

综述与专论

动蛋白研究进展

刘爱校 刘国琴

(中国农业大学生物学院, 农业部植物生理生化开放实验室, 北京 100094)

摘要 动蛋白 (kinesin) 是一种具有 ATPase 活性的微管马达蛋白, 它可以利用水解 ATP 产生的能量沿微管运动. 由于动蛋白参与了众多的生物学过程, 近年来动蛋白的研究成为一个热点. 文章总结了动蛋白的结构、沿微管运动的机制、活性调节及动蛋白的分布与功能.

关键词 动蛋白, 微管, 马达蛋白

Vale 和 Brady^[1, 2] 于 1985 年分别从鸡和鲑鱼的神经组织中分离出动蛋白, 并且证明它可以利用水解 ATP 产生的能量沿微管运动. 以后在脊椎动物脑、海胆卵细胞、果蝇幼胚中分离得到多种动蛋白或类动蛋白, 表明动蛋白象肌球蛋白 (myosin) 一样属于多家族的马达蛋白. 从广义上讲, 动蛋白可分为两类: 主管囊泡运输的胞质动蛋白和参与纺锤体装配及染色体运动的动蛋白相关蛋白 (kinesin related proteins, KRPs). 按结构、功能及运输速度的不同, 动蛋白又可分为很多亚类.

1 动蛋白的结构

Hirokawa^[3] 于 1989 年利用电镜结合单克隆抗体修饰证明天然牛脑动蛋白分子由两条重链和两条轻链组成, 为一 $\alpha_2\beta_2$ 异四聚体. 其分子为一不对称的棒状物, 全长 80 nm, 包含一对长约 10 nm 的球状头部, 一个茎部和一扇形尾部 (图 1). 尽管从不同种生物及组织分离出来的动蛋白的结构不尽相同, 但它们都表现出相近的分子组成及功能. 电子显微镜下, 动蛋白的重链可分为三个区域: 马达区 (motor domain)、茎区 (stalk domain) 和尾区 (tail domain). 马达区 (第 1~ 344 个氨基酸) 享有约 340 个氨基酸的保守序列, 负责与微管的结合且具 ATP 酶活性. 茎区 (第 381~ 910 个

氨基酸) 可形成卷曲的卷曲 α 螺旋 (coiled coil α -helix), 负责同二聚体或异二聚体的形成. 尾部区域 (第 911~ 975 个氨基酸) 变化较大可附着轻链, 负责与膜的特异性结合. 近来的研究表明动蛋白重链马达区的两个头部是以非共价键结合的. 马达区以后的 33~ 45 个氨基酸残基极易形成卷曲的卷曲 α -螺旋的颈区 (neck domain). 颈区 (第 345~ 380 个氨基酸) 是动蛋白沿微管运动所必需的^[4].

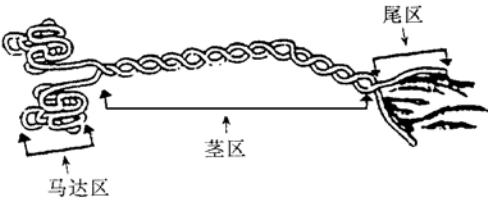


图 1 动蛋白的结构^[3]
□: 重链; ■: 轻链.

2 动蛋白沿微管运动的机制

动蛋白沿微管运动时其步幅一般为 8 nm, 优先与 β -微管蛋白结合. Howard^[5] 于 1989 年指出动蛋白沿微管运动可能是一种交臂模型 (Hand over Hand). Berliner^[6] 和 Vale^[7] 等分别于 1995 年和 1996 年通过分子生物学手段获得

了只有一个头部的动蛋白，该动蛋白不能正常地沿微管运动，从而证明这一模型可能是正确的。按这种模型，单分子动蛋白沿微管运动时，其马达区的两个头部是交替行进的。马达区的第一个头部领先第二个头部先从微管解离下来，并迅速结合到微管的下一个位点，形成一短暂的中间态，这时两个头部都结合在微管上。然后，第二个头部再从微管解离重复第一个头部的动作（图 2a）。当一个膜囊泡上结合有多个动蛋白分子时，它们是协同前进的（图 2b）。在这一过程中，ATP 的结合和水解发生在动蛋白从微管解离之前，产物 ADP 从 MT-kinesin ADP 复合物的释放是限速步骤。

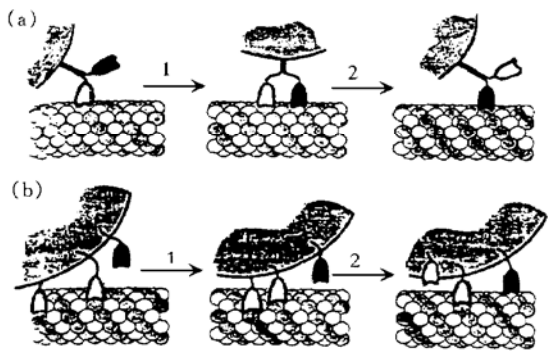


图 2 交臂模型^[6]

(a) 单分子动蛋白沿微管运动情况；(b) 多分子动蛋白沿微管运动情况。

大多数动蛋白都是向微管的正端运动的，但也有负端引导的。动蛋白沿微管运动方向除与自身的结构有关外，还受到微管解聚和聚合状态的调控^[8]。动蛋白沿微管运动方向的具体调控机制，目前还不清楚。

3 动蛋白活性的调节

纯化的动蛋白的 ATP 酶活性可被微管强烈激活^[9]，在轻链缺失时激活程度更大^[10]。Kuznetsov^[9]（1986 年）和 Cohn 等^[11]（1987 年）的研究证明体外动蛋白的 ATP 酶活性严格受到双价阳离子的调控，Ca²⁺ 激活作用大于 Mg²⁺。值得一提的是，Heinrich^[12]（1993 年）从牛脑中提取出一种动蛋白，其轻链可以

结合 CaM，这种动蛋白的 ATP 酶活性可被依赖 Ca²⁺ 的 CaM 抑制。

体内动蛋白的活性是受磷酸化调节的^[13, 14]。磷酸化位点在重链 N 端马达区以外靠近 C 末端的一个小于 5 ku 区域的丝氨酸残基及轻链的丝氨酸残基上。动蛋白的结合蛋白，如 Kinesin，也可被磷酸化。细胞质中游离的动蛋白的活性很低，当被磷酸化以后，其 ATP 酶活性及与膜的结合能力都大大提高。有证据表明动蛋白先与膜囊泡结合再与微管结合^[14]。磷酸化作用可能通过以下两条途径调节动蛋白的活性：重链和轻链的磷酸化可以调节动蛋白与细胞器或膜囊泡的结合；动蛋白结合蛋白的磷酸化可以调节动蛋白与微管的结合。

4 动蛋白的分布及功能

动蛋白可能广泛分布于真核生物的细胞中，且不同亚类的动蛋白在细胞内的分布也不尽相同。

表 1 动蛋白在一些真核生物中的分布

材料	细胞内定位	参考文献
牛脑	突触囊泡、线粒体、被衣囊泡	[15]
鱿鱼	膜囊泡	[16]
果蝇	纺锤体、中心体	[17]
酵母	纺锤体	[18]
榛木花粉	高尔基体囊泡	[19]

随着研究的深入，人们所了解到的动蛋白的功能也越来越多。Vale 等^[1]（1985 年）用体外测试的方法证明用动蛋白包被的荧光小球可以沿微管向微管的正端运动，揭示出动蛋白可能是轴突正向运输的马达之一。进而，Hirokawa^[20]（1991 年）通过对轴突中正向运输和负向运输的膜囊泡的分析证明体内动蛋白主要是与囊泡的正向运输有关。以后的研究均证明动蛋白是主管细胞器和囊泡运输的重要马达^[21, 22]。另外，动蛋白还参与了核的融合、有丝分裂及减数分裂中纺锤体的形成与分离、

染色体的迁移以及各类细胞器和色素颗粒沿微管的分布。最新的研究还表明动蛋白在调节微管的解聚速度、保持微管稳定及细胞膜损伤的修复中也有一定作用^[23]。

5 植物动蛋白的研究概况

尽管这十几年中动蛋白的研究获得了突飞猛进的进展，但大多数研究仅限于动物材料，人们对植物动蛋白的性质和功能所知甚少。植物中动蛋白的含量很低加之分离困难，目前人们仅从少数几种植物中分离出动蛋白^[19]。值得重视的是，阎隆飞、刘国琴等^[24]于1995年利用免疫印迹技术证明芹菜韧皮部中微管沿筛管长轴排列，动蛋白存在于韧皮部中的无定型颗粒上。植物动蛋白的结构、性质与功能，是很有意义的亟待研究的新课题。

参 考 文 献

1 Brady T S. A novel brain ATPase with properties expected for the fast axonal transport motor. *Nature*, 1985, **317**: 73 ~ 75

2 Vale R D, Schnapp B J, Reese T S *et al.* Movement of organelles along filaments dissociated from the anoplasm of the giantsquid axon. *Cell*, 1985, **40**: 449~ 454

3 Hirokawa N, Pflster K K, Yorifuji H *et al.* Submolecular domains of bovine brain kinesin identified by electron microscopy and monoclonal antibody decoration. *Cell*, 1989, **56**: 867~ 876

4 Young E C, Berliner E, Mahtani H K *et al.* Subunit interactions in dimeric kinesin heavy chain derivatives that lack the kinesin rod. *J Biol Chem*, 1995, **270**: 3926~ 3931

5 Howard J, Hudspeth A J, Vale K D. Movement of microtubules by single kinesin molecules. *Nature*, 1989, **342**: 154 ~ 158

6 Berliner E, Edgar C Young, Karin Anderson *et al.* Failure of a single-headed kinesin to track parallel to microtubule protofilaments. *Nature*, 1995, **373**: 718~ 721

7 Vale R D, Funatsa T, Daniel W P *et al.* Direct observation of single kinesin molecules moving along microtubules. *Nature*, 1996, **380**: 451~ 453

8 Lombillo V A, Russell J S, McIntosh J R. Minus end-directed motion of kinesin-coated microspheres driven by microtubule depolymerization. *Nature*, 1995, **373**: 161 ~ 164

9 Kuznetsov S A, Gelfand V L. Bovine brain kinesin is a microtubule-activated ATPase. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1986, **83**: 8530~ 8534

10 Hackney D D, Levett J D, Wagner D D. Characterization of $\alpha_2\beta_2$ and α_3 forms of kinesin. *Biochem Biophys Res Commun*, 1991, **174**: 810~ 815

11 Cohn S A, Ingold A I, Scholey J M. Correlation between the ATPase and microtubule translocating activities of sea urchin egg kinesin. *Nature*, 1987, **328**: 160~ 163

12 Heinrich J G, Miller M R J, Palfray H C. Calmodulin binding to and cATP-dependent phosphorylation of kinesin light chains modulate kinesin ATPase activity. *J Biol Chem*, 1993, **268** (15): 11176~ 11187

13 Lee Kyung-Dall, Peter J H. Phosphorylation of kinesin *in vivo* correlates with organelle association and neurite outgrowth. *J Biol Chem*, 1995, **270** (10): 5600~ 5605

14 McIlvain J M, Janis K B, Sarah H A *et al.* Regulation of kinesin activity by phosphorylation of kinesin-associated proteins. *J Biol Chem*, 1994, **269** (29): 19176~ 19181

15 Leopold P L, McDowall A W, Pfister K K *et al.* Association of kinesin with characterized membrane-bounded organelles. *Cell Motil Cytoskel*, 1992, **23**: 19~ 33

16 Vale R D, Reese T S, Sheetz M P. Identification of a novel force-generating protein, kinesin, involved in microtubule-based motility. *Cell*, 1985, **42**: 39~ 50

17 Endow S A, Henikoff S, Soler-Niedziela L. Mediation of meiotic and early mitotic chromosome segregation in *Drosophila* by a protein related to kinesin. *Nature*, 1990, **345**: 81~ 83

18 David M R, Pamela B M, Mark D R. Kinesin-related proteins for assembly of the mitotic spindle. *J Cell Biol*, 1992, **118**: 95~ 108

19 Liu Guoqin, Cai G, Casino C D *et al.* Kinesin-related polypeptide is associated with vesicles from *Corylus avellana* pollen. *Cell Motil Cytoskel*, 1994, **29**: 155~ 166

20 Hirokawa N, Satoshitabe R, Kobayashi N *et al.* Kinesin associates with anterogradely transported membranous organelles *in vivo*. *J Cell Biol*, 1991, **114**: 295~ 302

21 Feiguin F, Ferreira A, Kosik K S *et al.* Kinesin-mediated organelle translocation revealed by specific cellular manipulations. *J Cell Biol*, 1994, **127**: 1021~ 1039

22 Jennifer L S, Cole N B, Marotta A *et al.* Kinesin is the motor for microtubule-mediated Golgi to ER membrane traffic. *J Cell Biol*, 1995, **128**: 293~ 306

23 Steinhardt R A, Guoqiang Bi, Janet M A. Cell membrane resealing by a vesicular mechanism similar to neurotransmitter release. *Science*, 1994, **263**: 390~ 393

24 阎隆飞，刘国琴. 植物生理学报，1995, **21** (4): 393~ 396

Progress on Kinesin. LIU Aixiao, LIU Guoqin (*Key Laboratory for Plant Physiology and Biochemistry, China Agricultural University, Beijing 100094, China*).

Abstract Kinesin is a microtubule-dependent motor protein, which can hydrolyze ATP and move along microtubule. The structure, functions, and activity regulation of kinesin are summarized.

Key words kinesin, microtubule, motor protein