

原核细胞骨架蛋白的结构与功能

陈晓燕 汪志平* 杨灵勇

(浙江大学原子核农业科学研究所, 农业部核农学重点开放实验室, 杭州 310029)

摘要 长期以来, 人们认为细胞骨架仅为真核生物所特有的结构, 但近年来的研究发现它也存在细菌等原核生物中。目前已经在细菌中发现的 FtsZ、MreB 和 CreS 依次与真核细胞骨架蛋白中的微管蛋白、肌动蛋白丝及中间丝类似。FtsZ 能在细胞分裂位点装配形成 Z 环结构, 并通过该结构参与细胞分裂的调控; MreB 能形成螺旋丝状结构, 其主要功能有维持细胞形态、调控染色体分离等; CreS 存在于新月柄杆菌中, 它在细胞凹面的细胞膜下面形成弯曲丝状或螺旋丝状结构, 该结构对维持新月柄杆菌细胞的形态具有重要作用。

关键词 细胞骨架; 原核类似蛋白; 结构与功能

细胞骨架(cytoskeleton)是指真核细胞中的蛋白纤维网架体系。一般认为, 它由微管蛋白(tubulin)、肌动蛋白丝(actin filament)和中间丝(intermediate filament)这 3 种蛋白所组成^[1]。细胞骨架不仅在维持细胞形态和保持细胞内部结构的有序性中起着重要作用, 而且与细胞的胞质运动、物质运输、能量转换、信息传递、基因表达、分裂和分化等生命活动密切相关^[2]。长期以来, 人们认为细胞骨架仅为真核生物所特有的结构, 但近年来研究发现它也存在细菌等原核生物中^[3,4]。到目前为止, 人们已经在细菌中发现了 FtsZ、MreB 和 CreS 这 3 种重要的细胞骨架蛋白, 它们分别与真核细胞骨架的微管蛋白、肌动蛋白丝和中间丝类似^[5,6]。细菌的细胞骨架蛋白各自装配形成一定的结构, 进而构成与真核生物中类似的细菌细胞骨架, 并在细胞的分裂、形态建成、染色体分离等方面发挥重要作用^[7]。本文主要对上述 3 种细菌细胞骨架蛋白的发现、生化特性、装配方式以及结构与功能作一介绍。

1 微管蛋白的原核类似蛋白——FtsZ

1980 年, Lutkenhaus 等^[8]发现大肠杆菌突变株 PAT84 中具有一个新的丝状热敏感性基因 Z(*filamentous temperature-sensitive gene Z*, *ftsZ*)。随着对该基因及其表达产物 FtsZ 研究的不断深入, 人们发现 FtsZ 是调控细菌细胞分裂的主要物质, 且与真核细胞微管蛋白的结构与功能有许多类似之处^[9]。

1.1 FtsZ 与微管蛋白的类似之处

早在 20 世纪 90 年代初就有科学家指出 FtsZ 可能是真核细胞中微管蛋白的原核类似物, FtsZ 与微管蛋白的相似性主要表现在氨基酸序列、生化性质和装配方式等方面。从总体上看, FtsZ 的氨基酸序列与微管蛋白的同源性很低(<20%), 但 FtsZ 包含的氨基酸序列 GGGTGTG 与微管蛋白的标志性序列(微管蛋白与鸟嘌呤的结合部位)相似。在生化性质方面, FtsZ 与微管蛋白一样, 均属 GTP 结合蛋白, 且水解 GTP 时不需要其他辅助蛋白, 而是通过自身蛋白的自我联接来促进水解反应。更重要的是, FtsZ 可以象微管蛋白那样装配形成原丝(proto-filament)和微管(microtubule)结构^[5,10-12]。Lowe 等^[13]进一步研究发现 FtsZ 的三级结构与微管蛋白的极为相似(图 1)^[13,14], 并正式确立 FtsZ 为微管蛋白的原核类似蛋白。

1.2 FtsZ 的装配

作为细胞骨架的组成蛋白, FtsZ 并非仅以单体形式散落于细胞质中, 而是装配成某种特定的结构以行使其功能。FtsZ 是一种 GTP 结合蛋白, 细胞中每个 FtsZ 单体都与一个 GTP 或 GDP 结合形成 FtsZ-GTP 或 FtsZ-GDP。FtsZ-GTP 首先装配成为中空的原丝, 装配时 FtsZ-GTP 所携带的 GTP 立刻被水解为 GDP 和无机磷酸盐^[12,15]。FtsZ 原丝进一步在细胞分裂部位的细胞膜内壁上装配形成环状结构(称

收稿日期: 2006-01-24 接受日期: 2006-03-21

国家自然科学基金资助项目(No.30000010)

* 通讯作者。Tel: 0571-86971021, Fax: 0571-86971021, E-mail:

zhpwang@zju.edu.cn

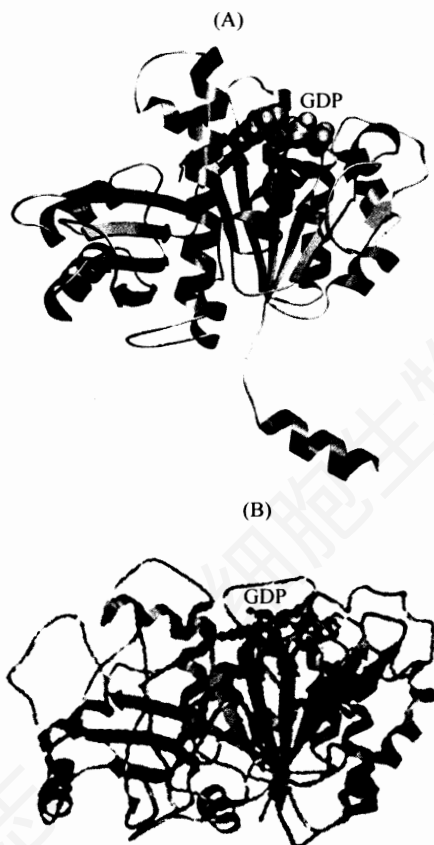


图1 FtsZ(A)^[13]和微管蛋白(B)^[14]的三级结构

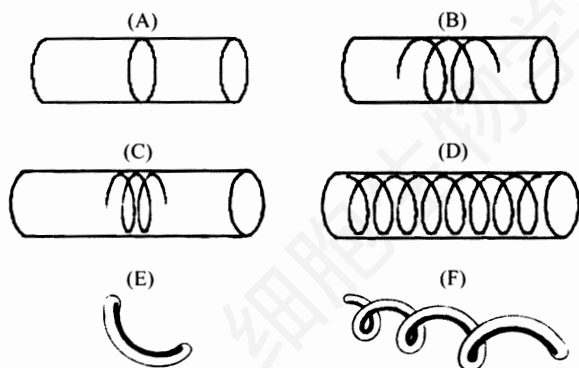


图2 原核细胞骨架蛋白装配所形成的结构示意图

A和B摘自文献[6]; F摘自文献[33]; C、D、E由笔者根据文献[6, 33]绘制。A: FtsZ在杆状细菌细胞分裂位点的细胞膜内壁装配形成的环状结构(Z环); B: FtsZ在杆状细菌细胞膜内壁装配形成的螺旋结构; C: MreB在杆状细菌细胞膜内壁装配形成的螺旋丝状结构; D: Mbl在杆状细菌细胞膜内壁装配形成的螺旋丝状结构; E: CreS在新月柄杆菌细胞膜内壁装配形成的弯曲丝状结构(粗线); F: CreS在新月柄杆菌细胞膜内壁装配形成的螺旋丝状结构(粗线)。

为Z环,图2A),该结构在细胞分裂过程中起重要作用^[6,7,9,13]。随着光漂白荧光恢复技术(fluorescence recovery after photobleaching, FRAP)、时间间隔

显微(time-lapse microscopy)技术等新技术的发明与应用,人们发现FtsZ形成的Z环结构不是静态的,而是一种动态结构。Stricker等^[16]研究指出,Z环处于不断自我更新的过程中,即Z环上的FtsZ与Z环以外的FtsZ进行快速交换。Aderson等^[17]进一步研究了Z环的更新速率,结果表明Z环结构完全更新一次大约只需9 s,约为微管蛋白更新速率3倍。他们还发现GTP酶活性的降低会导致Z环更新速率的下降,说明Z环的更新速率在一定程度上受GTP的影响。

除了形成Z环结构,FtsZ还能形成环绕细胞膜内壁的螺旋结构(图2B)。特别是当细胞中不存在Z环时,这种螺旋结构尤为明显^[18]。例如,枯草杆菌(*B. subtilis*)细胞在进行不对称分裂形成孢子之前,Z环将由细胞中部移向靠近细胞一极的分裂位点。当原来的Z环已经解体而新的Z环还未形成时,在细胞中能够清楚地观察到FtsZ的螺旋结构。而*B. subtilis*的两极附近形成新的Z环后,FtsZ的螺旋结构消失。因此,Ben-Yehuda等^[19]推测FtsZ的螺旋结构可能是Z环结构移动时的中间状态。

1.3 FtsZ的主要功能

真核生物中,细胞分裂主要由肌动蛋白丝来调控,微管蛋白则主要参与控制细胞的形态建成。而在细菌中这一情况恰好相反,细胞的形态建成主要由肌动蛋白丝类似蛋白MreB来调控,而微管蛋白类似蛋白FtsZ则是调控细胞分裂的主要物质^[4]。细菌细胞分裂时,在Z环结构的作用下,细胞在分裂位点产生缢缩,同时一些相关的蛋白质被集中到Z环中。FtsZ与这些相关的蛋白质共同作用,最终在Z环位置形成隔膜,使母细胞分裂为两个子细胞。当细胞进行不对称分裂时(如*B. subtilis*孢子形成),细胞中部的Z环消失,随之在原来Z环的位置产生FtsZ的螺旋结构,该螺旋结构会向细胞的两极移动。最后,在细胞靠近细胞两极的位置各形成一个Z环,其中一个Z环形成隔膜将母细胞分隔成一个大的子细胞和一个小的细胞室(发育成为孢子),而另一个Z环则被解体^[6]。由此可见,FtsZ参与调控细胞分裂过程主要是通过使细胞缢缩、形成隔膜来实现。那么,细胞缢缩的动力源自何处呢?这可能与Z环的更新有关,非聚合状态的FtsZ结合到Z环上会使Z环延长,而聚合状态的FtsZ从Z环上被解聚时会使Z环缩短。Graumann^[6]推断Z环这种伸缩运动可能是细胞产生缢缩的动力来源。

需要补充的是, FtsZ 在履行细胞分裂调控的过程中, 必须有一些辅助因子的参与。这些辅助因子大致可分为 3 类: EzrA、MinC、SulA 等是抑制 FtsZ 聚合的因子; FtsA、ZipA、ZapA 等是保持 Z 环稳定性的因子; MinD、MinE、DivVIA 等是与 FtsZ 间接互作的因子^[4,7]。

2 肌动蛋白丝类似蛋白——MreB

人们在研究细菌形态建成机制的过程中, 发现了一种与杆状细胞形态建成相关的基因——*mreB* (*murein cluster e B*)^[20]。此后, 人们对 *mreB* 及其编码产物 MreB 的结构、功能等方面展开了进一步的研究, 结果发现 MreB 在氨基酸序列、装配方式、结构与功能方面与真核生物中肌动蛋白丝的均具有较高的类似性。

2.1 MreB 与肌动蛋白丝的类似之处

1992 年, Bork 等^[21]分析了肌动蛋白丝家族的氨基酸序列和三级结构, 归纳总结出肌动蛋白丝的

ATP 结构域所共有的一些保守氨基酸序列。同时, 他们通过数据库搜索与比对, 得到了包括存在于原核生物中的 MreB 等一系列与肌动蛋白丝具有同源序列的蛋白质, 并首次提出真核细胞肌动蛋白丝起源于 MreB 的假说。后来, van den Ent 等^[22]研究发现 MreB 不仅装配形成的 MreB 原丝与肌动蛋白原丝极为类似, 而且 MreB 的三级结构与肌动蛋白的也非常相似(图 3)。由此, 人们认为 MreB 为肌动蛋白丝的原核类似蛋白。

2.2 MreB 的装配

与肌动蛋白丝类似, MreB 也以螺旋丝状结构 (helical filamentous structure) 的形式存在于细菌细胞中。MreB 单体先聚合形成单链, 再由两条单链相互缠绕形成一条 MreB 原丝, 最后由多条 MreB 原丝装配形成螺旋丝状结构环绕于细胞膜内壁上(图 2C)^[23]。值得指出的是, 在 *B. subtilis* 中还存在着一种 MreB 的类似蛋白 (MreB-like protein, Mbl), 它也能装配形成螺旋丝状结构(图 2D)^[23-25]。有所不同的是, MreB 的螺旋丝状结构主要定位于细胞中部, 在细胞两极几乎不存在; 而 Mbl 的螺旋丝状结构则从细胞一极延伸到另一极, 且螺距 $(1.70 \pm 0.28) \mu\text{m}$ 明显大于 MreB 螺旋丝状结构的螺距 $(0.73 \pm 0.12) \mu\text{m}$ ^[23]。

Carballido-Lopez 等^[26]在运用 FRAP 技术研究 *B. subtilis* 的 Mbl 螺旋丝状结构时发现, 它也是一种动态结构, 即会在细胞膜下面沿着自身的螺旋轨迹旋转。Defeu-Soufo 等^[25]利用时间间隔显微镜对绿色荧光蛋白标记的 MreB 和 Mbl 进行研究, 也得到了与 Carballido-Lopez 等^[26]类似的结论, 即 *B. subtilis* 中的 MreB 和 Mbl 的螺旋丝状结构都能沿着自身的螺旋轨迹转动, 且在 1 min 之内就可以完成 360° 的旋转。Graumann^[6]指出这种运动可能是一种潜在的细胞动力来源。

2.3 MreB 的主要功能

MreB 是一种调控杆状细胞形态的重要决定蛋白质^[23,27]。研究表明, 若 *E. coli*、*Salmonella typhimurium* 和 *B. subtilis* 等杆状细菌中的 *mreB* 发生突变, 则导致菌体变成球形^[27-29]。另外, 存在于 *B. subtilis* 中的 Mbl 也与杆状细胞的形态建成相关, 且与 MreB 共同调控 *B. subtilis* 细胞的形态^[23]。Jones 等^[23]分别对 *B. subtilis* 的 *mreB* 突变株和 *mbl* 突变株的细胞形态进行了研究, 并发现 *mreB* 突变株的细胞形态异常主要表现为细胞呈球形或变宽, 而 *mbl*

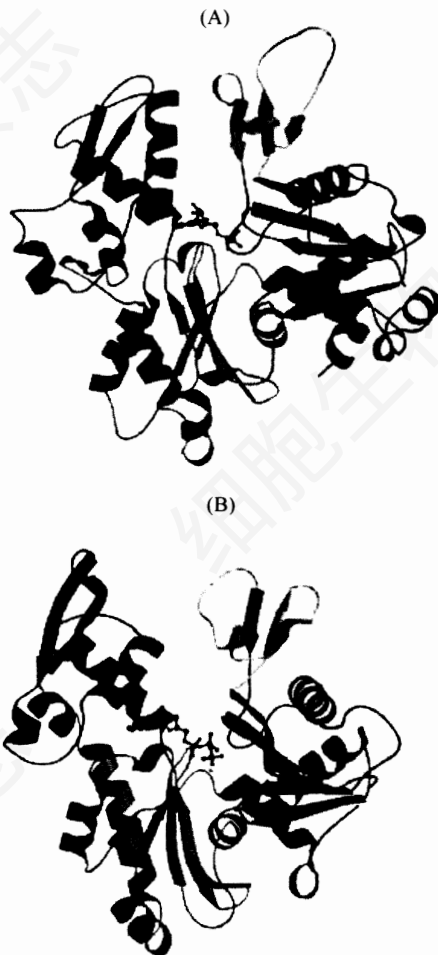


图 3 肌动蛋白丝(A)与 MreB(B)的三级结构^[22]

突变株的细胞形态异常则主要表现为细胞伸长和无规卷曲。可见, *MreB* 主要参与调控细胞的宽度, 而 *Mbl* 主要控制细胞的长度和保持细胞长轴方向的直线性。近年来, 人们已通过研究进一步发现 *MreB* 和 *Mbl* 可能是通过调控细胞壁合成来调控杆状细胞的形态建成。例如, *Caulobacter crescentus* 的细胞壁合成受 *MreB* 调控, 而 *B. subtilis* 的细胞壁合成则受 *Mbl* 调控^[26,27,30]。

除了参与细胞的形态建成, *MreB* 还参与调控染色体的分离^[29]。Kruse 等^[31]发现, 细胞中 *mreB* 突变基因的过表达, 不仅会导致 *MreB* 螺旋丝状结构异常, 而且会使 *E. coli* 染色体某些区域(如 *oriC* 和 *terC* 区域)的数量和位置出现异常, 进而影响染色体分离和细胞分裂。Defeu Soufo^[32]等研究发现, 当 *B. subtilis* 细胞缺失 *MreB*, 会导致染色体的分离异常, 使所有染色体向细胞的一极移动。此外, *MreB* 还是 *C. crescentus*、*Salmonella typhimurium* 和 *B. subtilis* 存活所必需的物质^[6]。对于 *E. coli*, *MreB* 虽然不是其存活所必需的物质, 但如细胞缺失 *MreB* 也会大大降低 *E. coli* 的存活率。总之, *MreB* 和 *Mbl* 在决定细胞形态、调控染色体分离和维持细菌存活等方面具有重要作用。

3 中间丝类似蛋白——CreS

为研究新月柄杆菌(*Caulobacter crescentus*)细胞形态建成的调控机制, Ausmees 等^[33]运用 Tn5 转座子插入技术构建了两个新月柄杆菌的形态突变株, 并利用转座子标签技术克隆到一个与新月柄杆菌细胞形态建成相关的基因——*creS*, 进而对其编码蛋白 CreS(crescentin)的特性、结构和功能等作了研究。

3.1 CreS 与中间丝类似之处

Ausmees 等^[33]通过研究发现 CreS 是真核中间丝的原核类似蛋白, 它在氨基酸序列、二级结构和生化特性等方面都与动物体内的中间丝高度相似。CreS 的氨基酸序列与两种人体中间丝(cytokeratin 19 和 nuclear lamin A)的均具有 40% 的相似性。进一步的二级结构分析表明, CreS 同样具有动物中间丝所共有的中心螺旋结构域, 该结构域均含有 4 个螺旋片段和 C 端一个高度保守的 stutter 结构。另外, 与真核中间丝类似, CreS 在体外装配形成纤维丝, 不需提供任何能量和辅助因子。

3.2 CreS 的结构与功能

CreS 对新月柄杆菌的形态建成起着至关重要的

调控作用。(1)当 *creS* 中因转座子插入致使表达失活后, 菌体即由正常的月牙形或螺旋形变成杆状或直线状。(2)CreS 必须装配成一定的空间结构, 才能维持新月柄杆菌正常的细胞形态, 如 CreS 在月牙形细胞凹面的细胞膜内壁上装配形成弯曲形的丝状结构(图 2E); 在螺旋形细胞螺旋内部的细胞膜内壁上装配形成螺旋形的丝状结构, 即形成一条贯穿整个细胞纵轴且长度最短的螺旋丝状结构(图 2F)。(3)弯曲或螺旋丝状结构的 CreS 装配体在细胞中的不对称定位是调控新月柄杆菌细胞形态建成的关键, 当 CreS 因被标记了绿色荧光蛋白而无法在细胞膜上定位时, 即使 CreS 已装配形成正常的弯曲或螺旋丝状结构, 新月柄杆菌也不能形成正常形态, 而是呈杆状或直线状。因此, 新月柄杆菌要形成正常形态, 细胞中不但要有 CreS 存在, 而且 CreS 还必须形成弯曲或螺旋形丝状装配体, 并在细胞膜上正确定位。

目前, 有关 CreS 的研究尚处于起步阶段, 其详细的空间结构与功能、装配体的装配方式、在细胞膜上定位, 以及其他细菌中存在与否等问题, 尚有待于进一步研究。

4 小结

细胞作为生物的基本组成单位, 其纷繁复杂的形态是形成地球上千姿百态的生物世界的基础。自生命科学诞生至今的几百年来, 形态发生学一直是生命科学领域古老而又年轻的重大研究课题之一^[34,35]。众多研究表明, 细胞骨架在细胞形态的建成和维持中起着重要作用^[36]。蛋白质是构成细胞骨架重要的物质基础, 上述有关 FtsZ、MreB 和 CreS 等细菌细胞骨架蛋白的发现、装配方式, 以及结构与功能等研究成果, 对深入而全面地阐明细胞骨架的起源、进化、结构与功能等问题, 揭示生物形态建成机制等, 奠定了具有里程碑意义的重要基础。

目前, 人们对细菌等原核生物细胞骨架的研究尚处于起步阶段。随着蛋白质组学等新学科的诞生与发展, 以及 FRAP 等新技术的发明与应用, 原核生物细胞骨架的研究将不断深入。笔者认为今后应该加强以下 6 方面的研究: (1)继续发现更多与形态或细胞骨架相关的新基因和新蛋白质; (2)进一步研究 FtsZ、MreB 和 CreS 等细菌细胞骨架蛋白的装配调控机制; (3)研究基因互作、调控细胞骨架或细胞形态建成的基因网络层次、转录表达机制等; (4)研究原核细胞骨架与真核细胞骨架之间的异同

性, 以及细胞骨架的起源与进化; (5) 研究激素、温度等对细胞骨架与形态建成的调控作用, 细胞骨架蛋白对信号物质的响应, 及其在信号转导过程中的动力学机制; (6) 将目前主要以模式生物为材料的研究推广至螺旋藻等^[37,38]其他生物, 以期对现有成果进行扩展、补充、完善及应用。

参考文献(References)

- [1] 翟中和等. *细胞生物学*, 北京: 高等教育出版社, 1995, 239
- [2] Janmey PA. *Physiol Rev*, 1998, **78**: 763
- [3] Mayer F. *Cell Biol Int*, 2003, **27**: 429
- [4] Amos LA *et al.* *Curr Opin Cell Biol*, 2004, **16**: 24
- [5] van den Ent F *et al.* *Curr Opin Microbiol*, 2001, **4**: 634
- [6] Graumann PL. *Curr Opin Microbiol*, 2004, **7**: 565
- [7] Moller-Jensen J *et al.* *Curr Opin Cell Biol*, 2005, **17**: 75
- [8] Lutkenhaus JF *et al.* *J Bacteriol*, 1980, **142**: 615
- [9] Bi EF *et al.* *Nature*, 1991, **354**: 161
- [10] Mukherjee A *et al.* *Proc Natl Acad Sci USA*, 1993, **90**: 1053
- [11] Bramhill D *et al.* *Proc Natl Acad Sci USA*, 1994, **91**: 5813
- [12] Erickson HP. *Cell*, 1995, **80**: 367
- [13] Lowe J *et al.* *Nature*, 1998, **391**: 203
- [14] Nogales E *et al.* *Nature*, 1998, **391**: 199
- [15] Scheffers DJ *et al.* *Mol Microbiol*, 2002, **43**: 1517
- [16] Stricker J *et al.* *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, **99**: 3171
- [17] Aderson DE *et al.* *J Bacteriol*, 2004, **186**: 5775
- [18] Thanedar S *et al.* *Curr Biol*, 2004, **14**: 1167
- [19] Ben-Yehuda S *et al.* *Cell*, 2002, **109**: 257
- [20] Wachi M *et al.* *J Bacteriol*, 1987, **169**: 4935
- [21] Bork P *et al.* *Proc Natl Acad Sci USA*, 1992, **89**: 7290
- [22] van den Ent F *et al.* *Nature*, 2001, **413**: 39
- [23] Jones LJ *et al.* *Cell*, 2001, **104**: 913
- [24] Abhayawardhane Y *et al.* *J Bacteriol*, 1995, **177**: 765
- [25] Defeu Soufo HJ *et al.* *EMBO Rep*, 2004, **5**: 789
- [26] Carballido-Lopez R *et al.* *Dev Cell*, 2003, **4**: 19
- [27] Figge RM *et al.* *Mol Microbiol*, 2004, **51**: 1321
- [28] Doi M *et al.* *J Bacteriol*, 1988, **170**: 4619
- [29] Graumann PL *et al.* *Bioessays*, 2004, **26**: 1209
- [30] Daniel RA *et al.* *Cell*, 2003, **113**: 767
- [31] Kruse T *et al.* *EMBO J*, 2003, **22**: 5283
- [32] Defeu Soufo HJ *et al.* *Curr Biol*, 2003, **13**: 1916
- [33] Ausmees N *et al.* *Cell*, 2003, **115**: 705
- [34] von Linné C *et al.* *Philosophia Botanica*, 1751, 362
- [35] 许智宏. *植物学报*, 1999, **41**: 909
- [36] Mathur J. *Trends Plant Sci*, 2004, **9**: 583
- [37] Townsend R *et al.* *J Bacteriol*, 1980, **142**: 973
- [38] Wang ZP *et al.* *J Phycol*, 2005, **41**: 622

The Structure and Function of Prokaryotic Cytoskeleton

Xiao-Yan Chen, Zhi-Ping Wang*, Ling-Yong Yang

(Institute of Nuclear-Agricultural Sciences, the Key Laboratory of Nuclear-Agricultural Sciences,
Ministry of Agriculture, Zhejiang University, Hangzhou 310029, China)

Abstract It was discovered recently that prokaryotes, such as bacteria, possess a cytoskeleton, which has challenged our previous perception of the cytoskeleton as a hallmark of eukaryotic cells. It has been found in bacteria that FtsZ, MreB, CreS, as the bacterial cytoskeletal proteins, were homologous to the three primary eukaryotic cytoskeletal proteins, tubulin, actin filament and intermediate filament, respectively. FtsZ, the major bacterial cell division determinant, forms Z-ring structure that localized in the midcell division site. MreB forms helical filamentous structure underneath the cell membrane, and is important for the maintenance of rod cell shape and for the segregation of chromosomes. CreS, which is found in *Caulobacter crescentus*, forms a helical structure that colocalized with the inner cell curvatures beneath the cytoplasmic membrane. Moreover, the subcellular localization of the CreS helical structure is important for causing cell curvature or helix.

Key words cytoskeleton; prokaryotic homologue; structure and function

Received: January 24, 2006 Accepted: March 21, 2006

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (No.30000010)

*Corresponding author. Tel: 86-571-86971021, Fax: 86-571-86971021, E-mail: zhpwang@zju.edu.cn