

DOI: 10.3724/SP.J.1005.2010.00041

# 组蛋白伴侣在发育过程中的功能

赵占克, 王玉凤

华中师范大学生命科学学院, 遗传调控与整合生物学湖北省重点实验室, 武汉 430079

**摘要:** 组蛋白伴侣能够协助组蛋白参与染色质的解凝和组装, 从而调控基因的表达, 对动植物的配子发生、受精、胚胎发育以及生长、衰老等发育过程都具有重要作用。文章主要对目前研究较多的组蛋白伴侣——核质蛋白、CAF-1、HIRA、ASF1/CIA 及 NAP1 在发育过程中的相关功能作一综述。

**关键词:** 组蛋白伴侣; 核质蛋白; CAF-1; HIRA; ASF1/CIA; NAP1

## The function of histone chaperones during development

ZHAO Zhan-Ke, WANG Yu-Feng

Hubei Key Laboratory of Genetic Regulation and Integrative Biology, College of Life Science, Huazhong Normal University, Wuhan 430079, China

**Abstract:** Histone chaperones may participate the decondensation and assembly of chromatin, thus regulate gene expression. They play important roles in almost all developmental processes, such as gametogenesis, fertilization, embryogenesis, growth and senescence. In this review, we used well studied examples to illustrate various functions of histone chaperones during developmental processes. Focus is given to nucleoplasmin, CAF-1, HIRA, ASF1/CIA, and NAP1.

**Keywords:** histone chaperones; nucleoplasmin; CAF-1; HIRA; ASF1/CIA; NAP1

组蛋白伴侣是一类能够与组蛋白结合, 从而参与染色质解凝和组装、调节染色质功能的重要蛋白质。组蛋白分子伴侣有多种形式, 如: 核质蛋白、CAF-1、HIRA、ASF1/CIA、NAP-1 等。它们通过调节染色质的结构, 进而调控基因的表达, 对生物的配子发生、受精、胚胎发育及生长、衰老等发育过程都具有重要的作用。

### 1 核质蛋白与发育

核质蛋白(Nucleoplasmin, NPM)是第一个被发现的组蛋白伴侣, 它与核磷蛋白(Nucleophosmin, NLP)一起统称为NPM蛋白家族, 该蛋白家族包含 4

组成员, 分别为: NPM1、NPM2、NPM3 和NLP<sup>[1]</sup>。

NPM是爪蟾卵母细胞核中含量最多的蛋白质。母源性组蛋白(主要是H2A/H2B)通过立体定向的方式相互作用, 结合到NPM五聚体的侧面, 形成NPM/组蛋白复合物。这时NPM的功能就是作为储存库, 维持卵母细胞中高浓度的组蛋白储存量。受精后, 这些复合物能够使得组蛋白逐渐被释放出来, 确保早期胚胎发育过程中, 细胞快速分裂时, 核小体组装过程得以快速、顺利进行<sup>[2]</sup>。敲除小鼠NPM2 导致雌性不育, 突变小鼠卵母细胞染色质中的DNA在显微镜下呈现模糊、弥散的结构, 没有出现围绕核仁的浓缩DNA<sup>[3]</sup>。进一步分析发现, 核仁标志物——核仁纤维

收稿日期: 2009-04-28; 修回日期: 2009-08-01

基金项目: 国家自然科学基金项目(编号: 30671609)和淡水生态与生物技术国家重点实验室开放基金项目(编号: 2005FB20)资助

作者简介: 赵占克(1982-), 男, 硕士研究生, 专业方向: 动物发育生物学。E-mail: kebite2003@yahoo.com.cn

通讯作者: 王玉凤(1969-), 女, 博士, 教授, 研究方向: 动物发育生物学。Tel: 027-67867021; E-mail: yfengw@mail.ccnu.edu.cn

蛋白分散分布,表明突变的卵母细胞中核仁结构异常。这些卵母细胞受精后,精子染色质可以正常启动去浓缩,可能是由于有其他的NPM类似物发挥作用的缘故,但是受精卵仍然出现与突变卵母细胞同样的结构缺陷,即核仁异常,导致受精卵不能进行正常的卵裂<sup>[3]</sup>。因此,NPM2可能通过影响核仁的结构,导致与细胞分裂相关基因表达异常,从而引起发育缺陷。

NPM也参与受精后高度浓缩的精核去浓缩状态的过程。在精子染色质中,常见的组蛋白通常被组蛋白变体即精子特异蛋白所取代,这些精子特异蛋白多为鱼精蛋白。而在受精时,精子特异蛋白必须被去除,从而使精核中的染色质解除浓缩状态。在爪蟾精子组蛋白中,H2A/H2B被精子特异的组蛋白X和Y所取代,但H3和H4仍然存在。受精过程中,当NPM/组蛋白(主要是H2A/H2B)复合物与高度浓缩的精子染色质接触时,精子特异蛋白就与精核分离,通过静电作用结合到NPM五聚体的远端。精子特异蛋白与NPM结合可能导致NPM五聚体构象发生改变,使H2A/H2B二聚体与其分离。分离后的H2A/H2B二聚体又立即与父本DNA及H3/H4四聚体等结合,形成核小体。因此,NPM在此时作为接收者,移去精子特异组蛋白,为卵母细胞中的母源性H2A/H2B二聚体整合入精核提供便利<sup>[1,4,5]</sup>。同样,通过核移植进行克隆实验时,注射入卵子中的体细胞核也要经历一个重新组装的过程,以便细胞核重新调整其发育方向。对移植细胞核重新编程的过程研究发现,在爪蟾卵母细胞提取物中,体细胞染色质中的连接组蛋白H1被去除,而去除H1的过程依赖于NPM<sup>[6]</sup>。

细胞凋亡是发育过程中的一个重要环节。例如,许多雌性脊椎动物在早期发育阶段含有许多生殖细胞,但在后期绝大多数会发生凋亡。一些动物的部分幼体器官在变态过程中也会发生凋亡。细胞发生凋亡时,通常表现为染色质的浓缩、核皱缩、DNA断裂等,最终形成凋亡小体。NPM在细胞凋亡过程中也发挥重要作用。在细胞凋亡时,活化的caspase-3激活了凋亡特异性蛋白酪氨酸磷酸化酶(PTP),而后者将NPM第124位的酪氨酸去磷酸化,使NPM丧失染色质解聚活性。爪蟾受精后,NPM与精子染色质一起经历了去浓缩、核重新组装形成雄性原核的过程。在爪蟾卵子粗提液中,当用细胞色素C诱导凋亡时,

脱膜精核的DNA发生浓缩,此时NPM却与浓缩的凋亡染色质分离<sup>[7]</sup>。爪蟾XTC细胞发生凋亡时,NPM同样会与浓缩的染色质分离,并分散于核仁中<sup>[7]</sup>。而正常的人细胞在缺氧情况下或在癌症细胞中,NPM1上调抑制p53的表达,从而阻止细胞的凋亡<sup>[8]</sup>。最近的一项研究表明,NLP也参与了细胞凋亡的过程,NLP是颗粒酶M(Granzyme M)的底物,颗粒酶M能够水解NLP使其失活,从而引起细胞凋亡。用RNAi抑制NLP的表达将导致人细胞自发凋亡<sup>[9]</sup>。

总之,在卵母细胞的发育成熟过程中,NPM作为储存因子维持了高浓度的组蛋白含量,以确保受精后卵裂的正常进行。不仅如此,NPM还通过与浓缩染色质的结合或分离,参与受精后精核解凝及细胞凋亡等发育过程。

## 2 染色质组装因子 1(CAF-1)在发育过程中的作用

染色质组装因子1(Chromatin-assembly factor 1, CAF-1)最先是人类细胞中分离而来的,它由p150、p60和p48三个亚基组成,在进化上高度保守,广泛存在于从酵母到人类等各种生物体中<sup>[10-12]</sup>。在DNA复制和修复过程中,CAF-1三聚复合体可使组蛋白H3-H4沉积到新合成的DNA上。目前,在体外系统中有关CAF-1在染色质组装时的功能研究有较多报道<sup>[13]</sup>,但其在体内对生物发育过程影响的相关研究较少。

酵母中的CAF-1由CAC1(Chromatin assembly complex 1)、CAC2和CAC3组成。研究表明,CAC基因并不影响酵母的存活,但是其中任何一个基因的缺失都会增加酵母对紫外辐射的敏感性,且会激活端粒DNA侧翼基因,使其不再沉默<sup>[11,14]</sup>。在拟南芥中,CAF-1的同源蛋白质有FAS1(Fasciata 1)、FAS2和MSI1(Multicopy suppressor of IRA1)。与酵母中的研究结果相似,拟南芥中CAF-1同源物的敲除也没有使其出现致死表型,植物仍然能够存活,只是在胚后器官发生时出现缺陷,如激活其顶端分生组织处的沉默基因,导致茎干宽扁,相应的叶序和花序结构紊乱<sup>[15,16]</sup>。因此,CAF-1能够稳定异染色质,使其中的基因保持沉默。

在酵母和拟南芥中,CAF-1的敲除都没有导致植物出现致死表型的现象,似乎说明CAF-1对于真

核生物的发育并非必不可少。然而, 近期对动物的研究却表明, CAF-1 对动物的发育是必需的。去除果蝇dCAF-1 的最大亚基p180, 导致突变体发育至幼虫期后死亡, 去除母型dCAF-1 p180 的活性导致卵子发生受阻<sup>[17]</sup>。进一步研究发现, dCAF-1 对于果蝇幼虫的核内周期(Endocycle)是必需的。核内周期是一种特殊的细胞周期形式, 即细胞只进行DNA复制而不发生胞质分裂, 结果产生了巨大的多倍体核。例如果蝇幼虫的唾液腺细胞就因进行了核内周期的发育进程, 导致巨大的多线染色体的产生。缺失CAF-1 最大亚基的果蝇幼虫, 其核内细胞周期进程照常进行, 但核小体组织异常、常染色质DNA复制效率降低、DNA损伤修复失常等。因此, 在果蝇幼虫进行核内细胞周期时, dCAF-1 对于细胞的生长、核小体组装、DNA有效复制等都是必需的, 其突变会影响到幼虫的存活<sup>[18]</sup>。此外, 动物界中CAF-1 功能似乎是高度保守的, 因为人的hCAF-1-p150 能够挽救果蝇dCAF-1-p180 的突变表型<sup>[17]</sup>。

在斑马鱼中, CAF-1 的中等亚基CAF-1b的活性降低, 导致细胞周期进程和细胞分化异常以及某些器官发育障碍, 特别是视网膜、顶盖、胸鳍和头骨等的发育出现缺陷。视网膜前体细胞停滞在细胞周期的S期, 之后这些细胞发生凋亡。由于降低p53 基因的活性可以挽救细胞凋亡但不能挽救细胞分化的缺陷, 因此, CAF-1 的活性对于这些器官中细胞周期的进程和分化起着非常重要的作用<sup>[12]</sup>。爪蟾p150 活性的降低使得胚胎发育停滞在中囊胚过渡(MBT)之前, 表现为细胞周期进程异常, 说明其对MBT之前快速细胞周期的正常进程是必要的<sup>[19]</sup>。对哺乳动物小鼠的研究表明, 去除CAF-1 p150 的纯合突变体胚胎发育停止于 16-细胞期, 其中组成型异染色质的组织结构严重改变。因此, CAF-1 对于细胞核中染色体建立正确的空间结构是必需的<sup>[20]</sup>。

CAF-1 复合体的小亚基p48 不仅是CAF-1 复合体的成员, 对CAF-1 的活性和功能起重要作用, 而且还作为RbAp46/48 家族的成员, 与组蛋白直接作用, 在许多发育过程中行使功能<sup>[2]</sup>。此外, p48 还出现在其他几个染色质相关的复合体中, 如: HAT1 复合体、HDAC1 复合体、组蛋白甲基化转移酶复合体ESC-E(Z) 以及依赖 ATP 的核小体重组复合体NURF<sup>[21]</sup>。其实, 只有一小部分p48 作为CAF-1 复合

体的小亚基存在, 大多数p48 参与其他的复合体行使功能。在没有其他CAF-1 亚基的情况下, p48 可以与组蛋白H4 结合, 说明它能够与沉积前的组蛋白及各种染色质相关复合体相互作用, 在细胞生长及机体发育过程中起重要作用<sup>[21]</sup>。

因此, 虽然CAF-1 对酵母和拟南芥的发育并非不可或缺, 可能酵母和植物体内存在功能重叠的其他成员来代替其行使功能<sup>[22]</sup>, 但CAF-1 对动物的发育似乎是必需的。从低等无脊椎动物到高等的哺乳动物, 缺少CAF-1 功能的突变体都在胚胎发育早期或生活史的中期死亡, 说明其在动物细胞的染色质组织结构方面起着无可替代的作用。

### 3 HIRA 在发育中的功能

HIR/HIRA (Histone regulation, 组蛋白调节蛋白)最先是在酵母中被鉴定为组蛋白基因表达的一种负调节因子。后续的研究发现, *Hira*基因产物包含一组保守的蛋白家族, 广泛存在于酵母、果蝇、河鲀、爪蟾、鸡到哺乳动物的小鼠和人类以及植物等多种生物体当中<sup>[23, 24]</sup>。HIRA家族的N端在进化上比较保守, 它在核小体组装过程中发挥着作用。然而, 与CAF-1 不同的是, 在染色体组装过程中, HIRA的作用是不依赖于DNA复制的, 即在没有DNA复制的情况下, HIRA可将核心组蛋白沉积到DNA上<sup>[25]</sup>。

在酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)中, *Hir*基因(*hir1*、*hir2*)有两种蛋白产物Hir1p和Hir2p。研究表明, *Hir*基因单独突变对酵母的生长没有严重影响, 然而缺少CAF-1 和任何一种HIR蛋白的双突变细胞将延迟进入分裂后期, 使细胞周期的G<sub>2</sub>/M转变期的时间拉长, 因而影响到了其发育过程<sup>[26, 27]</sup>。粟酒酵母(*Schizosaccharomyces pombe*)的着丝粒结构较酿酒酵母的复杂, 与人的着丝粒结构比较相似。粟酒酵母HIR样蛋白基因*hip1* 缺失导致出现细胞周期延迟的表型<sup>[28]</sup>。对植物拟南芥的研究发现, *Hira*基因敲除的胚胎呈现出致死表型, 而弱突变体表型则出现叶柄变短、叶片下卷、花萼、花瓣以及雄蕊体积缩小的现象。这些现象表明, 该突变对顶端分生组织的细胞分化产生了影响<sup>[24]</sup>。

Loppin等<sup>[29]</sup>对果蝇的研究发现, *Hira*基因点突变导致雌性果蝇不育, 这些果蝇产下的卵与正常精子受精时, 进入卵中的精子停滞在雄性原核形成期

的染色质去浓缩后期, 尽管雄性原核的膜可以形成, 但精核不能完全去浓缩, 因此父本的染色体不能参与子代的发育过程中去。进一步的研究发现, 在这些受精卵中, 母源性组蛋白不能整合入雄性原核, 从而使精子不能进行染色质的重新组装。因此, 作为组蛋白H3.3的伴侣蛋白, HIRA复合体的作用可能在于, 当精子入卵后, 将卵细胞中的H3.3-H4四聚体沉积到精核中, 从而使精核解除浓缩状态, 形成雄性原核, 参与子代的发育过程中去<sup>[30,31]</sup>。近期的研究表明, HIRA缺失突变的果蝇表型与点突变的表型类似, 突变果蝇能够存活, 但雌性果蝇不育。然而, 在HIRA缺失突变的胚胎和成体中, H3.3的沉积并没有受到严重影响<sup>[32]</sup>, 说明HIRA仅在果蝇精核解凝形成雄性原核的过程中发挥重要作用。为了进一步探讨HIRA在果蝇胚胎发育过程中的功能, 本课题组运用UAS-Gal4系统使其在果蝇早期胚胎中大量表达。结果发现在胚胎发育早期, 无论是在头部还是在全胚胎过量表达*dHira*, 都引起果蝇胚胎大量死亡, 而且随着转基因拷贝数的增加, 胚胎的死亡率也显著增加, 说明*dHira*过量表达对果蝇胚胎发育产生严重影响<sup>[33]</sup>。细胞学研究发现, 早期胚胎细胞核分裂不同步。进一步检测显示, *dHira*过量表达干扰了细胞周期相关基因的表达, 可能因此影响了果蝇早期胚胎快速、同步的核分裂, 导致早期胚胎大量死亡(本课题组未发表的资料)。

果蝇中HIRA突变表型使我们联想到了雌核发育银鲫的受精过程。考虑到在雌核发育银鲫受精时, 也有精核不解凝或解凝不完全的现象<sup>[34,35]</sup>, 因此本课题组对雌核发育银鲫(*Carassius aratus gibelio*)和两性生殖彩鲫(*Carassius auratus*)中*Hira*基因的功能进行了分析。结果显示, 在银鲫成熟的未受精卵中和胚胎发育不同阶段均可以检测到转录产物, 且表达量没有明显变化; 而在彩鲫中, 从未受精卵到胚胎发育的各个时期虽然均可检测到表达, 但表达量发生明显波动, 成熟卵中转录本水平较高, 受精后迅速降低, 在受精后30 min、多细胞期、桑椹期、囊胚期等4个发育阶段, 转录本水平显著下降( $P < 0.05$ ), 至原肠期表达量又上升到成熟的未受精卵时的水平, 并一直保持到出苗, 没有大的波动<sup>[36]</sup>。由于彩鲫是两性生殖方式鱼类, 在受精前*Hira*基因大量表达, 可能为受精时精子进入卵后精核解凝形成雄性原核做准备。而银鲫具有雌

核发育生殖方式, 精核不需要完全解凝形成雄性原核, 只是起到刺激卵核发育的作用, 因此*Hira*基因的表达水平没有大的波动。这说明, *Hira*基因可能在鱼类精核解凝过程中也发挥重要作用。彩鲫后期合子型*Hira*基因的激活以及银鲫不同胚胎发育阶段都检测到*Hira*基因表达, 说明*Hira*基因可能在鱼类胚胎的后期发育过程中也起着一定的作用。本课题组近期采用morpholino反义寡核苷酸技术, 敲降(Knock down)了银鲫胚胎的HIRA, 结果发现, 胚胎循环系统和神经系统等发育异常, 最终导致胚胎大量死亡(未发表的资料), 这些结果与小鼠中的研究一致。HIRA敲除小鼠表现出复杂的表型缺陷, 如脊索发育异常, 神经管的前后轴发育畸形, 大部分胚胎的心脏回路发育也不正常等, 其主要特征与人类迪格奥尔格综合征(DiGeorge syndrome, DGS)病人类似, 最终胚胎发育至孕中期时全部死亡<sup>[37,38]</sup>。*Hira*在所有DGS病人中都是半合子的, 它是22q11区内导致单倍性功能不全的主要候选基因<sup>[38,39]</sup>。

由此可见, 尽管无脊椎动物果蝇和脊椎动物HIRA的氨基酸序列(特别是N端序列)比较保守, 但HIRA在无脊椎动物和脊椎动物发育过程中的功能并不完全一致。其突变对于雄性果蝇的发育和繁殖都没有影响, 对雌性果蝇的成活也没有影响, 只是导致其不育<sup>[32]</sup>。而在脊椎动物中, HIRA突变都导致胚胎发育不能完成。由于果蝇和脊椎动物HIRA的氨基酸的C端序列差异较大, 而且已有研究表明, HIRA的N端和C端对基因的转录调节有各自不同的影响<sup>[40]</sup>, 因此可能正是这些C端序列的差异引起HIRA在无脊椎动物和脊椎动物发育过程中功能的不同。至于HIRA的C端是如何在果蝇和脊椎动物发育过程中行使不同功能的, 还有待于进一步研究。

#### 4 ASF1/CIA 在发育中的作用

ASF1(Anti-silencing function 1)最初也是从酵母中被鉴定出来的, 其过量表达使酵母端粒和交配型位点失去沉默<sup>[41]</sup>。随后, Munakata等<sup>[42]</sup>分离了CCG1互作因子A(CIA)—人类Asf1的同源物, 此同源物能与CCG1最大亚基的溴区结构域(BrD)相互作用, 从生化角度已经鉴定其为一种组蛋白伴侣。近期从线虫(*Caenorhabditis elegans*)中克隆出的基因*unc-85*也被证明为Asf1的同源物<sup>[43]</sup>。研究发现, 在酵母和果

蝇中*Asf1* 基因只有一个,但在脊椎动物、植物和线虫中都已经发现有两个。脊椎动物中该基因产物为CIA-I/*Asf1a*和CIA-II/*Asf1b*,它们在功能上并不相同,如CIA-I广泛表达,而CIA-II呈组织特异性的表达模式<sup>[44]</sup>。已有研究表明,*Asf1* 参与DNA复制和修复以及转录调节等过程。*Asf1* 缺失会引起细胞生长迟缓、细胞周期进程延迟、对温度更加敏感以及自发的DNA损伤和严重的染色体重排<sup>[45~48]</sup>。然而有关其在生物发育方面的功能还鲜有报道。

在线虫的整个发育过程中,*unc-85* 在有DNA复制的细胞中均有表达,其蛋白质位于细胞核中。在*unc-85* 纯合突变体胚胎中,神经母细胞分裂正常,胚胎发育可以正常完成,而在胚后的幼虫期,神经母细胞不能进行正常的细胞分裂,导致多倍体细胞或一个细胞中有多个细胞核的不协调现象<sup>[43]</sup>。进一步研究发现,*unc-85* 功能缺失引起胚后神经母细胞分裂时DNA复制缺陷。因此,*unc-85* 在胚后腹侧脊髓运动神经元前体细胞的DNA复制过程中起重要作用<sup>[43]</sup>。近期的研究表明,线虫中*Asf1* 的另一个同源基因*Asf1-1* 在性腺的减数分裂区域表达。这两个*Asf1* 同源基因中的任何一个基因突变,导致线虫繁殖力下降,但配子发生过程没有发现较多明显缺陷<sup>[49]</sup>。然而,这两个基因同时发生突变,则引起线虫不育,因为精子发生和卵子发生过程中DNA复制受阻,因此在配子发生DNA复制期,线虫两个*Asf1* 同源基因功能可以互补<sup>[49]</sup>。

在小鼠中的研究表明,ASF1的同源物与哺乳动物精子发生有关。Umehara等<sup>[44]</sup>的研究发现,人类的CIA-II(hCIA-II)在精巢和其他含增殖期细胞的组织中大量表达。小鼠CIA-II(mCIA-II)转录本主要聚集在粗线期的精母细胞中,而在精细胞中却不存在。此外,mCIA-II转录本在出生后4 d的小鼠精巢中就出现,而到56 d后下降,进一步说明,mCIA-II的表达仅限于精子发生过程中的减数分裂前期至减数分裂期<sup>[44]</sup>。因此,ASF1/CIA可能主要是通过影响DNA的复制从而在发育阶段的细胞分裂(包括减数分裂)过程中起重要作用。

## 5 NAP-1 在发育中的调控作用

NAP1(Nucleosome assembly protein 1,核小体组装蛋白1)广泛存在于酵母、植物及各种动物中,

是核心组蛋白H2A/H2B的分子伴侣,能够在蛋白激酶2(CK2)的调节下于细胞核和细胞质之间穿梭,在组蛋白代谢、动植物细胞生长及分化和组织建构等方面发挥多种重要的功能<sup>[50~56]</sup>。

芽殖酵母中含有一个*NAP1* 基因。在芽殖酵母中,*NAP1* 能和周期蛋白依赖性蛋白激酶复合物一起维持细胞周期正常进行<sup>[57]</sup>,其突变导致细胞有丝分裂延迟,而过量表达则能够使细胞周期停滞在G<sub>1</sub>期,引起出芽期延长<sup>[58,59]</sup>。多细胞生物中含有多个*NAP1* 家族成员,除了*NAP1* 之外,还有一类*NAP1* 相关蛋白(*NAP1* related protein, NRP),其序列与*NAP1* 相似度很高,因此也被认为是*NAP1* 家族。在拟南芥中,敲除两个*NRP*基因中的任何一个都没有明显的表型异常,而当两个*NRP*基因同时缺失,则会导致根的生长缺陷,萌发后根的伸长受阻,细胞停留在G<sub>2</sub>/M期,根尖部的细胞组织出现紊乱<sup>[55]</sup>。这似乎表明NRP在植物胚后期根部细胞分裂过程中具有重要的作用。在拟南芥叶片发育早期,At*NAP1;1*(*Arabidopsis thaliana* *NAP1;1*)定位于核仁,促使细胞分裂增殖;而在叶片发育晚期,At*NAP1;1* 在细胞质中积累,促进细胞的膨胀延伸。在增殖期,如果在细胞质中异常表达非法尼基化At*NAP1;1*,可扰乱发育进程<sup>[56]</sup>。

在果蝇中,敲除*NAP1* 会降低其生存率,导致果蝇在胚胎和幼虫期大量死亡<sup>[60]</sup>。*NAP1* 不仅作为核心组蛋白伴侣参与核小体组装,而且也与连接组蛋白相互作用。爪蟾受精后,*NAP1* 将卵母细胞特异性的连接组蛋白B4引入染色质中,使得相邻核小体之间的联系较为松散,为早期胚胎发育时快速的DNA复制和细胞分裂提供了非常重要的保障<sup>[61]</sup>。多种进行体外胚胎发育的动物,早期卵裂速度都很快,这就要求有特殊的连接组蛋白使得核小体结构比较松散,便于进行快速卵裂。果蝇早期核分裂速度也非常快,每8~9 min就完成一次核分裂,因此敲除*NAP1* 的突变果蝇可能使早期快速卵裂所需的特异连接组蛋白无法及时进入染色质,从而导致突变胚胎大量死亡。*NAP1* 作为一种重要的调解者,在包含肺部微血管内皮细胞和肺部微血管内皮祖细胞在内的两组快速生长的细胞中高水平表达,而在生长较慢的肺动脉内皮细胞中低水平表达。异源表达*NAP1* 能提高肺动脉内皮细胞的生长潜能,而抑制其表达可降低肺部微血管内皮细胞的生长潜能<sup>[62]</sup>。这些也

说明NAP1 参与了快速的细胞分裂过程。去除小鼠胚胎神经的NAP112(*Nap1-like 2*)基因导致神经管发育异常。进一步的研究表明,在神经元发育过程中,NAP112 蛋白通过控制组蛋白乙酰化水平来调节转录,神经元中核小体组装蛋白调节细胞类型特异的染色质状态的建立,这种特殊的染色质状态能够影响神经元的发生及存活<sup>[63]</sup>。缺失NAP1 的小鼠胚胎,发育停留在妊娠中期,且 3 个胚层的形态发生产生缺陷,如神经管不能闭合,两侧的心脏原基不能靠近、融合,导致心脏裂,内胚层和中胚层的细胞迁移滞后等。奇怪的是,在四分之一的突变胚胎中,发现有两个前后体轴<sup>[64]</sup>。这些结果表明,NAP1 在哺乳动物头尾轴的特化及组织建构等方面起着重要作用。

## 6 展 望

组蛋白伴侣对核小体凝集与装配起到了重要的作用。它们之间的作用既是独立的又是相互影响的,不同的组蛋白伴侣对核小体的装配具有不同的作用,从而影响核小体的结构、稳定性以及染色体的状态,进而影响生物的发育过程。目前,染色质重塑以及表观遗传学已经成为当今生物研究的热点,组蛋白分子伴侣的功能研究是其重要的组成部分。由于染色质重组过程的复杂性,现在许多关于组蛋白伴侣功能的研究还是在体外进行的,对高等生物发育方面的直接影响还知之较少。由于体外研究系统比较单一,而体内(*in vivo*)系统受多方面因素的影响,其研究相对较复杂,因此一些体外研究结果与体内研究结果并不完全一致。为此,在体外研究的基础上,还需要进一步进行体内研究,才能确切揭示组蛋白伴侣在发育过程中的具体作用。

## 参考文献(References):

- [1] Frehlick LJ, Eirín-López JM, Ausió J. New insights into the nucleophosin/nucleoplasmin family of nuclear chaperones. *Bioessays*, 2007, 29(1): 49–59. [\[DOI\]](#)
- [2] Loyola A, Almouzni G. Histone chaperones, a supporting role in the limelight. *Biochim Biophys Acta*, 2004, 1677(1–3): 3–11.
- [3] Burns KH, Viveiros MM, Ren Y, Wang P, DeMayo FJ, Frail DE, Eppig JJ, Matzuk MM. Roles of NPM2 in chromatin and nucleolar organization in oocytes and embryos. *Science*, 2003, 300(5619): 633–636. [\[DOI\]](#)
- [4] Philpott A, Leno GH. Nucleoplasmin remodels sperm chromatin in *Xenopus* egg extracts. *Cell*, 1992, 69(5): 759–767. [\[DOI\]](#)
- [5] Prado A, Ramos I, Frehlick LJ, Muga A, Ausio J. Nucleoplasmin: a nuclear chaperone. *Biochem Cell Biol*, 2004, 82(4): 437–445. [\[DOI\]](#)
- [6] Wade PA, Kikyo N. Chromatin remodeling in nuclear cloning. *Eur J Biochem*, 2002, 269(9): 2284–2287. [\[DOI\]](#)
- [7] Lu Z, Zhang C, Zhai Z. Nucleoplasmin regulates chromatin condensation during apoptosis. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102(8): 2778–2783. [\[DOI\]](#)
- [8] Li J, Zhang X, Sejas DP, Bagby GC, Pang Q. Hypoxia-induced nucleophosmin protects cell death through inhibition of p53. *J Biol Chem*, 2004, 279(40): 41275–41279. [\[DOI\]](#)
- [9] Cullen SP, Afonina IS, Donadini R, Luthi AU, Medema JP, Bird PI, Martin SJ. Nucleophosmin is cleaved and inactivated by the cytotoxic granule protease granzyme M during NK cell-mediated killing. *J Biol Chem*, 2009, 284(8): 5137–5147. [\[DOI\]](#)
- [10] Smith S, Stillman B. Purification and characterization of CAF-1, a human cell factor required for chromatin assembly during DNA replication *in vitro*. *Cell*, 1989, 58(1): 15–25. [\[DOI\]](#)
- [11] Kaufman PD, Kobayashi R, Stillman B. Ultraviolet radiation sensitivity and reduction of telomeric silencing in *Saccharomyces cerevisiae* cells lacking chromatin assembly factor-1. *Genes Dev*, 1997, 11(3): 345–357. [\[DOI\]](#)
- [12] Fischer S, Prykhodzhiy S, Rau MJ, Neumann CJ. Mutation of zebrafish caf-1b results in S phase arrest, defective differentiation, and p53-mediated apoptosis during organogenesis. *Cell Cycle*, 2007, 6(23): 2962–2969.
- [13] Gaillard PH, Martini EM, Kaufman PD, Stillman B, Moustacchi E, Almouzni G. Chromatin assembly coupled to DNA repair: a new role for chromatin assembly factor I. *Cell*, 1996, 86(6): 887–896. [\[DOI\]](#)
- [14] Enomoto S, Berman J. Chromatin assembly factor I contributes to the maintenance, but not the reestablishment, of silencing at the yeast silent mating loci. *Genes Dev*, 1998, 12(2): 219–232. [\[DOI\]](#)
- [15] Kaya H, Shibahara KI, Taoka KI, Iwabuchi M, Stillman B, Araki T. FASCIATA genes for chromatin assembly factor-1 in *Arabidopsis* maintain the cellular organization of apical meristems. *Cell*, 2001, 104(1): 131–142. [\[DOI\]](#)
- [16] Ono T, Kaya H, Takeda S, Abe M, Ogawa Y, Kato M, Kakutani T, Mittelsten Scheid O, Araki T, Shibahara K. Chromatin assembly factor 1 ensures the stable maintenance of silent chromatin states in *Arabidopsis*. *Genes*

- Cells*, 2006, 11(2): 153–162. [\[DOI\]](#)
- [17] Song Y, He F, Xie G, Guo X, Xu Y, Chen Y, Liang X, Stagljar I, Egli D, Ma J, Jiao R. CAF-1 is essential for *Drosophila* development and involved in the maintenance of epigenetic memory. *Dev Biol*, 2007, 311(1): 213–222. [\[DOI\]](#)
- [18] Klapholz B, Dietrich BH, Schaffner C, Hérédia F, Quivy JP, Almouzni G, Dostadni N. CAF-1 is required for efficient replication of euchromatic DNA in *Drosophila* larval endocycling cells. *Chromosoma*, 2009, 118(2): 235–248. [\[DOI\]](#)
- [19] Quivy JP, Grandi P, Almouzni G. Dimerization of the largest subunit of chromatin assembly factor I: importance in vitro and during *Xenopus* early development. *EMBO J*, 2001, 20(8): 2015–2027. [\[DOI\]](#)
- [20] Houliard M, Berlivet S, Probst AV, Quivy JP, Héry P, Almouzni G, Gérard M. CAF-1 is essential for heterochromatin organization in pluripotent embryonic cells. *PLoS Genet*, 2006, 2(11): e181. [\[DOI\]](#)
- [21] Eitoku M, Sato L, Senda T and Horikoshi M. Histone chaperones: 30 years from isolation to elucidation of the mechanisms of nucleosome assembly and disassembly. *Cell Mol Life Sci*, 2008, 65(3): 414–444. [\[DOI\]](#)
- [22] Schönrock N, Exner V, Probst A, Gruijssem W, Hennig L. Functional genomic analysis of CAF-1 mutants in *Arabidopsis thaliana*. *J Biol Chem*, 2006, 281(14): 9560–9568. [\[DOI\]](#)
- [23] 王玉凤, 杜新征. *Hira* 基因与发育: 从酵母到人类. 遗传, 2005, 27(6): 989–994.
- [24] Phelps-Durr TL, Thomas J, Vahab P, Timmermans MC. Maize rough sheath2 and its *Arabidopsis* orthologue ASYMMETRIC LEAVES1 interact with HIRA, a predicted histone chaperone, to maintain *knox* gene silencing and determinacy during organogenesis. *Plant Cell*, 2005, 17(11): 2886–2898. [\[DOI\]](#)
- [25] Ray-Gallet D, Quivy JP, Scamps C, Martini EM, Lipinski M, Almouzni G. HIRA is critical for a nucleosome assembly pathway independent of DNA synthesis. *Mol Cell*, 2002, 9(5): 1091–1100. [\[DOI\]](#)
- [26] Sutton A, Bucaria J, Osley M A, Sternglanz R. Yeast ASF1 protein is required for cell cycle regulation of histone gene transcription. *Genetics*, 2001, 158(2): 587–596.
- [27] Sharp JA, Franco AA, Osley MA, Kaufman PD. Chromatin assembly factor I and Hir proteins contribute to building functional kinetochores in *S. cerevisiae*. *Genes Dev*, 2002, 16(1): 85–100. [\[DOI\]](#)
- [28] Blackwell C, Martin KA, Greenall A, Pidoux A, Allshire RC, Whitehall SK. The *Schizosaccharomyces pombe* HIRA-like protein Hip1 is required for the periodic expression of histone genes and contributes to the function of complex centromeres. *Mol Cell Biol*, 2004, 24(10): 4309–4320. [\[DOI\]](#)
- [29] Loppin B, Docquier M, Bonneton F, Couble P. The maternal effect mutation *sésame* affects the formation of the male pronucleus in *Drosophila melanogaster*. *Dev Biol*, 2000, 222(2): 392–404. [\[DOI\]](#)
- [30] Loppin B, Berger F, Couble P. Paternal chromosome incorporation into the zygote nucleus is controlled by maternal haploid in *Drosophila*. *Dev Biol*, 2001, 231(2): 383–396. [\[DOI\]](#)
- [31] Loppin B, Bonnefoy E, Anselme C, Laurençon A, Karr TL, Couble P. The histone H3.3 chaperone HIRA is essential for chromatin assembly in the male pronucleus. *Nature*, 2005, 437(7063): 1386–1390. [\[DOI\]](#)
- [32] Bonnefoy E, Orsi GA, Couble P, Loppin B. The essential role of *Drosophila* HIRA for *de novo* assembly of paternal chromatin at fertilization. *PLoS Genet*, 2007, 3(10): 1991–2006.
- [33] 王玉凤, 徐艳菊. *Hira* 基因的过量表达对果蝇早期胚胎发育的影响. 华中师范大学学报(自然科学版), 2005, (04): 104–107.
- [34] 葛伟, 单仕新, 蒋一圭. 雌核发育银鲫的受精生物学研究——天然雌核发育银鲫繁殖方式的讨论. 水生生物学报, 1992, 16(2): 97–100.
- [35] Li CJ, Gui JF. Comparative studies on in vitro sperm decondensation and pronucleus formation in egg extracts between gynogenetic and bisexual fish. *Cell Res*, 2003, 13(3): 159–169. [\[DOI\]](#)
- [36] Du XZ, Zhou L, Zhao HB, Wang YF, Gui JF. Identical sequences but different expression patterns of *Hira* gene in gynogenetic and gonochoristic crucian carps. *Fish Physiol Biochem*, 2008, 34(2): 175–184. [\[DOI\]](#)
- [37] Roberts C, Sutherland HF, Farmer H, Kimber W, Halford S, Carey A, Brickman JM, Wynshaw-Boris A, Scambler PJ. Targeted mutagenesis of the *Hira* gene results in gastrulation defects and patterning abnormalities of mesoendodermal derivatives prior to early embryonic lethality. *Mol Cell Biol*, 2002, 22(7): 2318–2328. [\[DOI\]](#)
- [38] Pizzuti A, Novelli G, Ratti A, Amati F, Bordoni R, Mandich P, Bellone E, Conti E, Bengala M, Mari A, Silani V, Dallapiccola B. Isolation and characterization of a novel transcript embedded within HIRA, a gene deleted in DiGeorge syndrome. *Mol Genet Metab*, 1999, 67(3): 227–235. [\[DOI\]](#)
- [39] Scambler PJ, Carey AH, Wyse RK, Roach S, Dumanski JP, Nordenskjöld M, Williamson R. Microdeletions within 22q11 associated with sporadic and familial DiGeorge syndrome. *Genomics*, 1991, 10(1): 201–206. [\[DOI\]](#)

- [40] Ahmad A, Kikuchi H, Takami Y, Nakayama T. Different roles of N-terminal and C-terminal halves of HIRA in transcription regulation of cell cycle-related gene that contribute to control of vertebrate cell growth. *J Biol Chem*, 2005, 280 (11): 32090–32100. [\[DOI\]](#)
- [41] Le S, Davis C, Konopka JB, Sternglanz R. Two new S-phase-specific genes from *Saccharomyces cerevisiae*. *Yeast*, 1997, 13(11): 1029–1042. [\[DOI\]](#)
- [42] Munakata T, Adachi N, Yokoyama N, Kuzuhara T, Horikoshi M. A human homologue of yeast anti-silencing factor has histone chaperone activity. *Genes Cells*, 2000, 5(3): 221–233. [\[DOI\]](#)
- [43] Grigsby IF, Finger FP. UNC-85, a *C. elegans* homolog of the histone chaperone Asf1, functions in post-embryonic neuroblast replication. *Dev Biol*, 2008, 319(1): 100–109. [\[DOI\]](#)
- [44] Umehara T, Horikoshi M. Transcription initiation factor IID-interactive histone chaperone CIA-II implicated in mammalian spermatogenesis. *J Biol Chem*, 2003, 278(37): 35660–35667. [\[DOI\]](#)
- [45] Kim HJ, Seol JH, Han JW, Youn HD, Cho EJ. Histone chaperones regulate histone exchange during transcription. *EMBO J*, 2007, 26(21): 4467–4474. [\[DOI\]](#)
- [46] Sanematsu F, Takami Y, Barman HK, Fukagawa T, Ono T, Shibahara KI, Nakayama T. Asf1 is required for viability and chromatin assembly during DNA replication in vertebrate cells. *J Biol Chem*, 2006, 281(19): 13817–13827. [\[DOI\]](#)
- [47] Prado F, Cortes-Ledesma F, Aguilera A. The absence of the yeast chromatin assembly factor Asf1 increases genomic instability and sister chromatid exchange. *EMBO Rep*, 2004, 5(5): 497–502. [\[DOI\]](#)
- [48] Groth A, Ray-Gallet D, Quivy JP, Lukas J, Bartek J, Al-mouzni G. Human Asf1 regulates the flow of S phase histones during replicational stress. *Mol Cell*, 2005, 17(2): 301–311. [\[DOI\]](#)
- [49] Grigsby IF, Rutledge EM, Morton CA, Finger FP. Functional redundancy of two *C. elegans* homologs of the histone chaperone Asf1 in germline DNA replication. *Dev Biol*, 2009, 329(1): 64–79. [\[DOI\]](#)
- [50] Park YJ, Luger K. Structure and function of nucleosome assembly proteins. *Biochem Cell Biol*, 2006, 84(4): 549–558. [\[DOI\]](#)
- [51] Mosammaparast N, Ewart CS, Pemberton LF. A role for nucleosome assembly protein 1 in the nuclear transport of histones H2A and H2B. *EMBO J*, 2002, 21(23): 6527–6538. [\[DOI\]](#)
- [52] Calvert ME, Keck KM, Ptak C, Shabanowitz J, Hunt DF, Pemberton LF. Phosphorylation by casein kinase 2 regulates Nap1 localization and function. *Mol Cell Biol*, 2008, 28(4): 1313–1325. [\[DOI\]](#)
- [53] Dong A, Zhu Y, Yu Y, Cao K, Sun C, Shen WH. Regulation of biosynthesis and intracellular localization of rice and tobacco homologues of nucleosome assembly protein 1. *Planta*, 2003, 216(4): 561–570.
- [54] Dong A, Liu Z, Zhu Y, Yu F, Li Z, Cao K, Shen WH. Interacting proteins and differences in nuclear transport reveal specific functions for the NAP1 family proteins in plants. *Plant Physiol*, 2005, 138(3): 1446–1456. [\[DOI\]](#)
- [55] Zhu Y, Dong A, Meyer D, Pichon O, Renou JP, Cao K, Shen WH. *Arabidopsis* NRP1 and NRP2 encode histone chaperones and are required for maintaining postembryonic root growth. *Plant Cell*, 2006, 18(11): 2879–2892. [\[DOI\]](#)
- [56] Galichet A, Gruissem W. Developmentally controlled farnesylation modulates AtNAP1;1 function in cell proliferation and cell expansion during *Arabidopsis* leaf development. *Plant Physiol*, 2006, 142(4): 1412–1426. [\[DOI\]](#)
- [57] Kellogg DR, Murray AW. NAP1 acts with Clb1 to perform mitotic functions and to suppress polar bud growth in budding yeast. *J Cell Biol*, 1995, 130(3): 675–685. [\[DOI\]](#)
- [58] Grande M, Lambea E, Fajardo A, López-Avilés S, Kellogg D, Aligue R. Crosstalk between Nap1 protein and Cds1 checkpoint kinase to maintain chromatin integrity. *Biochim Biophys Acta*, 2008, 1783(9): 1595–1604. [\[DOI\]](#)
- [59] Calvert ME, Lannigan JA, Pemberton LF. Optimization of yeast cell cycle analysis and morphological characterization by multispectral imaging flow cytometry. *Cytometry A*, 2008, 73(9): 825–833.
- [60] Lankenau S, Barnickel T, Marhold J, Lyko F, Mechler BM, Lankenau DH. Knockout targeting of the *Drosophila* nap1 gene and examination of DNA repair tracts in the recombination products. *Genetics*, 2003, 163(2): 611–623.
- [61] Saeki H, Ohsumi K, Aihara H, Ito T, Hirose S, Ura K and Kaneda Y. Linker histone variants control chromatin dynamics during early embryogenesis. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102(16): 5697–5702. [\[DOI\]](#)
- [62] Clark J, Alvarez DF, Alexeyev M, King JA, Huang L, Yoder MC, Stevens T. Regulatory role for nucleosome assembly protein-1 in the proliferative and vasculogenic phenotype of pulmonary endothelium. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2008, 294(3): L431–439. [\[DOI\]](#)
- [63] Attia M, Rachez C, De Pauw A, Avner P, Rogner UC. Nap112 promotes histone acetylation activity during neuronal differentiation. *Mol Cell Biol*, 2007, 27(17): 6093–6102. [\[DOI\]](#)
- [64] Rakeman AS, Anderson KV. Axis specification and morphogenesis in the mouse embryo require Nap1, a regulator of WAVE-mediated actin branching. *Develo-*

---

*pment*, 2006, 133(16): 3075–3083.[\[DOI\]](#)