

综 述

中心体周期相关蛋白磷酸化/去磷酸化 及其功能的研究进展*

谭 镔^{1,3} 梁前进^{1,2**}

(1 北京师范大学生命科学院 基因工程药物及生物技术北京市重点实验室 北京 100875)

(2 北京师范大学生命科学院 细胞增殖及调控生物学教育部重点实验室 北京 100875)

(3 北京师范大学生命科学院 抗性基因与分子发育北京市重点实验室 北京 100875)

摘要 中心体(centrosome)是动物细胞和低等植物细胞中存在的一种重要的无膜细胞器。正常情况下,它参与细胞的有丝分裂,形成基于微管结构的纺锤体,牵引着复制后的染色体移向细胞的两极。这一过程保证了遗传物质 DNA 能够精确、有序和完整地遗传到子代的细胞中。与细胞有丝分裂及增殖过程中发挥作用的其他重要细胞器一样,它的行为和调控同样是由一系列与功能相关的蛋白质来完成的。在这些蛋白质中,一部分与中心体的复制、分裂相关,保证中心体增殖周期的实现;另一部分则在细胞周期中与中心体有着一定的联系,但同时也在细胞生命活动中发挥着其他重要功能。无论是在正常细胞中,还是在异常细胞(如肿瘤细胞)中,蛋白质修饰的调节方式都占据了优势,其中尤以磷酸化修饰方式引人注目。中心体是细胞内重要的细胞器之一,大量与中心体周期相关的蛋白质同样也通过磷酸化修饰方式进行调节。主要对中心体周期相关蛋白的磷酸化修饰及功能进行综述,为中心体周期及其调节的深入研究提供参考。

关键词 中心体 中心体周期相关蛋白 磷酸激酶 磷酸酶

中图分类号 Q71

中心体(centrosome)是动物和低等植物细胞的微管组织中心(microtubule organizing center, MTOC),由一对相互垂直的、被纤维连接在一起的中心粒(centriole)和电子致密物质形成的中心粒周围基质(pericentriolar material, PCM)组成^[1-4]。中心体通过调控细胞中微管的数目、极性、分布等影响细胞的形态、极性、黏附、迁移及细胞内的物质运输和细胞器的定位。另外,在细胞有丝分裂过程中,中心体通过对着丝粒的控制从而牵引复制后的染色体向细胞的两极移动。虽然有报道^[5]称在动物的干细胞分化过程中会形成一个母中心体(mother centrosome)和一个子中心体

(daughter centrosome),从而导致分裂的不均等,但在大多数分化后的体细胞中,中心体依旧是保证细胞遗传物质均一的分配到两个子细胞中的重要细胞器之一。除了中心体对细胞形态和功能方面的影响外,中心体其本身的复制周期(centrosome cycle)也是研究的热点之一。20 世纪末,人们发现,细胞存在细胞周期分裂增殖的同时,中心体也存在自己的复制周期,并且它的复制并不依赖于蛋白质的持续合成^[6]。与其他重要蛋白质一样,中心体蛋白的功能与其在时空关系上的变化密切相关。例如,与其他蛋白形成一种 25S 复合体(γ 微管蛋白环状复合体, γ -tubulin ring complex, γ -TuRC)、在微管组装中起关键作用的 γ -tubulin 和在中心体复制中起关键作用的 centrin 等,就属于中心体常驻蛋白(chromosomal resident protein),它们定位于中心

收稿日期:2012-04-23 修回日期:2012-09-02

* 国家自然科学基金(30971470)、北京市自然科学基金(5122017)资助项目

**通讯作者,电子信箱:Lqj@bnu.edu.cn

体处,不依赖于细胞周期的变化;只有在有丝分裂期与微管作用的 NuMA、为 Ran GTPase 提供纺锤体靶向基础的 TACC^[7]和控制中心体倍增的 Crp^{F46[8]}等,则属于中心体乘客蛋白(chromosomal passenger protein),它们只是在某一时期定位于中心体。在有丝分裂调控中发挥重要作用的细胞周期蛋白 CyclinB1 和 CyclinA、调节细胞进入有丝分裂的关键激酶 Cdc2 以及 G₂/M 期协调中心体成熟的 Polo 样丝/苏氨酸蛋白激酶 PLK1 等中心体调控蛋白,也都是典型的中心体乘客蛋白。

蛋白质磷酸化修饰是细胞进行生命活动非常重要的一种调节方式,丝氨酸、苏氨酸或赖氨酸的羟基在蛋白激酶及 Mg²⁺ 的催化作用下与 ATP 的 γ 位磷酸根形成共价键,以此来改变整个蛋白质的结构和功能。中心体的调节蛋白中有很多为蛋白激酶(CDK 家族、Polo 家族、Aurora 家族和 NIMA 家族等),它们通过磷酸化底物蛋白调节中心体的复制和功能及整个细胞周期的进程。值得一提的是,由于细胞周期中磷酸化作为重要的调节方式,而中心体是保证细胞正常分裂重要的细胞器,所以几乎所有的肿瘤发生都与中心体的紊乱^[9]和与其相关的蛋白质的不正常表达及修饰相关。换言之,肿瘤细胞中心体及其所控制的微管的紊乱会直接导致细胞检验点(checkpoint)(如 P53 依赖的检验点)的失活^[10]。多年以来,磷酸化修饰现象对于中心体自身复制和对细胞分裂作用的研究已经取得了公认的成果,而去磷酸化(磷酸酶)的研究在也受到了越来越多实验室的关注。无论是在细胞周期运行^[11],还是在与细胞分裂相关的事件(如中心粒的形成及复制^[12-14])的调控中,去磷酸化作用都至关重要,它看上去不像是磷酸化作用的附属品,而是细胞自身的一种主动性调节机制^[15]。大量研究表明,细胞中蛋白质磷酸化和去磷酸化的双向协同关系必然也会影响到中心体的相关活动,这从根本上拓宽了我们对中心体周期相关蛋白修饰调控的眼界。

1 中心体周期中的磷酸化调控

众所周知,细胞的生命活动具有明显的周期性。中心体作为其中与细胞增殖周期密切相关的细胞器,同样有自身的周期[中心体周期(centrosome cycle)]。根据中心体在细胞有丝分裂过程中的形态变化,可以将中心体周期分为 4 个阶段:中心体复制[centrosome duplication (G₁/S)]、中心体成熟[centrosome maturation (G₂)]、中心体分离[centrosome separation (M)]和中心

体失向[centrosome disorientation (M/G₁)],子、母中心粒不再相互垂直^[16]。每一个阶段都有许多中心体蛋白(其中包括多种激酶)起着精细的调控作用,表 1 中列举出了一些在中心体周期中通过磷酸化调控的重要蛋白质及其功能。中心体周期的研究无疑是中心体功能研究的基础。

1.1 中心体复制中的磷酸化

CDK2/CyclinE 或 CyclinA 是细胞周期 G₁/S 中重要的驱动者,其中受到直接调控的主要有 Nucleophosmin (NPM/B23)、CP110 和 MPS1 等。Nucleophosmin (NPM/B23)的磷酸化位点为 199 位的苏氨酸(T199),当转染了 NPM/T199A 的突变体后,间期细胞的中心体就不能进行复制了,而有丝分裂期的细胞则出现单极纺锤体^[17]。在这一过程中,ROCK2^[18]和 BRCA2^[19]与 Nucleophosmin 形成三元复合体,加强 T199 的磷酸化,调控中心体的复制。人的 CP110 蛋白定位于中心体上,它在 G₁/S 期表达量上升。这一时期同时也是中心体复制的起始阶段——CP110 接受 CDK2/CyclinE 磷酸化后,即驱动中心体的复制^[20];中心体复制结束后,又立即被 SCF (Skp1-Cul1-F-box protein) 泛素连接酶复合体降解^[21]。此时,若人为地让 CP110 去磷酸化,就将干扰接下来的事件——中心体分离^[20]。MPS1 除了能够控制有丝分裂期着丝粒分离检验点外,在 G₁/S 期同样也受到 CDK2/CyclinE 的磷酸化作用,位点在其 T468^[22]。加上 T676 自我磷酸化^[23]调节,MPS1 能够在 G₁/S 期聚集于中心体上,这是中心体开始复制所必需的。另外,在中心体复制中,除了 CDK2/CyclinE 的作用外,影响中心体复制的还有 SADB 激酶对 γ -tubulin 的磷酸化^[24]、hMOB1/MST1/NDR1 激酶通路^[25]、PLK2 激酶在中心体上的正确定位^[26]及其对 CPAP 的磷酸化^[27]、线虫中 ZYG-1 激酶对 SAS-6 蛋白的磷酸化^[28],以及近期发现的 PLK4 对 γ -TuRC (γ -tubulin ring complexe) 成员之一 GCP6 的磷酸化^[29]等。

1.2 中心体成熟中的磷酸化

总的来说,影响中心体复制的激酶主要还是 CDK2/Cyclin E,而决定中心体成熟的激酶则主要是 Polo-like 激酶家族和 Aurora 激酶家族。中心体成熟实际上是 γ -TuRC 和其他的 PCM(中心粒周物质)向中心体聚集的过程。 γ -TuRC 至少由 6 种蛋白质组成,其核心为 γ -tubulin,而其功能的发挥并不依赖其完整性^[30]。

γ -TuRC 的形成依赖于 PLK1,但是完整的机制还并不清楚^[31],但有报道称,作为 γ -TuRC 成员之一的 Nedd1 的磷酸化可能起到了重要的作用。Nedd1 首先被 CDK1 磷酸化,形成于一个与 PLK1 结合的区域,然后 PLK1 相继磷酸化 Nedd1 另外的 4 个位点,促进其与 γ -tubulin 的结合,以此决定 γ -TuRC 在中心体上的募集^[32]。此外,PLK1 还磷酸化其他 PCM 蛋白(如 pericentrin 等)。正是 PLK1 对 pericentrin 的磷酸化启动了中心体的成熟^[33]。另一个中心体成熟的标志性蛋白质 Cep170 同样也受到 PLK1 的磷酸化,并且磷酸化的 Cep170 只定位于母中心粒上^[34]。Aurora A 是 Aurora 激酶家族中的重要成员,也是参与中心体成熟过程中重要的激酶^[35-36]。Aurora A 在有丝分裂期受到 CDC2/CyclinB 的调控^[37],并且具有自我磷酸化的活性^[38],直接磷酸化 Aurora A 的激酶还并不清楚。有丝分裂期中心体成熟过程中,TACC3 的 3 个位点被 Aurora A 磷酸化,然后 TACC3 逐渐富集到中心体上,随后 TACC3 与 XMAP215 形成复合体以保证微管组织中心的稳定性^[39]。在 TACC3 富集过程中,NDEL1 的 S251 同样受到了 Aurora A 的磷酸化,并且它的磷酸化是 TACC3 正常富集的先决条件。随后,NDEL1 被泛素蛋白酶降解系统降解,中心体开始分离移向两级^[40]。最新研究表明,p53 是 Aurora A 的重要负调因子。p53 基因敲低(knockdown)导致高比率的细胞发生异常中心体扩增,这与许多癌症中 Aurora A 异常增多和有丝分裂失控相符^[41]。

1.3 中心体分离中的磷酸化及中心体的失向

传统的观点认为,中心体的分离主要依靠基于肌动蛋白(actin)和肌浆蛋白(myosin)的皮质流运动^[42],近期在果蝇中的研究认为,Arp2/3 和 Formin 介导的肌动蛋白(actin)的作用更为的明显^[43]。其中 cortactin [一种微丝相关蛋白(actin-filament associated protein)] 的磷酸化起到了重要的作用,在 G_2/M 期过程中,cortactin 的 3 个酪氨酸位点(Tyr421、Tyr466 和 Tyr482)被磷酸化,磷酸化后的 cortactin 构象发生改变,像一座“桥梁”一样将中心体和微丝联系在一起,然后通过微丝“拉动”中心体的分离^[44],而磷酸化这三个酪氨酸的是 Src 激酶,这也是 Src 激酶调控细胞生长的一种方式^[45]。另外,微管马达蛋白在中心体分离过程中同样扮演了重要的角色,中心体分离是负向微管马达蛋白 dynein,dynein 结合蛋白 Lis1,CLIP-170 与正向微管马达蛋白 Eg5 存在作用力上的抵消以确保中心体的分离

和双极纺锤体的形成^[46]。而 Eg5 受 CDK1 和 PLK1 的调节,CDK1 直接磷酸化 Eg5 的 927 位苏氨酸,PLK1 虽然也能通过 Eg5 驱动中心体的分离,但目前并没有发现 PLK1 能直接磷酸化 Eg5,而且 CDK1 和 PLK1 驱动的动力学方式也不尽相同^[47]。中心体的分离起始于子、母中心体的分离,子、母中心体由蛋白质组成的连接物相连,这其中主要包含了 C-Nap1 和 rootletin。最近的研究表明,Nek2A [NIMA (never in mitosis A)-related kinase] 所处的 Hippo 途径(hSav1-Mst2-Nek2A)磷酸化 C-Nap1 和 rootletin,并与 Eg5 蛋白形成互补的功能来帮助中心体的分离^[48]。

有丝分裂进入末期,两个子细胞中的子、母中心粒不再以相互垂直的形式存在,中心粒失去垂直性即是中心体的失向(disorientation),这时子细胞中的两个中心粒需要再次结合起来恢复细胞间期的状态。这一过程是否完全与中心体分离的过程相反,或者有别的机制参与其中?这方面的研究越来越显示出重要意义。例如,在从磷酸化的角度考察中心体的复制、成熟、分离和失向的同时,有关磷酸酶的研究也从来没有被忽略过,更没有停止过;在细胞信号通路研究中,磷酸化和去磷酸化一直受到同等的关注,这从磷酸酶 CDC25 的研究中即可看出^[49-52]。从功能协调的意义上讲,磷酸酶并非磷酸激酶的“对立面”。例如,磷酸酶 PP4 缺失的研究显示了相应的去磷酸化调控在中心体成熟中的重要性^[53],这也像蛋白激酶 PLK1 调节 Nek2A-PP1 γ 在中心体解离中的拮抗作用^[54]一样,关乎中心体周期调控的关键环节。

2 中心体周期中的磷酸酶

2.1 CDC25 家族磷酸酶

细胞周期中,最著名的磷酸酶莫过于 CDC (cell division cycle)家族的磷酸酶了,而这其中由于 CDC25 可以去磷酸化 MPF 成员 CDK1 从而激活 CDK1 而备受人们的关注。CDC25 家族共有 A、B 和 C3 个成员,它们在细胞间期都主要定位于中心体^[49-51],这不禁让人联想到中心体可能就是细胞有丝分裂 G_2/M 期转换过程的发起者。CDC25B 在 G_1/S 期的定位是不对称的,它更倾向于定位在母中心体上,当中心体复制完毕,CDC25B 逐渐均匀分布于子、母中心体上,当用 SiRNA 的方法沉默 CDC25B,中心体的复制将受到抑制,单中心体大量出现^[52],同时 CDC25B 的缺失将影响 centrin2、Nedd1、 γ -tubulin 等中心体复制与成熟的蛋白质

在中心体上的富集^[50],这可能是其在中心体周期中的作用方式。

2.2 蛋白磷酸酶

丝氨酸、苏氨酸蛋白磷酸酶 (protein phosphatase, PP) 是中心体周期调节中不可忽视的一族酶,这一家族中 PP1、PP2A、PP4^[53] 都已有报道在中心体周期起到了至关重要的作用。前已述及, hSav1-Mst2-Nek2A 途径是启动中心体分离过程中的重要通路^[48]。实际上,这一通路的调节与 PP1 是分不开的。中心体分离前, Nek2A 与 PP1 紧密结合形成复合体, PP1 抑制 Nek2A 激酶活性,随着中心体周期进程, PLK1 磷酸化 Mst2, Mst2 阻止 PP1 结合到 Mst2-Nek2A 复合体上,从而开启 Nek2A 活性^[54]。早期的研究还表明, PP1 的催化亚基 C 也受到其特异性蛋白 Inhibitor-2 (Inh2) 的抑制,从而促进中心体的分离^[55], Inhibitor-2 在体外可以受到多种激酶的磷酸化而激活^[56],但其如何参与到中心体分离中的具体机制还不是很清楚。

PP2A 是近年来研究得较多的磷酸酶, PP2A 有结构亚基 A、催化亚基 C 和调节亚基 B 组成,结构亚基 A 和催化亚基 C 因为较为保守组成了其核心酶部分,调节亚基 B 则主要可分为 PR55/B、PR61/B'、PR72/B'' 3 个亚类^[57]。在细胞周期调控中,现已发现 PP2A 就是细胞进出周期中主要起酶活性的磷酸酶^[58],进细胞周期时,被 Greatwall 激酶磷酸化的 endosulfine^[59]/Arpp19^[60]与 PP2A 结合抑制其活性。中心体复制是细胞周期中先导性的事件, PP2A 也参与其中,在线虫中的研究表明, PP2A 与 SAS-5 及 SAS-6 形成复合体,但只对 SAS-5 发生去磷酸化作用,以保证 SAS-5 和 SAS-6 在中心体上的正确定位,确保中心体复制的正确进行^[13-14]。此外,在果蝇中的研究显示, PP2A 也能够去磷酸化 PLK4,以稳定后者使其不被过早地水解掉^[61]; PP2A 在哺乳细胞中功能的研究同样也备受关注并且正在进行。有意思的是,调节磷酸酶活性中重要的激酶 Greatwall 在哺乳动物细胞中也是主要定位于中心体^[62],但它是否也参与到中心体的复制、分离等事件中,还有待进一步的研究。

3 磷酸化/去磷酸化所致中心体周期异常与肿瘤的相关性

肿瘤的发生是细胞周期异常的一种极端表现。在正常情况下,包括磷酸化/去磷酸化在内的分子修饰和互作对中心体周期以及整个细胞增殖起到了非常精确

的调控作用,一旦这种平衡遭到破坏,细胞就可能走向癌变或者死亡。研究发现,在许多肿瘤(如乳腺癌^[65]、脑癌^[66]、胰腺癌^[67]和前列腺癌^[68]等)细胞中,往往出现中心体过度复制、纺锤体多极化和多核化等现象。其中中心体因过度复制而增多的现象就是中心体周期异常的反映,自然也包含中心体相关激酶或其底物的异常。例如, Aurara A 对底物 TACC 的磷酸化是稳定中心体微管所必需的^[7],而 TACC 的过度表达又会使小鼠致癌^[69];调节中心体分离的重要激酶是 Nek2A^[48],它在乳腺癌细胞中往往过度表达,相应地,敲低其基因可以对癌细胞的增殖实现较大程度的控制^[70]。本课题组发现的中心体蛋白 Crp^{F46}发挥了控制中心体倍增和保障均等的胞质分裂等作用,其基因表达抑制造成中心体过度复制^[8],而进一步研究发现其与激酶 PLK1 结合、蛋白序列上有多种激酶的催化位点。无独有偶,几乎在发现 Crp^{F46}的同时,我们鉴定出的中心体-纺锤体功能性蛋白 INMAP 则在基因过表达时造成中心体过度复制^[71],初步研究发现其在有丝分裂器上的“过客式”分布和功能可能也涉及磷酸化问题。肽基脯氨酰顺反异构酶 Pin1 能通过识别和结合蛋白质的磷酸化 S/T-P 基序催化该处的肽键发生顺反异构,从而改变磷蛋白的功能。研究表明, MAP3K 家族激酶 MLK3 可在 S138 位磷酸化 Pin1,提高后者的催化和核转位性能;同时,这一磷酸化事件也驱动了细胞周期,提高了 Cyclin D1 的稳定性和加剧了中心体复制。相应地, Pin1 Ser138 磷酸化水平在乳腺肿瘤中发生异常提升。这说明, MLK3-Pin1 信号级联反应对于细胞周期、中心体数目和肿瘤化过程的调控发挥高效作用^[72]。这样的现象和其中涉及的磷酸化/去磷酸化修饰的研究,必然有利于揭示肿瘤的引发机理,像 TACC、Nek2A 之类的蛋白质自然也就成为治疗肿瘤的靶点或衡量指标。

中心体周期中每一个环节的磷酸化/去磷酸化失调都有可能造成中心体复制或周期运转异常,而这样的失调必然和细胞周期脱不开干系。肿瘤细胞中中心体周期的紊乱常是极易观察的表型,因此,解决肿瘤问题时中心体周期相关磷酸化/去磷酸化就成为优先考虑的重要问题。

4 小结与展望

中心体作为主要的有丝分裂器,其功能的多样性一直就是细胞学研究中的重要问题,而把握住中心体本身的周期规律是我们了解其结构和功能的基础。肿

瘤细胞的增殖调控异常在某种程度上就是中心体周期调控的异常。作为细胞周期调控一部分的中心体周期相关蛋白质的调控,主要也是采取蛋白质磷酸化修饰的调节方式。越来越多的蛋白激酶和相关的底物蛋白被发现参与到中心体周期的进程中(表1)。近年来,随着细胞周期中磷酸酶的作用机制变得越来越明晰,我们越来越清楚地发现磷酸酶同样在中心体周期调控中占有重要的地位(表2)。现在看来,磷酸酶的作用方式

和激酶的作用方式一样,具有很大的灵活性和自主性。例如,PP2A就具有多种亚型,特别是其调节亚基B,在不同的生物中种类差别很大。在高等生物中,这些调节亚基是否可以相互替换或者作为调节的备用方式还不得而知。另外,磷酸酶与磷酸激酶在细胞周期调控及中心体复制中是如何保持这种生化的平衡性的问题,还需要更多的研究来解答。

表 1 中心体周期中主要涉及的激酶及其底物

Table 1 Phosphokinases and substrates involved in centrosome cycle

激酶	中心体相关底物蛋白	功能	文献
CDK/Cyclin	Nucleophosmin	中心体复制	[17]
	CP110	中心体复制	[20]
	MPS1	中心体复制	[22-23]
	Eg5	中心体分离	[47]
hMOB1/MST1/NDR1	?	中心体复制	[25]
SADB Ser/Thr kinase	γ-tubulin	中心体复制,成熟	[24]
PLK2	CPAP(hSAS-4)	中心体复制	[26-27]
ZYG-1(线虫)	SAS-6	中心体复制	[28]
PLK4	GCP6	中心体复制	[29]
PLK1	pericentrin	中心体成熟	[33]
	Cep170	中心体成熟	[34]
	Nedd1(γTuRC 成员)	中心体成熟,微管形成	[32]
	Mst2	中心体分离	[54]
Aurara A	NDEL1	中心体成熟,分离	[40]
	TACC3	中心体成熟,微管稳定	[7,39]
Src	cortactin	中心体分离,加强 actin 的组装	[44-45]
hSav1-Mst2-Nek2A	C-Nap1、rootletin	中心体分离	[48]

表 2 中心体周期中主要涉及的磷酸酶及其相关蛋白底物

Table 2 Phosphatases and substrates involved in centrosome cycle

磷酸酶	中心体相关蛋白底物	功能	文献
CDC25B	Centrin2, CDK	调节和维持微管的正常功能	[50,63]
CDC25A	CDK	中心体复制	[51]
PP1	Mst2-Nek2A, Inh2	中心体分离	[54-55]
PP4	?	中心体成熟	[53,64]
PP2A	SAS-5, SAS-6, PLK4	中心体复制	[13-14,61]

同样,我们也应当看到,磷酸化和去磷酸化及其相关的磷酸激酶和磷酸酶在对细胞周期及中心体的调节中完全是糅合在一起的,许多激酶与磷酸酶本身的活性也是靠另外的激酶或磷酸酶的作用来调节和传递。它们的作用不是相互的抵消,而是一种相互的协调。可以想象,蛋白质磷酸化修饰调节的研究在今后依旧是中心体周期调控中的主旋律,越来越多的新发现(如磷酸酶的参与)会让这一旋律更加的优美、动听。

参考文献

[1] Doxsey S. Re-evaluating centrosome function. Nature Reviews Molecular Cell Biology, 2001, 2(9): 688-698.

[2] Bornens M. Centrosome composition and microtubule anchoring mechanisms. Current Opinion in Cell Biology, 2002, 14(1): 25-34.

[3] Lüders J, Stearns T. Microtubule-organizing centres: a re-evaluation. Nature Reviews Molecular Cell Biology, 2007, 8(2): 161-167.

- [4] Bettencourt-Dias M, Glover D M. Centrosome biogenesis and function; centrosomics brings new understanding. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 2007, 8(6):451-463.
- [5] 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.
- [6] Gard D L, Hafezi S, Zhang T, et al. Centrosome duplication continues in cycloheximide-treated xenopus blastulae in the absence of a detectable cell cycle. *Journal of Cell Biology*, 1990, 110(6): 2033-2042.
- [7] Barros T P, Kinoshita K, Hyman A A, et al. Aurora a activates D-TACC-Msps complexes exclusively at centrosomes to stabilize centrosomal microtubules. *Journal of Cell Biology*, 2005, 170(7): 1039-1046.
- [8] Wei Y, Shen E Z, Zhao N, et al. Identification of a novel centrosomal protein Crp^{F46} involved in cell cycle progression and mitosis. *Experimental Cell Research*, 2008, 314: 1693-1707.
- [9] Fukasawa K. Oncogenes and tumour suppressors take on centrosomes. *Nature Reviews Cancer*, 2007, 7(12): 911-924.
- [10] Uetake Y, Sluder G. Cell cycle progression after cleavage failure: mammalian somatic cells do not possess a “tetraploidy checkpoint”. *Journal of Cell Biology*, 2004, 165(5): 609-615.
- [11] Meraldi P, Erich A N. Centrosome cohesion is regulated by a balance of kinase and phosphatase activities. *Journal of Cell Biology*, 2001, 114(20): 3749-3757.
- [12] Lorca T, Bernis C, Vigneron S, et al. Constant regulation of both the MPF amplification loop and the Greatwall-PP2A pathway is required for metaphase II arrest and correct entry into the first embryonic cell cycle. *Journal of Cell Biology*, 2010, 123(13): 2281-2291.
- [13] Kitagawa D, Fluöckiger I, Polanowska J, et al. PP2A phosphatase acts upon SAS-5 to ensure centriole formation in *C. elegans* Embryos. *Developmental Cell*, 2011, 20(4): 550-562.
- [14] Song M H, Liu Y, Anderson D E, et al. Protein phosphatase 2A-SUR-6/B55 regulates centriole duplication in *C. elegans* by controlling the levels of centriole assembly factors. *Developmental Cell*, 2011, 20(4): 563-571.
- [15] Domingo-Sananes M R, Kapuy O, Hunt T, et al. Switches and latches: a biochemical tug-of-war between the kinases and phosphatases that control mitosis. *Philosophical Transactions of the Royal Society B-biological Sciences*, 2011, 366(1584): 3584-3594.
- [16] Meraldi P, Nigg E A. The centrosome cycle. *Febs Letters*, 2002, 512(1-3):9-13.
- [17] Tokuyama Y, Horn H F, Kawamura K, et al. Specific phosphorylation of nucleophosmin on Thr(199) by cyclin-dependent kinase 2-cyclin E and its role in centrosome duplication. *Journal of Biological Chemistry*, 2001, 276(24): 21529-21537.
- [18] Ma Z, Kanai M, Kawamura K, et al. Interaction between ROCK II and nucleophosmin/B23 in the regulation of centrosome duplication. *Molecular and Cellular Biology*, 2006, 26(23): 9016-9034.
- [19] Wang H F, Takenaka K, Nakanishi A, et al. BRCA2 and nucleophosmin coregulate centrosome amplification and form a complex with the Rho effector kinase ROCK2. *Cancer Research*, 2010, 71(1): 68-77.
- [20] Chen Z H, Indjeian V B, McManus M, et al. CP110, a cell cycle-dependent CDK substrate, regulates centrosome duplication in human cells. *Developmental Cell*, 2002, 3(3): 339-350.
- [21] D'Angiolella V, Donato V, Vijayakumar S, et al. SCF(Cyclin F) controls centrosome homeostasis and mitotic fidelity through CP110 degradation. *Nature*, 2010, 466(7302): 138-U161.
- [22] Kasbek C, Yang C H, Yusof A M, et al. Preventing the degradation of Mps1 at centrosomes is sufficient to cause centrosome reduplication in human cells. *Molecular Biology of the Cell*, 2007, 18(11): 4457-4469.
- [23] Mattison C P, Old W M, Steiner E, et al. Mps1 activation loop autophosphorylation enhances kinase activity. *Journal of Biological Chemistry*, 2007, 282(42): 30553-30561.
- [24] Alvarado-Kristensson M, Rodriguez M J, Silio V, et al. SADB phosphorylation of γ -tubulin regulates centrosome duplication. *Nature Cell Biology*, 2009, 11(9): 1081-1086.
- [25] Hergovich A, Kohler R S, Schmitz D, et al. The MST1 and hMOB1 tumor suppressors control human centrosome duplication by regulating NDR kinase phosphorylation. *Current Biology*, 2009, 19(20): 1692-1702.
- [26] Cizmecioglu O, Warnke S, Arnold M, et al. Plk2 regulated centriole duplication is dependent on its localization to the centrioles and a functional polo-box domain. *Cell Cycle*, 2008, 7(22): 3548-3555.
- [27] Chang J, Cizmecioglu O, Hoffmann I, et al. PLK2 phosphorylation is critical for CPAP function in procentriole formation during the centrosome cycle. *Embo Journal*, 2010, 29(14): 2395-2406.
- [28] Kitagawa D, Busso C, Fluckiger I, et al. Phosphorylation of SAS-6 by ZYG-1 is critical for centriole formation in *C. elegans* embryos. *Developmental Cell*, 2009, 17(6): 900-907.
- [29] Bahtz R, Seidler J, Arnold M, et al. GCP6 is a substrate of Plk4 and required for centriole duplication. *Journal of Cell Science*, 2012, 125(2): 486-496.
- [30] Verollet C, Colombie N, Daubon T, et al. *Drosophila melanogaster* γ -TuRC is dispensable for targeting γ -tubulin to the centrosome and microtubule nucleation. *Journal of Cell Biology*,

- 2006, 12(4):517-528.
- [31] Haren L, Stearns T, Luders J. Plk1-dependent recruitment of gamma-tubulin complexes to mitotic centrosomes involves multiple PCM components. *Plos One*, 2009, 4(6):e5976.
- [32] Zhang X Y, Chen Q, Feng J, et al. Sequential phosphorylation of Nedd1 by Cdk1 and Plk1 is required for targeting of the γ TuRC to the centrosome. *Journal of Cell Science*, 2009, 122 (13): 2240-2251.
- [33] Lee K, Rhee K. PLK1 phosphorylation of pericentrin initiates centrosome maturation at the onset of mitosis. *Journal of Cell Biology*, 2011, 195(7): 1093-1101.
- [34] Guarguaglini G, Duncan P I, Stierhof Y D, et al. The forkhead-associated domain protein Cep170 interacts with Polo-like kinase 1 and serves as a marker for mature centrioles. *Molecular Biology of the Cell*, 2005, 16(3): 1095-1107.
- [35] Hannak E, Kirkham M, Hyman A A, et al. Aurora-A kinase is required for centrosome maturation in *Caenorhabditis elegans*. *Journal of Cell Biology*, 2001, 155(7): 1109-1115.
- [36] Berdnik D, Knoblich J A. *Drosophila* aurora-A is required for centrosome maturation and actin-dependent asymmetric protein localization during mitosis. *Current Biology*, 2002, 12(8):640-647.
- [37] Maton G, Thibier C, Castro A, et al. Cdc2-cyclin B triggers H3 kinase activation of Aurora-A in *Xenopus* oocytes. *Journal of Biological Chemistry*, 2003, 278(24):21439-21449.
- [38] Pascreau G, Delcrois J G, Morin N, et al. Aurora-A kinase Ser349 phosphorylation is required during *Xenopus laevis* oocyte maturation. *Developmental Biology*, 2008, 317(2):523-530.
- [39] Kinoshita K, Noetzel T L, Pelletier L, et al. Aurora A phosphorylation of TACC3/maskin is required for centrosome-dependent microtubule assembly in mitosis. *Journal of Cell Biology*, 2005, 170(7):1047-1055.
- [40] Mori D, Yano Y, Toyo-Oka K, et al. NDEL1 phosphorylation by aurora-A kinase is essential for centrosomal maturation, separation, and TACC3 recruitment. *Molecular and Cellular Biology*, 2007, 27(1):352-367.
- [41] Wu C C, Yang T Y, Yu C T, et al. p53 negatively regulates Aurora A via both transcriptional and posttranslational regulation. *Cell Cycle*. 2012,11(18):3433-3442.
- [42] Rosenblatt J, Cramer L P, Baum B, et al. Myosin II-dependent cortical movement is required for centrosome separation and positioning during mitotic spindle assembly. *Cell*, 2004, 117(3): 361-372.
- [43] Cao J, Crest J, Fasulo B, et al. Cortical Actin dynamics facilitate early-stage centrosome separation. *Current Biology*, 2010, 20(8): 770-776.
- [44] Wang W Q, Chen L Y, Ding Y B, et al. Centrosome separation driven by actin- microfilaments during mitosis is mediated by centrosome-associated tyrosine-phosphorylated cortactin. *Journal of Cell Science*, 2008, 121(8): 1334-1343.
- [45] Tehrani S, Tomasevic N, Weed S, et al. Src phosphorylation of cortactin enhances actin assembly. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2007, 104(29): 11933-11938.
- [46] Tanenbaum M E, Macurek L, Galjart N, et al. Dynein, Lis1 and CLIP-170 counteract Eg5-dependent centrosome separation during bipolar spindle assembly. *Embo Journal*, 2008, 27(24): 3235-3245.
- [47] Smith E, Hegarat N, Vesely C, et al. Differential control of Eg5-dependent centrosome EMBO separation by Plk1 and Cdk1. *Embo Journal*, 2011, 30(11): 2233-2245.
- [48] Mardin B R, Lange C, Baxter J E, et al. Components of the Hippo pathway cooperate with Nek2 kinase to regulate centrosome disjunction. *Nature Cell Biology*, 2010, 12(12): 1166-U106.
- [49] Busch C, Barton O, Morgenstern E, et al. The G(2)/M checkpoint phosphatase cdc25C is located within centrosomes. *International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 2007, 39(9): 1707-1713.
- [50] Boutros R, Lorenzo C, Mondesert O, et al. CDC25B associates with a centrin 2-containing complex and is involved in maintaining centrosome integrity. *Biology of the Cell*, 2011, 103(2): 55-68.
- [51] Shreeram S, Hee W K, Bulavin D V. Cdc25A serine 123 phosphorylation couples centrosome duplication with DNA replication and regulates tumorigenesis. *Molecular and Cellular Biology*, 2008, 28(24): 7442-7450.
- [52] Boutros R, Ducommun B. Asymmetric localization of the CDC25B phosphatase to the mother centrosome during interphase. *Cell Cycle*, 2008, 7(3): 401-406.
- [53] Martin-Granados C, Philp A, Oxenham S K, et al. Depletion of protein phosphatase 4 in human cells reveals essential roles in centrosome maturation, cell migration and the regulation of Rho GTPases. *International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 2008, 40(10): 2315-2332.
- [54] Mardin B R, Agircan F G, Lange C, et al. Plk1 controls the Nek2A-PP1 gamma antagonism in centrosome disjunction. *Current Biology*, 2011, 21(13): 1145-1151.
- [55] Eto M, Elliott E, Prickett T D, et al. Inhibitor-2 regulates protein phosphatase-1 complexed with NimA-related kinase to induce centrosome separation. *Journal of Biological Chemistry*, 2002, 277(46): 44013-44020.
- [56] Leach C, Shenolikar S, Brautigan D L. Phosphorylation of phosphatase inhibitor-2 at centrosomes during mitosis. *Journal of Biological Chemistry*, 2003, 278(28): 26015-26020.

- [57] Janssens V, Longin S, Goris J. PP2A holoenzyme assembly: in cauda venenum (the sting is in the tail). *Trends in Biochemical Sciences*, 2008, 33(3): 113-121.
- [58] Mochida S, Ikeo S, Gannon J, et al. Regulated activity of PP2A-B55 delta is crucial for controlling entry into and exit from mitosis in *Xenopus* egg extracts. *Embo Journal*, 2009, 28(18): 2777-2785.
- [59] Mochida S, Maslen S L, Skehel M, et al. Greatwall phosphorylates an inhibitor of protein phosphatase 2A that is essential for mitosis. *Science*, 2010, 330(6011): 1670-1673.
- [60] Gharbi-Ayachi A, Labbe J C, Burgess A, et al. The substrate of greatwall kinase, Arpp19, controls mitosis by inhibiting protein phosphatase 2A. *Science*, 2010, 330(6011): 1673-1677.
- [61] Brownlee C W, Klebba J E, Buster D W, et al. The protein phosphatase 2A regulatory subunit twins stabilizes Plk4 to induce centriole amplification. *Journal of Cell Biology*, 2011, 195(2): 231-243.
- [62] Voets E, Wolthuis R M F. MASTL is the human orthologue of greatwall kinase that facilitates mitotic entry, anaphase and cytokinesis. *Cell Cycle*, 2010, 9(17): 3591-3601.
- [63] Boutros R, Lohjoi V, Ducommun B. CDC25B involvement in the centrosome duplication cycle and in microtubule nucleation. *Cancer Research*, 2007, 67: 11557-11564.
- [64] Sumiyoshi E, Sugimoto A, Yamamoto M. Protein phosphatase 4 is required for centrosome maturation in mitosis and sperm meiosis in *C. elegans*. *Journal of Cell Science*, 2002, 115(7): 1403-1410.
- [65] Lingle W L, Lutz W H, Ingle J N, et al. Centrosome hypertrophy in human breast tumors: implications for genomic stability and cell polarity. *Proc Natl Acad Sci. USA*, 1998, 95: 2950-2955.
- [66] Weber R G, Bridger J M, Benner A, et al. Centrosome amplification as a possible mechanism for numerical chromosome aberrations in cerebral primitive neuroectodermal tumors with TP53 mutations. *Cytogenet Cell Genet*, 1998, 83:266-269.
- [67] Sato N, Mizumoto K, Nakamura M, et al. Correlation between centrosome abnormalities and chromosomal instability in human pancreatic cancer cells. *Cancer Genet Cytogenet*, 2001, 126: 13-19.
- [68] Pihan G A, Purohit A, Wallace J, et al. Centrosome defects can account for cellular and genetic changes that characterize prostate cancer progression. *Cancer Res*, 2001, 61: 2212-2219.
- [69] Takayama K, Horie-Inoue K, Suzuki T, et al. TACC2 is an androgen-responsive cell cycle regulator promoting androgen-mediated and castration-resistant growth of prostate cancer. *Mol Endocrinol*, 2012, 26(5):748-761.
- [70] Wang S, Li W, Liu N, et al. Nek2A contributes to tumorigenic growth and possibly functions as potential therapeutic target for human breast cancer. *J Cell Biochem*, 2012, 113(6): 1904-1914.
- [71] Shen E Z, Lei Y, Liu Q, et al. Identification and characterization of INMAP, a novel interphase nucleus and mitotic apparatus protein that is involved in spindle formation and cell cycle progression. *Exp Cell Res*, 2009, 315: 1100-1116.
- [72] Rangasamy V, Mishra R, Sondarva G, et al. Mixed-lineage kinase 3 phosphorylates prolyl-isomerase pin1 to regulate its nuclear translocation and cellular function. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, 109(21):8149-8154.

Research Progress on Centrosome Cycle Related Protein Phosphorylation /Dephosphorylation and the Involved Functions

TAN Tan^{1,3} LIANG Qian-jin^{1,2}

(1 College of Life Sciences, Beijing Normal University / Beijing Key Lab of Gene Engineering Drugs
& Biological Technology, Beijing 100875, China)

(2 College of Life Sciences, Beijing Normal University / Key Laboratory of Cell Proliferation and Regulation Biology
of Ministry of Education, Beijing 100875, China)

(3 College of Life Sciences, Beijing Normal University / Beijing Key Lab of Gene Resource and Molecular Development,
Beijing 100875, China)

Abstract Centrosome is a significant organelle without membrane in animal cells and some lower plant cells. Normally, centrosomes participate cell division (mitosis), form spindle which is based on microtubules

and then pull the duplicated chromosomes to the opposite poles of the cell. This process ensures that genetic materials (DNA) can pass from one generation to the next accurately, orderly and perfectly. Like other essential organelles related with cell division and proliferation, the behavior and regulation of centrosome also depends on many function-related proteins. In these proteins, one part connects with centrosome duplication and separation, ensuring centrosome cycle achieved; the other part, not only associates with cell cycle and centrosome, but also plays vital roles in other aspects. Regardless of normal cells or abnormal cells (e. g. tumour cells), protein modifications, especially the phosphorylation modification, dominate in cell regulation. As one kind of the major organelles cells, centrosome contains many centrosomal proteins depend on phosphorylation regulation. To provide references for future research, the centrosome cycle related protein phosphorylation and function were reviewed.

Key words Centrosome Centrosome cycle related protein Phosphokinase Phosphatase