

# 组蛋白 H3 变体 H3.3 及其在细胞重编程中的作用

黄星卫, 程香荣, 王楠, 张雨薇, 廖辰, 金连弘, 雷蕾

哈尔滨医科大学组织学与胚胎学教研室, 哈尔滨 150081

**摘要:** 组蛋白是真核生物中一类进化上相对保守的蛋白质。由组蛋白八聚体及缠绕其上的 DNA 构成的核小体是真核生物染色质的基本组成单位。核小体使 DNA 保持固缩状态, 既能维持基因组的稳定性, 又能保证 DNA 序列可以正确地进行复制、转录、重组和修复。核小体调控细胞的生物过程除了通过组蛋白翻译后修饰, 还可以通过组蛋白变体替换的方式进行。研究发现, 组蛋白 H3 变体 H3.3 与常规组蛋白 H3 尽管仅有几个氨基酸的区别, 但 H3.3 却能由特异的分子伴侣介导, 整合进入染色质的特定区域, 从而发挥不同的作用。同时, H3.3 作为一种母源因子在正常受精和体细胞核移植等细胞重编程过程中也发挥着重要作用。本文总结了 H3.3 的结构特点和富集情况, 探讨了特异的分子伴侣及其在细胞重编程中的作用, 以期为提高体细胞重编程效率提供新思路, 为体细胞重编程的应用奠定基础。

**关键词:** 组蛋白变体; H3.3; 分子伴侣; 重编程; rDNA

## Histone variant H3.3 and its functions in reprogramming

Xingwei Huang, Xiangrong Cheng, Nan Wang, Yuwei Zhang, Chen Liao, Lianhong Jin, Lei Lei

*Department of histology and embryology, Harbin Medical University, Harbin 150081, China*

**Abstract:** Histones are a class of evolutionarily conserved nuclear proteins. Histone octamer wrapped by DNA sequence forms the nucleosome, the basic building blocks of eukaryotic chromatin. The nucleosomes keep the DNA in a condensed state, maintain the integrity of the genome, and ensure proper DNA replication, transcription, recombination and repair. Nucleosomes can regulate the biological processes of the cell through a number of distinct post-translational modifications (PTMs) and turnovers of histone variants. Although the histone H3 variant H3.3 differs from the canonical histone H3 by only a few amino acids, it could be incorporated into distinct chromatin regions by specific chaperones and exert diverse functions on the chromatin. Importantly, H3.3 is also an essential maternal factor, and plays a key role in cellular reprogramming during fertilization and somatic cell nuclear transfer. In this review, we summarize the structural properties and enrichment pattern of H3.3, and explore the specific chaperones involved in the H3.3-mediated cellular reprogramming. We

收稿日期: 2017-09-30; 修回日期: 2017-12-15

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(编号: 31671545)资助[Supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 31671545)]

作者简介: 黄星卫, 硕士研究生, 专业方向: 组织学与胚胎学。E-mail: hxw423@hotmail.com

通讯作者: 雷蕾, 博士, 教授, 研究方向: 发育生物学。E-mail: leiys2002@yahoo.com

金连弘, 教授, 研究方向: 干细胞应用。E-mail: wstjhl@126.com

DOI: 10.16288/j.ycz.17-233

网络出版时间: 2017/12/22 11:34:07

URI: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.1913.R.20171222.1133.003.html>

hope to provide some insights on new means to improve the efficiency of somatic cell reprogramming and lay the foundation for its potential applications.

**Keywords:** histone variant; H3.3; chaperone; reprogramming; rDNA

体细胞核移植(somatic cell nuclear transfer, SCNT)和诱导多潜能干细胞(induced pluripotent stem cells, iPSC)技术都是将已分化的体细胞重编程为未分化的状态,涉及到多潜能基因的重新激活、表观遗传改变及染色质的重塑等过程。以 SCNT 和 iPSC 为代表的重编程技术在再生医学领域具有巨大的应用前景,但目前重编程机制尚不甚清楚。SCNT 和 iPSC 均存在效率低下、体细胞表观记忆残留等问题<sup>[1,2]</sup>,极大地制约了这些技术的应用,因此解析重编程机制进而提高其效率成为当前遗传与发育研究领域的热点之一。

核小体是真核生物染色质的基本组成单位,由 146 bp 的 DNA 在组蛋白八聚体上缠绕将近两圈形成。组蛋白八聚体包含两套核心组蛋白 H2A、H2B、H3、H4,由两个 H2A-H2B 二聚体和一个 H3-H4 四聚体组成。核小体的产生不仅使 DNA 保持固缩状态,维持基因组的稳定性,而且也保证 DNA 序列可以正确地进行复制、转录、重组和修复。真核细胞通过组蛋白翻译后修饰(post-translational modifications, PTMs),如甲基化、乙酰化、磷酸化、泛素化等,以及各种组蛋白变体来调节核小体的生物过程。除了 H4 变体组蛋白只在低等真核生物中被发现外, H2A、H2B、H3 在大部分真核生物中都有多种的组蛋白变体,变体组蛋白与常规组蛋白的差异从几个到上百个氨基酸不等。其中 H3.3 与其常规组蛋白原型仅有几个氨基酸的区别,但 H3.3 整合进入染色质的方式以及功能却发生了很大的变化。越来越多的研究表明这些组蛋白变体在调节染色质稳态以及相应 DNA 活性的过程中发挥着重要作用。

目前,在哺乳动物中已经发现了 5 种 H3 变体: 2 种常规组蛋白 H3 变体 H3.1(哺乳动物中特异存在)和 H3.2,以及 3 种替换组蛋白变体 H3.3、着丝粒特异的变体 CenH3(哺乳动物中是 CENP-A)和睾丸特异的组蛋白变体 H3T<sup>[3-5]</sup>。除此以外,研究还发现在

灵长类动物特异存在的组蛋白变体 H3.X 和 H3.Y、在人类生精小管中表达的类人猿特异的组蛋白变体 H3.5,以及在人类中存在的组蛋白 H3 变体 H3.6、H3.7 和 H3.8,但这些组蛋白变体的具体功能尚不清楚<sup>[6-8]</sup>。其中, H3.3 是一种重要的母源因子,能够在受精后替换精子中的鱼精蛋白,从而参与雄原核的重编程过程<sup>[9]</sup>。最初,组蛋白变体 H3.3 被认为是转录活性的标志,在表观印记的转变过程中具有着重要作用<sup>[10]</sup>,但也有研究表明, H3.3 能整合进入端粒和着丝粒旁的串联重复序列等沉默的染色质<sup>[11,12]</sup>。本文主要对组蛋白 H3 变体 H3.3 相关的特性、定位、功能及其在细胞重编程过程中的作用进行了综述。

## 1 组蛋白变体 H3.3 与常规组蛋白 H3 的区别及特点

编码常规组蛋白 H3.1 和 H3.2 的基因不含内含子,且多个基因串联集成簇存在。其编码的 mRNA 不包含 polyA 尾,同时需要结合茎环结合蛋白(stem binding protein)并且在 3'端结合 U7 snRNA (small nuclear RNA)才能进行翻译<sup>[13]</sup>。正是这种独特的基因构成及其转录调控方式使得在细胞有丝分裂的间期 S 期时可以得到大量的常规组蛋白 H3,从而保证 DNA 复制时有足够多的新合成的组蛋白整合进入其中。这是一种依赖 DNA 复制(DNA synthesis-coupled, DSC)的方式。当紫外线照射或者其他因素导致 DNA 损伤时,即使细胞不处于 S 期,常规组蛋白 H3.1 仍然能以 DSC 的方式整合进入到染色质中<sup>[14]</sup>。而编码非常规组蛋白 H3.3 的基因却只有一个或几个,且散布在基因组中,转录得到含有 polyA 尾的 mRNA。例如:在小鼠(*Mus musculus*)、人(*Homo sapiens*)、果蝇(*Drosophila melanogaster*)中均有两个编码 H3.3 的基因,即 *H3.3A* 和 *H3.3B*,虽然它们的非编码区不同,但编码相同的 H3.3 蛋白<sup>[15-17]</sup>。这些

基因在整个细胞周期都持续表达,使组蛋白变体 H3.3 替换常规组蛋白 H3,并能以一种不依赖 DNA 复制(DNA synthesis-independent, DSI)的方式整合进入染色质。所有真核细胞中都存在 H3.3 或 H3.3 样的保守蛋白,而在哺乳动物中组蛋白 H3.3 与 H3.2 仅有 4 个氨基酸的差异(第 31、87、89 和 90 位氨基酸),H3.3 与 H3.1 也仅有 5 个氨基酸的差异(第 31、87、89、90 和 96 位氨基酸)(图 1)。第 31 位氨基酸位于蛋白的 N 端尾部,第 87、89 和 90 位氨基酸位于组蛋白折叠结构域。尽管 H3.3 与常规组蛋白 H3 在序列上高度相似,但不同的氨基酸残基却使 H3.3 拥有一些特殊的功能。例如:在脊椎动物和果蝇中,H3 中的第 87、89 和 90 位氨基酸分别是丝氨酸(serine, S)、缬氨酸(valine, V)、甲硫氨酸(methionine, M),而 H3.3 中第 87、89 和 90 位氨基酸则分别是丙氨酸(alanine, A)、异亮氨酸(isoleucine, I)、甘氨酸(glycine, G)。在果蝇中,如果将 H3 中任意一个不同的氨基酸替换为与 H3.3 中一致的氨基酸,即能使部分常规组蛋白 H3 以 DSI 方式整合进入染色质<sup>[10]</sup>。这表明 H3 中的 SVM 氨基酸序列对于 H3 以 DSC 方式整合进入染色质具有重要作用。而在小鼠胚胎干细胞中,将内源的 H3.3B 的氨基酸序列突变为与 H3.2 相同,则会改变 H3.3 在全基因组中的富集模式。这表明 H3.3 的氨基酸序列可以决定其最终分布,而第 87、89 和 90 位的三个氨基酸位置能直接或间接地参与组蛋白特异性识别<sup>[18]</sup>。综上所述,组蛋白变体 H3.3 除了以不依赖细胞周期的方式整合进入染色质外,其独特的氨基酸序列也有重要作用,使包含 H3.3 的核小体能特异地与不同的分子伴侣识别整合进入特定的基因组区域,发挥不同功能。

## 2 H3.3 在特定的基因位置富集及作用

利用染色质免疫共沉淀测序技术(chromatin immunoprecipitation with high-throughput sequencing, ChIP-seq),人们确定了真核生物细胞中详细的 H3.3 全基因组定位图谱。结果表明对于 GC 含量高的启动子区域,无论基因是激活还是沉默状态,均有 H3.3 的富集<sup>[18]</sup>。而 H3.3 倾向于整合进入激活的染色质中,主要富集在有活性基因的启动子区域、基因内与基因间的调控区域,说明 H3.3 与基因活性之间存在一定的联系<sup>[18-21]</sup>。当基因转录时,RNA 聚合酶复合物在基因体上会移除原有的核小体,H3.3 能被动地以 DSC 方式整合进入染色质进行补充<sup>[22]</sup>。而 H3.3 也能主动在激活状态基因的调控元件区域持续地以 DSI 方式替换常规组蛋白 H3 来维持相关复合体的结合,从而激活转录或保持基因的表现遗传记忆<sup>[21,23]</sup>。Gurdon 等<sup>[23]</sup>发现在非洲爪蟾(*Xenopus laevis*)中存在一些 H3.3 相关的表现遗传标志,其在细胞分裂过程中始终存在,而不是依靠每一个细胞周期中重新激活转录来维持激活状态的记忆。在果蝇中敲除 H3.3 编码基因(*His3.3A* 和 *His3.3B*)会出现 H3 的过表达,说明其中可能存在部分补偿机制<sup>[24]</sup>。但在小鼠胚胎干细胞中,敲除 *Hira* 的细胞与野生型细胞相比,H3.3 在基因内区域的富集减少对于整个细胞的转录影响不大<sup>[18]</sup>。这表明 H3.3 可能在这些细胞中的正常转录中并不是必需的,但考虑到它们是全能或多潜能干细胞,与终末分化的细胞相比,可能不需要一个持续的基因激活的记忆,所以应关注 H3.3 在已分化的哺乳动物细胞中对于激活状态记忆的作用。

H3.3 除了整合进入激活的染色质中,同时也富

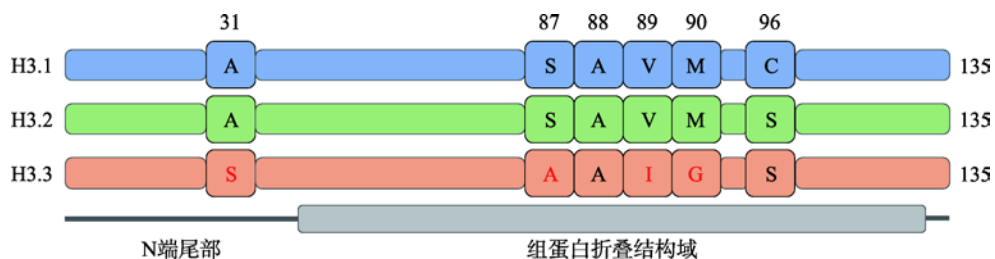


图 1 组蛋白变体 H3.3 与常规组蛋白 H3(H3.1 和 H3.2)氨基酸序列的区别

Fig. 1 Differences in amino acid sequences between H3 (H3.1 & H3.2) and H3.3

组蛋白变体 H3.3 与常规组蛋白 H3.1 和 H3.2 氨基酸序列仅存在 4~5 个区别。A:丙氨酸(alanine);S:丝氨酸(serine);V:缬氨酸(valine);M:甲硫氨酸(methionine);I:异亮氨酸(isoleucine);G:甘氨酸(glycine);C:半胱氨酸(cysteine)。

集在另一些非激活状态的基因位置中。小鼠胚胎干细胞中存在一些启动子区域同时富集 H3K4me3 和 H3K27me3 两种表观修饰的二价基因, 它们大多处于静止状态, 只有在细胞分化时才激活表达。在正常情况下 H3.3 会募集多梳蛋白抑制复合体 2 (polycomb repressive complex 2, PRC2) 到二价基因启动子区域参与建立 H3K27me3 修饰的过程<sup>[25]</sup>。当 NIH3T3 细胞受到某些外界条件(如干扰素)刺激后会激活部分基因的表达, 此时 H3.3 会大量富集到这些基因的编码区的末端。如果细胞不处于有丝分裂时期, 即使转录结束后, H3.3 一段时间内仍会存在于这些基因的编码区<sup>[26]</sup>。Ahmad 和 Henikoff<sup>[10]</sup>发现 H3.3 在果蝇 Kc 细胞中富集到大量 rDNA 重复序列中, 或许是因为这些致密重复的 rDNA 位点有很高的转录活性又或者是为了维持 rDNA 异染色质的稳定。而在小鼠胚胎干细胞中, H3.3 在 rDNA 等重复序列中均有富集, 且保持较稳定的水平, 维持基因的平衡状态<sup>[21]</sup>。另外, 在人、果蝇和小鼠中, 还发现 H3.3 在端粒和着丝粒旁的异染色质区域的聚集, 而且对于维持此处重复序列的转录抑制状态是必需的<sup>[27-29]</sup>。因此, 可以看出 H3.3 整合进入端粒和着丝粒旁的异染色质区域与基因组稳定性相关。探究 H3.3 如何整合进入这些特殊的位点, 以及介导 H3.3 整合进入的组蛋白分子伴侣复合物如何发挥作用, 对更好地理解 H3.3 的富集模式和作用很有意义。

### 3 H3.3 与分子伴侣

核小体的组装需要一系列组蛋白整合进入 DNA, 而组蛋白变体整合进入的平衡受到组蛋白分子伴侣的影响, 这对于细胞命运决定和基因表达程序的稳定很重要。H3.3 有很多分子伴侣, 一部分特异地与 H3.3 相互作用, 而另一部分则可以与所有的组蛋白 H3 发生相互作用。在高等动物中, 主要由两种特异的组蛋白分子伴侣复合体引导 H3.3 整合进入染色质: HIRA/UBN1/CABIN1 复合体和 ATRX/DAXX 复合体。

#### 3.1 HIRA/UBN1/CABIN1 复合体

Almouzni 等<sup>[30]</sup>在分离常规组蛋白 H3.1 整合进入复合体时发现了染色质合成因子(chromatin as-

sembly factor-1, CAF-1), 其包含 p150、p60 和 p50 3 个亚基, 是在 DNA 复制和因紫外线照射损伤修复过程中以 DSC 方式促进核小体合成的分子伴侣原型。在分离 H3.3 整合进入复合体的研究中, 又发现了组蛋白细胞周期调节因子 A(histone cell cycle regulator A, HIRA)<sup>[31]</sup>。该复合体(以下简称 HIRA 复合体)主要包括 HIRA、泛素化核蛋白 1(ubiquitin-1, UBN1)、钙依赖磷酸酶结合蛋白 1(calcineurin-binding protein 1, CABIN1)(图 2)。这是一个进化保守的组装过程, 在抗沉默功能蛋白 1 同源物 a (anti-silencing function 1 homolog a, ASF1a)的帮助下, 调控 H3.3-H4 二聚体以 DSI 方式整合进入或退出染色质<sup>[32]</sup>。酿酒酵母菌(*Saccharomyces cerevisiae*)中 Hir1p 和 Hir2p 拥有与 HIRA 同源的结构域, 而 Hir3 和 Hpc2 分别是 CABIN1 和 UBN1 的同源物。其中 UBN1 能特异性识别 H3.3-H4 二聚体 H3.3 第 90 位上甘氨酸残基, 与 H3.3 高度保守的第 87、89 和 90 位的 AIG 结构域结合。酿酒酵母菌中 HIR 复合体以 DSI 方式参与转录调控、延长速度和沉默染色质结构域的建立<sup>[33]</sup>。在果蝇中, HIRA 对于 H3.3 整合进入解凝集的精子染色质很重要, HIRA 突变使卵母细胞中 H3.3 不能替换精子中鱼精蛋白, 精子染色质维持凝集状态, 最终导致胚胎致死<sup>[34]</sup>。然而在出生后的发育阶段, 敲除 HIRA 并不影响果蝇的生长过程, 仅雄性果蝇出现不育症状, 表明在果蝇中, 由 HIRA 复合体介导的 H3.3 整合进入核小体并不是生长发育过程必需的, 可能还存在其他介导 H3.3 整合进入核小体或者其他组蛋白变体替代 H3.3 功能的代偿机制<sup>[24]</sup>。在非洲爪蟾中, 胚胎发育过程中 H3.3 的整合进入也依赖 HIRA 复合体, 敲减 HIRA 的蛋白水平会得到与敲减 H3.3 类似的表型<sup>[35]</sup>。在哺乳动物中, HIRA 复合体介导的 H3.3 整合进入核小体对于早期胚胎发育和细胞多能性十分重要<sup>[36]</sup>。在小鼠胚胎干细胞中, HIRA 复合体介导 H3.3 在发育相关基因启动子区域募集 PRC2 复合体, 建立正确的 H3K27me3 修饰, 维持胚胎干细胞中正常的染色质表观修饰标记, 这对于分化时的基因调控是必需的<sup>[25]</sup>。在增殖细胞中, 因为 HIRA 复合体可以控制 RNA 聚合酶 II 与转录位点和调控元件结合, 所以 HIRA 复合体出现在活跃基因的启动子与基因体等位置, 可以调控转录激活基因的功能<sup>[37]</sup>。



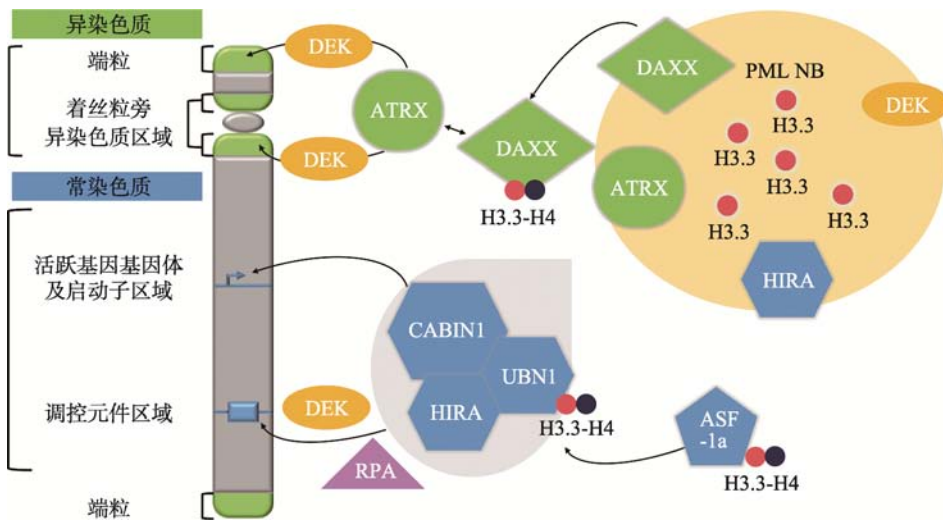


图 2 H3.3 在不同区域的富集及特异的分子伴侣复合体

Fig. 2 H3.3 enrichment pattern and specific chaperone complexes

H3.3 由 HIRA/UBN1/CABIN1 复合体介导整合进入激活基因的基因体和启动子区域以及调控元件区域。而 ATRX/DAXX 复合体介导 H3.3 整合进入端粒和着丝粒旁异染色质区域。PML 小体形成一个 H3.3“仓库”,里面容纳未整合进入染色质的 H3.3 以及 HIRA、ATRX、DAXX 和 DEK 等分子伴侣,在整合进入染色质之前调控 H3.3 与分子伴侣之间的相互作用。ASF-1a 为 HIRA/UBN1/CABIN1 复合体提供 H3.3-H4 二聚体,DEK 和 RPA 各自调控 H3.3 整合进入调控元件区域。PML NB: 早幼粒白血病蛋白小体(promyelocytic leukemia nuclear bodies)。

最新的研究表明,HIRA 复合体介导的 H3.3 核小体合成依赖复制蛋白 A(replication protein A, RPA),RPA 是单链 DNA 结合蛋白,是 DNA 复制和修复重要的调节因子。如果下调 RPA 表达水平会影响 HIRA 复合体的募集和 H3.3 整合进入调节元件和启动子区域,进而影响基因转录<sup>[38,39]</sup>。

### 3.2 ATRX/DAXX 复合体

除了 HIRA 复合体外,另一个包含两个蛋白的复合体也参与了 H3.3 核小体的合成<sup>[40]</sup>,该复合体包含的两个蛋白分别是  $\alpha$  地中海贫血/智力低下 X 连锁综合征蛋白(the alpha-thalassemia/mental retardation X-linked syndrome protein, ATRX)和死亡结构域相关蛋白(the death domain-associated protein, DAXX) (图 2)。ATRX 属于 SNF2 相关 ATP 酶家族,是一个 ATP 依赖的染色质重构因子。与其他真核生物 SWI/SNF 多蛋白复合体的其他螺旋酶亚基一样,ATRX 会介导 H3.3 整合进入特定的靶点位置改变核小体组成。ATRX 定位在端粒和着丝粒旁的异染色质区域,表明可能有维持染色质沉默状态的作用<sup>[41]</sup>。DAXX 和 ATRX 一起介导 H3.3 整合进入染色质<sup>[40]</sup>,与 HIRA

复合体类似,DAXX 可以识别 H3.3 中第 87~90 位氨基酸的 AAIG 模体,与 H3.3-H4 二聚体结合<sup>[42]</sup>。DAXX 和 ATRX 相互作用,引起 ATP 依赖的染色质重构以及 H3.3 以 DSI 方式整合进入特定的基因区域<sup>[40,43]</sup>。有研究表明,ATRX 能通过自身的染色质结合结构域识别 H3K9me3 和未被修饰的 H3K4,与异染色质蛋白 1(heterochromatin protein 1, HP1)结合<sup>[44]</sup>。这会促进 macroH2A1 退出基因和基因间区域,因为在缺乏 ATRX 的人源细胞中发现 macroH2A1 在端粒旁区域聚集<sup>[45]</sup>。在分裂细胞和分化细胞中,DAXX 与 ATRX 一同控制 H3.3 整合进入着丝粒旁异染色质、端粒以及转录起始区域<sup>[18,40,46~48]</sup>。尽管 H3.3 常与激活基因的启动子和调控区域相关<sup>[49,50]</sup>,但 ATRX/DAXX 复合体控制 H3.3 整合进入 H3K9me3 等甲基化的沉默基因区域,维持表观遗传修饰<sup>[48]</sup>,这也许可以阻止表观遗传记忆的丢失以及异染色质区域的异常基因表达。在小鼠胚胎干细胞中,ATRX/DAXX 复合体对于 H3.3 整合进入内源转座元件(endogenous retroviral elements, ERVs)很重要,例如:H3.3 依赖的核小体替换通过募集 KRAB 相关蛋白 1(KRAB-associated protein-1, KAP1)维持 H3K9me3 标记和 ERVs

的沉默状态<sup>[51,52]</sup>。近期有研究发现 EB 病毒(epstein-barr virus, EBV)可以利用 ATRX/DAXX 复合体整合进宿主基因组中,并维持潜伏状态<sup>[53]</sup>。这些结果表明 ATRX/DAXX 复合体介导的 H3.3 替换对于维持基因组稳定性和组织中体细胞异质性十分重要。

### 3.3 其他的分子伴侣

其他一些蛋白也被发现与 H3.3 整合进入特定位置相关,一些能特异地与 H3.3 相互作用,而另一部分则与所有 H3 或者所有组蛋白相关。例如 FACT 介导组蛋白整合进入与交换, NASP1 可以保证新合成的组蛋白不被降解。在果蝇中,染色体结构域螺旋酶 DNA 结合蛋白 1(chromodomain helicase DNA-binding protein 1, CHD1)与 HIRA 互作,介导 H3.3 在受精后整合进入精子 DNA 解凝集的雄性染色质中<sup>[54]</sup>。早幼粒白血病(promyelocytic leukemia, PML)蛋白形成空腔的 PML 小体(PML nuclear bodies, PML NB),包含 H3.3 及 HIRA、DAXX、ATRX 等分子伴侣, PML 小体调控 H3.3 与分子伴侣之间的相互作用,使之整合进入 PML 蛋白相关的异染色质区域<sup>[55]</sup>。在人和果蝇中发现另一个蛋白 DEK,是染色质结合原癌基因产物,也被认为是 H3.3 的一个分子伴侣,介导 H3.3 整合进入调控元件区域并增强转录<sup>[56]</sup>。有研究发现 DEK 聚集在 PML 小体中,调控 H3.3 与 ATRX/DAXX 复合体相互作用,整合进入端粒和异染色质区域,维持端粒和异染色质区域的稳定<sup>[57]</sup>(图 2)。综上所述,这些结果表明 H3.3 整合进入染色质需要特殊的分子伴侣复合体参与,但可能还存在一些其他的 H3.3 分子伴侣或者整合进入途径,可以在缺失 H3.3 特异分子伴侣的时候代偿发挥作用。

## 4 H3.3 与细胞重编程

在雄性哺乳动物生殖细胞进入第一次减数分裂前期时, H3.3 的整合进入伴随所有染色体中的核小体的替换,发生在减数分裂性染色体失活(meiotic sex chromosome inactivation, MSCI)过程中<sup>[58]</sup>。这与雄性哺乳动物生殖细胞系中性染色质基因沉默的表观遗传重编程相关。在大部分有性繁殖的动物中,还涉及另外一个主要的重组过程,即在精子发生过

程中,组蛋白被鱼精蛋白替换,这对于维持精子细胞基因组凝集状态以及转录抑制状态十分重要<sup>[59]</sup>。当进入卵母细胞之后,精子的细胞核会经历一系列保守的过程被重编程为雄原核。精子内主要经历鱼精蛋白被组蛋白替换和染色质解凝集。同济大学高绍荣课题组等发现受精后,卵母细胞中的重编程因子更多地进入到雄原核之中<sup>[60]</sup>。在果蝇和小鼠中,受精后精子中鱼精蛋白被母源 H3.3 替换,而不是 H3,这种状态一直持续到第一次 DNA 复制之前<sup>[9,34]</sup>。这说明 H3.3 整合进入对精子染色质重编程具有重要作用。SCNT 是利用去核的卵母细胞将供体细胞核重编程为胚胎样细胞核,从而具有全能性。核移植胚胎激活后 4 h 内,母源 H3.3 会逐渐替换供体细胞内原有的 H3,类似受精过程中鱼精蛋白被母源 H3.3 替换的过程,首先是常染色质区域,最后是异染色质区域<sup>[61]</sup>,母源 H3.3 会重新激活供体细胞核中的多潜能基因 *Oct4*,降低基因组中 H3K27me3 水平。而敲除母源 H3.3 后,关键的多潜能基因转录水平下降,体细胞核不能被完全重编程,SCNT 胚胎将不能正常发育<sup>[62,63]</sup>。注入外源 H3.3 mRNA 而不是 H3.2 mRNA 可以挽救这种缺陷,说明 H3.3 在体细胞重编程过程中十分重要。而 iPSC 是另一种将体细胞重编程为全能性细胞的方式,通过转入外源的转录因子达到体细胞重编程的目的。但 H3.3 在 iPSC 重编程过程中的作用机制尚不清楚。小鼠 SCNT 后代理论上可以无限次通过 SCNT 得到后代<sup>[64]</sup>,但 iPSC 后代进行连续 iPSC 在第六代后会因非同义的单核苷酸突变(single-nucleotide variations, SNVs)累积某些致病基因,造成心肾发育缺陷导致胚胎死亡。且在第一代 iPSC 小鼠体细胞构建的第二代 iPSC 细胞系中即可检测到逆转录转座子元件的缺失,如无法检测到长散在核元件(long interspersed nucleotide elements, LINEs)和长末端重复序列(long terminal repeats, LTRs)的存在<sup>[65]</sup>(图 3)。已有文献报道, H3.3 对于维持 H3K9me3 标记和逆转录元件的沉默状态十分重要<sup>[51,52]</sup>。对比这两种重编程过程,在敲除端粒酶 Terc 后,SCNT 胚胎来源的 ntESC 中端粒比 iPSC 中端粒更长且更稳定<sup>[66]</sup>,而 H3.3 在维持端粒稳定性方面也有重要作用<sup>[11,46,57]</sup>。考虑到 iPSC 重编程过程中没有卵母细胞参与,缺乏母源 H3.3 替换,自身

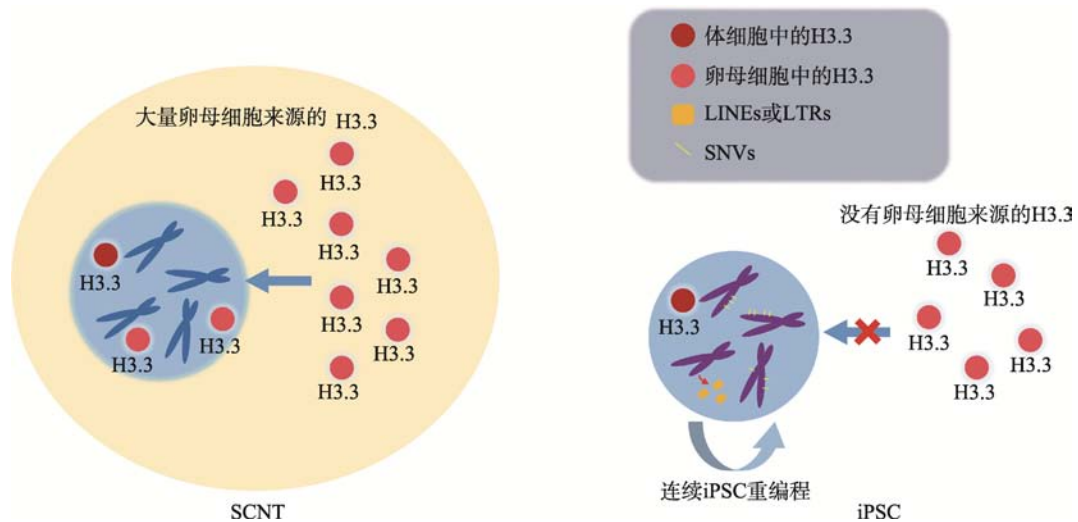


图 3 SCNT 和 iPSC 两种体细胞重编程过程中 H3.3 的变化情况

Fig. 3 Comparison of H3.3 in somatic cell reprogramming during SCNT and iPSC

SCNT 重编程过程中卵母细胞含有大量的母源 H3.3, 会替换体细胞核中原有的 H3.3, 而 iPSC 重编程过程中没有母源 H3.3 参与。如果进行连续 iPSC 重编程, 从第二代 iPSC 起可检测到 LINEs 和 LTRs 的缺失, 到第六代时, 四倍体补偿的 iPSC 胎儿会因非同义的 SNVs 累积致病基因而死亡<sup>[65]</sup>。SCNT: 体细胞核移植(somatic cell nuclear transfer); iPSC: 诱导多潜能干细胞(induced pluripotent stem cell); SNVs: 单核苷酸突变(single-nucleotide variations); LINE: 长散在核元件(long interspersed nucleotide elements); LTRs: 长末端重复序列(long terminal repeats)。

H3.3 可能不足以维持端粒和着丝粒旁重复序列异染色质的稳定性, 这也许是连续 iPSC 重编程不能无限连续进行的原因之一。过表达外源 H3.3 或者其特异的分子伴侣是否能提高 iPSC 的重编程效率, 使之更接近正常的 ESC 还有待进一步研究。

rDNA 是编码核糖体的基因, 在受精过程中最先被激活, 以保证受精卵的蛋白合成。其中一部分 rDNA 具有转录活性, 而另一部分则以异染色质形式存在。有文献报道, 在 SCNT 过程中, rDNA 并没有被完全激活<sup>[67]</sup>, 且核移植效率与 rDNA 启动子区域甲基化程度相关, 而在 iPSC 建系过程中提高 rDNA 的表达水平, 可以提高 iPSC 的建系效率<sup>[68]</sup>。在果蝇 Kc 细胞中, H3.3 富集到大量 rDNA 重复序列中<sup>[10]</sup>。在小鼠受精卵中, HIRA 介导的 H3.3 整合进入 rDNA 区域, 保证 rDNA 的转录<sup>[69]</sup>。这些结果证明 H3.3 与 rDNA 活性相关。目前只在非洲爪蟾中研究表明 SCNT 重编程过程中 HIRA 会介导 H3.3 整合进入 rDNA 区域, 促进 rDNA 的表达, 从而促进供体细胞核重编程<sup>[70]</sup>。在其他物种中暂无相关报道, 但 rDNA 对于核糖体生物合成至关重要, 因此研究 H3.3 在 SCNT 和 iPSC 重编程过程中是否整合进入

rDNA 区域, 对于提高 SCNT 和 iPSC 重编程效率有重要意义。

## 5 结语和展望

H3.3 与常规组蛋白 H3 之间只有几个氨基酸不同, 但它们能够驱使 H3.3 与特异的分子伴侣相互作用。H3.3 至少包含两种特异的分子伴侣复合体, HIRA 复合体和 ATRX/DAXX 复合体, 与不同的分子伴侣相互作用可以使 H3.3 富集到基因组中的不同位置。HIRA 复合体介导 H3.3 整合进入转录激活基因的启动子和调控元件区域, 促进基因的转录表达。而 ATRX/DAXX 复合体介导 H3.3 整合进入端粒或着丝粒旁异染色质区域, 维持该区域的抑制性表观遗传标记和基因组稳定性。H3.3 是重要的母源因子, 在正常受精后精子的重编程以及体细胞核移植后供体细胞核的重编程过程中起重要作用。在正常受精过程中, H3.3 能替换精子中的鱼精蛋白, 将其重编程为雄原核。而在 SCNT 过程中, 母源 H3.3 也能替换供体细胞核内原有的 H3.3, 将其重编程成为具有全能性的胚胎。rDNA 是编码核糖体的基因, 在受精



过程中最先被激活, 以保证受精卵的蛋白合成。在 SCNT 过程中, 重编程效率与 rDNA 启动子区域甲基化程度相关<sup>[67]</sup>, 而在 iPSC 建系过程中提高 rDNA 的表达水平, 可以提高 iPSC 的建系效率<sup>[68]</sup>。在果蝇 Kc 细胞、非洲爪蟾和小鼠受精卵中, H3.3 整合进入 rDNA 区域, 保证 rDNA 的转录<sup>[10,69,70]</sup>。这些结果证明 H3.3 与 rDNA 活性相关。在爪蟾 SCNT 重编程过程中 HIRA 介导 H3.3 进入 rDNA 区域, 促进 rDNA 的表达, 从而促进供体细胞核重编程<sup>[70]</sup>, 但在其他物种中尚未见相关报道。那么在其他物种 SCNT 过程中 H3.3 是否也会整合进入 rDNA 区域并参与 rDNA 重编程过程? 如果 H3.3 确实在 SCNT 过程中参与 rDNA 重编程, 那么又是由何种特异的分子伴侣介导? 是整合进入激活的 rDNA 区域来维持 rDNA 的表达或沉默 rDNA 基因? 还是整合进入沉默的 rDNA 区域, 激活 rDNA 转录或者继续维持 rDNA 的异染色质结构稳定? 调控 H3.3 的分子伴侣的含量能否促进体细胞重编程效率? 关于这些分子机制的研究对于改善 SCNT 和 iPSC 的重编程效率低下、消除体细胞表观记忆残留等问题将很有帮助。未来这一领域的研究将会为利用体细胞重编程技术构建正常的全能性干细胞用于细胞替代治疗、组织器官移植提供巨大的应用前景。

## 参考文献(References):

- [1] Ren CF, Sun HY, Wang LZ, Zhang GM, Fan YX, Yan GY, Wang D, Wang F. Reprogramming mechanism and genetic stability of induced pluripotent stem cells (iPSCs). *Hereditas (Beijing)*, 2014, 36(9): 879–887.  
任才芳, 孙红艳, 王立中, 张国敏, 樊懿萱, 颜光耀, 王丹, 王锋. iPSCs 遗传稳定性与重编程机制的研究进展. *遗传*, 2014, 36(9): 879–887. [DOI]
- [2] Ji HL, Lu SS, Pan DK. Epigenetic reprogramming by somatic cell nuclear transfer: questions and potential solutions. *Hereditas (Beijing)*, 2014, 36(12): 1211–1218.  
纪慧丽, 卢晟盛, 潘登科. 体细胞核移植后表观遗传重编程的异常及其修复. *遗传*, 2014, 36(12): 1211–1218. [DOI]
- [3] Franklin SG, Zweidler A. Non-allelic variants of histones 2a, 2b and 3 in mammals. *Nature*, 1977, 266(5599): 273–275. [DOI]
- [4] Allshire RC, Karpen GH. Epigenetic regulation of centromeric chromatin: old dogs, new tricks? *Nat Rev Genet*, 2008, 9(12): 923–937. [DOI]
- [5] Witt O, Albig W, Doenecke D. Testis-specific expression of a novel human H3 histone gene. *Exp Cell Res*, 1996, 229(2): 301–306. [DOI]
- [6] Wiedemann SM, Mildner SN, Bönisch C, Israel L, Maiser A, Matheisl S, Straub T, Merkl R, Leonhardt H, Kremmer E, Schermelleh L, Hake SB. Identification and characterization of two novel primate-specific histone H3 variants, H3.X and H3.Y. *J Cell Biol*, 2010, 190(5): 777–791. [DOI]
- [7] Schenk R, Jenke A, Zilbauer M, Wirth S, Postberg J. H3.5 is a novel hominid-specific histone H3 variant that is specifically expressed in the seminiferous tubules of human testes. *Chromosoma*, 2011, 120(3): 275–285. [DOI]
- [8] Taguchi H, Xie Y, Horikoshi N, Maehara K, Harada A, Nogami J, Sato K, Arimura Y, Osakabe A, Kujirai T, Iwasaki T, Semba Y, Tachibana T, Kimura H, Ohkawa Y, Kurumizaka H. Crystal structure and characterization of novel human histone H3 variants, H3.6, H3.7, and H3.8. *Biochemistry*, 2017, 56(16): 2184–2196. [DOI]
- [9] Torres-Padilla ME, Bannister AJ, Hurd PJ, Kouzarides T, Zernicka-Goetz M. Dynamic distribution of the replacement histone variant H3.3 in the mouse oocyte and pre-implantation embryos. *Int J Dev Biol*, 2006, 50(5): 455–461. [DOI]
- [10] Ahmad K, Henikoff S. The histone variant H3.3 marks active chromatin by replication-independent nucleosome assembly. *Mol Cell*, 2002, 9(6): 1191–1200. [DOI]
- [11] Udugama M, Chang FTM, Chan FL, Tang MC, Pickett HA, McGhie JDR, Mayne L, Collas P, Mann JR, Wong LH. Histone variant H3.3 provides the heterochromatic H3 lysine 9 tri-methylation mark at telomeres. *Nucleic Acids Res*, 2015, 43(21): 10227–10237. [DOI]
- [12] Santenard A, Ziegler-Birling C, Koch M, Tora L, Bannister AJ, Torres-Padilla ME. Heterochromatin formation in the mouse embryo requires critical residues of the histone variant H3.3. *Nat Cell Biol*, 2010, 12(9): 853–862. [DOI]
- [13] Marzluff WF, Gongidi P, Woods KR, Jin JP, Maltais LJ. The human and mouse replication-dependent histone genes. *Genomics*, 2002, 80(5): 487–498. [DOI]
- [14] Polo SE, Roche D, Almouzni G. New histone incorporation marks sites of UV repair in human cells. *Cell*, 2006, 127(3): 481–493. [DOI]
- [15] Krimer DB, Cheng GH, Skoultschi AI. Induction of H3.3



- replacement histone mRNAs during the precommitment period of murine erythroleukemia cell differentiation. *Nucleic Acids Res*, 1993, 21(12): 2873–2879. [DOI]
- [16] Frank D, Doenecke D, Albig W. Differential expression of human replacement and cell cycle dependent H3 histone genes. *Gene*, 2003, 312: 135–143. [DOI]
- [17] Akhmanova AS, Bindels PC, Xu J, Miedema K, Kremer H, Hennig W. Structure and expression of histone H3.3 genes in *Drosophila melanogaster* and *Drosophila hydei*. *Genome*, 1995, 38(3): 586–600. [DOI]
- [18] Goldberg AD, Banaszynski LA, Noh KM, Lewis PW, Elsaesser SJ, Stadler S, Dewell S, Law M, Guo XY, Li X, Wen DC, Chappier A, Dekelver RC, Miller JC, Lee YL, Boydston EA, Holmes MC, Gregory PD, Greally JM, Rafii S, Yang CW, Scambler PJ, Garrick D, Gibbons RJ, Higgs DR, Cristea IM, Urnov FD, Zheng DY, Allis CD. Distinct factors control histone variant H3.3 localization at specific genomic regions. *Cell*, 2010, 140(5): 678–691. [DOI]
- [19] Stroud H, Otero S, Desvoyes B, Ramírez-Parra E, Jacobsen SE, Gutierrez C. Genome-wide analysis of histone H3.1 and H3.3 variants in *Arabidopsis thaliana*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, 109(14): 5370–5375. [DOI]
- [20] Kraushaar DC, Jin WF, Maunakea A, Abraham B, Ha M, Zhao KJ. Genome-wide incorporation dynamics reveal distinct categories of turnover for the histone variant H3.3. *Genome Biol*, 2013, 14(10): R121. [DOI]
- [21] Ha M, Kraushaar DC, Zhao KJ. Genome-wide analysis of H3.3 dissociation reveals high nucleosome turnover at distal regulatory regions of embryonic stem cells. *Epigenetics Chromatin*, 2014, 7: 38. [DOI]
- [22] Schwartz BE, Ahmad K. Chromatin assembly with H3 histones: full throttle down multiple pathways. *Curr Top Dev Biol*, 2006, 74: 31–55. [DOI]
- [23] Ng RK, Gurdon JB. Epigenetic memory of an active gene state depends on histone H3.3 incorporation into chromatin in the absence of transcription. *Nat Cell Biol*, 2008, 10(1): 102–109. [DOI]
- [24] Sakai A, Schwartz BE, Goldstein S, Ahmad K. Transcriptional and developmental functions of the H3.3 histone variant in *Drosophila*. *Curr Biol*, 2009, 19(21): 1816–1820. [DOI]
- [25] Banaszynski LA, Wen DC, Dewell S, Whitcomb SJ, Lin MY, Diaz N, Elsaesser SJ, Chappier A, Goldberg AD, Canaani E, Rafii S, Zheng DY, Allis CD. Hira-dependent histone H3.3 deposition facilitates PRC2 recruitment at developmental loci in ES cells. *Cell*, 2013, 155(1): 107–120. [DOI]
- [26] Tamura T, Smith M, Kanno T, Dasenbrock H, Nishiyama A, Ozato K. Inducible deposition of the histone variant H3.3 in interferon-stimulated genes. *J Biol Chem*, 2009, 284(18): 12217–12225. [DOI]
- [27] Hake SB, Garcia BA, Kauer M, Baker SP, Shabanowitz J, Hunt DF, Allis CD. Serine 31 phosphorylation of histone variant H3.3 is specific to regions bordering centromeres in metaphase chromosomes. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102(18): 6344–6349. [DOI]
- [28] Fromental-Ramain C, Ramain P, Hamiche A. The *Drosophila* DAXX-like protein (DLP) cooperates with ASF1 for H3.3 deposition and heterochromatin formation. *Mol Cell Biol*, 2017, 37(12): e00597. [DOI]
- [29] Rapkin LM, Ahmed K, Dulev S, Li R, Kimura H, Ishov AM, Bazett-Jones DP. The histone chaperone DAXX maintains the structural organization of heterochromatin domains. *Epigenetics Chromatin*, 2015, 8: 44. [DOI]
- [30] Gaillard PHL, Martini EMD, 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]
- [31] Tagami H, Ray-Gallet D, Almouzni G, Nakatani Y. Histone H3.1 and H3.3 complexes mediate nucleosome assembly pathways dependent or independent of DNA synthesis. *Cell*, 2004, 116(1): 51–61. [DOI]
- [32] Ricketts MD, Marmorstein R. A molecular perspective for HIRA complex assembly and H3.3-specific histone chaperone function. *J Mol Biol*, 2017, 429(13): 1924–1933. [DOI]
- [33] Ricketts MD, Frederick B, Hoff H, Tang Y, Schultz DC, Singh Rai T, Grazia Vizioli M, Adams PD, Marmorstein R. Ubinuclein-1 confers histone H3.3-specific-binding by the HIRA histone chaperone complex. *Nat Commun*, 2015, 6: 7711. [DOI]
- [34] Loppin B, Bonnefoy E, Anselme C, Laurencon 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]
- [35] Szenker E, Lacoste N, Almouzni G. A developmental requirement for HIRA-dependent H3.3 deposition revealed at gastrulation in *Xenopus*. *Cell Rep*, 2012, 1(6): 730–740. [DOI]
- [36] Pchelintsev NA, McBryan T, Rai TS, Van Tuyn J, Ray-Gallet D, Almouzni G, Adams PD. Placing the HIRA histone chaperone complex in the chromatin landscape. *Cell Rep*, 2013, 3(4): 1012–1019. [DOI]
- [37] Ray-Gallet D, Woolfe A, Vassias I, Pellentz C, Lacoste N,

- Puri A, Schultz DC, Pchelintsev NA, Adams PD, Jansen LET, Almouzni G. Dynamics of histone H3 deposition in vivo reveal a nucleosome gap-filling mechanism for H3.3 to maintain chromatin integrity. *Mol Cell*, 2011, 44(6): 928–941. [DOI]
- [38] Zhang HL, Gan HY, Wang ZQ, Lee JH, Zhou H, Ordog T, Wold MS, Ljungman M, Zhang ZG. RPA interacts with HIRA and regulates H3.3 deposition at gene regulatory elements in mammalian cells. *Mol Cell*, 2017, 65(2): 272–284. [DOI]
- [39] Liu SF, Xu ZY, Leng H, Zheng P, Yang JY, Chen KF, Feng JX, Li Q. RPA binds histone H3-H4 and functions in DNA replication-coupled nucleosome assembly. *Science*, 2017, 355(6323): 415–420. [DOI]
- [40] Drané P, Ouararhni K, Depaux A, Shuaib M, Hamiche A. The death-associated protein DAXX is a novel histone chaperone involved in the replication-independent deposition of H3.3. *Genes Dev*, 2010, 24(12): 1253–1265. [DOI]
- [41] Ratnakumar K, Bernstein E. ATRX: the case of a peculiar chromatin remodeler. *Epigenetics*, 2013, 8(1): 3–9. [DOI]
- [42] Elsässer SJ, Huang HD, Lewis PW, Chin JW, Allis CD, Patel DJ. DAXX envelops a histone H3.3-H4 dimer for H3.3-specific recognition. *Nature*, 2012, 491(7425): 560–565. [DOI]
- [43] Xue YT, Gibbons R, Yan ZJ, Yang DF, McDowell TL, Sechi S, Qin J, Zhou S, Higgs D, Wang WD. The ATRX syndrome protein forms a chromatin-remodeling complex with Daxx and localizes in promyelocytic leukemia nuclear bodies. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100(19): 10635–10640. [DOI]
- [44] Nielsen PR, Nietlispach D, Mott HR, Callaghan J, Bannister A, Kouzarides T, Murzin AG, Murzina NV, Laue ED. Structure of the HP1 chromodomain bound to histone H3 methylated at lysine 9. *Nature*, 2002, 416(6876): 103–107. [DOI]
- [45] Ratnakumar K, Duarte LF, Leroy G, Hasson D, Smeets D, Vardabasso C, Bonisch C, Zeng TY, Xiang B, Zhang DY, Li HT, Wang XW, Hake SB, Schermelleh L, Garcia BA, Bernstein E. ATRX-mediated chromatin association of histone variant macroH2A1 regulates  $\alpha$ -globin expression. *Genes Dev*, 2012, 26(5): 433–438. [DOI]
- [46] Lewis PW, Elsaesser SJ, Noh KM, Stadler SC, Allis CD. Daxx is an H3.3-specific histone chaperone and cooperates with ATRX in replication-independent chromatin assembly at telomeres. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107(32): 14075–14080. [DOI]
- [47] Michod D, Bartesaghi S, Khelifi A, Bellodi C, Berliocchi L, Nicotera P, Salomoni P. Calcium-dependent dephosphorylation of the histone chaperone DAXX regulates H3.3 loading and transcription upon neuronal activation. *Neuron*, 2012, 74(1): 122–135. [DOI]
- [48] Voon HPJ, Hughes JR, Rode C, De La Rosa-Velázquez IA, Jenuwein T, Feil R, Higgs DR, Gibbons RJ. ATRX plays a key role in maintaining silencing at interstitial heterochromatic loci and imprinted genes. *Cell Rep*, 2015, 11(3): 405–418. [DOI]
- [49] Jin CY, Zang CZ, Wei G, Cui KR, Peng WQ, Zhao KJ, Felsenfeld G. H3.3/H2A.Z double variant-containing nucleosomes mark 'nucleosome-free regions' of active promoters and other regulatory regions. *Nat Genet*, 2009, 41(8): 941–945. [DOI]
- [50] Chow CM, Georgiou A, Szutorisz H, Maiae Silva A, Pombo A, Barahona I, Dargelos E, Canzonetta C, Dillon N. Variant histone H3.3 marks promoters of transcriptionally active genes during mammalian cell division. *EMBO Rep*, 2005, 6(4): 354–360. [DOI]
- [51] Elsässer SJ, Noh KM, Diaz N, Allis CD, Banaszynski LA. Histone H3.3 is required for endogenous retroviral element silencing in embryonic stem cells. *Nature*, 2015, 522(7555): 240–244. [DOI]
- [52] Wolf G, Rebollo R, Karimi MM, Ewing AD, Kamada R, Wu W, Wu B, Bachu M, Ozato K, Faulkner GJ, Mager DL, Lorincz MC, Macfarlan TS. On the role of H3.3 in retroviral silencing. *Nature*, 2017, 548(7665): E1–E3. [DOI]
- [53] Huang HD, Deng Z, Vladimirova O, Wiedmer A, Lu F, Lieberman PM, Patel DJ. Structural basis underlying viral hijacking of a histone chaperone complex. *Nat Commun*, 2016, 7: 12707. [DOI]
- [54] Konev AY, Tribus M, Park SY, Podhraski V, Lim CY, Emelyanov AV, Vershilova E, Pirrotta V, Kadonaga JT, Lusser A, Fyodorov DV. CHD1 motor protein is required for deposition of histone variant H3.3 into chromatin in vivo. *Science*, 2007, 317(5841): 1087–1090. [DOI]
- [55] Delbarre E, Ivanauskiene K, Spirkoski J, Shah A, Vekterud K, Moskaug JØ, Bøe SO, Wong LH, Kuntziger T, Collas P. PML protein organizes heterochromatin domains where it regulates histone H3.3 deposition by ATRX/DAXX. *Genome Res*, 2017, 27(6): 913–921. [DOI]
- [56] Sawatsubashi S, Murata T, Lim J, Fujiki R, Ito S, Suzuki E, Tanabe M, Zhao Y, Kimura S, Fujiyama S, Ueda T, Umetsu D, Ito T, Takeyama KI, Kato S. A histone chaperone, DEK, transcriptionally coactivates a nuclear

- receptor. *Genes Dev*, 2010, 24(2): 159–170. [DOI]
- [57] Ivanauskiene K, Delbarre E, McGhie JD, Kuntziger T, Wong LH, Collas P. The PML-associated protein DEK regulates the balance of H3.3 loading on chromatin and is important for telomere integrity. *Genome Res*, 2014, 24(10): 1584–1594. [DOI]
- [58] Van Der Heijden GW, Derijck AAHA, Posfai E, Giele M, Pelczar P, Ramos L, Wansink DG, Van Der Vlag J, Peters AHFM, De Boer P. Chromosome-wide nucleosome replacement and H3.3 incorporation during mammalian meiotic sex chromosome inactivation. *Nat Genet*, 2007, 39(2): 251–258. [DOI]
- [59] Yuen BTK, Bush KM, Barrilleaux BL, Cotterman R, Knoepfler PS. Histone H3.3 regulates dynamic chromatin states during spermatogenesis. *Development*, 2014, 141(18): 3483–3494. [DOI]
- [60] Liu WQ, Yin JQ, Kou XC, Jiang YH, Gao HB, Zhao YH, Huang B, He WT, Wang H, Han ZM, Gao SR. Asymmetric reprogramming capacity of parental pronuclei in mouse zygotes. *Cell Rep*, 2014, 6(6): 1008–1016. [DOI]
- [61] Nashun B, Akiyama T, Suzuki MG, Aoki F. Dramatic replacement of histone variants during genome remodeling in nuclear-transferred embryos. *Epigenetics*, 2011, 6(12): 1489–1497. [DOI]
- [62] Wen DC, Banaszynski LA, Rosenwaks Z, Allis CD, Rafii S. H3.3 replacement facilitates epigenetic reprogramming of donor nuclei in somatic cell nuclear transfer embryos. *Nucleus*, 2014, 5(5): 369–375. [DOI]
- [63] Wen DC, Banaszynski LA, Liu Y, Geng FQ, Noh KM, Xiang J, Elemento O, Rosenwaks Z, Allis CD, Rafii S. Histone variant H3.3 is an essential maternal factor for oocyte reprogramming. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2014, 111(20): 7325–7330. [DOI]
- [64] Wakayama S, Kohda T, Obokata H, Tokoro M, Li C, Terashita Y, Mizutani E, Van Thuan Nguyen, Kishigami S, Ishino F, Wakayama T. Successful serial recloning in the mouse over multiple generations. *Cell Stem Cell*, 2013, 12(3): 293–297. [DOI]
- [65] Gao S, Zheng CH, Chang G, Liu WQ, Kou XC, Tan K, Tao L, Xu K, Wang H, Cai J, Tian JH, Gao SR. Unique features of mutations revealed by sequentially reprogrammed induced pluripotent stem cells. *Nat Commun*, 2015, 6: 6318. [DOI]
- [66] Le RR, Kou ZH, Jiang YH, Li M, Huang B, Liu WQ, Li H, Kou XC, He WZ, Rudolph KL, Ju ZY, Gao SR. Enhanced telomere rejuvenation in pluripotent cells reprogrammed via nuclear transfer relative to induced pluripotent stem cells. *Cell Stem Cell*, 2014, 14(1): 27–39. [DOI]
- [67] Zheng Z, Jia JL, Bou G, Hu LL, Wang ZD, Shen XH, Shan ZY, Shen JL, Liu ZH, Lei L. rRNA genes are not fully activated in mouse somatic cell nuclear transfer embryos. *J Biol Chem*, 2012, 287(24): 19949–19960. [DOI]
- [68] Zhao QS, Wu YS, Shan ZY, Bai GY, Wang ZD, Hu J, Liu L, Li T, Shen JL, Lei L. Serum starvation-induced cell cycle synchronization stimulated mouse rDNA transcription reactivation during somatic cell reprogramming into iPSCs. *Stem Cell Res Ther*, 2016, 7(1): 112. [DOI]
- [69] Lin CJ, Koh FM, Wong P, Conti M, Ramalho-Santos M. Hira-mediated H3.3 incorporation is required for DNA replication and ribosomal RNA transcription in the mouse zygote. *Dev Cell*, 2014, 30(3): 268–279. [DOI]
- [70] Jullien J, Astrand C, Szenker E, Garrett N, Almouzni G, Gurdon JB. HIRA dependent H3.3 deposition is required for transcriptional reprogramming following nuclear transfer to *Xenopus* oocytes. *Epigenetics Chromatin*, 2012, 5: 17. [DOI]

(责任编辑: 王晓群)