

DOI: 10.3724/SP.J.1005.2012.00810

组蛋白修饰及其生物学效应

王维^{1,2}, 孟智启², 石放雄¹

1. 南京农业大学动物科技学院, 南京 210095;
2. 浙江省农业科学院蚕桑研究所, 杭州 310021

摘要: 组蛋白是染色质的主要成分之一, 其氨基端的氨基酸残基可以被共价修饰, 进而改变染色质构型, 导致转录激活或基因沉默。组蛋白修饰除了简单地调控基因表达, 更在于它可以招募蛋白复合体, 影响下游蛋白, 从而参与细胞分裂、细胞凋亡和记忆形成, 甚至影响免疫系统和炎症反应等。不仅如此, 最近的研究表明, 组蛋白修饰与 CTD 密码、生物节律、DNA 修复之间也存在一定的联系。这些发现证明了组蛋白修饰的重要性。在组蛋白的密码形成与密码破译、修饰级联与招募蛋白质过程中, 蛋白复合体的特殊结构域起到的中介作用都是无法替代的。因此, 这些特殊结构域将是了解“组蛋白密码”的关键。目前质谱分析等技术的广泛应用, 正使得许多新的结构域不断被发现。文章旨在对组蛋白密码的基本内容作一述评, 同时对可能的研究热点进行展望。

关键词: 组蛋白修饰; 染色质; 基因表达; 结构域; 蛋白复合体

Modification and biological role of histone

WANG Wei^{1,2}, MENG Zhi-Qi², SHI Fang-Xiong¹

1. College of Animal Science and Technology, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China;
2. The Sericulture Research Institute, Zhejiang Academy of Agricultural Sciences, Hangzhou 310021, China

Abstract: Histone is one of critical components of chromatin, which amino acid residues at the N-terminus can be covalently modified. Histone modification (HM) can change the chromatin conformation and induce transcription or gene silencing. Not only can HM control gene expression, but also participate in cell division, cell apoptosis and memory formation by recruiting protein complex and affecting downstream proteins. HM can also have the impact on immune system and inflammatory reaction. In addition, lots of recent studies have indicated that histone code (or HM) is related to the CTD code, circadian clock and DNA repair, implying the significance of HM. The domains of protein complex can never be replaced, because they play a mediating role during the formation and deciphering of histone code, as well as the modification cascade and the recruitment of protein complex. Therefore, these domains are very important to comprehend the histone code. Because of the widespread use of analytical techniques, such as mass-spectrometry, new domains will be discovered. Herein, our review focuses on the basic concept, recent progress and hot points of the histone code study.

Keywords: histone modification; chromatin; gene expression; domain; protein complex

收稿日期: 2011-12-17; 修回日期: 2012-02-21

基金项目: 国家自然科学基金项目(编号: 31172206)资助

作者简介: 王维, 硕士研究生, 专业方向: 动物遗传育种与繁殖。E-mail: weiwang1895@163.com

通讯作者: 石放雄, 教授, 博士生导师, 研究方向: 动物遗传育种与繁殖。E-mail: fxshi@njau.edu.cn

网络出版时间: 2012-6-28 10:53:10

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.1913.R.20120628.1053.005.html>

与原核生物不同, 绝大多数真核生物DNA以结构复杂、高度折叠的染色质为载体, 这使得两者在基因表达上具有很大的差异^[1]。染色质以核小体为基本组成单位, 每个核小体包括一个八聚体的组蛋白(两分子的H2A-H2B二聚体, 两分子的H3 和两分子的H4)以及缠绕其上 1.75 圈的长约 146 bp的DNA, 核小体之间以 40~60 bp的DNA连接, 组蛋白H1 与之结合。八聚体的三维结构为球状, 而组蛋白亚基的氨基端则游离出来, 称为氨基端尾巴(或组蛋白尾巴)。氨基端尾巴上的许多残基可以被共价修饰, 不同位点上的不同修饰可形成大量特殊信号, 类似各种不同的密码, 供其他蛋白质识别, 并影响一系列相关蛋白质的活动, 最终调控真核生物基因表达, 这就是“组蛋白密码”学说^[2]。简单地说, 组蛋白密码就是通过对组蛋白进行共价修饰来控制基因表达的过程。

这一过程中存在几个关键点: 一是共价修饰位点; 二是蛋白复合体, 它至少需要具有两种功能——转移酶活性和识别功能; 三是组蛋白密码可以调控基因表达, 进而产生多种生物学效应。自从 10 年前Allis等^[2,3]比较系统地提出“组蛋白密码”学说以来, 后续研究大都是对其纵向地深入探讨, 或者横向地拓展丰富, 如进一步揭秘组蛋白密码, 解释某种修饰的生物学效应, 但是将两者放在同等重要的地位来进行总结归纳的研究则相对较少。

1 修饰类型及其生物学效应

组蛋白上能发生共价修饰的氨基酸残基称为修饰位点。修饰位点一般位于 4 种常见组蛋白(H2A、H2B、H3 和H4, 尤其是H3 和H4)的游离氨基端尾巴, 常见的修饰种类包括组蛋白乙酰化/去乙酰化、甲基化/去甲基化、泛素化/去泛素化和磷酸化, 以及研究较少的SUMO化、生物素化等。其中, 组蛋白甲基化最容易发生在H3K(表示H3 上的Lys, 下同)和H3R上; 泛素化一般发生在H2A和H2B的氨基端残基上, H2AK119(表示H2A 上第 119 位 Lys, 下同)和H2BK120、H2BK123 是泛素化的相对保守位点^[4]; 乙酰化在 4 种组蛋白上都可发生, 其中尤以Lys的乙酰化为常见; 磷酸化则较少, 已知的修饰位点有H3T3、H3S10 和H3S28 等^[5](表 1)。另外, 氨基端尾上往往有多个修饰位点, 而单一位点上可发生多种

共价修饰, 且不同位点上的不同修饰可能具有不同的作用: 这不仅表明组蛋白修饰的多样性, 也使得修饰级联成为可能。比较复杂的甲基化有 4 种状态: 无甲基化(me0)、单甲基化(me1)、双甲基化(me2)和三甲基化(me3)^[8]。

组蛋白修饰最基本的作用是调控基因表达。例如组蛋白甲基化多导致基因沉默, 去甲基化则相反; 乙酰化一般使转录激活, 去乙酰化则相反。当然, 也可在此基础上产生复杂的生物学效应。例如组蛋白去乙酰化酶HDAC可影响免疫系统^[9], H3K4me3、H3K9me2 能够调控记忆的形成^[10], 而且H3K甲基化与X染色体失活、基因组印记和异染色质形成有关(表 1); H3 乙酰化通过多种机制调控依赖ATP的染色质重塑^[11], 并参与炎症反应; H2A、H2B泛素化则与DNA损害反应有关^[12], 而H3S28 磷酸化与H3K27 乙酰化可激活转录并拮抗聚梳基因*polycomb*沉默^[13], 另外磷酸化不仅是某些信号转导通路的重要中间步骤, 而且常与其他类型的修饰互相作用, 共同参与细胞分裂、影响细胞周期^[14], 所以组蛋白磷酸化渐渐受到研究者的重视。

2 蛋白复合体

共价修饰组蛋白的蛋白质一般以复合体的形式发挥作用。蛋白复合体在组蛋白密码的形成中至关重要, 它至少需要拥有两种功能: 转移酶活性和识别功能。前者修饰组蛋白, 形成某种“密码”; 后者则扮演“密码破译”的角色。如果将组蛋白修饰与经典DNA 信息转录作一个类比, 蛋白复合体就像是tRNA。它的转移酶活性携带组蛋白修饰信息, 而它的特殊结构域则如同反密码子起到识别作用。所以, 对蛋白复合体结构的深入研究将可能在破解组蛋白密码中发挥至关重要的作用。

2.1 转移酶活性

蛋白复合体往往只是某单一亚基发挥酶活性来转移或者脱去甲基、乙酰基等基团, 其他亚基则发挥辅助因子作用。可依据修饰类型不同对常见蛋白复合体进行分类。(1)乙酰化酶与去乙酰化酶。目前已被鉴定的组蛋白乙酰化酶(HAT)有 20 多种, 包括以下家族^[15]: GNAT家族, 如Gen5、P/CAF、Elp3、Hat1、Hat2 等; MYST家族, 主要包括MOZ、

表 1 常见组蛋白修饰与功能^[6, 7]

组蛋白	修饰位点	修饰类型	蛋白复合体	主要功能	可与之识别的结构域 ^[6]
H2A	S1	磷酸化	MSK1	抑制基因转录	
	K5	乙酰化	p300	激活基因转录	
	K119	泛素化	hPRC1L	参与 polycomb 沉默	
H2B	K5	乙酰化	p300	激活基因转录	
	K12	乙酰化	p300	激活基因转录	
	S14	磷酸化	Mst1	细胞凋亡, DNA 修复	
	K15	乙酰化	p300	激活基因转录	
	K20	乙酰化	p300	激活基因转录	
	S33	磷酸化	TAF1	细胞周期演进和发育	
	K123	泛素化	Ubc2	调节 H3K4 甲基化	
H3	R2	甲基化	CARM1		
	T3	磷酸化	Haspin	细胞分裂染色体排列	
	K4	甲基化	Set1/MLL/Ash1	激活基因转录	PHD/Chromo/WD40/ADD
	R8	甲基化	PRMT5	调节细胞生长和增生	
	K9	甲基化	SUV39h1/2	调节染色质结构	Chromo/PHD/Tudor/WD40
	S10	磷酸化	RSK2/MSK1	细胞分裂, 细胞凋亡	14-3-3
	T11	磷酸化	Dlk/ZIP	细胞分裂	
	K14	乙酰化	p300/PCAF	激活基因转录	TandemPHD/Tandem Bromo
	R17	甲基化	CARM1	激活基因转录	Tudor
	K18	乙酰化	p300	激活基因转录	
	K23	乙酰化	p300	激活基因转录	Chromo
	K27	甲基化	Eed-Ezh2	X 染色体失活	Chromo/WD40
	S28	磷酸化	Aurora/PKA	细胞分裂, 细胞凋亡	
	K36	甲基化	NSD1	激活基因转录	Chromo/PWWP
	K79	甲基化	Dot1L/Dot1p	端粒沉默	Tudor
H4	S1	磷酸化	CKII	DNA 损伤修复	
	R3	甲基化	PRMT1/PRMT5	活化染色质	Tudor/ADD
	K5	乙酰化	p300	激活基因转录	Bromo
	K8	乙酰化	p300/PCAF	激活基因转录	Bromo
	K12	乙酰化	p300	激活基因转录	
	K16	乙酰化	hMOF	激活基因转录	Bromo
	K20	甲基化	PR-Set7/NSD1	基因沉默, DNA 修复	Tudor/WD40/MBT/PWWP

Ybf2/Sas2 和 Tip; p300/CBP 家族; 核受体辅激活物如 ATCR、SRC1 等。HAT 又可以分为存在于细胞核中乙酰化染色质组蛋白的 A 型, 和存在于细胞质中乙酰化游离组蛋白的 B 型^[15]。组蛋白去乙酰化酶 (HDAC)^[16, 17] 最初在酿酒酵母中发现, 已发现的人类 HDAC 有 18 种, 分别命名为 HDAC1-HDAC11 和 SIRT1-SIRT7。根据与酵母 HDACs 的同源性, 去乙酰化酶可细分为 3 类, 第一、二类均对去乙酰化酶抑制剂 trichostatin A (TSA) 敏感, 第三类对 TSA 不敏感

但需要 NAD⁺ 作为辅酶^[16, 17]。(2) 甲基化酶与去甲基化酶。甲基化转移酶 (HMT) 包括作用于精氨酸的 PRMT1、PRMT3、PRMT4 和 PRMT5 等, 作用于赖氨酸的 MLL 家族、Su(var)3-9、Clr4、Suv39h1、Suv39h2、G9a 和 ESET、SET1、SET2、SET9 等。组蛋白去甲基酶 (HDMT) 有 LSD1^[18] 和 JHDM1A^[19] 等, LSD1 在体外去除 H3K4me2 和 H3K4me1^[18], 在体内去除 H3K9me2 和 H3K9me1^[18], 而 JHDM1A 在一定条件下可特异性地使甲基化地 H3K36 去甲基化^[19]。(3)

泛素化酶与去泛素化酶。泛素化需要 3 种酶^[20]: 泛素活化酶E1、泛素接合酶E2 和泛素连接酶E3。去泛素化酶包括泛素羧基端水解酶家族(UCH)和泛素特异性加工蛋白酶家族(UBP)^[21]。(4)磷酸化酶。Haspin 可以磷酸化 H3T3^[22]和 H3S10, 许多蛋白激酶如 MAPK、MSK1^[13]等也可归于此类。

2.2 结构域及其识别功能

如果将组蛋白修饰称之为“组蛋白密码”, 那么蛋白复合物的特殊结构域就可以称之为解读者(readers)。蛋白复合体的识别作用是通过它的特殊结构域实现的。特殊结构域是指蛋白质的空间结构上距离较近的氨基酸残基所形成的特殊结构, 它可以通过疏水作用或静电作用等方式与被共价修饰的组蛋白发生相互作用。这种相互作用也被称为结构域的“识别”功能。图 1 显示了人 p300/CBP 相关因子(p300/CBP-associated factor, PCAF)的 Bromo 结构域识别 H3K36 乙酰化的过程, 当然, PCAF 本身也是一种重要的组蛋白乙酰化酶。首先 PCAF Bromo 结构域氨基酸残基 Y802、Y809 以及另一侧的 A757、Y760 等与乙酰化 H3K36(K36ac)相互作用, 完成初步识别过程; 与此同时 H3 上氨基酸残基 P(+2)掩盖 A757、P758 形成的疏水口袋进而稳定构象, 并确保 K36ac 与 N803 形成氢键。接着 H3 上氨基酸残基 H(+3)的苯环, 以及 H(+3)与 Y802、P804 的相互作用等等将会有利于强化 PCAF Bromo 对 H3K36ac 的识别。

1999 年, Dhalluin 等^[23]首先发现 Bromo 结构域与乙酰化的 H4K8 相互作用。随后, 其他结构域开始被发现, 目前文献中报导^[24]的结构域有 SH2、SH3、

PDZ、FHA、14-3-3、WW、Chromo、Bromo、Tudor、PHD 和 MBT、CW 结构域^[25]等等。例如 Bromo 结构域可以识别组蛋白乙酰化的 Lys 而不仅限于 H4K8; PHD 结构域识别甲基化 H3K4 和乙酰化的 H3K14; CW 结构域识别不同甲基化状态的 H3K4; Tudor 和 WD40 可同时识别甲基化的 H3K9(表 1)。而随着实验技术的改进, 越来越多的结构域正被发现或者即将被发现, 证明了这是一个庞大的家族。同时发现, 一个蛋白复合体上可能具有多个重复或相异的结构域, 不同的结构域可以识别同一种组蛋白修饰, 同一种结构域位于不同蛋白复合体时可能识别不同的组蛋白修饰^[6], 例如一种常见的结构域 Chromo, 可同时识别 H3K23 乙酰化和 H3K27 甲基化(表 1)。

2.3 组蛋白修饰的级联

结构域的识别功能令组蛋白修饰之间的级联得以形成。首先在信号因子的刺激下, 蛋白复合体对组蛋白进行定点的共价修饰, 这种修饰可以被另一种酶复合体的特异结构域所识别并结合, 引发新一轮的修饰或者去修饰, 依此类推, 各种修饰相互作用形成一种级联系统将信号放大(而去修饰则意味着信号的终止): 信号放大或终止的情形都存在, 具体可能取决于某种反馈性的信号通路^[3, 26]。在某些文献中, 若某一修饰是由同一组蛋白上的其他修饰

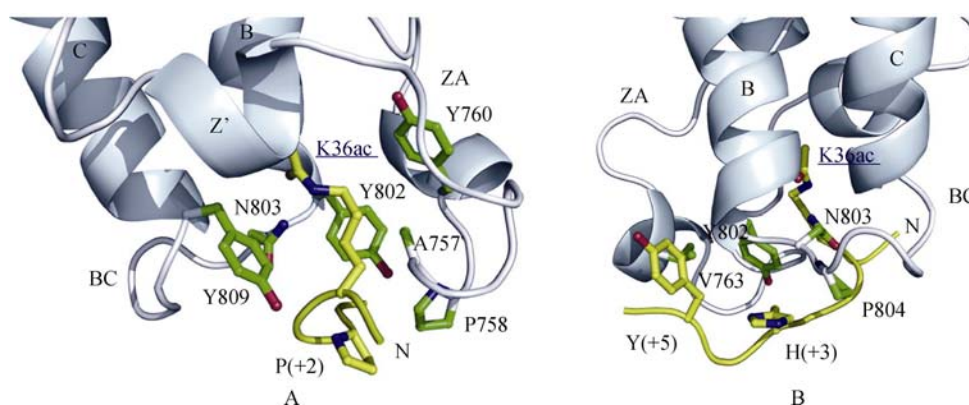


图 1 人 PCAF 蛋白通过 Bromo 结构域识别 H3K36 乙酰化(引自 PDB ID: 2RNW)

银灰色螺旋表示 Bromo 结构域, 由保守的左手四螺旋 α_Z 、 α_A 、 α_B 、 α_C 以及 ZA loop 和 BC loop 组成。N 指 H3 组蛋白氨基端多肽链的氨

基端。绿色表示PCAF碳原子,黄色表示H3多肽链碳原子,红色为氧原子,蓝色为氮原子。A:初步识别,B:识别强化(这种强化机制在不同蛋白同种结构域往往不同,即存在特异性)。

引发,则称为顺式组蛋白通路;若某一修饰由另一组蛋白上的修饰引发,则称为反式组蛋白通路;其中顺式通路较为常见^[27]。图2显示了两条反式组蛋白通路:(1)信号诱导H2BK123泛素化、H3K79甲基化等一系列修饰,使非活化染色质模板转变为结构开放的常染色质,最终有利于转录活化;(2)信号诱导H3K9甲基化,进而招募HP1、HDAC等并促进DNA甲基化,使非活化染色质模板转变为高度浓缩的异染色质,可抑制基因转录。

级联是组蛋白修饰最鲜明的特点,是组蛋白密码的核心,也是小小一个氨基酸残基的共价修饰能产生复杂生物学效应的基础。人们发现H3S10磷酸化有时抑制组蛋白乙酰化,最近的研究表明^[29],这是组蛋白修饰级联的结果:H3S10被磷酸化后可招募14-3-3蛋白,14-3-3蛋白作用于HDAC1基因的启动子,导致转录激活,最终合成去乙酰化酶HDAC1。H3K9或K3K14的乙酰化可以强化对14-3-3的招募^[29]。

总的说来,单一的蛋白复合体可以在组蛋白、核小体、核小体与核小体之间这3个不同的层次上发挥作用^[6]:(1)TFIID的亚基TAF1的双bromo结构域可以识别H4K5-H4K12双乙酰化;(2)蛋白复合体PRC2有两个亚基EED和RbAp48,EED的WD40结构域可以结合任一甲基化的组蛋白而RbAp48亚基可以与H4结合;(3)SIR蛋白复合体与三核小体模板(trinucleosomal templates)至少有3个结合点——Sir4亚基与DNA,Sir3亚基与未修饰的H4尾巴,Sir3亚基与组蛋白H3(H3K79容易甲基化)。

3 组蛋白密码与基因表达

染色质是真核生物DNA的载体,可以高度折叠固缩。这样的染色质若要进行基因转录,其构型需要从压缩状态转变为松散状态,即染色体的结构决定基因的转录状态。事实上,单一位点的修饰即可改变染色体构象^[30],进而调控基因表达。Peterson等^[31]

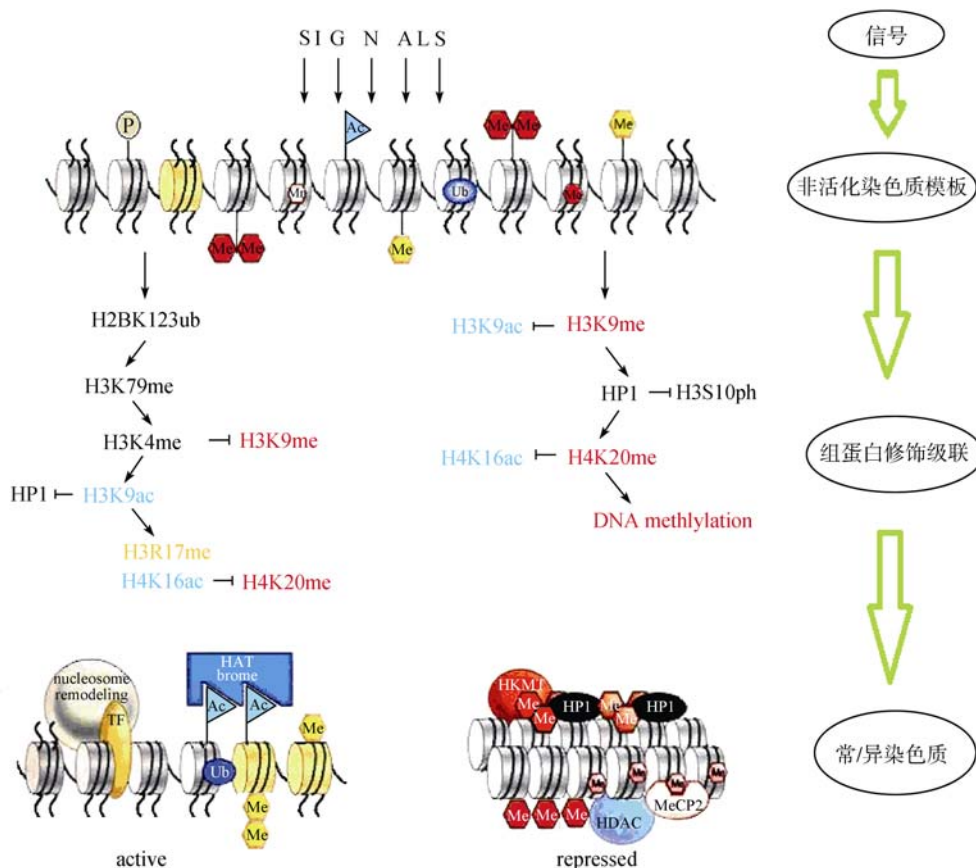


图2 组蛋白修饰形成级联系统调控基因表达(引自Allis等^[28],略有改动)

P/ph: 磷酸化, Ac/ac: 乙酰化, Me/me: 甲基化, Ub/ub: 泛素化; HP1: 异染色质蛋白1; TF: 转录因子。

发现, 位于H4 组蛋白上某特异位点的Lys经单一的乙酰化修饰后, 可抑制染色体的折叠固缩, 进而促进基因表达。他们首先化学合成H4 组蛋白 22 肽的氨基端尾巴, 同时使位于 16 位的Lys乙酰化, 然后通过DNA重组技术使得这一尾巴结合到H4 组蛋白的剩余部分上去构成完整的H4 组蛋白。将被修饰的H4 组蛋白与来自核小体的组蛋白混合。添加镁盐可导致核小体的凝聚, 但是含有乙酰化尾巴H4 组蛋白的染色体经镁盐处理时, 并没有发现折叠固缩现象。这是第一次发现, 某单一一位点的组蛋白修饰(H4K16 乙酰化)可以改变染色体的构型。其可能的分子机制是: 负电荷的乙酰基转移到Lys的 NH_3^+ 后消除其正电荷, 弱化DNA与组蛋白之间的相互作用, 染色质构型相对松散, 有利于转录因子与RNA聚合酶II形成转录起始复合物, 进而使转录激活^[2, 3, 31]。

更普遍的情况是组蛋白修饰形成级联系统来长久而广泛地控制基因表达(图2)。一个经典的例子是H3K9 甲基化修饰引起的基因沉默^[32]。在信号因子的作用下, 组蛋白甲基转移酶Su(var)3-9 对H3K9 进行甲基化修饰, H3K9 甲基化可被异染色质蛋白 1 (HP-1)的chromo结构域所识别并结合形成Su(var)3-9/HP-1 复合体, 复合体可以控制*cyclinE*启动子, 抑制基因转录。最新的研究表明, Su(var)3-9/HP-1 首先要被RB蛋白招募, 才能发挥作用。

综上所述, 组蛋白密码影响基因表达的途径可能不止一种。一般认为, 主要存在以下 3 种方式: (1)组蛋白修饰改变核小体周围环境如电荷量、pH等, 加强或削弱转录因子或转录辅因子的作用。在同等条件下, HP1 与H3K9me2 之间的亲和力($7 \mu\text{mol/L}$)是HP1 与H3K9me3 之间亲和力($2.5 \mu\text{mol/L}$)的 2.8 倍^[32]; (2)组蛋白修饰导致染色质重塑, 改变原有构型, 进而影响蛋白质与蛋白质、蛋白质与DNA的相互作用。转录因子与组蛋白处于动态的竞争状态, SWI/SNF复合物可促进转录因子替换组蛋白(即导致染色质

重塑), 启动起因转录, 但SWI/SNF复合物是否作用于组蛋白还有待研究; (3)组蛋白修饰作为一种信号, 影响下游蛋白, 进而调控基因表达。H3 磷酸化是许多基因调控的信号转导途径的重要中间步骤, 而且即使缺乏上游信号, H3 磷酸化酶MSK1 也可以锚定顺式调控元件, 有效地激活基因转录^[13]。

4 组蛋白密码的相关研究

众所周知, 组蛋白密码可影响DNA甲基化、基因组印记、X染色体失活^[33]、克隆动物发育异常^[34]、细胞分化和凋亡以及肿瘤等等, 从而造成广泛生物学效应(图3)。近来研究认定, 组蛋白密码与CTD密码、生物钟、有丝分裂、DNA修复等也存在一定联系(图3)。

4.1 组蛋白修饰与其他表观遗传学概念

表观遗传学研究的是不依赖DNA序列差异的细胞核遗传, 与生物体正常生长发育关系密切。经过数十年的发展, 现在一般认为表观遗传学主要包括组蛋白修饰、RNAi、DNA甲基化、X染色体失活、基因组印记、染色质重塑、聚梳基因与三胸基因(*polycomb* and *trithorax* gene)等。不同概念本质上互相联系。以组蛋白修饰为例: RNA诱导沉默复合体(RISC, RNAi所必需)组分缺失可改变H3K9、H3K4 甲基化水平^[35], H3K9 甲基化招募HP1 进而促进DNA甲基化^[32], DNA甲基化本是一种遗传印记; H3K27 甲基化与X染色体失活有关(表1); H3 乙酰化通过多种途径调控依赖ATP的染色质重塑^[11]; Polycomb蛋白沉默染色质而Trithorax蛋白对其进行抑制, 研究发现H3S28 磷酸化、H3K27 乙酰化协同Trithorax拮抗Polycomb活性^[13]。需要注意的是, 各种概念最终均可交汇到染色质——即便看似毫不相关的RNAi, 也可能影响着丝粒异染色质稳定性, 导致裂殖酵母染色体分离障碍^[35]。

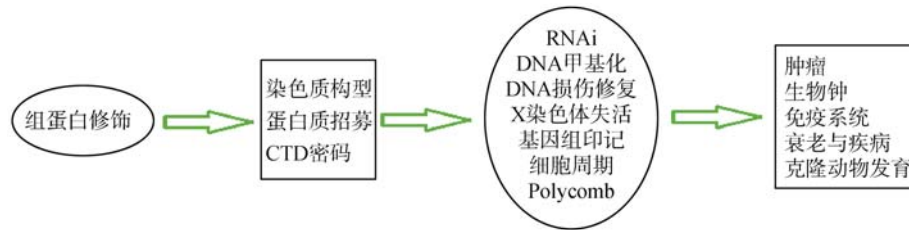


图 3 组蛋白修饰生物学效应的简单图示(图中箭头表示递进关系而非方向性)

4.2 组蛋白密码与 CTD 密码

CTD密码,是指RNA聚合酶II的一个碳端区域(Carboxyl-terminal-domain, CTD),该区域是一段 7 肽(Tyr1-Ser2-Pro3-Thr4-Ser5-Pro6-Ser7)的串联重复序列,活性的转录聚合酶II是这一七肽序列不同位点磷酸化的结果,同时,不同的磷酸化模式可能提供了一套密码,来控制不同的转录因子与RNA聚合酶II的结合,称为CTD密码^[36]。CTD密码可能与组蛋白密码相互联系,来调控基因的表达^[37]。例如,当RNA聚合酶II通过基因的中间时,组蛋白甲基化酶Set2可识别包含Ser-2磷酸化和Ser-5磷酸化的CTD重复区域。首先Set2使H3组蛋白甲基化,接着招募(recruit)组蛋白去乙酰化酶使组蛋白去乙酰化,进而可能改变DNA构象,导致RNA聚合酶II不能引发基因上某个隐秘启动子的转录过程。

4.3 组蛋白密码与生物钟

与生物钟相关的基因有CLOCK、BMAL以及新发现的CCA-1、LHY和TOC-1等。它们的转录过程受到促进因子如CLOCK-BMAL蛋白复合体和抑制因子如PER-CRY蛋白复合体的控制,形成一个转录的反馈环,转录反馈环是生物节律的基础^[38]。与转录强度的振荡性对应,生物钟基因的组蛋白修饰也是以一种节律方式发生。例如研究发现^[39],组蛋白去甲基化酶JARID1a对转录促进因子CLOCK-BMAL复合体的活性有重要影响。可见组蛋白修饰必然与生物钟之间必然存在着某种联系。但是又发现,虽然组蛋白甲基化酶MLL对生物节律很重要,但是当消除其衔接子蛋白WDR5以清除众多生物钟基因组蛋白的甲基化修饰时,基因的生物钟功能却不受影响^[40]。这表明对生物钟真正发挥作用的是组蛋白修饰蛋白复合体而不是修饰本身。也就是说,存在着某种组蛋白之外的修饰靶蛋白,或许可以称之为

“非组蛋白密码”^[41]。

4.4 组蛋白密码与有丝分裂

早在30年前,人们已经发现有丝分裂的一个标记是高水平的组蛋白磷酸化,但是这一组蛋白修饰所扮演的角色却不明确。如今,Alexander等^[42]证明H3组蛋白第3位的苏氨酸(H3T3)经磷酸化修饰后,可以被Survivin的BIR结构域的进化保守的结合口袋所直接识别。Survivin是CPC(Chromosomal passenger complex,在有丝分裂和减数分裂中扮演了多重角色)的组分之一。两者结合后,可以调节染色体对CPC的招募,并导致其激酶亚基Aurora B的激活。随后,磷酸化H3T3的Haspin的激酶活性受到调节,导致依赖Aurora B的纺锤体集合受到阻遏和细胞核重建的抑制。这些发现表明有丝分裂中H3T3组蛋白磷酸化是通过CPC来读出和翻译相关信息以确保精确的细胞分裂的。

4.5 组蛋白密码与DNA修复

正常情形下,生物的基因组处于相对稳定状态。DNA损伤如DNA双链断裂(DNA double-strand break, DNA DSB)则打破这种稳定性,“稳定性的打破”再作为一种信号影响一系列下游蛋白,最后“反馈性”地修复DNA损伤并重新稳定基因组。组蛋白就是一种非常重要的下游蛋白^[43],组蛋白的磷酸化、乙酰化、甲基化、泛素化等多种修饰类型可作为一种损伤标记,同时招募修复蛋白,在DNA的损伤修复过程中扮演了至关重要的角色^[44-46]:(1)磷酸化。DNA损伤后的一个明显变化就是组蛋白变体H2AX S139的磷酸化,它可以招募修复酶如MDC1、53BP1以及PP2A、Pph3等,这可能为阐明DNA修复的分子机制提供了出路。(2)乙酰化。DNA损伤后组蛋白乙酰化位点包括H3K9、H3K56、H4K5、H4K8等等。乙酰化的主要作用在于诱导染色质的去浓缩,便于其与相关蛋白的相互作用。当然,为了维持基

因组稳定, 乙酰化后经常是大规模的去乙酰化。(3) 甲基化。组蛋白甲基化也与DSB的检测修复有关, 常见修饰位点有H3K79和H4K20等。(4) 泛素化。组蛋白的泛素化修饰在介导BRCA1/BRAD2修复蛋白复合体与DSB位点的结合过程中, 是必不可少的。

4.6 组蛋白修饰和结构域的鉴定

Edman降解法和免疫测定法以前常用于组蛋白修饰的鉴定, 由于它们明显的缺点和不足, 现在正渐渐被淘汰。质谱分析(Mass spectrometry analysis)由于其快速、精确、高灵敏度和高分辨率等优点, 已广泛运用于组蛋白修饰位点的鉴定和蛋白复合体结构域的识别与发掘。例如, Huyen等^[47]通过质谱分析发现53BP1更容易与甲基化的H3K79结合。另外, 以荧光标记的组蛋白多肽为探针的蛋白质微阵列技术, 应用也很广泛, 例如Kim等^[48]证明Tudor、MBT和Chromo结构域可识别Lys甲基化。而一种结合质谱分析和标记技术的SILAC技术^[49]在研究H3不同甲基修饰位点可促进转录(H3K4、H3K36和H3K79)或沉默基因(H3K9、H3K27)过程中发挥了重要作用。在组蛋白修饰类型的鉴定研究方面, 以抗体技术为基础的全基因组染色质免疫共沉淀基因芯片ChIP-chip、染色质免疫共沉淀高通量测序ChIP-seq、定量染色质免疫共沉淀qChIP等技术的应用较为普遍。

5 展望

许多研究已经表明, 组蛋白修饰可能是某些信号通路的一个中间步骤, 它们的作用是传导某种信号来激活或者沉默基因。从这一点出发, 或许将组蛋白的氨基端尾巴视作“信号通路靶序列”显得更为恰当。蛋白质组学和信号通路的深入研究将会加深人们对组蛋白密码的理解。同时, 组蛋白密码可以调控转录, 却几乎与DNA序列毫不相干, 似乎其中蕴藏着某种DNA之外的遗传信息, 它触及到了一个最根本的问题: 基因究竟是什么?

参考文献(References):

- [1] Li G, Reinberg D. Chromatin higher-order structures and gene regulation. *Curr Opin Genet Dev*, 2011, 21(2): 175–186. [DOI](#)
- [2] Stral BD, Allis CD. The language of covalent histone modifications. *Nature*, 2000, 403(6765): 41–45. [DOI](#)
- [3] Thomas J, Allis CD. Translating the histone code. *Science*, 2001, 293(5532): 1074–1080. [DOI](#)
- [4] Thorne AW, Sautiere P, Briand G, Crane-Robinson C. The structure of ubiquitinated histone H2B. *EMBO J*, 1987, 6(4): 1005–1010. [DOI](#)
- [5] Shimada M, Nakadai T, Fukuda A, Hisatake K. cAMP-response element-binding (CREB) controls MSK1-mediated phosphorylation of histone H3 at the c-fos promoter *in vitro*. *J Biol Chem*, 2010, 285(13): 9390–9401. [DOI](#)
- [6] Yun M, Wu J, Jerry LW, Li B. Readers of histone modifications. *Cell Res*, 2011, 21(4): 564–578. [DOI](#)
- [7] Shen X. Chromatin and Epigenetic Regulation. Beijing: Higher Education Press, 2006: 104. [DOI](#)
- [8] Mellor J. It Takes a PHD to Read the Histone Code. *Cell*, 2006, 126(1): 22–24. [DOI](#)
- [9] David PF, Matthew JS. HDACs and their inhibitors in immunology: teaching anticancer drugs new tricks. *Immunol Cell Biol*, 2012, 90(1): 3–5. [DOI](#)
- [10] Gupta S, Kim SY, Artis S, Molfese DL, Schumacher A, Sweatt JD, Paylor RE, Lubin FD. Histone methylation regulates memory formation. *J Neurosci*, 2010, 30(10): 3589–3599. [DOI](#)
- [11] Nilanjana C, Divya S, Mekonnen LD, Song T, Michael AS, Blaine B. Histone H3 tail acetylation modulates ATP-dependent remodeling through multiple mechanisms. *Nucleic Acids Res*. 2011, 39(19): 8378–8391. [DOI](#)
- [12] Wu J, Michael SY, Lu L, Ye L, Dou Y, Mats L, Chen J, Yu X. Histone ubiquitination associates with BRCA1–dependent DNA damage response. *Mol Cell Biol*, 2009, 29(3): 849–860. [DOI](#)
- [13] Priscilla N, Peter C. Histone code pathway involving H3 S28 phosphorylation and K27 acetylation activates transcription and antagonizes polycomb silencing. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108(7): 2801–2806. [DOI](#)
- [14] Banerjee T, Chakravarti D. A peek into the complex realm of histone phosphorylation. *Mol Cell Biol*, 2011, 31(24): 4858–4873. [DOI](#)
- [15] Hasan S, Hottiger MO. Histone acetyl transferases: a role in DNA repair and DNA replication. *J Mol Med*, 2002, 80(8): 463–474. [DOI](#)
- [16] Gao L, Cueto MA, Asselbergs F, Atadja P. Cloning and functional characterization of HDAC 11, a novel member of the human histone deacetylase family. *J Biol Chem*, 2002, 277(28): 25748–25755. [DOI](#)
- [17] Grozinger M, Schreiber SL. Deacetylase enzyme: biological functions and the use of small-molecule inhibitors. *Chem Biol*, 2002, 9(1): 3–16. [DOI](#)

- [18] Shi YJ, Lan F, Matson C, Mulligan P, Whetstone JR, Cole RA, Shi Y. Histone demethylation mediated by the nuclear amine oxidase homolog LSD1. *Cell*, 2004, 119(7): 941–953. [DOI](#)
- [19] Tsukada Y, Fang J, Hediye EB, Maria EW, Christoph HB, Paul T, Zhang Y. Histone demethylation by a family of JmjC domain-containing proteins. *Nature*, 2006, 439(7078): 811–816. [DOI](#)
- [20] Pickart CM. Mechanisms underlying ubiquitination. *Annu Rev Biochem*, 2001, 70: 503–533. [DOI](#)
- [21] Chung C, Sung H. Deubiquitinating enzymes: Their diversity and emerging roles. *Biochem Biophys Res Commun*, 1999, 266(3): 633–640. [DOI](#)
- [22] Wang F, Dai J, John RD, Ewa N, Budhadya B, Todd S, Gary JG, Jonathan MG. Histone H3 Thr-3 phosphorylation by Haspin positions Aurora B at centromeres in mitosis. *Science*, 2010, 330(6001): 231–235. [DOI](#)
- [23] Dhalluin C, Carlson JE, Zeng L, He C, Aggarwal AK, Zhou MM. Structure and ligand of a histone acetyltransferase bromodomain. *Nature*, 1999, 399(6735): 491–496. [DOI](#)
- [24] Bedford MT. Using protein domain microarrays to read the histone code. *J Biomol Tech*, 2011, 22(Supplement): S6–S7. [DOI](#)
- [25] Hoppmann V, Thorstensen T, Kristiansen PE, Veiseth SV, Rahman MA, Finne K, Aalen RB, Aasland R. The CW domain, a new histone recognition module in chromatin proteins. *EMBO J*, 2011, 30(10): 1939–1952. [DOI](#)
- [26] DeMicco A, Bassing CH. Deciphering the DNA damage histone code. *Cell Cycle*, 2010, 9(19): 3845–3846. [DOI](#)
- [27] Ian Fingerman M, Du HN, Briggs SD. Controlling histone methylation via trans-histone pathways. *Epigenetics*, 2008, 3(5): 237–242. [DOI](#)
- [28] Allis CD, Jenuwein T, Reinberg D, Caparros ML. *Epigenetics*. Cold Spring Harbor: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2007: 39–40. [DOI](#)
- [29] Winter S, Simboeck E, Fischle W, Zupkovitz G, Dohnal I, Mechtler K, Ammerer G, Seiser C. 14-3-3 proteins recognize a histone code at histone H3 and are required for transcriptional activation. *EMBO J*, 2008, 27(1): 88–89. [DOI](#)
- [30] Marx J. Protein tail modification opens way for gene activity. *Science*, 2006, 311(5762): 757. [DOI](#)
- [31] 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](#)
- [32] Jacobs SA, Khorasanizadeh S. Structure of HP1 chromodomain bound to a Lysine 9-methylated histone H3 tail. *Science*, 2002, 295(5562): 2080–2083. [DOI](#)
- [33] Naughton C, Sproul D, Hamilton C, Gilbert N. Analysis of active and inactive X chromosome architecture reveals the independent organization of 30 nm and large-scale chromatin structures. *Mol Cell*, 2010, 40(3): 397–409. [DOI](#)
- [34] 万永杰, 张艳丽, 祝铁钢, 王锋. 体细胞核移植的不完全核重编程与克隆动物的发育异常. *畜牧与兽医*, 2008, 40(8): 98–101. [DOI](#)
- [35] Volpe TA, Kidner C, Hall IM, Teng G, Grewal SI, Martienssen RA. Regulation of heterochromatic silencing and histone H3 lysine-9 methylation by RNAi. *Science*, 2002, 297(5588): 1833–1837. [DOI](#)
- [36] Sims RG, Reinberg D, Greenleaf AL. Histone H3 Lys4 methylation: caught in a bind? *Genes Dev*, 2006, 20(20): 2779–2786. [DOI](#)
- [37] Corden JL. Seven ups the code. *Science*, 2007, 318(5857): 1735–1736. [DOI](#)
- [38] Duong HA, Robles MS, Knutti D, Weitz CJ. A molecular mechanism for circadian clock negative feedback. *Science*, 2011, 332(6036): 1436–1439. [DOI](#)
- [39] Ditacchio L, Le HD, Vollmers CV, Hatori M, Witcher M, Secombe J, Panda S. Histone lysine demethylase JARID1a CLOCK-BMAL1 and influences the circadian clock. *Science*, 2011, 333(6051): 1881–1885. [DOI](#)
- [40] Brown SA, Ripperger J, Kadener S, Fleury-Olela F, Vilbois F, Rosbash M, Schibler U. PERIOD1-associated proteins modulate the negative limb of the mammalian circadian oscillator. *Science*, 2005, 308(5722): 693–696. [DOI](#)
- [41] Brown SB. A new histone code for clocks? *Science*, 2011, 333(6051): 1833–1834. [DOI](#)
- [42] Kelly AE, Ghenoiu C, Xue JZ, Zierhut C, Kimura H, Funabiki H. Survivin reads phosphorylated histone H3 threonine 3 to activate the mitotic kinase Aurora B. *Science*, 2010, 330(6001): 235–239. [DOI](#)
- [43] Fischle W, Wang Y, Allis CD. Histone and chromatin cross-talk. *Curr Opin Cell Biol*, 2003, 15(2): 172–183. [DOI](#)
- [44] Misri S, Pandita S, Kumar R, Pandita TK. Telomeres, histone code and DNA damage response. *Cytogenet Genome Res*, 2008, 122(3-4): 297–307. [DOI](#)
- [45] Corpet A, Almouzni G. A histone code for the DNA damage response in mammalian cells? *EMBO J*, 2009, 28(13): 1828–1830. [DOI](#)

- [46] Xie A, Shobu O, Gurushankar C, Ralph S. H2AX post-translational modifications in the ionizing radiation response and homologous recombination. *Cell Cycle*, 2010, 9(17): 3602–3610. [DOI](#)
- [47] Huyen Y, Zqheib O, Ditullio RA, Gorgoulis VG, Zacharatos P, Petty TJ, Sheston EA, Mellert HS, Stavridi ES, Halazonetis TD. Methylated lysine 79 of histone H3 targets 53BP1 to DNA double-strand breaks. *Nature*, 2004, 432(7015): 406–411. [DOI](#)
- [48] Kim J, Daniel J, Espejo A, Lake A, Krishna M, Xia L, Zhang Y, Bedford MT. Tudor, MBT and chromo domains gauge the degree of lysine methylation. *EMBO Rep*, 2006, 7(4): 397–403. [DOI](#)
- [49] Vermeulen M, Eberl HC, Matarese F, Marks H, Denissov S, Butter F, Lee KK, Olsen JV, Hyman AA, Stunnenberg HG, Mann M. Quantitative interaction proteomics and genome-wide profiling of epigenetic histone marks and their readers. *Cell*, 2010, 142(6): 967–980. [DOI](#)