

细胞骨架纤维间的相互联系

赵霞 刘全宏* 王筱冰 米娜

(陕西师范大学生命科学学院, 西安 710062)

摘要 细胞骨架是由微丝、微管及中间纤维组成的蛋白质纤维网络体系。三种骨架纤维具有不同的形态、结构和功能特征, 它们在细胞中彼此联系、互相依赖, 共同构成完整的细胞骨架系统, 在细胞的各项生命活动中起着重要的作用。认识与研究细胞骨架的这三种纤维之间存在的相互联系, 揭示它们作用的分子机制, 对全面、科学的认识细胞骨架系统在细胞中起到的作用以及对于科学研究都有着重要的意义。

关键词 细胞骨架; 微丝; 微管; 中间纤维; 辅助蛋白

细胞骨架是由微丝、微管和中间纤维构成的网络结构, 这三种纤维分别是由结构不同的蛋白质装配组成的纤维细丝。从19世纪60年代细胞骨架被发现以来, 国内外学者通过光镜、电镜、原子力显微镜、免疫荧光、骨架抽提等多种研究方法对细胞骨架三种纤维的形态、结构及其功能做了深入的研究。发现三种纤维在形态、结构和功能上虽有许多差异, 但它们之间彼此联系, 构成一个复杂精致的细胞骨架系统, 在细胞的生长、分裂、迁移运动、细胞器的运输、细胞极化、细胞连接等方面发挥着重要的作用。这些纤维间的联系涉及的分子机制复杂, 除了多种辅助蛋白(accessory proteins)介导下的骨架分子间接联系外, 在微丝和中间纤维之间还存在直接的联系以及功能上的相互调控。本文就现有的一些文献报道, 对细胞骨架纤维间的相互联系及其最新研究进展作一简要综述。

1 微丝和微管间的相互联系

微丝是由球形肌动蛋白单体形成的肌动蛋白丝多聚体, 其广泛存在于黏着斑、应力纤维以及收缩环等细胞结构中, 在细胞黏附、形态发生、胞质分裂等过程中起着重要作用; 微管是由 $\alpha\beta$ 微管蛋白和少量的微管结合蛋白(microtubule-associated proteins, MAPs)形成的中空管状纤维, 可以调节细胞器的定位, 介导细胞内的膜泡、细胞器和蛋白质的运输以及在有丝分裂时形成纺锤体将染色体分开。大量的研究者已经发现, 在黏着斑、应力纤维、收缩环以及纺锤体中均存在着微丝和微管之间的相互作用。在胞质分裂的早期, 肌动蛋白通过微管依赖的方式在赤道

板处装配成收缩环结构与纺锤体重叠^[1], 微管对于微丝的装配和胞质分裂起调控作用(图1)。在分裂沟形成之前间断的出现了一些有活性的小分子GTP酶(Ras homologous, Rho), 并且它们持续存在于大多数的分裂过程中^[2]。微管或许通过Rho交换因子(Rho exchange factor, RhoGEF) Ect2/pebble来激活Rho, 然后激活微丝成核蛋白(formins)和肌球蛋白II(myosin II), 引起局部的肌动蛋白装配和提供分裂时所需要的收缩力^[1]。有研究也表明, 微管可通过调控微丝的解

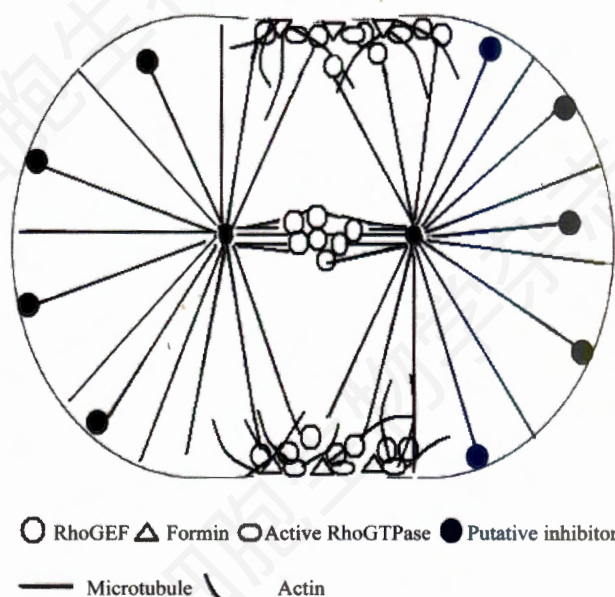


图1 微管调控微丝装配和胞质分裂

收稿日期: 2007-08-30 接受日期: 2008-01-08

国家自然科学基金资助项目(No.39870240, No.30270383)

* 通讯作者。Tel: 029-85308899, E-mail: lshaof@snnu.edu.cn

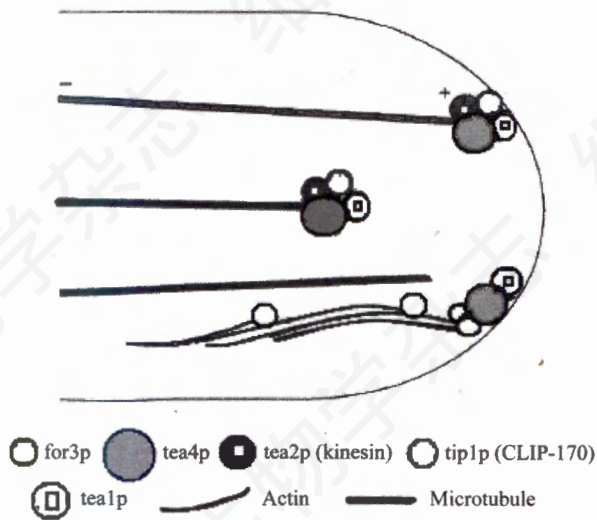


图2 裂殖酵母极性生长过程中微管对于微丝的调控

聚改变黏着斑的功能而影响细胞的迁移行为,微管对于黏着斑有抑制作用^[3],微管的末端直接定位于黏着斑并与其接触^[4],这种相互接触可能会引起微丝和其它黏着斑成分的解聚,从而进一步影响细胞的迁移行为。

近些年来研究发现,微丝和微管间的相互联系还存在于许多极化过程中。其中的一个例子是,在裂殖酵母极性生长(polarized growth)的过程中微管可以调控微丝的装配(图2)。在酵母细胞增殖间期,胞质微管装配的正极向细胞的两端延伸^[5],其末端蛋白(tip1p)^[6]和驱动蛋白(tea2p)^[7]将高度保守的formins的调控蛋白tea1p^[8]和tea4p^[9,10]运输到细胞的两端,在细胞末端tea4p募集formins(for3p),从而使for3p在细胞两极极性分布并装配微丝束,这些微丝束可作为将分泌泡传递到细胞极性生长处的轨道^[11]。在这一过程中微管对于微丝起到间接调控的作用。

微丝和微管间存在相互联系的另一特征是微管解聚会引起微丝结构的破坏,反之亦然。例如,微丝大量存在于破骨细胞的亮区围绕皱褶缘形成环形的胞质区,参与破骨细胞的骨吸收过程。微管在破骨细胞中的分布有两种方式^[11]:一种是从核部位辐射分布到细胞的外围;另外一种呈环形分布,与肌动蛋白环共定位于细胞外围。用可引起微管解聚的药物秋水仙素处理破骨细胞,在微管破坏的同时也会引起微丝环形结构的破坏。同样,用微丝特异的药物细胞松弛素D处理破骨细胞,肌动蛋白破坏的同时也明显影响了微管的网络结构^[12]。

细胞骨架近年来的研究进展之一是发现了一个庞大的骨架结合蛋白家族spectraplakin,此家族蛋白的成员同时含有血影蛋白(spectrin)和斑素蛋白(plakin)超家族成员的双重特征。spectrin超家族成员可以结合微丝并使其相互交联或结合在膜受体上;plakin超家族首先被认为是桥粒和半桥粒的成分,可将中间纤维与黏附受体结合,也可以将不同的细胞骨架成分连接在一起。从spectraplakins的基因序列上推测其家族蛋白具有五个蛋白质区域^[13],即N末端具有四个可供选择的肌动蛋白结合结构域(actin binding domain, ABD);在所有异构体中都存在和spectrin重复有关的plakin区域;在C末端或者蛋白质内部包含plectin重复的片段;具有spectrin重复组成的长杆结构;包含两个EF(由29个氨基酸组成的钙结合模体,含E、F两段螺旋,并形成螺旋-环-螺旋)结构和一个生长抑制特异性蛋白(growth arrest specific protein 2, GAS2)的C末端作用区域。这样spectraplakin同时含微丝和微管的结合区域,可在结构上增强微丝和微管间的分子联系^[14],并且可以结合不同的细胞骨架纤维。

Spectraplakin在果蝇中是short stop(shot)基因的产物,在哺乳动物中是dystonin/BPAG1和MACF1基因的产物^[13]。由于不同研究小组各自的研究发现,MACF1又称ACF7、MACF、MACF7、macrophin、trabeculin α 和ABP620;BPAG1又称dystonin和MACF2;shot又称kakapo、kopupu和groovin。Sun等^[15]研究发现,在微管微丝交联因子(microtubule actin cross-linking factor, MACF)的C末端至少存在两个微管结合区域,甘氨酸-精氨酸富含区域(glycine arginine rich, GAR)和甘氨酸-丝氨酸-精氨酸(glycine-serine-arginine, GSR)重复区域。在哺乳动物中,MACF、MACF的同源蛋白(mKIAA0728, MACF2)、GAS2和GAS2相关蛋白(GAS2-related protein, GAR22)等均包含GAR区域,其中GAS2的N末端有肌动蛋白结合能力,而C末端包含微管结合区域;在果蝇和线虫中也存在两种包含GAR区域的蛋白,果蝇中的同源序列Kakapo/Short介导了微丝和微管之间的相互联系,并且在轴突生长、树突延伸和保持细胞层的完整性等方面是非常重要的^[16]。

另有研究发现^[17],微管的末端蛋白EB1在MACF和Shot与微管末端的结合过程中起重要的介导作用。EB1的C末端存在由一个卷曲螺旋和四螺旋捆绑组成的同型二聚体折叠可与MACF中紧接着微管结合区域的C末端EB1结合区域结合。EB1的C末

端带负电荷, 与 MACF2 结合的许多关键性部位具有疏水性, 其中间部位形成一个不连续的疏水区域。MACF2 上有几个疏水性的氨基酸残基(脯氨酸), 带正电荷。推测这些脯氨酸和其它疏水区插入 EB1 的疏水区域, 而带电荷的氨基酸残基可以增强这种结合作用。

在载黑素细胞中 EB1 对于 melanophillin 介导微丝和微管间的相互联系, 从而顺利的运输黑素体也起着重要作用。在培养的非洲爪蟾载黑素细胞中, 黑素体的运输是由肌球蛋白 V、驱动蛋白-2 异三聚体、胞质动力蛋白所介导的。Melanophillin 是肌球蛋白 V 的连接蛋白, 而 EB1 可以与 melanophillin 结合, 从而在 melanophillin 介导微丝和微管相互连接中起到重要作用, 为黑色素向细胞外围运输提供微管-微丝转运通道点^[18]。

上述研究均揭示了微丝和微管之间相互联系的广泛性和普遍性。它们之间的相互联系不仅存在于不同的细胞结构中而且也存在于不同的物种的细胞中。

2 微管和中间纤维间的相互联系

微管与中间纤维间存在相互联系的特征是微管的解聚会引起中间纤维的降解。在微管和中间纤维的相互联系中一些辅助蛋白起着重要作用, 微管结合蛋白 MAP2 与中间纤维存在共定位关系, 并且在微管-中间纤维的相互作用中扮演重要角色。在神经元中, 中间纤维的重链(NF-H)可以和微管相连, 而在非神经细胞中, 存在一个 95 kDa 的蛋白质与中间纤维及微管相关蛋白有共定位关系。亦有文献报道, α -微管蛋白 C 末端存在酪氨酸化-去酪氨酸化的可逆过程, 可形成酪氨酸化微管蛋白(Tyr-tubulin)和谷氨酸化微管蛋白(Glu-tubulin)。在纤维原细胞中发现 Glu-tubulin 与波形蛋白共定位^[19], 并且可以促进 GluMT-IF 间的相互联系, 有学者认为它或许是将中间纤维或者其它细胞组分募集到稳定微管上的信号。Avsiuk 等^[20]的研究揭示了微管的正向移动蛋白, 驱动蛋白(kinesin)的重链和轻链在管蛋白的去酪氨酸化引起的中间纤维募集到微管上的过程中, 可以与波形蛋白相互作用^[20,21]并且在调节 Glu MT-IF 中起到重要作用^[21]。免疫荧光观察发现, 驱动蛋白与中间纤维颗粒或长的中间纤维丝相连, 是其向微管正端移动的主要原因, 并且这种相互作用似乎在正确形成和保持中间纤维网络时是需要的^[22]。驱动蛋白也参与 III

型中间纤维蛋白, 外周蛋白(peripherin), 及其 IV 神经纤维蛋白的顺行性移动。中间纤维颗粒, 或者长的中间纤维丝在微管上的运动是双向, 其逆行性运动主要依赖于由动力蛋白和动力蛋白激活蛋白(dynactin)组成的负端移动的动力蛋白复合物^[23]。免疫荧光和电镜观察发现动力蛋白的许多成分, 包括重链, 中间链, 中间轻链, 动力蛋白激活蛋白亚单位 dynamitin、P150glued, 动力蛋白激活蛋白相关蛋白, 肌动蛋白相关蛋白 Arp-1 在波形蛋白和微管的各种不同结构形式交叉的地方存在^[22]。

3 微丝和中间纤维间的相互联系

研究者发现, 在肌动蛋白结合蛋白与中间纤维亚单位之间存在着相互联系, 与纤维-纤维间的相互联系不同的是, 这是蛋白与纤维亚单位间的联系。肌动蛋白结合蛋白超家族包含一个钙调节蛋白同源(calponin homology, CH)结构域, 在许多情况下 CH 结构域复制成倍形成丝束蛋白、 α -辅肌动蛋白、血影蛋白、细丝蛋白、抗肌萎缩蛋白和其它肌动蛋白交联蛋白以及中间纤维结合蛋白中的肌动蛋白结合结构域(actin binding domain, ABD)^[24]。丝束蛋白是一个 68 kDa 的肌动蛋白交联蛋白, 包含一个 NH₂ 末端 12 kDa 的钙调节蛋白结构域和 27 kDa 的肌动蛋白结合结构域 ABD1 和 ABD2^[25]。研究发现在丝束蛋白和波形蛋白亚单位之间存在相互联系, 并且这种联系可以影响肌动蛋白和中间纤维的装配和组装。Correia 等^[26]推测, 丝束蛋白-中间纤维复合物是细胞黏着早期存在的一个短暂的结构, 在成熟的黏着斑部位丝束蛋白不与装配的中间纤维细丝结合。在平滑肌细胞中发现结蛋白四聚体与微丝结合蛋白也存在着类似的相互作用。序列分析发现, 丝束蛋白通过 NH₂ 末端肌动蛋白结合区域 ABD1 的 143~188 氨基酸残基与波形蛋白的 NH₂ 末端相互作用。NH₂ 末端在波形蛋白亚单位聚合成原纤维和更高层次的纤维中是相当重要的^[27], 丝束蛋白或许可以直接促进波形蛋白亚单位聚合成细丝, 或者间接调控添加物以及删除磷酸基团调控波形蛋白的装配。

微丝和中间纤维间的相互联系与细胞连接功能密切相关。有研究者发现它们在细胞桥粒结构中存在相互联系。桥粒斑蛋白(desmoplakin, DP)在细胞的桥粒形成中是一个必要的组分, DP 的缺失会影响桥粒形成, 而角质细胞皮层肌动蛋白骨架的形成与稳定依赖于桥粒结构^[28]; 反之亦然, 桥粒的组装也同样

依赖于皮层肌动蛋白骨架的装配和重组装^[29, 30]。DP可能通过其NH₂末端在肌动蛋白骨架的发育和成熟中起到重要的作用, DP同时也可与中间纤维结合, 这样肌动蛋白和中间纤维骨架的相互协作就成了保持细胞间强有力的黏附和细胞结构完整性的重要基础。在Huen等^[31]的早期研究中发现, 在小鼠原初角质细胞中存在皮层肌动蛋白圆环与环绕在其里面及外部的角蛋白中间纤维束间紧密的相互联系。在爪蟾卵细胞体内和体外实验中发现, 微丝会影响角蛋白中间纤维的组织、装配和运动, 甚至微丝还可以作为细胞角蛋白装配的组织者^[32], 有学者推测角蛋白起初是以未组装的形式与微丝结合蛋白肌钙样蛋白(calponin)和丝束蛋白连结而结合到微丝束上启动装配, 在装配好后与微丝结合蛋白分离从而与微丝分离^[32]。

关于微丝和中间纤维之间存在直接联系的报道较早。Wachsstock等^[33]证明了肌动蛋白和波形蛋白的尾部之间通过浓密的网络而联系在一起。Esue等^[34]也证实了波形蛋白可通过其尾部区域与肌动蛋白直接相连, 但波形蛋白尾部区域在组织中间纤维甚至是肌动蛋白网络中起的作用还不是很清楚。

4 微丝、微管及中间纤维间的相互联系

微丝、微管和中间纤维的相互作用在调节细胞的形态、运动、分化以及凋亡等过程中是非常重要的, 而每一种纤维也借助相关蛋白和细胞结构进行特异性结合。Plakins是一类骨架相关蛋白, 可将中间纤维锚定在细胞膜上, 其首先在上皮细胞中被发现, 包括桥粒蛋白、网蛋白(plectin)、大疱性类天疱疮抗原1(bullous pemphigoid antigen 1, BPAG1)、包斑蛋白和周斑蛋白等^[35]。愈来愈多的研究表明, 一些辅助蛋白可以同时细胞骨架的三种纤维细丝联系在一起。有报道表明网蛋白和BPAG1与三种骨架纤维网络都有联系。其中, 网蛋白可以形成200 nm长3 nm宽的侧臂, 呈千虫足样结合于中间纤维核心, 它在组织和物种中广泛存在, 并且可与自身及胞衬蛋白, 整合蛋白等多种蛋白相互作用, 可将中间纤维与微丝、微管以及细胞质的支持点结合, 此外, 网蛋白也可以同时使三种细胞骨架成分之间相互连接, 是一种通用的细胞质交联剂^[36]。网蛋白和BPAG1的两种异构体BPAG1-n1和BPAG1-n2最显著的特征是在N末端都具有肌动蛋白结合区^[36], C末端都具有中间纤维结合区域, 共同使中间纤维和微丝形成网络交联。

虽然网蛋白也可以与微管结合, 但是没有发现特殊的微管结合区域(microtubule-binding domain, MTBD)。Yang等^[36]证明了另一个BPAG1异构BPAG1-n3能够与微管结合, 是一个新的MTBD称作M1, 并且在瞬时转染和体外结合实验中发现, 这一M1区域可以结合到微管上并且稳定微管。另外, spectraplakins家族成员也可以与三种细胞骨架结合^[14]。

细胞骨架的三种纤维并不是孤立存在的结构, 它们相互联系、彼此依赖, 在细胞内形成一个完整的机械网络支架, 构成完整的细胞骨架系统, 对细胞的形态、结构和功能起着重要的作用。三种细胞骨架纤维之间除了在细胞内存在广泛的相互联系外, 在细胞外基质中也存在相互作用。它们之间除了有辅助蛋白介导的间接的相互联系外, 在中间纤维尾部区域与肌动蛋白丝之间还存在直接的相互作用。进一步的研究表明, 三种骨架纤维除了结构上的联系外还存在功能上的相互调控, 其相互作用的分子机制极其复杂, 除了已经发现的辅助蛋白外, 是否还有其他的辅助蛋白参与介导细胞骨架纤维之间的相互联系, 还有待于进一步的研究证实。

参考文献(References)

- [1] Basu R et al. *Curr Opin Cell Biol*, 2007, **19**: 88
- [2] Bement WM et al. *J Cell Biol*, 2005, **170**: 91
- [3] Ezratty EJ et al. *Nat Cell Biol*, 2005, **7**: 581
- [4] Kaverina I et al. *J Cell Biol*, 1999, **146**: 1033
- [5] Tran PT et al. *J Cell Biol*, 2001, **153**: 397
- [6] Brunner D et al. *Cell*, 2000, **102**: 695
- [7] Browning H et al. *J Cell Biol*, 2000, **151**: 15
- [8] Mata J et al. *Cell*, 1997, **89**: 939
- [9] Martin SG et al. *Dev Cell*, 2005, **8**: 479
- [10] Tatebe H et al. *Curr Biol*, 2005, **15**: 1006
- [11] Destaing O et al. *Mol Biol Cell*, 2003, **14**: 407
- [12] Okumura S et al. *Bone*, 2006, **39**: 684
- [13] Röper K et al. *J Cell Sci*, 2002, **115**: 4215
- [14] Kodama A et al. *J Cell Biol*, 2004, **167**: 203
- [15] Sun D et al. *J Cell Sci*, 2001, **114**: 161
- [16] Lee S et al. *J Neurosci*, 2000, **20**: 1096
- [17] Slep KC et al. *J Cell Biol*, 2005, **168**: 587
- [18] Vaughan KT et al. *J Cell Biol*, 2005, **171**: 197
- [19] Kreitzer G et al. *Mol Biol Cell*, 1999, **10**: 1105
- [20] Avsiuk AV et al. *Dokl Akad Nauk*, 1995, **345**: 119
- [21] Liao G et al. *J Biol Chem*, 1998, **273**: 9797
- [22] Helfand BT et al. *J Cell Sci*, 2004, **117**: 133
- [23] Helfand BT et al. *J Cell Biol*, 2002, **157**: 795
- [24] Hartwig JH et al. *Curr Opin Cell Biol*, 1991, **3**: 87
- [25] Matsudaira P. *Trends Biochem Sci*, 1991, **16**: 87
- [26] Correia I et al. *J Cell Biol*, 1999, **146**: 831
- [27] Herrmann H et al. *J Mol Biol*, 1996, **264**: 933
- [28] Vasioukhin V et al. *Curr Opin Cell Biol*, 2001, **13**: 76

- [29] Gallicano GI *et al.* *J Cell Biol*, 1998, **143**: 2009
[30] Lewis JE *et al.* *J Cell Biol*, 1997, **136**: 919
[31] Huen AC *et al.* *J Cell Biol*, 2002, **159**: 1005
[32] Weber KL *et al.* *J Cell Sci*, 2002, **115**: 1373
[33] Wachsstock DH *et al.* *Biophys J*, 1993, **65**: 205
[34] Esue O *et al.* *J Biol Chem*, 2006, **281**: 30393
[35] Svitkina TM *et al.* *J Cell Biol*, 1996, **135**: 991
[36] Yang Y *et al.* *Cell*, 1999, **98**: 229

The Interaction among Cytoskeleton Filaments

Xia Zhao, Quan-Hong Liu*, Xiao-Bing Wang, Na Mi

(College of Life science, Shaanxi Normal University, Xi'an 710062, China)

Abstract Cytoskeleton is a protein fiber net-work consisting of microfilament (MF), microtubule (MT) and intermediate filament (IF). Although they have different morphology, configuration and function, these filaments interconnect and interdependent with each other forming the whole cytoskeleton which plays important role in many life activities in cell. It is very important to study the interaction among these filaments and reveal the molecular mechanism to recognize the role of cytoskeleton in cell for further scientific research.

Key words cytoskeleton; microfilament; microtubule; intermediate filament; accessory protein

Received: August 3, 2007 Accepted: January 8, 2008

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (No.39870240, No.30270383)

* Corresponding author. Tel: 86-29-85308899, E-mail: lshaof@snnu.edu.cn