玉米线粒体中的肌动蛋白

阎龙飞　　邹喻苹　李复生　汤佩松

（北京农业大学）　　（中国科学院植物研究所）

细胞中的线粒体经常进行可逆的膨胀与收缩. Lehninger 曾指出线粒体收缩与肌肉收缩有相似之处[1]. Ohnishi 曾在鼠肝线粒体中分离到一种类似骨骼肌中的肌动蛋白的蛋白质[2]. 但迄今为止，尚未确切证明线粒体中收缩蛋白的存在.

线粒体的膨胀与收缩可能负责某些重要的生理功能，例如氧化磷酸化. 因此，探讨在植物线粒体是否存在收缩蛋白是很有意义的.

本文报道了在玉米黄化幼苗线粒体中存在肌动蛋白. 我们从玉米线粒体中分离到一种收缩蛋白. 它的肌动球蛋白溶液在加入 ATP 后呈现超沉淀现象. 从粗提取液等电沉淀提纯的肌动蛋白能激活家兔骨骼肌肌球蛋白的 Mg^{2+}-ATP 酶活性. 这种玉米肌动蛋白与肌肉肌动蛋白在电泳上有相同的泳动率. SDS 聚丙烯酰胺凝胶电泳表明，玉米线粒体肌动蛋白的分子量约为 46,000.

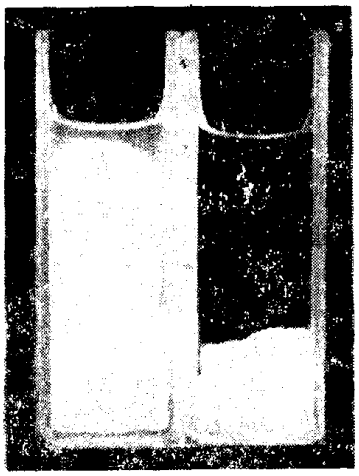

图 1　玉米线粒体肌动球蛋白粗提取液的超沉淀现象

离子强度 0.1，pH6.4，ATP 1m*M*，$MgCl_2$ 1m*M*. 14℃ 保温 2 小时，蛋白浓度 0.45 毫克/毫升.　左：对照；　右：加 ATP

采用在 27℃ 黑暗中萌发 4 天的玉米黄化幼苗，按前法制备线粒体[3]. 该线粒体经 0.4*M* 甘露醇，1m*M* EDTA，0.05*M* Tris-HCl pH7.2 缓冲液仔细洗涤后，悬浮在 Weber-Edsall 溶液中（含有 0.6*M* KCl，0.04*M* $NaHCO_3$，0.01*M* Na_2CO_3，$5\times10^{-3}M$ 半胱氨酸，$1\times10^{-3}M$ EDTA，pH8.0）. 在玻璃匀浆器中充分均匀后于超声发生器中处理 2×30 秒钟，然后在 50,000g 离心 30 分钟，所得上清液即为肌动球蛋白的粗提取液.

1. 超沉淀现象　肌动球蛋白的粗提取液稀释到离子强度为 0.1，用稀乙酸将 pH 调到 6.4，溶液呈浑浊胶体状态. 加入 1m*M* ATP，1m*M* $MgCl_2$ 后在 14℃ 保温 2 小时，则出现超沉淀现象，浑浊度逐渐增加，沉淀的体积缩小. 这种现象表明溶液中的肌动球蛋白在加入 ATP 后可以收缩，而对照（不加 ATP 者）仍维持它的溶胶状态.

表 1　玉米线粒体肌动球蛋白的 ATP 酶活性（微克分子磷/分/毫克蛋白）

离子种类	Mg^{2+}(1m*M*)	Ca^{2+}(1m*M*)
ATP 酶活性	0.037	0.097

反应混合物含 20m*M* Tris-马来酸缓冲液，pH6.6 在 37℃ 保温 15 分钟，ATP 的浓度为 4m*M*.

本文 1981 年 8 月 10 日收到.

2. ATP 酶的活性　粗肌动球蛋白的 ATP 酶活性按 Le Bel 等人的方法[4]测定. 结果见表 1.

3. 玉米肌动蛋白对肌球蛋白 ATP 酶的激活　将肌动球蛋白的粗提取液稀释到离子强度为 0.1，pH 调到它的等电点（pH4.5），静止过夜后在 16,500g 离心 30 分钟. 该沉淀重新溶解在 50m*M* Tris-HCl 缓冲液中（pH7.6）作为初步提纯的玉米肌动蛋白溶液. 肌肉肌球蛋白从家兔骨骼肌根据 Holtzer 和 Lowey[5] 方法制备. 它的起始 Mg^{2+}-ATP 酶活性为 0.004 微克分子磷/分/毫克蛋白. 分别加入 11.25 微克/毫升，22.5 微克/毫升，33.75 微克/毫升，67.5 微克/毫升的玉米肌动蛋白后，ATP 酶的活性分别增至 0.017; 0.023; 0.030; 0.046 微克分子磷/分/毫克蛋白(图 2).

4. 电泳比较　根据 Spudich 和 Watt 的方法从家兔骨骼肌肉制备了电泳纯的G型肌动蛋白[6]. 玉米线粒体粗肌动蛋白提取液用制备电泳提纯（管长 8 厘米，直径 1.1 厘米），切下与肌肉肌动蛋白相应的区带，将肌肉肌动蛋白与玉米肌动蛋白分别进行电泳，它们具有相同的迁移率(图 3 带 b 和 d)，如果两者混加在一起电泳，区带叠加（图 3c），这表明玉米肌动蛋白与肌肉肌动蛋白是相同的.

SDS 聚丙烯酰胺凝胶电泳表明，玉米肌动蛋白分子量大约为 48,000，所用标准蛋白为牛血清白蛋白（68,000）、谷氨酸脱氢酶（53,000），肌肉肌动蛋白（46,000）醛缩酶（40,000），乙醇脱氢酶(37,000)，胰蛋白酶（23,000）.

5. 讨论　虽然 Kader 等（1978）用 SDS 凝胶电泳得到了花椰菜、土豆等几种植物线粒体蛋白的肽谱，其中有分子量为 44,000 的区带，但其特性和功能并不清楚[7].

我们上述实验结果，初步证明玉米线粒体中有一种收缩蛋白存在. 它的电泳迁移率、分子量、对 Mg^{2+}-ATP 酶的激活等与肌肉肌动蛋白进行比较表明，它具有肌动蛋白的性质. 对玉米线粒体中的肌动蛋白的结构，我们将进一步用电子显微镜进行研究.

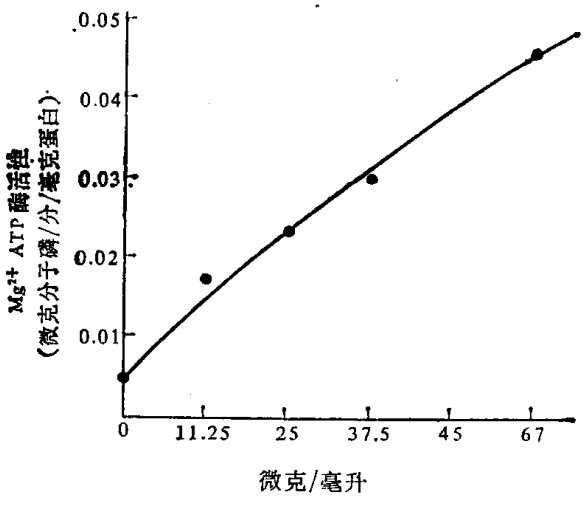

图 2　玉米线粒体肌动蛋白对兔肌球蛋白 Mg^{2+}-ATP 酶的激活
肌球蛋白浓度为 0.26 毫克/毫升

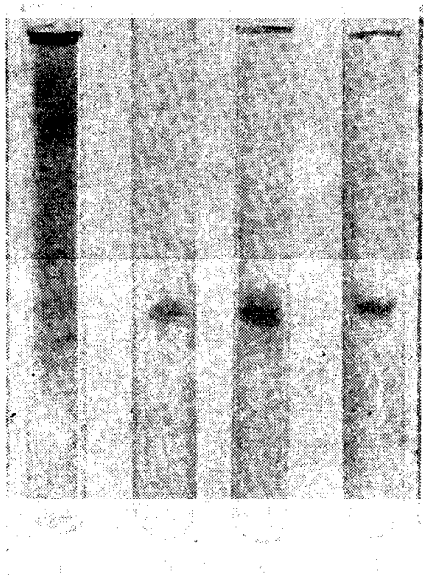

图 3　玉米线粒体肌动蛋白与肌肉肌动蛋白电泳的比较
a. 玉米线粒体粗提取液；　b. 玉米线粒体肌动蛋白；　c. 玉米线粒体肌动蛋白加肌肉肌动蛋白；　d. 肌肉肌动蛋白

由上述结果看来，肌动蛋白-肌球蛋白系统可能是生活细胞中线粒体膨胀与收缩的分子基础，而线粒体的膨胀收缩可能具有重要的生理功能．很可能肌动蛋白-肌球蛋白系统是一切机体中能量转换(化学能与机械能的互相转换)的一种共同装置，而不论能量转换的种类如何．

参 考 文 献

[1] Lehninger, A. L., *The Mitochondria* (W. A. Benjamin Inc.), New York, Amsterdam, 1964.
[2] Ohnishi, T. & Ohnishi, T., *J. Biochem.*, 51(1962), 380—381.
[3] Tsou, Y. P. et al., *Acta Botanica Sinica*, 21(1979), 199—207.
[4] Le Bel, D. et al., *Anal. Biochem.*, 85(1978), 86—89.
[5] Holtzer, A. & Lowey, S., *J. Am. Chem. Soc.*, 81(1959), 1370.
[6] Spudich, J. A. & Watt, S., *J. Biol. Chem.*, 246(1971), 4866—4871.
[7] Kader, J. C. et al., in *Plant Mitochondria* (Eds. Ducet & Lance), Biomedical Press, Elsevier/North Holland, 1978.
[8] Clark, N. & Spudich, J. A., *Ann. Rev. Biochem.*, 46(1977), 797—822.