

What enables cellular components to copy themselves independent of DNA?

细胞器不依赖于DNA的复制——中心体自主复制解读

梁前进

北京师范大学生命科学院, 细胞增殖与调控生物学教育部重点实验室, 抗性基因资源与分子发育生物学北京市重点实验室, 北京100875

E-mail: Lqj@bnu.edu.cn

2016-12-15 收稿, 2017-01-14 修回, 2017-01-16 接受, 2017-03-28 网络版发表

国家自然科学基金(31571394)、北京市自然科学基金(5122017)、细胞增殖及调控生物学教育部重点实验室开放基金(201404)和抗性基因资源与分子发育生物学北京市重点实验室开放基金(201504)资助

摘要 有关细胞成分在严格的条件下复制自身的机制, 还有很多谜团. 协助成对染色体分离的中心体(以及其他细胞器)可在合适的时间自主复制, 并且不需要DNA作为向导. 这种独立性还有待一步步揭示. 本文通过中心体复制和中心体周期调控方面的大量研究成果, 特别是近年来的新进展, 从4个方面诠释了这种“独立性”: 在中心体的“独立”复制和DNA复制-遗传物质稳定控制的上游, 具有总揽性的统一基础, 因而虽“独立”却不“孤立”或无本; 多功能的激酶Plk1等核心调控因子及相关分子复合结构协调了中心体周期和染色体/DNA周期; 类似“感应开关”效应的结构形成和转变起止模式, 精密地控制了中心体复制及其周期; 中心体结构复制及其周期调控在有统一基础的框架内分化、适应, 是以多环节、多途径过程产生特异功能体的典型例子.

关键词 中心体, 中心粒, 细胞器, 中心体复制, 中心体周期, 细胞周期

2016年《科学通报》开始对Science 2005年提出的125个科学前沿问题进行解读. 第63个问题是细胞生物学方面意义重大的课题: 是什么机制赋予细胞成分在不依赖于DNA的条件下复制自身的能力? 协助成对染色体分离的中心体(以及其他细胞器)可在自身合适的时间复制, 并且不靠DNA作为向导. 这种独立性仍难以解释. 本文的意图在于以中心体相关的最新研究进展为基础, 对此问题进行一些探究, 以期为谜底的揭示提供一些帮助.

动物和低等植物的细胞质中都有一种位于细胞核附近的无膜细胞器, 处于高尔基复合体(Golgi complex)区域中央, 因接近细胞中部而被称为中心体(centrosome). 中心体是细胞分裂时的内部活动中心, 起着组织协调微管动态和调控G1/S和G2/M期转换的作用. 研究表明, 中心体的组装和中心粒的结构形成是受2价阳离子调控的精细“工程”^[1]. 电子显微镜观

察到的每个中心体中有两个相互垂直排列的桶状的中心粒(centrioles), 由9组三联体微管组成, 直径0.16~0.23 μm , 长度0.16~0.56 μm ; 在中心粒周围, 是云雾状电子致密物(中心粒周围物质(pericentrioles material, PCM)). 中心体是细胞中的微管组织中心(microtubule organization center, MTOC). 中心体中微管的长度约为0.4 μm , 组成单位是管蛋白(包括 α -, β -, γ -, δ -和 ϵ -管蛋白). PCM组成纤维状网络状的中心体基质(centrosome matrix), 连接聚集微管的 γ -管蛋白复合物(γ -tubulin ring complex, γ -TuRC)的各种蛋白. 中心体内有3大类蛋白, 包括中心体常驻蛋白(如 α -, β -, γ -, δ -和 ϵ -管蛋白, centrin, pericentrin等)、中心体过客蛋白(如只在M期才定位于中心体的POPA (prophase-originating polar antigen), NuMA (nuclear mitotic apparatus protein)等)和中心体调节蛋白(如Cdk2, CyclinB1, CyclinA等). Centrin不仅是中心体蛋白的重要

引用格式: 梁前进. 细胞器不依赖于DNA的复制——中心体自主复制解读. 科学通报, 2017, 62: 1333–1345

Liang Q J. Organellar replication that is independent of DNA: Unscrambling the autonomous centrosomal replication (in Chinese). Chin Sci Bull, 2017, 62: 1333–1345, doi: 10.1360/N972016-00916

代表^[2], 而且在藻类鞭毛切除时的微管切割中发挥重要功能^[3]. 中心体在间期细胞中调节微管的数量、稳定性及其极性和空间分布特征; 在有丝分裂过程中, 由中心体成核所构建的两极纺锤体(spindle), 保障了细胞的两极对称性, 以实现成对染色体的精确分离. 此外, 中心体还在提供细胞器定向运输支架和细胞运动调节中发挥重要作用. 相关研究进展很快, 人们先后鉴定和研究了多种有关中心粒复制的关键蛋白(如Bld12/SAS-6, Bld10p/Cep135, SAS-4/CPAP, Plk4/SAK, Crp^{F46}, SPICE和MOZART2等), 中心粒装配调控及其起始步骤和分子构筑机制逐渐清楚.

1 中心体独立于DNA条件复制的能力, 并未与DNA的复制和完整性脱离干系

先从联系中心体调控因子与细胞周期的关键性时空调节者小GTPase RAN谈起. 研究表明, 小GTPase RAN与核输出载体蛋白Exportin 1/CRM1发生作用, 招募包含输出序列的支架蛋白, 以促成中心体的结构组织. 它们共同发挥作用, 还通过调控中心体复制周期中关键“准入”蛋白限制中心体的再度倍增. 同时, 活性的RANGTP通过结合importin解除抑制, 释放微管调节因子, 调控着中心体形成有功能微管的能力^[4]. 与DNA复制相似, 中心体的复制也是半保留复制, 在每个细胞周期(于间期)复制一次. 成对的中心粒在细胞分裂的间期进行自身复制而成为两对, 由凝胶化的纺锤丝相连移向细胞两极; 到中期时, 成对中心粒及其PCM移到细胞两极, 形成两极各有一个中心体的纺锤体. 随着分裂经历后期到末期, 纺锤体逐渐解聚, 两极的中心体也分配至两个子细胞内. 到有丝分裂末期, 每个子代细胞继承一个中心体, 而在下次分裂开始前又复制为2个中心体. 高等动物细胞的中心体复制可归纳为中心粒分裂(G1晚期)、中心粒复制(始于S早期)、中心体分裂(G2期)和子代中心体分离(分裂期) 4个阶段. 中心体分离受马达蛋白驱动, 又与G2期/分裂前期EF-hand蛋白的磷酸化修饰有关, 受助推细胞进入有丝分裂的激酶Nek2的活性调控. 最新研究揭示, Nek2的底物Dishevelled控制着中心体连接蛋白的动态^[5].

中心体复制的“通行令”是CyclinE-Cdk2在G1~S期限制点被核酸磷酸酶磷酸化. Cdk2复合物中的Rb蛋白磷酸化后, 失去对转录因子E2F的抑制, 激活S

期中与DNA复制和中心体复制相关的基因. 细胞内自由Ca²⁺离子浓度的增加激活CaMK II, 从而触发中心体复制起始. 中心体在S期的复制依赖于CyclinA-Cdk2激酶复合物. 受Cdk2控制的纺锤体检验点激酶Mps1在多水平上协调中心体复制、中心体周期与细胞周期; 由Cyclin E-Cdk2诱导的后期促进复合体(anaphase promoting complex)/Cyclosome (APC/C)抑制和有丝分裂前期阻断, 需要Mps1^[6].

在中心体周期中, 成对(母、子)中心粒的会合阻止了其再度复制, 两个中心粒在有丝分裂末期相互脱离; 在G1~S过渡期, 又在母中心粒近端形成新的中心粒前体结构; 9组对称的中心粒以通过SAS-6寡聚体形成的轮状结构为基础得以建构. 在S和G2期, 中心体蛋白4.1-结合蛋白(centrosome prorelin 4.1 associating protein, CPAP)促进了中心粒延长^[7]; 在晚G2期, Plk1和Aurora A诱导了中心体成熟和PCM蛋白聚集, 并发生两个中心体的分离, 形成纺锤体极(图1)^[8]. 此间涉及中心体复制和DNA复制的精确协调机制. 在整个有丝分裂期, 磷酸化的DNA-PKcs (Thr2609)与Plk1激酶共定位——在前期至后期分布到中心体, 前中期到中期分布至染色体着丝粒(centromere)的动粒(kinetochores)结构域, 胞质分裂期积累到中体上. DNA-PKcs与Plk1的功能联系特异地调控DNA复制、染色体分离和胞质分裂^[9]. 已知Plk1通过调控Cdc25而维持Cdk1的有丝分裂引擎活性. 核糖核苷酸还原酶催化亚基M1 (ribonucleotide reductase large subunit 1, RRM1)在保持中心体稳定性方面, 就以依赖于Chk1和Cdk1的DNA复制与中心体完整性共调控^[10]. 干扰RRM1基因诱发细胞周期滞留于DNA复制期; 去除细胞总的Chk1, 就会加剧RRM1-缺失诱导的中心体恶性扩增. 此关系中的协调因子是受Chk1抑制、调控中心体分离的Cdk1^[10]. 细胞周期引擎分子Cdks和Cyclins, 一方面调控DNA复制, 另一方面控制中心体扩增. CyclinA从G1/S交界到S期, 直接参与DNA复制酶系的反应. 半致死剂量依托泊苷(etoposide, ETO)诱导肾上腺皮质瘤阻滞在G2/M期, 可造成中心体恶性扩增、纺锤体不对称变异、DNA复制紊乱和细胞衰老, 相应的是Cyclin A/Cdk2, Chk2和ERK1/2异常激活; 这些因子适当水平, 可保障DNA复制与中心体复制的协调一致^[11]. 在G1和S期的“换挡”中, CyclinE-Cdk2通过对一系列底物(Cdc6, Rb, NPAT和P107等)的磷酸化启动DNA合成. 另外, CyclinE-

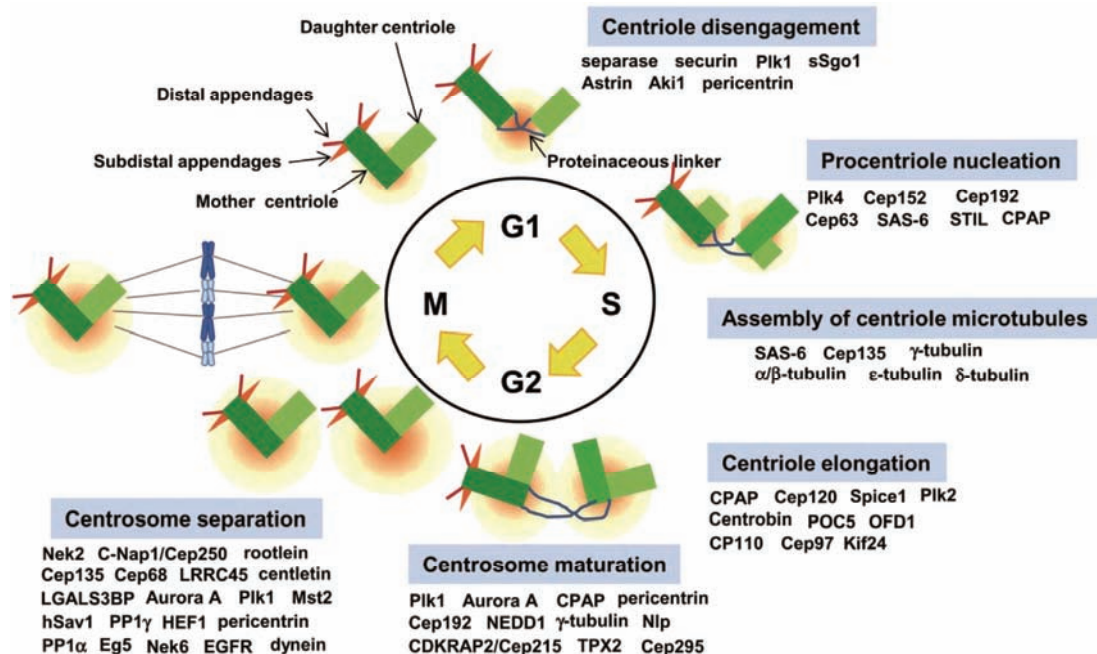


图1 (网络版彩色)中心体周期示意图^[8]

Figure 1 (Color online) A diagrammatic sketch of centrosome cycle^[8]

Cdk2受到RB/E2F通路的正调控、CIP/KIP家族蛋白的负调控作用和 Skp2-SCF(Skp2-Skp1-cull-F-box protein)介导的泛素化降解作用等；CyclinE基因的扩增与中心体复制失调相关联，成为进行性的肿瘤发生的风向标^[12]。精确的有丝分裂调控与内源DNA完整复制、修复，都是维持基因组稳定性的机制。多年来的研究热点14-3-3γ蛋白以一定份额定位于中心体，保障了中心体的复制精度，其缺失造成中心体拷贝数增加，而此过程源于NPM1的Thr-199磷酸化所致成对中心粒的过早脱开。14-3-3与Cdc25C的互作是协调DNA周期和中心体周期所必需的，当14-3-3结合的Cdc25C发生突变(S216A)时，中心体异常扩增，纺锤体变异，导致DNA复制异常和染色体分离失衡^[13]。LiCl抑制肿瘤生长和DNA复制的实验证明了上述CyclinA, CyclinE和Cdc25C等双重调节DNA和中心体复制的作用^[14]。Plk1, Cyclins和14-3-3蛋白等代表了中心体周期和DNA周期调控的共有成分，在协调细胞周期全局活动中发挥重要功能，在不同的分子作用和结构动态中控制不同的过程。

所谓中心体不依赖于DNA复制自身的能力，并非与DNA的复制和完整性脱离干系，而由有复杂而精密的环节协调二者的结果。这是本文探究中心体“独立性”的一个支点。

2 多功能激酶Plk1及相关分子互作体系协调了中心体周期和染色体/DNA周期

中心体在每一个细胞周期复制一次，以组织细胞分裂期所需的两极纺锤体。在有丝分裂末，子中心粒脱离母中心粒，这是中心体复制的重要“授权”。中心粒脱离与分裂后期姐妹染色单体分离的机制相似且相关^[8]。当Separase抑制因子Securin被E3-连接酶APC/C-Cdc20降解时，Separase被激活，这是促成中心粒脱开的因素^[15]。中心粒的连接靠环状黏连蛋白(cohesin)复合体(包括Scc1, Smc1, Smc3和SA1/SA2)，在Scc1蛋白水解的诱导下裂解。另一方面，姐妹染色单体分离也基于其间Cohesin复合体的解体，由Separase介导的Scc1裂解所致^[16,17]。在中心体中，Aki1与Cohesin互作阻止条件未成熟的降解，以保证成对中心粒的黏合^[18]；细胞分裂早期依赖于有丝分裂特异性激酶Plk1 (Polo-like kinase 1)的子中心粒修饰，是下一个S期中心粒复制的“通行证”^[19~21]。Separase在有丝分裂结束时特异性降解Pericentrin(PCNT)，而PCNT必须被Plk1磷酸化才能成为Separase的合适底物。PCNT是一种主要的PCM蛋白，参与纺锤体组装、DNA损伤检验点和原生纤毛的形成^[22~24]。大量微管就是以大部分锚定在PCNT上的γ-TuRC为基

点,从中心体产生并延伸出来的^[22,25,26].如果PCNT发生抗磷酸化突变,中心粒分离就会被抑制;PCNT模拟磷酸化突变可以回补中心粒分离问题.可见Plk1的磷酸化效应是Separase介导的PCNT裂解和中心粒分离的基本开端(图2)^[27].

对Plk1催化PCNT磷酸化的精细实验证明,作为中心体成熟必要条件的磷酸化发生在Ser1231和Ser1241残基上^[28],而作为中心粒分离必要条件的是另一组位点(接近Separase裂解点Arg2231的Thr2154, Thr2160, Ser2183, Ser2189, Ser2222, Ser2259, Ser2267, Ser2318和Thr2324)^[27]——Plk1激酶在一种蛋白不同部位的磷酸化,控制了不同而相关的功能.

可以看出,中心体与遗传结构的相关性.当DNA损伤时,中心体普遍发生扩增.显然,这样的扩增是

Plk1和Separase依赖性的^[29].结构的连续促成过程的相继.在间期,将脱开的中心粒联系起来的是一种蛋白连接体(C-Nap1/Cep250),与Rootletin形成的纤维结构相连.这种联系在整个间期保持,并持续到分裂期开始^[30].这种维系中心体结构的黏合因素也是G1~G2期的“绳栓”.在G2/M期,肽基脯氨酸顺反异构酶NIMA (never in mitosis, gene A)相关激酶2A (Nek2A)对C-Nap1和Rootletin进行磷酸化,使之脱离中心体而解除两个中心体间的连系,使其各自组装微管;驱动蛋白Eg5和逐渐形成的微管将两中心体驱动到细胞两极,纺锤体得以组装^[31].

Plk1也在作为细胞有丝分裂轮毂的染色体着丝粒上起着关键作用.着丝粒上的ATP依赖性检验点解旋酶(ATP dependent checkpoint helicase, PICH),保

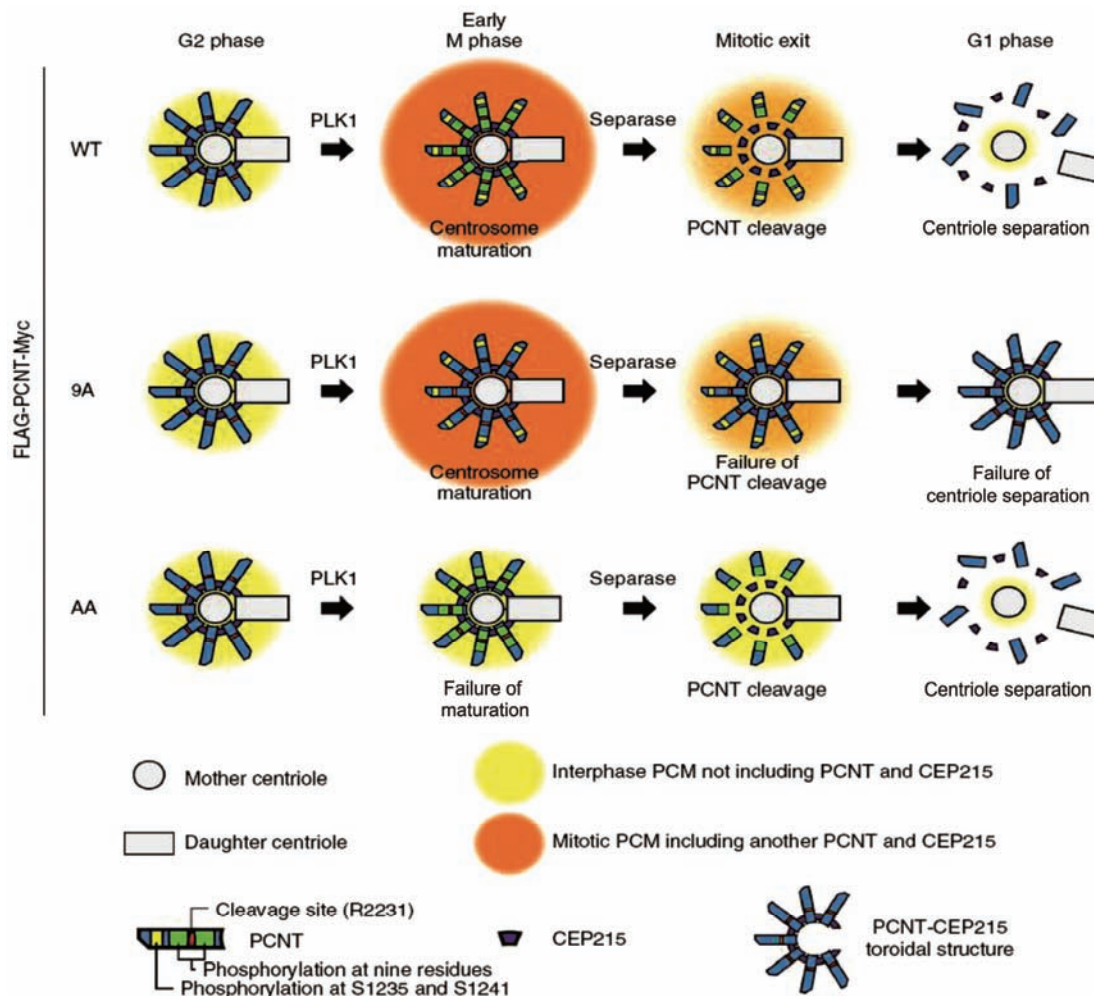


图2 (网络版彩色) Plk1 调节PCNT的双重功能借以调控中心体成熟和中心粒分离^[27]

Figure 2 (Color online) Plk1 regulates the dual functions of PCNT to control centrosomal mature and centrioles detaching^[27]

障正常的有丝分裂染色体分离行为,而PICH的功能受Plk1磷酸化修饰调节^[32].最近研究证明,PICH中近C末端的SUMO作用基序(SUMO-interacting motif, SIM)为其着丝粒定位所必需,另有两个SIMs则阻止染色质桥的形成^[33].总的来说,有丝分裂中染色质桥的断开和染色体后期分离在Plk1调控下得以实现,PICH的缺失或异常导致染色体畸变和微核形成^[34,35].

Plk1的调控也是精密的.着丝粒蛋白FOR20(FOP-related protein of 20 kD)的招募作用,对于Plk1于S期定位至中心体、调控DNA复制是必需的;Plk1或FOR20的缺失,造成细胞周期被S期中心体检验点阻止^[36,37].异位表达的Plk1(即使其头部激酶活性区发生突变,只要还能定位到中心体)可以逆转这种诱导性的S期缺陷,提高中心体依附性Plk1的表达水平(即使不是野生型),也可克服FOR20缺失诱导的S期缺陷.可见,由FOR20招募的Plk1在中心体上的定位,是细胞S期(DNA复制期)的入门信号,或依赖于Plk1的子中心粒修饰是S期中心粒复制的“通行证”.这是关于中心体在细胞周期调控中作用的新发现^[37].

作为一种细胞周期激酶,Plk1具有多种功能,包括对纺锤体组装和染色体排列(chromosome alignment)的调控作用等^[38],因而涉及纵横交织的调控网.例如,具有可被Cdk1磷酸化的S/TP基序的Bub1和BubR1,在有丝分裂中磷酸化后结合到Plk1的Polo-box结构域^[39,40];Bub1-Plk1介导的Cdc20磷酸化途径是防止纺锤体缺陷造成基因组不稳定的机制^[41].Plk1活性依赖于其位于激酶域T-环的Thr210保守位点被另一激酶Aurora A磷酸化^[42].保守的Bora蛋白与Plk1的结合加强了Aurora A催化的Plk1磷酸化^[43,44];Bora-Cyclin B分子互作和Bora磷酸化修饰足以促使Aurora A激酶对Plk1的磷酸化,从而激活Plk1,而实现Bora N端磷酸化的正是有丝分裂的引擎分子——Cdk1/Cyclin B激酶(图3)^[45].因此,Plk1是有丝分裂的一道“门”,Bora是“锁”,Cdk1是“钥匙”.

3 “感应开关”效应是中心体精密复制及其周期调控的奥秘之一

在电路控制中,常用到感应开关(inductive switch).例如,人体体温一般约恒定在37℃,会发出特定波长约为10 μm的红外线.当有人从红外感应探测区域经过时,人体红外智能感应开关即自动启动.

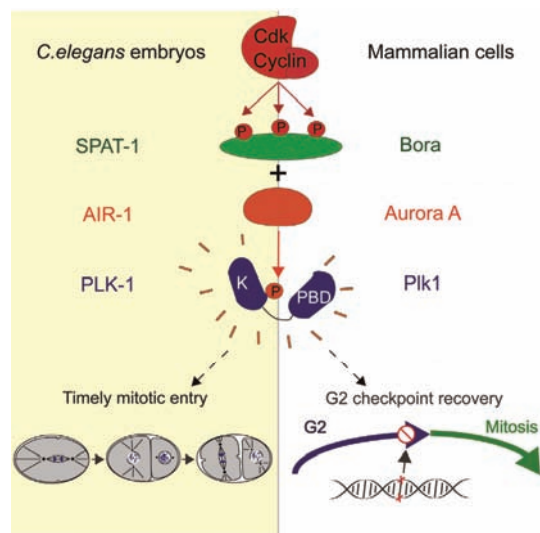


图3 (网络版彩色) Bora N端磷酸化的关键而保守作用——Plk1 激活和有丝分裂入门^[45]

Figure 3 (Color online) The key and conserved functions of Bora N terminal phosphorylation—Plk1 activation and mitosis entry^[45]

细胞对中心体数目的调节是通过一个细胞周期内限定一次中心粒倍增来实现的.人们认为在中心粒加倍的瞬间,母中心粒与子中心粒之间的垂直定向,可阻止母中心粒失控的复制.另外,下一轮中心粒倍增事件发生的一个先决条件,是中心体内两个中心粒失去垂直关系并脱离.上文已经提到,中心粒脱离需要Plk1活性,于是Plk1的能动性再次被探究.Shukla等人^[46]使用了关联活性/电子显微镜(employ correlative live/electron microscopy),监控了Plk1诱导中心粒成熟和子中心粒远离,使得母中心粒再度复制的过程.这种再度复制甚至在原先的子中心粒仍与其保持垂直时也能发生,只要原母子中心粒的距离远至大约80 nm.这种尺度是细胞在有丝分裂前期通常达到的距离.可见,中心体复制的“感应开关”的监控信号包含了距离效应.

研究正常S期以及阻断在G2或S期的细胞,可见其中的子中心粒比前、中期细胞中的距离母中心粒更近.如果内源Plk1激酶在进入分裂期前被抑制4 h,则即使到分裂前期子中心粒也仍靠近母中心粒;如果被抑制7 h,这种靠近状态就可保持到分裂期以后.因此,细胞周期中母子中心粒间分开距离的增加,是一种Plk1依赖的方式^[46].“感应开关”的距离效应源于Plk1的控制——Plk1通过促进中心粒成熟而释放母子中心体的依附,使下一轮中心体复制可以进行^[46].

Plk1具体发挥了多少功能,目前推测还为时过早,因为许多与之相关的分子功能和生理过程还在揭示中.例如,本课题组^[47]发现的中心体蛋白CrfF46,就是一种Plk1结合蛋白,有Plk1激酶位点,同时可被Cdk1-CyclinB激酶磷酸化,产生细胞周期依赖性功能.CrfF46在胞内的水平必须合适,才能保障中心体与细胞周期协调的正常复制^[47].

生理活动的启动-制动规律是复杂的,是进化而来的.对酵母细胞周期中纺锤体极体(spindle pole body, SPB; 哺乳动物中心体的等价物)复制的研究,有最新报道^[48].SPB精确的复制也是以母体结构为平台组装子体结构,而保守的蛋白Sfi1和Centrin是必需因子.Sfi1是一种长形分子,其中部有23~30个Ca²⁺结合蛋白结合位点.芽殖酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)中所有Sfi1的N端均与母SPB联系,而游离的C端伸向远处.在S期和分裂早期, Sfi1 C端的主要丝氨酸残基被Cdk1磷酸化,阻止SPB复制,此为复制关闭状态(OFF态);在后期启动时,磷酸酶Cdc14对Sfi1去磷酸化,就获得开启状态(ON态),促进反向平行和转移掺入的胞质Sfi1分子进驻细胞中央的半桥联层,而后延伸到胞质桥中.两段Sfi1层的Sfi1 C末端处于桥的中部,而新组装的Sfi1的N端则远离母SPB.在G1期,这些游离的Sfi1 N端随即组装了新的SPB.在裂殖酵母(*Schizosaccharomyces pombe*)中情况也一样.如果仍用“感应开关”作比,这里启动、制动SPB复制的感应信号来自Cdk1与Cdc14的活性比率.只需要Cdk1和Cdc14活性的合理振荡,就可以形成一种类似时钟发条的工作机制,调节Sfi1-Centrin接收器结构的ON/OFF态,保证SPB的复制限制在每个细胞周期一次^[48].

正如中心体复制-分离周期同DNA复制-染色体分离和胞质分裂等诸过程严谨协调一样,酵母SPB的复制也是一个精密协调事件.在有丝分裂结束时由对称的Sfi1纤维结构形成引发了SPB复制起始后,在其顶端又依赖于Mps1组装了Spc29和Spc42依赖性复合体.新形成的SPB最后伸入到核膜.其实在SPB复制时,将要插入核膜的蛋白(如Mps2, Bbp1和Ndc1)就聚集到了新的SPB上.因此,SPB组装和插入核膜是偶联事件^[49].

4 中心体复制及其周期调控是有统一基础的多环节、多途径过程

由上述分析可知,中心体复制及其周期调控有

入门环节和开关机制,还有Plk1等起核心或关键作用的多功能调节因子.然而,具体的调节却是复杂的多环节、多途径的过程.

4.1 中心粒扩增的复杂调控和严格途径

最近有研究者通过基因编辑等研究表明,中心粒复制相关因子STIL (Sil, SCL/TAL1 interrupting locus)结合Plk4,通过自身磷酸化提高后者的活性,而持续的Plk4活性又是STIL定位于中心粒的必要条件;Plk4对STIL的磷酸化修饰分两步促进中心粒组装——第一步是促进STIL招募至中心粒,第二步是Plk4为STIL直接结合SAS-6 C端做好准备^[50].这里SAS-6是参与起始于S期中心粒复制的至少5种不同蛋白质(SPD-2/Cep192, ZYG-1/Plk4, SAS-5/STIL, Bld12/SAS-6和SAS-4/CPAP)之一.精确研究指出,STIL结合的是Plk4的第3个Polo-box^[51].

普通增殖细胞中每个细胞周期一次以母中心粒为基础、垂直形成前中心粒的中心粒复制途径,称为中心粒依赖性(centrosome dependent, CD)途径,发生在S和G2期^[52];脊椎动物多纤毛细胞分别通过CD或非中心粒依赖途径产生中心粒和基体.在非中心粒依赖途径中,中心粒从头合成而非以母中心粒为基础,围绕细胞质体频繁生成,这就是中心粒扩增的次胞质体依赖性(deuterosome dependent, DD)途径,通常发生在终末分化多纤毛细胞的G0~G1期^[53].研究表明,这两种途径有统一的上游复合体和若干共同的下游蛋白质基础.在CD途径中, Cep63-Cep152复合体围绕母中心粒形成,Plk4被激活, Sas-6轮状蛋白被招募,进而起始莲座丛(rosette type)式的中心粒扩增;在DD途径中,包含Deup1-Cep152和CCDC78-Cep152的复合体在没有中心粒的条件下形成,然后是Plk4激活、Sas-6招募^[53,54].系谱分析表明, Deup1存在于一种肉鳍鱼(*Sarcopterygii*)中,在脊椎动物进化中从Cep63产生,并逐渐适应于四足动物.这是基因重复和演变的结果^[53]. Deup1可能是次胞质体的骨架分子(图4),原核表达的Deup1可形成环形框架;CCDC78是一种次胞质体蛋白和中心粒结合蛋白,在中心粒扩增的DD途径中起必要作用,为Cep152招募到次胞质体(deuterosome, 一种高亲铁性、缺乏微管三联体(MT triplets)的环形纤毛状结构)所需^[53].推测在中心粒复制经典途径早期形成轮状物或中心粒延长过程中发挥作用的几种蛋白(如Cep135, Stil, Cpap

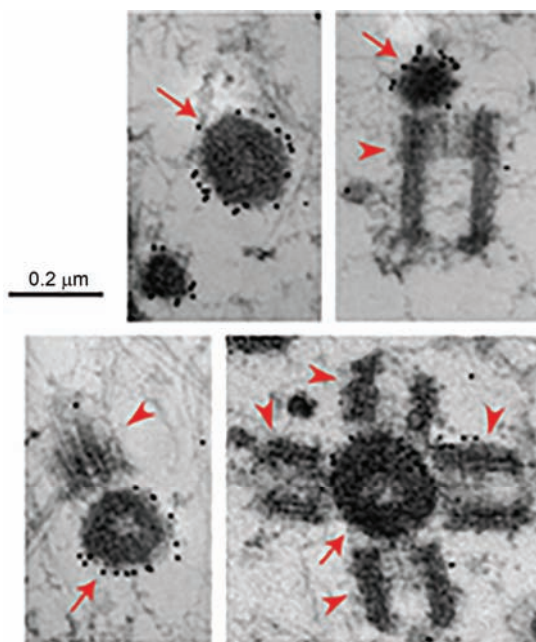


图4 (网络版彩色) Deup1在次胞质体(长箭头示)中分布的电子显微镜照片(短箭头指示前中心粒)^[53]

Figure 4 (Color online) The distribution of Deup1 in deuterosome (indicated with long arrows) electro microscopic photos (pre-centrioles are indicated by short arrows)^[53]

和Cep120)为两种途径所共有^[53,54]。

4.2 中心体自主复制和功能所涉及的“表观”调控

人们把DNA序列不发生变化,但造成基因表达可遗传性变化的核苷酸或氨基酸修饰(甲基化、乙酰化、磷酸化等),或染色体变构等反应称为表观遗传修饰。在与DNA复制协调进行的中心体自主复制和周期调控中,类似的“表观”调控环节也层出不穷。

(i) 中心体相关蛋白质因子及蛋白质-DNA互作的“表观”调控效应。已知一定数量的果蝇(*Drosophila melanogaster*)雄性生殖干细胞(germ stem cells GSCs)形成一个体细胞团(hub),指导干细胞的更新和分化。GSCs的分裂是非对称的,纺锤体垂直于hub,紧贴hub的子细胞保持干细胞属性;相对的子细胞分化成为精原母细胞(gonialblast, GB)。这种典型的纺锤体分极源于中心体的定向调控——母中心体保留在近Hub端,子中心体迁移至相对位置,各自在GSC和GB中传承,体现为表观遗传^[55]。进一步研究揭示,在连续的细胞分裂中,母中心体锚定了永生化DNA链并将其保持在干细胞^[56]。于是,复制的DNA和中心体的不对称分离可谓“你依我依”。本课题

组^[57]将中心体-纺锤体蛋白INMAP的基因抑制,发现着丝粒蛋白CENP-B的N端DNA结合域即断裂丢失,暗示INMAP可能通过封阻或保护蛋白酶作用点而稳定CENP-B。CENP-B的N端在串联重复的位点(CENP-B boxes)结合染色质DNA,形成拉链状的蛋白质-DNA复合结构,是着丝粒的重要结构基础。INMAP缺失造成CENP-B断裂和着丝粒松解,染色体分离即出现紊乱,复制的基因组DNA不能及时和准确地实现均衡分离,子细胞发生有丝分裂进程和核型变异^[58]。细胞谱系分化相关转录因子RUNX3的研究也揭示了中心体-DNA成分间的表观作用关系。RUNX家族蛋白可通过其保守的Runt域与CBF β 联系,与包含PyGpyGGTpy序列的DNA成分稳定结合,又可与CyclinE, BRCA1, p53和通用转录因子TF II等共定位于中心体;RUNX3与中心体蛋白Rootletin可形成复合体,并可结合 γ -tubulin,又可与 β -catenin一起出现在中心体或纺锤体中体。这样,RUNX3在不同条件下或稳定DNA,或调节转录,或控制中心体复制/分离或纺锤体建成,最终参与到基因组完整性和细胞分裂调控的“合奏”中^[59]。

(ii) 中心体相关蛋白质因子表观遗传修饰的效应。通过siRNA沉默方法,发现组蛋白去乙酰化酶8(histone deacetylase 8, HDAC8)可以有效促进流感病毒(influenza virus, IAV)侵入细胞,而HDAC1阻碍之。当HDAC8水平下降时,中心体结合的微管减少,病毒包涵体的向心运动受阻,内涵体和溶酶体分布到细胞边缘;HDAC1去除的效应相反。这样的影响与中心体间的黏着有关——去除HDAC8导致中心体分裂,IAV侵染能力下降。这与中心粒样蛋白Rootletin的去除效应相同。相反,HDAC1去除则避免中心体分裂,增强IAV侵染力。中心体分离得越远,病毒侵染能力越低。这种情况也符合对本雅病毒(bunyavirus)的研究结果。相关研究证明了此类HDACs强大的组织微管,保障中心体结构和稳定,调节内涵体成熟和介导IAV类病毒感染的功能^[60]。一项主题为“酵母中心体的一个细胞周期磷酸化组”的研究成果,揭示了蛋白磷酸化等翻译后修饰在中心体功能中的作用,涉及近20种中心体蛋白的约300个磷酸化位点。将其中8个处于纺锤体极复合体核心成分(Spc42)的Cdk指向性位点突变掉,即发生中心体组装力下降和致死。这可能缘于Spc42向中心体组装能力的下降^[61]。已知 γ -tubulin小复合体(γ -tuSC)是微管成核和中心体分离

的功能成分,其所涉及的 γ -tubulin磷酸化促进中心体加倍和微管聚合;将处于蛋白互作表面的 γ -tubulin的Cdk作用位点突变掉(Tub4-S360D),即导致有丝分裂延迟和后期纺锤体的异常延长^[61]。

细胞周期研究表明,泛素连接酶E3复合体SCF和APC/C可对许多蛋白质进行泛素化修饰,保障细胞周期进程不可逆转。研究表明,SCF/Slimb和SAK/Plk4 (serine/threonine-protein kinase/Polo-like kinase 4)紧密结合状态。Slimb/b-Trcp协调细胞周期中DNA复制检验点和中心体数目,SCF/Slimb通过降解SAK/Plk4来限制中心体拷贝数。SAK/Plk4激酶中的Slimb结合基序突变,或SCF/Slimb缺失,SAK/Plk4积累,导致中心体/中心粒扩增^[62]。进一步研究证明,SCF-FBXW5 E3泛素连接酶的作用靶点是纺锤体组装异常蛋白SAS-6,Plk4激酶对SCF-FBXW5的调控在中心体复制中发挥重要作用;细胞内源FBXW5去除或其F-box缺失突变导致中心体过度扩增,形成多极纺锤体^[63]。实验证明,PLK4在Ser151位点对FBXW5磷酸化,使得SAS-6的泛素化被抑制,APC/C作用于FBXW5,则使其在有丝分裂期和G1期降解,重启中心体复制^[63]。

一项最新研究进一步揭示了中心体作为支架协调泛素-蛋白酶体介导的蛋白降解的作用,保障严格时空编程基础上的细胞命运决定、形态发生、细胞周期和应激反应等^[64]。Kimura等人^[65]利用细胞培养物同位素标记、联合液相色谱串联质谱技术分析了991种蛋白质,发现含K48和K63连接的多聚泛素链的蛋白在M期中心体中积累,但是26S蛋白酶体(proteasome)活性在S期和M期中心体中并无差异。然而,M期负责泛素化蛋白向中心体运输的胞质动力蛋白(dynein)水平则两倍于S期;在泛素连接酶E1抑制因子PYR-41的作用下,有丝分裂中期的中心体缩小,并导致异倍体。对蛋白酶体活性抑制因子Ecm29进行RNA干扰,发现中心体上累积的泛素化蛋白减少。这些结果说明,中心体的成熟受到大量的蛋白泛素化促进。中心体作为泛素化蛋白的临时支架,提供了其自身功能和完整性调节的平台,关联着整个细胞生命。

4.3 中心周期调控精巧而关乎生命体健康

最新研究不断揭示出更多扑朔迷离的问题。在研究人类细胞结构从头重构的实验中,研究者发现,

普通的中心粒复制和纤毛形成都可以在没有SAS-6自身寡聚体形成的条件下实现,但从头的中心粒形成即使在SAS-6自身寡聚体形成的条件下也易于出现结构差错。因此,中心粒的生物合成并不严格依赖于SAS-6自身寡聚,而母中心粒作为模板,则起到保证形成精确结构的作用^[66]。在中心体周期中,于S期组装的子中心粒必须越过有丝分裂期才能再行复制和组织中心体,如上文提到的,其中需要Plk1/Polo激酶。最新研究在果蝇中揭示了这种有丝分裂“中心粒转变”(centriole conversion)调控:Cdk1磷酸化保守的中心粒蛋白Sas-4,从而产生一个Polo停靠位点;Polo被招募到子中心粒后又将Asterless (Asl)招募过来;Asl为中心粒复制和有丝分裂中心体组装的必需调节因子。有丝分裂需要活性的Cdk1-CyclinB激酶和Polo-like激酶。Sas-4点突变阻止Cdk1磷酸化或Polo停靠,但并不阻碍有丝分裂期中心粒的分离,却阻抑中心粒转变,造成死胎。这些研究结果解释了子中心粒必须越过有丝分裂期才能再行复制和组织中心体的原因^[67]。那么,如何越过有丝分裂期呢?另有研究指出,在有丝分裂期,Cdk1-CyclinB将STIL结合到自身,阻止了Plk4-STIL复合体的产生和Plk4催化的STIL磷酸化,最终使得中心粒不能形成;在有丝分裂结束时,在Cdk1-CyclinB失活情况下,Plk4-STIL复合体可以产生,使STIL可以在G1期磷酸化,于是在此后的S期实现前中心粒组装。同时,母子中心粒的靠近和Cdk1-CyclinB与中心粒成分的互作保障了一个细胞周期只进行一次中心粒复制,使得细胞周期调控中DNA复制与中心体复制平行而协调起来^[68]。与此相关,以基因靶向方法调控Plk4,在该激酶缺失情况下引发中心粒复制异常后,发现p53依赖性监控机制可以保护细胞,使之在中心粒复制失败的情况下不至于造成基因组不稳定;p53缺失造成中心粒复制失败的细胞过度增殖^[69]。

不难理解,有一个复杂的网络结构来保障细胞内正常的中心体数量,而且使其位置关系适合于所产生的纺锤体纤维被每条染色体上的动粒有效捕捉。研究表明,这一网络结构中的成分被包括泛素化或类泛素化修饰的一系列翻译后修饰所调节,而这些调控同时有效地影响染色体分离^[70]。

先天性小头畸形(primary microcephaly, MCPH)是一种与中心体功能异常相关的神经疾病,患者头部异常小。研究证明,MCPH相关蛋白Cdk5RAP2, Cep152,

WDR62和Cep63共定位于中心体,形成一种层级结构,互相作为锚定于中心体的结构基础.最顶端是Cdk5RAP2,依次处于下位的是Cep152, WDR62和Cep63. MCPH蛋白与清晰的中心粒卫星蛋白互作——Cdk5RAP2互作于SPAG5和Cep72, Cep152互作于EP131, WDR62互作于MOONRAKER, Cep63互作于Cep90和CCDC14.正是这些卫星蛋白将其MCPH互作分子定位到中心体,构建为复合体.卫星蛋白(除CCDC14外)和MCPH蛋白将Cdk2招募到中心体上,促进中心粒复制.这是中心体复制机制的研究进展,也是人类神经发育研究的进展^[71].

原始侏儒症(primordial dwarfism, PD)是另一种单基因突变性中心体功能异常疾病,患者大脑和身材发育不足,发生塞克尔氏症(Seckel syndrome)、梅耶尔-格尔林症(Meier-Gorlin syndrome)和小头型成骨不全症状.相关基因有基因组DNA复制因子基因(*Orc1* (origin recognition complex 1), *Orc4*, *Orc6*和*Cdt1* (chromatin licensing and DNA replication factor 1), *Cdc6* (cell division cycle 6), DNA损伤响应因子基因(ataxia telangiectasia and Rad3 related, *ATR*)、mRNA剪切因子基因(*U4* mRNA spliceosome factor, *U4atac*),以及中心体功能因子基因(*Cep152*, *PCNT*和*CPAP*).研究证明,前复制复合体(Pre-RC)蛋白的基因突变必然阻扰G1/S转换, S期DNA复制因缺乏有效的起始位点而受阻; ATR调控S期进程,其变异所致塞克尔氏

症病小鼠(*Mus musculus*)胚胎的DNA复制压力加剧.在G2/M转换期, ATR又依赖于纺锤体微管成核必需因子MCPH1和PCNT,并通过Chk1信号介导定着于中心体. CEP152和CPAP (CENP-J)又是中心粒加倍的调控者,影响有丝分裂中中心体的完整性^[72]. MCPH和PD的研究揭示了许多有关中心体和基因组DNA复制的协调细节,以及保证其在每个细胞周期复制且只复制一次的精确机制(图5)^[72].

可见,中心体的精确复制及其周期调控是有统一基础的多环节、多途径过程.

5 结语

以上分析了细胞器(以中心体为代表)不依赖于DNA的自主复制机理.至少可以从4个方面来解释这种“独立性”: (i) 中心体的“独立”复制建立在其与DNA复制-遗传物质稳定控制上游的总揽性统一基础之上,因而“独立”却不“孤立”或无本; (ii) 多功能的激酶Plk1等核心调控因子及相关分子复合结构,协调了中心体周期和染色体/DNA周期; (iii) 类似“感应开关”效应的结构形成和转变起止模式,精密地控制了不同细胞结构的产生过程; (iv) 结构复制及其周期调控在有共同基础的框架内分化、适应,以多环节、多途径过程产生特异功能体.

当然,特性细胞器的精确复制,需要环环相扣的分子调控链和级联反应路径,还有太多问题不能解

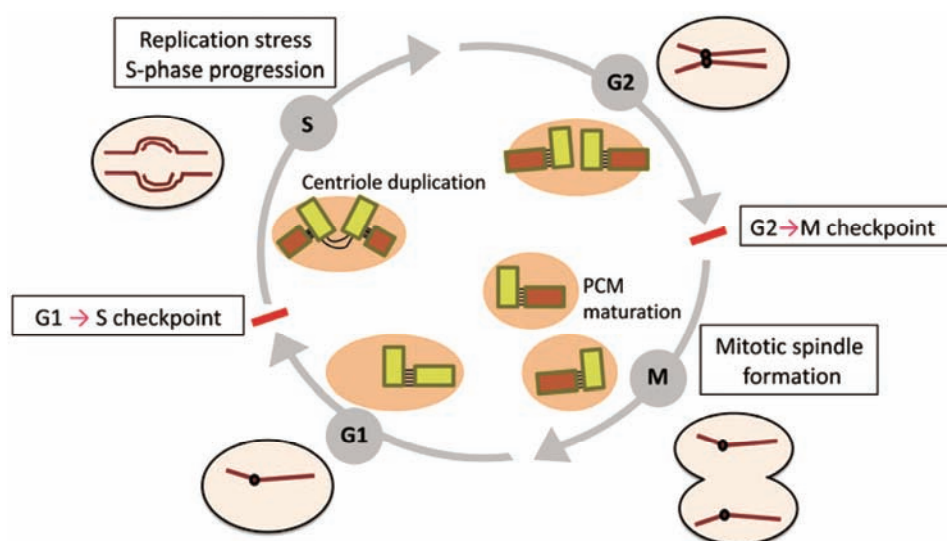


图5 (网络版彩色)细胞周期进程中中心体和基因组DNA复制的协调^[72]

Figure 5 (Color online) Coordination between centrosomal and DNA replication during cell cycle progress^[72]

释. 例如, 是什么分子启动了次胞质体的产生, 以作为激活 Plk4 和招募轮状体蛋白的平台? Deup1 和 CCDC78 是直接作用还是间接联系, 相互如何影响? 等. 这需要严谨的蛋白质组学等的分析^[54].

参考文献

- 1 Paintrand M, Moudjou M, Delacroix H, et al. Centrosome organization and centriole architecture: Their sensitivity to divalent cations. *J Struct Biol*, 1992, 108: 107–128
- 2 Salisbury J L. Centrin, centrosomes and mitotic spindle poles. *Curr Opin Cell Biol*, 1995, 7: 39–45
- 3 Sanders M A, Salisbury J L. Centrin mediated microtubule severing during flagellar excision in *Chlamydomonas reinhardtii*. *J Cell Biol*, 1989, 108: 1751–1760
- 4 Lavia P. The GTPase RAN regulates multiple steps of the centrosome life cycle. *Chromosome Res*, 2016, 24: 53–65
- 5 Cervenka I, Valnohova J, Bernatik O, et al. Dishevelled is a NEK2 kinase substrate controlling dynamics of centrosomal linker proteins. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2016, 113: 9304–9309
- 6 Grimison B, Liu J, Maller J L. Metaphase arrest by Cyclin E-Cdk2 requires the spindle-checkpoint kinase Mps1. *Curr Biol*, 2006, 16: 1968–1973
- 7 Gudi R, Haycraft C J, Bell P D, et al. Centrobin-mediated regulation of the centrosomal protein 4.1-associated protein (CPAP) level limits centriole length during elongation stage. *J Biol Chem*, 2015, 290: 6890–6902
- 8 Fujita H, Yoshino Y, Chiba N. Regulation of the centrosome cycle. *Mol Cell Oncol*, 2015, 3: e1075643
- 9 Huang B, Shang Z F, Li B, et al. DNA-PKcs associates with PLK1 and is involved in proper chromosome segregation and cytokinesis. *J Cell Biochem*, 2014, 115: 1077–1088
- 10 Kim S H, Park E R, Joo H Y, et al. RRM1 maintains centrosomal integrity via CHK1 and CDK1 signaling during replication stress. *Cancer Lett*, 2014, 346: 249–256
- 11 Chen T Y, Syu J S, Lin T C, et al. Chloroquine alleviates etoposide-induced centrosome amplification by inhibiting CDK2 in adrenocortical tumor cells. *Oncogenesis*, 2015, 4: e180
- 12 Kuhn E, Wang T L, Doberstein K, et al. CCNE1 amplification and centrosome number abnormality in serous tubal intraepithelial carcinoma: Further evidence supporting its role as a precursor of ovarian high-grade serous carcinoma. *Mod Pathol*, 2016, 29: 1254–1261
- 13 Mukhopadhyay A, Sehgal L, Bose A, et al. 14-3-3 γ prevents centrosome amplification and neoplastic progression. *Sci Rep*, 2016, 6: 26580
- 14 Hou C L, Zhang Z H, Huang D L, et al. LiCl suppresses tumor growth and inhibits DNA replication in prostate cancer. *Chin J Pathol*, 2012, 41: 475–478
- 15 Prosser S L, Samant M D, Baxter J E, et al. Oscillation of APC/C activity during cell cycle arrest promotes centrosome amplification. *J Cell Sci*, 2012, 125: 5353–5368
- 16 Tsou M F, Wang W J, George K A, et al. Polo kinase and Separase regulate the mitotic licensing of centriole duplication in human cells. *Dev Cell*, 2009, 17: 344–354
- 17 Schockel L, Mockel M, Mayer B, et al. Cleavage of cohesin rings coordinates the separation of centrioles and chromatids. *Nat Cell Biol*, 2011, 13: 966–972
- 18 Nakamura A, Arai H, Fujita N. Centrosomal Aki1 and cohesin function in Separase-regulated centriole disengagement. *J Cell Biol*, 2009, 187: 607–614
- 19 Loncarek J, Hergert P, Khodjakov A. Centriole reduplication during prolonged interphase requires procentriole maturation governed by Plk1. *Curr Biol*, 2010, 20: 1277–1282
- 20 Wang W J, Soni R K, Uryu K, et al. The conversion of centrioles to centrosomes: Essential coupling of duplication with segregation. *J Cell Biol*, 2011, 193: 727–739
- 21 Kong D, Farmer V, Shukla A, et al. Centriole maturation requires regulated Plk1 activity during two consecutive cell cycles. *J Cell Biol*, 2014, 206: 855–865
- 22 Zimmerman W C, Sillibourne J, Rosa J, et al. Mitosis-specific anchoring of gamma tubulin complexes by pericentrin controls spindle organization and mitotic entry. *Mol Biol Cell*, 2004, 15: 3642–3657
- 23 Tibelius A, Marhold J, Zentgraf H, et al. Microcephalin and pericentrin regulate mitotic entry via centrosome-associated Chk1. *J Cell Biol*, 2009, 185: 1149–1157
- 24 Jurczyk A, Gromley A, Redick S, et al. Pericentrin forms a complex with intraflagellar transport proteins and polycystin-2 and is required for primary cilia assembly. *J Cell Biol*, 2004, 166: 637–643

- 25 Haren L, Remy M H, Bazin I. NEDD1-dependent recruitment of the gamma-tubulin ring complex to the centrosome is necessary for centriole duplication and spindle assembly. *J Cell Biol*, 2006, 172: 505–515
- 26 Manning J A, Shalini S, Risk J M, et al. A direct interaction with NEDD1 regulates gamma-tubulin recruitment to the centrosome. *PLoS One*, 2010, 5: e9618
- 27 Kim J, Lee K, Rhee K. PLK1 regulation of PCNT cleavage ensures fidelity of centriole separation during mitotic exit. *Nat Commun*, 2015, 6: 10076
- 28 Lee K, Rhee K. PLK1 phosphorylation of pericentrin initiates centrosome maturation at the onset of mitosis. *J Cell Biol*, 2011, 195: 1093–1101
- 29 Mullee L I, Morrison C G. Centrosomes in the DNA damage response-the hub outside the centre. *Chromosome Res*, 2016, 24: 35–51
- 30 Mardin B R, Schiebel E. Breaking the ties that bind: New advances in centrosome biology. *J Cell Biol*, 2012, 197: 11–18
- 31 Bertran MT, Sdelci S, Regue L, et al. Nek9 is a Plk1-activated kinase that controls early centrosome separation through Nek6/7 and Eg5. *EMBO J*, 2011, 30: 2634–2647
- 32 Baumann C, Körner R, Hofmann K, et al. PICH, a centromere-associated SNF2 family ATPase, is regulated by Plk1 and required for the spindle checkpoint. *Cell*, 2007, 128: 101–114
- 33 Sridharan V, Azuma Y. SUMO-interacting motifs (SIMs) in Polo-like kinase 1-interacting checkpoint helicase (PICH) ensure proper chromosome segregation during mitosis. *Cell Cycle*, 2016, 26: 1–10
- 34 Kaulich M, Cubizolles F, Nigg E A. On the regulation, function, and localization of the DNA-dependent ATPase PICH. *Chromosoma*, 2012, 121: 395–408
- 35 Nielsen C F, Huttner D, Bizard A H, et al. PICH promotes sister chromatid disjunction and co-operates with topoisomerase II in mitosis. *Nat Commun*, 2015, 6: 8962
- 36 Mandal R, Strebhardt K. Plk1: Unexpected roles in DNA replication. *Cell Res*, 2013, 23: 1251–1253
- 37 Shen M, Cai Y, Yang Y, et al. Centrosomal protein FOR20 is essential for S-phase progression by recruiting Plk1 to centrosomes. *Cell Res*, 2013, 23: 1284–1295
- 38 Archambault V, Lepine G, Kachaner D. Understanding the Polo kinase machine. *Oncogene*, 2015, 34: 4799–4807
- 39 Qi W, Tang Z, Yu H. Phosphorylation-and Polo-box-dependent binding of Plk1 to Bub1 is required for the kinetochore localization of Plk1. *Mol Biol Cell*, 2006, 17: 3705–3716
- 40 Elowe S, Hummer S, Uldschmid A, et al. Tension-sensitive Plk1 phosphorylation on BubR1 regulates the stability of kinetochore microtubule interactions. *Genes Dev*, 2007, 21: 2205–2219
- 41 Jia L, Li B, Yu H. The Bub1-Plk1 kinase complex promotes spindle checkpoint signalling through Cdc20 phosphorylation. *Nat Commun*, 2016, 7: 10818
- 42 Jang Y J, Ma S, Terada Y, et al. Phosphorylation of threonine 210 and the role of serine 137 in the regulation of mammalian Polo-like kinase. *J Biol Chem*, 2002, 277: 44115–44120
- 43 Seki A, Coppinger J A, Jang C Y, et al. Bora and the kinase Aurora a cooperatively activate the kinase Plk1 and control mitotic entry. *Science*, 2008, 320: 1655–1658
- 44 Macurek L, Lindqvist A, Lim D, et al. Polo-like kinase-1 is activated by Aurora a to promote checkpoint recovery. *Nature*, 2008, 455: 119–123
- 45 Thomas Y, Cirillo L, Panbianco C, et al. Cdk1 phosphorylates SPAT-1/Bora to promote Plk1 activation in *C. elegans* and human cells. *Cell Rep*, 2016, 15: 510–518
- 46 Shukla A, Kong D, Sharma M, et al. Plk1 relieves centriole block to reduplication by promoting daughter centriole maturation. *Nat Commun*, 2015, 6: 8077
- 47 Wei Y, Shen E, Zhao N, et al. Identification of a novel centrosomal protein CrpF46 involved in cell cycle progression and mitosis. *Exp Cell Res*, 2008, 314: 1693–1707
- 48 Rühnick D, Schiebel E. Duplication of the yeast spindle pole body once per cell cycle. *Mol Cell Biol*, 2016, 36: 1324–1331
- 49 Burns S, Avena J S, Unruh J R, et al. Structured illumination with particle averaging reveals novel roles for yeast centrosome components during duplication. *Elife*, 2015, 4: e08586
- 50 Moyer T C, Clutario K M, Lambrus B G, et al. Binding of STIL to Plk4 activates kinase activity to promote centriole assembly. *J Cell Biol*, 2015, 209: 863–878
- 51 Arquint C, Gabryjonczyk A M, Imseng S, et al. STIL binding to Polo-box 3 of PLK4 regulates centriole duplication. *Elife*, 2015, 4: e07888
- 52 Tang T K. Centriole biogenesis in multiciliated cells. *Nat Cell Biol*, 2013, 15: 1400–1402
- 53 Zhao H, Zhu L, Zhu Y, et al. The Cep63 paralogue Deup1 enables massive *de novo* centriole biogenesis for vertebrate multiciliogenesis. *Nat Cell Biol*, 2013, 15: 1434–1444

- 54 Nigg E A, Raff J W. Centrioles, centrosomes, and cilia in health and disease. *Cell*, 2009, 139: 663–678
- 55 Yamashita Y M, Mahowald A P, Perlin J R, et al. Asymmetric inheritance of mother versus daughter centrosome in stem cell division. *Science*, 2007, 315: 518–521
- 56 Tajbakhsh S, Gonzalez C. Biased segregation of DNA and centrosomes: Moving together or drifting apart? *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2009, 10: 804–810
- 57 Tan T, Chen Z, Lei Y, et al. A regulatory effect of INMAP on centromere proteins: Antisense INMAP induces CENP-B variation and centromeric halo. *PLoS One*, 2014, 9: e91937
- 58 Zhu Y, Lei Y, Du B C, et al. INMAP overexpression inhibits cell proliferation, induces genomic instability and functions through p53/p21 pathways. *PLoS One*, 2015, 10: e0115704
- 59 Chuang L S, Lai S K, Murata-Hori M, et al. RUNX3 interactome reveals novel centrosomal targeting of RUNX family of transcription factors. *Cell Cycle*, 2012, 11: 1938–1947
- 60 Yamauchi Y, Boukari H, Banerjee I, et al. Histone deacetylase 8 is required for centrosome cohesion and influenza A virus entry. *PLoS Pathog*, 2011, 7: e1002316
- 61 Keck J M, Jones M H, Wong C C, et al. A cell cycle phosphoproteome of the yeast centrosome. *Science*, 2011, 332: 1557–1561
- 62 Cunha-Ferreira I, Rodrigues-Martins A, Bento I, et al. The SCF/Slimb ubiquitin ligase limits centrosome amplification through degradation of SAK/PLK4. *Curr Biol*, 2009, 19: 43–49
- 63 Puklowski A, Homsy Y, Keller D, et al. The SCF-FBXW5 E3-ubiquitin ligase is regulated by PLK4 and targets HsSAS-6 to control centrosome duplication. *Nat Cell Biol*, 2011, 13: 1004–1009
- 64 Vora S M, Phillips B T. The benefits of local depletion: The centrosome as a scaffold for ubiquitin-proteasome-mediated degradation. *Cell Cycle*, 2016, 15: 2124–2134
- 65 Kimura H, Miki Y, Nakanishi A. Centrosomes at M phase act as a scaffold for the accumulation of intracellular ubiquitinated proteins. *Cell Cycle*, 2014, 13: 1928–1937
- 66 Wang W J, Acehan D, Kao C H, et al. *De novo* centriole formation in human cells is error-prone and does not require SAS-6 self-assembly. *Elife*, 2015, 4: e10586
- 67 Novak Z A, Wainman A, Gartenmann L, et al. Cdk1 phosphorylates *Drosophila* Sas-4 to recruit Polo to daughter centrioles and convert them to centrosomes. *Dev Cell*, 2016, 37: 545–557
- 68 Zitouni S, Francia M E, Leal F, et al. CDK1 prevents unscheduled PLK4-STIL complex assembly in centriole biogenesis. *Curr Biol*, 2016, 26: 1127–1137
- 69 Lambrus B G, Uetake Y, Clutario K M, et al. p53 protects against genome instability following centriole duplication failure. *J Cell Biol*, 2015, 210: 63–77
- 70 Zhang Y, Galardy P J. Ubiquitin, the centrosome, and chromosome segregation. *Chromosome Res*, 2016, 24: 77–91
- 71 Kodani A, Yu T W, Johnson J R, et al. Centriolar satellites assemble centrosomal microcephaly proteins to recruit CDK2 and promote centriole duplication. *Elife*, 2015, 4: e07519
- 72 Klingseisen A, Jackson A P. Mechanisms and pathways of growth failure in primordial dwarfism. *Gene Dev*, 2011, 25: 2011–2024



梁前进

北京师范大学生命科学院遗传与发育生物学系主任。从事细胞增殖、遗传和进化等科研、教学工作，主编遗传学教材，参编细胞生物学教材，获北京市教学成果奖。兼任《中国大百科全书》(第2版)细胞生物学分支主编。揭示了有丝分裂磷酸化新模式，研究了女性X染色体失活的特异甲基化及其与肿瘤的关系；揭示了一种能稳定着丝粒的纺锤体蛋白在有丝分裂调控中的作用，发现了一种调控细胞运动和胞质分裂的中心体蛋白等。

Organellar replication that is independent of DNA: Unscrambling the autonomous centrosomal replication

LIANG QianJin

Key Laboratory of Cell Proliferation and Regulation Biology of Ministry of Education, Beijing Key Laboratory of Gene Resource and Molecular Development, College of Life Sciences, Beijing Normal University, Beijing 100875, China
E-mail: Lqj@bnu.edu.cn

There are many mysteries to be solved for the mechanisms that endow the ability for cellular components to replicate themselves on strict conditions. In the cytoplasm of animals and lower plants, there is a sort of non-membranous organelles, centrosome, within the middle of Golgi complex, having obtained its name because of being close to the center of the cell. Centrosome is the inner active center during cell division and, as the microtubule organizing center, playing roles in coordinating microtubule dynamics and regulating G1/S and G2/M phase transition. In centrosomal cycle, converging of paired (mother and daughter) centrioles hinders their reduplication, the two centrioles mutually detach in telophase of the mitosis. In G1/S phase transition, a new pre-centriole structure forms nearby the mother centriole. As an organelle which aids paired chromosomes to be pulled apart, centrosomes, and other organelles, autonomously finish replication on their own time without DNA's guidance. This independence still remains to be further explained. This study, through a lot of fruits, especially the recent progress, in the study related to centrosome replication and centrosomal cycle, unscrambles this independence. This interpretation shows four main arguments: (i) The “independence” of centrosome replication is based on the upstream overview unity of control it shares with DNA replication-genetic material stability, so it is “independence” but not isolated or rootless. Proteins such as Plk1, Cyclins and 14-3-3 represent the consensus elements between centrosomal cycle and DNA cycle regulation, and play pivotal roles in the whole activities of cell cycle. (ii) Multi-functional core regulators, such as Plk1 kinase, and relevant molecular composite structures coordinate centrosomal cycle and chromosomal/DNA cycle. The correlation between centrosome and genetic structure can be understood that, when DNA is damaged, centrosomes will commonly amplify, and this amplification is Plk1 and Separase dependent. (iii) The starting-stopping modes for structure formation and conversion similar to “inductive switch” precisely control centrosomal replication and its cycle. As long as reasonable oscillation of Cdk1 and Cdc14 activities is achieved, a functional mechanism like clock spring will be formed, which controls the ON/OFF conditions of Stif1-Centrin receiver and ensuring SPB (spindle polar body) replicates only once per cell cycle. (iv) The regulation of centrosomal structure replication and the relevant cycle regulation differentiate and adapt in common schema, with unitive basis, this is a typical example for specialized functional structures being generated by interlocking and multipath processes. In addition, in the regulation of centrosomal replication and cycle that coordinates with DNA replication, there also are a lot of regulatory links, such as epigenetic regulation. Studies revealed that centrosomes, as a temporary skeleton of ubiquitinated proteins, provide the regulatory platform for their own function and integrity, associating with the whole cellular life, and the most importance of the ubiquitination and sumoylation of the complex regulation net that ensuring the normal centrosomal amount and position is making the spindle fibers the centrosomes produce to adapt to the efficient catching by the kinetochores on each chromosome. The disorder of centrosome replication may lead to diseases. For example, centrosome satellite proteins (except CCDC14) and MCPH proteins may recruit Cdk2 onto centrosomes and promote centriole duplication, abnormality/deficiency of MCPH proteins (Cdk5RAP2, Cep152, WDR62 and Cep63) contributes to primary microcephaly. Of course, the reaction cascade for the accurate replication of special organelles needs interlocking molecular regulatory chains, and there still be so many problems remain further interpreting.

centrosome, centriole, organelle, centrosomal replication, centrosomal cycle, cell cycle

doi: 10.1360/N972016-00916