第26卷 第11期 2014年11月 Vol. 26, No. 11 Nov., 2014

DOI: 10.13376/j.cbls/2014167 文章编号: 1004-0374(2014)11-1176-11



李 晴 研究员

李晴,博士,北京大学生命科学学院、北京大学-清华大学生命联合 中心研究员,入选中组部第三批"青年千人"计划,国家自然科学基金委 优秀青年科学基金获得者,从事染色质组装与表观遗传调控研究。首先阐 明了组蛋白 H3 赖氨酸 56 位乙酰化 (H3K56ac) 在 DNA 复制耦联的核小体 组装过程中的调控机制。在 Cell、Nature、Plant cell、Gene & Development、 PLoS genetics 和 JBC 等期刊发表论文。目前实验室主要以酵母和哺乳动物 细胞为模式,致力于探索表观遗传学的基础理论。实验室以 DNA 复制耦 联的核小体组装为切入点,从染色质组装的角度,揭示:(1) 在细胞分裂过 程中,染色质所携带的表观遗传信息是如何被稳定传递的;(2) 表观遗传 信息的稳定遗传如何调控基因组的稳定性;(3) 表观遗传调控网络在疾病 发生过程中的作用机理。

# 组蛋白修饰在染色质复制过程中的作用

# 张 旭,李 晴\*

(北京大学生命科学学院,北京大学-清华大学生命科学联合中心,蛋白质和植物基因研究国家重点实验室,北京100871)

**摘 要**: 真核生物中的 DNA 复制,不但要保证 DNA 编码的基因组信息高保真复制,也要保证染色质结构 所蕴含的表观遗传组稳定传递,这个过程对于维持基因组的完整性和稳定性至关重要。时至今日,人们对 DNA 复制的机制已经有了深入的认识,但是对染色质复制以及表观遗传信息传递的了解才刚刚开始。组蛋 白是染色质结构中最主要的蛋白组成部分,其上面丰富的转录后修饰是表观遗传调控的核心方式之一。从 最近几年组蛋白的修饰研究进展入手,主要综述在 DNA 复制过程中组蛋白修饰如何参与染色质复制的调控。 关键词:染色质;组蛋白修饰;DNA 复制;核小体

中图分类号:Q51;Q811.4;Q343.2 文献标志码:A

# A role of histone modifications during chromatin replication

ZHANG Xu, LI Qing\*

(State Key Laboratory of Protein and Plant Gene Research, Peking-Tsinghua Center for Life Sciences, College of Life Sciences, Peking University, Beijing 100871, China)

Abstract: In eukaryotic cells, not only the genetic information encoded in DNA, but also the epigenetic information embedded in chromatin organization must be faithfully propagated to the daughter cells during mitosis. Therefore, chromatin replication is an essential process, which is critical for the maintenance of genome stability. While significant progress has been made in elucidating the mechanisms underlying DNA synthesis, the understanding of how DNA is assembled into chromatin during DNA replication is just started. Histones, the major protein components of DNA wrapping into chromatin, are customized with various covalent modifications and play a central role during epigenetic regulation. In this review, we will focus on how histone modifications function in the

收稿日期: 2014-09-23

**基金项目:**中国博士后科学基金项目(2013M540818);国家自然科学基金面上项目(31370767) \*通信作者: E-mail: li.qing@pku.edu.cn; Tel: 010-62752516

process of chromatin replication.

Key words: chromatin; histone modification; DNA replication; nucleosome

在真核生物中,以 DNA-蛋白质复合物形式组 织的染色质是遗传信息的载体,其结构致密复杂, 一方面为遗传信息提供保护,另一方面也成为 DNA 参与的最基本的生命过程,如 DNA 复制、基 因转录和损伤修复等的障碍<sup>[1]</sup>。染色质的最基本组 成单位是核小体。核心核小体 (nucleosome core) 由 双拷贝的组蛋白 H2A、H2B、H3 和 H4 通过组蛋白 折叠结构域(疏水核心)相互作用组成八聚体,外 面由一段 147 bp 的 DNA 片断缠绕 1.75 圈构成<sup>[2]</sup>。 串珠状的核小体进一步通过高度反复盘绕折叠,最 终完成染色体对 DNA 遗传物质的包装。因此,在 DNA 相关代谢活动中,核小体作为染色质的最基 本组成单位,其组装和解组装必须被精确调控,尤 其是细胞周期 S 期。在 DNA 复制过程中,首先多 种蛋白因子需要招募在复制起始位点组装复制复合 体,随后复制叉前1~2个核小体解聚促使后随的 DNA 解聚、复制叉前移和 DNA 复制;相应地,在 新合成的子链上新的核小体马上组装,这个过程被 称为 DNA 复制耦联的核小体组装, 是染色质复制 的关键一步,对于调控表观基因信息的稳定遗传和 维持基因组的稳定性非常重要<sup>[3]</sup>。越来越多的研究 表明,组蛋白修饰在这个过程中起了重要作用,下 面主要围绕其在 DNA 复制过程中的调控作用展开 讨论。

# 1 组蛋白修饰的类型和功能

目前已在各种组蛋白不同的氨基酸残基上发现 超过 10 余种不同的共价修饰形式,主要有赖氨酸 的乙酰化、甲基化、泛素化、SUMO 苏素化、ADP 核糖基化,精氨酸的甲基化、瓜氨酸化,脯氨酸的 异构化以及苏氨酸、丝氨酸和酪氨酸等的磷酸化等, 且新的修饰位点和修饰方式还在不断地被发现<sup>[4-6]</sup>。 共价修饰不仅可以发生在伸出核小体的组蛋白 N 端 尾巴上,也可以发生在核心区域。如此众多的修饰 位点和形式进行不同的组合将编码非常丰富的信 息,由此 Allis 等在 2000 年提出"组蛋白密码"假说, 并认为丰富的组蛋白语言所衍生的功能是极为广泛 而且精细的,涉及到细胞生命活动的方方面面,如 遗传信息的复制、细胞对内外环境变化的适应等等, 解读这些信息并阐明其功能是表观遗传学研究的主 要内容<sup>[7-8]</sup>。

## 1.1 组蛋白修饰类型

自从 20 世纪 50 年代第一个组蛋白修饰被发现 以来,随着新技术、新方法的应用,组蛋白修饰研 究进入一个新阶段,在生命个体发育、细胞分化等 方面都有重要作用。不正常的修饰可能与疾病的发 生关联,如 H3 K27M 突变就参与脑瘤发生<sup>[9]</sup>。下 面简略介绍组蛋白上几类主要修饰。

#### 1.1.1 乙酰化

组蛋白乙酰化是一种高度动态可逆的共价修 饰,主要发生在赖氨酸残基上,分别由组蛋白乙酰 转移酶 (histone acetyltransferase, HAT) 和组蛋白去 乙酰化酶 (histone deacetylase, HDAC) 来完成<sup>[10]</sup>。 组蛋白乙酰转移酶主要有两种类型。A 类 HAT 常 常与其他多蛋白复合物结合,这些蛋白质组分负责 招募HAT,并影响HAT的活性和底物特异性<sup>[11]</sup>, 如 scGCN5 乙酰化游离的组蛋白,对组装成核小体 的组蛋白没有作用:但是当存在 SAGA 复合体时, scGCN5 就能有效地乙酰化核小体组蛋白<sup>[12]</sup>。B 类 HAT 主要位于细胞质并作用于游离的组蛋白,对己 经结合在染色质 DNA 上的组蛋白没有作用,如新 合成组蛋白上两种重要的乙酰化标记,组蛋白H3 上 56 位赖氨酸乙酰化 (H3K56ac) 和组蛋白 H4 上第 5 位和第 12 位赖氨酸乙酰化 (H4K5,12ac) 均由 B 类 HAT 催化<sup>[6]</sup>。这两种乙酰化模式对于组蛋白呈递 到染色质非常关键,并且在完成呈递后会被去除<sup>[13]</sup>。 组蛋白去乙酰化酶 (HDAC) 能够拮抗 HAT 的作用, 逆转赖氨酸的乙酰化修饰,从而恢复赖氨酸的正电 荷。该过程可能恢复 DNA 复制起始位点附近的染 色质结构,如酵母HST3和HST4催化H3K56的 去乙酰化,对维持基因组稳定极其重要<sup>[14-15]</sup>。

# 1.1.2 甲基化

组蛋白的甲基化主要发生在赖氨酸和精氨酸的 侧链上,并不改变组蛋白的电荷,由组蛋白甲基转 移酶 (histone methyltransferase, HMT) 和组蛋白去甲 基化酶 (histone demethylase, HDM) 催化完成。赖氨 酸甲基化修饰包括单甲基化、二甲基化和三甲基化, 精氨酸则可以发生单甲基化、二甲基化和三甲基化, 因而大大增加了这种修饰的复杂性。组蛋白赖氨酸 甲基转移酶 (histone lysine methyltransferase, HLMT) 催化甲基基团从 S- 腺苷甲硫氨酸 (SAM) 转移到赖 氨酸的 ε- 氨基上。甲基转移酶的催化作用具有较明 显的特异性,如粗糙链孢霉 (Neurospora crassa)的 DIM5 特异性地甲基化 H3K9<sup>[16]</sup>,而 SET7/9 作用于 H3K4<sup>[17]</sup>。此外,HLMT 对赖氨酸的甲基化程度, 包括单甲基化、二甲基化或三甲基化很重要,如 DIM5 能够三甲基化 H3K9,但是 SET7/9 只能单甲 基化 H3K4<sup>[16-17]</sup>。精氨酸甲基化酶催化甲基基团从 S-腺苷甲硫氨酸 (SAM)转移到底物的精氨酸 ω- 胍 基基团上。目前了解最多的精氨酸甲基化酶是 PRMT1、4、5 和 6<sup>[18]</sup>。长期以来人们认为组蛋白 甲基化是一种稳定的修饰,但是自 2004 年第一个 组蛋白去甲基化酶 LSD1 被发现以来<sup>[19]</sup>,很多组蛋 白去甲基化酶被陆续发现<sup>[20]</sup>,如 JMJD6 能够催化 H3R2 和 H4R3 的去甲基化<sup>[21]</sup>。

1.1.3 磷酸化

组蛋白磷酸化主要发生在丝氨酸或苏氨酸,分 别由蛋白激酶 (kinase) 和蛋白磷酸酶 (phosphatase) 催化磷酸基团的偶联和去除。磷酸化修饰可以显著 增加组蛋白的负电荷,从而最终影响染色质结构<sup>[22]</sup>。 North 等<sup>[23]</sup> 的最新研究结果表明,H3 T118 磷酸化 能够显著改变核小体的结构。目前大多数的蛋白激 酶如何募集到染色质上的作用位点仍不清楚。与组 蛋白乙酰化一样,组蛋白磷酸化也是一种高度动态 的修饰,细胞核内存在去磷酸化活性很高的磷酸酶。 1.1.4 泛素化

组蛋白泛素化修饰通过泛素激活酶(E1)、泛素 结合酶 (E2)、泛素连接酶 (E3) 的级联反应将泛素分 子偶联到组蛋白赖氨酸上。由于多个泛素分子可以 连接起来形成较长的泛素链,所以,偶联到组蛋白 上后会显著改变组蛋白的相对分子质量,这一点与 其他修饰明显不同<sup>[24]</sup>。H2AK119ub1 和 H2BK123ub1 是目前研究较多的两种组蛋白泛素化修饰,前者与 基因沉默有关<sup>[25]</sup>,而后者在转录起始和延伸过 程中发挥重要功能<sup>[26-27]</sup>。2012年, Trujill等<sup>[28]</sup>报道, H2BK123ub1 与 DNA 复制密切相关。泛素化的去 除依靠抑肽酶的作用完成,称作去泛素化。与泛素 化相似的还有一种修饰称为苏素化 (SUMOylation), 它同样是通过 E1、E2、E3 的作用将类似泛素的分 子偶联到靶蛋白的赖氨酸上。目前在4种核心组蛋 白上都鉴定到这种修饰。苏素化可能通过拮抗同一 氨基酸上的乙酰化和泛素化来发挥作用<sup>[29]</sup>。

# 1.1.5 ADP核糖基化

组蛋白的谷氨酸和精氨酸残基也能发生单-或 多聚-ADP核糖基化。这种修饰同样也是可逆的, 多聚-ADP核糖基化由多聚-ADP核糖聚合酶 (PARP)催化形成,并由多聚-ADP 核糖多糖水解酶 去除。这些酶协同作用,调控组蛋白的 ADP 核糖 基化水平,最终维持较松弛的染色质状态,这可 能跟 ADP 核糖基化同样能够改变组蛋白的电荷有 关系<sup>[30]</sup>。Cohen-Armon 等<sup>[31]</sup>发现,激活 PARP-1 会 导致核心组蛋白乙酰化水平的升高。组蛋白单核糖 基化由单-ADP 核糖转移酶完成。在4种核心组蛋 白上以及组蛋白 H1 均已鉴定到这种修饰。

#### 1.2 组蛋白修饰的功能

组蛋白和 DNA 结合形成染色体, 组蛋白修饰 可能通过两种方式影响染色质构象:一是影响组蛋 白的电荷从而影响染色质的结构,如组蛋白乙酰化 和磷酸化能有效减少组蛋白的正电荷,可能破坏组 蛋白与 DNA 之间的电荷平衡;二是影响组蛋白本 身蛋白之间相互结合的功能,如许多染色质结合蛋 白通过识别组蛋白共价修饰被招募到染色质,调节 染色质结构,参与了 DNA 的复制、损伤修复和转 录等过程。随着染色质和表观遗传领域研究的蓬勃 发展,众多特异的组蛋白修饰识别蛋白结构域被鉴 定。根据识别的修饰不同,可以分成为几类,如甲 基化识别家族、乙酰化识别家族、磷酸化识别家族 和泛素化识别家族等等<sup>[32]</sup>。其中识别甲基化组氨酸 的结构域最多,包括 PHD finger、chromodomain、 Tudor、PWWP 和 MBT 结构域<sup>[33-35]</sup>,这些结构域中 许多能识别组蛋白赖氨酸的同一种修饰,如 ING 家 族蛋白 ING1-5 的 PHD finger 能够识别活跃转录相 关的组蛋白修饰标志 H3K4me3<sup>[33]</sup>, H3K4me3 也能 被 ATP- 依赖重塑酶 CHD1 的 chromodomain<sup>[36]</sup> 结 构域以及组蛋白去甲基化酶 JMJD2A 的 Tudor 结构 域所识别<sup>[37]</sup>。可见,组蛋白修饰可以直接募集染色 质修饰酶。另外,组蛋白乙酰化的赖氨酸可以被 bromodomain、PHD 以及 Pleckstrin homology (PH) 结构域识别。众多的 HAT 和染色质重塑复合物都 有这种结构域,如 Swi2/Snf2 的 bromodomain 结构 域识别乙酰化的组蛋白,并进一步募集 SWI/SNF 重塑复合体来打开染色质结构<sup>[38]</sup>。PHD finger 结构 域也能特异地识别乙酰化组蛋白,如 DPF3b 通过 其多个串联的 PHD 结构域识别乙酰化组蛋白,从 而募集 BAF 染色质重塑复合体<sup>[39]</sup>。组蛋白修饰除 了为多种蛋白质的识别结合提供平台以外,也能破 坏组蛋白与其他染色质蛋白的结合,如H3K4me3 能够阻止 NuRD 复合体结合 H3 的 N 端<sup>[40]</sup>; H3K4me3 也能影响 DNMT3L 结合 H3 的 N 端<sup>[41]</sup>; H3T3 的磷 酸化阻止INHAT转录抑制复合物结合H3的N端<sup>[42]</sup>。

#### 2 组蛋白修饰与DNA复制

## 2.1 组蛋白修饰与DNA复制起始

真核生物的 DNA 复制过程从酵母到人类都非 常保守<sup>[43]</sup>。在芽殖酵母中,细胞周期 G1 期的 ORC (origin recognition complex) 复合物识别 DNA 复制 起始位点并招募 Cdc6、Cdt1 以及 Mcm2-7 复合物。 两个 Mcm2-7 复合物以头对头的形式环绕在复 制起始位点的 DNA 上。随着细胞进入 S 期后,蛋 白激酶 DDK (Dbf4-dependent Cdc7 kinases) 和 CDKs (cyclin-dependent kinases) 作用于该复合物,促使 Mcm2-7、Cdc45 以及 GINS 结合成 CMG 复合物 (Cdc45-Mcm2-7-GINS),这些蛋白质的共同作用激 活 Mcm2-7 的 ATPase 活性和解旋酶活性,产生具 有复制活性的 DNA 解旋酶 <sup>[44]</sup>。CMG 复合物偶联 DNA 聚合酶 ε 负责前导链的合成,三聚体复合物 Ctf4 则将 CMG 解旋酶与 DNA 聚合酶 α 偶联起来, 引发 DNA 聚合酶 δ 催化的滞后链的合成<sup>[1]</sup>。

组蛋白修饰在 DNA 复制过程中发挥重要的调 控作用。利用含有酵母 DNA 复制起始位点的微染 色体 (mini-chromosome) 系统,发现 H3 和 H4 乙酰 化水平增加与起始位点活性正相关<sup>[45]</sup>。当复制位点 存在 H3K4me3 时,人细胞内的 HBO1 和 ING4/5 的乙酰转移酶复合体会大量增加,由于 ING 蛋白能 够识别 H3K4me3, 这暗示 H3K4me3 可能促进 HBO1 被募集到复制起始位点上<sup>[46]</sup>。HBO1在果蝇中的同 源蛋白 Chameau 同样能够增强复制起始位点的活 性<sup>[47]</sup>。此外, Mcm2-7 复合物组装到复制起始位点 能够促进H4K12乙酰化,这意味着H4K12Ac是 ORC蛋白识别复制起始位点的结果<sup>[46]</sup>。HBO1在 G1 期可以与 ORC1 和 Cdt1 结合,并催化复制起始 位的H4K12的乙酰化,促使凝聚的染色体解开, 调节 Mcm2-7 复合体被招募到复制起始位点,参 与 DNA 复制许可 (replication licensing) 过程;在 S 期,Geminin 可以抑制 HBO1 和 Cdt1 结合从而招募 HDAC11 和 Cdt1 结合,抑制 Mcm2-7 复合体被结 合到复制位点,切断它和Cdt1的直接相互作用, 防止 Cdt1 诱导的染色体解浓缩和重复复制<sup>[48-49]</sup>。

H4K20的甲基化同样影响 ORC 蛋白在复制起 始位点的结合,从而调控复制起始过程<sup>[50-52]</sup>。ORC 的一个亚基 Orc1 带有 BAH 结构域,可以特异识别 在复制起始位点富集的 H4K20me2,破坏 Orc1 和 H4K20me2 之间的识别,导致 Orc1 在复制起始位 点结合力削弱,并影响细胞周期正常运行<sup>[50]</sup>。 H4K20me1由PR-Set7催化并与细胞周期相关。PR-Set7在G2期最高,在有丝分裂期迅速降低。并在S期达到最低,而PR-Set7基因突变会破坏ORC结合DNA,因而影响复制起始位点许可和复制起始过程<sup>[51]</sup>;H4K20-me1在S期末显著增加,在G2期达到最高,在G1下降<sup>[53]</sup>,因为Suv4-20h1和Suv4-20h2能够催化H4K20me1进一步甲基化生成H4K20me2和H4K20me3<sup>[51]</sup>。另外,ORC结合蛋白ORCA对于ORC在染色质上的定位十分关键,ORCA能够识别并结合H4K20me3<sup>[54]</sup>。如果人为地将PR-Set7定位到染色质启动子区域,能够检测到H3K4me3水平增加,而降低H4k20me3的水平则会阻止ORCA和Orc1在该区域的结合<sup>[51]</sup>。

值得注意的是,Cdc7-Dbf4 除作用于解旋酶 MCMs外,还能直接识别位于组蛋白 H3 N 端的一 个α-螺旋的 H3T45 磷酸化修饰<sup>[55]</sup>。该修饰在 DNA 复制期间丰度达到最高,而且 T45 突变后的酵母细 胞产生 DNA 复制缺陷,对相关药物敏感,长期施 加复制压会导致这种修饰的累积。这些结果表明, H3T45 磷酸化也在 DNA 复制过程中发挥作用,但 其具体机理还有待阐明<sup>[55]</sup>。

酵母 H2BK123 位点可以发生单泛素化修饰 (哺乳动物细胞中是K120位点),由泛素连接酶 Brel 催化<sup>[56-57]</sup>,哺乳动物细胞中对应的泛素连接 酶是 hBre1(RNF20)/RNF40 复合体 [58]。H2B 单泛素 化 (H2Bub1) 的功能十分多样,其中研究最多的是 对 DNA 转录的调控作用。H2Bub1 可能促进 FACT 介导H2A-H2B二聚体从核小体解离,因而帮助 RNA Pol II 通过核小体进行转录<sup>[59]</sup>。另外, H2Bub1 也可能促进 RNA Pol II 介导转录延伸后核小体的有 效再组装<sup>[60]</sup>。因此,H2Bub1 能够破坏染色质高级 结构,产生一个有利于基因表达的开放结构<sup>[61]</sup>。研 究者还发现,多种组蛋白H3的甲基化修饰,如H3 K4 和 K79 的甲基化都需要 H2Bub1, 暗示 H2Bub1 也可能通过间接作用影响转录。有趣的是,最近 Osley 实验室的结果表明, H2Bub1 也在 DNA 复制 过程中发挥重要作用<sup>[28]</sup>。他们发现酵母细胞多个 复制起始位点附近的染色质上都存在 H2Bub1。在 复制过程中,H2Bub1的丰度通过 Bre1 结合新合成 的 DNA 得以维持。在 htbK123R 突变体中,复制前 起始复合体 (pre-RC) 的组装和激活不受影响,但是 DNA 合成必需的重要复制因子的结合显著减少, 复制叉进程和复制复合体稳定性也受到明显影响, 复制起始位点附近组蛋白的结合也受到明显的破

坏。这些结果表明,在 DNA 复制过程中,H2Bubl 可以通过调控核小体组装或者新合成 DNA 的稳定 性来促进复制叉的前进和稳定。Uhrfl 可以在 DNA 复制的早期阶段将 H3K23 泛素化,然后招募 Dnmtl 到复制位点甲基化 DNA,从而参与 DNA 复 制和表观遗传信息的传递,随后复制位点的 Dnmtl 可以形成带有去 H3 泛素化的复合物,快速去除 DNA 复制后的 H3 泛素化 <sup>[62-63]</sup>。这些结果都表明, 特定的组蛋白修饰在招募 DNA 复制起始复合物以 及促进复制叉前面的核小体的打开,从而促进 DNA 解旋,起始 DNA 复制的过程中起着重要的作用。

# 2.2 组蛋白修饰与DNA复制耦联的核小体组装

在真核生物中,随着 DNA 复制的进行,新合成的两条子链 DNA 必须重新组装进入染色体结构 来保护 DNA 不过多暴露。因此,子链上核小体的 组装必须跟 DNA 合成紧密相连,这个过程被称为 DNA 复制耦联的核小体组装,需要来自于复制叉前面解离的母本组蛋白和新合成的组蛋白一起重新 装配,恢复染色质结构<sup>[64]</sup>。迄今为止,对母本组蛋白如何被组装到新的核小体中的机制知之甚少,然 而最近几年,人们对于新合成的组蛋白 H3-H4 的呈 递机制有了越来越深入的认识(图 1)。

新合成的组蛋白在 N 端和球状区域 (globular domain) 发生保守的共价修饰,给组蛋白带上特殊标记,利于多种组蛋白分子伴侣的识别和呈递过程<sup>[65]</sup>。目前研究较深入的组蛋白运输和组装标记有:酵母的 H4K5,12ac 和 H3K56ac<sup>[66-67]</sup>,在果蝇和哺乳动物细胞中也发现 H4K5,12ac 修饰,但 H3K56ac 修饰在高等真核生物核小体组装过程的作用尚不明确<sup>[66-68]</sup>。此外,人细胞中新合成的组蛋白 H3.1 呈递到染色质前会发生由 Prdm3 和 Prdm16 催化的甲基化——H3K9me1<sup>[69-70]</sup>,尚未有证据表明该修饰参与 DNA 复制耦联的核小体组装,该修饰会继续被Suv39h 修饰为 H3K9me3,并最终出现在异染色质中<sup>[71]</sup>。在 Prdm3、Prdm16 和 Suv39h 突变体中,摧毁 H3K9me1和H3K9me3 会影响异染色质的特性<sup>[65]</sup>。

H4K5,12ac 是新合成组蛋白上最保守的修饰, 从酵母到人类细胞中都有发现<sup>[66,72]</sup>。它主要参与了 核小体入核过程,在酵母和人类细胞中都是由乙酰 化酶 Hat1 催化,该种组蛋白被呈递到复制的染色 质后很快会被擦除以辅助染色质的成熟<sup>[68,72]</sup>。对组 蛋白从合成到组装入染色质过程的详细研究表明, H4K5,12ac 的乙酰化发生在细胞质,然后与 Asf1 结 合并被运送入核,但人类细胞和酵母细胞的机制并 不完全相同,在被 Hat1 乙酰化之前, H3K9 会发生 单甲基化修饰,其过程见图 1<sup>[73]</sup>。H4K5,12ac 突变为 H4K5,12R 后不能发生乙酰化,导致 H3-H4 不能入 核,而突变成H4K5,12O模拟乙酰化修饰后,则入 核增加;而组蛋白分子伴侣 CAF-1 免疫共沉淀的蛋 白质中能检测到H4K5,12ac,表明该修饰可能通过 促进H3-H4入核或调节CAF-1的功能而发挥作 用<sup>[74]</sup>。Hat1 也能与 H3.3 共纯化,暗示该酶也可能 作用于H3.3参与的核小体组装过程,其机理还有 待研究。在哺乳动物细胞中,常规的H3.1和其变 体 H3.3 通过不同的组蛋白分子伴侣运输参与不同 的过程,H3.1-H4 由分子伴侣 CAF-1 运输参与了 DNA 复制耦联的核小体组装,而H3.3-H4 由分子 伴侣 HIRA 运输参与了不依赖复制的核小体组装 过程<sup>[75]</sup>。Hat1偏向于催化新合成的H3.1-H4而非 H3.3-H4 的组蛋白 H4 的 K5、K12 乙酰化修饰,进 而参与 DNA 复制耦联的核小体组装<sup>[76]</sup>。

H3K56ac 是酵母新合成组蛋白 H3 上的另一种 重要标记,在细胞核中被Rtt109修饰,参与多种 DNA 相关的生命活动,如基因转录、损伤 DNA 修 复,更为重要的是H3K56ac直接参与了DNA复制 耦联的核小体组装过程[77-79]。如图1所示,新合成 的组蛋白 H3-H4 经 Hat1 修饰为 H3-H4K5,12ac,在 importin-4 (哺乳动物细胞)/Kap123 (酵母细胞)<sup>[73]</sup> 作用下和 Asfl 结合进入细胞核; 然后, 酵母细胞 中 Asfl 将 H3-H4 呈递给 Rtt109-Vps75 组蛋白乙酰 转移酶复合体,乙酰化修饰 H3的 K56 位赖氨酸, 在此过程中 Rtt109 和 Vps75 形成复合体会显著增 加催化活性<sup>[80-81]</sup>。有趣的是, Rtt109-Vps75 复合体 不会和没有结合 H3-H4 的 Asf1 结合,而且在 Rtt109-Vps75 复合体催化 H3-H4 的 H3K56 乙酰化时, Asf1 并没有和H3-H4 解离,此时Asfl 结合的是H3-H4 的二聚体<sup>[79-80,82]</sup>。H3-H4 被 Rtt109-Vps75 在 H3K56 为乙酰化后才以四聚体的形式和 Asfl 结合, 然后 这个 H3K56 位被乙酰化的四聚体被转移给组蛋 白分子伴侣 CAF-1 或者 Rtt106, 再被呈递到染色质 上<sup>[83]</sup>。H3K56Ac 显著增强 CAF-1 和 Rtt106 结合新 合成的组蛋白 H3,进而促进正在复制的 DNA 上的 核小体组装<sup>[77,80]</sup>。在哺乳动物细胞中,p300/CBP 介导的组蛋白 H3K56 乙酰化,和 SIRT2/3 参与组 蛋白 H3K56 脱乙酰化共同通过 ATM 途径调节 DNA 损伤修复,在DNA损伤修复完成后促进核小体组 装,可以作为损伤修复完成标记<sup>[78,84-87]</sup>。在哺乳动 物中,H3K56ac的表达量丰度很低。2009年,通



Image: Constrained of the second of the s

在酵母细胞中(左侧),新合成组蛋白H3-H4与Hifl结合,然后组蛋白乙酰转移酶Hatl/Hat2催化H4K5,12发生乙酰化修饰,随后Asfl结合H3-H4K5,12ac并促进其转运入核。核内乙酰转移酶复合物Rtt109-Vps75催化进行H3K56乙酰化修饰。该修饰能进一步促进H3K121/122/125位点被Rtt101<sup>MmS1</sup>催化发生泛素化,从而促进H3-H4从Asfl转移到组蛋白分子伴侣CAF-1和Rtt106,并最终呈递到染色质上进行核小体组装。在哺乳动物细胞中(右侧),分子伴侣HSC70在核糖体出口结合新合成组蛋白H3.1,促进其折叠,然后H3.1被转移给HSP90,它与辅助分子伴侣tNASP一起促进H3.1-H4二聚体的结合。sNASP结合此异源二聚体,并将其呈递给RbAp46,后者招募Hat1,催化H4K5,12发生乙酰化修饰,使H3-H4K5,12ac得以稳定并被转移到组蛋白伴侣Asfl。Asfl与Importin-4结合,促进H3-H4K5,12ac二聚体入核。核内乙酰转移酶p300/CBP催化进行H3K56乙酰化修饰,该修饰能进一步促进H3K122位点被Cul4A<sup>DDB1</sup>催化发生泛素化。该修饰有利于H3-H4从Asfl转移到组蛋白分子伴侣CAF-1,并最终呈递到染色质上参与核小体组装。

# 图1 组蛋白修饰在新合成组蛋白运输和组装过程中的作用<sup>[73,89,93]</sup>

过质谱在人胚胎干细胞检测到 H3K56ac 的存在,并 且其定位和几种关键的诱导重编程转录因子,如 NANOG、SOX2 和 OCT4 等相关<sup>[88]</sup>,暗示该种修 饰能更好地反映胚胎干细胞和体细胞的表观遗传信 息的差异。进而,研究者发现,人类细胞中分子伴 侣Asfla是H3K56ac所必需的<sup>[89]</sup>。有趣的是,最 近研究者也发现 Asfla 在减数分裂中期 II 的卵母细 胞高表达,并且可以通过介导H3K56乙酰化和 OCT4、GDF9 可以将成人表皮成纤维母细胞 (hADFs) 转化为多能性干细胞<sup>[90]</sup>。再者,2014年, Wang 等<sup>[91]</sup> 研究结果表明,细胞重编程的过程需要通过 DNA 复制。巧合的是,用 BrdU 标记人胚胎干细胞中活 跃的 DNA 复制位点,发现这些位点与 H3K56ac 以 及H3K18ac、H4K20me1的高峰度区高度相关<sup>[92]</sup>, 暗示了 H3K56ac 可能在胚胎干细胞的 DNA 复制过 程同样起着重要作用。Han 等<sup>[93]</sup> 研究表明,酵母 中组蛋白泛素连接酶 Rtt101-Mms1 能够泛素化 H3 的 K121/123/125, 并且优先作用于 K3K56ac-H4。 泛素化的 H3-H4 与 Asf1 结合能力减弱, 但与 Rtt106 结合能力增强,表明乙酰化的H3-H4促进其泛素化, 继而促进 H3-H4 从 Asf1 向组蛋白伴侣转移,最终 促进核小体组装<sup>[93]</sup>。同样的机制在人类细胞中也被 发现,Rtt101<sup>Mms1</sup>和Cul4A<sup>DDB1</sup>同样调控了Asf1-H3-H4的相互作用并且调控了组蛋白H3.1和H3.3的 组装, 暗示了组蛋白 H3K56ac 和 H3 K121/123/125 泛素化的调控通路从低等到高等真核生物都非常保 守,在 DNA 复制耦联的核小体组装过程起了非常 重要的作用。

除了 H3K56ac,组蛋白 H3 和 H4 的 N 端尾巴 上的一些乙酰化修饰同样在核小体组装过程中起了 重要作用,如 Rtt109-Vps75 复合物也可以和乙酰化 酶 Gcn5一起催化 H3K9、H3K23 和 H3K27 位乙酰化, 调控 CAF-1 和组蛋白 H3 结合,参与核小体组 装<sup>[94-95]</sup>。另外,新合成组蛋白 H4 的 H4K79、H4K91 等位点被发现也能被 Hat4 催化进行乙酰化,敲除 HAT4 会影响核小体组装,抑制细胞增殖,对 DNA 损伤药物敏感<sup>[96]</sup>,暗示这些位点在核小体组装过程 中也起到起到重要作用。复制过程中多种组蛋白修 饰 因 子,如 HDACs、H3K9 甲基转移酶 SETDB1 和 G9a,以及 H4K20 甲基转移酶 Set8,能与 PCNA 结合<sup>[1]</sup>,暗示新组装的核小体在复制叉移动时可能 会进一步修饰。

## 2.3 组蛋白修饰与母本组蛋白的再循环

在 DNA 复制耦联的核小体组装过程中,涉及

到新合成组蛋白和回收自复制叉前面来源于母本的 组蛋白共同组装并分配到两条子链上。与 DNA 复 制以一条链作为模板的半保留复制不同,两种途径 的组蛋白究竟是如何分配到合成的两条 DNA 链上。 在这个过程中, 组蛋白所携带的表观遗传信息是如 何稳定传递的,人们对这个问题的关注已有几十年 的历史。直到最近几年,其中的分子机制才初现端 倪。目前普遍的观点认为组蛋白被随机整合到复制 的两条 DNA 链上<sup>[63]</sup>。通过纯化不同组蛋白变体结 合定量质谱的方法,研究揭示在 DNA 复制耦联的 核小体组装过程中,母本"旧"核小体(H3.1-H4)。 四聚体不能够解离成H3.1-H4 二聚体,仍然保留四 聚体的形式组装到 DNA 子链的核小体上。然而, 非 DNA 复制耦联的核小体组装过程中母本"旧" 核小体 (H3.3-H4), 四聚体能够解离成 H3.3-H4 二聚 体,然后与新合成H3-H4二聚体或其他旧H3-H4 二聚体进行不同的组合,整合到新的核小体中<sup>[97]</sup>。 与之一致的结果是,越来越多的组蛋白 H3-H4 分子 伴侣被发现可以形成二聚或者寡聚的结构,从而辅 助(H3-H4),四聚体在呈递到染色质之前形成<sup>[98-99]</sup>。 更为有趣的是,在组成新的核小体时,可以将组蛋 白上已有的修饰标记作为模板,以建立相同的修饰 模式。有报道证明,在 DNA 复制过程中,组蛋白 修饰通过这种拷贝方式进行传递,如H3K27me3由 PRC2 (polycomb repressive complex 2) 复合体催化, 该复合体包括 EZH2、EED 和 SUZ12 3 个组分, PRC2 复合物能够结合 K3K27me3,并在 G1 期与其共定 位在 DNA 复制位点<sup>[62]</sup>。结构生物学的研究结果表 明, PRC2的EED亚基可以直接识别H3K27me3, 并导致 PRC2 的自我激活<sup>[66]</sup>。这为组蛋白标记的遗 传提供一种的机制,可能 H3K27me3 一旦产生,就 招募 PRC2 到 DNA 复制位置以维持该甲基化修饰, 并导致子链 DNA 上组装核小体随着染色质成熟在 H3K27发生甲基化。

## 3 展望

综上所述,组蛋白修饰对 DNA 复制过程极其 重要,参与 DNA 复制的起始、延伸和停滞复制叉 修复等过程,而且在新合成的 DNA 组装成染色体 过程中更是不可或缺,但是我们的认识仍然十分有 限。在 DNA 复制起始位点存在多种组蛋白修饰, 如 H4K4me3、H4K12ac 和 H2BK123Ub 修饰等,通 过改变复制位点染色质构象和招募 DNA 复制起始 因子(如 Mcm2-7等)共同参与复制起始,但是这

些修饰之间是如何协同或拮抗来调节 DNA 复制起 始的,还有哪些组蛋白修饰参与了 DNA 复制起始, 这些修饰随 DNA 复制周期调节的机制,以及修饰、 招募和调控它们的有哪些因子都有待于进一步探 索。在 DNA 复制耦联的核小体组装过程中我们仅 仅知道新合成的 H3-H4 通过 H4K5.12ac 和 H3K56ac 修饰来启动进核和运输到复制叉,关于 H2A-H2B 进核和运输到复制叉的机制我们几乎一无所知,仅 仅知道 H2BK123Ub1 修饰参与此过程, 它们的分 子伴侣是谁,运输和传递的细节仍是一片空白:迄 今为止,还没有一种组蛋白修饰在调控母本核小体 的解组装和回收再循环过程中被鉴定到发挥作用, 母本"旧"的组蛋白是如何回收并转运到复制叉, 在此过程中母本"旧"的组蛋白和新合成的组蛋白 是如何协调运输的,它们是如何组装进核小体的, 其分配规律如何等;另外,新合成 DNA 子链上核 小体是如何和 DNA 序列协同作用组装成更高级结 构的,在此过程中组蛋白修饰的变化是否对染色质 高级结构组装有指导意义:最后,在染色质复制过 程中表观遗传信息是如何通过 DNA 复制耦联的核 小体组装和传递的,此过程又如何参与指导细胞分 裂、分化乃至多细胞生命个体发育等。染色质的复 制是真核生物必需的过程,其异常经常会伴随着基 因组的不稳定,甚至导致疾病,如肿瘤的发生。因此, 随着更新的技术和方法的不断涌现,深入研究染色 质复制的分子机制不仅会推动对最基本生命规律的 认识,也会为相关疾病的诊断和治疗提供新的靶点 和思路。

## [参考文献]

- Groth A, Rocha W, Verreault A, et al. Chromatin challenges during DNA replication and repair. Cell, 2007, 128(4): 721-33
- [2] Kornberg RD, Lorch YL. Twenty-five years of the nucleosome, fundamental particle of the eukaryote chromosome. Cell, 1999, 98(3): 285-94
- [3] MacAlpine DM, Almouzni G. Chromatin and DNA replication. Cold Spring Harb Perspect Biol, 2013, 5(8): a010207
- [4] Zhou VW, Goren A, Bernstein BE. Charting histone modifications and the functional organization of mammalian genomes. Nat Rev Genet, 2011, 12(1): 7-18
- [5] Arnaudo A, Garcia B. Proteomic characterization of novel histone post-translational modifications. Epigenet Chrom, 2013, 6(1): 24
- [6] Tessarz P, Santos-Rosa H, Robson SC, et al. Glutamine methylation in histone H2A is an RNA-polymerase-Idedicated modification. Nature, 2014, 505(7484): 564-8

- [7] Strahl BD, Allis CD. The language of covalent histone modifications. Nature, 2000, 403(6765): 41-5
- [8] Jenuwein T, Allis CD. Translating the histone code. Science, 2001, 293(5532): 1074-80
- [9] Chan KM, Fang D, Gan H, et al. The histone H3.3K27M mutation in pediatric glioma reprograms H3K27 methylation and gene expression. Genes Dev, 2013, 27(9): 985-90
- [10] Hassig CA, Schreiber SL. Nuclear histone acetylases and deacetylases and transcriptional regulation: HATs off to HDACs. Curr Opin Chem Biol, 1997, 1(3): 300-8
- [11] Yang XJ, Seto E. HATs and HDACs: from structure, function and regulation to novel strategies for therapy and prevention. Oncogene, 2007, 26(37): 5310-8
- [12] Grant PA, Duggan L, Cote J, et al. Yeast Gcn5 functions in two multisubunit complexes to acetylate nucleosomal histones: characterization of an Ada complex and the SAGA (Spt/Ada) complex. Genes Dev, 1997, 11(13): 1640-50
- [13] Parthun MR. Hat1: the emerging cellular roles of a type B histone acetyltransferase. Oncogene, 2007, 26(37): 5319-28
- [14] Maas NL, Miller KM, DeFazio LG, et al. Cell cycle and checkpoint regulation of histone H3 K56 acetylation by Hst3 and Hst4. Mol Cell, 2006, 23(1): 109-19
- [15] Celic I, Masumoto H, Griffith WP, et al. The sirtuins hst3 and Hst4p preserve genome integrity by controlling histone h3 lysine 56 deacetylation. Curr Biol, 2006, 16(13): 1280-9
- [16] Tamaru H, Zhang X, McMillen D, et al. Trimethylated lysine 9 of histone H3 is a mark for DNA methylation in Neurospora crassa. Nat Genet, 2003, 34(1): 75-9
- [17] Xiao B, Jing C, Wilson JR, et al. Structure and catalytic mechanism of the human histone methyltransferase SET7/9. Nature, 2003, 421(6923): 652-6
- [18] Bedford MT, Clarke SG. Protein arginine methylation in mammals: who, what, and why. Mol Cell, 2009, 33(1): 1-13
- [19] Shi Y, Lan F, Matson C, et al. Histone demethylation mediated by the nuclear amine oxidase homolog LSD1. Cell, 2004, 119(7): 941-53
- [20] Klose RJ, Zhang Y. Regulation of histone methylation by demethylimination and demethylation. Nat Rev Mol Cell Biol, 2007, 8(4): 307-18
- [21] Chang B, Chen Y, Zhao Y, et al. JMJD6 is a histone arginine demethylase. Science, 2007, 318(5849): 444-7
- [22] Rossetto D, Avvakumov N, Cote J. Histone phosphorylation: a chromatin modification involved in diverse nuclear events. Epigenetics, 2012, 7(10): 1098-108
- [23] North JA, Simon M, Ferdinand MB, et al. Histone H3 phosphorylation near the nucleosome dyad alters chromatin structure. Nucleic Acids Res, 2014, 42(8): 4922-33
- [24] Kleiger G, Mayor T. Perilous journey: a tour of the ubiquitin-proteasome system. Trends Cell Biol, 2014, 24(6): 352-9
- [25] Wang H, Wang L, Erdjument-Bromage H, et al. Role of

histone H2A ubiquitination in Polycomb silencing. Nature, 2004, 431(7010): 873-8

- [26] Lee JS, Shukla A, Schneider J, et al. Histone crosstalk between H2B monoubiquitination and H3 methylation mediated by COMPASS. Cell, 2007, 131(6): 1084-96
- [27] Kim J, Guermah M, McGinty RK, et al. RAD6-mediated transcription-coupled H2B ubiquitylation directly stimulates H3K4 methylation in human cells. Cell, 2009, 137(3): 459-71
- [28] Trujillo KM, Osley MA. A role for H2B ubiquitylation in DNA replication. Mol Cell, 2012, 48(5): 734-46
- [29] Seeler JS, Dejean A. Nuclear and unclear functions of SUMO. Nat Rev Mol Cell Biol, 2003, 4(9): 690-9
- [30] Messner S, Hottiger MO. Histone ADP-ribosylation in DNA repair, replication and transcription. Trends Cell Biol, 2011, 21(9): 534-42
- [31] Cohen-Armon M, Visochek L, Rozensal D, et al. DNAindependent PARP-1 activation by phosphorylated ERK2 increases EIk1 activity: a link to histone acetylation. Mol Cell, 2007, 25(2): 297-308
- [32] Ruthenburg AJ, Li H, Patel DJ, et al. Multivalent engagement of chromatin modifications by linked binding modules. Nat Rev Mol Cell Biol, 2007, 8(12): 983-94
- [33] Champagne KS, Kutateladze TG. Structural insight into histone recognition by the ING PHD fingers. Curr Drug Targets, 2009, 10(5): 432-41
- [34] Maurer-Stroh S, Dickens NJ, Hughes-Davies L, et al. The Tudor domain 'Royal Family': Tudor, plant agenet, chromo, PWWP and MBT domains. Trends Biochem Sci, 2003, 28(2): 69-74
- [35] Kim J, Daniel J, Espejo A, et al. Tudor, MBT and chromo domains gauge the degree of lysine methylation. EMBO Rep, 2006, 7(4): 397-403
- [36] Sims RJ, Chen CF, Santos-Rosa H, et al. Human but not yeast CHD1 binds directly and selectively to histone H3 methylated at lysine 4 via its tandem chromodomains. J Biol Chem, 2005, 280(51): 41789-92
- [37] Huang Y, Fang J, Bedford MT, et al. Recognition of histone H3 lysine-4 methylation by the double tudor domain of JMJD2A. Science, 2006, 312(5774): 748-51
- [38] Mujtaba S, Zeng L, Zhou MM. Structure and acetyl-lysine recognition of the bromodomain. Oncogene, 2007, 26(37): 5521-7
- [39] Zeng L, Zhang Q, Li S, et al. Mechanism and regulation of acetylated histone binding by the tandem PHD finger of DPF3b. Nature, 2010, 466(7303): 258-62
- [40] Zegerman P, Canas B, Pappin D, et al. Histone H3 lysine 4 methylation disrupts binding of nucleosome remodeling and deacetylase (NuRD) repressor complex. J Biol Chem, 2002, 277(14): 11621-4
- [41] Adams-Cioaba MA, Min JR. Structure and function of histone methylation binding proteins. Biochem Cell Biol, 2009, 87(1): 93-105
- [42] Schneider R, Bannister AJ, Weise C, et al. Direct binding of INHAT to H3 tails disrupted by modifications. J Biol Chem, 2004, 279(23): 23859-62
- [43] Masai H, Matsumoto S, You Z, et al. Eukaryotic

chromosome DNA replication: where, when, and how? Annu Rev Biochem, 2010, 79: 89-130

- [44] Bell SP, Kaguni JM. Helicase loading at chromosomal origins of replication. Cold Spring Harb Perspect Biol, 2013, 5(6): a010124
- [45] Unnikrishnan A, Gafken PR, Tsukiyama T. Dynamic changes in histone acetylation regulate origins of DNA replication. Nat Struct Mol Biol, 2010, 17(4): 430-7
- [46] Saksouk N, Avvakumov N, Champagne KS, et al. HBO1 HAT complexes target chromatin throughout gene coding regions via multiple PHD finger interactions with histone H3 tail. Mol Cell, 2009, 33(2): 257-65
- [47] Aggarwal BD, Calvi BR. Chromatin regulates origin activity in *Drosophila* follicle cells. Nature, 2004, 430(6997): 372-6
- [48] Wong PG, Glozak MA, Cao TV, et al. Chromatin unfolding by Cdt1 regulates MCM loading via opposing functions of HBO1 and HDAC11-geminin. Cell Cycle, 2010, 9(21): 4351-63
- [49] 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
- [50] Kuo AJ, Song J, Cheung P, et al. The BAH domain of ORC1 links H4K20me2 to DNA replication licensing and Meier-Gorlin syndrome. Nature, 2012, 484(7392): 115-9
- [51] Beck DB, Burton A, Oda H, et al. The role of PR-Set7 in replication licensing depends on Suv4-20h. Genes Dev, 2012, 26(23): 2580-9
- [52] Noguchi K, Vassilev A, Ghosh S, et al. The BAH domain facilitates the ability of human Orc1 protein to activate replication origins *in vivo*. EMBO J, 2006, 25(22): 5372-82
- [53] Oda H, Okamoto I, Murphy N, et al. 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): 2278-95
- [54] Shen Z, Sathyan KM, Geng Y, et al. A WD-repeat protein stabilizes ORC binding to chromatin. Mol Cell, 2010, 40(1): 99-111
- [55] Baker SP, Phillips J, Anderson S, et al. Histone H3 Thr 45 phosphorylation is a replication-associated posttranslational modification in *S. cerevisiae*. Nat Cell Biol, 2010, 12(3): 294-8
- [56] Hwang WW, Venkatasubrahmanyam S, Ianculescu AG, et al. A conserved RING finger protein required for histone H2B monoubiquitination and cell size control. Mol Cell, 2003, 11(1): 261-6
- [57] Wood A, Krogan NJ, Dover J, et al. Bre1, an E3 ubiquitin ligase required for recruitment and substrate selection of Rad6 at a promoter. Mol Cell, 2003, 11(1): 267-74
- [58] Kim J, Hake SB, Roeder RG. The human homolog of yeast BRE1 functions as a transcriptional coactivator through direct activator interactions. Mol Cell, 2005, 20(5): 759-70
- [59] Pavri R, Zhu B, Li GH, et al. Histone H2B monoubiquitination functions cooperatively with FACT to regulate elongation by RNA polymerase II. Cell, 2006, 125(4):

703-17

- [60] Fleming AB, Kao CF, Hillyer C, et al. H2B ubiquitylation plays a role in nucleosome dynamics during transcription elongation. Mol Cell, 2008, 31(1): 57-66
- [61] Fierz B, Chatterjee C, McGinty RK, et al. Histone H2B ubiquitylation disrupts local and higher-order chromatin compaction. Nat Chem Biol, 2011, 7(2): 113-9
- [62] Taylor EM, Bonsu NM, Price RJ, et al. Depletion of Uhrf1 inhibits chromosomal DNA replication in *Xenopus* egg extracts. Nucleic Acids Res, 2013, 41(16): 7725-37
- [63] Nishiyama A, Yamaguchi L, Sharif J, et al. Uhrfldependent H3K23 ubiquitylation couples maintenance DNA methylation and replication. Nature, 2013, 502(7470): 249-53
- [64] McKnight SL, Miller OL Jr. Electron microscopic analysis of chromatin replication in the cellular blastoderm Drosophila melanogaster embryo. Cell, 1977, 12(3): 795-804
- [65] Burgess RJ, Zhang Z. Histone chaperones in nucleosome assembly and human disease. Nat Struct Mol Biol, 2013, 20(1): 14-22
- [66] Sobel RE, Cook RG, Perry CA, et al. Conservation of deposition-related acetylation sites in newly synthesized histones H3 and H4. Proc Natl Acad Sci USA, 1995, 92(4): 1237-41
- [67] Grunstein M. Histone acetylation in chromatin structure and transcription. Nature, 1997, 389(6649): 349-52
- [68] Verreault A, Kaufman PD, Kobayashi R, et al. Nucleosomal DNA regulates the core-histone-binding subunit of the human Hat1 acetyltransferase. Curr Biol, 1998, 8(2): 96-108
- [69] Pinheiro I, Margueron R, Shukeir N, et al. Prdm3 and Prdm16 are H3K9me1 methyltransferases required for mammalian heterochromatin integrity. Cell, 2012, 150(5): 948-60
- [70] Loyola A, Bonaldi T, Roche D, et al. PTMs on H3 variants before chromatin assembly potentiate their final epigenetic state. Mol Cell, 2006, 24(2): 309-16
- [71] Loyola A, Tagami H, Bonaldi T, et al. The HP1α-CAF1-SetDB1-containing complex provides H3K9me1 for Suv39-mediated K9me3 in pericentric heterochromatin. EMBO Rep, 2009, 10(7): 769-75
- [72] Parthun MR, Widom J, Gottschling DE. The major cytoplasmic histone acetyltransferase in yeast: links to chromatin replication and histone metabolism. Cell, 1996, 87(1): 85-94
- [73] Campos EI, Fillingham J, Li G, et al. The program for processing newly synthesized histones H3.1 and H4. Nat Struct Mol Biol, 2010, 17(11): 1343-51
- [74] Ejlassi-Lassallette A, Mocquard E, Arnaud MC, et al. H4 replication-dependent diacetylation and Hat1 promote S-phase chromatin assembly *in vivo*. Mol Biol Cell, 2011, 22(2): 245-55
- [75] Tagami H, Ray-Gallet D, Almouzni G, et al. Histone H3.1 and H3.3 complexes mediate nucleosome assembly pathways dependent or independent of DNA synthesis. Cell, 2004, 116(1): 51-61

- [76] Zhang H, Han JH, Kang B, et al. Human histone acetyltransferase 1 protein preferentially acetylates H4 histone molecules in H3.1-H4 over H3.3-H4. J Biol Chem, 2012, 287(9): 6573-81
- [77] Li Q, Zhou H, Wurtele H, et al. Acetylation of histone H3 lysine 56 regulates replication-coupled nucleosome assembly. Cell, 2008, 134(2): 244-55
- [78] Chen CC, Carson JJ, Feser J, et al. Acetylated lysine 56 on histone H3 drives chromatin assembly after repair and signals for the completion of repair. Cell, 2008, 134(2): 231-43
- [79] Han J, Zhou H, Horazdovsky B, et al. Rtt109 acetylates histone H3 lysine 56 and functions in DNA replication. Science, 2007, 315(5812): 653-5
- [80] Han J, Zhou H, Li Z, et al. Acetylation of lysine 56 of histone H3 catalyzed by RTT109 and regulated by ASF1 is required for replisome integrity. J Biol Chem, 2007, 282(39): 28587-96
- [81] Han J, Zhou H, Li Z, et al. The Rtt109-Vps75 histone acetyltransferase complex acetylates non-nucleosomal histone H3. J Biol Chem, 2007, 282(19): 14158-64
- [82] Driscoll R, Hudson A, Jackson SP. Yeast Rtt109 promotes genome stability by acetylating histone H3 on lysine 56. Science, 2007, 315(5812): 649-52
- [83] English CM, Adkins MW, Carson JJ, et al. Structural basis for the histone chaperone activity of Asf1. Cell, 2006, 127(3): 495-508
- [84] Battu A, Ray A, Wani AA. ASF1A and ATM regulate H3K56-mediated cell-cycle checkpoint recovery in response to UV irradiation. Nucleic Acids Res, 2011, 39(18): 7931-45
- [85] Vempati RK, Jayani RS, Notani D, et al. p300-mediated acetylation of histone H3 lysine 56 functions in DNA damage response in mammals. J Biol Chem, 2010, 285(37): 28553-64
- [86] Wurtele H, Kaiser GS, Bacal J, et al. Histone H3 lysine 56 acetylation and the response to DNA replication fork damage. Mol Cell Biol, 2012, 32(1): 154-72
- [87] Tjeertes JV, Miller KM, Jackson SP. Screen for DNAdamage-responsive histone modifications identifies H3K9Ac and H3K56Ac in human cells. EMBO J, 2009, 28(13): 1878-89
- [88] Xie W, Song C, Young NL, et al. Histone h3 lysine 56 acetylation is linked to the core transcriptional network in human embryonic stem cells. Mol Cell, 2009, 33(4): 417-27
- [89] Das C, Lucia MS, Hansen KC, et al. CBP/p300-mediated acetylation of histone H3 on lysine 56. Nature, 2009, 459(7243): 113-7
- [90] Gonzalez-Munoz E, Arboleda-Estudillo Y, Otu HH, et al. Histone chaperone ASF1A is required for maintenance of pluripotency and cellular reprogramming. Science, 2014, 345(6198): 822-5
- [91] Wang B, Pfeiffer MJ, Schwarzer C, et al. DNA replication is an integral part of the mouse oocyte's reprogramming machinery. PLoS One, 2014, 9(5): e97199
- [92] Li B, Su T, Ferrari R, et al. A unique epigenetic signature

is associated with active DNA replication loci in human embryonic stem cells. Epigenetics, 2014, 9(2): 257-67

- [93] Han J, Zhang H, Zhang H, et al. A Cul4 E3 ubiquitin ligase regulates histone hand-off during nucleosome assembly. Cell, 2013, 155(4): 817-29
- [94] Fillingham J, Recht J, Silva AC, et al. Chaperone control of the activity and specificity of the histone H3 acetyltransferase Rtt109. Mol Cell Biol, 2008, 28(13): 4342-53
- [95] Burgess RJ, Zhou H, Han JH, et al. A role for Gcn5 in replication-coupled nucleosome assembly. Mol Cell, 2010, 37(4): 469-80
- [96] Yang XH, Yu WH, Shi L, et al. HAT4, a golgi apparatus-

anchored B-type histone acetyltransferase, acetylates free histone H4 and facilitates chromatin assembly. Mol Cell, 2011, 44(1): 39-50

- [97] Xu M, Long C, Chen X, et al. Partitioning of histone H3-H4 tetramers during DNA replication-dependent chromatin assembly. Science, 2010, 328(5974): 94-8
- [98] Su D, Hu Q, Li Q, et al. Structural basis for recognition of H3K56-acetylated histone H3-H4 by the chaperone Rtt106. Nature, 2012, 483(7387): 104-7
- [99] Fazly A, Li Q, Hu Q, et al. Histone chaperone Rtt106 promotes nucleosome formation using (H3-H4)2 tetramers. J Biol Chem, 2012, 287(14): 10753-60