

DOI: 10.3724/SP.J.1005.2011.00576

染色体移动复合物的结构、定位与功能

戴建国¹, 郑慧华², 张平²

1. 南京中医药大学病理学教研室, 南京 210029
2. 浙江中医药大学病理学教研室, 杭州 310053

摘要: 染色体移动复合物主要由蛋白激酶 Aurora B、内层着丝粒蛋白、存活蛋白及蛋白 Borealin 组成。它在细胞分裂的不同阶段, 能及时精确地定位到相关部位并作用于相应底物; 具有调节染色质组蛋白磷酸化, 控制姐妹染色单体的粘着、分离, 参与分裂纺锤体组装及其对染色体的捕捉, 纠正动粒与微管间不适当附着, 将染色体精确分配到子细胞及促进胞浆分离等重要功能。文章简要介绍了染色体移动复合物的结构成分, 在染色体臂部、内层着丝粒及纺锤体中区的定位过程, 及其定位在不同部位的相应功能。

关键词: Aurora B; 内层着丝粒蛋白; 存活蛋白; Borealin; 驱动蛋白; 胞浆分离

Structure, localizations and functions of chromosomal passenger complex

DAI Jian-GUO¹, ZHENG Hui-Hua², ZHANG Ping²

1. Department of Pathology, Nanjing Chinese Medical University, Nanjing 210029, China;
2. Department of Pathology, Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310053, China

Abstract: Chromosomal passenger complex (CPC) is mainly composed of a protein kinase Aurora B, inner centromere protein, Survivin, and Borealin. As in different periods of cell division, CPC can localise correctly to relevant destinations in time and interact on its different substrates in the mitotic cell. CPC modulates phosphorylation of histone H3 in chromatin aggregation and controls cohesion or segregation of sister chromatids. It is involved in assembly of a mitotic spindle and its chromosomes caught. Moreover, CPC corrects attachment errors between kinetochore and microtubule and gives faithfully chromosomal segregation and promoting cytokinesis. Here, the structure components, localization on chromosomal arms, inner centromere and central spindle, and functions in different positions of CPC were briefly described.

Keywords: Aurora B; inner centromere protein; survivin; Borealin; kinesin; cytokinesis

细胞周期分子调节的深入研究, 使人们对细胞生化、极性、运动、分化等方面的认识不断更新, 尤其不断发现许多新基因及其产物的重要功能, 产生了一系列新理论、新概念, 形成了分子细胞生物学中的前沿领域——细胞周期的分子动力学(Molecular dynamics of cell cycle), 染色体移动复合物(Chromosomal passenger

complex, CPC)的发现, 为这一领域内的理论增添了新的一页。CPC 是细胞分裂时调节动粒与纺锤体微管间适当附着、将染色体精确分配到子细胞的大分子复合体。它是继周期素(Cyclin)/周期素依赖激酶(CDK)之后新发现的细胞周期重要调节物^[1], 是保证细胞有序分裂、分化的分子物质基础。

收稿日期: 2010-09-03; 修回日期: 2010-11-11

作者简介: 戴建国, 博士研究生, 专业方向: 细胞周期的分子调节。

通讯作者: 张平, 教授, 研究方向: 细胞周期的分子调节。E-mail: shueiwx@yahoo.com.cn

1 CPC 的结构及其相关蛋白

已发现 CPC 由 4 种核心蛋白即 Aurora B、内层着丝粒蛋白(Inner centromere protein, INCENP)、存活蛋白(Survivin)及蛋白 Borealin 组成^[1,2]。CPC 中关键成分是 Aurora B, 属丝氨酸-苏氨酸蛋白激酶, 其余蛋白是调节 Aurora B 激酶活性、保证 Aurora B 在细胞周期不同阶段及时定位到相关部位、发挥不同功能的辅助成分, 这些蛋白中任何一种有缺陷均可造成细胞分裂时染色体移动障碍^[3,4]。存活蛋白在细胞分裂及凋亡过程中均有重要功能, 它作为 CPC 成分可在着丝粒等多处定位, 其移动性受蛋白质泛素化(Ubiquitination)的调节, 是对纺锤体中部张力敏感的动态信息物; 而 INCENP、Aurora B 及 Borealin 三者是固定结合的^[5,6]。Borealin 在 G₂/M 期表达增加, 参与 CPC 定位, 其羧基端区被结合则 CPC 定位到着丝粒(Centromere), 氨基端区与 INCENP、存活蛋白结合则定位到纺锤体中区(Spindle midzone)和中体(Midbody), 其分子内 106 位苏氨酸为 CDK1 磷酸化部位, 165 位丝氨酸为 Aurora B 磷酸化部位。INCENP 的羧基端在结合、激活 Aurora B 时发挥作用, 其氨基端结合存活蛋白及 Borealin, 有助于自身定位在着丝粒^[4,7,8]。体内外研究均发现, 存活蛋白及 Borealin 均结合于 INCENP 氨基端第 58 位氨基酸, 形成三联亚复合物, 而 Aurora B 结合在 INCENP 羧基端结构框内, CPC(Aurora B)能定位在着丝粒上主要依靠功能性三联亚复合物中 Borealin 直接结合在着丝粒 DNA 上, 与着丝粒上结构成分 CENP-A 和 hMis12 无关^[9,10]。另外, CPC 还将马达蛋白中分裂期着丝粒相关驱动蛋白 MCAK(Mitotic centromere-associated kinesin)、校正蛋白(Checkpoint protein)等分别连接在内层着丝粒及动粒。

除了 CPC 中 3 种本身成分外, 还有其他一些参与调节 Aurora B 激酶活性的因子。如末期圆盘-60(Telophase disc-60kD, TD-60)是应用共聚焦显微镜在分裂细胞后、末期发现的一种细胞器, 其分布与 INCENP、Aurora B 及存活蛋白三者的分布基本一致, 在细胞分裂中期位于内层着丝粒, 之后位于胞浆分裂收缩环(Contractile ring)形成的裂沟处, 它是鸟嘌呤核苷酸交换因子(Guanine nucleotide-exchange factor)之一 RCC1 因子, 易与小 G 蛋白 Rac1 游离型

核苷酸(Nucleotide-free form of the small G)结合, 能通过微管促进 Aurora B 的活化^[11,12]。二种可结合到动粒上的 DNA 损伤及纺锤体组装校正点蛋白激酶 Chk1 及 Mps1 均能直接刺激 Aurora B 的活性^[13,14]。Aurora B 活性的负调物有外层动粒上蛋白磷酸酶 PP1 及动粒蛋白激酶 BubR1^[15,16]。Evi-5(Ecotropic viral integration site 5)蛋白也有动态性分布的特点, 与 Aurora B、INCENP 及存活蛋白结合, 是后发现的 CPC 成分, 尤其在末期胞浆分离时有重要作用^[17]。

CPC 相关蛋白质包括: 参与染色体凝集的多蛋白复合物凝集蛋白(Condensin), 已发现有 2 种凝集蛋白, 均含有 5 个亚单位: 凝集蛋白 I 含 2 个染色体结构维持(Structure maintenance of chromosome, smc)蛋白, 即 smc2、smc4 及 3 个非 smc 亚单位, 即 CAP-D2、CAP-G、CAP-H; 凝集蛋白 II 含 2 个染色体结构维持蛋白, 即 smc2、smc4 及 3 个非 smc 亚单位, 即 CAP-D2、CAP-G2、CAP-H2^[18]。使姐妹染色单体粘着的结构成分是三体性环状复合物称粘蛋白(Cohesin), 结构与凝集蛋白相似, 含二种染色体结构维持蛋白, 即 smc1、smc3 及二种非 smc 亚单位 Scc1 (也称 Mcd1)及 Scc3, 其中 Scc1、Smc1 及 Smc3 由共价键形成环状结构。引起姐妹染色单体分离的相关成分有分离酶(Separase)及其抑制亚单位称安全蛋白(Securin)^[19]。动粒(Kinetochore)是组装在着丝粒 DNA 核小体上多蛋白复合物, 主要由 Ctf19、Ndc80/Hec1、Dam1 等复合物组成; 其内层动粒与着丝粒 DNA 相互连接, 外层动粒与微管结合, 动粒与微管的附着状态受到 CPC 中 Aurora B 等多种机制调节, 以保证染色体的精确分配^[20]。

2 CPC 的动态定位

CPC 的显著特点是动态性定位(Dynamic localization), 即在细胞周期的不同时相, 定位在不同部位, 发挥不同的功能。这种动态性定位与其复杂功能密切相关, 其机制正在逐步阐明, 有些资料尚不一致。

在细胞分裂的早期, CPC 定位在染色体臂部。可能该部有相应的 CPC 受体, 如异染色质蛋白 HP (Heterochromatin protein)-1, 因 CPC 中 INCENP 可与 HP-1 作用, 随后 Aurora B 替代 HP-1 定位在臂部, 此时 CPC 可能控制染色质凝集成染色体的过程^[1]。

在前中期, CPC 定位在配对动粒间的内层着丝粒, 主要调节微管与动粒间附着^[7,21]。已发现裂殖酵母着丝粒上相应 CPC 受体蛋白为 Sgo (Shugoshin-protein)-2, 芽生酵母相应受体为着丝粒结合因子 CBF(Centromere-binding factor)3, 由 Cep3、Ctf13、Skp1、Ndc10 组成, 其他间接受体有核输出受体 Crm(Chromosome region maintenance)1、粘蛋白及 Bub1 等, 人相应受体称 Tripin/hSgo。经 Crm1-Ran-GTP 信号将 CPC 引导到着丝粒过程大致是: Borealin 先与存活蛋白形成复合物, 再连接到 Aurora-B, 并与 INCENP 相互作用, 形成染色体移动全复合物(CP-holocomplex); 其中存活蛋白富含亮氨酸的核输出信号 NES(Leucine-rich nuclear export signal)激发 Crm1-Ran-GTP 信息系统通过某种未知的机制将 CPC 定位在前期细胞的着丝粒, 可能是受 RCC1、TD60 的催化或受如 Ran 结合蛋白(RanBP)/Ran-GTP 酶激活蛋白 1[Ran-GAP1 (GTPase activating protein 1)]等因子将 Ran-GTP 水解, 促进 Crm1 释放^[21]。最近, 发现 Borealin 的 219 位丝氨酸磷酸化对 CPC 定位着丝粒十分重要, 因基因突变使丝氨酸变为丙氨酸后, 该部位不能被磷酸化, 出现 CPC 在着丝粒定位障碍^[22]; 还观察到裂殖酵母的周期素 B/CDK1, 可磷酸化存活蛋白, 后者直接促进 CPC 与 Sgo 结合后定位到着丝粒^[23]。核孔素(Nucleoporin) Nup107-160 位于动粒, 除了参与核孔复合物的形成外, 其中 Seh1 成分的缺失, 可影响 Aurora-B 定位, 导致纺锤体中区双向定位及结构的严重障碍, 因此核孔素 Nup107-160 可保证 CPC 在着丝粒的正确定位^[24]。

在中-后期过度阶段, CPC 定位到纺锤体中区(Central spindle 或 Spindle midzone)。前述 CPC 定位到着丝粒是与其 INCENP 氨基端与存活蛋白及 Borealin 间相互作用有关, 而 INCENP 羧基末端与 Aurora-B 相互作用强度可影响后者活性的大小, 继而影响 CPC 的重新定位。当 INCENP 缺失时, 因不能结合 Aurora-B 使其激酶活性最低; 当 INCENP 发生某种突变, 尚能结合 Aurora-B, 但激酶活性适中而仍不能使 CPC 从染色体(着丝粒)定位到纺锤体中区; 只有在 Aurora-B 活性最高时才能使 CPC 定位到纺锤体中区^[25]。最近在哺乳动物发现蛋白 KLHL21, 它既可与滞蛋白 Cul(Cullin)3 相互作用, 也可直接结

合 Aurora-B, 并参与 Aurora-B 的泛素化; 可能 KLHL21 先结合到纺锤体中区的微管, 然后 Aurora-B 及 Cul3 附着其上, 使 CPC 从着丝粒移动到纺锤体中区^[26]。着丝粒结合因子 3 除了在 G₁/S 能搜寻新合成的着丝粒外, 在后期转移到纺锤体中区的微管正端, 也使 CPC 定位到纺锤体中区。在哺乳动物细胞, CPC 定位到纺锤体中区还与分裂期驱动蛋白样蛋白(Mitotic kinesin-like protein, MKLP)₂ 及 CDK₁ 的活性有关。首先在 INCENP 的 RNA 受干扰细胞中观察到 MKLP₂ 不能正确定位, 说明 MKLP₂ 定位到纺锤体微管需要 INCENP, 并证实 CPC 需与 MKLP₂ 相互协助才能定位到纺锤体中区; 另外发现 INCENP 促进 MKLP₂ 定位到纺锤体微管的细胞中 CDK₁ 活性降低, 说明 CDK₁ 是 CPC、MKLP₂ 定位到纺锤体中区的负调因子^[27]。

也有认为在末期及胞浆分离时, CPC 定位到中部纺锤体微管浓缩区中体(Midbody)及裂沟形成的皮质区。可能是 Borealin 和 INCENP 结合到存活蛋白的螺旋性结构区, 形成一个能提供有关氨基酸残基、使 CPC 定位到纺锤体中区及中体的分子表面结构, 以控制收缩环、裂沟形成等胞浆分离的过程^[4]。

3 CPC 的功能

3.1 参与染色质聚集成染色体

染色质聚集成染色体过程与 Aurora B 磷酸化组蛋白及凝集蛋白 有关。已发现 Aurora B 可促进果蝇核小体组蛋白 H3 的磷酸化, 并使凝集蛋白 中 CAP-H 结合到染色体; 进一步观察到 Aurora B 磷酸化凝集蛋白 中三个非 smc 亚单位后, 使凝集蛋白 与染色体结合, 随之染色体变得坚挺拔直; 在人类细胞, Aurora B 除了磷酸化 H3 中第 10 位丝氨酸、DNA 拓扑异构体酶 及染色质重塑因子 ISWI 外, 还使异染色质蛋白 HP-1 与异染色质分离, 而抑制 Aurora B 酶的活性即可阻止 HP-1 与异染色质分离, 影响染色体的形成。另有证实细胞分裂时由于 Aurora B 及甲基转移酶 Suv39h 分别使组蛋白 H3 第 10 位丝氨酸磷酸化及第 9 位赖氨酸甲基化, 这种修饰的组蛋白就出现在中部异染色质周围(Pericentric heterochromatin), 而分裂细胞中大多数 HP-1 与异染色质分离, 如抑制组蛋白第 10 位丝氨酸磷酸化,

HP-1 在整个分裂期均与染色体保持结合状态, 都说明 Aurora B 对 H3 的磷酸化, 使 HP-1 或其他蛋白与异染色质分离, 两者的分离促进染色体形成^[28~30]。初步认识到, 染色体的形成, 既需 Aurora B 磷酸化 H3 使 HP-1 与异染色质分离, 又要 Aurora B 磷酸化凝集蛋白 I 后使之加固染色体。最近观察到, CPC 中存活蛋白的 BIR(Baculovirus IAP Repeat)区有一个能识别、结合第 3 位苏氨酸磷酸化组蛋白 H3 的“口袋”(pocket), 这种识别与结合促进 CPC 在染色体上的定位并激活 Aurora B^[31]。

3.2 控制姐妹染色单体连接、分离

连接姐妹染色单体的主要成分是粘结蛋白。在脊椎动物细胞的前期和前中期, 由 Plk(Polo-like kinase)1 及 Aurora B 二种酶的控制下, 大多数粘结蛋白从染色体臂部(着丝粒)连接处清除, 但少量粘结蛋白仍保留在着丝粒直到后期。少量粘结蛋白的保留首先受蛋白 Sgo-1 保护, 因它可阻止粘结蛋白从着丝粒上脱离, 使之维持到后期; 也与 Plk-1 及 Aurora B 活性有关, 因缺少 Plk-1 及 Aurora B 活性的细胞即进入后期, 同时着丝粒上少量粘结蛋白丢失, 其机制不明。粘结蛋白的保留也与组蛋白 H3 的苏氨酸激酶 Haspin 有关, 因它与粘结蛋白共同位于内层着丝粒, 其缺失可破坏粘结蛋白与姐妹染色单体的连接、过度表达可阻止粘结蛋白释放、稳定单体间连接, 故对粘结蛋白有稳定保护作用; 此外影响粘结蛋白稳定性的还有蛋白 Wapl、Pds5 等。粘结蛋白的清除有二种可能: ① 在 Aurora B 的影响下使 Plk-1 磷酸化粘结蛋白中 Scc3 亚单位, 大量粘结蛋白从着丝粒被清除; ② 为粘结蛋白酶解过程, 因中期纺锤体组装校正点尚无功能, 故分离酶抑制剂安全蛋白被破坏, 分离酶的活化在后期之初即裂解粘结蛋白的环形结构, 使剩余部分随 Scc1 亚单位的水解被破坏。在人细胞中观察到 Aurora B 可将 Sgo-1 定位到着丝粒区, 如 Sgo-1 缺失引起粘结蛋白丢失使姐妹染色单体提前分离, 如 Aurora B 缺失造成 Sgo-1 定位到染色体二臂任何部位的惨剧^[32,33]。这些发现表明, Aurora B 既可促进 Sgo-1 在着丝粒上定位, 稳定粘结蛋白的连接作用, 也可协同 Plk-1 磷酸化粘结蛋白而使之被清除(Remove)或替换(Displace)。Aurora B 究竟如何与 Haspin、Wapl、Pds5 等蛋白协同、

控制粘结蛋白的去留, 可进一步参考相关文献^[33]。

3.3 促进分裂纺锤体形成

纺锤体的形成除了需要中心体、染色质本身结构外(因中期染色体局部含高浓度的由结合 RCC1 的染色质产生的小 GTP 蛋白-Ran, 高浓度的小 GTP 蛋白-Ran 既可诱发微管星状体, 又可通过核输出因子(Nuclear import factor)的释放, 激活微管相关蛋白(Microtubule-associated proteins, MAP) TPX2 及 NuMA, 稳定微管结构促进纺锤体形成), 还需要 Aurora B 的参与^[2]。

纺锤体形成的重要一步是捕捉染色体即纺锤体微管附着到染色体动粒。此过程须有动粒成分 Ndc80、Dam1 复合物及微管解聚马达蛋白中 MCAK 的参与。Ndc80 复合物是由 Ndc80、Nuf2、Spc24、Spc25 4 个亚单位组成的长杆状结构, 再与 Mis12 复合物及 KNL-1 蛋白共同形成 KMN 网, 网内 KNL-1 及 Ndc80 具有结合微管的活性。与 Ndc80 直接作用的 Dam1 复合物由 10 个亚单位组成, 12~16 个 Dam1 复合物在一根微管周围组成大环状结构^[34]。Aurora B 通过磷酸化微管与动粒的附着成分, 控制动粒与微管间亲和力、附着状态。当 Aurora B 磷酸化 Ndc80 时, 降低 KMN 网内其对微管的亲和力, 因 Ndc80 分子内 Aurora B 磷酸化部位的基因突变可稳定动粒与微管间的作用; 当 Aurora B 磷酸化 Dam1 复合物中的一些亚单位后, 既影响与 Ndc80 的相互作用, 又破坏其在动粒上的正确定位, 均降低微管环状结构物与动粒间的结合力^[34]。由于中期染色体着丝粒上浓集着多量 Aurora B, 它可促进癌蛋白-18(Oncoprotein 18/Stathmin, Op18)的高度磷酸化, 磷酸化的 Op18 失去其微管解聚能力, 说明 Aurora B 通过磷酸化 Op18 来稳定微管与动粒间的附着^[35]。还发现, 染色质诱导的纺锤体形成过程中, 仍依靠 CPC 中 Aurora B 对微管解聚蛋白(Microtubule-depolymerizing proteins)的磷酸化调节, 可能是 CPC 周围富含染色质的空间结构自动激活 Aurora B 活性的结果^[36]。

微管解聚驱动蛋白中 MCAK 是在纺锤体组装过程中的重要零件, 它对染色体移动比 CPC 起着更直接的驱动作用, 但其定位、功能仍在 Aurora B 的精密控制之下。已观察到 Aurora B 在不同空间、时相选择性对 MCAK 分子中多部位不同氨基酸进行磷酸

化,如 Aurora B 对 MCAK95 位苏氨酸磷酸化,促进其结合在染色体臂部;对 196 位丝氨酸磷酸化,促进其从臂部脱离;对 110 位丝氨酸磷酸化,促进其定位在着丝粒上;对 95 位苏氨酸去磷酸化,可增加其在着丝粒上的定位^[37]。这种调节使 MCAK 适应了众多染色体移动有不同时间、方向等特性,以满足其空间和时间上的功能需要。应用 HeLa 细胞发现, Aurora B 在体内外均可磷酸化人 HsMis13(在第 100 及 109 位丝氨酸),磷酸化的 HsMis13 可定位在动粒上,并影响 Ndc80 及 CENP-E 等成分组装到动粒,说明 Aurora B 对组装具有双向附着微管的功能性动粒是必不可少的,也有利纺锤体组装^[38]。

3.4 纠正微管与动粒间不适当附着

在纺锤体形成过程中,每对姐妹染色单体动粒必须对向附着到由纺锤体二极发出的微管,才能保证染色体精确分配在子细胞内,这种正规的附着方式称双极对向性附着(Bipolar or amphitelic attachment 或 chromosome bi-orientation)即每个姐妹动粒分别被纺锤体二极之一发出的微管对向附着。由于纺锤体捕捉染色体动粒过程是随机尝试的,在形成双极对向附着时常发生错误,产生几种不适当附着包括:单极向型(Monotelic or monopolar 或 chromosome mono-orientation)附着,即仅一个动粒被纺锤体一极发出的微管附着而另一动粒未被附着;同极向型(Syntelic)附着,即二个姐妹动粒被纺锤体一极发出的微管附着;既双极向又单极向型(Merotelic, MA)附着,即一个动粒被纺锤体二极发出的微管附着(具有高度张力),而另一动粒仅附着到其中一极发出的微管及未附着型^[39],这些缺陷性附着如不及时纠正,将引起子细胞内非整倍体染色体丢失,导致肿瘤或发育畸形等疾病。如何保证在细胞分裂时所有染色体都能形成正规方式的双极对向性附着,是细胞生物学领域内长期存在的问题。但据统计报道,虽然在分裂细胞中观察到较多的不适当附着,其子细胞内非整倍体染色体丢失的机率不高,说明不适当附着在分裂后期获得纠正。究竟如何纠正?正是 CPC 目前研究的热点。利用 Aurora B 激酶抑制剂 ZM447439 的实验观察到,微管与动粒间附

着的稳定性和染色体分离的精确性均与 Aurora B 激酶活性的高低有关:即合适的微管正端与动粒间附着点,局部有高浓度 Aurora B 作用,受到的是拉开的力;不合适的附着点,局部为低浓度 Aurora B 作用,受到的是拉拢的力,使不合适附着表现不稳定^[40]。Kapoor^[41]认为,动粒与微管的不适当附着是由于动粒受到既有推开(Push it away)、又有拉拢(Pull it towards)而产生不适当的张力。

在认识到不合适的附着与 Aurora B 活性有关后,许多研究集中在激酶与其众多底物间及其下游靶分子间的网络相关机制。已知活化 Aurora B 可磷酸化动粒中直接与微管相互作用的多种底物如 Dam1、Hec1(人)、Ndc80 等。在芽生酵母 Aurora B 对 Dam1 的磷酸化可降低其与微管的亲和力、增加 Dam1 复合物沿微管扩散、脱离的频率,但在脊椎动物尚未发现 Dam1 的相似物;从酵母到哺乳动物进化时高度保留的 Ndc80 复合物一端定位内层着丝粒上,另一端与微管相连, Aurora B 对其磷酸化也可降低其与微管的亲和力,如 Ndc80 复合物中 Hec1 突变使 Aurora B 磷酸化部位发生变化,导致不适当附着的结构稳定、引起染色体分配错误;这些证据均支持 Aurora B 通过磷酸化动粒中底物使动粒与微管附着结构失稳定的观点,这是 Aurora B 使不适当附着失去稳定性的第一种机制。

Aurora B 在脊椎动物的另一类底物是驱动蛋白-13,后者可催化微管末端解聚,其中对 MCAK 的研究最多。Aurora B 可磷酸化 MCAK 分子中多个部位,既调节其活性、又调节其在动粒与内层着丝粒上的定位已如上述,故 Aurora B 通过磷酸化驱动蛋白来调节其活性及定位是它使不适当附着失去稳定性的第二种机制。然而 Aurora B 磷酸化如何识别不适当附着、使之失去稳定性?这可能与着丝粒上所受张力有关,这种张力是纺锤体微管以相反方向、双向拉动每对姐妹动粒所引起,张力的作为区分不同附着状态的信号,调节、纠正不适当附着^[42]。Tanaka 等^[43]提出了关于 Aurora B 磷酸化作用与着丝粒上所受张力敏感性相关的观点。认为当着丝粒上所受张力低时,磷酸化程度高,高度磷酸化使不适当附着失去稳定

性;反之,当着丝粒上所受张力高时,磷酸化程度低。那么究竟何种结构物质或机制使磷酸化程度与着丝粒上所受张力变化相互联系起来?有两种解释:(1)不同张力可能通过与着丝粒异染色质间的相互作用引起激酶本身或被调节底物蛋白的构形变化,后者直接抑制激酶的活性,这种观点的前提是张力的变化打开了机械性敏感的离子通道;(2)如激酶本身的活性是恒定的,当微管附着的动粒与结合在内层着丝粒上激酶间张力的变化改变了激酶与底物间的距离,如张力高时酶与底物间距离的增加,降低了动粒中底物的磷酸化程度,此时虽然没有直接抑制酶的活性,也使不适当附着失去稳定性^[44]。那么动粒-着丝粒间所受张力的变化如何转变为 Aurora B 磷酸化相关信号?应用荧光共振能量转移法测定生物敏感物(Biosensors)磷酸化过程的动态定位,发现动粒中 Aurora B 底物的磷酸化,与其离内层着丝粒上 Aurora B 的距离有关,Aurora B 越接近动粒,就能阻止双极向附着的稳定性,并激活纺锤体校正点。因此着丝粒上张力对增加 Aurora B 与其底物间的距离是敏感的,即张力大可降低磷酸化程度,稳定动粒与微管的附着^[45]。Kelly 等^[46]认为 Aurora B 调节微管与动粒间连接、纠正其不适当附着的机制可能是 Aurora B: ① 与其动粒中底物的间距受姐妹染色单体(着丝粒或动粒)间张力性调控;② 依赖微管性调节;③ 活性由着丝粒中染色质结构变化所调节。

3.5 参与纺锤体组装校正点功能

纺锤体组装校正点(Spindle assembly checkpoint, SAC)核心蛋白是由 Mad(Mitotic arrest deficient)、Bub(Budding uninhibited by benomyl)、Mps1(Mono polar spindle)、Rod、ZW10、Zwilch 组成,后三者即为 RZZ 复合物^[47]。人类 SAC 中还有一种称 Usp44/protectin 的泛素蛋白酶。其作用为:抑制后期促进复合物 APC(Anaphase-promoting complex/cyclosome),即抑制其对安全蛋白及周期素 B 的降解,监护细胞从中期向后期过渡,防止染色体过早分离或出现未附着及非二向性染色体;监视染色体是否正确附着,在所有染色体尚未完成适当配对附着前,它能阻止染

色体的分离。CPC 通过影响附着时张力的产生,纠正染色体与纺锤体间的错误连接,以多种方式维持 SAC 功能:校正点蛋白 Bub1、BubR1 是 CPC 的靶蛋白,因 Bub1、BubR1 对动粒与微管间的附着是必须的,而二者定位在动粒需要 Aurora B 激酶的活性,Bub1 还控制姐妹染色单体间的连接,因此 Bub1、BubR1 依赖 Aurora B 定位在动粒,以发挥 SAC 功能;另外上述 Aurora B 在纠正不适当附着过程中常产生非附着动粒(Unattached kinetochores),这种非附着动粒是维持 SAC 活性的主要刺激。CPC 尚有多种保证 SAC 功能的机制可进一步参阅文献^[48]。

3.6 参与后期及胞浆分离的调节

在后期及胞浆分离时,Aurora B 参与中部纺锤体组装(Central spindle assembly)和中体形成。中部纺锤体是从分裂纺锤体重新组装而成,主要由 Aurora B 及中部纺锤体蛋白(Centralspindlin)组成,后者是 Aurora B 磷酸化驱动蛋白-6 样蛋白 ZEN-4(线虫)/MKLP1(哺乳动物)及 Rho 族 GTP 酶激活蛋白 CYK-4(MgcRacGAP)构成。中部纺锤体蛋白除了构成中部纺锤体外,还将胞浆分离的其它调节物如 ECT2(可激活 MgcRacGAP 参与收缩环形成)等结合到细胞赤道部,控制裂沟(Cleavage furrow),最后促进 CPC 等因子作用使细胞完全分离^[49]。最近还发现 Aurora B 与蛋白 14-3-3 共同调节中部纺锤体蛋白积聚、定位^[50]。免疫荧光显示 Evi-5 蛋白在后期始终定位在中部纺锤体和中体及其基因剔除实验均证明它与 CPC 对完成胞浆分离必不可少^[17]。

由于染色体移动过程在后期即将结束,CPC 任务逐渐完成,其 Aurora B 结构成分受 APC 的作用而分解,其含量在细胞分裂末期及 G1 期明显降低。APC 是一种 E3 泛素连接酶,能将多个泛素分子结合标记到 Aurora B 使 26S 蛋白酶体识别、降解。有两种特异性因子即 Cdc20 和 Cdh1 影响 APC 功能:Cdc20 在分裂早期即与 APC 结合,并将其激活,在 G₁/G₀ 期 APC 的作用是维持染色质的代谢,并通过破坏 Aurora B 的活性而磷酸化组蛋白 H3;Cdh1 在分裂晚期被激活,形成 Cdh1-APC 复合物,以促进细胞离开分裂期。活化的 APC 还可降解相关周期素、CDK、安全蛋白,粘结蛋白等^[51]。上述 CPC 可促进 SAC 功能,SAC 可抑制 APC 活性,APC 可降解 CPC

中 Aurora B、周期素、CDK 等,说明它们都是细胞周期中互相依赖、彼此拮抗而必不可少重要调节物。如在所有染色体动粒均与纺锤体微管合适附着后, SAC 沉默,而 APC 活化,活化 APC 能可抑制分离酶活性的安全蛋白,分离酶则活化,溶解粘蛋白,使染色体分离、细胞进入后期,同时 CPC 降解,一个周期顺利完成。

3.7 CPC 中存活蛋白的作用

如前所述,存活蛋白作为 CPC 中参与调节 Aurora B 定位、功能的主要组分,说明它在促进细胞分裂、生长过程中至关重要;同时大量研究还发现,它又是凋亡抑制蛋白中的一员,是 caspase-9 的抑制物,对细胞有双向调节作用。因此,在细胞癌变过程中,它可能既通过抑制凋亡、又可参与细胞分裂、促进血管等组织增生而起作用,但究竟如何抑制凋亡、促进增生,还须从基因扩增、DNA 甲基化、相关基因如 p53 等多方面的探索^[52]。

4 展望

目前对 CPC 的结构功能虽有了一定了解,但其相关的结构组分、作用底物、功能发挥及其相互间信号转导或其他调节系统,均有不明之处。尤其从参与细胞运动的马达蛋白、极性蛋白、信号蛋白及周期素/CDK 等相关基因表达变异中开展对 CPC 的研究,可深入探明 CPC 对细胞分裂的调控,从而充实细胞周期的分子动力学理论。在弄清 CPC 生理功能的基础上,积极开展 CPC 与动植物及人体相关疾病的研究,有利人类自身健康及对生物环境的利用、改造。在人类,已发现大多数癌细胞为非整倍体细胞(Aneuploidy),这与癌细胞分裂时染色体分离错误有关。这种分离错误是由前述动粒与纺锤体微管间不适当附着引起,尤其是既双极向又单极向型(merotelic)附着,更易出现非整倍体细胞^[53]。在多发性硬化的发病过程中,可能因 Evi5 的突变引起 CPC 功能异常有关^[54]。在癌细胞中观察到, Aurora B 的活性上调及全长乳腺癌蛋白 1 相关环状区蛋白(BARD1)的丢失,这是因为:癌细胞表达多种 BARD1 (BRCA1 breast cancer 1)-associated ring domain, BARD1)蛋白异构体(Isoforms)包括 BARD1 β 和全长 BARD1,其中全长 BARD1 参与 Aurora B 的泛素化降解,抑制

细胞增生; BARD1 β 增强 Aurora B 作用,促进细胞增生。细胞内全长 BARD1 与 BARD1 β 二者间失衡,导致 Aurora B 活性上调而癌变^[55]。国内尚无 CPC 报导,望生物界有志者重视、开展这方面的工作。

参考文献(References):

- [1] Vader G, Medema RH, Lens SMA. The chromosomal passenger complex: guiding Aurora-B through mitosis. *J Cell Biol*, 2006, 173(6): 833–837.
- [2] Tseng BS, Tan L, Kapoor TM, Funabiki H. Dual detection of chromosomes and microtubules by the chromosomal passenger complex drives spindle assembly. *Developmental Cell*, 2010, 18(6): 903–912.
- [3] Ruchaud S, Carmena M, Earnshaw WC. The chromosomal passenger complex: One for all and all for one. *Cell*, 2007, 131(2): 230–231.
- [4] Jeyaprakash AA, Klein UR, Lindner D, Ebert J, Nigg EA, Conti E. Structure of a Survivin-Borealin-INCENP core complex reveals how chromosomal passengers travel together. *Cell*, 2007, 131(2): 271–285.
- [5] Delacour-Larose M, Hoang TM, Molla A. Survivin, the starlet of the passenger protein complex: check-up for its tenth anniversary. *Med Sci (Paris)*, 2008, 24(10): 828–832.
- [6] Altieri DC. The case for survivin as a regulator of microtubule dynamics and cell-death decisions. *Curr Opin Cell Biol*, 2006, 18(6): 609–615.
- [7] Klein UR, Nigg EA, Gruneberg U. Centromere targeting of the chromosomal passenger complex requires a ternary subcomplex of Borealin, Survivin, and the N-terminal domain of INCENP. *Mol Biol Cell*, 2006, 17(6): 2547–2558.
- [8] Gassmann R, Carvalho A, Henzing AJ, Ruchaud S, Hudson DF, Honda R, Nigg EA, Gerloff DL, Earnshaw WC. Borealin a novel chromosomal passenger required for stability of the bipolar mitotic spindle. *J Cell Biol*, 2004, 166(2): 179–191.
- [9] Kaur H, Stiff AC, Date DA, Taylor WR. Analysis of mitotic phosphorylation of borealin. *BMC Cell Biol*, 2007, 8: 5–21.
- [10] Nakajima Y, Tyers RG, Wong CCL, Yates JR, Drubin DG, Barnes G. Nbl1p: A Borealin/Dasra/CSC-1-like protein essential for aurora/Ipl1 complex function and integrity in *Saccharomyces cerevisiae*. *MBoC*, 2009, 20(6): 1772–1784.
- [11] Mollinari C, Reynaud C, Martineau-Thuillier S, Monier S, Kieffer S, Garin J, Andreassen PR, Boulet A, Goud B,

- Kleman JP, Margolis RL. The mammalian passenger protein TD-60 is an RCC1 family member with an essential role in prometaphase to metaphase progression. *Dev Cell*, 2003, 5(2): 295–307.
- [12] Rosasco-Nitcher SE, Lan WJ, Khorasanizadeh S, Stukenberg PT. Centromeric Aurora-B activation requires TD-60, microtubules, and substrate priming phosphorylation. *Science*, 2008, 319(5862): 469–472.
- [13] Zachos G, Black EJ, Walker M, Scott MT, Vagnarelli P, Earnshaw WC, Gillespie DAF. Chk1 is required for spindle checkpoint function. *Dev Cell*, 2007, 12(2): 247–260.
- [14] Jelluma N, Brenkman AB, van den Broek NJF, Cruijsen CWA, van Osch MHJ, Lens SMA, Medema RH, Kops GJPL. Mps1 phosphorylates Borealin to control Aurora-B activity and chromosome alignment. *Cell*, 2008, 132(2): 233–246.
- [15] Emanuele MJ, Lan WJ, Jwa M, Miller SA, Chan CSM, Stukenberg PT. Aurora-B kinase and protein phosphatase 1 have opposing roles in modulating kinetochore assembly. *J Cell Biol*, 2008, 181(2): 241–254.
- [16] Logarinho E, Resende T, Torres C, Bousbaa H. The human spindle assembly checkpoint protein bub3 is required for the establishment of efficient kinetochore-microtubule attachments. *Mol Biol Cell*, 2008, 19(4): 1798–1813.
- [17] Fatair SL, Sossey-Alaoui K, Ranalli TA, Cowell JK. EVI5 protein associates with the INCENP-aurora B kinase-survivin chromosomal passenger complex and is involved in the completion of cytokinesis. *Exp Cell Res*, 2006, 312(12): 2325–2335.
- [18] Gerlich D, Hirota T, Koch B, Peters JM, Ellenberg J. Condensin I stabilizes chromosomes mechanically through a dynamic interaction in live cells. *Curr Biol*, 2006, 16(4): 333–344.
- [19] Peters JM, Tedeschi A, Schmitz J. The cohesin complex and its roles in chromosome biology. *Genes Dev*, 2008, 22(22): 3089–3114.
- [20] Santaguida S, Musacchio A. The life and miracles of kinetochores. *EMBO J*, 2009, 28(17): 2511–2531.
- [21] Knauer SK, Bier C, Habtemichael N, Stauber RH. The Survivin-Crml interaction is essential for chromosomal passenger complex localization and function. *EMBO Rep*, 2006, 7(12): 1259–1265.
- [22] Kaur H, Bekier ME, Taylor WR. Regulation of borealin by phosphorylation at serine 219. *J Cell Biochem*, 2010, 111(5): 1291–1298.
- [23] Tsukahara T, Tanno Y, Watanabe Y. Phosphorylation of the CPC by Cdk1 promotes chromosome bi-orientation. *Nature*, 2010, 467(7316): 719–723.
- [24] Platani M, Santarella-Mellwig R, Posch M, Walczak R, Swedlow JR, Mattaj IW. The Nup107-160 nucleoporin complex promotes mitotic events via control of the localization state of the chromosome passenger complex. *MBC*, 2009, 20(24): 5260–5275.
- [25] Xu ZJ, Ogawa H, Vagnarelli P, Bergmann JH, Hudson DF, Ruchaud S, Fukagawa T, Earnshaw WC, Samejima K. INCENP-aurora B interactions modulate kinase activity and chromosome passenger complex localization. *J Cell Biol*, 2009, 187(5): 637–653.
- [26] Maerki S, Olma MH, Staubli T, Steigemann P, Gerlich DW, Quadroni M, Sumara I, Peter M. The Cul3-KLHL21 E3 ubiquitin ligase targets Aurora B to midzone microtubules in anaphase and is required for cytokinesis. *J Cell Biol*, 2009, 187(6): 791–800.
- [27] Hümmer S, Mayer TU. Cdk1 negatively regulates midzone localization of the mitotic kinesin Mklp2 and the chromosomal passenger complex. *Curr Biol*, 2009, 19(7): 607–612.
- [28] Georgatos SD, Markaki Y, Christogianni A, Politou AS. Chromatin remodeling during mitosis: a structure-based code? *Front Biosci*, 2009, 14: 2017–2027.
- [29] Lipp JJ, Hirota T, Poser I, Peters JM. Aurora B controls the association of condensin I but not condensin II with mitotic chromosomes. *J Cell Sci*, 2007, 120(7): 1245–1255.
- [30] Hirota T, Lipp JJ, Toh BH, Peters JM. Histone H3 serine 10 phosphorylation by Aurora B causes HP1 dissociation from heterochromatin. *Nature*, 2005, 438(7071): 1176–1180.
- [31] Kelly AE, Ghenoiu C, Xue JZ, Zierhut C, Kimura H, Funabiki H. Survivin reads phosphorylated histone H3 threonine 3 to activate the mitotic kinase Aurora B. *Science*, 2010, 330(6001): 235–239.
- [32] Dai J, Sullivan BA, Higgins JMG. Regulation of mitotic chromosome cohesion by Haspin and Aurora B. *Dev Cell*, 2006, 11(5): 741–750.
- [33] Shintomi K, Hirano T. Releasing cohesin from chromosome arms in early mitosis: opposing actions of Wapl-Pds5 and Sgo1. *Genes Dev*, 2009, 23(18): 2224–2236.
- [34] Cheeseman IM, Chappie JS, Wilson-Kubalek EM, Desai A. The conserved KMN network constitutes the core microtubule-binding site of the kinetochore. *Cell*, 2006, 127(5): 983–997.
- [35] Gadea BB, Ruderman JV. Aurora B is required for mitotic chromatin-induced phosphorylation of Op18/Stathmin. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103(12): 4493–4498.
- [36] Kelly AE, Sampath SC, Maniar TA, Woo EM, Chait BT,

- Funabiki H. Chromosomal enrichment and activation of the Aurora B pathway are coupled to spatially regulate spindle assembly. *Dev Cell*, 2007, 12(1): 31–43.
- [37] Zhang X, Lan WJ, Ems-McClung SC, Stukenberg PT, Walczak CE. Aurora B phosphorylates multiple sites on mitotic centromere-associated kinesin to spatially and temporally regulate its function. *Mol Biol Cell*, 2007, 18(9): 3264–3276.
- [38] Yang Y, Wu F, Ward T, Yan F, Wu Q, Wang ZY, McGlothen T, Peng W, You TP, Sun MK, Cui TX, Hu RM, Dou Z, Zhu JD, Xie W, Rao ZH, Ding X, Yao XB. Phosphorylation of HsMis13 by Aurora B kinase is essential for assembly of functional kinetochore. *J Biol Chem*, 2008, 283(39): 26726–26736.
- [39] Kotwaliwale C, Biggins S. Microtubule capture: A concerted effort. *Cell*, 2006, 127(6): 1105–1108.
- [40] Cimini D, Wan XH, Hirel CB, Salmon ED. Aurora kinase promotes turnover of kinetochore microtubules to reduce chromosome segregation errors. *Curr Biol*, 2006, 16(17): 1711–1718.
- [41] Kapoor TM. Chromosome segregation: correcting improper attachment. *Current Biology*, 2004, 14(23): R1011–R1013.
- [42] Cimini D. Detection and correction of merotelic kinetochore orientation by Aurora B and its partners. *Cell Cycle*, 2007, 6(13): 1558–1564.
- [43] Keating P, Rachidi N, Tanaka TU, Stark MJR. Ipl1-dependent phosphorylation of Dam1 is reduced by tension applied on kinetochores. *J Cell Sci*, 2009, 122(23): 4375–4382.
- [44] Liu D, Lampson MA. Regulation of kinetochore-microtubule attachments by Aurora B kinase. *Biochem Soc Trans*, 2009, 37(Pt 5): 976–980.
- [45] Liu D, Vader G, Vromans MJM, Lampson MA, Lens SMA. Sensing chromosome bi-orientation by spatial separation of aurora B kinase from kinetochore substrates. *Science*, 2009, 323(5919): 1350–1353.
- [46] Kelly AE, Funabiki H. Correcting aberrant kinetochore microtubule attachments: an Aurora B-centric view. *Curr Opin Cell Biol*, 2009, 21(1): 51–58.
- [47] Karess R. Rod-Zw10-Zwilch: a key player in the spindle checkpoint. *Trends Cell Biol*, 2005, 15(7): 386–392.
- [48] Vader G, Maia AF, Lens SMA. The chromosomal passenger complex and the spindle assembly checkpoint: kinetochore-microtubule error correction and beyond. *Cell Division*, 2008, 3(1): 10–18.
- [49] Hutterer A, Glotzer M, Mishima M. Clustering of central-spindlin is essential for its accumulation to the central spindle and the midbody. *Curr Biol*, 2009, 19(23): 2043–2049.
- [50] Douglas ME, Davies T, Joseph N, Mishima M. Aurora B and 14-3-3 coordinately regulate clustering of central-spindlin during cytokinesis. *Curr Biol*, 2010, 20(10): 927–933.
- [51] Stewart S, Fang GW. Destruction Box-dependent degradation of Aurora B is mediated by the anaphase-promoting complex/cyclosome and Cdh1. *Cancer Res*, 2005, 65(19): 8730–8735.
- [52] Mita AC, Mita MM, Nawrocki ST, Giles FJ. Survivin: key regulator of mitosis and apoptosis and novel target for cancer therapeutics. *Clin Cancer Res*, 2008, 14(16): 5000–5005.
- [53] Cimini D. Merotelic kinetochore orientation, aneuploidy, and cancer. *Biochim Biophys Acta*, 2008, 1786(1): 32–40.
- [54] Hoppenbrouwers IA, Aulchenko YS, Ebers GC, Ramagopalan SV, Oostra BA, van Duijn CM, Hintzen RQ. EVI5 is a risk gene for multiple sclerosis. Evaluation of risk alleles for MS. *Genes Immun*, 2008, 9(4): 334–337.
- [55] Ryser S, Dizin E, Jefford CE, Delaval B, Gagos S, Christodoulidou A, Krause KH, Birnbaum D, Irminger-Finger I. Distinct roles of BARD1 isoforms in mitosis: Full-length BARD1 mediates Aurora B degradation, cancer-associated BARD1 β scaffolds Aurora B and BRCA2. *Cancer Res*, 2009, 69(3): 1125–1134.