

# 酵母细胞周期及其调控

赵宝华 马同锁\* 张 莉

(河北师范大学生物系,\*河北经贸大学轻工系 石家庄 050016)

酵母菌是一类多形的、不运动的、单细胞的真核微生物的统称。多数酵母菌都以出芽方式进行繁殖,称为芽殖酵母,也有少数种类的酵母以二分裂方式进行繁殖,称为裂殖酵母,例如粟酒裂殖酵母(*Schizosaccharomyces pombe*)。芽殖酵母是研究细胞周期 G1 向 S 期过渡调控机制的好材料;而裂殖酵母为研究 G2 向 M 期过渡调节的典型材料。下面简要介绍酵母细胞周期及其调控机制。

## 1 酵母细胞周期

酵母细胞周期是由四个连续的时期组成,即:M 期(有丝分裂期,包括核分裂和胞质分裂)、G1 期(介于有丝分裂期与 DNA 合成之间的间歇期)、S 期(DNA 合成期)和 G2 期(介于 DNA 合成期和有丝分裂期之间的间歇期)<sup>[1]</sup>。细胞周期进行是在两个重要的转换点受控的,一个位于 G1 后期,称为起动点(start),它决定细胞是否停留在细胞周期中并调控细胞 G1 向 S 期的过渡,另一个转换点位于 G2 期,控制着细胞由 G2 向 M 期过渡。

## 2 酵母细胞 G2 向 M 期过渡

以粟酒裂殖酵母温度敏感突变株细胞为模型,发

现了与细胞周期调控密切相关的 cdc 基因(cell division cycle gene),其表达蛋白之一为 cdc2,它是一种分子量为 34ku 的丝氨酸/色氨酸激酶,又称为 P34<sup>cdc2</sup>,在芽殖酵母中为 P34<sup>cdc28</sup>。cdc2 为 cdks(cyclin dependent kinase)家族的一种(现称 cdck1),由于历史原因,仍用其初始名字 cdc2<sup>[3,4]</sup>。

cdc2 与 M 期周期蛋白(cyclinB)形成蛋白激酶复合物 MPF(maturation promoting factor),cdc2 为 MPF 的催化亚基,cyclinB 为 MPF 的调节亚基,正是由于细胞周期蛋白(cyclinB)与 cdc2 激酶的结合与分离、磷酸化与去磷酸化,激活催化亚基的激酶活性,促进酵母细胞 G2 向 M 期的过渡<sup>[5,6]</sup>。

cyclinB 结合到 cdc2 上对激活 MPF 是必要的,但还不够,还需要 cdc2 关键残基磷酸化或去磷酸化,从而正向或反向调节激酶的活性<sup>[7]</sup>。在裂殖酵母中,cdc2 的 Try-15 残基必须首先磷酸化继而去磷酸化,并且 Thr-167 残基必须磷酸化,才能使 MPF 处于活性状态。Tyr-15 残基的磷酸化或 Thr-167 残基去磷酸化都会使

1996-09-09 收稿

MPF失活,阻碍细胞周期的行进。*cdc2*的Tyr-15残基磷酸化是由Wee1<sup>+</sup>(由于基因突变而导致小细胞分裂而命名和mik1(mitosis inhibitory kinase 1)两种激酶催化的,其作用结果使*cdc2*失活,属于负调控作用;*cdc2*的Tyr-15去磷酸化是具有磷酸酶活性的*cdc25*家族及PTP3(protein tyrosine phosphatase)调节的,激活*cdc2*激酶属于正调控作用。参与*cdc2*的Tyr-167磷酸化的酶尚未确定,它可能受与*cdc2*有关的CAK(*cdc2* activating kinase)的调控<sup>[8~10]</sup>。

在细胞周期G2向M期过渡中,*cdc2*的量是相对恒定的,而周期蛋白(cyclinB)随细胞周期的变化而有规律的波动,参与G2/M过渡的cyclinB是由*cdc13*基因编码的,它在S期开始表达,其含量在G2/M过渡时达峰值,在有丝分裂中期向后期转换时被降解<sup>[6]</sup>。

### 3 酵母细胞G1向S期过渡

酵母细胞周期由G1向S期过渡的调控机制更为复杂且对控制增殖发挥着更重要的作用。与G2/M过渡的机制相似,S期的启动也是由cdk和cyclins结合成的蛋白激酶复合物调控的,也需要cdk的关键残基磷酸化或去磷酸化,只是cdk与cyclin的种类与G期不同<sup>[11]</sup>。芽殖酵母是研究G1向S期过渡的理想材料,在芽殖酵母中Start为G1后期细胞周期的转换点,此后细胞便进入新的有丝分裂周期,在Start之前,如果培养基中没有充足的可利用的营养物质,细胞就进入静止期(相当于动物细胞Go期),不再进入S期<sup>[12]</sup>。

在芽殖酵母中,调控Start的蛋白激酶的催化亚基就是负责G2/M过渡的*cdc28*(在裂殖酵母中为*cdc2*)。但*cdc28*是与一组特定的酵母G1周期蛋白(CLN1、CLN2和CLN3)结合<sup>[13]</sup>。这三种周期蛋白是过量表达的,它们的缺失会导致酵母细胞死亡<sup>[14]</sup>。总之,Start依赖于*cdc28*和G1周期蛋白。

在酵母细胞三种G1周期蛋白中,CLN1和CLN2与*cdc28*的关系密切,而CLN3与*cdc28*的相关性较差。CLN1和CLN2的丰度在细胞周期是波动的,其峰值正好在Start之前,这种蛋白丰度可能是在转录水平上受到调控;CLN1和CLN2的表达依赖于转录因子SBF(Swi4/6 binding factor)的调节。并且发现CLN1和CLN2的启动子区有SBF的结合位点SCB(Swi4/6 dependent cell cycle box),调节G1周期蛋白CLN1和CLN2的合成<sup>[15,16]</sup>。CLN3的量则在周期中变化不大,它可能是在上游直接激活Start的G1周期蛋白。除CLN1和CLN2外,它还可以诱导其它几种周期蛋白(HCS26、ORF1和CLB25)并可诱导转录因子SBF的表达。在CLN1和CLN2缺失的菌株中,CLB25、HCS26及ORF1

的转录依赖于CLN3<sup>[17]</sup>。

Start同时依赖于*cdc28*和G1周期蛋白CLN1和CLN2,而CLN1和CLN2的转录又需要活性的*cdc28*激酶。有人建议用一个包含*cdc28*激活的正反馈环式模型来解释这种现象。该模型认为:含量较少的*cdc28*激酶首先激活SBF,然后SBF诱导CLN1和CLN2的合成,G1周期蛋白的增加进一步激活*cdc28*激酶,从而使改模型封闭成环状<sup>[18,19]</sup>。

### 4 钙离子和钙调素(Camodulin 简称CaM)与酵母细胞增殖

细胞增殖是通过细胞周期实现的,细胞周期的有序进行涉及多方面的因素,如细胞在对外界环境刺激反应过程中,把胞外信使(生长因子、激素等)转化为胞内信使(如cAMP系统,IP3/DG双信使系统,Ca<sup>2+</sup>-CaM信号系统等)激活最终对信号起反应的*cdc*基因、检查点及控制系统等,维持细胞周期正常运转,从而影响到细胞增殖<sup>[20]</sup>。通过信号转导系统精确地控制细胞增殖与分化的观点是一个认识上的大突破,更新了许多有关细胞增殖与分化调控的一些旧观念<sup>[6]</sup>。在这里我们将对钙离子和钙调素信号系统与酵母细胞增殖作有限的讨论。

在一些真核生物中,细胞周期调控的激酶需要钙和钙调素激活,而钙和钙调素在许多生物细胞中已证实是主要的胞内信使,参与基因活化和细胞生长发育的调节。细胞在受到胞外刺激后,细胞质内Ca<sup>2+</sup>由胞内钙库释放,或由胞外进入胞内而增加,然后与胞内受体—CaM结合,进一步通过钙调素结合蛋白(Camodulin binding proteins 简称CaMBPs)及蛋白质磷酸化产生细胞反应,参与包括细胞增殖在内的许多生理过程的调节<sup>[20]</sup>。

动物和植物细胞受钙离子和钙调素调控的研究比较明确。在动物方面,Hepler在总结大量工作的基础上提出(1)胞内钙离子浓度的变化影响海胆卵的受精过程、核膜解体、中期向后期过渡以及卵裂等,从而刺激受精卵的活化。(2)在培养的动物细胞中,钙离子浓度的提高促进有丝分裂过程中中期向后期的过渡。(3)胞内自由钙离子浓度的变化还可调控有丝分裂器的组装与去组装、染色体的凝集和成熟并刺激染色体沿纺锤体运动,因此促进有丝分裂的进程<sup>[21]</sup>。钙离子调控的这些分裂与增殖过程多数也受胞内钙调素的调控。胞内钙调素是钙离子的受体蛋白,影响许多细胞生理活动,其中尤以对细胞增殖的调节最为瞩目。胞内钙调素参与细胞增殖调控的最直接证据是用钙调素基因工程的方法构建高表达钙调素的细胞模型,证明钙调素在G1/S、

G2/M和M中期/M后期三个位点上对细胞进行调控,通过加速这三个时期的进程,缩短细胞周期时间,促进细胞增殖<sup>[22]</sup>。在植物方面同样证实了胞内钙离子和钙调素参与细胞周期及与增殖有关的过程的调节<sup>[23]</sup>。此外,近年来的研究表明外加钙离子和钙调素也能明显地促进动物细胞(小鼠黑素瘤细胞、白血病淋巴细胞K526等)和植物细胞(白芷悬浮培养细胞及其原生质体)的增殖过程<sup>[24,25]</sup>。

关于钙离子和钙调素对酵母细胞增殖的调控也有许多报道。胞内自由钙离子浓度的增加刺激细胞壁组分的合成,并可调控肌动蛋白的分布,提高细胞质膜的稳定性,从而影响到酵母增殖的过程<sup>[26]</sup>。在酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)中,用多克隆抗体间接免疫定位的方法,发现钙调素的分布随细胞周期的变化而变化,与肌动蛋白相似,钙调素分布在生长活跃的部位,参与酵母细胞的极性生长过程。在未出芽的细胞中,钙调素分布在要出芽的部位,在生出小芽的细胞中,钙调素均匀分布在整个小芽中,随小芽的生长,钙调素先集中在芽顶端,然后向下扩散,在胞质分裂前,钙调素集中在芽颈区横隔壁形成的部位。而且在细胞周期中,钙调素和肌动蛋白的分布是相互依赖的,推测钙调素可能与肌动蛋白协同作用刺激酵母细胞的出芽过程<sup>[27]</sup>。最近,我们的研究工作发现外加不同浓度的钙离子对酵母细胞的增殖也有明显的影响,介质中钙离子浓度在 $10^{-6}$ ~ $10^{-2}$ mol/L范围内,随钙离子浓度的增加,酵母菌的生长量也增加<sup>[28]</sup>。袁生等研究发现外加不同浓度的钙调素对酵母细胞的增殖也有明显的影响(私人通信)。

尽管酵母细胞的增殖受钙离子和钙调素的调控已成为事实,但它调控酵母细胞增殖的完整信号转导过程,目前尚不清楚。有人推测钙离子与钙调素结合激活蛋白激酶和磷酸酶,从而调节微管连接蛋白及染色体上组蛋白与非组蛋白磷酸化,从而促进DNA的合成<sup>[29]</sup>。但是否还与前面所述的cdk或cyclins有关,仍不得而知,有待于进一步研究。

## 参 考 文 献

- [1] Pringle J, Hartwell L. The Molecular Biology of the yeast *Saccharomyces*, CRC press, Inc: Boca Florida, 1981, 97~142.
- [2] Fantes P. The microbiol cell cycle, Prentice-Hall international, Inc: New Jersey, 1984, 109~125.
- [3] Lorincz A T, Reed S I. Nature, 198, 307:183~185.
- [4] Nurse P, Bissett Y. Nature, 1981, 292:558~560.
- [5] 吕吉宁,左嘉喜.细胞生物学杂志, 1994, 16(4):147~150.
- [6] 翟中和.细胞生物学,北京:高等教育出版社, 1995, 282~313.
- [7] Druetta G. Trends Cell Biol, 1993, 3:287~289.
- [8] Fesquet D, Labbe J C, Pagano M et al. EMBO J, 1993, 12:3111~3121.
- [9] Poon R Y C, Yamashita K, Solomon M J et al. EMBO J, 1993, 12:3123~3132.
- [10] Renaudin J P, Colasanti J, Hidaka H et al. Proc Natl Acad Sci USA, in press, 1994.
- [11] Ferreira P, Hemery A, Josefine N et al. Plant Molecular biol, 1994, 26:1289~1303.
- [12] Hartwell L H, Weinert T A. Science, 1989, 246:629~634.
- [13] Hadwiger J A, Wittenberg C, Means A R et al. Proc Natl Acad Sci USA, 1989, 86:6255~6259.
- [14] Richardson H E, Wittenberg C, Keller W A et al. Cell, 1989, 59:1127~1133.
- [15] Wittenberg C, Sugimoto K, Reed S I. Cell, 1990, 62:225~237.
- [16] McIntosh E M, Atkinson T, Schiestl R H et al. Mol Cell Biol, 1991, 11:329~337.
- [17] Tyers M, Tokiwa G, Futcher B. EMBO J, 1993, 12:1955~1968.
- [18] Cruss F R, Tinkenberg A H. Cell, 1991, 65:875~883.
- [19] Dirick L, Nasmyth K. Nature, 1991, 351:754~757.
- [20] 孙大业,唐军,李红兵.科学通报, 1995, 40(13):1153~1158.
- [21] Hepler, P K. The J of Cell Biol, 1989, 109:2567~2573.
- [22] 金珊,尹力,王瑞顺等.实验生物学报, 1995, 28(2):121~129.
- [23] Hepler P K, Wayne R O, Ann Rev plant physiol, 1985, 36:397~439.
- [24] Sun D Y, Bian Y Q, Zhao B H et al. Plant and Cell physiol, 1995, 36(1):133~138.
- [25] 赵宝华,边艳青,程雨等.实验生物学报, 1996, 29(2):179~184.
- [26] Victor J C, Angel D, Boyton A L et al. Microbiol Rev, 1995, 59(3):345~386.
- [27] Brockerhoff S E, Davis T N. J of Cell Biol, 1992, 118(3):619~629.
- [28] 赵宝华,李玲玲,白娟.河北师范大学学报(自然科学版), 1996, 20(增刊):168~169.