenciar-se a essas sequências. Entretanto, posteriormente, a padronização da nomenclatura estabeleceu a utilização do termo SEPT, seguido do número da sequência paráloga, indo de 1 a 12 e 14, já que o 13 comprovou-se ser um pseudogene (Macara et al., 2002).

Numerosos artigos têm indicado a amplitude das funções celulares em que as septinas são essenciais, como citocinese, ciliogênese e neurogênese, ao atuarem como suporte para recrutamento de proteínas e barreiras de difusão (Mostowy e Cossart, 2012). Dada a importância desses papéis, caso mutadas em certos sítios, as septinas também podem estar relacionadas a patologias, incluindo câncer e doenças neurodegenerativas. A doença de Alzheimer já foi relacionada com mutações nas septinas humanas SEPT1, SEPT2, SEPT3, SEPT4 e SEPT7 (Liu et al., 2010; Kinoshita et al., 1998). Vários tipos de câncer estão relacionados com quase todas as sequências parálogas de septinas, com exceção da SEPT8, SEPT10 e SEPT12 (Kato et al., 2007; Kim et al., 2004; Tanaka et al., 2003; Montagna et al., 2003). Ainda, a disfuncionalidade da SEPT12 mutada já foi associada à infertilidade masculina e está relacionada com diferenciação terminal das células germinativas masculinas, alterando sua mobilidade (Steels et al. 2007; Lin et al., 2009).

Estudos *in silico*, utilizando dados de expressão em larga escala e ontologia genética, realizaram levantamentos dos processos celulares em que as septinas

podem estar envolvidas. Estes indicaram novos papéis funcionais, além de reforçar aqueles já descritos anteriormente em estudos experimentais, como endocitose de vesículas sinápticas, transporte vesicular por MTs (SEPT3), mielinização (SEPT4), transição G2/M do ciclo celular mitótico, via de sinalização Hippo (responsável pela regulação da proliferação celular e processos apoptóticos) e organização dos citoesqueletos de filamentos de actina e MT (Zuvanov et al., 2019).

Estruturalmente, as septinas apresentam três domínios: o domínio G, composto por sequência altamente conservada de ligação (e geralmente hidrólise) do nucleotídeo GTP, sendo observado pela primeira vez em estudos com *Drosophila* (Field et al., 1996). Além disso, possuem outros dois domínios variáveis, flanqueando o domínio G, conhecidos por domínios N e C-terminais. Em mamíferos e outros animais, as septinas podem ser organizadas em quatro grupos (grupos da SEPT2/SEPT6/SEPT7/SEPT3) de acordo com semelhanças entre a extensão dos domínios N-terminal e C-terminal e a identidade da sequência completa. As septinas que compõem o grupo da SEPT2 são SEPT1, SEPT2, SEPT4 e SEPT5; as septinas SEPT3, SEPT9 e SEPT12 compõem o grupo da SEPT3; o grupo da SEPT6 é formado pelas septinas SEPT6, SEPT8, SEPT10, SEPT11 e SEPT14 e, por último, a SEPT7, que é única em seu grupo (Kartmann e Roth., 2001).

Relacionadas evolucionariamente e estruturalmente à superfamília GTPases Ras contendo o *P-loop* (domínio G1) (Leipe et al., 2002), as septinas se diferenciam destas pela obrigatoriedade da forma dimérica para ativar sua função biológica (Gasper et al., 2009).

Estudos experimentais em leveduras, *Drosophila* e em ratos indicaram que as septinas se organizam em complexos lineares hetero-oligoméricos (Frazier et al., 1998; Field et al., 1996; Oegema et al., 1998; Hsu et al., 1998). A ordem das subunidades de septinas nos complexos não foi elucidada até que o primeiro trabalho estrutural indicou uma unidade hexamérica de ordem palindrômica: SEPT7-SEPT6-SEPT2-SEPT2-SEPT6-SEPT7 (Sirajuddin et al., 2007). Neste complexo, as subunidades protéicas interagem entre si por duas interfaces distintas, a interface G, em que as subunidades interagem pela interface onde se situam os sítios de ligação ao nucleotídeo GTP, e a interface NC, cuja interface é formada pelas regiões N e C-terminais do domínio G (Sirajuddin et al., 2007).

Porém, mais de uma década depois desse primeiro trabalho, a ordem das septinas foi revisada em um estudo que indicou que as septinas que se organizam

em unidades hexaméricas assumem, na verdade, uma ordem invertida: SEPT2-SEPT6-SEPT7-SEPT7-SEPT6-SEPT2. Nesse caso, reconheceu-se que a SEPT2 ocupava as extremidades do heterocomplexo, ficando com sua interface NC livre e envolvida na polimerização dos hexâmeros (Mendonça et al., 2019).

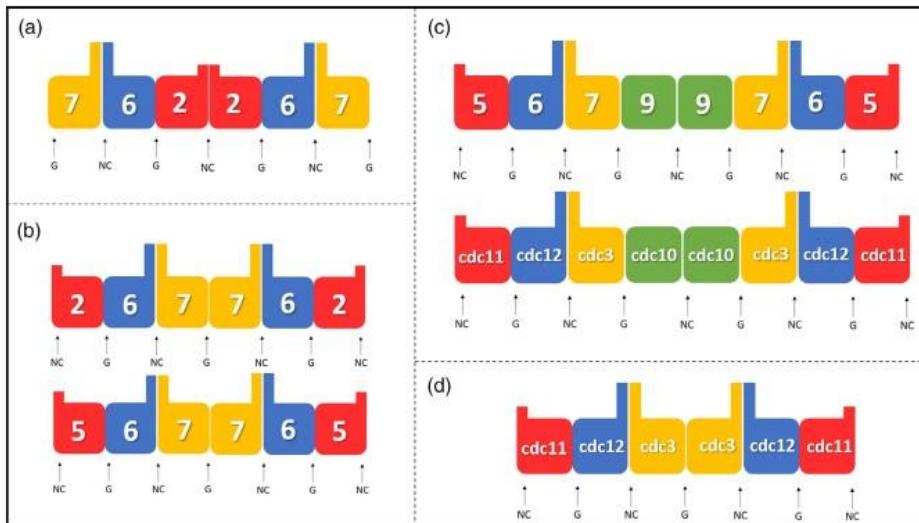


Figura 1. (a) Organização originalmente proposta para o hexâmero de septinas humanas; (b) Organização dos hexâmeros proposta por (Mendonça et al., 2019); (c) Organização dos octâmeros proposta por (Mendonça et al., 2019) e o paralelo em *S. cerevisiae* (d) Organização dos hexâmeros proposta por (McMurray et al., 2012) para *S. cerevisiae*. Setas indicam interfaces NC e G. Fonte: (Mendonça et al., 2019)

Uma característica interessante observada nos grupos de septinas, geralmente referida como "regra de Kinoshita", é que nas unidades oligoméricas (hexâmeros ou octâmeros), cada septina é predita ser intercambiável por outra do mesmo grupo, o que gera redundância e diversidade (Kinoshita, 2003). Por outro lado, a posição de cada grupo de septinas no oligômero é sempre fixa.

Dessa forma, várias combinações de septinas para a formação das unidades octaméricas são possíveis, mas somente uma porção dessas é representativa dos complexos reais. Além disso, o alto grau de possibilidades de octâmeros é um sinal de alta especialização e há estudos em que busca-se compreender o contexto biológico de cada octâmero (Dolat et al., 2014).

É comum pequenas GTPases formarem dímeros pela interface do domínio G. Porém, como as septinas possuem o domínio SUE (da sigla em inglês *Septin Unique Element*), formado pelos últimos 50 resíduos do domínio G (fig. 2), elas também interagem pela interface NC, o que é essencial para a polimerização e consequente formação de filamentos (Valadares et al. 2017).

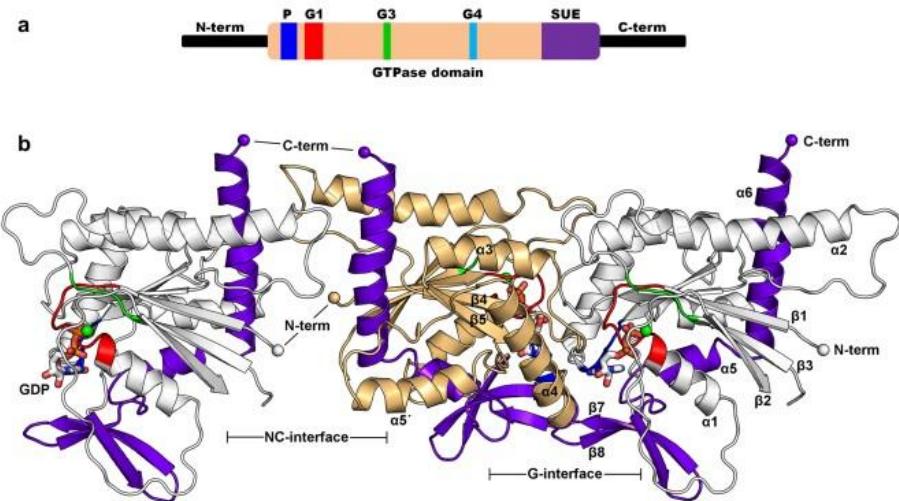


Figura 2.(a) Representação dos motivos conservados em septinas na estrutura primária. (b) Representação de um trímero de septinas. Domínio SUE destacado em roxo. Fonte: (Valadares et al., 2017)

O domínio de ligação ao nucleotídeo guanosina (domínio G) apresenta o maior grau de conservação entre septinas e apresenta três motivos de ligação ao nucleotídeo (G1, G3 e G4). O domínio G1 é conhecido como *P-loop*, o G3 está em uma região denominada switch II e o domínio G4 é importante para a seletividade da ligação aos nucleotídeos guanina (Valadares et al., 2017)

Estudos com a SEPT4 indicam que o domínio N nesta septina é estruturalmente desordenado e pode estar envolvido com a interação com outras proteínas celulares, inclusive proteínas citoesqueléticas. Já o domínio C em SEPT4 é dividido em duas regiões, uma região rica em prolina e outra formada por hélice- α envolvida em uma estrutura tipo *coiled coil* (Garcia et al., 2006). Porém, nem todas as septinas possuem predição de *coiled coils* no C-terminal e sua extensão é variável entre os quatro grupos.

As septinas interagem com as proteínas citoesqueléticas, como actina e tubulina (microtúbulos) contribuindo para a estabilidade da rede de fibras de estresse (Dolat et al., 2014-II). Através do domínio N, as septinas interagem com filamentos de actinas promovendo a interação lateral de fibras de actina e a formação de filamentos desse polímero (Dolat et al., 2014-II; Smith et al., 2015).

Esse princípio é o mesmo para a ligação com as proteínas que formam os microtúbulos, as tubulinas. Porém, acredita-se que as septinas não promovem a formação de filamentos de MTs na sua forma octamérica (Bai et al., 2013). Neste

trabalho, a proposta foi realizar um levantamento bibliográfico sobre os papéis funcionais atribuídos aos domínios N e C de septinas animais com relação a interações com proteínas citoesqueléticas, aliado a uma busca e análise de potenciais motivos comuns de interação de septinas com essas proteínas.

2. METODOLOGIA

Na pesquisa bibliográfica foram realizadas buscas no PubMed e também artigos de revisão. Para as buscas, foram utilizadas palavras-chave relacionadas a interação septina-citoesqueleto, sendo que os principais termos de busca foram *septin x actin-binding motifs* e/ou *microtubules-binding motifs*.

Ainda, sequências de aminoácidos do domínio C-terminal das septinas humanas (Q14141.4 -SEPT6; Q16181.2 - SEPT7; Q92599.4 - SEPT8; Q9P0V9.2 - SEPT10; Q9NVA2.3 -SEPT11; Q6ZU15.2 - SEPT14) foram obtidas a partir da base de dados Uniprot e utilizadas nas análises comparativas e busca de domínios de interação.

A partir dos motivos já descritos para SEPT9 na literatura científica, foi realizada uma busca por esses motivos pela ferramenta ScanProsite (<https://prosite.expasy.org/scanprosite/>; opção (3), usando as sequências do domínio C-terminal das septinas dos grupos da SEPT7 e da SEPT6 obtidas no banco de dados Uniprot (formato fasta). Lembrando que os grupos dessas septinas são caracterizados por domínios C-terminais mais longos e, assim, poderiam estar envolvidos na interação com proteínas do citoesqueleto.

3. DESENVOLVIMENTO

3.1. Análise da interação com microtúbulos (MTs)

Assim como o citoesqueleto de actina, as septinas não se concentram por todo o citoesqueleto de MTs e sua localização na célula depende da etapa da célula em seu ciclo celular. Outros fatores que interferem na distribuição de septinas é a linhagem celular, tipos de complexos de septinas e seus parálogos. Por exemplo, em células epiteliais em interfase, as septinas estão concentradas em pacotes de MTs perinucleares, MTs do complexo de Golgi, associados a adesões focais na periferia celular e em cílios (Bowen et al., 2011; Spiliotis et al., 2008; Fliegauf et al., 2014). Em células mitóticas, as septinas se concentram nos pólos do fuso, MTs cinetocóricos

(durante a metáfase), MTs do fuso central e do corpo intermediário (Zhu et al., 2011; Nagata et al., 2003; Surka et al., 2002; Qi et al., 2005).

Além disso, as septinas interagem de forma preferencial com MTs poliglutamilados, como foi observado com a Sept2 em células da linhagem MDCK (linhagem de rins de cães), em que a ligação preferencial a esse subgrupo de MTs se mostrou como uma importante função para a polaridade apicobasal dessas células (Spiliotis et al., 2008).

Alguns estudos observaram que, em células HeLa e linhagens de neurônios primários, o término da expressão de septinas no ambiente intracelular aumenta o nível de acetilação de MTs, podendo sugerir uma relação causal entre septinas e a desacetilação de MTs (Ageta-Ishihara et al., 2013; Kremer et al., 2005). Em outros estudos, as septinas possuem preferência de interação por regiões menos acetiladas dos MTs (Verdier-Pinard et al., 2017).

As septinas podem guiar o crescimento de MTs para a periferia celular ao guiar o movimento da extremidade positiva dos MTs em direção a MTs cobertos por septinas (Bowen et al., 2011). Como a Sept2, a Sept6 e a Sept7 interagem com a proteína +TIP EB1 (proteína que interage com extremidades positivas de MTs), suspeita-se que essa proteína possua papel intermediador da interação entre septinas e extremidades positivas dos MTs (Nölke et al., 2016), inclusive em protusões, regiões em que as septinas se associam por especificidade (Xie et al., 2007; Tada et al., 2007).

Quanto ao motivo de interação com os MTs, estudos de análise de similaridades com as proteínas MAPs (sigla em inglês para proteínas que se ligam a MTs - *Microtubule associated protein*) indicaram alguns motivos conservados. Vários estudos se concentram na paróloga Sept9, única sequência em que a interação direta com MTs foi observada em ensaios experimentais até o momento.

O domínio N da SEPT9_i1, especificamente a região 1-142, contém uma série de repetições do motivo Lys/Arg-Arg/x-x-Asp/Glu, que é conservado em MAPs e motores celulares. Os aminoácidos básicos (Lys/Arg) desses motivos interagem eletrostaticamente com aminoácidos acídicos da cauda C-terminal da tubulina-β2, promovendo a formação de feixes de microtúbulos pré-polimerizados em estudos *in-vitro* em mamíferos (Bai et al., 2013).

Outro estudo indica uma região específica da isoforma 1 da septina 9 como a responsável pela interação de octâmeros polimerizados de septinas com MTs.

Composta pelos 25 primeiros resíduos de aminoácidos, essa região carrega duas sequências similares a domínios de ligação a MTs (MBD, na sigla em inglês) das MAPs, compostas pelos motivos Lys-x-Lys-x-x-Ser e Ser-Ser-Gly/Leu-Arg-Leu/Val. Estudos experimentais indicam que a sequência inicial do domínio N-terminal possui alguns resíduos essenciais para a interação com os microtúbulos, como os resíduos de arginina das posições 10 e 15. (Kuzmić et al., 2021)



Figura 3. Sequência inicial do domínio N-terminal da isoforma 1 da septina 9 humana responsável pela interação com microtúbulos. Fonte: (Kuzmić et al., 2021).

Dentre as cinco isoformas da Sept9 testadas (1 a 5), a única que demonstrou estar localizada nos mesmos sítios celulares que os microtúbulos em ensaios *in vitro* com células MCF7 foi a isoforma 1, que co-localizou-se também com filamentos de actina (Verdier-Pinard et al., 2017). Detectou-se a presença de cinco repetições do motivo Lys/Arg-Arg-x-Glu-Ile/Leu/Val nas isoformas 1 a 4 da septina 9, sendo que, desse total, quatro indicam regiões de folhas-β, algo não relatado até o momento. A maioria dessas repetições (quatro das cinco) estão localizadas nas regiões compartilhadas entre as isoformas longas da septina 9 (1, 2 e 3), o que indica a importância de um N-terminal longo para interação com os microtúbulos (Verdier-Pinard et al., 2017).

3.2. Análise da interação com filamentos de actina

A distribuição das septinas em relação ao citoesqueleto de actina das células altera-se de acordo com a fase do ciclo celular. As células, durante a interfase, apresentam concentração de septinas nos filamentos de actina retos que constituem a rede de fibras de estresse da célula, além de complexos de adesões focais, estruturas nas quais as fibras de actina estão ancoradas (Kinoshita et al., 1997). Outras formações celulares com concentração de septinas são invaginações fagossômicas, lamelipódios e pseudópodes (Huang et al., 2008; Mizutani et al., 2013; Shankar et al., 2010).

Em células mitóticas, as septinas se concentram no sítio de clivagem e no anel contráctil de actomiosina, uma rede de pacotes de filamentos de actomiosina

circulares (Kinoshita et al., 1997; Joo et al., 2007). Além disso, as septinas são importantes para a manutenção da rede perinuclear de filamentos de actina e se co-localizam a esses filamentos na região ventral do núcleo celular, onde formam fortes teias de filamentos (Verdier-Pinard et al., 2017).

Alguns estudos indicam que a sobreposição das septinas com a rede de fibras de estresse da célula não é total, observando-se certa preferência de interação com certos tipos de fibras de estresse (Joberty et al., 2001; Kinoshita et al., 1997). A rede de fibras de estresse é formada por três estruturas de contratilidade, localização celular, contato com membrana e composição de ABPs distintos (redes dorsal ou radial, arco transversal e ventral) (Geiger e Yamada, 2011; Tojkander et al., 2012). As septinas interagem com a rede dorsal (extremidade livre) e arco transversal ligando-as por estruturas similares às braçadeiras (Dolat et al., 2014-II). Se essas septinas interagem com o arco transversal e duas redes dorsais de adesões celulares opostas, de forma simultânea, forma-se uma estrutura ventral da rede (Hotulainen e Lappalainen, 2006; Tojkander et al., 2015) . Além disso, em geral, as septinas são essenciais para a organização e função dessa rede especial de filamentos de actina, já que a depleção das septinas resulta em formações de rede dorsal curtas e instáveis além de perda extrema das redes dos tipos arco transversal e ventral (Dolat et al., 2014-II).

Alguns dos aspectos levantados para explicar a localização diferencial das septinas em relação ao citoesqueleto de filamentos de actina é a interação preferencial das septinas por domínios de membrana de micro-escala e curvatura positiva e conteúdo específico de fosfolipídios (Zhang et al., 1999). Em células epiteliais não polarizadas, o padrão de concentração de septinas em redes de fibras de estresse na periferia celular possui similaridades com o padrão de distribuição do fosfatidilinositídio 3,5-bifosfato (PI(3,5)P₂), bastante presente em estruturas de membrana como endossomos e lisossomos (Dolat e Spiliotis, 2016; Jin et al., 2016).

Até o momento, o motivo de interação das septinas com os filamentos de actina não foi elucidado. Porém, alguns princípios dessa ligação já foram experimentalmente observados. Um deles é que o estado de polimerização das septinas interfere fortemente na morfologia dos filamentos de actina, de modo que complexos de septinas formam pacotes de filamentos de actina curvos e anelares enquanto que filamentos de septinas levam à formação de filamentos lineares de actina (Mavrakis et al., 2014). Alguns estudos indicaram que a Sept9 consegue fazer

ligações cruzadas entre filamentos de actina e, dessa maneira, estabilizar pacotes de filamentos de actina pré-polimerizados (Dolat et al., 2014; Smith et al., 2015). Especificamente, uma das isoformas dessa septina, a Sept9_i1, demonstrou ligação com actina através de uma região do domínio básico da região N-terminal (Smith et al., 2015).

Além disso, as septinas também podem estar relacionadas com as redes ramificadas de filamentos de actina, já que a ramificação ocorre em pontos de curvatura de filamentos de actina retos (Risca et al., 2012). A SEPT6 apresenta preferência de interação com filamentos de actina ramificados, nucleados pela proteína Arp2/Arp3, do que lineares, enquanto que a SEPT7 interage com os filamentos de actina retos (Hu et al., 2012). Porém, até o momento, a natureza da interação das septinas com redes ramificadas de actina (promoção/inibição da ramificação) é desconhecida.

Alguns estudos indicam que as septinas podem, além de se ligarem diretamente aos filamentos de actina, regular a formação destas estruturas induzida por GTPases da família Rho. Esse é o caso da Sept9_i3 que, pela sua sequência N-terminal única, inibe a SA-RhoGEF, um fator de troca de nucleotídeo guanina da Rho (Nagata e Inagaki, 2005).

Recentes estudos indicam que, dentre as cinco isoformas mais conhecidas da Sept9, as isoformas Sept9_i1 e Sept9_i2 demonstraram interação com filamentos de actina. A primeira demonstrou capacidade de interagir com os monômeros de actina e, além disso, observou-se que a região mínima para interação é constituída pelos 43 primeiros resíduos (Rhodes, 2021). Essa região está contida na região responsável pela interação com MTs indicada em (Bai et al., 2013), que compreende os 142 primeiros resíduos da sequência dessa isoforma. Dessa maneira, observa-se a importância da região N-terminal da Sept9 para interação com os MTs e filamentos de actina.

Ainda sobre as septinas e suas isoformas, alguns estudos indicam que a relação das septinas com a migração celular não é monotônica entre suas isoformas, já que a isoforma 2 pode frear a migração celular e, dessa maneira, ser pouco expressa em células de câncer de mama. A Sept9_i2 co-localiza-se com microfilamentos de actina em estudos *in vitro* com células MCF7. Entretanto, os filamentos de actina apresentaram-se mais curtos e desorganizados que os observados nas células que expressavam a Sept9_i3. Essa desorganização afeta a

migração celular, já que filamentos longos de septina subnucleares associados a filamentos de actina são importantes para essa função celular (Verdier-Pinard et al., 2017).

A isoforma 1 da Sept9 interage diretamente com a F-actina e promove seu empacotamento, importante passo para a maturação de adesões focais e motilidade em células epiteliais. A realização de ensaios com distintos domínios demonstrou que a região responsável por essa função está localizada no domínio B, primeira porção do domínio N-terminal rico em resíduos básicos. A reconstrução 3D dos filamentos de F-actina revestidos pelo domínio N-terminal inteiro da Sept9 e sua porção básica (domínio B) indicou três sítios potenciais de interação com a Sept9 na superfície do filamento de F-actina. Dessas regiões, duas se sobrepõem aos sítios de ligação das proteínas miosina e cofilina. Dessa forma, a Sept9 pode interferir na interação F-actina-miosina nos dois estados estruturais dinâmicos do motor molecular quando ligada aos sítios sobrepostos. Além disso, a Sept9 também interfere na interação F-actina-cofilina, desacelerando a despolimerização dos filamentos de F-actina iniciada pela cofilina (Smith et al., 2015).

3.3. Busca por motivos de interação

Buscou-se avaliar a ocorrência dos motivos da SEPT9 já descritos na literatura no domínio C-terminal das septinas dos grupos da SEPT7 e da SEPT6. O racional para esta análise foi que esses grupos têm os C-terminais mais longos entre as septinas e, portanto, alternativamente ao N-terminal de SEPT9, poderiam estar envolvidos na interação com outras proteínas. Os resultados das análises estão sumarizados nas Tabelas 1, 2 e 3.

Após análise, observou-se que a previsão do motivo descrito por (Kuzmic et al., 2021) apresentou *hits* somente quando o motivo pesquisado encontrava semelhanças com aqueles descritos por outros autores. Embora o motivo seja bem conservado na região N-terminal da Sept9_i1 e similar ao domínio de ligação à MTs da proteína AIR9, o resultado da busca pelo motivo descrito por Kuzmic foi encontrado apenas no C-terminal de SEPT8. Isto sugere que a presença das serinas naquele motivo, divergindo dos demais, não deve ser o determinante para interação com o citoesqueleto de MTs.

Por outro lado, resíduos básicos (arginina -R- e a lisina - K) e acídicos (ácido aspártico - D) mostraram-se importantes para essa interação. Quanto às previsões para o motivo de Bai et al. (2013), pode-se observar que a restrição do segundo resíduo da sequência para arginina (R) e do último para ácido glutâmico (E) resultou em menor número de *hits*, mostrando que a tendência é a conservação de resíduos por sua natureza acídica/básica, o que pode ser importante para interagir com sítios carregados dos MTs, como observado na cauda C-terminal da tubulina-β2.

Além disso, a drástica diminuição de *hits* nas buscas usando o motivo descrito por Verdier-Pinard et al., 2017, em que há uma adição de um resíduo apolar (isoleucina -I-, leucina -L- e valina -V) no final do motivo, também pode indicar a importância do papel dos resíduos acídicos finais.

Um fato digno de nota, no caso das buscas usando o motivo determinado por Bai et al., 2013, foi que parte do motivos encontrados para cada septina dos grupos da SEPT7 e SEPT6 está localizada antes da região predita *coiled-coil* no domínio C-terminal. Uma vez que a formação dos *coiled-coils* implica na formação de dímeros ou oligômeros, o fato do motivo encontrado não estar comprometido na formação do *coiled-coil* sugere maior disponibilidade para interação desta região com proteínas parceiras.

Tabela 1. Resultado da busca de motivos descritos por Kuzmić et al, 2021 em septinas dos grupos da SEPT6 e SEPT8

Motivo	Septina	Nº de hits	Posição	Região do <i>coiled-coil</i>	Está dentro do <i>coiled-coil</i> ?
K-x-[KR]-x-D-x-[SK]	-	0	-	-	-
K-x-[KR]-x-D-x	8	1	428-433	345-402	Não
S-K-[CIV]-G-S-x(2)-N-I-x-H-x-P-G(3)	-	0	-	-	-
S-K-x-G-S-x(2)-N-I-x-H-x-P-G(3)	-	0	-	-	-
S-K-x-G-S	-	0	-	-	-
[ST]-[KR]-x-[GT]-S	-	0	-	-	-
N-I-x-H-x-P-G(3)	-	0	-	-	-
[TS]-R-[TS]-S-S-[GL]-R-[LV]	-	0	-	-	-
[TS]-R-x-[TS]-S-S-[GL]-R-[LV]	-	0	-	-	-
x-R-x-S-S-x-R-x	-	0	-	-	-
G-[TS]-R	-	0	-	-	-
S-S-x-R-x	-	0	-	-	-

Fonte: Autoria própria.

Tabela 2. Resultado da busca de motivos descritos por Bai et al, 2013 em septinas dos grupos da SEPT6 e SEPT8

Motivo	Septina	Nº de hits	Posição	Região do coiled-coil	Está dentro do coiled-coil?
[KR]-x-x-[ED]	6	12	309-312; 327-330; 337-340; 338-341; 349-352; 351-354; 353-356; 358-361; 380-383; 381-384; 387-390; 421-424	343-400	4 (Não) / 8 (Sim)
	7	10	351-354; 364-367; 371-374; 373-376; 381-384; 388-391; 395-398; 402-405; 417-420; 425-428	358-415	3 (Não) / 7 (Sim)
	8	12	329-332; 339-342; 340-343; 351-354; 353-356; 360-363; 362-365; 382-385; 383-386; 387-390; 389-392; 423-426	345-402	4 (Não) / 8 (Sim)
	10	9	351-354; 361-364; 362-365; 373-376; 375-378; 382-385; 405-408; 411-414; 444-447	367-424	4 (Não) / 5 (Sim)
	11	13	308-311; 326-329; 336-339; 337-340; 348-351; 350-353; 352-355; 357-360; 379-382; 380-383; 384-387; 386-389; 419-422	342-399	5 (Não) / 8 (Sim)
	14	8	337-340; 347-350; 359-362; 361-364; 368-371; 390-393; 391-394; 397-400	353-410	2 (Não) / 6 (Sim)
[KR]-R-x-E	6	1	327-330	343-400	Não
	7	1	381-384	358-415	Sim
	8	2	329-332; 387-390	345-402	1 (Não) / 1 (Sim)
	10	1	351-354	367-424	Não
	11	1	326-329	342-399	Não
	14	1	337-340	353-410	Não

Fonte: Autoria própria.

Tabela 3. Resultado da busca de motivos descritos por Verdier-Pinard et al, 2017 em septinas dos grupos da SEPT6 e SEPT8

Motivo	Septina	Nº de hits	Posição	Região do coiled-coil	Está dentro do coiled-coil?
[KR]-R-x-E-[IL]	8	1	387-391	345-402	Sim
[KR]-R-x-E-[ILV]	8	1	387-391	345-402	Sim

Fonte: Autoria própria.

4. CONCLUSÕES E CONSIDERAÇÕES FINAIS

Até o momento, grande parte dos trabalhos envolvendo a participação das septinas na dinâmica do citoesqueleto celular envolve a paráloga SEPT9. Alguns trabalhos reconhecem, em isoformas da SEPT9, motivos de interação com MTs por comparação com a estrutura primária de MAPs. Caracterizado pela natureza carregada de seus resíduos, acredita-se que os resíduos básicos dos motivos em septinas interajam com resíduos acídicos da cauda C-terminal da tubulina- β 2, assim como o fazem as MAPs. Por também possuir resíduos acídicos, a SEPT9 pode realizar interações entre si e contribuir para o empacotamento de MTs.

Porém, em SEPT9, os motivos se encontram na região em que está situada os primeiros éxons e, por *splicing alternativo*, algumas combinações de diferentes de éxons são possíveis. Dessa forma, podem ser geradas isoformas que, por possuírem diferenças na sua estrutura primária, podem ter sua interação com MTs também modificada. Isso pode explicar porque a isoforma 1, que possui o domínio N-terminal mais extenso entre as isoformas mais conhecidas, é a única com interação com MTs comprovada experimentalmente até o momento.

No caso da interação com filamentos de actina, os avanços de pesquisa, até o momento, não permitiram verificar um motivo específico de interação. No entanto, assim como no caso dos MTs, a região inicial do domínio N terminal da SEPT9 demonstrou enorme importância para interação com os filamentos de actina. Além disso, a questão das isoformas ainda é uma variável a ser analisada, já que as isoformas 1 e 2 da SEPT9 ligam-se diretamente aos filamentos de actina, mas a isoforma 2 pode regular negativamente a migração celular.

Os resultados das buscas por motivos de interação com MTs em domínios C-terminais de septinas dos grupos 6 e 7, indicaram a presença desses motivos, abrindo novas perspectivas experimentais para validar essas previsões. A interação de septinas com a membrana por motivos presentes nesse domínio já foi relatada para algumas septinas. Porém, motivos de interação com MTs nessas regiões sugerem um novo papel dos domínios N e C na interação de outras septinas, senão a SEPT9, com o citoesqueleto celular.

REFERÊNCIAS

- Ageta-Ishihara, N., Miyata, T., Ohshima, C., Watanabe, M., Sato, Y., Hamamura, Y., Higashiyama, T., Mazitschek, R., Bito, H., & Kinoshita, M. (2013). Septins promote dendrite and axon development by negatively regulating microtubule stability via HDAC6-mediated deacetylation. *Nature communications*, 4,2532.<https://doi.org/10.1038/ncomms3532>.
- Bai, X., Bowen, J. R., Knox, T. K., Zhou, K., Pendziwiat, M., Kuhlenbäumer, G., Sindelar, C. V., & Spiliotis, E. T. (2013). Novel septin 9 repeat motifs altered in neuralgic amyotrophy bind and bundle microtubules. *The Journal of cell biology*, 203(6),895–905. <https://doi.org/10.1083/jcb.201308068>.
- Bowen, J. R., Hwang, D., Bai, X., Roy, D., & Spiliotis, E. T. (2011). Septin GTPases spatially guide microtubule organization and plus end dynamics in polarizing epithelia. *The Journal of cell biology*, 194(2), 187–197.<https://doi.org/10.1083/jcb.201102076>
- Dolat, L., Hu, Q., & Spiliotis, E. T. (2014). Septin functions in organ system physiology and pathology. *Biological chemistry*, 395(2), 123–141.<https://doi.org/10.1515/hsz-2013-0233>
- Dolat, L., Hunyara, J. L., Bowen, J. R., Karasmanis, E. P., Elgawly, M., Galkin, V. E., & Spiliotis, E. T. (2014-II). Septins promote stress fiber-mediated maturation of focal adhesions and renal epithelial motility. *The Journal of cell biology*, 207(2), 225–235. <https://doi.org/10.1083/jcb.201405050>.
- Dolat, L., & Spiliotis, E. T. (2016). Septins promote macropinosome maturation and traffic to the lysosome by facilitating membrane fusion. *The Journal of cell biology*, 214(5),517–527.<https://doi.org/10.1083/jcb.201603030>
- Field, C. M., al-Awar, O., Rosenblatt, J., Wong, M. L., Alberts, B., & Mitchison, T. J. (1996). A purified *Drosophila* septin complex forms filaments and exhibits GTPase activity. *The Journal of cell biology*, 133(3), 605–616. <https://doi.org/10.1083/jcb.133.3.605>.
- Frazier, J. A., Wong, M. L., Longtine, M. S., Pringle, J. R., Mann, M., Mitchison, T. J., & Field, C. (1998). Polymerization of purified yeast septins: evidence that organized filament arrays may not be required for septin function. *The Journal of cell biology*, 143(3), 737–749. <https://doi.org/10.1083/jcb.143.3.737>.
- Garcia, W., de Araújo, A. P., Neto, M., Ballesteros, M. R., Polikarpov, I., Tanaka, M., Tanaka, T., & Garratt, R. C. (2006). Dissection of a human septin: definition and characterization of distinct domains within human SEPT4. *Biochemistry*, 45(46), 13918–13931.<https://doi.org/10.1021/bi061549z>.
- Gasper, R., Meyer, S., Gotthardt, K., Sirajuddin, M., & Wittinghofer, A. (2009). It takes two to tango: regulation of G proteins by dimerization. *Nature reviews. Molecular cell biology*, 10(6), 423–429.<https://doi.org/10.1038/nrm2689>.
- Geiger, B., & Yamada, K. M. (2011). Molecular architecture and function of matrix adhesions. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, 3(5),a005033.<https://doi.org/10.1101/cshperspect.a005033>.
- Hartwell LH, Culotti J, Reid B (1970). Genetic control of the cell-division cycle in yeast. I. Detection of mutants. *Proc Natl Acad Sci USA* 66, 352–359.
- Hartwell LH (1971). Genetic control of the cell division cycle in yeast. IV. Genes controlling bud emergence and cytokinesis. *Exp Cell Res* 69, 265–276.
- Hotulainen, P., & Lappalainen, P. (2006). Stress fibers are generated by two distinct actin assembly mechanisms in motile cells. *J Cell Biol* 8 May 2006; 173 (3): 383–394. doi: <https://doi.org/10.1083/jcb.200511093>.
- Hsu, S. C., Hazuka, C. D., Roth, R., Foletti, D. L., Heuser, J., & Scheller, R. H. (1998). Subunit composition, protein interactions, and structures of the mammalian brain sec6/8 complex and septin filaments. *Neuron*, 20(6), 1111–1122. [https://doi.org/10.1016/s0896-6273\(00\)80493-6](https://doi.org/10.1016/s0896-6273(00)80493-6).
- Hu, J., Bai, X., Bowen, J. R., Dolat, L., Korobova, F., Yu, W., Baas, P. W., Svitkina, T., Gallo, G., & Spiliotis, E. T. (2012). Septin-driven coordination of actin and microtubule remodeling regulates the collateral branching of axons. *Current biology : CB*, 22(12), 1109–1115. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2012.04.019>.
- Huang, Y. W., Yan, M., Collins, R. F., Dicicco, J. E., Grinstein, S., & Trimble, W. S. (2008). Mammalian septins are required for phagosome formation. *Molecular biology of the cell*, 19(4), 1717–1726. <https://doi.org/10.1091/mbc.e07-07-0641>.

- Jin, N., Lang, M. J., & Weisman, L. S. (2016). Phosphatidylinositol 3,5-bisphosphate: regulation of cellular events in space and time. *Biochemical Society transactions*, 44(1), 177–184. <https://doi.org/10.1042/BST20150174>.
- Joberty, G., Perlungher, R. R., Sheffield, P. J., Kinoshita, M., Noda, M., Haystead, T., & Macara, I. G. (2001). Borg proteins control septin organization and are negatively regulated by Cdc42. *Nature cell biology*, 3(10), 861–866. <https://doi.org/10.1038/ncb1001-861>.
- Joo, E., Surka, M. C., & Trimble, W. S. (2007). Mammalian SEPT2 is required for scaffolding nonmuscle myosin II and its kinases. *Developmental cell*, 13(5), 677–690. <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2007.09.001>.
- Kartmann, B., & Roth, D. (2001). Novel roles for mammalian septins: from vesicle trafficking to oncogenesis. *Journal of cell science*, 114(Pt 5), 839–844.
- Kato, Y., Uzawa, K., Yamamoto, N., Kouzu, Y., Koike, H., Shiiba, M., Bukawa, H., Yokoe, H., Shibahara, T., & Tanzawa, H. (2007). Overexpression of Septin1: possible contribution to the development of oral cancer. *International journal of oncology*, 31(5), 1021–1028.
- Kim, D. S., Hubbard, S. L., Peraud, A., Salhia, B., Sakai, K., & Rutka, J. T. (2004). Analysis of mammalian septin expression in human malignant brain tumors. *Neoplasia (New York, N.Y.)*, 6(2), 168–178. <https://doi.org/10.1593/neo.03310>.
- Kinoshita, M., Kumar, S., Mizoguchi, A., Ide, C., Kinoshita, A., Haraguchi, T., Hiraoka, Y., & Noda, M. (1997). Nedd5, a mammalian septin, is a novel cytoskeletal component interacting with actin-based structures. *Genes & development*, 11(12), 1535–1547. <https://doi.org/10.1101/gad.11.12.1535>.
- Kinoshita, A., Kinoshita, M., Akiyama, H., Tomimoto, H., Akiuchi, I., Kumar, S., Noda, M., & Kimura, J. (1998). Identification of septins in neurofibrillary tangles in Alzheimer's disease. *The American journal of pathology*, 153(5), 1551–1560. [https://doi.org/10.1016/S0002-9440\(10\)65743-4](https://doi.org/10.1016/S0002-9440(10)65743-4).
- Kinoshita, M. (2003). Assembly of mammalian septins. *Journal of biochemistry*, 134(4), 491–496. <https://doi.org/10.1093/jb/mvg182>.
- Kremer, B. E., Haystead, T., & Macara, I. G. (2005). Mammalian septins regulate microtubule stability through interaction with the microtubule-binding protein MAP4. *Molecular biology of the cell*, 16(10), 4648–4659. <https://doi.org/10.1091/mbc.e05-03-0267>.
- Kuzmić, M., Linares, G. C., Fialová, J.L., et al. Septin-microtubule association requires a MAP-like motif unique to Sept9 isoform 1 embedded into septin octamers (2021). bioRxiv. DOI: 10.1101/2021.04.06.438596.
- Leipe, D. D., Wolf, Y. I., Koonin, E. V., & Aravind, L. (2002). Classification and evolution of P-loop GTPases and related ATPases. *Journal of molecular biology*, 317(1), 41–72. <https://doi.org/10.1006/jmbi.2001.5378>.
- Lin, Y. H., Lin, Y. M., Wang, Y. Y., Yu, I. S., Lin, Y. W., Wang, Y. H., Wu, C. M., Pan, H. A., Chao, S. C., Yen, P. H., Lin, S. W., & Kuo, P. L. (2009). The expression level of septin12 is critical for spermiogenesis. *The American journal of pathology*, 174(5), 1857–1868. <https://doi.org/10.2353/ajpath.2009.080955>.
- Liu, M., Shen, S., Chen, F., Yu, W., & Yu, L. (2010). Linking the septin expression with carcinogenesis. *Molecular biology reports*, 37(7), 3601–3608. <https://doi.org/10.1007/s11033-010-0009-2>.
- Macara, I. G., Baldarelli, R., Field, C. M., Glotzer, M., Hayashi, Y., Hsu, S. C., Kennedy, M. B., Kinoshita, M., Longtine, M., Low, C., Maltais, L. J., McKenzie, L., Mitchison, T. J., Nishikawa, T., Noda, M., Petty, E. M., Peifer, M., Pringle, J. R., Robinson, P. J., Roth, D., ... Zieger, B. (2002). Mammalian septins nomenclature. *Molecular biology of the cell*, 13(12), 4111–4113. <https://doi.org/10.1091/mbc.e02-07-0438>.
- Mavrakis, M., Azou-Gros, Y., Tsai, FC. et al. Septins promote F-actin ring formation by crosslinking actin filaments into curved bundles (2014). *Nat Cell Biol* 16, 322–334. <https://doi.org/10.1038/ncb2921>.
- McMurray, M. A., Bertin, A., Garcia, G., 3rd, Lam, L., Nogales, E., & Thorner, J. (2012). Septin filament formation is essential in budding yeast. *Developmental cell*, 20(4), 540–549. <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2011.02.004>.
- Mendonça, DC, Macedo, JN, Guimarães, SL, et al. A revised order of subunits in mammalian septin complexes. *Cytoskeleton*. 2019; 76: 457–466. <https://doi.org/10.1002/cm.21569>.
- Mizutani, Y., Ito, H., Iwamoto, I., Morishita, R., Kanoh, H., Seishima, M., & Nagata, K. (2013). Possible role of a septin, SEPT1, in spreading in squamous cell carcinoma DJM-1 cells. *Biological chemistry*, 394(2), 281–290. <https://doi.org/10.1515/hsz-2012-0258>.

- Montagna, C., Lyu, M. S., Hunter, K., Lukes, L., Lowther, W., Reppert, T., Hissong, B., Weaver, Z., & Ried, T. (2003). The Septin 9 (MSF) gene is amplified and overexpressed in mouse mammary gland adenocarcinomas and human breast cancer cell lines. *Cancer research*, 63(9), 2179–2187.
- Mostowy, S., Cossart, P. (2012). Septins: the fourth component of the cytoskeleton. *Nat Rev Mol Cell Biol* 13, 183–194. <https://doi.org/10.1038/nrm3284>.
- Nagata, K., Kawajiri, A., Matsui, S., Takagishi, M., Shiromizu, T., Saitoh, N., Izawa, I., Kiyono, T., Itoh, T. J., Hotani, H., & Inagaki, M. (2003). Filament formation of MSF-A, a mammalian septin, in human mammary epithelial cells depends on interactions with microtubules. *The Journal of biological chemistry*, 278(20), 18538–18543. <https://doi.org/10.1074/jbc.M205246200>.
- Nagata, KI., Inagaki, M. (2005). Cytoskeletal modification of Rho guanine nucleotide exchange factor activity: identification of a Rho guanine nucleotide exchange factor as a binding partner for Sept9b, a mammalian septin. *Oncogene* 24, 65–76. <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1208101>.
- Nölke, T., Schwan, C., Lehmann, F., Østevold, K., Pertz, O., & Aktories, K. (2016). Septins guide microtubule protrusions induced by actin-depolymerizing toxins like *Clostridium difficile* transferase (CDT). *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 113(28), 7870–7875. <https://www.jstor.org/stable/26470810>.
- Oegema, K., Desai, A., Wong, M. L., Mitchison, T. J., & Field, C. M. (1998). Purification and assay of a septin complex from *Drosophila* embryos. *Methods in enzymology*, 298, 279–295. [https://doi.org/10.1016/s0076-6879\(98\)98025-9](https://doi.org/10.1016/s0076-6879(98)98025-9).
- Pringle JR (2008). Origins and development of the septin field. In: The Septins, ed. PA Hall, HSE Russell, and JR Pringle, West Sussex, U.K.: Wiley-Blackwell, 7–34.
- Rhodes, R., Tomasso, M., Acosta, K., Nakos, K., Mehetre, P., Rhoades, E., Spiliotis, E., Padrick, S. 2021. SEPT9 binding to actin is isoform dependent. EMBO 2021 Molecular and Cell Biology of Septins. Berlim, Alemanha. Set 2021.
- Risca, V. I., Wang, E. B., Chaudhuri, O., Chia, J. J., Geissler, P. L., & Fletcher, D. A. (2012). Actin filament curvature biases branching direction. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 109(8), 2913–2918. <https://doi.org/10.1073/pnas.1114292109>.
- Russell, S. & Hall, P. (2011). Septin genomics: a road less travelled. , 392(8-9), 763-767. <https://doi.org/10.1515/BC.2011.079>.
- Shankar, J., Messenberg, A., Chan, J., Underhill, T. M., Foster, L. J., & Nabi, I. R. (2010). Pseudopodial actin dynamics control epithelial-mesenchymal transition in metastatic cancer cells. *Cancer research*, 70(9), 3780–3790. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-09-4439>.
- Sirajuddin, M., Farkasovsky, M., Hauer, F., Kühlmann, D., Macara, I. G., Weyand, M., Stark, H., & Wittinghofer, A. (2007). Structural insight into filament formation by mammalian septins. *Nature*, 449(7160), 311–315. <https://doi.org/10.1038/nature06052>.
- Smith, C., Dolat, L., Angelis, D., Forgacs, E., Spiliotis, E. T., & Galkin, V. E. (2015). Septin 9 Exhibits Polymorphic Binding to F-Actin and Inhibits Myosin and Cofilin Activity. *Journal of molecular biology*, 427(20), 3273–3284. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2015.07.026>.
- Spiliotis, E. T., Hunt, S. J., Hu, Q., Kinoshita, M., & Nelson, W. J. (2008). Epithelial polarity requires septin coupling of vesicle transport to polyglutamylated microtubules. *The Journal of cell biology*, 180(2), 295–303. <https://doi.org/10.1083/jcb.200710039>.
- Steels, J.D., Estey, M.P., Froese, C.D., Reynaud, D., Pace-Asciak, C. and Trimble, W.S. (2007), Sept12 is a component of the mammalian sperm tail annulus. *Cell Motil. Cytoskeleton*, 64: 794-807. <https://doi.org/10.1002/cm.20224>.
- Surka, M. C., Tsang, C. W., & Trimble, W. S. (2002). The mammalian septin MSF localizes with microtubules and is required for completion of cytokinesis. *Molecular biology of the cell*, 13(10), 3532–3545. <https://doi.org/10.1091/mbc.e02-01-0042>.
- Tada, T., Simonetta, A., Batterton, M., Kinoshita, M., Edbauer, D., & Sheng, M. (2007). Role of Septin cytoskeleton in spine morphogenesis and dendrite development in neurons. *Current biology : CB*, 17(20), 1752–1758. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2007.09.039>.
- Tanaka, M., Tanaka, T., Matsuzaki, S., Seto, Y., Matsuda, T., Komori, K., Itoh, J., Kijima, H., Tamai, K., Shibayama, M., Hashimoto, Y., Nakazawa, H., & Toma, H. (2003). Rapid and quantitative detection of human septin family Bradeion as a practical diagnostic method of colorectal and urologic cancers. *Medical science monitor : international medical journal of experimental and clinical research*, 9(7), MT61–MT68.

- Valadares, N. F., d' Muniz Pereira, H., Ulian Araujo, A. P., & Garratt, R. C. (2017). Septin structure and filament assembly. *Biophysical reviews*, 9(5), 481–500. <https://doi.org/10.1007/s12551-017-0320-4>.
- Verdier-Pinard, P., Salaun, D., Bouguenina, H. et al. (2017). Septin 9_i2 is downregulated in tumors, impairs cancer cell migration and alters subnuclear actin filaments. *Sci Rep* 7, 44976. <https://doi.org/10.1038/srep44976>.
- Xie, Y., Vessey, J. P., Konecna, A., Dahm, R., Macchi, P., & Kiebler, M. A. (2007). The GTP-binding protein Septin 7 is critical for dendrite branching and dendritic-spine morphology. *Current biology : CB*, 17(20), 1746–1751. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2007.08.042>.
- Zhang, J., Kong, C., Xie, H., McPherson, P. S., Grinstein, S., & Trimble, W. S. (1999). Phosphatidylinositol polyphosphate binding to the mammalian septin H5 is modulated by GTP. *Current biology : CB*, 9(24), 1458–1467. [https://doi.org/10.1016/s0960-9822\(00\)80115-3](https://doi.org/10.1016/s0960-9822(00)80115-3).
- Zhu, J., Qi, S. T., Wang, Y. P., Wang, Z. B., Ouyang, Y. C., Hou, Y., Schatten, H., & Sun, Q. Y. (2011). Septin1 is required for spindle assembly and chromosome congression in mouse oocytes. *Developmental dynamics : an official publication of the American Association of Anatomists*, 240(10), 2281–2289. <https://doi.org/10.1002/dvdy.22725>.
- Zuvanov, L., Mota, D., Araujo, A., & DeMarco, R. (2019). A blueprint of septin expression in human tissues. *Functional & integrative genomics*, 19(5), 787–797. <https://doi.org/10.1007/s10142-019-00690-3>.