

真核生物细胞有丝分裂起始、终止的遗传与生化调控机制

赵吉平

(山东农业大学农学系, 泰安 271018)

王斌

(中国科学院遗传研究所, 北京 100101)

Genetic and Biochemical Control Mechanism Regulating Entry into and Exit from Mitosis in Eucaryotes

Zhao Jiping

(Department of Agronomy, Agricultural University of Shandong, Taian 271018)

Wang Bin

(Institute of Genetics, Academia Sinica, Beijing 100101)

在过去的几年里, 生物学研究领域获得了一项重大突破, 即真核生物细胞分裂周期遗传与生化调控机制的发现^[18]。可以设想, 有机体正常生命活动中的细胞分裂必定按照某种规律受到严格的控制。如胚性细胞的分裂速率很快, 某些成熟细胞分裂则较慢, 而另一些细胞则根本不进行任何分裂。如果生长分裂停止, 将导致死亡。然而, 如果成熟细胞分裂发生紊乱, 将诱发癌症产生。因此, 分裂周期中各个环节之间需要高度协调, 有条不紊地进行。一般的, 分裂周期中每个阶段的起始取决于前一阶段的结束。例如, 有丝分裂期(下称 M 期)的开始依赖于 DNA 复制的完成; M 期的顺利完成取决于正常纺锤体的形成……。

整个分裂周期中存在两个关键的过渡点, 即由 G_1 期向 S 期(G_1/S)和 G_2 期向 M 期(G_2/M)的过渡。最近的研究表明, 该过渡点, 尤其是后者的调控机制已了解得很清楚, 即在所有研究过的真核生物中, 从裂殖酵母、芽殖酵母、海胆、非洲爪蟾、蛤、青蛙、海星、小鼠、大鼠、鸡到人类, 从莱茵哈德衣藻、碗豆到小麦, 控制 M 期起始与终止的遗传与生化机制是高度一致的。这一重要研究成果无疑将对研究生物进化, 细胞分化的分子机理以及通过遗传手段有效地控制人类的重要疾病—癌症等研究作出重要贡献。

控制细胞分裂周期(cell division cycle)的基因称为 *cdc* 基因。决定 M 期起始的关键是核心基因 *cdc2*⁺产物蛋白质激酶活性的激活以及与 *cdc13*⁺产物 Cyclin 的结合。本文将介绍这一过程的遗传及生化控制的最新研究成果。

1 裂解酵母 M 期起始与终止的遗传控制

对调节真核生物 M 期起始与终止遗传机理的认识, 最初来自对两种酵母, 即裂解酵母与芽殖酵母的大量研究。据报道, 控制细胞分裂周期所涉及的基因前者约 25 个, 后者为 50 个^[3,9], 参与调节裂解酵母 M 期起始的基因约 5-6 个, 分别为 *cdc2*⁺、*cdc13*⁺、*cdc25*⁺、*nim1*⁺、*wee1*⁺和 *suc1*⁺。两种酵母虽然在进化上相距甚远, 但其控制机理却十分相同。裂殖酵母的 *cdc2*⁺分别控制 G_1/S 和 G_2/M 两个过渡点。芽殖酵母的 CDC28 主要控制

G_1/S 过渡点, 两基因产物分子量相似, 且具 62% 以上的同源性, 其长度仅有 1 个氨基酸之差, 功能上两者可互相取代。因此, $cdc2^+$ 与 CDC28 功能上相同。

1.1 $cdc2^+$

在调节 M 期始止的有关基因中, $cdc2^+$ 为主基因, 其次是 $cdc13^+$ 。其它基因主要对 $cdc2^+$ 基因功能起调节修饰作用。这一结论的证据在于: 当将 $cdc2^+$ 隐性温度敏感突变型个体在限性温度下培养时, 细胞分裂受阻, 或停止于 G_1 期, 或停止于 G_2 期。阻抑在 G_1 期的细胞仍能进行接合, 表明尚未通过 G_1/S 过渡点^(33,34)。此外, 细胞内无组蛋白合成。阻抑在 G_2 期的细胞, 染色体不发生聚缩, 无纺锤体形成和中隔分开。然而, $cdc2^+$ 因显性突变而超量表达时, 则引起 G_2 期缩短, 细胞提早进入 M 期, 子细胞体积小于正常野生型个体⁽²⁹⁾。 $cdc2^+$ 产物是一个分子量为 34KD 的蛋白质激酶(下称 P34^{*cdc2*})。细胞通过该激酶活性水平的调节决定进入或退出 M 期(表 1, 图 1)。激酶活性的表达又受其他修饰基因的制约。

1.2 $cdc13^+$

该基因产物称为 cyclin, 由 482 个氨基酸组成, 分子量为 56KD(下称 P56^{*cdc13*}), 它与 P34^{*cdc2*} 结合后形成具功能的复合体, 参与控制 M 期的起始与终止⁽⁵⁾。 $cdc13^+$ 缺体使细胞滞留于 G_2 期, 无染色体聚缩。其突变体虽发生染色体聚缩, 但间期微管排列方式不变, 导致纺锤体形成受阻, 细胞不进入 M 期^(6, 25)。

1.3 其他修饰基因

在整个控制 M 期始止体系内, 除 $cdc2^+$ 和 $cdc13^+$ 主基因主导作用外, 还存在两条独立、作用相反但又相互协调的调控途径, 即负调控和正调控, 分别直接或间接地调节 $cdc2^+$ 的功能。

1.3.1 负调控(抑制 M 起始的基因)

$wee1^+$ 正常 $wee1^+$ 产物抑制体积尚未达到正常大小的细胞进入 M 期。该基因超量表达或多拷贝基因具有加性剂量效应, 明显延缓细胞进入 M 期, 这类细胞体积较正常细胞显著增大。两拷贝时约为 $21\mu\text{m}$, 6 拷贝时达 $35\mu\text{m}$ 。隐性突变或缺失情况下导致细胞提早进入 M 期, 细胞体积小于正常细胞的一半⁽¹¹⁾。

$Suc1^+$ 该基因产物为一个 13KD 的蛋白质(下称 P13^{*suc1*})。Brizucla 等发现约占细胞内 5% 的 P34^{*cdc2*} 与此蛋白质形成复合体。 $Suc1^+$ 超量表达推迟细胞进入 M 期; 缺失时使细胞滞留在 M 期⁽¹⁰⁾。这表明 $suc1^+$ 可能在引发细胞 M 期起始与终止中均起某种调节作用。

1.3.2 正控制(促进 M 期起始的基因)

$cdc25^+$ 与 $nim1^+$ 该两基因作用与 $wee1^+$ 相反, 具有推进细胞进入 M 期作用, 故称其产物为 M 期诱导因子。因此, 细胞通过 $wee1^+$ 与该两基因间抑制与反抑制的平衡作用, 确保细胞在达到正常体积和恰当的时间进入 M 期。 $cdc25^+$ 或 $nim1^+$ 超量表达, 或 $wee1^+$ 缺失、 $wee1^+$ 突变等均能导致细胞提早进入 M 期, 细胞体积减小。同时引发细胞 M 期的异常, 如形成不对称细胞板, 导致出现无细胞核子细胞; DNA 复制尚未完成即进入分裂, 子细胞仅 $5\mu\text{m}$ 。两类基因产物比例失调, 使细胞处于致死状态⁽³⁸⁾。表 1 和图 1 列出了上述各基因及产物表达方式、分子量及其作用。

表 1 控制裂解酵母 M 期始止的基因、产物及功能

基因	产物	功能
$Cdc2^+$	P34 ^{<i>cdc2</i>}	M 期蛋白质激酶, MPF 复合体亚单位
$Cdc13^+$	P56 ^{<i>cdc13</i>}	M 期激酶的 Cyclin, MPF 复合体亚单位
$Cdc25^+$	P80 ^{<i>cdc25</i>}	促进 P34 ^{<i>cdc2</i>} 激酶脱磷酸化作用, 诱使细胞进入 M 期
$Suc1^+$	P13 ^{<i>suc1</i>}	促进 M 期终止, 抑制 M 期起始
$Wee1^+$		激酶, M 期抑制因子

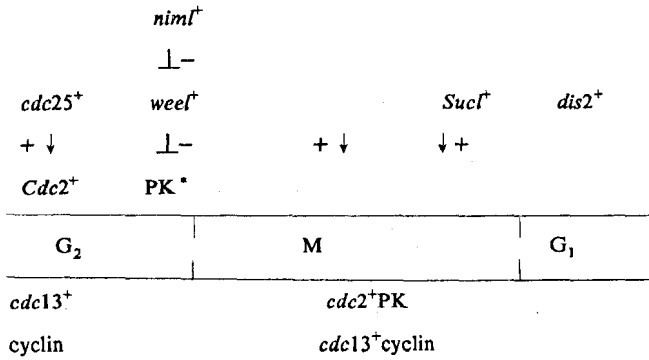


图1 控制裂解酵母 M 期始止中各基因间的相互作用

* PK = 蛋白质激酶; *cdc2⁺*、*wee1⁺*、*nim1⁺*产物均为蛋白质激酶; *dis2⁺*产物为磷酸酶。

2 高等真核生物细胞 M 期的遗传控制

2.1 成熟促进因子与 *cdc2⁺* / *cdc13⁺* 产物复合体

早在七十年代初期, Reynhout 与 Smith 等将由未受精卵中中提取的细胞质成份注射到未成熟的卵母细胞中, 发现后者很快进入减数分裂⁽³⁷⁾。随后的一系列研究表明, 由分裂期体细胞、成熟卵母细胞或卵子提取的同类因子分别注射到间期细胞或未成熟卵母细胞内, 均可使受体细胞进入有丝分裂或减数分裂。在无新蛋白质合成情况下, 该类因子可直接激活有丝分裂和减数分裂, 而且动植物的诱导因子相同。该因子称为成熟促进因子 (Maturation Prompting Factor, 简称 MPF 或 M 期因子, M 既可代表 Mitosis, 又可代表 Meiosis)。

在研究过的所有高等生物成熟卵子和分裂期细胞内均具 MPF, 而且 MPF 的活性随细胞周期的不同而异。出现于 G₂ 期, 分裂中期达到高峰, 后期开始下降, G₁ 期消失。表明 MPF 为调节真核生物 M 期起始与终止所必需。最近, Lohka 等已成功由未受精瓜蟾卵子内提取了纯化的 MPF 因子⁽³⁰⁾。

一般来说, 进入 M 期前, 细胞必须完成若干重要活动。例如, 许多情况下细胞体积加倍; DNA 复制完成。其后, MPF 在促进染色体聚缩、微管重排、核膜分解(除封闭式分裂细胞外, 如酵母)以及细胞形状改变等重要事件中起着关键性作用⁽²⁶⁾。

2.2 *cdc2⁺* 及其产物

裂殖酵母的 *cdc2⁺* 是控制 M 期起始和终止的主基因⁽³⁴⁾, 其产物 P34^{*cdc2*} 是一种蛋白激酶。芽殖酵母 CDC28 与人的 CDC2(hs, Homo sapien) 均可取代裂殖酵母的 *cdc2⁺*⁽⁸⁾。瓜蟾中的 P34^{*cdc2*} 可以直接诱发间期细胞进入 M 期^(13, 20)。最近, Feiler 等⁽¹⁸⁾ 也从碗豆等植物中发现了 *cdc2⁺* 基因产物 P34^{*cdc2*}, 并获得了该基因的克隆⁽¹⁹⁾。此外, 在大鼠、小鼠、鸡、海星、蛤、海胆及小麦中均发现了 P34^{*cdc2*}, 且具高度的一致性^(17, 27)。表明 *cdc2⁺* 为真核生物细胞 M 期始止所共用的基因, 在长期生物进化过程中得以保留至今。P34^{*cdc2*} 在整个细胞周期内含量无明显变化, 其活性规律类同 MPF, 表明其调控水平通过转译后的激酶自身修饰(磷酸化和非磷酸化, 见后)而起作用。

2.3 *cdc13⁺* 及其产物—Cyclin

Cyclin 为组成 MPF 的亚单位之一, 是迄今所研究过的真核生物调节 M 期始止中第二个重要蛋白质分子。Cyclin 最初由 Evans 等发现于海星卵子中⁽¹⁶⁾, 因在细胞周期中不稳定性得名, 即 G₁ 期无 Cyclin, 至 G₂ 期开始合成, M 期达到高峰, M 期结束前迅速降解。

高等真核生物的 Cyclin 分为 A 和 B 两种, 分别称为 P62^{cdc13} 和 P60^{cdc13}。两者在约 150 个氨基酸的中心区具 30% 同源性。A 和 B 均可与其同伴 P34^{cdc2} 形成独立的复合体, 并各自可启动和终止 M 期, 但两者并存时效率最高⁽¹²⁾。最近, Pines 与 Hunter 成功地分离了人 Cyclin 的 cDNA, 报道了细胞周期中其 mRNA 与蛋白质合成的调节及与 P34^{cdc2} 的结合, 认为 B 型主要在 G₂ 期与 P34^{cdc2} 结合; 而 A 型则在 S 期与 P34^{cdc2} 结合, 可能分别对 G₂/M 和 G₁/S 两过渡点起作用⁽³⁵⁾。Hata 等于 1991 年首次报道了植物中 A、B 两 Cyclin 的存在⁽²⁴⁾。

Cyclin 在细胞周期中最大特点是其分子的不稳定性, 后期结束时迅速降解, 是每一细胞周期中唯一需要重新合成的蛋白质。这表明它在控制细胞 M 期的终止进入下一周期中起重要作用。Pines 与 Hunter 发现 HeLa TK 细胞内的 Cyclin mRNA, 其转录水平受细胞周期的调节, G₂ 期为 G₁ 期的 4 倍; G₂ 期的 Cyclin 则为 G₁ 期的 20 倍。有丝分裂中期后则急剧下降⁽³⁵⁾。据 Glotzer 等⁽²²⁾ 最近报道, 在分子的第 13-66 个氨基酸 N 端序列内, 有一由 9 个氨基酸组成的降解盒, 该区与一外源蛋白结合形成杂种蛋白, 该杂种蛋白对 M 期蛋白水解作用敏感。在降解过程中, 与一高度保守、分子量为 7KD 的 Ubiquitin 通过蛋白质内赖氨酸残基异肽键共价结合, 而成为蛋白质水解的靶蛋白。结合体动力学特点表明, 细胞依靠此种 Ubiquitin 的接合体系识别 Cyclin, 进而对其降解, 导致同伴 P34^{cdc2} 激酶活性失活, 使细胞退出 M 期进入下一个分裂周期⁽²²⁾。

3 控制细胞 M 期起始与终止的分子机理

3.1 P34^{cdc2} 蛋白质激酶的激活

P34^{cdc2} 是一种蛋白质激酶, 存在于整个细胞周期内, 即在早 G₁ 及 M 期都有存在。然而, 它在周期内发生两种变化, 其一是表现磷酸化或非磷酸化; 其二是单独存在或与其它蛋白质形成复合体。现已证明, 启动细胞进入 M 期的关键是 P34^{cdc2} 发生脱磷酸化作用, 由此导致该激酶活性增高。G₂ 期前, P34^{cdc2} 则发生磷酸化作用, 与 Cyclin 不发生结合, 激酶处于失活状态。所催化的靶蛋白均处于非磷酸化状态。相反, G₂ 期末, P34^{cdc2} 与 Cyclin 形成有功能的复合体 MPF, P34^{cdc2} 开始脱磷, 激酶活性出现, 所有底物蛋白则开始发生磷酸化, 细胞进入 M 期, 至中期达到高峰, 其后逐渐降低。到末期前 P34^{cdc2} 激酶活性消失, 复合体解体, 激酶重新磷酸化。同时, 底物蛋白在磷酸酶作用下脱磷。Cyclin 迅速降解, 细胞退出 M 期进入 G₁ 期。Cyclin 的解体是导致 MPF 失活, 一旦 P34^{cdc2} 激酶被激活, 细胞内将出现 M 期的各种特征, 如染色体聚缩, 细胞骨架重排, 核膜解体等。这是 P34^{cdc2} 对 M 期底物蛋白磷酸化作用的结果。Bailey 等发现细胞质与核内均存在 P34^{cdc2}, 部分 P34^{cdc2} 与中心体蛋白质结合并使其磷酸化, 以形成正常纺锤体; 后期与小泡结合于两新细胞核中间, 这种空间转移造成 P34^{cdc2} 失活⁽²⁾。M 期 H1 组蛋白磷酸化作用早有发现, 即 S 期 H1 组蛋白附加两组磷, M 期再附加四组磷。M 期终止时由磷酸酶除去所附加的磷。H1 组蛋白 M 期的再次磷酸化被认为是 M 期染色体在螺线管基础上聚缩成更高级结构所需^(1, 17, 36)。核片层蛋白(Lamins)磷酸化后的分解, 纺锤体得已形成, 显然也是 P34^{cdc2} 作用的结果。离体培养证明, 除 H1 组蛋白和核片层蛋白外, 核仁素、肌球蛋白轻链、P60^{src}、SW15、T-抗原、RNA 聚合酶 II、延长因子、Cyclin 及 P40 等均为 P34^{cdc2} 激酶 M 期的底物^(8, 24, 31)。目前, 已在裂解酵母和构巢曲霉中发现了编码磷酸酶的基因⁽⁷⁾。P34^{cdc2} 与其底物磷酸化与脱磷酸化过程还需其他基因的协调配合(见图 2)。

3.2 P34^{cdc2} 磷酸化与脱磷酸化的分子基础

启动细胞进入 M 期的分子机制是 P34^{cdc2} 活性的激活, 激酶激活的关键是自身脱磷^(21, 23, 28, 32)。据报道, P34^{cdc2} 分子内有两个位点, 即酪氨酸和苏氨酸, 前者为 ATP 结合部位, 间期 ATP 与该部位结合使该两氨基酸磷酸化, P34^{cdc2} 活性失活。到 G₂/M 过渡点时磷酸酶使激酶开始脱磷, 激酶活性再现, 细胞进入 M 期。

离体培养下, Cyclin B 常与酪氨酸位点脱磷酸状态的 P34^{cdc2} 结合。二聚体形成后引起酪氨酸位点磷酸化, 失活状态的 MPF 保持到该位点发生特异性脱磷酸作用后消失, 激酶才被再次激活。Dunphy 等发现瓜蟾活体

卵母细胞及卵子内, 酪氨酸位点的磷酸化随细胞周期变化而异, 间期磷酸化程度高, 未受精卵子的 M 期无磷酸化出现。离体条件下激活卵母细胞内 MPF 导致 $P34^{cdc2}$ 酪氨酸位点脱磷, 并启动激酶活性。这表明, $P34^{cdc2}$ 酪氨酸位点的脱磷与该激酶活性直接有关⁽¹⁴⁾。DNA 序列分析表明, 迄今所研究过的生物, 其 $cdc2^+$ 基因内均具有酪氨酸编码顺序, 且位于 ATP 结合部位。这说明该模式在真核生物⁽²²⁾中具有普遍性。

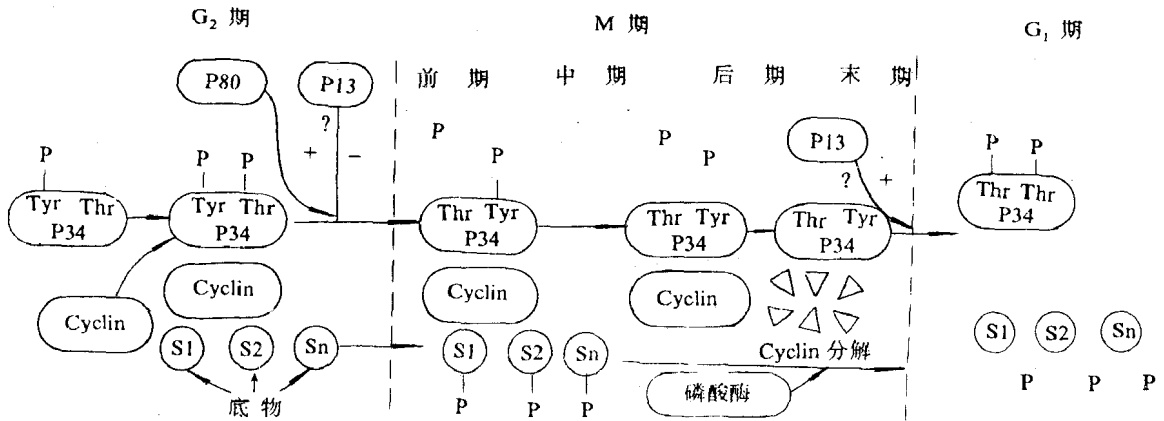


图 2 真核生物有丝分裂起始与终止的遗传与生化控制模式

3.3 $P34^{cdc2}$ 与其他基因产物的相互作用

$P34^{cdc2}$ 活性的完全激活, 除受 $cdc13^+$ 产物 Cyclin 调节外, 其他基因也直接或间接参与调节作用(图 2)。当裂解酵母的 $cdc25$ 突变体在限制性温度下培养时, $P34^{cdc2}$ 磷酸化, 激酶失活, 染色体不发生聚缩, 无微管重排出现, 然而, 当转移至许可温度下 5 分钟内, $P34^{cdc2}$ 脱磷, 激酶活性出现; 20 分钟内达到高峰并伴随染色体聚缩; 25 分钟时下降到间期水平, 可见后期核形成⁽²³⁾。最近分别在芽殖酵母与果蝇中发现了 $cdc25^+$ 的同源基因, 分别称为 MIHI 和 string^(15, 9)。 $cdc25^+$ 产物— $P80^{cdc25}$ 磷蛋白的功能是诱发 $P34^{cdc2}$ 脱磷, 使激酶激活, 从而推进细胞进入 M 期。G₂ 期 $P80^{cdc25}$ 含量升高, 接近 M 期时提高 4-5 倍, 表明 $P80^{cdc25}$ 积累的临界值对启动激酶活性时间起重要作用。进入 M 期后, 含量再次上升, 可能在细胞退出 M 期前 $cdc25^+$ 一直行使功能。但是, 对于 $P80^{cdc25}$ 作用的详尽分子基础目前尚不清楚。推测它可能对作用于 $P34^{cdc2}$ 的激酶起抑制作用, 或激活作用于 $P34^{cdc2}$ 的磷酸酶, 从而导致该酶的脱磷。

裂殖酵母的 $wee1^+$ 基因产物也属蛋白激酶, 它对 $P34^{cdc2}$ 的抑制作用受 $nim1^+$ 和 $cdc25^+$ 产物的调节。目前, 对于 $wee1^+$ 产物如何作用于 $P34^{cdc2}$ 的机制有两种假说, 其一是 $wee1^+$ 产物直接使 $P34^{cdc2}$ 磷酸化, 从而降低激酶活性; 其二是它并非直接抑制 $P34^{cdc2}$ 的活性, 而是通过使 $P34^{cdc2}$ 的底物磷酸化, 导致 $P34^{cdc2}$ 对其底物磷酸化能力降低。但这两种推测均需实验来证明。

Beach 认为, $P34^{cdc2}$ 与 $P60^{cdc13}$ 结合需要 $P13^{suc1}$, 随后, $P13^{suc1}$ 抑制复合体形成后激酶活性。因此, $P13^{suc1}$ 可能在间期与 $P34^{cdc2}$ 结合, 导致激酶失活。但到 M 期, $P34^{cdc2}$ 对 $P13^{suc1}$ 抑制作用不再敏感, 激酶活性重现⁽⁴⁾。Dunphy 等发现酵母的 $P13^{suc1}$ 完全抑制瓜蟾卵母细胞 $P34^{cdc2}$ 酪氨酸脱磷及激酶的活性。但 $P13^{suc1}$ 对已激活形式的 $P34^{cdc2}$ 则无抑制作用⁽¹⁴⁾。 $P13^{suc1}$ 通过抑制 $P34^{cdc2}$ 分子内酪氨酸位点磷酸化而控制激酶的活性, 阻止细胞进入 M 期。缺少 $P13^{suc1}$ 时将导致细胞滞留于 M 期, 说明它对 M 期终止可能起一定作用。

现已证明, 真核生物调节细胞 M 期起始与终止的机理十分相似。调控机制的核心是 $cdc2^+$ 产物 $P34^{cdc2}$ 激酶的活性变化, 激酶活化, 启动细胞进入 M 期并导致某些重要蛋白质磷酸化, M 期特征出现; 激酶失活, M 期终

止。P34^{cdc2}与Cyclin形成复合体。P34^{cdc2}活性需要Cyclin的调节; M期终止需Cyclin解体, 导致P34^{cdc2}失活。P34^{cdc2}的激活与分子内酪氨酸和苏氨酸位点的脱磷相关, 酪氨酸位于ATP结合部位。M期的起始时间与P80^{cdc25}积累有关。P80^{cdc25}诱发P34^{cdc2}脱磷。目前, 已在除裂解酵母以外的其它生物中发现了与cdc25⁺序列相似的基因, 说明该基因可能是这个调控体系内的另一个重要基因。

裂殖酵母与芽殖酵母细胞分裂周期中G₁/S(START)和G₂/M两过渡点的调控已很清楚。高等真核生物今后需要研究的中心问题是探究G₁/S过渡点的调控过程。迄今尚未发现类似酵母中的G₁期特异性Cyclin的存在。虽然Cyclin A曾被认为可能在起始G₁/S过渡点中起作用, 但在S期前未发现有明显Cyclin存在。同时, Cyclin A的累积直到有丝分裂后期前都很稳定。因此, Cyclin A在细胞中积累与降解的动力学研究证明它并非在起始G₁/S过渡点起作用。

参 考 文 献

- (1) Arion D, *et al*, 1988. Cell, 55: 371-378.
- (2) Bailly E, *et al*, 1989. EMBO J., 8: 3985-3995.
- (3) Beach D, *et al*, 1982. Nature, 300: 706-709.
- (4) Beach D, 1989. Cell, 56: 829-838.
- (5) Booher R. and Beach D, 1987. EMBO J., 6: 3441-3447.
- (6) Booher R, and Beach D, 1988. EMBO J., 7: 2321-2327.
- (7) Booher R, *et al*, 1989. Cell, 57: 1009-1016.
- (8) Bradburg E M, *et al*, 1974. Nature, 247: 257-261.
- (9) Brecedern L, 1988. TAG, 4: 249-253.
- (10) Brizuela G, *et al*, 1987. EMBO J., 6: 3507-3513.
- (11) Davidson D, 1991. Plant Physiology A Treatise, Vol. X, pp363-376.
- (12) Draetta G, *et al*, 1989. Cell, 56: 829-838.
- (13) Dunphy W G, *et al*, 1988. Cell, 54: 423-431.
- (14) Dunphy W G, and Newport J W, 1989. Cell, 58: 181-191.
- (15) Edgar B, *et al*, 1989. Cell, 57: 177-187.
- (16) Evans T, *et al*, 1983. Cell, 33: 389-396.
- (17) Fantès P. 1988. TAG, 4: 275-276.
- (18) Feiler H, and Jacobs T W, 1990. Proc. Natl. Acad. Sci. 87: 5397-540.
- (19) Feiler H, and Jacobs T W, 1991. Plant Mol. Biol. 17: 321-333.
- (20) Gautier J, *et al*, 1988. Cell, 54: 433-439.
- (21) Gautier J, *et al*, 1989. Nature, 339: 626-629.
- (22) Glotzer G, *et al*, 1991. Nature, 349: 132-138.
- (23) Gould K. L, *et al*, 1989. Nature, 342: 39-45.
- (24) Hata S, *et al*, 1991. EMBO J., 10: 2681-2688.
- (25) Hagan I. M, *et al*, 1988. J. Cell Sci., 91: 587-595.
- (26) Hunt T, 1989. Current Opinion in Cell Biology, 1: 268-274.
- (27) John P C L, *et al*, 1989. The plant Cell, 1: 1185-1193.
- (28) Labbe J. C, *et al*, 1989. Cell, 57: 253-263.
- (29) Lee M G, and Nurse P, 1987. Nature, 327: 31-35.
- (30) Lohka M J, *et al*, 1988. Proc. Natl. Acad. Sci., 85: 3009-3013.
- (31) Morgan D O, *et al*, 1989. Cell, 57: 775-786.
- (32) Morla A O, *et al*, 1989. Cell, 58: 193-203.
- (33) Nurse P, and Yvonne B M, 1981. Nature, 292: 558-562.
- (34) Nurse P, and Thuriaux P, 1980. Genetics, 96: 627-637.
- (35) Pines J, and Hunter T, 1989. Cell, 58: 833-846.
- (36) Pondaven P, *et al*, 1990. Genes and Dev., 4: 9-17.
- (37) Reynhout J K, and Smith L D, 1974. Dev. Biol., 38: 394.
- (38) Russell P, and Nurse P, 1987. Cell, 49: 559-567.
- (39) Russell P, *et al*, 1989. Cell, 57: 295-303.