



陈建国博士, 现任北京大学生命科学学院教授。主要研究领域: 细胞骨架及细胞内膜系统的结构与功能、细胞分化与神经系统的发育。期望能揭示中心体与微管网络结构的调控、细胞内膜系统结构变化的分子机制以及与人相关疾病的关系。研究论文在*Nature*、*Cell Research*、*Nature Communications*、*Current Biology*、*Cell Reports*等刊物上发表, 部分结果被写入经典的细胞生物学教科书(*Molecular Biology of the Cell*, Alberts et al, 20015; *Molecular Cell Biology*, Lodish et al, 20013)。参与编写《细胞生物学》教材(第3、4、5版, 高等教育出版社)。曾获国家级教学成果奖二等奖和北京市教学名师奖。

http://www.bio.pku.edu.cn/homes/Index/news_cont_jl/16/14.html

中心体的结构与组装

夏雨晴¹ 王天宁¹ 滕俊琳¹ 陈建国^{1,2*}

¹北京大学生命科学学院, 细胞增殖与分化教育部重点实验室, 北京 100871;

²北京大学定量生物学中心, 北京 100871)

摘要 在动物细胞中, 中心体是最主要的微管组织中心, 对细胞运动和极性、纤毛生长以及细胞分裂都具有重要作用。该文总结了中心体的结构组成、组装过程, 并具体阐述了中心体关键结构的组装等方面的研究进展, 为更深入地了解中心体组装的过程及调控机制提供参考。

关键词 中心体; 中心体组装; 车轮状结构; 远端附属结构; 亚远端附属结构

Advances in Centrosome Assembly

Xia Yuqing¹, Wang Tianning¹, Teng Junlin¹, Chen Jianguo^{1,2*}

¹Key Laboratory of Cell Proliferation and Differentiation of the Ministry of Education, College of Life Sciences, Peking University, Beijing 100871, China; ²Center for Quantitative Biology, Peking University, Beijing 100871, China)

Abstract In animal cells, centrosome is the major microtubule organizing center (MTOC), which plays important role in cell motility and polarity, cilia biogenesis and cytokinesis. Here we summarize the centrosome structure, centrosome duplication process, and recent advances in the assembly of centrosome key components, which may provide some cues in further study of centrosome assembly and the underlying regulation mechanism.

Keywords centrosome; centrosome assembly; cartwheel structure; distal appendages; subdistal appendages

中心体(centrosome)是动物细胞内由蛋白质组装而成的细胞器, 也是主要的微管组织中心(microtubule organizing center)。在结构上, 中心体由两个圆柱状的中心粒及无定形的电子密度较高的中心粒

周围物质(pericentriolar material, PCM)构成。该细胞器在微管网络结构的组织、细胞内物质运输、细胞分裂、细胞运动以及极生化细胞结构的形成等方面都具有重要作用^[1]。成熟的中心粒还可以作为基

国家自然科学基金(批准号: 31830110、31630092)资助的课题

*通讯作者。Tel: 010-62755786, E-mail: chenjq@pku.edu.cn

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.31830110, 31630092)

*Corresponding author. Tel: 010-62755786, E-mail: chenjq@pku.edu.cn

网络出版时间: 2019-04-01 11:39:35

URL: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20190401.1139.014.html>

体在纤毛或鞭毛的发生过程中发挥作用。中心体的结构或数量异常往往与多种疾病相关。

作为微管组织中心以及有丝分裂纺锤体的组织者, 细胞内中心体数量受到严格的控制。在经过有丝分裂之后的G₁期细胞中, 只有一个中心体。中心体的复制(更确切地说是组装)发生在S期, 与DNA的复制同步进行。中心体复制过程是在两个已经存在的亲本中心粒近端的一侧各组装出一个新的子中心粒, 其被称为原中心粒(procentriole)。这种复制在每个细胞周期中只进行一次, 而且在每个亲本中心粒附近通常只能组装出一个子中心粒。在G₂/M期中, 位于两个亲本中心粒之间起连接作用的丝状结构解体, 两对中心粒各自招募中心粒外周物质形成两个成熟的中心体。此时, 每个中心体有两个中心粒, 其中一个是在上个细胞周期中就有的, 被称为母中心粒(mother centriole), 另一个是新组装的子中心粒。两个中心体分别向细胞的两极移动并在纺锤体结构的组织方面发挥作用。

1 中心体的结构

中心体是一个非常复杂的、由多种蛋白质组装而成的细胞器。其内部是一对由微管组装而成的中心粒。中心粒外观呈圆柱状, 其内径约130 nm, 外径约250 nm, 长度为200~500 nm的桶状结构。中心粒由九组三联体微管呈辐射状对称排列^[2], 腔内有centrin、POC5和Cep135等多种功能蛋白存在。在G₁期细胞中母子中心粒的结构和功能都有差异, 只有母中心粒的亚远端和远端具有特殊的突起状结构, 分别被称作亚远端附属结构(subdistal appendages)和远端附属结构(distal appendages), 它们通过某种未知的机制锚定在中心粒微管上, 分别参与调节微管在母中心粒上的锚定和G₀期细胞表面纤毛发生等过程^[3-4]。母子中心粒之间呈近似于垂直状排列, 其相互靠近的一端被称为中心粒的近端(proximal end), 另外一端被称为中心粒的远端(distal end), 两个中心粒的近端由纤维状蛋白质组装而成的丝状结构相连^[5-6]。

1.1 母中心粒附属结构

1.1.1 远端附属结构 远端附属结构只存在于母中心粒上且参与纤毛结构的组装。在不长纤毛的细胞中, 其功能还不清楚。远端附属结构最初被认为是九组辐射风车装结构^[7], 然而, 最近的研究显示,

该结构呈现圆锥形, 在风车叶片之间有蛋白填充^[8], 其结构组分包括CEP164、CEP83、CEP89、SCLT1和FBF1等^[9]。远端附属结构在纤毛形成时将母中心粒锚定到细胞质膜上^[9-11]。

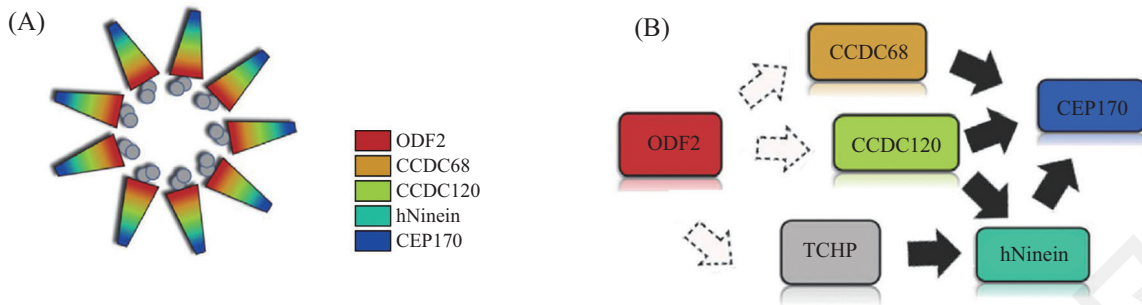
对于远端附属结构组分分析结果显示, CEP83位于该结构的基部, 离中心粒微管最近^[9]。CEP83负责招募CEP89和SCLT1, CEP89和SCLT1在中心粒上的定位则相互独立。CEP164和FBF1是CEP89的下游蛋白, 这两个蛋白在中心粒上的定位也相互独立。CEP164和FBF1在远端附属结构上位于SCLT1、CEP89和CEP83的外侧, 形成最大的环状结构^[8]。其中, CEP164延伸至细胞膜锚定位点的尖端, 而FBF1则填充了CEP164在远端附属结构上相邻两个点之间的缝隙。CEP83的缺失会阻碍中心粒锚定到细胞膜上^[8-9]。

1.1.2 亚远端附属结构 与远端附属结构一样, 亚远端附属结构也只存在于母中心粒上, 与微管在中心体上的锚定相关^[12-16], 对纤毛生长具有一定调控作用^[17-18]。已经被鉴定出来的亚远端附属结构蛋白包括ODF2(又名cenexin)^[5]、Ninein^[19]、CEP170^[20]、CEP110(又名centriolin)^[21]、Cc2d2a^[22]、 ϵ -tubulin^[23]、CCDC120^[4]和CCDC68^[4]等。

在人源细胞中, ODF2最靠近中心粒微管, 并与CCDC120和CCDC68招募相关^[4]。ODF2缺失会导致这两个蛋白在中心体上的定位减弱, 然而在它们之间没有检测到直接的相互作用, 说明可能有别的蛋白介导了它们之间的相互作用^[4]。Trichoplein最初是作为Keratin结合蛋白而被发现的^[24], 该蛋白作为桥梁介导了ODF与Ninein之间的相互作用^[24]。Ninein是Trichoplein的下游蛋白, 同时也被CCDC120招募^[4,24]。但CCDC120与Trichoplein对彼此在中心粒上的定位没有影响, 说明Ninein可能是通过不同的结构域同时被CCDC120和Trichoplein招募到中心体上^[4]。在人源细胞中, CEP170通过其C-端被CCDC120招募到中心体上^[4]。CCDC68与CCDC120竞争结合CEP170^[4]。然而, CCDC68与CCDC120对CEP170的招募在亚远端附属结构成熟的过程中是否存在一个先后顺序尚未清楚。显然, 目前还有一些未知的蛋白参与了母中心粒亚远端附属结构的组装(图1)。

1.2 中心粒外周物质

由于技术条件限制, 人们对于PCM的研究起步较晚。起初通过电子显微镜的观察, 认为PCM是



A: 亚远端附属结构横截面模式图。间期细胞中,亚远端附属结构蛋白ODF2、CCDC68、CCDC120、Ninein和CEP170等在母中心粒的亚远端依次相互作用组装成附属结构。B: 亚远端附属结构组装模式图。ODF2作为上游蛋白启动亚远端附属结构的组装。Trichoplein介导ODF2和Ninein之间的相互作用。CEP170可以被Ninein招募。CCDC120通过ODF2被招募到亚远端附属结构,并通过两个不同的结构域招募其下游蛋白CEP170和Ninein。CCDC68与CCDC120竞争结合CEP170。

A: the schematic of centriole subdistal appendages cross-section. In interphase cells, subdistal appendage proteins such as ODF2, CCDC68, CCDC120, Ninein and CEP170 interact with one another and assemble into subdistal appendages. B: the schematic of centriole subdistal appendages assembly. ODF2 works as the up-stream protein to trigger the assembly of centriole subdistal appendages. Trichoplein mediates the interaction between ODF2 and Ninein. CEP170 is recruited by Ninein. CCDC120 is recruited to the subdistal appendages via ODF2, and recruits its down-stream proteins CEP170 and Ninein through two distinct domains. CCDC68 competes with CCDC120 to bind CEP170.

图1 亚远端附属结构的组装(根据参考文献[4]修改)

Fig.1 The assembly of centriole subdistal appendages (modified from reference [4])

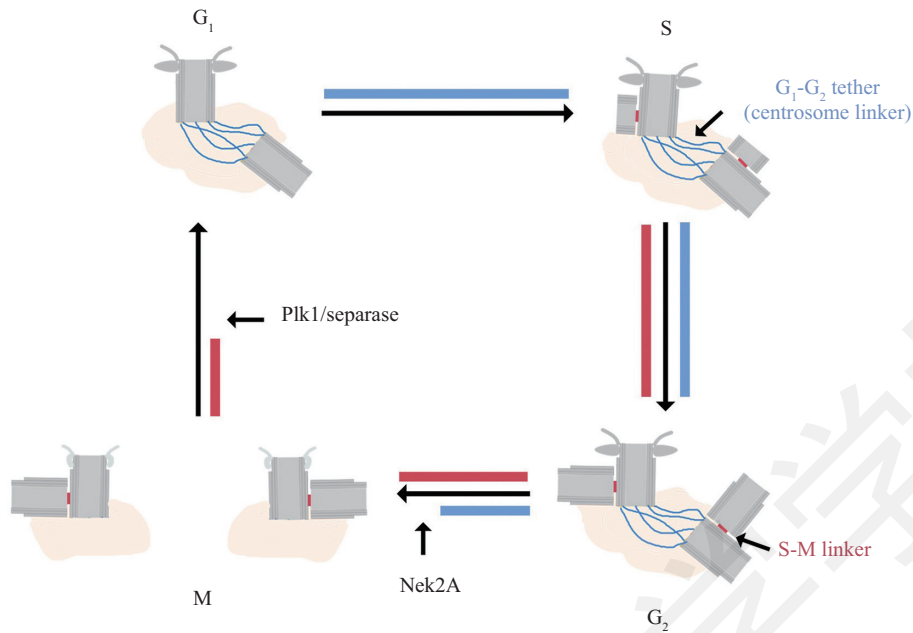
包裹在中心粒外围、电子密度较高、无膜包围的不定型结构,微管在此成核并向四周延伸^[25]。随着一系列PCM结构组分如pericentrin、Cep152、Cep192、CDK5RAP2等相继被发现,这些蛋白随细胞周期所呈现的动态变化,在中心体复制和成熟、纺锤体组装以及微管成核等方面的功能也逐渐被认识。当细胞进入分裂期时,PCM体积增大,微管组织中心的功能增强;分裂期结束时,大部分PCM蛋白会从中心体上解离。PCM的周期性组装和解离受到多种分裂期激酶、磷酸酶和微管的共同调节^[26]。用超高分辨率显微镜对中心体进行观察的结果显示,PCM结构组分在母中心粒近端形成了直径不一的套筒状结构,可见PCM具有一定的层级结构^[27]。

1.3 母子中心粒之间的连接复合体

在母子中心粒的近端,有一些蛋白组装成丝状结构将两个中心粒彼此相连,但连接物的种类按子中心粒的成熟程度而异。第一种类型是结构存在于S期至M期的S-M连接体(S-M linker, SML)(图2),它形成于S期,将新组装的子中心粒(或称为原中心粒)与其邻近的母中心粒相连接(图2)。SML一直持续到细胞分裂末期才解开。这种母子中心粒间紧密连接的解除也被称为中心粒的解离(centriole disengagement)。中心粒解离依赖于Plk1激酶^[28]和分离酶(separase)^[29],这两个蛋白也负责在有丝分裂中期向

后期转变过程中姐妹染色单体的分离。由于Plk1和separase通常只在有丝分裂期被激活,因此这个假说(又称许可证模型)为中心粒复制和细胞周期转变的偶联提供了一个很好的解释,使中心粒的解离与染色单体的分离过程协调一致,有效地消除了多极纺锤体发生的潜在可能性。Cohesin蛋白复合体的调控也对中心粒解离是至关重要的。该复合体主要参与姐妹染色单体间的连接。在有丝分裂中期向后期转变的过程中该复合体会被separase切割,使姐妹染色单体分离。近年的研究结果显示,cohesin也是SML的结构组分^[30]。SML除了为母子中心粒间提供连接外,还与中心粒复制的细胞周期调控相关^[31]。

第二种类型的连接被称为“G₁-G₂栓(G₁-G₂ tether, GGT)”(图2),这是一种存在于两个中心粒的近端底部之间的一种相对松散的连接。GGT的组装发生在SML解除的同时或稍后一些。在G₂的晚期,两个中心体(每个中心体由一对通过SML连接的中心粒组成)开始分离后,开始纺锤体的组装。与GGT功能相关的蛋白包括C-Nap1^[32]、rootletin^[33]、LRRC45^[34]、CCDC102B^[6]和Cep68^[35]等。其中C-Nap1与中心粒近端腔内的Cep135结合而定位于底部,Rootletin和LRRC45依赖于其肽链内部的coiled-coil结构域组装成纤维状结构,并通过与C-Nap1的相互作用锚定在中心粒近端的底部^[34]。CCDC102B和Cep68能促进纤维状结构组装成GGT^[6]。在G₂M



在G₁期细胞中, 母子中心粒之间通过GGT(蓝色)相连, 在G₂/M期中, 在Nek2A激酶的作用下, GGT解体, 两个中心体彼此分离, 并向两极移动, 开始纺锤体的组装。中心粒的复制发生在S期, 新组装的中心粒与亲本中心粒之间通过SML(红色)相连接, 在Plk1和separase的作用下, SML在M期结束时解体, 被GGT取代, 使母子中心粒之间的距离变得比较宽松。

In G₁ phase cells, mother and daughter centriole are connected by GGT (blue). During G₂/M transition, GGT is dissolved by Nek2A, promoting the separation of two centrosomes and the formation of bipolar spindle. The centrosomes are duplicated in S phase. The new-born centrosomes are connected to their parental centrosomes via SML (red). Under the regulation of Plk1 and separase, SML is dissolved at the end of M phase, and replaced by GGT. Then the connection between the mother and daughter centriole becomes relatively loose.

图2 细胞周期与中心粒结构模式图

Fig.2 The schematic of cell cycle and centrosome structure

期时, Nek2A的活性增加, 而PP1 α 活性降低。Nek2A磷酸化C-Nap1^[32]、rootletin^[33]、LRRC45^[34]和CCD-C102B等蛋白^[6], 导致GGT结构解聚。随后, 解除连接的两个中心体通过驱动蛋白Eg5分离到细胞的两极, 开始纺锤体结构的组装^[36]。

2 中心体的复制

中心体的复制主要是指中心粒的组装以及中心粒外周蛋白的招募, 其过程是高度保守的, 并受到严格的调控。中心粒的组装在每个细胞周期中只进行一次, 而且在每个亲本中心粒的近端仅产生一个子中心粒。中心体的复制过程主要包括三个关键的步骤: 首先是发生在有丝分裂末期的中心粒复制许可的获取; 然后新的细胞周期的G₁/S期, 原中心粒开始组装并延伸; 最后在G₂/M期中逐渐成熟(图3)。

2.1 中心粒复制许可的获取

中心粒复制许可的获取分为两部分。一是母子中心粒之间的紧密连接解离, 为原中心粒腾出空间; 二是中心粒转化为中心体, 赋予原中心粒复制

的许可。

复制完成后的母子中心粒之间的紧密连接可能阻止了中心粒的再次复制^[28,31,37]。Plk1和separase能促进紧密连接解离^[28]。Cohesin和pericentrin被separase切割后从中心体上移除^[38-39]。Plk1则负责调控separase对pericentrin的切割^[38-39]。Cohesin在不同物种中的情况略有不同。在人体细胞中cohesin受到Sgo1-PP2A的保护^[40], 而在果蝇胚胎中, cohesin是否被切割对中心粒的解离没有决定性影响^[41]。

母子中心粒之间存在紧密连接时, 会形成一个近乎正交垂直的构象。之前的研究显示, 这一构象消失于M期晚期/G₁期早期^[42]。最近研究显示, 在M期前期, 受到Plk1的调控, 亲代中心粒与原中心粒之间的距离已然增加, 意味着在正交垂直构象存在的情况下, 亲代中心粒可能已经获取了再次复制的许可^[43]。此外, 车轮状结构从原中心粒上移除对于该中心粒的下一次复制也是必要的, Cdk1激酶负责调控这一过程^[44-45]。

中心粒复制许可的获取还依赖于中心粒到中

心体的转化,主要是PCM的招募^[46-47],参与调控这一过程的主要激酶是Plk1和Cdk1^[48-49]。首先是Plk1被招募到Sas4上,这一过程需要Cdk1依赖的磷酸化^[49]。然后,Cep135、Ana1和Asl依次被招募,最后组装形成PCM^[46-47,50]。由于在果蝇胚胎细胞中,中心粒解离之后Asl才被招募上去,说明中心粒获取复制许可的两个过程存在先后顺序^[51]。

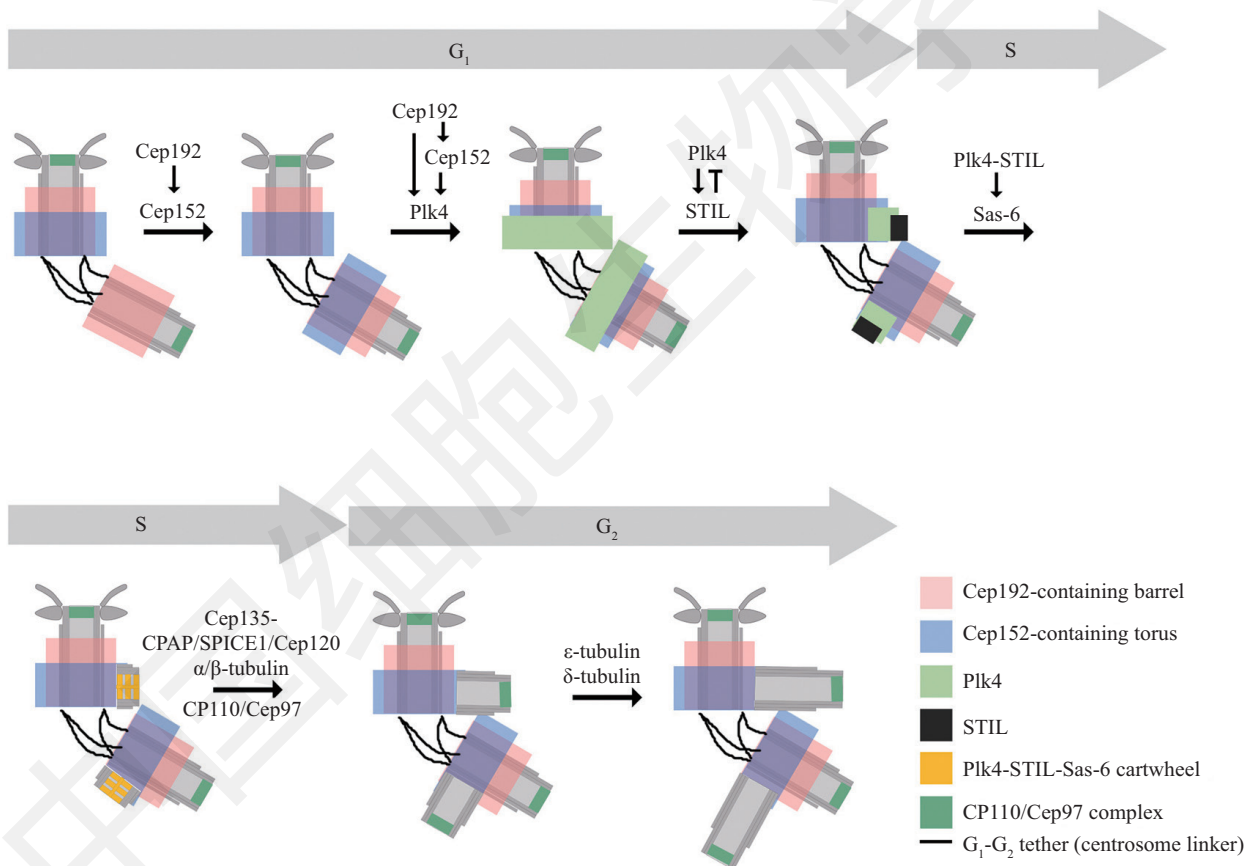
2.2 原中心粒的组装

原中心粒的组装首先需要Cep192、Cep152、Cep63和Cep57等蛋白形成负责招募下游蛋白的环形支架^[27,52-54]。然后中心粒复制的核心蛋白Plk4被招募到中心粒上去,与STIL^[55]和Sas-6^[56]共同形成车轮状结构,这是原中心粒正式组装的起点^[53]。最后

是中心粒微管的组装,参与这一过程的蛋白主要是Cep135、CPAP、Cep120和SPICE1^[27,57-58](图3)。

2.2.1 环形支架的组装 Cep192是环形支架的上游蛋白,定位于中心粒近端。免疫荧光标记及超高分辨率显微镜观察的结果显示,Cep192形成的环状结构直径较小,表明其靠中心粒较近^[59-60]。该蛋白招募Cep152至中心体的近端成环形分布,但在Cep192缺失的细胞中,仍有部分Cep152定位在中心体上^[53],表明还有其他蛋白在Cep152的招募过程中发挥作用。

Cep192和Cep152都能与Plk4的CPB结构域竞争结合,进而招募Plk4到亲代中心粒周围^[53,61]。由于存在竞争结合关系,在中心粒组装过程中,Plk4会与



在G₁期细胞中,Cep192与Cep152等蛋白形成中心粒复制支架,招募Plk4。Plk4结合STIL后,由环状定位转变为点状定位。在G₁/S期,Plk4与STIL形成的平台招募Sas-6,组装形成车轮状结构,作为原中心粒正式组装的起点。从S期到G₂期,在Cep135、CPAP、SPICE1和Cep120等蛋白的作用下,中心粒延伸。而CP110和Cep97负责抑制中心粒微管的过度延伸。 α/β -微管蛋白二聚体、 ϵ -微管蛋白和 δ -微管蛋白参与组成中心粒的微管结构。In G₁ phase cells, proteins such as Cep192 and Cep152 form the scaffold of centriole duplication, to which Plk4 is recruited. After the binding of STIL, the ring-like localization of Plk4 turns into dot-like localization. In G₁/S phase, the platform formed by Plk4 and STIL recruits Sas-6 to assemble into cartwheel structure, which is the official start point of pro-centriole assembly. In S and G₂ phase, Cep135, CPAP, SPICE1 and Cep120 positively regulate the centriole elongation, while CP110 and Cep97 inhibit the over elongation of centriole tubulin. α/β -tubulin, ϵ -tubulin, and δ -tubulin are the components of centriole tubulin structure.

图3 原中心粒的组装模式图
Fig.3 The schematic of pro-centriole assembly

Cep192结合转向与结合力更强的Cep152结合, 敲低Cep192和Cep152都会影响原中心粒的组装^[53-54,61-62]。

除了与Cep192结合形成环形支架外, Cep152还与Cep63和Cep57结合形成复合体, 同样参与中心粒的组装^[54]。

2.2.2 车轮状结构的组装 在正常情况下, 每个亲本中心粒在一个细胞周期内只能复制出一个子中心粒, 表明在中心体复制过程中存在一个调控中心粒组装成核的机制。Plk4是Polo激酶家族成员, 对于原中心粒的组装至关重要, 被认为是中心粒数量控制的主要调控者。Plk4作为触发中心粒复制起始的核心, 其蛋白水平受到严格调控。Plk4表达量过高会引起中心粒过度复制, 形成花环状结构, 而表达量不足会使中心粒的复制受阻^[63-64]。这表明, 在母中心粒近端由Cep152和Cep192形成的环状结构上, 有不止一个位点可以招募Plk4, 复制产生的子中心粒的数量主要由Plk4的量决定, 只要有足够的Plk4, 就可以形成多个复制位点。除了Plk4, STIL^[55]和Sas-6^[56]也参与车轮状结构的组装。

Plk4最初是一个环状结构, 被其上游蛋白CEP192和CEP152招募到中心粒上^[53,61-62,65]。在G₁/S期中, Plk4在亲本中心粒近端的分布由环状结构变成位于一侧单个的点状结构, 这个点通常被认为是原中心粒组装的起点^[66]。Plk4的这种不对称的定位对于细胞内中心粒数量的控制极为重要。这一过程是如何被调控的? 一些研究结果显示, 细胞内Plk4量的变化与其形成二聚体, 且相互之间发生磷酸化修饰相关^[67-68]。磷酸化后的Plk4可被招募到泛素连接酶复合体成员βTrCP上, 从而促进了Plk4经蛋白酶体的降解。此外, Plk4可通过其PoLo3 box将STIL招募到其环状结构的一侧^[55], 稳定了Plk4, 使其免于降解, 从而维持了这一定位^[69]。最近研究发现, STIL还能通过其保守的C-端结构域TIM与邻近的Plk4直接相互作用, 并促进它们的自磷酸化和降解^[70]。尽管还有很多问题还没有得到满意的解答, 但目前认为, 这样一种双重调控模式可能是确保中心粒数量控制的原因。

STIL与Plk4结合并被磷酸化修饰, 进而招募Sas-6到STIL与Plk4所形成的车轮状结构组装平台上^[66,71-72]。Sas-6是保证车轮状结构的九组辐射对称特性的关键结构组分^[73-74]。

Sas-6由N-端的球形结构域、一段较长的卷曲

螺旋结构域和一段结构可变的C-端组成^[75]。Sas-6依赖于其卷曲螺旋结构域形成二聚体^[73,76], 并通过球状结构域之间的相互作用进一步寡聚化, 最终形成九组辐射对称结构^[73,76-77]。其中, Sas-6 N-端形成车轮状结构的中央环、卷曲螺旋结构域形成辐条结构, 该结构对原中心粒的组装和延伸是必不可少的^[73,78]。在经典的复制循环中, Sas-6二聚体的寡聚化对中心粒组装十分必要, 但在从无到有(*de novo*)的中心粒形成中却并非如此。一些研究显示, 不能寡聚化的Sas-6突变体也能支持中心粒在没有亲本的情况下进行组装^[79]。

2.2.3 中心粒的延伸 车轮结构组装完成后便开始招募微管蛋白进行原中心粒的组装, 并在S期和G₂期逐渐延伸。该过程涉及Cep135、CPAP、Cep120、SPICE1、CP110等多种蛋白组分。Cep135的C-端和N-端能分别与Sas-6和微管结合, 从而促进原中心粒的三联体微管在车轮结构上的组装。其中, α/β-微管蛋白二聚体组装成A管, 在B管和C管的组装过程中, 还分别有ε-微管蛋白和δ-微管蛋白的参与^[23,80-83]。

CPAP能稳定车轮结构, 并将微管招募至车轮结构上^[84]。此外, CPAP能与蛋白Cep135、Cep120、SPICE1相互作用, 共同调节中心粒微管的延伸。一些研究结果显示, 敲低CPAP、Cep120和SPICE1都会抑制中心粒微管的延伸, 而过表达Cep120和CPAP会引起中心粒的过度延长^[58]。一些定位在中心粒远端的蛋白如POC5、OFD1、POC1、CP110和MPP9等对调控中心粒微管的长度同样具有重要作用^[85-87]。CP110是一个定位在中心粒远端的蛋白, 它与Cep97和MPP9相互作用形成帽状结构, 通过KIF24结合在中心粒的远端, 抑制中心粒微管的过度延伸, 并与CPAP的功能相拮抗^[84]。CP110的蛋白水平受SCF^{cyclinF}泛素连接酶复合体的调控, 该过程受去泛素化酶USP33的拮抗^[88-89]。

2.3 中心粒与中心体的成熟

G₂期细胞中, 中心粒和中心体逐渐成熟, 两个亲代中心粒通过GGT相连^[90], 而它们与新组装的子中心粒之间则由SML相连^[91]。两个亲代中心粒只有一个完全成熟, 具有附属结构, 而另一个中心粒的附属结构则在G₂期进行组装, 并进一步招募中心粒外周物质, 转变为成熟的中心粒。需要指出的是, 在有丝分裂过程中, 母中心粒的附属结构会受到修饰进而去组装。

中心体成熟主要指G₂/M期PCM的物质招募以及向外扩展的过程。负责调控这一过程的主要激酶是Plk1和Aurora A^[92-94]。通过在果蝇和线虫中对PCM扩展过程的研究,普遍认为,首先Asl(哺乳动物中的同源蛋白是Cep152)、Cnn(哺乳动物中的同源蛋白是Cep215)和spd-2(哺乳动物中的同源蛋白是Cep192)等核心支架蛋白在Plk1的触发下开始组装,然后这些支架蛋白再招募其他PCM成分^[95]。

一些动物细胞(如小鼠卵细胞)没有中心体,它们的中心体在随后胚胎发育过程中产生^[96]。破坏或去除体细胞的中心体后,细胞还会产生新的中心体。在这些细胞中,中心体的产生是*de novo*的,没有预先存在的中心粒作模板。因此,母中心粒对于新中心粒的形成很可能并不是一个严格必需的条件。但正常细胞通常都会采用“经典”途径(即依赖于现有中心粒为模板)组装出新中心体,而不用*de novo*装配途径。这可能与中心粒对周围物质的招募以及中心体作为微管组织中心调控相关物质的微管逆向运输有关。在衣藻细胞中,只有在内源的中心粒缺少的情况下,*de novo*装配途径才会变得活跃。在HeLa细胞中,当所有内源中心粒被激光破坏后,虽然细胞可以*de novo*途径生成中心粒,但是只要有一个内源的中心粒存在就会抑制多余中心粒的装配^[97]。在有中心粒存在的情况下,大量的PCM都会被募集到中心粒周围,从而抑制胞质中的*de novo*装配途径。而在一个母中心粒近端,Cep152和Cep192在外侧呈环状分布,理论上说周围可能会有多个原中心粒的组装位点,然而一些至今未知的因素抑制了大部分位点对Plk4等蛋白的招募,从而限制了子中心粒的数量,但其分子机制还未被阐明。

3 结束语

目前并不知道中心体的结构蛋白到底有多少种,对于这些蛋白之间的关系以及如何组装成如此复杂的超分子结构的了解更是知之甚少。近年来,蛋白质分析技术的进步和显微镜分辨率的提高,使该领域的研究取得了一系列重要的成果。中心体的组装是一个伴随细胞周期进行的过程,一些结构蛋白的突变或表达量的异常往往会导致细胞有丝分裂的异常,并且常常与肿瘤的发生以及小脑症、多囊肾等人类疾病相关。而对于中心体的组装过程及蛋白功能的研究将有助于揭开该细胞器神秘

的面纱,在对相关疾病的诊断和治疗等方面也具有积极的意义。

参考文献 (References)

- 1 Delattre M, Gonczy P. The arithmetic of centrosome biogenesis. *J Cell Sci* 2004; 117(Pt9): 1619-30.
- 2 Fu J, Hagan IM, Glover DM. The centrosome and its duplication cycle. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2015; 7(2): a015800.
- 3 Carvalho-Santos Z, Azimzadeh J, Pereira-Leal JB, Bettencourt-Dias M. Evolution: Tracing the origins of centrioles, cilia, and flagella. *J Cell Biol* 2011; 194(2): 165-75.
- 4 Huang N, Xia YQ, Zhang DH, Wang S, Bao YT, He RS, *et al.* Hierarchical assembly of centriole subdistal appendages via centrosome binding proteins CCDC120 and CCDC68. *Nat Commun* 2017; doi: 10.1038/ncomms15057.
- 5 Muller H, Fogeron ML, Lehmann V, Lehrach H, Lange BMH. A centrosome-independent role for gamma-TuRC proteins in the spindle assembly checkpoint. *Science* 2006; 314(5799): 654-7.
- 6 Xia YQ, Huang N, Chen ZQ, Li FY, Fan GL, Ma DD, *et al.* CCDC102B functions in centrosome linker assembly and centrosome cohesion. *J Cell Sci* 2018; doi: 10.1242/jcs.222901.
- 7 Anderson RG. The three-dimensional structure of the basal body from the rhesus monkey oviduct. *J Cell Biol* 1972; 54(2): 246-65.
- 8 Yang TT, Chong WM, Wang WJ, Mazo G, Tanos B, Chen ZM, *et al.* Super-resolution architecture of mammalian centriole distal appendages reveals distinct blade and matrix functional components. *Nat Commun* 2018; 9(1): 2023.
- 9 Tanos BE, Yang HJ, Soni R, Wang WJ, Macaluso FP, Asara JM, *et al.* Centriole distal appendages promote membrane docking, leading to cilia initiation. *Genes Dev* 2013; 27(2): 163-8.
- 10 Kobayashi T, Dynlacht BD. Regulating the transition from centriole to basal body. *J Cell Biol* 2011; 193(3): 435-44.
- 11 Garcia-Gonzalo FR, Reiter JF. Scoring a backstage pass: mechanisms of ciliogenesis and ciliary access. *J Cell Biol* 2012; 197(6): 697-709.
- 12 Tateishi K, Yamazaki Y, Nishida T, Watanabe S, Kunitomo K, Ishikawa H, *et al.* Two appendages homologous between basal bodies and centrioles are formed using distinct Odf2 domains. *J Cell Biol* 2013; 203(3): 417-25.
- 13 Debrabander M, Geuens G, Nuydens R, Willebrords R, Demey J. Microtubule stability and assembly in living cells—the influence of metabolic-inhibitors, taxol and Ph. *Cold Spring Harb Sym* 1981; 46(Pt 1): 227-40.
- 14 Gorgidze LA, Vorobjev IA. Centrosome and microtubules behavior in the cytoplasts. *J Submicr Cytol Path* 1995; 27(3): 381-9.
- 15 Piel M, Meyer P, Khodjakov A, Rieder CL, Bornens M. The respective contributions of the mother and daughter centrioles to centrosome activity and behavior in vertebrate cells. *J Cell Biol* 2000; 149(2): 317-29.
- 16 Delgehr N, Sillibourne J, Bornens M. Microtubule nucleation and anchoring at the centrosome are independent processes linked by ninein function. *J Cell Sci* 2005; 118(Pt 8): 1565-75.
- 17 Monnich M, Borgeskov L, Breslin L, Jakobsen L, Rogowski M, Doganli C, *et al.* CEP128 localizes to the subdistal appendages of the mother centriole and regulates TGF-beta/BMP signaling at the primary cilium. *Cell Rep* 2018; 22(10): 2584-92.

- 18 Mazo G, Soplop N, Wang WJ, Uryu K, Tsou MFB. Spatial control of primary ciliogenesis by subdistal appendages alters sensation-associated properties of cilia. *Dev Cell* 2016; 39(4): 424-37.
- 19 Mogensen MM, Malik A, Piel M, Bouckson-Castaing V, Bornens M. Microtubule minus-end anchorage at centrosomal and non-centrosomal sites: the role of ninein. *J Cell Sci* 2000; 113(Pt 17): 3013-23.
- 20 Guarguaglini G, Duncan PI, Stierhof YD, Holmstrom T, Duensing S, Nigg EA. The forkhead-associated domain protein Cep170 interacts with polo-like kinase 1 and serves as a marker for mature centrioles. *Mol Biol Cell* 2005; 16(3): 1095-107.
- 21 Gromley A, Jurczyk A, Sillibourne J, Halilovic E, Mogensen M, Groisman I, *et al.* A novel human protein of the maternal centriole is required for the final stages of cytokinesis and entry into S phase. *J Cell Biol* 2003; 161(3): 535-45.
- 22 Veleri S, Manjunath SH, Fariss RN, May-Simera H, Brooks M, Foskett TA, *et al.* Ciliopathy-associated gene *Ce2d2a* promotes assembly of subdistal appendages on the mother centriole during cilia biogenesis. *Nat Commun* 2014; 5: 4207.
- 23 Chang P, Giddings TH, Winey M, Stearns T. epsilon-tubulin is required for centriole duplication and microtubule organization. *Nat Cell Biol* 2003; 5(1): 71-6.
- 24 Nishizawa M, Izawa I, Inoko A, Hayashi Y, Nagata K, Yokoyama T, *et al.* Identification of trichoplein, a novel keratin filament-binding protein. *J Cell Sci* 2005; 118(Pt 5): 1081-90.
- 25 Gould R, Borisy G. The Pericentriolar material in Chinese hamster ovary cells nucleates microtubules formation. *J Cell Biol* 1977; 73(3): 601-15.
- 26 Woodruff JB, Wueseke O, Hyman AA. Pericentriolar material structure and dynamics. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 2014; doi: 10.1098/rstb.2013.0459.
- 27 Lawo S, Hasegan M, Gupta GD, Pelletier L. Subdiffraction imaging of centrosomes reveals higher-order organizational features of pericentriolar material. *Nat Cell Biol* 2012; 14(11): 1148-58.
- 28 Tsou MF, Wang WJ, George KA, Uryu K, Stearns T, Jallepalli PV. Polo kinase and separase regulate the mitotic licensing of centriole duplication in human cells. *Dev Cell* 2009; 17(3): 344-54.
- 29 Uhlmann F, Wernic D, Poupart MA, Koonin EV, Nasmyth K. Cleavage of cohesin by the CD clan protease separin triggers anaphase in yeast. *Cell* 2000; 103(3): 375-86.
- 30 Schockel L, Mockel M, Mayer B, Boos D, Stemmann O. Cleavage of cohesin rings coordinates the separation of centrioles and chromatids. *Nat Cell Biol* 2011; 13(8): 966-72.
- 31 Tsou MF, Stearns T. Mechanism limiting centrosome duplication to once per cell cycle. *Nature* 2006; 442(7105): 947-51.
- 32 Mayor T, Stierhof YD, Tanaka K, Fry AM, Nigg EA. The centrosomal protein C-Nap1 is required for cell cycle-regulated centrosome cohesion. *J Cell Biol* 2000; 151(4): 837-46.
- 33 Yang J, Adamian M, Li T. Rootletin interacts with C-Nap1 and may function as a physical linker between the pair of centrioles/basal bodies in cells. *Mol Biol Cell* 2006; 17(2): 1033-40.
- 34 He R, Huang N, Bao Y, Zhou H, Teng J, Chen J. LRRC45 is a centrosome linker component required for centrosome cohesion. *Cell Rep* 2013; 4(6): 1100-7.
- 35 Graser S, Stierhof YD, Nigg EA. Cep68 and Cep215 (Cdk5rap2) are required for centrosome cohesion. *J Cell Sci* 2007; 120(Pt 24): 4321-31.
- 36 Bertran MT, Sdelci S, Regue L, Avruch J, Caelles C, Roig J. Nek9 is a Plk1-activated kinase that controls early centrosome separation through Nek6/7 and Eg5. *EMBO J* 2011; 30(13): 2634-47.
- 37 Loncarek J, Hergert P, Magidson V, Khodjakov A. Control of daughter centriole formation by the pericentriolar material. *Nat Cell Biol* 2008; 10(3): 322-8.
- 38 Matsuo K, Ohsumi K, Iwabuchi M, Kawamata T, Ono Y, Takahashi M. Kendrin is a novel substrate for separase involved in the licensing of centriole duplication. *Curr Biol* 2012; 22(10): 915-21.
- 39 Lee K, Rhee K. Separase-dependent cleavage of pericentrin B is necessary and sufficient for centriole disengagement during mitosis. *Cell Cycle* 2012; 11(13): 2476-85.
- 40 Mohr L, Buheitel J, Schockel L, Karalus D, Mayer B, Stemmann O. An alternatively spliced bifunctional localization signal reprograms human shugoshin 1 to protect centrosomal instead of Centromeric Cohesin. *Cell Rep* 2015; 12(12): 2156-68.
- 41 Oliveira RA, Nasmyth K. Cohesin cleavage is insufficient for centriole disengagement in *Drosophila*. *Curr Biol* 2013; 23(14): R601-R3.
- 42 Kuriyama R, Borisy GG. Centriole cycle in Chinese-hamster ovary cells as determined by whole-mount electron-microscopy. *J Cell Biol* 1981; 91(3 Pt1): 814-21.
- 43 Shukla AK, Kong D, Sharma M, Loncarek J. Plk1 relieves centriole block to reduplication by promoting daughter centriole maturation. *Mol Biol Cell* 2015; doi: 10.1038/ncomms9077.
- 44 Arquint C, Nigg EA. STIL microcephaly mutations interfere with APC/C-mediated degradation and cause centriole amplification. *Curr Biol* 2014; 24(4): 351-60.
- 45 Kim M, O'Rourke BP, Soni RK, Jallepalli PV, Hendrickson RC, Tsou MFB. Promotion and suppression of centriole duplication are catalytically coupled through PLK4 to ensure centriole homeostasis. *Cell Rep* 2016; 16(5): 1195-203.
- 46 Izquierdo D, Wang W, Uryu K, Tsou M. Stabilization of cartwheel-less centrioles for duplication requires CEP295-mediated centriole-to-centrosome conversion. *Mol Biol Cell* 2014; 8(4): 957065.
- 47 Fu JY, Lipinszki Z, Rangone H, Min MW, Mykura C, Chao-Chu J, *et al.* Conserved molecular interactions in centriole-to-centrosome conversion. *Nat Cell Biol* 2016; 18(1): 87-99.
- 48 Wang WJ, Soni RK, Uryu K, Tsou MFB. The conversion of centrioles to centrosomes: essential coupling of duplication with segregation. *J Cell Biol* 2011; 193(4): 727-39.
- 49 Novak ZA, Wainman A, Gartenmann L, Raff JW. Cdk1 phosphorylates *Drosophila* Sas-4 to recruit Polo to daughter centrioles and convert them to centrosomes. *Dev Cell* 2016; 37(6): 545-57.
- 50 Saurya S, Roque H, Novak ZA, Wainman A, Aydogan MG, Volanakis A, *et al.* *Drosophila* Ana1 is required for centrosome assembly and centriole elongation. *J Cell Sci* 2016; 129(13): 2514-25.
- 51 Novak ZA, Conduit PT, Wainman A, Raff JW. Asterless licenses daughter centrioles to duplicate for the first time in *Drosophila*. *Mol Biol Cell* 2014; 24(11): 1276-82.

- 52 Park SY, Park JE, Kim TS, Kim JH, Kwak MJ, Ku B, *et al.* Molecular basis for unidirectional scaffold switching of human Plk4 in centriole biogenesis. *Nat Struct Mol Biol* 2014; 21(8): 696-703.
- 53 Sonnen KF, Gabryjarczyk AM, Anselm E, Stierhof YD, Nigg EA. Human Cep192 and Cep152 cooperate in Plk4 recruitment and centriole duplication. *J Cell Sci* 2013; 126(Pt 14): 3223-33.
- 54 Lukinavicius G, Lavogina D, Orpinell M, Umezawa K, Reymond L, Garin N, *et al.* Selective chemical crosslinking reveals a Cep57-Cep63-Cep152 centrosomal complex. *Curr Biol* 2013; 23(3): 265-70.
- 55 Arquint C, Gabryjarczyk AM, Imseng S, Bohm R, Sauer E, Hiller S, *et al.* STIL binding to Polo-box 3 of PLK4 regulates centriole duplication. *eLife* 2015; doi: 10.7554/eLife.07888.
- 56 Dzhindzhev NS, Tzolovsky G, Lipinszki Z, Schneider S, Lattao R, Fu JY, *et al.* Plk4 phosphorylates Ana2 to trigger Sas6 recruitment and procentriole formation. *Curr Biol* 2014; 24(21): 2526-32.
- 57 Lin YC, Chang CW, Hsu WB, Tang CJC, Lin N, Chou EJ, *et al.* Human microcephaly protein CEP135 binds to hSAS-6 and CPAP, and is required for centriole assembly. *EMBO J* 2013; 32(8): 1141-54.
- 58 Comartin D, Gupta GD, Fussner E, Coyaud E, Hasegan M, Archinti M, *et al.* CEP120 and SPICE1 cooperate with CPAP in centriole elongation. *Curr Biol* 2013; 23(14): 1360-6.
- 59 Joukov V, De Nicolo A, Rodriguez A, Walter JC, Livingston DM. Centrosomal protein of 192 kDa (Cep192) promotes centrosome-driven spindle assembly by engaging in organelle-specific Aurora A activation. *Proc Natl Acad Sci USA* 2010; 107(49): 21022-7.
- 60 Zhu F, Lawo S, Bird A, Pinchev D, Ralph A, Richter C, *et al.* The mammalian SPD-2 ortholog Cep192 regulates centrosome biogenesis. *Curr Biol* 2008; 18(2): 136-41.
- 61 Kim TS, Park JE, Shukla A, Choi S, Murugan RN, Lee JH, *et al.* Hierarchical recruitment of Plk4 and regulation of centriole biogenesis by two centrosomal scaffolds, Cep192 and Cep152. *Proc Natl Acad Sci USA* 2013; 110(50): E4849-57.
- 62 Hatch EM, Kulukian A, Holland AJ, Cleveland DW, Stearns T. Cep152 interacts with Plk4 and is required for centriole duplication. *J Cell Biol* 2010; 191(4): 721-9.
- 63 Kleylein-Sohn J, Westendorf J, Le Clech M, Habedanck R, Stierhof YD, Nigg EA. Plk4-induced centriole biogenesis in human cells. *Dev Cell* 2007; 13(2): 190-202.
- 64 Luders J. The amorphous pericentriolar cloud takes shape. *Nat Cell Biol* 2012; 14(11): 1126-8.
- 65 Cizmecioglu O, Arnold M, Bahtz R, Settele F, Ehret L, Haselmann-Weiss U, *et al.* Cep152 acts as a scaffold for recruitment of Plk4 and CPAP to the centrosome. *J Cell Biol* 2010; 191(4): 731-9.
- 66 Ohta M, Ashikawa T, Nozaki Y, Kozuka-Hata H, Goto H, Inagaki M, *et al.* Direct interaction of Plk4 with STIL ensures formation of a single procentriole per parental centriole. *Nat Commun* 2014; 5. doi: 10.1038/ncomms6267.
- 67 Cunha-Ferreira I, Rodrigues-Martins A, Bento I, Riparbelli M, Zhang W, Laue E, *et al.* The SCF/slimb ubiquitin ligase limits centrosome amplification through degradation of SAK/PLK4. *Curr Biol* 2009; 19(1): 43-9.
- 68 Guderian G, Westendorf J, Uldschmid A, Nigg EA. Plk4 trans-autophosphorylation regulates centriole number by controlling beta TrCP-mediated degradation. *J Cell Sci* 2010; 123(Pt 13): 2163-9.
- 69 Arquint C, Nigg EA. The PLK4-STIL-SAS-6 module at the core of centriole duplication. *Biochem Soc T* 2016; 44(5): 1253-63.
- 70 Ohta M, Watanabe K, Ashikawa T, Nozaki Y, Yoshida S, Kimura A, *et al.* Bimodal binding of STIL to Plk4 controls proper centriole copy number. *Cell Rep* 2018; 23(11): 3160-9.
- 71 Kratz AS, Barenz F, Richter KT, Hoffmann I. Plk4-dependent phosphorylation of STIL is required for centriole duplication. *Biol Open* 2015; 4(3): 370-7.
- 72 Moyer TC, Clutario KM, Lambrus BG, Daggubati V, Holland AJ. Binding of STIL to Plk4 activates kinase activity to promote centriole assembly. *J Cell Biol* 2015; 209(6): 863-78.
- 73 Kitagawa D, Vakonakis I, Olieric N, Hilbert M, Keller D, Olieric V, *et al.* Structural Basis of the 9-Fold Symmetry of Centrioles. *Cell* 2011; 144(3): 364-75.
- 74 Nakazawa Y, Hiraki M, Kamiya R, Hirono M. SAS-6 is a cartwheel protein that establishes the 9-fold symmetry of the centriole. *Curr Biol* 2007; 17(24): 2169-74.
- 75 Leidel S, Delattre M, Cerutti L, Baumer K, Gonczy P. SAS-6 defines a protein family required for centrosome duplication in *C-elegans* and in human cells. *Nat Cell Biol* 2005; 7(2): 115-19.
- 76 van Breugel M, Hirono M, Andreeva A, Yanagisawa H, Yamaguchi S, Nakazawa Y, *et al.* Structures of SAS-6 suggest its organization in centrioles. *Science* 2011; 331(6021): 1196-9.
- 77 Keller D, Orpinell M, Olivier N, Wachsmuth M, Mahen R, Wyss R, *et al.* Mechanisms of HsSAS-6 assembly promoting centriole formation in human cells. *J Cell Biol* 2014; 204(5): 697-712.
- 78 van Breugel M, Hirono M, Andreeva A, Yanagisawa HA, Yamaguchi S, Nakazawa Y, *et al.* Structures of SAS-6 suggest its organization in centrioles. *Science* 2011; 331(6021): 1196-9.
- 79 Wang W, Jane W, Uryu K, Tsou MB. *De novo* centriole formation in human cells is error-prone and does not require SAS-6 self-assembly. *Elife* 2015; doi: 10.7554/eLife.10586.
- 80 Dupuis-Williams P, Fleury-Aubusson A, de Loubresse NG, Geoffroy H, Vayssie L, Galvani A, *et al.* Functional role of epsilon-tubulin in the assembly of the centriolar microtubule scaffold. *J Cell Biol* 2002; 158(7): 1183-93.
- 81 Dutcher SK, Trabuco EC. The UNI3 gene is required for assembly of basal bodies of *Chlamydomonas* and encodes delta-tubulin, a new member of the tubulin superfamily. *Mol Biol Cell* 1998; 9(6): 1293-308.
- 82 Dutcher SK, Morrissette NS, Preble AM, Rackley C, Stanga J. Epsilon-tubulin is an essential component of the centriole. *Mol Biol Cell* 2002; 13(11): 3859-69.
- 83 Ross I, Clarissa C, Giddings TH, Winey M. epsilon-tubulin is essential in *tetrahymena thermophila* for the assembly and stability of basal bodies. *J Cell Sci* 2013; 126(Pt 15): 3441-51.
- 84 Schmidt TI, Kleylein-Sohn J, Westendorf J, Le Clech M, Lavoie SB, Stierhof YD, *et al.* Control of centriole length by CPAP and CP110. *Curr Biol* 2009; 19(12): 1005-11.
- 85 Azimzadeh J, Hergert P, Delouvee A, Euteneuer U, Formstecher E, Khodjakov A, *et al.* hPOC5 is a centrin-binding protein required for assembly of full-length centrioles. *J Cell Biol* 2009; 185(1): 101-14.

- 86 Singla V, Romaguera-Ros M, Garcia-Verdugo JM, Reiter JF. Odf1, a human disease gene, regulates the length and distal structure of centrioles. *Dev Cell* 2010; 18(3): 410-24.
- 87 Keller LC, Geimer S, Romijn E, Yates J, 3rd, Zamora I, Marshall WF. Molecular architecture of the centriole proteome: the conserved WD40 domain protein POC1 is required for centriole duplication and length control. *Mol Biol Cell* 2009; 20(4): 1150-66.
- 88 D'Angiolella V, Donato V, Vijayakumar S, Saraf A, Florens L, Washburn MP, *et al.* SCF (cyclin F) controls centrosome homeostasis and mitotic fidelity through CP110 degradation. *Nature* 2010; 466(7302): 138-42.
- 89 Li J, D'Angiolella V, Seeley ES, Kim S, Kobayashi T, Fu W, *et al.* USP33 regulates centrosome biogenesis via deubiquitination of the centriolar protein CP110. *Nature* 2013; 495(7440): 255-9.
- 90 Bahe S, Stierhof YD, Wilkinson CJ, Leiss F, Nigg EA. Rootletin forms centriole-associated filaments and functions in centrosome cohesion. *J Cell Biol* 2005; 171(1): 27-33.
- 91 Nigg EA, Stearns T. The centrosome cycle: Centriole biogenesis, duplication and inherent asymmetries. *Nat Cell Biol* 2011; 13(10): 1154-60.
- 92 Lane HA, Nigg EA. Antibody microinjection reveals an essential role for human polo-like kinase 1 (Plk1) in the functional maturation of mitotic centrosomes. *J Cell Biol* 1996; 135(6 Pt 2): 1701-13.
- 93 Joukov V, Walter JC, De Nicolo A. The Cep192-organized Aurora A-Plk1 cascade is essential for centrosome cycle and bipolar spindle assembly. *Mol Cell* 2014; 55(4): 578-91.
- 94 Lee K, Rhee K. PLK1 phosphorylation of pericentrin initiates centrosome maturation at the onset of mitosis. *J Cell Biol* 2011; 195(7):1093-101.
- 95 Conduit PT, Wainman A, Raff JW. Centrosome function and assembly in animal cells. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2015; 16(10): 611-24.
- 96 Manandhar G, Schatten H, Sutovsky P. Centrosome reduction during gametogenesis and its significance. *Biol Reprod* 2005; 72(1): 2-13.
- 97 Uetake T, Enomoto N. [Osteoporosis in elderly patients]. *Nihon Rinsho* 2007; 65(5): 933-8.