

- [29] White, T. C. et al., 1994, *Plant Physiol.*, 106:917-928.
[30] Urao, T. et al., 1993, *Plant Cell*, 5:1529-

1539.

- [31] Ludevid, M. D. et al., 1992, *Plant J.*, 2:999-1003.

酵母细胞周期调控的研究进展

林玲袁生

(南京师范大学生物系 南京 210097)

酵母细胞具有易于培养,遗传系统相对简单而且清楚等许多优点,是真核生物细胞周期调控研究的简单而有效的模型,其研究工作的进展速度非常迅速,推动着哺乳动物和其他真核生物细胞周期调控研究的进展。细胞周期调控研究通常采用两类酵母即芽殖酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)和裂殖酵母(*Schizosaccharomyces pombe*)。这两类酵母在进化上并不相近,其中裂殖酵母的基因顺序与哺乳动物有着更大的相似性,因而在真核生物细胞周期调控的研究工作中更加受到重视。

在过去20年里,遗传学家和细胞学家各自利用自己感兴趣的材料探索细胞周期调控因子^[1,2]。从1979年第一个cdc (cell division cycle)基因在裂殖酵母中发现起,遗传学家一直用酵母这种非常有利于遗传学方法研究的材料来揭示真核生物细胞周期调控的复杂机制。70年代初,Hartwell及其合作者^[2]分离出一些温度敏感性突变株(temperature-sensitive mutant),也被称为细胞分裂周期突变株。根据大量实验结果观察,Hartwell等提出酵母细胞的运转受到一些与细胞周期调节有关的基因所控制,迄今为止,科学家们已查明了多个与细胞周期调控有关的基因。酵母细胞分裂的正常进行依赖细胞周期各个进程的基因产物功能的正常发挥。温度敏感性突变株在允许的温度下,这些基因可以正常发挥作用,而在限制温度下这些基因则失去活性,细胞分裂也停止。实验表明,在细胞周期调控的研究历史中用酵母作为实验材料曾极大程度地推动了细胞周期调控研究的

发展。在今后的研究工作中,酵母作为研究细胞周期调控的好材料必然还将发挥巨大的作用。

一、酵母细胞周期的特点

一般真核生物细胞由一次分裂结束到下一次分裂结束都要经历相同的变化阶段(即G1-S-G2-M)周而复始地进行活动。细胞的这种生长和分裂循环被称为细胞周期。

芽殖酵母在G1晚期有start点,而在高等真核生物中称R点(restriction point)^[2]。酵母中的start点决定是否经历下一个细胞周期。一旦细胞通过start点就开始DNA合成以及一系列连续的过程直到子代达到start点,外界因素(营养缺乏、性激素等)不能阻止分裂的进行。芽殖酵母细胞周期的限速过程是生长和蛋白质合成,当细胞生长达到一定的体积就能通过start点。野生型单倍体的临界体积为 $35\mu\text{m}^3$ ^[4]。生长缓慢的细胞其代时加长主要由于在start点前的G1期加长所致。子细胞需要较长的G1期。芽殖酵母G1晚期纺锤体极体SPB(spindle pole body)进行复制。start点的完成以SPB的复制为标志,芽是通过start点的最明显的可见标志。芽殖酵母在S期SPB已开始分开,到G2早期SPB已完全分开,纺锤体已经形成。芽殖酵母M期染色体没有明显凝聚且核膜始终保持完整。芽殖酵母的SPB包埋在核膜中而不象高等真核生物那样位于细胞质中,这可能与核分裂有关^[3]。

裂殖酵母在G1晚期也有start点,但通过start点的细胞并没有进行SPB的复制,一直到

M 期才进行 SPB 的复制,进而 SPB 分离,形成纺锤体。进入 M 期的标志是胞内纺锤体的形成和染色体的凝聚。同样,裂殖酵母在 M 期核膜不破裂,始终保持完整。裂殖酵母的 SPB 也位于核膜上^[3,4](图 1)。

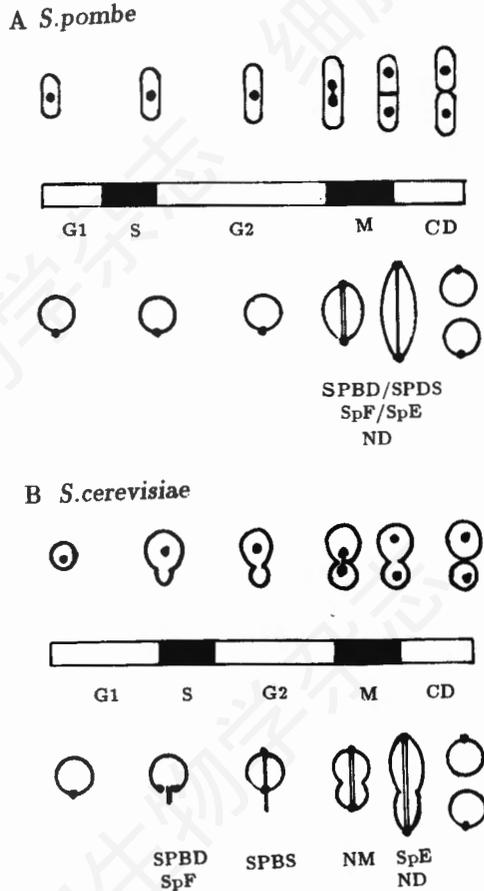


图 1 裂殖酵母与芽殖酵母的细胞周期图解^[3]

上面表示细胞的形态学变化,中间表示相对应的细胞周期阶段,下面表示纺锤体极体和纺锤体的情况。其中,SPBD 表示纺锤体极体复制,SPBS 表示纺锤体极体分离,SpF 表示纺锤体形成,SpE 表示纺锤体延长,NM 表示核迁移到芽颈,ND 表示核分裂。

兹将酵母和高等真核生物细胞周期的差异列于表 1。

二、酵母细胞周期的调控

真核生物细胞周期中出现的一系列大分子的变化都有其时空顺序,它们必须协调起来作为一个整体来运行。因此,必然存在一个调控机制进行调控。统一理论(the unified theory)认为这是通过蛋白质的磷酸化来实现的^[3]。依赖于细胞周期蛋白(cyclin)的蛋白激酶 CDK(cyclin-dependent kinase)就是这个使蛋白质磷酸化的激酶。而 CDK 在细胞周期中的含量不变,它需要与周期蛋白结合才被激活。与不同的 CDK 的催化亚单位(Cdc28, Cdc2 等)的周期蛋白是不同的,在细胞周期中的作用位点也是不同的。三环模型^[1,5](tricycle model)认为各种周期蛋白激活的蛋白激酶可在细胞周期运行的三个不同控制点起作用:酵母 G1 期的 start 点或高等真核生物细胞 G1 期的 R 点、S 期启动点(S phase onset)、G2/M 转换处。与此对应,周期蛋白也分为三大类:G1 周期蛋白、A 型周期蛋白、B 型周期蛋白。兹将三者之间的比较列于表 2。

1. 酵母细胞 CDKs 和周期蛋白的特点

酵母细胞中的 CDKs 和周期蛋白与高等真核生物的情况略有不同。芽殖酵母至少有 4 种 CDKs 包括 Cdc28、Pho85、Kin28、Srb10^[7]。其中只有 Cdc28 在染色体周期调节中起作用,其他的只是起调节转录的作用。裂殖酵母中已知有 2 种 CDKs 即 Cdc2 和 Mop1^[8],其中 Cdc2 和芽殖酵母的 Cdc28 执行相同的功能,在细胞周期运行的三个不同控制点都发挥作用,而这

表 1 高等真核生物、芽殖酵母和裂殖酵母细胞周期的比较

	高等真核生物细胞	芽殖酵母	裂殖酵母
G1 晚期启动分裂周期的位点	R 点	start 点	Start 点
SPB 复制时期	G1 晚期或 S 早期	G1 晚期	M 期
纺锤体的形成时期	M 期的前中期	G2 早期	M 期
M 期的核膜变化	前期核膜破裂,末期核膜重建	核膜不破裂,始终保持完整	核膜不破裂,始终保持完整
染色体在 M 期的状态	明显凝聚	没有明显凝聚	明显凝聚
SPB 的位置	细胞质中	核膜上	核膜上

表 2 G1 周期蛋白、A 型周期蛋白和 B 型周期蛋白的比较

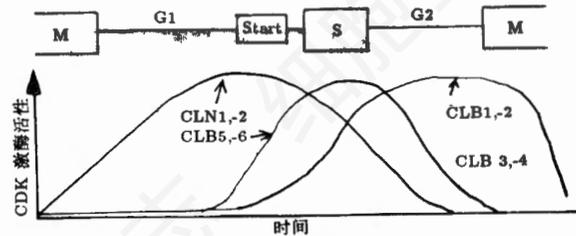
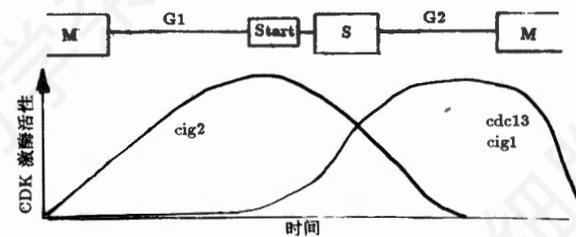
	G1 周期蛋白	A 型周期蛋白	B 型周期蛋白
周期蛋白毁灭盒 (Destruction box) ^[6]	N 端无毁灭盒☆而 C 端有与其降解有关的 PEST 序列。	N 端有负责其降解的毁灭盒。	N 端有负责其降解的毁灭盒。
在细胞周期中的变化	G1 期表达, S 期降解。	S 期启动时或稍早开始表达, 其表达早于 B 型周期蛋白, 降解也早于 B 型周期蛋白。	S 期开始表达, G2/M 转换处达到峰值, M 期结束时迅速被降解。
所结合的蛋白激酶	芽殖酵母: Cdc28 裂殖酵母: Cdc2	芽殖酵母: Cdc28 裂殖酵母: Cdc2	芽殖酵母: Cdc28 裂殖酵母: Cdc2
与结合蛋白结合后起作用的位点	Start 点	S 期启动点, 可能还在 S 期的进行过程中起作用。	G2/M 转换处
缺乏后细胞所停滞的阶段	G1/S 转换处	G1/S 转换处	G2/M 转换处

☆ 毁灭盒是泛素的识别位点。

一功能在哺乳动物中则由 Cdk4/Cdk6、Cdk2、Cdk1(即 Cdc2)共同承担。Mop1 起调节转录的作用。有趣的是若芽殖酵母的 *cdc28* 基因突变则细胞周期被阻断在 G1/S 转换处, 只有少部分阻断在 G2/M 转换处。若裂殖酵母的 *cdc2* 基因突变则细胞周期被阻断在 G2/M 转换处, 也有少部分阻断在 G1/S 转换处^[9,10]。

芽殖酵母中共有 9 种周期蛋白^[11-15]。其中 Cln1、Cln2、Cln3 在 start 点起作用, Clb5 和 Clb6 在 S 期启动点和 S 期起作用, Clb1、Clb2、Clb3、Clb4 在 G2/M 转换处起作用。Clns 是 G1 型周期蛋白, Clbs 是 B 型周期蛋白。Cln1 和 Cln2 关闭 B 型周期蛋白的降解, 启动 Cdc28-Clbs 的抑制蛋白 Sic1 的降解。Clb1 和 Clb2 引发核分裂和 G2 期芽生长。Clb3 和 Clb4 引发有丝分裂纺锤体的形成。Clb5 和 Clb6 引发 DNA 复制。Clb1 和 Clb2 只能在 Cln1 和 Cln2 活动后积累, 反过来, Clb1 和 Clb2 在 G2 期一有活性就关闭 Cln1 和 Cln2 的转录。虽然 Cdc28-Cln 对于 Cdc28-Clb 由低活性到高活性的转变是必需的, 但不能维持其高活性。Cdc28-Clb 一旦达到充分的活力后就能通过加速自身的合成并促进抑制蛋白 Sic1 的降解, 同时通过抑制自身的降解并抑制 Sic1 的合成而使 Cdc28-Clb 的高活性状态具有自我维持活性持久的特点^[7]。Cdc28-Clb 由高活力向低活力的转变涉及到 *cdc15* 基因群^[7], 但 *cdc15* 基因群在细胞进入 G1 期后不能维持 Cdc28-Clb 的低活力。 *cdc15*

基因群包括 *cdc15*、*cdc5*、*dbf2*、*tem1*、*let1* 和 *cdc14*。裂殖酵母中共有 3 种周期蛋白^[11], 其中 Cig2 是主要的在 start 点和 S 期启动点起作用的周期蛋白。若 Cig2 缺失, Cig1 和 Cdc13 也能促进 G1 期进程。Cig1 和 Cdc13 在 G2/M 转换处起调节作用, 其中 Cdc13 是主要的有丝分裂周期蛋白。Cig1、Cig2 和 Cdc13 都是 B 型周期蛋白(图 2)。

(a) 芽殖酵母 (*S. cerevisiae*)(b) 裂殖酵母 (*S. pombe*)图 2 (a) 芽殖酵母细胞周期中 CDKs 活性的变化^[11](b) 裂殖酵母细胞周期中 CDKs 活性的变化^[11]

2. CDKs 和周期蛋白在酵母细胞周期调控中的作用机制

(1) 在 start 点的调控机制 细胞从 G1 期进入 S 期去完成细胞分裂,通常要排除其他选择,如性别分化或进入静止期,因此在 G1 期必然有调控者,例如细胞的大小、外界因素(营养、激素、生长因子)等。只有条件适合才能由 G1 期进入 S 期。实际上,外界因素是通过控制 start 点前的周期蛋白积累来完成 G1/S 过渡的^[16]。

在芽殖酵母 start 点起作用的是 Cdc28-Clns 复合物。酵母细胞必需生长到一定体积才能通过 start 点。在 G1 期,cAMP 通过依赖于 cAMP 的蛋白激酶促进生长并抑制 Cln1 和 Cln2 的转录^[17]。一旦 G1 期细胞生长达到了临界体积,就通过 Cdc28-Cln3 复合物启动 Cln1 和 Cln2 的转录。Cln1 和 Cln2 转录后关闭 B 型 cyclins 的降解、打开 Cdc28-cyclinB 抑制蛋白 Sic1 的降解、关闭单倍体细胞对性激素反应的能力并引发芽形成所需的细胞质极化。这样细胞就通过了 start 点。Clns 与 Cdc28 结合后被 Cdc28 磷酸化,从而被 cdc34 编码的泛素缀合酶(ubiquitin-conjugating enzyme)识别而降解^[15]。因此 Clns 的降解是一种自催化的过程。Clns 的降解除了涉及到 Cdc34 外还涉及到

GRR1、Cdc53 与 Skp1。芽殖酵母即使在营养丰富的情况下,性激素也能通过 Cdc28-Clns 的抑制蛋白 FAR1^[11,12](factor arrest)使细胞阻滞在 start 点前。一旦细胞通过 start 点,外界因素就不能阻止分裂的进行。FAR1 被涉及到 Cdc34 的一种泛素依赖性蛋白酶解途径降解^[12]。

在裂殖酵母 start 点起作用的是 Cdc2-Cig2 复合物。在 start 点前的 G1 期,Rum1 使 Cdc2 失活,使其不与 Cdc13 结合成有活性的激酶,从而阻止 Cdc2-Cdc13 活性的积累,同时能瞬时地阻止 Cdc2-Cig2 的活性,直到细胞达到通过 start 点所要求的体积。因此 rum1 的产物是一种 CDIs(cdk inhibitory proteins),它能够通过抑制 CDK 的活性起到抑制 G1 期进程和 S 期起始的作用,从而阻止细胞从 start 点前的 G1 期进入 M 期^[11,18-20]。若细胞缺失 Rum1,将造成细胞直接从 M 期经 start 点进入未成熟的 S 期,不能延长 G1 期。若 Rum1 在 G2 期过分表达,将会由于抑制了 Cdc2-Cdc13 激酶的活性而出现类似于 Cdc13 缺失的表型,即出现中间没有 M 期的多次重复的 S 期。对于不同基因型的细胞,缺失 Rum1 所造成的后果是不同的(图3)。但是

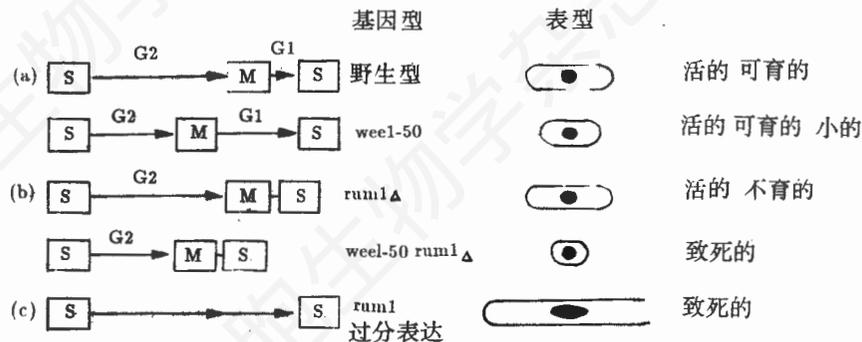


图3 裂殖酵母中 Rum1 对细胞周期的影响^[11]

(a) G2 期细胞需长到一定的大小后 Cdc2 激酶才被激活,由此细胞进入 M 期。同样,细胞也要大到一定的体积才能通过 start 点。野生型细胞在有丝分裂结束后子细胞已达到这一体积,因此 G1 期非常短。但若有丝分裂发生在体积还小的细胞中,例如 weel-50 突变株,则必须延长 G1 期使细胞达到 start 点所需要的体积。

(b) Rum1 缺失株不能延长 G1 期而通过 start 点,这对于野生型来说由于本身 G1 期短,细胞已达到体积,因此仍是活的。但由于没有交配和性别分化所需的 start 点前的 G1 期,细胞是不育的。对于 weel-50 突变株来说,由于每分裂一次细胞生物量减少一次而致死。

(c) 在 G2 期时 rum1 过分表达抑制了 Cdc2-Cdc13 的活性而造成中间没有 M 期的多次重复的 S 期。

Rum1 并不像芽殖酵母中的 Sic1 那样抑制所有的 Cdk-CyclinB 复合物。裂殖酵母中的 Rum1 只能完全抑制 Cdc2-Cdc13, 部分抑制 Cdc2-Cig2, 而对 Cdc2-Cig1 没有抑制作用^[21]。

(2) 在 S 期启动点的调控机制 在芽殖酵母 S 期启动点起作用的是 Cdc28-Clb5 复合物和 Cdc28-Clb6 复合物。Clb5 和 Clb6 能引发 DNA 的复制, 而 CDK 激酶抑制物的降解对于 DNA 复制的发动也是必需的^[12]。p40^{inc1} 是一种特殊的 Cdc28-Clb 的抑制蛋白。它在 G1 期积累, 与 Cdc28-Clb5 结合, 且抑制其活性, 但不影响 Cdc28-Clns 的活性。一旦细胞通过 start 点, Sic1 就通过 Cdc34 参与的泛素依赖性蛋白酶解途径而被降解。Sic1 的降解促使芽殖酵母细胞通过 S 期启动点引发 DNA 复制。Sic1 的降解还需要 Cdc4、Cdc53 和 Skp1^[14, 15, 21, 22]。在体外发动 Sic1 的降解时, 发现 Sic1 是 Cdc28-Clns 的底物, 磷酸化后才被破坏。因此认为只有 Sic1 被磷酸化后才能被泛素缀合酶识别。Sic1 在 S 期降解、G2 期有存留, 到 M 期失活^[7, 12]。若芽殖酵母的普通增殖细胞受到胞外信号或 DNA 损伤的刺激, 可通过 Sic1 在 start 点后的 G1 期抑制 Cdc28 激酶的活性而使细胞阻滞在 G1/S 转换处。

芽殖酵母 DNA 复制的发动分为两步^[7]: 第一, 复制前复合物 pre-RC (prereplicative complex) 的形成。pre-RC 是复制起点启动 (origin firing) 的前提状态。在芽殖酵母细胞有丝分裂后期 (姊妹染色体分离后) pre-RC 已形成, 并随着染色体分离进入到两个子细胞中去^[14]。子细胞 G1 期的 pre-RC 包含起点识别复合物 (origin-recognition complex, ORC)、Cdc6 和 MCM (minichromosome maintenance) 家族蛋白^[14, 23]。ORC 在整个细胞周期中始终结合在染色体上^[14, 23]。Cdc6 对 DNA 的复制是必需的, 而且它与 ORC 的大亚基有序列的相似性。Cdc6 的转录呈现为两个瞬间的高峰^[7, 21], 一个在细胞退出 M 期时, 另一个在晚 G1 期, 显然这两个瞬间高峰都在 Clb-Cdc28 低活性的阶

段。一旦细胞已跨越位于 G1 晚期的不归点 (point of no return), 届时 Cdc6 的合成就不能导致 pre-RCs 的形成。这与 Cdc28-Clb 的活性有关, 因为 Cdc28-Clb 不仅具有引发 DNA 复制的作用, 而且具有阻止 pre-RC 重装配的作用^[14, 23]。如果细胞在缺乏 Cdc6 状态下进入分裂周期, 分裂周期虽然仍然进行, 但不进行 DNA 的复制, 形成一种没有 DNA 复制的流产型假有丝分裂状态。这种不正常的状态导致后期未复制的染色体分离进入两个子细胞, 使带有一套不完整染色体的子细胞死亡^[14]。Cdc6 具确保细胞在有丝分裂之前进行 DNA 的复制的作用。MCM 家族蛋白对 DNA 的复制也是必需的。芽殖酵母的 MCM 蛋白家族包括六种蛋白质^[14], 即 Mcm2、Mcm3、Cdc46/Mcm5、Cdc54/Mcm4、Cdc47/Mcm7 和一种与裂殖酵母的 Mis5 蛋白相关的蛋白质。任何一种 MCM 蛋白基因发生错义突变都会出现大量丢失质粒或出现与它在 DNA 复制中所起作用相一致的细胞周期阻滞; 第二, 由 Cdc28-Clb 和在 G1 晚期出现的具蛋白激酶活性的 Cdc7-Dbf4 发动复制起点的启动^[14, 23]。DNA 复制启动后, Cdc6 和 MCM 家族蛋白逐渐被去除。染色体的复制复合物由 pre-RC 变为 post-RC (post-replicative complex)^[14]。post-RC 只带有 ORC。自 G2 期到 M 中期染色体复合物呈 post-RC 状态。Cdc7 的活性不依赖于 cyclin 而依赖于 Dbf4, 在整个细胞周期中的活性上下波动, 在 G1/S 转换处被激活。因此 Cdc7 又被称为 Dbf4 依赖性激酶 (Dbf4-dependent kinase 或 DDK)^[23]。有证据表明 Cdc7 与 ORC 相互作用, 而 Dbf4 则与 DNA 的起点复制有关。Dbf4 还与 M 晚期起作用的 Polo/Cdc5 发生作用。显然, Cdc7-Dbf4 成为在 G1 期 DNA 复制的发动与 M 期姊妹染色体的分离之间进行调控的又一条途径。

裂殖酵母中是否存在 pre-RCs 还不清楚^[21], 但在裂殖酵母中却存在一种重要的 S 期调节蛋白 Cdc18。Cdc18 与芽殖酵母中的 Cdc6 的结构很相似, 缺乏 Cdc18 同样会导致 DNA

未复制就进入分裂周期的现象,而且 Cdc18 的过分表达也能导致 DNA 的多次复制^[14]。由此推测裂殖酵母中也可能存在 pre-RCs。此外,裂殖酵母启动复制同样需要 MCM 蛋白,在 S 期启动点起作用的仍然是 Cdc2-Cig2。当 Cdc2-Cig2 在 G1 期积累足够后,就活化 Cdc10-Sct1 转录因子,从而刺激 Cdc18 的转录,最终战胜 Rum1 的部分抑制作用而引发复制^[21]。

(3) 在 G2/M 转换处的调控机制 在细胞周期运行的三个不同控制点中,对 G2/M 转换处的调控机制了解得最早也最为透彻。该处的调控蛋白为 p34^{cdc2} 和 cyclinB 的复合物,在高等真核生物中称为促成因子 (maturation promoting factor, MPF)。Cdc2 普遍存在于真核生物细胞中,具高度保守性。芽殖酵母的 *cdc28* 和裂殖酵母的 *cdc2* 是等效基因。芽殖酵母 G2/M 转换处起作用的 p34^{cdc2}-cyclinB 复合物为 Cdc28-Clb1、Cdc28-Clb2、Cdc28-Clb3 和 Cdc28-Clb4。裂殖酵母在 G2/M 转换处起作用

的 p34^{cdc2}-cyclinB 复合物为 Cdc2-Cig1 和 Cdc2-Cdc13。

(1) p34^{cdc2}-cyclinB 复合物的功能特点 p34^{cdc2}——为催化亚单位,又称为 p34^{cdc2} 激酶^[2],具 Ser/Thr 蛋白激酶活性。在进入 M 期之前才表现出蛋白激酶活性。随着与之结合的 cyclinB 降解,激酶活性的消失,细胞即由 M 期进入 G1 期。在整个细胞周期中 p34^{cdc2} 的含量稳定不变。

cyclinB——为调节亚单位^[2],在细胞间期合成并逐渐积累,到 G2 期末和 M 前期其含量达到最大值。与之结合的 P34^{cdc2} 则逐渐被激活,致使细胞由间期进入 M 期。细胞进入分裂中期后, cyclinB 由另一条非 Cdc34 的泛素依赖性蛋白酶解途径即 APC (anaphase-promoting complex) 途径降解^[12,15,21,23], MPF 活性丧失,致使细胞由 M 期逐步向 G1 期过渡。在整个细胞周期中, cyclinB 呈周期性的合成和降解,影响着 p34^{cdc2} 的去磷酸化和磷酸化 (图 4)。

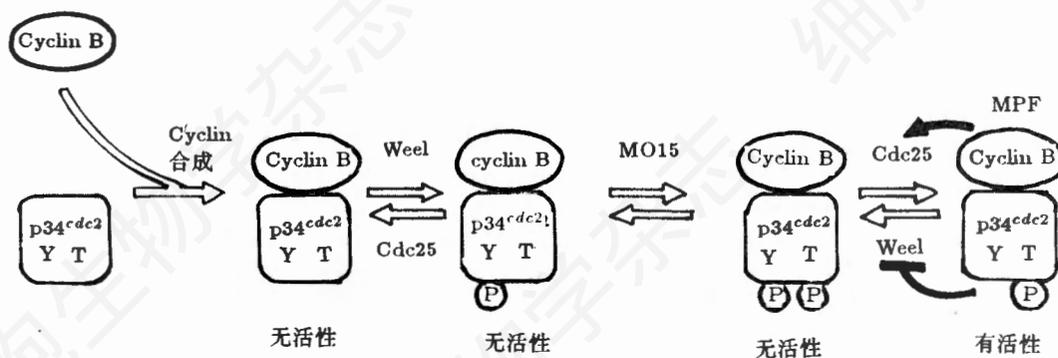


图 4 p34^{cdc2} 激活的步骤

(2) P34^{cdc2}-cyclinB 复合物活性的调节

p34^{cdc2}-cyclinB 复合物激酶活性,出现在 G2 晚期,到 M 期活性最大,G1 早期活性消失。对 p34^{cdc2}-cyclinB 复合物激活起作用的有如下几个因素^[2]:首先, cyclinB 与 p34^{cdc2} 的结合是必要的;其次,与高等真核细胞 p34^{cdc2} 的 Tyr15 和 Thr14 去磷酸化才能表现出激酶活性不同的是芽殖酵母 p34^{cdc28} 的 Tyr15 在细胞周期中也经历去磷酸化和磷酸化,但这些变化并不具备调

节 p34^{cdc28} 活性的作用^[24,25]。在裂殖酵母中, Tyr15 的去磷酸化具活化激酶的作用。催化这一过程的是 Cdc25 (Tyr 磷酸酶)。相反, Weel 是 Tyr 激酶,使 Tyr15 磷酸化,因此 Weel 和 Cdc25 活性间的平衡决定着 p34^{cdc2}-cyclinB 复合物的活性。此外, Nim1 通过促使 weel 产物磷酸化而使其活性受到抑制^[26]。p34^{cdc2} 激酶能使 Cdc25 磷酸化而使之活化又磷酸酶 IA (INH) 催化使 Cdc25 去磷酸化而失活^[24]; 第三,一种

细胞抑制因子 CSF (cytostatic factor) 对 p34^{cdc2}-cyclinB 复合物活性起稳定作用, 而原癌基因 c-mos 就具有此种 CSF 活性^[27]; 第四, p34^{cdc2} 的 Thr167(粟酒裂殖酵母)或 Thr161(非洲爪蟾)的磷酸化是 p34^{cdc2}-cyclinB 复合物表现活性所必须的。在哺乳动物和两栖动物中催化 Thr161 磷酸化的是 MO15, MO15 是 CAK (cdk activating kinase) 的催化亚单位。裂殖酵母中催化 Thr167 磷酸化的是 Mop1^[9]; 第五, 在正常情况下 DNA 复制的结束也是 p34^{cdc2}-cyclinB 复合物所必须的条件。可见, 参与调节 p34^{cdc2}-cyclinB 复合物活性的基因中使其激活的有: cdc25、c-mos、nim1。使其活性受抑制的则有: weel、mik1、suc1(图 5)。

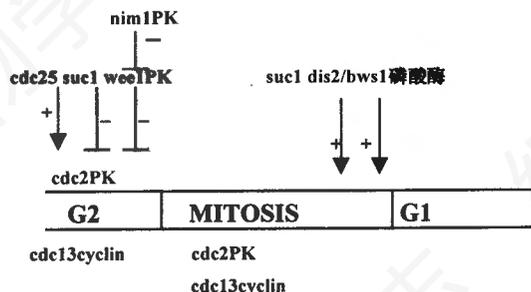


图 5 裂殖酵母中在 G2/M 转换处的调节基因

另外, p34^{cdc2}-cyclinB 复合物活性下降后, 细胞中一些有关的磷酸酶开始发挥作用, 使一些被 p34^{cdc2}-cyclinB 复合物催化的底物去磷酸化, 促使细胞由 M 期向 G1 期转化。裂殖酵母中 Dis2 和 Bws1 就是此类磷酸酶^[2,28]。

3. APC (anaphase-promoting complex) 途径及其在 M 中期/后期转化中的作用

在 M 期中还有一个重要的调控点即中期/后期转换处。中期染色体排列在赤道板上而后期发生姊妹染色体向两极分离。过去一直认为 M 中期/后期转化也是由 CDK-cyclinB 调节的^[7]。后来发现一些呈非降解形式的周期蛋白能把细胞阻滞在末期而非中期, 由此推测 CDK-cyclinB 的失活并不是引发姊妹染色体向两

极分离的直接原因。抑制 APC 的活性却能阻止姊妹染色体的分开^[15]。所以 M 中期/后期的转化是由 APC 途径来调控的^[7,15,23]。芽殖酵母的 APC 是由 Apcl、Cdc27、Cdc16、Cdc23 与 Cdc26 组成。裂殖酵母的 APC 由 Nuc2 和 Cut9 组成。APC 途径是通过降解后期抑制因子(anaphase inhibitor)促进姊妹染色体向两极分离的^[15,23]。芽殖酵母的后期抑制因子为 Pds1, 裂殖酵母的后期抑制因子为 Cut2。Pds1 与 Cut2 可能作为一种姊妹染色体的胶粘物^[14,15]将姊妹染色体粘在一起, 直到后期通过 APC 途径将这种胶粘物降解而释放出染色单体, 从而使姊妹染色体得以向两极分离。APC 途径还具降解与后期纺锤体相关的 Ase1 以及 M 期促进蛋白激酶 Polo/Cdc5^[23]等作用。

现在科学家们认为 P34-cyclinB 的激活使细胞进入 M 期, 发生核膜破裂、染色体凝聚以及排列在赤道板上等现象。然后 P34-cyclinB 激活 APC, 通过 APC 途径降解后期抑制因子, 使姊妹染色体向两极分离, 使细胞由 M 中期向后期过渡。APC 途径还具有降解 cyclinB 的作用, 使 p34-cyclinB 失活, 致使细胞由 M 期向 G1 期过渡^[15]。

摘 要

酵母是一种研究细胞周期调控的好材料, 在细胞周期的调控研究中具有重要作用。现在通常以芽殖酵母和裂殖酵母为代表进行研究。这两种酵母的细胞周期进程与高等真核生物相比各有其特点。

酵母细胞周期运行中存在有三个不同的控制点, 即 start 点、S 期启动点、G2/M 转换处。在这三个不同的控制点起作用的 CDK 的组成是不同的。芽殖酵母分别是 Cdc28-Clns; Cdc28-Clb5 和 Cdc28-Clb6; Cdc28-Clb1、Cdc28-Clb2、Cdc28-Clb3 和 Cdc28-Clb4。裂殖酵母中分别是 Cdc2-Cig2; Cdc2-Cig2; Cdc2-Cdc13 和 Cdc2-Cig1, 其中芽殖酵母中的 cdc28 和裂殖酵母中的 cdc2 是等效基因。不同的控制点存在着不同

的调控机制,它们涉及到大量的基因,其中以G2/M转换处的调控机制研究得最早也最透彻。另外,APC途径在M中期/后期转化中起着重要作用。

参 考 文 献

- [1] 张四清等,1994,细胞周期调控因子P34^{cdc2}及cyclin的研究新进展,中国国家自然科学基金委员会生命科学部和中国科学院上海文献情报中心编,“细胞生物学新动态”上海科学技术出版社,37-50.
- [2] 张传茂等,1994,细胞有丝分裂期调节研究的历史与现状,中国国家自然科学基金委员会生命科学部和中国科学院上海文献情报中心编,“细胞生物学新动态”上海科学技术出版社,21-36.
- [3] Hutchison C. et al., 1995, *Cell Cycle Control*, Oxford University Press Inc. New York, 1-8, 16-20.
- [4] Fantes P. et al., 1993, *The Cell Cycle a Practical Approach*, Oxford University Press Inc. New York, 69-71, 93-95.
- [5] Marx J., *Science*, 1991, **252**: 1490-1492.
- [6] Draetta G., 1990, *TIBS*, **15**: 378-383.
- [7] Nasmyth K., 1996, *Tig*, **12**(10): 405-412.
- [8] Damagnez V. et al., 1995, *The EMBO Journal*, **14**(24): 6164-6172.
- [9] Nurse P. et al., 1981, *Nature*, **292**: 558-560.
- [10] Piggott J. et al., 1982, *Nature*, **298**: 391-393.
- [11] Labib K. et al., 1996, *Trends in Cell Biology*, **6**: 62-66.
- [12] Pines J., 1994, *Nature*, **371**(27): 742-743.
- [13] Kuentzel H. et al., 1996, *Biol. Chem. Hoppe Seyler*, **377**(7-8): 481-487.
- [14] Stillman B., 1996, *Science*, **274**(6): 1659-1664.
- [15] King R. W., 1996, *Science*, **274**(6): 1652-1659.
- [16] Murray A. W. et al., 1991, *Scientific American*, 56-63.
- [17] Hartwell L., 1994, *Nature*, **371**(27): 286.
- [18] Labib K. et al., 1995, *J. Cell Sci.*, **108**(10): 3285-3294.
- [19] Moreno S. et al., 1994, *J. Cell Sci.*, **107** Suppl. **18**: 63-68.
- [20] D'Urso G., et al., 1995, *Curr. Opin. Genet. Dev.*, **5**(1): 12-16.
- [21] Huberman J. A., 1996, *Chromosoma*, **105**(4): 197-203.
- [22] Schwob E. et al., 1994, *Cell*, **79**: 233-244.
- [23] Nasmyth K., 1996, *Science*, **274**(6): 1643-1645.
- [24] Murray A. W., 1993, *Current Biology*, **3**(5): 291-293.
- [25] Lu K. P. et al., 1993, *Endocrine Reviews*, **14**(1): 40-58.
- [26] Belenguer P. et al., 1997, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **232**(1): 204-208.
- [27] Means A. R., 1994, *FEBS Letters*, **347**: 1-4.
- [28] Nurse P., 1990, *Nature*, **344**(5): 503-507.
- [29] Gautier J. et al., 1990, *Cell*, **60**: 487-494.
- [30] Lohka M. J. et al., 1988, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **85**: 3009-3013.
- [31] Roy L. M. et al., 1990, *Cell*, **61**: 825-831.
- [32] Sagata N. et al., 1989, *Nature*, **342**: 512-518.

Elongin 的转录延伸调控及其与 VHL 肿瘤抑制蛋白的关系

许乃寒 张金红*

(南开大学分子生物学研究所 天津 300071)

长期以来,转录的起始一直被视为基因表达(尤其是人类疾病中错误的基因表达)过程中极重要的调控机制。人类的许多疾病,包括某些癌症都被认为是转录起始受到破坏引起的。例如,染色体易位致使癌基因和调控成分并列而导致的原癌基因不正确表达被归因于转录起始的改变^[1];控制细胞周期进程,发育或凋亡的基

因(如视网膜细胞瘤 Rb 基因或 P53 基因)的突变或缺失而引起的致癌性转化也被归因于转录起始的缺陷。然而,只关注基因转录起始的调控是不够的。事实上,基因的转录是一个包括起始,延伸和终止的连续过程。多年来,人们已经

* 通讯联系人。