

- 5544—5552.
- [24] Hooper, M., et al., 1987, *Nature*, 326: 292—294.
- [25] Kuehn, M. R., et al., 1987, *Nature*, 326: 295—298.
- [26] Thomas, K. R., and Capechi, M. R., 1987, *Cell*, 51: 503—512.
- [27] Lovell-Badge R. H., et al 1987 *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 84: 2803—2807.
- [28] Takahasashi, Y., et al., 1988, *Development*, 102: 259—269.
- [29] Shinar, D., et al., 1989, *Differentiation*, 41: 116—126.
- [30] Wagner, E. F., et al., 1989 In “Cell to cell Signals in mammalian development” eds. de Laat, S. W., et al., pp 302—310.

蛋白质磷酸化：叩开细胞有丝分裂之门

杨新林 王永潮

(北京师范大学生物系细胞室 100875)

真核细胞由间期进入有丝分裂期时，伴随着一系列的事件发生，包括细胞形状改变、细胞骨架重排、核膜崩解、核仁分解消失、染色体凝集，以及基因转录和翻译暂时抑制等。与此同时，细胞内蛋白质磷酸化的水平显著上升。进一步的研究表明，上述各种事件可能是由某些特定的蛋白质磷酸化引起的^[1]。导致这些蛋白质磷酸化的是一些特定的蛋白激酶。目前主要集中在 p 34^{cdc2} 激酶的研究。这种激酶是 M 期特异的蛋白激酶，在即将进入 M 期时被活化并维持在高活性水平，于 M 期后阶段失活。现在认为，在 G₂/M 期交界处，活化的 p 34^{cdc2} 激酶导致一系列特定的蛋白质磷酸化，由此叩开细胞有丝分裂的大门。

一、细胞骨架重排

在 M 期起始时，细胞骨架重排主要表现为细胞质微管的解聚和有丝分裂装置的组装。前者导致细胞形状变圆，后者则是遗传物质准确而均匀地分配到两个子细胞中去的结构基础。由间接免疫荧光实验观察到，真核细胞由间期

向 M 期转变时，微管组织中心(中心体、着丝点)的蛋白成分被磷酸化，提示某些蛋白质的磷酸化对于细胞骨架的重排可能起着重要的作用^[2]。最近，Verde 等证明，在非洲爪蟾间期卵母细胞提取物中，微管的动力学及其稳态长度(steady-state length)受到 p 34^{cdc2} 激酶的精确调节，结果导致微管排列发生类似于间期向 M 期转变时的改变。他们发现，p 34^{cdc2} 激酶对分离的中心体所引起的纯化管蛋白的聚合作用并无影响，因此推测在间期卵母细胞提取物中可能存在一种因子，参与对微管的动力学及其稳态长度的调节，其自身又受磷酸化作用的调节。它的活性大小可能是由某种激酶和相应的磷酸酶的活性的相对数量来决定的，而 p 34^{cdc2} 激酶则与该激酶或磷酸酶的活性调节有关^[3]。另外，一些微管结合蛋白(如 X-MAP 和一种 62 kd 蛋白)的磷酸化也对微管的聚合和解聚有一定的影响；一些其他的蛋白激酶(如 p 60^{src}、pK-CaM 等)也参与其中的一些调节过程；p 34^{cdc2} 激酶也可能通过调节上述这些蛋白激酶的活性而间接地起作用^[4-6]。

二、核膜崩解

核膜崩解是有丝分裂启动时所发生的重要事件之一,而核层解聚又是核膜崩解的必要条件。核层是一种中等纤维型的网络,分布于真核细胞核膜内膜下,由核层蛋白组成。根据生化特性和结构的不同,大多数脊椎动物细胞的核层蛋白分为A型和B型,在人中还发现有C型。B型核层蛋白在整个细胞周期中都与核膜结合,但A型核层蛋白在有丝分裂期完全溶解。在细胞分裂的间期,核层对于核膜的完整性和染色质的组织起着重要作用^[7]。

核层蛋白在细胞内至少存在三种翻译后修饰方式:异戊二烯基化、甲基化和磷酸化。其中,异戊二烯基化和甲基化作用可能和核层蛋白与核膜的结合有关^[8,9],而磷酸化作用则可以介导有丝分裂时核层聚合状态的改变^[7]。最近的研究证明,核层蛋白的Ser-22(在鸡是Ser-16)位点的磷酸化对于核层解聚起着重要的作用,而Ser-392位点的磷酸化作用次之。Ser-22(16)与Ser-392位点距离核层蛋白的长, α -螺旋区均为5个氨基酸,而这个长的 α -螺旋区对于核层蛋白二聚体的形成具有重要作用。Ser-22(16)与Ser-392被磷酸化后,改变了二聚体间的相互缠绕作用,因此促使核层蛋白解聚^[7,10,11]。尽管核层蛋白在体外实验中能被包括蛋白激酶C(PKC)、蛋白激酶A(PKA)、 S_6 激酶等蛋白激酶磷酸化,但已得到的证据表明,使核层蛋白在体内磷酸化的是p34^{cdc2}激酶^[1]。

三、核仁分解

核仁是位于真核细胞核内的一个重要的细胞器,是核糖体RNA(rRNA)合成、加工和前核糖体包装的场所。核仁随细胞周期的进展发生周期性变化,在有丝分裂期分解消失,进入间期后又重新形成。伴随核仁这种周期性变化的是rRNA基因的变化,由间期去凝集的活性形式变成M期凝集的非活性形式,而M期的

rRNA基因又是间期核仁重新形成的组织者称为核仁组织者(NOR)。核仁变化的分子机制尚不清楚,推测可能与NOR的结合蛋白有关。其中,两种主要的NOR结合蛋白是NO38和Nucleolin(核仁素)。前者在M期分散到细胞中,而后者在M期仍和染色体结合。NO38被认为在前核糖体的包装及转运过程中起作用,Nucleolin则作用于rRNA基因的转录和加工过程^[12]。

NO38与Nucleolin的生理功能的调节与磷酸化作用有关。Nucleolin的分子结构与HMG蛋白(高泳动率蛋白)类似,其N端含有四个由酸性氨基酸形成的突出(stretches)和一个碱性氨基酸残基,分别能与组蛋白H₁和双链DNA相互作用。在间期,酸性突出区的Ser残基被酪蛋白激酶II(CKII)磷酸化,因而减弱了它与组蛋白H₁的结合能力,导致rDNA去凝集化,从而引起rRNA基因的转录^[13,14]。在M期起始时,Nucleolin的前两个酸性突出区的TPXK序列中的Thr残基被p34^{cdc2}激酶磷酸化,可能对于M期核仁分解以及核仁染色体凝集具有重要作用^[12,14]。NO38也在M期被p34^{cdc2}激酶磷酸化,这种磷酸化作用可能通过调节它和rRNA或前核糖体的包装和转运有关的蛋白质之间的相互作用,从而调节它的生理功能^[12]。

四、染色体凝集

有丝分裂时细胞结构的显著变化之一,就是线状、无定形的间期染色质逐渐凝集成短棒状粗大的中期染色体。对这一过程的分子基础已经有了一定的了解,实验证明,一些组蛋白、非组蛋白以及DNA拓扑异构酶II可能参与这一过程,并且受到磷酸化作用的调控。

1. 组蛋白H₁的磷酸化

H₁广泛地分布于酵母、粘菌、无脊椎动物和脊椎动物的细胞中。它参与核小体的组成,在分裂及非分裂细胞中均被磷酸化。早在10多年前,Bradbury等就提出,分裂细胞内

H₁的磷酸化能够引发或促进有丝分裂染色体的凝集的启动^[16]。催化这种H₁磷酸化的激酶称为生长相关性H₁激酶。它的激酶活性不依赖于Ca²⁺和环核苷酸。在细胞进入有丝分裂期时,该激酶活性骤然上升。导致H₁磷酸化大大加强,然后它的活性突然下降,H₁磷酸化也随之大量降低。因此,该激酶又称为M期特异性H₁激酶。

生长相关性H₁激酶只存在于生长细胞,并且和染色体部分地结合。有研究表明,它就是cdc 2⁺/CDC 2蛋白激酶。实际上,H₁被证明是p 34^{cdc2}激酶的体外最适底物,p 34^{cdc2}激酶的底物模式S/TP(右侧为碱性氨基酸)在H₁最能体现出来^[16,17]。H₁由3个区域构成:与核小体的芯蛋白相互作用的中心疏水区以及被认为环绕核小体两端DNA的C端和N端碱性臂。在有丝分裂期,H₁的两臂上一些位点被p 34^{cdc2}激酶特异性地磷酸化,由此可能引发染色体凝集^[16]。一般认为,M期特异性H₁激酶等同於p 34^{cdc2}激酶。然而,最近Kuang等利用有丝分裂特异性单抗MPM-2,发现在非洲爪蟾成熟卵提取物和有丝分裂期HeLa细胞提取物中还存在着一种不同于p 34^{cdc2}激酶的M期特异性H₁激酶(待发表)。

2. DNA 拓扑异构酶 II 的磷酸化

DNA 拓扑异构酶 II 存在于原核及真核细胞。在DNA解旋的第二步中,它催化DNA双链的瞬间断裂,而使其它的DNA双螺旋通过,导致螺旋数减少。在真核细胞中,DNA拓扑异构酶 II 可能参与染色体凝集过程。例如,它的抑制剂能够阻止染色体凝集。间接免疫荧光实验表明,DNA拓扑异构酶 II 分布在有丝分裂期染色体辐射环区域的底部,并且是染色体骨架的成分之一^[18]。增殖细胞中拓扑异构酶 II 的活性要大大高于静止细胞和终端分化细胞;在细胞周期中,它的活性呈波形振荡,G₂/M期达最大值,说明DNA拓扑异构酶 II 可能参与细胞的增殖和周期调控^[19]。

体内DNA拓扑异构酶 II 的活性可能在转

译及转译后两个水平上受到调控。其中,转译后水平上的调控是由磷酸化水平介导的^[20,21]。鸡淋巴腺细胞中的DNA拓扑异构酶 II 在G₂/M期的磷酸化水平比其他时相高3.5倍左右,此时伴随着它的活性也增大^[20]。在体外,对于从小鼠细胞分离纯化的DNA拓扑异构酶 II 来说,碱性磷酸酶处理可使它的活性丧失,重新磷酸化后,活性又恢复^[21]。DNA拓扑异构酶 II 在体外能被多种蛋白激酶磷酸化,包括PKC、CKII和一种未确定的激酶,很可能在体内也是如此^[20,21]。另外,DNA拓扑异构酶 II 序列中含有p 34^{cdc2}激酶底物的同源序列,因而也可能是p 34^{cdc2}激酶的底物。鉴于DNA拓扑异构酶 II 的生理功能颇多,因此不同激酶可能涉及到它的不同生理功能。

3. HMG-I 的磷酸化

高泳动率蛋白HMG-I属于和染色体相结合的非组蛋白,首先在HeLa S₃和艾氏腹水细胞中检测到,后来又在小鼠及非洲绿猴的细胞中相继发现。小鼠增殖细胞中HMG-I的含量高于非分裂细胞,提示HMG-I对于细胞的增殖是必需的。非洲绿猴细胞的HMG-I(也称为α-蛋白)被证明是核骨架的一部分,在体外可以和A+T富集的双链DNA突出(stretches)结合。由于染色体上有许多类似的A+T富集位点,因此推测HMG-I在体内可能参与染色质DNA与核骨架之间的相互作用和A+T富集区域的染色质的凝集过程^[22]。

HeLa细胞的HMG-I以其磷酸化形式HMG-I_m存在于有丝分裂中期细胞,而且其磷酸化位点是中期特异性的,这说明HMG-I的磷酸化可能调节着它在细胞周期中的作用。HMG-I被磷酸化后,生化特性发生改变,与染色质DNA的结合力减弱,而从染色质上分离下来,促进染色体的凝集^[23]。进一步的研究表明,在体内催化HMG-I磷酸化的蛋白激酶可能是CK II^[24]。

五、基因转录和翻译的抑制

细胞在进入M期时,基因的转录和翻译暂

时受到抑制,进入间期后恢复。参与该过程的可能有染色体非组蛋白 HMG 14、RNA 聚合酶 II (RNAP II) 以及延伸因子 1 β 和 1 γ (EF-1 β 、EF-1 γ) 等。HMG-14 还与染色体凝集有关。HMG-14 对单链 DNA 具有特异亲和性,并且可以和组蛋白 H₁ 结合。在有丝分裂期,HMG 14 的磷酸化水平升高,说明它的功能可能是受磷酸化作用调节的。在体外,HMG 14 可以同时被 PKA 和 CK II 在不同位点磷酸化,而且可能在体内也是如此。PKA 主要影响 HMG 14 与 DNA 单链的结合能力,CK II 则可以加强 HMG 14 与 DNA 的结合,由此推测不同激酶可能调节 HMG 14 的不同生理功能。HMG 14 如何调节基因的转录还有待于进一步阐明^[25]。

真核细胞的基因转录主要是由 RNAP II 催化的,因此 RNAP II 在基因转录调节中起着主要作用。RNAP II 具有 3 种形式,即 IIA、IIB 和 IIO。它们除含有一个相同的大亚基 IIC 外,还各自含有一个不同的大亚基,分别为 IIA、IIB 和 IIO。这 3 个大亚基是同一个基因的产物,经过翻译后修饰。导致分子量改变。IIa 和 IIO 都包含一个不寻常的 C 端区(CTD 区),这个 CTD 区在真核生物中高度保守,含有多个拷贝的 Tyr-Ser-Pro-Thr-Ser-Pro-Ser 同源序列。CTD 区对于 RNAP II 的功能是必需的,而且在真核生物的其他 RNA 聚合酶以及原核生物的 RNA 聚合酶中均不存在 CTD 区^[26]。具有转录活性的 RNAP II 在 CTD 区有多个位点被磷酸化,而且 IIO 实际上就是 IIA 的磷酸化形式,其对应的 RNAP IIO 正是 RNAP II 的活性形式^[27]。因此,RNAP II 的转录活性是由磷酸化与去磷酸化作用调控的。

最近,Cisek & Jeffry^[28] 分离得到一种 CTD 激酶,可以特异地催化 CTD 区上 Ser 残基的磷酸化。该激酶是一个复合物,p 34^{cdc2} 激酶是它的组分之一,但是否为催化亚基尚不清楚。由于 p 34^{cdc2} 激酶在 M 期活性最大,而 RNAP II 在 M 期活性受到抑制,p 34^{cdc2} 激酶似

乎不可能在 M 期直接催化 RNAP II 的磷酸化,而可能以其他间接的方式参与 RNAP II 活性的调节。RNAP II 在 M 期活性的抑制,可能归因于一种蛋白磷酸酶,这种磷酸酶与蛋白磷酸酶 1(pp 1) 和 2 A(pp 2 A) 虽有一定程度的同源性但并不相同。它的编码基因 SIT 4 是啤酒酵母的一个必需基因,对许多不同基因的转录具有调节作用^[29]。

延伸因子 1(EF-1) 作用于 mRNA 翻译的第一步,介导氨酰 tRNA 与核糖体相结合,是细胞调节其蛋白质合成速率的一种方式。在真核生物,EF-1 包括两个不同的部分:一个是核苷酸结合蛋白 EF-1 α ,另一个是供核苷酸交换的载体复合物 EF-1 $\beta\gamma$ 。实际的核苷酸交换活性位点位于 EF-1 β 上,而 EF-1 γ 的功能还不清楚,它可能与膜和细胞骨架相互作用。卤虫(Artemia Saline) 的 EF-1 $\beta\gamma$ 复合物本身就是一个与 CK II 具有类似底物的特异的蛋白激酶,能够催化 EF-1 β 的一个特异 Ser 位点磷酸化,在此过程中 E 1 γ 被视作催化亚基。因此人们推测,E 1 γ 可能参与外界信号传递过程,以调节蛋白质的合成^[30]。

EF-1 β 和 EF-1 γ 的活性是受磷酸化作用调控的。卤虫的 EF-1 β 在体外去磷酸化后,活性升高;而重新磷酸化后,活性降低^[30]。在非爪蟾卵母细胞中,p 47 和 p 30 分别是卤虫的 EF-1 γ 和 EF-1 β 的同源物,它们在体内和另一种蛋白质 p 36 结合,以复合形式存在。在成熟的卵中 p 47 被磷酸化,它的激酶是 p 34^{cdc2} 激酶,而 p 30 和 p 36 在体外能被 CK II 磷酸化。因此,当细胞进入有丝分裂期时,活化的 p 34^{cdc2} 激酶使 EF-1 γ 磷酸化而活化,活化后的 EF-1 γ 又使 EF-1 β 磷酸化而失活,最终导致蛋白质的合成受到抑制^[31,32]。

六、p 34^{cdc2} 激酶

p 34^{cdc2} 激酶是 MPF(mitotic or maturation promoting factor, 即有丝分裂促进因子或成熟促进因子)复合物的催化亚基,MPF 的调节

表1 p 34^{cdc2} 激酶的一些重要底物

名称	磷酸化序列*	M期体内磷酸化是否和体外同一位点	M期中可能的作用
核层蛋白 B	P-L-S-P-T-R	是	核层解聚
组蛋白 H ₁	K/R-S/T-P-X-K	是	染色体凝集
pp 60 ^{src}	Q-T-P-N-K R-T-P-S-R T-S-P-Q-R	是	细胞骨架重排
N ₂ 38 Nucleolin	T-P-X-K	是	核仁分解
RNAP II	S-P-T-S-P-S-Y	待定	转录抑制
周期素 B	待定	待定	p 34 ^{cdc2} 活性调节
EF-1 β EF-1 γ	待定	待定	翻译抑制
SV 40 T 抗原	H-S-T-P-P- K-K-K-R-K-V	待定	待定
p 53	S-P	是	待定
同源系列	S/T-P-X-Z		

* 斜体是磷酸化位点。S/T指Ser/Thr, P为Pro, X是一种极性氨基酸; Z一般是一种碱性氨基酸。

亚基是周期素(cyclin)。p 34^{cdc2} 激酶在体内的磷酸化与去磷酸化具细胞周期依赖性。当 p 34^{cdc2} 激酶去磷酸化, 它的激酶活性升高, 而细胞进入有丝分裂期; 当 p 34^{cdc2} 激酶重新磷酸化, 其激酶活性随之降低, 而细胞由M期进入 G₁ 期。影响 p 34^{cdc2} 激酶活性的磷酸化位点可能是其 ATP 结合位点的一个 Tyr 残基, 该位点被磷酸化后, 阻止了 ATP 与 p 34^{cdc2} 激酶的结合, 因而不能行使催化功能。p 34^{cdc2} 激酶在真核生物中高度保守, 至今已证明在粘菌、酵母、无脊椎动物和脊椎动物以及藻类和一些更高等的植物中都存在^[1]。另外, 本文虽然没有论述, 但 p 34^{cdc2} 激酶被认为在 G₁ 期向 S 期转变中起着重要的调节作用^[33]。

如果说蛋白质磷酸化是叩开有丝分裂大门的前奏, 那么引起有关蛋白质磷酸化的酶主要是 p 34^{cdc2} 激酶。如前所述, 许多与有丝分裂有关的蛋白质几乎都是 p 34^{cdc2} 激酶的直接底物(表 1)^[17, 30]。而不少 p 34^{cdc2} 激酶底物的同源序列 S/T-P-X-Z 正好是一个 DNA-Protein

结合单位。所以, 某些 DNA 结合蛋白的生理功能亦可能由 p 34^{cdc2} 激酶调节, 由此调节有丝分裂期某些事件的发生^[1]。p 34^{cdc2} 激酶也可能通过调节其它激酶的活性, 起间接作用^[17]。

关于 p 34^{cdc2} 激酶活性的调节还有待进一步阐明。p 34^{cdc2} 激酶的活化需要 p 34^{cdc2} 去磷酸化并和周期素结合。周期素是一种需要合成的蛋白质, 在间期内不断积累, 在 M 期和 p 34^{cdc2} 激酶结合并被磷酸化。在 M 期结束时周期素被降解, 并导致 p 34^{cdc2} 激酶活性的丧失。因此, p 34^{cdc2} 激酶活性的调节可能涉及其它激酶或磷酸酶的作用^[32]。磷酸酶 1 和 2A 被证明在有丝分裂调控中起一定的作用, 可能参与对周期素的调节^[34]。一些癌基因产物如 p 60^{src}、p 21^{ras} 和 mos 蛋白也可能参与 MPF 活性的调节。在 MPF 活化的更早阶段, 一些信号分子及信号传递途经也是必需的^[35, 36]。

和 p 34^{cdc2} 激酶一样, CK II 也是一种苏/丝氨酸蛋白激酶。它存在于真核细胞的胞质

和细胞核中,所修饰的酶及蛋白质涉及蛋白质合成、RNA代谢和DNA合成等过程,因此它在细胞增殖生长的调节中起着重要作用(表2)。CK II在某些转化细胞中的活性高于正常细胞,并且在小鼠胚胎发生中活性增强。胰岛素和上皮生长因子能刺激CK II活化;血清刺激的细胞增长过程中,CK II的活性受到周期性的调控^[37]。CK II的活性与PKC的活化相偶联;核内许多与增殖调控有关的因子在体外是CK II的底物(表2)。由上述事实可以推测,CK II可能在细胞外生长因子和核应答之间的信号传递通路中起着重要的作用,因而也可能参加有些分裂的调控^[24,38]。

七、结论和展望

综上所述,有丝分裂的启动是诸多蛋白质磷酸化的必然结果,而p34^{cdc2}激酶在其中起核心作用。p34^{cdc2}激酶活化使某些重要底物磷酸化,从而导致一系列有丝分裂事件发生,这可能是所有真核生物有丝分裂启动调节的共同机制^[1](如图)。尽管对有丝分裂启动机制及p34^{cdc2}激酶的研究已取得了很大的进展,但仍有许多问题亟待解决:(1)p34^{cdc2}激酶活

表2 酪蛋白激酶II的一些重要底物

名称	体内磷酸化是否和体外同一位点	细胞周期调控中可能的作用
RNA聚合酶I&II	待定	DNA的转录和复制
DNA拓扑异构酶II		
转录因子S-II		M期染色体凝集
HMG-I	是	M期染色体凝集
HMG-14	待定	M期转录抑制
Nucleolin	是	间期促进rRNA基因转录
No 38	待定	待定
PKA的R _{II} 亚基	是	待定
Myc蛋白	是	有丝分裂信号传递
SV 40 T抗原		
Myb蛋白		

性的调节问题。p34^{cdc2}激酶在M期即将启动时去磷酸化,可能是由一个特异的磷酸酶催化的。在已知的四种主要磷酸酶pp1、pp2A、pp2B和pp2C中,pp1、pp2A和pp2B已被证明不可能是p34^{cdc2}激酶的磷酸酶,而pp

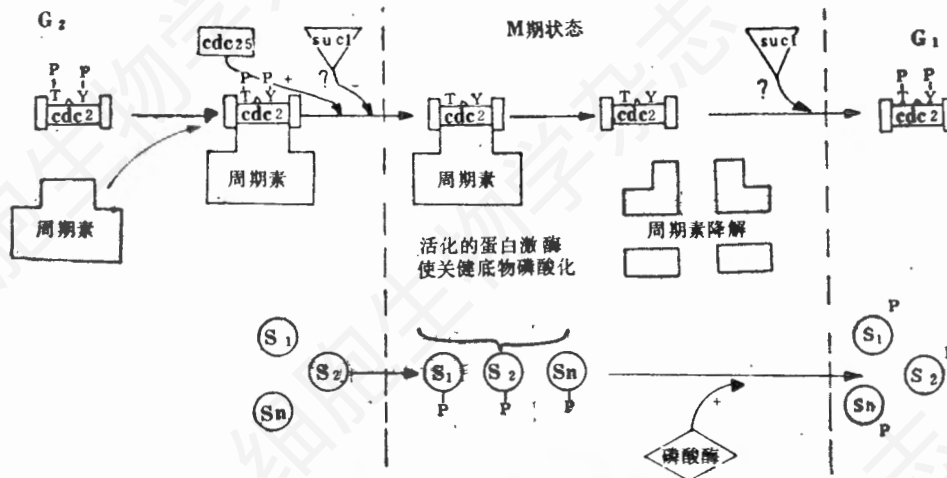


图1 M期调控的普遍机制

其中某些事件的准确次序和发生时间目前还不清楚(例如p34^{cdc2}激酶磷酸化改变和周期素、cdc25⁺和suc1⁺功能之间的关系)。关键底物包括H₁组蛋白、核层蛋白、p60^{src}和其它从染色质上分离下来以使染色体凝集的蛋白等(详见文中)。

2 C 的结构与生化特性和前三者相差甚远,因而有这种可能性^[34]。当然, p 34^{cdc2} 激酶的去磷酸化更可能是由一种未知的磷酸酶催化的。对于导致有丝分裂期结束后 p 34^{cdc2} 激酶失活的激酶尚有待鉴定。另外, p 34^{cdc2} 激酶的活化、失活与周期素的合成、降解的关系也有待解决。(2) p 34^{cdc2} 激酶促进有丝分裂的作用机理问题。p 34^{cdc2} 激酶活化后,可能通过激活其它的激酶而起作用,也可能直接作用于某些重要的底物来推动有丝分裂的进程。实际上, p 34^{cdc2} 激酶可能同时采取这两种作用方式。因此,必须一方面继续寻找 p 34^{cdc2} 激酶的底物以及它们和有丝分裂启动之间的联系,另一方面也需要探索 p 34^{cdc2} 激酶与其它和有丝分裂调控有关因子之间的联系。例如,前面已经提到, CK II 在有丝分裂调控中也有一定的作用,而它的活性调节仍不清楚^[37],因此有必要进一步研究 p 34^{cdc2} 激酶和 CK II 之间的关系。总之,对于蛋白质磷酸化逐步深入的研究,将最终揭开细胞有丝分裂调控之谜。

摘 要

真核细胞由间期进入有丝分裂期时,伴随着一系列的事件发生,这些事件不少是由许多特定蛋白质的磷酸化引起的。这些蛋白质被磷酸化后,其构型和生理功能发生改变。细胞内有多种蛋白激酶参与这些磷酸化过程,而其中 p 34^{cdc2} 激酶起着核心作用。

参 考 文 献

- [1] Nurse P., 1990, *Nature*, 344: 503.
- [2] Vandre D. D., 1986, *Eur. J. Cell. Biol.*, 41: 72.
- [3] Verde F., et al., 1990, *Nature*, 343: 233
- [4] Shenoy S., et al., 1989, *Cell*, 57: 763.
- [5] Morgan D. O., et al., 1989, *Cell*, 57: 775
- [6] Dinsmore J. H., et al., 1988, *Cell*, 53: 763.
- [7] Peter M., et al., 1990, *Cell*, 61: 591.
- [8] Chelsky D., et al., 1989, *J Biol. Chem.*, 264: 7637.
- [9] Vorburgen K., et al., 1989, *EMBO*. 8:4007.
- [10] Ward G. E. & Kirschner M. W., 1990, *Cell*, 61: 561.
- [11] Heald R. & Mekenon F., 1990, *Cell*, 61:579.
- [12] Peter M., et al., 1990, *Cell*, 60: 791.
- [13] Erard M. S., et al., 1988, *Eur. J. Biochem.*, 175: 525.
- [14] Blenguer P., et al., 1990, *Mol. Cell. Biol* 10: 3607.
- [15] Bradbury E. M., et al., 1973, *Eur. J. Biochem.*, 33: 131.
- [16] Langan T. A., et al., 1989, *Mol. Cell. Biol.*, 9: 3860.
- [17] Moreno S. & Nurse P., 1990, *Cell*, 61: 549.
- [18] Fisher P. A., 1987, *Cell*, 48: 175.
- [19] Chow K. C. & Ross W. E., 1987, *Mol. Cell. Biol.*, 7: 3119.
- [20] Heck M. M. S., et al., 1989, *J. Biol. Chem.*, 264: 15161.
- [21] Saijo M., et al., 1990, *Biochemistry*, 29: 583.
- [22] Solomon M., et al., 1986, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 83: 1276.
- [23] Lund T., et al., 1987, *Eur. J. Biochem.*, 166: 21.
- [24] Palvimo J., et al., 1989, *FEBS Lett.*, 257: 101.
- [25] Palvimo J. & Naenpaa., 1988, *Biochimica et Biophysica Acta*, 952: 172-
- [26] Allison L. A., et al., 1988, *Mol. Cell. Biol.*, 8: 321.
- [27] Cadena D. L. & Dahmus M. E., 1987, *J. Biol. Chem.*, 262: 12468.
- [28] Cisek L. J. & Corden J. L., 1989, *Nature*, 339: 679.
- [29] Arnt K. T., et al., 1989, *Cell*, 56:527.
- [30] Janssen G. M. C. & Moller W., 1988, *Eur. J. Biochem.*, 171: 119.
- [31] Odile Molner-Lorillon et al., 1989, *FEBS Lett.*, 251: 219.
- [32] Belle R., et al., 1989, *FEBS Lett.*, 255:101.
- [33] Lewin B., 1990, *Cell*, 61: 743.
- [34] Picard A., et al., 1989, *J. Cell. Biol.*, 109: 3347.
- [35] Barrett C. B., et al., 1990, *Mol. Cell. Biol.*, 10: 310.
- [36] Whitaker M. & Patel P., 1990, *Development*, 108: 525.
- [37] Carroll D. & Marshak D. R., 1989, *J. Biol. Chem.*, 264: 7345.
- [38] Luscher B. et al., 1990, *Nature*, 344: 517.
- [39] Bischoff J. B., et al., 1990, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 87: 4766;