mpc1 基因缺失对酵母肌动蛋白等动力学的影响

潘 凤[1]，蒲帝宏[1]，任兴蕊[1]，阮渝涵[2]，丁 祥[2]，侯怡铃[1*]

（1. 西华师范大学 生命科学学院 西南野生动植物资源保护教育部重点实验室，四川 南充 637009；
2. 西华师范大学 环境科学与工程学院，四川 南充 637009）

摘 要 细胞骨架调控线粒体的融合和分裂，同时线粒体也调控细胞骨架的正常动力学。*mpc1* 基因编码线粒体丙酮酸载体 1（mitochondrial pyruvate carrier 1），该蛋白位于线粒体内膜中，是线粒体丙酮酸载体复合物的重要成分。目前，尚未见相关文献报道 *mpc1* 基因缺失对酵母肌动蛋白等动力学的影响。本研究对粟酒裂殖酵母（*Schizosaccharomyces pombe*）的微管、组蛋白、肌动蛋白构建荧光标记，利用活细胞成像技术探究 *mpc1* 基因缺失对肌动蛋白等动力学的影响。结果表明，常温下 *mpc1*Δ 菌株与野生型菌株相比，纺锤体伸长时间缩短 6.70 min（$P<0.01$）、伸长速率加快 0.17 μm/min（$P<0.01$）；染色体分离时间缩短 3.40 min（$P<0.01$）；肌动蛋白环聚集和收缩总时间延长 3.80 min（$P<0.01$）。*mpc1* 基因缺失虽然促进了纺锤体伸长和染色体分离，但减缓了肌动蛋白环形成和收缩，最终导致细胞生长缓慢。本研究为进一步探究 *mpc1* 功能提供参考。

关键词 *mpc1* 基因；粟酒裂殖酵母；有丝分裂；细胞动力学；肌动蛋白；基因回补

中图分类号 Q933 **文献标识码** A **文章编号** 1005－7021(2026)02－0044－14

doi：10.3969/j.issn.1005－7021.2026.02.005

Effect of *mpc1* Gene Deletion on Actin and Other Proteins Dynamics of *Schizosaccharomyces pombe*

PAN Feng[1], PU Di-hong[1], REN Xing-rui[1], RUAN Yu-han[2], DING Xiang[2], HOU Yi-ling[1*]

(1. *Key Laboratory of Southwest Wildlife Resource Conservation (Ministry of Education), College of Life Sciences, China West Normal University, Nanchong* 637009;
2. *College of Environmental Science and Engineering, China West Normal University, Nanchong* 637009)

Abstract The cytoskeleton could regulate the fusion and division of mitochondria, meanwhile, mitochondria also could regulate the normal dynamics of the cytoskeleton. The *mpc1* gene encodes mitochondrial pyruvate carrier 1 which is located in the mitochondrial membrane. The protein of MPC1 is an essential component of the mitochondrial pyruvate carrier complexes. Currently, the effect of *mpc1* gene deletion on the dynamics of spindle, histone, and actin has not been reported. In this study, fluorescent labels of microtubules, histone, and actin were constructed in *Schizosaccharomyces pombe* cells. The stability of cell dynamics at different stages was observed using live-cell imaging to investigate the effects of *mpc1* gene deletion on actin. Compared with the wild-type strain, the results showed that the *mpc1*Δ strain reduced the spindle elongation time by 6.70 min ($P<0.01$), accelerated the elongation rate by 0.17 μm/min ($P<0.01$), reduced the chromosome segregation time by 3.40 min ($P<0.01$), and prolonged the total time for actin ring aggregation and contraction by 3.80 min ($P<0.01$) at room temperature. The experimental results mentioned above indicated that although the deletion of *mpc1* gene promoted spindle elongation and chromosome segregation, it slowed down the formation and contraction of actin rings, ultimately leading to slow cell growth. This study

基金项目：四川省科技厅应用基础面上项目（2022NSFSC0107）；四川省科技厅农业科技成果转化资金项目（2022NZZJ0003）；四川省转移支付科技成果转移转化示范项目（22ZYZFSF0009，23ZHSF0082）

作者简介：潘凤 女，硕士研究生。主要研究方向为生物化学与分子生物学。E-mail：2811211793@qq.com

* 通讯作者。女，教授，博士，硕士生导师。主要研究方向为生物化学与分子生物学。E-mail：starthlh@126.com

收稿日期：2025-06-06

中国知网 https://www.cnki.net

provided a basis for further investigation of *mpc1* function.

Keywords *mpc1* gene; *Schizosaccharomyces pombe*; mitosis; cell dynamics; actin; gene complementation

线粒体是真核细胞的能量工厂,是细胞通过氧化磷酸化和三羧酸循环途径合成 ATP 的场所。线粒体为保持其功能状态,通过不断地分裂和融合产生新的线粒体,消除旧的和受损的线粒体[1-3]。一方面,细胞骨架蛋白调控着线粒体形态和功能。Mmb1 蛋白(mitochondrial microtubule binder,线粒体微管结合蛋白 Mmb1)将线粒体和微管结合在一起,防止线粒体聚集和回缩[4],Mmb1 蛋白异常导致线粒体聚集且数量增加[5-6];βIII-微管蛋白及其 C 端尾部参与调节线粒体动力学和动态网状线粒体结构[7];Tea2 蛋白(kinesin family plus-end directed microtubule motor,驱动蛋白家族正端定向微管电机 Tea2)异常会导致线粒体碎片化且数量增加[5]。另一方面,线粒体蛋白也调控着细胞骨架的正常动力学。*fzo1* 基因(编码 Fuzzy onions protein 1,线粒体融合蛋白 Fzo1)缺失后,维管束数量增加,有丝分裂纺锤体组装异常[8-9];*dnm1* 基因(编码 dynamain-related protein 1,线粒体分裂蛋白 Dnm1)缺失后,微管束长度增加,纺锤体伸长时间延长,染色体分离滞后[10];*tom70* 基因(编码 mitochondrial TOM complex TPR repeat subunit Tom70,线粒体 TOM 复合物 TPR 重复亚基 Tom70)缺失后,纺锤体断裂缺陷[11-12];*afg1* 基因(编码 AFG1 family mitochondrial ATPase,线粒体 AFG1 家族 ATP 酶)缺失后,营养生长期端粒更细长[13]。*mpc1* 基因编码线粒体丙酮酸载体 1(mitochondrial pyruvate carrier 1,MPC1),该基因位于粟酒裂殖酵母(*Schizosaccharomyces pombe*)的第 3 条染色体上,其前后基因分别为 *sec6*、*mug146*。MPC1 蛋白由 141 个氨基酸组成,分子量为 16.06 kDa(图 1)。MPC1 和 MPC2(mitochondrial pyruvate carrier 2,线粒体丙酮酸载体 2)组成线粒体内膜丙酮酸载体复合物 MPC,其具有跨膜转运蛋白活性,可以将丙酮酸从细胞质中转运到线粒体内[14-15],丙酮酸是糖类、脂质以及氨基酸的代谢中间产物。*mpc1* 缺失会诱导 MPC2 降解,导致 MPC 蛋白整体失活[16]。*mpc1* 表达水平影响癌细胞的生存率,*mpc1* 表达降低促进 β-连环蛋白的核易位,从而激活 Wnt/β-连环蛋白途径,促进癌细胞的转移,而 MPC 过表达在体外抑制了癌细胞的运动[17]。例如 *mpc1* 缺陷会加速肺腺癌进展,MPC1 过表达能抑制胃癌细胞[18-23]。Liu 等[13]研究发现,*mpc1* 基因缺失会导致细胞端粒变长。在裂殖酵母中,*mpc1* 缺失会导致细胞生长速度变慢[24],还会增加细胞对布雷菲尔丁 A、咖啡因、雷帕霉素的抗性以及对硼替佐米的敏感性[25]。人类 *mpc1* 失活会引发多种疾病,如迟发性运动障碍、乳酸性酸中毒、高丙酮酸血症、线粒体丙酮酸载体缺乏症等[26-28]。酵母细胞是一种杆状单细胞真核模式生物,包括粟酒裂殖酵母、出芽酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)等,其基因组结构简单并与人类相似[29-31]。其中粟酒裂殖酵母的染色体结构保守,细胞形状规则,分裂时子细胞大小和长度均匀,常用于有丝分裂及细胞周期等的研究[32-33]。在裂殖酵母中,*mpc1* 基因缺失会导致细胞生长速度变慢,但相关分子机制尚未揭示。本研究以粟酒裂殖酵母为研究对象,在 *mpc1Δ* 菌株中构建荧光蛋白标记,检测 *mpc1* 基因缺失对纺锤体、组蛋白、肌动蛋白等动力学的影响,同时构建 *mpc1* 基因回补菌株进行验证,为进一步探究 MPC1 蛋白功能提供参考。

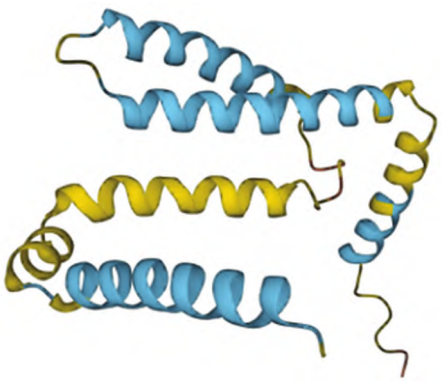


图 1 线粒体丙酮酸载体 1 蛋白质结构

Fig. 1 Protein structure of mitochondrial pyruvate carrier 1

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 菌种来源 粟酒裂殖酵母(*Schizosaccharomyces pombe*)菌株(表 1),-80 ℃冻存在西南野生动植物资源保护教育部重点实验室(本实

中国知网 https://www.cnki.net

验室)。

表 1 粟酒裂殖酵母菌株编号、基因型及来源

Table 1 Number, genotypes and source of *Schizosaccharomyces pombe* strains

菌株编号	基因型	菌种来源
PT286	h − wt	Phong Tran[4]
PT287	h + wt	
CF2046	h − wt: GFP-Atb2:HygR	Chuanhai Fu[4]
PT3850	h + wt: Pact1-LifeAct-mGFP:LEU1	Phong Tran[4]
PT4280	h − wt: Hht2-GFP:URA4	
997-1	h + *mpc1Δ*: kanR	
997-2	h − *mpc1Δ*: kanR	本研究
997a	h? *mpc1Δ*: GFP-Atb2:HygR	本研究
997b	h? *mpc1Δ*: Pact1-LifeAct-mGFP:LEU1	本研究
997c	h? *mpc1Δ*: Hht2-GFP:URA4	本研究

注:h −、h +、h? 均表示菌株性别,其中 h − 表示该菌株为负菌,h + 表示该菌株的正菌,h? 表示该菌株性别未知;wt 表示野生型菌株;*mpc1Δ* 表示 *mpc1* 基因缺失型菌株;GFP 为绿色荧光蛋白标记;Atb2 表示微管;Pact1-LifeAct 表示肌动蛋白;Hht2 表示组蛋白;HygR 表示潮霉素抗性;kanR 表示卡那霉素抗性;URA4 表示尿嘧啶缺陷版;LEU1 表示亮氨酸缺陷版

1.1.2 培养基 YE5S 液体培养基:组氨酸、亮氨酸、尿嘧啶、腺嘌呤、赖氨酸各 0.11 g,葡萄糖15.00 g,酵母提取物 2.50 g,超纯水 0.50 L;YE5S 固体培养基:在液体培养基的基础上加琼脂 8.50 g;EMM-N 产孢培养基:组氨酸、亮氨酸、尿嘧啶、腺嘌呤、赖氨酸各 0.11 g,葡萄糖 10.00 g,EMM-N 3.66 g,超纯水 0.50 L;YE5S + G418(HygR)固体筛选培养基:按照 YE5S 固体培养基配方配制并灭菌,待冷却凝固前加入 G418(HygR),使其浓度为 0.30 g/L;LEU1 固体筛选培养基:组氨酸、尿嘧啶、腺嘌呤、赖氨酸各 0.11 g,EMM-2 16.17 g,琼脂 8.50 g,超纯水 0.50 L;URA4 固体筛选培养基:组氨酸、亮氨酸、腺嘌呤、赖氨酸各 0.11 g,EMM-2 16.17g ,琼脂 8.50 g,超纯水 0.50 L[34]。

1.1.3 主要试剂与仪器设备 葡萄糖、酵母提取物、琼脂(Thermo Fisher Scientific 公司);巯基乙醇、腺嘌呤、赖氨酸、亮氨酸、尿嘧啶、组氨酸(Sigma-Aldrich 公司);山梨醇、乙二胺四乙酸、潮霉素(HygR)(上海麦克林生化科技有限公司);EMM-N(生物风资源技术服务公司);G418、甘油(广州赛国生物科技有限公司);蜗牛酶(上海源叶生物科技有限公司);Q5 High-Fidelity 2X MasterMix 酶(New England Biolabs 公司);限制性核酸内切酶(*Bam*HI)(Takara 公司);Seamless cloning kit(北京擎科生物科技股份有限公司)。−80 ℃超低温冰箱(994,Thermo Fisher Scentific 公司);Ⅱ级生物安全柜(MSC-Advantage,Thermo Fisher Scentific 公司);恒温培养箱(DPX-9272B-1,Thermo Fisher Scentific 公司);冷冻离心机(5418R,Eppendorf AG 公司);恒温震荡器(THZ-Q,上海百典仪器设备有限公司);激光共聚焦倒置显微镜(TCS-SP8,Leica 公司);正置荧光显微镜(DMI3000B,Leica 公司);蒸汽灭菌锅(LDZX-30FA,上海申安医疗器械厂);PCR 仪(T100,Bio-Rad Laboratories 生命科学公司)。

1.2 方法

1.2.1 *mpcΔ* 菌株的构建及验证 选取质粒 pFA6a-KanMX6,设计前后引物:F1(5′-TTTTTCT-GCTCCACTAATAGGATAAGCTAGTAATTTGAAGC-CTTTGGCAAGCCAACCACACCTATATTATTTTTTTT-AAAACGGATCCCCCGGGTTAATTAA-3′)、R1(5′-CCCTTCCTTCGAATCAATTTTGTTAGAGCAAGTG-ACTTATCTGTTCACTCGTATTTTAAAGAATAAATA-CTTGACCCTTTGAATTCGAGCTCGTTTAAAC-3′)。PCR 扩增得到 *KanR* 基因片段,PCR 条件为 98 ℃预变性 30 s、34 个循环(98 ℃变性 10 s、63 ℃退火 30 s、72 ℃延伸 2 min),72 ℃延伸 5 min,10 ℃保存。将扩增产物电泳并回收,采用醋酸锂转化法同源替换获得 *mpc1*Δ 菌株[10]。

1.2.2 细胞形态的观察 取出用甘油法保存在 −80 ℃冰箱中的野生型和 *mpc1Δ* 菌株,分别接种至 YE5S 固体培养基,25 ℃复苏 48 h 后,再接适量菌株至 YE5S 液体培养基,25 ℃、200 r/min 振荡培养活化 12 h(观察 37 ℃下细胞形态时,还需稀释后于 37 ℃下再活化 12 h)至菌液 OD_{595} 在0.5 ~ 0.8[35] 之间时活化完成。使用正置荧光显微镜 100 倍油镜观察已活化完成的上述菌株细胞形态,截取 *mpc1Δ* 菌株及野生型菌株的细胞图像,测量细胞长度、纵横比、细胞面积等数据并作图分析。

1.2.3 *mpc1Δ* 负菌的构建 复苏 *mpc1Δ* 正菌与野生型负菌后,将二者混匀涂布至 EMM-N 产孢培养基上,25 ℃培养 2 d 后产孢。用蜗牛酶溶液酶解子囊壁释放孢子,用无菌 ddH_2O 清洗孢子 3 次,经相应抗性筛选培养基筛选后,挑出多个单克隆菌落于 25 ℃扩大培养 2 d 后,将单菌落分别与已复苏的野生型正负菌株混匀后涂布至 EMM-N

中国知网 https://www.cnki.net

产孢培养基上,25 ℃培养 2 d 后镜检是否产孢,与野生型正菌产孢且不与野生型负菌产孢的单菌落即为负菌,扩大培养后保存 *mpc1Δ* 负菌(表 1)。

1.2.4 *荧光蛋白构建* 荧光蛋白标记的构建是通过将带有不同目的荧光蛋白标记的野生型菌株分别与对应的异性 *mpc1Δ* 菌株杂交来实现,产孢后用蜗牛酶溶液酶解子囊壁释放孢子,用无菌 ddH_2O 清洗孢子 3 次,经抗性筛选培养基或氨基酸缺陷培养基筛选后,挑出单克隆菌落,利用正置荧光显微镜观察标记,选择带有荧光标记的菌株纯化并扩大培养保存(表 1)。

1.2.5 *回补菌株的构建* 选取质粒 pFA6a-5FLAG-hphMx6,设计前后引物:F1(5′-TTCGTACGCTGCAGGTCGACTTCATCAACTGATTGAGGT-3′)、R1(5′-CATATGATTAATTAACCCGGGGATCCGCTAGATTGTGTAACTGAAC-3′),从粟酒裂殖酵母野生型菌株中扩增 *mpc1* 基因片段,电泳并回收扩增产物。用 *Bam*HI 酶切质粒,采用同源重组法将 *mpc1* 基因酶连到质粒上。采用醋酸锂转化法将质粒转化到 997b 酵母细胞中[10],经抗性筛选验证后获得回补菌株C-*mpc1Δ*。

1.2.6 *活细胞成像* 将保存于 -80 ℃冰箱的菌株接种至 YE5S 固体培养基,25 ℃复苏 72 h 后,接种适量菌株到 YE5S 液体培养基中,于 25 ℃下活化 12 h(进行 37 ℃下活细胞成像时还需稀释后于 37 ℃下再活化 12 h)。用活化后的菌株制片,使用激光共聚焦倒置显微镜对菌株进行活细胞成像观察。成像参数为每帧间隔 2 min,像素 512 μm ×512 μm,曝光时间 400 ms,从上至下共 7 层,每层间隔 1 μm,拍摄温度 25 ℃或 37 ℃。

1.2.7 *统计学分析* 使用 Image J 进行图像处理、数据测定,所有数据均表示为平均值 ± SD,使用 GraphPad prism 8 做图,使用 IBM SPSS statistics 23.0 进行统计学分析。统计学差异:* 和 * * 分别表示野生型与 *mpc1Δ* 菌株差异显著($P<0.05$)和极显著($P<0.01$)[34]。

2 结果与分析

2.1 *mpc1* 基因缺失对细胞形态的影响

对比野生型菌株(wt)和 *mpc1Δ* 菌株细胞形态结果显示,有丝分裂间期 *mpc1Δ* 菌株细胞形态良好,呈长杆状,未出现空泡等异常表型(图 2A)。25 ℃下细胞形态统计分析结果显示,wt 和 *mpc1Δ* 菌株的细胞长度(图 2B)、纵横比(图 2C)、细胞面积(图 2D)分别为(13.19 ± 1.45)μm、(3.84 ± 0.62)、(40.22 ± 5.79)μm^2 和(12.46 ± 1.27)μm、(3.37 ± 0.51)、(39.84 ± 4.78)μm^2。*mpc1Δ* 菌株与 wt 相比,细胞面积无显著差异,但细胞长度、细胞纵横比分别增加 0.73 μm($P<0.01$)、0.47($P<0.01$)。以上结果提示,*mpc1* 基因缺失会导致细胞 25 ℃下变得更细长。

37 ℃下细胞形态统计分析结果显示,wt 和 *mpc1Δ* 菌株的细胞长度(图 2E)、纵横比(图 2F)、细胞面积(图 2G)分别为(12.13 ± 1.39)μm、(2.27 ± 0.37)、(56.44 ± 9.55)μm^2 和(11.83 ± 1.31)μm、(2.16 ± 0.37)、(53.52 ± 7.52)μm^2。*mpc1Δ* 菌株与 wt 的细胞长度、纵横比、细胞面积无显著差异。与 25 ℃相比,37 ℃下 *mpc1Δ* 菌株细胞形态恢复正常。

2.2 *mpc1* 基因缺失对纺锤体动力学的影响

在细胞分裂期,微管组装形成纺锤体,随着分裂的进行,纺锤体逐渐伸长至断裂,纺锤体的伸长帮助染色体移动到细胞两极,使子细胞都能够获得完整的遗传物质,保证生命体遗传物质的完整性[36]。利用绿色荧光蛋白标记 *mpc1Δ* 菌株的微管(图 3),探究 *mpc1* 基因缺失对粟酒裂殖酵母纺锤体动力学的影响。每隔 2 min 拍摄一次的纺锤体形态结果显示(图 3A 从左至右),25 ℃下 *mpc1Δ* 菌株的纺锤体伸长总时间少于 wt,37 ℃下 *mpc1Δ* 菌株纺锤体伸长总时间与 wt 相近。

统计 25 ℃下纺锤体动力学发现(图 3Ba、3C),wt 和 *mpc1Δ* 菌株纺锤体伸长总时间、总长度、总速率分别为(23.70 ± 2.18) min、(10.44 ± 0.71) μm、(0.44 ± 0.05) μm/min 和(17.00 ± 1.89) min、(10.37 ± 0.54) μm、(0.62 ± 0.09) μm/min。与 wt 相比,*mpc1Δ* 菌株有丝分裂纺锤体伸长长度无显著性差异,但伸长时间极显著缩短 6.70 min($P<0.01$),伸长速率极显著增加 0.17 μm/min($P<0.01$)。以上结果提示,*mpc1* 基因缺失会缩短纺锤体伸长时间,加快纺锤体伸长速率,但不影响纺锤体伸长长度。

进一步分析 25 ℃下各时期纺锤体伸长时间和速率结果显示(图 3Ba、3C),wt 和 *mpc1Δ* 菌株纺锤体在前、中、后期伸长时间分别为(5.40 ±

中国知网 https://www.cnki.net

1.85)、(6.30 ± 1.63)、(12.00 ± 1.30) min 和(4.10 ± 0.79)、(3.90 ± 1.37)、(9.00 ± 1.38) min。与 wt 相比,*mpc1*Δ 菌株纺锤体在前、中、后期伸长时间分别极显著缩短 1.30(P < 0.01)、2.40(P < 0.01)、3.00 min(P < 0.01)。wt 和 *mpc1*Δ 菌株在前、中、后期纺锤体伸长速率分别为(0.27 ± 0.08)、(0.12 ± 0.06)、(0.70 ± 0.10) μm/min 和(0.32 ± 0.08)、(0.19 ± 0.08)、(0.95 ± 0.15) μm/min。与 wt 相比,*mpc1*Δ 菌株有丝分裂前期纺锤体伸长速率无显著差异,但中、后期纺锤体伸长速率分别极显著增加 0.07(P < 0.01)、0.24 μm/min(P < 0.01)。结果提示,*mpc1* 基因缺失导致纺锤体中期和后期伸长时间缩短、伸长速率加快。

统计 37 ℃ 下纺锤体动力学发现(图 3Bb、3D),wt 和 *mpc1*Δ 菌株纺锤体伸长总时间、总长度、总速率分别为(19.80 ± 2.14) min、(12.23 ± 1.42) μm、(0.66 ± 0.09) μm/min 和(19.20 ± 2.19) min、(12.17 ± 1.77) μm、(0.68 ± 0.10) μm/min。与 wt 相比,*mpc1*Δ 菌株有丝分裂纺锤体伸长时间、长度、速率无显著性差异。与 25 ℃ 相比,高温胁迫下 *mpc1*Δ 菌株纺锤体伸长时间、伸长速率恢复正常。

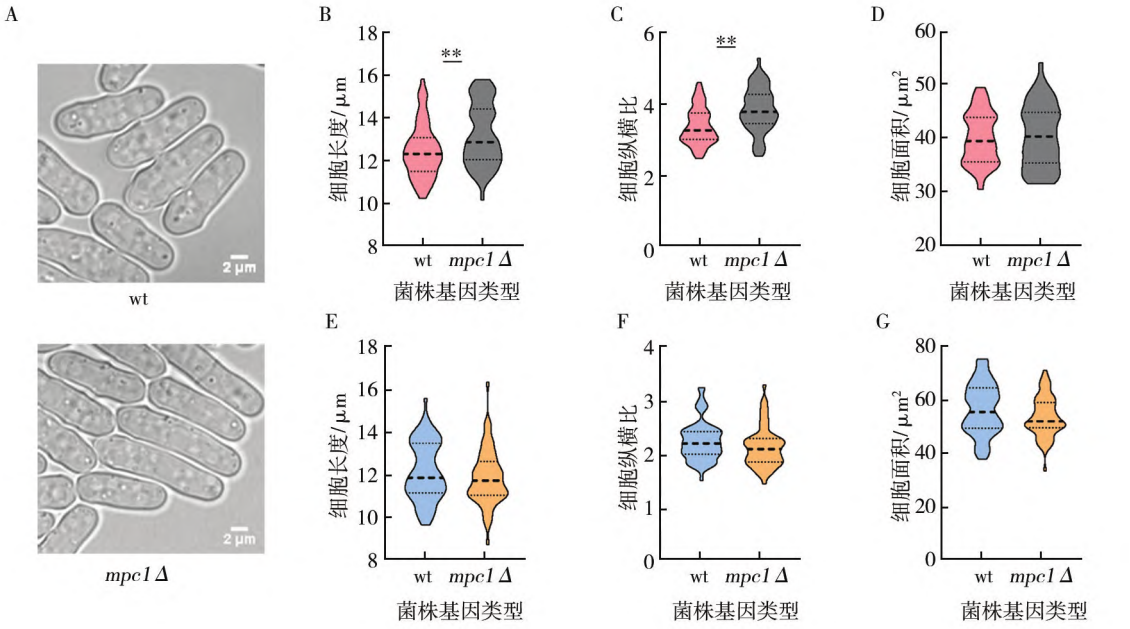
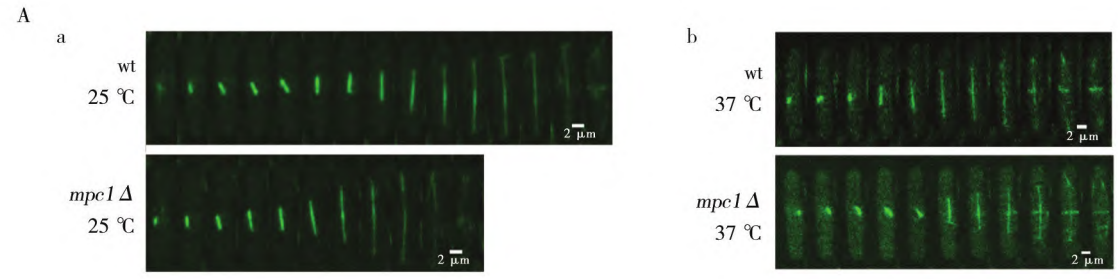


图 2 *mpc1* 缺失对粟酒裂殖酵母细胞形态的影响

Fig. 2 Effect of *mpc1* deletion on cell morphology of *Schizosaccharomyces pombe*

A:野生型菌株(wt)和 *mpc1*Δ 菌株有丝分裂间期细胞形态;B ~ D:25 ℃ 下,野生型细胞和 *mpc1*Δ 细胞的长度、纵横比、面积(n = 60);E ~ G:37 ℃ 下,野生型细胞和 *mpc1*Δ 细胞的长度、纵横比、面积(n = 60);* P < 0.05 表示 wt 与 *mpc1*Δ 菌株差异显著,* * P < 0.01 表示 wt 与 *mpc1*Δ 菌株差异极显著,下图同

A: Cell morphology of wild-type (wt) and *mpc1*Δ strains at interphase; B-D: Length, aspect ratio, and area of wild-type and *mpc1*Δ cells at 25 ℃ (n = 60); E-G: Length, aspect ratio, and area of wild-type and *mpc1*Δ cells at 37 ℃ (n = 60); * P < 0.05 indicates a significant difference between wild-type and *mpc1*Δ strains respectively, * * P < 0.01 indicates highly significant difference between wild-type and *mpc1*Δ strains respectively, The same applies to the figure below



中国知网 https://www.cnki.net

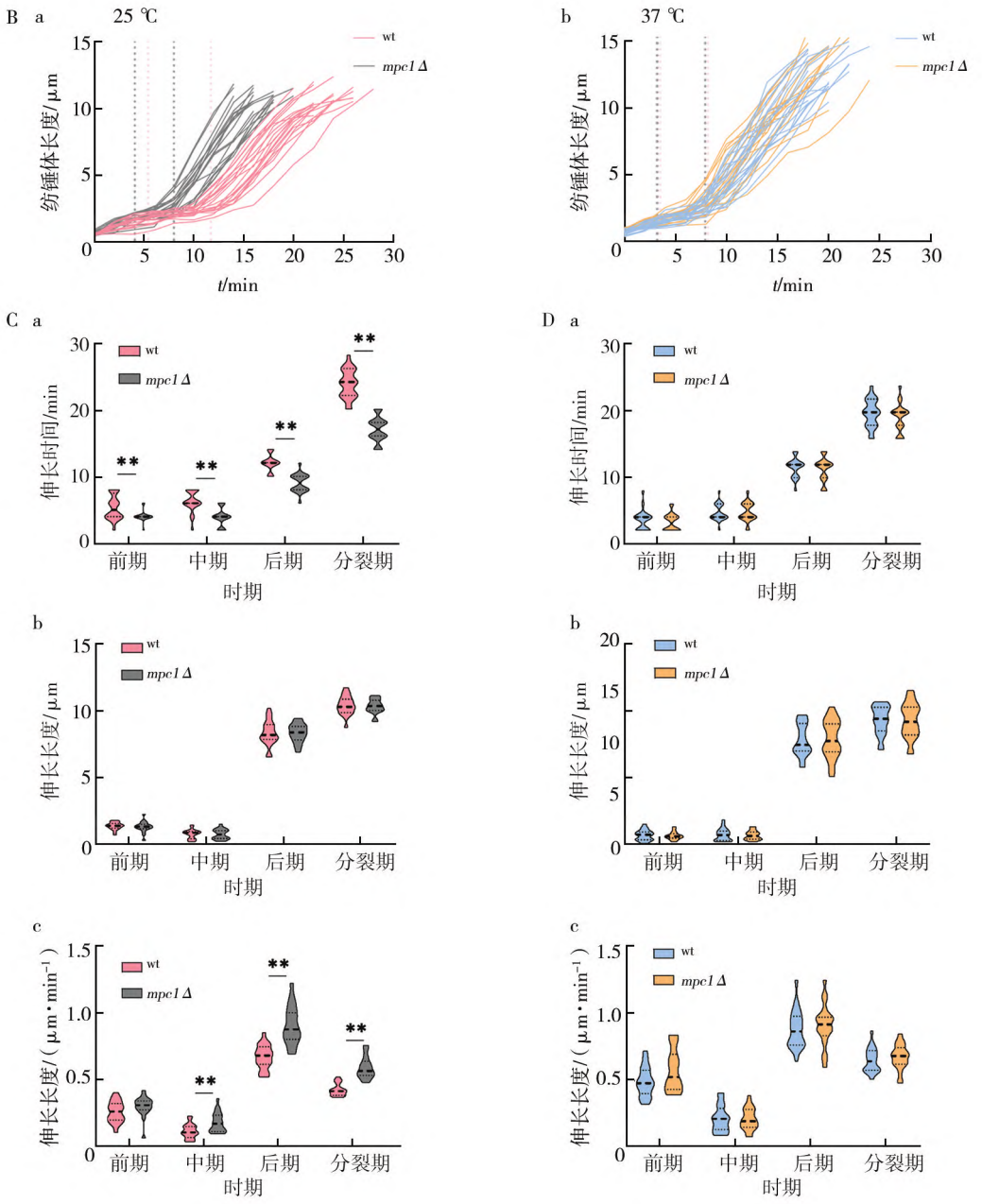


图 3　*mpc1* 缺失对粟酒裂殖酵母纺锤体的影响

Fig. 3　Effect of *mpc1* deletion on spindle in *Schizosaccharomyces pombe*

A:25 ℃(a)、37 ℃(b)下,wt 和 *mpc1Δ* 菌株在有丝分裂期纺锤体延时成像,横向代表每隔 2 min 拍摄一次;B:25 ℃(a)、37 ℃(b)下,wt 和 *mpc1Δ* 菌株纺锤体伸长曲线(n=20),虚线表示从前期到中期的过渡、从中期到后期的过渡;C~D:25、37 ℃下,wt 和 *mpc1Δ* 菌株有丝分裂不同时期纺锤体伸长时间(a)、纺锤体伸长长度(b)、纺锤体伸长速度(c),(n=20)

A: Time-lapse images of spindle during mitosis in wild-type (wt) and *mpc1Δ* strains at 25 ℃ (a), 37 ℃ (b); Horizontal images indicates that images are taken every 2 minutes; B: Spindle elongation curves in the wild-type and *mpc1Δ* strains at 25 ℃ (a), 37 ℃ (b) (n=20), dashed lines indicates the transitions from prophase to metaphase, and from metaphase to anaphase; C, D: Spindle elongation time (a), spindle elongation length (b), spindle elongation speed (c) in wild-type and *mpc1Δ* strains at different phases at 25 ℃ and 37 ℃, (n=20)

中国知网 https://www.cnki.net

2.3 *mpc1* 基因缺失对组蛋白动力学的影响

组蛋白定位于染色体上,有丝分裂过程中染色体随着纺锤体的伸长移向两个子细胞,保证了遗传物质的正确传递[37-38]。利用绿色荧光标记细胞的组蛋白分析 *mpc1* 基因缺失对粟酒裂殖酵母染色体动力学的影响见图 4。组蛋白形态结果显示(图 4A 从左到右),25 ℃下 *mpc1Δ* 菌株从染色体开始分离到细胞分开的总时间短于 wt,37 ℃下 *mpc1Δ* 菌株从染色体开始分离到细胞分开的总时间与 wt 相近。

25 ℃下有丝分裂组蛋白动力学统计分析结果显示(图 4B),wt 和 *mpc1Δ* 菌株组蛋白开始分裂到细胞形成隔膜(chromosome segregation to cell septa formation, CS-CSF)的时间、细胞形成隔膜到细胞分开(cell septa formation to cell septa separation, CSF-CSS)的时间、组蛋白开始分裂到细胞分开总持续时间分别为(18.40 ± 2.95)、(23.20 ± 3.69)、(41.60 ± 4.75) min 和(14.90 ± 2.38)、(23.30 ± 3.39)、(38.20 ± 3.49) min,与 wt 相比,敲除株细胞形成隔膜到细胞分开的时间无显著差异,但组蛋白开始分裂到细胞形成隔膜的时间、组蛋白开始分裂到细胞分开总持续时间

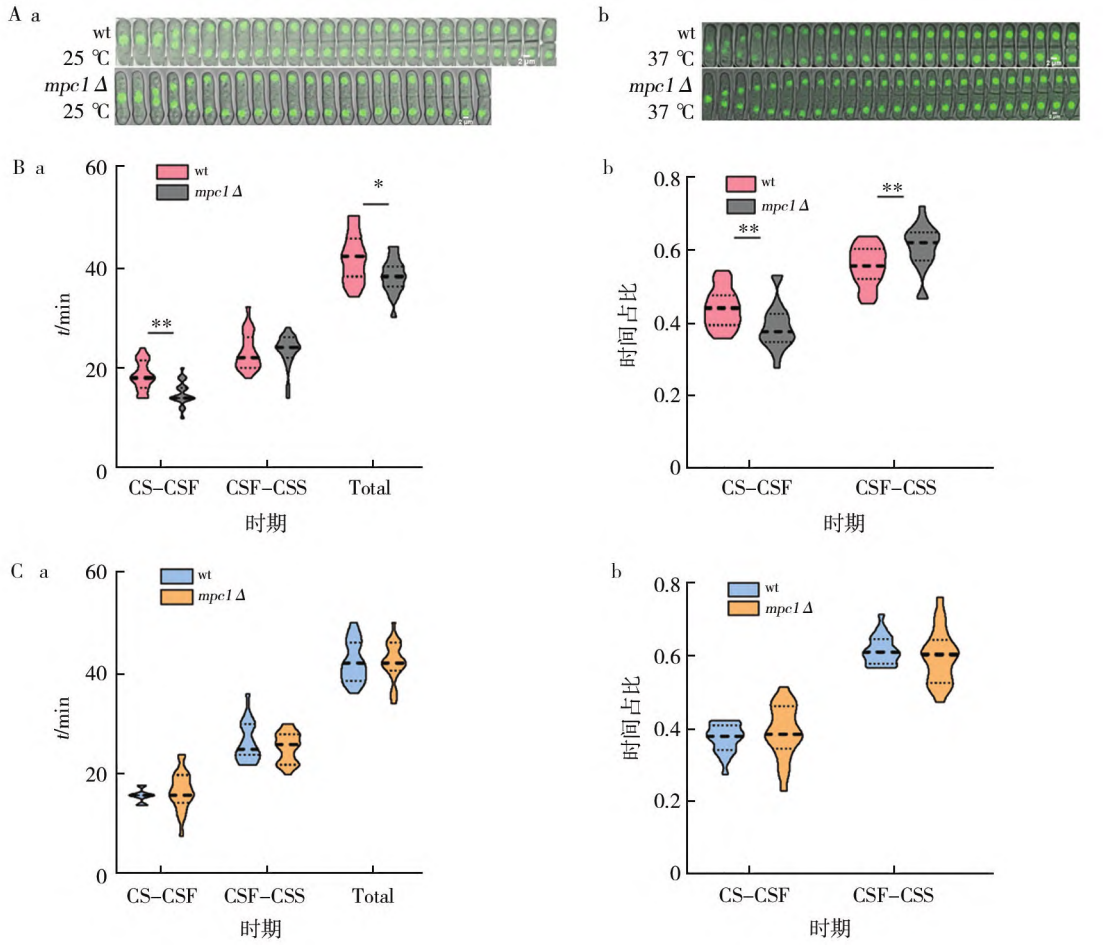


图 4 *mpc1* 基因缺失对粟酒裂殖酵母有丝分裂期组蛋白的影响

Fig. 4 Effect of *mpc1* gene deletion on histones in *Schizosaccharomyces pombe* during mitosis

A:25 ℃(a)、37 ℃(b)下,wt 和 *mpc1Δ* 菌株有丝分裂期组蛋白延时成像,横向代表每隔 2 min 拍摄一次;B、C:分别为 25、37 ℃下,wt 和 *mpc1Δ* 菌株不同时期的时间(a)和时间占比(b),(n = 20)

A: Time-lapse images of histones during mitosis in wild-type (wt) and *mpc1Δ* strains at 25 ℃ (a), 37 ℃ (b), Horizontal images indicates that images are taken every 2 minutes; B, C: At 25 ℃ and 37 ℃, time (a) and time ratio (b) at different periods in wild-type and *mpc1Δ* strains, (n = 20)

中国知网 https://www.cnki.net

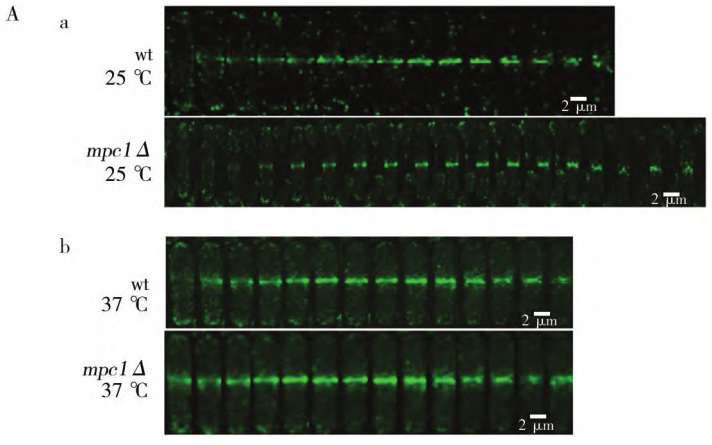
分别缩短了 3.50 （$P<0.01$）、3.40 min（$P<0.05$）。wt 和 *mpc1Δ* 菌株组蛋白开始分裂到细胞形成隔膜的时间在总时间中的占比分别为（44.27 ± 5.40）%、（39.15 ± 6.36）%，敲除株时间占比极显著性减小 5.11%（$P<0.01$）。以上结果提示，缺失 *mpc1* 会导致 25 ℃下染色体分离时间缩短。37 ℃下有丝分裂组蛋白动力学统计分析结果显示（图 4C），wt 和 *mpc1Δ* 菌株组蛋白开始分裂到细胞分开总持续时间分别为（42.20 ± 3.99）和（42.30 ± 3.91） min，无显著性差异。与 25 ℃相比，*mpc1Δ* 菌株染色体分裂恢复正常。

2.4 *mpc1* 基因缺失对肌动蛋白动力学的影响

肌动蛋白不仅参与细胞骨架的形成，还参与细胞分裂，在有丝分裂期肌动蛋白与肌球蛋白聚集形成收缩环，随后收缩将细胞分裂形成两个子细胞[39-41]。利用绿色荧光蛋白标记 *mpc1Δ* 菌株的肌动蛋白探究 *mpc1* 缺失对粟酒裂殖酵母肌动蛋白动力学的影响（图 5）。肌动蛋白形态结果显示（图 5A 从左到右），25 ℃下 *mpc1Δ* 菌株肌动蛋白开始聚集到完成收缩总时间长于 wt，37 ℃下 *mpc1Δ* 菌株肌动蛋白开始聚集到完成收缩总时间与 wt 相近。

25 ℃下有丝分裂肌动蛋白环聚集和收缩动力学统计分析结果显示（图 5Ba、5C），wt 和 *mpc1Δ* 菌株肌动蛋白在细胞中央开始聚集到肌动蛋白环完成收缩总时间、肌动蛋白环收缩速率、肌动蛋白环最大直径分别为（28.30 ± 1.49） min、（0.10 ± 0.07） μm/min、（3.69 ± 0.12） μm 和（32.10 ± 4.02） min、（0.09 ± 0.01） μm/min、（3.69 ± 0.17）μm。与 wt 相比，*mpc1Δ* 菌株肌动蛋白环最大直径无显著差异，但肌动蛋白环开始聚集到完成收缩总时间极显著延长 3.80 min（$P<0.01$）、肌动蛋白环收缩速率极显著减慢 0.01 μm/min（$P<0.01$）。以上结果提示，在 25 ℃下，*mpc1* 基因缺失导致肌动蛋白环开始聚集到完成收缩总时间延长。进一步分析 25 ℃下肌动蛋白环形成、收缩时间及其时间占比（图 5Ba、5C），wt 和 *mpc1Δ* 菌株肌动蛋白环形成、收缩时间分别为（12.40 ± 1.90）、（15.90 ± 1.52） min 和（15.20 ± 2.78）、（16.90 ± 2.38） min，时间占比分别（43.73 ± 5.59）%、（56.27 ± 5.59）% 和（47.25 ± 5.43）%、（52.75 ± 5.43）%。与 wt 相比，*mpc1Δ* 菌株肌动蛋白环聚集、收缩时间分别极显著延长 2.80 min（$P<0.01$）、1.00 min（$P<0.01$），但肌动蛋白环形成、收缩时间占比均无显著差异。以上结果提示，25 ℃下，缺失 *mpc1* 基因导致肌动蛋白环形成、收缩时间均延长，因而导致总时间延长。

37 ℃下有丝分裂肌动蛋白环聚集和收缩动力学统计分析结果显示（图 5Bb、5D），wt 和 *mpc1Δ* 菌株肌动蛋白在细胞中央开始聚集到肌动蛋白环完成收缩总时间、肌动蛋白环收缩速率、肌动蛋白环最大直径分别为（26.70 ± 2.77） min、（0.11 ± 0.01） μm/min、（3.90 ± 0.11） μm 和（27.30 ± 2.45） min、（0.10 ± 0.01） μm/min、（3.68 ± 0.27） μm。*mpc1Δ* 与 WT 菌株肌动蛋白环完成收缩总时间无显著差异。以上结果提示，与 25 ℃相比，37 ℃下 *mpc1Δ* 菌株肌动蛋白环开始聚集到收缩完成的时间恢复正常。



中国知网 https://www.cnki.net

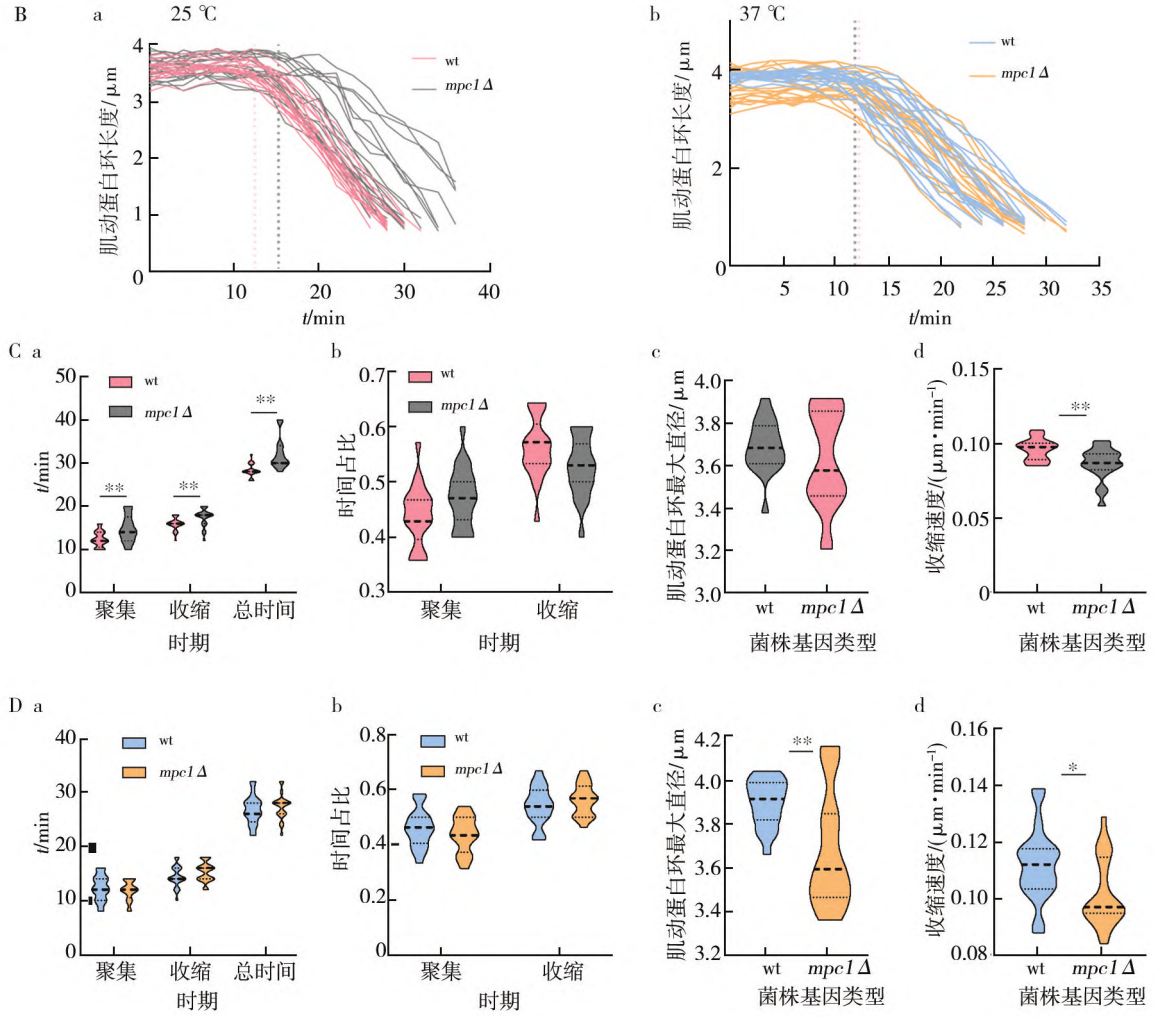


图 5 *mpc1* 基因缺失对粟酒裂殖酵母有丝分裂期肌动蛋白的影响

Fig. 5 Effect of *mpc1* gene deletion on actin in *Schizosaccharomyces pombe* during mitosis

A:25 ℃(a)、37 ℃(b)下, wt 和 *mpc1Δ* 菌株有丝分裂期肌动蛋白延时成像,横向代表每隔 2 min 拍摄一次;B:25 ℃(a)、37 ℃(b)下,wt 和 *mpc1Δ* 菌株有丝分裂期肌动蛋白环的动态曲线,(n=20);C、D:25 ℃、37 ℃下,wt 和 *mpc1Δ* 菌株有丝分裂期肌动蛋白聚集和收缩时间(a)、肌动蛋白聚集和收缩时间占比(b)、肌动蛋白最大直径(c)、肌动蛋白环收缩速度(d),(n=20)

A: Time-apse images of actin rings during mitosis in wild-type and *mpc1Δ* strains at 25 ℃ (a) and 37 ℃ (b); Horizontal images indicates that images are taken every 2 minutes. B: Actin ring elongation curves during mitosis in wild-type and *mpc1Δ* strains at 25 ℃ (a) and 37 ℃ (b), (n=20); C,D: At 25 ℃ and 37 ℃, actin aggregation and contraction time (a), percentage of actin aggregation and contraction time (b), maximum diameter of actin (c), and contraction speed of actin ring (d) during mitosis, (n=20)

2.5 *mpc1* 基因回补对肌动蛋白动力学的影响

针对表型比较显著的肌动蛋白标记 *mpc1Δ* 菌株,构建了 *mpc1* 基因回补菌株 C-*mpc1Δ*,探究 C-*mpc1Δ* 菌株与 wt 菌株的表型差异。纺锤体形态结果显示(图 6A 从左至右),C-*mpc1Δ* 菌株纺锤体伸长总时间与 wt 菌株相近。

25 ℃下有丝分裂肌动蛋白环聚集和收缩动力学统计分析结果显示(图 6B),wt 和 C-*mpc1Δ* 菌株肌动蛋白在细胞中央开始聚集到肌动蛋白环完成收缩总时间、肌动蛋白环收缩速率、肌动蛋白环最大直径分别为(27.60±0.89) min、(0.10±0.01) μm/min、(3.69±0.18) μm 和(28.00±1.41) min、(0.10±0.10) μm/min、(3.65±0.06) μm。与 wt 菌株相比,C-*mpc1Δ* 菌株肌动蛋白环收缩总时间、收缩速率及肌动蛋白环最大直径均无显著差异。25 ℃下 wt 和 C-*mpc1Δ* 菌株肌

中国知网 https://www.cnki.net

动蛋白环形成、收缩时间分别为(12.40 ± 2.61)、(15.20 ± 2.28) min和(12.80 ± 1.79)、(15.20 ± 1.10) min,时间占比分别(44.84 ± 0.09)%、(55.16 ± 0.09)%和(45.60 ± 0.05)%、(54.40 ± 0.05)%。与 wt 菌株相比,C-*mpc1Δ* 菌株肌动蛋白环聚集、收缩时间以及时间占比均无显著差异。以上结果提示,将 *mpc1* 基因回补到 *mpc1Δ* 菌株后,表型与 wt 菌株无显著差异。

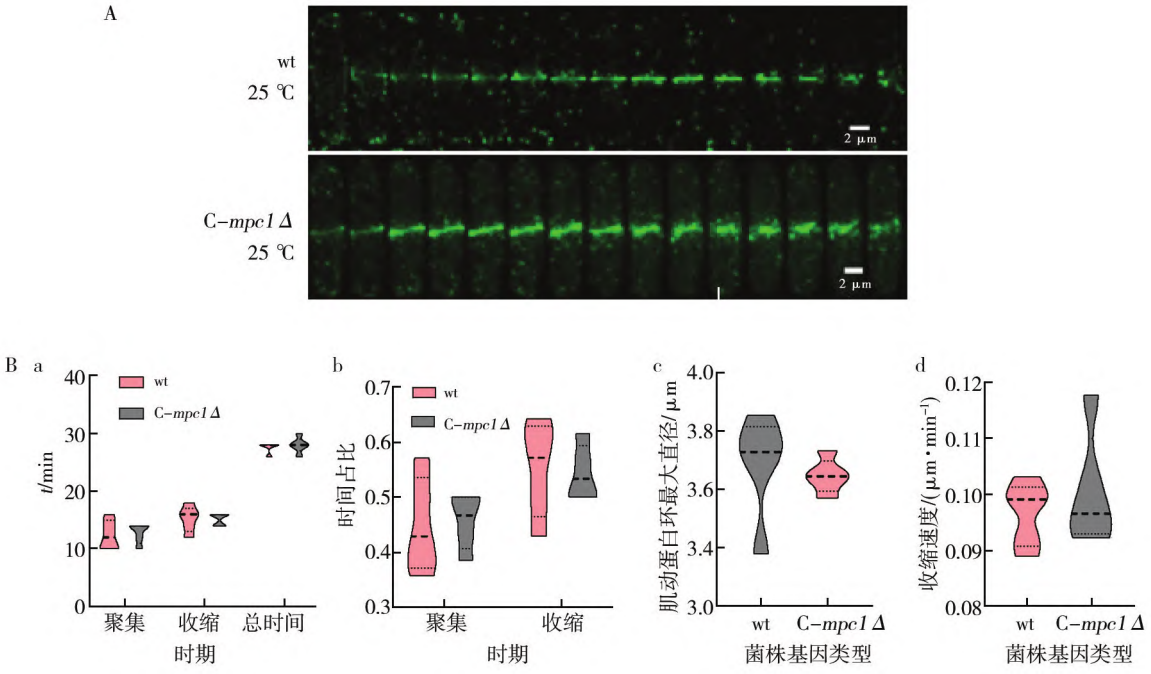


图 6 *mpc1* 基因回补对粟酒裂殖酵母有丝分裂期肌动蛋白的影响

Fig. 6 Effect of *mpc1* gene complemented on actin during mitosis in *Schizosaccharomyces pombe*

A:25 ℃下,wt 和 C-*mpc1Δ* 菌株有丝分裂期肌动蛋白延时成像,横向代表每隔 2 min 拍摄一次;B:25 ℃下,wt 和 C-*mpc1Δ* 菌株肌动蛋白环形成和收缩时间(a)、肌动蛋白环形成和收缩时间占比(b)、肌动蛋白最大直径(c)、肌动蛋白环收缩速度(d),(n = 5)

A: Time-lapse images of actin in wild-type and C-*mpc1Δ* strains during mitotic at 25 ℃; Horizontal images indicates that images are taken every 2 minutes; B: At 25 ℃, actin aggregation and contraction time (a), percentage of actin aggregation and contraction time (b), maximum diameter of actin (c), and contraction speed of actin ring (d), (n = 5)

3 讨 论

粟酒裂殖酵母作为经典的模式细胞,其研究结果为人类疾病的研究提供了重要的方向。Win 等[42]研究发现,在粟酒裂殖酵母中, RecQ DNA 解旋酶家族的 Rqh1(RecQ type DNA helicase)参与调控了染色体分离,该调控在人类细胞也存在,人类 Rqh1 异常会导致染色体分离异常,并导致 RecQ 解旋酶疾病,甚至增加癌症发病率。RecQ 解旋酶家族已被作为癌症治疗潜在靶点进行相关研究[43]。

线粒体丙酮酸载体 MPC1 和 MPC2 组成了 MPC。MPC1/MPC2 几乎在所有细胞中都表达,但不同物种中 MPC1、MPC2 蛋白功能有差异[15]。MPC1、MPC2 的亲缘关系对比结果显示,粟酒裂殖酵母 MPC1、MPC2 的亲缘关系比酿酒酵母更接近哺乳动物。对比六个物种的 MPC1 和 MPC2 蛋白发现,MPC1 蛋白包含 N-糖基化位点、蛋白激酶 C 磷酸化位点等 5 种功能位点(图 7A),MPC2 蛋白包含 N-肉豆蔻酰化位点、cAMP 和 cGMP 依赖性蛋白激酶磷酸化位点等 4 种功能位点(图 7B)。其中,酪氨酸激酶磷酸化位点和酪蛋白激酶 II 磷酸化位点是粟酒裂殖酵母 MPC1 特有的功能位点,而 cAMP 和 cGMP 依赖性蛋白激酶磷酸化位点是粟酒裂殖酵母 MPC2 特有的功能位点。

细胞形态受多种基因调控。Yoshida 等[44]研究发现,编码 WD 重复蛋白(WD repeat protein Cdt2)的基因 *cdt2* 缺失后,细胞长于野生型。本

中国知网 https://www.cnki.net

研究发现，*mpd1* 基因缺失也会导致细胞变得细长，提示 *mpd1* 参与调控细胞长度。

微管（MT）主要由 α 和 β 微管蛋白异二聚体组成，是真核细胞骨架的重要组成部分，参与控制细胞形状、运动和分裂[45-46]。在有丝分裂期，微管组装形成纺锤体，纺锤体是一种双极结构，对染色体准确分离至关重要[37]。纺锤体在有丝分裂前期和中期缓慢伸长，后期伸长速度加快，纺锤体伸长是染色体移动到细胞两极的重要作用力[45]。Asp1（inositol hexakisphosphate kinase/inositol pyrophosphate synthase asparaginase ASP1，肌醇六磷酸激酶/肌醇焦磷酸合酶）是一种双功能酶，由一个产生 IPP（isopentenyl pyrophosphate，异戊烯基焦磷酸）的激酶结构域和一个使用 IPP 作为底物的焦磷酸酶结构域组成，IPP 参与调节微管稳定性。Pascual-Ortiz 等[47]、Topolski 等[48]研究发现，缺乏 Asp1 导致 IPP 生成障碍，引发标准温度下有丝分裂期纺锤体伸长时间缩短、伸长速率加快。Dis1（TOG/XMAP215 microtubule plus end tracking polymerase Dis1）是一种微管聚合酶，定位在微管末端，Mal3（microtubule plus-end binding protein，EB1 family Mal3）是微管正末端结合蛋白，Mal3 进一步促进 Dis1 募集到微管末端。Dis1 与 Mal3 C 端区域内形成的保守疏水腔相互作用，Mal3-Dis1 异常通常导致细胞动力学异常。Matsuo 等[49]研究发现，*dis1* 基因缺失导致标准温度下有丝分裂纺锤体后期伸长速度加快，*mal3* 基因缺失导致标准温度下有丝分裂后期的持续时间增加[50]，分裂期总持续时间也增加[49]。本研究发现，25 ℃下 *mpc1* 基因缺失也会缩短纺锤体后期伸长时间，提示 *mpc1* 参与调控有丝分裂后期纺锤体伸长。



图 7　六个物种 MPC1、MPC2 蛋白的氨基酸序列及功能位点分析

Fig. 7　Amino acid sequence and functional site analysis of MPC1 and MPC2 proteins from six species

A：不同物种中 MPC1 功能位点对比；B：不同物种中 MPC2 功能位点对比

A: Comparison of MPC1 functional sites in different species; B: Comparison of MPC2 functional sites in different species

染色体的正确分离依赖于纺锤体功能的正确执行[51-53]。Grishchuk 等[54]研究发现，编码驱动蛋白家族负端定向微管马达（kinesin-14 family minus-end directed microtubule motor Pkl1）的 *pkl1* 基因缺失，导致纺锤体极微管突起异常，异常突起的微管随后将一个后期分离的染色体推到细胞分

中国知网 https://www.cnki.net

裂部位,导致胞质分裂时染色体切割,从而产生非整倍体细胞,最终形成无法存活的子细胞。*dam1* 基因编码 DASH(DASH complex subunit Dam1)复合体亚基 Dam1,DASH 是着丝粒上的一种蛋白质复合物,当着丝粒附着到纺锤体上时,该复合物与微管结合,DASH 在纺锤体附着、染色体分离和纺锤体稳定性中发挥作用。Griffiths 等[55]研究发现,*dam1* 基因缺失后,有丝分裂纺锤体组装但不伸长,纺锤体极体无法分离。纺锤体异常通常伴随着染色体分离异常。Sanchez-Perez 等[56]发现,*dam1* 基因缺失会导致染色体被异常切割,子细胞无法存活。本研究结果显示,25 ℃下 *mpc1* 基因缺失导致染色体分离时间极显著性缩短,同时,染色体开始分裂到细胞形成隔膜的时间缩短、时间占比减小,这与纺锤体中后期时间极显著性缩短相符合,提示 *mpc1* 通过调控纺锤体中后期的动力学参与调控染色体后期的分离。

细胞肌动蛋白有单体小球(G-肌动蛋白)和聚合物长丝状(F-肌动蛋白)两种形式,它们之间能相互转换,肌动蛋白参与了细胞运动、维持细胞形状和极性以及转录的调节[57-60]。在有丝分裂期间,肌动蛋白在细胞中央位置慢慢聚集,与肌球蛋白及相关蛋白一起形成肌动蛋白收缩环,随着有丝分裂的进行,肌动蛋白收缩环逐渐向内收缩,将细胞一分为二[58,61]。Blt1(ubiquitin domain-like protein Blt1)是一种泛素结构域样蛋白,该蛋白有助于丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 Sid2(serine/threonine protein kinase (NDR family) Sid2)及其调节蛋白 Sid2-Mob1 激酶复合物调节亚基 Mob1(Sid2-Mob1 kinase complex regulatory subunit Mob1)在分裂位点的定位。Kwon 等[62]研究发现,*blt1* 基因缺失后,收缩环组装是正常的,但会导致分裂位点 Sid2p/Mob1p 含量比减小,从而延迟了收缩环收缩和细胞分裂的完成。分裂开始时,抑制蛋白相关底物接头蛋白 Art1(arrestin-related substrate adaptor for RhoGEF)募集 Rho 家族鸟嘌呤核苷酸交换因子 Rgf3(RhoGEF for Rho1)定位到分裂位点,并由 Rgf3 调控胞质分裂调节因子 Rho GTP 酶,介导肌动蛋白环正常形成[63]。Davidson 等[63]、You 等[64]研究发现,*art1* 基因缺失导致肌动蛋白聚集时间延长。本研究结果显示,25 ℃下 *mpc1* 基因缺失后也导致肌动蛋白环形成时间延长,提示 *mpc1* 参与调控有丝分裂收缩环的形成时间,从而调控裂殖酵母胞质分裂过程。

综上所述,粟酒裂殖酵母中 *mpc1* 基因缺失虽然促进了纺锤体伸长和染色体分离,但减缓了肌动蛋白环形成和收缩,最终导致细胞生长缓慢。本研究结果为进一步探究 MPC1 蛋白功能提供了一定的科学依据,也为研究 *mpc1* 基因异常导致的疾病提供参考。

参考文献:

[1] Chan DC. Mitochondrial dynamics and its involvement in disease[J]. Annual Review of Pathology-Mechanisms of Disease, 2020, 15: 235-259.

[2] Chen W, Zhao H, Li Y. Mitochondrial dynamics in health and disease: Mechanisms and potential targets[J]. Signal Transduction and Targeted Therapy, 2023, 8(1): 1-25.

[3] 武永淑. eIF2α 激酶在线粒体未折叠蛋白反应中作用机制的研究[D]. 哈尔滨:东北农业大学, 2022.

[4] Fu C, Jain D, Costa J, et al. Mmb1p binds mitochondria to dynamic microtubules[J]. Current Biology, 2011, 21(17): 1431-1439.

[5] Mehta K, Chacko LA, Chug MK, et al. Association of mitochondria with microtubules inhibits mitochondrial fission by precluding assembly of the fission protein Dnm1[J]. Journal of Biological Chemistry, 2019, 294(10): 3385-3396.

[6] Chacko LA, Mikus F, Ariotti N, et al. Microtubule-mitochondrial attachment facilitates cell division symmetry and mitochondrial partitioning in fission yeast[J]. Journal of Cell Science, 2023, 136(1): jcs260705.

[7] Parker AL, Teo WS, Brayford S, et al. βIII-Tubulin structural domains regulate mitochondrial network architecture in an isotype-specific manner[J]. Cells, 2022, 11(5): 1-18.

[8] Yuan R, Ding X, Tan X, et al. Loss of *FZO1* gene results in changes of cell dynamics in fission yeast[J]. International Journal of Molecular Medicine, 2020, 46(6): 2194-2206.

[9] 张云. 粟酒裂殖酵母 Fzo1 蛋白功能研究[D]. 南京: 南京师范大学, 2021.

[10] 张丁, 余雯, 刘梦楠, 等. 线粒体分裂基因 *dnm1* 缺失对粟酒裂殖酵母细胞有丝分裂及能量代谢的影响[J]. 北京师范大学学报(自然科学版), 2024, 60(3): 331-343.

[11] 谭秀梅, 丁祥, 袁荣美, 等. 线粒体膜蛋白 *mgr2* 基因的缺失导致裂殖酵母细胞动力学变化的研究[J]. 基因组学与应用生物学, 2021, 40(增刊1): 2068-2075.

[12] 袁荣美, 丁祥, 谭秀梅, 等. 线粒体外膜转位酶基因 *tom70* 缺失对裂殖酵母细胞动力学的影响[J]. 南京师大学报(自然科学版), 2020, 43(3): 120-128.

[13] Liu NN, Han TX, Du LL, et al. A genome-wide screen for

中国知网 https://www.cnki.net

Schizosaccharomyces pombe deletion mutants that affect telomere length[J]. Cell Research, 2010, 20(8): 963-965.

[14] Politte H, Maram L, Elgendy B. Advances in the development of mitochondrial pyruvate carrier inhibitors for therapeutic applications[J]. Biomolecules, 2025, 15(2): 1-28.

[15] Tavoulari S, Sichrovsky M, Kunji ERS. Fifty years of the mitochondrial pyruvate carrier: New insights into its structure, function, and inhibition[J]. Acta Physiologica, 2023, 238(4): e14016.

[16] Herzig S, Raemy E, Montessuit S, et al. Identification and functional expression of the mitochondrial pyruvate carrier[J]. Science, 2012, 337(6090): 93-96.

[17] Tian GA, Xu CJ, Zhou KX, et al. MPC1 deficiency promotes CRC liver metastasis via facilitating nuclear translocation of β-Catenin[J]. Journal Immunology Research, 2020, 2020: 1-11.

[18] TXue C, Li G, Bao Z, et al. Mitochondrial pyruvate carrier 1: A novel prognostic biomarker that predicts favourable patient survival in cancer[J]. Cancer Cell International, 2021, 21(1): 1-10.

[19] Li M, Xu T, Yang R, et al. Exploring MPC1 as a potential ferroptosis-linked biomarker in the cervical cancer tumor microenvironment: A comprehensive analysis[J]. Biomed Central Cancer, 2024, 24(1): 1-17.

[20] Zou H, Yin Y, Xiong K, et al. Mitochondrial pyruvate carrier 1 as a novel prognostic biomarker in non-small cell lung cancer[J]. Technology In Cancer Research & Treatment, 2024, 23: 1-9.

[21] Farook MR, Croxford Z, Morgan S, et al. Loss of mitochondrial pyruvate carrier 1 supports proline-dependent proliferation and collagen biosynthesis in ovarian cancer[J]. Molecular Metabolism, 2024, 81: 1-16.

[22] Cui J, Quan M, Xie D, et al. A novel KDM5A/MPC-1 signaling pathway promotes pancreatic cancer progression via redirecting mitochondrial pyruvate metabolism[J]. Oncogene, 2020, 39(5): 1140-1151.

[23] Zhou X, Xiong ZJ, Xiao SM, et al. Overexpression of *mpc1* inhibits the proliferation, migration, invasion, and stem cell-like properties of gastric cancer cells[J]. Dove Medical Press, 2017, 10: 5151-5163.

[24] Baek ST, Han S, Nam M, et al. Genome-wide identification of haploinsufficiency in fission yeast[J]. Journal of Microbiology and Biotechnology, 2008, 18(6): 1059-1063.

[25] Rallis C, López-Maury L, Georgescu T, et al. Systematic screen for mutants resistant to TORC1 inhibition in fission yeast reveals genes involved in cellular ageing and growth[J]. Open Biology, 2014, 3(2): 161-171.

[26] Oonthonpan L, Rauckhorst AJ, Gray LR, et al. Two human patient mitochondrial pyruvate carrier mutations reveal distinct molecular mechanisms of dysfunction[J]. JCI Insight, 2019, 5(13): e126132.

[27] Yiew NKH, Finck BN. The mitochondrial pyruvate carrier at the crossroads of intermediary metabolism[J]. American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism, 2022, 323(1): E33-E52.

[28] Lee J, Jin Z, Lee D, et al. Characteristic analysis of homo- and heterodimeric complexes of human mitochondrial pyruvate carrier related to metabolic diseases[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2020, 21(9): 1-15.

[29] Vyas A, Freitas AV, Ralston ZA, et al. Fission yeast *Schizosaccharomyces pombe*: A unicellular "micromammal" model organism[J]. Current Protocols, 2021, 1(6): e151.

[30] 周靖垚, 张建国. 酵母过氧化物酶体的形成机制[J]. 微生物学杂志, 2021, 41(1): 84-90.

[31] Harris MA, Rutherford KM, Hayles J, et al. Fission stories: Using PomBase to understand *Schizosaccharomyces pombe* biology[J]. Genetics, 2022, 220(4), iyab222.

[32] Yang EJ, Pernice WM, Pon LA. A role for cell polarity in lifespan and mitochondrial quality control in the budding yeast *Saccharomyces cerevisiae*[J]. iScience, 2022, 25(3): 1-23.

[33] Hirano M, Ando R, Shimozono S, et al. A highly photostable and bright green fluorescent protein[J]. Nature Biotechnology, 2022, 40(7): 1132-1142.

[34] 袁荣美, 丁祥, 谭秀梅, 等. *sgf73* 基因敲除对粟酒裂殖酵母细胞有丝分裂的影响[J]. 微生物学杂志, 2022, 42(6): 10-24.

[35] 肖蓉, 胡展, 罗容珺, 等. 酶标仪分光光度法在微生物耐性研究上的应用[J]. 微生物学杂志, 2022, 42(3): 81-88.

[36] Nunes V, Ferreira JG. From the cytoskeleton to the nucleus: An integrated view on early spindle assembly[J]. Seminars in Cell and Developmental Biology, 2021, 117: 42-51.

[37] Man T, Witt H, Peterman EJG, et al. The mechanics of mitotic chromosomes[J]. Quarterly Reviews of Biophysics, 2021, 54: e10.

[38] Lera-Ramirez M, Nédélec FJ, Tran PT. Microtubule rescue at midzone edges promotes overlap stability and prevents spindle collapse during anaphase B[J]. Elife, 2022, 11: e72630.

[39] Rezig IM, Yaduma WG, McInerny CJ. Processes controlling the contractile ring during cytokinesis in fission yeast, including the role of ESCRT proteins[J]. Journal of Fungi, 2024, 10(2): 1-12.

[40] Pepper I, Galkin VE. Actomyosin complex[J]. Sub-cellular Biochemistry, 2022, 99: 421-470.

[41] Bellingham-Johnstun K, Tyree ZL, Martinez-Baird J, et al. Actin-microtubule crosstalk imparts stiffness to the contractile ring in fission yeast[J]. Cells, 2023, 12(6): 1-21.

[42] Win TZ, Mankouri HW, Hickson ID, et al. A role for the fission yeast Rqh1 helicase in chromosome segregation[J]. Journal of Cell Science, 2005, 118(Pt 24): 5777-5784.

[43] 高海琳, 曾家颖, 袁昊, 等. 以 Rec Q 家族解旋酶为靶点的

中国知网 https://www.cnki.net

抗癌活性分子研究进展[J]. 中国药物化学杂志, 2023, 33(10): 770-782.

[44] Yoshida SH, Al-Amodi H, Nakamura T, et al. The *Schizosaccharomyces pombe cdt2*(+) gene, a target of G1-S phase-specific transcription factor complex DSC1, is required for mitotic and premeiotic DNA replication[J]. Genetics, 2003, 164(3): 881-893.

[45] Sridhara A, Shimamoto Y. Microtubule choreography: Spindle self-organization during cell division[J]. Biophysical Reviews, 2024, 16(5): 613-624.

[46] Adler A, Bangera M, Beugelink JW, et al. A structural and dynamic visualization of the interaction between MAP7 and microtubules[J]. Nature Communications, 2024, 15(1):1-16.

[47] Pascual-Ortiz M, Saiardi A, Walla E, et al. Asp1 bifunctional activity modulates spindle function via controlling cellular inositol pyrophosphate levels in *Schizosaccharomyces pombe*[J]. Molecular and Cellular Biology, 2018, 38(9): e00047-18.

[48] Topolski B, Jakopec V, Künzel NA, et al. Inositol pyrophosphate kinase Asp1 modulates chromosome segregation fidelity and spindle function in *Schizosaccharomyces pombe*[J]. Molecular and Cellular Biology, 2016, 36(24): 3128-3140.

[49] Matsuo Y, Maurer SP, Yukawa M, et al. An unconventional interaction between Dis1/TOG and Mal3/EB1 in fission yeast promotes the fidelity of chromosome segregation[J]. Journal of Cell Science, 2016, 129(24): 4592-4606.

[50] Barisic M, Silva e Sousa R, Tripathy SK, et al. Mitosis. Microtubule detyrosination guides chromosomes during mitosis[J]. Science, 2015, 348(6236): 799-803.

[51] Suresh P, Long AF, Dumont S. Microneedle manipulation of the mammalian spindle reveals specialized, short-lived reinforcement near chromosomes[J]. Elife, 2020, 9: e53807.

[52] Gomes AM, Orr B, Novais-Cruz M, et al. Micronuclei from misaligned chromosomes that satisfy the spindle assembly checkpoint in cancer cells[J]. Current Biology, 2022, 32(19): 4240-4254.

[53] Leem J, Kim JS, Oh JS. Oocytes can repair DNA damage during meiosis via a microtubule-dependent recruitment of CIP2A-MDC1-TOPBP1 complex from spindle pole to chromosomes[J]. Nucleic Acids Research, 2023, 51(10): 4899-4913.

[54] Grishchuk EL, Spiridonov IS, McIntosh JR. et al. Mitotic chromosome biorientation in fission yeast is enhanced by dynein and a minus-end directed, kinesin-like protein[J]. Moiecular Biology of the Cell, 2007, 18(6): 2216-2225.

[55] Griffiths K, Masuda H, Dhut S, et al. Fission yeast dam1-A8 mutant is resistant to and rescued by an anti-microtubule agent[J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2008, 368(3): 670-676.

[56] Sanchez-Perez I, Renwick SJ, Crawley K, et al. The DASH complex and Klp5/Klp6 kinesin coordinate bipolar chromosome attachment in fission yeast[J]. The European Molecular Biology Organisation Journal, 2005, 24(16): 2931-2943.

[57] Kamnev A, Palani S, Zambon P, et al. Time-varying mobility and turnover of actomyosin ring components during cytokinesis in *Schizosaccharomyces pombe*[J]. Molecular Biology of the Cell, 2021, 32(3): 237-246.

[58] Arima T, Okita K, Yumura S. Dynamics of actomyosin filaments in the contractile ring revealed by ultrastructural analysis[J]. Genes to cells: Devoted to Molecular & Cellular Mechanisms, 2023, 28(12): 845-856.

[59] Kyherö inen S, Vartiainen MK. Nuclear actin dynamics in gene expression and genome organization[J]. Seminars in Cell and Developmental Biology, 2020,102: 105-112.

[60] 刘瑞姣, Abdulrahman A. A. Amer, 高兴华,等. 肌动蛋白结构与生物学功能的研究进展[J]. 中国细胞生物学学报, 2020, 42(10): 1870-1875.

[61] Bellingham-Johnstun K, Commer B, Levesque B, et al. Imp2p forms actin-dependent clusters and imparts stiffness to the contractile ring[J]. Molecular Biology of the Cell, 2022, 33(14): ar145.

[62] Kwon L, Magee EM, Crayton A, et al. Fission yeast type 2 node proteins Blt1p and Gef2p cooperate to ensure timely completion of cytokinesis[J]. BioMed Central Molecular and Cell Biology, 2019, 20(1): 1-12.

[63] Davidson R, Laporte D, Wu JQ. Regulation of Rho-GEF Rgf3 by the arrestin Art1 in fission yeast cytokinesis[J]. Molecular Biology of the Cell, 2015, 26(3): 453-466.

[64] You JH, Lee J, Roh JL. Mitochondrial pyruvate carrier 1 regulates ferroptosis in drug-tolerant persister head and neck cancer cells via epithelial-mesenchymal transition[J]. Cancer Letters, 2021, 507: 40-54.

中国知网 https://www.cnki.net