

# 细菌细胞分裂位点的调控机制及其研究进展\*

雷启义<sup>1,2</sup> 胡 勇<sup>1</sup> 刘祥林<sup>1\*\*</sup>

(首都师范大学生物系 北京 100037)<sup>1</sup> (凯里学院科研处 贵州 556000)<sup>2</sup>

**摘要:** 大肠杆菌细胞内共有 3 个潜在的分裂位点, 一个在细胞中部, 另外两个位于细胞的两极。正常情况下, 细菌仅利用中部的分裂位点以二分裂方式进行细胞的对称分裂。大肠杆菌细胞分裂时, 中部潜在分裂位点的选择受到 min 操纵子 (含 *minC*、*minD*、*minE* 3 个基因) 的精细调控。*minC* 基因所编码的 MinC 蛋白是细胞分裂的抑制因子, 与具有 ATPase 活性的 MinD 蛋白结合后被激活。在 MinE 蛋白的作用下, MinC 和 MinD 蛋白在大肠杆菌细胞的两极间来回振荡。整个振荡周期中, MinC 蛋白在细胞两极的两个潜在分裂位点处所停留的时间较长, 分裂复合物无法正常组装, 因而细胞两极的潜在分裂位点被屏蔽; 而 MinC 蛋白在细胞中部的分裂位点所停留的时间较短, 不能有效地抑制分裂复合物的组装, 因此, 各种细胞分裂蛋白在中部的分裂位点组装形成稳定的分裂复合物, 使正常的细胞分裂得以进行。

**关键词:** 分裂位点, 细胞中部, MinC, MinD, MinE

**中图分类号:** Q93 **文献标识码:** A **文章编号:** 0253-2654 (2005) 01-0104-04

## Review of Studies on the Regulation Mechanism of the Division Site in Prokaryocyte \*

LEI Qi-Yi<sup>1,2</sup> HU Yong<sup>1</sup> LIU Xiang-Lin<sup>1\*\*</sup>

(Department of Biology, Capital Normal University, Beijing 100037)<sup>1</sup>

(Department of Scientific Research, Kaili College, Guizhou 556000)<sup>2</sup>

**Abstract:** In bacterial cells, selection of the proper division site at midcell requires the specific inhibitions of septation at two other potential sites, locate at each of the cell pole. This site specific inhibition of septation is mediated by the gene products of the min locus including three genes: *minC*, *minD*, and *minE*. Genetic and expression studies have revealed that MinC encode an inhibitor of division that is activated by MinD and topologically regulated by MinE. Recent localization studies of functional Min proteins tagged with green fluorescent proteins have provide some insight into this topological regulation and revealed a fascinating oscillation of MinC and MinD between the cell halves. In this paper, it is reviewed that the progress on the regulation mechanism of the division site in bacterial cells by introducing the structure and their interaction of the study on Min proteins.

**Key words:** Division site, Midcell, MinC, MinD, MinE

细胞分裂是每个生物体极为重要的事件, 大多数细菌和古细菌都以二分裂方式进行分裂。在大肠杆菌细胞正常分裂时, 10 多种蛋白在细胞的中部组装成介导细胞分裂的环状复合物, 其中 FtsZ 蛋白最早在细胞的中部聚合成环状骨架-Z 环, 其他分裂相关

\* 国家自然科学基金资助项目 (No. GN39970356)

Project Granted by Chinese National Natural Science Fund (No. GN5592003)

北京市自然科学基金资助项目 (No. GN5992003)

\*\* 联系人 Tel: 010-68902375, E-mail, xlliu@mail.cnu.edu.cn

收稿日期: 2004-03-22, 修回日期: 2004-04-22

蛋白再与之结合,从而引发并控制原核生物的细胞分裂过程<sup>[1]</sup>。然而看起来似乎很简单的细菌细胞,细胞分裂仅在其中部进行,一分为二产生两个子细胞。细胞分裂位点的选择是如何决定的?这个问题很久以来一直是个难解的迷。目前的研究表明,细菌细胞的分裂受到 min 系统—*minC*, *minD*, *minE* 基因的精细调控。在 *E. coli* 细胞的中部和两极共存在 3 个潜在的分裂位点 (potential division site, PDS),但在 *min* 基因的精细调控下仅中部的分裂位点得到利用<sup>[2]</sup>。*min* 系统基因的缺失或表达异常均会影响细胞分裂位点的决定,导致 Z 环的定位异常,从而导致细胞的不对称分裂,最终产生不含染色体的小细胞 (minicell);或者细胞的分裂受到抑制,产生不分裂的长丝状细胞,因此他们被称为 Min 蛋白<sup>[1,2]</sup>。利用不同的荧光蛋白对 Min 蛋白进行的定位研究发现原核细胞分裂位点的决定是一个动态的过程。

## 1 MinC 蛋白

细胞分裂的最初事件是细胞中部 FtsZ 蛋白的聚合即 Z 环结构的形成,MinC 蛋白能够直接与 FtsZ 相互作用,从而抑制 Z 环结构的最终形成。MinC 是如何抑制 FtsZ 环的形成?目前的研究结果表明,大肠杆菌 MinC 蛋白 N 端的 115 (1~115) 个氨基酸残基为 FtsZ 结合结构域 (Z domain),利用该结构域,MinC 蛋白与 FtsZ 蛋白相互作用,抑制 FtsZ 蛋白的聚合,从而抑制了细胞的分裂。MinC 的 C 端含有 115 个 (116~231) 氨基酸残基,其构成 MinD 结合结构域 (D domain)。通过该结构域,MinC 蛋白与 MinD 蛋白形成 MinCD 复合物,并在 MinD 蛋白的牵引下定位到细胞膜上,并与 MinD 蛋白一道在细胞的两极间来回振荡<sup>[3,4]</sup>。在大肠杆菌的 *minD* 突变株中,MinC 蛋白不能定位于细胞膜上,而是游离于整个细胞质中,同时也丧失了细胞分裂的抑制功能。若 MinC 蛋白中的 FtsZ 结合结构域 (Z domain) 或者 C 端的 MinD 结合结构域 (D domain) 的突变,均导致 MinC 对细胞分裂抑制功能的丧失。

## 2 MinD 蛋白

MinD 是一种普遍存在的 ATP 酶,细胞质中的 MinD 蛋白先与 ATP 结合形成 MinD:ATP 复合体,然后结合到细胞膜上。它在真细菌、古细菌以及植物叶绿体的分裂过程中发挥着关键性的作用<sup>[5]</sup>。在 ATP 的条件下,MinD 蛋白能在体外自我组装成丝状体。MinD 氨基酸序列并没有明显的跨膜结构域,但细胞膜分离实验和免疫荧光电镜观察却表明 MinD 定位于细胞膜,因而推测 MinD 可能与另一种膜成分相互作用,从而使 MinD 蛋白结合到膜的表面<sup>[6]</sup>。最近的研究证明,MinD 蛋白的 C 端含有一个 8~12 个残基的膜定位序列 (the membrane-targeting sequence MTS)。MTS 是一个可移植的脂质结合模体,呈螺旋环结构。将枯草芽孢杆菌 MinD 蛋白的 MTS 序列与 GFP 进行融合表达,发现该结构域能有效地将其所连接的标记蛋白 GFP 定位到细胞膜上<sup>[7]</sup>。MinD 具有四个重要的结构域:MinC 结合结构域,ATPase 活性中心,MinE 相互作用结构域和膜定位序列 (the membrane-targeting sequence MTS)。MinD 蛋白具有以下几种功能:(1) MinD 激活分裂抑制因子 MinC,与 MinC 形成 MinC-MinD 复合体,从而牵引 MinC 蛋白结合到细胞膜上;(2) MinD 具有 ATPase 活性,能够水解 ATP,为 MinCDE 的动态定位提供能量。如果 MinD 蛋白的 ATPase 活性丧失,则 MinCDE 蛋白均不能正常定位<sup>[8]</sup>。(3) 通过 MinE 相互作用结构域,MinD 蛋白受到 MinE 蛋白的调控,并在细胞两极之间来回往复

移动。(4) 在 MinD 蛋白的介导下, 细胞分裂抑制蛋白 MinC 对 MinE 发生敏感, 从而受到 MinE 的间接调控。

### 3 MinE 蛋白

MinE 是一个小的生物功能蛋白, 仅由 88 个氨基酸组成。Chun-Rui Zhao 等证明 MinE 蛋白具有两个功能结构域: N 端的 MinCD 分裂抑制因子拮抗结构域 (anti-MinCD domain, AMD) 与 C 端的拓扑专一性结构域 (topological specificity domain, TSD)。AMD 结构域能够特异性地解除 MinCD 复合体在细胞膜上的聚合。TSD 结构域赋予 MinE 蛋白空间拓扑专一性, 能够识别细胞两极和中部的潜在分裂位点<sup>[9]</sup>。最近的研究发现, MinE 蛋白在细胞中形成螺旋环状结构, 该螺旋环类似钟摆, 从细胞一极向细胞的另一极移动, 然后又移回来, 如此往复来回振荡, 并驱动 MinCD 螺旋环在细胞两极间的移动。但是 MinE 蛋白的这种动态行为却依赖于 MinD 的 ATPase 活性<sup>[10]</sup>。

### 4 Min 蛋白的相互作用与分裂位点选择

在原核细胞中, Min 蛋白在分裂过程中呈现出明显的动态性。Min 蛋白的这种动态性及其相互作用, 决定了细胞的分裂位点。Min 蛋白的相互作用及对细胞分裂位点选择的影响总结如下: (1) 野生型细胞分裂时, MinCDE 蛋白表达正常, MinE 蛋白在细胞中部形成螺旋环结构, MinCD 在细胞的一极形成螺旋环。MinE 螺旋环从中部向 MinCD 环移动, 并驱动 MinCD 环向极部移动, 此时 MinCD 螺旋环部分解聚, MinC、MinD 蛋白进入细胞质中。当 MinE 环移动到细胞的极部时, MinCD 螺旋环解体, 但依然残留了 MinCD 螺旋环的骨架, 同时 MinCD 蛋白又在细胞的另外一极组装成螺旋环状结构。此时, MinE 螺旋环从细胞的极部向细胞的另外一极移动, 又驱动 MinCD 螺旋环的解聚, 胞质中游离的 MinCD 蛋白在另一极开始组装。这样, MinCD 环便在 MinE 拓扑环的作用下快速有序地在细胞的两极间来回振荡<sup>[10]</sup>。在整个振荡周期中, MinCD 复合物在细胞两极的分裂位点所停留的时间较长, FtsZ 蛋白不能聚合形成稳定的 Z 环结构, 因而分裂不能在细胞的两极发生; 在细胞中部, MinCD 停留时间相对较短, 不能有效地抑制 Z 环的形成, 因而各种细胞分裂蛋白在细胞中部的 Z 环上聚合形成稳定的分裂复合物, 使分裂仅在细胞中部发生<sup>[4,11]</sup>。MinE 不仅是 MinCD 振荡所必需的, 而且决定 MinCD 振荡的频率。然而, MinE 如何引导 MinCD 产生空间拓扑特异性, 如何决定 MinCD 的振荡周期, MinE 环的装配与 MinCD 在极部的装配是否是直接偶联和谁先谁后等机制目前尚未清楚<sup>[11]</sup>。(2) 当细胞中缺少 MinE 时, MinCD 复合物均匀地布于整个细胞内膜, 因而封闭了细胞中所有的分裂位点, 使细胞不能发生分裂, 形成长的丝状体细胞<sup>[12]</sup>。然而一旦 MinE 表达并在膜上定位, MinC 和 MinD 则立刻戏剧性移动到细胞极部并与膜结合形成螺旋环结构, 而且在 MinE 螺旋环的驱动下来回振荡<sup>[11]</sup>。(3) 当细胞中 MinD 与 MinE 都缺乏时, MinC 蛋白不能正常定位, 呈游离状而且不能结合到细胞膜上, MinC 也就丧失了抑制 FtsZ 的作用, Z 环在细胞的 3 个潜在分裂位点聚合从而发生分裂, 因此产生无染色体小细胞 (minicell)。(4) MinC 或 MinD 蛋白过量表达能够降低 MinE 蛋白的空间拓扑专一性, 当 MinCD 极度过量表达时, MinCD 复合体与细胞中所有潜在的分裂位点结合, 细胞分裂受阻, 产生不分裂的长丝状体细胞。

目前的研究已经证明细胞分裂位点的正确选择由 Min 蛋白系统——MinC MinD

MinE 蛋白调控。然而一些非分裂相关基因的突变, 或者其表达产物形成螺旋体等特殊结构, 如维持细胞形状的 MreB 螺旋结构<sup>[13]</sup>, 或者是细菌一些其它高度保守的基因, 例如 *mraZ-mraWj* 基因、*yihA* 基因等也参与细胞分裂位点的调控过程, 这些都会引发细胞分裂位点的非正常分布<sup>[14]</sup>。但在当今, 随着功能基因组研究的不断深入, 我们有理由相信新的分裂调控相关蛋白必将被发现, 细胞分裂位点的调控机制也将愈来愈清楚。

### 参考文献

- [1] Rothfield L, Justice S, Garcia-Lara J. *Annu Rev Genet*, 1999, **33**: 423 ~ 448.
- [2] Pichoff S, Lutkenhaus J. *J Bacteriol*, 2001, **183**: 6630 ~ 6635.
- [3] Hu Z, Lutkenhaus J. *J Bacteriol*, 2000, **182**: 3965 ~ 3971.
- [4] Rothfield L I, Shih Y L, King G. *et al. Cell*, 2001, **106**: 13 ~ 16.
- [5] 胡 勇, 孔冬冬, 何奕昆. *水生生物学报*, 2004, **28** (1): 106 ~ 109.
- [6] Rowland S L, Fu X, Sayed M A, *et al. J Bacteriol*, 2000, **182**: 613 ~ 619.
- [7] Szeto T H, Rowland S L, Habrukowich C L, *et al. J Biol Chem*, 2003, **278**: 40050 ~ 40056.
- [8] Huang K C, Meir Y, Wingreen N S. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2003, **100**: 12724 ~ 12728.
- [9] Zhao C R, de Boer P A, Rothfield L I, *et al. Proc Natl Acad Sci U S A*, 1995, **92**: 4313 ~ 4317.
- [10] Gitai Z, Shapiro L. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2003, **100**: 7423 ~ 7424.
- [11] Raskin D M, de Boer P A. *J Bacteriol*, 1999, **181**: 6419 ~ 6424.
- [12] Bramhill D. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 1997, **13**: 395 ~ 424.
- [13] Shih Y L, Le T, Rothfield L. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2003, **100**: 7865 ~ 7870.
- [14] Dassain M, Leroy A, Colosetti L, *et al. Biochimie* 1999, **81**: 889 ~ 895.