

·专论与综述·

NuMA 的分布和功能 *

段 馨¹ 陆长富^{1,2} 卢光琇^{1,2△}

(1 中南大学生殖与干细胞工程研究所 湖南 长沙 410078 2 中信湘雅生殖与遗传专科医院 湖南 长沙 410078)

摘要 核有丝分裂器蛋白(Nuclear Mitotic Apparatus Protein ,NuMA)是一种在间期细胞核内有大量表达的大分子蛋白。NuMA 是微管聚合因子,能使微管锚定于纺锤体极。在细胞有丝分裂、减数分裂过程中对纺锤体的形成和形态的维持发挥重要作用。

关键词 NuMA ;分布 ;功能

中图分类号 R329.1 Q28 **文献标识码** A **文章编号** :1673-6273(2011)17-3367-03

Distribution and function of NuMA*

DUAN Xin¹, LU Chang-fu^{1,2}, LU Guang-xiu^{1,2△}

(1 Institute of Reproductive and Stem Cell Engineering, Central South University, Changsha 410078, People's Republic of China;

2 Reproductive & Genetic Hospital of CITIC-XIANGYA, Changsha 410078, People's Republic of China)

ABSTRACT: Nuclear Mitotic Apparatus (NuMA) Protein is a high molecular weight polypeptidean and is an abundant component of interphase nuclei. NuMA is a kind of microtubule polymerization factor that can tethering spindle microtubule to their poles. NuMA plays a role key in forms of spindle formation and maintenance.

Key words: NuMA; Distribution; Function

Chinese Library Classification: R329.1, Q28 **Document code:** A

Article ID:1673-6273(2011)17-3367-03

核有丝分裂器蛋白(Nuclear Mitotic Apparatus Protein ,NuMA,又名 SPN,SPH ,W1 ,1F1/1H1 或中心体亲和蛋白等)是一种分子量为 236-240 kDa 的大分子核蛋白质,由一个球形头部与一个包含 1500 个氨基酸的非连续卷曲结构的尾部组成。NuMA 的羧基末端包含有一个核定位信号(nuclear localization signal ,NLS)和一段由 100 个氨基酸残基组成的直接指导微管聚合的结构^[1,2]。NuMA 最早于 1980 年被 Lydersen 和 Pettijohn 发现并命名^[3]。随后的相关研究发现 NuMA 对细胞有丝分裂及减数分裂过程中纺锤体的形成和结构维持、细胞分裂后期核重组均发挥重要作用,并发现 NuMA 的过表达与癌症相关,NuMA 的降解将导致细胞正常结构的分解。本文将对 NuMA 在动物体细胞有丝分裂、生殖细胞减数分裂、体外受精胚胎以及核移植胚胎早期发育过程中的分布与功能的研究现状进行综述。

1 NuMA 的分布与表达

1.1 NuMA 在细胞有丝分裂过程中的分布与表达

NuMA 在猪^[4]、爪蟾^[5]等动物以及人类^[6]体细胞有丝分裂间期,分布于细胞核内。细胞核膜破裂后,NuMA 随染色质进入细胞质内,并在中心体附近聚集,于细胞有丝分裂中期凝集呈新月状分布于纺锤体两极。细胞有丝分裂后期,NuMA 分布于分

离的染色体外侧。NuMA 在细胞有丝分裂末期随染色体进入新生的子细胞内,并重新定位于细胞核内。但是在兔成纤维细胞^[7]有丝分裂间期,未见 NuMA 的表达。可能为表达缺失,特殊的翻译后修饰和蛋白降解等原因所致。

研究发现并非所有类型细胞中都存在 NuMA 的表达,Merdes 等^[8]发现在小鼠的几类细胞如精子、粒细胞,一些分化的胃和骨骼肌细胞中未检测到 NuMA,在人类也发现了数种细胞存在 NuMA 缺如的现象^[8,9],例如人类乳腺癌细胞 MCF-7、表皮角蛋白细胞、精原细胞和一些神经元等。

1.2 NuMA 在细胞减数分裂过程中的分布与表达

在哺乳动物细胞减数分裂过程中,NuMA 在 Gv 期卵母细胞内呈点状分散分布于细胞核质内除核仁外的部位。随后生发泡破裂(germinal vesicle break down ,GVBD),NuMA 进入细胞质内,并聚集在染色体周围。在卵母细胞第一次和第二次减数分裂中期,NuMA 凝集呈新月状分布于纺锤体两极^[4,6,10,11]。NuMA 在小鼠卵母细胞 MI 及 MII 期附着分布于纺锤体丝上,未凝集分布于纺锤体两极。这种差异可能正好反映了小鼠与猪等动物卵母细胞纺锤体极来源的差异,猪的纺锤体极由 NuMA 聚集微管组成,而小鼠纺锤体极由微管组织中心募集微管形成。

* 基金项目 国家自然科学基金(30671020,30800650)

作者简介 段馨(1985-)女,硕士研究生,研究方向 核移植

△通讯作者 卢光琇 电话 0731-82355100 E-mail:lugxdirector@yahoo.com.cn。

(收稿日期 2011-05-10 接受日期 2011-05-31)

1.3 NuMA 在体外受精胚胎及核移植胚胎中的分布与表达

NuMA 在体外受精形成的胚胎及核移植胚胎中分布大致相似,在人^[6,11]、猪^[4]、鼠^[4]等动物中,原核阶段及两细胞胚胎阶段间期细胞内,NuMA 分布于细胞核质中。核膜破裂后,NuMA 随染色体进入细胞质,并在染色体附近开始聚集。NuMA 在细胞分裂中期呈"新月状"凝集分布于纺锤体两极。最终随细胞的分裂,与染色体一起进入子细胞内,重新聚集于子细胞核内。另有研究发现在兔^[7]等动物中,原核及两细胞胚胎时期间期细胞核内可见 NuMA 分布于核内,NuMA 在中期散在分布于细胞质内,在纺锤体两极未见凝集。分裂后期和末期细胞内未检测到 NuMA。但是在兔的孤雌激活胚中,NuMA 的分布等与猪等动物一致,仅在后期表现为呈点状分布于胞质内。造成此现象的具体原因目前暂不明确。

2 NuMA 的功能

2.1 NuMA 在细胞核内的作用

细胞分裂间期 NuMA 分布于细胞核质内,但是目前对于 NuMA 在细胞间期的作用不是很明确,有人认为 NuMA 在细胞分裂间期分布于核质内可能有结构支持和组织染色质结构的作用,也有研究报道 NuMA 在细胞分裂间期核质内并不发挥作用,仅仅是一种非必须的核质结构蛋白,而且这种蛋白一般主要在增殖活跃的细胞内表达^[11]。

Berezney 和 Coffey 最先提出了"核基质"的概念,定义为一种存在于细胞核内由结构蛋白组成的不可溶的 3D- 网状结构,具有与细胞质中细胞骨架类似的分区作用。NuMA 被认为是最有可能的核支架结构成分。理由如下:1)在非球形细胞核内未检测到 NuMA 的表达,证明 NuMA 的含量与细胞核形态有关;2)NuMA 包括了一个长的螺旋式卷曲结构,说明可以聚集成丝;3)NuMA 在核内高度表达,并占据了大量的空间;4)高阶多臂结构等。另外也有假设为 NuMA 存在于核内的原因可能是为了通过核膜将其与微管蛋白分隔开。

2.2 NuMA 与纺锤体形成及其结构的维持

正常的细胞分裂与遗传物质的传承依赖于纺锤体的正常形成,其对遗传物质的准确分离,参与纺锤体形成的蛋白和细胞器如中心体、NuMA、动力蛋白和微管蛋白等在其中各自发挥了不同的重要作用。目前研究均认为 NuMA 在细胞有丝分裂中有指导纺锤体形成并维持其形态功能的作用。国内有学者^[10]以猪颗粒细胞为供核细胞,注入去核小鼠卵母细胞质内构建猪-鼠种间核移植胚胎,并于猪-鼠种间核移植胚胎激活 10h 后注入 NuMA 抗体。对所构建的胚胎进行人工激活 16h 后使用间接免疫荧光染色法检测发现纺锤体形态均存在异常,出现三极纺锤体等,而对照组(未注入 NuMA 抗体,其余条件相同)正常纺锤体比例及发育到二细胞阶段胚胎比率相对实验组高。因此论证了 NuMA 对纺锤体的形成及结构的维持发挥重要作用的观点。Andreas 等^[5]将爪蟾卵胞质萃取液与精子遗传物质在体外共培养后进行免疫荧光染色检测发现能形成两极正常形态纺锤体,而经过 NuMA 抗体处理的爪蟾卵胞质萃取液与精子遗传物质体外共培养则不能形成正常形态纺锤体。补救试验中

加入重组纯化 NuMA 后,观察到正常纺锤体形成。因此作者认为,NuMA 对于细胞有丝分裂过程中正常形态两极纺锤体的形成及其形态的维持是必须的。另外,Andreas Merdes 还将 NuMA 分为近端与远端两部分,再分别与爪蟾卵胞质萃取液体外共培养发现,NuMA 远端有指导聚集微管蛋白的作用,而近端则无此功能。上述研究均说明了 NuMA 在纺锤体形成过程中的关键作用。

细胞有丝分裂过程中 NuMA 功能的发挥依赖于磷酸化和去磷酸化的调节。伴随核膜的破裂,NuMA 在 cyclin B/cdc2 激酶的作用下发生磷酸化后进入细胞质内,与动力蛋白结合形成 NuMA- 动力蛋白复合体,在动力蛋白作用下转移并定位于纺锤体两极。NuMA 羧基末端存在 4 个磷酸化作用位点,研究表明此四个位点如存在变异则可导致 NuMA 不能发生磷酸化,不能被转移定位到纺锤体两极^[12]。NuMA 定位于纺锤体极后,通过微管结合位点聚集微管蛋白,指导纺锤体形成。有研究报道 NuMA 的过表达会诱导多极纺锤体形成,细胞分裂异常,因此认为与肿瘤发生相关。同时人们发现在乳癌^[13]、直肠癌^[14]、头颈部肿瘤^[15]、人脑胶质瘤^[16]等肿瘤组织中有 NuMA 高表达,提示 NuMA 与肿瘤发生有密切关系。

3 NuMA 在核移植中的作用

哺乳动物核移植技术发展至今已有十余年,陆续在数个物种中获得了成功,但核移植效率低,个体出生率仅 1-5%。Simerly 等^[17]在非人灵长类体细胞核移植实验中发现,所检测的体细胞核移植胚胎中 NuMA 缺失,驱动蛋白 Eg5 分布紊乱,纺锤体形态异常,因此作者认为,非人灵长类体细胞核移植实验失败的主要原因是由于卵母细胞去核过程中造成了 NuMA 及驱动蛋白 Eg5 损失。后来的研究显示,大部分猴子体细胞核移植胚胎 NuMA 分布基本正常^[18]。本实验室对人类体细胞核移植胚胎进行免疫荧光染色发现,人类体细胞核移植胚胎有 NuMA 的表达,纺锤体形态正常,因此否认了去核过程导致的 NuMA 蛋白的丢失导致核移植效率低的观点^[6]。但人类体细胞核移植胚胎中 NuMA 具体来源不明确,有待进一步研究。另外有研究认为 NuMA 在基因重组中发挥作用,而核移植胚胎发育过程中是否存在 NuMA 对重编程的影响尚无相关报道。

4 展望

NuMA 的重要功能已引起了人们的广泛关注。自 NuMA 被发现至今已有 30 余年,但人类对 NuMA 的功能及作用机制的认识尚不够深入。目前对 NuMA 的研究主要集中于 NuMA 在细胞周期中的定位与功能、对纺锤体极形成和结构的维持、与中心体及动力蛋白等的相互作用、核重组等方面。NuMA 在间期细胞核内的作用、在生殖细胞减数分裂、细胞核形成及结构维持的作用机制也有待进一步研究。NuMA 的深入探索有利于分析核移植效率相关问题,可能推动核移植技术的发展,从而促进人类治疗性克隆临床应用的步伐。NuMA 与肿瘤关系的研究,为进一步了解肿瘤的发生机制及个性化靶向治疗奠定基础^[19]。

参考文献(References)

- [1] Gueth-Hallonet C, Weber K, Osborn M. NuMA: a bipartite nuclear location signal and other functional properties of the tail domain [J]. *Exp Cell Res*,1996,225(1):207-218
- [2] Haren L, Merdes A. Direct binding of NuMA to tubulin is mediated by a novel sequence motif in the tail domain that bundles and stabilizes microtubules [J]. *J Cell Sci*, 2002,115(Pt 9):1815-1824
- [3] Lydersen BK, Pettijohn DE. Human-specific nuclear protein that associates with the polar region of the mitotic apparatus: distribution in a human/hamster hybrid cell [J]. *Cell*,1980,22(2 Pt 2):489-499
- [4] Lee J, Miyano T, Moor RM. Spindle Formation and Dynamics of g-Tubulin and Nuclear Mitotic Apparatus Protein Distribution During Meiosis in Pig and Mouse Oocytes [J]. *Biol Reprod*,2000,62: 1184-1192
- [5] Merdes A, Ramyar K, Vechio JD, Cleveland DW. A complex of NuMA and cytoplasmic dynein is essential for mitotic spindle assembly [J]. *cell*, 1996,87:447-458
- [6] Xu XM, Duan X, Lu CF et al. Dynamic distribution of NuMA and microtubules in human fetal fibroblasts, developing oocytes and somatic cell nuclear transferred embryos [J]. *Human Reprod*,2011,1-9
- [7] Yan LY, Huang JC, Zhu ZY, Lei ZL et al. NuMA distribution and microtubule configuration in rabbit oocytes and cloned embryos [J]. *Reproduction*,2006, 132(6):869-76
- [8] Merdes A, Cleveland DW. The role of NuMA in the interphase nucleus [J]. *J Cell Sci*,1998,111:71-79
- [9] Taimen P, Viljamaa M, Kallajoki M. Preferential expression of NuMA in the nuclei of proliferating cells [J]. *Exp Cell Res*,2000,256:140-149
- [10] Zhong ZS, Zhang G, Meng XQ, et al. Function of donor cell centrosome in intraspecies and interspecies nuclear transfer embryos [J]. *Exp Cell Res*,2005,30635-30646
- [11] Alvarez Sedó C, Schatten H, Combelles CM, Rawe VY. The nuclear mitotic apparatus (NuMA) protein: localization and dynamics in human oocytes, fertilization and early embryos [J]. *Mol Hum Reprod*, 2011,17(6):392-398
- [12] Compton, D.A. and Luo, C. Mutation of the predicted p34cdc2 phosphorylation sites in NuMA impair the assembly of the mitotic spindle and block mitosis [J]. *J Cell Sci*,1995,108: 621-633
- [13] Kammerer S, Roth R B, Hoyal C R, et al, Association of the NuMA region on chromosome 11q13 with breast cancer susceptibility [J], *PNAS*,2005,102(6):2004-2009
- [14] Briggman J, Genduso R, Camara C, et al. NuMA: evaluation of a new biomarker for the detection of low stage colorectal cancer [J]. *Anti-cancer Res*, 1999, 19 (4A) : 2411-2414
- [15] Gollin SM. Chromosomal alterations in squamous cell carcinomas of the head and neck: Window to the biology of disease [J]. *Head & neck*, 2001, 23 (3) : 238-253
- [16] 肖瑾, 万经海, 李长元等. 核有丝分裂器蛋白 NuMA 在人脑胶质瘤中的表达[J]. *安徽医科大学学报*, 2007,42(1):42-44
- [17] Simerly C, Dominko T, Navara C et al. Molecular correlates of primate nuclear transfer failures [J]. *Science*, 2003,300:5617
- [18] Zhou Q, Yang SH, Ding CH et al. A comparative approach to somatic cell nuclear transfer in the rhesus monkey [J]. *Hum Reprod*,2006,21: 2564-2571
- [19] 周宏灏, 刘洁. 抗肿瘤药物的基因导向性个体化治疗[J]. *肿瘤药学*, 2011,1(1):6-11
- Zhou Hong-hao, Liu Jie. Gene targeting tailored therapy for the anti-tumor drugs[J]. *Anti-tumor Pharmacy*, 2011,1(1):6-11
- [13] Pan Cheng-ying, Hu Jing, Zhang xia, et al. The DNA barcoding application of mtDNA COI genes in seven species of Catantopidae (Orthoptera), *Entomotaxonomia*, 2006,28(2):102-110
- [14] Phylogenetic Signal in the COI, 16S, and 28S Genes for inferring relationships among genera of Microgastrinae (Hymenoptera; Braconidae): evidence of a high diversification rate in this group of parasitoids, *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 1999, 12(3):282-294
- [15] 李青青, 段焰青, 李佛琳, 等. 线粒体基因在鳞翅目昆虫分子系统学中的研究进展[J]. *昆虫知识*, 2009,46:372-82
- Li Qing-qing, Duan Yan-qing, Li Fuo-lin, et al. Advances in molecular systematics of Lepidoptera using mitochondrial DNA sequences [J]. *Chinese Bulletin of Entomology*, 2009,46: 372-82(In Chinese)
- [16] D.H.Lunt, D.-X.Zhang, J.M.Szymura, et al. The insect cytochrome oxidase I gene: evolutionary patterns and conserved primers for phylogenetic studies[J]. *Insect Molecular Biology*, 1996, 5(3): 153-165
- [17] Vandewoestijne S, Baguette M, Brakefield P M, et al . Phylogeography of Aglais urticae (Lepidoptera) based on DNA sequences of the mitochondrial COI gene and control region[J]. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 2004 , 31: 630-646
- [18] Li Shao-song, Chen Hai, Zhong Xin, et al. Study on COI, COII and Cytb genes in the identification of Hepialus species[C]. The 4th International Conference on Bioinformatics and Biomedical Engineering, Chengdu, 2010
- [19] 梁宗琦. 一种国内未见报道的虫草菌 - 古尼虫草 [J]. *真菌学报*, 1983,2(4):258-259
- Liang Zong-qi. A description of Cordyceps gunnii in china [J]. *Acta Mycologica Sinica*, 1983,2(4):258-259(In Chinese)
- [20] 梁宗琦. 中国真菌志第三十二卷虫草属[M]. 科学出版社, 2007:1
- Liang Zong-qi. *Flora fungorum sinicorum* [M]. Science Press, 2007: 1-190(In Chinese)

(上接第 3358 页)