

Dynactin 辅助 dynein 进行细胞内物质运输的研究进展

王圣柳, 孙 飞

中国科学院生物物理研究所, 生物大分子国家重点实验室, 北京 100101

收稿日期: 2012-07-20; 接受日期: 2012-09-07

基金项目: “973” 计划项目(2011CB910301), 国家自然科学基金创新群体项目(31021062)

通讯作者: 孙飞, 电话: (010)64888582, 传真: (010)64888376, E-mail: feisun@ibp.ac.cn

摘要: 胞质动力蛋白 (cytoplasmic dynein) 是沿微管向负极运动的马达蛋白, 参与细胞内多种物质的运输, 运输的货物 (cargo) 小至信使 RNA 和蛋白质, 大至细胞器和囊泡。动力蛋白只有与动力激活蛋白 (dynactin) 结合在一起时才有活性。动力激活蛋白是一个分子量为 1.2 MDa 的多亚基复合物, 利用分子生物学和免疫电子显微镜技术, 研究者已阐明了其亚基的组成信息, 并得到了一个初步的结构模型。10 年来, 随着对各亚基功能研究的不断深入, 研究者发现动力激活蛋白不仅可以增强动力蛋白在微管上的运动持续性, 而且还可帮助其结合细胞内的其他成分。然而, 动力激活蛋白与动力蛋白之间如何相互调节功能, 动力激活蛋白作为接头蛋白如何控制货物在动力蛋白上的结合与解离, 这两个核心问题尚未解决。本文就动力激活蛋白的亚基组成及其辅助动力蛋白发挥功能等研究成果进行总结, 并对以后的研究趋势进行展望。

关键词: 动力蛋白; 动力激活蛋白; 微管; 负向运动; 持续性行走

中图分类号: Q71

DOI: 10.3724/SP.J.1260.2012.20121

引 言

动力蛋白 (dynein) 包括胞质动力蛋白 (cytoplasmic dynein) 和轴丝动力蛋白 (axonemal dynein)。前者广泛分布在所有真核细胞中, 后者仅存在于纤毛或鞭毛细胞中, 本文中提到的动力蛋白均指前者。细胞内的物质运输并非随机扩散。小至信使 RNA 和蛋白质, 大至细胞器和囊泡, 均可作为“货物” (cargo) 由特定的分子马达 (molecular motor) 沿着特定的轨道 [如微管 (microtubule) 和微丝 (F-actin)] 进行有方向性的运动。微管是真核细胞内主要的运动轨道, 自细胞核附近中心体 (centrosome) 处向四周辐射状分布, 具有极性, 靠近细胞核的一侧为负极 (minus-end), 而伸向细胞质周围的一侧为正极 (plus-end)。马达蛋白正是一种能识别这种极性的 ATP 酶, 将 ATP 的水解能转化为运动能。马达蛋白, 按照运动方向的不同可分为正向 (anterograde) 运动马达和负向 (retrograde) 运动马达两类; 按照运动轨道的不同, 又可分为微管马达和微丝马达两类。Dynein 是真核细胞内沿微管进行负向运动的主要马达蛋白, 但其在行使功能时总是与另一个蛋白复合物——动力激活蛋白

(dynactin) 相结合, 单独作用的情况几乎不存在^[1]。从细胞质周围到细胞核附近, 以及神经轴突中从突触向胞体的运输, 都离不开 dynein 和 dynactin^[1]。在高等脊椎动物的胚胎形成中, 无论是 dynein 还是 dynactin 的缺失都是致死的。神经系统对二者的突变更加敏感, 在其他细胞不受影响的情况下, 二者中的任何一个发生错义突变都会导致神经退行性疾病的发生^[2-4]。

Dynactin 的亚基组成和结构特点

自 1991 年在一次 dynein 的分离与体外 (*in vitro*) 活性测试实验^[5,6]中被发现以来, dynactin 受到了广泛的关注和系统的研究。结合分子生物学、生物化学及显微成像技术, dynactin 复合物的亚基组成被很快解析。

组成 dynactin 的亚基有 11 种 (表 1), 肽链数目超过 20 条, 它们一起构成一个分子量为 1.2 MDa、沉降系数为 20 S 的巨大复合物。在电镜下, dynactin 呈现为一个不对称结构, 由两个形态差异显著的结构单元组成^[7] (图 1)。

表 1 Dynactin 亚基信息总结^[1]

Table 1 Summary of dynactin subunits^[1]

亚基名称	基因名称	拷贝数	预测结构信息
p150 ^{glued}	<i>DCTN1</i>	2	CAP-Gly motif, α -helical coiled-coil
p62	<i>DCTN4</i>	1	Metal-binding motif
Dynamitin(p50)	<i>DCTN2</i>	4	α -helical coiled-coil, elongated
Arp11	<i>ACTR10</i>	1	Actin-like
Arp1	<i>ACTR1A</i>	8	Actin-like
CapZ α/β	<i>CAPZA/B</i>	2	PDB: 1IZN
p24/p22	<i>DCTN3</i>	2	α -helix, elongated?
p27	<i>DCTN6</i>	1	Left handed β -helix
p25	<i>DCTN5</i>	1	Left handed β -helix
β -actin	<i>ACTB</i>	1	PDB: 2BTF

在电镜下 (图 1), dynactin 最显著的结构特点是一段 10×40 nm 的短棒状结构 (rod), 类似肌动蛋白纤维 (即微丝)^[8], 这是由具有 ATP 水解活力的肌动蛋白相关蛋白 Arp1 (actin-related protein 1) 组成的八聚体^[9]。与带有极性的微丝类似, Arp1 短棒的两端也是不同的, 它们分别被称为倒刺端 (barbed end) 和尖端 (pointed end)(图 1C)。在倒刺端, 结合有两个肌动蛋白加帽蛋白 CapZ α/β (actin-capping protein)^[8], 鉴于它们在微丝倒刺端 (正极) 的结合起着抑制微丝延伸的作用, 推测它们控制着 dynactin 中 Arp1 短纤维的长度。与倒刺端相对的是尖端, 尖端复合物是一个异源四聚体 (heterotetramer), 由 p62 与另外一个肌动蛋白相关蛋白 Arp11 (actin-related protein 11) 及两个最小的亚基 p25、p27 组成^[10]。虽然根据结构预测, Arp11 可能具有对尖端长度进行控制的能力, 但由于其体外表达的困难性, 至今为止还没办法被肯定地验证^[11]。除此之外, 还有一个亚基—— β -actin, 但是由于纯化方法的不同, 它并非总是出现在完整的 dynactin 复合物中^[8]。

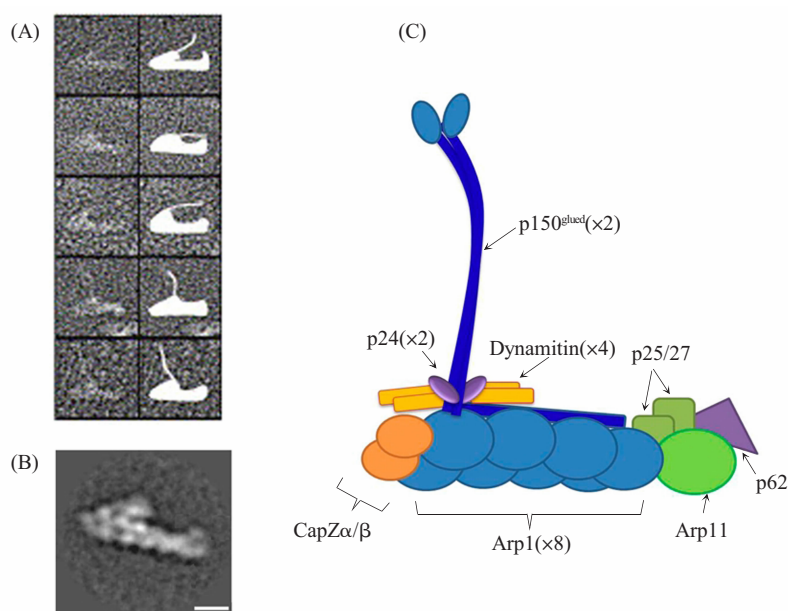


图 1 动力激活蛋白 dynactin 的结构轮廓及示意图 (A) Dynactin 的负染电镜照片^[7]。左侧一列显示侧臂摆动不同角度的照片, 右侧一列是演示图。(B) Dynactin 负染电镜照片的二维平均图^[7]。图中标尺显示为 10 nm。(C) Dynactin 的结构模型示意图

Fig.1 The structure model of dynactin (A) Typical electron micrographs of negatively stained dynactin with variety of positions and angles of sidearm relative to the rod^[7]. Raw electron micrographs are in the left column, whereas the corresponding schematic traces are in the right. (B) Two-dimensional averaged image of the dynactin^[7]. The bar represents 10 nm. (C) The overall structure model of the dynactin based on ultra-structure and biochemical characterization

从 Arp1 短棒的倒刺端延伸出一个柔性很大的结构单元, 称为肩臂 (shoulder/sidearm), 在电镜下与 Arp1 短棒的相对位置具有多变性 (图 1A)。肩臂由亚基 p150^{glued}、dynamitin 和 p24 组成, 经预测, 这三个亚基的二级结构均具有大量的 α 螺旋。p150^{glued} 是 dynactin 复合物中最大的亚基, 预测其具有两个卷曲螺旋 (coiled-coil) 结构, 并借此形成狭长的二聚体, 羧基端与 Arp1 结合, 氨基端则从 Arp1 短棒伸出, 形成臂 (sidearm)。在臂的顶端有两个球形结构域, 保守的 CAP-Gly (cytoskeleton-associated protein, glycine-rich) 模体 (motif) 和一段碱性氨基酸区域使其具有微管结合的能力^[12,13], 因此也称为微管结合结构域 (MTBD, microtubule binding domain); 臂具有柔性, 同时还具有结合 dynein 中链 (intermediate chain) 的能力^[14]。p150^{glued} 二聚体在结合 Arp1^[13]的同时, 还结合 dynamitin 和 p24, 形成肩 (shoulder)。肩是整个 dynactin 复合物的支架中心, 在保持整个 dynactin 的结构与功能完整性中起着非常重要的作用。在 dynactin 的体外解离实验中, 亚复合物 (subcomplex) 的存在被证实了。Dynamitin 和 p24 可与 p150^{glued} 形成稳定的亚复合物, 进一步分离还能得到仅含有 dynamitin 和 p24 的异源三聚体 (dynamitin : p24=2 : 1); 除此之外的亚复合物还有 CapZ α/β 异二聚体、p62/Arp11 异二聚体及 p27/p25 异二聚体^[10]。由于到目前为止尚未发现在高等生物 dynactin 复合物形成过程中有组装因子的存在, 所以, dynactin 的亚基有可能先各自形成较为稳定的亚复合物, 继而组装成为完整的 dynactin。对细胞来说, 以亚复合物为单位的组

装可能更加高效，但是在体内这样的亚复合物还没有被发现。

Dynactin帮助 dynein 在微管上持续性地行走

在微管行走的马达蛋白有两种，一种是驱动蛋白 kinesin (这里特指 kinesin1)，另一种是动力蛋白 dynein，它们分别负责细胞内货物向微管正极端和负极端的长距离运输。Kinesin 和 dynein 虽然在结构上存在巨大的差异 (图 2A、B)，但它们在微管上的运动却具有三个相同点：第一，均具有两个马达结构域 (motor domain)，将 ATP 水解与构象变化偶联在一起；第二，运动步长为 8 nm (一个管蛋白异二聚体的长度，dynein 除了 8 nm 之外，也存在少量更大或更小的步长)，且运动的形式均为“head over head”，即每运动一步，对整个分子来说前进 8 nm，但对于单个马达结构域来说，相对其起始位置实际上前进了 16 nm^[15-17]；第三，都能在微管上持续运动很长的距离。假设一根微管长为 1 μm (神经细胞中更长)，则需要 125 步才能从一端走向另一端。细胞内的溶液环境复杂而拥挤，能够在微管上持续运动上百步而不解离，这对两个马达结构域之间的协调配合是一个很大的考验。

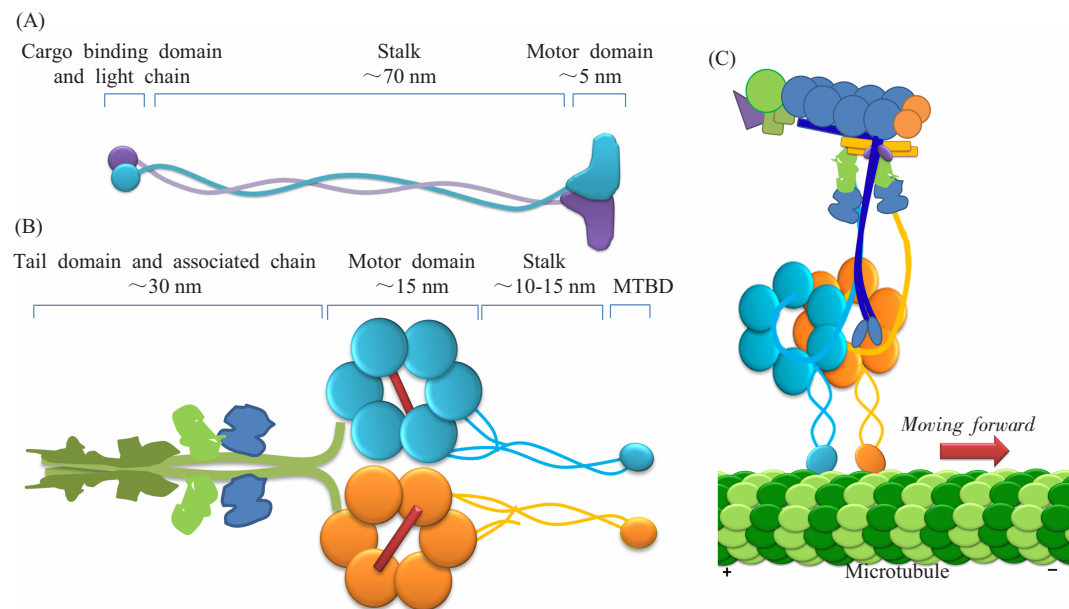


图 2 驱动蛋白、动力蛋白、动力蛋白-动力激活蛋白复合体的结构示意图 (A) 驱动蛋白结构的卡通示意图。(B) 动力蛋白结构的卡通示意图。(C) 动力蛋白-动力激活蛋白复合物的模型示意图

Fig.2 Schematic representations of microtubule motors (A) The cartoon structure of kinesin. (B) The cartoon structure of dynein. (C) The model of dynein-dynactin complex on microtubule

对于 kinesin 运动持续性的研究最为深入。具有结合微管能力的马达结构域和形成二聚体的茎 (stalk)(图 2A) 之间的 13 个氨基酸，是两个马达结构域之间进行对话的结构基础，这段区域称为颈部连接 (neck linker)^[18-20]。颈部连接的严密调控保证了一个马达结构域只有在另一个马达结构域与微管紧密结合的情况下才会离开微管表面，就像一个走钢丝的人，只有当一只脚踏稳后，另一只脚才会离开钢丝。因此，kinesin 在微管上行走得非常小心和保守，这就是其能进行长距离运输的结构基础。

然而, 对于分子量更大、结构更加复杂的 dynein 来说, 类似颈部连接的结构尚未被发现。与 kinesin 相比, dynein 的马达结构域完全不同, 它由六个 AAA (ATPase associated with various cellular activities) 结构域形成六聚体, 并排列成直径为 15 nm 的环 (图 2B)。值得注意的是, dynein 的马达结构域并不像 kinesin 一样能够直接结合微管, 而是通过一个长约 10~15 nm 的茎 (stalk) 连接一个微管结合结构域 (MTBD), 这不仅使得 ATP 水解与微管结合结构域构象变化之间的偶联难度加大, 同时也使得两个微管结合结构域之间的协调更加困难。目前还没有一个公认合理的模型阐释 dynein 在微管上的运动模式。比如, dynein 是否可以采取与 kinesin 相同的在微管上“站立”(两个微管结合结构域沿微管轴向排列) 的方式; 两个马达结构域之间是否有直接的相互调节, 是否需要其他调节蛋白等问题, 非常值得研究。与 dynein 相互作用的调节蛋白, 目前已发现了很多, 比如 NudE (nuclear distribution protein E)、NDEL (NUDE-like)、Lis1 (lissencephaly protein)、BICD (Bicaudal D) 和 dynactin 等, 但有证据表明对 dynein 的运动性有影响的却只有 dynactin 和 Lis1^[21] (本文只讨论前者, 对后者感兴趣可阅读参考文献)。

起初, 研究者在体外运动性测试实验中发现, 纯化的 dynein 在独自运动时只有不到 2% 的运动长度可以超过 2 μm , 而混入了 dynactin 后, 在保持 dynein 马达结构域的 ATP 酶活性、运动步长 (stepsize) 和速率 (velocity) 等均不受影响的情况下, 这个比例可以提高到 20%, 并且这种促进作用是对 dynein 特异的, 对 kinesin 没有任何影响^[22]。这一结果表明, dynactin 在体外实验中对 dynein 的运动持续性具有明显的增强作用。前面提到过, dynactin 的亚基 p150^{glued} 既能结合微管, 又能结合 dynein 的中链, 因此, 研究者最初猜测 dynein 可能是依靠 dynactin 提供了额外的微管结合位点, 从而形成类似“拐杖”的辅助作用。虽然随后有研究数据肯定了这一点^[23], 但是, 随着研究的逐渐深入, 这种观点却在不断地受到质疑。最新的研究表明, 果蝇 S2 细胞^[24]以及芽殖酵母 (*S. cerevisiae*)^[24,25]在缺失 p150^{glued} 的微管结合域的情况下, dynein 在微管上的运动并没有受到任何影响, 体外运动实验^[25]也支持了这一点。然而, dynactin 是如何提高 dynein 运动持续性的, 其中的分子机制和调控手段目前尚不明确, 也许对 dynactin 的众多亚基进行更系统和细致的研究、或者捕捉到运动状态下 dynein/dynactin 复合物的形态, 可以回答这个问题。

这里不得不提的是, 与驱动蛋白 kinesin 和肌球蛋白 myosin 相类似, 在对 dynein 运动特点和形式进行的研究中, 单分子荧光成像技术^[25] (single molecule fluorescence imaging) 和激光捕捉技术^[26] (optical trapping) 是主要的实验方法和研究平台, 与此同时, 高灵敏度低背景的荧光分子的使用^[16], 以及对 dynein 和 dynactin 重组表达技术^[25]的实现, 均是这个领域出现突破性进展的条件。相信, 随着技术的不断发展和普及, 更多的细节将被揭示。

Dynactin 帮助 dynein 与“货物”的连接

如果说具有持续性的运动能力是作为合格“货车”的第一大先决条件, 那么, 装载货物的能力则是另一大硬性指标。Dynein 运送的货物类型非常多, 小到 RNA、蛋白质, 大到线粒体、高尔基体, 甚至病毒包涵体。然而, 面对多样的货物, dynein 却不像 kinesin 一样具有丰富多样的重链 (heavy chain), 目前仅发现一种 dynein 重链^[27,28]。单一的蛋白与多样的

运输货物之间有着强烈的矛盾,这一矛盾也成为研究 dynein 永远无法回避的难题。在 dynein 与货物之间一定存在着一些接头蛋白,对货物的选择性应该由它们来完成。目前发现的可能起接头作用的蛋白有 LIS、NuDE、NDEL、ROD/ZW10/Zwilch (Rough Deal /Zeste white 10/Zwilch)、spindy 和 dynactin。

在体外实验中,纯化的 dynein 虽然可以沿着微管进行运动,但却无法带着提取的囊泡运动,而 dynactin 的加入可使其具有这一能力,这也正是 dynactin 被命名的原因^[56]。Dynactin 很有可能充当着接头蛋白的角色,这就要求其既与 dynein 结合,也与货物结合。

大量的体外实验表明, p150^{glued} 二聚体能直接结合 dynein 中链,且相互作用的区域在 p150^{glued} 的氨基端,即暴露于 Arp1 纤维之外的臂上(图 2C)^[12,29,30]。有趣的一点是,这个相互作用区域是与另一个 dynein 调节蛋白 NudE 共享且相互竞争的^[30,31],这种竞争很可能使 dynein 的调控机制变得更加丰富。

如果 dynactin 真的作为 dynein 与某种货物之间的接头蛋白存在的话,那么,它在细胞中的定位也应该具有相应的特异性。事实上, dynactin 在细胞中除了沿微管分布外,还特异性地定位于微管的正极^[32,33]、中心粒及纺锤体结构上^[5,34],以及细胞皮质 (cell cortex)^[35]。除此之外,免疫电镜还观察到 dynactin 与 dynein 一起共定位于很多内膜系统上,比如内吞小泡、高尔基体、线粒体及核膜^[36,37]。这些亚细胞成分(包括微管)都可能成为 dynein-dynactin 复合体的货物。

然而, dynactin 是如何与这些细胞结构进行相互作用的,目前尚没有很确凿的证据。前面提到过, dynactin 最显著的结构特点是 Arp1 组成的类似微丝的短棒状纤维,实验表明 Arp1 能直接结合高尔基体膜特异的 β III 血影蛋白^[38],因此, dynactin 也许可通过 Arp1 纤维与高尔基体膜相互作用,当然,这个推论还需要更多的实验数据来证明。除了 Arp1 之外, dynactin 还有一些亚基能与细胞内其他蛋白相互作用。Dynamitin 除了在 dynactin 结构中起连接作用外,还与一些细胞器上的蛋白有直接的相互作用,如动力蛋白 Zw10^[39]、细胞皮质相关蛋白 MacMARCKS (myristoylated alanine-rich C kinase substrate (MARCKS)-related protein)^[40],以及高尔基体相关蛋白 BICD^[41]。虽然具体的作用位点还不明确,但可以推测其位于 dynamitin 保守的氨基端结构域。预测显示, p62 的一级序列具有一个锌指模体 (zinc-binding motif/RING),在铜离子存在的情况下,与高尔基体膜上的 P 型 ATP 酶 ATP7B 有着相互作用^[42]。

综上所述, dynactin 作为接头蛋白的可能性很大。然而,由于相互作用蛋白多而复杂,用传统的细胞和生化实验进行更严谨的论证,难度依然很大,也许这正是这个方向进展缓慢的原因,因此,这个领域亟需新研究手段的应用。

展 望

毫无疑问,在细胞生命活动中, dynactin 扮演着十分重要的角色。它具有结合微管、分子马达以及多种细胞成分的能力。多样的功能必然基于特殊的结构, dynactin 本身的组成成分复杂,为多亚基复合物,现有的低分辨率电镜结构仅能展示其大致轮廓,无法解释更多与功能相关的具体结构细节。尽管在芽殖酵母中能重组表达可用于功能测试的内源的

dynactin^[25], 但还无法达到可用于结构生物学的数量级, 因此, 对其高分辨率三维结构的研究存在很大的挑战, 目前还是空白。Dynactin 与 dynein 以及与货物分子之间相互作用的结构基础, 对理解 dynein 作为分子马达的作用机制具有重要作用。

关于 Dynein 运动机制的研究进展非常迅速, 尤其是最近几年, 这无疑得力于单分子和荧光标记技术的发展和运用。除了 dynactin 之外, Lis1 在调节 dynein 运动性上的证据也非常明显, 二者之间的调控机制是否一样? 是否存在互相的调节? 都需要更加细致地进行论证。

作为目前发现的仅有的沿微管负向进行长距离运动的分子马达, dynein 的重链却只发现了一种, 而沿微管正向运输的 kinesin 却是一个大家族, 对不同的货物有着不同的重链。Dynein 运输货物的多样性与其蛋白的单一性形成强烈的矛盾, 因此, dynein 调节蛋白, 尤其是功能复杂的 dynactin, 在货物选择和锚定上承担着重任。Dynactin 与其他细胞成分之间的联系, 除了现已发现的蛋白外, 更多的相互作用蛋白亟待被发现。

参考文献:

1. Schroer TA. Dynactin. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 2004, 20: 759-779
2. Puls I, Jonnakuty C, LaMonte BH, Holzbaur EL, Tokito M, Mann E, Floeter MK, Bidus K, Drayna D, Oh SJ, Brown RH Jr, Ludlow CL, Fischbeck KH. Mutant dynactin in motor neuron disease. *Nat Genet*, 2003, 33(4): 455-456
3. Hafezparast M, Klocke R, Ruhrberg C, Marquardt A, Ahmad-Annuar A, Bowen S, Lalli G, Witherden AS, Hummerich H, Nicholson S, Morgan PJ, Oozageer R, Priestley JV, Averill S, King VR, Ball S, Peters J, Toda T, Yamamoto A, Hiraoka Y, Augustin M, Korthaus D, Wattler S, Wabnitz P, Dickneite C, Lampel S, Boehme F, Peraus G, Popp A, Rudelius M, Schlegel J, Fuchs H, Hrabe de Angelis M, Schiavo G, Shima DT, Russ AP, Stumm G, Martin JE, Fisher EM. Mutations in dynein link motor neuron degeneration to defects in retrograde transport. *Science*, 2003, 300(5620): 808-812
4. Munch C, Rosenbohm A, Sperfeld AD, Uttner I, Reske S, Krause BJ, Sedlmeier R, Meyer T, Hanemann CO, Stumm G, Ludolph AC. Heterozygous R1101K mutation of the DCTN1 gene in a family with ALS and FTD. *Ann Neurol*, 2005, 58(5): 777-780
5. Gill SR, Schroer TA, Szilak I, Steuer ER, Sheetz MP, Cleveland DW. Dynactin, a conserved, ubiquitously expressed component of an activator of vesicle motility mediated by cytoplasmic dynein. *J Cell Biol*, 1991, 115(6): 1639-1650
6. Schroer TA, Sheetz MP. Two activators of microtubule-based vesicle transport. *J Cell Biol*, 1991, 115(5): 1309-1318
7. Imai H, Narita A, Schroer TA, Maeda Y. Two-dimensional averaged images of the dynactin complex revealed by single particle analysis. *J Mol Biol*, 2006, 359(4): 833-839
8. Schafer DA, Gill SR, Cooper JA, Heuser JE, Schroer TA. Ultrastructural analysis of the dynactin complex: An actin-related protein is a component of a filament that resembles F-actin. *J Cell Biol*, 1994, 126(2): 403-412
9. Bingham JB, Schroer TA. Self-regulated polymerization of the actin-related protein Arp1. *Curr Biol*, 1999, 9(4): 223-226
10. Eckley DM, Gill SR, Melkonian KA, Bingham JB, Goodson HV, Heuser JE, Schroer TA. Analysis of dynactin subcomplexes reveals a novel actin-related protein associated with the arp1 minifilament pointed end. *J Cell Biol*, 1999, 147(2): 307-320
11. Eckley DM, Schroer TA. Interactions between the evolutionarily conserved, actin-related protein, Arp11, actin, and Arp1. *Mol Biol Cell*, 2003, 14(7): 2645-2654
12. Vaughan PS, Miura P, Henderson M, Byrne B, Vaughan KT. A role for regulated binding of p150 (Glued) to microtubule plus ends in organelle transport. *J Cell Biol*, 2002, 158(2): 305-319
13. Waterman-Storer CM, Karki S, Holzbaur EL. The p150Glued component of the dynactin complex binds to both microtubules and the actin-related protein contractin (Arp-1). *Proc Natl Acad Sci USA*, 1995, 92(5): 1634-1638
14. Karki S, Holzbaur EL. Affinity chromatography demonstrates a direct binding between cytoplasmic dynein and the dynactin complex. *J Biol Chem*, 1995, 270(48): 28806-28811
15. Gennerich A, Vale RD. Walking the walk: How kinesin and dynein coordinate their steps. *Curr Opin Cell Biol*, 2009, 21(1): 59-67
16. Reck-Peterson SL, Yildiz A, Carter AP, Gennerich A, Zhang N, Vale RD. Single-molecule analysis of dynein processivity and stepping behavior. *Cell*, 2006, 126(2):

- 335~348
17. Okada Y, Higuchi H, Hirokawa N. Processivity of the single-headed kinesin KIF1A through biased binding to tubulin. *Nature*, 2003, 424(6948): 574~577
 18. Tomishige M, Stuurman N, Vale RD. Single-molecule observations of neck linker conformational changes in the kinesin motor protein. *Nat Struct Mol Biol*, 2006, 13(10): 887~894
 19. Asenjo AB, Weinberg Y, Sosa H. Nucleotide binding and hydrolysis induces a disorder-order transition in the kinesin neck-linker region. *Nat Struct Mol Biol*, 2006, 13(7): 648~654
 20. Skiniotis G, Surrey T, Altmann S, Gross H, Song YH, Mandelkow E, Hoenger A. Nucleotide-induced conformations in the neck region of dimeric kinesin. *EMBO J*, 2003, 22(7): 1518~1528
 21. Huang J, Roberts Anthony J, Leschziner Andres E, Reck-Peterson Samara L. Lis1 acts as a "clutch" between the ATPase and microtubule-binding domains of the dynein Motor. *Cell*, 2012, 150(5): 975~986
 22. King SJ, Schroer TA. Dynactin increases the processivity of the cytoplasmic dynein motor. *Nat Cell Biol*, 2000, 2(1): 20~24
 23. Culver-Hanlon TL, Lex SA, Stephens AD, Quintyne NJ, King SJ. A microtubule-binding domain in dynactin increases dynein processivity by skating along microtubules. *Nat Cell Biol*, 2006, 8(3): 264~270
 24. Kim H, Ling SC, Rogers GC, Kural C, Selvin PR, Rogers SL, Gelfand VI. Microtubule binding by dynactin is required for microtubule organization but not cargo transport. *J Cell Biol*, 2007, 176(5): 641~651
 25. Kardon JR, Reck-Peterson SL, Vale RD. Regulation of the processivity and intracellular localization of *Saccharomyces cerevisiae* dynein by dynactin. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106(14): 5669~5674
 26. Toba S, Watanabe TM, Yamaguchi-Okimoto L, Toyoshima YY, Higuchi H. Overlapping hand-over-hand mechanism of single molecular motility of cytoplasmic dynein. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103(15): 5741~5745
 27. Hirokawa N. Kinesin and dynein superfamily proteins and the mechanism of organelle transport. *Science*, 1998, 279(5350): 519~526
 28. Pfister KK, Fisher EM, Gibbons IR, Hays TS, Holzbaur EL, McIntosh JR, Porter ME, Schroer TA, Vaughan KT, Witman GB, King SM, Vallee RB. Cytoplasmic dynein nomenclature. *J Cell Biol*, 2005, 171(3): 411~413
 29. King SJ, Brown CL, Maier KC, Quintyne NJ, Schroer TA. Analysis of the dynein-dynactin interaction *in vitro* and *in vivo*. *Mol Biol Cell*, 2003, 14(12): 5089~5097
 30. Nyarko A, Song Y, Barbar E. Intrinsic disorder in dynein intermediate chain modulates its interactions with NudE and dynactin. *J Biol Chem*, 2012,
 31. McKenney RJ, Weil SJ, Scherer J, Vallee RB. Mutually exclusive cytoplasmic dynein regulation by NudE-Lis1 and dynactin. *J Biol Chem*, 2011, 286(45): 39615~39622
 32. Valetti C, Wetzel DM, Schrader M, Hasbani MJ, Gill SR, Kreis TE, Schroer TA. Role of dynactin in endocytic traffic: Effects of dynamitin overexpression and colocalization with CLIP-170. *Mol Biol Cell*, 1999, 10(12): 4107~4120
 33. Moughamian Armen J, Holzbaur Erika LF. Dynactin is required for transport initiation from the distal axon. *Neuron*, 2012, 74(2): 331~343
 34. Quintyne NJ, Schroer TA. Distinct cell cycle-dependent roles for dynactin and dynein at centrosomes. *J Cell Biol*, 2002, 159(2): 245~254
 35. Moore JK, Cooper JA. Coordinating mitosis with cell polarity: Molecular motors at the cell cortex. *Semin Cell Deve Biol*, 2010, 21(3): 283~289
 36. Habermann A, Schroer TA, Griffiths G, Burkhardt JK. Immunolocalization of cytoplasmic dynein and dynactin subunits in cultured macrophages: Enrichment on early endocytic organelles. *J Cell Sci*, 2001, 114(Pt 1): 229~240
 37. Salina D, Bodoor K, Eckley DM, Schroer TA, Rattner JB, Burke B. Cytoplasmic dynein as a facilitator of nuclear envelope breakdown. *Cell*, 2002, 108(1): 97~107
 38. Holleran EA, Ligon LA, Tokito M, Stankewich MC, Morrow JS, Holzbaur EL. Beta III spectrin binds to the Arp1 subunit of dynactin. *J Biol Chem*, 2001, 276(39): 36598~36605
 39. Yue L, Lu S, Garces J, Jin T, Li J. Protein kinase C-regulated dynamitin-macrophage-enriched myristoylated alanine-rich C kinase substrate interaction is involved in macrophage cell spreading. *J Biol Chem*, 2000, 275(31): 23948~23956
 40. Jin T, Yue L, Li J. *In vivo* interaction between dynamitin and MacMARCKS detected by the fluorescent resonance energy transfer method. *J Biol Chem*, 2001, 276(16): 12879~12884
 41. Hoogenraad CC, Akhmanova A, Howell SA, Dortland BR, De Zeeuw CI, Willemsen R, Visser P, Grosveld F, Galjart N. Mammalian Golgi-associated Bicaudal-D2 functions in the dynein-dynactin pathway by interacting with these complexes. *EMBO J*, 2001, 20(15): 4041~4054
 42. Lim CM, Cater MA, Mercer JF, La Fontaine S. Copper-dependent interaction of dynactin subunit p62 with the N terminus of ATP7B but not ATP7A. *J Biol Chem*, 2006, 281(20): 14006~14014

Dynactin Is an Indispensable Helper for Dynein's Function in Intracellular Motility

WANG Shengliu, SUN Fei

National Laboratory of Biomacromolecular, Institute of Biophysics, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China

This work was supported by grants from the "973" Program of China (2011CB910301) and the National Natural Science Foundation of China (31021062)

Received: Jul 20, 2012 Accepted: Sep 7, 2012

Corresponding author: SUN Fei, Tel: +86(10)64888582, Fax: +86(10)64888376, E-mail: feisun@ibp.ac.cn

Abstract: Cytoplasmic dynein is a microtubule motor protein which is responsible for the majority of minus end microtubule-based intracellular motility. The cargoes of dynein include not only mRNA and protein, but also cell organelle and vesicle. Dynactin, a huge complex with Mw of 1.2 MDa, is necessary for dynein's function. The subunits composition and an overall structure model of the dynactin has been revealed based on biochemistry and immuno-electron microscopy. Since the initial discovery, it has become clear that dynactin links dynein to cargo and increases dynein processivity. Although how dynactin interacts with dynein and how dynactin act as an adapter between dynein and cargoes remain unclear, a lot of achievements have been made in the last decade. We will review these progresses and share a perspective future in this field.

Key Words: Dynein; Dynactin; Microtubule; Minus-end motility; Processivity

DOI: 10.3724/SP.J.1260.2012.20121

知识链接

细胞骨架

细胞骨架 (cytoskeleton) 是真核细胞中与细胞形态维持和细胞运动有关的错综复杂的网络, 遍布整个胞质。其结构蛋白主要有三类: 微管 (microtubules)、微丝 (microfilaments) 和中间纤维 (intermediate filaments), 每一类纤维由不同的蛋白亚基组成。管蛋白 (tubulin) 相互组成直径约 25 nm 的中通管道, 即微管, 长度可达几微米, 微管从靠近细胞核的中心体处开始生长, 辐射状分布于细胞中。肌动蛋白单体 (G-actin) 聚合形成直径约 7 nm 的线性聚合物, 成为微丝 (F-actin)。微丝很少孤立存在, 它们总是交结成束 (bundles/cables) 或网。中间纤维是中间纤维丝蛋白组成的长绳状扭链, 直径约 10 nm, 介于微丝和微管之间, 它们很典型地呈网状满布于胞质中, 在三者中最为坚韧, 常特化为组织分布特异的纤维, 如上皮细胞中的角蛋白丝和细胞核膜中的核纤层蛋白。所有细胞骨架纤维都具有一个基本特点: 它们动态地获得和失去亚基, 这种动态周转使细胞骨架能够在细胞中通过自组装建立新的运输通路或者改变细胞结构。