

学校编码: 10384

分类号 _____ 密级 _____

学号: 21620131152525

UDC _____

廈門大學

硕士学位论文

裂殖酵母核仁蛋白 Dnt1 参与调控有丝分裂
染色体精确分离及 G2 至 M 期有效过渡的机
制的初步研究

A preliminary study on mechanisms of fission yeast Dnt1
participating in accurate chromosome segregation and
efficient G2/M transition

陈丽华

指导教师姓名: 靳全文教授

专业名称: 细胞生物学

论文提交日期: 2016 年 4 月

论文答辩时间: 2016 年 5 月

学位授予日期: 2016 年 5 月

答辩委员会主席: _____

评 阅 人: _____

2016 年 5 月

厦门大学学位论文原创性声明

本人呈交的学位论文是本人在导师指导下,独立完成的研究成果。本人在论文写作中参考其他个人或集体已经发表的研究成果,均在文中以适当方式明确标明,并符合法律规范和《厦门大学研究生学术活动规范(试行)》。

另外,该学位论文为()课题(组)的研究成果,获得()课题(组)经费或实验室的资助,在()实验室完成。(请在以上括号内填写课题或课题组负责人或实验室名称,未有此项声明内容的,可以不作特别声明。)

声明人(签名):

年 月 日

厦门大学学位论文著作权使用声明

本人同意厦门大学根据《中华人民共和国学位条例暂行实施办法》等规定保留和使用此学位论文，并向主管部门或其指定机构送交学位论文(包括纸质版和电子版)，允许学位论文进入厦门大学图书馆及其数据库被查阅、借阅。本人同意厦门大学将学位论文加入全国博士、硕士学位论文共建单位数据库进行检索，将学位论文的标题和摘要汇编出版，采用影印、缩印或者其它方式合理复制学位论文。

本学位论文属于：

()1.经厦门大学保密委员会审查核定的保密学位论文，于
年 月 日解密，解密后适用上述授权。

()2.不保密，适用上述授权。

(请在以上相应括号内打“√”或填上相应内容。保密学位论文应是已经厦门大学保密委员会审定过的学位论文，未经厦门大学保密委员会审定的学位论文均为公开学位论文。此声明栏不填写的，默认为公开学位论文，均适用上述授权。)

声明人(签名)：

年 月

目录

| | |
|---|-----------|
| 缩写词汇..... | XI |
| 摘 要..... | XIII |
| Abstract..... | XIV |
| 第一章 前 言 | 1 |
| 1 细胞周期及其调控机制 | 1 |
| 1.1 细胞周期..... | 1 |
| 1.2 细胞周期调控..... | 2 |
| 1.2.1 细胞周期检验点 | 2 |
| 1.2.2 G2/M 期检验点..... | 2 |
| 1.2.3 中后期检验点 | 3 |
| 2 裂殖酵母中 G2 至 M 期有效过渡的调控机制 | 3 |
| 2.1 CDK1 参与调控 G2 /M 期的机制..... | 3 |
| 2.2 Wee1 参与调控 G2 /M 期的机制 | 4 |
| 2.3 Plb1 参与调控 G2 /M 期的机制..... | 5 |
| 2.4 Plb1 与 Wee1 在 SPB 共同调控 G2/M 过渡..... | 6 |
| 3 裂殖酵母中染色体精确分离的调控机制 | 8 |
| 3.1 Merotelic 连接的产生机制 | 8 |
| 3.1.1 Merotelic 连接..... | 8 |
| 3.1.2 Monopolin complex 参与 merotelic attachment 的调控机制 | 9 |
| 3.1.3 Ark1 参与 merotelic attachment 的调控机制 | 10 |
| 3.2 纺锤体组装检验点..... | 12 |
| 3.2.1 纺锤体组装检验点组分及功能..... | 12 |
| 3.2.2 纺锤体组装检验点沉默的机制 | 13 |
| 3.2.3 Ubc11 参与调控 SAC 的机制..... | 14 |
| 4 裂殖酵母 Dnt1 的功能以及其研究进展 | 15 |
| 4.1 Dnt1 是胞质分裂的抑制因子..... | 15 |

| | |
|--|-----------|
| 4.2 Dnt1 参与纺锤体检验点沉默的机制..... | 15 |
| 5 本论文的研究目的、内容和意义 | 16 |
| 第二章 材料和方法 | 18 |
| 1 材料..... | 18 |
| 1.1 大肠杆菌菌株 <i>E.coli</i> Trans1-T1 | 18 |
| 1.2 酵母菌株..... | 18 |
| 1.3 质粒..... | 25 |
| 1.4 引物..... | 27 |
| 1.5 分子生物学工具酶..... | 29 |
| 1.6 主要试剂及耗材..... | 29 |
| 1.7 主要仪器及设备..... | 31 |
| 1.8 常用培养基、主要缓冲溶液的配制..... | 32 |
| 1.8.1 常用培养基的配制 | 32 |
| 1.8.2 主要缓冲溶液的配制 | 35 |
| 2 方法..... | 38 |
| 2.1 裂殖酵母菌株的构建..... | 38 |
| 2.1.1 酵母杂交 | 38 |
| 2.1.2 镜检 | 38 |
| 2.1.3 酶解 | 38 |
| 2.1.4 孢子涂布培养 | 38 |
| 2.1.5 解剖法 | 39 |
| 2.1.6 筛选目的菌株—影印法 | 39 |
| 2.2 Drop Test..... | 39 |
| 2.3 裂殖酵母基因组提取—破碎法..... | 40 |
| 2.4 裂殖酵母转化..... | 40 |
| 2.5 质粒 DNA 的制备 | 41 |
| 2.5.1 试剂盒提取质粒 DNA | 41 |
| 2.5.2 手提质粒 DNA | 42 |
| 2.6 琼脂糖胶回收 DNA 片段..... | 42 |

| | | |
|--------------------------|--|-----------|
| 2.7 | PCR 产物回收 | 43 |
| 2.8 | 大肠杆菌感受态细胞的制备 | 43 |
| 2.9 | 质粒 DNA 的细菌转化 | 44 |
| 2.10 | 常规 PCR | 44 |
| 2.11 | 定点突变 PCR | 45 |
| 2.12 | DNA 限制性内切酶酶切反应 | 45 |
| 2.12 | DNA 连接 | 46 |
| 2.13 | T-type cloning 构建质粒载体 | 46 |
| 2.14 | 酵母细胞 DAPI 染色 | 47 |
| 2.15 | 酵母细胞 Calcofluor 染色 | 47 |
| 2.16 | 利用 ImageJ 软件对 Western blot 条带进行灰度分析 | 48 |
| 2.17 | 免疫印迹检测 (Western blot) | 48 |
| 2.18 | 纺锤体组装检验点沉默分析方法 | 49 |
| 2.19 | Cdc13-GFP/mCherry 定位于 SPBs 的计数方法 | 49 |
| 2.20 | <i>plo1-RL</i> 杂交需要注意的要点 | 49 |
| 2.21 | ATP 类似物药物浓度、处理方法 | 50 |
| 2.22 | kanR 标签替换为 hygR 标签 | 51 |
| 2.23 | 利用两步整合法将基因组内野生型 <i>wee1</i> 序列替换为点突变的 <i>wee1</i> 序列 | 51 |
| 2.24 | 双荧光素酶报道系统的检测方法和步骤 | 53 |
| 第三章 实验结果和分析 | | 54 |
| 1 | 裂殖酵母中 Dnt1 参与染色体精确分离的调控机制的研究 | 54 |
| 1.1 | Dnt1 参与抑制 Merotelic 连接 | 54 |
| 1.1.1 | <i>dnt1Δ pcs1Δ</i> 及 <i>dnt1Δ mde4Δ</i> 双突变体致死原因分析 | 54 |
| 1.1.2 | <i>pcs1Δ</i> 和 <i>dnt1Δ</i> 突变体中 “cut” 表型分析 | 57 |
| 1.1.3 | Clp1 磷酸酶、异染色质形成的关键蛋白 Swi6 与 Dnt1 共同参与防止染色体发生 merotelic orientation | 59 |
| 1.2 | Dnt1 参与调控 SAC 沉默机制的研究 | 60 |
| 1.2.1 | Bub3 与 Dnt1 在调控 SAC 沉默中处于不同信号通路 | 60 |

| | |
|---|-----------|
| 1.2.2 Dnt1 与 E2 泛素偶联酶 Ubc11 共同参与调控纺锤体组装检验点沉默 | 63 |
| 1.3 Dnt1 中潜在 Cdk1 磷酸化位点突变体的表型分析 | 64 |
| 1.3.1 Dnt1(11A)的表型分析 | 64 |
| 1.3.2 Dnt1(11A)对于纺锤体组装检验点沉默的影响 | 66 |
| 1.3.3 Dnt1(11A) 对于胞质分裂收缩环形成的影响 | 67 |
| 1.3.4 <i>pcs1Δ dnt1(11A)</i> 双突变体的表型分析 | 69 |
| 1.3.5 <i>ark1-T7 dnt1(11A)</i> 双突变体的表型分析 | 70 |
| 2 裂殖酵母 Dnt1 参与 G2/M 期有效过渡的调控机制的研究 | 71 |
| 2.1 Plo1 参与调控 Wee1 蛋白水平 | 71 |
| 2.1.1 Plo1 突变体中 Wee1 蛋白水平上升 | 71 |
| 2.1.2 被强制定位于 SPB 且具有激酶活性的 Plo1 可以降低 Wee1 的蛋白水平 | 72 |
| 2.2 Wee1 中潜在的 Plo1 磷酸化位点功能分析 | 75 |
| 2.2.1 <i>wee1(9A)</i> 的表型分析 | 75 |
| 2.2.2 <i>Wee1</i> 的 3 个磷酸化位点 (S577, T590, S616) 突变体的表型分析 | 76 |
| 2.3 Dnt1 可能通过影响 Plo1 在 SPB 上的定位来影响 Wee1 蛋白水平 | 80 |
| 2.3.1 <i>dnt1⁺</i> 缺失后延迟 G2/M 过渡时 Plo1 在 SPBs 上的定位 | 80 |
| 2.3.2 被强制定位于 SPB 并持续表达激酶活性的 Plo1, 能够逆转 <i>dnt1Δ</i> 细胞中细胞变长的缺陷 | 83 |
| 2.3.3 被强制定位于 SPB 的 <i>plo1</i> , 能够降低 <i>dnt1Δ</i> 细胞中 Wee1 的蛋白水平 | 86 |
| 第四章 讨论 | 88 |
| 1 Dnt1 参与 SAC 沉默的调控机制的探讨 | 89 |
| 2 Dnt1 的磷酸化状态与其参与的有丝分裂过程的关系 | 90 |
| 3 Wee1 的 S578 T590 S616 位点效应对于其功能的影响 | 91 |
| 4 Plo1 与 Wee1 在 SPB 上的调控关系 | 92 |
| 参考文献 | 93 |

| | |
|--|-----|
| 附录..... | 99 |
| 1 <i>dnt1</i> (<i>11D</i>) 突变体的表型分析 | 99 |
| 2 Dnt1 潜在磷酸化位点突变体在细胞内定位的分析..... | 101 |
| 3 <i>dnt1</i> ⁺ 缺失背景下集缩素蛋白 Cut14 水平的检测..... | 102 |
| 4 Dnt1 潜在磷酸化位点突变对于 monopolin 蛋白 Pcs1 在细胞内的定位的影响分析及 <i>dnt1</i> (<i>11A</i>) <i>mde4</i> Δ 双突变体表型分析 | 103 |
| 5 在 <i>dnt1</i> ⁺ 缺失突变体中过表达泛素偶联酶 Ubc11 对于纺锤体组装检验点沉默的影响..... | 104 |
| 6 <i>dnt1</i> Δ 突变体中纺锤体组装检验点蛋白的定位分析 | 106 |
| 7 Wee1 的 S578 位点及 Wee1 潜在的 Plo1 激酶结合位点的功能分析..... | 107 |
| 致 谢..... | 110 |

Contents

Abbreviations XI

Chinase abstract XIII

Abstract..... XIV

Chapter 1 Introduction..... 1

1 Cell cycle and its regulation1

 1.1 Cell cycle..... 1

 1.2 Cell cycle regulation 2

 1.2.1 Cell cycle checkpoint 2

 1.2.2 G2/M checkpoint..... 2

 1.2.3 Spindle assembly checkpoint 3

2 The regulatory mechanism of efficient G2/M transition in fission yeast.....3

 2.1 The regulatory mechanism of CDK1 in efficient G2/M transition3

 2.2 The regulatory mechanism of Wee1 in efficient G2/M transition.....4

 2.3 The regulatory mechanism of Plo1 in efficient G2/M transition5

 2.4 Plo1 cooperated with Wee1 to regulate G2/M transition.....6

3 The regulatory mechanism of accurrate chromosome segregation.....8

 3.1 The regulatory mechanism of merotelic attachment.....8

 3.1.1 Merotelic attachment 8

 3.1.2 The mechanism of monopolin complex in regulating merotelic attachment.....9

 3.1.3 The mechanism of Ark1 in regulating merotelic attachment 10

 3.2 Spindle assembly checkpoint..... 12

 3.2.1 The elements and their functions of spindle assembly checkpoint 12

 3.2.2 The regulatory mechanism of spindle assembly checkpoint silencing .13

 3.2.3 The mechanism of Ubc11 in regulating spindle assembly checkpoint .14

4 The functions of Dnt1 in fission yeast 15

| | |
|---|-----------|
| 4.1 Dnt1 acts as an inhibitor of cytokinesis | 15 |
| 4.2 Dnt1 is involved in regulating spindle assembly checkpoint..... | 15 |
| 5 Purpose, contents and significance of this study | 16 |
| Chapter 2 Materials and methods | 18 |
| 1 Materials | 18 |
| 1.1 Bacterium strains E.coli Trans1-T1 | 18 |
| 1.2 Yeast strains | 18 |
| 1.3 Plasmids | 25 |
| 1.4 Primers | 27 |
| 1.5 Molecular tool enzymes | 29 |
| 1.6 Reagents | 29 |
| 1.7 Main instruments | 31 |
| 1.8 Solutions and buffers | 32 |
| 1.8.1 Preparation of media..... | 32 |
| 1.8.2 Preparation of buffers | 35 |
| 2 Methods..... | 38 |
| 2.1 Construction of yeast strains | 38 |
| 2.1.1 Genetic crosses | 38 |
| 2.1.2 Microscopic examination | 38 |
| 2.1.3 Digestion..... | 38 |
| 2.1.4 Plating spores..... | 38 |
| 2.1.5 Tetrad dissection..... | 39 |
| 2.1.6 Selection of strains | 39 |
| 2.2 Drop Test..... | 39 |
| 2.3 Fission yeast genomic DNA isolation—mechanical disruption | 40 |
| 2.4 Transformation in fission yeast | 40 |
| 2.5 Preparation of plasmid DNA | 41 |
| 2.5.1 Preparation of plasmid DNA using kit | 41 |
| 2.5.2 Plasmid DNA isolation using self-made solutions | 42 |

| | | |
|---|---|-----------|
| 2.6 | Gel extraction of DNA | 42 |
| 2.7 | Recovery of PCR products..... | 43 |
| 2.8 | Preparation of competent E.coli cells | 43 |
| 2.9 | Plasmid DNA transformation..... | 44 |
| 2.10 | Polymerase chain reacrion (PCR) | 44 |
| 2.11 | Mutagenesis PCR..... | 45 |
| 2.12 | Restriction endonuclease digestion of DNA | 45 |
| 2.12 | DNA ligation..... | 46 |
| 2.13 | T-type cloning | 46 |
| 2.14 | DAPI staining..... | 47 |
| 2.15 | Calcofluor staining | 47 |
| 2.16 | The analysis of Western blot by ImageJ | 48 |
| 2.17 | Western blot | 48 |
| 2.18 | Spindle assembly checkpoint silencing treatment | 49 |
| 2.19 | Analysis of Cdc13-GFP/mCherry on SPBs | 49 |
| 2.20 | Attention for Genetic crosses with <i>plol-RL</i> | 49 |
| 2.21 | Concentration and treatment of ATP analogues..... | 50 |
| 2.22 | Marker switch from kanR to hygR | 51 |
| 2.23 | Switch from genomic <i>wee1</i> to <i>wee1</i> -mutant by two step transformation.. | 51 |
| 2.24 | Detecting method by Dual-Luciferase | 53 |
| Chapter 3 Results and analysis | | 54 |
| 1 The study on regulatory mechanism of Dnt1 in accurate chromosome segregation | | 54 |
| 1.1 | Dnt1 participates in preventing merotelic attachment | 54 |
| 1.1.1 | The analysis of lethal phenotype of <i>pcs1Δ dnt1Δ</i> and <i>mde4Δ dnt1Δ</i> double mutants..... | 54 |
| 1.1.2 | The analysis of “cut” phenotype of <i>pcs1Δ</i> and <i>dnt1Δ</i> mutants..... | 57 |
| 1.1.3 | Clp1 ,Dnt1 and Swi6 cooperate to prevent chromosome merotelic orientation..... | 59 |

| | | |
|----------|---|-----------|
| 1.2 | The function of Dnt1 in spindle assembly checkpoint silencing | 60 |
| 1.2.1 | Dnt1 cooperated with essential checkpoint protein Bub3 to regulate SAC silencing in distinct pathway | 60 |
| 1.2.2 | Dnt1 and ubiquitin conjugating enzyme Ubc11 may regulate SAC silencing in the same pathway | 63 |
| 1.3 | The phenotypic analysis of phosphorylate site mutants of Dnt1 | 64 |
| 1.3.1 | The phenotypic analysis of <i>dnt1(11A)</i> | 64 |
| 1.3.2 | The effect of Dnt1 (11 A) on spindle assembly checkpoint silencing | 66 |
| 1.3.3 | The effect of Dnt1 (11 A) on cytokinesis | 67 |
| 1.3.4 | The phenotypic analysis of <i>pcs1Δ dnt1(11A)</i> | 69 |
| 1.3.5 | The phenotypic analysis of <i>ark1-T7 dnt1(11A)</i> | 70 |
| 2 | The study on regulatory mechanism of Dnt1 in efficient G2/M transition..... | 71 |
| 2.1 | Plo1 is involved in regulating Wee1 protein levels..... | 71 |
| 2.1.1 | Wee1 protein levels are elevated in <i>plo1-ts41</i> cells..... | 71 |
| 2.1.2 | Forced targeting of active Plo1 to SPB by Pcp1-GFP fusions decreased Wee1 protein levels | 72 |
| 2.2 | The effect of potential Plo1 phosphorylation sites on Wee1 | 75 |
| 2.2.1 | The phenotypic analysis of <i>wee1(9A)</i> | 75 |
| 2.2.2 | The phenotypic analysis of Wee1 mutants of three sites (S577; T590; S616) | 76 |
| 2.3 | Dnt1 may regulate Wee1 by influencing localization of Plo1 on SPB | 80 |
| 2.3.1 | <i>dnt1</i> + deletion delays Plo1 recruitment on SPBs at G2/M transition.... | 80 |
| 2.3.2 | Cell elongation in <i>dnt1Δ</i> mutant can be rescued by forced targeting of active Plo1 to SPB | 83 |
| 2.3.3 | The increased Wee1 protein level in <i>dnt1Δ</i> mutant can be reversed by forced targeting of active Plo1 to SPB | 86 |
| | Chapter 4 Discussion | 88 |
| 1 | Regulatory mechanism of Dnt1 participating in the SAC silencing..... | 89 |
| 2 | The role of phosphorylation of Dnt1 | 90 |

| | | |
|---|---|------------|
| 3 | The role of S578, T590, S616 sites of Wee1..... | 91 |
| 4 | Regulatory connection between Plo1 and Wee1 at SPB | 92 |
| | References..... | 93 |
| | Appendix | 99 |
| 1 | The phenotypic analysis of Dnt1(11D) | 99 |
| 2 | The localization analysis of potential phosphorylate site mutants of Dnt1 .. | 101 |
| 3 | Detection of condensin protein Cut14 level in <i>dnt1</i> Δ | 102 |
| 4 | The localization analysis of monopolin protein Pcs1 and phenotypic analysis of <i>dnt1(11A) mde4</i> Δ double mutant | 103 |
| 5 | Analysis of SAC silencing after overexpressing Ubc11 in <i>dnt1</i> Δ..... | 104 |
| 6 | The localization analysis of SAC proteins in <i>dnt1</i> Δ | 106 |
| 7 | The functionl analysis of Wee1 phosphorylation site S578 and Plo1 kinase binding sites on Wee1..... | 107 |
| | Acknowledgements | 110 |

缩写词汇

| | |
|---------------|--|
| APC | anaphase promoting complex 后期促进复合物 |
| APS | ammonium persulfate 过硫酸铵 |
| BSA | bovine serum albumin 牛血清白蛋白 |
| CDK | cyclin-dependent kinase 周期蛋白依赖性蛋白激酶 |
| CIAP | calf-intestinal alkaline phosphatase 小牛小肠碱性磷酸酶 |
| co-IP | co-immunoprecipitation 免疫共沉淀 |
| DAPI | 4',6-diamidino-2-phenylindole 4,6-二脒基-2-苯基吲哚 |
| DMSO | dimethyl sulfoxide 二甲亚砜 |
| dNTP | deoxyribonucleoside triphosphate 脱氧核苷三磷酸 |
| DTT | dithiothreitol 二硫苏糖醇 |
| <i>E.coli</i> | <i>Escherichia coli</i> 大肠杆菌 |
| EB | ethidium bromide 溴化乙啶 |
| EDTA | ethylene diamine tetraacetic acid 乙二胺四乙酸 |
| GFP | green fluorescent protein 绿色荧光蛋白 |
| HU | Hydroxyurea 羟基脲 |
| LB | luria broth medium 肉汤培养基 |
| MBC | Methyl Benzimidazole Carbamate 苯并咪唑氨基甲酸甲酯 |
| 3MB-PP1 | 1-(1,1-Dimethylethyl)-3-[(3-methylphenyl)methyl]- 1H-Pyrazolo[3,4-d]pyrimidin-4-amine |
| MCC | Mitotic checkpoint complex 有丝分裂检验点复合物 |
| NETO | New End Take Off 新末端起飞 |
| 1NM-PP1 | 1-(tert-butyl)-3-(naphthalen-1-ylmethyl)- 1H-pyrazolo[3,4-d]pyrimidin-4-amine |
| OD | optical density 光密度 |
| PAGE | polyacrylamide gel electrophoresis 聚丙烯酰胺凝胶电泳 |
| PCR | polymerase chain reaction 聚合酶链式反应 |
| SPB | spindle pole body 纺锤体极体 |

| | |
|---------------|---|
| PMSF | phenylmethylsulfonyl fluoride 苯甲基磺酰氟 |
| SAC | spindle assembly checkpoint 纺锤体组装检验点 |
| SDS | sodium dodecyl sulfate 十二烷基磺酸钠 |
| SIN | septation initiation network 裂殖酵母中隔起始信号途径 |
| TAP | tandem affinity purification 串联亲和纯化 |
| TBZ | thiabendazole 2(4'噻唑)苯丙咪唑 |
| TE(Tris/EDTA) | Tris/EDTA 缓冲盐溶液 |
| TEMED | N N N' N'-tetramethylethylenediamine N N N' N'-四 甲基二乙胺 |
| Tris | tris(hydroxymethyl)aminomethane 三羟基甲基氨基甲烷 |

摘 要

在裂殖酵母中, Dnt1主要定位在核仁里, 在有丝分裂后期还定位在纺锤体上。本实验室之前的研究发现, Dnt1对于纺锤体检验点的沉默是必需的; 另外Dnt1通过下调Wee1蛋白水平调控细胞G2/M转换以及胞质分裂。

本研究通过对染色体分离情况的精确观察, 我们发现Dnt1与Monopolin蛋白(Pcs1/Mde4)、Aurora B激酶Ark1分别通过不同途径防止姊妹染色体的merotelic orientation, 在染色体准确分离过程中起着重要作用。利用 $nda3$ - $KM311$ $cdc13$ - GFP $ark1$ - $as3$ 纺锤体检验点沉默筛选系统, 我们进一步确认Dnt1与SAC的关键组分Bub3在不同的通路上调控检验点沉默, 而且首次发现Dnt1可能与E2泛素偶联酶Ubc11在同一条通路上共同调控检验点沉默。

通过将 $dnt1^+$ 序列中潜在的 11 个 Cdk1 激酶磷酸化位点进行突变模拟非磷酸化状态的 Dnt1, 以此观察 Dnt1 磷酸化的效应。我们发现此突变株中染色体分离和纺锤体组装检验点沉默均有缺陷, 因此推测 Dnt1 的磷酸化对于其功能的正常发挥是必需的。

通过细胞生物学定位研究以及生化分析, 我们发现 Plo1 下调 Wee1 蛋白水平, 并且发现把持续表达激酶活性的 Plo1 强制定位到 SPB 上能够加快 Wee1 的降解, 并且能够逆转 $dnt1^+$ 缺失带来的细胞变长以及 Wee1 蛋白水平上调的效应, 逆转 $dnt1\Delta$ 细胞中 G2/M 过渡的缺陷, 暗示 Plo1 调控的 Wee1 的降解可能是发生在 SPB 上, 而 Dnt1 可能通过影响 Plo1 在 SPB 上的定位从而调控 G2/M 过渡。

综上所述, 本研究初步探索了裂殖酵母中Dnt1参与G2-M期有效过渡和纺锤体沉默、染色体准确分离等过程中可能的调控机制, 从而为有丝分裂精准性的保障机制研究提供重要的借鉴。

关键词: Dnt1; Plo1; Wee1; 纺锤体组装检验点; G2/M 检验点;

Degree papers are in the “[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)”.

Fulltexts are available in the following ways:

1. If your library is a CALIS member libraries, please log on <http://etd.calis.edu.cn/> and submit requests online, or consult the interlibrary loan department in your library.
2. For users of non-CALIS member libraries, please mail to etd@xmu.edu.cn for delivery details.