

的二聚体不能向下游传导信号所致。

胚胎着床的成功起始及随后的蜕膜化过程,需要胚胎和子宫之间协调的相互作用,这是一系列分子共同参与的结果。gp130/Jak/STAT 信号转导通路的一些成分,如 LIF、IL-11R、STAT 基因敲除小鼠模型的建立明确了这些因子在着床和蜕膜化过程中的重要调节作用^[4,12,26]。因此,了解 gp130/Jak/STAT 信号转导通路及其在着床过程中的作用机理,对于解决人类的不孕症及计划生育等有很大的帮助。但是对信号通路的各个成分在着床过程中所起的作用,与此信号通路相关的细胞因子之间的相互联系,以及此信号通路与其他信号通路之间的关系还需要我们进一步去研究。

参 考 文 献

- [1] Hoey T. et al., 1998, *Curr Opin Genet Dev*, **8**(5): 582-587.
- [2] Lass A. et al., 2001, *Fertil Steril*, **76**(6): 1091-1096.
- [3] Vogliagis D. et al., 1999, *J Endocrinol*, **160**(2): 181-190.
- [4] Stewart C L. et al., 1992, *Nature*, **359**(6390): 76-79.
- [5] Yang Z M. et al., 1996, *Early Pregnancy*, **2**(1): 18-22.
- [6] Yue Z P, Yang Z M. et al., 2000, *Biol Reprod*, **63**(2): 508-512.
- [7] Hambartsoumian E. 1998, *Am J Reprod Immunol*, **39**(2): 137-143.
- [8] Akiyama Y. et al., 1997, *Jpn J Cancer Res*, **88**(6): 578-583.
- [9] Ware C B. et al., 1995, *Development*, **121**: 1283-1299.
- [10] Bilinski P. et al., 1998, *Genes Dev*, **12**(14): 2234-2243.
- [11] Robb L. et al., 1998, *Nat Med*, **4**(3): 303-308.
- [12] Li R. et al., 2001, *Reproduction*, **122**(4): 593-600.
- [13] Cork B A. et al., 2001, *J Reprod Immunol*, **50**(1): 3-17.
- [14] Tanaka T. et al., 2001, *Gynecol Endocrinol*, **15**(4): 272-278.
- [15] Dimitriadis E. et al., 2002, *Mol Hum Reprod*, **8**(7): 636-643.
- [16] Chen H F. et al., 2002, *J Clin Endocrinol Metab*, **87**(5): 2320-2328.
- [17] Robertson S A. et al., 1992, *Biol Reprod*, **46**(6): 1069-1079.
- [18] Wolff M, et al., 2002, *Gynecol Endocrinol*, **16**(2): 121-129.
- [19] Sharkey A M. et al., 1995, *Biol Reprod*, **53**(4): 974-981.
- [20] Kopf M. et al., 1994, *Nature*, **368**(6469): 339-342.
- [21] Robertson S A. et al., 2000, *Proc Agus Soc Reprod Biol*, **31**: 79
- [22] Zoumakis E. et al., 2000, *Mol Hum Reprod*, **6**(4): 344-351.
- [23] Pitard V. et al., 1998, *Eur Cytokine Netw*, **9**(4): 599-605.
- [24] Yang Z M. et al., 1995, *Mol Reprod Dev*, **42**(4): 407-414.
- [25] Ni H, Yang Z M. et al., 2002, *Mol Reprod Dev*, **63**(2): 143-150.
- [26] Yoshida K. et al., 1996, *Proc Natl Acad Sci USA*, **93**: 407-411.
- [27] Takeda K. et al., 1997, *Proc Natl Acad Sci USA*, **94**(8): 3801-3804.
- [28] Ernst M. et al., 2001, *J Exp Med*, **194**(2): 189-203.
- [29] Hirano T. et al., 2000, *Oncogene*, **19**: 2548-2556.
- [30] Liu T Y. et al., 2002, *Biology of Reproduction*, **67**: 114-118.
- [31] Cheng J G. et al., 2001, *Proc Natl Acad Sci USA*, **98**(15): 8680-8685.

泛素-蛋白水解酶复合体通路 在卵母细胞减数分裂和受精中的作用*

霍立军 范衡宇 陈大元 孙青原**

(中国科学院动物研究所计划生育生殖生物学国家重点实验室 北京 100080)

摘 要 泛素-蛋白水解酶复合体通路(Ubiquitin-proteasome pathway, UPP)高效快速并高度选择性地降解特定的蛋白质,从而参与控制多种重要的细胞生物学过程。在卵母细胞减数分裂和受精过程中,该通路通过降解细胞周期中的关键因子,如细胞周期蛋白、细胞周期蛋白依赖性激酶抑制因子等细胞周期调控因子,从而参与卵母细胞生发泡破裂、第一极体排放、MII 阻滞的维持和克服等过程,使细胞通过特定的检验点。此外,UPP 也与丝裂原活化蛋白激酶通路、Polo 样激酶、成熟促进因子、蛋白激酶 C、钙调蛋白依赖激酶 II 等减数分裂关键调节因子相互作用来参与卵母细胞减数分裂成熟和受精。一些周期蛋白(如

* 国家重点基础研究发展规划(973)项目(No. G1999055902);中国科学院知识创新工程重要方向项目(KSCX2-SW-303)和国家杰出青年基金项目(30225010)资助。

** 联系人。E-mail: sunqy1@yahoo.com

后期促进复合体的某些亚单位等)还充当泛素连接酶成分,直接参与泛素化过程。

哺乳动物卵母细胞在卵巢中停滞在第一次减数分裂前期的双线期,即生发泡(*germinal vesicle*, GV)期。当卵母细胞受到适宜信号刺激(在哺乳动物中为促性腺激素)后恢复减数分裂,生发泡破裂(*germinal vesicle breakdown*, GVBD)、染色质凝集、纺锤体组装、排出第一极体并发育到 MII 期,此时卵母细胞的发育再次阻滞。随着每次的性周期生物体排出 MII 期卵母细胞。受精或孤雌活化以后, MII 期卵母细胞恢复第二次减数分裂并最终排出第二极体。在此过程中,由第一次减数分裂向第二次减数分裂转换以及第二次减数分裂阻滞克服的分子机制是细胞生物学家研究的热点问题。在这两个过程中的共同规律是:成熟促进因子(*Maturation-promoting factor*, MPF)失活,不同之处是 MAPK 只在第二个过程后才逐渐失活。泛素-蛋白水解酶复合体通路(*Ubiquitin-proteasome pathway*, UPP)在这两个过程中均发挥着重要的调节作用^[1]。

高度保守的 UPP 是依赖于 ATP、非溶酶体途径的蛋白质降解途径,它能高效快速并高度选择性地降解特定的蛋白质,从而参与控制多种重要的细胞生物学过程,在此过程中,多聚泛素化的降解信号的形成对蛋白水解酶复合体依赖的蛋白水解是必需的^[2]。UPP 通路的发现被认为是细胞周期调控、细胞恶性转化和免疫学研究的转折点。UPP 在特定时间选择性地降解细胞周期调节的关键因子,从而通过细胞周期的特定检验点。近年来对 UPP 在细胞周期中的作用有了较多的了解,而减数分裂中存在一些比较特殊的阻滞点。下面我们就对近年来有关 UPP 在卵母细胞减数分裂成熟和受精过程中的作用进行简要的评价和展望。

一、泛素-蛋白水解酶复合体系统简介

泛素-蛋白水解酶复合体系统主要由泛素、各种连接酶及蛋白水解酶复合体组成。泛素为 76 个氨基酸组成的分子量为 8.45KD 的一种球型蛋白,从酵母到哺乳动物中都高度保守且分布广泛。泛素连接酶的作用是将泛素共价交连到靶蛋白赖氨酸 ϵ -氨基上。该酶包括泛素活化酶 E1 (*ubiquitin-activating enzyme*)、泛素偶连酶 E2 (*ubiquitin-carrier proteins* or *ubiquitin-conjugating enzymes*, Ubc's) 和泛素连接酶 E3 (*ubiquitin ligase*),每一类又有不同的亚类,其功能不同^[3]。泛素通过三步机制连接到靶蛋白

上。首先 E1 利用 ATP 水解释放的能量活化泛素,其半胱氨酸与泛素的羧基端偶连形成稳定的 E1-泛素硫脂键中间体。所有的泛素化修饰都是由它完成的, E1 基因缺失是致死的。不同 E2 的半胱氨酸硫氢基接受活化的泛素形成第二个中间体(即 E2-泛素)。而 E3 与 E2 共同将泛素与靶蛋白通过异肽键相连。在此复杂的反应中,泛素 48 位赖氨酸的 ϵ -氨基必需进一步泛素化形成多聚泛素化后才能被蛋白水解酶复合体识别和水解。26S 的蛋白水解酶复合体由 30 多种不同的蛋白质组成。现在认为它至少含有 9 种不同的蛋白酶活性,由位于中央的 20S 的水解酶活性核心和两端两个 19S 帽状结构组成。19S 帽状结构是 26S 蛋白水解酶复合体的特异识别部位,能特异识别多聚泛素化靶蛋白的泛素链并与其结合,借助 ATP 水解释放的能量改变靶蛋白构象,并将其运至 20S 水解核心的柱状通道中,从而将靶蛋白水解为短肽或氨基酸,而泛素链则在去泛素化酶的作用下与底物解离。

二、UPP 在卵母细胞减数分裂成熟过程中的作用

UPP 可以高度选择性地降解细胞内特异性蛋白,如细胞周期蛋白,细胞周期蛋白依赖性激酶抑制因子等细胞周期调控因子,从而使细胞通过特定检验点。一些周期蛋白(如后期促进复合体某些亚单位等)还充当泛素连接酶成分,直接参与泛素化过程。

1. UPP 在卵母细胞 GVBD 过程中的作用

UPP 与卵母细胞突破第一次减数分裂前期阻滞有关。蛋白水解酶复合体的 20S 水解酶活性中心至少具有三种蛋白酶的活性:胰蛋白酶样活性,糜蛋白酶样活性和肽基-谷氨酰基水解活性。早期的研究发现,糜蛋白酶的抑制剂白胃素(*leupeptin*)可以阻断海星的成熟诱导激素 1-甲基腺嘌呤(1-methyladenine)诱导的海星卵母细胞 GVBD,说明糜蛋白酶活性是起始减数分裂所必需的。进一步的研究发现,蛋白水解酶复合体的抑制剂肽基精氨酸(*peptidyl-argininals*)或 MG115 也可以通过抑制蛋白水解酶复合体的糜蛋白酶活性而抑制 GVBD,并通过抑制 Cdc2 上 T14 的去磷酸化而抑制 Cdc2 激酶的激活^[4]。向海星卵母细胞中注射蛋白水解酶复合体抗体也可以抑制 GVBD 和 Cdc2 激酶 T14 的去磷

酸化^[5]。这些结果提示负责 Cdc2 激酶中 T14 位点磷酸化的激酶 Weel 或 Myt1 可能是蛋白水解酶复合体的水解底物蛋白, Weel 或 Myt1 的降解与蛋白水解酶复合体的糜蛋白酶样活性和胰蛋白酶样活性有关^[6,7]。如果向海星卵母细胞核中注射一种钙激活蛋白酶(Calpain)则可以促进减数分裂的起始^[8]。1-甲基腺嘌呤可以中和 MG115 对 GVBD 的抑制作用, 高浓度的 1-甲基腺嘌呤可加速 26S 蛋白水解酶复合体的组装和激活, 还可促进 MPF 的激活^[9]。在两栖类动物中, 蛋白水解酶复合体的抑制剂异氮磷(diisopropylfluorophosphate, DFP)也可以抑制一种日本产海蟾蜍(*Bufo japonicus*)卵母细胞中孕酮诱导的 GVBD^[10]。以上都是在低等动物中的研究结果, 但是在哺乳动物中, 蛋白水解酶复合体的抑制剂 MG132 和 lactacystin 不能阻止大鼠卵母细胞 GVBD^[11]。这表明蛋白水解酶复合体对哺乳动物卵母细胞 GVBD 可能不是必需的。蛋白水解酶复合体在哺乳动物与海星和两栖类中卵母细胞 GVBD 中的作用不同, 这可能是由于不同动物卵母细胞 GVBD 的诱发机制不同。

2. UPP 在卵母细胞第一极体排放中的作用与调节

蛋白水解酶复合体的抑制剂 MG132 和 lactacystin 可以抑制大鼠体外成熟卵母细胞第一极体的排出, 并可以稳定周期蛋白 B 水平, 使 MPF 活性升高。在处于减数分裂阻滞的大鼠卵母细胞中, 蛋白水解酶复合体定位于核周围, 一旦恢复了减数分裂, 就向纺锤体区转位。这可能有助于蛋白水解酶复合体及时地降解周期蛋白 B^[11]。成熟后阻滞于 MII 期的卵母细胞中蛋白水解酶复合体也定位在纺锤体区。还有一些蛋白水解酶复合体特异性染色出现在第一极体上。卵母细胞减数分裂的恢复需要 MPF 的激活, 而 MPF 的失活发生在两次减数分裂之间, 并与周期蛋白 B 的降解相关。MG132 处理的卵母细胞被阻滞在 MI, 提示蛋白水解酶复合体可能对中期/后期转化是必需的。这些结果说明蛋白水解酶复合体的水解活性对 MPF 活性的下调及第一次减数分裂是必需的。从卵母细胞的 GV 期到 GVBD 期, 蛋白水解酶复合体的蛋白量有所增加, 但直到 MII 期没有显著改变。因此其蛋白质的定位或活性变化可能与其功能有更为直接的关系。

3. UPP 在卵母细胞 MII 期阻滞过程的作用及调节

在卵母细胞成熟分裂过程中, UPP 的活性或其

成分发生一系列的变化以适应功能的需要。蛋白水解酶复合体的活性在成熟的海星卵中较未成熟的卵高^[12]。当海星卵母细胞被 1-甲基腺嘌呤诱导成熟后, 26S 蛋白水解酶复合体的活性规律性变化: 先下降, 再升高。这一活性变化可能与 26S 蛋白水解酶复合体的组装和去组装过程有关^[13]。用免疫杂交分析爪蟾成熟和未成熟卵母细胞的 20S 蛋白水解酶复合体, 发现两种卵中 20S 蛋白水解酶复合体亚单位的成分不同。并证明 $\alpha 4$ 亚单位的一个成分 $\alpha 4-x1$ 在 G2 期磷酸化, 而在 MII 期去磷酸化。因此 $\alpha 4-x1$ 的磷酸化可能与蛋白水解酶复合体在 G2 期活性被抑制有关, 而其亚基的去磷酸化可能与 MII 阻滞克服时蛋白水解酶的活化有关。类似的变化也见于金鱼卵母细胞减数分裂进程中^[14,15]。

阻滞在 MII 期的脊椎动物卵母细胞具有稳定的周期蛋白 B 和高水平的周期蛋白 B/Cdc2 激酶活性。MII 阻滞的维持需要 CSF 活性。Emil 可能是 CSF 活性的必要充分条件^[16]。此外, CSF 活性也可能需要 Mos 依赖的 MAPK/p90rsk 途径的激活。p90rsk 可以磷酸化并激活纺锤体检验点激酶 Bub1, 后者能够抑制对中期/后期转换所必需的 E3 泛素连接酶 APC。因此 p90rsk 能够导致中期阻滞, 这种机制从酵母到哺乳动物细胞中都高度保守。p90rsk 能够诱导脊椎动物卵中 CSF 的阻滞作用暗示在细胞周期中 MAPK 途径和纺锤体组装检验点间有非常紧密的关系。利用免疫共沉淀从卵抽取物中去除 Bub1, 则能够阻断 Mos 建立 CSF 阻滞的作用, 添加有活性的 Bub1 则能够恢复这种阻滞作用。而即使在缺失 Mos 的情况下, 周期蛋白 E/Cdk2 也能够诱导卵抽提物的中期阻滞。当它表达于 MI 末期的时候还能抑制周期蛋白 B 降解。所以 MII 期 CSF 阻滞的作用可能是周期蛋白 E/Cdk2 和 MAPK/Bub1 共同作用的结果。一旦中期阻滞建立起来之后, 就能够在缺失 MAPK/Bub1 或周期蛋白 E/Cdk2 的情况下维持。因此这两个途径可能是相互独立的, 每一个途径似乎都能够阻止 APC 的激活, 而 APC 对周期蛋白 B 的降解和中期转化是必需的^[17,18]。

MI 阻滞的爪蟾卵特征是存在高活性的 MPF 和微管形成的纺锤体, 两者在蛋白质合成抑制剂存在时都不稳定。在 GVBD 时, MPF 激酶和 MAPK 活性都被激活。CDC27(也是泛素连接酶的一个成分)却在此时被磷酸化, 并维持其磷酸化状态直到受精, 说明此连接酶复合物的一个重要成分早在 GVBD 时期就被修饰了。这种磷酸化可能对于泛素

连接酶在此过程中的活性有关。从 GVBD 早期到 MII 期,直到受精前,cdc2 激酶和 MAPK 活性均匀地存在于卵中,并受蛋白质合成开关的严格限制,如果蛋白质合成受到抑制则会诱导 MAPK 和 MPF 的灭活并驱动卵母细胞进入间期。MII 期卵母细胞的纺锤体一旦到达卵皮质区就不再对蛋白合成抑制敏感了,MII 期 MAPK 活性也有类似情况。在此阻滞期,MPF 激酶活性可明显地分为两部分。一部分取决于周期蛋白 B 的活跃地转换,接受微管检验点的调节。另一部分则很稳定,通过离心或冷激改变了 MII 期卵的成分分布则可灭活 MAPK 并使所有的周期蛋白 B 完全被降解。因此 MAPK 可能是通过阻止周期蛋白 B 进入泛素降解途径从而参与了 CSF 活性^[19]。

三、UPP 在卵母细胞受精过程中的作用

卵母细胞激活时细胞内 Ca^{2+} 浓度的升高与蛋白水解酶复合体的激活有关。当用 Ca^{2+} 载体 A23187 激活爪蟾或海鞘卵母细胞时,蛋白水解酶复合体被激活,提示 Ca^{2+} 可促使 20S 蛋白水解酶复合体组装成 26S 蛋白水解酶复合体^[20,21]。蛋白水解酶复合体本身通过 29KD 的调节亚单位与 Ca^{2+} 结合而受 Ca^{2+} 调节^[8]。此外,UPP 通路的激活与蛋白酪氨酸磷酸酶的活性有关。抑制其磷酸酶活性后,MAPK 去磷酸化、p34/cdc2 磷酸化、周期蛋白 B2 和 Mos 的降解都受到抑制^[22]。所以 UPP 通路某个成分或其激活分子的去磷酸化对其降解活性是必需的。

在不同的情况下,蛋白水解酶复合体对底物的降解也是有选择性的。例如阻滞于 MII 的爪蟾卵母细胞在 Ca^{2+} 载体 A23187 的作用下周期蛋白 B1、B2 和 Mos 都被降解,但在 6-DMAP 的作用下只有 Mos 被降解,周期蛋白 B1 和 B2 保持稳定^[23]。这些结果说明在不同的条件下蛋白水解酶复合体的底物特异性不同。

卵母细胞受精时细胞内 Ca^{2+} 浓度升高, Ca^{2+} 与钙调蛋白 (Calmodulin, CaM) 结合后可以激活钙调蛋白依赖的蛋白激酶 II (Ca^{2+} /calmodulin-dependent protein kinase II, CaMK II), CaMK II 解除了 Emil 对 APC 的抑制作用从而激活 UPP。然后再通过 UPP 降解周期蛋白 B,下调 MPF 活性,使卵母细胞通过 MII 期阻滞,完成第二次减数分裂^[16,24]。同时, Ca^{2+} 的激活似乎还能维持 MAPK 的磷酸化活性状态直到原核形成前,这可能与 MAPK 在原核形成

前的功能有关。在爪蟾中,向 MII 期卵母细胞中注射活化的 CaMK II 会导致泛素依赖的周期蛋白 B 降解和 MPF 失活,从而把卵从 MII 期阻滞中释放出来^[25]。因此 CSF 活性可能就是 Emil 维持的。可以推测 CSF 的失活与 CaMK II 的作用密切相关。而卵母细胞受精可以诱导 UPP 的活化,UPP 通过降解周期蛋白 B 使 MPF 灭活,同时 UPP 也抑制 MAPK 级联信号途径从而使 UPP 最终被完全激活,最后卵母细胞突破 CSF 对 MII 的阻滞作用而进入间期并开始准备进行胚胎细胞的有丝分裂。

在中期/后期转换过程中起重要作用的后期促进复合体 (anaphase-promoting complex, APC) 是使特定底物泛素化的 E3 连接酶复合体。在卵母细胞减数分裂过程中,APC 在受精后被激活,介导了蛋白水解酶复合体对周期蛋白 B^[26] 和 Mos^[27,28] 的降解,从而使卵母细胞通过第二次减数分裂中期阻滞进入间期。爪蟾卵母细胞经显微注射 APC 激活剂 Fizzy 抗体或 APC 核心亚单位 Cdc27 的抗体,或检验点蛋白 Mad2 (a destruction-box peptide),或甲基化泛素,都能逐渐使细胞通过第一次减数分裂并阻滞在第二次减数分裂中期。然而经电激活或用 A23187 处理后,这些细胞的姐妹染色单体不能分离,并仍然阻滞在 MII 中期,而这两种模拟受精的处理在对照组卵中能逐步诱导染色体分离。因此,APC 对第二次减数分裂末期,而不是减数第一次分裂末期是必需的^[29,30]。此外,APC 激活剂 Cdc20 对受精后 APC 的激活是必需的。在细胞静止因子 (cytostatic factor, CSF) 阻滞的卵中,APC (cdc20) 抑制剂 Emil 是抑制 APC 并阻止减数分裂退出的必要条件^[16]。

四、其他细胞因子对 APC 活性的调节

APC 活性的调节是 UPP 是否能发挥作用的关键。在卵母细胞减数分裂成熟和受精过程中,APC 和活性至少受到四个方面的调节。1,磷酸化和去磷酸化的调节。MPF 可通过磷酸化 Cdc20 和 Cdh1 等 APC 的激活物而激活 APC^[31];Plk 至少可以磷酸化 APC 的三个亚单位 (APC1, 3 和 6) 从而激活 APC。在爪蟾卵母细胞中,Plx1 可中和 microcystin 敏感的磷酸酶对 APC 的灭活作用^[29]。PKA 通过磷酸化 APC1 和 3 而抑制其活性。蛋白磷酸酶 1 可在中期向后期转换时激活 APC。MAPK 通过 p90rsk 磷酸化 APC 的一个组分 Cdc27 而抑制其活性^[32]。2, APC 与底物特异性激活物结合后被激活,如 Cdc20

和 Cdh1 等以底物特异性的方式激活 APC,他们在细胞周期的不同时期与 APC 结合可以选择性地降解不同的周期蛋白,如 APC-Cdh1 降解周期蛋白 B,而 APC-Cdc20 降解周期蛋白 A^[33]。3,在染色体组装检验点时由 Mad2 和 Bub 家族的作用下使 APC 失活。4,通过 Bub2/RENT 复合体系统调节 APC 的活性^[31]。对 APC 功能的抑制会使中期向后期的转换受到影响。线虫中 APC4 的同源物 EMB30 发生突变,则卵母细胞不能完成中期向后期 I 的转变,第一极体不能排出^[34]。总之,可以确定的是蛋白质的磷酸化状态肯定影响 UPP 的作用,这需要多种激酶和磷酸酶的调节。而蛋白质的合成和降解是否也能够影响 UPP 的作用还不得而知。此外,某些分子还可能通过与 UPP 成分的结合或解离从而影响 UPP 的活性。

五、结语和展望

在卵母细胞减数分裂成熟和受精过程中,多种不同的细胞周期蛋白及其依赖的激酶相互作用,从而推动细胞周期的不断转换。除了蛋白质的合成以及磷酸化和去磷酸化的修饰之外,某些特异性蛋白质的选择性降解也起到关键性的作用。UPP 在特定时间选择性地降解细胞周期调节的关键因子,并与 CaMK II 等分子相互作用,参与卵母细胞减数分裂过程中 GVBD、第一极体排放、MII 阻滞及克服等,从而使卵母细胞通过减数分裂细胞周期的特定检验点。一些周期蛋白(如 APC 某些亚单位等)还充当泛素连接酶成分,直接参与泛素化过程。但是在卵母细胞减数分裂成熟和受精过程中 UPP 的作用和机制,以及与 Mos/MAPK/p90rsk、Plk、MPF、PKC、CaMK II 等重要调节分子的关系如何仍有待于进一步研究。

参 考 文 献

[1] 范衡宇等,2002,科学通报,47(9):650-655.
[2] Attaix D, et al., 2001, *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.*, 4(1):45-49.
[3] Baarends W M, et al., 1999, *Mol Cell Endocrinol.*, 151(1-2):5-16.
[4] Sawada H, et al., 1997, *Biochem Mol Biol Int.*, 41(5):905-911.
[5] Takaji S M, et al., 1997, *Biochem Biophys Res Commun.*, 236(1):40-43.

[6] Tanaka E, et al., 2000, *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol.*, 125(2):215-223.
[7] Michael WM, et al., 1998, *Science.*, 282(5395):1886-1889.
[8] Santella L, et al., 1998, *Cell.*, Calcium; 23(2-3):123-130.
[9] Morinaga C, et al., 2000, *Biosci Biotechnol Biochem.*, 64(2):268-274.
[10] Takahashi M., 1994, *Mol Reprod Dev.*, 38(3):310-317.
[11] Josefsberg LB, et al., 2000, *Biol Reprod.*, 62(5):1270-1277.
[12] Chiba K., 1997, *J Biochem (Tokyo).*, 122(2):286-293.
[13] Sawada MT, et al., 1999, *Biochem Biophys Res Commun.*, 254(2):338-344.
[14] Tokumoto T., 1999, *Int Rev Cytol.*, 186:261-294.
[15] Tokumoto M, et al., 2000, *Eur J Biochem.*, 267(1):97-103.
[16] Reimann JD, et al., 2002, *Nature.*, 416(6883):850-854.
[17] Maller JL, et al., 2001, *Biol Cell.*, 93(1-2):27-33.
[18] Tunquist BJ, et al., 2002, *Curr Biol.*, 12(12):1027-1033.
[19] Thibier C, et al., 1997, *Dev Biol.*, 185(1):55-66.
[20] Aizawa H, et al., 1996, *Biochem Biophys Res Commun.*, 218(1):224-228.
[21] Kawahara H., 1994, *Dev Biol.*, 166(2):623-633.
[22] Bodart JF, et al., 1999, *FEBS Lett.*, 457(2):175-178.
[23] Bodart JF, et al., 1999, *Exp Cell Res.*, 253(2):413-421.
[24] Dupont G., 1998, *Biophys Chem.*, 72(1-2):153-167.
[25] Lorca T, et al., 1993, *Nature.*, 366(6452):270-273.
[26] Tokumoto T, et al., 1997, *J Cell Biol.*, 138(6):1313-1322.
[27] Ishida N, et al., 1993, *FEBS Lett.*, 324(3):345-348.
[28] Nishizawa M, et al., 1993, *EMBO J.*, 12(10):4021-4027.
[29] Brassac T, et al., 2000, *Oncogene.*, 19(33):3782-3790.
[30] Peter M, et al., 2001, *Nat Cell Biol.*, 3(1):83-87.
[31] Kotani S, et al., 1999, *J Cell Biol.*, 146(4):791-800.
[32] Gross SD, et al., 2000, *Curr Biol.*, 10(8):430-438.
[33] Peters JM., 2002, *Mole Cell.*, 9:931-943.
[34] Furuta T, et al., 2000, *Mol Biol Cell.*, 11(4):1401-1419.