

解開人類細胞 中心粒複製之謎



唐堂特聘研究員
中央研究院生物醫學所

高等動物的細胞分裂包括DNA與中心粒二種複製。目前學術界對於DNA的複製已經相當瞭解，但對中心粒的複製卻仍然陌生。大多數的細胞在細胞核附近都有一顆中心體內含2顆呈現垂直相交的中心粒，此2顆中心粒會複製成4顆中心粒。中心粒是由微管絲所組成，具nine-triplet結構。當細胞進入分裂前期時，複製後的中心粒會移到細胞的二端，並調控微管絲的聚集。此微管絲將抓住染色體，並將複製後的染色體均勻的拉到二個子細胞內，如此使子細胞獲得相同的遺傳物質。長久以來細胞內中心粒是如何複製產生，一直是細胞生物學家未解之謎。

畸型小頭症 (MCPH) 是一種人類遺傳疾病，主要症狀是病人腦容量小，並伴隨中，重度智力障礙。目前已知至少有9種MCPH基因缺陷會造成畸型小頭症。有趣的是此9種MCPH蛋白都位於細胞中心體或中心粒上，但彼此間功能性的關連卻不甚清楚。本研究室於2000年首先發現一個新穎性蛋白命名為CPAP (Mol. Cell. Biol. 2000)，並揭開此蛋白主要功能是調控中心粒複製與長度。有趣的是，前人(Bond et al., 2005)研究發現CPAP/CENPJ (MCPH6) 基因缺陷是造成畸型小頭症病因之一，但其分子致病機轉並不清楚。

過去10年來本研究室發現CPAP帶有二個功能基：tubulin-dimer binding domain (Mol. Biol. Cell, 2004)及microtubule binding domain(Exp. Cell Res., 2008)，此二功能基主要是調節細胞內微管絲聚合與解離。陸續深入的研究顯示CPAP是一個受細胞週期調控的蛋白，主要功能是調控中心粒的複製與長度 (Nat. Cell Biol. 2009)。近3年來本研究室更進一步解開另二個畸型小頭症蛋白STIL (MCPH7) 及CEP135 (MCPH8) 的功能。發現STIL (EMBO J, 2011) 與CEP135 (EMBO J, 2013) 都會直接與CPAP蛋白結合，並形成一個蛋白質複合體，共同參與中心粒的複製。據此本研究室提出一分子機轉，將3個引發畸型小頭症蛋白 (CPAP/MCPH6, STIL/MCPH7, CEP135/MCPH8)功能串連在一起，解出他們如何彼此共同作用，參與中心粒複製與生成 (Figure 1)。研究成果已發表在3篇國際重要學術期刊 (Nat. Cell Biol., 2009; EMBO J., 2011; EMBO J., 2013)。

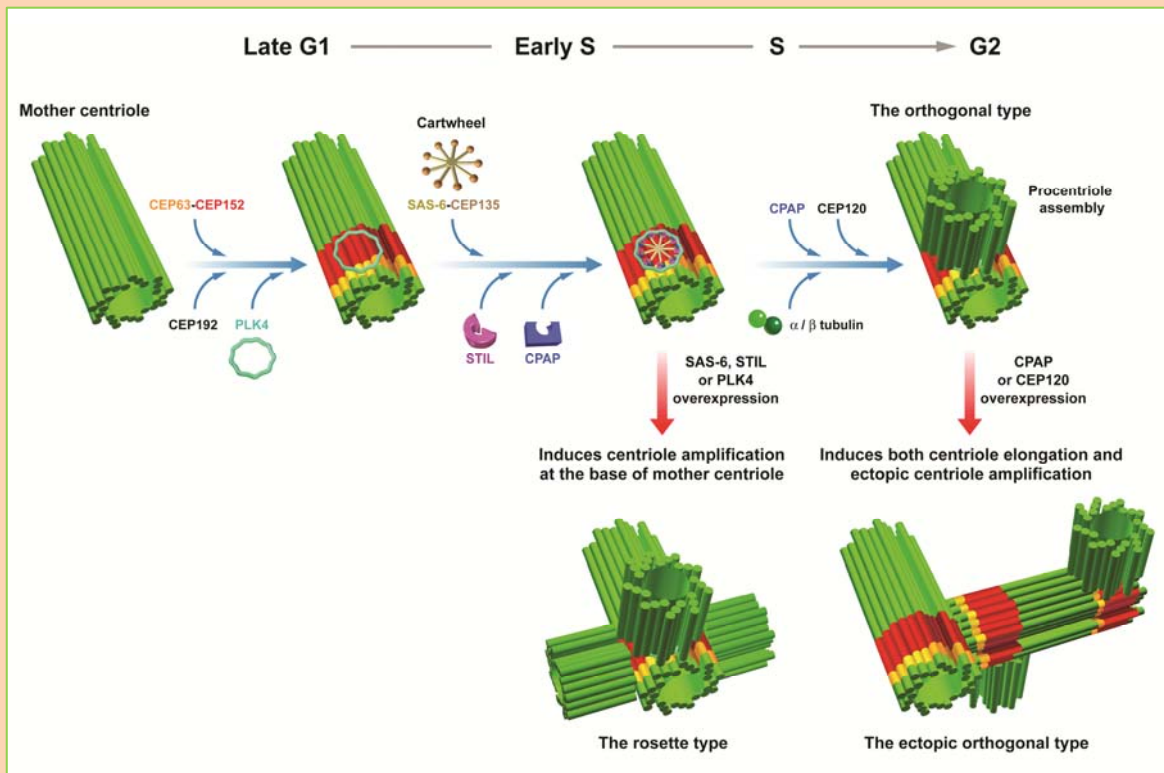
根據此發現我們提出一個重要假設：干擾幹細胞中心粒複製，將會促成神經幹細胞不正常分裂，並誘發幹細胞凋亡，繼而減少幹細胞與大腦皮層神經細胞數目，最後造成人類畸型小頭症。近年來我們進一步利用CPAP基因剔除鼠來驗證，發現沒有CPAP基因的小鼠，其神經幹細胞中心粒複製不正常，繼而會誘發神經幹細胞的凋亡，導致小鼠出生下來沒有大腦。有趣的是CPAP基因剔除鼠所誘發神經幹細胞之凋亡是受p53蛋白所調控。目前我們正研究其分子細胞病理機轉，此疾病小鼠未來將可作為研究神經幹細胞分裂及人類畸形小頭症致病重要工具。

另外在本年度研究中我們亦發現另一中心粒蛋白CEP120會與CPAP結合，共同參與中心粒長度調控。研究成果已發表在國際知名細胞生物學期刊（*J Cell Biol.*, 2013）。本研究室是全球第一位發現CPAP蛋白基因並發表一系列的論文，此研究成果對未來研究中心粒複製，多纖毛細胞中心粒形成，腦神經幹細胞的分裂，腦容量大小，以及人類畸形小頭症分子致病機轉之瞭解將有重要貢獻。

References:

1. Hung, L-Y., Tang, C-J. C., Tang, T.K.* (2000). P4.1R (135 kDa) interacts with a novel centrosomal protein (CPAP), which is associated with the gamma-tubulin complex. *Mol. Cell. Biol.* 20, 7813-7825.
2. Hung, L-Y., Chen, H-L., Chang, C-W., Li, B-R., and Tang, T. K.* (2004) Identification of a novel microtubule-destabilizing motif in CPAP that binds to tubulin heterodimers and inhibits microtubule assembly. *Mol. Biol. Cell.* 15, 2697-2706.
3. Hsu, W-B., Hung, L-Y., Tang, C-J. C., Su, C-L., Chang, Y., and Tang, T. K.*(2008) Functional characterization of the microtubule-binding and -destabilizing domains of CPAP and d-SAS-4. *Exp. Cell Res.* 314, 2591-2602.
4. Tang, C-J. C., Fu, R-H., Wu, K-S, Hsu, W-B., and Tang, T. K.*(2009) CPAP is a cell-cycle regulated protein that controls centriole length. *Nat. Cell Biol.* 11, 825-831.
5. Tang, C-J.C., Lin, S-Y., Hsu, W-B., Lin, Y-N., Wu, C-T., Lin, Y-C., Chang, C-W., Wu, K-S., and Tang, T.K.* (2011) The human microcephaly protein STIL interacts with CPAP and is required for procentriole formation. *EMBO. J.* 30, 4790-4804.
6. Lin, Y-C., Chang, C-W., Hsu, W-B., Tang, C-J. C., Lin, Y-N., Chou, E-J., Wu, C-T., and Tang, T.K.* (2013) Human microcephaly protein CEP135 binds to hSAS-6 and CPAP, and is required for centriole assembly. *EMBO. J.* 32, 1141-1154.
7. Lin, Y-N., Wu, C-T., Lin, Y-C., Hsu, W-B., Tang, C-J. C., Chang, C-W., and Tang, T.K.* (2013) CEP120 interacts with CPAP and positively regulates centriole elongation. *J. Cell Biol.* 202, 211-219
8. Tang, T.K.* (2013) Centriole biogenesis in multiciliated cells. *Nat. Cell Biol.* 15, 1400-1402.

Figure 1. In the orthogonal type (canonical centriole duplication), the onset of centriole assembly is triggered by the activation of PLK4 and recruitment of two microcephaly proteins, CEP63 and CEP152, to the mother centriole. CEP63 first forms a ring-like structure with CEP152 at the surface of the proximal end of the mother centriole. PLK4 interacts with and is recruited to the mother centriole by CEP152 and CEP192. STIL and the cartwheel proteins, SAS-6 and CEP135, are then recruited to the base of the nascent procentriole during the late G1 and early S phases. CEP135 directly binds to SAS-6 and CPAP, linking the cartwheel to the outer microtubules. CPAP then cooperates with CEP120 to promote the assembly of nine triplet microtubules during centriole biogenesis. Overexpression of PLK4, SAS-6, or STIL induces the rosette type of centriole amplification, while excess CPAP or CEP120 induces not only the ectopic orthogonal type of centriole amplification but also overly long centrioles in cycling cells. For simplicity, a single mother centriole is shown and its distal and sub-distal appendages are omitted. (Tang, TK., Nat Cell Biol. 15, 1400-1402, 2013).





2014年5月14日唐堂教授於台大醫學院202教室

