

DOI: 10.3724/SP.J.1005.2013.00241

赖氨酸甲基转移酶 PR-SET7 及其生物学功能

梁新全, 杜贻鹏, 王东来, 杨洋

北京大学基础医学院, 北京 100191

摘要: PR-SET7, 也称 SET8、KMT5a, 是现今发现唯一能够特异性单甲基化 H4K20 的赖氨酸甲基转移酶(Lysine methyltransferase, KMT)。在细胞周期不同时相 PR-SET7 的含量处于波动之中, 主要受泛素连接酶调节。PR-SET7 与细胞增殖密切相关, 其催化的组蛋白 H4K20 单甲基化修饰在 DNA 复制、染色体固缩及细胞周期检查点激活中发挥重要调控作用。PR-SET7 缺失将导致 DNA 损伤, 细胞周期阻滞, 甚至发生细胞凋亡。而且, PR-SET7 可以调节 *ERα*、*Wnt*、*p53* 等多种基因的转录, 进而影响相应基因的表达。PR-SET7 为个体发育所必需, 并参与了基因组印记的形成。另外, PR-SET7 还能促进肿瘤的发生和转移, 有望成为肿瘤治疗的新靶点。文章主要从 PR-SET7 的结构、对组蛋白修饰的调节、在细胞周期、基因转录过程中的调控, 以及其在个体发育和肿瘤发生中的作用等方面综述了 PR-SET7 的研究进展。

关键词: PR-SET7; H4K20; 单甲基化作用; 细胞周期; 基因转录

The biological functions of lysine methyltransferase PR-SET7

LIANG Xin-Quan, DU Yi-Peng, WANG Dong-Lai, YANG Yang

School of Basic Medical Sciences, Peking University, Beijing 100191, China

Abstract: PR-SET7 (also named SET8 or KMT5a) is a sole lysine methyltransferase that catalyzes monomethylation of histone H4 lysine 20 (H4K20me1) in higher eukaryotes. The abundance of PR-SET7 is dynamically mediated by the distinct E3 ubiquitin ligases in different cell cycle phases. PR-SET7 is closely related to the regulation of cell proliferation, and the H4K20me1 catalyzed by PR-SET7 has been implicated in regulating the diverse biological processes, including DNA replication, chromosome condensation and the activation of DNA replication checkpoints. Loss of PR-SET7 results in massive DNA damage, cell cycle arrest and induction of apoptosis. In addition, PR-SET7 involves in regulating the transcription of several genes, such as *ERα*, *Wnt* and *p53*. PR-SET7 is also essential for individual development and participates in the formation of genomic imprinting. Moreover, PR-SET7 has been reported to promote tumorigenesis and metastasis, suggesting that PR-SET7 may be a potential target for cancer treatment. In this review, we focus on analyzing the structure of PR-SET7 and factors influencing histone modification on regulation of PR-SET7, and discuss the mechanisms by which PR-SET7 modulates cell-cycle progression, gene transcription, individual development and tumorigenesis.

收稿日期: 2012-05-16; 修回日期: 2012-07-27

基金项目: 国家科技部基金项目(编号: 2012CB517500), 国家自然科学基金项目(编号: 81071676, 31261140372)和国家基础科学人才培养基金(编号: J1030831/J0108)资助

作者简介: 梁新全, 本博连读生, 专业方向: 表观遗传学。Tel: 010-82802167; E-mail: ywjsunshine@126.com

通讯作者: 杨洋, 博士, 副教授, 研究方向: 表观遗传学。Tel: 010-82801602; E-mail: yangsh@bjmu.edu.cn

网络出版时间: 2012-12-5 15:44:31

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.1913.R.20121205.1544.004.html>

Keywords: PR-SET7; H4K20; monomethylation; cell cycle; gene transcription

核小体是染色质的基本组成单位, 其由 146 bp 的DNA围绕着组蛋白八聚体而形成。组蛋白H3、H4的N末端通常可以发生甲基化、乙酰化、泛素化、磷酸化等翻译后修饰^[1]。修饰后的组蛋白可直接改变染色质结构、或形成高亲和结合位点来招募其他调节蛋白参与DNA的加工过程^[2]。赖氨酸甲基转移酶(Lysine methyltransferase, KMT)是催化蛋白质特殊位点赖氨酸甲基化的酶^[3], 绝大多数KMT的催化基序由相对保守的约 130 个氨基酸残基组成, 称为SET结构域^[4]。含有SET结构域的蛋白参与许多重要生命过程如转录、常染色质沉默等的调控^[5]。

SET成员PR-SET7 于 2002 年由Nishioka等^[6]在人类宫颈癌传代细胞HeLa中发现并克隆, 是现今发现的唯一能够特异性单甲基化组蛋白H4 赖氨酸 20 位(Histone H4 lysine20, H4K20)的酶类^[7]。PR-SET7 存在于有丝分裂细胞的染色体中, 其表达水平与细胞周期相关^[8]。本文主要对PR-SET7 的分子结构、在细胞周期调控、染色体固缩和基因转录, 以及其在个体发育和肿瘤发生中的作用等方面进行了总结。

1 PR-SET7 的结构

PR-SET7, 又称 SET8、SETD8、KMT5a, 是一

种蛋白赖氨酸甲基转移酶, 仅存在于多细胞生物体中, 从蠕虫到人类细胞具有高度同源性, 主要作用于组蛋白H4K20 位点^[6]。PR-SET7 蛋白质序列从C端至N端依次包含高度保守的SET结构域、PIP结构域、细胞周期蛋白激酶(Cyclin- dependent kinases, Cdk)磷酸化共有序列, 在空间结构上形成C-侧翼、SET-I、核心SET结构域和N-侧翼(图 1: A, B)。经标准化SDS-PAGE分析, 人类PR-SET7 基因经过可变剪切可表达出两个蛋白PR-SET7a和PR-SET7b。PR-SET7a剪切体长度为 1 059 bp, 含 352 个氨基酸^[9]。PR-SET7b长度为 969 bp, 含 322 个氨基酸, 较PR-SET7a少第 10~40 位的氨基酸。在人体内, PR-SET7 主要以b型存在, 并以同型二聚体的形式发挥作用^[10]。

1.1 SET 结构域

SET结构域由最早发现表达这个结构域的 3 个基因而命名, 它们分别是*Su(var)3-9*, *Enhancer of zeste(E(z))*和*trithorax(trx)*^[12]。SET结构域能从S-腺苷-L-甲硫氨酸(S-adenosyl-L-methionine, AdoMet)转移 1-3 个甲基基团到目标赖氨酸ε-氨基基团上(ε-amino group), 分别使赖氨酸发生单甲基化、二甲基化、三甲基化^[13]。其作用机制是: (1)底物赖氨酸在溶剂中失去一个质子, 与赖氨酸甲基转移酶结合;

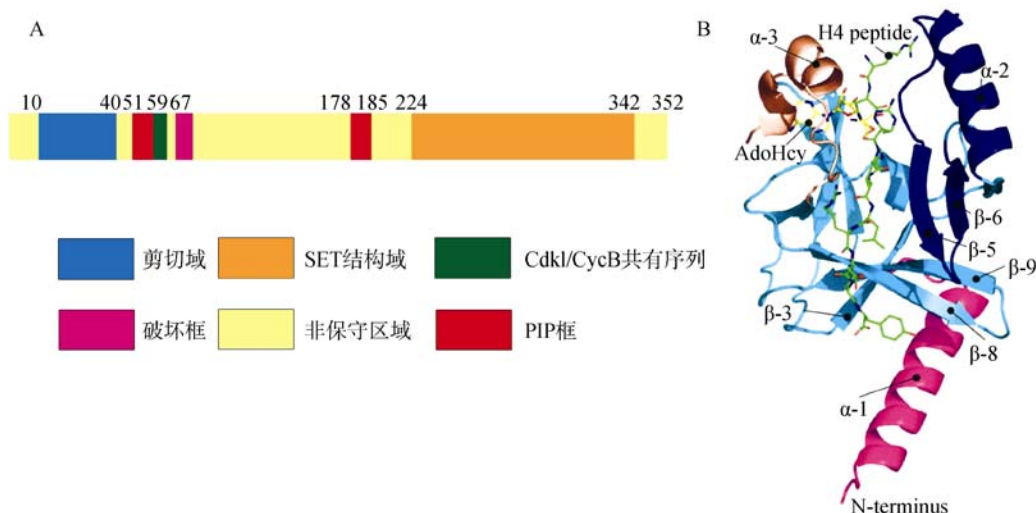


图 1 人 PR-SET7 的结构

A: 人PR-SET7 序列及结构; B: PR-SET7 的三维结构模型^[11]。N-侧翼(粉红色)、核心SET构域(浅蓝色)、SET-I(深蓝色)、C-侧翼 (棕色)。

(2)C-侧翼结合S-腺苷甲硫氨酸(AdoMet)后,经构象变化形成活化中心;(3)发生亲核取代反应,实现甲基转移;(4)C-侧翼与SET结构域解离,释放甲基化的赖氨酸和腺苷同型半胱氨酸(Adenosyl homocysteine, AdoHcy)(图2)。针对PR-SET7而言,其单甲基化活性是由其SET结构域中保守的酪氨酸残基Tyr334和Tyr245决定的。作为亲水氨基酸,Tyr334和Tyr245可与PR-SET7的单甲基化赖氨酸产物形成氢键,从而阻止该产物再次被甲基化^[11]。

1.2 PIP 结构域

在SET结构域上游,所有PR-SET7相关性蛋白均含有一个可结合复制因子增殖细胞核抗原(Proliferating cell nuclear antigen, PCNA)的PIP (PCNA-interacting protein)结构域。PCNA存在于细胞核内,为DNA聚合酶 δ 的辅助蛋白。研究发现,在人类细胞和非洲爪蟾(*Xenopus laevis*)卵的提取物中,PR-SET7与PCNA在S期或DNA损伤后会发生相互作用,随后PR-SET7被泛素化降解^[14-16]。其机理是,PR-SET7的PIP结构域可与PCNA结合,进而诱导CRL4^{Cdt2} (Cullin4 E3泛素连接酶复合物)将PR-SET7泛素化并降解。PIP结构域中的Thr182、Asp183、Arg188和Arg189是CRL4^{Cdt2}介导泛素化降解的关键位点^[10]。若PIP框发生突变,PR-SET7将不能结合PCNA,并不被降解,在S期或暴露于UV的损伤细胞中仍持续存在。相似的情况也出现在PCNA敲除或CRL4^{Cdt2}缺失的细胞中。在人类细胞中,除位于C端第178~185个氨基酸的保守PIP结构域(PIP框2)外,在N端第51~58个氨基酸处还存在一个PIP结构域(PIP框1)。目前认为,PIP框2与PCNA结合诱导其降解^[10],而PIP框1可能与保持PR-SET7的甲基转移酶活性相关,但还需进一步研究证明。

1.3 细胞周期蛋白激酶磷酸化共有序列和破坏框

PR-SET7靠近N端的大部分上游序列在进化过程中具有较低的同源性,属于非保守区域。这段非保守区域之间,包含细胞周期蛋白激酶磷酸化共有序列和一个可被APC/C^{Cdh1}泛素E3复合物识别的破坏框(Destruction box, D-box)。其中PR-SET7的Cdk序列在生物进化中非常保守,但破坏框仅在非洲爪蟾(*Xenopus laevis*)、家鼠(*Mus musculus*)和人类(*Homo sapiens*)中发现^[17]。Wu等^[18]利用HeLa细胞研究发现,Cdk序列可被M期特异性的周期蛋白B1/周期蛋白激酶1复合物(Cdk1/cyclin B1 complex)识别,进而使PR-SET7的丝氨酸残基S29发生磷酸化。S29的磷酸化发生在有丝分裂起始之时,伴随着PR-SET7的增多与H4K20me1的形成。这是由于在人类细胞中,PR-SET7所含的破坏框是APC/C^{Cdh1}泛素复合物的一个靶点,而S29磷酸化可抑制APC/C^{Cdh1}介导的泛素化降解从而稳定PR-SET7。因此,由Cdk介导的PR-SET7磷酸化对于维持PR-SET7在有丝分裂过程中的稳定性十分重要。有丝分裂中期时,PR-SET7的S29被Cdc14(cell division cycle 14)磷酸酶去磷酸化,从而活化了APC/C^{Cdh1}介导的泛素化降解。这可以解释PR-SET7蛋白水平在G₁期持续降低的原因。还有一点值得注意的是,自然界存在N端PIP box与保守的Cdk序列区域重合的特殊情况。

2 PR-SET7 对组蛋白修饰的调节

PR-SET7是现今发现唯一能够特异性单甲基化H4K20的赖氨酸甲基转移酶。由于组蛋白H4位于DNA与核小体的交界处,H4K20me1修饰可以影响染色体的高级结构,促进细胞间期中染色体的固缩^[7]。H4K20me1还能够招募特异的调节蛋白,如固缩因

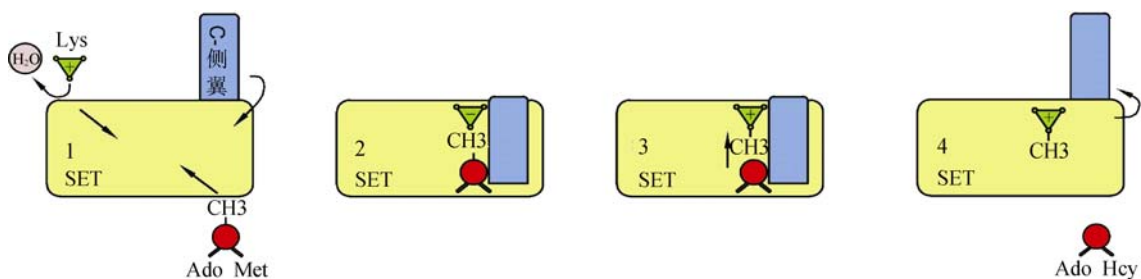


图2 SET蛋白的转甲基化机制模型

子II(Condensin II)、致命恶性脑瘤因子 1(Lethal(3) malignant brain tumor-like protein 1, L3MBTL1)、p53 结合蛋白 1(p53 binding protein 1, 53BP1)。Condensin II通过相应亚基识别H4K20me1^[19], 诱导染色质固缩。L3MBTL1 可通过MBT结构域结合H4K20me1 与H4K20me2^[20], 参与基因转录的抑制和染色体固缩。53BP1 通过tandem tudor结构域与H4K20me1 结合, 参与DNA损伤修复^[21]。在H4K20me1 的基础上, H4K20 还可分别由SUV4-20h1(Suppressor of variegation 4-20 homolog 1)和SUV4-20h2 (Suppressor of variegation 3-9 homolog 2)催化发生双甲基化(H4K20me2)和三甲基化(H4K20me3)^[22]。H4K20me3 存在于异染色质中, 是转录抑制的标志^[23]; 而H4K20me2 是细胞间期H4K20 甲基化的主要形式, 存在于常染色质中, 指导DNA损伤修复^[21]。PR-SET7 缺乏可引起H4K20me1 修饰的减少, 还会影响到其他组蛋白修饰, 如可诱导H4 乙酰化增多而H4K20me3 修饰消失^[24]。可见, PR-SET7 通过催化组蛋白H4K20 单甲基化发挥了重要的生理作用。

3 PR-SET7 与染色质固缩

多项研究证明, PR-SET7 催化H4K20me1, 能够促进染色质固缩。PR-SET7 缺乏的哺乳动物ES细胞和果蝇细胞将会发生细胞间期的染色质固缩障碍和DNA复制障碍^[7, 25]。PR-SET7^{ΔPIP}是一种具有甲基转移酶活性却不能在S期被降解的PR-SET7 突变体。在PR-SET7^{PIP}的细胞中, 染色体在S期提前固缩^[14]。

那么PR-SET7 诱发染色体固缩的原因是什么? 一方面, H4K20me1 修饰可以直接或间接地影响染色体的高级结构。体外实验发现, H4K20 可以与H2A的C末端发生核小体内联系, 从而直接促进染色体固缩^[26]。H4K20 的甲基化水平增高还能够间接影响其他的组蛋白修饰, 如导致H4K16 乙酰化减少^[24, 27]。

另一方面, H4K20me1 修饰能够诱发固缩因子与染色体结合。Hirota等^[28]发现, Condensin II与染色质在有丝分裂前期的结合是染色体固缩的起始事件。PR-SET7 的PIP结构域突变后, 细胞内Condensin II亚基CAP-D3 和CAP-G2 含量有所增加特异的识别H4K20me1, 诱导染色质固缩, 这也与CAP-D3 能与H4K20me1 结合的实验结果相一致^[19]。L3MBTL1 能够与H4K20me1/2 结合, 促进染色体固缩^[29]。目前有

3 种可能的作用模型: 一种假说是同一个L3MBTL1 蛋白可分别与两个邻近核小体的H4 端结合, 从而拉近了它们的距离, 使染色质压缩; 另一种假说是L3MBTL1 与H4K20me1/2 的结合促进了H4 与H2A C末端的核小体内联系; 还有一种基于晶体结构研究的模型认为, 两个组蛋白H4K20me2 与L3MBTL1 蛋白构成了二聚体^[30]。此外, 在体外果蝇(*Drosophila*)染色质聚集实验中, L3MBTL1 与H4K20me1 结合可招募特定的组蛋白去乙酰化酶, 使组蛋白发生去乙酰化从而调控染色质结构^[31]。但是, 在哺乳动物中, 敲除L3MBTL1 蛋白对染色质含量、细胞周期的进程均无影响^[32], 提示H4K20me1 在G2/M过渡期可能还招募了其他重要的染色质重塑因子。因此, 还需更多研究来验证PR-SET7 介导的甲基化与染色体固缩的相关性。

4 PR-SET7 对细胞周期的调控

细胞周期中每一个时相和事件都受到高度调控。G₁ 期细胞形成复制起始许可(Replication origin licensing), 进入 S 期 DNA 进行复制, M 期复制合成的两条姐妹染色单体浓缩并分离, 进入两个子细胞中。与 DNA 的复制相关的还包括染色质装配、特定的细胞周期调控因子泛素化及 DNA 损伤修复等重要事件。在细胞增殖过程中出现任何错误均可能导致 DNA 损伤。如果 DNA 损伤的细胞进入下一次分裂前未完成修复, 细胞基因组不稳定, 可能成为癌细胞。

大量研究发现, PR-SET7 的含量和H4K20 单甲基化水平与细胞周期时相紧密相关。细胞周期不同时相PR-SET7 的含量和H4K20 单甲基化水平均处于波动之中。PR-SET7 在G₂晚期至M中期时含量最高, 随后在G₁ 期PR-SET7 含量降低, 至DNA复制S期开始时达到最低点(图 3)^[33, 34]。泛素化和磷酸化是PR-SET7 主要的翻译后调节方式。目前认为, 泛素E3 连接酶SCF^{skp2}是调节G₁/S过渡期PR-SET7 水平的主要物质, 它能够直接降解储存库中游离的PR-SET7^[35]。在S期当PCNA与染色质结合后, PR-SET7 主要经PCNA依赖性的CRL4^{Cdt2}途径泛素化降解。S期其余游离的PR-SET7 通过SCF^{skp2}途径被降解。在敲除骨肉瘤U2OS细胞SCF^{skp2}复合体的Cul1 或Skp2 亚基后, 细胞中内源性PR-SET7 仅受

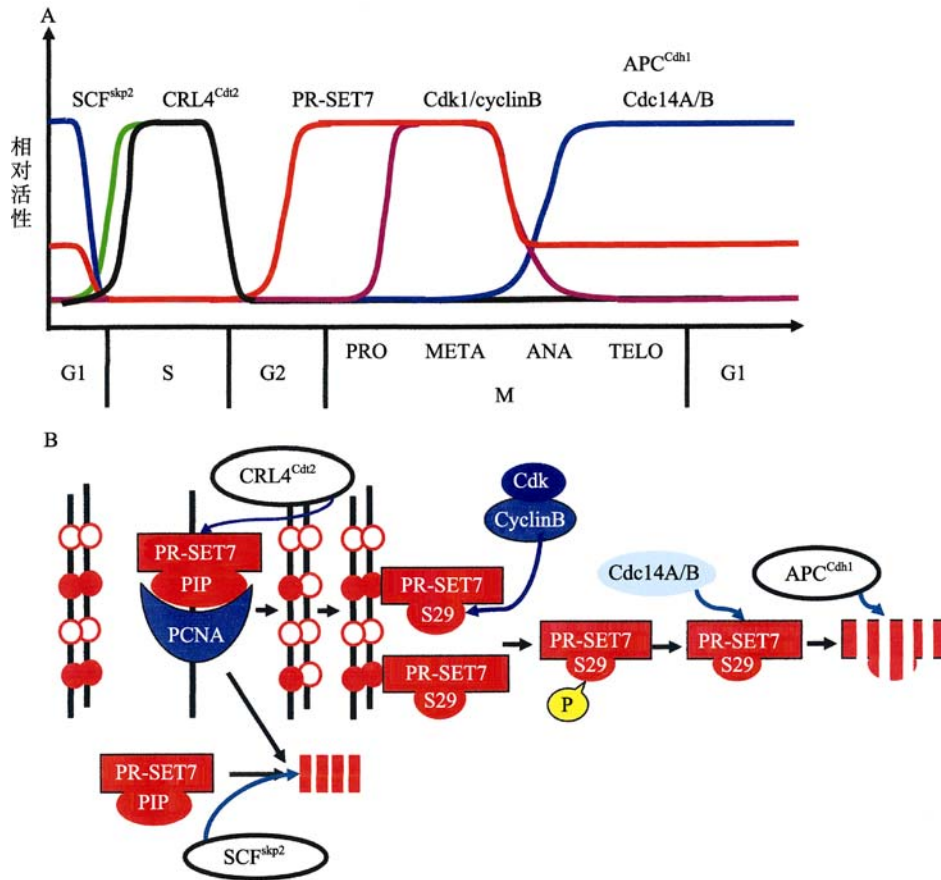


图3 不同细胞周期PR-SET7含量的调控模型^[33]

A: 细胞分裂不同时期调节 PR-SET7 的酶的含量变化; B: 细胞增殖过程中 PR-SET7 含量的调控模型。

到微弱的影响,说明S期 SCF^{skp2} 降解途径在PR-SET7含量调节中只起次要作用^[10]。G₂期时, $CRL4^{Cdt2}$ 与 SCF^{skp2} 复合体活性下降,PR-SET7含量逐渐上升,H4K20me1水平逐渐升高。在M期H4K20me1介导染色质浓缩后,Cdk1/cyclinB复合体磷酸化PR-SET7的S29位点,抑制了APC/C^{Cdh1}介导的泛素化降解。至有丝分裂中期时,PR-SET7被Cdc14磷酸酶去磷酸化,进而被APC/C^{Cdh1}降解。APC/C^{Cdh1}降解活性维持至G₁期结束。通过质谱分析测定,H4K20me1的水平在细胞有丝分裂结束时显著降低,可能还与此时大量H4K20me1继续多甲基化修饰相关^[10]。

目前发现,PR-SET7在细胞周期中含量的改变与DNA复制、细胞周期检验点调控等事件密切相关,对于维持细胞基因组的稳定有重要意义。

4.1 PR-SET7与DNA复制

虽然DNA复制发生在细胞周期的S期,但复制起始点(ori)的选择和建立早在M晚期和G₁早期就开

始了。复制起始许可指多种蛋白聚合形成前复制复合物(Pre-replication complexes, pre-RC)的过程,包括复制起始位点识别复合物(Origin recognition complex, ORC)和微小染色体维持蛋白复合物(Mini-chromosome maintenance, MCM)等。在整个细胞周期中,ORC均结合在DNA复制起始点上。当细胞有丝分裂完成后,复制许可因子1(Chromatin licensing and DNA replication factor 1, Cdt1)、细胞分裂周期蛋白6(Cell division cycle protein 6, Cdc6)、以及MCM与起始点结合,形成pre-RC复合物,S期DNA复制得以开始。DNA合成起始后,pre-RC解离。若在S期pre-RC仍持续存在,将导致DNA重复复制,形成大量的DNA累积,并使G₂/M检验点启动^[36]。

Tardat等^[37]研究证明,有丝分裂结束后PR-SET7活性的改变与下一个细胞周期中ori的建立密切相关:(1)通过对几种具有特征性的人类ori进行研究发

PR-SET7 介导的 H4K20me1 修饰快速增多相关。(2)PR-SET7 PIP 结构域突变即 PR-SET7 降解减少将导致 H4K20me1 修饰在 S 期稳定存在,引起 DNA 重复复制。PR-SET7 可结合在特定基因位点上,诱导 pre-RC 的形成。(3)在敲除 *PR-SET7* 的细胞进入 S 期后,pre-RC 相关蛋白难以与染色体结合形成 MCM 等复合物,复制叉活动减弱,活化的 ori 数目也有所减少。然而,PR-SET7 是否足以在特定位点建立 ori 至今仍是一个未知的问题。

那么 PR-SET7 是怎么调控这些复制起始点的呢?一种可能性是 PR-SET7 直接与控制复制起始或延长的重要因子相互作用。还有一种可能性是,PR-SET7 介导 ori 处 H4K20 甲基化,从而改变了染色质的环境,促进了 pre-RC 的组装。用 SILAC 组蛋白折叠技术研究发现,与 H4K20me1 相比,ORC 相关蛋白对 H4K20me2 和 H4K20me3 有更强的亲和力^[16]。同时复制许可后起始点的 H4K20me1 水平下降,说明在特定的染色体区域 H4K20 向高甲基化修饰的转换可能稳定了 ORC 相关蛋白。与这个假设一致,当缺乏可将 H4K20me1 转化为 H4K20me2 和 H4K20me3 的甲基转移酶 SUV4-20h1 和 SUV4-20h2 时,细胞将在 G₁ 期沉积不能进入 S 期^[38]。但目前未测定在复制起始处, H4K20me2 和 H4K20me3 的含量是否增多。另一种组蛋白 H4 修饰酶,乙酰基转移酶 HBO1 (Human acetylase binding to ORC1)已被证实可刺激复制起始许可过程的发生^[39]。HBO1 可介导组蛋白 H4 第 5、8、12 位赖氨酸乙酰化。在富含 H4K20me1 的 ori 发现, HBO1 介导的 H4 乙酰化可以增强染色质与 MCM2-7 解螺旋酶的结合。与 PR-SET7 不同的是, HBO1 在细胞周期中含量稳定,并且上调其表达不会引起 DNA 重复复制。

根据以上证据, PR-SET7 在复制起始许可中的作用机制有如下假设(图 4):(1)在有丝分裂早期,复制起始许可是由 PR-SET7 催化 H4K20 爆发式进行单甲基化而引发的。这些经单甲基化标记的组蛋白 H4K20me1 随后被 SUV4-20h 等甲基转移酶多甲基化为 H4K20me2 及 H4K20me3。这为 ORC 复合物与 ori 的结合提供了有利的染色质条件。此后, PR-SET7 被 APC/C^{Cdh1} 途径降解。(2)在 G₁ 期, ORC 复合物通过招募复制许可相关蛋白 Cdc6、Cdt1、Cdt1 共刺激因子和乙酰基转移酶 HBO1,促进了 MCM2-7 六聚

体蛋白与染色质的结合,最终形成 pre-RC。HBO1 还可与 MCM2 结合并乙酰化一个或多个 MCM 复合物的亚基,增强染色质与 MCM2-7 的结合。(3)在 S 期, pre-PC 被蛋白激酶活化。接下来, Cdt1 与 PR-SET7 通过 PCNA 依赖性的 CRL4^{Cdt2}(主要)及 SCF^{skp2} 泛素化途径降解, DNA 复制开始。

除了在复制起始许可中的作用外, PR-SET7 还通过调节基因表达来影响 DNA 复制。如 PR-SET7 可抑制 E2F 调节基因的表达,从而抑制一些与 DNA 合成相关酶蛋白的表达,包括 DNA 聚合酶 α 、MCM7、cyclinA2、和 Cdt1 等^[10]。

4.2 PR-SET7 与细胞周期检验点调控

Jørgensen 等^[40]将骨肉瘤 U2OS 细胞中的 *PR-SET7* siRNA 后,细胞增殖停滞于 S 期,并伴随着 Cyclin A 水平的升高。进一步研究发现,敲除 *PR-SET7* 后,细胞周期检验点激酶 1(Checkpoint kinase 1, Chk1)的丝氨酸残基 Ser317 磷酸化水平增加,即 Chk1 活性增强;同时敲除 Chk1 后,缺乏 PR-SET7 的细胞 S 期阻滞消失,这说明 PR-SET7 缺乏造成的 S 期阻滞是由 Chk1 介导的^[40]。PR-SET7^{PIP} 突变体激活 G₂ 期细胞周期检验点阻滞,导致细胞累积于 G₂ 期。在 PR-SET7^{ΔPIP} 的细胞中, Chk1 在 S 期处于持续磷酸化状态。在使用 ATM 和 ATR 阻断剂咖啡因后, PR-SET7^{ΔPIP} 造成的 G₂ 期阻滞消失^[44]。此外, PR-SET7 还能够抑制 p53 的活化,从而影响了 p53 介导的细胞周期检验点激活和凋亡作用。

5 PR-SET7 对基因转录的调节

PR-SET7 在基因转录中的调节作用始终存在争议。PR-SET7 发现后, H4K20me1 一度被认为对基因表达发挥抑制作用^[41]。Nishioka 等^[6]用果蝇进行研究发现,转录活跃的区域缺乏 H4K20me1 修饰,而转录沉默区和固缩的染色体中 H4K20me1 水平较高。此后多项研究证明, PR-SET7 能够促进染色质固缩,进而抑制基因转录。Congdon 等^[41]用 RNAi 降低 PR-SET7 含量和 H4K20me1 修饰水平后,发现所有 H4K20me1 相关基因的转录速率增加了 2 倍,而 H4K20me3 相关基因的转录速率未发生明显改变。当 S 期 PR-SET7 含量增多、H4K20me1 修饰水平增加时, H4K20me3 水平也可随之增多^[10]。由于 H4K20me3

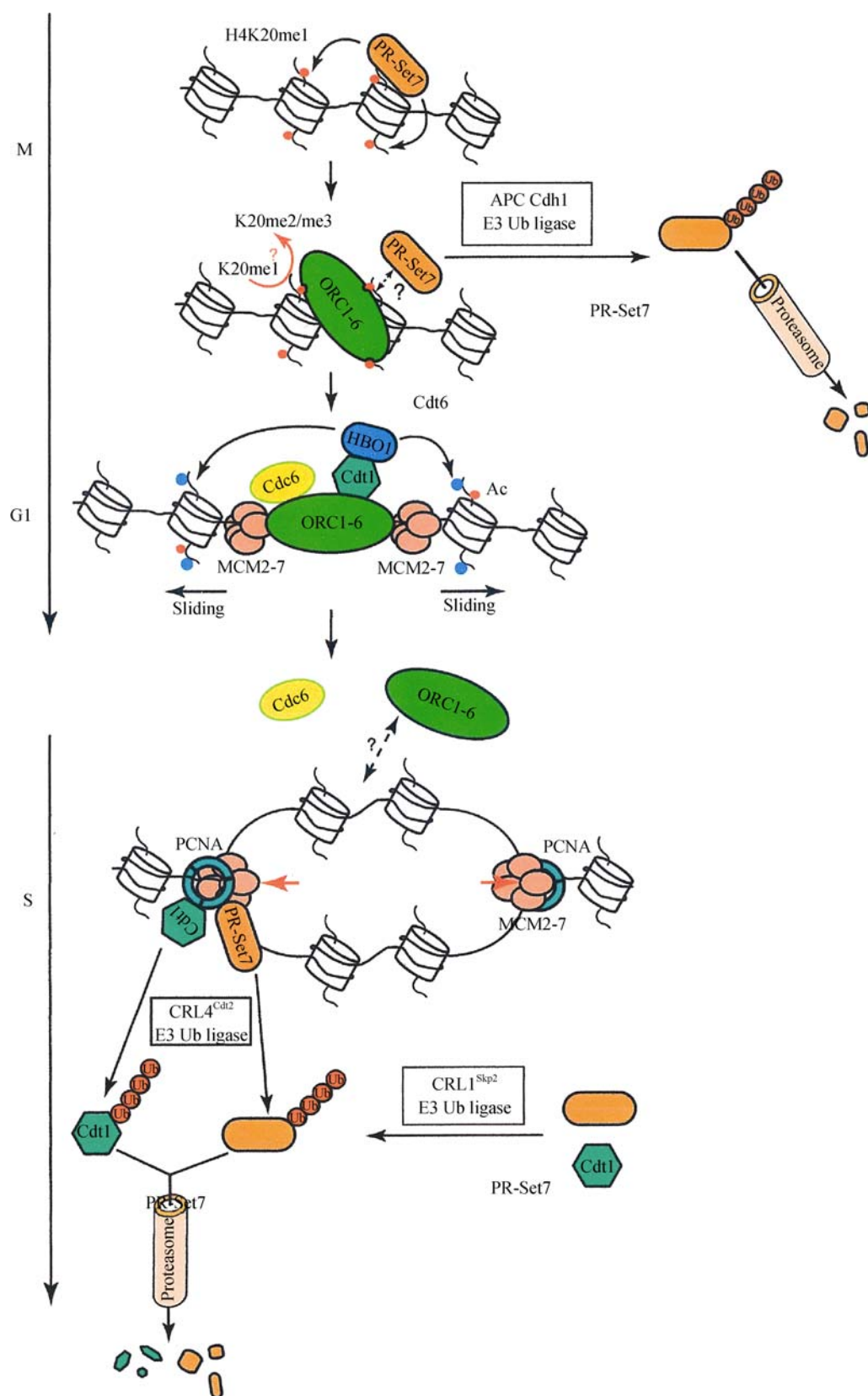


图 4 PR-SET7 在复制起始许可中的作用机制^[17]

与异染色质形成相关, 故基因启动子也可能通过该途径间接被 PR-SET7 抑制。

Spektor等^[42]发现, PR-SET7 的转录抑制作用可被 E2 SUMO 结合酶 UBC9 (Ubiquitin-conjugating enzyme 9)SUMO化调节。在PR-SET7 中存在两个SUMO保守位点K110 和K131, 可在体外发生SUMO化。虽然SUMO位点缺失不会对PR-SET7 在细胞核中的定位造成影响, 但UBC9 缺失会导致PR-SET7 对一些靶基因的抑制效应减弱。这说明, UBC9 促进了PR-SET7 对靶基因的抑制效应。

然而, 目前多项研究发现, 在活化的基因中存在 H4K20me1 修饰, 说明 H4K20me1 可能对基因转录有促进作用。下文对 PR-SET7 在一些重要靶基因中的调控作用进行阐述。

5.1 PR-SET7 调控 *p53* 的表达

肿瘤抑制基因*p53*, 又称“明星分子”, 参与细胞周期调控、DNA损伤修复及细胞凋亡等重要生命活动。在所有恶性肿瘤中, 50%以上会出现该基因的突变。*p53* 是目前发现的PR-SET7 最重要的非组蛋白底物。体内实验发现, PR-SET7 可特异性单甲基化*p53* 的第 382 赖氨酸位点(*p53*K382me1) 并抑制*p53* 的活性。敲除内源性的PR-SET7 后, *p53* 的活性增强, *p53* 靶基因表达上调, 导致细胞凋亡增多和细胞周期停滞。在H1299 细胞中, *p53*K382me1 修饰后, *p53* 本身表达未受影响, 但其靶基因*p21* 与*PUMA*的表达水平明显下调。敲除PR-SET7 后, *p53* 与*p21*、*PUMA*

启动子的结合减少, 但并未引起这些靶基因的启动子发生H4K20me1 修饰^[43]。那么, *p53*K382me1 与其靶基因启动子结合减少的原因是什么呢? 有一种可能是, *p53*K382me1 修饰后可形成高亲和力位点, 进而结合某些抑制性的调节蛋白, 影响*p53* 靶基因的活化。研究发现, L3MBTL1 可作为*p53*K382me1 的下游效应分子, 调节*p53* 靶基因的转录。*p53*K382me1 修饰后, L3MBTL1 与*p53* 的相互作用加强, 增强了L3MBTL1 与*p53* 靶基因的启动子结合, 使*p53* 靶基因转录阻滞。敲除 L3MBTL1 后, *p21* 与*PUMA*转录水平升高^[44]。

在DNA损伤时, PR-SET7 的含量减少, 导致*p53*K382me1 水平下降、*p53*K382ac水平增高, *p53* 活性增强^[43]。此时L3MBTL1-*p53* 相互作用减少, L3MBTL1 与*p53* 靶基因分离, 促进*p53* 靶基因的活化^[44]。*p53*K382me1 水平降低可能是由于未知的组蛋白甲基转移酶(Histone methyltransferase, HMT)多甲基化为*p53*K382me2/3 或被未知的组蛋白去甲基化酶(Histone demethylase, HDM)去甲基化而造成的^[43] (图 5)。*p53* 是极其重要的肿瘤抑制因子, 因而*p53*K382me1 的下游效应分子及其调控机制可能对于了解肿瘤的发生有重要的意义, 值得深入研究。

5.2 PR-SET7 影响 *Wnt* 靶基因的表达

Wnt 信号通路在肿瘤发生和胚胎发育中具有重要作用。*Wnt*/β-连锁蛋白(β-catenin)信号通路通过降解 Axin/APC/GSK-3 糖原合成激酶复合体导致细

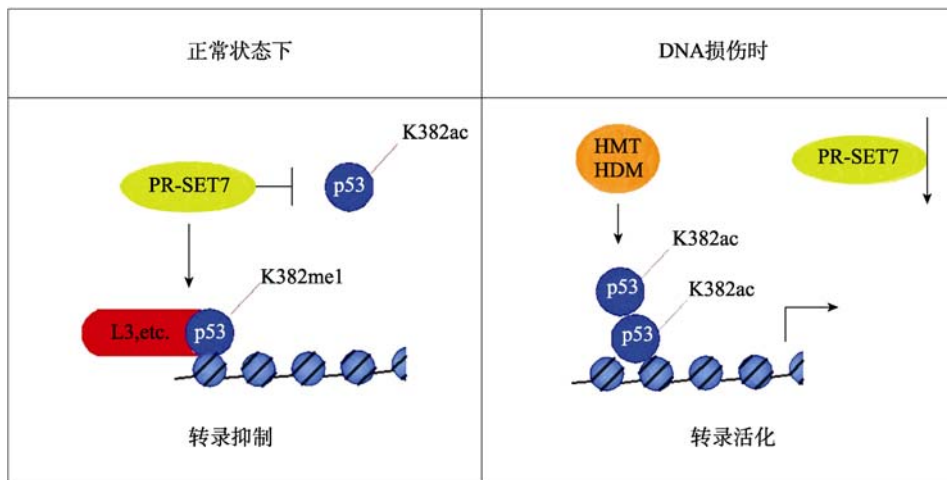


图 5 PR-SET7 调控 *p53* 表达的模型

HMT: histone methyltransferase; HDM: histone demethylase; L3: L3MBTL1。

胞质 β -catenin表达增多。 β -catenin进入细胞核,与转录因子淋巴增强因子1(Lymphoid enhancing factor-1, LEF1)/T细胞因子4(T cell factor-4, TCF4)相结合形成转录复合体。随后,转录复合体招募一系列共刺激因子到靶基因启动子中,改变基因转录状态^[45, 46]。Li等^[47]发现,在Wnt刺激下,PR-SET7可被招募到 β -catenin/TCF4复合体上并作为共刺激因子(Coactivator),在TCF结合元件(TCF binding element, TBE)处进行甲基化修饰,这种H4K20me1修饰可能招募更多的转录因子调节染色体结构(图6)。目前,Wnt刺激下H4K20me1激活基因转录的机制虽然还不清楚,但我们可以确定两者的相关性:当PR-SET7和H4K20me1在G2/M期达到最高水平时,Wnt通路活化增强。PR-SET7与Wnt通路的作用揭示PR-SET7可能是癌症治疗的又一个新靶点。

5.3 PR-SET7 影响 $ER\alpha$ 靶基因的表达

雌激素受体 α (Estrogen receptor α , $ER\alpha$)在乳腺癌等女性内分泌肿瘤的发生中起着重要作用。

PR-SET7可作用于 $ER\alpha$ 靶基因的启动子和编码区,催化这些区域发生H4K20me1修饰,从而刺激 $ER\alpha$ 靶基因转录的起始和延长。在PR-SET7过表达的人乳腺癌MCF-7细胞中能够检测到 $ER\alpha$ 靶基因启动子和编码区H4K20me1修饰的速度加快,靶基因mRNA的表达增加,包括 $TFF1$, $CATD$, $GRIP1$ 和 $EBAG9$ 。用雌二醇(E2)处理MCF-7细胞后进行ChIP实验发现,PR-SET7与 $ER\alpha$ 靶基因 $TFF1$ 的启动子结合。并且在体内,PR-SET7还能与具有转录活性的RNA合成酶(RNA polymerase II, RNA Pol II)相互作用。因此证明, $ER\alpha$ 与PR-SET7存在于 $ER\alpha$ 靶基因的启动子上;PR-SET7与磷酸化的RNA Pol III共同结合于该基因的编码区^[48]。

5.4 PR-SET7 参与 $PPAR\gamma$ 介导的脂肪生成

过氧化物酶增殖激活受体 γ (Peroxisome proliferator-activated receptor γ , $PPAR\gamma$)是脂肪形成中的关键因子,在多种代谢性疾病如高血压、糖尿病、肥胖的发病过程中均起着重要的作用。研究发现在小

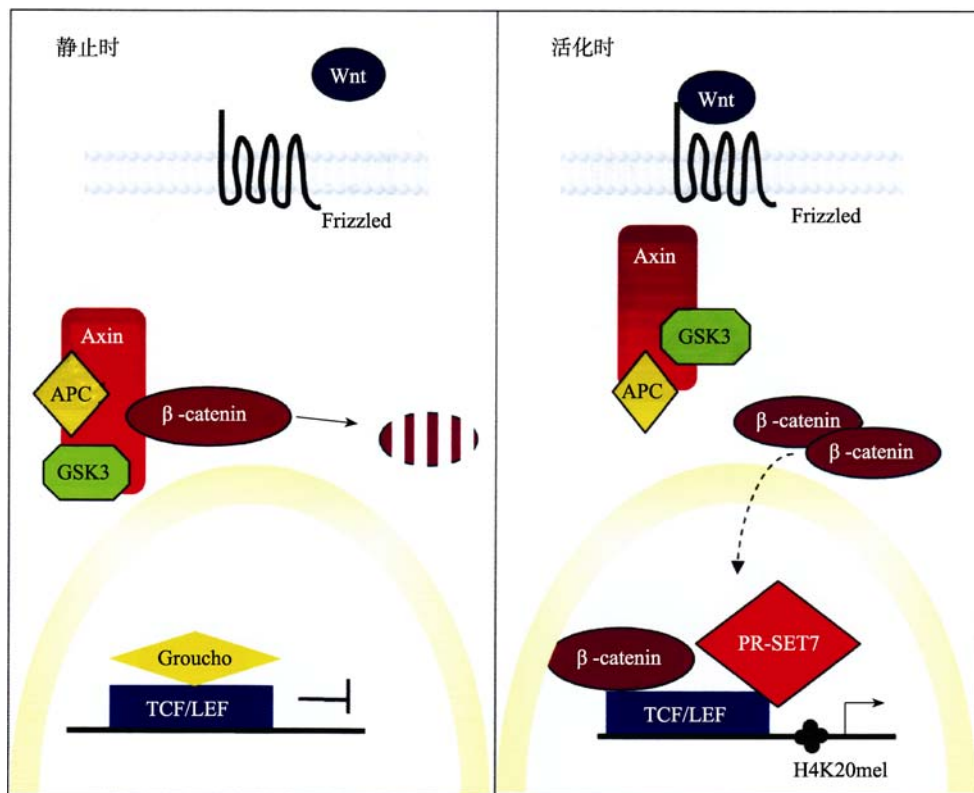


图6 PR-SET7在Wnt通路中的作用模型

Wnt通路活化后, β -catenin进入细胞核与TCF4结合,使TCF4与转录抑制因子Groucho解离。进而PR-SET7与 β -catenin/TCF4转录复合体结合,催化H4K20me1修饰激活靶基因转录。

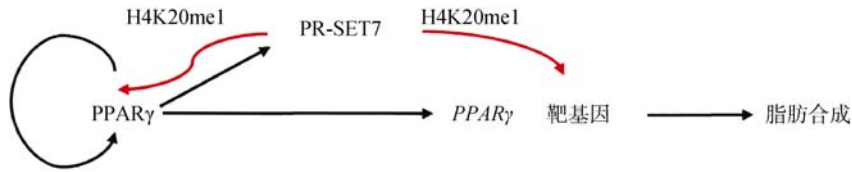


图 7 $PPAR\gamma$ 转录水平与组蛋白甲基化的相互调节模型

$PPAR\gamma$ 转录激活 $PR-SET7$ 基因, 进而提高了 $PPAR\gamma$ 及其靶基因的 H4K20me1 修饰水平, 促进基因转录。黑色箭头代表基因转录途径, 红色箭头代表组蛋白甲基化途径。

鼠胚胎成纤维 3T3-L1 细胞, $PPAR\gamma$ 和视黄醛X受体 α (Retinoid X receptor α , RXR α) 可调控多种 SET 结构域蛋白基因的表达, 包括 $PR-SET7$ 。敲除 $PR-SET7$ 后, 细胞中 $PPAR\gamma$ 和 C/EBP 的表达下降, 并阻碍了脂肪合成。在肥胖小鼠模型 ob 和 DIO 中 $PR-SET7$ 表达量明显增加。同时, 脂肪细胞分化过程中, 脂肪细胞的 H4K20me1 水平大幅升高。敲除 $PR-SET7$ 后, 3T3-L1 细胞中 $PPAR\gamma$ 和 C/EBP 的表达下降, 并阻碍了脂肪合成。因此推断, $PPAR\gamma$ 可转录激活 $PR-SET7$, 而 $PR-SET7$ 的激活又增加了 $PPAR\gamma$ 及其靶基因的单甲基化水平, 形成正性反馈环 (图 7)。此外, $PPAR\gamma$ 还激活了 $PPAR\gamma$ 2 介导的基因转录, 强烈刺激脂肪组织的分化 [49]。

5.5 $PR-SET7$ 参与 Twist 调控上皮间质的转化

Twist 蛋白是属于碱性螺旋-环-螺旋蛋白家族中的高度保守的转录因子, 在胚胎的发生发展中发挥重要作用。同时, Twist 作为上皮间质转化 (Epithelial-

mesenchymal transition, EMT) 过程中的关键调控因子, 对肿瘤的侵袭和转移有重要影响 [50]。Shang 等 [51] 发现, $PR-SET7$ 与 Twist 存在直接相互作用, 并共同促进了乳腺癌细胞的 EMT 及其转移。 $PR-SET7$ 可作为表观修饰因子作用于 Twist 靶向基因 E-钙粘蛋白 (E-cadherin) 和 N-钙粘蛋白 (N-cadherin) 的基因启动子上, 使启动子发生 H4K20 单甲基化。 $PR-SET7$ 和 Twist 可共同促进 EMT 间质标志基因 $N-cadherin$ 的转录, 同时又共同转录抑制上皮标志基因 $E-cadherin$ 的表达。但 $PR-SET7$ 对 Twist 不同靶基因调节存在差异的原因还有待于进一步的研究。另外, 临床样本测试表明 $PR-SET7$ 的表达与乳腺癌的转移程度成正相关 [52], 说明 $PR-SET7$ 、Twist 及 EMT 标志基因与肿瘤转移存在相互关系, 也为乳腺癌转移的临床干预提供了新的靶点。

图 8 对 $PR-SET7$ 在一些重要基因转录中的调节作用及相关分子机制进行了总结。除此之外, Frye 等 [24] 还发现 $PR-SET7$ 是 c-Myc 的一个转录靶点。相

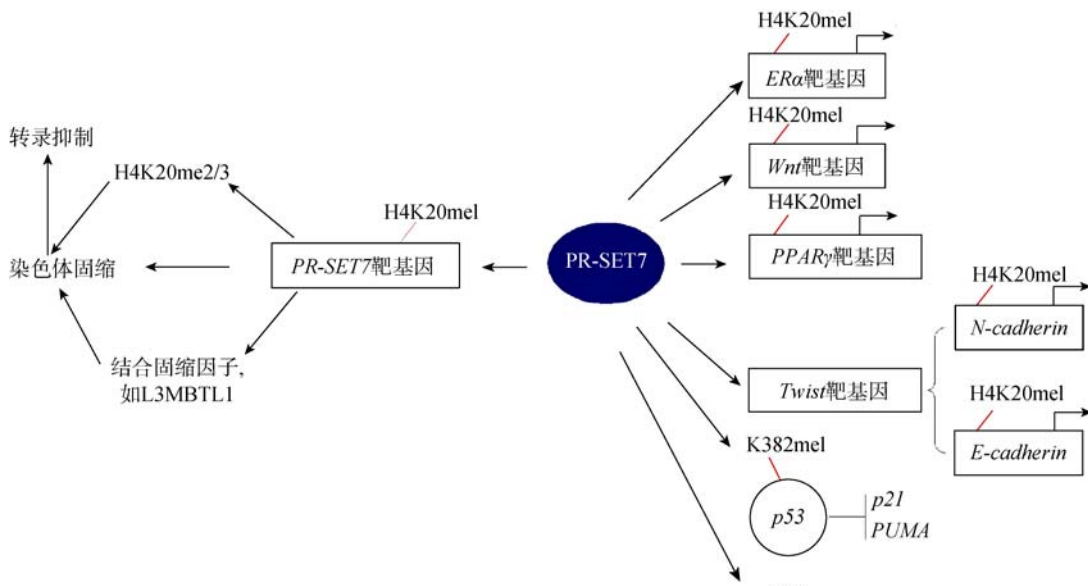


图 8 $PR-SET7$ 的转录抑制机制及其对一些靶基因的调控作用

信随着研究的深入, PR-SET7 对其他重要基因的转录作用将进一步的探明。

6 PR-SET7 在个体发育和肿瘤发生中的作用

6.1 PR-SET7 在个体发育中的作用

Nishioka等^[6]研究发现, *PR-SET7* 突变的纯合体(*pr-set7*^{-/-})果蝇由于缺乏H4K20 甲基化将会死于第二龄期, 提示PR-SET7在个体发育中具有重要作用。Oda等^[7]研究小鼠*PR-SET7*^{-/-}突变纯合体发现, 这种具有*PR-SET7* 缺陷的小鼠胚胎进行卵裂至 8-细胞期时, 就发育停止、死亡。由于缺乏PR-SET7, 该胚胎细胞H4K20me1 水平显著降低, 进一步还导致H4K20me2、H4K20me3 水平降低。如上文所述, H4K20me1 修饰在细胞周期中发挥重要调节作用, 因此胚胎的死亡可能源于细胞周期的功能障碍。*PR-SET7* 突变的胚胎干细胞最终大量阻滞于细胞周期G₂ 晚期和M期, 激活了细胞周期检验点, 导致凋亡的发生。同时, 无论是有丝分裂期还是间期的胚胎干细胞均存在染色质固缩障碍^[7]。

PR-SET7 在哺乳动物组织分化的过程中也发挥作用。在鼠表皮细胞未分化时敲除*PR-SET7*, 将严重影响表皮的增殖与分化过程: 小鼠表皮祖细胞减少, 脂肪腺和表皮滤泡发生不可逆丢失, 在L4-羟基三苯氧胺(4-hydroxytamoxifen, 4-OHT)治疗后损伤并未恢复。转录因子c-Myc激活可促进表皮干细胞退出静止状态, 诱导祖细胞的分化并刺激其向滤泡间上皮与皮脂腺分化^[53]。敲除*PR-SET7* 可抑制*c-myc*的激活。然而*PR-SET7* 敲除后, 即使过表达*c-myc*也无法逆转表皮祖细胞的分化障碍和凋亡。这种细胞凋亡水平增加可能是由于p63 的缺失和p53 增加造成的, 过表达p63 并消除p53 可以抑制PR-SET7造成的细胞凋亡^[24]。

此外, PR-SET7 还参与基因组印记的形成。基因组印记是指来自父方和母方的等位基因在通过精子和卵子传递给子代时发生了修饰, 使带有亲代印记的等位基因具有不同的表达特性。印记基因对个体发育十分重要, 它的表达或沉默是由印记控制区(Imprinting control regions, ICRs), 又称作印记中心(Imprinting centers, ICs)通过顺式作用来调控的。ICRs具有大量H3K9me3 和H4K20me3 标记^[54]。利用

小鼠胚胎纤维细胞(Mouse embryonic fibroblast, MBF)进行研究发现, PR-SET7 可催化ICRs的H4K20 发生单甲基化。进一步, SUV4-20h以H4K20me1 为底物催化 ICRs 发生 H4K20me3。但 PR-SET7 与 SUV4-20h均不影响ICRs DNA的甲基化水平。意外地是, PR-SET7 与SUV4-20h表达下调引起ICRs的H4K20me3 水平下降的同时, 还提高了相同亲本等位基因的H3K9me3 水平^[55]。

6.2 PR-SET7 在肿瘤发生中的作用

如上文所述, PR-SET7 能够活化Wnt通路、刺激*ERα*靶基因的转录、抑制p53 的活性、并与Twist共同调控上皮间质转化, 这些都与肿瘤发生和转移密切相关。同时, 临床研究证明, miR-502 与*PR-SET7* 的结合位点单核苷酸多态性可以调控*PR-SET7* 的表达, 并与乳腺癌低龄发病密切相关^[52]。中国肝癌患者miR-502 与*PR-SET7* 3 非编码区结合位点单核苷酸多态性分析的结果显示: 与其他基因型相比, *PR-SET7* CC基因型肝癌患者PR-SET7 蛋白低表达, 其 3 年的存活率也相对较高^[56]。这些研究都表明PR-SET7 在肿瘤的发生发展中起到了重要的作用。

7 展望

PR-SET7 是 2002 年第一次被发现并纯化出来。近年来对其晶体学结构、作用机制和生理功能的研究取得了较大的进展, 但还存在许多关键问题有待进一步解决。例如, PR-SET7 活性的调节是否存在除泛素化降解以外的机制? PR-SET7 介导的H4K20me1 对于 H4K20me2 和 H4K20me3 有怎样的意义? H4K20me2 和 H4K20me3 是否与 PR-SET7 引起的DNA 重复复制和染色体固缩相关?

另外, PR-SET7 在肿瘤的发生与转移中的调节作用也值得深入研究。目前, 多种组蛋白修饰酶(如组蛋白去乙酰化酶)已经成为肿瘤治疗的靶点, PR-SET7 有望成为下一个肿瘤治疗药物研发的靶蛋白, 为肿瘤的治疗提供新的方向。

参考文献(References):

- [1] Strahl BD, Allis CD. The language of covalent histone modifications. *Nature*, 2000, 403(6765): 41–45. DOI
- [2] Taverna SD, Li HT, Ruthenburg AJ, Allis CD, Patel DJ.

- How chromatin-binding modules interpret histone modifications: lessons from professional pocket pickers. *Nat Struct Mol Biol*, 2007, 14(11): 1025–1040. [DOI](#)
- [3] Allis CD, Berger SL, Cote J, Dent S, Jenuwein T, Kouzarides T, Pillus L, Reinberg D, Shi Y, Shikhatkar R, Shikhatkar A, Workman J, Zhang Y. New nomenclature for chromatin-modifying enzymes. *Cell*, 2007, 131(4): 633–636. [DOI](#)
- [4] Rea S, Eisenhaber F, O'Carroll D, Strahl BD, Sun ZW, Schmid M, Opravil S, Mechtler K, Ponting CP, Allis CD, Jenuwein T. Regulation of chromatin structure by site-specific histone H3 methyltransferases. *Nature*, 2000, 406(6796): 593–599. [DOI](#)
- [5] Dillon SC, Zhang X, Trievel RC, Cheng XD. The SET-domain protein superfamily: protein lysine methyltransferases. *Genome Biol*, 2005, 6(8): 227. [DOI](#)
- [6] Nishioka K, Rice JC, Sarma K, Erdjument-Bromage H, Werner J, Wang Y, Chuikov S, Valenzuela P, Tempst P, Steward R, Lis JT, Allis CD, Reinberg D. PR-Set7 is a nucleosome-specific methyltransferase that modifies lysine 20 of histone H4 and is associated with silent chromatin. *Mol Cell*, 2002, 9(6): 1201–1213. [DOI](#)
- [7] Oda H, Okamoto I, Murphy N, Chu J, Price SM, Shen MM, Torres-Padilla ME, Heard E, Reinberg D. Monomethylation of histone H4-lysine 20 is involved in chromosome structure and stability and is essential for mouse development. *Mol Cell Biol*, 2009, 29(8): 2278–2295. [DOI](#)
- [8] Rice JC, Nishioka K, Sarma K, Steward R, Reinberg D, Allis CD. Mitotic-specific methylation of histone H4 Lys 20 follows increased PR-Set7 expression and its localization to mitotic chromosomes. *Genes Dev*, 2002, 16(17): 2225–2230. [DOI](#)
- [9] Fang J, Feng Q, Ketel CS, Wang HB, Cao R, Xia L, Erdjument-Bromage H, Tempst P, Simon JA, Zhang Y. Purification and functional characterization of SET8, a nucleosomal histone H4-lysine 20-specific methyltransferase. *Curr Biol*, 2002, 12(13): 1086–1099. [DOI](#)
- [10] Abbas T, Shibata E, Park J, Jha S, Karnani N, Dutta A. CRL4^{Cdt2} regulates cell proliferation and histone gene expression by targeting PR-Set7/Set8 for degradation. *Mol Cell*, 2010, 40(1): 9–21. [DOI](#)
- [11] Xiao B, Jing C, Kelly G, Walker PA, Muskett FW, Frenkiel TA, Martin SR, Sarma K, Reinberg D, Gambin SJ, Wilson JR. Specificity and mechanism of the histone methyltransferase Pr-Set7. *Genes Dev*, 2005, 19(12): 1444–1454. [DOI](#)
- [12] Qian C, Zhou MM. SET domain protein lysine methyltransferases: Structure, specificity and catalysis. *Cell Mol Life Sci*, 2006, 63(23): 2755–2763. [DOI](#)
- [13] Guo HB, Guo H. Mechanism of histone methylation catalyzed by protein lysine methyltransferase SET7/9 and origin of product specificity. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104(21): 8797–8802. [DOI](#)
- [14] Centore RC, Havens CG, Manning AL, Li JM, Flynn RL, Tse A, Jin JP, Dyson NJ, Walter JC, Zou L. CRL4^{Cdt2}-mediated destruction of the histone methyltransferase Set8 prevents premature chromatin compaction in S phase. *Mol Cell*, 2010, 40(1): 22–33. [DOI](#)
- [15] Jørgensen S, Eskildsen M, Fugger K, Hansen L, Larsen MSY, Kousholt AN, Syljuåsen RG, Trelle MB, Jensen ON, Helin K, Sørensen CS. SET8 is degraded via PCNA-coupled CRL4^{Cdt2} ubiquitylation in S phase and after UV irradiation. *J Cell Biol*, 2011, 192(1): 43–54. [DOI](#)
- [16] Oda H, Hübner MR, Beck DB, Vermeulen M, Hurwitz J, Spector DL, Reinberg D. Regulation of the histone H4 monomethylase PR-Set7 by CRL4^{Cdt2}-mediated PCNA-dependent degradation during DNA damage. *Mol Cell*, 2010, 40(3): 364–376. [DOI](#)
- [17] Brustel J, Tardat M, Kirsh O, Grimaud C, Julien E. Coupling mitosis to DNA replication: the emerging role of the histone H4-lysine 20 methyltransferase PR-Set7. *Trends Cell Biol*, 2011, 21(8): 452–460. [DOI](#)
- [18] Wu SM, Wang WP, Kong XD, Congdon LM, Yokomori K, Kirschner MW, Rice JC. Dynamic regulation of the PR-Set7 histone methyltransferase is required for normal cell cycle progression. *Genes Dev*, 2010, 24(22): 2531–2542. [DOI](#)
- [19] Liu W, Tanasa B, Tyurina OV, Zhou TY, Gassmann R, Liu WT, Ohgi KA, Benner C, Garcia-Bassets I, Aggarwal AK, Desai A, Dorrestein PC, Glass CK, Rosenfeld MG. PHF8 mediates histone H4 lysine 20 demethylation events involved in cell cycle progression. *Nature*, 2010, 466(7305): 508–512. [DOI](#)
- [20] Li HT, Fischle W, Wang W, Duncan EM, Liang L, Murakami-Ishibe S, Allis CD, Patel DJ. Structural basis for lower lysine methylation state-specific readout by MBT repeats of L3MBTL1 and an engineered PHD finger. *Mol Cell*, 2007, 28(4): 677–691. [DOI](#)
- [21] Sanders SL, Portoso M, Mata J, Bähler 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](#)
- [22] Yang H, Mizzen CA. The multiple facets of histone H4-lysine 20 methylation. *Biochem Cell Biol*, 2009, 87(1): 151–161. [DOI](#)
- [23] Schotta G, Lachner M, Sarma K, Ebert A, Sengupta R, Reuter G, Reinberg D, Jenuwein T. A silencing pathway to induce H3-K9 and H4-K20 trimethylation at constitutive heterochromatin. *Genes Dev*, 2004, 18(11): 1251–1262. [DOI](#)
- [24] Driskell I, Oda H, Blanco S, Nascimento E, Humphreys P, Frye M. The histone methyltransferase Setd8 acts in con-

- cert with c-Myc and is required to maintain skin. *EMBO J*, 2012, 31(3): 616–629. [DOI](#)
- [25] Sakaguchi A, Steward R. Aberrant monomethylation of histone H4 lysine 20 activates the DNA damage checkpoint in *Drosophila melanogaster*. *J Cell Biol*, 2007, 176(2): 155–162. [DOI](#)
- [26] Lu X, Simon MD, Chodaparambil JV, Hansen JC, Shokat KM, Luger K. The effect of H3K79 dimethylation and H4K20 trimethylation on nucleosome and chromatin structure. *Nat Struct Mol Biol*, 2008, 15(10): 1122–1124. [DOI](#)
- [27] 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](#)
- [28] Hirota T, Gerlich D, Koch B, Ellenberg J, Peters JM. Distinct functions of condensin I and II in mitotic chromosome assembly. *J Cell Sci*, 2004, 117(Pt 26): 6435–6445. [DOI](#)
- [29] Kalakonda N, Fischle W, Boccuni P, Gurvich N, Hoya-Arias R, Zhao X, Miyata Y, Macgrogan D, Zhang J, Sims JK, Rice JC, Nimer SD. Histone H4 lysine 20 monomethylation promotes transcriptional repression by L3MBTL1. *Oncogene*, 2008, 27(31): 4293–4304. [DOI](#)
- [30] Trojer P, Reinberg D. Beyond histone methyl-lysine binding: how malignant brain tumor (MBT) protein L3MBTL1 impacts chromatin structure. *Cell Cycle*, 2008, 7(5): 578–585. [DOI](#)
- [31] Scharf AND, Meier K, Seitz V, Kremmer E, Brehm A, Imhof A. Monomethylation of lysine 20 on histone H4 facilitates chromatin maturation. *Mol Cell Biol*, 2009, 29(1): 57–67. [DOI](#)
- [32] Qin JZ, Van Buren D, Huang HS, Zhong L, Mostoslavsky R, Akbarian S, Hock H. Chromatin protein L3MBTL1 is dispensable for development and tumor suppression in mice. *J Biol Chem*, 2010, 285(36): 27767–27775. [DOI](#)
- [33] Wu SM, Rice JC. A new regulator of the cell cycle: the PR-Set7 histone methyltransferase. *Cell Cycle*, 2011, 10(1): 68–72. [DOI](#)
- [34] Lee J, Zhou PB. SETting the clock for histone H4 monomethylation. *Mol Cell*, 2010, 40(3): 345–346. [DOI](#)
- [35] Yin YL, Yu VC, Zhu G, Chang DC. SET8 plays a role in controlling G1/S transition by blocking lysine acetylation in histone through binding to H4 N-terminal tail. *Cell Cycle*, 2008, 7(10): 1423–1432. [DOI](#)
- [36] Remus D, Diffley JFX. Eukaryotic DNA replication control: lock and load, then fire. *Curr Opin Cell Biol*, 2009, 21(6): 771–777. [DOI](#)
- [37] Tardat M, Brustel J, Kirsh O, Lefevbre C, Callanan M, Sardet C, Julien E. The histone H4 Lys 20 methyltransferase PR-Set7 regulates replication origins in mammalian cells. *Nat Cell Biol*, 2010, 12(11): 1086–1093. [DOI](#)
- [38] Schotta G, Sengupta R, Kubicek S, Malin S, Kauer M, Callen E, Celeste A, Pagani M, Opravil S, De La Rosa-Velazquez IA, Espejo A, Bedford MT, Nussenzweig A, Busslinger M, Jenuwein T. A chromatin-wide transition to H4K20 monomethylation impairs genome integrity and programmed DNA rearrangements in the mouse. *Genes Dev*, 2008, 22(15): 2048–2061. [DOI](#)
- [39] Miotto B, Struhl K. HBO1 histone acetylase activity is essential for DNA replication licensing and inhibited by Geminin. *Mol Cell*, 2010, 37(1): 57–66. [DOI](#)
- [40] Jorgensen S, Elvers I, Trelle MB, Menzel T, Eskildsen M, Jensen ON, Helleday T, Helin K, Sorensen CS. The histone methyltransferase SET8 is required for S-phase progression. *J Cell Biol*, 2007, 179(7): 1337–1345. [DOI](#)
- [41] Congdon LM, Houston SI, Veerappan CS, Spektor TM, Rice JC. PR-Set7-mediated monomethylation of histone H4 lysine 20 at specific genomic regions induces transcriptional repression. *J Cell Biochem*, 2010, 110(3): 609–619. [DOI](#)
- [42] Spektor TM, Congdon LM, Veerappan CS, Rice JC. The UBC9 E2 SUMO conjugating enzyme binds the PR-Set7 histone methyltransferase to facilitate target gene repression. *PLoS One*, 2011, 6(7): e22785. [DOI](#)
- [43] Shi XB, Kachirskaja I, Yamaguchi H, West LE, Wen H, Wang EW, Dutta S, Appella E, Gozani O. Modulation of p53 function by SET8-mediated methylation at lysine 382. *Mol Cell*, 2007, 27(4): 636–646. [DOI](#)
- [44] West LE, Roy S, Lachmi-Weiner K, Hayashi R, Shi X, Appella E, Kutateladze TG, Gozani O. The MBT repeats of L3MBTL1 link SET8-mediated p53 methylation at lysine 382 to target gene repression. *J Biol Chem*, 2010, 285(48): 37725–37732. [DOI](#)
- [45] Gan XQ, Wang JY, Xi Y, Wu ZL, Li YP, Li L. Nuclear Dvl, c-Jun, β -catenin, and TCF form a complex leading to stabilization of β -catenin-TCF interaction. *J Cell Biol*, 2008, 180(6): 1087–1100. [DOI](#)
- [46] Kramps T, Peter O, Brunner E, Nellen D, Froesch B, Chatterjee S, Murone M, Züllig S, Basler K. Wnt/wingless signaling requires BCL9/legless-mediated recruitment of pygopus to the nuclear β -catenin-TCF complex. *Cell*, 2002, 109(1): 47–60. [DOI](#)
- [47] Li ZF, Nie F, Wang S, Li L. Histone H4 Lys 20 monomethylation by histone methylase SET8 mediates Wnt target gene activation. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108(8): 3116–3123. [DOI](#)
- [48] Li YY, Sun LY, Zhang Y, Wang DD, Wang F, Liang J, Gui B, Shang YF. The histone modifications governing

- TFF1* transcription mediated by estrogen receptor. *J Biol Chem*, 2011, 286(16): 13925–13936. [DOI](#)
- [49] Wakabayashi KI, Okamura M, Tsutsumi S, Nishikawa NS, Tanaka T, Sakakibara I, Kitakami JI, Ihara S, Hashimoto Y, Hamakubo T, Kodama T, Aburatani H, Sakai J. The peroxisome proliferator-activated receptor γ /retinoid X receptor α heterodimer targets the histone modification enzyme PR-Set7/Setd8 gene and regulates adipogenesis through a positive feedback loop. *Mol Cell Biol*, 2009, 29(13): 3544–3555. [DOI](#)
- [50] Kang YB, Massagué J. Epithelial-mesenchymal transitions: twist in development and metastasis. *Cell*, 2004, 118(3): 277–279. [DOI](#)
- [51] Yang F, Sun LY, Li Q, Han X, Lei LD, Zhang H, Shang YF. SET8 promotes epithelial-mesenchymal transition and confers TWIST dual transcriptional activities. *EMBO J*, 2012, 31(1): 110–123. [DOI](#)
- [52] Song FJ, Zheng H, Liu B, Wei S, Dai HJ, Zhang LA, Calin GA, Hao XH, Wei QY, Zhang W, Chen K. An miR-502-binding site single-nucleotide polymorphism in the 3'-untranslated region of the SET8 gene is associated with early age of breast cancer onset. *Clin Cancer Res*, 2009, 15(19): 6292–6300. [DOI](#)
- [53] Frye M, Fisher AG, Watt FM. Epidermal stem cells are defined by global histone modifications that are altered by Myc-induced differentiation. *PLoS One*, 2007, 2(8): e763. [DOI](#)
- [54] Wu MY, Tsai TF, Beaudet AL. Deficiency of *Rbbp1/Arid4a* and *Rbbp11/Arid4b* alters epigenetic modifications and suppresses an imprinting defect in the PWS/AS domain. *Genes Dev*, 2006, 20(20): 2859–2870. [DOI](#)
- [55] Pannetier M, Julien E, Schotta G, Tardat M, Sardet C, Jenuwein T, Feil R. PR-SET7 and SUV4-20H regulate H4 lysine-20 methylation at imprinting control regions in the mouse. *EMBO Rep*, 2008, 9(10): 998–1005. [DOI](#)
- [56] Guo ZJ, Wu CS, Wang XL, Wang CJ, Zhang RX, Shan BE. A polymorphism at the miR-502 binding site in the 3'-untranslated region of the histone methyltransferase SET8 is associated with hepatocellular carcinoma outcome. *Int J Cancer*, 2012, 131(6): 1318–1322. [DOI](#)

•科学新闻•

利用外显子组测序鉴定一个新的人类白化病基因

眼皮肤白化病(OCA)是一种具有遗传异质性的常染色体隐性遗传病,在全世界的流行率约为 1/17000,人群携带率约 1/65,为我国北方地区相对常见的单基因遗传病。该病表现为皮肤、毛发和眼的黑色素减少或完全缺失,通常伴有畏光、斜视、眼球震颤等,可导致视力低下或丧失,是导致先天性眼残疾的常见原因之一。目前,已明确的人类 OCA 的致病基因有非综合征性 OCA 基因 4 个和综合征性 OCA 基因 13 个。研究表明仍有一些 OCA 患者可能由其它未知致病基因引起。

中国科学院遗传与发育生物学研究所李巍研究组长期致力于 OCA 致病基因的克隆和相关发病机制的研究,特别是其中一类综合征性 HPS 白化病的发生机制。通过对相关 HPS 基因功能的研究,发现多个 HPS 相关蛋白复合体(HPAC),其复合体组成和功能在最近发表于 *Pigment Cell & Melanoma Research* 的一篇综述中进行了详细阐述(Wei & Li, 2013, doi: 10.1111/pcmr.1205)。在对大量中国白化病遗传资源的收集和分子流行病学分析、基因诊断和产前诊断的基础上,发现约 5%的白化病患者的致病基因未明。利用全外显子组测序方法,在一个非综合征性白化病家系中鉴定出一个色素合成相关基因 SLC24A5,是导致 OCA 的新致病基因,命名为 OCA6。相关研究发表在 *Journal of Investigative Dermatology* 上(doi: 10.1038/jid.2013.49)。这一发现对于白化病的基因诊断和产前诊断有重要意义,也有助于更深入了解色素产生的机制和人类肤色、毛色多样性的遗传基础。

该项研究是与首都医科大学附属北京同仁医院、深圳华大基因研究院合作完成的,得到国家自然科学基金、科技部 973 项目以及分子发育生物学国家重点实验室开放课题的资助。

(来自中国科学院遗传与发育生物学研究所网站)