

着丝粒及其在减数分裂中的作用研究进展

张 峰¹, 林 娟², 赵 军^{1*}

1. 上海师范大学生命与环境科学学院, 上海 200234;

2. 复旦大学遗传工程国家重点实验室, 生命科学学院植物研究所, 上海 200433

摘 要: 着丝粒作为真核生物染色体的重要结构之一,是有丝分裂和减数分裂过程中重要的功能元件,其所起到的重要作用越来越受到人们的重视。在整个真核生物类群中,尽管不同物种之间着丝粒的 DNA 序列相差极大,但是其功能却是相当保守,这确保了着丝粒在调控细胞分裂和染色单体分离过程中能够正常行使其功能,除此之外,人们还发现着丝粒蛋白不仅在细胞的有丝分裂中起作用,还在减数分裂中起着重要的作用。

关键词: 着丝粒;减数分裂;着丝粒 DNA;着丝粒蛋白质

DOI:10.3969/j.issn.2095-2341.2013.04.01

Advance in Research of Centromeres in the Meiotic Process

ZHANG Feng¹, LIN Juan², ZHAO Jun^{1*}

1. Shanghai Normal University, College of Life and Environmental Sciences, Shanghai 200234, China;

2. State Key Laboratory of Genetic Engineering, School of Life Sciences, Institute of Plant Research, Fudan University, Shanghai 200433, China

Abstract: Centromeres are the important functional elements of chromosomes in eukaryotes, their roles played in mitosis and meiosis processes have been paid more and more attentions. Though the chromosomes vary greatly in DNA sequences, their roles are conserved in all eukaryotic organisms, which make sure the faithful segregation of chromosomes and correct cell division. With the continuous development of molecular biology techniques, we have a deep understanding of the functions of centromeres. Here we review the function of centromeres during the meiotic progress.

Key words: centromere; meiosis; centromeric DNA; CENPs; shugoshin

着丝粒 (centromere) 是真核生物细胞在进行有丝分裂 (mitosis) 和减数分裂 (meiosis) 时,染色体分离的一种“装置”,这种“装置”在染色体的形态上表现为一个缢痕 (constriction),在分子结构上是一种 DNA-蛋白质复合体,是细胞分裂中期联系染色单体的一个特殊部位。着丝粒的位置在每个细胞周期以及细胞分裂的各个世代之间,都保持不变,并能够稳定遗传。着丝粒可以附着纺锤丝,其主要作用是使复制的染色体在有丝分裂和减数分裂中均等地分配到子细胞中。近年还发现着丝粒在减数分裂中具有特殊的功能,这一功能使得我们对减数分裂过程有了新的认识,本文针对近年来着丝粒在减数分裂中的研究进行了

概述。

1 着丝粒的结构与基本功能

着丝粒的基本结构可划分为两大类。第一类着丝粒包括三个结构域:着丝点结构域 (kinetochore domain)、中心结构域 (central domain) 和配对结构域 (paring domain)。着丝点又称动粒 (kinetochore),是指染色体主缢痕处两个染色单体外侧表层部位的特殊蛋白质结构,能够使着丝粒 DNA 附着纺锤丝^[1],从内向外分为内层、中板、外层和纤维冠状层。在染色体开始凝集要进入分裂期时,外层开始装配,在染色体分离之后外层解

收稿日期:2013-03-27; 接受日期:2013-06-14

基金项目:上海师范大学创新研究项目 (DYL201102); 国家 973 计划项目 (2011CB944602) 资助。

作者简介:张 峰,硕士研究生,研究方向为植物分子生物学。* 通讯作者:赵 军,副教授,博士,研究方向为植物资源与环境。E-mail: zhaojun@shnu.edu.cn

装配;内层由着丝粒染色质和基本蛋白质组成,在细胞周期中一直与着丝粒 DNA 相连^[2,3]。着丝点的主要功能包括介导染色体与纺锤丝微管之间的相互作用;提供染色体运动的动力使分裂期染色体向两极迁移;产生分裂期关卡信号,在所有染色体正确排列在赤道板上之前抑制后期开始。

第二类着丝粒包括一个核心区域以及两侧的周缘着丝粒异染色质结构域。核心区域具有着丝粒组蛋白 H3 (centromeric histone H3, CenH3),且

与着丝点相关联。这种结构形式存在于除酿酒酵母之外的所有真核生物中,如哺乳动物^[4]、粟酒裂殖酵母^[5]以及黑腹果蝇^[6]等。核心区域和周缘着丝粒异染色质结构域具有不同的结构和功能。周缘着丝粒异染色质结构域具有很多功能,其最主要的功能就是聚集粘着蛋白使染色单体维持粘合直到后期分离开始^[7],此外还可以在着丝粒与常染色质之间起到隔离作用。此类着丝粒结构图如图 1。

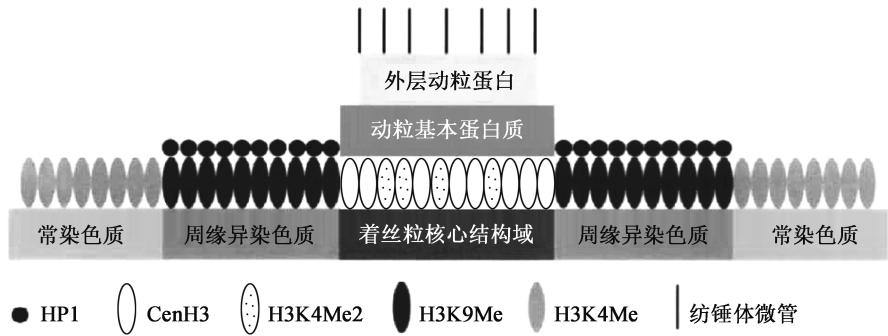


图 1 中期染色体着丝粒结构模式图^[8]

Fig. 1 The structure model of centromere at metaphase chromosome^[8].

2 着丝粒 DNA

着丝粒 DNA (centromere DNA, CEN-DNA) 的主要构成元素包括卫星 DNA 和中度重复 DNA, 这一现象已在许多模式生物中被证实。其中卫星 DNA 序列是着丝粒的主要 DNA 序列, 着丝粒大多都位于高度重复的卫星 DNA 序列中。针对着丝粒功能在真核生物中的高度保守性, 人们试图寻找着丝粒序列中的保守序列或者共同结构。通过对一系列动植物模式生物着丝粒 DNA 的研究表明, 着丝粒 DNA 序列中不存在对其功能高度专一的保守序列; 而且不同物种之间的着丝粒 DNA 序列差异很大^[9,10], 研究证实基因转换加速了着丝粒的进化, 而这主要是通过促进染色体序列之间的交换完成的^[11]。同一物种同源染色体之间着丝粒卫星 DNA 序列是保守的, 但数量上存在较大差异, 这一现象与减数分裂的驱动 (meiotic drive) 机制相关^[9,12]。

减数分裂驱动是指在减数分裂中由于同源染色体的不等分离所引起群体遗传结构发生变化的综合机制。这种机制能够使得某些染色体由于基因、着丝粒或者染色体本身特殊结构的作用使其

在传给后代的过程中更具有竞争优势, 是一种不同于分离定律的竞争机制。例如, 在雌性细胞减数分裂中, 由于着丝粒中卫星 DNA 序列重复单位的数目不同以及与不同蛋白质结合能力的差别, 造成着丝粒 DNA 与纺锤丝之间亲和力不同, 结合能力最强的就最有可能最先到达雌配子细胞中。在雄性细胞减数分裂中虽然 4 个子细胞都能够存活, 但是着丝粒 DNA 与纺锤丝之间结合能力的差异可能导致无效分裂的出现。同时一些着丝粒蛋白可能通过某种适应进化的机制来降低着丝粒蛋白与着丝粒 DNA 的结合能力, 以此减弱或者消除这种不平衡现象。

3 着丝粒蛋白

着丝粒蛋白 (centromere-specific proteins, CENPs) 参与形成着丝点结构域, 同时还在同源染色体配对、姐妹染色单体的复制和分离等多方面行使功能^[13]。

3.1 着丝粒蛋白的分类

着丝粒蛋白大体分为两大类: 基本蛋白和临时性蛋白。基本蛋白指在细胞分裂期一直存在于

着丝粒上,与保持着丝粒和姐妹染色单体的结构有关。在基本着丝粒蛋白中,只有 CENP-A、CENP-B 和 CENP-C 能与 DNA 相结合^[14,15]。临时性蛋白则是在细胞分裂的间期或者分裂期短暂存在于着丝粒上,与姐妹染色单体的分离以及调节有关。着丝粒蛋白中临时性蛋白占据大多数,只有少数为基本蛋白。

目前已发现人类及酵母中的着丝粒蛋白质分

别有 20 种和 60 多种^[16,17],其中装配完整着丝粒结构的 6 种基本蛋白已在很多研究过的物种中发现了它们的同源物,如表 1 中所示。在植物中目前至少已鉴定到包括 CENP-A 和 CENP-C14 在内的 14 种着丝粒蛋白。这些结果显示,与着丝粒 DNA 的快速进化不同,包括 CENP-A 和 CENP-C 在内的几种着丝粒蛋白在真核生物中是保守的^[9,10,15]。

表 1 不同生物着丝粒基本蛋白的同源物^[15]
Table 1 The homolog of centromere-specific proteins in different organisms^[15].

人类	鼠	鸡	果蝇	线虫	玉米	拟南芥	水稻	出芽酵母	裂殖酵母
CENP-A	Cenpa	CENP-A	Cid	HCP-3	CENH3	HTR12	CENH3	Cse4	Cnp1/Sim2
CENP-B	Cenpb	-	-	-	-	-	-	-	Abp1 Cbh1 Cbh2
CENP-C	Cenpc	CENP-C	-	HCP-4	CENP-C	AtCENP-C	CENP-C	Mif2	Cnp3d
CENP-H	Cenph	CENP-H	-	-	-	-	-	Nnf	Sim4
CENP-I	Cenpi	CENP-I	-	-	-	-	-	Ctf3	Mis6
hMis12	Mis12	MIS12	-	-	-	AtMis12	OsMis12	Mtw1	Mis12

注:“-”表示数据库中无同源物。

3.2 CENP-A、CENP-B 和 CENP-C

CENP-A 又称作 CENH3,是着丝粒专一的组蛋白 H3 变异型,即在有活性的着丝粒中 CENP-A 可取代组蛋白 H3^[18];这种现象在人类染色体研究中首次被发现^[19],之后在很多物种中陆续发现其同源物。众多的实验证据表明 CENP-A 在着丝点和着丝粒的装配过程中起着关键作用^[20,21],进一步的研究证实 CENP-A 的 C 端末尾在这些过程中起最主要作用^[22]。CENP-A 是着丝点的基本特征,是功能着丝粒的共同基础,可作为功能着丝粒染色质的识别标记。

CENP-B 作为着丝粒异染色质的结合蛋白,特异的与 CENP-B box,即 α -卫星 DNA 中的 17 bp DNA 单体结合,而且两者数量具有一定相关性。CENP-C 作为着丝粒的基本组分,对着丝点的正确组装和中期-后期的转换是十分重要的^[14]。

4 着丝粒在减数分裂中的功能

4.1 着丝粒功能概况

到目前为止,对于着丝粒功能的研究主要集中于通过着丝粒蛋白的作用联结染色体 DNA 与纺锤丝,为染色体的运动提供牵引作用;在细胞分

裂过程中维持染色单体之间的联结,保证有丝分裂和减数第二次分裂的染色单体或者减数第一次分裂的同源染色体的正确分离;通过着丝粒蛋白之间的相互作用调控着丝粒的组装以及细胞分裂过程中的一些关卡。

减数分裂在一次 DNA 复制之后连续经过两次细胞分裂,这种与有丝分裂的差异与着丝粒上的黏着素蛋白的分步消失有关^[23]。染色体臂上黏着素蛋白的消失以及着丝粒上黏着素蛋白的维持是同源染色体彼此分离、减数第一次分裂正常进行的前提条件,着丝粒上的黏着素蛋白会一直维持直到减数第二次分裂后期的开始。同时每对姐妹染色单体的着丝点会调整到同一极的方向,这样它们才能够与来自同一极的微管结合,从而保证减数第一次分裂正常进行^[24,25]。

近期又有研究证明着丝粒在 DNA 损伤修复中起作用,其中包括 DSB。DSB 产生之后会引发着丝粒的表观遗传方面的变化从而改变着丝点的功能进而在修复过程中起作用^[26]。

4.2 Shugoshin 蛋白结构和功能

Shugoshin 是一个着丝粒定位的蛋白,其主要功能是保证姐妹染色单体着丝粒区域的黏着素蛋白在减数第一次分裂不被降解;此蛋白在真核生

物中高度保守。Shugoshin 蛋白含有两个保守的结构域:一个是位于 N-端附近的卷曲螺旋区域,可能介导同聚体以及与其他蛋白质之间的相互作用;另一个是 C-端的碱性氨基酸区域,其对于染色体的定位是必须的^[27]。Shugoshin 蛋白通过其 N-端附近的卷曲螺旋与 phosphatase 2A (PP2A) 蛋白相互作用,通过诱发着丝粒区域黏着素蛋白的去磷酸化防止其被降解^[28~31]。

Shugoshin 蛋白首先在果蝇中发现,称为 Mei-S332 蛋白^[32],这一蛋白在果蝇中突变后会导致第一次减数分裂后期姐妹染色单体过早的分离。Mei-S332 融合的绿色荧光蛋白 (GFP) 实验显示其主要定位在减数分裂染色体的着丝粒区域,第二次减数分裂后期姐妹染色单体分离后,Mei-S332-GFP 从染色体上消失,表明该蛋白是姐妹染色单体分离所必需的^[33]。随后这一现象在很多物种中都有发现,但是其作用存在种间差异。例如在脊椎动物中的此类蛋白在有丝分裂中也起到保护着丝粒处粘连 (cohesion) 的作用^[34]。此外,在不同物种中,此类蛋白的同系物数量也不一样。在果蝇和出芽酵母中仅分别含有一个此类蛋白 (果蝇 Mei-S332 和出芽酵母 Sgo1);而在裂殖酵母、非洲爪蛙和哺乳动物中含有两个此类蛋白 (裂殖酵母 Sgo1 和 Sgo2;脊椎动物 SGOL1 和 SGOL2)。

尽管不同物种中的 Shugoshin 蛋白序列之间相似度较低,功能也有所不同,但都将这些蛋白质视为直系同源物。这些直系同源物在不同物种中的功能出现了分化,如酿酒酵母和果蝇中的研究表明,它们各自唯一的 Shugoshin 蛋白都在减数分裂 I 期保护姐妹染色单体着丝粒处的粘连;而在有丝分裂中不起作用^[35,36]。在裂殖酵母, Sgo1 是减数分裂中唯一起保护着丝粒区域的起粘连作用的蛋白,而 Sgo2 则是进化出了不同的功能^[24]。人类细胞中, SGOL1 在有丝分裂前期对着丝粒粘连的保护起着十分重要的作用,并且对哺乳动物的生长发育是必需的^[34,37];至于其是否参与减数分裂过程中着丝粒粘连的保护仍不清楚。在小鼠卵母细胞 Shugoshin 蛋白的研究中,两个独立小组得出了相反的结论:一个小组主要在研究 SGOL1 时发现其对于维持第一次减数分裂的着丝粒粘连是必需的^[38];另一个小组在分别研究了 SGOL1 和 SGOL2 后发现 SGOL1 的缺失并没有引发着丝粒粘连的降解和消除,相反的 SGOL2 对于维持第

二次减数分裂中期的姐妹染色单体着丝粒处的粘连是必需的^[37]。从酵母以及动物的研究中发现, Shugoshin 蛋白的最初功能是在减数分裂过程中保护着丝粒处的粘连; SGOL1 在有丝分裂中的功能可能是脊椎动物在后来的进化过程中获得的; SGOL2 则是减数分裂过程中保护着丝粒粘连所必需的,但在有丝分裂过程中是不必需的^[39]。最近在水稻中也发现了 Shugoshin 蛋白家族的成员 OsSGO1,通过研究发现 OsSGO1 对于维持姐妹染色单体着丝粒处的黏着以及维持联会复合体的稳定都具有十分重要的作用^[40]。

5 展望

减数分裂作为十分特殊的生物学过程,其整个过程的分子机制仍不明确;着丝粒作为染色体上一个十分重要的结构,其在减数分裂中所起的作用越来越受到人们的重视。针对着丝粒蛋白在减数分裂过程中作用的研究也将进一步加深,进一步说明了研究减数分裂过程中着丝粒作用的重要意义。虽然已经取得了一些成果,但是仍然有很多亟待解决的问题,比如就目前人们对于着丝粒的研究和认识还不能够很好的解释着丝粒的生物学功能;着丝粒在细胞周期以及其他生命活动中起着什么样的作用仍不明确;相对于其保守的功能,着丝粒 DNA 序列的快速进化仍然没有一个十分合理的解释;而着丝粒与表观遗传学之间的联系相信在未来将是一个新的研究热点。

参 考 文 献

- [1] Cleveland D W, Mao Y, Sullivan K F. Centromeres and kinetochores: from epigenetics to mitotic checkpoint signaling [J]. Cell, 2003, 112: 407 - 421.
- [2] Choo K H. Domain organization at the centromere and neocentromere [J]. Dev. Cell, 2001, 1: 165 - 177.
- [3] Canman J C, Sharma N, Straight A, et al.. Anaphase onset does not require the microtubule-dependent depletion of kinetochore and centromere-binding proteins [J]. J. Cell Sci., 2002, 115: 3787 - 3795.
- [4] Sugimoto K, Fukuda R, Himeno M. Centromere/kinetochore localization of human centromere protein A (CENP-A) exogenously expressed as a fusion to green fluorescent protein [J]. Cell Struct. Funct., 2000, 25: 253 - 261.
- [5] Partridge J F, Borgstrom B, Allshire R C. Distinct protein interaction domains and protein spreading in a complex centromere [J]. Genes Dev., 2000, 14: 783 - 791.
- [6] Blower M D, Karpen G H. The role of *Drosophila* CID in kinetochore formation, cell-cycle progression and

- heterochromatin interactions[J]. *Nat. Cell Biol.*, 2001, 3: 730–739.
- [7] Nonaka N, Kitajima T, Yokobayashi S, *et al.*. Recruitment of cohesin to heterochromatic regions by Swi6/HP1 in fission yeast[J]. *Nat. Cell Biol.*, 2002, 4: 89–93.
- [8] 丁戈,姚南,吴琼,等. 着丝粒结构与功能研究的新进展[J]. *植物学通报*, 2008, 2: 149–160.
- [9] Henikoff S, Ahmad K, Malik H S. The centromere paradox: stable inheritance with rapidly evolving DNA[J]. *Science*, 2001, 293: 1098–1102.
- [10] Sullivan B A, Blower M D, Karpen G H. Determining centromere identity: cyclical stories and forking paths[J]. *Nat. Rev. Genet.*, 2001, 2: 584–596.
- [11] Shi J, Wolf S E, Burke J M, *et al.*. Widespread gene conversion in centromere cores[J]. *PLoS Biol.*, 2010, 8: e1000327.
- [12] Malik H S, Henikoff S. Conflict begets complexity: the evolution of centromeres[J]. *Curr. Opin. Genet. Dev.*, 2002, 12: 711–718.
- [13] 黄蕾. 人类着丝粒结构及功能研究进展[J]. *国外医学遗传学分册*, 2000, 1: 1–4.
- [14] Politi V, Perini G, Trazzi S, *et al.*. CENP-C binds the alpha-satellite DNA *in vivo* at specific centromere domains[J]. *J. Cell Sci.*, 2002, 115: 2317–2327.
- [15] Amor D J, Kalitsis P, Sumer H, *et al.*. Building the centromere: from foundation proteins to 3D organization[J]. *Trends Cell Biol.*, 2004, 14: 359–368.
- [16] Saffery R, Irvine DV, Griffiths B, *et al.*. Human centromeres and neocentromeres show identical distribution patterns of >20 functionally important kinetochore-associated proteins[J]. *Hum. Mol. Genet.*, 2000, 9: 175–185.
- [17] McAinsh A D, Tytell J D, Sorger P K. Structure, function, and regulation of budding yeast kinetochores[J]. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.*, 2003, 19: 519–539.
- [18] Yoda K, Ando S, Morishita S, *et al.*. Human centromere protein A (CENP-A) can replace histone H3 in nucleosome reconstitution *in vitro*[J]. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2000, 97: 7266–7271.
- [19] Palmer D K, O' Day K, Wener M H, *et al.*. A 17-kD centromere protein (CENP-A) copurifies with nucleosome core particles and with histones[J]. *J. Cell Biol.*, 1987, 104: 805–815.
- [20] Carroll C W, Milks K J, Straight A F. Dual recognition of CENP-A nucleosomes is required for centromere assembly[J]. *J. Cell Biol.*, 2010, 189: 1143–1155.
- [21] De Rop V, Padeganeh A, Maddox P S. CENP-A: the key player behind centromere identity, propagation, and kinetochore assembly[J]. *Chromosoma*, 2012, 121: 527–538.
- [22] Huddleston J E. Cell division: CENP-A's tail rules the centromere[J]. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, 2011, 12: 626.
- [23] Wang L H, Mayer B, Stemmann O, *et al.*. Centromere DNA decatenation depends on cohesin removal and is required for mammalian cell division[J]. *J. Cell Sci.*, 2010, 123: 806–813.
- [24] Rabitsch K P, Gregan J, Schleiffer A, *et al.*. Two fission yeast homologs of *Drosophila* Mei-S332 are required for chromosome segregation during meiosis I and II[J]. *Curr. Biol.*, 2004, 14: 287–301.
- [25] Yokobayashi S, Watanabe Y. The kinetochore protein Moa1 enables cohesion-mediated monopolar attachment at meiosis I[J]. *Cell*, 2005, 123: 803–817.
- [26] Dotiwala F, Harrison J C, Jain S, *et al.*. Mad2 prolongs DNA damage checkpoint arrest caused by a double-strand break via a centromere-dependent mechanism[J]. *Curr. Biol.*, 2010, 20: 328–332.
- [27] Kitajima T S, Kawashima S A, Watanabe Y. The conserved kinetochore protein shugoshin protects centromeric cohesion during meiosis[J]. *Nature*, 2004, 427: 510–517.
- [28] Riedel C G, Katis V L, Katou Y, *et al.*. Protein phosphatase 2A protects centromeric sister chromatid cohesion during meiosis I[J]. *Nature*, 2006, 441: 53–61.
- [29] Rivera T, Losada A. Shugoshin and PP2A, shared duties at the centromere[J]. *Bioessays*, 2006, 28: 775–779.
- [30] Tang Z, Shu H, Qi W, *et al.*. PP2A is required for centromeric localization of Sgo1 and proper chromosome segregation[J]. *Dev. Cell*, 2006, 10: 575–585.
- [31] Xu Z, Cetin B, Anger M, *et al.*. Structure and function of the PP2A-shugoshin interaction[J]. *Mol. Cell*, 2009, 35: 426–441.
- [32] Kerrebrock A W, Miyazaki W Y, Birnby D, *et al.*. The *Drosophila* mei-S332 gene promotes sister-chromatid cohesion in meiosis following kinetochore differentiation[J]. *Genetics*, 1992, 130: 827–841.
- [33] Kerrebrock A W, Moore D P, Wu J S, *et al.*. Mei-S332, a *Drosophila* protein required for sister-chromatid cohesion, can localize to meiotic centromere regions[J]. *Cell*, 1995, 83: 247–256.
- [34] Salic A, Waters J C, Mitchison T J. Vertebrate shugoshin links sister centromere cohesion and kinetochore microtubule stability in mitosis[J]. *Cell*, 2004, 118: 567–578.
- [35] Katis V L, Galova M, Rabitsch K P, *et al.*. Maintenance of cohesin at centromeres after meiosis I in budding yeast requires a kinetochore-associated protein related to MEI-S332[J]. *Curr. Biol.*, 2004, 14: 560–572.
- [36] Marston A L, Tham W H, Shah H, *et al.*. A genome-wide screen identifies genes required for centromeric cohesion[J]. *Science*, 2004, 303: 1367–1370.
- [37] Lee J, Kitajima T S, Tanno Y, *et al.*. Unified mode of centromeric protection by shugoshin in mammalian oocytes and somatic cells[J]. *Nat. Cell Biol.*, 2008, 10: 42–52.
- [38] Yin S, Ai J S, Shi L H, *et al.*. Shugoshin1 may play important roles in separation of homologous chromosomes and sister chromatids during mouse oocyte meiosis[J]. *PLoS One*, 2008, 3: e3516.
- [39] Llano E, Gomez R, Gutierrez-Caballero C, *et al.*. Shugoshin-2 is essential for the completion of meiosis but not for mitotic cell division in mice[J]. *Genes Dev.*, 2008, 22: 2400–2413.
- [40] Wang M, Tang D, Wang K, *et al.*. OsSGO1 maintains synaptonemal complex stabilization in addition to protecting centromeric cohesion during rice meiosis[J]. *Plant J.*, 2011, 67: 583–594.