

## МИТОЗ. РЕГУЛЯЦИЯ И ОРГАНИЗАЦИЯ ДЕЛЕНИЯ КЛЕТОЧНОГО ЯДРА

© 2004 г. Л. И. Лебедева, С. А. Федорова, С. А. Трунова, Л. В. Омелянчук

*Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук. Новосибирск 630090;  
e-mail lil@bionet.nsc.ru*

Поступила в редакцию 05.02.2003 г.

Окончательный вариант получен 05.05.2004 г.

Рассмотрены современные представления о генетических, цитологических и молекулярных основах структурной организации и регуляции процессов подготовки и реализации сегрегации хромосом в митозе.

Точная репликация и передача ДНК от материнской клетки дочерним есть неперенное условие стабильности биологических систем. Передача генетического материала происходит с помощью самого распространенного и наиболее точного способа деления клеток – митоза. Современные представления о молекулярно-цитологических основах наиболее типичных случаев митоза: после активации MPF (Maturation Promoting Factor) хромосомы конденсируются, исчезают ядерная оболочка и ядрышко, формируется веретено, хромосомы перемещаются в экваториальную пластинку, происходит сегрегация хромосом и реконструкция дочерних ядер. Последовательность и продолжительность этих событий могут варьировать в клетках разных организмов и тканей. Но сохраняется основное свойство митоза – точное расхождение сестринских хроматид в дочерние ядра. Это достигается путем координации событий трех параллельных циклов – хромосомного, центросомного, цитоплазматического – при помощи инспектирующих механизмов системы контрольных точек checkpoints [1]. Ранее в обзоре “Основные события клеточного цикла, их регуляция и организация” нами были рассмотрены вопросы регуляции клеточного цикла в целом [2]. В настоящем обзоре более подробно рассмотрена одна стадия цикла – деление ядра (митоз).

Разные биологические системы характеризуются специфическими особенностями митоза. Поэтому любое обобщенное представление о митозе условно. Оправданием условности служат эволюционная консервативность схемы основных механизмов митоза. Имея в виду последнее, мы ограничили наш обзор данными, полученными главным образом на дрожжах и соматических клетках животных. Использованы результаты не только генетических экспериментов, но также биохимических и цитологических, поскольку

именно такой совокупный подход к изучению митоза обеспечил успех исследований последних лет.

### ОСНОВНЫЕ СОБЫТИЯ МИТОЗА

Митоз представляет собой непрерывный процесс. Для удобства описания его искусственно делят на несколько последовательных стадий: профаза, прометафаза, метафаза, начало анафазы, анафаза и телофаза. Ключевым моментом митоза является сегрегация хромосом в анафазе. На обеспечение точности этого процесса направлены все основные события митоза. Этой цели служат:

- Обособление и последующее расхождение сестринских центросом до определенных точек, локализующихся на поверхности ядра и определяющих расположение полюсов веретена и соответственно направление, в котором будут расходиться сестринские наборы хромосом в анафазе.
- Реорганизация сети интерфазных микротрубочек в полярные нити веретена, исходящие от центросомы.
- Реорганизация диффузного интерфазного хроматина в удобную для транспортировки структуру – конденсированную хромосому.
- Образование на центромере специфической структуры – кинетохора, ответственного за интеграцию хромосомы в веретено и последовательные митотические движения хромосомы.
- Полное обособление сестринских хроматид и расхождение дочерних хромосом до полюсов в анафазе А с последующим расхождением полюсов (вытягиванием веретена) в анафазе Б.

Митоз начинается с того, что активная форма MPF фосфорилирует клеточные белки, включая белки центросом, хромосом, ядерных ламин [2, 3]. Это приводит к конденсации хроматина, обособлению и расхождению двух центросом, распаду

ядерной оболочки и формированию веретена деления.

## РАСХОЖДЕНИЕ ЦЕНТРОСОМ

Центросома клеток животных состоит из пары центриолей, окруженных перицентрическим материалом (ПЦМ), который содержит белок перицентрин и  $\gamma$ -тубулиновый кольцевой комплекс ( $\gamma$ -TuRC), состоящий из  $\gamma$ -тубулина и ассоциированных белков. ПЦМ осуществляет организацию и рост микротрубочек [4, 5]. Положение центросомы в интерфазе неслучайно [6].

В начале профазы две центросомы, находящиеся до этого в тесном контакте, обособляются одна от другой и расходятся в противоположные стороны. Два механизма контролируют расхождение центросом: стартовый – подающий сигнал к началу расхождения, и моторный –двигающий центросомы. В клетках человека одним из элементов стартового механизма является кинезин-подобный моторный белок HsEg5 из семейства bimC [7]. Во время ранней профазы этот белок фосфорилируется по Thr-927 киназой Cdk1. Фосфорилированная форма белка ассоциирует с центросомой, что служит сигналом к расхождению центросом и формированию биполярного веретена. Значительное подобие химической структуры и функциональное сходство между моторными белками консервативного семейства *bimC* (*bimC Aspergillus nidulans*, *cut7 Schizosaccharomyces pombe*, *KLP61F Drosophila melanogaster*) дает основание предположить, что все эти белки являются элементами стартового механизма. Мутации в генах *bimC* [8] и *cut7* [9], разрушение белка *KLP61F* [10] приводят к нерасхождению центросом и формированию монополярного веретена. К нерасхождению центросом или аномально слабому их расхождению и формированию монополярного веретена приводят также мутации генов семейства *auroga A*, продукты которых вовлечены в дупликацию и обособление центросом [11].

В основе моторного механизма лежат тянущие силы, генерируемые вдоль астральных микротрубочек и пропорциональные их длине [12]. При обычных (симметричных) делениях, в результате которых образуются клетки одинакового размера, центросомы расходятся до точек, расположенных обычно на концах диаметра ядра [13, 14], и фиксируют ориентацию веретена и плоскость цитокинеза.

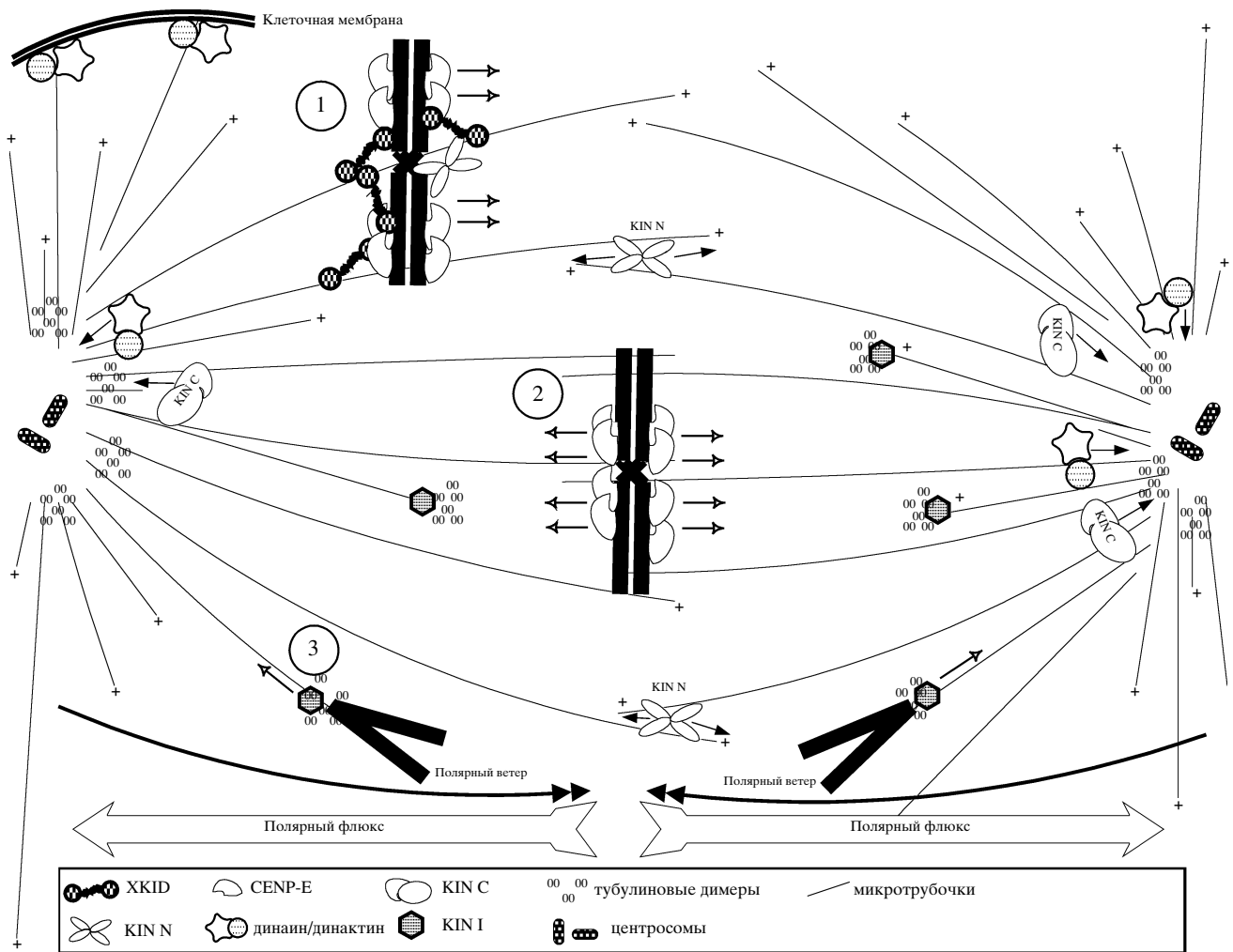
У почкующихся дрожжей, а также у многоклеточных организмов в ходе тканевого морфогенеза имеют место асимметричные деления (неравный цитокинез), при которых дочерние клетки получают идентичные наборы хромосом, но разные объемы цитоплазмы. Детали регулирования асимметричного деления могут различаться у

разных организмов и даже в разных делениях у одного и того же организма, но во всех случаях асимметрия детерминируется неслучайной локализацией в клетке сигнальных молекул или оргanelл. Различают два пути детерминации: митотический и домитотический. В клетках животных при развитии эмбриона асимметрия деления детерминируется во время митоза [15–20]. При этом деление начинается подобно симметричному с расхождения центросом до концов диаметра ядра и формирования веретена в центре клетки. Затем во время метафазы или анафазы происходит релокализация сигнальных молекул и меняются локализация и ориентация веретена [19]. Клетка контролирует позицию веретена, предположительно, через взаимодействие астральных микротрубочек, моторного белка динеина и кортикального слоя клеточной оболочки, что является частью механизма митотического checkpoint [19]. В случае аномальной позиции веретена митоз задерживается в начале анафазы [19].

У почкующихся дрожжей плоскость цитокинеза детерминируется до митоза селекцией участка образования почки. Во время митоза полярные тела (аналоги центросом высших эукариот) расходятся таким образом, что одно из них оказывается у входа в почку. Позднее, в анафазе, оно вместе с одним из дочерних ядер мигрирует в почку [21, 22]. Этот процесс контролируется цитоплазматическим динеином и кинезином Kin3p [23]. Поскольку центриоли реплицируются консервативным механизмом, одно из полярных тел (в клетках животных одна из центросом) содержит материнскую центриоль, а другое – дочернюю. Материнская и дочерние центриоли различаются биохимически, структурно и функционально [24–26]. У почкующихся дрожжей материнская центриоль отходит всегда в почку [27]. При асимметричных делениях у млекопитающих расхождение материнской и дочерней центриолей также неслучайно [26].

Механизмы, регулирующие локализацию и ориентацию веретена, тесно сопряжены между собой, но это разные процессы. Например, у *Caenorhabditis elegans* за положение веретена в клетке ответствен белок G $\alpha$ , а за ориентацию веретена – белок G $\beta\gamma$  [28]. У *D. melanogaster* в ориентацию веретена вовлечены продукты генов *frizzled*, *Basooka*, *disheveled* (см. [29]).

Недостаточное или избыточное число центросом или аномалии их расхождения приводят к аномальной сегрегации хромосом. На примере мутации генов семейства *aurora A* у дрозофилы показано, что нерасхождение центросом или слабое расхождение примерно на 0.5 мкм приводит к формированию монополярного веретена [30]. Аномально высокое число центросом с образованием многополярного веретена наблюдается в



**Рис. 1.** Схема строения митотического веретена животной клетки. Цифры в кружках: 1 – прометафаза, 2 – метафаза, 3 – анафаза.

раковых [31] и p53-негативных [32] клетках. При отсутствии белка p53 клетки с лишними центросомами проходят S-фазу и вступают в aberrantный митоз с многополярным веретеном. В результате образуются анеуплоидные клетки.

## МИКРОТРУБОЧКИ

В соответствии с выполняемой функцией различают три типа исходящих из центросом микротрубочек: межполярные, кинетохорные и астральные (рис. 1). Межполярные микротрубочки тянутся от полюса до экватора и через поперечно связывающие моторные белки контактируют между собой и с микротрубочками, исходящими из противоположного полюса. Они формируют веретено и поддерживают его целостность на протяжении всего митоза. Кинетохорные микротрубочки (К-микротрубочки) связывают центромеры сестринских хроматид с полюсами веретена и движут хромосомы во время прометафазы и

анафазы. Астральные микротрубочки осуществляют движения центросом.

В интерфазе микротрубочки образуют сеть во внеядерной области клетки. Перед началом митоза сеть разрушается, микротрубочки выстраиваются около центросомы, полимеризуются и формируют веретено.

Все микротрубочки состоят из нитей, образованных димерами  $\alpha$ - и  $\beta$ -тубулина, и ассоциированных с ними структурных и моторных белков (MAPs). Полимеризованный тубулин в структуре микротрубочек находится в динамическом равновесии с пулом свободного тубулина в клетке [33, 34]. Во время метафазы и анафазы молекулы тубулина в микротрубочках непрерывно движутся как по конвейеру навстречу полюсам, образуя микротрубочковый поток (microtubule flux, poleward flux) [3]. Субъединицы тубулина асимметричны, вследствие чего микротрубочки – полярные структуры, имеющие минус-концы, обращенные

к полюсу, и плюс-концы, взаимодействующие с хромосомами либо перекрывающиеся в центре веретена с плюс-концами оппозитных микротрубочек.

Микротрубочки могут двигать объект через полимеризацию/деполимеризацию [34] либо с помощью моторных белков. При полимеризации микротрубочек хромосомы “выталкиваются” из полюсов к экватору – этот феномен известен как полярная сила (polar ejection) или полярный ветер (polar wind, подробнее см. ниже). Во время анафазы хромосомы движутся к полюсам с помощью деполимеризации микротрубочек при потере молекул тубулина в кинетохорной области [35].

На выходе из митоза (в анафазе/телофазе) происходит структурная и функциональная реорганизация микротрубочек, важная для цитокинеза. К-микротрубочки распадаются по мере расхождения хромосом к полюсам, и практически в это же время появляются два типа стабильных микротрубочек. Одни из них в средней зоне анафазного веретена образуют пучки, параллельные продольной оси веретена [36]. Возможно, их появлением определяется начало цитокинеза [37]. Стабильные микротрубочки другого типа исходят из centrosом всегда только в сторону хромосом и, минуя их, связываются концами с кортикальным слоем клеточной оболочки в средней зоне веретена. Предполагают, что они образуются из динамичных астральных микротрубочек в конце анафазы, стимулируют сжатие клеточной оболочки и таким образом способствуют формированию борозды деления и обособлению дочерних клеток [37].

Астральные микротрубочки, исходящие из centrosом в противоположную от хромосом сторону, остаются динамичными на протяжении всего митоза [37]. По-видимому, они подавляют возможное формирование клеточной перетяжки во внеэкваториальных (полярных) районах веретена [37].

## КОНДЕНСАЦИЯ ХРОМОСОМ

Конденсация хромосом является одной из отличительных особенностей митоза, подмеченных еще в ранних исследованиях деления клеток. Деление ядра, сопровождающееся образованием в ядре нитевидных структур, Флемминг назвал митозом (от греческого слова “нить”). Нитевидные структуры позднее были названы хромосомами [38].

Упаковка хроматина меняется по ходу клеточного цикла и чувствительна к различным воздействиям и мутациям. Существует несколько иерархических уровней спирализации хроматина, наиболее высокие уровни спирализации реализуются во время митоза. Плотность упаковки метафазной хромосомы (отношение длины молекулы

ДНК к длине метафазной хромосомы) варьирует среди разных организмов и составляет ~140 у *Saccharomyces cerevisiae*, ~3000 у *Xenopus laevis*, ~6300 у *D. melanogaster*, ~10000 в соматических клетках человека. В интерфазе же плотность упаковки хроматина примерно одинакова у разных организмов и составляет ~80–100 (см. [39]). Иными словами, у высших эукариот хромосомы компактизируются во время митоза намного сильнее, чем у дрожжей.

Исследования последних лет показали, что когезин и конденсин участвуют в пострепликативном сцеплении сестринских хроматид и их компактизации, определяют размер и форму митотических хромосом. Когезин сшивает между собой две сестринские молекулы ДНК, это приводит к уменьшению длины хроматиновых нитей. Конденсин укладывает сестринские хроматиды в петли путем введения суперспиралей, в результате чего происходит уменьшение длины хроматиновых фибрилл. Относительная роль когезина и конденсина в компактизации хроматина меняется при переходе из интерфазы в митоз и варьирует у разных организмов. В пострепликативной интерфазе, а у *S. cerevisiae* (но не у позвоночных) и в митозе длина нитей хроматина определяется главным образом активностью когезина. При переходе в митоз возрастает роль конденсина, особенно это характерно для высших эукариот.

В начале митоза когезин выходит из хроматина. По мере его диссоциации уменьшается число сшивков между сестринскими хроматидами, это приводит к увеличению размера петель и соответственно к дальнейшему уменьшению длины постепенно визуализирующихся хромосом [39, 40]. На последующих стадиях митоза основная роль в компактизации хромосом у высших эукариот принадлежит конденсину.

13S-конденсин лягушки состоит из двух структурных субъединиц – ассоциированных с хромосомами белков ХСАР-С (синоним SMC4) и ХСАР-Е (синоним SMC2) и трех регуляторных субъединиц – белков ХСАР-Г, ХСАР-D2/Eg7 и ХСАР-Н (у дрозофилы гомологичные белки обозначаются как DmSMC4 (синоним gluon), DmSMC2, CG17054, CG1911, Barren). ХСАРН и ХСАР-D2 являются субстратами для митотической киназы Cdk1 [41]. ХСАР-D2 (человеческий гомолог белка ХСАР-D2) связан с внутренней осью митотической хромосомы [30]. Вне комплекса ни одна из субъединиц не индуцирует конденсацию хромосом в бесклеточных экстрактах [31]. Но как показано в многочисленных генетических исследованиях, выполненных на разных организмах, включая *S. cerevisiae* [32, 42–44], *S. pombe* [45, 46], *C. elegans* [47], *D. melanogaster* [48, 49], каждая из субъединиц существенна для конденсации и выживания. Мутации в генах, кодирующих белки конденсинового ком-

плекса, нарушают конденсацию и сегрегацию хромосом, блокируют клетки в митозе.

В процессе упаковки хромосом конденсин локализуется в районах, где гистон H3 фосфорилирован [50]. Одна из гипотез предполагает, что фосфорилирование N-терминального участка гистона H3 служит сигналом для начала конденсации [51]. По мере фосфорилирования гистона H3 ДНК становится более доступной для связывания с конденсином 13S [52], связывание которого с хромосомами существенно увеличивается во время митоза. Фосфорилируется гистон H3 киназой Aurora B (у *S.cerevisiae* это киназа Ip11, у *C. elegans* – AIR-2); мутации в гене, кодирующем эту киназу, вызывают многочисленные нарушения митоза [53, 54]. У *Emmericella nidulans* гистон H3 фосфорилируется другой киназой – NIMA [55].

Конденсация хромосом и фосфорилирование гистона H3 начинается с центромерных областей и распространяется к теломерным [50]. Ранее нами было высказано предположение, что зона соматического спаривания гомологичных хромосом начинается тоже в области прицентромерного гетерохроматина и распространяется далее по направлению к теломере [56]. В целом складывается картина некоторого однонаправленного от центромеры к теломере процесса, в котором участвуют конденсин и когезин и происходят одновременно и компактизация, и соматическое спаривание гомологичных хромосом.

Компактизация хроматина – многоступенчатый процесс, в котором помимо конденсина задействовано большое число белков. Их относительная роль меняется на разных стадиях митотической компактизации, варьирует у разных организмов. Так, успешная конденсация хромосом невозможна без участия топоизомеразы II. Одна из субъединиц конденсинового комплекса – продукт гена *barren* – взаимодействует с топоизомеразой II *in vivo* и *in vitro*, мутация в этом гене нарушает конденсацию и приводит к слипанию хромосом [49]. В исследованиях на мутантных линиях *topII* и *cut3* (ген *cell untimely torn*, кодирующий белок SMC4) *S. pombe* показано, что их продукты совместно участвуют в конденсации хроматина. Конденсин-опосредованная компактизация хромосом в профазе активирует декатенирующую функцию топоизомеразы II [52, 57]. В свою очередь, топоизомераза II участвует в образовании петель хроматина при дальнейшей компактизации хромосом в конденсации хроматина. Конденсин-опосредованная компактизация хромосом в профазе активирует декатенирующую функцию топоизомеразы II [52, 57]. В свою очередь, топоизомераза II участвует в образовании петель хроматина при дальнейшей компактизации хромосом. Инактивация *topII* с помощью мутации в соответствующем гене подавляет и декатенацию, и

конденсацию и приводит к аномальному расхождению хромосом в анафазе. [58]. Электронно-микроскопическое изучение деления лимфоцитов подтвердило, что и в клетках человека конденсация хроматид предшествует их разъединению [59].

Генетическими исследованиями [60] показано, что киназа Aurora B функционирует в комплексе с внутрицентромерным белком INCENP, который, в свою очередь, содержит белок survivin/BIR-1 [53, 61]. Мутации в генах, кодирующих эти три белка, вызывают множественные нарушения конденсации и сегрегации хромосом.

В серии генетических экспериментов прослеживается связь между конденсацией хромосом и функционированием убиквитинирующей системы, в том числе функционированием посттрансляционного модификатора – убиквитин-подобного белка SUMO (small ubiquitin-related modifier), который может прикрепляться к другим белкам и модулировать их функцию. Мутации в генах, кодирующих такие белки, вызывают аномальную конденсацию хромосом. Это мутации:

- в локусе *Su(var)2-10 D. melanogaster* [62], кодирующем белок, гомологичный белку Siz1 *S. cerevisiae*, который в условиях *in vitro* способствует ассоциации SUMO с септином [63];

- в гене *Smt4 S. cerevisiae*, продукт которого – протеаза – расщепляет SUMO [64];

- в локусе *cul-2 C. elegans*, продукт которого является компонентом убиквитин-лигазы [65].

Использование FISH и GFP существенно расширило возможности интерпретации генетических наблюдений, позволило показать, что хромосомы дрожжей действительно претерпевают конденсацию во время митоза и что в этом процессе участвуют когезин и конденсин [66, 67].

У высших эукариот формирование высококомпактизованных митотических уровней хромосомной структуры определяется процессами, задействованными не только в митозе, но также в интерфазе. Примером может служить зависимость структуры преждевременно конденсированного хроматина от того, когда происходила преждевременная конденсация – до, во время или после репликации ДНК [68]. Влияние репликации ДНК на морфологию митотических хромосом прослеживается через модифицированную структуру метафазных хромосом у линий дрозофилы, мутантных по гену *orc* [69, 70]. Шестисубъединичный комплекс ORC необходим для начала репликации ДНК. КИНЕТОХОР: СТРУКТУРА И ФУНКЦИЯ

Структурно-функциональная организация кинетохора определяется основной задачей митоза – точной сегрегацией хромосом. С решением этой задачи связаны следующие функции кинетохоров: 1) присоединение хромосом к микротрубочкам веретена; 2) транспортировка хромосом к по-

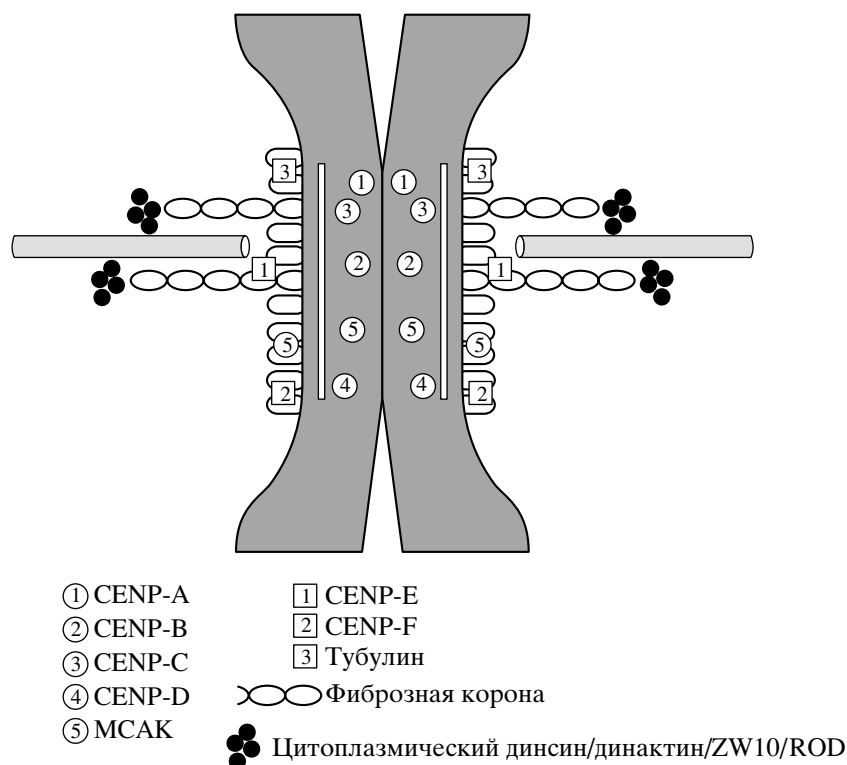


Рис. 2. Структура кинетохора позвоночных.

люсам веретена; 3) задержка прохождения клеток по циклу при наличии неприкрепленного к веретену кинетохора. Молекулярными основами этих функций являются основные компоненты кинетохора: 1) моторные белки – цитоплазматический динеин и CENP-E, обеспечивающие прикрепление и движение хромосом; и 2) сигнальные белки Mps1, Bub1, BubR1, Bub3, Mad1, Mad2, являющиеся элементами контрольной системы checkpoint.

Кинетохор как специфическая структура формируется на центромере во время и только на время митоза. Комплекс кинетохор–центромера является уникальной, функционально и структурно высокоспециализированной частью хромосомы, ответственной за правильную сегрегацию хромосом. Входящий в состав комплекса центромерный хроматин отличается от остального хроматина тем, что ДНК центромерного хроматина упакована в нуклеосом-подобные частицы, в которых гистон H3 замещен гистон-подобным центромерным белком CENP-A. В отличие от гистона H3 белок CENP-A в силу специфических особенностей молекулярной структуры не фосфорилируется и не ацетируется. Как указано выше, фосфорилирование гистона H3 инициирует митотическую конденсацию хроматина. Считается, что замена в нуклеосомах гистона H3 на нефосфорилируемый белок CENP-A выводит центромерный хроматин

из цикла конденсация/деконденсация и тем самым изолирует формирующийся в профазе прокинетохор от тех глубоких изменений, которые происходят в этот период в структуре окружающего хроматина [71]. Уровень ацетилированных гистонов также играет важную роль в структурно-функциональной организации центромеры, подавление деацетилирования гистонов приводит к нарушению структуры и функции центромеры [72].

Структурная организация кинетохора варьирует у разных организмов, но его основные функции и молекулярные механизмы консервативны [73]. По данным электронной [74] и флуоресцентной микроскопии [75], кинетохор позвоночных представляет собой трехслойную дископодобную структуру, состоящую из белков и ДНК (рис. 2).

Внутренний слой состоит из хроматина, белков CENPs-A, -B, -C, -G и, по-видимому, содержит митотический, ассоциированный с центромерой кинезин-подобный белок MCAK [76–79]. Петли хроматина выходят на поверхность кинетохора, связывая между собой внутренний и внешний слой. С внешним слоем ассоциированы моторный белок CENP-E [80], митозин CENP-F [81], возможно цитоплазматический динеин и связанный с ним динактиновый комплекс [82]. Во внешнем слое локализованы также белки метафазного контрольного механизма: белок ZW10 (Zeste-White 10) [83, 84], Mad2 [85] и Bub1 [86], регулирующие цен-

тромерную функцию в клеточном цикле. На разных уровнях внешнего слоя обнаружены микротрубочки и ассоциированные с ними белки MAPs [73]. Структурно внешний слой представляет собой фибриллярную сеть, отдельные петли которой возвышаются над внешним слоем, образуя корону (рис. 2).

Известно восемь центромерных белков. Белки группы А–D, и предположительно G–H, являются структурными компонентами хроматина, моторный белок CENP-E и белок CENP-F важны для сегрегации хромосом; мутации в генах, кодирующих эти белки, приводят к потере хромосом и анеуплоидии [87]. CENP-A участвует в формировании центромеры. CENP-B расположен между нуклеосомами и, по-видимому, тоже вовлечен в структурную организацию центромеры: вместе с CENP-A он связывает между собой сестринские хроматиды в центромерном районе. CENP-C необходим для сборки функционирующего кинетохора. CENP-D – слабоизученный белок; предполагают, что он соответствует негативному регулятору хромосомной конденсации – белку RCC1, предотвращающему преждевременное вступление клеток в митоз [73]. CENP-E – кинезин-подобный моторный белок, присутствующий в кинетохоре только в профазе и метафазе. В анафазе он ассоциирован с микротрубочками в центральном веретене. CENP-E содержит два домена связывания с микротрубочками, поэтому может поперечно связывать микротрубочки между собой. Эта его функция подавляется фосфорилированием [88]. Митозин CENP-F локализован во внешнем слое, функция его остается неясной, важен для биполярной ориентации хромосом [81]. Внутренний слой кинетохора содержит недавно обнаруженный конститутивный центромерный белок CENP-G, функция которого остается неясной [78]. Показано также, что в клетках мыши в организации кинетохора на протяжении всего клеточного цикла участвует белок CENP-H [89]. По-видимому, интегральным элементом функционирующего кинетохора является компонент когезинового комплекса белок SMC1. В дицентрической хромосоме человека этот белок обнаружен только на активной центромере [90].

Генетическими методами кинетохор наиболее полно изучен у почкующихся дрожжей. В центромерной ДНК *S. cerevisiae* различают три домена [91].

1. Домен CDEI – несовершенный палиндром, состоящий примерно из восьми пар оснований. Требуется для центромерной функции лишь на определенном генетическом фоне. Например, удаление пяти левых нуклеотидов этого элемента не влияет на центромерную функцию второй хромосомы, но геном в целом реагирует на мутацию

увеличением частоты хромосомных потерь в 10–30 раз.

2. Домен CDEII состоит примерно из 78–86 пар оснований (90% приходятся на АТ-пары), играет важную роль в центромерной функции. Удаление АТ-богатой области полностью инактивирует центромеру, но точковые мутации в ней не влияют на функцию центромеры.

3. Наиболее важным по своему влиянию на митоз является домен CDEIII – палиндром из ~25 пар оснований. Точковые мутации в этом районе инактивируют центромеру. С этой последовательностью связывается комплекс из четырех белков: CBF3A, CBF3B, CBF3C, CBF3D. У мутантов по CBF3A наблюдается асимметричное расхождение хромосом к полюсам веретена. Мутантная изоформа белка CBF3B (zinc finger) приводит к задержке клеток в переходе G2/M. [92]. Мутации в CBF3C тоже задерживают клеточный цикл в переходе G2/M [93]. CBF3D функционально соответствует белку Skp1p, который вовлечен в кинетохорную функцию и убиквитин-опосредованный протеолиз [94].

На двуххроматидной хромосоме формируются два кинетохора, по одному на каждой хроматиде. Они ориентированы к противоположным полюсам, что является одним из важнейших условий для правильной сегрегации хромосом в анафазе. Кинетохор позвоночных состоит из множества функциональных субъединиц. Структурная основа этих субъединиц остается неизвестной, но каждая из них может связываться с микротрубочками [95]. Число присоединяющихся к кинетохору микротрубочек варьирует у разных организмов: у почкующихся дрожжей – одна, у позвоночных – от 10 до 45, в том числе у человека – 30 (см. [96]). Микротрубочки прикрепляются к кинетохору не одновременно. Прикрепление полного комплекта микротрубочек (формирование К-фириллы) идет постепенно и заканчивается, когда хромосомы выстраиваются в экваториальной пластинке. Сначала микротрубочка прикрепляется к одному из сестринских кинетохоров, обычно тому, который располагается ближе к полюсу, и двуххроматидная, но моноориентированная, хромосома начинает двигаться к этому полюсу. По мере ее движения к полюсу новые микротрубочки присоединяются к кинетохору. В это время на кинетохор действуют две силы. Это микротрубочковый поток (microtubule flux) – добавление микротрубочковых субъединиц в плюс-концах и удаление – в минус-концах К-микротрубочек. Вклад микротрубочкового потока составляет не более 25% всей силы, движущей кинетохор (хромосому) к полюсу. 75% силы вырабатывается кинетохором, который толкает хромосому к минус-концу К-микротрубочек.

После прикрепления к микротрубочке кинетохор находится в двух состояниях, постоянно

сменяющих одно другое. В одном (активном) состоянии кинетохор продуцирует силу, направленную к полюсу. По [97], в выработку этой силы вовлечены моторные белки динеин и CENP-E и диссоциация тубулиновых субъединиц на плюс-концах К-микротрубочек, пронизывающих корону и внешний слой кинетохора. Образующий динеином, белком CENP-E и некоторыми немоторными белками “щупальцевый” (по определению [97]) комплекс “захватывает” нераспавшиеся плюс-концы К-микротрубочек и способствует связыванию их с внешним слоем кинетохора. При этом кинетохор и центромера вытягиваются. Когда натяжение на кинетохоре достигнет критического уровня или, возможно, когда израсходуется весь запас критического компонента, вовлеченного в генерацию направленной к полюсу силы, кинетохор быстро переходит в нейтральное состояние, при котором длина К-микротрубочек увеличивается за счет полимеризации тубулина на плюс-концах, и хромосома медленно дрейфует от полюса к экватору. Кроме того, тесно связанные с полюсом микротрубочки продуцируют исходящие из полюса (ejection) силы, которые толкают хромосому от полюса. Скорость этого движения не удастся увеличить вытягиванием хромосомных плечей микроиглой [98]. Кинетохор не генерирует сил, которые двигали бы его от полюса.

Периодически повторяющаяся смена активного и нейтрального состояний кинетохора является причиной осцилляции хромосом между полюсом и экватором. Скорость движения в сторону экватора возрастает после прикрепления сестринского кинетохора к микротрубочке соответствующего полюса и постепенного формирования сестринской К-фибриллы. С этого момента на биполярно ориентированную хромосому действуют силы, аналогичные перечисленным выше, но генерируемые в противоположном полуверетене, и хромосомы выстраиваются в экваториальную пластинку. Во время метафазы и даже во время анафазы поведение кинетохора продолжает оставаться нестабильным [99].

Интеграция хромосом в веретено – стохастический процесс, сопровождающийся ошибками. Иногда один кинетохор прикрепляется к микротрубочкам, исходящим из разных полюсов, иногда оба сестринских кинетохора прикрепляются к микротрубочкам, исходящим из одного и того же полюса. Как правило, подобные ошибки исправляются, но в случае неисправления они могут приводить к анеупloidии. Молекулярные механизмы их исправления остаются неизвестными. Гораздо чаще к анеупloidии приводит неприсоединение отдельных кинетохоров к микротрубочкам и/или отставание отдельных хромосом при их расхождении в анафазе. Исправление этих ошибок происходит с участием моторных белков CENP-E и динеина, необходимых для интеграции хромосом

в веретено, и белков метафазного контрольного механизма checkpoint: Mps1, Bub1, BubR1, Bub3, Mad1 и Mad2, которые в ответ на неприсоединение кинетохора к микротрубочке блокируют вступление клеток в анафазу путем подавления активности комплекса APC (anaphase promoting complex), или (в другой номенклатуре) циклосома [100]. Даже одного неприсоединенного кинетохора достаточно, чтобы система checkpoint задержала переход клеток в анафазу [101–103]. После прикрепления всех кинетохоров к нитям веретена и выстраивания всех хромосом в метафазную пластинку происходит активация APC, протеолиз секурина (белка Pds1), разъединение и последующее расхождение сестринских хроматид, протеолиз циклина Б и выход клетки из митоза [104–107].

Кинетохор необходим для движения хромосом, но только его одного недостаточно [108]. В движениях хромосом участвуют многочисленные силы, генерируемые полюсами, нитями веретена, некинетохорными районами хромосом, моторными белками.

## МОТОРНЫЕ БЕЛКИ

Существенную роль в организации и функционировании веретена играют моторные белки, характерной особенностью которых является способность расщеплять АТФ, в этом отношении они представляют собой АТФазы и относятся к консервативным структурам. Известны два типа моторных белков: цитоплазматический динеин и семь семейств белков, соответствующих кинезину [109]. Кинезин и кинезин-подобные белки содержат один и тот же структурный компонент, состоящий из моторного домена (около 350 аминокислот),  $\alpha$ -спиральной стволочной части и С-терминального домена. Шаровидный моторный домен обладает АТФазной активностью и связывается с микротрубочками, тогда как  $\alpha$ -спиральная часть ответственна за образование димеров. [110]. Суперсемейство относительно небольших белков кинезинов включает множество изоформ, каждая из которых выполняет четко определенную функцию.

Динеин – это большой сложный белок, содержащий около 4500 аминокислот с четырьмя АТФазными доменами [111]. Единственная изоформа динеина в ассоциации с динактиновым комплексом функционирует в полюсах, на кинетохоре и клеточной оболочке. На митотических клетках различных организмов показано, что динеин служит генерирующей силу кортикальным мотором, влияет на позицию и ориентацию веретена [112], на анафазную элонгацию веретена [113].

Подобно микротрубочкам моторные белки биполярны. Они связываются с микротрубочками и движутся вдоль них, необходимую энергию



для этого они получают от АТФ. Динеин движется навстречу минус-концам микротрубочек. Одни изоформы кинезина движутся к минус-концам микротрубочек (иногда их обозначают как KIN C-моторы), другие – к плюс-концам (KIN N-моторы) [108].

Моторные белки участвуют в реализации событий, по-видимому, во всех стадиях митоза, начиная с расхождения центросом в профазе (таблица). В прометафазе они участвуют в движении хромосом в метафазную пластинку, в метафазе – в стабилизации веретена, в анафазе А – в движении хромосом к полюсам, в анафазе Б – в удлинении веретена [114].

Моторные белки, расположенные на хромосомных плечах (хромокинезины), участвуют в ре-локализации хромосом во время митоза (рис. 1). В движении хромосом в экваториальную пластинку участвуют хромосомные плечи, на которые действуют “полярный ветер” и силы, создаваемые хромокинезинами. Под “полярным ветром” подразумеваются силы, генерируемые из полюсов растущими микротрубочками и выталкивающие из полюсов все, в том числе и хромосомы. Эти силы ответственны, в частности, за выбрасывание ацентрических фрагментов хромосом из веретена [92]. Сила “полярного ветра” уменьшается с уменьшением плотности микротрубочек и увеличением расстояния от каждого полюса, приводя в сбалансированное положение хромосомные плечи в метафазной пластинке [115]. Хромокинезины, взаимодействуя с некинетохорными микротрубочками, с одной стороны, расправляют плечи хромосом подобно парусам, реализуя силу “полярного ветра”, а с другой стороны, они сами имеют сродство к плюс-концам микротрубочек, способствуя перемещению хромосом в направлении экватора.

Существуют, по-видимому, два класса хромокинезинов. К первому классу относятся кинезины типа Kid, в том числе белок лягушки Xkid (гомолог кинезинподобного белка Kid человека). Манипуляции с белком Xkid влияют на движение хромосом: удаление Xkid предотвращает нормальное выстраивание хромосом в метафазе, блокирование деградации белка во время митоза предотвращает движение хромосом к полюсам в анафазе А [116]. Белок деградирует в анафазе убиквитин-опосредованным протеолизом. Активность Xkid требуется для реализации “полярного ветра” [116].

Ко второму классу хромокинезинов относятся кинезины типа Xklp1 лягушки и Klp38B дрозофилы, которые играют, по-видимому, структурную роль в сборке веретена [108]. Модифицированный белок Xklp1 изменяет распределение микротрубочек в веретене и вызывает дефекты в метафазной локализации хромосом [117]. В мейозе у

самок дрозофилы хромокинезин Nod требуется для правильного выстраивания нерекombинирующих хромосом [118]. У дрозофилы мутантная форма другого хромокинезина, Klp38B, нарушает сегрегацию хромосом в мейозе и митозе [119].

Постоянная смена альтернативных фаз сжатия и роста микротрубочек, их полимеризация и деполимеризация, периодически высвобождающие минус-концы микротрубочек из-под контроля организующего центра (центросомы), при отсутствии дополнительных сил (или конструкции) приводили бы динамичную структуру веретена в неустойчивое состояние. Целостности структуры веретена способствует баланс сил, обеспечиваемых поперечно-связывающими моторными белками [108], которые организуют микротрубочки в центре веретена и в полюсах. Моторный белок KIN I, в отличие от других моторов, не движется вдоль микротрубочек, а вызывает деполимеризацию микротрубочек, привязываясь к их плюс-концам, и координирует между собой циклы полимеризации/деполимеризации и кинетохорной осцилляции в прометафазе, а также сжатие К-фибриллы и движение хромосом к полюсам в анафазе [108]. Плюс-направленный “биполярный” кинезин KIN N образует тетрамеры. Поперечно связывая оппозитные микротрубочки и одновременно двигаясь вдоль них, этот моторный комплекс обеспечивает нарастающую силу, которая способствует расталкиванию полюсов. Противостоит этой силе семейство минус-направленных KIN C кинезинов. Третий тип силы прилагается к астральным микротрубочкам, которые простираются от полюса до клеточной оболочки, где цитоплазматический динеин в комплексе с динактином противостоит расталкивающей силе биполярных KIN N-моторов. В некоторых системах, например в эмбриогенезе дрозофилы, KIN C-мотор функционирует совместно с динеином или вместо него.

Значение моторных белков в формировании и функционировании веретена варьирует среди разных организмов. Например, для сборки веретена у всех эукариот, кроме дрожжей, требуется один или несколько KIN N кинезинов, а у дрожжей хромокинезины и направленный к полюсам микротрубочковый поток (microtubule flux), по-видимому, отсутствуют [120]. Остается неясным, является ли этот поток важным компонентом функционирования веретена у других эукариот или это побочный продукт других сил, действующих на микротрубочки.

## СЦЕПЛЕНИЕ И РАЗЪЕДИНЕНИЕ СЕСТРИНСКИХ ХРОМАТИД

Начиная с S-периода и до анафазы сестринские хроматиды (СХ) связаны между собой в центромере и плечах посредством катенации ДНК и

## Моторные белки, участвующие в митотических процессах

Фаза митоза	Белок	Организм	Функция
Профаза	BimC	<i>Aspergillus nidulans</i>	Расхождение полюсов с ПЦМ, сборка биполярного веретена из двух полуверетен
	KAR3p	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Дестабилизация “минус”-концов микротрубочек
	CIN8p	<i>S. cerevisiae</i>	Сборка веретена
	KIP1p	<i>S. cerevisiae</i>	То же
	Cut7	<i>Schizosaccharomyces pombe</i>	Дупликация и расхождение полюсов веретена
	Ncd	<i>Drosophila melanogaster</i>	Сборка и стабилизация полюсов веретена
	KLP61F	<i>D. melanogaster</i>	Расхождение центросом
	Eg5	<i>Xenopus laevis</i>	Сборка веретена
	KIN I	<i>Rattus norvegicus</i> + other species	Дестабилизация микротрубочек
	XKCM1	<i>X. laevis</i>	Дестабилизация “плюс”- и “минус”-концов микротрубочек
	HsEg5	<i>Homo sapiens</i>	Сборка веретена
Прометаза	Цитоплазматический динеин	<i>Chinese hamster</i> + other species	Расхождение центросом, сборка и стабилизация полюсов веретена
	MCAK	<i>Chinese hamster</i>	Присоединение хромосом к веретену
	CIN8p	<i>S. cerevisiae</i>	Сборка веретена
	KIP1p	<i>S. cerevisiae</i>	То же
	Xklp1	<i>X. laevis</i>	Конгрессия хромосом
	XKid	<i>X. laevis</i>	Ориентация и осциляция хромосомных плеч
	NOD	<i>D. melanogaster</i>	Конгрессия хромосом, прикрепление хромосом к веретену
	MKLP1	<i>H. sapiens</i>	Конгрессия хромосом
	NuMA	<i>H. sapiens</i>	Организация полюсов веретена, конгрессия хромосом
	HSET	<i>H. sapiens</i>	То же
Метафаза	bimC	<i>A. nidulans</i>	Поддержание целостности структуры веретена
	CIN8p	<i>S. cerevisiae</i>	То же
	KIP1p	<i>S. cerevisiae</i>	»
	KAR3p	<i>S. cerevisiae</i>	Дестабилизация “минус”-концов микротрубочек
	KIF4	<i>Mus musculus</i>	Стабилизация веретена, позиционирование хромосом
	KLP3A	<i>D. melanogaster</i>	Поддержание целостности структуры веретена
Анафаза А	CENP-E	<i>H. sapiens</i>	Конгрессия хромосом
	CIN8p	<i>S. cerevisiae</i>	Поддержание целостности структуры веретена
	KIP1p	<i>S. cerevisiae</i>	То же
	Цитоплазматический динеин	<i>R. norvegicus</i> + other species	Расхождение хромосом к полюсам
Анафаза Б	MKLP1	<i>H. sapiens</i>	Антипараллельное движение микротрубочек
	CIN8p	<i>S. cerevisiae</i>	Расхождение полюсов веретена
	KIP1p	<i>S. cerevisiae</i>	То же
	BimC	<i>A. nidulans</i>	»
	Цитоплазматический динеин	<i>R. norvegicus</i> + other species	Удлинение веретена

связывающих белков (CLIPs) [121]. Наблюдаемое в ряде случаев преждевременное разъединение СХ (например, у человека в хромосомах X, 18, 21) может быть обусловлено потерей этих белков [122]. CLIPs консервативны, выявлены у многих эукариот и представлены как в митотическом, так и в мейотическом циклах. Наиболее подробно они изучены у почкующихся дрожжей. Четыре белка – Mcd1/Sccl, Sccl3, Smc1 и Smc3 – образуют сложный комплекс, получивший название когезин [123], который присоединяется к хромосомам в конце S-периода [123] и после прохождения репликативной вилки связывает между собой СХ [123, 124]. У дрожжей происходит дифференцированное присоединение когезинов к ДНК. Так, Smc1 и Mcd1/Sccl присоединяются преимущественно к АТ-обогащенным последовательностям, к гетерохроматину, центромерной ДНК [125].

Не до конца ясна роль когезина в сцеплении СХ у высших эукариот. В экстрактах из яиц *X. laevis* основная масса когезина диссоциирует из хромосом в прометафазе [126], последующее расщепление когезина в центромерном районе происходит перед анафазой. Предполагается, что диссоциация значительной части когезина из хромосомных плеч в прометафазе, во-первых, облегчает конденсацию хромосом в прометафазе–метафазе и, во-вторых, обеспечивает быстрое разделение СХ во время выхода клеток из метафазы [52]. Неясно, каким образом СХ остаются связанными между собой в метафазе: достаточно ли для этого той небольшой части когезина, которая остается в хромосомах или имеют место какие-то другие связи.

Разъединение СХ предполагает декатенацию ДНК и расщепление когезинового комплекса. Декатенация ДНК – топоизомераза II-зависимый процесс, разрушение когезина – APC-зависимый процесс. Расщепление когезина инициируется сепаразой (белком Esp1 у дрожжей), но в митотическом цикле активность сепаразы (в другой номенклатуре – сепарина) подавлена секурином (белком Pds1 у дрожжей), который, связывая сепаразу, препятствует разъединению СХ и началу анафазы [127]. Ассоциация секурина Pds1 и сепаразы Esp1 динамична в течение клеточного цикла и пространственно регулируется. В интерфазе Esp1 локализуется в цитоплазме, а Pds1 – в ядре, в течение перехода из профазы в метафазу они ассоциируют и локализуются на митотическом веретене [52]. Pds1 и Esp1 содержат D-домены, нацеливающие их для специфической деградации через комплекс APC [52]. Протеолитическое расщепление секурина через APC высвобождает сепаразу, сепараза инициирует распад Mcd1/Sccl [127] с последующей дестабилизацией когезинового комплекса и выходом Mcd1/Sccl и Sccl3 из хроматина, по времени это совпадает с разъединением СХ и

началом анафазы [123]. Часть сепаразы остается связанной с анафазным веретеном [128].

У дрозофилы наряду с описанным выше процессом разрушения межхроматидных связей через реакцию APC с секурином существует другой APC-зависимый процесс межхроматидного расщепления через взаимодействие APC с циклиновым комплексом CusA/Cdk1 [129]. Для успешного разъединения СХ в клетках дрозофилы необходимо, чтобы функционировали оба процесса [129].

В хромосомах дрожжей плечи и центромеры разъединяются примерно одновременно, и цитостатики подавляют разъединение и центромер, и плечей. У высших эукариот центромеры расходятся позже плечей, и цитостатики подавляют разъединение центромер, но не плечей. Остаются неясными причины различий между разъединениями центромер и плечей, а также связи, удерживающие СХ вместе в метафазе. Вероятно, асинхронность между разъединениями хромосомных плечей и центромер в какой-то мере обусловлена наличием в центромере специфических белков. Например, у дрозофилы белок Mei-S332 локализуется специфически в центромере перед прикреплением микротрубочек к кинетохору [130], а в анафазе диссоциирует из центромеры [130]. Возможно, Mei-S332 удерживает центромеры вместе во время конгрессии хромосом.

По-видимому, у высших эукариот по-разному регулируется разъединение плечей и центромер [131]. У дрозофилы по крайней мере два гена, *pimples* (гомолог гена сепаразы) и *three rows* (регулятор активности сепаразы), требуются для разъединения центромер [132]. В клетках многих эукариот в кинетохорах обнаружены фосфорилированные белки, которые становятся дефосфорилированными, когда хромосомы прикрепляются к веретену. Неприкрепившиеся кинетохоры остаются фосфорилированными [133, 134]. Этот тип кинетохорных белков не обнаружен в плечах хромосом, предполагают, что дефосфорилирование белка служит сигналом о балансируемом прикреплении хроматид к нитям веретена и разъединении центромер [135].

## СИГНАЛЬНЫЕ ПУТИ МИТОЗА

Принципы организации сигнальных путей клеточного цикла, контролируемых инспектирующими механизмами (или системой контрольных точек (checkpoints), рассмотрены нами ранее [2]. Система контролирует точность и последовательность событий клеточного цикла, блокирует начало последующего события до полного и точного завершения предыдущего [136, 137]. В регуляции клеточного цикла важную роль играет убиквитин-протеосомная система деструкции белков – многокомпонентный комплекс APC

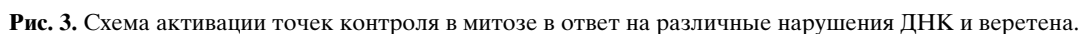
[138] (циклосома [139]), функционирующий как убиквитин-лигаза для различных белков клеточного цикла [140]. APC содержит белки Cdc16p, Cdc23p, Cdc27p [141], гомологи которых обнаружены у *S. cerevisiae*, *S. pombe*, *X. laevis*, *D. melanogaster*, *A. nidulans* и у человека [142–146]. APC-обусловленной деструкции подвергаются циклины А и В, ингибиторы репликации ДНК, ингибиторы разъединения сестринских хроматид (анафазы), ассоциированные с микротрубочками белки [147]. В генетических и биохимических исследованиях на дрожжах, дрозофиле и шпорцевой лягушке показано, что во время митоза APC-комплекс осуществляет последовательно деструкцию двух классов белков: ингибиторов анафазы и митотических циклинов [148, 149]. Непосредственно перед началом анафазы протеолизу подвергаются ингибиторы анафазы: Pds1 у *S. cerevisiae*, Cut2 у *S. pombe*, секурин у *X. laevis* [150–152], распад которых важен для разъединения сестринских хроматид и перехода из метафазы в анафазу. У почкующихся дрожжей экспрессия модифицированного недеградируемого белка Pds1 блокирует вступление клеток в анафазу [153]. Во время анафазы разрушаются митотические циклины (у дрожжей это циклины Clb2, Clb3, Clb5), деградация которых необходима для инактивации циклин-зависимых киназ Cdk1/Cdc28, для распада веретена и выхода из митоза [154, 155], для сборки репликационного комплекса и ре-дупликации хромосом в следующем цикле [156].

Функция APC активируется двумя типами регуляторных белков: при переходе из метафазы в анафазу белками Cdc20 у дрожжей, Fizzy (Fzy) у дрозофилы, а при выходе из митоза – белками Cdh1 (в другой номенклатуре – Srw1, Hct1), Fizzy-related (Fzr). Соответственно различают два пути деградации белков: APC<sup>Cdc20</sup>- и APC<sup>Cdh1</sup>-зависимый. APC<sup>Cdc20</sup>-зависимой деградации подвергаются ингибиторы анафазы, а APC<sup>Cdh1</sup> зависимой – циклины. Но у дрожжей циклин Clb3 в анафазе деградирует сначала по APC<sup>Cdc20</sup>-зависимому пути, а затем – по APC<sup>Cdh1</sup>-типу, тогда как циклин Clb2 – только по APC<sup>Cdh1</sup>-пути [157]. Комплекс APC<sup>Cdh1</sup> метит митотические циклины для деструкции в период от конца митоза до конца G1-фазы, препятствуя таким образом их преждевременному накоплению. У почкующихся дрожжей мутации в гене *hct1* приводят к стабилизации активности циклина Clb2 в G1-фазе, тогда как в норме в этот период он должен быть инактивирован [150, 157]. У дрозофилы потеря белка Fzr приводит к накоплению митотических циклинов в G1-фазе и дополнительным клеточным делениям [158]. Деградация циклинов В в клетках животных более сходна с деградацией циклина Clb3, чем Clb2.

В ответ на нарушения событий клеточного цикла активируется сигнальная система check-

point. У дрожжей важнейшим элементом системы checkpoint является белок Pds1. Стабилизация этого белка играет ключевую роль в ответной реакции клеток на повреждения веретена и ДНК. Pds1 выполняет две функции. Одна связана с подавлением разъединения сестринских хроматид, т.е. подавлением функции дрожжевой сепаразы Esp1 (см. выше раздел “Сцепление и разъединение сестринских хроматид”). Это приводит к блокированию клеток в метафазе. Другая функция связана с подавлением распада циклинов, что приводит к блокированию выхода клеток из митоза. Эти две функции не зависят одна от другой [159]. Pds1-зависимое подавление анафазы активируется в ответ на повреждения митотического веретена и ДНК [160–163], а Pds1-зависимое подавление распада циклинов – в ответ на повреждения ДНК, но не веретена. В ответ на повреждения ДНК (но не веретена) [164] белок Pds1 гиперфосфорилируется в цепи реакций Mec1 → Chk1 → Pds1, что защищает его от Cdc20-зависимой деградации. Стабилизированный таким образом Pds1 ингибирует начало анафазы через подавление функции Esp1 и может блокировать выход клеток из митоза, предположительно, через подавление Esp1-зависимой активации Cdc20 [164]. При наличии делеции в гене *pds1* и повреждений в ДНК клетки вступают в анафазу и выходят из митоза, а при наличии указанной делеции и дефектов веретена вступают в анафазу, но не выходят из митоза [165, 166].

Одной из особенностей системы checkpoint дрожжей по сравнению с таковой у высших эукариот является то, что у дрожжей checkpoint, активируемый в ответ на повреждения ДНК, блокирует преимущественно не вступление клеток в митоз, а выход из митоза. Например, клетки дрожжей, содержащие дицентрические хромосомы, претерпевают временную задержку в средней анафазе RAD9-зависимым образом, обычно характерным для клеток с двунитевыми разрывами ДНК [167]. После ионизирующих облучений наблюдают задержку в метафазе и анафазе [159]. Радиационно-индуцированную задержку клеток в метафазе можно объяснить продлением времени для репарации двунитевых разрывов. В наших экспериментах на клетках млекопитающих и растений повторное X- или γ-облучение во время метафазы после ультрафиолетового или ионизирующего облучения в S-периоде приводило к снижению частоты перестроек хромосом, индуцированных первым облучением [168, 169]. Смысл радиационно-индуцированной задержки клеток в анафазе или отмеченной выше задержки в анафазе при наличии в клетке дицентрика [167] остается неясным, поскольку в рамках существующих представлений о механизмах восстановления структуры ДНК репарация двунитевых разрывов в анафазе представляется маловероятной. Возможно,



Таким образом, множественные пути участвуют в формировании клеточного ответа на воздей-

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В отличие от регуляции клеточного цикла в целом, которая в значительной степени базируется на дифференциальной активности генов, регуляция митоза осуществляется белковой “машиной” клеточного цикла на посттрансляционном уровне. В качестве “дирижера” рассматриваемо-

го ансамбля белковых молекул выступает рассмотренный выше фактор MPF и фактор его распада APC. Во всех случаях субстратом MPF служат не сами белки, выполняющие ту или иную структурную или функциональную роль, а специализированные регуляторные субъединицы, связывающиеся с последними. Согласно подходу “генная онтология” число известных генов, продукты которых вовлечены в организацию митоза, в настоящее время составляет: у дрозофилы – 65, мыши – 27, человека – 95, *S. cerevisiae* – 103, *S. pombe* – 142. Поскольку насыщенность мутациями клеточного цикла у дрожжей существенно выше, то в целом разумной оценкой числа белков, вовлеченных в митоз, является примерно 100. Это составляет 1/6 всех генов клеточного цикла.

Регуляция событий митоза организована таким образом, чтобы гарантировать точную сегрегацию хромосом. Этой цели служат системы checkpoints, контролирующие точность событий митоза и приводящие к задержке цикла в случае аномалий. Задержка может быть обратимой, если за счет репарационных или компенсаторных механизмов произошло восстановление процесса. В случае аномальной сегрегации хромосом происходят необратимые нарушения, и дочерние клетки останавливаются в интерфазе следующего цикла. Интригующей характеристикой системы checkpoints является тот факт, что в некоторых случаях прогрессия клеток с аномальным набором хромосом не блокируется. Это может приводить к трансформации и раку.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Hartwell L. Introduction to cell cycle controls // Cell Cycle Control / Eds Hutchinson C., Glover D.M. N.Y.: Oxford Univ. Press, 1995. P. 1–15.
- Омельянчук Л.В., Трунова С.А., Лебедева Л.И., Федорова С.А. Основные события клеточного цикла, их регуляция и организация // Генетика. 2004. Т. 40. № 3. С. 293–310. (Omelyanchuk L.V., Trunova S.A., Lebedeva L.I., Fodorova S.A. Key events of the cell cycle: Regulation and organization // Rus. J. Genetics. 2004. V. 40. № 3. P. 219–234.)
- Murray A., Hunt T. The Cell Cycle an Introduction. N.Y.; Oxford: Oxford Univ. Press, 1993. 251 p.
- Dictenberg J.B., Zimmerman W., Sparks C.A. et al. Pericentrin and gamma-tubulin form a protein complex and organized into a novel lattice at the centrosome // J. Cell Biol. 1998. V. 141. P. 163–174.
- Schnackenberg B.J., Khodjakov C.L., Rieder C.L., Palazzo R.E. The disassembly and reassembly of functional centrosomes *in vitro* // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1998. V. 95. P. 9295–9300.
- Reinsch S., Karsenti E. Orientation of spindle axis and distribution of plasma membrane proteins during cell division in polarized MDCKII cells // J. Cell. Biol. 1994. V. 126. № 6. P. 1509–1526.
- Blangy A., Lane H.A., d'Herin P. et al. Phosphorylation by p34<sup>cdc2</sup> regulates spindle association of human Eg5, a kinesin-related motor essential for bipolar spindle formation *in vivo* // Cell. 1995. V. 83. № 7. P. 1159–1169.
- Enos A. P., Morris N. R. Mutation of a gene that encodes a kinesin-like protein blocks nuclear division in *A. nidulans* // Cell. 1990. V. 60. P. 1019–1027.
- Hagan I., Yanagida M. Novel potential mitotic motor protein encoded by the fission yeast *cut7+* gene // Nature. 1990. V. 347. P. 563–566.
- Heck M.M.S., Pereira A., Pesavento P. et al. The kinesin-like protein KLP61F is essential for mitosis in *Drosophila* // J. Cell Biol. 1993. V. 123. P. 665–679.
- Glover D.M., Leibowitz M.H., McLean D.A., Parry H. Mutations in aurora prevent centrosome separation leading to the formation of monopolar spindles // Cell. 1995. V. 81. № 1. P. 95–106.
- Waters J.C., Cole R.W., Rieder C.L. The force-producing mechanism for centrosome separation during spindle formation in vertebrates is intrinsic to each aster // J. Cell Biol. 1993. V. 121. P. 361–372.
- Gunsalus K.C., Bonaccorsi S., Williams E. et al. Mutations in twinstar, a *Drosophila* gene encoding a cofilin/ADF homologue, result in defects in centrosome migration and cytokinesis // J. Cell Biol. 1995. V. 131. № 5. P. 1231–1242.
- Лебедева Л.И., Трунова С.А., Федорова С.А., Омельянчук Л.В. Генетический контроль митоза. Особенности расхождения сестринских наборов хроматид в анафазе у мутантной линии *aar*<sup>V158</sup> *D. melanogaster* // Генетика. 2003. Т. 39. № 9. С. 1212–1220. (Lebedeva L.I., Trunova S.A., Fedorova S.A., Omelyanchuk L.V. Genetic control of mitosis: Features of anaphase separation of sister chromatid sets in mutant strain *aar*<sup>V158</sup> in *Drosophila melanogaster* // Rus. J. Genetics. 2003. V. 39. № 9. P. 1021–1028.)
- Beach D.L., Thibodeaux J., Maddox P., Yeh E., Bloom K. The role of the proteins Kar9 and Myo2 in orienting the mitotic spindle of budding yeast // Curr. Biol. 2000. V. 10. P. 1497–1506.
- Korinek W.S., Copeland M.J., Chaudhuri A., Chant J. Molecular linkage underlying microtubule orientation toward cortical sites in yeast // Science. 2000. V. 287. P. 2257–2260.
- Lee L., Tirnauer J.S., Schuyler S.C. et al. Positioning of the mitotic spindle by a cortical-microtubule capture mechanism // Science. 2000. V. 287. P. 2260–2262.
- Pruyne Y.H., Hiffacer D., Bretschner A. Myosin V orientates the mitotic spindle in yeast // Nature. 2000. V. 406. P. 1013–1015.
- O'Connell C.B., Wang Y. Mammalian spindle orientation and position respond to changes in cell shape in a dynein-dependent fashion // Mol. Biol. Cell. 2000. V. 11. P. 1765–1774.
- Giansanti M.G., Gatti M., Bonaccorsi S. The role of centrosomes and astral microtubules during asymmetric division of *Drosophila* neuroblasts // Development. 2001. V. 128. P. 1137–1145.
- Heil-Chapdelaine R.A., Oberle J.R., Cooper J.A. The cortical protein Num1p is essential for dynein-dependent interactions of microtubules with the cortex // J. Cell Biol. 2000. V. 151. P. 1337–1343.

22. Farkasovsky M., Kuntzel H. Cortical Num1p interacts with the dynein intermediate chain Pac11p and cytoplasmic microtubules in budding yeast // *J. Cell Biol.* 2001. V. 152. P. 251–262.
23. Schuyler S. C., Pellman D. Search, capture and signal: games microtubules and centrosomes play // *J. Cell Sci.* 2001. V. 114. P. 247–255.
24. Paintrand M., Moudjou M., Delacroix H., Bornensi M. Centrosome organization and centriole architecture: their sensitivity to divalent cations // *J. Struct. Biol.* 1992. V. 108. P. 107–128.
25. Piel M., Meyer P., Khodjakov A. et al. The respective contributions of the mother and daughter centrioles to centrosome activity and behavior in vertebrate cells // *J. Cell Biol.* 2000. V. 149. P. 317–329.
26. Piel M., Nordberg J., Euteneuer U., Bornensi M. Centrosome-dependent exit of cytokinesis in animal cells // *Science*. 2001. V. 291. P. 1550–1553.
27. Pereira G., Tanaka T.U., Nasmyth K., Schiebel E. Modes of spindle pole body inheritance and segregation of the Bfa1p-Bub2p checkpoint protein complex // *EMBO J.* 2001. V. 20. P. 6359–6370.
28. Gotta M., Ahringer J. Distinct roles for G $\alpha$  and G $\beta\gamma$  in regulating spindle position and orientation in *Caenorhabditis elegans* embryos // *Nat. Cell Biol.* 2001. V. 3. P. 297–300.
29. Wodarz A. Cell polarity: No need to reinvent the wheel // *Curr. Biol.* 2001. V. 11. P. R975–R978.
30. Steen R.I., Cubizolles F., Le Guellec K., Collas P. A kinase-anchoring protein (AKAP)95 recruits human chromosome-associated protein (hCAP)-D2/Eg7 for chromosome condensation in mitotic extract // *J. Cell Biol.* 2000. V. 149. P. 531–536.
31. Kimura K., Hirano T. Dual roles of the 11S regulatory subcomplex in condensin functions // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2000. V. 97. P. 11972–11977.
32. Strunnikov A.V., Hogan E., Koshland D. SMC2, a *Saccharomyces cerevisiae* gene essential for chromosome segregation and condensation, defines a subgroup within the SMC family // *Genes Dev.* 1995. V. 9. P. 587–599.
33. Kirsch-Volders M., Parry E.M. Genetic toxicology of mitotic spindle inhibitors used as anticancer drugs // *Mutat. Res.* 1996. V. 355. № 1–2. P. 103–128.
34. Lombillo V.A., Nislow C., Yen T.J. et al. Antibodies to the kinesin motor domain and CENP-E inhibit microtubule depolymerization-dependent motion of chromosomes in vitro // *J. Cell Biol.* 1995. V. 128. P. 107–115.
35. Inoue S., Salmon E.D. Force generation by microtubule assembly/disassembly in mitosis and related movements // *Mol. Biol. Cell.* 1995. V. 6. P. 1619–1640.
36. Alsop G.B., Zang D. Microtubules are the only structural constituent of the spindle apparatus required for induction of cell cleavage // *J. Cell Biol.* 2003. V. 162. № 3. P. 383–390.
37. Canman J.C., Cameron L.A., Maddox P.S. et al. Determining the position of the cell division plane // *Nature*. 2003. V. 424. № 6952. P. 1074–1078.
38. Flemming W. Beitrage zur kenntnis der Zelle und ihrer Lebenserscheinungen // *Arch. Anat.* 1879. Bd. 16.
39. Losada A., Hirano T. Shaping the metaphase chromosome: coordination of cohesion and condensation // *BioEssays*. 2001. V. 23. P. 924–936.
40. Hirano T. SMC-mediated chromosome mechanics: A conserved scheme for bacteria to vertebrates? // *Genes Dev.* 1999. V. 13. P. 11–19.
41. Kimura K., Hirano M., Kobayashi R., Hirano T. Phosphorylation and activation of 13S condensin by Cdc2 in vitro // *Science*. 1998. V. 282. P. 487–490.
42. Freeman L., Aragon-Alcaide L., Strunnikov A.V. The condensin complex governs chromosome condensation and mitotic transmission of rDNA // *J. Cell Biol.* 2000. V. 149. P. 811–824.
43. Lavoie B.D., Tuffo K.M., Oh S. et al. Mitotic chromosome condensation requires Brn1p, the yeast homolog of Barren // *Mol. Biol. Cell.* 2000. V. 11. P. 1293–1304.
44. Ouspenski I.I., Cabello O.A., Brinkley B.R. Chromosome condensation factor Brn1p is required for chromatid separation in mitosis // *Mol. Biol. Cell.* 2000. V. 11. P. 1305–1313.
45. Saka Y., Sutani T., Yamashita Y. et al. Fission yeast cut3 and cut14, members of ubiquitin protein family, are required for chromosome condensation and segregation in mitosis // *EMBO J.* 1994. V. 13. P. 4938–4952.
46. Sutani T., Yuasa T., Tomonaga T. et al. Fission yeast condensin complex: Essential roles of non-SMC subunits for condensation and Cdc2 phosphorylation of Cut3/Smc4 // *Gen. Dev.* 1999. V. 13. P. 2271–2283.
47. Lieb J.D., Albrecht M.R., Chuang P.-T., Meyer B.J. MIX-1: An essential component of *C. elegans* mitotic machinery executes X-chromosome dosage compensation // *Cell*. 1998. V. 92. P. 265–277.
48. Bhat M.A., Philp A.V., Glover D.M., Bellen H.J. Chromatid segregation at anaphase requires the barren product, a novel chromosome associated protein that interacts with topoisomerase II // *Cell*. 1996. V. 87. P. 1103–1114.
49. Steffensen S., Coelho P.A., Cobbe N. et al. A role for *Drosophila* SMC4 in the resolution of sister chromatids in mitosis // *Curr. Biol.* 2001. V. 11. P. 295–307.
50. Schmiesing J.A., Gregson H.C., Zhou S., Yokomori K. A human condensin complex containing hCAP-C/hCAP-E and CNAP1, a homolog of *Xenopus* XCAP-D2, colocalizes with phosphorylated histone H3 during the early stage of mitotic chromosome condensation // *Mol. Cell Biol.* 2000. V. 20. P. 6996–7006.
51. Wei Y. Yu. L., Bowen J., Gorovsky M.A., Allis C. D. Phosphorylation of histone H3 is required for proper chromosome condensation and segregation // *Cell*. 1999. V. 97. P. 99–109.
52. Hirano T. Chromosome cohesion, condensation, and separation // *Annu. Rev. Biochem.* 2000. V. 69. P. 115–144.
53. Hsu J. Y., Sun Z.W., Li X. et al. Mitotic phosphorylation of histone H3 is governed by Ip11/aurora kinase and glc7/PP1 phosphatase in budding yeast and nematodes // *Cell*. 2000. V. 102. P. 279–291.
54. Speliotes E.K., Uren A., Vaux D., Horvitz H.R. The survivin-like *C. elegans* DIR-1 protein acts with the aurora-like kinase AIR-2 to control chromosome behavior and spindle midzone organization // *Mol. Cell*. 2000. V. 6. P. 211–223.

55. De Souza C.P.C., Osmani A.H., Wu L.-P. et al. Mitotic histone H3 phosphorylation by the NIMA kinase in *Aspergillus nidulans* // *Cell*. 2000. V. 102. P. 293–302.
56. Омельяничук Л.В., Волкова Е.И. Повышенный митотический кроссинговер в гетерохроматине в первом делении дробления у *Drosophila melanogaster* // *Генетика*. 1995. Т. 31. № 6 С. 804–808. (Omel'yanichuk L.V., Volkova E.I. Increased frequency of mitotic crossing-over in heterochromatin during the first cleavage division in *Drosophila melanogaster* // *Rus. J. Genetics*. 1995. V. 31. № 6. P. 688–691.)
57. Koshland D., Strunnikov A. Mitotic chromosome condensation // *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 1996. V. 12. P. 305–333.
58. Uemura T., Ohkura Y., Adachi Y. et al. DNA topoisomerase II is required for condensation and separation of mitotic chromosomes in *S. pombe* // *Cell*. 1987. V. 50. P. 917–925.
59. Sumner A.T. Scanning electron microscopy of mammalian chromosomes from prophase to telophase // *Chromosoma*. 1991. V. 100. P. 410–418.
60. Kaitna S., Mendoza M., Jantsch-Plunger V., Glotzer M. Incenp and an Aurora-like kinase form a complex essential for chromosome segregation and efficient completion of cytokinesis // *Curr. Biol.* 2000. V. 10. P. 1172–1181.
61. Morishita J., Matusaka T., Goshima G. et al. Birl/cut17 moving from chromosome to spindle upon the loss of cohesion is required for condensation, spindle elongation and repair // *Genes Cells*. 2001. V. 6. P. 743–763.
62. Hari K. L., Cook K. R., Karpen G. H. The *Drosophila* Su(var)2–10 locus regulates chromosome structure and function and encodes a member of the PIAS protein family // *Genes Dev.* 2001. V. 15. P. 1334–1348.
63. Johnson E. S., Gupta A. A. An E3-like factor that promotes SUMO conjugation to the yeast septins // *Cell*. 2001. V. 106. P. 735–744.
64. Strunnikov A. V., Aravind L., Koonin E. V. *Saccharomyces cerevisiae* SMT4 encodes an evolutionary conserved protease with a role in chromosome condensation regulation // *Genetics*. 2001. V. 158. P. 95–107.
65. Feng H., Zhong W., Punkosdy G. et al. CUL-2 is required for the G1-to-S-phase transition and mitotic chromosome condensation in *Caenorhabditis elegans* // *Nat. Cell Biol.* 1999. V. 1. P. 486–492.
66. Guacci V., Hogan E., Koshland D. Chromosome condensation and sister chromatid pairing in budding yeast // *J. Cell Biol.* 1994. V. 125. P. 517–530.
67. Guacci V., Koshland D., Strunnikov A. A direct link between sister chromatid cohesion and chromosome condensation revealed through the analysis of MCD1 in *S. cerevisiae* // *Cell*. 1997. V. 91. P. 47–57.
68. Johnson R. T., Rao P. N. Mammalian cell fusion: induction of premature chromosome condensation in interphase nuclei // *Nature*. 1970. V. 226. P. 717–722.
69. Loupart M. L., Krause S. A., Heck M. M. Aberrant replication timing induces defective chromosome condensation in *Drosophila* ORC-2 mutants // *Curr. Biol.* 2000. V. 10. P. 1547–1556.
70. Pflumm M.F., Botchan M.R. Orc mutants arrest in metaphase with abnormally condensed chromosomes // *Development*. 2001. V. 128. P. 1697–1707.
71. Van Hooser A. A., Mancini M. A., Allis C. D. et al. The mammalian centromere: Structural domains and the attenuation of chromatin modeling // *FASEB J.* 1999. V. 13. P. S216–S220.
72. Ekwall K., Olsson T., Turner B.M. et al. Transient inhibition of histone deacetylation alters structural and functional imprint at fission yeast centromeres // *Cell*. 1997. V. 91. P. 1021–1032.
73. Sullivan K.F. A moveable feast: the centromere/kinetochore complex in cell division // *Mechanisms of cell division: Frontiers in molecular biology* / Eds Endow S., Glover D. Oxford, England: Oxford Univ. Press, 1998.
74. Jokelainen P.T. The ultrastructure and spatial organization of the metaphase kinetochore in mitotic rat cells // *J. Ultrastruct. Res.* 1967. V. 19. P. 19–44.
75. Van Hooser A., Brinly B.R. Methods for in situ localization of proteins and DNA in the centromere-kinetochore complex // *Methods Cell Biol.* 1999. V. 61. P. 57–80.
76. Brenner S., Pepper D., Berns M. W. et al. Kinetochore structure, duplication, and distribution in mammalian cells: analysis by human autoantibodies from scleroderma patients // *J. Cell Biol.* 1981. V. 91. P. 95–102.
77. Earnshaw W.C., Rothfield N.F. Identification of a family of three related centromere proteins using autoimmune sera from patients with scleroderma // *Chromosoma*. 1985. V. 91. P. 313–321.
78. He D., Zeng C., Woods K. et al. CENP-G: a new centromeric protein that is associated with the  $\alpha$ -1 satellite DNA subfamily // *Chromosoma*. 1998. V. 107. P. 189–197.
79. Wordeman L., Mitchison T. Identification and partial characterization of mitotic centromere-associated kinesin, a kinesin-related protein that associates with centromeres during mitosis // *Cell Biol.* 1995. V. 128. P. 95–105.
80. Wood K.W., Sakowicz R., Goldstein L.S., Cleveland D.W. CENP-E is a plus end-directed kinetochore motor required for metaphase chromosome alignment // *Cell*. 1997. V. 91. P. 357–366.
81. Liao H., Winkfein R.J., Mack G. et al. CENP-F is a protein of the nuclear matrix that assembles onto kinetochores at late G2 and is rapidly degraded after mitosis // *Cell Biol.* 1995. V. 130. P. 507–518.
82. Echeverri C.J., Paschal B.M., Vaughan K.T., Vallee R.B. Molecular characterization of the 50-kD subunit of dynein reveals function for the complex in chromosome alignment and spindle organization during mitosis // *J. Cell Biol.* 1996. V. 132. P. 617–633.
83. Williams B.C., Gatti M., Goldberg M.L. Bipolar spindle attachments affect redistributions of ZW10, a *Drosophila* centromere/kinetochore component required for accurate chromosome segregation // *Cell Biol.* 1996. V. 134. P. 1127–1140.
84. Scaerou F., Starr D. A., Piano F. et al. The ZW10 and Rough Deal checkpoint proteins function together in a large, evolutionary conserved complex targeted to the kinetochore // *J. Cell Sci.* 2001. V. 114. P. 3103–3114.
85. Chen R.H., Waters J.C., Salmon E.D., Murray A.W. Association of spindle assembly checkpoint component



- XMAP2 with unattached kinetochores // *Science*. 1996. V. 274. P. 242–246.
86. Taylor S.S., McKeon F. Kinetochore localization of murine Bub1 is required for normal mitotic timing and checkpoint response to spindle damage // *Cell*. 1997. V. 89. P. 727–735.
  87. Tomkiel J. E., Earnshaw W. C. Structure of the mammalian centromere // *Chromosome segregation and aneuploidy* / Ed. Vig B.K. Berlin, Germany: Springer Verlag, 1993. P. 13–29.
  88. Liao H., Yen T.J. Mitotic regulation of microtubule cross-linking activity of CENP-E kinetochore protein // *Science*. 1994. V. 265. P. 394–398.
  89. Sugata N., Munekata E., Todokoro K. Characterization of a novel kinetochore protein, CENP-H // *J. Biol. Chem.* 1999. V. 274. № 39. P. 27343–27346.
  90. Gregson H.C., Van Hoozer A.A., Ball A.R. et al. Localization of human SMC protein in kinetochores // *Chromosome Res.* 2002. V. 10. P. 267–277.
  91. Russell P.J. Genetics 5th ed. Menlo Park, California: Addison Wesley Longman Inc., 1998. P. 655–678.
  92. Rieder C.L., Davidson E.A., Jensen L.C. et al. Oscillatory movements of monooriented chromosomes and their position relative to the spindle pole from the ejection properties of the aster and half-spindle // *J. Cell Biol.* 1986. V. 103. P. 581–591.
  93. Wang Y., Burke D.J. Checkpoint genes required to delay cell division in response to nocodazole respond to impaired kinetochore function in the yeast *Saccharomyces cerevisiae* // *Mol. Cell Biol.* 1995. V. 15. P. 6838–6844.
  94. Bai C., Sen P., Hofmann K. et al. SKP1 connects cell cycle regulators to the ubiquitin proteolysis machinery through a novel motif, the F-box. // *Cell*. 1996. V. 86. № 2. P. 263–274.
  95. Brinkley B.P., Cartwright J. Ultrastructural analysis of mitotic spindle elongation in mammalian cells in vitro // *J. Cell Biol.* 1971. V. 93. P. 33–48.
  96. McEwen B.F., Heagle A.H., Cassels G.O. et al. Kinetochore fiber maturation in PtK1 cells and its implication for the mechanisms of chromosome congression and anaphase onset // *J. Cell Biol.* 1997. V. 137. P. 1567–1580.
  97. Rieder C.L., Salmon E.D. The vertebrate cell kinetochore and its roles during mitosis // *Cell Biol.* 1998. V. 8. P. 310–318.
  98. Skibbens R.V., Salmon E.D. Micromanipulation of chromosomes in mitotic vertebrate tissue cells: Tension controls the state of kinetochore movement // *Exp. Cell Res.* 1997. V. 235. P. 314–324.
  99. Rieder C.L., Salmon E. D. Mitotic kinetochores and polar ejection forces dictate chromosome position on the vertebrate mitotic spindle // *J. Cell Biol.* 1994. V. 124. P. 223–233.
  100. Nicklas R.B. How cells get the right chromosome // *Science*. 1997. V. 275. P. 632–637.
  101. Rieder C.L., Cole R.W., Khodjakov A., Sluder G. The checkpoint delaying anaphase in response to chromosome monoorientation is mediated by an inhibitory signal produced by unattached kinetochores // *J. Cell Biol.* 1995. V. 130. P. 941–948.
  102. Tang Z., Bharadwaj R., Li B., Yu H. Mad-2 independent inhibition of APC-Cdc20 by the mitotic checkpoint protein BubR1 // *Dev. Cell*. 2001. V. 1. P. 227–237.
  103. Fang G. The checkpoint protein BubR1 act synergistically with Mad2 to inhibit the anaphase-promoting complex // *Mol. Biol. Cell*. 2002. V. 13. P. 755–766.
  104. Clute P., Pines J. Temporal and spatial control of cyclin B1 destruction in metaphase // *Nat. Cell Biol.* 1999. V. 1. P. 82–87.
  105. Shah J.V., Cleveland D.W. Waiting for anaphase: Mad2 and the spindle assembly checkpoint // *Cell*. 2000. V. 103. P. 997–1000.
  106. Hoyt M. A. A new view of the spindle checkpoint // *J. Cell Biol.* 2001. V. 154. P. 909–912.
  107. Millband D.N., Campbell L., Hardwick K.G. The awesome power of multiple model systems: interpreting the complex nature of spindle checkpoint signaling // *Trends Cell Biol.* 2002. V. 12. P. 205–209.
  108. Heald R. Motor function in mitotic spindle // *Cell*. 2000. V. 102. P. 399–402.
  109. Kreis T., Vale R. Guidebook to the Cytoskeletal and Motor Proteins. Second ed. N.Y.: Oxford Univ. Press, 1999.
  110. Moore J.D., Endow S.A. Kinesin proteins: a phylum of motors for microtubule-based motility // *BioEssays*. 1996. V. 18. P. 207–219.
  111. Gibbons I.R. The role of dynein in microtubule-based motility // *Cell Struct. Function*. 1996. V. 21. P. 331–342.
  112. Hyman A.A., Karsenti E. Morphogenetic properties of microtubules and mitotic spindle assembly // *Cell*. 1996. V. 84. P. 401–410.
  113. Aist J.R., Bayles C.J., Tao W., Berns M.W. Direct experimental evidence for the existence, structural basis and function of astral forces during anaphase B in vivo // *J. Cell Sci.* 1991. V. 100. P. 279–288.
  114. Barton N.R., Goldstein L.S.B. Going mobile: microtubule motors and chromosome segregation // *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 1996. V. 93. P. 1735–1742.
  115. Cassimeris L., Rieder C.L., Salmon E.D. Microtubule assembly and kinetochore directional instability in vertebrate monopolar spindles: Implications to the mechanism of chromosome congression // *J. Cell Sci.* 1994. V. 107. P. 285–297.
  116. Antonio C., Ferby I., Wilhelm H. et al. Xkid, a chromokinesin required for chromosome alignment on metaphase plate // *Cell*. 2000. V. 102. P. 425–435.
  117. Vernos I., Raats J., Hirano T. et al. Xklp1, a chromosomal *Xenopus* kinesin-like protein essential for spindle organization and chromosome positioning // *Cell*. 1995. V. 81. P. 117–127.
  118. Afshar K., Barton N.R., Hawley R.S., Goldstein L.S. DNA binding and meiotic chromosomal localization of the *Drosophila* nod kinesin-like protein // *Cell*. 1995. V. 81. P. 129–138.
  119. Ruden D.M., Cui W., Sollars V., Alterman M. A *Drosophila* kinesin-like protein, Klp38B, functions during meiosis, mitosis, and segmentation // *Dev. Biol.* 1997. V. 191. P. 284–296.
  120. Mallavarapu A., Sawin K., Mitchinson T. A switch in microtubule dynamics at the onset of anaphase B in the

- mitotic spindle of *Schizosaccharomyces pombe* // Curr. Biol. 1999. V. 9. P. 1423–1426.
121. Rattner J.B., Kingwell B.G., Fritzler M.J. Detection of distinct structural domains within the primary constriction using autoantibodies // Chromosoma. 1988. V. 96. P. 360–367.
  122. Kirsch-Volders M., Gundari E., Verdoodt B. Towards a unifying model for the metaphase/anaphase transition // Mutagenesis. 1998. V. 13. P. 321–335.
  123. Toth A., Ciosk R., Uhlmann F. et al. Yeast cohesin complex requires a conserved protein, Ecol(Ctf7), to establish cohesion between sister chromatids during DNA replication // Genes Dev. 1999. V. 13. P. 320–333.
  124. Skibbens R.V., Corson L.B., Koshland D., Hieter P. Ctf7p is essential for sister chromatid cohesion and links mitotic chromosome structure to the DNA replication machinery // Genes Dev. 1999. V. 13. P. 307–319.
  125. Tanaka T., Cosma M.P., Wirth K., Nasmyth K. Identification of cohesion association sites at centromeres and along chromosome arms // Cell. 1999. V. 98. P. 847–858.
  126. Losada A., Hirano M., Hirano T. Identification of Xenopus SMC protein complexes required for sister chromatid cohesion // Genes Dev. 1998. V. 12. P. 1986–1997.
  127. Uhlmann F., Lottspeich F., Nasmyth K. Sister-chromatid separation at anaphase onset is promoted by cleavage of the cohesin subunit Scc1 // Nature. 1999. V. 400. P. 37–42.
  128. Nasmyth K. Disseminating the genome: joining, resolving, and separating sister chromatids during mitosis and meiosis // Annu. Rev. Genet. 2001. V. 35. P. 673–745.
  129. Parry D.H., O'Farrell H.O. The schedule of destruction of three mitotic cyclins can dictate the timing of events during exit from mitosis // Curr. Biol. 2001. V. 11. P. 671–683.
  130. Moore D.P., Tang T.L., Kerrebrock A.W., Orr-Weaver T.L. The cohesion protein MEI-S332 localizes to condensed meiotic and mitotic centromeres until sister chromatids separate // J. Cell Biol. 1998. V. 140. P. 1003–1012.
  131. Rieder C.L., Cole R. Chromatid cohesion during mitosis: Lessons from meiosis // J. Cell Sci. 1999. V. 112. P. 2607–2613.
  132. Stratmann R., Lehner C.F. Separation of sister chromatids in mitosis requires the Drosophila Pimples product, a protein degraded after the metaphase anaphase transition // Cell. 1996. V. 84. P. 25–35.
  133. Gorbsky G.J., Ricketts W.A. Different expression of a phosphoepitope at the kinetochores of moving chromosomes // J. Cell Biol. 1993. V. 122. P. 1311–1321.
  134. Li X., Nicklas R.B. Tension-sensitive kinetochore phosphorylation and the chromosome distribution in praying mantid spermatocytes // J. Cell Sci. 1997. V. 110. P. 537–545.
  135. Campbell M.S., Gorbsky G.J. Microinjection of mitotic cells with the 3F3/2 anti-phosphoepitope antibody delays the onset of anaphase // J. Cell Biol. 1995. V. 129. P. 1195–1204.
  136. Hartwell L.H., Weinert T.A. Checkpoints: Controls that ensure the order of cell cycle events // Science. 1989. V. 246. P. 629–634.
  137. Elledge S.J. Cell cycle checkpoints: preventing an identity crisis // Science. 1996. V. 274. № 5293. P. 1664–1672.
  138. King R.W., Peter J.-R., Tugendreich S. et al. A 20S complex containing CDC27 and CDC16 catalyzes the mitosis-specific conjugation of ubiquitin to cyclin B // Cell. 1995. V. 81. P. 279–288.
  139. Sudakin V., Ganoth D., Dahan A. et al. The cyclosome, a large complex containing cyclin-selective ubiquitin ligase activity, targets cyclins for destruction at the end of mitosis // Mol. Biol. Cell. 1995. V. 6. P. 185–198.
  140. Kramer E. R., Scheuringer N., Podtelejnikov A.V. et al. Mitotic regulation of the APC activator proteins CDC20 and CDH1 // Mol. Biol. Cell. 2000. V. 11. P. 1555–1569.
  141. Lamb J.R., Michaud W., Sikorski R.S., Hieter P.A. Cdc16p, Cdc23p and Cdc27p form a complex essential for mitosis // EMBO J. 1994. V. 13. P. 4321–4328.
  142. Icho T., Wickner R. B. Metal-binding, nucleic acid-binding finger sequences in the CDC16 gene of *Saccharomyces cerevisiae* // Nucl. Acids Res. 1987. V. 15. P. 8439–8450.
  143. Hirano T., Kinoshita N., Morikawa K., Yanagida M. Snap helix with knob and hole: Essential repeats in *S. pombe* nuclear protein nuc2<sup>+</sup> // Cell. 1990. V. 60. P. 319–328.
  144. Sikorski R.S., Boguski M., Goebel M., Hieter P. A repeating amino acid motif in CDC23 defines a family of proteins and a new relationship among genes required for mitosis and RNA synthesis // Cell. 1990. V. 60. P. 307–317.
  145. O'Donnell K.L., Osmani A.H., Osmani S.A., Morris N.R. bimA encodes a member of the tetratricopeptide repeat family of proteins and is required for the completion of mitosis in *Aspergillus nidulans* // J. Cell Sci. 1991. V. 99. P. 711–719.
  146. Tugendreich S., Boguski M. S., Seldin M. S., Hieter P. Linking yeast genetics to mammalian genomes: Identification and mapping of the human homolog of CDC27 via the expressed sequence tag (EST) data base // Proc. Natl Acad. Sci. USA. 1993. V. 90. P. 10031–10035.
  147. King R.W., Deshaier D.J., Peters J.M., Kirschner M.W. How proteolysis drives the cell cycle // Science. 1996. V. 274. P. 1652–1659.
  148. Hershko A. Roles of ubiquitin-mediated proteolysis in cell cycle control // Curr. Opin. Cell Biol. 1997. V. 9. P. 788–799.
  149. Morgan D.O. Regulation of the APC and the exit from mitosis // Nature Cell Biol. 1999. V. 1. P. E47–E53.
  150. Visintin R., Prinz S., Amon A. CDC20 and CDH1: a family of substrate-specific activators of APC-dependent proteolysis // Science. 1997. V. 278. P. 460–463.
  151. Funabiki H., Yamamoto H., Kumada K. et al. Cut2 proteolysis required for sister-chromatid separation in fission yeast // Nature. 1996. V. 381. P. 438–441.
  152. Zou H., McGarry T.J., Bernal T., Kirschner M.W. Identification of a vertebrate sister-chromatid separation inhibitor involved in transformation and tumorigenesis // Science. 1999. V. 285. P. 418–422.
  153. Cohen-Fix J., Peters J.-M., Kirschner M.W., Koshland D. Anaphase initiation in *Saccharomyces cerevisiae* is controlled by the APC-dependent degradation of the

- anaphase inhibitor Pds1p // *Genes Dev.* 1996. V. 10. P. 3081–3093.
154. Holloway S.L., Glotzer M., King R.W., Murray A.W. Anaphase is initiated by proteolysis rather than by the inactivation of maturation-promoting factor // *Cell.* 1993. V. 73. P. 1393–1402.
  155. Surana U., Amon A., Dowzer J. et al. Destruction of the CDC28/CLB mitotic kinase is not required for the metaphase-to-anaphase transition in budding yeast // *EMBO J.* 1993. V. 12. P. 1969–1978.
  156. Nasmyth K. At the heart of the budding yeast cell cycle // *Trends Genet.* 1996. V. 12. P. 405–412.
  157. Schwab M., Lutum A.S., Seufert W. Yeast Hct1 is a regulator of Clb2 cyclin proteolysis // *Cell.* 1997. V. 90. P. 683–693.
  158. Sigrist S.J., Lehner C.F. Drosophila fizzy-related down-regulates mitotic cyclins and is required for cell proliferation arrest and entry into endocycles // *Cell.* 1997. V. 90. P. 671–681.
  159. Tinker-Kulberg R.L., Morgan D.O. Pds1 and Esp1 control both anaphase and mitotic exit in normal cells and after DNA damage // *Gen.Dev.* 1999. V. 13. P. 1936–1949.
  160. Hwang L.H., Lau L.F., Smith D.L. et al. Budding yeast Cdc20: A target of spindle checkpoint // *Science.* 1998. V. 279. P. 1041–1044.
  161. Alexandru G., Zachariae W., Schleiffer A., Nasmyth K. Sister chromatid separation and chromosome re-duplication are regulated by different mechanisms in response to spindle damage // *EMBO J.* 1999. V. 18. P. 2707–2721.
  162. Fesquet D., Fitzpatrick P.J., Johnson A.L. et al. A Bub2p-dependent spindle checkpoint pathway regulates the Dbf2 kinase in budding yeast // *EMBO J.* 1999. V. 18. P. 2424–2434.
  163. Li R. Bifurcation of the mitotic checkpoint pathway in budding yeast // *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 1999. V. 96. P. 4989–4994.
  164. Cohen-Fix O., Koshland D. The anaphase inhibitor of *Saccharomyces cerevisiae* Pds1 is a target of the DNA damage checkpoint pathway // *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 1997. V. 94. P. 14361–14366.
  165. Yamamoto A., Guacci V., Koshland D. Pds1 is required for the faithful execution of anaphase in yeast // *J. Cell Biol.* 1996. V. 133. P. 85–97.
  166. Yamamoto A., Guacci V., Koshland D. Pds1, an inhibitor of anaphase in budding yeast, plays a critical role in the APC and checkpoint pathway(s) // *J. Cell Biol.* 1996. V. 133. P. 99–110.
  167. Yang S.S., Yeh E., Salmon E.D., Bloom K. Identification of a mid-anaphase checkpoint in budding yeast // *J. Cell. Biol.* 1997. V. 136. P. 345–354.
  168. Лебедева Л. И., Чубыкин В. Л. Модифицирование в митозе частоты aberrаций хромосом // *Генетика.* 1975. Т. 11. № 4 С. 30–36.
  169. Лебедева Л. И., Чубыкин В. Л. “Защитный” эффект гамма-облучения клеток в метафазе митоза после УФ-облучения в S-периоде // *Генетика.* 1975. Т. 11. № 10. С. 24–29.
  170. Hoyt M.A., Trotis L., Roberts B.T. *S. cerevisiae* genes required for cell cycle arrest in response to loss of microtubule function // *Cell.* 1991. V. 66. P. 507–517.
  171. Li R., Murray A. W. Feedback control of mitosis in budding yeast // *Cell.* 1991. V. 66. P. 519–531.
  172. Weiss E., Winey M. The *Saccharomyces cerevisiae* spindle pole body duplication gene MPS1 is part of a mitotic checkpoint // *J. Cell Biol.* 1996. V. 132. P. 111–123.
  173. Chen R.H., Shevchenko A., Mann M., Murray A.W. Spindle checkpoint protein xmad1 recruits xmad2 to unattached kinetochores // *J. Cell Biol.* 1998. V. 143. P. 283–285.
  174. Li Y., Benezra R. Identification of a human mitotic checkpoint gene: *hSMAD2* // *Science.* 1996. V. 274. P. 246–248.
  175. Pangilinan F., Li Q., Weaver T. et al. Mammalian BUB1 protein kinases: Map positions and in vivo expression // *Genomics.* 1997. V. 46. P. 379–388.
  176. Jin D.Y., Spenser F., Jeang K.T. Human T cell leukemia virus type 1 oncoprotein Tax targets the human mitotic checkpoint protein MAD1 // *Cell.* 1998. V. 93. P. 81–91.
  177. Taylor S.S., Ha E., McKeon F. The human homologue of Bub3 is required for kinetochore localisation of Bub1 and Mad3/Bub1-related protein kinase // *J. Cell Biol.* 1998. V. 142. P. 1–11.
  178. Hwang L.H., Lau L.F., Smith D.L. et al. Budding yeast Cdc20: a target of the spindle checkpoint // *Science.* 1998. V. 279. P. 1041–1044.
  179. Weiner T.A., Hartwell L.H. Characterization of Rad9 of *Saccharomyces cerevisiae* and evidence that its function acts posttranslationally in cell cycle arrest after DNA damage // *Mol. Cell. Biol.* 1990. V. 10. P. 6554–6564.
  180. Paulovich A.G., Margulies R.U., Gavrik B.M., Hartwell L.H. Rad9, Rad17 and Rad24 are required for S phase regulation in *Saccharomyces cerevisiae* in response to DNA damage // *Genetics.* 1997. V. 145. P. 45–62.