



吴聪颖, 北京大学医学部研究员。本科毕业于清华大学生命科学学院, 后在美国北卡罗来纳大学教堂山分校获得细胞和发育生物学博士学位。在细胞骨架对细胞迁移和细胞力学的调控方面, 从多个角度深入研究了细胞定向运动中关键分子的结构、功能和机理, 解析了细胞骨架对外界环境和信号的重要应答。利用最新的生物工程技术 and 动物模型, 阐明肿瘤微环境中细胞外基质(ECM)和力学因素对癌细胞侵袭的调控机理。

<http://sbms.bjmu.edu.cn/jsdw/bssds/dsjs/177375.htm>

## 微丝的基本性质与细胞核肌动蛋白

吴聪颖\*

(北京大学医学部系统生物医学研究所, 北京 100191)

**摘要** 微丝, 作为细胞骨架的重要成员, 普遍存在于所有的真核细胞中。构成微丝的肌动蛋白, 与肌球蛋白一起作用, 使细胞产生和传导机械力, 并促进细胞运动。尽管人们很早就已经认识到体细胞核中存在单体肌动蛋白, 但细胞核中聚合的微丝如何动态调控及行使何种功能, 仍存在争议。该文概述了微丝细胞骨架的基本性质和成核过程, 并讨论细胞核内肌动蛋白的功能。

**关键词** 肌动蛋白; 微丝; 纤维状肌动蛋白; 肌球蛋白; 肌动蛋白结合蛋白; 细胞核肌动蛋白

## Basic Properties of Actin Filaments and Nuclear Actin

Wu Congying\*

(Institute of Systems Biomedicine, School of Basic Medical Sciences, Peking University Health Science Center, Beijing 100191, China)

**Abstract** Microfilaments are seen in almost all the eukaryotic cells. Actin, the building block of the microfilaments, generates and transduces cellular forces and promotes cell motility when working in concert with the motor protein myosin. Although it has been noticed long ago that actin monomers existed in the nucleus, the role and dynamics of the polymerized actin filaments have been under debate. Here, we review the general properties and the nucleation process of the microfilaments. We also discuss recent advances in nuclear actin.

**Keywords** actin; microfilament; F-actin; myosin; actin binding protein; nuclear actin

### 1 微丝细胞骨架的基本性质

微丝(microfilament)又称肌动蛋白丝(actin filament)或纤维状肌动蛋白(fibrous actin, F-actin), 普遍存在于所有的真核细胞中, 形成直径为4~7 nm的实心状双螺旋结构纤维。肌动蛋白(actin)是整个进化

过程中最保守的蛋白质之一, 它在人和酿酒酵母之间的基因水平上具有80%的序列保守性, 在蛋白水平上具有95%的一级结构保守性<sup>[1]</sup>。肌动蛋白在真核细胞中可以以大于100 μmol/L的浓度存在, 其分子量约为42 kDa。在脊椎动物中, 已经鉴定出

国家重点研发计划(批准号: 2017YFA0506500)资助的课题

\*通讯作者。Tel: 15010838990, E-mail: emmacongyingwu@163.com

This work was supported by the National Key Research and Development Programme of China (Grant No.2017YFA0506500)

\*Corresponding author. Tel: +86-15010838990, E-mail: emmacongyingwu@163.com

网络出版时间: 2019-04-01 11:28:23

URL: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20190401.1128.010.html>

三种主要的肌动蛋白 $\alpha$ 、 $\beta$ 和 $\gamma$ 。不同肌动蛋白亚型的突变会导致一系列疾病,比如:早发常染色体显性非综合征性听力损失<sup>[2]</sup>、家族性胸主动脉瘤<sup>[3]</sup>和夹层以及多种肌肉疾病<sup>[4]</sup>。在大部分真核细胞中,肌动蛋白是含量最丰富的蛋白质<sup>[5]</sup>。肌动蛋白的进化起源可以追溯到具有等同蛋白质的原核细胞。来自原核生物和古细菌的肌动蛋白同系物聚合成由一条或多条链组成的不同螺旋或线性细丝。

构成微丝的肌动蛋白,与肌球蛋白(myosin,一种分子马达蛋白)一起作用,使细胞产生和传导机械力,并促进细胞运动。肌球蛋白存在于横纹肌和平滑肌中,是肌原纤维粗丝的组成单位<sup>[6]</sup>,也有非肌肉型肌球蛋白。肌球蛋白具有酶活性,通过与肌动蛋白相互作用,水解ATP的末端磷酸基团,同时也能水解GTP、CTP等,将化学能转化为机械能,从而产生各种形式的运动<sup>[7]</sup>。纤丝滑动学说(sliding filament theory)认为,肌肉收缩是由于肌动蛋白细丝与肌球蛋白丝相互滑动的结果。在肌肉收缩过程中,粗丝和细丝本身的长度都不发生改变,当纤丝滑动时,肌球蛋白的头部与肌动蛋白的分子发生接触-转动-脱离的连续过程,使得细丝进行相对的滑动<sup>[8]</sup>。作为细胞骨架的重要组成部分,肌动蛋白和肌球蛋白在非肌肉细胞中为细胞质流动、细胞器运动、物质运输、有丝分裂和细胞的顶端生长等提供所需的力,参与细胞的吞噬、运动、受精和吸收等重要生命过程<sup>[7]</sup>。

肌动蛋白的首次实验发现可追溯到1887年。Halliburton<sup>[8]</sup>从肌肉中提取了一种“凝固”肌球蛋白制剂的蛋白质,他称之为“肌球蛋白-酵素(myosin-ferment)”。1942年,Szent-Györgyi与Straub<sup>[9]</sup>开发出提取骨骼肌蛋白的新技术,分离出大量相对纯净的肌动蛋白并为之命名。随后的研究发现,肌动蛋白和肌球蛋白在ATP存在的条件下,可以在体外重构出具有收缩能力的肌丝<sup>[10]</sup>。1950年,Huxley等<sup>[11]</sup>利用电子显微镜研究骨骼肌的结构时观察到粗的肌球蛋白纤维和细的肌动蛋白纤维,并发现在肌肉收缩过程中,肌动蛋白纤维在肌球蛋白纤维上滑行。上世纪60年代,Hatano和Oosawa<sup>[12]</sup>与Adelman和Taylor<sup>[13]</sup>两个团队分别在黏菌中分离出肌动蛋白和肌球蛋白,首次证实了这两种蛋白在非肌肉细胞中的存在。1973年,Elzinga等<sup>[14]</sup>完成了肌动蛋白的氨基酸测序。1990年,Kabsch等<sup>[15]</sup>解析了G-actin的晶体结构。同年,Holmes等<sup>[16]</sup>利用蛋白质共结晶的实验提

出了F-actin的模型。虽然已经解析了G-actin的晶体结构<sup>[15]</sup>,但仍缺少对F-actin的超高分辨率结构的认知,这阻碍了我们对致病突变如何影响肌肉细丝和微丝功能的理解。最近,Raunser等<sup>[17]</sup>用电子显微镜解析了分辨率达到3.7埃的F-actin的三维结构,并报道了纤维形成过程中肌动蛋白构象的变化以及主要调节区域。

由于所有的微丝亚基都指向同一端,所以F-actin被认为是有极性结构的。这就产生了一种命名规则:具有肌动蛋白亚基并暴露ATP结合位点的称为负极,而分叉指向另一个相邻单体的称为正极<sup>[18]</sup>。“Pointed”和“barbed”是指微丝的两端在透射电镜下通过一种称为“decoration”的制备技术检测样品时的外观。这种方法是将肌球蛋白的S1段添加到由单宁酸固定的组织中。这样肌球蛋白能与肌动蛋白单体形成极性键,从而形成一种箭头样结构,尾部形成箭羽,其中箭身部分是肌动蛋白,羽毛样部分是肌球蛋白。按照这种逻辑,没有任何突出肌球蛋白的微丝一端称为尖端(pointed end),而另一端称之为倒刺端(barbed end,即正端)<sup>[19]</sup>。S1段由II型肌球蛋白的头部和颈部组成。在生理条件下,G-actin转化为F-actin是需要ATP来完成的,且ATP的作用至关重要<sup>[20]</sup>。

微丝的组装/去组装与溶液中所含肌动蛋白的状态(结合ATP或ADP)、离子的种类及浓度等参数相关联。由于纤维两端在结构上存在差异,通常是微丝正极(+)的组装速度较负极(-)快。G-actin组装成微丝的过程大体上可以分为两个阶段。首先是成核反应,即形成至少三个肌动蛋白单体组成的寡聚体,然后开始多聚体的组装。当聚合作用在只含有肌动蛋白单体、而没有F-actin的试管中进行时,组装的起始过程相当缓慢<sup>[21]</sup>。G-actin必须先形成一个具有数个亚基的低聚物,即所谓的成核过程。该过程是G-actin组装的限速步骤。如果组装体系是从单体开始,则会有一个起始的延迟期。随后是一个纤维快速延长的过程。随着系统中的肌动蛋白单体浓度的减少,组装过程到达一个稳定状态,即纤维正极组装的速度与负极解聚的速度相同,纤维的长度保持不变<sup>[22]</sup>。此时,体系中肌动蛋白单体的浓度成为临界浓度( $C_c$ ),在数值上等于解聚速度常数和组装速度常数的比值,即 $C_c = K_{OFF}/K_{ON}$ 。

肌动蛋白结合ATP或ADP,聚合后肌动蛋白水解所结合的ATP末端的磷酸基团,并将其缓慢释放。

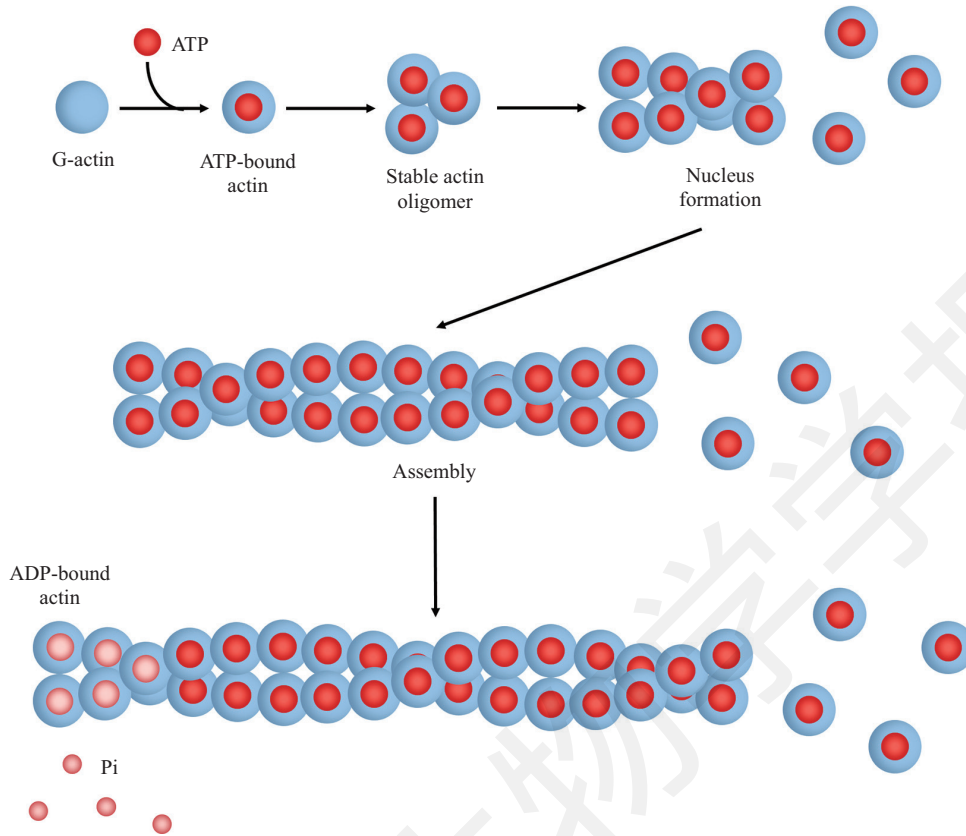


图1 肌动蛋白纤维形成过程  
Fig.1 Actin Fiber Formation Process

随着化学反应的进行,肌动蛋白在结构上发生细微变化,这些结构上的变化有利于ADP-肌动蛋白的解聚<sup>[23]</sup>。肌动蛋白聚合-解聚的循环,偶合了ATP水解,优先将G-actin-ATP单体添加到细丝的倒刺端,同时在尖端解聚F-actin-ADP。此时,肌动蛋白结合的ADP再变为ATP,从而关闭循环。肌动蛋白纤维形成的这个循环被称为“踏车(tread-milling)”过程(图1)。

在细胞内,微丝的成核过程需要成核因子的参与。其中一种是Arp2/3复合物,它由七个亚基组成,其中Arp2和Arp3具有与肌动蛋白单体相似的结构。该同源性允许这两个亚基模拟G-actin二聚体以促进单体G-actin的成核。Arp2/3复合物参与形成的新肌动蛋白分支,与原有肌动蛋白丝呈70度角<sup>[24]</sup>。Arp2/3复合物介导的分支状微丝骨架(branched actin),在伪足伸展、囊泡运输、胞质环流、细胞连接和细胞定向迁移等过程中都扮演着重要的角色<sup>[24]</sup>(图2)。此外,结合在微丝正端的Formin蛋白家族,通过FH1和FH2两个同源结构域的协同作用,参与直链状微丝(linear actin)的成核和延伸<sup>[25]</sup>。肌动蛋白丝的生长可以通过胸腺素(tropomyosin)和profilin调节。胸腺素与G-

actin结合以缓冲聚合过程,而profilin与G-actin结合以交换ADP用于ATP,促进单向添加到正端(+端,即倒刺端)<sup>[26]</sup>。

体内肌动蛋白细胞骨架不仅仅由肌动蛋白组成,还有其他蛋白质参与肌动蛋白的聚合、解聚、剪切和动态平衡,这些蛋白称作肌动蛋白结合蛋白(actin binding protein, ABP)。胸腺素 $\beta$ -4可以1:1的化学计量与G-肌动蛋白-ATP结合,其作用是阻止单体掺入生长的聚合物中<sup>[5]</sup>。Profilin与G-actin-ATP或-ADP以1:1的化学计量比结合,它有助于通过ATP替代ADP,激活G-actin<sup>[5]</sup>。而Cofilin是通过切割来调节微丝的长度的。也有肌动蛋白结合蛋白质覆盖F-肌动蛋白的末端以稳定微丝,例如CapZ和gelsolin超家族蛋白。在横纹肌纤维中,肌球蛋白与微丝的结合主要受原肌球蛋白和肌钙蛋白的调控<sup>[27-28]</sup>。

## 2 细胞核肌动蛋白

尽管人们很早就已经认识到体细胞核中存在单体肌动蛋白,但通常认为F-肌动蛋白的动态形成过程仅在细胞质中发生。来自非洲爪蟾卵母细胞

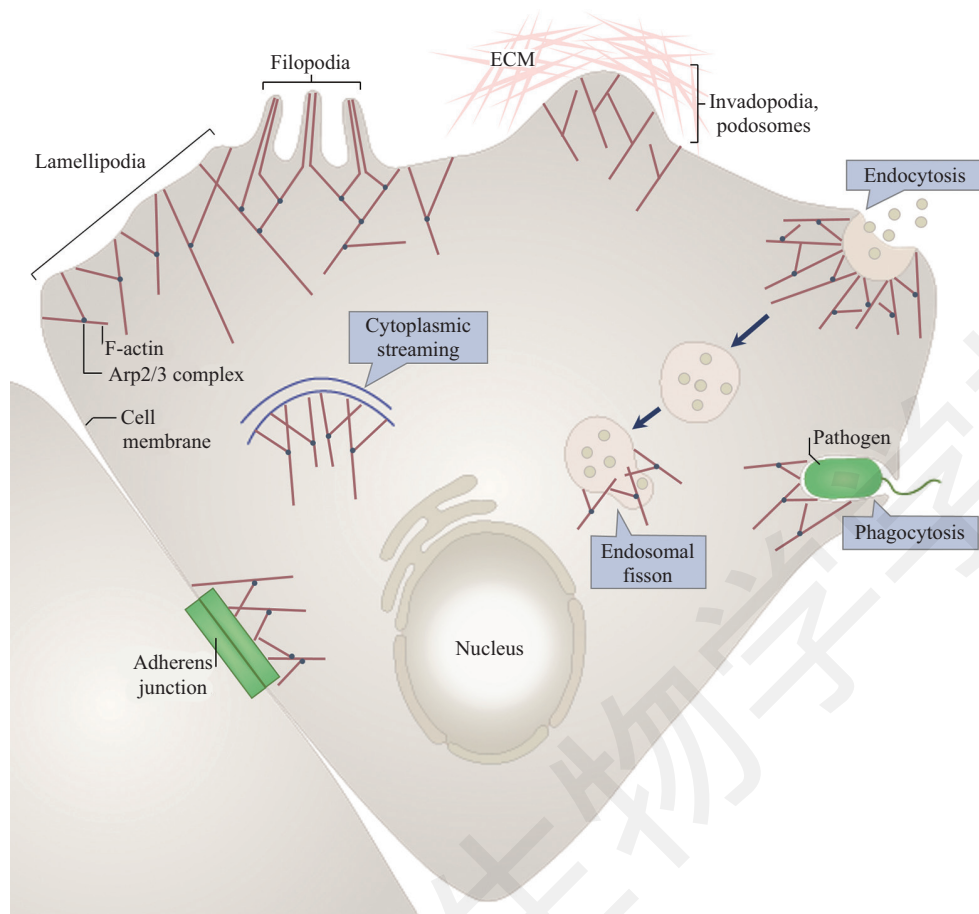


图2 Arp2/3复合物介导的分支状微丝骨架的作用

Fig.2 Role of the branching filaments mediated by Arp2/3 complexes

的研究表明,核中的F-肌动蛋白可促进基因调控,转录重编程以及帮助染色质结合在核膜上<sup>[29-30]</sup>。近年来,体细胞核肌动蛋白可视化的瓶颈得到突破:将常用的肌动蛋白探针靶向核区室,可实现在完整的活细胞中研究细胞核F-actin的结构。利用这类技术的一系列研究证明,血清刺激导致肌动蛋白网络的快速组装,使得MRTF-A(MAL)在核中滞留,进而对血清反应因子(serum response factor, SRF)进行转录调节<sup>[31-33]</sup>。而SRF是胞外信号控制基因表达的核心调节因子。此外,Formin家族的mDia1和mDia2蛋白调控了细胞铺展过程中核内肌动蛋白的装配和MRTF活化,并依赖LINC复合物的功能完整性<sup>[34-35]</sup>。可视化核内肌动蛋白研究还显示,在染色质间隙中可检测到微丝聚集位点(actin foci),表明F-actin结构也存在于未受刺激的间期细胞核中<sup>[36]</sup>。虽然上述研究使用核靶向肌动蛋白结合探针证明了内源性F-肌动蛋白结构的存在,但他们没有阐明肌动蛋白丝是否发挥F-actin的经典功能,比如参与核内运输、充当

脚手架或其他的机械特性。值得注意的是,最近的研究表明,杆状病毒的核输出依赖于核内F-肌动蛋白破坏核膜,这表明,肌动蛋白的聚合可以是一个核力发生器<sup>[37]</sup>。最新的研究还揭示了细胞核内F-actin的缺失会减少双联DNA断裂(double strand breaks, DSB)的清除效率,并提出了依赖于肌动蛋白的DSB迁移模型,而肌球蛋白是否也在核内参与哺乳动物的DNA修复机制尚不明确<sup>[38-39]</sup>。

Formins被认为是细胞核内肌动蛋白的重要调节因子<sup>[33,40-42]</sup>。最近的研究暗示,细胞周期特殊的核小体组织是由formin调控依赖的<sup>[41]</sup>,并证明了细胞周期可以调控细胞核内肌动蛋白的聚合。Fisher等<sup>[42]</sup>报道了F-actin的形成对于细胞周期依赖性激酶(cyclin-dependent kinase, CDK)和增殖细胞核抗原(proliferating cell nuclear antigen, PCNA)定位到染色体上非常重要。抑制或者活化formin蛋白会干扰DNA复制的起始,暗示着肌动蛋白聚合与解聚的动力学在这一过程中发挥着重要作用。在这项研究

中, 细胞核肌动蛋白还有包括细胞核运输和货物从RanGTP转运复合体释放等其他功能。而在对哺乳动物细胞分裂过程中, 细胞核内部肌动蛋白的动力学的研究表明, 在细胞分裂后的细胞核体积扩大的过程中有动态的瞬时的F-actin聚合<sup>[43]</sup>。基于PALM和STORM的超分辨成像, 细胞核内源actin的成像表明在细胞分裂后, 核内有单根或者成束的F-actin出现<sup>[44]</sup>。采用多种方法干预细胞核内肌动蛋白的丰度或聚合的状态表明, 在细胞周期的G<sub>1</sub>早期肌动蛋白聚合被抑制<sup>[44]</sup>。肌动蛋白聚合被抑制阻止染色质解压缩和再分布以及子代细胞核大小<sup>[44]</sup>。这些发现表明, 细胞核内肌动蛋白聚合与解聚在细胞核中发挥力学调控具有重要作用。细胞有丝分裂后, 细胞核体积扩张过程中活跃的细胞核突出似乎是细胞核肌动蛋白聚合依赖的<sup>[44]</sup>, 这与以上所提出的概念一致。尽管肌动蛋白解聚蛋白(cofilin)在细胞核体积扩张中具有重要作用, 但是哪些蛋白究竟如何发挥作用还不清楚。此外, 细胞核肌动蛋白在早期胚胎发育中的重要生物功能和作用机理也是亟待阐明的重要课题。

### 参考文献 (References)

- Gunning PW, Ghoshdastider U, Whitaker S, Popp D, Robinson RC. The evolution of compositionally and functionally distinct actin filaments. *J Cell Sci* 2015; 128(11): 2009-19.
- van Wijk E, Krieger E, Kemperman MH, De Leenheer EM, Huygen PL, Cremers CW, *et al.* A mutation in the gamma actin 1 (ACTG1) gene causes autosomal dominant hearing loss (DFNA20/26). *J Med Genet* 2003; 40(12): 879-84.
- Milewicz DM, Guo DC, Tran-Fadulu V, Lafont AL, Papke CL, Inamoto S, *et al.* Genetic basis of thoracic aortic aneurysms and dissections: focus on smooth muscle cell contractile dysfunction. *Annu Rev Genomics Hum Genet* 2008; 9: 283-302.
- Sparrow JC, Nowak KJ, Durling HJ, Beggs AH, Wallgren-Pettersson C, Romero N, *et al.* Muscle disease caused by mutations in the skeletal muscle alpha-actin gene (ACTA1). *Neuromuscul Disord* 2003; 13(7/8): 519-31.
- Dominguez R, Holmes KC. Actin structure and function. 2011; 40: 169-86.
- Pollard TD, Korn ED. Acanthamoeba myosin. I. Isolation from *Acanthamoeba castellanii* of an enzyme similar to muscle myosin. *J Biol Chem* 1973; 248(13): 4682-90.
- Vicente-Manzanares M, Ma X, Adelstein RS, Horwitz AR. Non-muscle myosin II takes centre stage in cell adhesion and migration. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2009; 10(11): 778-90.
- Halliburton WD. On muscle-plasma. *J Physiol* 1887; 8(3/4): 133-202.
- Szentgyorgyi A. Studies on muscle. *Arkiv for Kemi Mineralogi Och Geologi* 1945; 19(3): 1-9.
- Straub FB, Feuer G. Adenosinetriphosphate the functional group of actin. *Biochimica Et Biophysica Acta* 1950; 4(4): 455-70.
- Hitchcock-DeGregori SE, Irving TC, Huxley HE. The compleat biophysicist. *Biophys J* 2014; 107(7): 1493-501.
- Hatano S, Oosawa F. Isolation and characterization of plasmodium actin. *Biochim Biophys Acta* 1966; 127(2): 488-98.
- Adelman MR, Taylor EW. Further purification and characterization of slime mold myosin and slime mold actin. *Biochemistry* 1969; 8(12): 4976-88.
- Collins JH, Elzinga M. The primary structure of actin from rabbit skeletal muscle. Completion and analysis of the amino acid sequence. *J Biol Chem* 1975; 250(15): 5915-20.
- Kabsch W, Mannherz HG, Suck D, Pai EF, Holmes KC. Atomic structure of the actin: DNase I complex. *Nature* 1990; 347(6288): 37-44.
- Holmes KC, Popp D, Gebhard W, Kabsch W. Atomic model of the actin filament. *Nature* 1990; 347(6288): 44-9.
- von der Ecken J, Muller M, Lehman W, Manstein DJ, Penczek PA, Raunser S. Structure of the F-actin-tropomyosin complex. *Nature* 2015; 519(7541): 114-7.
- Barik BP. Animal actin phylogeny and RNA secondary structure study. *Int J Knowl Dis in Bioinform* 2015; 5(1): 46-61.
- Begg DA, Rodewald R, Rebhun LI. The visualization of actin filament polarity in thin sections. Evidence for the uniform polarity of membrane-associated filaments. *J Cell Biol* 1978; 79(3): 846-52.
- Geneser F, *Histologi: (Uden titel)*. Munksgaard, 1981.
- 翟中和, 王喜忠, 丁明孝. 细胞生物学. 北京: 高等教育出版社, 2000.
- Adelstein RS, Scordilis SP, Trotter JA. The cytoskeleton and cell movement: general considerations. *Methods Achiev Exp Pathol* 1979; 8: 1-41.
- Pollard TD, Cooper JA. Actin, a central player in cell shape and movement. *Science* 2009; 326(5957): 1208-12.
- Rotty JD, Wu C, Bear JE. New insights into the regulation and cellular functions of the ARP2/3 complex. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2013; 14(1): 7-12.
- Evangelista M, Zigmond S, Boone C. Formins: signaling effectors for assembly and polarization of actin filaments. *J Cell Sci* 2003; 116(Pt 13): 2603-11.
- Carlsson L, Nystrom LE, Sundkvist I, Markey F, Lindberg U. Actin polymerizability is influenced by profilin, a low-molecular weight protein in non-muscle cells. *J Mol Biol* 1977; 115(3): 465-83.
- Gordon AM, Homsher E, Regnier M. Regulation of contraction in striated muscle. *Physiol Rev* 2000; 80(2): 853-924.
- Maytum R, Lehrer SS, Geeves MA. Cooperativity and switching within the three-state model of muscle regulation. *Biochemistry* 1999; 38(3): 1102-10.
- Virtanen JA, Vartiainen MK. Diverse functions for different forms of nuclear actin. *Curr Opin Cell Biol* 2017; 46: 33-8.
- Misu S, Takebayashi M, Miyamoto K. Nuclear actin in development and transcriptional reprogramming. *Front Genet*. 2017; 7(8): 27.
- Baarlink C, Wang HC, Grosse R. Nuclear actin network assembly by formins regulates the SRF coactivator MAL. *Science* 2013; 340(6134): 864-67.
- Lundquist MR, Storaska AJ, Liu TC, Larsen SD, Evans T, Neubig RR, *et al.* Redox modification of nuclear actin by MICAL-2 regulates SRF signaling. *Cell* 2014; 156(3): 563-76.
- Hinojosa LS, Holst M, Baarlink C, Grosse R. MRTF transcription and Ezrin-dependent plasma membrane blebbing are required for

- entotic invasion. *J Cell Biol* 2017; 216(10): 3087-95.
- 34 Plessner M, Grosse R. Extracellular signaling cues for nuclear actin polymerization. *Eur J Cell Biol* 2015; 94(7/8/9): 359-62.
- 35 Plessner M, Melak M, Chinchilla P, Baarlink C, Grosse R. Nuclear F-actin formation and reorganization upon cell spreading. *J Biol Chem* 2015; 290(18): 11209-16.
- 36 Belin BJ, Cimini BA, Blackburn EH, Mullins RD. Visualization of actin filaments and monomers in somatic cell nuclei. *Mol Biol Cell* 2013; 24(7): 982-94.
- 37 Ohkawa T, Welch MD. Baculovirus actin-based motility drives nuclear envelope disruption and nuclear egress. *Curr Biol* 2018; 28(13): 2153.
- 38 Caridi CP, D'Agostino C, Ryu T, Zapotoczny G, Delabaere L, Li X, *et al.* Nuclear F-actin and myosins drive relocalization of heterochromatic breaks. *Nature* 2018; 559(7712): 54-60.
- 39 Schrank BR, Aparicio T, Li YY, Chang W, Chait BT, Gundersen GG, *et al.* Nuclear ARP2/3 drives DNA break clustering for homology-directed repair. *Nature* 2018; 559(7712): 61.
- 40 Belin BJ, Lee T, Mullins RD. DNA damage induces nuclear actin filament assembly by Formin-2 and Spire-1/2 that promotes efficient DNA repair. *Elife* 2015; doi: 10.7554/eLife.07735.
- 41 Liu C, Mao Y. Diaphanous formin mDia2 regulates CENP-A levels at centromeres. *J Cell Biol* 2016; 213(4): 415-24.
- 42 Parisi N, Krasinska L, Harker B, Urbach S, Rossignol M, Camasses A, *et al.* Initiation of DNA replication requires actin dynamics and formin activity. *EMBO J* 2017; 36(21): 3212-31.
- 43 Baarlink C, Plessner M, Sherrard A, Morita K, Misu S, . A transient pool of nuclear F-actin at mitotic exit controls chromatin organization. *Nat Cell Biol* 2017; 19(12): 1389-99.
- 44 Baarlink C, Plessner M, Sherrard A, Morita K, Misu S, Virant D, *et al.* A transient pool of nuclear F-actin at mitotic exit controls chromatin organization. *Nat Cell Biol* 2017; 19(12): 1389.