

组蛋白乙酰化/去乙酰化与基因表达调控

孙开胜,徐克前

(中南大学 医学技术与情报学院 检验医学系,中国湖南 长沙 410013)

摘要:组蛋白是真核生物染色质的主要成分,组蛋白修饰(如甲基化、乙酰化、磷酸化、泛素化等)在真核生物基因表达调控中发挥着重要的作用。在这些修饰中,组蛋白乙酰化/去乙酰化尤为重要。组蛋白乙酰化/去乙酰化可通过改变染色质周围电荷或参与染色质构型重建而影响基因表达;更重要的是组蛋白乙酰化/去乙酰化可形成一种特殊的“密码”,被其它蛋白质识别,影响多种蛋白质因子的活动或与其相互作用,参与到基因表达调控的整个网络中。

关键词:组蛋白;乙酰化/去乙酰化;基因表达调控

中图分类号:Q756

文献标识码:A

文章编号:1007-7847(2004)S0-0102-04

Histone Acetylation/Deacetylation and Regulation of Gene Expression

SUN Kai-sheng, XU Ke-qian

(Department of Laboratory Medicine, College of Medical Technology and Information, Central South University, Changsha 410013, Hunan, China)

Abstract: In eukaryotic cells, covalent modifications of the core histones in nucleosomes play a central role in regulation of gene expression. Several histone modifications have been identified including methylation, acetylation, phosphorylation and ubiquitylation. Among them histone acetylation is of critical importance. The level of histone acetylation depends on the activity of two families of enzymes, histone acetyltransferases (HATs) and histone deacetylases (HDACs). Histone acetylation/deacetylation can not only alter the charge and the hydrophobicity of the histones, but also modulate the chromatin structure co-operating with some other factors. This could be one of the potential mechanisms of gene regulation by histone acetylation/deacetylation. Recent advances suggest that the histones acetylation states might set a signal to serve as “histone code” that are recognized by other molecules linked to transcriptional activation or inactivation.

Key words: histone; acetylation/deacetylation; gene regulation

(Life Science Research 2004 8(2): 102 ~ 105)

真核生物基因组 DNA 存在于以核小体为基 (主要是组蛋白) 缠绕在一起形成的复合物, 这一
本单位的染色质内。核小体是 DNA 链与蛋白质 复合物表面可发生多种共价修饰, 如甲基化、乙酰

收稿日期: 2004-01-17; 修回日期: 2004-03-04

基金项目: 中南大学研究生教育创新工程项目 (030707)

作者简介: 孙开胜 (1974-) 男, 湖南常德人, 硕士研究生, 主要从事生化和分子生物学研究; 徐克前 (1965-) 男, 湖南常德人, 中南大学副教授, 通讯作者, 主要从事生化和分子生物学研究, Tel: +86-0731-2650349, E-mail: xukeqian@public.cs.hn.cn.

化、磷酸化、泛素化、ADP-核糖基化等。早在 60 年代,人们就发现核小体表面的修饰与基因表达调控有密切联系,因此一直倍受关注,而组蛋白的乙酰化更是人们研究的热点,特别是组蛋白乙酰化酶和去乙酰化酶被发现以来,组蛋白乙酰化/去乙酰化对基因表达调控的研究取得许多重要的进展。

1 参与组蛋白乙酰化和去乙酰化的酶

组蛋白的乙酰化和去乙酰化是一个动态的可逆过程,两类重要的酶催化并调控这一过程:组蛋白乙酰转移酶(Histone Acetyltransferases, HATs)和组蛋白去乙酰化酶(Histone Deacetylases, HDACs)。HATs 的主要功能是将乙酰辅 A 的乙酰基转移到组蛋白的赖氨酸残基上。根据 HATs 的来源和功能将其分为两类:A 型位于细胞核内,主要乙酰化核小体组蛋白,也可使非组蛋白乙酰化;B 型存在于细胞质,可使新合成的组蛋白乙酰化,因而对基因表达调控起重要作用的主要是 A 型 HATs。研究发现,许多转录辅激活因子具有内源性的 A 型 HATs 活性。目前已被鉴定的 HATs 有 20 多种,主要为如下几个家族:GNAT(Gcn5-related N-acetyltransferases)家族,其主要成员有 Gen5、P/CAF、Elp3、Hat1、Hpa2 等;MYST 家族,成员主要为 MOZ、Ybf2/Sas3、Sas2 和 Tip;P300/CBP 家族;另外还有一些转录因子,如 TAF II250、核受体辅激活物,如 ATCR、SRC1 等^[1]。

HDACs 最初在酿酒酵母中发现,后来相继在不同的生物中发现多种 HDACs。至今已发现的人类 HDACs 有 18 种,根据其于酿酒酵母的 3 种 HDAC(γ RPD3、 γ HDA1、和 γ Sir2)的同源性分为 3 类。第 I 类与 γ RPD3 同源,包括 HDAC1、HDAC2、HDAC3、HDAC8、HDAC11;第 II 类与 γ HDA1 同源,包括 HDAC4、HDAC5、HDAC6、HDAC7、HDAC9、HDAC10;第 III 类与 γ Sir2 同源,已在人细胞中鉴定出 7 种,分别为 SIRT1 ~ 7^[2,3]。

2 组蛋白乙酰化/去乙酰化与基因表达调控

人们很早就发现组蛋白乙酰化与基因活化有关,而去乙酰化与基因沉默有关,但组蛋白乙酰化/去乙酰化参与基因表达调控的机制至今仍不清楚。目前认为组蛋白乙酰化/去乙酰化主要通过以下几种方式影响基因的表达。一是组蛋白乙

酰化/去乙酰化改变核小体周围环境,加强或削弱基因表达相关蛋白质与 DNA 的相互作用;二是组蛋白乙酰化/去乙酰化参与染色质构型改变,进而影响蛋白质与蛋白质、蛋白质与 DNA 的相互作用;三是组蛋白乙酰化/去乙酰化作为特殊信号,被其它蛋白质因子识别并影响它们的活动,从而实现了对基因表达的调控。

2.1 组蛋白乙酰化/去乙酰化与核小体周围环境改变

染色质和染色体是细胞核中同一物质的两种不同形态,是以核小体为基本组成单位,经螺旋、盘绕、压缩而成。每个核小体包括两部分,其核心是由核心组蛋白八聚体(H2A、H2B、H3、H4 各 2 个)及缠绕其上 1.75 圈的 146 bp DNA。另一部分是连接两个核小体核心的 DNA 链,其上结合有一个 H1^[4]。形成核小体的 5 种组蛋白中 H1 的 N 末端富含疏水氨基酸,C 末端富含碱性氨基酸,其余 4 种则恰恰相反,N 末端富含疏水氨基酸(如赖氨酸、精氨酸、丝氨酸等)。在组蛋白八聚体形成的过程中,多数组蛋白的 C 末端氨基酸包裹在八聚体里面,N 末端氨基酸则伸向外面形成“组蛋白尾巴”。这个“组蛋白尾巴”易发生多种共价修饰,常见的是赖氨酸的乙酰化、丝氨酸的磷酸化、赖氨酸和精氨酸的甲基化等,其中最易发生的是赖氨酸 ϵ -氨基的乙酰化。研究者认为,核小体组蛋白的乙酰化中和了其周围的正电荷,增加了组蛋白的亲水性,削弱了组蛋白与 DNA 的相互作用,而使染色质处于相对松弛的状态,利于转录因子与 DNA 的结合;相反,组蛋白的去乙酰化则使核小体周围带正电荷增加,与 DNA 的磷酸基所带负电荷的相互作用加强,染色质结构变得紧密而不利于转录。这可能是组蛋白乙酰化/去乙酰化参与基因表达调控的机制之一,也能较好的解释和支持组蛋白乙酰化促进基因活化,而去乙酰化参与基因沉默的观点。

2.2 组蛋白乙酰化/去乙酰化与染色质构型改变

众所周知,要实现基因的表达,处于高度螺旋状态的染色质必须发生构型改变,使其处于相对松弛的状态,以便于转录因子与 DNA 的结合及其它蛋白质因子的相互作用,此过程即为染色质构型重建。目前认为,至少有两类物质参与了染色质构型重建。一类称为 ATP 依赖的染色质构型重建复合体(或酶),有三个家簇:SWI2/SNF2 家

簇、ISWI 家簇(人类包括 RSF、hACF/WCRF、hCHRAC 等)、Mi-2/NuRD 家簇,它们能利用 ATP 水解产生的能量使染色质构型改变或核小体滑动。另一类就是参与“组蛋白尾巴”修饰的酶类,主要是使组蛋白乙酰化/去乙酰化的酶(HATs 和 HDACs)。HATs 使组蛋白尾巴乙酰化,形成“开放”的染色质结构,便于转录进行;相反,HDACs 使组蛋白去乙酰化后,染色质形成“封闭”结构,导致“基因沉默”^[5,6]。大量研究表明,这两类物质相互作用、相互影响,共同参与染色质构型的改变。如在 *INF-β* 基因转录起始复合物形成过程中,首先是相关转录因子(如 NF-κB、IRFs、ATF-2 等)结合到核心核小体外的增强子上,形成增强子复合体,由这个复合体招募 Gcn5,使核小体组蛋白 H3 的第 9 位和 H4 第 8 位赖氨酸乙酰化,SWI/SNF 识别并结合到 CBF(CREB Binding Protein)和乙酰化了的核小体上,通过一种尚未明确的机制改变染色质构型,使 TF II D 连接到 TATA 盒上形成转录起始复合物^[7]。许多试验证明,在哺乳动物细胞中 HATs 可促进 SWI/SNF 连接到染色体上并维持其稳定,核小体组蛋白乙酰化后才能被 SWI/SNF 的溴域(许多染色质构型重建复合体和转录因子或辅因子都具有这一结构)识别并结合到乙酰化了的组蛋白上发挥其作用;然而,在对酵母的研究中却发现 SWI/SNF 依赖的染色质构型改变发生于组蛋白乙酰化之前^[8]。此外,有些 ATP 依赖的染色质构型重建复合体本身就具有 HDAC 活性,如 HDAC1 和 HDAC2 共同构成 Sin3、Mi-2/NuRD 和 CoREST 的催化核心,HDAC3 则是 N-CoR 和 SMRT 的催化亚基。因而,Mi-2/NuRD 在染色质构型重建中作用的发挥离不开组蛋白去乙酰化酶,同样 hSWI/SNF 需与 Sin3 及 CoREST 结合发挥作用,转录抑制因子通过依次招募 CoREST、Sin3 和 hSWI/SNF 形成封闭的染色质结构而抑制转录^[9]。另外,HDAC1 还与 DNA 拓扑异构酶 II 相互作用,使染色形成紧密的结构导致基因沉默^[10]。

2.3 组蛋白乙酰化/去乙酰化与其它蛋白质活动

“组蛋白尾巴”上不同位点的不同修饰可形成大量特殊信号,类似各种不同的密码,供其它蛋白质因子识别,并影响一系列相关蛋白质的活动。这就是已被多数学者所认可的“组蛋白密码”学说^[11]。在“组蛋白尾巴”上,不同的氨基酸位点可发生不

同的修饰,同一氨基酸位点也可发生不同的修饰,这些修饰可相互作用,也可被其它蛋白质的活动所影响,亦可影响其它蛋白质的活动,形成一种复杂的网络,对基因的表达调控产生影响和作用。组蛋白的乙酰化是其中一种较为重要的修饰方式,也是这个复杂网络中的一个重要环节。组蛋白乙酰化/去乙酰化并不能直接引起染色质结构的改变,也不能使核小体滑动,而是通过招募染色质构型重建复合体并与其协同作用引起染色质构型改变的。组蛋白乙酰化甚至是其它转录因子活动的前提,如 H4 第 8 位赖氨酸的乙酰化是招募 SWI/SNF 所必须的,而 H3 的第 9 和 14 位赖氨酸的乙酰化则是招募 TF II D 的关键^[7]。HDACs 可与多种转录因子或辅因子相互作用,如几乎所有第 II 类 HDACs 都能与 DNA 结合的转录因子(包括 MEF2、BCL6、PLZF、TR2 等)、转录辅抑制因子(如 N-CoR、SMRT、BcoR、CtBP 等)相互作用而参与转录的激活或抑制^[12]。HDACs 也可以和 DNA 甲基化酶(DNA Methyltransferases, DNMT)、组蛋白甲基化酶(Histone Methyltransferases, HMT)等结合,共同被转录抑制因子招募,参与基因转录抑制。Macaluso 等发现在乳腺癌细胞中,雌激素受体 α (ER- α) 基因启动子上由转录因子、HDAC、HMT、DNMT1 等形成的多分子复合物抑制了 ER- α 的转录,可能是乳腺癌细胞 ER- α 分泌减少的分子机制之一^[13]。乙酰化的组蛋白可与称为溴域的结构作用,则可能是组蛋白影响其它因子活动的主要方式,因许多染色质构型重建复合体和转录因子或辅因子都具有这一结构,故组蛋白乙酰化修饰可与许多转录因子发生作用,参与到复杂的基因表达调控网络中。

组蛋白乙酰化/去乙酰化也受其它蛋白质活动的影响,转录激活因子(或抑制因子)可招募 HATs(或 HDACs)复合物到基因启动子区使特定组蛋白乙酰化或去乙酰化。Kuo 等发现基因启动子附近组蛋白高甲基化可招募 HATs,增强基因表达;而低甲基化可招募 HDACs 抑制基因表达^[14]。也有试验表明,H3 的第 9 位赖氨酸既可甲基化也可乙酰化,甲基化和乙酰化是相互排斥的,H3 的第 10 位丝氨酸的磷酸化能增强 Gcn5 催化 H3 的第 14 位赖氨酸乙酰化的能力。组蛋白乙酰化酶和去乙酰化酶也受胞内或外源性物质的调节,Seo 等发现人细胞内有一种能抑制 P300/CBP 和 P/CAF 的复合物——乙酰转移酶抑制剂(Inhibitor of

Acetyltransferases (HAT), 并认为 INHAT 对 HAT 的抑制在染色质构型改变和基因转录调控中起重要作用^[15], 某些转录因子也具有调节 HAT 活性的功能, Ester 等发现病毒癌蛋白 SV40 的 T 抗原可以增强 HAT 的活性^[16]. HATs 和 HDACs 本身也可被修饰, 如酪蛋白激酶 2 (CK2) 可使 HDAC1 和 HDAC2 特殊位点磷酸化而调节其活性^[17]; 具有 HATs 活性的 ATCR 可被 P300/CBP 乙酰化, P/CAF 不仅可被其它 HAT 乙酰化, 还能使自身乙酰化, 而且 P/CAF 的乙酰化可增强其自身的活性^[18]. 此外, 已发现多种外源性物质 (如丁酸盐、TSA、FK228 等) 可抑制 HDACs 的活性, 影响多种基因的表达, 而具有抗肿瘤作用^[19].

可见, 组蛋白尾巴的各种修饰并不是孤立的, 它们相互作用, 可影响其它蛋白质的活动, 也受其它蛋白质活动的影响. 组蛋白乙酰化/去乙酰化不仅改变核小体周围环境、染色质构型, 还影响蛋白质与蛋白质、DNA 与蛋白质、蛋白质与核小体等之间的相互作用; 组蛋白不同位点的不同修饰状态对染色质及其它蛋白质也有不同的影响.

3 结语

正常情况下, 机体细胞内组蛋白乙酰化/去乙酰化由 HATs 和 HDACs 催化发生, 维持动态平衡并受到严格控制. 显然, 由于组蛋白乙酰化/去乙酰化在基因表达调控中具有重要作用, 这种平衡的打破将导致基因表达调控紊乱而引起疾病发生. 已发现多种疾病 (特别是恶性肿瘤) 的发生与组蛋白乙酰化/去乙酰化平衡失调有关, 而组蛋白乙酰化/去乙酰化是一个可逆过程, 其平衡失调可被纠正, 因此研究组蛋白乙酰化/去乙酰化对基因表达的调控不仅可以使人们更深入地了解人体生理和病理机制, 也能为疾病的预防和治疗提供理论指导和新的思路.

参考文献 (References):

- [1] HASAN S, HOTTIGER M O. Histone acetyl transferases: a role in DNA repair and DNA replication[J]. *J Mol Med*, 2002, 80(8): 463-474.
- [2] GAO L, CUETO M A, ASSELBERGS F, *et al*. Cloning and functional characterization of HDAC11, a novel member of the human histone deacetylase family[J]. *J Biol Chem*, 2002, 277: 25748-25755.
- [3] GROZINGER C M, SCHREIBER S L. Deacetylase enzymes: biological functions and the use of small-molecule inhibitors [J]. *Chem Biol*, 2002, 9(1): 3-16.
- [4] LUGER K, MADER A W, RICHMOND R K, *et al*. Crystal structure of the nucleosome core particle at 2.8 Å resolution[J]. *Nature*, 1997, 389(6648): 251-260.
- [5] GRUNSTEIN M. Histone acetylation in chromatin structure and transcription[J]. *Nature*, 1997, 389(6649): 349-352.
- [6] EBERHARTER A, BECKER P B. Histone acetylation: a switch between repressive and permissive chromatin: Second in review series on chromatin dynamics[J]. *EMBO Rep*, 2002, 3: 224 - 229.
- [7] AGALIOTI T, CHEN G Y, THANOS D. Deciphering the transcriptional histone acetylation code for a human gene[J]. *Cell*, 2002, 111(3): 381-392.
- [8] KREBS J E, FRY C J, SAMUELS M L, *et al*. Global role for chromatin remodeling enzymes in mitotic gene expression[J]. *Cell*, 2000, 102(5): 587-598.
- [9] ELENA B, MARIA E A, DAVE W R, *et al*. Repression of neuronal genes requires components of the hSWI · SNF complex[J]. *J Biol Chem*, 2002, 277: 41038 - 41045.
- [10] TSAI S C, VALKOV N, YANG W M, *et al*. Histone deacetylase interacts directly with DNA topoisomerase II[J]. *Nat Genet*, 2000, 26: 349-353.
- [11] STRAHL B D, ALLIS C D. The language of covalent histone modifications[J]. *Nature*, 2000, 403: 41 - 45.
- [12] BERTOS N R, WANG A H, YANG X J. Class II histone Deacetylase structure, function and regulation[J]. *Biochem Cell Biol*, 2001, 79: 243-252.
- [13] MACALUSO M, CINTI C, RUSSO G, *et al*. pRb2/p130-E2F4/5-HDAC1-SUV39H1-p300 and pRb2/p130-E2F4/5-HDAC1-SUV39H1-DNMT1 multimolecular complexes mediate the transcription of estrogen receptor-α in breast cancer[J]. *Oncogene*, 2003, 22(23): 3511-3517.
- [14] KUO M H, BAUR E V, STRUHL K, *et al*. Gen4 activator targets Gen5 histone acetyltransferase to specific promoters independently of transcription[J]. *Mol Cell*, 2000, 6(6): 1309-1320.
- [15] SEO S B, MCNAMARA P, HEO S, *et al*. Regulation of histone acetylation and transcription by INHAT, a human cellular complex containing the set oncoprotein[J]. *Cell*, 2001, 104(1): 119-130.
- [16] ESTER V, XAVIER D L C, MARIAN A, *et al*. The SV40 T antigen modulates CBP Histone acetyltransferases activity[J]. *Nucleic Acids Research*, 2003, 31(12): 3114-3122.
- [17] YANG X J, EDWARD S. Collaborative spirit of histone deacetylases in regulating chromatin structure and gene expression[J]. *Curr Opin Genet Dev*, 2003, 13: 143-153.
- [18] HELENA S R, ESTER V, TONY K, *et al*. Mechanisms of P/CAF auto-acetylation[J]. *Nucleic Acids Res*, 2003, 31(15): 4285-4292.
- [19] VIGUSHIN D M, COOMBES R C. Histone deacetylase inhibitors in cancer treatment[J]. *Anti-cancer Drugs*, 2002, 13: 1-13.