



SPBC1604.04 基因缺失对粟酒裂殖酵母 有丝分裂的细胞动力学影响*

徐嘉妮¹⁾ 何佳怡¹⁾ 郑琅琳¹⁾ 何书榕²⁾ 马 帅¹⁾ 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, 南充 637009;

²⁾ 西华师范大学环境科学与工程学院, 南充 637009)

摘要 **目的** *SPBC1604.04* 基因编码一种未被正式命名的粟酒裂殖酵母 (*Schizosaccharomyces pombe*) 线粒体载体蛋白, 预测该蛋白质负责焦磷酸硫酸素在线粒体的转运, 但其对有丝分裂的细胞动力学影响尚不明确。**方法** 本研究以 *SPBC1604.04* 基因缺失的粟酒裂殖酵母为研究对象, 构建 *SPBC1604.04* 基因缺失 (*SPBC1604.04Δ*) 菌株的线粒体、微管、肌动蛋白、肌球蛋白、核膜和染色体荧光蛋白标记, 并在常温 (25°C) 和高温胁迫 (37°C) 下, 使用激光共聚焦显微镜进行活细胞成像, 探究 *SPBC1604.04* 基因缺失对有丝分裂的细胞动力学影响。**结果** 25°C 下, *SPBC1604.04Δ* 菌株线粒体含量出现异常, 线粒体荧光强度减弱, 同时, 肌动蛋白-肌球蛋白环的收缩时间延长。37°C 高温胁迫下, *SPBC1604.04Δ* 菌株线粒体含量恢复, 荧光强度增强, 肌动蛋白-肌球蛋白环的收缩时间也恢复正常。**结论** 本研究揭示了 *SPBC1604.04* 基因缺失导致裂殖酵母的线粒体含量异常, 且线粒体载体蛋白 *SPBC1604.04* 能够参与调控有丝分裂中肌动蛋白-肌球蛋白环的收缩过程, 但不参与有丝分裂中纺锤体和染色体分离的调控, 为深入解析 *SPBC1604.04* 基因在线粒体与有丝分裂调控之间的联系提供了关键实验依据。

关键词 裂殖酵母, 细胞动力学, 线粒体, *SPBC1604.04* 基因, 有丝分裂

中图分类号 Q78, Q343

DOI: 10.3724/j.pibb.2025.0455

CSTR: 32369.14.pibb.20250455

线粒体作为细胞内的“能量工厂”, 通过氧化磷酸化产生 ATP, 是能量代谢与细胞调控的重要枢纽^[1]。其双膜结构 (包括外膜和高度褶皱的内膜嵴) 和富含多种代谢酶的基质是细胞分裂的结构基础^[2]。在有丝分裂中, 真核细胞需要亚细胞器与细胞骨架的精确协调, 以确保染色体的正确分配^[3]。线粒体膜转运蛋白 (mitochondrial membrane transport proteins, MMTPs) 介导线粒体膜上物质、离子及信号的跨膜转运, 并通过这种跨膜转运功能直接或间接影响纺锤体组装、肌动蛋白聚合、肌动球蛋白环收缩、核膜完整性以及染色体行为等多种关键细胞动力学过程^[4]。

在调控纺锤体动力学中, 小鼠卵母细胞的线粒体 S-腺苷甲硫氨酸 (S-adenosylmethionine, SAM) 载体蛋白 SLC25A26 催化 SAM 从细胞质进入线粒体, SLC25A26 过表达会导致卵母细胞成熟率显著降低, 并且使纺锤体畸形和染色体排列异常^[5]。

在人肺癌 Calu-1 细胞中, 线粒体外膜的电压依赖性阴离子通道 VDAC1 (voltage-dependent anion channel 1, VDAC1) 受热休克蛋白 90 (heat shock protein 90, HSP90) 抑制剂调控, 抑制 HSP90 会上调 VDAC1 表达并促进 α 微管蛋白乙酰化, 两者免疫共沉淀实验则证明 VDAC1 与乙酰化 α 微管蛋白之间存在相互作用^[6]。

在调控肌动蛋白动力学中, 骨骼肌成肌细胞膜修复过程伴随线粒体钙单向钙离子转运体 (mitochondrial calcium uniporter, MCU) 介导的线粒体对钙离子摄取, 钙离子的进入会暂时使线粒体

* 四川大学-南充市人民政府校企合作专项 (2025CDNC15), 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) 和四川省转移支付科技成果转化转移转化示范项目 (22ZYZFSF0009, 23ZHSF0082) 资助。

** 通讯联系人。

Tel: 13890807470, E-mail: starthlh@126.com

收稿日期: 2025-10-21, 接受日期: 2026-03-23

活性氧类 (reactive oxygen species, ROS) 生成增加, 并局部激活小 GTP 酶 RhoA (Ras homolog family member A, RhoA), 触发肌细胞质膜损伤部位 F-肌动蛋白的聚合^[7]。在秀丽隐杆线虫皮肤细胞伤口闭合模型中, 线粒体钙通道 MCU-1 对于伤后线粒体钙离子摄取和 ROS 产生至关重要, 线粒体 ROS 的释放可以抑制 Ras 样 GTP 结合蛋白 rhoA (Ras-like GTP-binding protein rhoA, RHO-1) 的活性, 从而调控伤口处肌动球蛋白环的收缩和闭合, 从而保护皮肤细胞免受伤害^[8]。

在调控染色体和核膜行为中, 秀丽隐杆线虫的纺锤体缺陷蛋白 3 (spindle defective-3, SPD-3) 的功能缺失会导致 Polo 样激酶 1 (Polo-like kinase 1, PLK1) 水平改变, SPD-3 蛋白通过调控 PLK1 水平, 影响染色体定位和核膜完整性, 在 SPD-3 突变体的胚胎中观察到染色体定位异常 (socially distanced chromosome, SDC 表型) 和核纤层不对称解体^[9]。线粒体钙依赖性天冬氨酸/谷氨酸载体 SLC25A12 缺失会削弱线粒体与胞质之间的钙离子信号传递^[10]。钙离子的缺失会使纺锤体无法正常定位并且形态异常, 伴随染色体分离延迟^[11]。综上所述, 探究线粒体膜转运蛋白对细胞骨架及染色体的调控作用, 有助于理解线粒体对细胞分裂的调

控机制。

在裂殖酵母 (*Schizosaccharomyces pombe*) 中, *SPBC1604.04* 基因 (位于 2 号染色体, 长度为 1 018 bp) 编码一种未被命名的裂殖酵母线粒体载体蛋白, 该蛋白质由 238 个氨基酸组成, 分子质量为 31.03 ku, 预测其定位于线粒体内膜^[12]。*SPBC1604.04* 基因及其蛋白质特征如图 1 所示。根据 PomBase 数据库注释, 在裂殖酵母中 *SPBC1604.04* 基因编码的蛋白质被预测为焦磷酸硫胺素 (thiamine pyrophosphate, TPP) 转运蛋白, 介导其跨膜转运^[13]。TPP 在胞质溶胶中合成, 其通过线粒体膜上的载体运输到线粒体中, 一旦进入线粒体基质, TPP 就会作为丙酮酸脱氢酶 (pyruvate dehydrogenase, PDH)、支链 α 酮酸脱氢酶 (branched-chain α -ketoacid dehydrogenase, BCKDH) 和 α 酮戊二酸脱氢酶 (α -ketoglutarate dehydrogenase, KGDH) 的辅酶, 通过参与三羧酸循环, 调节 ATP 生成从而影响线粒体的能量供应^[14-15]; 若 TPP 供应不足, 将影响三羧酸循环与电子传递链的效率, 从而影响能量代谢中线粒体的含量^[16]。*SPBC1604.04* 缺失菌株在以低浓度葡萄糖和甘露糖为碳源的培养基上生长缓慢, 在以谷氨酸、赖氨酸为特定氮源的培养基上生长加快^[17]。

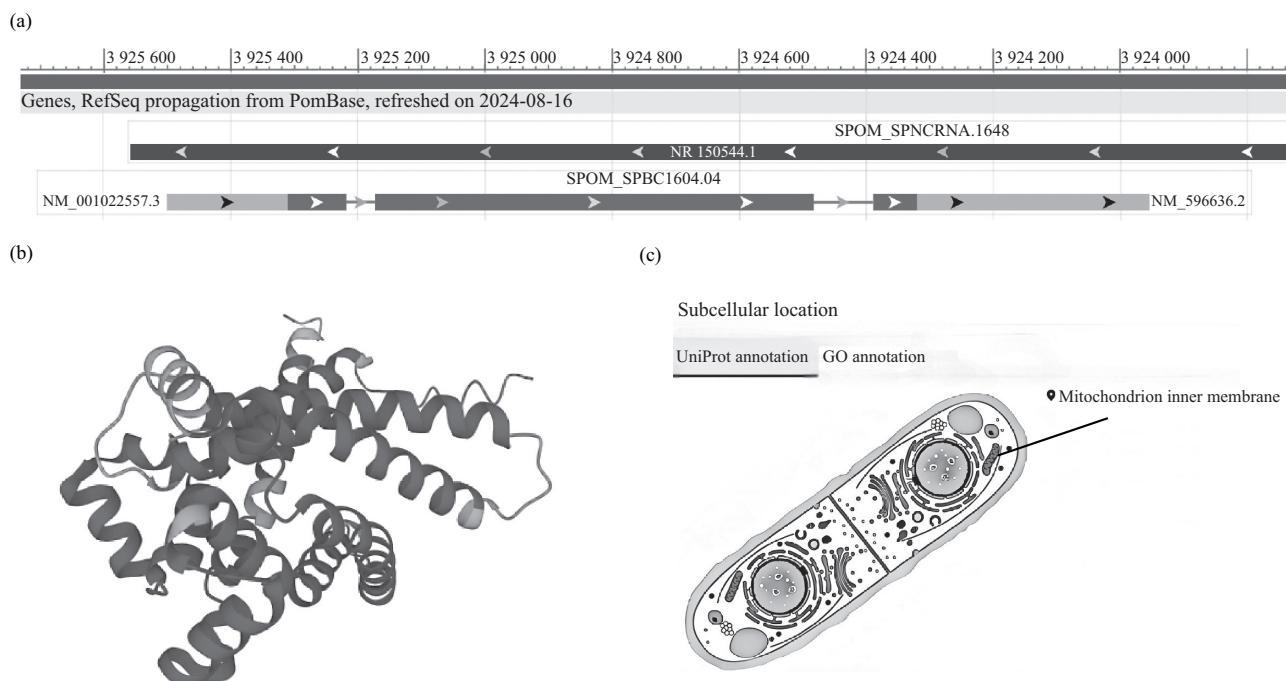


Fig. 1 The *SPBC1604.04* gene location, predicted protein structure and predicted subcellular localization

(a) Location of *SPBC1604.04* gene. (b) Predicted protein structure of SPBC1604.04. (c) Predicted subcellular localization of the SPBC1604.04 protein. The position indicated by the arrow represents the localization of the SPBC1604.04 protein. Protein localization data was obtained from UniProt.

SPBC1604.04 基因与酿酒酵母的 *Tpc1* 基因、哺乳动物中 *SLC25A19* 的基因序列高度相似且功能推测一致^[18]。*tpc1Δ* 细胞可以在含有外源硫胺素的完全培养基 (synthetic complete medium, SC) 上正常生长, 但在没有外源硫胺素的发酵性碳源 (如葡萄糖) 合成最小培养基 (synthetic minimal medium, SM) 中无法生长^[19]。在肝癌细胞中沉默 *SLC25A19* 能显著抑制肝癌细胞的有丝分裂过程和迁移能力, 并诱导肝癌细胞内铁离子积累, 引起细胞死亡^[20]。小鼠细胞中 *SLC25A19* 全敲除会导致 KGDH 复合物功能障碍, 使小鼠在胚胎第 10.5 天出现神经管闭合缺陷、造血失败, 并在胚胎第 12 天前 100 % 死亡^[21]。人类 *SLC25A19* 的突变会引发发育迟缓与神经损伤, 其中包括阿米什致死性小头畸形 (Amish lethal microcephaly) 和硫胺素代谢功能障碍综合征第 4 型 (thiamine metabolism dysfunction syndrome-4, THMD-4)^[22]。目前, *SPBC1604.04* 基因缺失对有丝分裂的细胞动力学影响尚未见报道。

本文以裂殖酵母为研究对象, 在 25℃ 和 37℃ 下, 对 *SPBC1604.04Δ* 菌株的线粒体、微管、肌动

蛋白、肌球蛋白、核膜和染色体构建荧光蛋白质标记, 并进行活细胞成像, 观察细胞动力学变化, 探究 *SPBC1604.04* 基因缺失对有丝分裂的影响, 这将为进一步阐明该基因在细胞周期稳态维持及有丝分裂过程中的作用提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 实验材料与仪器

本实验采用的粟酒裂殖酵母菌株包括野生型、基因敲除株以及构建了荧光蛋白质标记的野生型和基因敲除株, 均保存于西华师范大学西南野生动植物资源保护教育部重点实验室^[23] (表 1)。

本实验所用的培养基包括完全培养基、缺氮诱导产孢培养基、抗生素筛选培养基和营养缺陷型筛选培养基^[23]。试剂包括 100× 蜗牛酶缓冲液 (山梨醇、EDTA、β 巯基乙醇)、1× 蜗牛酶; 所用仪器包括 -80℃ 超低温冰箱、全自动压力蒸汽灭菌锅、5430 R 高速冷冻离心机、MSC-Advantage II 级生物安全柜、SW-CJ-2FD 超净工作台、25℃/37℃ 摇床、25℃/37℃ 恒温培养箱、低温金属冰冻盒、BX51 荧光正置显微镜、TCS-SP8 激光共聚焦显微镜。

Table 1 Strains and genotypes used in the experiment

Strain	Genotype
PT.286	h- wt
PT.287	h+ wt
PT.3643	h+ wt: <i>Cox4-GFP: LEU2</i>
CF2046	h+ wt: <i>GFP-Atb2: HygR</i>
PT.3850	h+ wt: <i>Pact1-LifeAct-mGFP: LEU1</i>
PT.2006	h+ wt: <i>Rlc1-GFP: URA4</i>
YL25	h+ wt: <i>Hht1-RFP: HygR/Cut11-GFP: HygR</i>
YL100	h+ <i>SPBC1604.04Δ: kanR</i>
YL101	h- <i>SPBC1604.04Δ: kanR</i>
YL102	h <i>SPBC1604.04Δ:Cox4-GFP: LEU2</i>
YL103	h <i>SPBC1604.04Δ: GFP-Atb2: HygR</i>
YL104	h <i>SPBC1604.04Δ: kanR Pact1-LifeAct-mGFP: LEU1</i>
YL105	h <i>SPBC1604.04Δ: kanR Rlc1-GFP: URA4</i>
YL106	h <i>SPBC1604.04Δ: kanR Hht1-RFP: HygR/Cut11-GFP: hygR</i>

1.2 实验方法

1.2.1 裂殖酵母菌株的复苏及活化

从 -80℃ 超低温冰箱取出甘油保存的菌种, 立刻将其置于金属冰冻盒中。经 75% 酒精擦拭 EP 管外表面消毒, 转移至超净工作台操作。用 200 μl 移液枪吸取适量菌液均匀涂布于 YE5S 固体培养基上, 将平板置于 25℃ 恒温培养箱培养 2~3 d。从培

养后的平板上挑取单菌落, 接种至含 20 ml YE5S 液体培养基的锥形瓶中, 将其置于摇床 25℃ 下 200 r/min 振荡培养 12 h (对数生长期)。

1.2.2 性别相反菌株的产孢情况

将 PT286 (wt h-) 和 YL100 (*SPBC1604.04Δ* h+) 菌株在 YE5S 固体培养基上复苏 2~3 d, 刮取正负菌混合在 EMM-N 固体培养基上培养 2~3 d, 用

BX51 正置显微镜观察其是否产孢。将产孢后的菌株加入蜗牛酶溶液热激 2 h (37°C), 离心去上清液, 无菌水重悬后将其涂布于 KanR 抗性选择培养基。待长出单菌落, 将其与 PT287 和 PT286 分别涂于 EMM-N 培养基观察是否产孢, 与 PT287 产孢, 而与 PT286 不产孢, 则 YL101 (*SPBC1604.04* Δ h-) 菌株构建成功。

1.2.3 菌株荧光蛋白质的构建

将 PT.3643、CF2046、PT.3850、PT.2006 和 YL25 菌株分别与 YL101 菌株在 EMM-N 培养基进行产孢, 产孢方法同 1.2.2, 影印于 KanR 抗性培养基后, 再培养 2 d 影印于荧光蛋白质标记对应的固体筛选培养基上。培养 3~5 d 后挑出单菌落, 对其进行镜检观察是否携带相应的荧光蛋白质标记, 再将已验证的菌株用 30% 甘油扩大保存。

1.2.4 活细胞成像

使用 Leica SP 激光共聚焦显微镜, 在 25°C 和 37°C 下对构建了荧光标记的野生型和 *SPBC1604.04* Δ 菌株进行活细胞成像^[24-25]。参数设置为: 512×512 分辨率; 400 ms 曝光; 总时间观察 2 h, 每 2 min 拍摄 1 次; 1 μm 步进 Z-stack (7 层); 绿光荧光: 激发波长 (Ex) 为 488 nm, 发射波长 (Em) 为 498~560 nm; 红光荧光: Ex 552 nm/Em 562~650 nm, 在采集软件中设置了 1.5× 的观测放大倍率 (Zoom)。

1.2.5 数据分析

对采集的图像使用软件 ImageJ 进行统一处理与定量分析。测量细胞有丝分裂过程中纺锤体伸长长度变化量 ($\Delta L_{\text{spindle}}$) 与时间变化量 ($\Delta t_{\text{spindle}}$), 肌动蛋白环长度变化量 (ΔL_{actin}) 和时间变化量 (Δt_{actin}) 以及肌球蛋白环长度变化量 (ΔL_{myosin}) 与时间变化量 (Δt_{myosin})。根据公式(1)–(3)分别计算纺锤体伸长速率和肌动蛋白、肌球蛋白环收缩速率, 并用 Excel 进行初步统计。所有数据以均值±标准差表示。使用 GraphPad Prism 8 对连续变量采用双因素方差分析和三因素方差分析, 评估基因型与温度对指标的影响, 并进行事后比较分析矫正 (Bonferroni) 以比较不同温度条件下的野生型与缺失株。对频率数据使用卡方检验。并使用 GraphPad Prism 8 绘制图像。文中所有 “n” 均表示单个培养物中测量的细胞数 (静态数据 n=10, 动态数据 n=4), 而 N 表示独立的生物学重复次数 (N=5), 每个细胞 (3 次技术重复) 的平均值表示最终结果。本研究所观测到的数据变异, 主要反映

细胞器和细胞骨架在细胞群体中固有的、动态的生物学异质性^[26-27]。**P*<0.05 表示显著差异, ***P*<0.01 表示存在极显著差异。

$$v_{\text{spindle}} = \frac{\Delta L_{\text{spindle}}}{\Delta t_{\text{spindle}}} \quad (1)$$

$$v_{\text{actin}} = \frac{\Delta L_{\text{actin}}}{\Delta t_{\text{actin}}} \quad (2)$$

$$v_{\text{myosin}} = \frac{\Delta L_{\text{myosin}}}{\Delta t_{\text{myosin}}} \quad (3)$$

2 结 果

2.1 *SPBC1604.04* 基因缺失对线粒体的影响

线粒体氧化磷酸化依赖细胞色素 c (cytochrome c, Cyt c) 作为电子载体, 其将电子传递至细胞色素 c 氧化酶 (cytochrome c oxidase, Cox) 的催化亚基, 而该酶的亚单位 IV (cytochrome c oxidase subunit IV, Cox4) 调节的组装, 对维持氧化磷酸化效率至关重要。Cox4-GFP 的荧光信号能标记线粒体, 可观察其形态获得线粒体形态图 (图 2a)。

双因素方差分析表明, 温度与基因型对线粒体荧光强度存在极显著交互作用 (*P*<0.01), 温度对线粒体荧光强度的影响依赖于基因型。25°C 下, *SPBC1604.04* Δ 菌株分裂前线粒体荧光强度 (155.52±47.09) 极显著低于野生型 (1 921.27±501.78) (*P*<0.01; 图 2b)。分裂后, 野生型菌株高、低荧光细胞强度分别为 (1 130.30±386.80) 和 (987.85±331.54), 而在 *SPBC1604.04* Δ 菌株中, 高、低荧光强度为 (114.93±35.92) 和 (101.58±36.05), 亦均极显著低于野生型对应细胞 (*P*<0.01; 图 2c)。37°C 下, *SPBC1604.04* Δ 菌株分裂前线粒体荧光强度 (1 858.97±751.49) 极显著高于野生型 (945.57±253.53) (*P*<0.01; 图 2b)。分裂后野生型菌株高、低荧光细胞强度分别为 (797.32±269.50) 和 (541.14±204.01), 而 *SPBC1604.04* Δ 菌株分别为 (1 216.02±538.31) 和 (762.19±418.84), 均极显著高于野生型 (*P*<0.01; 图 2c), 但在两个温度下线粒体在子细胞中的分配比例未受影响 (图 2d)。结果表明, 25°C 下, *SPBC1604.04* 基因缺失极显著降低裂殖酵母细胞分裂前后的线粒体荧光强度; 在高温胁迫下, *SPBC1604.04* 基因缺失会导致裂殖酵母细胞分裂前后线粒体丰度显著增加, 提示 *SPBC1604.04* 基因的缺失会影响线粒体的丰度。

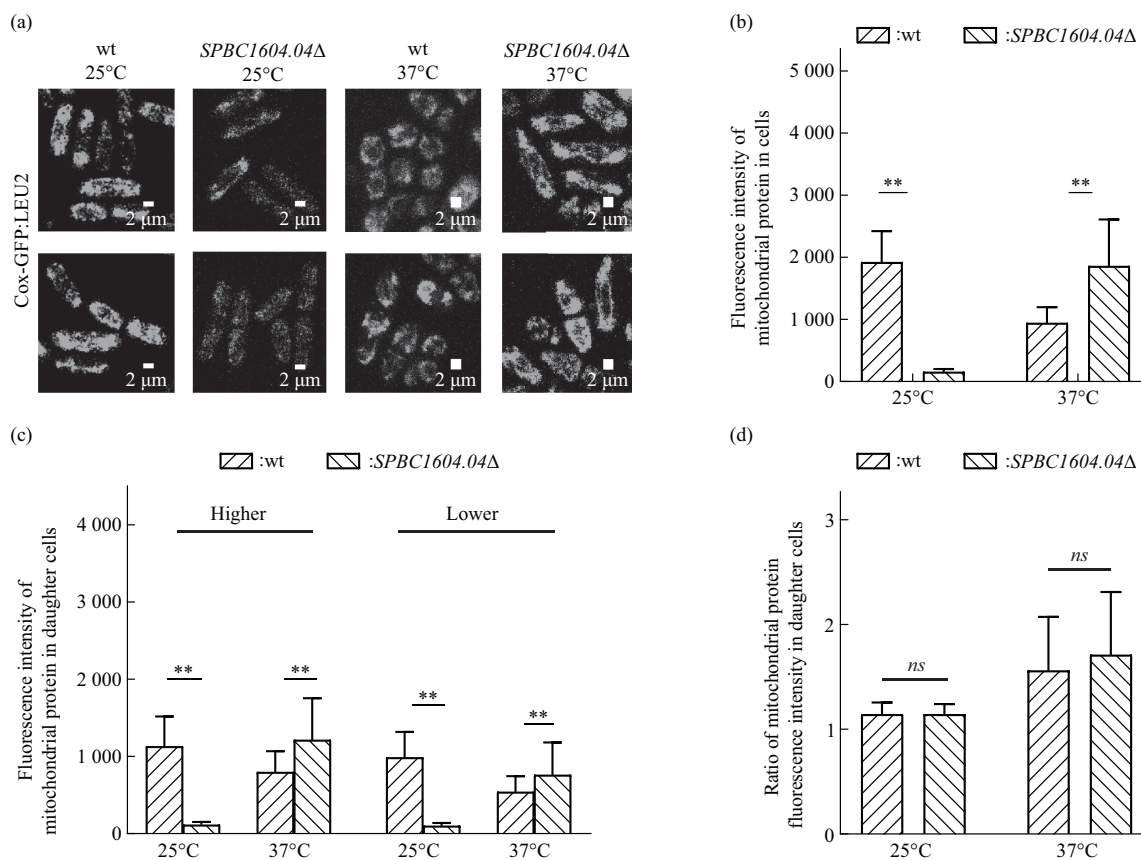


Fig. 2 The effect of *SPBC1604.04* gene deletion on mitochondria

(a) Mitochondrial morphology under 25°C and 37°C conditions. (b) Mitochondrial fluorescence intensity under 25°C and 37°C conditions. (c) Mitochondrial fluorescence intensity of daughter cells under 25°C and 37°C conditions. Higher and lower indicate high and low mitochondrial fluorescence intensity in daughter cell. (d) Ratio of mitochondrial fluorescence intensity of daughter cells under 25°C and 37°C conditions. Statistical significance: ** $P < 0.01$, ns, not statistically significant.

2.2 *SPBC1604.04* 基因缺失对有丝分裂间期微管的影响

在裂殖酵母间期, 位于核膜附近的间期微管组织中心介导微管起始和束状组装, 形成平行于细胞长轴的微管束, 以维持细胞极性和细胞核定位。使用 GFP-Atb2 对野生型和 *SPBC1604.04*Δ 菌株在 25°C 和 37°C 的间期微管进行活细胞成像, 获得间期微管形态图 (图 S1)。

25°C 下, 野生型菌株间期产生 3、4 和 5 根微管束, *SPBC1604.04*Δ 菌株产生 2、3、4 和 5 根微管束。为统计分析间期微管束分布, 将微管束数量分为两类: 低微管束 (2~3 根) 和高微管束 (≥ 4 根), 卡方检验显示, *SPBC1604.04*Δ 菌株产生低微管束和高微管束的频率与野生型无差异。37°C 下, *SPBC1604.04*Δ 菌株产生低微管束的频率显著高于野生型, 产生高微管束的频率显著低于野生型 ($P < 0.05$)。结果表明, *SPBC1604.04* 基因缺失对分裂

间期细胞的微管束数量具有一定的影响 (图 S1)。

2.3 *SPBC1604.04* 基因缺失对有丝分裂期纺锤体的影响

在有丝分裂前期, 双极纺锤体由纺锤极体组装并捕获染色体动粒, 中期纺锤体介导染色体在赤道板排列, 后期驱动姐妹染色单体向两极分离, 最终纺锤体解聚为胞质微管网络。使用 GFP-Atb2 对纺锤体进行标记, 具体见图 S2。

温度与基因型对纺锤体的时间、长度及速率不存在交互作用。25°C 下, 观察野生型与 *SPBC1604.04*Δ 菌株纺锤体变化图像并绘制生长曲线 (图 S2a, b)。 *SPBC1604.04*Δ 的总伸长时间延长 (2.10 ± 0.25) min ($P < 0.01$), 伸长长度增加 (0.49 ± 0.44) μm, 但不具有显著性, 总伸长速率亦无显著差异 (图 S2d~f)。37°C 下, *SPBC1604.04*Δ 菌株的伸长时间、长度及速率与野生型无差异 (图 S2c~f)。综上, *SPBC1604.04* 基因缺失对有丝分裂

中纺锤体的影响不显著。

2.4 *SPBC1604.04*基因缺失对肌动蛋白的影响

肌动蛋白在有丝分裂期间参与染色体正确定位与分裂环形成^[28]。利用LifeAct-mGFP标记观察肌

动蛋白环动态, 并分析其收缩曲线(图3a~c)。

温度与基因型对肌动蛋白环总持续时间和环收缩时间都存在极显著交互作用($P<0.01$)。25°C下, *SPBC1604.04Δ* 菌株肌动蛋白环总持续时间

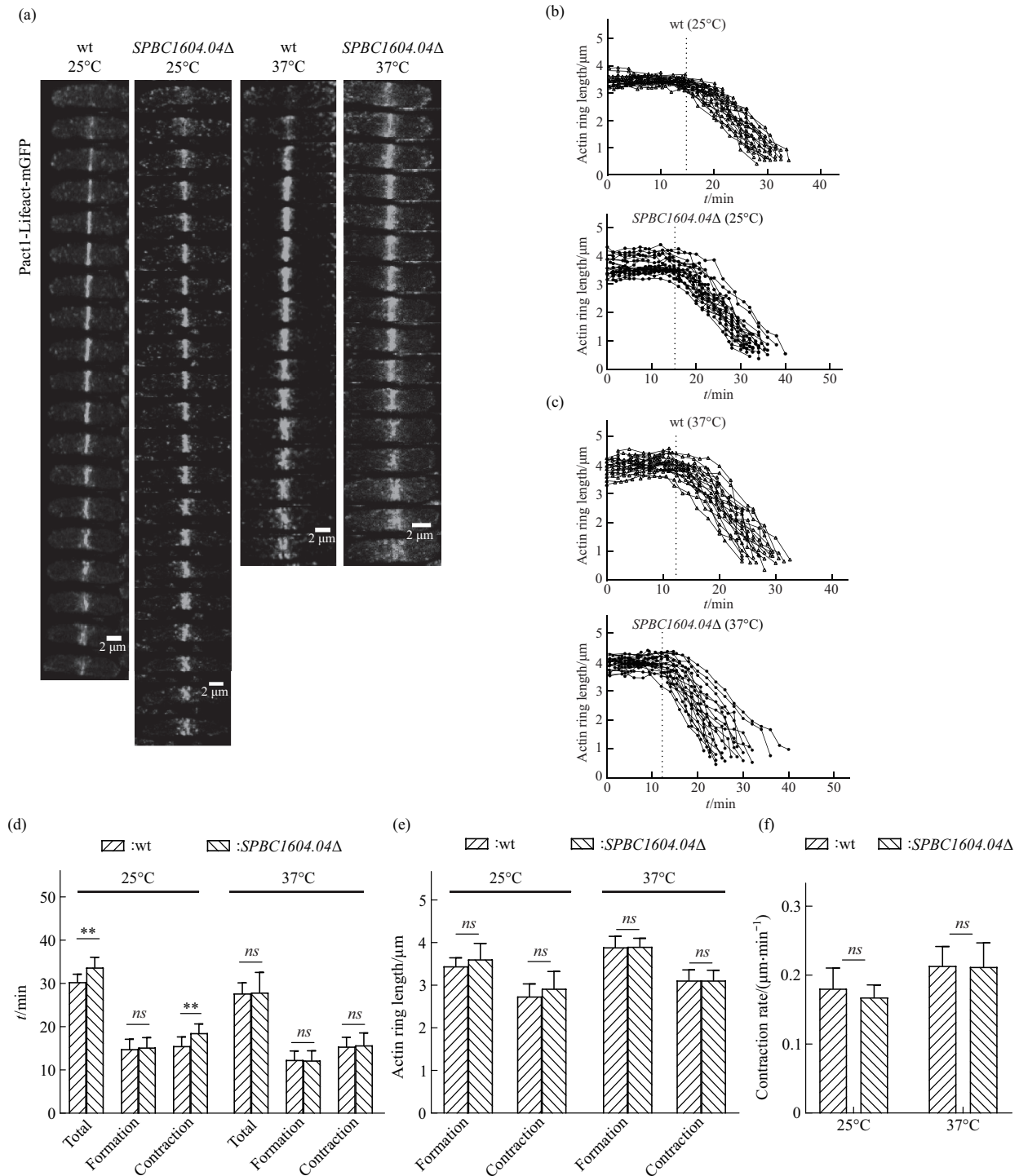


Fig. 3 The effect of *SPBC1604.04* gene deletion on the actin ring

(a) Time-lapse imaging of actin ring assembly and contraction under 25°C and 37°C conditions. Images were acquired at 2 min intervals, with one frame captured per time point. (b) Contraction curves of actin rings at 25°C (the dotted line marks the initiation of contraction). (c) Contraction curves of actin rings at 37°C. (d) Formation durations, contraction durations, and total durations of actin rings under 25°C and 37°C conditions. (e) Initiation and contraction lengths of actin rings under 25°C and 37°C conditions. (f) Contraction rates of actin rings under 25°C and 37°C conditions. Sample size: $n=20$ for each group. Statistical significance: $**P<0.01$, ns, not statistically significant.

(33.70 min $\pm$ 2.36 min) 极显著长于野生型 (30.30 min $\pm$ 1.87 min) ($P<0.01$; 图 3d)。两株菌株在肌动蛋白环的组装时间和初始长度上均无显著差异; 然而, *SPBC1604.04* Δ 菌株的环收缩时间 (18.50 min $\pm$ 2.15 min) 极显著长于野生型 (15.50 min $\pm$ 2.14 min) ($P<0.01$), 并且收缩长度伸长和收缩速率减慢 (图 3d~f)。37°C 下, 两菌株的肌动蛋白环的总持续时间、形成时间、起始长度、收缩时间、收缩长度及收缩速率在两菌株间均未出现显著差异 (图 3d~f)。综上, 25°C 下, *SPBC1604.04* 基因缺失会延长肌动蛋白环的收缩时间, 说明 *SPBC1604.04* 基因主要影响肌动蛋白环的收缩阶段。37°C 下, *SPBC1604.04* 基因缺失菌株的肌动蛋白环的异常得到了恢复, 其恢复趋势与线粒体丰度表型的恢复相吻合。

2.5 *SPBC1604.04* 基因缺失对肌球蛋白的影响

肌球蛋白是一类具有 ATP 酶活性的分子马达蛋白, 在有丝分裂末期, 肌球蛋白与肌动蛋白在细胞赤道区域共同组装成收缩环 (contractile ring, CR), 驱动胞质分裂。通过 Rlc1-GFP 标记对肌球蛋白环进行活细胞成像, 并分析其形成与收缩动力学 (图 4a~c)。

温度与基因型在肌球蛋白环总持续时间和环收缩时间上存在极显著交互作用 ($P<0.01$)。25°C 下, 野生型菌株肌球蛋白环从形成到消失的时间为 (30.10 $\pm$ 1.65) min, 而 *SPBC1604.04* Δ 菌株相应时间为 (31.50 $\pm$ 1.82) min, 较野生型菌株增加 (1.40 min $\pm$ 0.17 min) ($P<0.05$; 图 4d)。 *SPBC1604.04* Δ 菌株的肌球蛋白环收缩时间较野生型菌株增加 (1.9 min $\pm$ 0.64 min) ($P<0.01$), 肌球蛋白环收缩速率较野生型菌株降低 (0.03 $\pm$ 0.01) $\mu\text{m}/\text{min}$ (图 4f; $P<0.05$)。37°C 下, 野生型菌株肌球蛋白环组装的起始长度为 (4.09 $\pm$ 0.24) μm , 而 *SPBC1604.04* Δ 菌株为 (3.85 $\pm$ 0.36) μm , 较野生型菌株显著减少 ($P<0.05$; 图 4e)。肌动蛋白环的形成到消失的总时间、收缩长度和收缩速率在两菌株间均未出现显著差异 (图 4d~f)。综上, 25°C 下, *SPBC1604.04* 基因的缺失会延长裂殖酵母肌球蛋白环的收缩时间, 该表型变化与肌动蛋白环在 25°C 下的表型一致, 提示

SPBC1604.04 基因会影响肌球蛋白的收缩过程。37°C 下 *SPBC1604.04* 基因缺失株中肌球蛋白环动力学得到了恢复, 该表型与肌动蛋白环动力学恢复的表型一致, 且与线粒体丰度的恢复表型亦是一致的。

2.6 *SPBC1604.04* 基因缺失对核膜和组蛋白的影响

核膜作为一种双层膜系统, 通过调控核质间转运和细胞骨架间耦联, 参与染色体的有序分离和细胞周期进程。为研究 *SPBC1604.04* 基因缺失对核膜和染色体的影响, 构建了 Hht1-RFP : HygR/Cut11-GFP : HygR 双标记菌株, 对其进行活细胞成像 (图 S3a)。

温度与基因型对核膜面积存在极显著交互作用 ($P<0.01$)。25°C 下, 野生型菌株的核膜面积为 (6.72 $\pm$ 1.00) μm^2 , 细胞面积为 (47.57 $\pm$ 8.41) μm^2 , 而 *SPBC1604.04* Δ 菌株的核膜面积为 (7.79 $\pm$ 1.02) μm^2 , 细胞面积为 (51.86 $\pm$ 7.10) μm^2 (图 S3b)。 *SPBC1604.04* Δ 菌株核膜面积较野生型菌株增加了 (1.07 $\pm$ 0.02) μm^2 , 而两菌株的核膜面积与细胞面积之比 (N/C 比) 无显著性差异 (图 S3c)。37°C 下, 野生型的核膜面积为 (8.11 $\pm$ 2.06) μm^2 , 细胞面积为 (64.35 $\pm$ 14.95) μm^2 , 而 *SPBC1604.04* Δ 菌株的核膜面积为 (10.66 $\pm$ 3.00) μm^2 , 细胞面积为 (69.97 $\pm$ 11.72) μm^2 (图 S3b), 核膜面积较野生型增加了 (2.55 $\pm$ 0.94) μm^2 。综上, 25°C 下, *SPBC1604.04* 基因缺失会使细胞变大。但变大的细胞内, 线粒体丰度没有得到弥补。在 37°C 下, *SPBC1604.04* 基因缺失也会使细胞变大, 这与 25°C 表型一致, 验证了 *SPBC1604.04* 基因缺失会使细胞变大, 但这不是线粒体丰度恢复的关键因素。温度与基因型对染色体分离时间不存在交互作用。25°C 和 37°C 下, 两菌株的染色体分离总时间, 染色体分离到细胞隔形成的时间 (chromosome separation to cell septum formation, CS-CSF) 和细胞隔形成到细胞隔分离的时间 (cell septum formation to cell septum separation, CSF-CSS) 两组之间均无显著差异 (图 3d, e)。综上所述, *SPBC1604.04* 基因缺失不影响染色体分离过程。

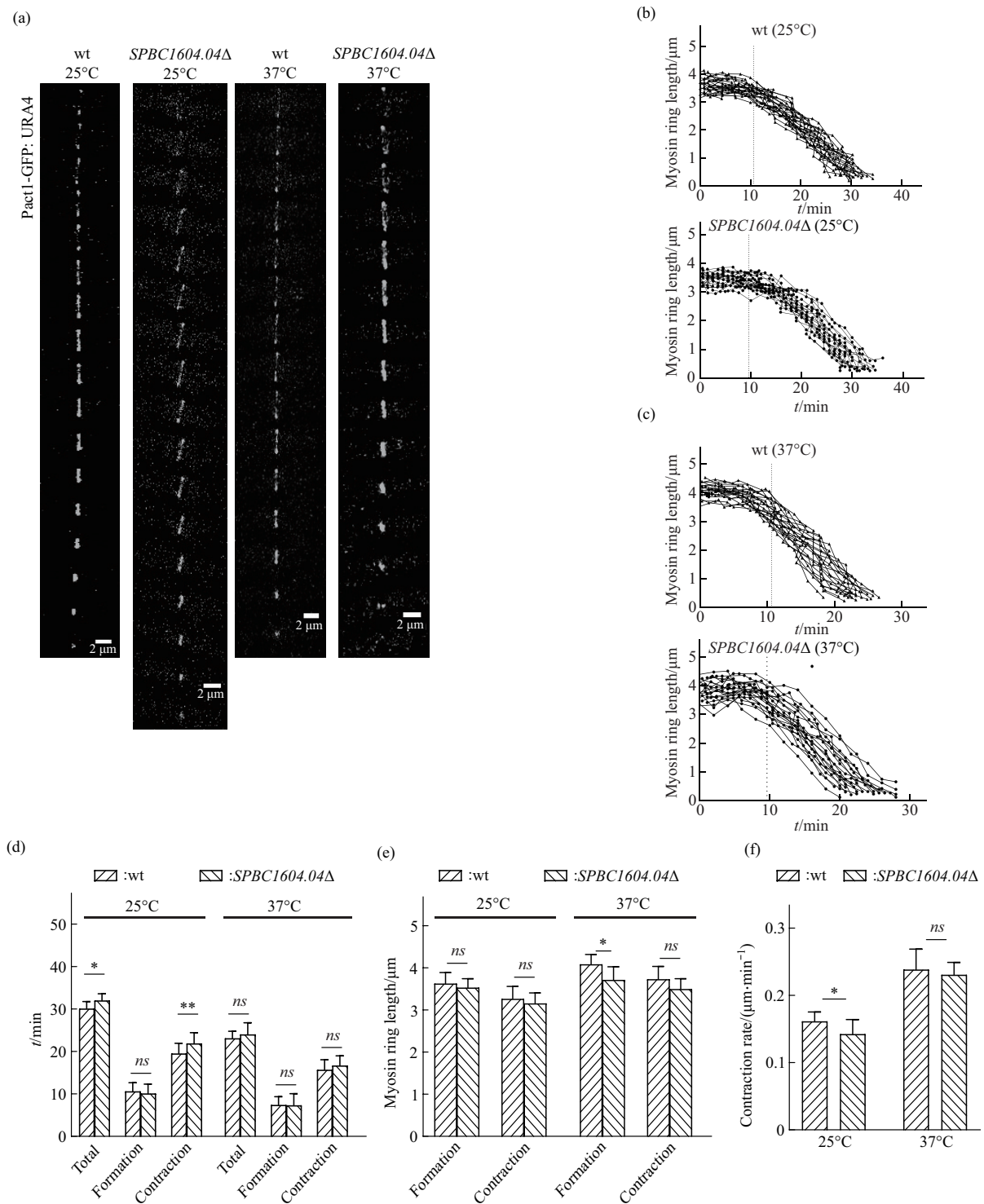


Fig. 4 The effect of SPBC1604.04 gene deletion on the myosin ring

(a) Time-lapse imaging of myosin ring assembly and contraction under 25°C and 37°C conditions. Images were acquired at 2 min intervals, with one frame captured per time point. (b) Contraction curves of myosin rings at 25°C (the dotted line marks the initiation of contraction). (c) Contraction curves of myosin rings at 37°C. (d) Duration of myosin ring formation, contraction, and total time under 25°C and 37°C conditions. (e) Initial and contracted lengths of myosin rings under 25°C and 37°C conditions. (f) Contraction rate of the myosin ring under 25°C and 37°C conditions. Statistical significance: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, ns, not statistically significant.

3 讨 论

线粒体是高度动态的细胞器, 通过融合和分裂维持动态平衡, 协调能量代谢和信号转导, 以支撑细胞功能与命运决策^[29]。研究表明, 线粒体功能相关基因 (mitochondrial function-related genes, MFRGs) 在维持线粒体融合与分裂动力学平衡中发挥重要作用, 其突变或缺失会破坏这一平衡并导致线粒体形态改变^[30]。例如, 线粒体 P 型五肽重复蛋白 Ppr3 蛋白识别线粒体 mRNA, 在 *ppr3-506* 等位基因突变体中, 线粒体荧光强度降低且线粒体出现团块样 (blob-like)^[31]。线粒体 2Fe-2S 簇装配蛋白 Fxn1 参与线粒体 2Fe-2S 簇的合成, 研究表明, *fxn1* 基因缺失突变株中线粒体的数量明显减少, 此外, Fxn1 的过表达会严重抑制细胞生长, 并导致线粒体管状结构的断裂以及膜完整性受损^[32]。线粒体核糖体蛋白亚基 S45 蛋白 Bot1p 是核糖体的结构成分, Bot1p 表达水平降低会导致线粒体碎片化^[33]。线粒体外膜蛋白 Fzo1 促进相邻线粒体外膜的膜对接 (docking), 导致线粒体融合受抑制而裂变持续进行, 进而引起线粒体碎片化^[34]。值得注意的是, 在高温胁迫下, 线粒体蛋白为了应对因蛋白质错误折叠或变性带来的细胞危害, 会有高温应激反应诱导分子伴侣的大量表达^[35]。高温诱导的热休克蛋白 (如 HSP70 与 HSP90) 会协助核编码线粒体蛋白 (nuclear-encoded proteins, NEPs) 进入线粒体, 并正确折叠或组装其成为功能性蛋白质^[36]。NEPs 在 Hsp70/Hsp90 的协助下能够部分恢复线粒体膜蛋白和呼吸链复合体的功能, 从而提升线粒体含量和 ATP 水平, 保证线粒体的稳态^[37]。本研究发现, 25℃ 下 *SPBC1604.04* 基因缺失菌株中线粒体的形态趋向于碎片化, 并且荧光强度相比于野生型菌株极显著减少 ($1\ 882.31 \pm 576.38$) ($P < 0.01$)。但 37℃ 下, *SPBC1604.04* 基因缺失的菌株中线粒体的形态趋向于恢复成连续管状结构, 并且缺陷株荧光强度相比于野生型增加 ($1\ 135.42 \pm 848.54$) ($P < 0.01$)。这一结果提示, *SPBC1604.04* 基因的缺失会影响线粒体的丰度, 在高温下 *SPBC1604.04* 基因缺失菌株中线粒体丰度恢复。

在裂殖酵母中, 胞质分裂依赖于肌动蛋白和肌球蛋白共同构成的肌动蛋白-肌球蛋白环, 胞质分裂可归纳为 4 个步骤: 定位、组装、缢缩、分离^[38]。在组装阶段, 丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 Cdr2

作为信号整合中心, 确保收缩环组装在时空上的精准性, 泛素结构域样蛋白 Blt1 介导肌球蛋白 II 重链 Myo2 和 IQGAP 结构域细胞骨架支架蛋白 Rng2 在质膜处组装复合物, 此时的 Myo2 的头部马达结构域处于自抑制状态, 尾部通过 Rng2 与膜锚定, 为后续的大规模力的生成奠定了结构基础^[39]。CR 的组装和收缩依赖于“搜索-捕获-拉动-释放”机制。此机制中, Myo2 马达结构域激活, 其头部在胞质中随机的构象摆动, 以“搜索”附近的肌动蛋白丝; Cdc12 催化肌动蛋白丝的快速成核和延伸, 肌动蛋白丝被 Myo2 马达结构域“捕获”; 结合后, Myo2 沿着肌动蛋白丝定向运动, 产生机械拉力, 将原本分散的节点彼此“拉近”; 在牵拉过程中, 肌动蛋白丝重新“释放”, Myo2 重新进入搜索状态, 完成新一轮捕获和拉动循环^[40]。通过重复此过程, 分散的节点逐步融合, 最终形成完整的环状肌动蛋白-肌球蛋白收缩环^[41]。环的成熟与缢缩依赖 Cdc15、Imp2 等 F-BAR 蛋白桥接细胞质膜内膜和收缩环, RHO-1 等小 GTP 酶确保在缢缩过程中启动细胞壁的合成, 丝氨酸/苏氨酸蛋白磷酸酶 Clp1 去磷酸化 Cdc15, 使 Cdc15 能够稳定地驻留在收缩环上, 发挥其桥接和支架功能^[42]。在此过程中, Blt1 是重要的节点蛋白, 与 Sid2-Mob1 激酶复合物发生物理相互作用, 促进 CR 的收缩。在 *blt1Δ* 突变体中, Sid2 和 Mob1 的招募和保留减少, 导致肌球蛋白环的收缩出现延迟^[43]。IQGAP 蛋白 Rng2 在环中调控肌动蛋白丝与肌球蛋白的相互作用, *rng2* 突变体表现为环收缩动力不足, 收缩时间显著增加, 而起始环的直径也小于野生型^[44]。本研究发现, 25℃ 下, *SPBC1604.04* 基因缺失的菌株中, 肌动蛋白-肌球蛋白环在收缩期的时间均变长, *SPBC1604.04Δ* 菌株肌动蛋白环收缩时间较野生型极显著增加 $3.00\ \text{min} \pm 0.01\ \text{min}$ ($P < 0.01$); *SPBC1604.04Δ* 菌株的肌球蛋白环收缩时间较野生型菌株显著增加 $1.9\ \text{min} \pm 0.64\ \text{min}$ ($P < 0.05$)。在温度胁迫下, *SPBC1604.04Δ* 菌株肌动蛋白-肌球蛋白环的收缩时间恢复成正常值。值得注意的是, 25℃ 下 *SPBC1604.04Δ* 菌株线粒体丰度下降, 荧光强度显著降低, 同时, 肌动蛋白-肌球蛋白环收缩时间增加, 而在 37℃ 下 *SPBC1604.04Δ* 菌株线粒体丰度恢复, 线粒体荧光强度显著升高, 肌动蛋白-肌球蛋白环收缩时间恢复正常。综上提示, 线粒体载体蛋白 *SPBC1604.04* 能够参与调控有丝分裂中肌动蛋白-肌球蛋白环的收缩过程, 但不参与有丝分

裂中纺锤体和染色体分离的调控。

在真核生物中,线粒体产生的ATP对细胞分裂环的组装和收缩是必需的,而胞质分裂依赖于肌球蛋白II-肌动蛋白的相互作用,肌球蛋白II沿肌动蛋白丝移动时需要水解ATP^[45]。*SPBC1604.04*基因被预测调控TPP在线粒体的转运,TPP是多种关键代谢酶的必需辅因子,这些酶调控糖酵解产物进入三羧酸循环的代谢通量,从而影响ATP生成效率;当TPP转运受阻时,可能影响线粒体能量代谢效率,进而改变ATP供应水平,并影响肌球蛋白驱动的收缩环动力学过程。事实上,细胞骨架与线粒体存在双向调控关系,一方面,细胞骨架通过调控线粒体的融合与分裂影响其形态与分布,另一方面,线粒体也通过能量供应与信号调控影响细胞骨架的正常动力学^[46]。已有部分证据表明,线粒体在有丝分裂过程中影响微管以及肌动蛋白的时空协调,例如,在哺乳动物中,线粒体在分裂期定位到纺锤体的星状微管区域,并通过线粒体外膜蛋白Miro招募动力蛋白1KIF5B,然后由KIF5B输送至细胞分裂沟,以此将线粒体运输与微管连接起来^[47]。细胞缺失肌球蛋白XIX(myosin XIX, Myo19)会导致细胞质分裂失败,其原因是细胞在中期到后期过渡过程中线粒体无法通过Myo19介导的肌动蛋白依赖性运输实现正确定位,这表明Myo19在将线粒体分裂与有丝分裂进程耦合中发挥关键作用^[48]。在裂殖酵母中,线粒体微管结合蛋白MMB1被发现通过抑制微管动力学来增强微管稳定性,并延长线粒体和微管的结合时间,从而维持线粒体的形态。这些研究强调了线粒体对细胞骨架状态的反馈调控^[49]。然而,关于线粒体动力学与有丝分裂过程之间的精确耦合机制,目前仍有待进一步研究。本课题探究了*SPBC1604.04*基因对肌动蛋白环的收缩过程具有影响,该结果提示,未来的研究可通过系统地解析其下游的转录或蛋白质表达谱,进一步探究细胞动力学变化的原因,来揭示完整的调控通路。

4 结 论

本研究探讨了裂殖酵母中*SPBC1604.04*基因缺失对有丝分裂过程中线粒体、微管、肌动蛋白、肌球蛋白、核膜和染色体的细胞动力学变化的影响。结果揭示了*SPBC1604.04*基因缺失导致裂殖酵母的线粒体的丰度异常,且线粒体载体蛋白SPBC1604.04能够参与调控有丝分裂中肌动蛋白-

肌球蛋白环的收缩过程,但不参与有丝分裂中纺锤体和染色体分离的调控。本研究为线粒体载体蛋白SPBC1604.04对有丝分裂调控的分子机制研究提供了一定的科学依据。

附件 见本文网络版 (<http://www.pibb.ac.cn>, <http://www.cnki.net>):

PIBB_20250455_Figure S1.pdf

PIBB_20250455_Figure S2.pdf

PIBB_20250455_Figure S3.pdf

参 考 文 献

- [1] 王鹏潇,陈乐融,王珍,等.线粒体微RNA调控线粒体DNA表达.生物化学与生物物理进展,2025,**52**(7): 1649-1660
Wang P X, Chen L R, Wang Z, *et al.* Prog Biochem Biophys, 2025, **52**(7): 1649-1660
- [2] Paolini E, Longo M, Corsini A, *et al.* The non-invasive assessment of circulating D-loop and mt-ccf levels opens an intriguing spyhole into novel approaches for the tricky diagnosis of NASH. Int J Mol Sci, 2023, **24**(3): 2331
- [3] 张艳琼,石春霞,张清奇,等.线粒体动力学与细胞骨架的研究进展.联勤军事医学,2024,**38**(9): 809-812
Zhang Y Q, Shi C X, Zhang Q Q, *et al.* Mil Med Jt Logist, 2024, **38**(9): 809-812
- [4] Chen Y J, Hong W F, Liu M L, *et al.* An integrated bioinformatic investigation of mitochondrial solute carrier family 25 (SLC25) in colon cancer followed by preliminary validation of member 5 (SLC25A5) in tumorigenesis. Cell Death Dis, 2022, **13**(3): 237
- [5] Cheng G P, Guo S M, Yin Y, *et al.* Aberrant expression of mitochondrial SAM transporter SLC25A26 impairs oocyte maturation and early development in mice. Oxid Med Cell Longev, 2022, **2022**: 1681623
- [6] Wang Q, Liu X. VDAC upregulation and α TAT1-mediated α -tubulin acetylation contribute to tanespimycin-induced apoptosis in Calu-1 cells. Oncol Rep, 2020, **44**(6): 2725-2734
- [7] Horn A, van der Meulen J H, Defour A, *et al.* Mitochondrial redox signaling enables repair of injured skeletal muscle cells. Sci Signal, 2017, **10**(495): eaaj1978
- [8] Xu S, Chisholm A D. *C. elegans* epidermal wounding induces a mitochondrial ROS burst that promotes wound repair. Dev Cell, 2014, **31**(1): 48-60
- [9] Chen Y Z, Zimyanin V, Redemann S. Loss of the mitochondrial protein SPD-3 elevates PLK-1 levels and dysregulates mitotic events. Life Sci Alliance, 2023, **6**(11): e202302011
- [10] Pérez-Liébaná I, Juaristi I, González-Sánchez P, *et al.* A Ca^{2+} -dependent mechanism boosting glycolysis and OXPHOS by activating aralar-malate-aspartate shuttle, upon neuronal stimulation. J Neurosci, 2022, **42**(19): 3879-3895
- [11] Nagues C, Helassa N, Haynes L P. Mitosis, focus on calcium. Front Physiol, 2022, **13**: 951979

- [12] Matsuyama A, Arai R, Yashiroda Y, *et al.* ORFeome cloning and global analysis of protein localization in the fission yeast *Schizosaccharomyces pombe*. *Nat Biotechnol*, 2006, **24**(7): 841-847
- [13] Hayles J, Wood V, Jeffery L, *et al.* A genome-wide resource of cell cycle and cell shape genes of fission yeast. *Open Biol*, 2013, **3**(5): 130053
- [14] Marcé-Grau A, Martí-Sánchez L, Baide-Mairena H, *et al.* Genetic defects of thiamine transport and metabolism: a review of clinical phenotypes, genetics, and functional studies. *J Inher Metab Dis*, 2019, **42**(4): 581-597
- [15] Palmieri F, Monné M, Fiermonte G, *et al.* Mitochondrial transport and metabolism of the vitamin B-derived cofactors thiamine pyrophosphate, coenzyme A, FAD and NAD⁺, and related diseases: a review. *IUBMB Life*, 2022, **74**(7): 592-617
- [16] Marrs C, Lonsdale D. Hiding in plain sight: modern thiamine deficiency. *Cells*, 2021, **10**(10): 2595
- [17] Rodríguez-López M, Bordin N, Lees J, *et al.* Broad functional profiling of fission yeast proteins using phenomics and machine learning. *Elife*, 2023, **12**: RP88229
- [18] Marobbio C M, Voza A, Harding M, *et al.* Identification and reconstitution of the yeast mitochondrial transporter for thiamine pyrophosphate. *EMBO J*, 2002, **21**(21): 5653-5661
- [19] Mentel M, Chovančíková P, Zeman I, *et al.* Learning from yeast about mitochondrial carriers. *Microorganisms*, 2021, **9**(10): 2044
- [20] Liu S, Zhang P, Wu Y, *et al.* SLC25A19 is a novel prognostic biomarker related to immune invasion and ferroptosis in HCC. *Int Immunopharmacol*, 2024, **136**: 112367
- [21] Lindhurst M J, Fiermonte G, Song S, *et al.* Knockout of Slc25a19 causes mitochondrial thiamine pyrophosphate depletion, embryonic lethality, CNS malformations, and anemia. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, **103**(43): 15927-15932
- [22] Chen Y, Fang B, Hu X, *et al.* Identification and functional analysis of novel SLC25A19 variants causing thiamine metabolism dysfunction syndrome 4. *Orphanet J Rare Dis*, 2021, **16**(1): 403
- [23] 白鑫, 丁祥, 蒲帝宏, 等. 粟酒裂殖酵母 SPAC27E2.11c 基因缺失对有丝分裂期微管动力学的影响. *厦门大学学报: 自然科学版*, 2023, **62**(5): 848-857
Bai X, Ding X, Pu D H, *et al.* *J Xiamen Univ Nat Sci*, 2023, **62**(5): 848-857
- [24] Loncar A, Rincon S A, Lera Ramirez M, *et al.* Kinesin-14 family proteins and microtubule dynamics define *S. pombe* mitotic and meiotic spindle assembly, and elongation. *J Cell Sci*, 2020, **133**(11): jcs240234
- [25] Francesconi S, Grenon M, Bouvier D, *et al.* p56(chk1) protein kinase is required for the DNA replication checkpoint at 37 degrees C in fission yeast. *EMBO J*, 1997, **16**(6): 1332-1341
- [26] Saint M, Bertaux F, Tang W, *et al.* Single-cell imaging and RNA sequencing reveal patterns of gene expression heterogeneity during fission yeast growth and adaptation. *Nat Microbiol*, 2019, **4**(3): 480-491
- [27] Dhar R, Missarova A M, Lehner B, *et al.* Single cell functional genomics reveals the importance of mitochondria in cell-to-cell phenotypic variation. *eLife*, 2019, **8**: e38904
- [28] 贾蕴莉, 余泽华, 陈新文. 肌动蛋白抑制了杆状病毒多角体蛋白基因的转录与表达. *生物化学与生物物理进展*, 2005, **32**(9): 829-834
Jia Y L, Yu Z H, Chen X W. *Prog Biochem Biophys*, 2005, **32**(9): 829-834
- [29] 张帅, 刘森. 小分子泛素相关修饰物蛋白修饰对于发动蛋白相关蛋白 1 维持线粒体动力学平衡的影响. *生物化学与生物物理进展*, 2024, **51**(8): 1848-1859
Zhang S, Liu S. *Prog Biochem Biophys*, 2024, **51**(8): 1848-1859
- [30] 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. *北京师范大学学报: 自然科学版*, 2024, **60**(3): 331-343
Zhang D, Yu W, Liu M N, *et al.* *J Beijing Norm Univ Nat Sci*, 2024, **60**(3): 331-343
- [31] Uehara L, Saitoh S, Mori A, *et al.* Multiple nutritional phenotypes of fission yeast mutants defective in genes encoding essential mitochondrial proteins. *Open Biol*, 2021, **11**(4): 200369
- [32] Bolinches-Amorós A, Mollá B, Pla-Martín D, *et al.* Mitochondrial dysfunction induced by frataxin deficiency is associated with cellular senescence and abnormal calcium metabolism. *Front Cell Neurosci*, 2014, **8**: 124
- [33] Wiley D J, Catanuto P, Fontanesi F, *et al.* Bot1p is required for mitochondrial translation, respiratory function, and normal cell morphology in the fission yeast *Schizosaccharomyces pombe*. *Eukaryot Cell*, 2008, **7**(4): 619-629
- [34] Yuan R, Ding X, Tan X, *et al.* Loss of FZO1 gene results in changes of cell dynamics in fission yeast. *Int J Mol Med*, 2020, **46**(6): 2194-2206
- [35] Kirschke E, Goswami D, Southworth D, *et al.* Glucocorticoid receptor function regulated by coordinated action of the Hsp90 and Hsp70 chaperone cycles. *Cell*, 2014, **157**(7): 1685-1697
- [36] Young J C, Hoogenraad N J, Hartl F U. Molecular chaperones Hsp90 and Hsp70 deliver preproteins to the mitochondrial import receptor Tom70. *Cell*, 2003, **112**(1): 41-50
- [37] Bahr T, Katuri J, Liang T, *et al.* Mitochondrial chaperones in human health and disease. *Free Radic Biol Med*, 2022, **179**: 363-374
- [38] 程大也, 梁彬, 李丰. 爪蟾 p21 活化激酶 2 参与卵母细胞胞质分裂过程不依赖于 Cdc42. *生物化学与生物物理进展*, 2007, **34**(6): 653-658
Cheng D Y, Liang B, Li F. *Prog Biochem Biophys*, 2007, **34**(6): 653-658
- [39] Goss J W, Kim S, Bledsoe H, *et al.* Characterization of the roles of Blt1p in fission yeast cytokinesis. *Mol Biol Cell*, 2014, **25**(13): 1946-1957
- [40] Zimmermann D, Homa K E, Hocky G M, *et al.* Mechanoregulated inhibition of formin facilitates contractile actomyosin ring assembly. *Nat Commun*, 2017, **8**(1): 703
- [41] Coffman V C, Sees J A, Kovar D R, *et al.* The formins Cdc12 and For3 cooperate during contractile ring assembly in cytokinesis. *J*

- Cell Biol, 2013, **203**(1): 101-114
- [42] Trautmann S, Wolfe B A, Jorgensen P, *et al.* Fission yeast Clp1p phosphatase regulates G2/M transition and coordination of cytokinesis with cell cycle progression. Curr Biol, 2001, **11**(12): 931-940
- [43] Kwon L, Magee E M, Crayton A, *et al.* Fission yeast type 2 node proteins Blt1p and Gef2p cooperate to ensure timely completion of cytokinesis. BMC Mol Cell Biol, 2019, **20**(1): 1
- [44] Takaine M, Numata O, Nakano K. Fission yeast IQGAP arranges actin filaments into the cytokinetic contractile ring. EMBO J, 2009, **28**(20): 3117-3131
- [45] Hehnly H, Doxsey S. Polarity sets the stage for cytokinesis. Mol Biol Cell, 2012, **23**(1): 7-11
- [46] Kruppa A J, Buss F. Motor proteins at the mitochondria-cytoskeleton interface. J Cell Sci, 2021, **134**(7): jcs226084
- [47] Lawrence E J, Boucher E, Mandato C A. Mitochondria-cytoskeleton associations in mammalian cytokinesis. Cell Div, 2016, **11**: 3
- [48] Majstrowicz K, Honnert U, Nikolaus P, *et al.* Coordination of mitochondrial and cellular dynamics by the actin-based motor Myo19. J Cell Sci, 2021, **134**(10): jcs255844
- [49] Fu C, Jain D, Costa J, *et al.* mmb1p binds mitochondria to dynamic microtubules. Curr Biol, 2011, **21**(17): 1431-1439

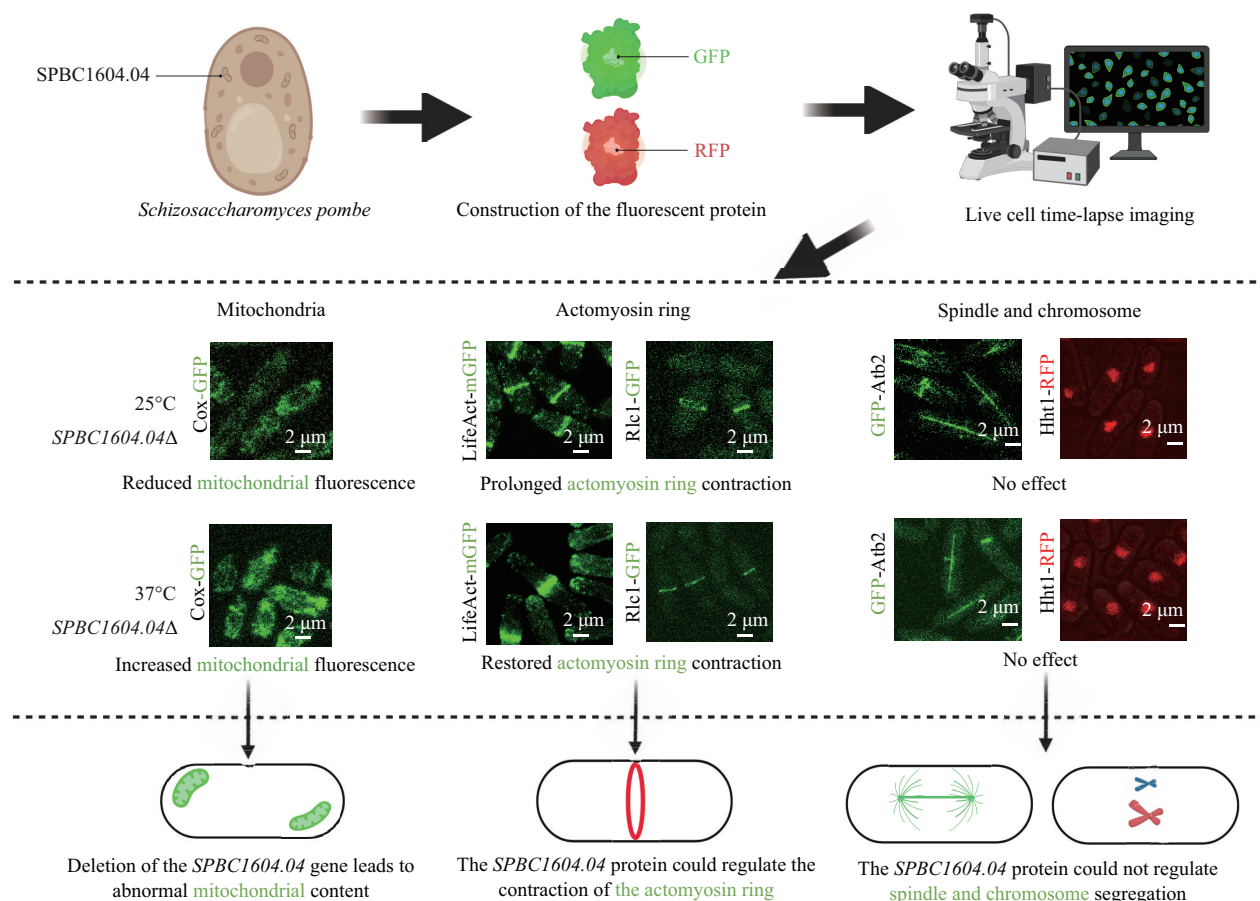
Effects of *SPBC1604.04* Gene Deletion on Mitotic Cell Dynamics in *Schizosaccharomyces pombe**

XU Jia-Ni¹⁾, HE Jia-Yi¹⁾, ZHENG Lang-Lin¹⁾, HE Shu-Rong²⁾, MA Shuai¹⁾,
DING Xiang²⁾, HOU Yi-Ling¹⁾**

¹⁾Key Laboratory of Southwest China Wildlife Resources Conservation, the Ministry of Education, College of Life Science,
China West Normal University, Nanchong 637009, China;

²⁾College of Environmental Science and Engineering, China West Normal University, Nanchong 637009, China)

Graphical abstract



* This work was supported by grants from Sichuan University and Nanchong Municipal People's Government University Industry Cooperation Special Fund (2025CDNC15), Applied Basic General Project of Sichuan Provincial Department of Science and Technology (2022NSFSC0107), Agricultural Scientific and Technological Achievement Transformation Funding Project of Sichuan Provincial Department of Science and Technology (2022NZJ0003), and Sichuan Provincial Transfer Payment for Scientific and Technological Achievement Transfer and Transformation Demonstration Project (22ZYZFSF0009, 23ZHSF0082).

** Corresponding author.

Tel: 86-13890807470, E-mail: starthlh@126.com

Received: October 21, 2025 Accepted: March 23, 2026

Abstract Objective Mitochondria are not only the central organelles responsible for cellular energy metabolism but also play essential roles in regulating cell cycle progression and cytoskeletal dynamics. In recent years, accumulating evidence has demonstrated that mitochondrial homeostasis is closely associated with mitotic progression and cytokinesis. *Schizosaccharomyces pombe* serves as a classical and well-established model organism. Because its cell cycle regulatory mechanisms are highly conserved throughout evolution, its genetic background is clearly defined, and experimental manipulation is efficient and convenient, it has been extensively applied in studies of cell growth, division, and reproductive mechanisms. The *SPBC1604.04* gene encodes a previously uncharacterized mitochondrial carrier protein in *Schizosaccharomyces pombe*. This gene is located on chromosome II and spans 1 018 base pairs in length. It encodes a protein consisting of 238 amino acids with a predicted molecular mass of approximately 31.03 ku. Bioinformatic analysis predicts that this protein is responsible for the transport of thiamine pyrophosphate (TPP) into mitochondria. However, the effects of *SPBC1604.04* gene deletion on mitotic cell dynamics under different temperature conditions have not been fully elucidated. **Methods** The *SPBC1604.04* deletion strain of *Schizosaccharomyces pombe* was used as the experimental model. Fluorescent protein markers were constructed in the deletion background to label mitochondria, microtubules, actin, myosin, the nuclear envelope, and chromosomes. Live-cell imaging was performed using a TCS-SP8 laser scanning confocal microscope under normal temperature conditions (25°C) and heat stress conditions (37°C). Time-lapse microscopy was applied to dynamically monitor mitochondrial morphology and distribution, spindle assembly and elongation, chromosome segregation, as well as the formation and constriction of the actomyosin ring during cytokinesis. ImageJ software was used for quantitative measurements, including microtubule length during mitosis, spindle length at different mitotic stages, mitochondrial fluorescence intensity as an indicator of mitochondrial content, actomyosin ring length, nuclear envelope area, and chromosome segregation timing. Statistical analyses were conducted to compare phenotypic differences between the wild-type and *SPBC1604.04* deletion strains at both temperature conditions. Through these analyses, we systematically investigated the impact of *SPBC1604.04* deletion on mitotic cell dynamics in fission yeast under both normal physiological conditions and temperature stress. **Results** At 25°C, compared with wild-type cells, the *SPBC1604.04Δ* strain exhibited a pronounced tendency toward mitochondrial fragmentation, accompanied by abnormal mitochondrial content and a significant reduction in mitochondrial fluorescence intensity. These observations suggest impaired mitochondrial homeostasis under normal growth conditions. In addition, the constriction time of actomyosin ring during cytokinesis was markedly prolonged, indicating that deletion of *SPBC1604.04* affects the dynamics of the contractile machinery. However, no obvious defects were observed in spindle assembly, spindle elongation, or chromosome segregation. Under heat stress at 37°C, mitochondrial morphology in the *SPBC1604.04Δ* strain showed a tendency to recover toward a continuous tubular network structure. Mitochondrial content was restored, fluorescence intensity increased, and the constriction time of the actomyosin ring returned to levels comparable to those of wild-type cells. These results indicate that the mitotic defects observed at normal temperature are partially or fully alleviated under heat stress conditions. **Conclusion** This study demonstrates that deletion of the *SPBC1604.04* gene leads to abnormal mitochondrial content in *Schizosaccharomyces pombe*. The mitochondrial carrier protein SPBC1604.04 participates in regulating actomyosin ring constriction during mitosis but does not appear to be directly involved in the regulation of spindle dynamics or chromosome segregation. Our findings provide key experimental evidence for understanding the functional link between the *SPBC1604.04* gene, mitochondrial homeostasis, and mitotic regulation.

Key words *Schizosaccharomyces pombe*, cell dynamics, mitochondria, *SPBC1604.04* gene, mitosis

DOI: 10.3724/j.pibb.2025.0455

CSTR: 32369.14.pibb.20250455