

• 论 著 •

斑马鱼 MIB1 启动子及互作基因的功能富集分析*

王 凡,徐世明,鄢 雯,古同男,王宏娟[△]

首都医科大学燕京医学院生物化学与分子生物学教研室,北京 101300

摘 要:**目的** 分析斑马鱼 E3 泛素蛋白连接酶 1(MIB1)基因启动子区转录因子结合位点(TFBS),MIB1 互作基因和互作蛋白的种类及其在信号通路中的作用,探讨 MIB1 基因的调控方式及潜在功能。**方法** 利用国家基因组科学数据中心(NGDC)预测非编码 RNA(ncRNA),利用 Alggen 与 AnimalTFDB 在线网站预测 MIB1 基因 TFBS 种类,使用 GeneMANIA 与 STRING 分析 MIB1 的互作基因与互作蛋白;通过 DAVID 网站获取相关数据,进行基因本体(GO)可视化分析及京都基因与基因组百科全书(KEGG)代谢通路分析。**结果** MIB1 基因启动子区及 5'非翻译区可转录出 ncRNA;通过预测得到 121 种 TFBS,并发现 P53 转录因子既可以结合到 MIB1 基因的启动子区又可与 MIB1 蛋白相互作用;在线预测出 6 种 MIB1 的共表达基因,筛选出 20 种互作基因;通过 GO 可视化分析发现,MIB1 及其互作基因在生物过程方面具有调控细胞、组织、器官生长分化及调节 NOTCH 信号通路等功能,且主要在细胞质核周区、细胞膜和突触后密集区等部位被富集,具有结合 NOTCH 蛋白、PDZ 结构域蛋白等分子功能;KEGG 代谢通路分析发现,MIB1 及其互作基因涉及 4 条代谢途径。**结论** MIB1 包含多种 TFBS,并通过与特定转录因子的相互作用,影响细胞癌变、免疫调节等多种生物学过程。MIB1 还可能通过其互作基因和互作蛋白的介导,在细胞生长调控、造血干细胞分化、胚胎发育及神经元信息的传递等方面发挥重要作用。

关键词:生物信息学; E3 泛素蛋白连接酶 1; 启动子; 转录因子结合位点; 互作基因

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2023.24.004

中图法分类号:Q527;Q754

文章编号:1673-4130(2023)24-2963-07

文献标志码:A

Functional enrichment analysis of MIB1 promoter and interacting genes in zebrafish*

WANG Fan,XU Shiming,YAN Wen,GU Tongnan,WANG Hongjuan[△]

Department of Biochemistry and Molecular Biology,Yanjing Medical College,
Capital Medical University,Beijing 101300,China

Abstract: Objective To analyze the transcription factor binding sites (TFBS) in the promoter region of E3 ubiquitin protein ligase 1 (MIB1) gene in zebrafish, the types of MIB1 interacting genes and proteins and their roles in signaling pathways, and to investigate the regulatory mode and potential function of MIB1 gene. **Methods** Non-coding RNA (ncRNA) was predicted by National Genomics Data Center (NGDC). Alggen and AnimalTFDB online software were used to predict the TFBS types of MIB1 gene. GeneMANIA and STRING were used to analyze the interacting genes and proteins of MIB1. The related data were obtained through DAVID website, and gene ontology (GO) visual analysis and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) metabolic pathway analysis were performed. **Results** ncRNA could be transcribed from the promoter region and 5' untranslated region of MIB1 gene. A total of 121 TFBS were obtained by prediction. P53 transcription factor could bind to the promoter region of MIB1 gene and interact with MIB1 protein. A total of 6 co-expressed genes of MIB1 were predicted online, and 20 interacting genes were screened. GO visual analysis showed that MIB1 and its interaction genes had functions in regulating the growth and differentiation of cells, tissues and organs and regulating the NOTCH signaling pathway in the biological process, and were mainly enriched in the cytoplasmic perinuclear region, cell membrane, postsynaptic dense area and so on. It had molecular functions such as binding NOTCH proteins and PDZ domain proteins. KEGG metabolic pathway analysis

* 基金项目:北京市自然科学基金项目(7132033);燕京医学院科研基金项目(22kypy01,18qdky03)。

作者简介:王凡,男,讲师,主要从事生物化学与分子生物学及生物信息学相关研究。 [△] 通信作者,E-mail:wanghongjuan@ccmu.edu.cn。

showed that MIB1 and its interacting genes were involved in 4 metabolic pathways. **Conclusion** MIB1 contains a variety of TFBS, and affects a variety of biological processes such as cell carcinogenesis and immune regulation by interacting with specific transcription factors. MIB1 may also play an important role in cell growth regulation, hematopoietic stem cell differentiation, embryonic development and neuronal information transmission through the mediation of its interacting genes and proteins.

Key words: bioinformatics; E3 ubiquitin protein ligase 1; promoter; transcription factor binding site; interacting genes

在蛋白质代谢过程中,泛素化修饰是蛋白质翻译后修饰的重要方式之一,底物与泛素可通过 E1 泛素活化酶、E2 泛素结合酶和 E3 泛素连接酶催化的酶促级联反应建立共价连接,进而影响底物蛋白的活性^[1]。E3 泛素连接酶是泛素化反应中的关键酶,介导泛素-蛋白酶体系统中底物的识别,确定泛素化反应的特异性,并通过调控调节蛋白的泛素化过程参与细胞内的多种生理过程^[2]。有研究表明,E3 泛素连接酶可利用泛素-蛋白酶体系统,调节肿瘤相应基因启动子或抑制子,影响肿瘤细胞生长^[3-4]。目前已发现 600 余种 E3 泛素连接酶,其中 E3 泛素蛋白连接酶 1 (MIB1)可通过泛素化 NOTCH 蛋白受体正向调节信号通路,进而促进内吞作用^[5]。在人胚胎干细胞中,MIB1 蛋白能催化八聚体结合转录因子 4(OCT4)的泛素化,调控 OCT4 蛋白处于适宜的表达水平,并介导 OCT4 经 26S 蛋白酶体途径的降解,从而维持胚胎干细胞的自我更新^[6]。此外,钙黏着蛋白关联蛋白可被 MIB1 蛋白泛素化进而调控细胞迁移^[7],MIB1 蛋白还可以调控胰腺向腺泡细胞或导管分化^[8]。

斑马鱼是模式脊椎动物之一,其基因组与人类基因相似度达到 87%,数据库中有其相关信息供查询下载,可作为人类疾病模型,其已成为生命科学研究的新宠^[9]。本研究通过对斑马鱼 MIB1 基因的生物信息学研究,包括非编码 RNA(ncRNA)预测、转录因子结合位点(TFBS)分析、互作基因与互作蛋白预测,以及基因功能富集分析等,探究斑马鱼 MIB1 基因的相关功能。

1 材料与方法

1.1 材料来源 斑马鱼 MIB1 基因序列的获取:美国国家生物技术信息中心(NCBI)(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)。ncRNA 预测:国家基因组科学数据中心(NGDC)(<http://ngdc.cncb.ac.cn/lgc/calculator>)。TATA 盒预测网址:SoftBerry(<http://linux1.softberry.com/berry.phtml>)。TFBS 预测网址:Alggen(<http://alggen.lsi.upc.es>),AnimalTFDB(<http://bioinfo.life.hust.edu.cn/AnimalTFDB4/#/>)。互作基因预测网址:GeneMANIA(<http://genemania.org>)。基因本体(GO)与京都基因与基因

组百科全书(KEGG)分析数据来源:DAVID(<https://david.ncifcrf.gov>)。互作蛋白预测网址:STRING(<http://cn.string-db.org>)。

1.2 方法

1.2.1 斑马鱼 MIB1 基因及其启动子序列的获取 在 NCBI 数据库中搜索斑马鱼 MIB1 基因,读取相关基因信息,在“工具”下拉按钮中选择“序列文本视图”,从中选取转录起始位点上游 1 500 bp 内的 DNA 序列,获取 MIB1 基因的启动子序列。将 MIB1 基因启动子及 5'非翻译区的序列上传至 SoftBerry 中,预测 TATA 盒。

1.2.2 ncRNA 的预测 登录 NGDC 网站,在 ncRNA 模块中将斑马鱼 MIB1 基因启动子及 5'非翻译区的序列一同输入文本框进行预测。

1.2.3 斑马鱼 MIB1 基因 TFBS 预测 登录 Alggen 网站,点击“启动子”按钮,在“设置因子”与“设置位点”中均选择“真核生物”。点击“查询位点”按钮,上传斑马鱼 MIB1 基因的启动子序列,设置“最大矩阵差异率”为 0,点击“提交”进行预测,该数据库使用的是 TRANSFAC 8.3 版本。登录 AnimalTFDB 网站,点击“预测 TFBS”,在对话框中输入启动子序列进行预测,下载预测结果。该网站使用的是动物转录因子数据库 4.0 版本。综合结果中的“得分”与“P 值”,筛选“得分” ≥ 16 且“P 值” $\leq 10^{-6}$ 数量级的 TFBS,将筛选结果与 Alggen 网站的预测结果进行合并整理。

1.2.4 预测斑马鱼 MIB1 蛋白与其转录因子的作用关系 登录 STRING 网站,选择“多种蛋白质”,将预测得到的 TFBS 与 MIB1 蛋白的名称共同输入至对话框中,物种选择“斑马鱼”,点击“搜索”进行预测。

1.2.5 GeneMANIA 预测斑马鱼 MIB1 的互作基因 登录 GeneMANIA 网站,在主页物种下拉菜单中选择“斑马鱼”,并在右侧对话框中输入 MIB1 基因的名称进行预测,筛选具有相互作用关系或调节作用的基因信息,需要说明的是该网站预测的信息更偏向 GO 功能。

1.2.6 STRING 预测斑马鱼 MIB1 的互作蛋白 登录 STRING 网站,选择“按蛋白序列”搜索,在对话框中输入 MIB1 蛋白序列,同时在“生物”选项中选择

盒。斑马鱼 MIB1 基因的 5' 非翻译区长度为 1 001 nt。

2.2 ncRNA 预测结果 由于斑马鱼 MIB1 基因的 5'非翻译区较长,推测有编辑 ncRNA 的可能性,对此进行了预测验证,见图 1。结果显示,“Coding Potential Score”得分为 -0.28,“Coding Label”结果为 ncRNA。综合预测结果提示,MIB1 基因的启动子区及 5'非翻译区可转录出 ncRNA。

2.3 Alggen 网站预测结果 经 Alggen 网站预测,在斑马鱼 MIB1 基因启动子序列中得到 86 种 TFBS,见图 2,图中已标出各种 TFBS 及对应的位置,但有重复。通过手动去重后得到 76 种 TFBS,其中 AML1、ATF-2、CRE-BP2、DFD、DOF2、EVE、FOXP3、GA-GA FACTOR、GT-1、HOXD 家族、Oct-B1、MNB1a、P53、POU 家族、SXR; RXR-ALPHA 等在启动子区出现的频率较高。

Sequence Name	Longest ORF			Coding Label	Pc	Pnc
	ORF Length	GC Content	Coding Potential Score			
Mib1	177	0.35	-0.28	Non-coding	3.793×10^{-5}	5.020×10^{-5}

图 1 ncRNA 预测结果



选并去重后,得到 50 种 TFBS。将该结果与 Algen
预测结果合并去重后,得到 ABF1、ATF、C/EBP、
CREB、CUTL1、DBP、DFD、DMRT3、EVE、FOSL、

GA-BF、GAGA factor、GATA、GR、HNF、HOX、HSF1、IRF、JUN、MYB2、NFATC1、NFATC2、NIT2、OCT-B1、P53、PBF、POU、RC2、SQUA、STAT2、TFIID、TGGCA-binding protein、TLL、TRP53、UNC-86、WT1 I、XBP-1、ZFP28、ZNF 等共计 121 种 TFBS。

2.5 MIB1 与转录因子的作用关系 P53 是抑癌基因 TP53 的转录编码蛋白,具有转录因子活性。通过 STRING 预测发现,斑马鱼 MIB1 蛋白只与其转录因子 P53 有互作关系,与其余转录因子间无互作关系。有趣的是,作为反式作用因子,P53 不仅能与 MIB1 基因启动子结合,还可与 MIB1 蛋白相互作用。见图 3。

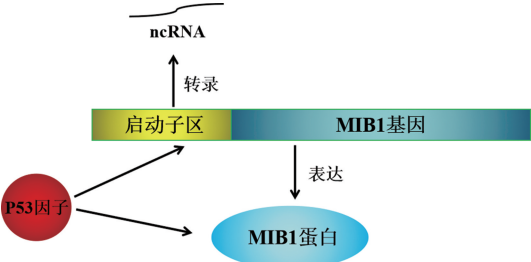


图 3 P53 因子与 MIB1 的作用关系

2.6 GeneMANIA 预测结果 经 GenaMANIA 预测,共得到 20 种斑马鱼 MIB1 的互作基因:ABAT、ACTN2b、ACTN3a、ACTN4、ATP2b4、CSNK2b、CYT1L、DLA、DLC、DLD、EXOC1、EXOC3、FAM76b、HSPA8、LRPAP1、MIB2、TOMM20b、USO1、YAF2、YWHAQA。结果显示,MIB1 基因与 ACTN2b、CSNK2b、HSPA8、DLA 和 DLD 基因有共表达的关系,见图 4。经 GenaMANIA 进一步查询还发现,MIB1 与 DLG1 基因有共表达的关系,DLG1 又可与 DLG4b 共享蛋白结构域。

2.7 STRING 预测结果 通过输入斑马鱼 MIB1 蛋白序列的方式预测得到 11 种 MIB1 互作蛋白,结果见图 5A;再输入 MIB1 蛋白名称,进行预测,结果见图 5B。将两次预测结果汇总,得到以下 20 种互作蛋白:DLD、DLA、DLC、ENSDARP00000050857、NOTCH1a、JAG2b、NEURL1b、NEURL1ab、NEURL1aa、LOC566455、MIB、LOC56551、SHROOM4、ABHD3、SHROOM2a、STK3、GREB1 I、ATOH1b、FTR82、SHROOM1。经分析发现,SHROOM1 蛋白分别可与 SHROOM2a、SHROOM4、STK3 共表达,NOTCH1a 与 DLA 可共表达,见图 6。但 STRING 与 GeneMANIA 的预测结果并不完全是一一对应的关系,前者主要描述蛋白质之间的互作关系,后者更偏向于基因间的互作关系,如共表达、遗传相互作用和物理相互作用等。

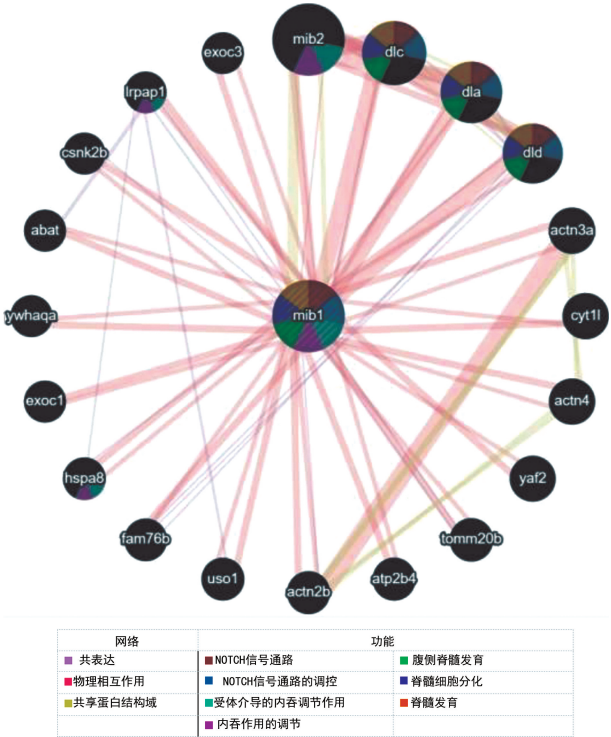
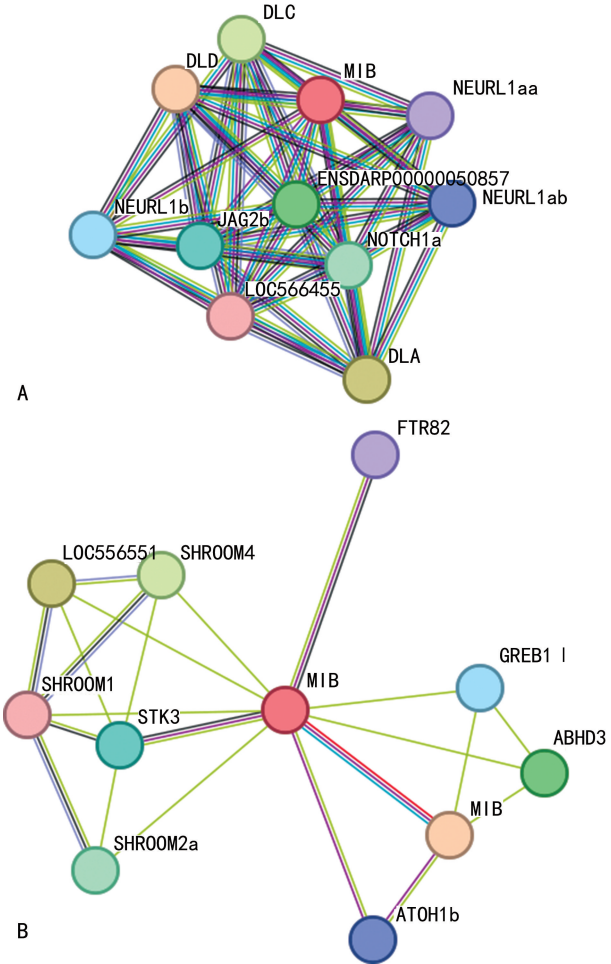


图 4 MIB1 互作基因的作用关系



注:图 A 为 MIB1 蛋白序列预测结果;图 B 为 MIB1 蛋白名称预测结果。

图 5 MIB1 互作蛋白预测结果

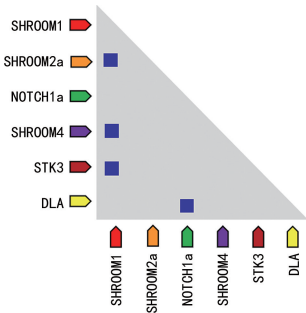
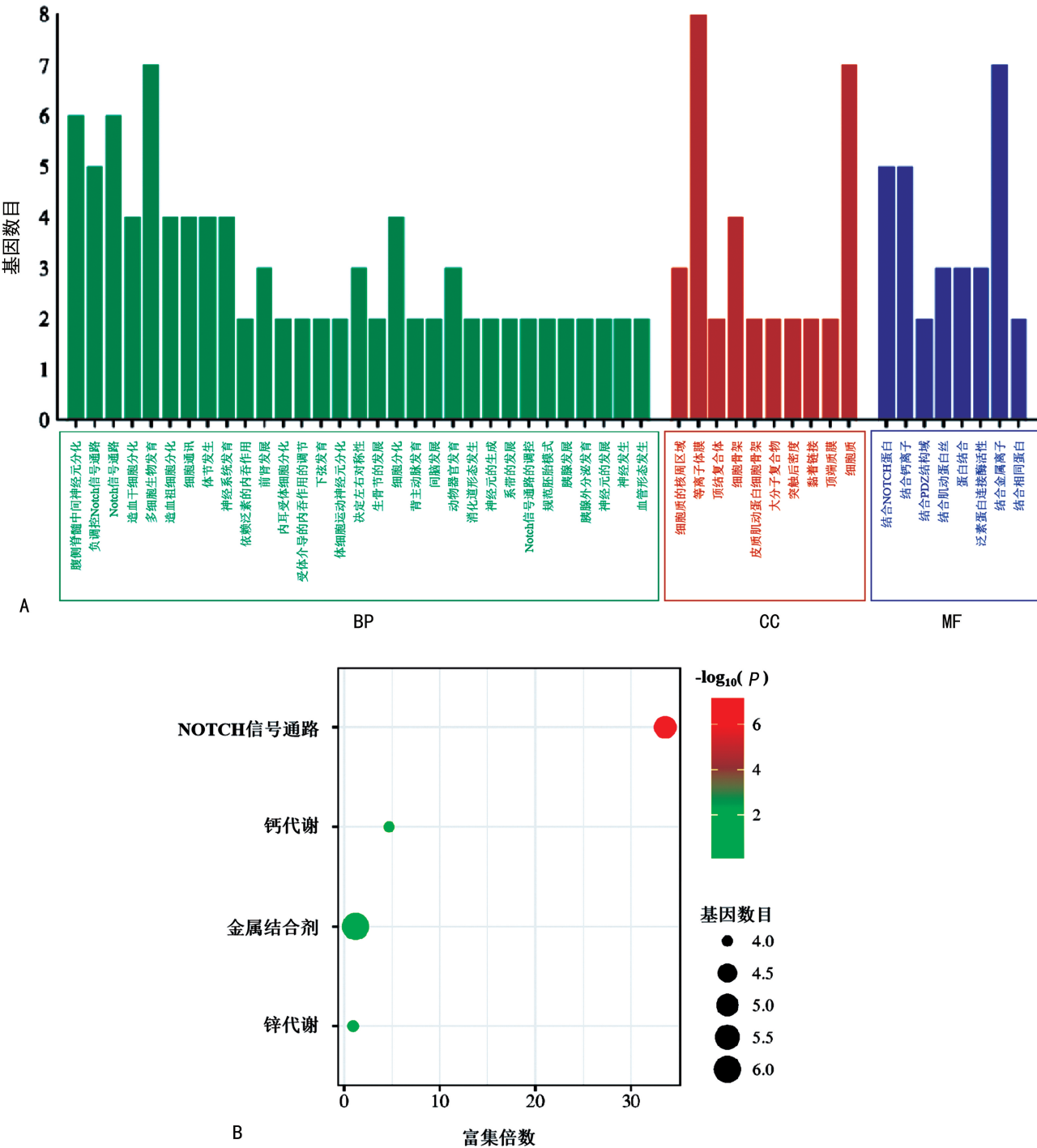


图 6 MIB1 交互蛋白共表达关系

2.8 斑马鱼 MIB1 交互基因 GO 与 KEGG 分析 通过对 MIB1 交互基因的 GO 分析,见图 7A,发现 MIB1 基因及其交互基因在 BP 方面具有调控细胞、组织、器官生长分化、NOTCH 信号通路及神经元的发生发展等功能。在 CC 方面,MIB1 基因主要在细胞质核周区、细胞膜、顶端连接复合体、细胞骨架和突触后致密区等部位富集。在 MF 方面,具有结合 NOTCH 蛋白和 PDZ 结构域蛋白等功能。KEGG 分析得到 4 条代谢途径,见图 7B。



注:A 为 GO 分析;B 为 KEGG 分析。

图 7 MIB1 交互基因的 GO 与 KEGG 分析

2.9 信号通路分析 除 NOTCH 蛋白本身,有两种斑马鱼 MIB1 互作蛋白(DELTA 和 SETTATE)直接参与到 NOTCH 信号通路中,见图 8,但是在前面的预测中并未发现 MIB1 与 SERRATE 有直接的互作关系。为此,通过 GeneMANIA 分析 MIB1 与 SERRATE 的作用关系发现,SERRATE 与剪切多聚腺苷

酸化特异性因子(CPSF3)、DEAD 盒解旋酶(DDX5)、非 ATP 酶蛋白酶体 26S 亚基 1(PSMD1)、复制蛋白 A2(RPA2)、剪接因子 3a(SF3a)具有共表达的关系,且 MIB1 与上述 5 种基因都具有物理相互作用关系,MIB1 与 SERRATE 存在间接作用关系。

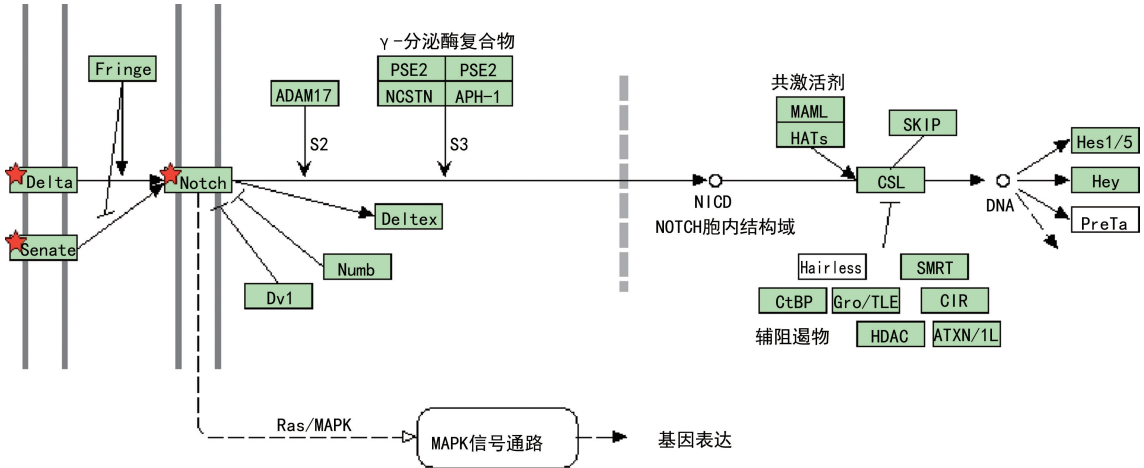


图 8 MIB1 互作蛋白在 NOTCH 信号通路中的位置关系

3 讨 论

ncRNA 广泛涉及不同水平的基因调控,与基因沉默和转录后调控密切相关,ncRNA 的异常表达常与某些侵袭性病变有关^[10]。经预测发现,斑马鱼 MIB1 启动子区及 5'非翻译区可转录出 ncRNA,而这些 ncRNA 的具体功能尚需进一步探索。

斑马鱼 MIB1 基因的 TFBS 的预测结果中得到了 121 种 TFBS,其中包含转录因子 P53。P53 发挥着监控细胞分裂和影响细胞周期启动的作用。细胞出现损伤后,P53 蛋白会阻止 DNA 复制,并对损伤 DNA 进行修复。如果 P53 基因发生突变,会导致机体失去对细胞增殖的控制,引起细胞癌变^[11]。分析预测结果发现,P53 不仅是斑马鱼 MIB1 基因的转录因子之一,还可与 MIB1 蛋白相互作用,推测 P53 可通过这种双重调控方式抑制 MIB1 在癌细胞中的过表达^[12]。这种方式在 P53 参与的基因表达调控中并不常见,值得进一步深入研究。通过预测还发现,斑马鱼 MIB1 基因启动子区存在 IRF 1~3 的结合位点。而 IRF 家族成员是一类重要的转录因子,可结合到干扰素基因 (IFN)启动子上,在机体受到病毒感染时 IRF 可调控 IFN 基因的表达^[13]。据此推测斑马鱼 MIB1 基因在免疫调节方面发挥一定的作用。

GeneMANIA 预测结果显示,斑马鱼 MIB1 与 MIB2 存在互作关系,推测斑马鱼 MIB1 与 MIB2 应是相互结合后,介导通路中信息的传递。此外,MIB1 与 HSPA8 也存在互作关系。有研究称,在细胞应激

反应中,MIB1 可被迅速灭活,导致 AZI1、PCM1、CEP290 非泛素化^[14]。通过进一步查询发现,MIB1 还与 HSPA5 和 HSPA9 相互作用。在此过程中,推测 MIB1 的灭活应该是由热应激蛋白介导的。此外,经预测发现 MIB1 还与 DLG4b 有间接作用关系。DLG4b 基因的表达产物为突触后致密区蛋白 95 (PSD95),其对兴奋性神经元的突触强度和可塑性至关重要,与突触信号传导、发育和生存密切相关^[15]。笔者推测 MIB1 可能是通过 PSD95 的介导,进而影响神经系统发育的。

STRING 预测结果显示,MIB1 有 6 种互作蛋白未在实验中证实,包括 ABHD3、GREB11、LOC556551、SHROOM1、SHROOM2a 与 SHROOM4。在胚胎发育后期,SHROOM 家族蛋白在上皮器官中广泛表达,可使上皮细胞被拉长,且 SHROOM2 的异位表达能够增加细胞长度,而 SHROOM2 功能缺陷则导致神经上皮细胞伸长失败,SHROOM 家族蛋白对于上皮组织的形态发生起着重要作用^[16]。所以,笔者推测 SHROOM 家族蛋白可能通过介导 MIB1 影响细胞的形成分化,二者对于细胞分化及胚胎发育至关重要。

GO 分析发现,造血干细胞分化这一生物过程所涉及的基因有 DLC、NOTCH1a、DLD 和 MIB1,推测 MIB1 基因与造血干细胞分化存在一定关系。在 MF 方面,富集到 MIB1 的互作蛋白(DLC、DLD)具有与 PDZ 结构域蛋白结合的功能。PDZ 结构域与细胞运输、各种离子通道、细胞-细胞连接及细胞迁移关系密

切,且对神经元信号传导、记忆和学习至关重要。鉴于其重要的生物学作用,PDZ 结构域蛋白被用于开发小分子抑制剂,可作为治疗药物的潜在靶点^[17],推测 MIB1 可能由 DLC 或 DLD 介导,与 PDZ 结构域蛋白发生间接作用,影响细胞进程。

研究表明,MIB1 蛋白介导 DELTA 受体的泛素化,其作为 NOTCH 蛋白的配体,通过泛素化 DELTA 胞内结构域,使 DELTA 受体发生内吞作用,正向调控 DELTA 介导的 NOTCH 信号通路^[18],而 NOTCH 信号通路多种癌症的细胞转化和肿瘤发生有关^[19]。MIB1 还参与 NOTCH 信号通路调控的许多过程,如胚层的形成、耳中感觉细胞的分化、后脑的神经发生、肠分泌和细胞迁移等,其对早期胚胎的发育至关重要^[20]。信号通路分析结果表明,斑马鱼 MIB1 可能通过与 SERRATE 的间接作用,从而调节 NOTCH 信号途径。

本研究从斑马鱼 MIB1 启动子、互作基因、互作蛋白和信号通路入手,由基因表达的上游至下游,系统地探讨了 MIB1 的潜在生物学功能。随着生物信息学的不断发展,基因功能的预测将更为精确,可为今后的研究提供更有价值的信息。

参考文献

- [1] TOMA-FUKA S, SHIMIZU T. Structural diversity of ubiquitin E3 ligase[J]. *Molecules*, 2021, 26(21): 6682.
- [2] WANG J, KUNZEK T, PRADE V M, et al. Spatial metabolomics identifies distinct tumor-specific subtypes in gastric cancer patients[J]. *Clin Cancer Res*, 2022, 28(13): 2865-2877.
- [3] SAILO B L, BANIK K, GIRISA S, et al. FBXW7 in cancer: what has been unraveled thus far[J]. *Cancer (Basel)*, 2019, 11(2): 246.
- [4] MIZOGUCHI T, IKEDA S, WATANABE S, et al. Mib1 contributes to persistent directional cell migration by regulating the Ctnnd1-Rac1 pathway[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2017, 114(44): E9280-E9289.
- [5] REVICI R, HOSSEINI-ALGHADERI S, HASLAM F, et al. E3 ubiquitin ligase regulators of notch receptor endocytosis: from flies to humans[J]. *Biomolecules*, 2022, 12(2): 224.
- [6] LIAO B, JIN Y. Wwp2 mediates OCT4 ubiquitination and its own auto-ubiquitination in a dosage-dependent manner[J]. *Cell Res*, 2010, 20(3): 332-344.
- [7] LI B, YU L, LIU D, et al. MIB1 mutations reduce Notch signaling activation and contribute to congenital heart disease[J]. *Clin Sci (Lond)*, 2018, 132(23): 2483-2491.
- [8] SCAVUZZO M A, CHMIELOWIEC J, YANG D, et al. Pancreatic cell fate determination relies on notch ligand trafficking by NFIA[J]. *Cell Rep*, 2018, 25(13): 3811-3827.
- [9] ZANANDREA R, BONAN C D, CAMPOS M M. Zebrafish as a model for inflammation and drug discovery[J]. *Drug Discov Today*, 2020, 25(12): 2201-2211.
- [10] PANNI S, LOVERING R C, PORRAS P, et al. Non-coding RNA regulatory networks[J]. *Biochim Biophys Acta Gene Regul Mech*, 2020, 1863(6): 194417.
- [11] LACROIX M, RISCAL R, ARENA G, et al. Metabolic functions of the tumor suppressor p53: Implications in normal physiology, metabolic disorders, and cancer[J]. *Mol Metab*, 2020, 33: 2-22.
- [12] WANG H, HUANG Q, XIA J, et al. The E3 ligase MIB1 promotes proteasomal degradation of NRF2 and sensitizes lung cancer cells to ferroptosis[J]. *Mol Cancer Res*, 2022, 20(2): 253-264.
- [13] NEGISHI H, TANIGUCHI T, YANAI H. The interferon (IFN) class of cytokines and the IFN regulatory factor (IRF) transcription factor family[J]. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2018, 10(11): a028423.
- [14] VILLUMSEN B H, DANIELSEN J R, POVLSEN L, et al. A new cellular stress response that triggers centriolar satellite reorganization and ciliogenesis[J]. *EMBO J*, 2013, 32: 3029-3040.
- [15] LEVY A M, GOMEZ-PUERTAS P, TÜMER Z. Neurodevelopmental disorders associated with PSD-95 and its interaction partners[J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(8): 4390.
- [16] LEE C, LE M P, WALLINGFORD J B. The shroom family proteins play broad roles in the morphogenesis of thickened epithelial sheets[J]. *Dev Dyn*, 2009, 238(6): 1480-1491.
- [17] LIU X, FUENTES E J. Emerging themes in PDZ domain signaling: structure, function, and inhibition[J]. *Int Rev Cell Mol Biol*, 2019, 343: 129-218.
- [18] CHEN W, CORLISS D C. Three modules of zebrafish Mind bomb work cooperatively to promote Delta ubiquitination and endocytosis[J]. *Dev Biol*, 2004, 267(2): 361-373.
- [19] ZHANG B, CHENG X, ZHAN S, et al. MIB1 upregulates IQGAP1 and promotes pancreatic cancer progression by inducing ST7 degradation[J]. *Mol Oncol*, 2021, 15(11): 3062-3075.
- [20] CROSNIER C, VARGESSON N, GSCHMEISSNER S, et al. Delta-Notch signalling controls commitment to a secretory fate in the zebrafish intestine[J]. *Development*, 2005, 132(5): 1093-1104.