

# 原生动物的细胞骨架蛋白及其功能组件

钱雨 张莹 顾福康\*

(华东师范大学生命科学学院, 上海 200062)

**摘要** 目前在原生动物中发现了许多新的细胞骨架蛋白, 如中心元蛋白、副鞭毛杆蛋白等。深入研究发现, 原生动物的细胞骨架在细胞的模式形成, 细胞核的遗传中也具有重要作用。从功能组件角度着眼研究细胞骨架的功能, 将有助于了解细胞骨架的进化机制。

**关键词** 原生动物; 细胞骨架蛋白; 功能组件

细胞骨架是指真核细胞中的蛋白质纤维网架体系, 一般认为它是由微丝、微管、中间纤维构成。但事实上在原生动物中又找到了许多其他种类的细胞骨架组分, 如中心元蛋白(centrin)、副鞭毛杆(paraxial rod)蛋白等, 由此扩大了人们对细胞骨架的认识。随着对细胞骨架的深入研究, 发现从细胞分裂中各种细胞器以及细胞核的变化, 到具有分化能力的、动态的细胞骨架自身的遗传, 许多细胞的生命活动及细胞功能都与细胞骨架密切相关。因此, 对细胞骨架的深入认识将有助于在整体上理解细胞结构和功能的关系。同时, 近年来提出的“功能组件”的概念也有助于我们了解细胞各个部分是如何相互配合, 共同作用而产生一个复杂的系统的, 并且, 它为研究这个系统的功能和它本身的进化机制提供了一个新的视角。

## 1 细胞骨架蛋白

### 1.1 中心元蛋白

在许多原生动物中, 细胞表面都能抵抗由环境和特殊细胞器如运动器官和口器结构而产生的拉力。它有复杂精细的表膜下骨架以及各种不同的附属结构来固定鞭毛或纤毛系统的毛基体。因此有可能发现新的细胞骨架蛋白, 而这在后生动物中是比较困难的。自从Salisbury等<sup>[1]</sup>在绿藻鞭毛基部发现“中心元”蛋白后, 在真核生物中又陆续发现了一系列中心元蛋白, 并且克隆到了相应基因。纤毛虫四膜虫(*Tetrahymena*)中的中心元蛋白基因和草履虫(*Paramecium*)中的不同, 草履虫有3个编码基因<sup>[2]</sup>, 而四膜虫中只有一个编码基因<sup>[3]</sup>。四膜虫中的中心元蛋白是一类钙调蛋白, 它的分子量为19.4 kDa, 有167个氨基酸, 包括4个EF-手型亚单元, 和其他原生动物的中心元蛋白有80%以上的同源性。四膜

虫中的其他钙调蛋白, 如TCBP23、TCBP25等都和其中中心元蛋白有高度同源性<sup>[4]</sup>。研究发现, 当细胞内 $Ca^{2+}$ 浓度大于 $10^{-7} M$ 时, 四膜虫的运动停止, 并且纤毛拍击形式有所变化。通过抗体定位发现中心元蛋白沿纤毛轴丝分布, 并且与四膜虫的内动力蛋白臂(inner arm dynein, IAD)相连, 因此很可能 $Ca^{2+}$ 直接作用于中心元蛋白的与IAD相连的区域, 引起IAD的变化从而调节细胞的运动<sup>[3]</sup>。

在研究纤毛虫拟尾柱虫(*Paraurostyla*)时, 通过超微结构分析和免疫荧光实验, 发现中心元蛋白和毛基体的结构模式有交叠<sup>[5]</sup>, 其主要功能是在毛基体之间作为连接蛋白。因此推测中心元蛋白可能在毛基体周围帮助细胞形成可收缩的细胞骨架网络。

有证据表明, 中心元蛋白只有与其他蛋白质相结合才能装配成牵引丝, 因此中心元蛋白总是和高分子量蛋白质联系在一起, 一定程度上加强了细胞内的收缩网络<sup>[2,6]</sup>。近来对中心元蛋白的研究中又发现了牵引丝蛋白(spasmin), 它属于EF-手型蛋白家族, 也是一种钙调蛋白, 在等电点、分子量等方面与中心元蛋白有很多类似的生化特征<sup>[7]</sup>。Salisbury等<sup>[8]</sup>发现了Sfi1蛋白, 它是中心元的组分之一, 与中心元蛋白结合成复合物, 在中心粒的形成及改变中心体结构方面有着重要作用。

随着对牵引丝蛋白以及其他毛基体相关蛋白的深入了解发现, 这类钙调蛋白有一个保守氨基酸序列, 这个序列的突变能导致蛋白质结合 $Ca^{2+}$ 的能力下降甚至丧失<sup>[9]</sup>。另外它们的活性还与 $Ca^{2+}$ 的浓度相关, 其主要功能是参与细胞内信号传递, 细胞分

收稿日期: 2003-12-24 接受日期: 2004-08-13

国家自然科学基金资助项目(No.30270160)

\*通讯作者。Tel: 021-62232715, Fax: 021-62233754, E-mail:

fkgu@bio.ecnu.edu.cn

化, 生长调节以及其他一些生命活动过程。因此, 对中心元蛋白的进一步研究可能有助于对中心元蛋白和 EF- 手型蛋白的进化关系有深入了解。

## 1.2 副鞭毛杆蛋白

目前只在动基体类鞭毛虫和腰鞭毛虫中发现有副鞭毛杆(PFR)这种特殊的结构。近年来对副鞭毛杆的形态结构, 以及它的生化性质的研究显示, PFR 含有一系列不同分子量的蛋白质成分<sup>[10]</sup>。在布氏锥虫(*Trypanosoma brucei*)中, PFR 包括 PFR-A 和 PFR-C 两个主要的蛋白质亚单元, 而在利什曼虫(*Leishmania*)中 PFR 则含有 PFR-2 和 PFR-1<sup>[11]</sup>。目前对利什曼虫的副鞭毛杆蛋白研究发现, 其蛋白质亚单元 PFR-1 和 PFR-2 有 60% 的序列完全相同<sup>[10]</sup>。

通过剔除 PFR-1 和 PFR-2 基因构建锥虫突变体, 研究这两个亚单元的功能时发现, 剔除 PFR-2 基因后, 细胞鞭毛的波动形式有很大变化, 运动速度也降低; 剔除 PFR-1 基因或者两者都剔除, 也可看到类似现象。结果表明, PFR 结构中蛋白质组分的完整性对于细胞的正常运动是必需的<sup>[12]</sup>。Bstin 等<sup>[13]</sup>也观察到, 利用 RNA 干扰技术使 PFR-A 基因沉默后, 细胞便失去运动能力, PFR-C 在细胞中无法正确定位。

布氏锥虫的鞭毛不仅通过毛基体与细胞相连, 还有一部分直接与细胞膜相连, 形成“鞭毛接触带(FAZ)”, 构成细胞骨架-胞膜区域<sup>[14]</sup>。在此区域中, 鞭毛膜与细胞质膜并列靠近, 细胞膜也因此在细胞运动时呈现“波动膜”状。除了 PFR 系列蛋白质以外, 还发现有许多蛋白质与细胞 FAZ 有关, 如 GP72、FLA1<sup>[15-17]</sup>、trypanin<sup>[18]</sup>。这些蛋白质对于维持正常的细胞运动是非常关键的, 对它们的具体功能尚不清楚。

## 1.3 微管蛋白

纤毛虫细胞分裂时, 细胞骨架对于细胞核的分裂和大核的定位也是必不可少的。Kenta 等<sup>[19]</sup>利用免疫荧光技术在四膜虫中首次观察到大核中微管结构的存在。在大核分裂早期核内有较短的微管随机排列, 随后再以放射状有规律地排列。在大核延长期, 核内微管又转变成平行排列。在胞质中, 微管则连接着大核与皮层。因此推测微管对染色质的分割、大核收缩及大核在皮层内的定位都有作用。

除了核的遗传外, 微管在皮层的形态发生等方面都有作用。而在细胞不同的生命活动过程中, 其中的微管在数量、长度、空间构型及微管结合蛋白(MAP)的种类上都是不相同的<sup>[20]</sup>。微管的多样化可能是由不同的微管蛋白, 不同的 MAP, 或其两者共同作用产生。特别是 MAP, 它只与特定微管结

合, 可能是赋予微管以特定功能的决定因子<sup>[21]</sup>。

微管蛋白的多样性可能由不同基因表达产生, 也可能由翻译后修饰产生。在大多数鞭毛类和纤毛类原生动物中, 只有极少数基因编码  $\alpha$ 、 $\beta$  微管蛋白<sup>[22]</sup>。目前在嗜热四膜虫(*Tetrahymena thermophila*)中只发现一个  $\alpha$ -微管蛋白基因, 即 ATT1<sup>[23]</sup>。 $\beta$ -微管蛋白通常由 BTU1 和 BTU2 编码, 但产物是相同的多肽<sup>[22]</sup>。虽然编码微管蛋白的基因很少, 但同种类型的微管蛋白则很多, 例如在四膜虫中就分离出 5 种  $\alpha$ -微管蛋白和 3 种  $\beta$ -微管蛋白<sup>[24]</sup>。因此翻译后修饰是微管蛋白多样化的主要原因。通过基因剔除及抗体分析研究原生动物微管蛋白的翻译后修饰发现, 其修饰形式有 C 末端的乙酰化、磷酸化、谷氨酰化及甘氨酸化等多种形式<sup>[25,26]</sup>, 并且甘氨酸和谷氨酸多聚链的长度是决定微管蛋白产生结构差异的决定因子。微管的形态发生不仅与一种翻译后修饰有关, 也可能是一种以上翻译后修饰共同作用的结果<sup>[26,27]</sup>。

## 2 细胞骨架的功能组件

有学者认为: 细胞是一个系统, 它的功能不能简单归因于细胞的一个部分; 基因组是这个系统的成分, 但细胞并非全部基因产物的集合<sup>[26]</sup>。随后, 有人根据一个独立的具有生物学功能的单元只能归因于一个个体分子这个事实, 提出了“功能组件”(functional modules)的概念<sup>[28]</sup>, 认为“功能独立于其他组件的独立实体”, “由许多相互作用的组件组成”。例如在细胞骨架蛋白中, 可以定义一个装配轴突的模板为一个功能组件。若一个蛋白质的功能关系到几个功能组件, 涉及到不同功能, 那么这个蛋白质的任何变异都会导致严重后果。微管蛋白是微管、纺锤体等许多结构的成分, 与核分裂、细胞胞内运输等许多生命活动过程息息相关, 因此微管蛋白变异会使细胞受到巨大影响甚至致命伤害。但事实上微管蛋白极少变异, 它的系统发生与 rRNA 系统发生树重叠<sup>[29]</sup>。而另一个骨架蛋白成分中间纤维(IF), 它的主要功能可能是确保细胞耐受机械压力<sup>[30]</sup>, 中间纤维很少和胞质蛋白有特异的相互作用, 相对于微管蛋白, 它所涉及的功能组件较少。

功能组件间的有机联系是更高水平的细胞结构成分<sup>[28]</sup>。例如, 鞭毛轴丝在毛基体上的生长依赖于基体的成熟和整个细胞的活动, 细胞的纤毛运动是由全部纤毛的协同作用产生, 细胞分裂过程中的纺锤体依赖于微管的稳定性等。

纤毛虫的形态是由毛基体及其相关结构的形成

模式决定的, 这些结构在口的形态发生和细胞骨架动态变化过程中经历了动力学的变化。纤毛虫形态发生的关键在于毛基体的复制机制, 对位于毛基体附近的中心元蛋白以及各类微管蛋白的研究将有助于我们深入了解这个过程<sup>[31]</sup>。而从功能组件角度出发研究毛基体及其动力学变化, 可以对纤毛虫细胞模式形成有一个更开阔的视野, 并产生新的思路。

### 3 展望

随着分子生物学及其研究技术的发展, 在原生动物中还会发现更多不同的功能组件及新的蛋白质, 从而进一步了解功能组件的功能, 以及功能组件间的作用关系。

在寄生原生动物中, 如传染嗜睡病的布氏锥虫, 在宿主体内的运动对其感染过程起很重要的作用, 例如 PFR 突变体的鞭毛波动频率的降低, 以及鞭毛稳定性的减少都可影响寄生虫感染宿主。因此研究 PFR 及其相关蛋白质将使人们更深入地了解这类原生动物的细胞动力学, 从而对于治疗寄生性疾病设计更加有效的手段。

原生动物的细胞骨架形成模式乃至细胞形成模式, 在不同种系中都不相同, 如何在纷杂的模式中找到一般规律? 有人认为初期复制开始的信号可能为  $Ca^{2+}$  在细胞中的波浪型传递<sup>[32]</sup>。在草履虫中, 原生质膜下具有膜间隔, 用以储存  $Ca^{2+}$ ,  $Ca^{2+}$  在这些隔室中的流动模型表明纤毛虫可以产生  $Ca^{2+}$  波<sup>[33]</sup>; 但是, 细胞表膜下骨架成分是如何分析  $Ca^{2+}$  信号的? 相关研究显示, 纤毛虫表膜下细胞骨架并非一个静止的网络, 它在细胞周期中发生连续的动态变化过程。由于在单源类群中找到了相近的骨架结构, 有研究者认为, 当一种细胞骨架形成模式产生后, 细胞就为这一模式所限制, 而这些限制因素与细胞新

结构的形成相关, 称为“结构遗传”<sup>[34]</sup>或“导向性装配”<sup>[35]</sup>。若从“功能组件”的角度看待细胞骨架, 有助于对细胞骨架有整体的认识, 而不局限于某个具体的结构, 从而帮助人们更深入地了解细胞模式形成的机制, 这对研究细胞骨架的分子进化也提供了一个新的视角。

### 参考文献 (References)

- [1] Salisbury JL *et al.* *J. Cell Biol*, 1988, **107**: 635
- [2] Klotz C *et al.* *Cell Motil Cytoskeleton*, 1997, **38**: 172
- [3] Guerra C *et al.* *Mol Biol Cell*, 2003, **14**: 251
- [4] Takemasa T *et al.* *J Biol Chem*, 1990, **265**: 2514
- [5] Lemullois M *et al.* *Biol Cell*, 1999, **91**: 278
- [6] Vaughan S *et al.* *Curr Biol*, 2000, **10**: R258
- [7] Itabashi T *et al.* *Res Microbiol*, 2003, **154**: 361
- [8] Salisbury JL *et al.* *Curr Biol*, 2004, **14**: R27
- [9] Rashidi HH *et al.* *J Mol Microbiol Biotechnol*, 1999, **1**: 175
- [10] Maga JA *et al.* *Trends Cell Biol*, 1999, **9**: 409
- [11] Bastin P *et al.* *Parasitol Today*, 1996, **12**: 302
- [12] Bastin P *et al.* *Nature*, 1998, **391**: 548
- [13] Bastin P *et al.* *J Cell Sci*, 1999, **112**: 3769
- [14] Gull K *et al.* *Annu Rev Microbiol*, 1999, **53**: 629
- [15] Cooper R *et al.* *J Cell Biol*, 1993, **122**: 149
- [16] de Jesus AR *et al.* *J Cell Sci*, 1993, **106**: 1023
- [17] LaCount DJ *et al.* *Mol Biochem Parasitol*, 2000, **111**: 67
- [18] Hutchings NR *et al.* *J Cell Biol*, 2002, **156**: 867
- [19] Fujii K *et al.* *Cell Motil Cytoskeleton*, 2000, **46**: 17
- [20] Shang Y *et al.* *J Cell Biol*, 2002, **158**: 1195
- [21] Gaertig J *et al.* *J Eukaryot Microbiology*, 2000, **47**: 185
- [22] Gaertig J *et al.* *Cell Motil Cytoskeleton*, 1993, **25**: 243
- [23] McGrath KE *et al.* *Cell Motil Cytoskeleton*, 1994, **27**: 272
- [24] Gaertig J *et al.* *J Cell Biol*, 1995, **129**: 1301
- [25] Luduena RF. *Int Rev Cytol*, 1998, **178**: 207
- [26] MacRae TH. *Eur J Biochem*, 1997, **244**: 265
- [27] Harold FM *et al.* *Microbiol Rev*, 1990, **54**: 381
- [28] Hartwell LH *et al.* *Nature*, 1999, **402**: C47
- [29] Tourancheau AB *et al.* *Mol Phylogenet Evol*, 1998, **10**: 299
- [30] Goldman RD *et al.* *J Cell Biol*, 1996, **134**: 971
- [31] Beisson J *et al.* *Protist*, 2001, **152**: 339
- [32] Aufderheide KJ *et al.* *Microbiol Rev*, 1980, **44**: 252
- [33] Stelly N *et al.* *J Cell Sci*, 1995, **108**: 1895
- [34] Frankel J. *Pattern Formation: A Primer in Developmental Biology*, New York: Macmillan Press, 1984, 626
- [35] Grimes GW *et al.* *Monogr Dev Biol*, 1991, **22**: 1

## The Cytoskeletal Proteins and Functional Modules in Protozoa

Yu Qian, Ying Zhang, Fu-kang Gu\*

(School of Life Sciences, East China Normal University, Shanghai 200062, China)

**Abstract** Recently many kinds of new proteins of cytoskeleton in protozoa are founded, such as paraflagellar rod protein components and centrin. With the further researches of the cytoskeleton, it has illustrated that it is essential to the formation of the cell pattern and inheritance of the nucleus. To study the modules will expand our perspectives to understand the cytoskeleton, even cellular biology, in the light of evolution.

**Key words** protozoa; cytoskeletal protein; functional modules

Received: December 24, 2003 Accepted: August 13, 2004

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (No.30270160)

\*Corresponding author. Tel: 86-21-62232715, Fax: 86-21-62233754, E-mail: fkgu@bio.ecnu.edu.cn