

纺锤体检验点的功能与染色体不稳定性

姚健晖 郑宇鹏 姚雪彪*

(中国科学技术大学生命科学学院细胞动力学研究室, 合肥 230027. * 联系人, E-mail: yaorb@ustc.edu.cn)

摘要 细胞生长和个体发育均依赖于母细胞将遗传物质(染色体)精确地分配给两个子细胞. 在染色体分离过程中, 纺锤体检验点起到了举足轻重的作用. 染色体的正确分离是遗传信息稳定性的保证, 而异常分离则产生染色体不稳定性, 继而直接或间接地导致了一些疾病的发生, 如先天愚型综合症和癌症等. 动粒及其调控蛋白构成了纺锤体检验点, 决定细胞有丝分裂过程中染色体分离的时空可调性.

关键词 纺锤体检验点 动粒 染色体不稳定性 癌症

细胞的正常生长和机体的健康取决于含有亲代遗传信息的染色体(chromosome)的正确分离及传代. 在有丝分裂过程中, 染色体经历了诸多复杂的运动之后, 将遗传物质精确地、均等地分配给两个子细胞. 在整个分裂期中, 染色体运动都是通过纺锤体微管(spindle microtubule)与染色体上的动粒/着丝粒(kinetochores/centromere, 染色体中部狭隘区的多蛋白结构)的相互作用而进行. 姐妹染色单体分别通过其动粒捕获来自两极的纺锤体微管. 当所有的动粒都正确无误地黏附上微管后, 姐妹染色单体之间的连接才会断开. 姐妹染色单体连接的提前断裂会引起遗传物质的丢失和重叠(redundancy), 这将导致染色体不稳定性的发生. 染色体不稳定性与出生缺陷, 如先天愚型综合症(Down's syndrome)以及多种癌症的发生密切相关. 在染色体分离的过程中, 一个被称为纺锤体检验点(spindle checkpoint)的生化调节通路对染色体的稳定性起到了一个必不可少的监督作用.

染色体正确分离有如下几个步骤: (1) 双极纺锤体形成; (2) 染色体通过动粒连接到纺锤体上(姐妹染色单体的动粒必须分别结合上源自中心体两极的纺锤体微管); (3) 由动粒调控一系列复杂的运动并最终将正确附着的染色体排列在赤道板上. 通过动粒上一系列蛋白的作用, 纺锤体检验点从时空上调控并决定染色体分配到子细胞的整个过程^[1].

1 动粒的结构及其功能

动粒是染色体着丝粒上的一个 3 层结构的特定部位, 维持着染色体与纺锤体微管的相互作用(图 1)^[2]. 从电子显微镜图像上看, 动粒是一个圆盘形结构, 可分为 4 个功能区域^[3], 分别是:

(1) 内层(inner plate). 与着丝粒异染色质紧密相连, 厚约 35~40 nm, 含有 CENP-B (centromere-associated protein, CENP)和 CENP-C 两个蛋白质, 后者为维持动粒功能所必需.

(2) 中间带(interzone). 电子显微镜下透明, 厚约 15~35 nm, 含有近 10 个被称为 3F3/2 磷酸化位点的蛋白. 通过感受来自两极纺锤体丝牵张力的变化, 中间带参与有丝分裂由中期到后期的转化. 目前认为, MCAK(mitotic chromosome associated kinesis)及 TOPO II (Topoisomerase II)蛋白可能定位于此区域.

(3) 外层(outer plate). 厚约 35~40 nm, 动粒微管的正极端黏附并终止于此区域. 目前已知此区域含有的蛋白有: CENP-F(亦称 mitosin), CENP-E, ZW10 (Zeste-White 10), Bub1 (budding uninhibited by benzimidazole1)/BubR1, 可能还含有胞质动力蛋白(cytoplasmic dynein)及其复合物.

(4) 纤维冠(fibrous corona). 由外层延伸而成, 厚约 0.1~0.3 μm , 在未黏附的动粒上清晰可见. 此区域含有的蛋白有 CENP-E, ZW10 及胞质动力蛋白, 其中胞质动力蛋白可能参与了微管的黏附和极向力的产生.

动粒上含有两类蛋白: 一类是马达蛋白(motor protein), 如 CENP-E, 胞质动力蛋白和 MCAK. 它们介导了动粒对微管的黏附、中期染色体的排列及染色体的运动. 另一类是非马达蛋白, 其中包括纺锤体检验点蛋白(如 Mad1 (mitotic arrest deficiency 1), Mad2, Bub1/BubR1, Bub2, Bub3, Mps (monopolar spindle)和 ZW10 等). 它们参与调控有丝分裂中期至后期的转化. 一个已复制的染色体有 2 个独立的动粒. 动粒在分裂期细胞中至少有 3 大功能, 即通过与微管的相互作用将染色体黏附在纺锤体上、介导有丝分裂期染色

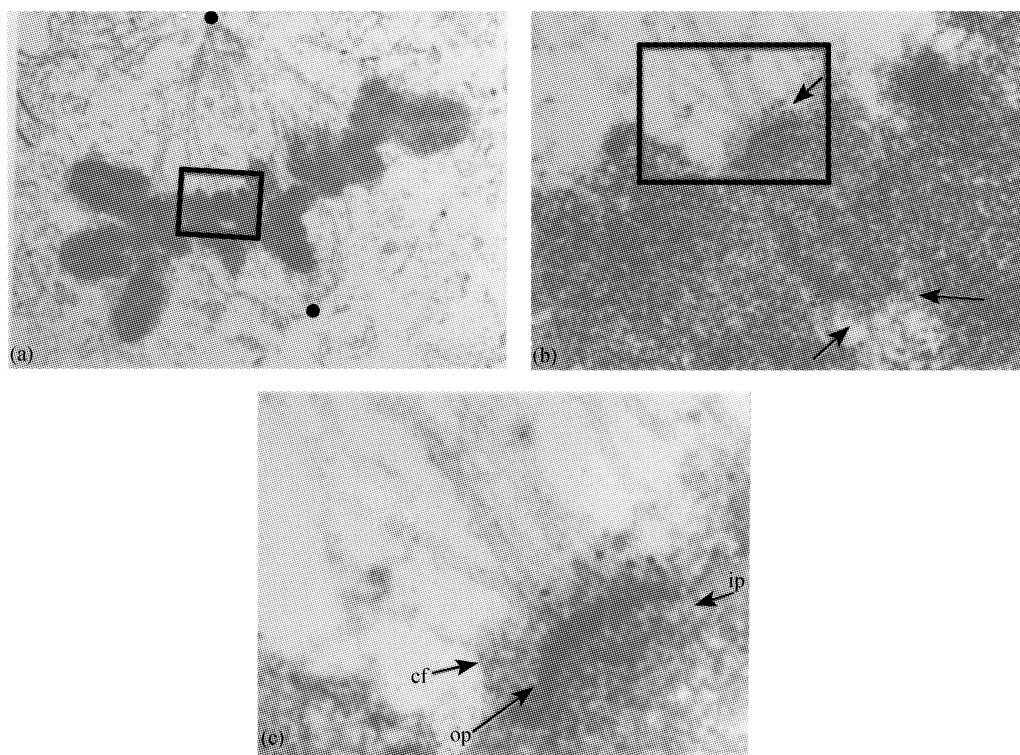


图 1 中期染色体上 CENP-E 的定位

在中期染色体上, CENP-E 沿着纺锤体微管从动粒外层发生. (a) 有丝分裂中期 HeLa 细胞中, 纺锤体极赤道板上排列的染色体(3000 \times). 圆点示中心体(centrosome). (b) 有丝分裂中期染色体的放大图像(35000 \times). 表明纺锤体微管实际上与一个 3 层结构的动粒相连. 箭头所示为 10 nm 的金颗粒定位于每个姐妹染色单体的动粒上. (c) 有丝分裂中期染色体的高倍放大图像(80000 \times), 示 CENP-E 定位于动粒的纤维冠. op 示外层, ip 示内层, cf 示纤维冠

体的运动和维持纺锤体检验点对染色体分离的时空调节性.

2 纺锤体检验点及其功能

纺锤体检验点是存在于动粒上的一个高度保守的有丝分裂监督系统. 它确保了染色体的聚集、定位以及姐妹染色质分离过程的时空可调性. 只有当染色体全部正确地排列到赤道板(equator)后, 细胞分裂后期才开始发生^[4].

纺锤体检验点在细胞中有多种功能. 首先它是一个监督系统, 监督纺锤体以及双极染色体黏附的状态. 如果存在问题, 将会引发级联反应抑制 APC/C(anaphase-promoting complex/cyclosome)的功能, 通过阻断靶蛋白的降解及姐妹染色单体连接蛋白的裂解最终阻断细胞分裂中期至后期的进行, 使细胞周期停滞在姐妹染色单体分离之前^[5]. 纺锤体检

验点可以感受到多种缺陷, 如纺锤体的去聚合, 大量小染色体和双着丝粒染色体的存在和纺锤体极体、微管、动粒蛋白、着丝粒 DNA 及微管马达的缺陷等, 从而启动细胞自身修复机制^[6]. 如果缺陷超出细胞的修复能力, 此时细胞会走向凋亡(apoptosis), 以保证机体组织的健康. 但是当纺锤体检验点出现故障时, 缺陷细胞将继续繁殖并最终导致细胞癌变.

2.1 纺锤体检验点的生物化学组分

从酵母和真核生物中, 人们发现了纺锤体检验点的多种组分, 包括 Mad 家族(Mad 1, 2, 3), Bub 家族(Bub1, 2, 3), Mps1 和 Cdc55 (cell division cycle 55)等.

纺锤体检验点信号传导主要通过两个蛋白激酶, 即 Mps1 和 Bub1/BubR1 来调控. 过量的 Mps1 将会阻滞细胞周期的进行, 这种阻滞依赖于所有 Mad/Bub 基因的正常作用, 揭示 Mps1 在 Mad/Bub 的上游^[7].

当细胞进入有丝分裂时, Bub1/BubR1 自身也被磷酸化. 我们近期的研究发现, 动粒马达蛋白 CENP-E 与 BubR1 相互作用, 并参与将纺锤体微管黏附到动粒和介入有丝分裂调控点的作用^[8]. 但是迄今为止, 人们对 Bub1/BubR1 的自身磷酸化及其功能调节知之甚少. 随着对纺锤体检验点研究的深入, 我们相信, Bub1/BubR1 信号转导途径的“网络语言”将被剖析.

2.2 纺锤体检验点的感应器及作用途径

纺锤体检验点感应器可感知“自由”的微管蛋白的数量、微管组织中心的功能、纺锤体的双极性、微管缺陷、动粒蛋白的缺陷、着丝粒 DNA 或微管马达的缺陷和微管黏附到动粒上或者由于黏附到双极纺锤体而在动粒上产生的张力. 由于感受器感知信号的不同, 目前认为有两种作用模式造成了纺锤体检验点的激活. 一种模式是“张力模式”, 认为动粒上张力的丧失激活了纺锤体检验点. 实验者用玻璃针对进入减数分裂期的蝗虫精母细胞进行显微操作. 当用玻璃针对单极黏附的染色体未黏附极施力时, 分裂途径正常进行^[9]. 另一种模式是“黏附模式”, 认为未被微管“占有”的动粒激活了纺锤体检验点. 研究人员用激光破坏了哺乳动物细胞有丝分裂细胞中的最后一个未被“占据”的动粒后, 这些细胞即进入了后期, 尽管染色体上仍没有张力存在^[10]. 大量实验表明, 细胞中这两种作用模式可能同时并存, 可能“张力模式”在减数分裂期中起主导作用, 而“黏附模式”在有丝分裂期中起决定性作用. 最新报道认为, 哺乳动物细胞 Mad2 和 Bub1/BubR1 识别不同的模式, Mad2 识别的是“黏附模式”, 而 Bub1/BubR1 识别的是“张力模式”^[11]. 我们认为, 它们可能在有丝分裂期中不同的时段分别起作用. Mad2 可能是于分裂中期前, 在一部分动粒未黏附上微管时起作用, 其功能可能是确保纺锤体捕获所有的染色体; 而 Bub1/BubR1 可能在染色体黏附纺锤体丝后起作用, 以确保染色体正确排列, 为姐妹染色单体分离奠定物质基础.

2.3 纺锤体检验点的转导器

Angelika 等人^[12]描述了纺锤体检验点的一个信号转导的模式. 他们认为, Bub1 和 Mps1 位于纺锤体检验点途径的最上游, 并且, 它们的功能存在着相互

依赖性. 由于 Mps1 磷酸化 Mad1 时, 需要 Bub1, Bub3 和 Mad2 的存在, 但不需要 Mad3 和 Bub2 的存在, 所以在信号级联中, Bub1, Bub3 和 Mad2 在 Mad1 的上游发挥作用, 而 Mad3 或 Bub2 则是在 Mad1 的下游或以平行于磷酸化的 Mad1 的方式发挥作用^[13]. 最终, 所有的检验点组分都通过 APC/C 而发挥作用.

Mad1, Mad2, Mad3 及 Bub1, Bub2, Bub3 并不是酵母生长必要基因, 但它们的突变体逃脱微管抑制剂导致了非正常的有丝分裂过程. Mad 和 Bub 突变体存在时, 染色体丢失的速率会有所增加. 事实上, Bub1/BubR1 的突变体亦显示了自发的染色体不稳定性, 这说明了它们可能参与了癌症的发生.

2.4 纺锤体检验点的效应器

近年来, 关于纺锤体依赖性细胞周期停滞的机理已取得了较大的进展. 从中期到后期的转变受控于泛素(ubiquitin)E3 连接酶 APC/C 介导的一类特异蛋白的水解, 其底物包括周期蛋白 B(周期蛋白 B 的降解导致了 MPF 失活从而使细胞脱离 M 期进入 G1 期). 裂殖酵母中 Cut2(securine homologue in fission yeast)和芽生酵母的 Pds1p(securine homologue in budding yeast)也是 APC 重要的两个靶点, 它们的降解使姐妹染色单体得以分离. 这些靶点的降解需要辅助因子. 其中, Cdc20 辅助 APC 降解 Pds1, Cdh1/Hct1(E-cadherin in human/yeast, APC/C 的激活子)辅助 APC 降解了周期蛋白 B.

有人认为, Pds1 可能是纺锤体检验点的效应器. 1998 年, Ciosk 等人^[14]的实验表明, Pds1 会结合后期起始蛋白 Esp1(separase in budding yeast), 形成一个非活性的复合物. Unlmann 等人^[15]的实验表明, Esp1 直接导致了 Scc1/Mcd1 的蛋白水解. Scc1/Mcd1 是黏合素(cohesin)的一个组分, 其蛋白水解导致了姐妹染色单体的分离. 事实上, 这也说明了 Pds1 调控姐妹染色单体分离的机制. 同时, Cohen 等人^[16]的实验表明, Pds1 不仅结合了 Esp1, 也抑制了 Cdh1 的去磷酸化. 从而解释了 Bub/Mad 途径如何调控了细胞周期中两个时期的转变(即 M→A 的转变及 M 期向细胞间期的转变).

另一个值得一提的基因是 CDC55. Mad 和 Bub 突变体可逃避微管抑制剂的抑制信号, 在染色体不具备分离的条件下过早进入有丝分裂后期从而导致

了染色体不均等分配、丢失等不稳定性表型,而 CDC55 突变体却不是这样,它在 nocodazole (一种微管抑制剂)存在的情况下,通过抑制 Cdc28 激酶的活性,仍允许姐妹染色单体的分离.因此, Cdc28 的失活可能是允许姐妹染色单体分离的另一条途径.

2.5 纺锤体检验点对细胞周期转变的抑制

纺锤体检验点共抑制两个细胞周期转换点,一个是 有丝分裂中期向后期的转变,另一个是有丝分裂期向细胞间期的转变.前者以姐妹染色单体的分离为特征,而后者以 CDK-cdc28 激酶活性的丧失为特征.这两个过程都受控于泛素介导的蛋白水解,调控的中心泛素连接酶是 APC/C.在中期向后期的转变过程中,APC/C 和 Cdc20p 降解了 Pds1p,而在脱离有丝分裂期的过程中, Cdh1p/Hct1p 降解了细胞周期蛋白 B (Clb2p).

3 染色体的不稳定性

3.1 染色体不稳定性与癌症发生的关系

经历了一个多世纪的发展,我们对于癌症的发生已经有了一定的认识^[17].早在 1914 年,德国科学家 Theodor Boveri 就认为恶性细胞有着不稳定的染色体,这些不稳定的染色体导致了癌症细胞的产生.1970 年以后,随着显微技术和染色技术的逐步提高,区分染色体成为可能.研究人员将正常细胞和癌症细胞的染色体做了对比后发现^[18],肿瘤的染色体经常发生断裂,有的断裂片段黏附到其他的染色体上,出现了染色体易位及重复染色体.目前人们认为,染色体组的动力学常在癌症的发生中起着重要的作用.

种种迹象表明,人类肿瘤的发生是一个多步骤的过程.这些发生的步骤都反映了遗传的变异性,使得正常细胞逐步转变为高度恶性的肿瘤细胞.

大部分甚至是全部的人类癌症细胞都具有 6 大特征^[19],即生长信号的自给自足、对抗生长信号的不敏感性、侵犯细胞的正常凋亡途径、无限增殖的能力、刺激新生血管的发生和肿瘤的浸润性和转移性.大量的证据表明,癌细胞具有的这 6 种特征都可通过细胞染色体组变化而直接或间接获得.

癌症发生的机理还很不清楚,目前有非整倍性

(aneuploidy)和基因突变(gene mutation)两种假说.近一个世纪以来,人们普遍认为,癌症的发生是因为体细胞突变造成,但突变是由非整倍性造成还是基因突变造成尚不清楚.目前认为,非整倍性可能促进了肿瘤的发生过程或通过使肿瘤抑制基因功能丧失从而易化了肿瘤的发展.1998 年, Duesberg 等人^[20]提出了非整倍性导致癌症发生的假说.他们的试验表明,非整倍性可以独立于基因突变而导致癌症的发生.2000 年, Li 等人^[21]提出了非整倍性导致癌症发生的两步假说.他们认为非整倍性导致癌症发生有两个步骤:首先,致癌剂通过化学或物理的途径改变了纺锤体装置及染色体上的一种或多种蛋白,从而诱发了非整倍性的发生,这点已为诸多的实验所证实^[22,23].此外,基因毒致癌剂亦可通过突变有丝分裂期基因改变其功能从而导致非整倍性^[24].第二步,非整倍性使染色体组型不稳定,从而引发了自身催化性的染色体组型的演化.这步过程中可以产生致死性的、癌前性的及癌性的染色体组型^[20, 22, 25, 26].染色体组型不稳定是由于非整倍性对纺锤体“施压”的结果.非整倍性与多种因素有关,如动粒蛋白功能变异、纺锤体蛋白和染色体蛋白的异常比率及中心体结构异常和数目增加等.

正常情况下,中心体(centrosome)循环起始于 G1 期,此时每个新的子细胞仅接受了单个中心体.随着细胞周期向 S 期的行进中心体复制,两个相同但处于相对位置的中心体在 G2 期形成纺锤体相对的两极.在特定的细胞周期中,中心体只能分裂一次.中心粒复制的过程涉及到一些丝氨酸/苏氨酸激酶,如周期蛋白依赖性激酶(cyclin-dependent kinases, CDK)和 aurora-Ipl 类激酶^[27,28].肿瘤抑制基因 P53 失活^[29, 30]和乳腺癌扩增激酶(breast-tumour-amplified kinase, BTAK/aurora 2)^[31,32]的过量表达会在单个细胞周期中启动多个中心体的复制.另外,胞质分裂过程中的缺陷及两个或多个细胞的融合亦可导致多个中心体的产生.

中心体数目过多会引起多极纺锤体的形成,使有丝分裂过程出错,从而直接导致染色体非整倍性的发生.在上述情况中,大部分正常的子细胞会发生凋亡(apoptosis),但也有个别的子细胞在其分裂调控机理紊乱时会存活下来,通过“克隆选择”途径,发

展成非整倍性的肿瘤细胞^[33]。这从另一方面证实了非整倍性是导致癌症发生的一个重要途径。

3.2 染色体不稳定性表现

染色体不稳定性包括两个方面,即染色体数目的改变和染色体位置的改变^[34]。

(i) 染色体数目的改变。染色体数目的改变即非整倍性(丢失或获得了整条染色体),几乎所有主要的人类肿瘤类型中都可以见到这种变化。核型研究表明,大部分癌症细胞都丢失或获得了染色体。例如,在恶性胶质细胞瘤中,第 10 条染色体丢失^[35],在肾乳头瘤中,第 7 条染色体丢失^[36]。分子水平上的研究认为,核型的研究还低估了实际发生变化的数目,如它未把杂合性的丢失计算在内。杂合性的丢失是指丢失了父本或母本的等位基因,但是获得了对方的等位基因。这在癌症的发生中亦很常见,例如,在结肠癌、乳腺癌、胰腺癌以及前列腺癌中,都可能丢失了 25% 的等位基因。而在有的肿瘤中,还存在着丢失了过半的等位基因的情况。

有两个实验证明了在肿瘤发生过程中染色体数目变化所起的作用。一个是原位荧光杂交的实验,结果表明,在非整倍性结肠癌细胞株中,染色体丢失或获得的概率是同一组织亚型正常细胞的 10~100 倍^[37],另一个实验结果是,高效错配修复(MMR(mismatch repair)-proficient)结肠癌细胞标记物杂合性丢失率是错配修复缺陷(MMR-deficient)细胞的 10 倍^[38]。

(ii) 染色体易位。从细胞遗传学水平上,可以看到染色体易位有两种形式,即不同染色体之间的融合和单条染色体非毗邻片段之间的融合。就分子水平而言,染色体易位导致了两种不同基因之间的融合,产生了有肿瘤特性的转录物。例如,在慢性粒细胞白血病中,第 9 条染色体上的 *c-abl* 基因的 3' 端与第 22 条染色体 *BCR* 基因的 5' 端结合^[39]。

人类癌症中的染色体易位有两种类型。一种类型(复杂型)多见于实体肿瘤细胞,可导致染色体物质的丢失和获得以及新基因产物的产生,与染色体数目的改变有些相似。其分子机理尚不清楚,但有一种可能是这些细胞在重组启动的双链断裂修复之前就进入了有丝分裂期。介导这种“易位不稳定性”的基因有 *ATM*, *ATR*, *BRCA1*, *BRCA2* 及 *P53* 等。另一种易位类型(简单型)发生在一些特异性的癌症中,易位的

染色体常发生在相同的染色体片段上,可凭借它们的核型来给这些肿瘤分类及估计治疗后的存活率和治愈率。这种染色体易位激活了原癌基因,多见于白血病、淋巴瘤、一些肉瘤和其他罕见的肿瘤中。

现在研究得比较清楚的是急性早幼粒细胞白血病(acute promyelocytic leukemia, APL)。APL 是一种由染色体易位导致的疾病,其第 17 条染色体上的视黄酸受体 α (*RAR α*)与不同染色体上的不同基因融合后导致了疾病的发生。99% 病例的发生都是这个原因。另外的病例中,有 3 种发生机理:(1) *RAR α* 易位到第 11 条染色体上,与 *PLZF* 基因融合;(2) *RAR α* 易位到第 5 条染色体上,与 *NPM* 基因融合;(3) *RAR α* 与 *NuMA* (nuclear mitotic apparatus protein) 基因融合^[40]。*NuMA* 是一个核蛋白,有丝分裂期纺锤体的一个组分^[41],参与有丝分裂中中心体的功能^[42]。它参与 APL 发病的机理证明了有丝分裂器中的组分在人类恶性肿瘤细胞发生的分子发病机制中起着重要作用^[43]。

此外, *BCL2* 基因和 *MYC* 基因也是通过染色体易位而导致非霍奇金白血病(non-Hodgkin's)的发生的^[44]。

3.3 染色体不稳定性分子基础

染色体不稳定性的详尽分子基础目前还不十分清楚。但有实验表明,纺锤体检验点在使姐妹染色单体正确分离的同时,阻止染色体不稳定性的发生^[45]。最近的一篇报道亦表明了纺锤体检验点蛋白 *Mad2* 在染色体不稳定性及癌症发生中的作用^[46]。在酵母细胞中,纺锤体检验点蛋白的基因破坏导致染色体不稳定性的发生,此时即使有滞后染色体存在,检验点缺陷的细胞依然可以进行有丝分裂,使不成熟的及不正常的染色体分离,最终导致染色体不稳定性的发生。首先,一些非整倍型细胞,而不是二倍体细胞,对纺锤体破坏因子,如秋水仙碱的反应异常。它们并不是停留在中期,而是提前进入后期,进行下一轮的 DNA 合成。第二,在人类癌症中,已经有大量的实验表明,纺锤体检验点蛋白基因的表达异常可导致癌症的发生。例如,在乳腺癌中, *Mad2* 基因低表达;人类结肠癌中, *Bub1* 或 *BubR1* 的基因突变可能造成其功能失活^[47]。又如, *Mad1* 基因功能的丧失导致了人类 T 细胞白血病的发生^[48]。亦有人认为,染色体不稳定性增加了肿瘤抑制因子基因丧失的概率从而导致

细胞生长调控失灵。

另外,除了纺锤体检验点功能失常导致了染色体不稳定性发生之外,端粒酶的功能异常在一定程度上也可导致染色体不稳定性发生^[49]。

4 研究展望

数十年前,人们还认为,动粒这个结构除了把有丝分裂期染色体机械地黏附到微管上外,没有其他的生物学意义。但最近研究发现,动粒是一个有重要生物学调节功能的动态结构。尽管如此,我们对动粒及其纺锤体检验点机理的研究还只是刚刚开始。检验点的失调如何导致癌症的发生机理也远未阐明。展现在我们眼前的是一片扑朔迷离的现象,有很多问题需要我们去解决。例如,以前的观点认为,有丝分裂期的停滞是因为纺锤体检验点途径中的Mad2蛋白螯合了Cdc20蛋白,Cdc20是后期启动复合物APC的激活因子。Mad2通过螯合Cdc20从而抑制了APC的活性,造成细胞周期的停滞^[50]。而最新研究则认为,纺锤体检验点途径中的另一个蛋白激酶BubR1可以不通过Mad2而抑制APC^{cdc20}的活性^[51]。Bub1是一个蛋白激酶,在磷酸化纺锤体检验点途径中的一些蛋白^[52]以及激活纺锤体检验点过程中^[53]都有重要的作用,与细胞增殖过程也密切相关^[54]。而近期的研究表明,Bub1蛋白为Mad1, Mad2, Bub3和CENP-E蛋白定位所必需,且这种作用不依赖于Bub1的激酶活性^[55]。同样的,蛋白激酶BubR1抑制APC^{cdc20}的功能亦不依赖于其激酶活性^[51]。从分子水平阐明纺锤体检验点的信号传导机理有赖于对动粒蛋白质各组分生化功能的了解。我们实验室正以亲和色谱与质谱联用的方法在蛋白质水平阐明纺锤体检验点缺失与染色体不稳定性相关性。比较正常与癌症细胞生长调控蛋白功能及其活性,并观察这些检验点相关基因的功能改变对实时细胞分裂期染色体运动的影响,我们相信,在不久的将来,纺锤体检验点的分子机理将被阐明,人们将能够有效调控细胞生长与健康,人类健康的“头号杀手”——癌症将被彻底征服。

致谢 本工作由国家杰出青年科学基金(批准号:39925018)和中国科学院知识创新工程(批准号:KSCX 2-2-01)资助项目。

参 考 文 献

- Nicklas R B. How cells get the right chromosome. *Science*, 1997, 275: 632~637
- Yao X, Anderson K L, Cleveland D W. The microtubule-dependent motor centromere-associated protein E(CENP-E) is an integral component of kinetochore corona fibers that link centromeres to spindle microtubules. *J Cell Biol*, 1997, 139: 435~447
- Rieder C L, Salmon E D. The vertebrate cell kinetochore and its roles during mitosis. *Trends Cell Biol*, 1998, 8: 310~318
- Gardner R D, Burke D J. The spindle checkpoint: Two transitions, two pathways. *Trends Cell Biol*, 2000, 10: 154~158
- Hardwick K G. The spindle assembly checkpoint. *Trends Genetics*, 1997, 14: 1340~1343
- Rudner A D, Murray A W. The spindle assembly checkpoint. *Curr Opin Cell Biol*, 1996, 8: 773~780
- Hardwick K G, Weiss E, Luca F C, et al. Activation of the budding yeast spindle assembly checkpoint without mitotic spindle disruption. *Science*, 1996, 273: 953~956
- Yao X, Abrieu A, Zheng Y, et al. CENP-E forms a link between attachment of spindle microtubules to kinetochores and the mitotic checkpoint. *Nature Cell Biology*, 2000, 2: 484~491
- Li X, Nicklas R B. Mitotic forces control a cell-cycle checkpoint. *Nature*, 1995, 373: 630~632
- Reider C L, Cole R W, Khodjakov A, et al. The checkpoint delaying anaphase in response to chromosome monoorientation is mediated by an inhibitory signal produced by unattached kinetochores. *J Cell Biol*, 1995, 130: 941~948
- Skoufias D A, Andreassen P R, Lacroix F B, et al. Mammalian mad2 and bub1/bubR1 recognize distinct spindle-attachment and kinetochore-tension checkpoints. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, 98: 4492~4497
- Angelika A. The spindle checkpoint. *Curr Opin Cell Biol*, 1999, 9: 69~75
- Hardwick K G, Weiss E, Luca F, et al. Activation of the budding yeast spindle assemble checkpoint without mitotic spindle disruption. *Science*, 1996, 273: 953~956
- Ciosk R, Zachariae W, Michaelis C, et al. An ESP1/PDS1 complex regulates loss of sister chromatid cohesin at the metaphase to anaphase transition in yeast. *Cell*, 1998, 93: 1067~1076
- Unlmann F, Lottspeich F, Nasmyth K. Sister-chromatid separation at anaphase onset is promoted by cleavage of the cohesin subunit Scc1. *Nature*, 1999, 400: 37~42
- Cohen F O, Koshland O. Pds1p of budding yeast has dual roles: Inhibition of anaphase initiation and regulation of mitotic exit. *Genes Dev*, 1999, 13: 1950~1959
- Elledge S J. Cell cycle checkpoints: Preventing an identity crisis. *Science*, 1996, 271: 1664~1671
- Cavenee W K, White R L. The genetic basis of cancer. *Scientific American*, 1995, 25: 50~58
- Hanahan D, Weinberg R A. The hallmarks of cancer. *Cell*, 2000,

- 100: 57~70
- 20 Duesberg P, Rausch C, Rasnick D, et al. Genetic instability of cancer cells is proportional to their degree of aneuploidy. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, 95: 13692~13697
- 21 Li R, Sonik A, Stindl R, et al. Aneuploidy vs gene mutation hypothesis of cancer: Recent study claims mutation but is found to support aneuploidy. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, 28: 3236~3241
- 22 Li R, Yerganian G, Duesberg P, et al. Aneuploidy correlated 100% with chemical transformation of Chinese hamster cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1997, 94: 14506~14511
- 23 Duesberg P, Li R, Rasnick D, et al. Aneuploidy proceeds and segregates with chemical carcinogenesis. *Cancer Genet Cytogenet*, 2000, 119: 83~93
- 24 Cahill D P, Kinzler K W, Vogelstein B, et al. Genetic instability and Darwinian selection in tumours. *Trends Cell Biol*, 1999, 9: M57~M60
- 25 Rasnick D, Duesberg P H. How aneuploidy affects metabolic control and causes cancer. *Biochem J*, 1999, 340: 621~630
- 26 Duesberg P. Are centrosomes or aneuploidy the key to cancer. *Science*, 1999, 284: 2091~2092
- 27 Mussman J G, Horn H F, Carroll P E, et al. Synergistic induction of centrosomes hyperamplification by loss of p53 and cyclin E overexpression. *Oncogene*, 2000, 19: 1635~1646
- 28 Goepfert T M, Brinkley B R. The centrosome-associated aurora/Ipl kinase family. *Curr Top Dev Biol*, 2000, 49: 331~342
- 29 Fukasawa K, Choi T, Kuriyama R, et al. Abnormal centrosome amplification in the absence of p53. *Science*, 1996, 271: 1744~1747
- 30 Wang X J, Greenhalgh D A, Jiang A, et al. Expression of a p53 mutant in the epidermis of transgenic mice accelerates chemical carcinogenesis. *Oncogene*, 1998, 17: 35~45
- 31 Zhou H, Kuang J, Zhong L, et al. Tumor amplified kinase STK15/BTAK induces centrosome amplification aneuploidy and transformation. *Nat Genet*, 1998, 20: 189~193
- 32 Bischoff J R, Anderson L, Zhu Y, et al. A homologue of *Drosophila aurora* kinase is oncogenic and amplified in human colorectal cancers. *EMBO J*, 1998, 17: 3052~3065
- 33 Brinkley B R. Managing the centrosome numbers game: From chaos to stability in cancer cell division. *Trends in Cell Biology*, 2001, 11: 18~21
- 34 Lengauer C, Kinzler K W, Vogelstein B. Genetics instability in human cancers. *Nature*, 1998, 396: 643~649
- 35 Wang S I, Puc J, Li J, et al. Somatic mutations of PTEN in glioblastoma multiforme. *Cancer Res*, 1997, 57: 4183~4186
- 36 Zhuang Z, Park W S, Pack S, et al. Trisomy 7-harboring non-random duplication of the mutant MEL allele in hereditary papillary renal carcinomas. *Nature Genet*, 1998, 20: 66~69
- 37 Lengauer C, Kinzler K W, Vogelstein B. Genetic instability in colorectal cancers. *Nature*, 1997, 386: 623~627
- 38 Phear G, Bhattacharyya N P, Meuth M. Loss of heterozygosity and base substitution at the APRT locus in mismatch-repair-proficient and -deficient colorectal carcinoma cell lines. *Mol Cell Biol*, 1996, 16: 6516~6523
- 39 Nowell P C. Genetic alterations in leukemias and lymphomas: Impressive progress and continuing complexity. *Cancer Genet Cytogenet*, 1997, 94: 13~19
- 40 Kalantry S, Delva L, Gaboli M, et al. Gene rearrangements in the molecular pathogenesis of acute promyelocytic leukemia. *J Cell Physiol*, 1997, 173: 288~296
- 41 Dionne M A, Howard L, Compton D A, et al. NuMA is a component of an insoluble matrix at mitotic spindle poles. *Cell Motil Cytoskeleton*, 1999, 42: 189~203
- 42 Zeng C. NuMA: A nuclear protein involved in mitotic centrosome function. *Microsc Res Tech*, 2000, 49: 467~477
- 43 Wells R A, Catzavelos C, Kamel-Reid S. Fusion of retinoic acid receptor alpha to NuMA, the nuclear mitotic apparatus protein, by a variant translocation in acute promyelocytic leukemia. *Nat Genet*, 1997, 17: 109~113
- 44 Murty V V, Ladanyi M, Houldsworth J, et al. Analysis of BCL2 and MYC expression in non-Hodgkin's lymphomas by *in situ* hybridization: Correlation with chromosome translocations. *Diagn Mol Pathol*, 1992, 1: 221~228
- 45 Orr-Weaver T L, Weinberg R A. A checkpoint on the road to cancer. *Nature*, 1998, 392: 223~224
- 46 Michel L S, Liberal V, Chatterjee A, et al. MAD2 haplo-insufficiency causes premature anaphase and chromosome instability in mammalian cells. *Nature*, 2001, 409: 355~359
- 47 Cahill L D P, Lengauer C, Yu J, et al. Mutations of mitotic checkpoint genes in human cancers. *Nature*, 1998, 392: 300~303
- 48 Jin D, Spencer F, Jeang K T, et al. Human T cell leukemia virus type I oncoprotein tax targets the human mitotic checkpoint Protein Mad1. *Cell*, 1998, 93: 81~91
- 49 Hanahan D. Benefits of bad telomeres. *Nature*, 2000, 406: 573~574
- 50 Luo X, Fang G, Coldiron M, et al. Structure of the Mad2 spindle assembly checkpoint protein and its interaction with Cdc20. *Nat Struct Biol*, 2000, 7: 224~229
- 51 Tang Z Y, Bharadway R, Li B, et al. Mad2-independent inhibition of APC^{cdc20} by the mitotic checkpoint protein BubR1. *Developmental Cell*, 2001, 1: 227~237
- 52 Seeley T W, Wang L, Zhen J Y, et al. Phosphorylation of human Mad1 by the Bub1 kinase *in vitro*. *Biochem Biophys Res Commun*, 1999, 257: 589~595
- 53 Free K A, Hoyt M A. Bub1p kinase activates the *Saccharomyces cerevisiae* spindle assembly checkpoint. *Mol Cell Biol*, 1998, 5: 2738~2743
- 54 Ouyang B, Lan Z, Pan H, et al. Human Bub1: A putative spindle checkpoint kinase closely linked to cell proliferation. *Cell Growth Differ*, 1998, 9: 877~885
- 55 Baker H S, Chen R H. Spindle checkpoint protein Bub1 is required for kinetochore localization of Mad1, Mad2, Bub3 and CENP-E, independently of its kinase activity. *J Cell Biol*, 2001, 153: 1239~1250

(2001-09-12 收稿, 2001-11-26 收修改稿)