

# MreB 在鱼腥蓝细菌 PCC 7120 细胞分裂过程中的功能

李东霞 王 莉 陈雯莉

华中农业大学农业微生物学国家重点实验室, 武汉 430070

**摘要** 为研究 *Anabaena* sp. PCC 7120 中的细胞形态决定蛋白 MreB 的亚细胞定位和功能, 构建了由 *mreB* 自身启动子驱动的 *mreB-gfp* 融合载体, 通过接合转移的方法将其转化到野生型 *Anabaena* sp. PCC 7120 中, 获得绿色荧光蛋白标记的 MreB 的鱼腥蓝细菌菌株, 同时用 MreB 的抑制剂 A22 处理菌株。结果显示, MreB 的亚细胞定位随着细胞周期的进程而发生变化, A22 处理可导致 MreB 无法正确聚合定位。

**关键词** 鱼腥蓝细菌 PCC 7120; MreB; A22; 细胞分裂

**中图分类号** Q 939.9    **文献标识码** A    **文章编号** 1000-2421(2012)06-0672-07

细胞骨架是指存在于细胞内的蛋白纤维网络体系。细胞骨架在维持细胞形态、承受外力、保持细胞内部结构的有序性、染色体分离及物质运输等方面起重要作用。真核生物的细胞骨架蛋白非常丰富, 包括动态的微管蛋白和肌动蛋白、静态的中间丝蛋白。一直以来细胞骨架都被认为是真核生物所特有的结构, 但是近年来越来越多的研究证明它也存在于原核生物中, 如人们在细菌中已发现的 FtsZ、MreB 及 CreS, 这 3 种骨架蛋白分别是真核生物的微管蛋白、肌动蛋白和中间丝蛋白的类似蛋白<sup>[1-2]</sup>。

MreB 是普遍存在于杆状细菌中的一种蛋白质, 参与细胞形态的建成、细胞分裂、染色体分离和细胞极性的维持等生命过程, MreB 在氨基酸序列、组装方式、功能与结构方面均与真核生物中的肌动蛋白有着高度的相似性。在 *E. coli* 中的研究发现, MreB 的亚细胞定位随着细胞周期的进程而发生改变, 在细胞内呈螺旋状运动或者浓缩在细胞中央形成环状结构<sup>[3]</sup>。在新月柄杆菌 (*Caulobacter crescentus*) 中 MreB 也出现环状的形态, 并且依赖于 FtsZ<sup>[4]</sup>。对于枯草芽孢杆菌 (*Bacillus subtilis*), 当 *mreB* 和 *mbl* 发生突变时, 细胞分裂过程受到干扰<sup>[5]</sup>。因此, 推测 MreB 在细胞分裂过程中可能起着重要作用。

S-3,4-二氯苯基异硫脲简称 A22, 是 S-苯基异硫脲的一种衍生物。在大肠杆菌中的研究表明, A22 会影响细胞形态的改变, 引起细胞不对称分裂产生无核细胞<sup>[6]</sup>。目前的众多研究证明, 细胞形态决定蛋白 MreB 是细胞内 A22 的专一性靶标。在大肠杆菌、枯草芽孢杆菌和新月柄杆菌中, MreB 都沿着细胞的长轴形成螺旋状结构, 并且是动态存在的; 当 A22 存在时会干扰 MreB 的正确定位<sup>[4-7]</sup>。

*Anabaena* sp. PCC 7120 是一种能够进行产氧光合作用的丝状蓝细菌, 属于革兰氏阴性细菌<sup>[8-9]</sup>。当生长环境中的化合态氮源被剥夺后, 由营养细胞组成的菌丝上 5%~10% 的细胞将分化为一种专门固氮的细胞——异形胞<sup>[10]</sup>。异形胞负责固定空气中的 N<sub>2</sub>, 将其转化成化合态氮源并提供给营养细胞; 营养细胞则通过光合作用固定 CO<sub>2</sub>, 将产生的碳水化合物提供给异形胞<sup>[11-12]</sup>。因此在缺氮环境中, 这 2 种类型细胞在生理和功能上的相互协作是必要的。在 *Anabaena* sp. PCC 7120 中, A22 引起细胞形态发生改变, 导致细胞不对称分裂以及染色体的不对称分离<sup>[13]</sup>。但截至目前, 在 *Anabaena* sp. PCC 7120 中, MreB 与细胞分裂的相关性尚无研究报道。本研究通过构建 MreB 的 GFP 融合菌株, 观

收稿日期: 2012-05-29

基金项目: 国家自然科学基金项目(30670046 和 30970088)

李东霞, 硕士研究生。研究方向: 蓝细菌分子生物学。E-mail: li260@yahoo.cn

通讯作者: 陈雯莉, 博士, 教授。研究方向: 微生物学。E-mail: wlchen@mail.hzau.edu.cn

察其处在不同细胞周期时亚细胞定位的变化,进而推测 MreB 与细胞分裂之间的相关性。

## 1 材料与方法

### 1.1 菌株和质粒

本研究中使用的蓝细菌菌株和大肠杆菌菌株以及质粒见表 1。

### 1.2 分子生物学试剂

*Taq* 酶购自北京庄盟国际生物基因科技有限公司;高保真 DNA 聚合酶 KOD-plus 购自 Toyobo;PCR 引物合成和 DNA 序列测序由南京金斯瑞有限公司完成;TA 克隆试剂盒、限制性内切酶和 T4 连接酶均购自 TaKaRa;质粒抽提试剂盒、PCR 及胶回收试剂盒购自麦克莱博公司。

### 1.3 *mreB-gfp* 翻译融合质粒的构建

引物 P1 (5'-CCTT GCGGCCGC AGAAG-

TAGTAAGTATTCAAGTTGGT-3') 和 P2 (5'-CCTT CTGCAG CATATTCGAGATCGTC-CGCTAAAA-3') 由南京金斯瑞有限公司合成。以野生型 *Anabaena* sp. PCC 7120 的总 DNA 为模板, P1 和 P2 为引物, PCR 扩增获得包括 *mreB* 自身启动子在内的 *mreB* TLF 片段。通过 *Not* I 和 *Pst* I 对 PCR 产物进行双酶切, 连入使用同样双酶切的质粒 PSK-*gfp* 上, 获得质粒 PSK-*mreB* TLF-*gfp*。将质粒 PSK-*mreB* TLF-*gfp* 和 pRL25T 分别用 *Not* I 和 *Eco* R I 进行双酶切, 通过 T4 连接酶将 *mreB* TLF-*gfp* 片段和 pRL25T 连接, 获得最终质粒 pRL25T-*mreB* TLF-*gfp*。

### 1.4 结合转移(三亲本杂交)

将质粒 pRL25T-*mreB* TLF-*gfp* 转化到大肠杆菌 HB101 中, 获得供体菌株。在终质量浓度为 25  $\mu$ g/mL 氯霉素及 50  $\mu$ g/mL 卡那霉素的 LB 培养基

表 1 菌株和质粒

Table 1 Strain and plasmids used in the study

菌株及质粒 Strain and plasmids	特性 Properties	来源 Sources
鱼腥蓝细菌 PCC 7120 <i>Anabaena</i> sp. PCC 7120	丝状蓝细菌, 缺氮条件能分化异形胞 Filamentous cyanobacterium, differentiate into heterocysts when deprived of combined nitrogen sources in the environment.	笔者所在实验室保存 Stored in our laboratory
TG1	无甲基化作用的常规克隆宿主 Cloning host, lack of methylation	笔者所在实验室保存 Stored in our laboratory
TG1		
HB101/pRL623 HB101/pRL623	含帮助质粒 pRL623, Cm <sup>r</sup> Contain help plasmid(pRL623), Cm <sup>r</sup>	Wolk C. P. 赠送 Presented by C. P. Wolk
J53/RP4 J53/RP4	含接合质粒 RP4, Amp <sup>r</sup> /Kan <sup>r</sup> Contain conjugation plasmid(RP4), Amp <sup>r</sup> /Kan <sup>r</sup>	Wolk C. P. 赠送 Presented by C. P. Wolk
pBluescript SK(−) pBluescript SK(−)	克隆载体, Amp <sup>r</sup> Cloning vector, Amp <sup>r</sup>	笔者所在实验室保存 Stored in our laboratory
PSK-gfp PSK-gfp	克隆载体, Amp <sup>r</sup> Cloning vector, Amp <sup>r</sup>	笔者所在实验室保存 Stored in our laboratory
pRL25T pRL25T	穿梭载体, 可在 <i>Anabaena</i> sp. PCC 7120 中自主复制, Kan <sup>r</sup> Shuttle vector, auto-replication in the <i>Anabaena</i> sp. PCC 7120, Kan <sup>r</sup>	笔者所在实验室保存 Stored in our laboratory

中, 培养 30 mL 的供体菌。另外在终质量浓度为 100  $\mu$ g/mL 氨苄霉素及 50  $\mu$ g/mL 卡那霉素的 LB 培养基中, 培养 30 mL 的接合细菌 J53。两者均先过夜培养, 次日再活化培养至对数生长期。因 *Anabaena* sp. PCC 7120 生长周期长, 需要提前培养, 以保证在进行实验时菌株能够处于对数生长期。用 50 mL 离心管收集 HB101 及 J53 菌体, 6 000 r/min 离心 2 min, 用无抗的新鲜 LB 培养液洗涤菌体 2 次, 然后用少量 LB 重悬菌体, 将 2 种菌体混合在一起, 再用无抗 LB 洗涤菌体 1 次, 加入 1 mL LB 重

悬菌体, 备用。同时收集处于对数生长期的 *Anabaena* sp. PCC 7120, 弃上清, 取 500  $\mu$ L 加入到已备好的大肠杆菌菌液中。混匀置于光照培养 4 h 或者过夜, 取适量菌液涂布到无抗的 BG11 平板上, 置于光照培养箱中培养, 24 h 后加入筛选抗生素。待长出菌落后, 进行转接扩大培养。

### 1.5 A22 对 *Anabaena* sp. PCC 7120 的处理

在 30  $^{\circ}$ C, 150 r/min, 连续光照 (40  $\mu$ mol/(m<sup>2</sup> · s)) 环境中, 培养 *Anabaena* sp. PCC 7120 菌液至  $D_{750\text{nm}}$  为 0.2 左右, 分装到 50 mL 小三

角瓶中。加入 A22 使终质量浓度分别为 0、0.5、1.0、1.5、2.0、2.5 和 3.0  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , 每个质量浓度 3 个重复。每隔 12 h 取样, 测  $D_{750\text{ nm}}$  值; 同时使用荧光显微镜观察细胞。3 次重复。

## 2 结果与分析

### 2.1 MreB 在 *Anabaena* sp. PCC 7120 细胞内的定位模式

为研究 *Anabaena* sp. PCC 7120 中 MreB 在细胞内的亚定位以及它与细胞分裂及细胞分化的关系, 将质粒 pRL25T-*mreB*TLF-*gfp* 通过三亲本杂交转化到野生型的 *Anabaena* sp. PCC 7120 中, 利用荧光显微镜观察 MreB 在细胞内的亚定位。

显微镜观察结果显示, MreB 在细胞内的亚定位主要聚集为经线状, 分布于细胞膜上, 每个细胞可观测的 MreB 经线状聚合体丝约为 3~4 条(图版 I-1)。另外, 在显微镜下也发现一些形态不正常的细胞, 在这类细胞中 MreB 的亚定位呈杂乱直线状相互交错定位于细胞内(图版 I-2)。根据这一结果可推测: 在 *Anabaena* sp. PCC 7120 中 MreB 能否准确定位是与细胞形态密切相关的, 这可能是由于受到某种影响导致 MreB 单体蛋白错误聚合或错误定位, 进而引起细胞形态异常。当细胞处于分裂状态时, MreB 聚合体丝在细胞内以直线状贯穿于 2 个子细胞中(图版 I-3)。

### 2.2 MreB 定位随细胞周期进程的变化

不参与分裂的正常细胞中, MreB 聚合丝以经线状定位于细胞膜上; 随着细胞进入分裂状态, MreB 逐渐从细胞膜上解聚下来, 在细胞纵轴的中央重新聚合呈一条线, 并贯穿于 2 个子细胞中, 这种状态一直持续于整个分裂过程; 当分裂成 2 个子细胞时, MreB 再次解聚重新锚定到细胞膜上, 整个过程如图版 I-4 所示。这说明在 *Anabaena* sp. PCC 7120 中, MreB 的定位也会随着细胞周期的进程而发生改变。

### 2.3 A22 对 *Anabaena* sp. PCC 7120 中 MreB 亚定位的影响

在大肠杆菌、枯草芽孢杆菌和新月柄杆菌中, A22 的存在干扰了 MreB 的正确定位。为了研究 A22 对 *Anabaena* sp. PCC 7120 的 MreB 亚定位的影响, 通过构建质粒、三亲本杂交和抗性筛选获得了 MreB 的 GFP 翻译融合菌株, 然后再用 A22 处理菌株, 在荧光显微镜下进行表型观察。

1) A22 处理后 MreB 呈弥散的点状分布。当用 A22 处理 MreB 的 GFP 标记菌株后, MreB 不能进行正确聚合, 而是聚合成小颗粒状, 随机分散于整个细胞中。图版 I-5 中, A 是未用 A22 处理的 MreB 的亚细胞定位图, MreB 的亚定位呈经线状、直线状或异常杂乱直线交错定位; B 为 A22 处理菌株后 MreB 在细胞内的定位, 其中 A22 质量浓度为 3.0  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , 处理时间为 24 h, MreB 以颗粒状随机分散于整个细胞中。

2) A22 对 MreB 的定位的影响呈剂量效应。随着 A22 质量浓度的增加, 菌株的生长曲线越来越平缓, 表明 MreB 翻译融合菌株的生长抑制程度与 A22 的质量浓度正相关。2.0  $\mu\text{g}/\text{mL}$  A22 处理后, 细胞生长非常缓慢, 培养 24 h 后镜检发现菌丝开始断裂, 部分细胞裂解; 当培养到 48 h 时, 显微镜下基本观察不到细胞(图 1)。因此, A22 对 MreB 翻译融合菌株的最低抑制质量浓度为 2.0  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , 这与野生型 *Anabaena* sp. PCC 7120 中的结果一致。

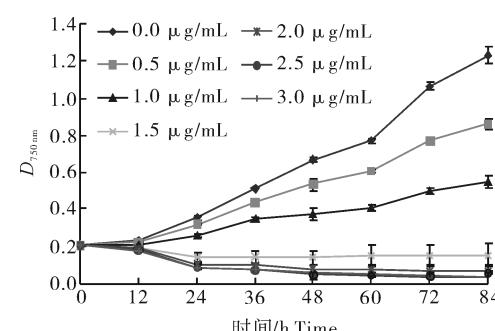


图 1 MreB 翻译融合菌株在含 A22 的液体 BG11 培养基中的生长曲线

Fig. 1 The growth curve of *Anabaena* sp. PCC 7120

(pRL25T-*mreB*TLF-*gfp*) when treated with A22

MreB 的亚细胞定位受到 A22 的影响, 这种影响呈剂量效应。当 A22 质量浓度为 0.5  $\mu\text{g}/\text{mL}$  时, 处理菌株 36 h 时细胞出现不对称分裂, 随着处理时间的延长, 这种现象更加明显, 细胞的大小和形状均发生改变, 但是 MreB 的亚定位没有受到影响。1.0  $\mu\text{g}/\text{mL}$  和 1.5  $\mu\text{g}/\text{mL}$  质量浓度的 A22 处理时均在 60 h 细胞开始不对称分裂。1.5  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的 A22 处理菌株 24 h 后细胞内的荧光以“点状”随机分布于细胞内, 36 h 时又恢复成线条状。质量浓度为 2.0  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的 A22 处理 12 h 后 MreB 出现异常定位, 到 24 h 时 MreB 完全以“点状”分布于细胞内, 随着处理时间的延长, 细胞逐渐裂解死亡。当 A22 质量

浓度达到 2.5  $\mu\text{g}/\text{mL}$  以上时, 处理 12 h 荧光即成为“点状”分布, 36 h 后细胞裂解死亡(图版Ⅱ)。

### 3 讨 论

MreB 是存在于原核生物中的肌动蛋白丝的类似蛋白。在 *C. crescentus*、*E. coli* 和 *B. subtilis* 中, MreB 在细胞内呈现动态的螺旋状分布, 它参与细胞形态的建成、染色体的分离及细胞极性的维持等过程<sup>[4,14-16]</sup>。而细胞形态变化是细菌细胞分裂的重要表征。另有研究证明, 在 *B. subtilis* 中, 当 *mreB* 和 *mbl* 发生突变时, 细胞分裂过程受到干扰<sup>[5]</sup>。因此推测 MreB 可能与细胞分裂有着密切的关系。本试验就 MreB 与细胞分裂间的关系在 *Anabaena* sp. PCC 7120 中展开了研究, 采用 GFP 标记蛋白质的方法研究 MreB 在细胞内的亚定位: 首先构建了 MreB 的翻译融合质粒, 通过三亲本实验将其转化到野生型的 *Anabaena* sp. PCC 7120 中, 再利用荧光显微镜观察 MreB 在细胞内的亚定位。

荧光显微镜观察结果显示, MreB 在细胞内以经线状定位于细胞膜上, 荧光显微镜下每个细胞可检测到 3~4 条蛋白聚合丝; 当细胞分裂时 MreB 蛋白聚合丝以直线状贯穿 2 个子细胞。根据结果可以推测: MreB 的定位随着细胞周期变化而变化, 在细胞分裂间期, MreB 蛋白聚合丝以经线状呈现于细胞膜内; 当细胞逐渐进入分裂状态时, MreB 蛋白聚合丝也逐渐从膜上解聚下来, 在细胞纵轴的中央重新聚合呈一条直线状, 并贯穿于 2 个子细胞中; 当进入分裂周期末期时, MreB 聚合丝再次以经线状重新锚定到细胞膜附近。MreB 可能就是通过这种动态的定位来协调处于细胞周期不同时期的细胞的形状。但是, 这与 Hu 等<sup>[17]</sup>对 MreB 定位的研究结果不一致。另外, Hu 等<sup>[17]</sup>研究认为, MreB 参与细胞形态的维持, 当 MreB 缺失后细胞形态仍为椭圆形, 但是细胞的长轴与菌丝的轴垂直。在本研究中发现 MreB 在细胞内的杂乱分布与细胞形态异常现象偶联。这可能是因为细胞受到了某种影响, MreB 在细胞内的亚定位发生错误, 不能形成正常的聚合丝, 从而不能行使正常功能导致细胞形态发生变化。本研究亦对 MreB 的翻译融合菌株进行了缺氮诱导, 观察营养细胞和异形胞中 MreB 的定位, 发现二者之间没有什么差别, 在异形胞中, MreB 以“经线状”锚定到细胞膜内面。这说明无论是营养细胞还是异形胞可能都需要 MreB 的参与来维持细胞的形态。

在细胞内 A22 的专一性靶标是 MreB, 它可以竞争 MreB 蛋白的 ATP 结合位点, 因此可用 A22 处理 MreB 的翻译融合菌株。研究结果显示, 当用 A22 处理 MreB 的翻译融合菌株后, MreB 不能进行正确聚合, 而是聚合成小颗粒状, 随机分散于整个细胞中。这有可能是 A22 能够特异结合到 MreB 蛋白上, 使得 MreB 无法正确聚合, 进而不能精确定位到细胞膜上行使正常功能。

本研究中, MreB 始终随着细胞周期的进程发生变化, 所以 MreB 可能与细胞分裂过程有着密切的关系。但 MreB 与细胞分裂的具体协调机制还需要进一步的实验来确证, 目前笔者所在课题组也正在尝试构建染色体整合 GFP 的菌株和免疫荧光原位杂交等实验来进一步研究 MreB 在 *Anabaena* sp. PCC 7120 中的功能。

### 参 考 文 献

- LOWE J, AMOS L. Crystal structure of the bacterial cell-division protein FtsZ[J]. *Nature*, 1998, 391: 203-206.
- VAN-DEN-ENT F, AMOS L, LOWE J. Prokaryotic origin of the actin cytoskeleton[J]. *Nature*, 2001, 413: 39-44.
- SIH Y, LE T, ROTHFIELD L. Division site selection in *Escherichia coli* involves dynamic redistribution of Min proteins within coiled structures that extend between the two cell poles[J]. *Proc Natl Acad Sci*, 2003, 100: 7865-7870.
- FIGGE R M, DIVAKARUNI A V, GOBER J W. MreB, the cell shape-determining bacterial actin homologue, coordinates cell wall morphogenesis in *Caulobacter crescentus*[J]. *Mol Microbiol*, 2004, 51: 1321-1332.
- FORMSTONE A, ERRINGTON J. A magnesium-dependent *mreB* null mutant: implications for the role of *mreB* in *Bacillus subtilis*[J]. *Mol Microbiol*, 2005, 55: 1646-1657.
- IWAI N, NAGAI K, WACHI M. Novel S-benzylisothiourea compound that induces spherical cells in *Escherichia coli* probably by acting on a rod-shape-determining protein(s) other than penicillin-binding protein 2[J]. *Biosci Biotechnol Biochem*, 2002, 66: 2658-2662.
- GITAI Z, DYE N, REISENAUER A, et al. MreB actin-mediated segregation of a specific region of a bacterial chromosome[J]. *Cell*, 2005, 120: 329-341.
- 胡璠, 王莉, 陈雯莉. 钙化裂颈蓝细菌 *schetR* 基因超表达菌株的构建及表型分析[J]. 华中农业大学学报, 2010, 29(4): 460-464.
- 张鹏, 王莉, 陈雯莉. 蓝细菌中与蓝细菌中 P II 蛋白或 NtcA 蛋白相互作用的 PipX 蛋白的生物信息学分析[J]. 华中农业大学学报, 2010, 29(1): 48-54.
- WOLK C, ERNST A, ELHAI J. Heterocyst metabolism and

- development[M]//BRYANT D. The molecular biology of *Cyanobacteria*. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1994: 769-823.
- [11] WOLK C. Heterocyst formation[J]. Annu Rev Genet, 1996, 30:59-78.
- [12] GOLDEN J, YOON H. Heterocyst development in *Anabaena* [J]. Curr Opin Microbiol, 2003, 6:557-563.
- [13] WU X, IWAI N, CHEN W. Effects of S-(3,4-dichlorobenzyl) isothiourea on different cellular events in the cyanobacterium *Anabaena* sp. strain PCC 7120[J]. Research in Microbiology, 2011, 162:375-381.
- [14] JONES L, CARBALLIDO-LOPEZ R, ERRINGTON J. Control of cell shape in bacteria: helical, actin-like filaments in *Bacillus subtilis*[J]. Cell, 2001, 104:913-922.
- [15] DYE N, PINCUS Z, THERIOT J A, et al. Two independent spiral structures control cell shape in *Caulobacter* [J]. Proc Natl Acad Sci, 2005, 102:18608-18613.
- [16] KRUSE T, BORK-JENSEN J, GERDES K. The morphogenetic MreBCD proteins of *Escherichia coli* form an essential membrane-bound complex[J]. Mol Microbiol, 2005, 55:78-89.
- [17] HU B, YANG G, ZHAO W, et al. MreB is important for cell shape but not for chromosome segregation of the filamentous cyanobacterium *Anabaena* sp. PCC 7120[J]. Molecular Microbiology, 2007, 63:1640-1645.

## Role of MreB on cell division of *Anabaena* sp. PCC 7120

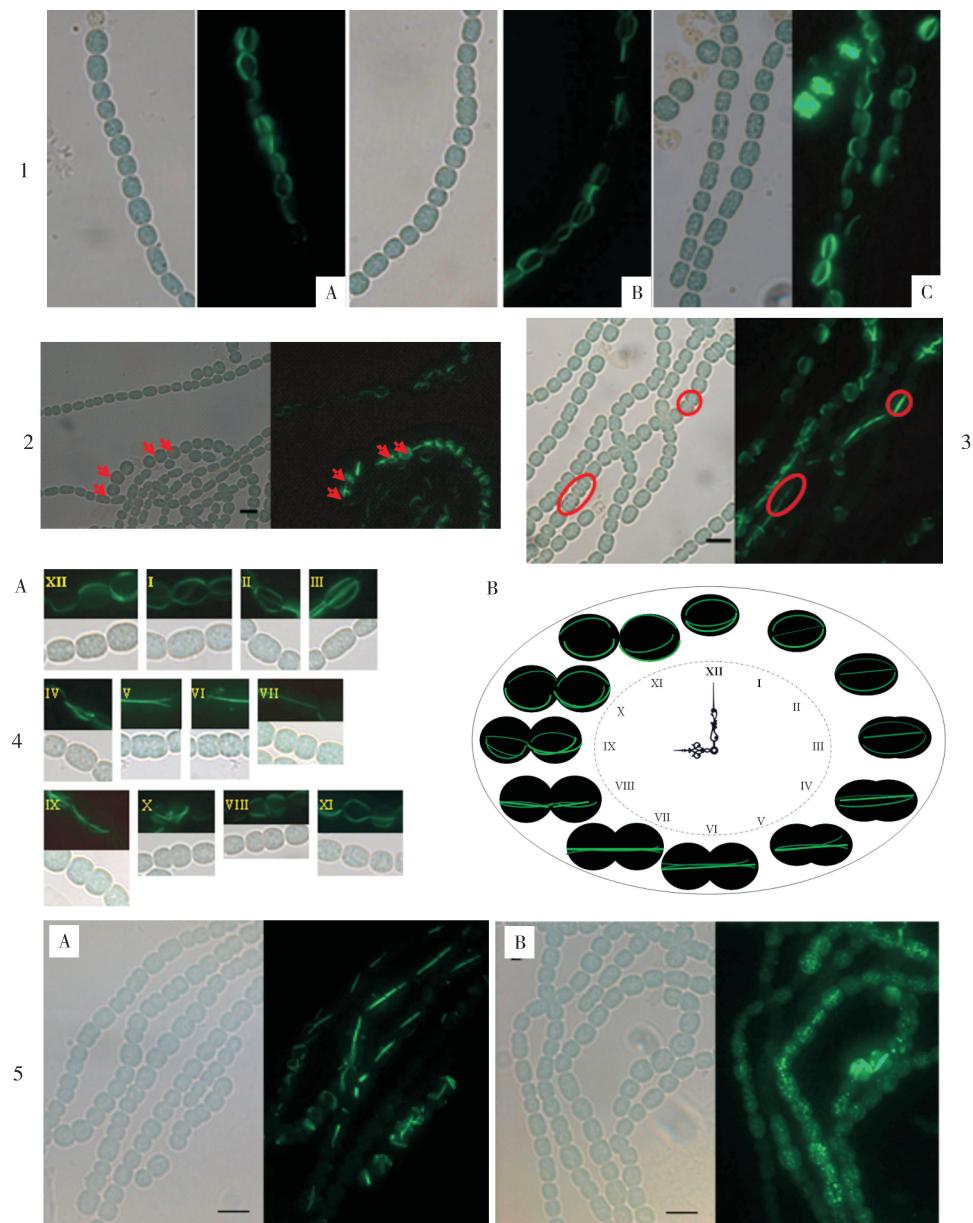
LI Dong-xia WANG Li CHEN Wen-li

State Key Laboratory of Agricultural Microbiology,  
Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China

**Abstract** Subcellular localization and function of MreB in *Anabaena* sp. PCC 7120 was investigated by using MreB-GFP fusion vector with a *mreB* promoter. Effects of A22 in *Anabaena* sp. PCC 7120 with a MreB-GFP were studied. The organization of MreB changes dynamically throughout the cell cycle. Treated with A22, the MreB-GFP protein can not aggregate normally.

**Key words** *Anabaena* sp. PCC 7120; MreB; A22; cell division

(责任编辑:张志钰)

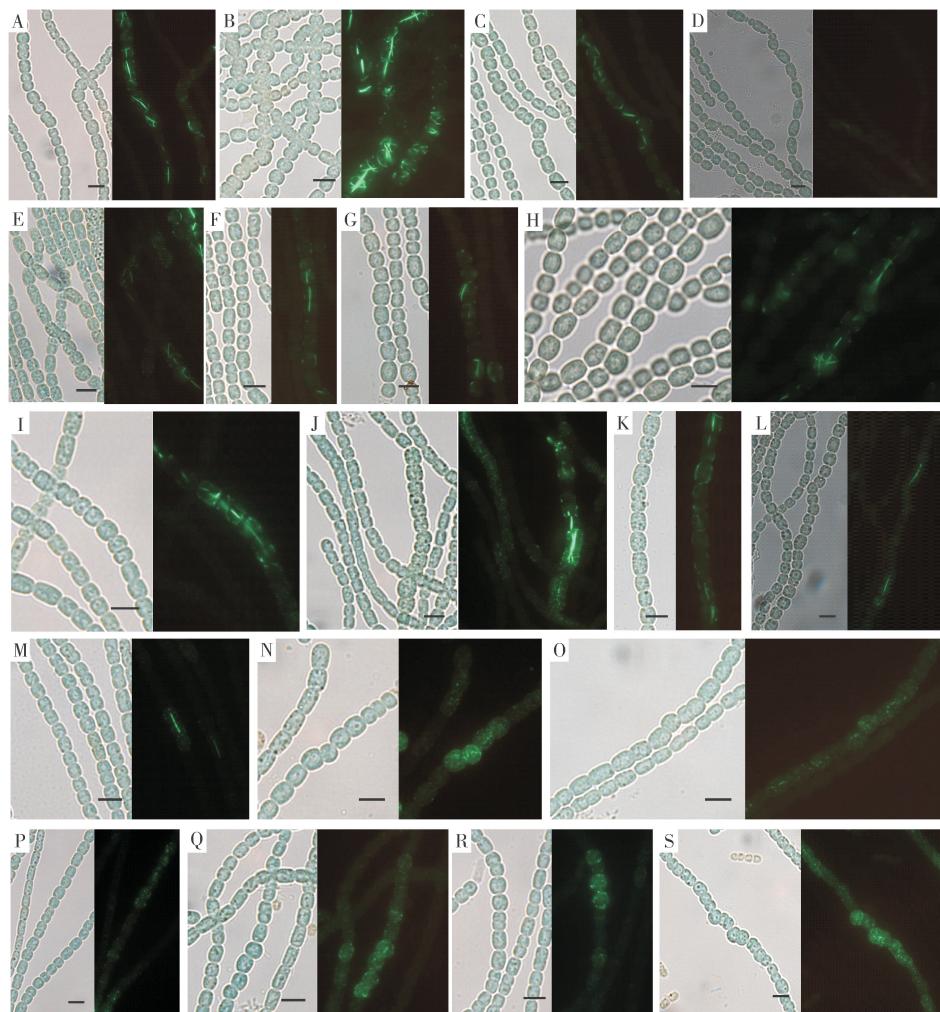


1. *Anabaena* sp. PCC 7120 中 MreB 的定位; A-C: 左为普通光视野, 右为荧光视野; 2. *Anabaena* sp. PCC 7120 中 MreB 的不正常定位与细胞形态有关; 左: 普通光视野; 右: 荧光视野; 箭头所指即为 MreB 定位异常的细胞; 3. *Anabaena* sp. PCC 7120 细胞分裂时 MreB 的定位; 左: 普通光视野; 右: 荧光视野; 红色圈里的细胞为正在分裂的细胞; 4. *Anabaena* sp. PCC 7120 在细胞周期中 MreB 的定位; A: 显微镜观察照片; B: 在不同细胞周期中 MreB 亚定位的示意图, 其中人为地将细胞周期分为 12 个状态; 5. A22 对 *Anabaena* sp. PCC 7120 中 MreB 定位的影响; A-B: 左为普通光视野; 右为荧光视野。

1. The localization of MreB in *Anabaena* sp. PCC 7120; A-C: Bright field image on the left, fluorescence micrographs on the right;
2. The abnormal localization of MreB correlated with cell morphology in *Anabaena* sp. PCC 7120; Left: Bright field image; right: fluorescence micrographs, the arrows indicate the cell in which the localization of MreB is abnormal;
3. The localization of MreB in the dividing *Anabaena* sp. PCC 7120; Left: Bright field image, Right: Fluorescence micrographs. The cells in the red circle are dividing;
4. The localization of MreB during the *Anabaena* sp. PCC 7120 division cycle; A: Microscope photos; B: Schematic diagram about the localization of MreB during the *Anabaena* sp. PCC 7120 division cycle.
5. Effect of A22 on the localization of MreB in *Anabaena* sp. PCC 7120; A-B: Bright field image on the left, fluorescence micrographs on the right.

图版 I MreB 在 *Anabaena* sp. PCC 7120 中的定位(标尺长度:5 μm)

Plate I The localization of MreB in *Anabaena* sp. PCC 7120 (Bar: 5 μm.)



A-D: MreB 的翻译融合菌株在终质量浓度为  $0.5 \mu\text{g}/\text{mL}$  的 A22 液体 BG11 中培养 12、24、36 和 48 h 时的细胞; E-H: MreB 的翻译融合菌株在终质量浓度为  $1.0 \mu\text{g}/\text{mL}$  的 A22 液体 BG11 中培养 12、24、36 和 48 h 时的细胞; I-L: MreB 的翻译融合菌株在终质量浓度为  $1.5 \mu\text{g}/\text{mL}$  的液体 A22BG11 中培养 12、24、36 和 48 h 时的细胞; M-O: MreB 的翻译融合菌株在终质量浓度为  $2.0 \mu\text{g}/\text{mL}$  的 A22 液体 BG11 中培养 12、24 和 36 h 时的细胞; P 和 Q: MreB 的翻译融合菌株在终质量浓度为  $2.5 \mu\text{g}/\text{mL}$  的 A22 液体 BG11 中培养 12 和 24 h 时的细胞; R 和 S: MreB 的翻译融合菌株在终质量浓度为  $3.0 \mu\text{g}/\text{mL}$  的 A22 液体 BG11 中培养 12 和 24 h 时的细胞。

A-D: The phenotypes of cells treated with A22 for 12, 24, 36 and 48 h. A22 was added to different final concentrations of  $0.5 \mu\text{g}/\text{mL}$ . E-H: The phenotypes of cells treated with A22 for 12, 24, 36 and 48 h. A22 was added to different final concentrations of  $1.0 \mu\text{g}/\text{mL}$ . I-L: The phenotypes of cells treated with A22 for 12, 24, 36 and 48 h. A22 was added to different final concentrations of  $1.5 \mu\text{g}/\text{mL}$ . M-O: The phenotypes of cells treated with A22 for 12 h, 24 h and 36 h. A22 was added to different final concentrations of  $2.0 \mu\text{g}/\text{mL}$ . P and Q: The phenotypes of cells treated with A22 for 12 and 24 h. A22 was added to different final concentrations of  $2.5 \mu\text{g}/\text{mL}$ . R and S: The phenotypes of cells treated with A22 for 12 and 24 h. A22 was added to different final concentrations of  $3.0 \mu\text{g}/\text{mL}$ .

图版 II A22 对 MreB 亚定位的剂量效应(标尺长度:5  $\mu\text{m}$ )

Plate II Dose effect of A22 on the localization of MreB(Bar:5  $\mu\text{m}$ )