

文章编号:1004-7220(2010)02-0152-05

肌球蛋白 II 在细胞有丝分裂中的力学作用

刘 阳, 安美文, 李晓娜, 王 立

(太原理工大学 应用力学与生物医学工程研究所, 太原 030024)

摘要: 细胞骨架具有产生主动变形和抵抗被动变形的能力, 该主动变形活动在细胞有丝分裂过程中起重要作用。有丝分裂通过一系列的形态变化使母细胞一分为二, 整个过程都伴随着力学现象。肌球蛋白 II 是一种多功能蛋白, 参与细胞的有丝分裂。深入研究肌球蛋白 II 在细胞有丝分裂中的作用具有重要的理论和应用价值。本文综合近期研究成果, 对肌球蛋白 II 在细胞有丝分裂中的作用做一综述。

关键词: 主动变形; 肌球蛋白 II; 有丝分裂; 力学

中图分类号: Q 66 文献标志码: A

Mechanical effect of myosin II on cell mitosis

LIU Yang, AN Mei-wen, LI Xiao-na, WANG Li (*Applied Mechanics and Biomedical Engineering Institute, Taiyuan University of Technology, Taiyuan 030024, China*)

Abstract: Cytoskeleton possesses the ability of active deformation as well as resisting passive deformation; the active deformation plays an important role in mitosis. Mitosis is a process that divides a single parent cell into two daughter cells associated with a series of morphological changes, and mechanical phenomena is presented in the whole process. Myosin II is a multifunctional protein that participates mitosis. A deep study on the role of myosin II in mitosis may provide important theoretical and practical perspectives. Synthesizing the literature, we reviewed recent progress in the effect of myosin II on mitosis.

Key words : Active deformation; Myosin II; Mitosis; Mechanics

1 肌球蛋白 II 力学性质及功能

细胞骨架是指真核细胞中的蛋白纤维网架体系, 细胞骨架不仅在维持细胞形态, 保持细胞内部结构的有序性中起重要作用, 而且与细胞运动、能量转换、信息传递、基因表达、细胞分化等重大生命活动密切相关。肌球蛋白 II 作为细胞骨架马达蛋白而备受关注, 它是长形不对称分子^[1], 形状如“Y”字, 长约 160 nm。肌球蛋白 II 具有两条完全相同的长肽链(重链)和两对短肽链(轻链), 组成两个球状头部和一个长杆状尾部(如图 1), 分子量约 460 kD。肌球蛋白 II 头部和颈部调节结构域称为 S1, 长杆状尾

部称为 S2。S1 为马达功能区, 具有 ATP 酶活性。在离体条件下, 单独的 S1 就能依赖其 ATP 酶活性产生力, 与肌动蛋白纤维结合产生相对运动, 但是滑动速度比全长的肌球蛋白 II 慢, 可见肌球蛋白 II 表现最佳马达活性需要 S1 和 S2 的整体配合。单个的

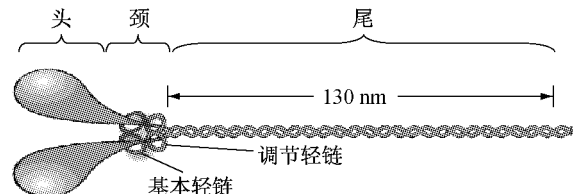


图1 肌球蛋白 II 的结构示意图

Fig.1 Structure of myosin II

收稿日期:2009-12-10; 修回日期:2010-03-02

作者简介:刘阳(1984-),女,研究方向:生物力学。

通讯作者:安美文, Tel:13068046412, E-mail:meiwen_an@163.com。

肌球蛋白 II 分子不能实现其功能,肌球蛋白 II 通过自我组装成具有双极性的粗丝,以聚合形式参与细胞生理过程。

肌球蛋白 II 是一种多功能蛋白,广泛存在于肌细胞和非肌细胞中。在肌细胞中,肌球蛋白 II 主要为肌肉收缩提供驱动力,它能够把 ATP 水解释放出来的化学能转化为驱动肌肉收缩的机械能;而在非肌细胞中,肌球蛋白 II 是细胞骨架的组成成分,参与细胞的迁移、细胞质流动、细胞器运动和有丝分裂等生理过程。有丝分裂是机体修复和个体发育的基础,研究肌球蛋白 II 在有丝分裂中的作用可以为相关疾病的发病机理、药物设计和疾病治疗提供理论依据。

2 肌球蛋白 II 在细胞有丝分裂中的作用

有丝分裂过程中,细胞一分为二,将遗传物质平均分配到两个子代细胞中。在有丝分裂不同时期肌球蛋白 II 在皮层的聚集程度有所不同^[2]:在有丝分裂后期,肌球蛋白 II 在赤道区域的聚集情况比较明显;胞质分裂中,肌球蛋白 II 由赤道区域逐渐移动到子细胞的两极。在有丝分裂这一连续过程中,肌球蛋白 II 发挥了重要作用。

2.1 肌球蛋白 II 参与有丝分裂中细胞的形态变化

细胞有丝分裂是主动大变形过程,涉及到细胞膜、细胞质、细胞骨架的相互作用。细胞骨架的重分布和聚合骨架变形中肌球蛋白 II 的收缩是细胞主动变形的主要因素。Blebbistatin 是非竞争性肌球蛋白 II 抑制剂,经常被用来抑制肌球蛋白 II 的活性。

对有丝分裂前期的 NRK 细胞施加 Blebbistatin^[3],对细胞表观面积的定量分析发现:当正常细胞变圆时,正常细胞面积在中期达到最大值,而实验组细胞面积一直增大,直到末期达到最大值,抑制肌球蛋白 II 活性减慢了细胞变圆的速度^[4],说明抑制肌球蛋白 II 会导致细胞骨架主动收缩能力降低,细胞外膜刚度降低。

正常 NRK 细胞核分裂后在赤道板区域出现分裂沟^[5],分裂沟与子细胞之间呈 V 字形,子细胞基本保持球形。在核分裂启动时对 NRK 细胞施加 Blebbistatin^[6],在染色体分离的同时,细胞开始铺

展,赤道板区域表现为 U 形,子细胞形成扇形突出。整个分裂过程中细胞扁平,从核分裂到胞质分裂完成的时间与正常细胞基本相同,Blebbistatin 处理后胞质分裂中分裂沟形态发生变化^[7]。Cramer 等^[8]将有丝分裂后期的 PtK2 细胞固定和染色,发现在细胞铺展边缘有大量的肌球蛋白 II 与肌动蛋白丝聚集,抑制有丝分裂后期细胞肌球蛋白 II 的活性,细胞边缘不再向前铺展,而是向胞体轻微的回缩或静止不动,说明肌球蛋白 II 促进了有丝分裂后期子细胞的突出运动。这些实验现象说明:抑制肌球蛋白 II 的活性后,细胞骨架因条件变化而重分布^[9],借助与突出处的肌球蛋白 II 和肌动蛋白形成向两侧的牵拉进而完成细胞的分裂过程。

为了进一步说明肌球蛋白 II 的影响,王立等^[10]对在不同时期的 NRK 细胞进行局部施加 Blebbistatin,发现局部的肌球蛋白 II 抑制会造成分裂的不均衡,但给足够的时间,细胞仍旧会完成分裂进程,说明肌球蛋白 II 的主动收缩是细胞形态变化的主要因素。

2.2 肌球蛋白 II 为中心体分离和染色体分离提供动力

有丝分裂前期,两个中心体围绕核运动^[11],中心体与周围的微管装配成星体。前中期核膜解体后,两个星体分别向两极移动,星体微管通过染色体上的动粒捕获染色体,星体微管的游离端逐渐侵入核内,形成极性微管。动粒微管、极性微管和辅助分子构成了前期的纺锤体。中期染色体在赤道板排列成线。后期染色体逐渐向两极运动,两极之间的距离逐渐拉长。末期动粒微管消失,极性微管继续加长,两极的染色体开始浓缩。细胞进入末期,染色体分离,形成两个子核。核分裂与细胞骨架及细胞皮层的活动密切相关。肌球蛋白 II 促进中心体的分离和定位、纺锤体的组装及染色体的分离^[12]。

抑制 PtK2 细胞肌球蛋白 II 活性^[13,14],发现部分细胞中纺锤体出现缺陷:染色体分布在纺锤体轴面的一侧或者染色体仍聚集在中心体附近,说明肌球蛋白 II 缺失扰乱了纺锤体的组装。将红色荧光乳胶施加在细胞表面,进一步研究肌球蛋白 II 缺失扰乱纺锤体组装的原因^[15]。正常细胞皮层有快速和慢速两种运动,早期的快速运动垂直于细胞长轴反

映了纺锤体的组装;后期的慢速运动平行于细胞长轴反映了纺锤体的定位。这两种运动也反映了星体分离和定位时皮层的运动方向^[16]。抑制肌球蛋白 II 活性,核膜解体后皮层不运动,两个子中心体不再围绕染色质运动,星体仍在染色体一端,形成了异常的纺锤体,说明肌球蛋白 II 为核膜解体后中心体的分离提供了动力^[17]。中心体分离时,皮层肌球蛋白 II 使一侧皮层收缩,将对侧距离染色体最近的皮层拉开,皮层出现膨胀现象,皮层星体微管与染色体相连,皮层的膨胀使染色体分离。

李晓娜等^[5]的研究证实在不同时期抑制肌球蛋白 II 活性对核分裂的影响不同。在 NRK 细胞分裂中期对其施加 Blebbistatin,导致 84% 的细胞核分裂受阻,约 16% 的细胞核分裂发生延迟,从分裂中期到胞质分裂结束是正常 NRK 细胞分裂所用时间的 2 倍左右;在 NRK 细胞分裂后期对其施加 Blebbistatin,所有细胞均能完成核分裂,约有 17% 的细胞在完成核分裂后,形成双核细胞。肌球蛋白 II 活性受抑制后,导致皮层张力减弱,子细胞突出运动丧失极性^[18],皮层微管与染色体相连,使核分裂受阻、延迟或形成双核结构。

2.3 肌球蛋白 II 促进收缩环、分裂沟的形成

胞质分裂开始于细胞分裂后期,完成于细胞分裂末期。随着对胞质分裂研究的不断深入,研究人员陆续揭示了收缩环模式、胞质分裂模式 B、胞质分裂模式 C 和依赖“助产细胞”的分裂模式等胞质分裂方式。收缩环模式是胞质分裂的经典模式,可以归纳为 4 个步骤,即分裂沟位置的确立、收缩环形成、收缩环收缩和收缩环处细胞膜融合并行成两个子细胞。在收缩环模式中,由分裂沟处肌球蛋白 II 和肌动蛋白形成的收缩环主动收缩引起细胞分裂。肌球蛋白 II 在收缩环模式胞质分裂中的作用已经无可争议:肌球蛋白 II 参与分裂沟的定位、收缩环的形成及分裂沟的形成^[19]。

肌球蛋白 II 和 Cortexillin I 影响海胆卵、芽殖酵母、成纤维细胞和盘基网柄菌分裂沟的定位^[20], Cortexillin I 是肌动蛋白集束调控蛋白,它有多个肌动蛋白结合位点。在野生型盘基网柄菌细胞中, Cortexillin I 在有丝分裂后期移动到细胞赤道区域,聚集成一个环形区域,分裂沟位于这个区域的中心。通过基因敲除或利用反义 RNA 阻断盘基网柄菌细

胞肌球蛋白 II 的重链基因表达,可获得肌球蛋白 II 沉默细胞^[21]。在贴壁和悬浮两种状态下观察肌球蛋白 II 沉默细胞分裂沟的形成情况,研究发现:肌球蛋白 II 沉默的贴壁细胞可以对称分裂、不对称分裂或是不能完成胞质分裂形成双核细胞,肌球蛋白 II 沉默的贴壁细胞的分裂方式称为胞质分裂模式 B;肌球蛋白 II 沉默的悬浮细胞不能形成分裂沟,细胞不能完成分裂。肌球蛋白 II 与 Cortexillin I 通过增强皮层的抗弯刚度来促进有丝分裂。盘基网柄菌细胞贴壁时,赤道区域聚集的 Cortexillin I 数量比正常细胞赤道区域的多,可以平衡肌球蛋白 II 沉默造成的皮层刚度的减小,肌球蛋白 II 对于贴壁细胞分裂沟的定位不是必需的;盘基网柄菌细胞悬浮时,肌球蛋白 II 对有丝分裂则是必需的,分裂沟的定位可以分为两步: Cortexillin I 在赤道区域聚集成一个环形区域;肌球蛋白 II 聚集在环形区域的中心区域,形成分裂沟。

肌动蛋白和肌球蛋白 II 在赤道板聚集形成收缩环^[22],随着胞质分裂的进行,收缩环体积减小,肌动蛋白丝组成反平行线,肌球蛋白 II 位于肌动蛋白丝之间,使肌动蛋白丝在滑动中去组装,肌球蛋白 II-肌动蛋白相互作用形成分裂沟皮层内陷的主动收缩力,分裂沟逐渐加深直至两个子代细胞完全分开。

以前许多学者认为肌球蛋白 II 促进肌动蛋白在赤道板区域聚集,但是最近研究发现在胞质分裂早期肌球蛋白 II 对于赤道区域肌动蛋白的聚集不是必需的^[23],肌球蛋白 II 却能促进收缩环中肌动蛋白丝的去组装。对前中期 NRK 细胞施加 Blebbistatin^[3],使用鬼笔环肽标记肌动蛋白丝。在分裂沟形成时正常组细胞和 Blebbistatin 处理组细胞在赤道区域都出现肌动蛋白丝的聚集。肌动蛋白丝具有高度活力,可以适应细胞内外部条件而重分布,聚集在赤道板,而不需要肌球蛋白 II 提供动力。染色体分离以后,正常组细胞赤道区域肌动蛋白急剧减少,但 Blebbistatin 处理组细胞中肌动蛋白丝不能从赤道解体^[24],引起赤道区域膨胀。在 LLC PK1 上皮细胞胞质分裂早期^[25],抑制肌球蛋白 II 活性不能阻止收缩环的形成,却推迟了胞质分裂的完成,同样表明肌球蛋白 II 促进分裂沟中肌动蛋白丝的去组装。

2.4 胞质分裂中肌球蛋白 II 调控皮层收缩力平衡

在盘基网柄菌中赤道区域肌球蛋白 II 的数量为

皮层中数量的 10%^[26],比在其他皮层区域的密度大,但是肌球蛋白 II 不仅能在赤道区域发挥作用,也能在皮层其它区域发挥作用。采用局部加药的方法验证肌球蛋白 II 在皮层发挥作用的区域。对赤道区域(直径 10 ~ 15 μm)施加 Blebbistatin,细胞在加药管的对侧有大量的肌动蛋白丝聚集,抑制分裂沟的形成^[27],肌球蛋白 II 维持了细胞分裂中赤道区域皮层的张力,从而促进肌动蛋白丝的去组装;在极区(直径 10 ~ 15 μm)施加 Blebbistatin,约 10% 的细胞没有完成胞质分裂,60% 的细胞表现出不同的变形:分裂沟位置异常(如分裂沟偏离赤道区域或靠近已分开的染色体)和不对称分裂。由此可见,极区皮层肌球蛋白 II 在有丝分裂中过程中的作用也是至关重要的。在胞质分裂中肌球蛋白 II 对整个皮层收缩力平衡和结构稳定都起着作用。

3 结论与展望

肌球蛋白 II 在细胞有丝分裂中的作用具有重要的理论和应用价值。目前,对肌球蛋白 II 在有丝分裂中作用的研究取得了显著进展(见表 1)。但是有丝分裂过程是极其复杂的,还有许多内部和外部条

表 1 肌球蛋白 II 在有丝分裂中的作用

Tab.1 Roles of myosin II in mitosis

细胞有丝分裂	肌球蛋白 II 的作用
有丝分裂中细胞形态变化	肌球蛋白 II 和肌动蛋白相互作用,改变细胞形态 1. 促进有丝分裂前期细胞变圆 2. 影响胞质分裂中分裂沟的形态 3. 促进有丝分裂后期子细胞的突出运动
中心体和染色体分离	肌球蛋白 II 与微管通过皮层收缩和膨胀的调节 1. 为核膜解体后中心体的分离和定位提供动力 2. 参与纺锤体的组装 3. 促进后期染色体的分离
胞质分裂中收缩环、分裂沟的形成	1. Cortaxillin I 在赤道区域聚集成环状区域,肌球蛋白 II 聚集使分裂沟定位在这个区域的中心 2. 肌球蛋白 II 参与收缩环的装配,与肌动蛋白相互滑动,使肌动蛋白丝从收缩环去组装,促进收缩环的收缩和分裂沟的形成
胞质分裂中对皮层收缩力的调控	肌球蛋白 II 在赤道区域和皮层其他区域发挥作用,使皮层收缩力平衡

件需要考虑。有丝分裂过程中局部细胞力学特性不断改变,采用细胞力学特性动态检测手段将能更真实地反映肌球蛋白 II 在有丝分裂过程中发挥作用的机制;实验发现肌球蛋白 II 缺失细胞中有细胞运动的参与^[12],将肌动蛋白分子动力学与胞质分裂过程的力学行为及形态学变化定量地耦合在一起,建立合理的有丝分裂模型,对全面理解肌球蛋白 II 缺失细胞的有丝分裂机制将颇有益处;化学趋向性在细胞定向运动过程中的研究已经取得了很大进展,正常 NRK 细胞胞质分裂过程中发现:正在分裂细胞与邻近细胞的突出之间发生了定向运动,直至相接,它们之间可能进行了某种信息沟通,从化学趋向性角度研究肌球蛋白 II 对有丝分裂的影响将是非常有意义的。

参考文献:

- [1] 周中英,倪坤,吕功焯. 肌球蛋白的结构及工作机制[J]. 分子催化,2007,(3):272-279.
- [2] Janet C, Pablo A, Douglas N. A Mechanosensory System Controls Cell Shape Changes During Mitosis[J]. Cell Cycle,2007,6:30-35.
- [3] Minakshi Guha, Zhou Mian, Wang Yuli. Cortical Actin Turnover during Cytokinesis Requires Myosin II [J]. Curr Biol, 2005, 15:732-736.
- [4] Derganc J, Bozic B, Svetina S, *et al.*. Stability analysis of micropipette aspiration of neutrophils [J]. Biophys,2000, 79: 153-162.
- [5] 李晓娜,安美文,王立,等. 肌球蛋白 II 缺失对细胞胞质分裂机制研究[J]. 力学学报,2009,41(3):389-397.
- [6] Wang Z, Shah JV, Chen ZP, *et al.* Fluorescence correlation spectroscopy investigation of a GFP mutant-enhanced cyan fluorescent protein and its tubulin fusion in living cells with twophoton excitation[J]. J Biomed Opt, 2004, 9:395-403.
- [7] Kanada M, Nagasaki A, Uyeda T. Adhesion-dependent and contractile ring-independent equatorial furrowing during cytokinesis in mammalian cells[J]. Mol Biol Cell,2005, 16: 3865-3872.
- [8] Cramer LP, Mitchison TJ. Myosin is involved in postmitotic cell spreading [J]. Cell Biol,1995,131: 179-189.
- [9] Janet C, Yee S, Jason M, *et al.* Mitosis-Specific Mechanosensing and Contractile Protein Re-distribution Control Cell Shape[J]. Curr Biol,2006,16:1962-1967.
- [10] 王立,安美文,李晓娜. 抑制胞质分裂早期 NRK 细胞极区肌

- 动蛋白聚合的研究[J]. 医用生物力学, 2009, 24(S1): 126-127.
- [11] Robinson DN, Spudich JA. Mechanics and regulation of cytokinesis[J]. *Curr Opin Cell Biol*, 2004, 16: 182-188.
- [12] Rosenblatt J, Cramer LP, Baum B, *et al.* Myosin II-dependent cortical movement is required for centrosome separation and positioning during mitotic spindle assembly[J]. *Cell*, 2004, 117: 361-372.
- [13] Silverman G, Forer A. Effects of anti-myosin drugs on anaphase chromosome movement and cytokinesis in crane-fly primary spermatocytes[J]. *Cell Motil, Cytoskeleton*, 2001, 50: 180-197.
- [14] Kanada M, Nagasaki A, Uyeda TQ. Adhesion-dependent and contractile ring-independent equatorial furrowing during cytokinesis in mammalian cells[J]. *Mol Biol Cell*, 2008, 19: 8-16.
- [15] Benink HA, Mandato CA, Bement WM. Analysis of cortical flow models in vivo[J]. *Mol Biol Cell*, 2000, 11: 2553-2563.
- [16] Mandato CA, Bement WM. Actomyosin transports microtubules and microtubules control actomyosin recruitment during *Xenopus* oocyte wound healing[J]. *Curr Biol*, 2003, 13: 1096-1105.
- [17] Del Pozo MA, Alderson NB, Kiosses WB, *et al.* Integrins regulate Rac targeting by internalization of membrane domains[J]. *Sci*, 2004, 303: 839-842.
- [18] Miyoshi H, Satoh SK, Yamada E, *et al.* Temporal change in local forces and total force all over the surface of the urchin egg during cytokinesis[J]. *Cell Motil Cytoskeleton*, 2006, 63: 208-221.
- [19] Igor W, Ralph N, Aiping Du, *et al.* Two-step positioning of a cleavage furrow by cortexillin and myosin II[J]. *Curr Biol*, 2000, 10: 501-506.
- [20] Gerisch G, Webe I. Cytokinesis with out myosin II[J]. *Curr Opin Cell Boil*, 2000, 12: 126-132.
- [21] Weber I, Gerisch G, Heizer C, *et al.* Cytokinesis mediated through the recruitment of cortexillins into the cleavage furrow[J]. *EMBO*, 1999, 18: 586-594.
- [22] Reichl EM, Ren Y, Morphew MK, *et al.* Interactions between myosin and actin crosslinkers control cytokinesis contractility dynamics and mechanics[J]. *Curr Biol*, 2008, 18: 471-480.
- [23] 李晓娜, 吴文周, 安美文, 等. 胞质分裂力学及其分子生物学机制的研究[J]. *力学进展*, 2008, 38: 495-501.
Li Xiaona, Wu Wenzhou, An Meiwu, *et al.* The mechanics of cytokinesis and molecular mechanism[J]. *Advances in Mechanics*, 2008, 38(4): 495-501.
- [24] Yumura S. Myosin II dynamics and cortical flow during contractile ring formation in *Dictyostelium* cells[J]. *Cell Biol*, 2001, 138: 137-145.
- [25] Kausalya M, Patricia W. Myosin-II-Dependent Localization and Dynamics of F-Actin during Cytokinesis[J]. *Curr Biol*, 2005, 15: 724-731.
- [26] Robinson DN, Cavet G, Warrick HM, *et al.* Quantitation of the distribution and flux of myosin-II during cytokinesis[J]. *BMC Cell Biol*, 2002, 3: 289-316.
- [27] Connell CB, Warner AK, Wang Y. Distinct roles of the equatorial and polar cortices in the cleavage of adherent cells[J]. *Curr Biol*, 2001, 11: 702-707.