

DISS. ETH NO. 21949

**SPINDLE SYMMETRY IS UNDER THE CONTROL
OF THE SPINDLE CHECKPOINT**

A thesis submitted to attain the degree of
DOCTOR OF SCIENCES of ETH ZURICH

(Dr. sc. ETH Zurich)

presented by

CHIA HUEI TAN

MSc in Biomedical Engineering, ETH Zurich

born on 23.03.1984

citizen of Malaysia

accepted on the recommendation of

Prof. Dr. Patrick Meraldi

Prof. Dr. Yves Barral

Prof. Dr. Gabor Székely

2014

Summary

Chromosome alignment in the middle of the bipolar spindle is a distinctive feature of all dividing metazoan cells. Even asymmetrically dividing cells that need to generate daughter cells of unequal size first generate symmetric metaphase spindles. This initial congression of chromosomes to the middle likely facilitates the synchronous arrival of chromosomes at the spindle pole during anaphase, which would prevent erroneous cytokinesis. However, it is not clear if there is an active process that consistently ensures achievement of a symmetric spindle morphology before chromosome segregation. During my PhD, I extended the function of a kinetochore tracking assay established in our lab to include monitoring of spindle pole dynamics. Using this, I could determine that, indeed, wildtype HeLa cells precisely align their metaphase plates in the middle of the two spindle poles prior to anaphase onset. We then generated asymmetric spindles by manipulating centriole numbers, and could demonstrate that the spindle checkpoint delays anaphase onset when the spindle is asymmetric. This delay allows correction of the metaphase plate position, ensuring that cells enter anaphase with symmetric spindles. Our results show that the alignment of chromosomes in the middle is not just a consequence of symmetric spindle poles, but rather the result of active correction mechanisms and a control checkpoint. Asymmetric spindles do not lead to unattached kinetochores or tension-free sister-kinetochores, the classic defects sensed by the checkpoint, but result in an imbalance of kinetochore-microtubule stability between the two half-spindles, likely preventing the full maturation of kinetochore-microtubule attachments. Blocking kinetochore-microtubule dynamics in these cells

switches off the ability of the spindle checkpoint to detect the errors and results in anaphase entry with asymmetric spindles, chromosome segregation errors and asymmetric cell divisions. Thus, we reveal an essential role for correct metaphase plate positioning, under the control of the spindle checkpoint.

Zusammenfassung

Die Anordnung der Chromosomen in der Mitte der bipolaren Spindel ist ein charakteristisches Merkmal aller sich teilenden Metazoa. Selbst sich asymmetrisch teilende Zellen, die Tochterzellen unterschiedlicher Grösse hervorbringen müssen, bilden zuerst eine symmetrische Metaphasenspindel. Diese initiale Zusammenfindung der Chromosomen in der Mitte fördert vermutlich während der Anaphase die synchrone Ankunft der Chromosomen an den Spindelpolen, was eine fehlerhafte Zytokinese verhindert. Dennoch, es ist nicht klar, ob ein aktiver Prozess eine symmetrische Spindelmorphologie vor Beginn der Chromosomentrennung steuert. Während meiner Promotion erweiterte ich die Funktionen eines "Kinetochoer-Tracking-Assays", welcher in unserem Labor etabliert ist, um die Spindelpoldynamik zu beobachten. Mit Hilfe dessen konnte ich tatsächlich bestimmen, dass Wildtyp-HeLa-Zellen ihre Metaphaseplatten vor Beginn der Anaphase präzise in der Mitte zwischen den zwei Spindeln ausrichten. Durch Manipulation der Centriolenanzahl haben wir anschliessend asymmetrische Spindeln generiert, und konnten damit demonstrieren, dass der Beginn der Anaphase bei einer Spindelasymertrie verzögert ist. Diese Verzögerung erlaubt die Korrektur der Position der Metaphasenplatte, um sicherzustellen, dass Zellen mit symmetrischen Spindeln in die Anaphase eintreten. Unsere Ergebnisse zeigen, dass die Anordnung der Chromosomen in der Mitte nicht nur Konsequenz symmetrischer Spindelpole, sondern vielmehr das Ergebnis aktiver Korrekturmechanismen und eines Kontrollpunktes sind. Asymmetrische Spindeln führen nicht zu ungeanbundenen Kinetochoeren oder zugspannungsfreien Schwesterkinetochoeren, welche als die klassischen Defekte vom

Spindelkontrollpunkt detektiert werden, aber sie resultieren in einem Ungleichgewicht in der Kinetochor-Mikrotubuli-Stabilität zwischen den beiden Halbspindeln, und verhindern wahrscheinlich eine vollständige Reifung der Kinetochor-Mikrotubuli-Verbindungen. Blockierung der Kinetochor-Mikrotubuli-Dynamik schaltet die Fähigkeit des Spindelkontrollpunktes Fehler zu detektieren in diesen Zellen aus und resultiert in einem Anaphaseeintritt mit asymmetrischen Spindeln, Fehlern in der Chromosomentrennung und asymmetrischer Zellteilungen. Hier, zeigen wir eine essentielle Rolle für Korrektur der Metaphasenpositionierung unter Kontrolle des Spindelkontrollpunktes auf.