

DOI: 10.3724/SP.J.1005.2010.00799

# 酵母模式生物研究表观遗传调控基因组稳定性的进展

冯碧薇, 陈建强, 雷秉坤, 潘贤, 吕红

复旦大学生命科学学院遗传所, 遗传工程国家重点实验室, 上海 200433

**摘要:** 基因组的遗传稳定性是维持正常的细胞复制、增殖和分化的关键。外源因素和内源因素造成的 DNA 损伤及其修复失败, 是各种遗传疾病发生的根本原因。表观遗传调控(包括 DNA 甲基化、组蛋白修饰和非编码 RNA)在 DNA 损伤修复和细胞周期调控方面发挥着重要的作用, 也是维持基因组稳定性的基础。酵母作为单细胞真核生物, 是最早开展表观遗传学研究的物种之一, 特别是在 DNA 损伤修复和异染色质形成等方面的研究, 为揭示遗传稳定性的本质提供了理论依据。国际上前期以酵母为模式生物研究表观遗传学的报道主要集中于组蛋白修饰领域; 近期利用裂殖酵母作为模式生物研究 RNAi 指导的组蛋白修饰也有了一定的进展。文章以酵母作为模式生物, 论述了表观遗传修饰在维持基因组遗传稳定性中的研究进展、作用机制和今后的发展趋势。

**关键词:** 酵母; 表观遗传调控; 基因组稳定性; 组蛋白修饰; RNAi

## Research progress on genomic integrity regulated by epigenetics using yeast as a model

FENG Bi-Wei, CHEN Jian-Qiang, LEI Bing-Kun, PAN Xian, LÜ Hong

State Key Laboratory of Genetic Engineering, Institute of Genetics, School of Life Sciences, Fudan University, Shanghai 200433, China

**Abstract:** Genomic integrity is crucial for normal cell replication, proliferation and differentiation. DNA lesions resulted from exogenous and endogenous factors will lead to genomic instability, and consequently the cause for various diseases. Epigenetic regulation (including DNA methylation, histone modifications and non-coding RNA) plays important roles in DNA lesion repair and cell cycle regulation as well as maintaining the genetic integrity. The yeast, a type of single cell eukaryotic organism, is an ideal model for the researches of epigenetics, especially in the area of DNA lesion repair and the formation of heterochromatin. Previous researches on epigenetics were mainly focus on histone modifications. Recent researches have observed that non-coding RNAs are able to direct the cytosine methylation and histone modifications that are related to gene expression regulation. This paper discuss the mechanism, research progress and future development of epigenetics in maintaining the genomic integrity, using the yeast as a model.

**Keywords:** yeast; epigenetic regulation; genomic integrity; histone modification; RNA interference

基因组的遗传稳定性是维持细胞正常增殖和分化的关键, 也是维持生物有机体正常生理活动的基础。DNA 复制和细胞编程错误、基因表达调控异常、DNA 损伤修复失败都会影响基因组的稳定性。这种

基因组的不稳定性通常会引起遗传物质发生改变(如: 核苷酸突变、染色体畸变等), 进而引发多种疾病, 尤其是肿瘤和癌症<sup>[1]</sup>。然而, 对生物体基因组序列的认识还远远不足于解释真核细胞内复杂的维持

收稿日期: 2009-10-31; 修回日期: 2010-06-28

基金项目: 国家重点基础研究发展规划(973 计划)项目(编号: 2009CB825601)和国家自然科学基金项目(编号啊: 30771145)资助

作者简介: 冯碧薇(1987-), 女, 硕士研究生, 专业方向: 表观遗传学。Tel: 021-65642505; E-mail: 0570122@fudan.edu.cn

通讯作者: 吕红(1965-), 女, 教授, 研究方向: 微生物遗传学。Tel: 021-65642505; E-mail: honglv@fudan.edu.cn

基因组遗传稳定性的基因调控网络。因此,许多问题相继被提了出来,比如:“基因组如何统筹细胞发育分化中基因表达上的变化”<sup>[2]</sup>、“DNA损伤后是由何种途径完成修复的”、“除了基因组DNA之外还有哪些生物学信号参与了细胞周期调控来维持全细胞染色质结构的稳定”。

表观遗传变异是指在基因的DNA序列没有发生改变的情况下,基因功能或表达发生了可遗传的变化<sup>[3]</sup>。表观遗传调控在基因表达调控、DNA损伤修复和异染色质形成方面发挥着重要的作用,是维持基因组稳定性的基础;通过表观遗传学来解释基因组的不稳定现象,寻找癌症、肿瘤的新标记检测物和治疗手段是目前国际上主要的研究方向之一。已有的研究表明,表观遗传机制主要涉及3个方面:DNA甲基化、组蛋白修饰和非编码RNA(Non-coding RNA)调控。DNA甲基化作为目前研究得最为深入的表观遗传机制,是基因组DNA的主要表观遗传修饰形式之一,在胚胎形成、肿瘤发生、X染色体失活和细胞周期调控中发挥重要的作用。很多基因启动子区域的超甲基化会导致基因表达沉默,比如肿瘤抑制基因、组织重构基因、DNA损伤修复基因、细胞周期调控基因和抗凋亡基因等。因此,DNA甲基化与去甲基化的动态平衡在维持基因组稳定性上具有重大的生物学意义,使超甲基化的肿瘤基因去甲基化可能成为肿瘤基因治疗的新手段。第二种表观遗传机制是组蛋白修饰。组蛋白可以通过乙酰化(Acetylation)、甲基化(Methylation)、磷酸化(Phosphorylation)、泛素化(Ubiquitination)等修饰及不同的排列组合构成组蛋白密码(Histone code)来影响生物学行为<sup>[4]</sup>。目前发现的组蛋白修饰主要位点已有60多个(图1),越来越多的研究表明,在肿瘤等疾病发生过程中,组蛋白修饰发生了不同程度的变异,提示组蛋白表观遗传修饰与人类疾病相关。第三种在表观遗传上起重要作用的是功能性非编码RNA。非编码RNA(包括miRNA、siRNA等)在基因簇以至于整个染色体水平发挥顺式调节作用,介导mRNA降解,诱导染色质结构的改变,决定细胞的命运,还对外源的核酸有降解作用以保护本身的基因<sup>[5]</sup>。

通过对四膜虫、果蝇、酵母和小鼠等模式生物的研究,已经揭示了许多基本的表观遗传现象和机制。比如:在四膜虫中最先发现了组蛋白乙酰转移

酶<sup>[6]</sup>,发现了组蛋白甲基化在RNAi介导的IES删除过程中起着重要作用,使得H3K27甲基化作用模型得以建立<sup>[7,8]</sup>;在果蝇中已经成功建立了异染色质形成与组蛋白修饰、细胞周期调控和RNAi之间的调控模型<sup>[9]</sup>;在裂殖酵母中最先发现了组蛋白去甲基化酶<sup>[10]</sup>,使用酿酒酵母为模型对端粒和端粒酶的表现遗传研究表明酵母端粒RNA能够参与调控端粒的结构和由端粒酶介导的端粒延长的过程,为哺乳动物提供了良好的启示<sup>[11,12]</sup>;使用小鼠为模式生物建立了表观遗传修饰与癌症发生发展之间的诸多调控模型<sup>[13]</sup>。

在各种模式生物中,酵母是最早被认识、研究得最深入的真核生物之一,也是分子生物学研究的常用模式物种。其中,酿酒酵母和裂殖酵母已经完成全基因组测序、转录组分析、蛋白相互作用网络图,被广泛用于表观遗传研究。酵母作为模式生物在研究基因组稳定性方面具有许多优势:(1)酵母在单倍体和二倍体的状态下均能生长,并能在实验条件下相互转换,对其基因功能的研究十分有利;(2)酵母的生命周期短,基因组小,易操作,适合经典的遗传学分析;(3)酵母与一些复杂的生命形式具有很多相同的生命行为,特别在细胞周期调控、减数分裂和DNA修复方面与人类基因具有高度同源性。更重要的是,目前已发展了一些非常有效的技术使得酵母基因组中的任何一个基因均能被突变的等位基因取代甚至完全缺失。因此,酵母作为一种模式生物已广泛应用于表观遗传学研究。

近几年来以酵母为模式生物研究DNA损伤修复过程和异染色质形成机制已经取得了长足的进展,揭示了基本的生命现象,为表观遗传学研究生物体维持基因组稳定性机制提供了良好的启示和理论基础。这些已报道的研究主要集中于组蛋白修饰领域,涉及到两大方面:一是建立一个稳定的染色质环境,通过修饰划分常染色质和异染色质的不同区域;二是统筹与DNA相关的生物功能,包括基因的表达调控、DNA损伤修复、染色质浓缩等过程。近期利用裂殖酵母作为模式生物研究RNAi指导的组蛋白修饰也有了一定的进展。最新的研究发现,非编码RNA不仅参与染色质结构改变,还能够指导与基因表达调控相关的DNA甲基化和组蛋白修饰<sup>[14]</sup>,在表观遗传机制中可能占主导地位。其中,由siRNA

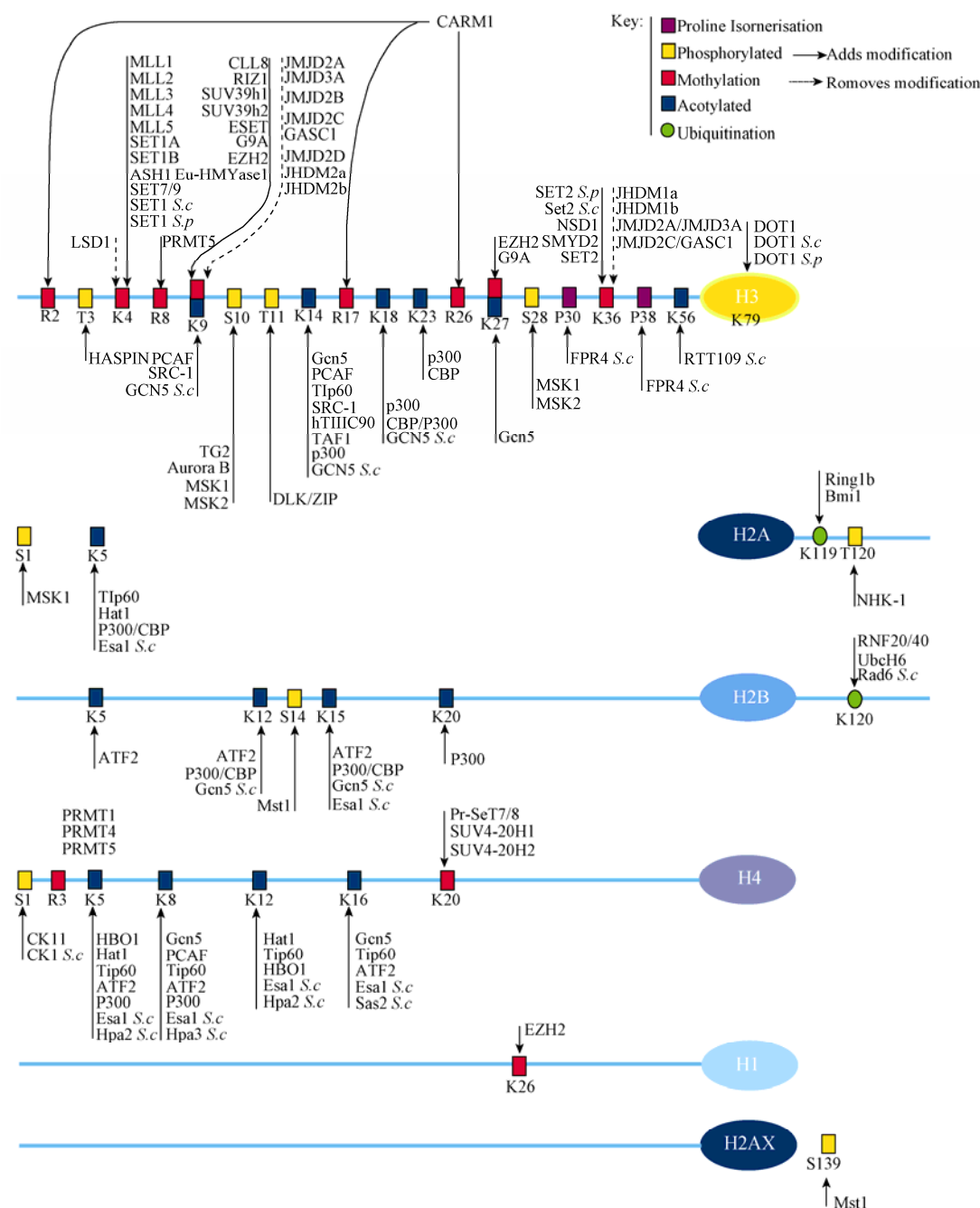


图 1 已知的主要组蛋白修饰位点 (引自 [www.Abcam.com](http://www.Abcam.com))

介导的RNA干扰(RNAi)途径在裂殖酵母细胞周期调控和异染色质形成机制领域研究最为广泛。通常, RNAi需要由特殊的蛋白介导, 与高等真核生物不同, 这些蛋白基因在裂殖酵母中只含有单拷贝, 这使得裂殖酵母成为研究RNAi非常理想的模式生物。可见, 对非编码RNA的研究将成为今后以酵母为模式生物研究表观遗传学的热点。另外, 与高等动植物相比,

大多数真菌基因组DNA 中胞嘧啶甲基化程度很低或不存在甲基化。例如, 在酿酒酵母中胞嘧啶甲基化程度几乎为零<sup>[15]</sup>, 而裂殖酵母胞嘧啶甲基化程度也小于 0.1%<sup>[16]</sup>。因此, DNA甲基化对于大多数酵母菌可能是非必须的<sup>[17]</sup>。本文以酵母为模式生物, 着重论述了表观遗传修饰在DNA损伤修复和异染色质形成方面的研究进展、作用机制和今后的发展趋势。

## 1 DNA损伤修复

DNA损伤产生的遗传不稳定性,是各种疾病发生的主要原因之一。在长期进化过程中,有机体形成了一系列应对与修复损伤DNA,并维持染色体基因组正常结构功能的机制。DNA发生损伤后,细胞应答损伤通常有3种方式:一是成功完成损伤修复,不影响细胞正常的复制和有丝分裂;二是细胞周期停滞(Cell cycle arrest),直到DNA损伤得到修复后再回复到正常的生理状态;三是损伤未能得到成功修复时,产生细胞凋亡,清除变异细胞。如果3种途径都失败,细胞会存活下来,导致遗传物质发生改变,很容易引发各种疾病,尤其是产生肿瘤<sup>[1]</sup>。核心组蛋白的化学修饰能引起染色质结构和基因表达水平的改变,从而在DNA损伤修复中发挥重要功能。前期在酵母细胞中的研究揭示DNA双链断裂后组蛋白修饰在细胞修复DNA损伤的以下主要过程中发挥作用:DNA损伤信号的分子感应,组蛋白修饰与染色质重构及基因表达,细胞周期阻滞的产生,损伤信号的去除,核小体重构与染色质浓缩<sup>[18]</sup>。常见组蛋白密

码在DNA损伤修复途径中的主要过程如模式图2所示。

### 1.1 组蛋白磷酸化与DNA损伤的分子感应

H2AX是组蛋白H2A家族的成员之一。在大多数哺乳动物组织和细胞中,H2AX的含量大概占总H2A的2%~10%,在低等真核生物中H2AX的含量较高,酿酒酵母中几乎可达到100%。与组蛋白H2A家族的其他成员相比,H2AX C末端区更长,且含有一个进化上高度保守的C末端基因序列。从酵母到人类,该C末端进化上高度保守的基因序列是以丝氨酸为关键的4个氨基酸残基组成SQED。当外源性和内源性因素使细胞内的染色质DNA发生双链断裂(Double-strand break, DSB)时,双链DNA的粘性末端通过与Xrs2的相互作用将Mre11/Rad50/Xrs2复合体迅速募集到DSB周围。Mre11/Rad50/Xrs2复合体通过Xrs2将Tel1p(PI3K家族,与人的ATM同源)蛋白募集到DSB周围,并磷酸化DSB附近20 kb范围内的H2AX<sup>[19]</sup>。H2AX中第129位丝氨酸残基

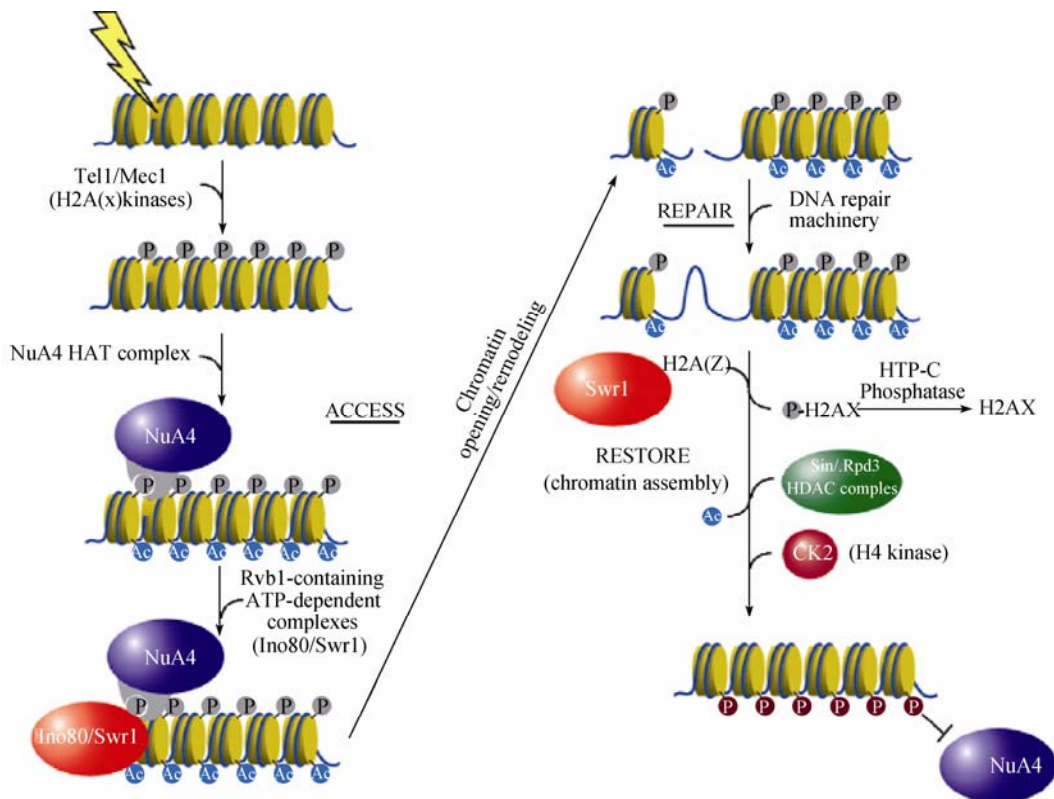


图2 DNA双链断裂损伤修复模式图<sup>[18]</sup>



快速磷酸化形成 $\gamma$ -H2AX, 这一修饰是细胞感受DNA损伤的标志信号<sup>[20]</sup>。

## 1.2 组蛋白修饰与染色质重构

真核生物的染色质通常以高度致密的形式包装于核内。这种结构使得与DNA复制、基因表达调节、DNA损伤修复相关的蛋白和因子不能有效进入核小体内部发挥功能, 不仅影响了DNA的复制和转录, 基因表达, 也影响到DNA的损伤修复过程<sup>[21]</sup>。因此在进化过程中细胞获得了各种可以调节染色质重构的机制, 并在损伤位点募集了不同的复合体以帮助染色质的重构<sup>[21, 22]</sup>。已知的这些机制主要包括以下3类: ATP依赖的染色质重构过程, 如SWR1、INO80复合体<sup>[23]</sup>, 组蛋白变体在核小体中的替换以引起染色质高级结构的改变, 如SWR1复合体可以通过H2AZ对H2A的替换, 达到染色质结构的目的<sup>[24]</sup>, 组蛋白的共价修饰, 引起电荷的改变并影响染色质重构, 如NuA4复合体对H4的N端的乙酰化修饰使染色质变得更疏松而易于修复相关蛋白的进入<sup>[18]</sup>。其中SWR1、INO80和NuA4这3种复合体都可以和 $\gamma$ -H2AX发生相互作用, 并且在损伤位点出现的时间落后于 $\gamma$ -H2AX的产生, 3种复合体的突变体都具有类似的对DNA损伤敏感的表现, 这些结果都表明H2AX磷酸化信号能在损伤位点募集了这3种复合体<sup>[18]</sup>。

NuA4复合体是具有组蛋白乙酰转移酶活性的复合体, 在酿酒酵母和哺乳动物细胞中高度保守<sup>[25]</sup>。其具有酶学活性的亚基是ESA1p(哺乳动物细胞为Tip60p)<sup>[26]</sup>。这一蛋白在体外可以单独乙酰化组蛋白H4或H2A的N端的K5、K8、K12、K16位。但是在体内的时候, 由于组蛋白H4存在于致密的核小体结构中, ESA1p很难接近组蛋白以达到酶和底物可以发生作用的距离, 所以需要形成复合体来帮助它的定位, 以达到靠近并乙酰化修饰组蛋白的目的<sup>[27, 28]</sup>。在核小体内部, 带有正电荷的组蛋白与带有负电荷的DNA结合并促进了后者的包装和折叠。

在NuA4复合体首先被募集到损伤位点, NuA4复合体对带正电荷的组蛋白的乙酰化修饰可以中和组蛋白的电荷, 使得组蛋白和DNA分子的结合能力降低, 从而促进核小体的解聚和染色质构象的改变<sup>[29]</sup>。INO80复合体和SWR1复合体在后续的阶段

也被募集到了DNA损伤位点, 发挥ATP依赖的染色质重构, 使得染色质变得更加疏松, 进而促进下游与损伤修复相关的蛋白表达或使得他们易于进入损伤位点, 并完成修复过程<sup>[30]</sup>。

## 1.3 组蛋白修饰与细胞周期阻滞的产生

$\gamma$ -H2AX损伤信号募集染色质重构复合物的同时, 也募集了一些与细胞周期阻滞相关的蛋白, 使细胞周期发生停滞, 从而使细胞有足够的时间完成DNA损伤修复。另外, 组蛋白H3与H4的甲基化修饰也在DNA损伤修复过程中起到重要作用。酿酒酵母中Dot1(Disruptor of telomeric silencing-1)对组蛋白H3的K79甲基化修饰可以募集Rad9到DNA损伤位点, 形成DNA损伤检验点, 使细胞周期阻滞, 以待DNA损伤修复完成<sup>[31, 32]</sup>。在裂殖酵母中组蛋白H4K20位被Set9甲基转移酶蛋白二甲甲基化后可以募集Rad9并形成DNA损伤检验点, 而在酿酒酵母中至今还没有发现H4K20位的甲基化修饰<sup>[33, 34]</sup>。

## 1.4 损伤信号及周期阻滞的去除

在DNA损伤修复完成以后, 细胞需要将周期阻滞去除以便回复到正常的生理过程之中。SWR1复合体可以将H2AZ参入核小体并替换掉 $\gamma$ -H2AX, 从而去除了 $\gamma$ -H2AX这一损伤信号。与此同时, H4各位点发生高度乙酰化修饰的信号也发生了去除, 这一过程在裂殖酵母中主要由Sin3/Rpd3 HDAC复合体完成<sup>[35-37]</sup>。无论是在酿酒酵母还是裂殖酵母中rtt109-Asf1组蛋白乙酰转移酶复合体对组蛋白H3K56位的乙酰化修饰都可以使得细胞从周期阻滞中解救出来<sup>[38-40]</sup>。

## 1.5 核小体重构与染色质浓缩

由于在正常的生理条件下真核生物的染色质处于一种相对高度浓缩的状态, 因此在DNA损伤修复结束, 核小体必须发生重构和浓缩以回复到正常状态。在这一过程中, 组蛋白的磷酸化和乙酰化起着重要的作用。研究表明, 当DNA损伤发生时组蛋白H4S1位可以被激酶CK2磷酸化, 从而抑制NUA4复合体对H4 N端的乙酰化修饰, 并使染色质发生浓缩<sup>[41]</sup>。另外, 组蛋白H3K56位的乙酰化也有促进DNA损伤修复之后染色质重新浓缩的过程<sup>[42-44]</sup>。

## 1.6 组蛋白修饰之间的Cross-talking

各种组蛋白修饰对基因的表达调控作用并不是孤立存在的,而是形成一个复杂的网路结构共同调节损伤修复过程,这种相互作用称为Cross-talking。如:在裂殖酵母及哺乳动物细胞中H4组蛋白K16位的乙酰化修饰可以抑制K20位的甲基化<sup>[45]</sup>。酿酒酵母中组蛋白H2B第S10位的磷酸化修饰由于位阻效应可以与K11的乙酰化发生拮抗作用,细胞对这一过程中磷酸化及乙酰化的取舍决定了细胞的命运是凋亡还是存活<sup>[46]</sup>。H3组蛋白不同位点上的修饰状态之间也存在相互促进或抑制的协调关系或网络调节,比如:H3S10的磷酸化有助于H3K9位乙酰化,后者又可促进H3K4位甲基化,H3K4me又可稳定H3K9的乙酰化,阻止该位点的甲基化使染色质处于活化状态。

## 2 异染色质形成

基因组中存在两种不同的染色质类型:沉默的异染色质和具有转录活性的常染色质,这两种不同的形式都与表观遗传修饰密切相关。异染色质主要存在于基因组中转座子富集区域和高度重复序列区域。异染色质的主要功能是通过表观遗传调控使染色体上特殊区域的基因转录沉默。异染色质对昆虫和哺乳动物发育、酵母单倍体细胞的接合、交配型的转换起着重要的作用,维持染色体结构的稳定性<sup>[47]</sup>。

以酵母为模式生物研究异染色质的形成已经比较成熟,基本的表观遗传修饰过程(包括组蛋白修饰和非编码RNA)在异染色质形成过程中的发挥功能的机制已经基本建立起来。从这些机制出发,已为在果蝇等其他模式生物体内研究异染色质形成和细胞周期调控起到了很好的启示<sup>[9]</sup>。

组蛋白修饰的一个重要作用是划分常染色质和异染色质的不同区域,建立一个稳定的染色质环境来维持基因组的正常运行。研究发现裂殖酵母组蛋白H3K4和H3K9位的甲基化,酿酒酵母H3K79位的甲基化对维持异染色质边界起着重要的作用<sup>[48-50]</sup>。如果缺失H3K36甲基化酶Set2,或者组蛋白乙酰化酶Sas2会导致异染色质的边界消失<sup>[51-53]</sup>。酿酒酵母异染色质区域边界有一些常染色质特异性的组蛋白修饰:Dot1催化的组蛋白H3K79甲基化、Set1催化的

H3K4甲基化、Set2催化的H3K36甲基化和Sas2催化的组蛋白H4K16乙酰化。这些修饰能防止Sir蛋白非特异地结合到常染色质上,从而将Sir蛋白限制在异染色质上。

通常异染色质分为组成型异染色质(Constitutive heterochromatin)和兼性异染色质(Facultative heterochromatin)。组成型异染色质被认为是染色体上永久沉默的区域,如端粒区和沉默配对区域(Silent mating type locus)。异染色质区域富含重复序列,如裂殖酵母着丝粒周边区含有*dg*和*dh*重复序列,沉默交配型区和端粒区也含有与*dg*和*dh*同源的重重复序列,这些重复序列能在原位点或异位点引导异染色质形成,是异染色质的成核中心<sup>[54]</sup>。

正如上文所述,异染色质的沉默受到组蛋白修饰的调控。问题是:在细胞分化、复制的过程中,异染色质如何通过转录来维持沉默?组蛋白与异染色质相关的修饰标志如何被遗传的问题已经成为当今研究的热点。近期对裂殖酵母着丝粒区的研究揭示:细胞复制过程中,*dg*和*dh*重复序列在裂殖酵母细胞复制S期转录,siRNA的含量在*dg*和*dh*重复序列转录之后随即达到峰值,暗示着Dicer几乎在dsRNA形成的同时进行切割21~24 nt产生siRNA。siRNA随后与Ago1 PAZ结构域结合并形成RNA诱导的转录沉默复合物(RITS),包括Tas3、Chp1和Ago1,并固定在特定的染色体位点。这个过程募集了包含H3K9甲基转移酶Clr4的Rik1复合物,之后由异染色质蛋白Swi6识别H3K9me2和H3K9me3进行异染色质的沉默<sup>[55]</sup>。由于裂殖酵母中只含有单拷贝的Dicer和Ago蛋白,使得裂殖酵母成为研究RNAi有利的模式生物。实验证明,RNAi的缺失将导致*dg*和*dh*重复序列区域H3K9me2减少<sup>[54]</sup>。异染色质沉默建立在“Phospho-Methyl switch”调控的基础上:组蛋白H3S10位磷酸化能够阻止Swi6和H3K9me2结合,H3S10磷酸化水平在分裂的起始(S期)有显著的提高导致Swi6-H3K9me2含量减少,通过这种方式使得异染色质得到转录<sup>[56]</sup>。H3S10磷酸化在G<sub>2</sub>期早期消失,此时Swi6与H3K9me2再重新结合形成沉默的异染色质。

裂殖酵母主要的异染色质区域都受到RNAi的调控,但是与着丝粒不同,酵母的端粒区和沉默配对型区在缺乏RNAi的情况下仍然能够保持异染色

质的形态, 暗示着除了 RNAi 以外可能有别的途径参与异染色质的形成。

### 3 展望

表观遗传调控在细胞增殖、DNA损伤修复和异染色质形成方面发挥着重要的作用, 也是维持基因组稳定性的基础。表观遗传学的研究为临床诊断和治疗提供了良好的前景, 从中有可能发现药物作用的新靶点, 并在重大疾病的早期诊断、治疗和愈后评估中发挥重要作用。事实上, 许多表观遗传机制都最先在低等真核模式生物(如: 酵母、果蝇)获得初步建立, 而后这些机制再得以在哺乳动物细胞中证实和推广。例如: 组蛋白乙酰化与基因转录调控相关的研究最初来源于低等的模式生物<sup>[57]</sup>, 而后ChIP-Sequencing等高通量检测手段的应用使得相关机制在哺乳动物细胞中得到了证实<sup>[58]</sup>。

国际上前期在酵母组蛋白修饰方面的研究主要集中在新的组蛋白密码的发现, 以及编码这种密码的酶(即组蛋白密码的 writer)的研究, 而对于多种密码之间的相互关系以及识别各种密码的复合体(即 reader)却鲜有报道。例如在组蛋白修饰对于 DNA 损伤修复的研究中, H4 乙酰化修饰后是由什么样的蛋白识别并将信号往下游传递的, 仍然是一个未知的过程。因此, 今后以酵母为模式生物研究组蛋白密码将从组蛋白密码的“writer”的研究逐步转向组蛋白密码新的“reader”的研究。

值得关注的是, 对于非编码RNA的研究正在不断地拓宽人类对各种生命现象的认识。诸多研究已经证明非编码RNA在异染色质形成、基因表达调控和DNA损伤修复方面有重要的作用。例如最新的研究表明, RNA在酵母中可以作为DNA损伤修复的模板<sup>[59]</sup>。作者同时指出RNA分子能够直接传递基因组信息到染色体DNA上来维持基因组稳定性。这一在酵母中发现的DNA损伤修复的新机制揭开了RNA研究的新领域。另外, 研究发现温度对RNAi有一定的影响, RNAi受到高温的抑制<sup>[60]</sup>。在高温和低温的情况下, RNAi引起的沉默现象也不同。这一现象可能也可以解释动植物中一些与温度相关的遗传现象, 比如植物生长过程中春化现象等等。然而, 这方面的研究毕竟还刚起步, 许多细节无法正确合理地阐述, 有待于更加深入的探索。因此, 在未来, 表观遗传

研究可能逐渐从组蛋白修饰领域转向非编码RNA领域。

除此之外, DNA 甲基化、组蛋白修饰和非编码RNA如何统筹调控来维持基因组稳定性将成为未来表观遗传学的主要研究方向。已有的一项模型指出细胞反常地募集诸如 H3K27me3 和 H3K9me3 的沉默信号将导致基因启动子区 DNA 超甲基化, 继而产生肿瘤<sup>[13]</sup>。在此过程中, 非编码RNA能够将H3K9、H3K27 的组蛋白修饰酶系直接定位于着丝粒同源重复区域, 并有充足的证据表明酵母中双链RNA介导的 RNAi 途径与组蛋白修饰有密切的相关性。由此可见, 癌症与特定基因的沉默相关, 基因沉默与启动子区域 CpG 岛超甲基化相关, DNA 甲基化与组蛋白修饰的变化相关, 而非编码RNA可能参与组蛋白修饰酶系最初的定位。整个框架呼之欲出但仍然缺乏充足有利的证据, 调控机制的研究层层深入却有待更多细节的补充。相信这些假设的验证将有助于更好地解释表观遗传“记忆”的机制, 为维持基因组稳定性的研究提供帮助。

总之, 新的研究将帮助揭开这些未知的奥秘。随着研究者对组蛋白修饰和非编码RNA这两个方向的深入研究, 新的更复杂的表观遗传学修饰机制的揭示, 将为遗传稳定性的维持提供理论基础。

### 参考文献(References):

- [1] Rouse J, Jackson SP. Interfaces between the detection, signaling, and repair of DNA damage. *Science*, 2002, 297 (5581): 547–551. [DOI](#)
- [2] Costa FF. Non-coding RNAs, epigenetics and complexity. *Gene*, 2008, 410 (1): 9–17. [DOI](#)
- [3] Wolffe AP, Matzke MA. Epigenetics: Regulation through repression. *Science*, 1999, 286(5439): 481–486. [DOI](#)
- [4] Rando OJ. Global patterns of histone modifications. *Curr Opin Genet Dev*, 2007, 17 (2): 94–99. [DOI](#)
- [5] 张永彪, 褚嘉佑. 表观遗传学与人类疾病研究进展. *遗传*, 2005, 27(3): 466–472.
- [6] Brownell JE, Zhou JX, Ranalli T, Kobayashi R, Edmondson DG, Roth SY, Allis CD. Tetrahymena histone acetyltransferase A: A homolog to yeast Gcn5p linking histone acetylation to gene activation. *Cell*, 1996, 84 (6): 843–851. [DOI](#)
- [7] Juranek SA, Rupprecht S, Postberg J, Lipps HJ. SnRNA and heterochromatin formation are involved in DNA excision during macronuclear development in stichotrichous



- ciliates. *Eukaryotic Cell*, 2005, 4 (11): 1934–1941. [\[DOI\]](#)
- [8] Liu Y, Taverna SD, Muratore TL, Shabanowitz J, Hunt DF, Allis CD. RNAi-dependent H3K27 methylation is required for heterochromatin formation and DNA elimination in *Tetrahymena*. *Genes Dev*, 2007, 21 (12): 1530–1545. [\[DOI\]](#)
- [9] Huisinga KL, Elgin SCR. Small RNA-directed heterochromatin formation in the context of development: What flies might learn from fission yeast. *Biochim Biophys Acta*, 2009, 1789 (1): 3–16.
- [10] Shi YJ, Lan F, Matson C, Mulligan P, Whetstone JR, Cole PA, Casero RA, Shi Y. Histone demethylation mediated by the nuclear amine oxidase homolog LSD1. *Cell*, 2004, 119 (7): 941–953. [\[DOI\]](#)
- [11] Auriche C, Di Domenico EG, Ascenzioni F. Budding yeast with human telomeres: A puzzling structure. *Biochimie*, 2008, 90(1): 108–115.
- [12] Schoeftner S, Blasco MA. A 'higher order' of telomere regulation: telomere heterochromatin and telomeric RNAs. *Embo J*, 2009, 28 (16): 2323–2336. [\[DOI\]](#)
- [13] Ting AH, McGarvey KM, Baylin SB. The cancer epigenome-components and functional correlates. *Genes Dev*, 2006, 20 (23): 3215–3231. [\[DOI\]](#)
- [14] Bernstein E, Allis CD. RNA meets chromatin. *Genes Dev*, 2005, 19 (14): 1635–1655. [\[DOI\]](#)
- [15] Colot V, Rossignol JL. Eukaryotic DNA methylation as an evolutionary device. *Bioessays*, 1999, 21(5): 402–411.
- [16] Antequera F, Tamame M, Villanueva JR, Santos T. DNA Methylation in the Fungi. *J Biol Chem*, 1984, 259 (13): 8033–8036.
- [17] Kouzminova E, Selker EU. dim-2 encodes a DNA methyltransferase responsible for all known cytosine methylation in *Neurospora*. *Embo J*, 2001, 20(15): 4309–4323. [\[DOI\]](#)
- [18] Altaf M, Saksouk N, Cote J. Histone modifications in response to DNA damage. *Mutat Res*, 2007, 618(1–2): 81–90.
- [19] Fillingham J, Keogh MC, Krogan NJ. gamma H2AX and its role in DNA double-strand break repair. *Biochem Cell Biol*, 2006, 84 (4): 568–577. [\[DOI\]](#)
- [20] Foster ER, Downs JA. Histone H2A phosphorylation in DNA double-strand break repair. *Febs J*, 2005, 272 (13): 3231–3240. [\[DOI\]](#)
- [21] Neilson C, Santos-Rosa H, Bannister A, Kouzarides T. Chromatin modifications and their function. *Febs J*, 2006, 273: 22–22.
- [22] Kouzarides T. Chromatin modifications and their function. *Cell*, 2007, 128 (4): 693–705. [\[DOI\]](#)
- [23] Morrison AJ, Kim JA, Person MD, Highland J, Xiao J, Wehr TS, Hensley S, Bao Y, Shen J, Collins SR, Weissman JS, Delrow J, Krogan NJ, Haber JE, Shen X. Mec1/Tel1 phosphorylation of the INO80 chromatin remodeling complex influences DNA damage checkpoint responses. *Cell*, 2007, 130 (3): 499–511. [\[DOI\]](#)
- [24] Wu WH, Wu CH, Ladurner A, Mizuguchi G, Wei D, Xiao H, Luk E, Ranjan A, Wu C. N Terminus of Swr1 Binds to histone H2AZ and provides a platform for subunit assembly in the chromatin remodeling complex. *J Biol Chem*, 2009, 284 (10): 6200–6207. [\[DOI\]](#)
- [25] Doyon Y, Selleck W, Lane WS, Tan S, Cote J. Structural and functional conservation of the NuA4 histone acetyltransferase complex from yeast to humans. *Mol Cell Biol*, 2004, 24 (5): 1884–1896. [\[DOI\]](#)
- [26] Sterner DE, Berger SL. Acetylation of histones and transcription-related factors. *Microbiol Mol Biol Rev*, 2000, 64 (2): 435–459. [\[DOI\]](#)
- [27] Selleck W, Fortin LL, Sermwittayawong D, Cote J, Tan S. The *Saccharomyces cerevisiae* Piccolo NuA4 histone acetyltransferase complex requires the enhancer of polycomb A domain and chromodomain to acetylate nucleosomes. *Mol Cell Biol*, 2005, 25(13): 5535–5542. [\[DOI\]](#)
- [28] Galarneau L, Nourani A, Boudreault AA, Zhang Y, Heliot L, Allard S, Savard J, Lane WS, Stillman DJ, Cote J. Multiple links between the NuA4 histone acetyltransferase complex and epigenetic control of transcription. *Mol Cell*, 2000, 5(6): 927–937. [\[DOI\]](#)
- [29] Verdone L, Caserta M, Di Mauro E. Role of histone acetylation in the control of gene expression. *Biochem Cell Biol*, 2005, 83(3): 344–353. [\[DOI\]](#)
- [30] Downs JA, Allard S, Jobin-Robitaille O, Javaheri A, Auger A, Bouchard N, Kron SJ, Jackson SP, Cote J. Binding of chromatin-modifying activities to phosphorylated histone H2A at DNA damage sites. *Mol Cell*, 2004, 16(6): 979–990. [\[DOI\]](#)
- [31] Wysocki R, Javaheri A, Allard S, Sha F, Cote J, Kron SJ. Role of Dot1-dependent histone H3 methylation in G(1) and S phase DNA damage checkpoint functions of Rad9. *Mol Cell Biol*, 2005, 25(19): 8430–8443. [\[DOI\]](#)
- [32] Giannattasio M, Lazzaro F, Plevani P, Falconi MM. The DNA damage checkpoint response requires histone H2B ubiquitination by Rad6-Bre1 and H3 methylation by Dot1. *J Biol Chem*, 2005, 280(11): 9879–9886. [\[DOI\]](#)
- [33] Sanders SL, Portoso M, Mata J, Bahler J, Allshire RC, Kouzarides T. Methylation of histone H4 lysine 20 controls recruitment of Crb2 to sites of DNA damage. *Cell*, 2004, 119(5): 603–614. [\[DOI\]](#)
- [34] Greeson NT, Sengupta R, Arida AR, Jenuwein T, Sanders SL. Di-methyl H4 Lysine 20 Targets the Checkpoint Protein Crb2 to Sites of DNA Damage. *J Biol Chem*, 2008, 283(48): 33168–33174. [\[DOI\]](#)



- [35] Pile LA, Schlag EM, Wassarman DA. The SIN3/RPD3 deacetylase complex is essential for G(2) phase cell cycle progression and regulation of SMRTER corepressor levels. *Mol Cell Biol*, 2002, 22 (14): 4965–4976. [\[DOI\]](#)
- [36] Bernstein BE, Tong JK, Schreiber SL. Genomewide studies of histone deacetylase function in yeast. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, 97 (25): 13708–13713. [\[DOI\]](#)
- [37] Kadosh D, Struhl K. Targeted recruitment of the Sin3-Rpd3 histone deacetylase complex generates a highly localized domain of repressed chromatin *in vivo*. *Mol Cell Biol*, 1998, 18 (9): 5121–5127.
- [38] Kaplan T, Liu CL, Erkmann JA, Holik J, Grunstein M, Kaufman PD, Friedman N, Rando OJ. Cell Cycle- and Chaperone-Mediated Regulation of H3K56ac Incorporation in Yeast. *PLoS Genet*, 2008, 4(11): e1000270. Epub 2008 Nov. 21.
- [39] Kim JA, Haber JE. Chromatin assembly factors Asf1 and CAF-1 have overlapping roles in deactivating the DNA damage checkpoint when DNA repair is complete. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106(4): 1151–1156. [\[DOI\]](#)
- [40] Das C, Lucia MS, Hansen KC, Tyler JK. CBP/p300-mediated acetylation of histone H3 on lysine 56. *Nature*, 2009, 459 (7243): 113–U123. [\[DOI\]](#)
- [41] Cheung WL, Turner FB, Krishnamoorthy T, Wolner B, Ahn SH, Foley M, Dorsey JA, Peterson CL, Berger SL, Allis CD. Phosphorylation of histone H4 serine 1 during DNA damage requires casein kinase II in *S-cerevisiae*. *Curr Biol*, 2005, 15(7): 656–660. [\[DOI\]](#)
- [42] Yang B, Miller A, Kirchmaier AL. HST3/HST4-dependent Deacetylation of Lysine 56 of Histone H3 in Silent Chromatin. *Mol Biol Cell*, 2008, 19 (11): 4993–5005. [\[DOI\]](#)
- [43] Downs JA. Histone H3 K56 acetylation, chromatin assembly, and the DNA damage checkpoint. *DNA Repair*, 2008, 7(12): 2020–2024. [\[DOI\]](#)
- [44] Xhemalce B, Miller KM, Driscoll R, Masumoto H, Jackson SP, Kouzarides T, Verreault A, Arcangioli B. Regulation of histone H3 lysine 56 acetylation in *Schizosaccharomyces pombe*. *J Biol Chem*, 2007, 282 (20): 15040–15047. [\[DOI\]](#)
- [45] Shogren-Knaak M, Ishii H, Sun JM, Pazin MJ, Davie JR, Peterson CL. Histone H4-K16 acetylation controls chromatin structure and protein interactions. *Science*, 2006, 311(5762): 844–847. [\[DOI\]](#)
- [46] Ahn SH, Cheung WL, Hsu JY, Diaz RL, Smith MM, Allis CD. Sterile 20 kinase phosphorylates histone H2B at serine 10 during hydrogen peroxide-induced apoptosis in *S. cerevisiae*. *Cell*, 2005, 120(1): 25–36. [\[DOI\]](#)
- [47] 于莹莹, 杨景, 黄鹰. 芽殖酵母和裂殖酵母中异染色质形成机制. *中国生物化学与分子生物学报*, 2008, 24(8): 692–697.
- [48] van Leeuwen F, Gafken PR, Gottschling DE. Dot1p modulates silencing in yeast by methylation of the nucleosome core. *Cell*, 2002, 109 (6): 745–756. [\[DOI\]](#)
- [49] Ng HH, Feng Q, Wang HB, Erdjument-Bromage H, Tempst P, Zhang Y, Struhl K. Lysine methylation within the globular domain of histone H3 by Dot1 is important for telomeric silencing and Sir protein association. *Gene Dev*, 2002, 16(12): 1518–1527. [\[DOI\]](#)
- [50] Ng HH, Ciccone DN, Morshead KB, Oettinger MA, Struhl K. Lysine-79 of histone H3 is hypomethylated at silenced loci in yeast and mammalian cells: A potential mechanism for position-effect variegation. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100(4): 1820–1825. [\[DOI\]](#)
- [51] Kimura A, Umehara T, Horikoshi M. Chromosomal gradient of histone acetylation established by Sas2p and Sir2p functions as a shield against gene silencing. *Nature Genet*, 2002, 32(3): 370–377. [\[DOI\]](#)
- [52] Suka N, Luo KH, Grunstein M. Sir2p and Sas2p oppositely regulate acetylation of yeast histone H4 lysine16 and spreading of heterochromatin. *Nature Genet*, 2002, 32 (3): 378–383. [\[DOI\]](#)
- [53] Venkatasubrahmanyam S, Hwang WW, Meneghini MD, Tong AHY, Madhani HD. Genome-wide, as opposed to local, antisilencing is mediated redundantly by the euchromatic factors Set1 and H2A.Z. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104: 16609–16614. [\[DOI\]](#)
- [54] Hall IM, Shankaranarayana GD, Noma KI, Ayoub N, Cohen A, Grewal SIS. Establishment and maintenance of a heterochromatin domain. *Science*, 2002, 297(5590): 2232–2237. [\[DOI\]](#)
- [55] Huarte M, Lan F, Kim T, Vaughn MW, Zaratiegui M, Martienssen RA, Buratowski S, Shi Y. The fission yeast Jmj2 reverses histone H3 lysine 4 trimethylation. *J Biol Chem*, 2007, 282 (30): 21662–21670. [\[DOI\]](#)
- [56] Yamada T, Fischle W, Sugiyama T, Allis CD, Grewal SIS. The nucleation and maintenance of heterochromatin by a histone deacetylase in fission yeast. *Mol Cell*, 2005, 20(2): 173–185. [\[DOI\]](#)
- [57] Kurdistani SK, Grunstein M. Histone acetylation and deacetylation in yeast. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2003, 4(4): 276–284. [\[DOI\]](#)
- [58] Roh TY, Cuddapah S, Zhao K. Active chromatin domains are defined by acetylation islands revealed by genome-wide mapping. *Genes Dev*, 2005, 19(5): 542–552. [\[DOI\]](#)
- [59] Storici F, Bebenek K, Kunkel TA, Gordenin DA, Resnick MA. RNA-templated DNA repair. *Nature*, 2007, 447(7142): 338–341. [\[DOI\]](#)
- [60] Kloc A, Zaratiegui M, Nora E, Martienssen R. RNA interference guides histone modification during the S phase of chromosomal replication. *Curr Biol*, 2008, 18 (7): 490–495. [\[DOI\]](#)