

Ndc80 复合体在外层动粒中的作用

邢雪琨^{①②} 徐存拴^{②③*}

(① 新疆大学生命科学与技术学院 乌鲁木齐 830046; ② 河南师范大学细胞分化调控重点实验室 新乡 453007; ③ 河南师范大学生命科学学院 新乡 453007)

摘要:动粒是参与有丝分裂过程中染色体分离的蛋白的附着支架。结构保守的 Ndc80 复合体位于动粒的外层,连接动粒和微管,与动粒-微管连接的稳定性有关。Aurora B/Ipl1 激酶参与纠正动粒-微管的错误连接。Ndc80 复合体对纺锤体组装检查点的功能非常重要。本文主要介绍了 Ndc80 复合体的研究进展。

关键词: Ndc80 复合体; 动粒; 微管; 染色体; 纺锤体组装检查点

中图分类号:Q952 文献标识码:A 文章编号:0250-3263(2010)03-176-05

Functions of Ndc80 Complex in Outer Kinetochores

XING Xue-Kun^{①②} XU Cun-Shuan^{②③*}

(① *College of Life Science and Technology, Xinjiang University, Urumqi 830046;*
② *Key Laboratory for Cell Differentiation Regulation, Henan Normal University, Xinxiang 453007;*
③ *College of Life Science, Henan Normal University, Xinxiang 453007, China*)

Abstract: Kinetochores are protein scaffolds coordinating the process of chromosome segregation in mitosis. The conserved Ndc80 complex is located on outer kinetochores to connect kinetochores with microtubules, and to stabilize the microtubule-kinetochore attachment. Aurora B/Ipl1 kinase parties involved in correcting the attachment errors. Ndc80 complex is also essential for the functions of spindle assembly checkpoint. This article reviews the current progress in Ndc80 complex studies.

Key words: Ndc80 complex; Kinetochores; Microtubule; Chromosome; Spindle assembly checkpoint

有丝分裂是真核生物细胞分裂的基本形式。细胞分裂过程中姐妹染色单体的均等分离是生物生长和繁殖的基础。在有丝分裂的前中期,纺锤体微管中的动粒微管“捕获”染色体上的动粒,将染色体排列在赤道板上,后期时动粒微管解聚缩短,将染色体拉向两极。纺锤体微管与动粒的正确连接确保了姐妹染色单体均等地分配给 2 个子代细胞。

1 Ndc80 复合体的结构

Ndc80 复合体位于动粒的外层,连接动粒和微管。Ndc80 复合体包括 4 个亚单位:Ndc80 (人类的同源基因为 Hec1)、Nuf2、Spc24 和

Spc25,它们在生物进化上高度保守。Ndc80 复合体成分的缺失会影响动粒-微管的连接和染色体分离^[1-4]。

在体外,Ndc80 复合体 4 个亚基经过多次纯化依旧紧密相连,表明它们相互以高亲和力和结合^[5]。这 4 个亚单位组装成一个哑铃状结构,哑铃的中间部分控制着每个亚单位的卷曲-卷曲结构^[6]。Ndc80 复合体的 4 个亚单位形成

基金项目 国家 973 项目前期研究专项(No. 2006CB708506);

* 通讯作者 E-mail: xues@x263.net;

第一作者介绍 邢雪琨,女,博士研究生;研究方向:肝再生的分子机理;E-mail: biyingxiao@yahoo.com.cn。

收稿日期:2009-10-28,修回日期:2010-02-26

两个亚复合体:Ndc80-Nuf2 和 Spc24-Spc25。每一个亚复合体都包括球形的头部和卷曲-卷曲结构,不过顺序相反。Ndc80 复合体可能与动粒的外表面垂直,它能穿过动粒的中间层, Spc24-Spc25 亚复合体伸出的球形头部朝着丝粒,而 Ndc80-Nuf2 亚复合体朝向微管,它与 α/β 微管蛋白异二聚体相互作用,其中 Ndc80 的球形头部紧密地与微管二聚体的接触面结合,这种结构能稳定动粒与微管的连接,并与微管极性有关^[7]。Holmstrom 等研究发现 Ndc80 复合体能够在动粒外组装。他们将 Ndc80 和 Spc24 通过氨基酸末端棕榈酰化与豆蔻酰化连接起来,在有丝分裂早期的细胞中,这种融合蛋白位于质膜,它能募集所有的 Ndc80 复合体成分(Ndc80、Nuf2、Spc24 和 Spc25),而在中期的细胞中,只能募集 Ndc80-Nuf2 亚复合体与 Spc24-Spc25 亚复合体到质膜上。这种动粒外组装需要辅因子,而辅因子只存在于有丝分裂的细胞中^[8]。

Ndc80 N 末端球形区域折叠成钙调蛋白同源物(CH)区域^[9]。CH 区域也存在于微管结合蛋白 EB1 上^[10]。Ndc80 的 CH 区域可能与 EB1 的 CH 区域相互作用,促进动粒与微管的高亲和力结合。Ndc80 N 末端对高亲和力的动粒-微管结合是必需的^[9]。这也是 Aurora B/Ipl1 激酶的调节部位^[11]。Miller 等在体外研究发现 Ndc80 N 末端足以保证动粒-微管的高亲和力结合,并且这种结合受盐离子影响。当微管末端缺少负电荷时,带正电荷的 Ndc80 N 末端将无法与微管结合^[12]。Guimaraes 等还发现 Ndc80 N 末端的 80 个氨基酸非常重要,即使突变 Ndc80 N 末端的 9 个氨基酸,由于降低了此处的正电荷,也会影响动粒-微管结合的稳定性。此实验也说明了动粒-微管结合的稳定性与它们之间的电荷相互作用有很大的关系^[13]。

2 Ndc80 复合体与动粒和微管的连接

Ndc80 复合体与其他的一些动粒蛋白和蛋白复合体相互作用,包括 KNL1/Spc105、Zwint-1、Mtw1/Mis12 复合体(也叫 MIND 复合体)和

Ctf19 复合体(也叫 COMA 复合体)。除了 Zwint-1,这些蛋白和蛋白复合体在所有的真核生物中都是保守的。Ndc80 复合体与 KNL1/Spc105、Mtw1/Mis12 复合体的相互作用尤为重要,它们协同作用增强与微管结合的活性。这些蛋白质组成的复合体叫做 KMN 网络(KNL1/Spc105、Mtw1/Mis12 复合体和 Ndc80 复合体)^[14-15]。KNL1/Spc105 也包含一个微管结合区域,它直接参与与微管连接。KNL1/Spc105 可能对染色体分离和 Ndc80 复合体在动粒上的定位是必需的^[16]。它与 Ndc80 复合体的相互作用对形成一个高亲和力的微管结合部位尤其重要。Mtw1/Mis12 复合体对染色体的分离是必需的,人类的 Mis12 还与着丝粒异染色质成分 HP1 形成稳定的复合体,在有丝分裂中 HP1 可能是 Mtw1/Mis12 复合体的附着支架, Mtw1/Mis12 复合体通过卷曲-卷曲结构与外层的 Zwint-1 相互作用^[17]。

Ndc80 复合体的缺失并不能完全阻碍动粒-微管的结合。但是没有 Ndc80 复合体的结合是不稳定的,会使染色体凝集和分离失去支撑。除了 Ndc80 复合体,其他一些蛋白,如 Bik1/CLIP170、Bim1/EB1、Stu2/ch-TOG、CENP-E、Kar3p、Spindly、Ybp2、Lisl 和 Ndel1 也参与微管结合活动^[18],它们可能在动粒-微管紧密结合的不同方面发挥作用。Stu2 是微管相关蛋白 XMAP215/Dis1 家族成员,调节纺锤体定位和中期染色体成线性排列中的微管活动。Ma 等发现在细胞周期的早期 Spc24 募集 Stu2,并帮助其定位于动粒上,当使用 DNA 复制抑制剂羟基脲使细胞处于 S 期时,它们能保持纺锤体的完整性,阻止复制不完全的 DNA 分离。如果 Spc24 发生突变,导致 Stu2 的不正确定位,将使不成熟的纺锤体膨胀,引起细胞死亡^[19]。Ohkuni 等研究发现 Ybp2 与 Ctf19 复合体、Ndc80 复合体的 Ndc80、Nuf2 和 Spc25 在动粒的位置上临近,可能在染色体的正确分离中发挥作用^[20]。研究清楚 KMN 网络成分是如何相互调控,及其与其他微管结合蛋白是如何相互作用将非常重要。

3 动粒和微管结合的调节蛋白

染色体乘客复合体 (chromosomal passenger complex, CPC) 包括 Aurora B/Ipl1 激酶、着丝粒中心蛋白 (inner centromere protein, INCENP)、存活素 (survivin) 和 Borealin (也叫 Dasra, CSC-1), 它们在有丝分裂过程中扮演着重要的角色, 涉及纺锤体形成、染色体排列、姊妹染色单体分离、纺锤体检查点信号及胞质分裂等多种重要功能^[21]。其中, Aurora B/Ipl1 激酶属于丝-苏氨酸激酶家族成员, 是 CPC 的核心激酶, 被认为是动粒-微管结合的主要调节因子^[22], 能磷酸化调节动粒上的底物, 此过程依赖于底物与激酶的距离^[23]。当 Aurora B/Ipl1 激酶靠近动粒时, 动粒上的底物被磷酸化, 磷酸化使底物与微管结合的亲和力降低, 动粒-微管结合变得不稳定^[23]。Aurora B/Ipl1 激酶控制着微管马达蛋白-有丝分裂着丝点相关驱动蛋白 (mitotic centromere associated kinesin, MCAK) 的定位和激活^[24]。Aurora B/Ipl1 激酶可以感应动粒上不平衡的拉力, 激活 MCAK, 使错误的动粒-微管结合变得不稳定而松开^[25-26]。对于 Aurora B/Ipl1 激酶如何识别错误的结构还有待于以后的研究。

Aurora B/Ipl1 激酶通过磷酸化一种重要的微管结合蛋白 Dam1, 进而发挥其调控动粒-微管结合作用。在有丝分裂的 S 期, Aurora B/Ipl1 激酶磷酸化 Dam1 的程度最高, 而中期时最低。当姊妹染色单体与微管一极结合时, Aurora B/Ipl1 激酶磷酸化 Dam1, 有利于动粒-微管结构的翻转。一旦这种结构形成, 动粒上就会产生拉力, Aurora B/Ipl1 激酶又去磷酸化 Dam1, 终止翻转, 稳定动粒-微管结构^[27]。

癌蛋白 18 (oncoprotein 18, Op18) 是一种微管解聚蛋白, 参与多种涉及微管动力学变化的信号通路。Op18 被 Aurora B/Ipl1 激酶磷酸化后, 其微管解聚功能受到抑制^[28]。

Ndc80 复合体是 Aurora B/Ipl1 激酶重要的靶位点。Aurora B/Ipl1 激酶磷酸化 Ndc80 亚单位的 N 末端, 显著降低其与微管结合的亲和

力, 可能通过降低氨基酸末端的正电荷实现。用 Aurora B/Ipl1 激酶的小分子抑制剂抑制 Aurora B/Ipl1 激酶磷酸化 Ndc80 复合体会增加动粒-微管结合的稳定性^[29]。

4 Ndc80 复合体与纺锤体组装检查点

纺锤体组装检查点 (spindle assembly checkpoint SAC) 也叫中-后期检查点, 是有丝分裂中重要的控制元件, 其作用是监控纺锤体组装及与染色体的不正确连接, 在有丝分裂中期引起细胞周期阻滞, 以阻止有丝分裂后期启动、胞质分裂和 DNA 再复制, 具有确保染色体信息传递保真性的作用。检查点的缺失可能导致染色体的分离异常。

Ndc80 复合体能募集 SAC 蛋白 Mad1、Mad2 和 Mps1 到动粒上。在未形成稳定的动粒-微管结构前, Ndc80 和 Nuf2 还能防止 Mad1 和 Mad2 从动粒上脱落^[2]。在酿酒酵母中, Mps1 与 Ndc80 N 末端的 1~257 位氨基酸相互作用, 在体外和体内都有利于 Ndc80 N 末端的磷酸化。如果将第 14 个磷酸化位点突变为天冬氨酸会导致中期停止。所以 Mps1 依赖的 Ndc80 磷酸化对 SAC 信号通路的激活是重要的^[30]。

Mitch 是在果蝇中发现的另一种重要的动粒蛋白, 可能属于 Ndc80 复合体中的 Spc24 或 Spc25 亚单位的同源物。用 RNAi 技术敲低 Mitch 水平的细胞经过秋水仙素处理后, 姊妹染色单体会过早地分开, 细胞分裂结束。Mitch 突变后会扰乱染色体的行为, 染色体过度凝集, 不能正确地排列在赤道板上, 后期不均等分配, 出现非整倍体, 或整个染色体只移向纺锤体的一极。推测 Mitch 可能参与了 SAC 信号通路。尽管这个基因功能非常重要, 但是发现它即使在果蝇这个物种中进化都很快^[31]。

总之, Ndc80 复合体与纺锤体组装检查点有密切的关系。弄清 Ndc80 复合体与 Mad1、Mad2 和 Mps1 的作用方式对了解 SAC 的信号调控非常重要。

5 结语与展望

虽然大量研究表明,Ndc80 复合体是动粒-微管结合过程的主要参与者,但仍有许多问题尚未明了。目前迫切需要弄清 Ndc80 复合体与 KMN 网络的其他成员如 KNL1/Spc105 和 Mtw1/Mis12 复合体的相互作用方式。与 Ndc80 复合体有关的蛋白-蛋白相互作用中,Ndc80 复合体和核孔复合体(NPC)的联系仍然知之甚少。明白 Ndc80 复合体(或 KMN 网络)与内层动粒的相互作用也很重要。Ndc80 复合体的调节还有很多需要研究。明白 Aurora B/Ipl1 激酶如何调节动粒-微管的结合过程,有利于进一步了解其怎样纠正错误的连接。

参 考 文 献

- [1] DeLuca J G , Dong Y , Hergert P , et al. Hec1 and nuf2 are core components of the kinetochore outer plate essential for organizing microtubule attachment sites. *Mol Biol Cell* , 2005 , 16 (2) : 519 - 531.
- [2] DeLuca J G , Howell B J , Canman J C , et al. Nuf2 and Hec1 are required for retention of the checkpoint proteins Mad1 and Mad2 to kinetochores. *Curr Biol* , 2003 , 13 (23) : 2103 - 2109.
- [3] McClelland M L , Kallio M J , Barrett-Wilt G A , et al. The vertebrate Ndc80 complex contains Spc24 and Spc25 homologs , which are required to establish and maintain kinetochore-microtubule attachment. *Curr Biol* , 2004 , 14 (2) : 131 - 137.
- [4] Bharadwaj R , Qi W , Yu H. Identification of two novel components of the human NDC80 kinetochore complex. *J Biol Chem* , 2004 , 279 (13) : 13076 - 13085.
- [5] Ciferri C , De Luca J , Monzani S , et al. Architecture of the human ndc80-hec1 complex , a critical constituent of the outer kinetochore. *J Biol Chem* , 2005 , 280 (32) : 29088 - 29095.
- [6] Wang H W , Long S , Ciferri C , et al. Architecture and flexibility of the yeast Ndc80 kinetochore complex. *J Mol Biol* , 2008 , 383 (4) : 894 - 903.
- [7] Wilson-Kubalek E M , Cheeseman I M , Yoshioka C , et al. Orientation and structure of the Ndc80 complex on the microtubule lattice. *J Cell Biol* , 2008 , 182 (6) : 1055 - 1061.
- [8] Holmstrom T H , Rehnberg J , Ahonen L J , et al. Ectopic expression of plasma membrane targeted subunits of the Ndc80-complex as a tool to study kinetochore biochemistry. *Mol Oncol* , 2009 , [Epub ahead of print].
- [9] Wei R R , Al-Bassam J , Harrison S C. The Ndc80/HEC1 complex is a contact point for kinetochore-microtubule attachment. *Nat Struct Mol Biol* , 2007 , 14 (1) : 54 - 59.
- [10] Bellett G , Carter J M , Keynton J , et al. Microtubule plus-end and minus-end capture at adherens junctions is involved in the assembly of apico-basal arrays in polarised epithelial cells. *Cell Motil Cytoskeleton* , 2009 , 66 (10) : 893 - 908.
- [11] Ciferri C , Pasqualato S , Screpanti E , et al. Implications for kinetochore-microtubule attachment from the structure of an engineered Ndc80 complex. *Cell* , 2008 , 133 (3) : 427 - 439.
- [12] Miller S A , Johnson M L , Stukenberg P T. Kinetochore attachments require an interaction between unstructured tails on microtubules and Ndc80 (Hec1). *Curr Biol* , 2008 , 18 (22) : 1785 - 1791.
- [13] Guimaraes G J , Dong Y , McEwen B F , et al. Kinetochore-microtubule attachment relies on the disordered N-terminal tail domain of Hec1. *Curr Biol* , 2008 , 18 (22) : 1778 - 1784.
- [14] Wan X , O' Quinn R P , Pierce H L , et al. Protein architecture of the human kinetochore microtubule attachment site. *Cell* , 2009 , 137 (4) : 672 - 684.
- [15] Cheeseman I M , Chappie J S , Wilson-Kubalek E M , et al. The conserved KMN network constitutes the core microtubule-binding site of the kinetochore. *Cell* , 2006 , 127 (5) : 983 - 997.
- [16] Cheeseman I M , Hori T , Fukagawa T , et al. KNL1 and the CENP-H/I/K complex coordinately direct kinetochore assembly in vertebrates. *Mol Biol Cell* , 2008 , 19 (2) : 587 - 594.
- [17] Obuse C , Iwasaki O , Kiyomitsu T , et al. A conserved Mis12 centromere complex is linked to heterochromatic HP1 and outer kinetochore protein Zwint-1. *Nat Cell Biol* , 2004 , 6 (11) : 1135 - 1141.
- [18] Chan Y W , Fava L L , Uldschmid A , et al. Mitotic control of kinetochore-associated dynein and spindle orientation by human Spindly. *J Cell Biol* , 2009 , 185 (5) : 859 - 874.
- [19] Ma L , McQueen J , Cuschieri L , et al. Spc24 and Stu2 promote spindle integrity when DNA replication is stalled. *Mol Biol Cell* , 2007 , 18 (8) : 2805 - 2816.
- [20] Ohkuni K , Abdulle R , Tong A H , et al. Ybp2 associates with the central kinetochore of *Saccharomyces cerevisiae* and mediates proper mitotic progression. *PLoS ONE* ,

- 2008, 3(2): e1617.
- [21] Sampath S C, Ohi R, Leismann O, et al. The chromosomal passenger complex is required for chromatin-induced micro-tubule stabilization and spindle assembly. *Cell*, 2004, 118(2): 187–202.
- [22] Liu D, Lampson M A. Regulation of kinetochore-microtubule attachments by Aurora B kinase. *Biochem Soc Trans*, 2009, 37(5): 976–980.
- [23] Liu D, Vader G, Vromans M J, et al. Sensing chromosome bi-orientation by spatial separation of aurora B kinase from kinetochore substrates. *Science*, 2009, 323(5919): 1350–1353.
- [24] Knowlton A L, Vorozhko V V, Lan W, et al. ICIS and Aurora B coregulate the microtubule depolymerase Kif2a. *Curr Biol*, 2009, 19(9): 758–763.
- [25] Kelly A E, Funabiki H. Correcting aberrant kinetochore microtubule attachments: an Aurora B-centric view. *Curr Opin Cell Biol*, 2009, 21(1): 51–58.
- [26] Kang J, Yu H. Kinase signaling in the spindle checkpoint. *J Biol Chem*, 2009, 284(23): 15359–15363.
- [27] Keating P, Rachidi N, Tanaka T U, et al. Ipl1-dependent phosphorylation of Dam1 is reduced by tension applied on kinetochores. *J Cell Sci*, 2009, 122(23): 4375–4382.
- [28] Gadea B B, Ruderman J V. Aurora B is required for mitotic chromatin-induced phosphorylation of Op18/Stathmin. *Proc Natl Acad Sci*, 2006, 103(12): 4493–4498.
- [29] Cimini D, Wan X, Hirel C B, et al. Aurora kinase promotes turnover of kinetochore microtubules to reduce chromosome segregation errors. *Curr Biol*, 2006, 16(17): 1711–1718.
- [30] Kemmler S, Stach M, Knapp M, et al. Mimicking Ndc80 phosphorylation triggers spindle assembly checkpoint signalling. *EMBO J*, 2009, 28(8): 1099–1110.
- [31] Williams B, Leung G, Maiato H, et al. Mitch a rapidly evolving component of the Ndc80 kinetochore complex required for correct chromosome segregation in *Drosophila*. *J Cell Sci*, 2007, 120(20): 3522–3533.

欢迎订阅《动物学杂志》

《动物学杂志》是中国科学院动物研究所、中国动物学会主办的科技期刊,亦是中國自然科学核心期刊。主要报道动物学领域的最新研究成果,介绍有创见的新思想、新学说、新技术、新方法。报道范围既有宏观生态研究,又有微观实验技术。报道层次既有科学前沿性、资料性的,也有技术性、知识性的。稿件内容涉及范围广,实用性强,主要栏目有:研究报告、珍稀濒危动物、技术与方法、研究简报和快讯、科技动态等等。读者对象为动物科学领域的研究、教学、技术、管理人员及广大业余爱好者。

《动物学杂志》双月刊,16开,112页,2010年每册定价35元,全年210元,国内外公开发行。国内邮发代号:2-422;国外发行代号(Code No.):BM58。全国各地邮局均可订阅。如未能在当地邮局订到,可与编辑部直接联系。本刊对在对学生及个人订户7折优惠(直接与编辑部联系订阅)。

地址:北京市朝阳区北辰西路1号院5号中国科学院动物研究所内《动物学杂志》编辑部

邮编:100101;电话:(010)64807162。

E-mail: journal@ioz.ac.cn。网址:bird.chinajournal.net.cn; dwxzz.ioz.ac.cn。

欢迎投稿、欢迎订阅、欢迎刊登广告。