

文章编号: 1000-7423(2011)-05-0363-05

【论著】

GST 沉降技术验证弓形虫醛缩酶与肌动蛋白的相互作用

郑斌^{1,2}, 尹志奎³, 何蔼², 李卓雅², 詹希美^{2*}

【摘要】 目的 通过 GST 沉降技术 (GST pull-down) 验证刚地弓形虫醛缩酶 (aldolase) 与肌动蛋白 (actin) 的相互作用。方法 PCR 扩增弓形虫 cDNA 中 aldolase 和 actin 基因, 分别亚克隆至原核表达质粒 pGEX-4T-1 和 pET30a, 转化至大肠埃希菌 BL21(DE3), 1 mmol/L 异丙基-β-D-硫代半乳糖苷 (IPTG) 诱导表达, 亲和层析法纯化表达产物。采用腹部皮内多点注射免疫 SD 大鼠 15 只, 首次免疫 Actin-His₆ 蛋白量为 200 μg/只, 第 2 次起免疫蛋白量为 100 μg/只, 共免疫 4 次, 每次间隔 7 d, 末次免疫后 5 d 收集心脏血, 制备 Actin-His₆ 抗血清。以纯化的 GST-Aldolase 蛋白作为探针蛋白与 Actin-His₆ 蛋白液进行 GST 沉降实验, 实验产物进行十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳 (SDS-PAGE) 和蛋白质印迹 (Western blotting) 分析。结果 获得了弓形虫 aldolase 和 actin 基因序列, 构建了相应的原核表达载体。表达并纯化了 GST-Aldolase 和 Actin-His₆ 蛋白。Actin-His₆ 蛋白免疫 SD 大鼠后获得其抗血清, 经抗体亲和纯化柱纯化, 获得 Actin-His₆ 多克隆抗体。SDS-PAGE 和 Western blotting 结果显示, GST 沉降实验产物中的蛋白条带可被 Aldolase-His₆ 多克隆抗体和 Actin-His₆ 多克隆抗体识别。结论 弓形虫醛缩酶与肌动蛋白存在相互作用。

【关键词】 刚地弓形虫; 醛缩酶; 肌动蛋白; GST 沉降技术; 蛋白相互作用

中图分类号: R382.5

文献标识码: A

Protein Interaction between Aldolase and Actin of *Toxoplasma gondii* by GST Pull-down

ZHENG Bin^{1,2}, YIN Zhi-kui³, HE Ai², LI Zhuo-ya², ZHAN Xi-mei^{2*}

(1 Department of Parasitology, Xinxiang Medical University, Xinxiang 453000, China; 2 Department of Parasitology, Zhongshan School of Medicine, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510089, China; 3 College of Pharmacy, Xinxiang Medical University, Xinxiang 453000, China)

【Abstract】 Objective To identify the protein-protein interaction between aldolase and actin of *Toxoplasma gondii* by GST pull-down. Methods The aldolase and actin genes were obtained from cDNA library by PCR amplification, and subcloned respectively into pGEX-4T-1 and pET30a. The fusion protein GST-Aldolase and Actin-His₆ were expressed in *E. coli* upon induction by 1 mmol/L IPTG and then purified with affinity chromatography. Fifteen rats were immunized intradermally with 200 μg Actin-His₆ protein per rat at first time to produce the polyclonal antibodies. Then 100 μg Actin-His₆ protein per rat on the 2nd-4th immunizations. Rats were immunized for 4 times with 7 days interval. The serum of rats was collected from heart at the fifth day after the final immunization. Glutathione sepharose beads were incubated with GST-Aldolase protein, then incubated with Actin-His₆, and bound proteins were eluted using sample buffer. Eluants were resolved by SDS-PAGE and Western blotting. Results The aldolase and actin genes were obtained, and the recombinant plasmid aldolase/pGEX-4T-1, actin/pET30a were successfully constructed. Protein GST-Aldolase and Actin-His₆ were expressed and purified in vitro. Serum samples were prepared from rats immunized with protein Actin-His₆, and polyclonal antibody was purified with affinity chromatography. SDS-PAGE and Western blotting analysis of products from GST pull-down experiment showed that the protein bands on NC membrane were specifically recognized by anti-Aldolase-His₆ and anti-Actin-His₆ antibody. Conclusion Aldolase interacts with Actin of *Toxoplasma gondii*.

【Key words】 *Toxoplasma gondii*; Aldolase; Actin; GST pull-down; Protein interaction

基金项目: 新乡医学院博士科研启动基金 (2010)

作者单位: 1 新乡医学院寄生虫学教研室, 新乡 453000; 2 中山大学中山医学院寄生虫学教研室, 广州 510080;

3 新乡医学院药学院, 新乡 453000

* 通讯作者, E-mail: zhanximei@yahoo.com.cn

Supported by Doctor Start-up Research Fund of Xinxiang Medical University (2010)

* Corresponding author, E-mail: zhanximei@yahoo.com.cn

刚地弓形虫(*Toxoplasma gondii*)是一种专性细胞内寄生原虫,可感染几乎所有的有核细胞,由其引发的弓形虫病在全世界范围内广泛流行,给人类健康和畜牧业发展造成了不可估量的损失^[1]。微线体蛋白(microneme protein, MIC)由该虫体顶端的胞器微线体分泌,在虫体入侵过程中发挥识别、黏附宿主细胞的作用^[2,3]。对 MIC6 相互作用蛋白的筛选研究(研究结果未发表)发现醛缩酶和肌动蛋白共同出现在相互作用蛋白产物中,提示两者存在一定关系。Jewett 等^[4]的研究表明,弓形虫的醛缩酶可与肌动蛋白相互作用,本研究将利用 GST 沉降技术(GST pull-down)验证醛缩酶和肌动蛋白的相互作用,为揭示 MIC6 的功能和弓形虫的入侵机制奠定基础。

材料与方 法

1 材 料

1.1 弓形虫株、细菌菌株、细胞和实验动物 弓形虫 RH 株、大肠埃希菌 JM109、BL21(DE3)和原核表达载体 pGEX-4T-1 由中山医学院寄生虫学教研室传代保种, pET30a 质粒购自德国 Novagen 公司。SD 大鼠 15 只, SPF 级, 雄性, 体重约为 300 g, 由中山大学实验动物中心提供。

1.2 主要试剂 DNA 连接试剂盒购自加拿大 Fermentas 公司, PCR 产物纯化试剂盒购自德国 Qiagen 公司, 限制性内切酶 BamH I、EcoR I 和 Xho I 购自美国 NEB 公司, GST 融合蛋白亲和纯化柱(GSTrap FF)、抗体亲和纯化柱(HiTrap Protein G HP)和 GST pull-down 琼脂糖珠(Glutathione sepharose™ 4B)购自美国 Amersham Biosciences 公司, His 标签蛋白纯化树脂(Ni-IDA His-Bind® Resin)购自德国 Novagen 公司, 福氏完全佐剂和不完全佐剂购自美国 Sigma 公司, 硝酸纤维素膜(NC)购自美国 PALL 公司, 免疫印迹增强化学发光法(enhanced chemiluminescent method of Western blotting, ECM)试剂盒(大鼠 IgG)购自美国 Promega 公司, 辣根过氧化物酶(HRP)标记的兔抗大鼠 IgG、显影液和定影液购自武汉博士德公司, X 感光胶片购自美国 Kodak 公司, Aldolase-His₆ 多克隆抗体为本室自制保存。

2 方 法

2.1 GST-Aldolase 蛋白的制备

2.1.1 Aldolase/pGEX-4T-1 重组质粒的构建和鉴定 根据弓形虫 RH 株 aldolase mRNA 序列 (AY150663) 设计并合成一对特异性引物: ALDP1 (5'-TAGAATTCATGTCTGGGATACGGTCTTC-3') 和 ALDP2 (5'-TTCTCGAGTTAGTACACGTAGCGTTTC-3') (下划线部分为 EcoR I 和 Xho I 酶切位点)。以弓形虫 cDNA 第一链为模板, PCR 扩增目的基因。限制性内切酶双酶切 pGEX-4T-1 DNA 与 aldolase DNA, 纯化酶切产物。用连接试剂盒进行连接, 连接产物转化入 CaCl₂ 法制备的 JM109 感受态细菌中。将经过酶切和 PCR 鉴定的阳性克隆菌, 送宝生物工程(大连)有限公司测序。利用在线软件 clustal W (<http://www.ebi.ac.uk/clustalw>) 对 aldolase 基因测序结果与报道序列进行比较分析。

2.1.2 GST-Aldolase 蛋白的表达和纯化 将重组质粒 aldolase/pGEX-4T-1 转化入表达用宿主菌 BL21(DE3)中, 1 mmol/L 异丙基-β-D-硫代半乳糖苷(IPTG) 37 °C 诱导表达目的蛋白, 在诱导 1、2、3、4、5、6 和 7 h 后分别取样, 十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)。分析融合蛋白的可溶性, 应用 GSTrap FF 纯化融合蛋白, 按操作手册进行。

2.2 Actin-His₆ 蛋白及其多克隆抗体的制备

2.2.1 Actin/pET30a 重组质粒的构建和鉴定 根据 actin 的序列^[5]设计一对特异性引物 ActP1 (5'-GAGGATC-CATGGCGGATGAAGAAGTG-3') (BamH I 酶切位点) 和 ActP2 (5'-GTCTCGAGTTAGAAGCACTTGCGGTG-3') (Xho I 酶切位点), 各 26 个碱基。以弓形虫 cDNA 第一链为模板, PCR 扩增 actin 基因。目的基因经双酶切后克隆至 pET30a 载体, 构建 actin/pET30a 重组质粒。重组质粒阳性克隆菌的鉴定参见方法 2.1.1。

2.2.2 Actin-His₆ 蛋白的表达和纯化 重组质粒 actin/pET30a 转化入表达用宿主菌 BL21(DE3)中, 1 mmol/L IPTG 26 °C 诱导表达目的蛋白。诱导 1、2、3、4、5、6 和 7 h 后分别取样进行 SDS-PAGE。分析 Actin-His₆ 蛋白的可溶性, 用 Ni-IDA His-Band 树脂亲和纯化蛋白, 按操作手册进行。

2.2.3 Actin-His₆ 蛋白抗血清的制备及其多克隆抗体的纯化 15 只 SD 大鼠免疫前剪尾采血。采用腹部皮内多点注射的免疫方法, 首次免疫 Actin-His₆ 蛋白量为 200 μg/只, 与等量福氏完全佐剂混合, 第 2 次起免疫蛋白量为 100 μg/只, 与等量福氏不完全佐剂混合, 每次间隔 7 d, 共免疫 4 次。在末次免疫后 5 d

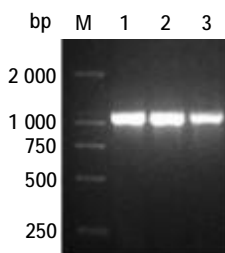
收集心脏血，制备 Actin-His₆ 抗血清。Actin-His₆ 抗血清经 BL21 裂解液吸附，过 0.45 μm 微孔滤器，用 HiTrap Protein G HP 纯化抗体，按操作手册进行，获得 Actin-His₆ 多克隆抗体。

2.3 GST pull-down 实验产物的 SDS-PAGE 和 Western blotting 分析 分别取 100 μl Glutathione sepharose 4B 于 2 支 0.5 ml Ep 管中，4 ℃，1180×g 离心 4 min，弃上清，PBS 重悬。PBS 洗 3 次，分别加入 50 μg GST-Aldolase 蛋白（探针蛋白）和 GST 蛋白（对照蛋白），4 ℃ 缓慢旋转结合 1 h。4 ℃，1180×g 离心 4 min，弃上清，PBS 重悬。用 PBS 洗涤 3 次，分别加入 300 μl Actin-His₆ 蛋白液，4 ℃ 缓慢旋转结合 12 h。4 ℃，1180×g 离心 4 min，弃上清，PBS 洗涤 3 次。4×SDS 凝胶加样缓冲液重悬 sepharose，100 ℃ 加热 5 min，进行 SDS-PAGE 和 Western blotting 分析。Western blotting 检测时，将目的蛋白转移至 NC 膜，分别以 SD 大鼠源 Aldolase-His₆ 多克隆抗体和 Actin-His₆ 多克隆抗体为一抗，兔抗大鼠 HRP-IgG 为二抗温育 NC 膜，TB-ST 漂洗，免疫印迹增强化学发光法检测分析。

结 果

1 GST-Aldolase 蛋白的克隆表达与纯化

1.1 弓形虫 aldolase 基因的体外扩增 以弓形虫 cDNA 第一链为模板 PCR 扩增 aldolase 基因，1.0% 琼脂糖凝胶电泳观察，在 1 000 bp 附近有 1 条带，与目的基因 (aldolase 基因的长度为 1 092 bp) 大小相符 (图 1)。

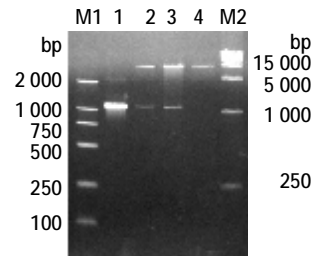


M: DNA 标志物；1-3: 醛缩酶基因 PCR 产物。
M: DNA marker; 1-3: PCR products of aldolase gene.

图 1 Aldolase PCR 扩增产物
Fig. 1 PCR products of aldolase gene

1.2 重组质粒 aldolase/pGEX-4T-1 的双酶切和 PCR 鉴定 EcoR I 和 Xho I 双酶切初筛阳性重组质粒，1.0% 琼脂糖凝胶电泳观察酶切产物，在 1 000 bp 和 5 000 bp 附近可见条带 (图 2)。以初筛阳性重组质粒为模板 PCR 扩增 aldolase 基因，1.0% 琼脂糖凝胶电泳观察，在 1 000 bp 附近可见条带 (图 3)。

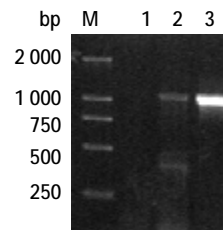
1.3 GST-Aldolase 融合蛋白的表达和纯化 SDS-



M1、M2: DNA 标志物；1: 醛缩酶基因双酶切产物；2-3: Aldolase/pGEX-4T-1 重组质粒 DNA 双酶切产物；4: pGEX-4T-1 质粒 DNA 双酶切产物。

M1, M2: DNA marker; 1: The restriction product of aldolase DNA; 2-3: The restriction product of recombinant plasmid aldolase/pGEX-4T-1 DNA; 4: The restriction product of pGEX-4T-1 DNA.

图 2 重组质粒 aldolase/pGEX-4T-1 的双酶切鉴定
Fig. 2 Identification of recombinant plasmid aldolase/pGEX-4T-1 by restriction analysis



M1: DNA 标志物；1-2: 以 aldolase/pGEX-4T-1 重组质粒 DNA 为模板的 PCR 扩增产物；3: 醛缩酶基因。

M1: DNA marker; 1-2: PCR product of recombinant plasmid aldolase/pGEX-4T-1; 3: PCR product of aldolase gene.

图 3 重组质粒 aldolase/pGEX-4T-1 的 PCR 鉴定
Fig. 3 Identification of recombinant plasmid aldolase/pGEX-4T-1 by PCR analysis

PAGE 结果表明，在 M_r 45 000~66 200 有一明显蛋白条带 (GST-Aldolase 融合蛋白 M_r 为 65 000)，目的蛋白在 4~5 h 时表达量达到峰值 (图 4)。

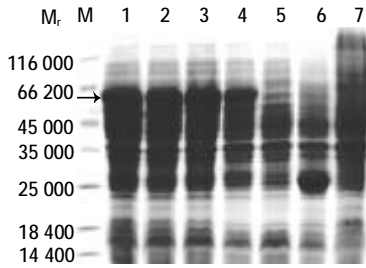
蛋白可溶性分析表明 GST-Aldolase 蛋白为可溶性表达，经 GSTrap FF 纯化、透析和浓缩后，蛋白浓度为 6.45 mg/ml。

2 Actin-His₆ 蛋白及其多克隆抗体的制备

2.1 弓形虫 actin 基因的体外扩增 以弓形虫 cDNA 第一链为模板，PCR 扩增 actin 基因。扩增产物经 1.0% 琼脂糖凝胶电泳，在 1 000 bp 附近有 1 条带，与目的基因 (actin cDNA 长度为 1 131 bp) 大小相符 (图 5)。

2.2 Actin/pET30a 重组质粒的双酶切鉴定 BamH I 和 Xho I 双酶切初筛阳性重组质粒 actin/pET30a，1.0% 琼脂糖凝胶电泳观察酶切产物，在 1 000 bp 和 5 000 bp 附近可见条带 (图 6)。测序结果与报道序列经 Clustal W 对比，碱基序列正确。

2.3 Actin-His₆ 蛋白的表达及纯化 SDS-PAGE 分析结果表明，Actin-His₆ 蛋白在 3~4 h 时表达量即达到峰值 (Actin 蛋白 M_r 为 41 900，再加上 6 个组氨酸)

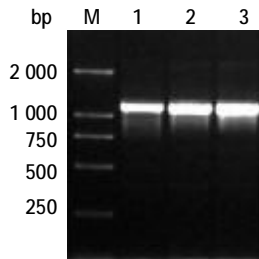


M: 蛋白质标志物; 1~4: IPTG 分别诱导 7、5、3 和 1 h 重组质粒 aldolase/pGEX-4T-1/BL21 表达产物; 5: 重组质粒 aldolase/pGEX-4T-1/BL21 诱导前; 6: IPTG 诱导空质粒 pGEX-4T-1/BL21 7 h 的表达产物; 7: IPTG 诱导 BL21 空菌 7 h 的表达产物。

M: Protein marker; 1-4: Aldolase/pGEX-4T-1/BL21 induced by IPTG for 7, 5, 3, and 1 h, respectively; 5: Aldolase/pGEX-4T-1/BL21 uninduced; 6: pGEX-4T-1/BL21 induced by IPTG for 7 h; 7: BL21 induced by IPTG for 7 h.

图 4 GST-Aldolase 蛋白表达条件的优化

Fig. 4 The optimum condition for the expression of GST-Aldolase fusion protein

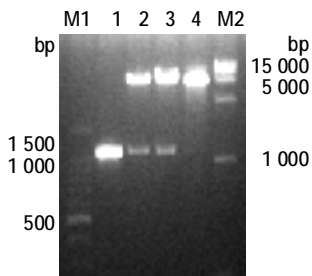


M: DNA 标志物; 1~3: 肌动蛋白基因 PCR 扩增产物。

M: DNA marker; 1-3: PCR products of actin gene.

图 5 Actin 基因 PCR 扩增产物

Fig. 5 PCR products of actin gene



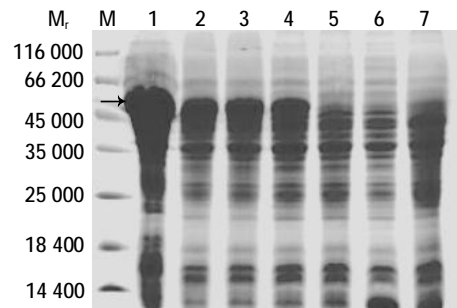
M1、M2: DNA 标志物; 1: 肌动蛋白 DNA 双酶切产物; 2~3: Actin/pET30a 重组质粒 DNA 双酶切产物; 4: pET30a 质粒 DNA 双酶切产物。M1, M2: DNA marker; 1: The restriction product of actin DNA; 2-3: The restriction product of recombinant plasmid actin/pET30a DNA; 4: The restriction product of pET30a DNA.

图 6 Actin/pET30a 重组质粒双酶切鉴定

Fig. 6 Identification of recombinant plasmid actin/pET30a by restriction analysis

(图7)。蛋白大量诱导 4 h 时, 可溶性分析显示 Actin-His₆ 蛋白主要以包涵体的形式存在。纯化后的浓度为 0.35 mg/ml。

2.4 Actin-His₆ 蛋白抗血清的制备及多克隆抗体纯化
收集 SD 大鼠免疫后的血清, 用 HiTrap Protein G HP 纯化抗体, SDS-PAGE 分析。结果显示, 纯化后的抗体呈现单一条带(重链和轻链)(图 8)。

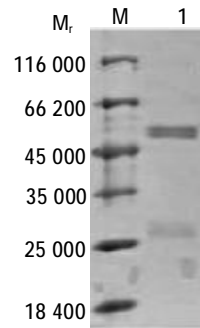


M: 蛋白质标志物; 1~4: IPTG 分别诱导 7、5、3 和 1 h 重组质粒 actin/pET30a/BL21 表达产物; 5: 重组质粒 actin/pET30a/BL21 未诱导; 6: IPTG 诱导 pET30a/BL21 空质粒 7 h 的表达产物; 7: IPTG 诱导 BL21 空菌 7 h 的表达产物。

M: Protein marker; 1-4: Actin/pET30a/BL21 induced by IPTG for 7, 5, 3, and 1 h, respectively; 5: Actin/pET30a/BL21 uninduced; 6: pET30a/BL21 induced by IPTG for 7 h; 7: BL21 induced by IPTG for 7 h.

图 7 Actin-His₆ 蛋白表达条件的优化

Fig. 7 The optimum condition for the expression of Actin-His₆ protein



M: 蛋白质标志物; 1: 纯化的 Actin-His₆ 多克隆抗体。

M: Protein marker; 1: The purified Actin-His₆ polyclonal antibody.

图 8 大鼠源性 Actin-His₆ 多克隆抗体的纯化

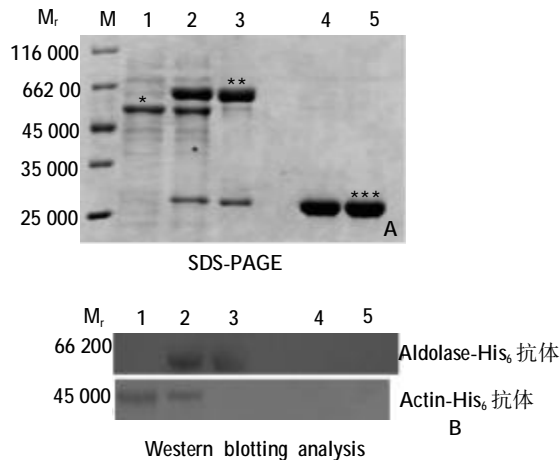
Fig. 8 SDS-PAGE analysis of the purified Actin-His₆ polyclonal antibody

3 GST 沉降实验产物的 SDS-PAGE 和 Western blotting 分析

GST 沉降实验结果表明, GST-Aldolase 蛋白的沉降产物中的蛋白可以被 Aldolase-His₆ 多克隆抗体和 Actin-His₆ 多克隆抗体识别, 而对照蛋白 GST 的沉降产物中的蛋白则不能被识别(图 9)。

讨 论

微线体蛋白 (MIC) 为弓形虫虫体的三大分泌代谢蛋白之一, 弓形虫的多个 MIC 都含有各种与真核细胞相似的粘附功能域, 在虫体入侵过程中发挥识别、黏附宿主细胞的作用, 因此又称黏附因子。为揭示肌动蛋白存在的原因, 本研究利用 GST 沉降技术, 以带 GST 标签的 Aldolase 为诱饵蛋白, 与肌动蛋白液进行反应。实验结果证实醛缩酶与肌动蛋白存在相



M: 蛋白质标志物; 1: Actin-His₆ 蛋白(*); 2: 以 GST-Aldolase 为探针蛋白的 GST 沉降产物; 3: GST-Aldolase 蛋白(**); 4: 以 GST 为探针蛋白的 GST 沉降产物; 5: GST 蛋白(***)。

M: Protein marker; 1: Actin-His₆ protein (*); 2: The products of GST-Aldolase protein pull-down experiment; 3: GST-Aldolase protein (**); 4: The products of GST protein pull-down experiment; 5: GST control protein(***)。

图 9 GST 沉降实验产物的 SDS-PAGE 和 Western blotting 分析

Fig. 9 SDS-PAGE and Western blotting analysis of products from GST pull-down experiment

互作用。

研究发现一些破坏肌动蛋白的试剂如细胞松弛素 (cytochalasin) 和 latrunculin 等可抑制弓形虫的运动和入侵, 而肌动蛋白聚合强诱导剂 (jasplakinolide, JAS) 可增强虫体的运动, 提示肌动蛋白在虫体入侵过程中发挥作用^[6-8]。目前认为肌动蛋白和肌浆球蛋白为弓形虫的动力系统, 推动虫体运动和主动入侵宿主细胞。

醛缩酶在糖酵解 (glycolysis) 过程中催化 1, 6 二磷酸果糖裂解成磷酸二羟丙酮和三磷酸甘油醛, 该反应可逆, 且有利于己糖的生成, 故名醛缩酶。研究发现一些糖酵解的酶能与细胞骨架发生相互作用, 或调节, 或直接、间接与纤维发生作用, 推测糖酵解代谢途径有可能存在于细胞骨架周围^[9-11]。哺乳动物细胞中, 醛缩酶属于胞浆酶, 常与细胞中含有肌丝蛋白的成分结合而存在。醛缩酶可与肌原纤维 (myofibril)、应力纤维 (stress fiber) 和 F-肌动蛋白相结合^[12-15]。Jewett 等^[4]和本研究也证实弓形虫的醛缩酶与肌动蛋

白存在相互作用, 说明醛缩酶不仅参与了虫体代谢, 而且还参与虫体的入侵。该结果为揭示 MIC6 的功能及研究弓形虫的入侵机制奠定了基础。

参 考 文 献

- [1] Tenter AM, Heckerth AR, Weiss LM. *Toxoplasma gondii*: from animals to humans[J]. *Int J Parasitol*, 2000, 30(12-13): 1217-1258.
- [2] Huynh MH, Harper JM, Carruthers VB. Preparing for an invasion: charting the pathway of adhesion proteins to *Toxoplasma* micronemes[J]. *Parasitol Res*, 2006, 98(5): 389-395.
- [3] Tomley FM, Soldati DS. Mix and match modules: structure and function of microneme proteins in apicomplexan parasites[J]. *Trends Parasitol*, 2001, 17(2): 81-88.
- [4] Jewett TJ, Sibley LD. Aldolase forms a bridge between cell surface adhesins and the actin cytoskeleton in apicomplexan parasites[J]. *Mol Cell*, 2003, 11(4): 885-894.
- [5] Sahoo N, Beatty W, Heuser J, et al. Unusual kinetic and structural properties control rapid assembly and turnover of actin in the parasite *Toxoplasma gondii* [J]. *Mol Biol Cell*, 2006, 17(2): 895-906.
- [6] Wetzel DM, Hakansson S, Hu K, et al. Actin filament polymerization regulates gliding motility by apicomplexan parasites [J]. *Mol Biol Cell*, 2003, 14(2): 396-406.
- [7] Gonzalez V, Combe A, David V, et al. Host cell entry by apicomplexa parasites requires actin polymerization in the host cell [J]. *Cell Host Microbe*, 2009, 5(3): 259-272.
- [8] Holzinger A. Jaspilakinolide: an actin-specific reagent that promotes actin polymerization [J]. *Methods Mol Biol*, 2009, 587: 71-87.
- [9] Pomel S, Luk FC, Beckers CJ. Host cell egress and invasion induce marked relocations of glycolytic enzymes in *Toxoplasma gondii* tachyzoites [J]. *PLoS Pathog*, 2008, 4(10): e1000188.
- [10] Meira DD, Marinho-Carvalho MM, Teixeira CA, et al. Clotrimazole decreases human breast cancer cells viability through alterations in cytoskeleton-associated glycolytic enzymes [J]. *Mol Genet Metab*, 2005, 84(4): 354-362.
- [11] Waingeh VF, Gustafson CD, Kozliak EI, et al. Glycolytic enzyme interactions with yeast and skeletal muscle F-actin [J]. *Biophys J*, 2006, 90(4): 1371-1384.
- [12] Gizak A, Maciaszczyk E, Dzugaj A, et al. Evolutionary conserved N-terminal region of human muscle fructose 1,6-bisphosphatase regulates its activity and the interaction with aldolase [J]. *Proteins*, 2008, 72(1): 209-216.
- [13] Wang J, Tolan DR, Pagliaro L. Metabolic compartmentation in living cells: structural association of aldolase[J]. *Exp Cell Res*, 1997, 237(2): 445-451.
- [14] Tochio T, Tanaka H, Nakata S, et al. Fructose-1,6-bisphosphate aldolase A is involved in HaCaT cell migration by inducing lamellipodia formation [J]. *J Dermatol Sci*, 2010, 58(2): 123-129.
- [15] Starnes GL, Coincon M, Sygusch J, et al. Aldolase is essential for energy production and bridging adhesin-actin cytoskeletal interactions during parasite invasion of host cells [J]. *Cell Host Microbe*, 2009, 5(4): 353-364.

(收稿日期: 2011-05-19 编辑: 张争艳)