

细胞周期分子机制的成功探索 —— 2001 年诺贝尔生理及医学奖部分工作介绍

兰 蕾 赫荣乔*

(中国科学院生物物理研究所, 脑与认知科学研究中心, 中国科学院视觉信息加工重点实验室, 北京 100101)

摘要 细胞周期是指连续分裂的细胞从一次有丝分裂结束到下一次有丝分裂完成所经历的整个序贯过程。在这一过程中, 细胞的遗传物质 (DNA) 经过复制平均分配到两个子细胞中。细胞周期中每一事件都是有规律、精确地发生, 并且在时间与空间上受到严格调控。细胞周期中最关键的三类调控因子是: *cdc* 基因、周期蛋白依赖性激酶 (CDKs) 及细胞周期蛋白 (cyclin)。这些调控因子的发现对肿瘤学及发育生物学的发展都有重要的理论和实践意义。

关键词 细胞周期, *cdc* 基因, 周期蛋白依赖性激酶, 细胞周期蛋白

学科分类号 Q253

细胞周期 (cell cycle) 是保证细胞正确增殖的过程, 对一个细胞而言, 在分裂过程中获得生存所必需的物质是最关键的环节, 尤其是合成遗传所需物质^[1]。细胞周期可划分为 4 个时相, 即 G1、S、G2 和 M 期。在 G1 期中, 细胞不断生长发育。当达到一定体积时, 细胞就会进入 DNA 合成 (S) 期, 细胞内遗传物质开始复制, 最终形成两套完整的染色体组 (chromosome set), 细胞便进入有丝分裂前的准备 (G2) 期。在有丝分裂 (M) 期, 染色体组分离、细胞质分裂, 两套染色体平均分配给两个子细胞, 从而完成一个细胞周期 (图 1)。

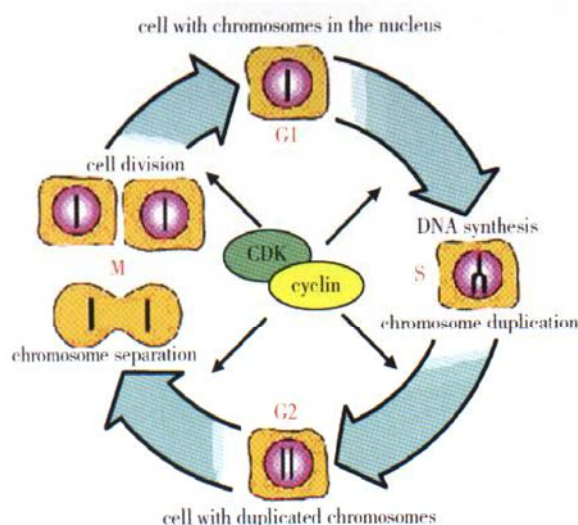


Fig 1 Four phases of cell cycle

图 1 细胞周期 4 个时相

(引自 http://www.nobel.se/medicine/laureates/2001/cellcycle_eng.jpg)

细胞分裂 (cell division) 是个体生长和生命延续的基本保证, 没有细胞分裂便谈不上生物的生存、遗传和进化。一个成年人大约有 10^{14} 个细胞, 其中, 大量细胞保持分裂状态以取代衰老细胞。细胞周期是细胞分裂的完整体现, 是生物学研究的重要内容。细胞周期的运转是一个有序的基因调控过程 (G1→S→G2→M), 这是与细胞周期相关的基因在时间和空间上进行有序表达的结果, 不能正常完成一个周期的细胞将进入程序化死亡 (programmed cell death, PCD) 或发生癌变。因此, 阐明细胞周期调控机制对于肿瘤的最终解决具有决定性作用, 同时细胞周期高度有序的基因调控是细胞生物学需要论证的一个根本问题。2001 年诺贝尔生理及医学奖授予了三位发现具有调控功能的真核细胞周期关键因子的科学家, 他们是美国西雅图 Fred Hutchinson 癌症研究中心 (Fred Hutchinson Cancer Research Center) 的利兰·哈特韦尔 (L. Hartwell), 他发现和研究了细胞周期分裂基因 (cell division cycle genes, *cdc*); 英国伦敦帝国癌症研究基金会 (Imperial Cancer Research Fund, ICRF) 保罗·纳斯 (P. Nurse) 和蒂莫西·亨特 (T. Hunt), 他们分别发现了调节细胞周期的关键分子周期蛋白依赖性激酶 (cyclin-dependent kinases, CDKs) 以及调节 CDKs 功能的因子周期蛋白 (cyclin)。

* 通讯联系人。

Tel: 010-64889876, E-mail: herq@sun5.ibp.ac.cn

收稿日期: 2001-11-01, 接受日期: 2001-11-21

1 *cdc* 基因

1.1 *cdc* 基因的发现

尽管上百年来, 我们已经了解分裂是细胞增殖的基本途径, 但是直到最近的 20 年, 本领域的研究成果才逐渐揭示了调节细胞周期及细胞分裂的分子机制. 在 20 世纪 60 年代末, 哈特韦尔采用遗传学方法, 用芽殖酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) 作为实验对象研究细胞周期. 也许是巧合, 后来这种酵母被证明非常适合于细胞周期的实验工作^[2]. 70 年代初, 他通过温度敏感突变技术筛选出突变酵母细胞, 这些细胞的生长停滞在特定的细胞周期时相^[3], 从而确定缺陷基因所编码的蛋白质在细胞周期调控中的作用^[4,5], 如图 2. 利用这种方法, 他成功地分离出上百个涉及细胞周期调控的基因, 并命名为 *cdc* 基因.

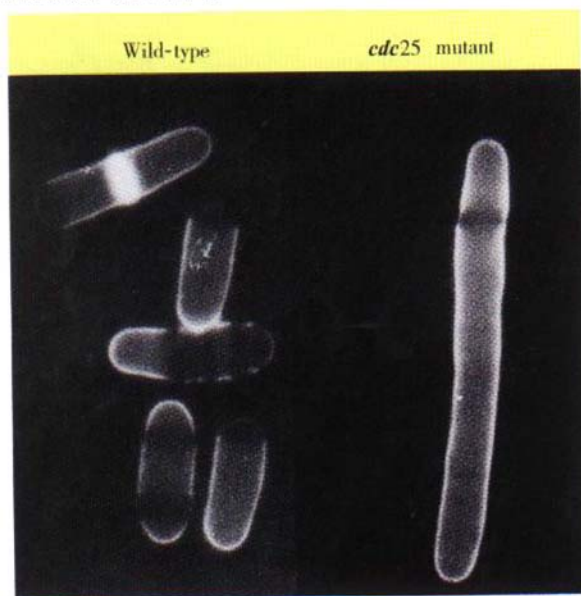


Fig. 2 *S. pombe* cells are stained with calcofluor to identify the cell wall and the septum

图 2 用荧光钙 (calcofluor) 示裂殖酵母 (*Schizosaccharomyces pombe*) 细胞壁和中隔 (septum)

野生型细胞的长度加倍并一分为二, 而 *cdc25* 缺陷的细胞已长的很长却不分裂. *cdc25* 是细胞从 G2 期进入 M 期必需的基因, 它负责 CDK2 的去磷酸化 (引自 Nurse P).

1.2 *cdc* 的功能

在哈特韦尔发现的这类基因中, *cdc4*、6、7、8 等控制 DNA 复制, 如 *cdc8* 具有起始 DNA 合成的功能^[5]; *cdc5*、14、15 等参与染色体分离的调控; *cdc3*、10、11、13 等调控细胞质的分裂^[4]; 另外, *cdc1*、4、24、28、33 等在受精卵雌雄核融

合过程中起重要的作用^[6]. 值得注意的是, 被他命名为 *cdc28* 的基因, 启动细胞从 G1 期进入 S 期. 该基因编码的蛋白质是其他 *cdc* 基因产物执行功能的前提^[7], 所以又被称为 “start”. *cdc* 的发现开创了细胞周期调控领域的新天地, 吸引了更多的科学家投入到这一事业中来, 为后人的研究奠定了坚实的基础 (图 3).

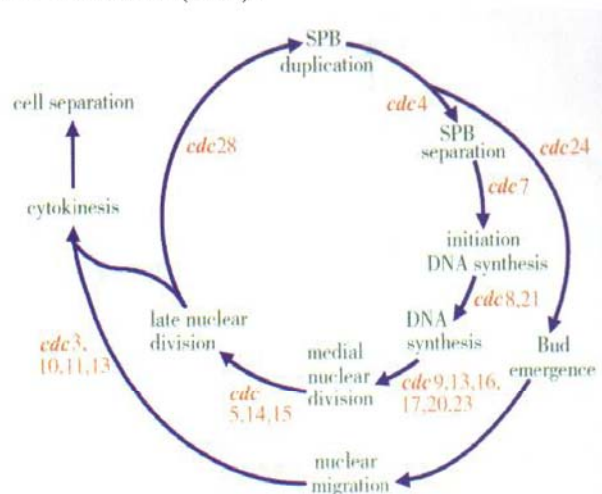


Fig. 3 In *Saccharomyces cerevisiae* (*S. cerevisiae*), major events of cell cycle and *cdc* genes relate directly to them

图 3 芽殖酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) 中, 主要的细胞周期事件和与其相关的 *cdc* 基因

在限制温度下, 某一 *cdc* 突变的细胞停滞在该 *cdc* 决定点上, 而与该 *cdc* 无关的事件继续进行 (引自 Hartwell L).

2 cyclin

1983 年, 亨特在海洋无脊椎动物海胆 (*sea urchin*) 的胚胎中, 发现了第一个周期蛋白 (cyclin)^[8], 进而证实这是一类分子质量约为 45~60 ku 的蛋白质家族. 由于其表达水平随细胞周期而剧烈起伏, 而被命名为周期蛋白. 不同的 cyclin 分别在某一个细胞周期时相表达, 又在另一个时相降解^[9], 这种性质是细胞周期调控的一种独特现象. cyclin 这种独特的性质被亨特察觉, 通过进一步研究, 他发现细胞周期的运转必需有 cyclin 的参与^[10], cyclin 缺陷型细胞停滞在 G1 或 G2 期, 无法进行有丝分裂. 在此研究成果的基础上, 他证明了在其他物种的细胞中也存在 cyclin, 人类细胞中就有数十种, 并且这类蛋白质在进化中具有较高的保守性. 除了对细胞周期运转具有决定性功能外, cyclin 还被证实能与某些转录调节因子 (transcription factor) 结合对基因进行调控^[11]. 正如亨特称 cyclin 为 “关键的发现” 一样, 阐明细胞周期调控机制的

工作已迈出了关键的一步, 从此这一领域的研究进入了全新的阶段.

3 CDKs

3.1 *cdc2* 与 CDKs 的发现

继哈特韦尔之后, 纳斯从裂殖酵母 (*Schizosaccharomyces pombe*) 中筛选出了调控细胞周期进程的关键基因 *cdc2*^[12], 并且发现 *cdc2* 和芽殖酵母 *cdc28* 具有 69% 的同源性, 均编码一个 34 ku 的蛋白激酶 ($p34^{cdc2}$), 其功能可以相互代偿 (rescue), 参与 G1/S 和 G2/M 转换的调控^[13]. 由于裂殖酵母与芽殖酵母在进化上已分离了十亿年之久; 同时, 他还证实了人 *cdc2* 与芽殖酵母 *cdc28* 具有 64.5% 的同源性. 因此, 纳斯认为以 *cdc2* (28) 对细胞周期的调控机制在真核生物中具有普遍性. 于是他在 1990 年提出了“M 期启动调节的普遍机制”, 认为“从酵母到海洋无脊椎动物直至人类的所有真核细胞中都存在一个共同的分子机制来调节 M 期的启动”^[14]. 纳斯观察到 *cdc2* 编码的蛋白激酶必须与 cyclin 结合才具有活性^[15], 这一发现同哈特韦尔所鉴定的 *cdc28* 的性质一致. CDC2 和 CDC28 就是最早发现的 CDKs 家族成员.

3.2 CDKs 的功能及其调节

3.2.1 功能: 近年来在真核生物细胞周期调控研究中, cyclin 和 CDKs 家族及其在周期运转调控中的重要功能是最引人瞩目的发现. 与细胞进入 M 期有关的 MPF (maturation promoting factor) 中两个重要成员, 即 $p34^{cdc2}$ 和 cyclin B 是最早的研究对象, 几乎普遍存在于从酵母到人类所有真核细胞的分裂期, 是调节细胞进入 M 期的一个重要因子. cyclin 与 CDK 的结合激活其激酶活性, 在此二元复合物中, CDK 为催化亚基, cyclin 为调节亚基 (图 4). 该复合物通过磷酸基团的转移作用于其他蛋白, 调节与 DNA 复制和有丝分裂等有关的众多分子事件, 从而驱动细胞周期. 但是, CDKs 调节细胞周期运转的具体分子机制仍需要进一步研究^[16].

3.2.2 调节: 细胞周期中, 虽然 CDKs 在细胞内的含量保持稳定, 但其具有不同的活性, 大致在三个水平上进行调节: a. CDK 的活性受磷酸化和去磷酸化的调节. 例如, 当 Thr14 和 Tyr15 被磷酸化时, 活性被抑制; Thr14 和 Tyr15 去磷酸化时, 被活化^[17]. b. CDK 活性受 cyclin 的调节. CDK 必须与 cyclin 结合才有激酶活性, 而 cyclin 的转录、

合成与降解随细胞周期而变化, 从而选择性的使 CDK 分子被磷酸化, 而产生激酶的活性. c. CDK 的活性还可以通过抑制因子 (cyclin-dependent kinases inhibitors, CKIs) 进行调节. 例如: 真核细胞在 G1/S 转移时存在抑制因子被降解的过程. 只有 CKIs 降解后, S 期的 CDK 才能表现出活性, 与 cyclin 一起作用于 DNA 的复制. 已经发现的抑制因子有 p15、p16、p21 和 p27 等^[1]. 所以 CDKs 活性受到转录水平和转录后水平的调控^[18], 这三种模式对 CDKs 活性的调节都很重要. CDKs 的调控贯穿细胞周期的全过程, 该机制的阐明揭开了细胞周期精细调控的新篇章.



Fig. 4 CDK2-cyclin A complex

图 4 CDK2-cyclin A 复合物

左为识别和催化亚基 CDK2, 右为调节亚基 cyclin A. cyclin A 的保守区插入到 CDK2 的催化部位, 并以氢键结合. (引自 <http://www.sdsc.edu/Kinases/pkr/3D/xray/cyclin/Cdk2cyclin.htm>)

4 检验点 (checkpoints) 调控

哈特韦尔除发现了调控细胞周期的基因家族外, 还研究了酵母细胞对辐射的敏感性, 在此基础上提出了“检验点”的概念. 在细胞周期中, 后一个事件的发生依赖于前一个事件的完成. 例如, 有丝分裂只有在 DNA 复制完成后才能进行 (图 5). 这种依赖性的调控机制就称为“检验点”^[19]. 当酵母细胞接受 X 射线或紫外照射后, 细胞周期的进程会延迟. 进一步的研究表明, 当细胞的 DNA 被烷基化、断裂或复制受阻时, 细胞周期出现停滞, 不能及时进入下一个时相^[20]. “检验点”是调控位点, 众多的基因及其产物在该点检测细胞的状态,

包括细胞的大小、DNA 复制、纺锤体组装及 DNA 分离等。例如：调节蛋白若检测到 DNA 的损伤或其他异常会阻断细胞周期，这是为了保证细胞有足够的时间对损伤的 DNA 进行修复，从而避免由于损伤碱基所引起的基因突变或损伤 DNA 的复制所引起的染色体高频重组。此后许多癌症都发现和检验点控制异常有关。哈特韦尔首先找到了与“检测点”相关的基因 *rad9*、*rad17* 等^[21]，另外，纳斯等也证明 *cdc2*、*cdc18* 以及 DNA 聚合酶 α 也与“检测点”的调控有关^[22]。“检验点”具有监视和调控周期时相的作用，使其正常转换。这一概念的提出使我们对细胞周期调控的认识更为深入。

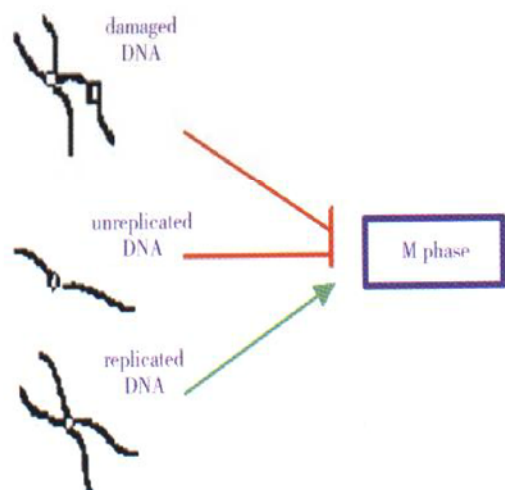


Fig 5 “Check points” monitor that whether the chromosomes are complete or replication is normal. Cells can not enter M phase until these events are satisfied

图 5 “检验点”监视染色体是否完整或复制是否正常，只有这些事件完成后，细胞才能进入 M 期

5 意 义

哈特韦尔、纳斯和亨特的发现为肿瘤学研究拓展了全新的领域。细胞周期控制过程中出现的缺陷可以导致细胞中染色体的变异。正是肿瘤细胞中突变基因的鉴定推动了抗癌药物的发现和研制^[23]。几乎所有癌基因、抑癌基因的生物学效应，最终都归结到细胞周期的机制。许多癌基因、肿瘤抑制基因直接参与细胞周期的调控，或者本身就是细胞周期调控复合体的重要成分。这些基因的变异，导致细胞周期失控。失控细胞无限制增殖，所形成的克隆群体就是肿瘤。因此，有学者认为肿瘤是一类细胞周期疾病。细胞周期的基础研究成果为治疗癌症开辟了新的途径。

另外，该研究成果对发育生物学的发展也有深远的影响。胚胎发育过程中，究竟如何调控细胞增殖以迎合发育的需求一直是发育生物学的焦点问题。细胞周期调控因子参与不同物种的多种发育途径，不仅调节细胞周期，还能影响细胞分化等与细胞周期无关的事件。同时，发育生物学的发展也有助于细胞周期的深入研究，特别是调控因子作用机制的探索，让我们确切了解胚胎是如何控制其细胞分裂的^[24]。

参 考 文 献

- 1 Nurse P. Regulation of the eukaryotic cell cycle. *European J Cancer*, 1997, **33** (7): 1002~1004
- 2 Bartlett R, Nurse P. Yeast as a model system for understanding the control of DNA replication in eukaryotes. *Bioessays*, 1990, **12** (10): 457~463
- 3 Hartwell L H. Macromolecule synthesis in temperature sensitive mutants of yeast. *J Bacteriology*, 1967, **93** (5): 1662~1670
- 4 Hartwell L H. Cell division from a genetic perspective. *J Cell Biol*, 1978, **77**: 627~637
- 5 Hartwell L H. Genetic control of the cell division cycle in yeast II: genes controlling DNA replication and its initiation. *J Mol Biol*, 1971, **59**: 183~194
- 6 Reid B J, Hartwell L H. Regulation of mating in the cell cycle of *Saccharomyces cerevisiae*. *J Cell Biol*, 1977, **75**: 355~365
- 7 Evans T, Rosenthal E T, Hunt T, *et al.* Cyclin: a protein specified by maternal mRNA in sea urchin eggs that is destroyed at each cleavage division. *Cell*, 1983, **33**: 389~396
- 8 Hunt T, Luca F C, Ruderman J V. The requirements for protein synthesis and degradation, and the control of destruction of cyclins A and B in the meiotic and mitotic cell cycles of the clam embryo. *J Cell Biol*, 1992, **116** (3): 707~724
- 9 Hartwell L H, Culotti J, Pringle J R, *et al.* Genetic control of the cell division cycle in yeast. *Science*, 1974, **183**: 46~51
- 10 Hunt T. Cyclins and their partners: from a simple idea to complicated reality. *Semin Cell Biol*, 1991, **2** (4): 213~222
- 11 Bandara L R, Adamczewski J P, Hunt T, *et al.* Cyclin A and the retinoblastoma gene product complex with a common transcription factor. *Nature*, 1991, **352** (6332): 249~251
- 12 Nurse P, Thuriaux P. Regulatory genes controlling mitosis in the fission yeast *Schizosaccharomyces pombe*. *Genetics*, 1980, **96** (3): 627~637
- 13 Simanis V, Hayles J, Nurse P. Control over the onset of DNA synthesis in fission yeast. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, 1987, **317** (1187): 507~516
- 14 Nurse P. Universal control mechanism regulating onset of M-phase. *Nature*, 1990, **344** (6266): 503~508
- 15 Simanis V, Nurse P. The cell cycle control gene *cdc2+* of fission yeast encodes a protein kinase potentially regulated by phosphorylation. *Cell*, 1986, **45** (2): 261~268
- 16 Li A, Blow J J. The origin of CDK regulation. *Nature Cell Biology*, 2001, **3**: 182~184
- 17 Gould K L, Nurse P. Tyrosine phosphorylation of the fission yeast *cdc2+* protein kinase regulates entry into mitosis. *Nature*, 1989, **342** (6245): 14~15
- 18 Felix M A, Labbe J C, Dorse M, *et al.* Triggering of cyclin degradation in interphase extracts of amphibian eggs by *cdc2* kinase. *Nature*, 1990, **346** (6282): 379~382

- 19 Hartwell L H, Ted A. Weinert Checkpoints: Controls that ensure the order of cell cycle events. *Science*, 1989, **246**: 629~ 633
- 20 Paulovich A G, Hartwell L H. A checkpoint regulates the rate of progression through S phase to DNA damage. *Cell*, 1995, **82**: 841~ 847
- 21 Paulovich A G, Armour C D, Hartwell L H. The *saccharomyces cerevisiae* RAD9, RAD17, RAD24 and MEC3 genes are required for tolerating irreparable, ultraviolet-induced DNA damage. *Genetics*, 1998, **150** (1): 75~ 93
- 22 D'Urso G, Grallert B, Nurse P. DNA polymerase alpha, a component of the replication initiation complex, is essential for the checkpoint coupling S to mitosis in fission yeast. *J Cell Sci*, 1995, **108**: 3109~ 3118
- 23 Hartwell L H, Szankasi P, Robert C J, *et al.* Integrating genetic approaches into the discovery of anticancer drugs. *Science*, 1997, **278** (5340): 1064~ 1068
- 24 Zhang P. The cell cycle and development: redundant roles of cycle regulators. *Current Opinion in Cell Biology*, 1999, **11**: 655~ 662

Successful Exploration of the Molecular Mechanism of Cell Cycle

LAN Lei, HE Rong-Qiao*

(Laboratory of Visual Information Processing, Center for Brain and Cognitive Sciences,
Institute of Biophysics, The Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China)

Abstract The cell cycle is a successive process between two mitosis divisions. During these courses, the cellular genetic materials, for instance DNA, are equally assigned to two daughter cells after replication. Each cell is endowed with its own share of the parental chromosomes. The schedule of events in cell cycle happens in the presence of regularity, precision and perfect temporal and spatial restriction. CDKs, cyclins and *cdc* are essentially key regulators of three families in control of cell cycle. The discovery of these regulators has important values on both basic research and applied biotechnology.

Key words cell cycle, *cdc* genes, CDKs, cyclin

* Corresponding author. Tel: 86-10-64889876, E-mail: herq@sun5.ibp.ac.cn

Received: November 1, 2001 Accepted: November 21, 2001