

衣藻 CrFtsZ2-GFP 融合蛋白在 *E. coli* 中的表达及其定位胡 勇¹ 雷启义¹ 孔冬冬² 刘祥林¹ 何奕昆¹

(1. 首都师范大学生物系, 北京 100037; 2. 中国科学院植物研究所, 北京 100093)

摘要: FtsZ 蛋白在细菌的分裂中担任着重要作用, 能够在分裂位点形成一个环状结构而控制细菌的分裂过程。胞内 FtsZ 蛋白浓度的异常升高或降低均可阻断正常的细胞分裂过程进而形成分裂异常的丝状菌体。为了研究衣藻 FtsZ 蛋白的生物学活性, 构建了衣藻 *CrFtsZ2* cDNA 全长与绿色荧光蛋白基因 *egfp* 的融合表达质粒, 并对其在大肠杆菌中的表达与定位做了初步分析。在大肠杆菌 JM109 中, 融合表达质粒的过量表达导致宿主菌形成了丝状菌体, 通过荧光显微镜观察发现 *CrFtsZ2*-EGFP 融合蛋白沿着宿主菌体的纵轴方向有规律地聚集成荧光点或荧光带, 暗示衣藻 *CrFtsZ2* 蛋白能够识别宿主菌内分裂位点的定位信号并参与其细胞分裂过程, 初步验证了衣藻 *CrFtsZ2* 蛋白的功能。

关键词: FtsZ 蛋白; 衣藻; 融合表达; 细胞分裂

中图分类号: Q782 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3207(2004)05-0484-06

ftsZ (Filamenting temperature sensitive Z) 是从大肠杆菌温度敏感型突变体中分离得到的一种与细胞分裂密切相关的基因^[1, 2]。迄今为止, 人们已经在绝大多数原核生物中发现了 *ftsZ* 基因的存在, 并且不同物种中的 *ftsZ* 基因在序列和结构上呈现高度的保守性^[3]。随后的研究表明, FtsZ 蛋白作为原核细胞的骨架蛋白通常在细胞的分裂位点聚集形成一个环状多聚体 (Z) 环, 从而引发并控制原核生物的细胞分裂过程。在正常的细胞分裂周期中, *ftsZ* 基因发挥着不可替代的作用, 如果胞内 *ftsZ* 基因的表达异常, 则会导致细胞分裂受阻并形成不分裂的长丝状细胞^[4, 5]。近年来, 人们进一步发现 FtsZ 蛋白与植物细胞中叶绿体的分裂有着密切关系, 但与细菌中仅存在一个 *ftsZ* 拷贝不同, 植物中的 *ftsZ* 已经进化为两个不同的家族, 而且每种植物中至少含有两个 *ftsZ* 基因^[6-9]。抑制其中任何一个 *ftsZ* 基因的表达^[6, 10], 或者加强其中某一个基因的表达^[6, 7, 11], 均导致细胞中巨大叶绿体的产生, 该表型与正常衣藻细胞的巨大叶绿体相似。衣藻属于单细胞绿藻, 在所有现存的真核藻类中, 绿藻与陆生植物亲缘关

系最近^[12-16]。与其他植物细胞内含有多个叶绿体不同, 衣藻细胞仅含有一个巨大的叶绿体, 因而是研究叶绿体分裂机制的极好材料。为了研究叶绿体的分裂机制, 探讨衣藻细胞单一叶绿体的分裂过程, 本实验室已经从莱茵衣藻细胞中克隆了分别属于不同家族的两个 *ftsZ* 基因^[17]。鉴于 FtsZ 蛋白在原核细胞分裂中所发挥的重要作用以及其在功能和序列上的保守性, 将外源 *ftsZ* 基因转化到大肠杆菌中, 以观察其对宿主菌生长产生的影响, 进而研究 FtsZ 蛋白的功能已成为一种有效的手段^[18, 19]。本文将真核生物衣藻中属于 *ftsZ2* 家族的成员 *GrFtsZ2* 基因与绿色荧光蛋白基因构建成融合表达质粒, 对其在大肠杆菌中的表达和定位进行了研究。这为衣藻中不同 *ftsZ* 基因在质体分裂中的作用机制奠定了坚实的基础。

1 材料与方法

1.1 材料 pEGFP 质粒购自 Clontech 公司, pGEM11Zf(-) 质粒与 pBluscript II SK- 质粒由本实验室保存, 衣藻 *GrFtsZ2* 全长 cDNA 的克隆质粒

收稿日期: 2003-02-12; 修订日期: 2003-10-30

基金项目: 国家自然科学基金(批准号: GN39970356), 北京市自然科学基金(批准号: GN5992003) 资助项目

作者简介: 胡 勇 (1977—), 男; 湖北公安人; 博士生; 研究方向: 分子细胞生物学

通讯作者: 何奕昆, E-mail: yhee@mail.cnu.edu.cn, Tel: 010-68902375

pCHYZ2 由本室构建和保存^[17]。大肠杆菌菌株 JM109 由本室保存, *LA Taq* (GC BUFFER) 酶购自大连宝生物公司, 各种限制性内切酶及连接酶购自 Promega 及华美公司, DNA 序列测定由上海联合基因

公司完成。PCR 引物由上海生工生物工程服务有限公司合成, dNTP 与 DNA 电泳凝胶回收试剂盒购自上海生工生物工程服务有限公司。其他试剂及培养基购自华美等公司。

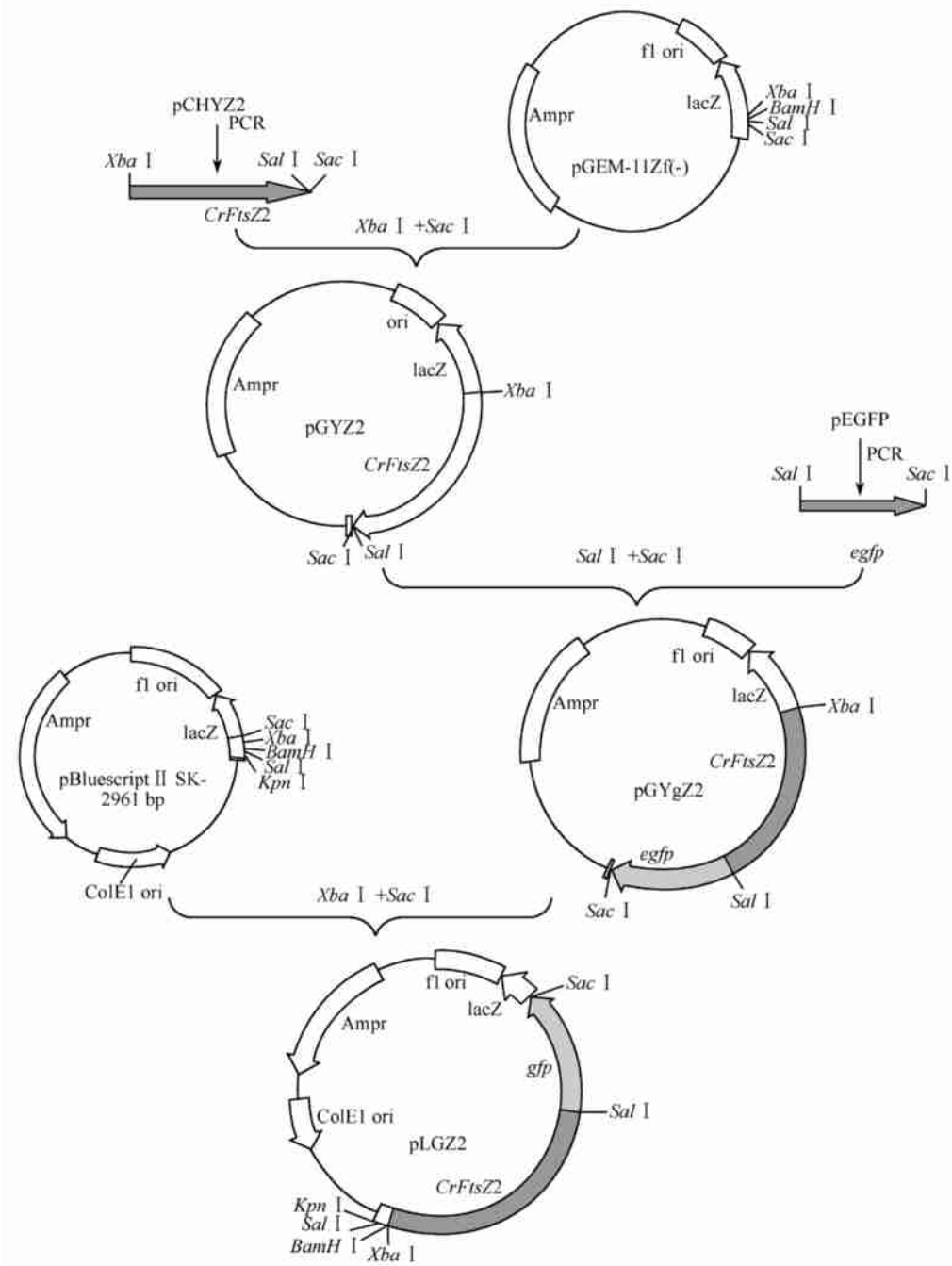


图 1 *CrFtsZ2* GFP 融合蛋白表达载体 pLGZ2 构建过程

Fig. 1 Schematic representation of the construction strategy of pLGZ2 expression vector

1.2 融合表达质粒 pLGZ2 的构建及重组质粒的鉴定 根据 *CrFtsZ2* cDNA 序列设计一对特异引物, 在上游引物 2HYLZS-5 的 5' 端加上 *Xba* I 酶切位点, 在下游引物 2HYLZAS-3 的 5' 端加上 *Sac* I

Sal I 酶切位点, 并去除 *CrFtsZ2* 本身的终止密码子, 以便与绿色荧光蛋白基因同框翻译。根据 *egfp* 的序列设计引物 GFP4, GFP5, 并分别在其两端加上酶切位点 *Sal* I *Sac* I。各引物序列如下:

2HYLZS-5: 5'-GC^{TCTAGA}_{Xba I}GAT GGC CAC TTT GTC
TGT T-3'
2HYLZAS-3: 5'-GC^{GAGCTCAGTCGAC}_{Sac I Sal I}CT TGC CCT
GCA CCC GGC G-3'
HYLGFP5: 5'-GC^{GTCGAC}_{Sal I}CCG GTC GCC ACC ATG
GTG-3'
HYLGFP4: 5'-GGC^{GAGCTC}_{Sac I}TTA CIT GTA CAG
CTC GTC-3'

扩增 *CrFtsZ2* 的 PCR 反应条件: 以 pCHYZ2 质粒为模板, 预变性 1min, 然后 94℃ 30s, 55℃ 30s, 72℃ 1min, 共进行 20 个循环, 最后 72℃ 延伸 5min。扩增 *egfp* 的反应条件为: 以 pEGFP 质粒为模板, 预变性 1min, 然后 94℃ 30s, 60℃ 30s, 72℃

30s, 94℃ 30s, 45℃ 30s, 72℃ 30s, 共进行 10 个循环。PCR 产物经琼脂糖凝胶电泳纯化回收后, 分别以 *Xba I* + *Sac I* 双酶切, 然后以无水乙醇 - 20℃ 沉淀回收, 得到纯化的片段, 并将它克隆到 *Xba I* + *Sac I* 双酶切的 pGEM11Zf(-) 载体上, 转化 JM109 感受态菌, 在选择培养基上筛选阳性转化子, 命名为 pGYZ2, 并进行 DNA 序列测定。测序的 pGYZ2 质粒经 *Sal I* + *Sac I* 双酶切后, 回收酶切产物, 并将它与经过同样双酶切的 *egfp* PCR 产物进行连接转化, 筛选阳性克隆, 将其命名为 pGYgZ2。最后将该质粒用 *Xba I* + *Sac I* 双酶切, 将酶切 DNA 片断回收后连接到经同样酶切的 pBluscriptII SK- 上, 筛选阳性克隆, 命名为 pLGZ2。

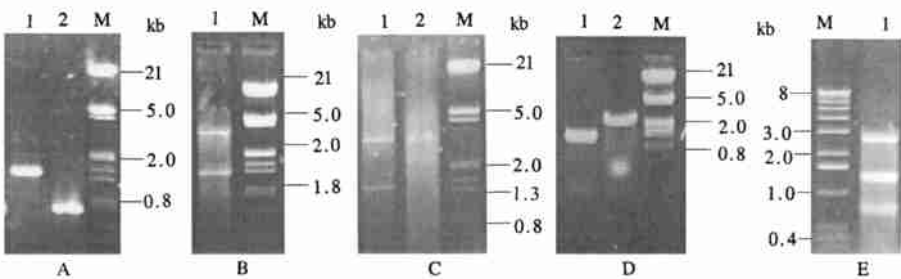


图2 重组质粒 pLGZ2 构建过程中 PCR 及酶切电泳图

Fig.2 Agarose gel electrophoresis of PCR and enzyme digestion

- A. Lane 1 and lane 2 indicated PCR products of *CrFtsZ2* and *egfp*; B. Reconstructed plasmid pGYZ2 digested by *Xba I* + *Sac I* ;
C. Lane 1 and lane 2 indicated reconstructed plasmid pGYgZ2 digested by *Sal I* + *Sac I* and *Xba I* + *Sal I* ;
D. Reconstructed plasmid pGYgZ2 identified by PCR; E. Reconstructed plasmid pLGZ2 digested by *Sal I* + *Sac I* ;
A. 泳道 1、2 分别为 *CrFtsZ2* 基因和 *egfp* 基因的 PCR 产物; B. 中间质粒 pGYZ2 *Xba I* + *Sac I* 酶切鉴定; C. 泳道 1、2 分别为中间质粒 pGYgZ2 的 *Sal I* + *Sac I* 和 *Xba I* + *Sal I* 双酶切鉴定; D. 中间质粒 pGYgZ2 的 PCR 鉴定; E. 重组质粒 pLGZ2 *Sal I* + *Sac I* 双酶切鉴定

载体构建过程见图 1, PCR 及酶切鉴定结果见图 2。

1.3 融合表达质粒 pLGZ2 在大肠杆菌 JM109 中的表达及对照体系的建立 将转化有融合表达质粒 pLGZ2 的大肠杆菌 JM109 在选择培养基上划线 (Amp^r 80μg/mL) 培养后, 挑取单菌落于液体培养基中 37℃ 摇培过夜, 次日以 1/100 比例取过夜培养物分别接种于含有 0mmol/L 和 1mmol/L IPTG 的 LB 液体培养基中 (Amp^r 80μg/mL), 在 37℃ 摇培 5h 后, 取样进行显微观察; 同时对转化有 pEGFP 质粒的大肠杆菌 JM109 做同样的处理, 以作为融合表达质粒 pLGZ2 的对照体系。

1.4 大肠杆菌 JM109 转化菌体形态的显微观察 将转化有外源质粒的 JM109 过夜培养物与等体积预热的 0.5% 低熔点琼脂糖混匀后滴于无荧光载片上, 压片后利用微分干涉观察所有大肠杆菌 JM109 的菌体形态, 采用蓝光激发和标准滤光片进行显微

荧光观察。上述显微观察均采用 Leica DMRE 型多功能显微镜, 并利用 SPOT RT COOL CCD 数码采集系统采集图像。

2 结果

2.1 融合表达质粒 pLGZ2 的构建与重组质粒的鉴定

融合表达质粒 pLGZ2 构建的物理过程如图 1 所示, 分别以酶切或 PCR 方法对各种重组质粒进行鉴定, 最终将 pLGZ2 送测序公司进行进一步鉴定。为了避免 PCR 扩增所产生的碱基突变, 在 PCR 反应混合液中适当增加模板量, 减少 PCR 扩增循环数, 最终的测序结果证明此方法行之有效。

2.2 融合表达质粒 pLGZ2 对大肠杆菌 JM109 菌体形态的影响

正常的大肠杆菌长为 2—6μm, 以 pEGFP 质粒转

化的大肠杆菌 JM109, 在 IPTG 诱导前后菌体没有发生明显变化, 细胞的长度在 2—6 μ m 之间(图 3A, 3B); 而以融合表达质粒 pLGZ2 转化的大肠杆菌 JM109, 在 IPTG 诱导前后菌体形态发生了明显变化。未经 IPTG

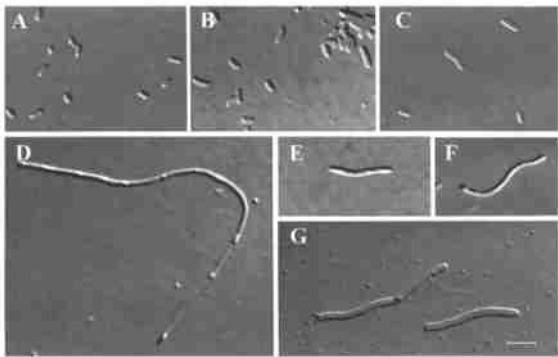


图 3 *CrFtsZ2* 基因在大肠杆菌中的表达对宿主细胞形态的影响
Fig. 3 Expressions of *CrFtsZ2* in *E. coli* and effect on the morphology of host cells
A. control, without IPTG induction; B. control, with IPTG induction for 5h; C. cells contain pLGZ2 plasmids, without IPTG induction; D, E, F, G *E. coli* overexpressing *CrFtsZ2*/GFP showing filamentous phenotype. with IPTG induction for 5h; (c); The bars in picture are 5 μ m
A. 对照菌, 无 IPTG 诱导; B 对照菌, IPTG 诱导 5h; C 转化了 pLGZ2 质粒的大肠杆菌 JM109 细胞, 无 IPTG 诱导; D, E, F, G. 过量表达 *CrFtsZ2*/GFP 融合蛋白的大肠杆菌 JM109 细胞, IPTG 诱导 5h。图中标尺均为 5 μ m

诱导的 pLGZ2 转化菌菌体大小与对照菌大小形态相似(图 3C)。而经 IPTG 诱导后, 细菌菌体比对照菌

长出约 5—10 倍, 个别细菌甚至长约 150 μ m(图 3D, 3E, 3F, 3G)。这些表型与大肠杆菌中 FtsZ 蛋白过量表达所产生表型类似^[20]。实验结果说明 *CrFtsZ2* 基因的表达影响了大肠杆菌的正常分裂过程。

2.3 融合表达质粒 pLGZ2 在大肠杆菌 JM109 中的荧光观察与定位分析

在 IPTG 的诱导下, 含有 pEGFP 质粒的大肠杆菌(对照菌)的菌体形态没有明显变化, 整个细胞内都充满荧光(图 4A)。而 *CrFtsZ2*-EGFP 融合蛋白在宿主菌中的表达严重干扰了宿主菌自身正常的细胞分裂, 致使宿主菌菌体形态发生了明显的变化(图 3D, 3E, 3F, 3G)。通过荧光显微镜观察发现, 沿宿主菌菌体纵轴方向有规律地分布着荧光点(图 4B, 4C, 4D, 4E), 这些荧光聚集的区域可能代表了宿主菌中潜在的分裂位点。由于不同的细菌生长状况不相同, 因而细菌中两个相邻的荧光点间的间距大小存在一定的差别。在图 4C、4D 中相邻荧光亮点之间的间距在 2 μ m 左右, 接近正常大肠杆菌的长度。图 4D 细菌中两个相邻荧光点的间距较大, 为 4 μ m 左右, 与大肠杆菌的正常长度也相吻合。依据以上实验结果, 推测衣藻 *CrFtsZ2* 蛋白依然能够识别宿主菌中分裂位点的定位信号, 并且可以与宿主菌中的内源蛋白相互作用而参与分裂装置的组成, 从而在分裂位点聚集, 所以在这些区域形成了荧光点; 同时, 外源 *CrFtsZ2* 蛋白的过量表达也严重干扰了宿主菌的正常分裂过程。这一现象与用 GFP 标记的内源 FtsZ 蛋白在大肠杆菌中的过量表达结果相似^[20]。

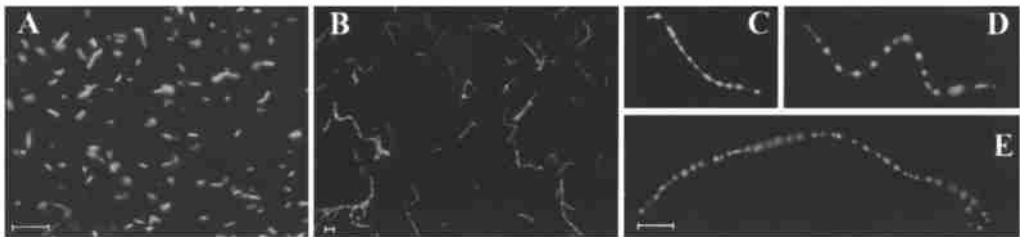


图 4 *CrFtsZ2* EGFP 融合蛋白的荧光显微观察
Fig. 4 Intracellular Location of *CrFtsZ2* EGFP fusion protein in *E. coli*
A. *E. coli* contain pEGFP plasmids, with IPTG induction for 5 h; B. *E. coli* overexpressing *CrFtsZ2*/GFP showing filamentous phenotype. C, D, E. *E. coli* contain pLGZ2 plasmids, GFP fluorescence representing *CrFtsZ2* localisation; The bars in picture is 10 μ m
A. 转化了 pEGFP 质粒的对照菌, IPTG 诱导 5h, 整个细胞内都充满荧光; B 在 IPTG 诱导 5h 后, 过量表达 *CrFtsZ2*/GFP 融合蛋白的大肠杆菌 JM109。C, D, E *CrFtsZ2* EGFP 融合蛋白在大肠杆菌细胞中的荧光定位。图中所有标尺均为 10 μ m

3 讨论

真核生物 FtsZ 蛋白是第一个鉴定出的与叶绿

体分裂相关的基本蛋白^[21]。由于细菌与叶绿体采用相似的分裂方式, 因而在分裂过程中 FtsZ 蛋白可能行使相似的功能。在细菌分裂时, FtsZ 蛋白单体

能够在分裂位点聚集组装成一个环状结构,从而控制细菌的分裂活动^[3-5]。近年来,人们通过对高等植物及某些藻类的电镜观察也发现在质体的收缩区域存在着一种电子密度物质组成的环状结构^[22, 23]。这暗示在真核生物叶绿体的分裂过程中可能遵循类似于原核生物的分裂机制。但是,与细菌不同的是,真核生物中的 *ftsZ* 基因并不是以单拷贝存在,而是分歧为两个不同的家族^[6-9]。

为了研究真核生物 FtsZ 蛋白与原核生物 FtsZ 蛋白的相互作用以及叶绿体的分裂机制。从衣藻中克隆了属于 *ftsZ2* 家族的 *CrFtsZ2* 基因^[17], 将其与 *egfp* 基因构建成融合表达质粒后, 转化大肠杆菌进行表达与定位分析。通过对转化菌菌体形态的显微观察, 发现 *CrFtsZ* 蛋白的表达严重干扰了宿主菌细胞的正常分裂。虽然作者未能在转化有 pLGZ2 融合表达质粒的大肠杆菌中观察到类似于原核细胞分裂时所形成的分裂环结构, 但可以认为图 4B、4C、4D、4E 中每一个荧光亮点就是一个环状结构。此外, 衣藻中还克隆了属于 *ftsZ1* 家族的 *CrFtsZ3* 基因, 在大肠杆菌中的荧光定位分析结果与本文报道的 *CrFtsZ2* 的结果相同。即衣藻中两个家族的 *ftsZ* 基因均能够正确的识别宿主菌体内的分裂位点, 从而在分裂部位聚集形成荧光点; 同时在外加 IPTG 诱导下来源于衣藻的 2 个 FtsZ 蛋白的表达严重干扰了宿主菌的正常分裂活动, 并导致宿主菌形成丝状细胞, 这暗示衣藻中不同家族的 *ftsZ* 基因与大肠杆菌的 *ftsZ* 基因在维持正常的细胞分裂过程中担负着相似的功能。但是, 如果真核生物中不同的 *ftsZ* 拷贝在维持叶绿体的正常分裂过程中具有相同的作用, 那么 *ftsZ* 拷贝数增加的意义何在, *ftsZ* 基因在植物中分化成两个小的家族又有何意义? 因此, 真核生物中 *ftsZ* 基因数目的增加以及 *ftsZ* 基因家族的分化都预示着内共生起源的叶绿体的分裂机制将是一个更加复杂的问题。本文的研究工作为叶绿体乃至整个质体分裂机制的深入研究奠定了初步的基础。

参考文献:

- [1] Hirota Y. Themosensitive mutants of *E. coli* affected in the process of DNA synthesis and cell division[J]. *Cold Spring Harbor Symp Quant Biol*, 1968, **33**: 677
- [2] Lutkenhaus J F, Woß Watz H, Donachie W D. Organization of genes in the *ftsA-emA* region of the *Escherichia coli* genetic map and identification of a new *fts* locus (*ftsZ*) [J]. *J Bacteriol*, 1980, **142**(2): 615—620
- [3] Lutkenhaus J F, Addinall S G. Bacterial cell division and the Z ring [J]. *Ann rev Biochem*, 1997, **66**: 93—116
- [4] Bi E F, Lutkenhaus J. FtsZ ring structure associated with division in *Escherichia coli* [J]. *Nature*, 1991, **354**(6349): 161—164
- [5] Addinall S G, Bi E, Lutkenhaus J. FtsZ ring formation in *fts* mutants [J]. *J Bacteriol*, 1996, **178**(13): 3877—3884
- [6] Ostersyoung K W, Stokes K D, Rutherford S M, et al. Chloroplast division in higher plants requires members of two functionally divergent gene families with homology to bacterial *ftsZ* [J]. *Plant Cell*, 1998, **10**: 1991—2004
- [7] Wang D, Kong D D, Ju C L, et al. Effects of tobacco plastid division genes *NtFtsZ1-1* and *NtFtsZ1-2* on the division and morphology of chloroplasts [J]. *Acta Botan Sin*, 2002, **44**(7): 838—844
- [8] He Y K, Zhu C F, Wang D, et al. Cloning of plastid division gene *GlFtsZ* from *Gentiana lutea* and its expression during petal development [J]. *Prog Nat Sci*, 2002, **12**(8): 592—597(何奕昆, 朱长甫, 王东等. 龙胆 *GlFtsZ* 基因的克隆及其在花瓣发育过程中的表达. 自然科学进展, 2002, **12**(8): 821—825)
- [9] Reski R. Rings and networks: the amazing complexity of FtsZ in chloroplasts [J]. *Trends Plant Sci*, 2002, **7**(3): 103—105
- [10] Strepp R, Scholz S, Kruse S, et al. Plant nuclear gene knockout reveals a role in plastid division for the homolog of the bacterial cell division protein FtsZ, an ancestral tubulin [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, **95**: 4368—4373
- [11] McAndrew R S, Froehlich J E, Vitha S, et al. Colocalization of plastid division proteins in the chloroplast stromal compartment establishes a new functional relationship between FtsZ1 and FtsZ2 in higher plants [J]. *Plant Physiol*, 2001, **127**: 1656—1666
- [12] Wakasugi T, Nagai T, Kapoor M, et al. Complete nucleotide sequence of the chloroplast genome from the green alga *Chlorella vulgaris*: the existence of genes possibly involved in chloroplast division [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1997, **94**: 5967—5972
- [13] Martin W, Stoebe B, Goremykin V, et al. Gene transfer to the nucleus and the evolution of chloroplasts [J]. *Nature*, 1998, **393**: 162—165
- [14] Douglas, S E, Penny S L. The plastid genome of the cryptophyte alga, *Guillardia theta*: complete sequence and conserved synteny groups confirm its common ancestry with red algae [J]. *J Mol Evol*, 1999, **48**(2): 236—244
- [15] Glockner G, Rosenthal A, Valentin K. The structure and gene repertoire of an ancient red algal plastid genome [J]. *J Mol Evol*, 2000, **51**: 382—390
- [16] Martin W, Hermann R G. Gene transfer from organelles to the nucleus: how much, what happens, and why [J]? *Plant Physiol*, 1998, **118**: 9—17
- [17] Hu Y, Wang D, Kong D D, et al. Cloning and phylogenetic analysis of *GrFtsZ2* in *Chlamydomonas reinhardtii* [J]. *Chin J Biochem Mol Biol*, 2003, **19**(1): 127—132(胡勇, 王东, 孔冬冬, 等. 衣藻质体分裂相关基因 *GrFtsZ2* 的克隆及其进化分析. 中国生物化学与分子生物学报, 2003, **19**(1): 127—132)
- [18] Baumann L, Baumann P. Characterization of *ftsZ*, the cell division gene of *Buchnera aphidicola* (endosymbiont of aphids) and detection of the product [J]. *Curr Microbiol*, 1998, **36**(2): 85—89
- [19] Salimnia H, Radia A, Bernatchez S, et al. Characterization of the *ftsZ* cell division gene of *Neisseria gonorrhoeae*: expression in *Escherichia*

- coli* and *N. gonorrhoeae* [J]. *Arch Microbiol*, 2000, **173**(1): 10—20
- [20] Ma X, Ehrhardt D W, Margolin W. Colocalization of cell division proteins FtsZ and FtsA to cytoskeletal structures in living *Escherichia coli* cells by using green fluorescent protein [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1996, **93**(23): 12998—13003
- [21] Osteryoung K W, Vierling E. Conserved cell and organelle division [J]. *Nature*, 1995, **376**, (6540): 473—474
- [22] Kuroiwa T, Kuroiwa H, Sakai A, *et al.* The division apparatus of plastids and mitochondria [J]. *Int Rev Cytol*, 1998, **181**: 1—41
- [23] Kuroiwa T. The discovery of the division apparatus of plastids and mitochondria [J]. *J Electron Microsc*, 2000, **49**(1): 123—134

EXPRESSION AND LOCATION OF *CRFtsZ2* GENE FROM *CHLAMYDOMONAS REINHARDTII* IN *E. coli*

HU Yong¹, LEI Qi-Yi¹, KONG Dong-Dong², LIU Xiang-Lin¹ and HE Yi-Kun¹

(1. Department of Biology, Capital Normal University, Beijing 100037; 2. Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100093)

Abstract: In the current model for bacterial cell division, the essential cell division protein FtsZ forms a ring that marks the division plane, creating a cytoskeletal framework for the subsequent action of other proteins. FtsZ protein localizes to the cell midpoint very early in cytokinesis. FtsZ is probably present in all eubacteria, archaea. Immunoelectron microscopy of thin sections of bacterial cells demonstrated that FtsZ polymerizes to form a circumferential ring at the mid-cell division site, constricting at the leading edge of the invaginating septum that eventually separates the two daughter cells. The deficiency or overexpression of FtsZ inhibits the normal cell division, leading filamentation cells in *E. coli*. Consistent with its cytoskeletal role, FtsZ has certain properties in common with the eukaryotic cytoskeletal protein tubulin. Like tubulin, purified FtsZ binds and hydrolyzes GTP and polymerizes to form long tubules in a GTP-dependent manner.

Because plastids have arisen from an endosymbiotic event between a primitive eukaryotic cell and a photosynthetic prokaryote, bacterial cell division has been used as a paradigm to dissect plastid division. It is now clear that plant chloroplasts maintain the division apparatus from their bacterial progenitors. Here, we use green fluorescent protein (GFP) to tag CrFtsZ2, which was encoded by *CrFtsZ2* gene from a unicellular green alga *Chlamydomonas reinhardtii*, so that their structure and location can be visualized in living *E. coli* cells.

To visualize FtsZ proteins in living *E. coli* cells, a reconstructed plasmid, named pLGZ2, was constructed that contained GFP fusions to full-length *CftsZ* cDNA. Expression of the fusions was under control of the *lac* promoter operator on the plasmids and *lacIq* on the same plasmid. The localization and structure of FtsZ-GFP were characterized in living cells taken from freshly grown liquid cultures with IPTG for 5 hours. The phenotypes of the cells contain pLGZ2, showing normal length, were similar with the wild type when without IPTG. After inducing with IPTG, however, *E. coli* cells with higher levels of CrFtsZ-GFP were inhibited for cell division and often exhibited bright fluorescent dots that spanned the length of the filamentous cells. The spacing of the dots was remarkably uniform in any given cell, but ranged anywhere between 2 μ m and as much as 5 μ m, depending on the cell. The dots were located consistently suggesting that this form of CrFtsZ-GFP was probably localizing to potential division site (PDS). These results implied that CrFtsZ protein from *Chlamydomonas reinhardtii* could still recognize the signals for division site positioning in bacteria and take part in the bacterial division complexity. Furthermore, these results not only provide the direct evidence to support the endosymbiosis hypothesis, but also establish a feasible foundation for further studies of *in vitro* polymerization and *in vivo* subcellular localization of eukaryotic FtsZ.

Key words: FtsZ protein; *Chlamydomonas reinhardtii*; Confusion expression; Cell division