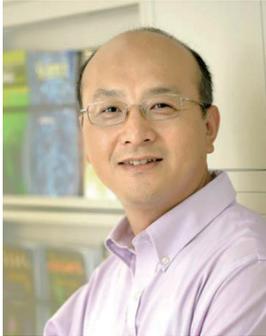


DOI: 10.13376/j.cblls/2017127

文章编号: 1004-0374(2017)10-0946-09



许瑞明, 博士, 1984年毕业于浙江大学物理系, 1989年获美国布兰迪斯大学物理学博士。现为中国科学院生物物理研究所研究员、副所长、生物大分子国家重点实验室主任。首批国家“千人计划”特聘专家, 2009年获“杰出青年基金”支持, 2012年入选美国科学促进会 Fellow。自1996年在美国冷泉港实验室独立开展研究工作以来, 许瑞明博士一直致力于真核生物基因表达与调控的结构生物学研究, 主要研究方向包括表观遗传调控的分子机理研究。表观遗传的核心科学问题是特定染色质结构的建立和动态调控的分子机制。许瑞明博士在染色质高级结构建立和维护的结构基础、组蛋白甲基转移酶的催化机理和活性调节以及表观遗传信息解读机制等研究方向作出了重要贡献。

组蛋白变体的功能与识别机制

杨娜, 许瑞明*

(中国科学院生物物理研究所生物大分子国家重点实验室, 北京 100101)

摘要: 组蛋白变体 (histone variant) 是常规组蛋白的变异体, 在染色质的特定位置或特定生物学事件中替换常规组蛋白, 调控染色质结构以及相关生物学过程。组蛋白伴侣 (histone chaperone) 是指可以结合组蛋白, 运送组蛋白参与染色质组装和去组装等重要功能的蛋白质。综述了几种主要组蛋白变体在真核生物染色质高级结构的形成及维持、细胞编程与重编程的表观遗传机制等生命进程中发挥的重要作用, 以及这些组蛋白变体与其特征伴侣之间特异识别的分子机制。

关键词: 组蛋白变体; 组蛋白伴侣; 特异识别; 核小体组装; 染色质高级结构

中图分类号: Q26; Q518.4 **文献标志码:** A

Histone variants and mechanisms of their recognition

YANG Na, XU Rui-Ming*

(National Laboratory of Biomacromolecules, Institute of Biophysics,
Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China)

Abstract: Histone variants are siblings of canonical histones that have distinct functions. They substitute core histones in nucleosome at special regions of chromatin and during specific biological processes, regulate chromatin structure and associated biological processes. Histone chaperones are a group of proteins that bind to canonical and/or variant histones, assist their traffic and deposition in the process of nucleosome assembly and disassembly. In this review, we discuss recent progresses on the studies of major histone variants for their functions in regulation of chromatin structure and epigenetic reprogramming in eukaryotes, as well as the molecular mechanism governing recognition of major histone variants by their cognate chaperones.

Key words: histone variant; histone chaperone; specific recognition; nucleosome assembly; higher-order chromatin structure

收稿日期: 2017-09-13

基金项目: 国家自然科学基金项目(90919029, 91219307, 91519328)

*通信作者: E-mail: rmxu@ibp.ac.cn; Tel: 010-64888797

1 组蛋白变体

染色质是真核生物遗传信息的载体,其基本结构和功能单元是核小体。核小体是由约 146 bp 的 DNA 缠绕在核心组蛋白八聚体上构成的盘状结构,其中的组蛋白八聚体包括一个 (H3-H4)₂ 四聚体和两个 H2A-H2B 二聚体^[1-2]。在长链 DNA 上多个核小体串联排列,形成串珠状分布的染色质的初级结构,即 11 nm 染色质纤维^[3]。11 nm 染色质纤维进一步在联接组蛋白 H1、染色质构造蛋白及以其他因子的作用下,折叠形成各种复杂的染色质高级结构,如 30 nm 染色质纤维^[4-5]。细胞内这些构成染色质的组蛋白通常都是常规组蛋白 (canonical histones),特殊情况下被替换为组蛋白变体^[6]。

组蛋白变体 (histone variants) 是常规组蛋白的变体,在染色质的特殊位置替换常规组蛋白,调控染色质的高级结构^[7],如 CENP-A (centromere protein-A) 是组蛋白 H3 在染色体着丝粒部位的特征变体;而 MacroH2A 则是组蛋白 H2A 在雌性失活的 X 染色体上特异存在的组蛋白变体。有关组蛋白变体的研究是真核生物表观遗传学的重要组成部分,在细胞分化发育及染色体分离等过程中发挥着重要的调控作用^[8]。

组蛋白变体和常规组蛋白的主要差别包括:(1) 常规组蛋白在细胞有丝分裂 S 期表达,而变体不受这个限制;(2) 常规组蛋白在伴随 DNA 复制过程中组装成为核小体,而包含变体组蛋白的核小体组装则是非复制依赖型的;(3) 常规组蛋白基因通常是簇状的,含有多个拷贝,基因不带内含子,而变体则类似普通基因,带内含子,只有单拷贝或少数几个拷贝^[9]。目前已知的组蛋白变体主要发生在组蛋白 H3 和 H2A 上。H3 变体主要包括 H3.3 和 CENP-A, H2A 变体包括 H2A.X、H2A.Z、MacroH2A 和 H2ABbd 等,而 H2B 变体只在睾丸中发现了组织特异性的变体 H2BFWT 和 hTSH2B。迄今为止,还没有发现组蛋白 H4 的变体^[10]。

关于真核生物为何存在组蛋白变体是个值得思考的问题。变异体的存在是否将“简单事情复杂化”?毕竟组蛋白最大的作用就是提供 DNA 缠绕的“支架”,然而,真的只是起到骨架支撑的作用吗?显然不是。多种组蛋白修饰的发现及其功能的鉴定无疑提示了组蛋白远比我们想象的要“复杂”得多。组蛋白变体的掺入似乎比组蛋白修饰要直接明了,那么组蛋白变体是否能将“复杂的事情简单化”呢?

在染色质不同的功能区域掺入不同的组蛋白变体,并赋予相应变体特殊的功能的确可以简化生命的调控过程。

2 组蛋白伴侣

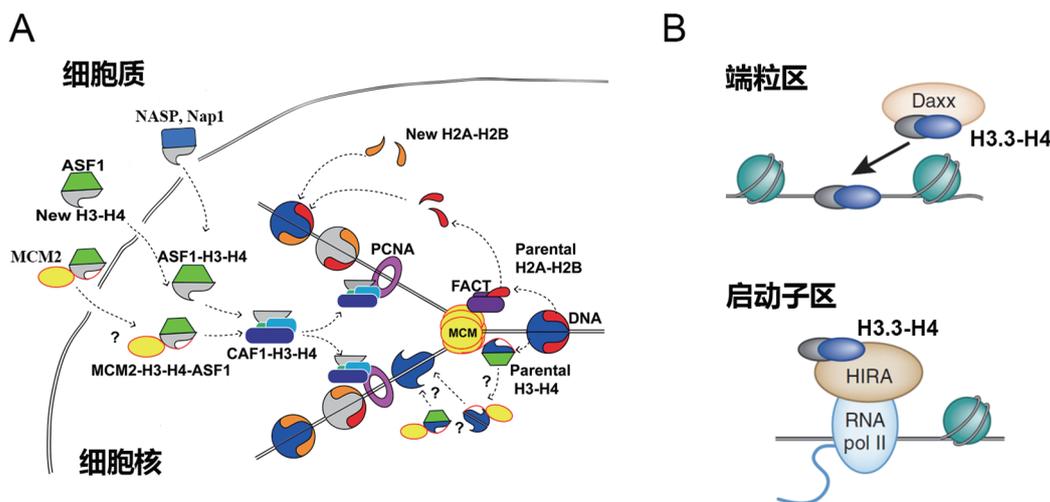
基因组 DNA 被紧紧包装在染色质中,细胞核内的许多生命活动,如基因表达、DNA 复制和修复等,需要染色质解聚以利于各类细胞因子与 DNA 结合,完成相应的功能后再进行染色质的重新组装以恢复染色质的结构。因此,染色质的正确组装对于生命体具有重要的意义。已知染色质的组装和解聚过程都需要组蛋白伴侣 (histone chaperone) 的介导。组蛋白伴侣是指可以结合组蛋白的一类蛋白质,它们可以中和组蛋白的正电性,防止组蛋白在组装到核小体前的非特异性蛋白质-蛋白质和蛋白质-DNA 相互作用,并参与运送组蛋白以及染色质组装和去组装等重要功能^[11-14]。目前已发现十几种组蛋白分子伴侣 (表 1),如 CAF-1、ASF1、NAP1、NASP、Rtt106、Vps75、FACT、HIRA 以及 DAXX 等,它们在核小体组装中发挥着不同的生物学功能^[12]。已知 NASP、NAP1 和 ASF1 可帮助新合成的组蛋白从细胞质中进入细胞核;而 CAF-1、ASF1 和 Rtt106 在 DNA 复制和修复过程中的核小体组装中 (replication-coupled nucleosome assembly) 发挥重要的作用:当 H3-H4 转运到核内后,ASF1 将 H3-H4 传递给 CAF-1,以形成 (H3-H4)₂ 四聚体并递放到新合成的 DNA 上,这些组蛋白的递放部分依赖于 CAF-1 与 DNA 复制夹 PCNA (proliferating cell nuclear antigen) 之间的相互作用。DNA 复制过程中,核小体解聚后的亲代组蛋白也是核小体重新组装的重要来源,已知 DNA 复制解旋酶 MCM 复合体中的 MCM2 在复制叉处组蛋白的传递过程中发挥了重要作用,但这些亲代组蛋白是如何被转运和传递的分子机制尚不明确 (图 1A)。

另外一些分子伴侣可识别特定的组蛋白变体,参与非复制依赖型的核小体组装过程 (replication-independent nucleosome assembly),如 HIRA 和 Daxx 更倾向于结合组蛋白 H3.3-H4 变体,而 HJURP 可特异性地识别组蛋白 H3 在染色体着丝粒处的变体 CENP-A (图 1B)^[12]。

各种组蛋白和组蛋白变体在合成后被转运和组装到染色质的特定区域,形成结构特异的染色质功能区。在这个过程中,各种功能不同的组蛋白分子伴侣,通过识别不同的组蛋白或组蛋白变体,相互

表1 参与核小体组装的组蛋白伴侣及其功能

组蛋白伴侣	运输的组蛋白	在核小体组装过程中的功能
ASF1 (anti-silencing factor 1)	H3-H4	组蛋白入核、传递组蛋白给CAF-1和HIRA、调控H3K56的乙酰化
CAF-1 (chromatin assembly factor 1)	H3.1-H4	H3.1-H4的递放、(H3-H4) ₂ 四聚体的形成
DAXX (death domain-associated protein)	H3.3-H4	递放H3.3-H4到端粒相关的异染色质区域
DEK	H3.3-H4	调控H3.3-H4的置入以及异染色质的维持
HIRA (histone cell cycle regulation defective homolog A)	H3.3-H4	递放H3.3-H4到基因转录区域
NASP (nuclear autoantigenic sperm protein)	H3-H4	组蛋白的供给和更新
Rtt106 (regulator of Ty transposition)	H3-H4	(H3-H4) ₂ 四聚体的形成和递放
MCM2 (minichromosome maintenance protein complex component 2)	H3-H4	复制叉处组蛋白的传递
HJURP (holliday junction recognition protein)	CENP-A-H4	调控H3的变体CENP-A的置入
FACT (facilitates chromatin transcription)	H3-H4 H2A-H2B H2A.X-H2B	H3-H4、H2A-H2B、H2A.X-H2B的递放和交换
NAP1 (nucleosome assembly 1)	H3-H4 H2A-H2B	H2A-H2B的入核和递放
Chz1	H2A.Z-H2B	H2A.Z-H2B的递放
Anp32e (acidic nuclear phosphoprotein 32 family member E)	H2A.Z-H2B	H2A.Z-H2B的递放
YL1 (subunit of SRCAP complex)	H2A.Z-H2B	H2A.Z-H2B的递放
APLF (aprataxin-PNK-like factor)	Core histones	调控DNA损伤修复过程中变体macroH2A.1的置入 Macro H2A.1-H2B



(A) DNA复制伴随的核小体组装过程；(B)非DNA复制依赖的核小体组装过程。

图1 组蛋白伴侣在组蛋白运送和染色质组装中发挥的重要作用

协调作用，把它们在正确的时间准确地组装到特定基因组区域，形成合适的染色质结构。研究这些组蛋白伴侣与组蛋白之间的相互作用方式以及特异识别的分子机制，分析这些相互作用对它们功能发挥带来的影响，对我们理解真核生物染色质高级结构的形成及维持、组蛋白的表观遗传修饰与疾病等重要科学问题具有重要意义^[9]。

3 主要组蛋白变体的功能及识别机制

3.1 着丝粒特征组蛋白H3变体CENP-A

CENP-A，在酵母中又称为 CenH3 (centromeric H3)，是染色体着丝粒特征组蛋白变体，从酵母到人均保守存在^[15]。染色体着丝粒区域是染色体上的特化区域，为细胞有丝分裂时纺锤丝附着的部位，也是减数分裂中姐妹染色单体相互连结的部位。着

丝粒的结构十分复杂,从外到内大致分为外层动粒(kinetochore)、内层动粒和 CENP-A 核小体区域。外层动粒是微管组织附着的部位,也就是俗称的着丝点。核小体区域则为包含 CENP-A 核小体和常规核小体的混合体,它们的空间排布尚未完全清楚,但非常有意义的是,有模型提示着丝粒部位的染色质折叠压缩后,所有包含 CENP-A 的核小体均朝向动粒一侧。

芽殖酵母中 125 bp 的 α 卫星 DNA 是着丝粒形成的充要条件^[16],但在植物和动物中则不由 DNA 序列决定,而是由 CENP-A 的定位决定,即 CENP-A 结合的地方就是着丝粒形成的区域。如人为在染色体着丝粒以外的部位定位 CENP-A,则该部位会形成一个新的着丝粒(neocentromere),这个新着丝粒不含 α 卫星 DNA,但可以招募 CENP-C、NDC80 等其他着丝粒蛋白,并在周边形成异染色质^[17]。那么很自然我们会提出以下几个问题:(1) CENP-A 相对于 H3,其特异性是如何体现的;(2) 包含 CENP-A 的核小体与常规核小体有何不同;(3) 是谁识别了 CENP-A,并将其招募到着丝粒部位。

3.1.1 CENP-A的特征序列

美国加州大学圣地亚哥分校 Cleveland 研究组通过氘氘交换实验并结合质谱分析,检测了 CENP-A 相对于 H3 最为保守的区域(最不容易与溶液中的氘发生交换的部位)存在于螺旋 $\alpha 2$ 以及 $\alpha 1$ 和 $\alpha 2$ 之间的 loop L1,并将此段区域命名为 CATD (CENP-A centromere targeting domain)^[18]。进一步的实验证据表明,CATD 是 CENP-A 着丝粒特异性的关键,人为地将常规组蛋白 H3 的相应部位替换为 CENP-A 的 CATD 区域,H3^{CATD} 也可以定位在着丝粒部位。

3.1.2 CENP-A核小体的特点

关于包含 CENP-A 核小体的结构研究一直是科学家们争论的热点。一种观点认为 CENP-A 核小体和常规核小体一样包含组蛋白八聚体,CENP-A 替换了其中一个或两个 H3;也有人认为 CENP-A 核小体仅包含四聚体,每种组蛋白只含有 1 个分子,即 CENP-A-H4-H2A-H2B,以及其他 CENP-A 核小体模型。2010 年报道的 (CENP-A-H4)₂ 四聚体的晶体结构显示,其 CATD 区域的 $\alpha 2$ 螺旋相对 H3 的 $\alpha 2$ 螺旋有一个约 9~14° 的抬角,提示 CENP-A 核小体结构上可能更为紧凑^[19]。2011 年,日本早稻田大学 Kurumizaka 研究组解析了 CENP-A 核小体的晶体结构^[20],该结构与常规核小体结构十分类似,包含约 121 bp 的 DNA 以左手螺旋的方式缠绕在组

蛋白八聚体上,CENP-A 替换了两个 H3。不同之处是缠绕的 DNA 相对较短,121 bp 大约缠绕了 1.5 圈,开口处的 DNA 更为开放灵活。CENP-A 核小体的直径较常规核小体并无差别。仔细比较发现,在核小体结构中 CENP-A 比 H3 的 N 端第一个螺旋 α_N 要短,因此,结合的开口处 DNA 也相对较短,这部分解释了为何 CENP-A 核小体缠绕的 DNA 较短的原因。另一个不同之处是 CATD 的 L1 loop 区域,CENP-A 中包含两个额外的 RG 残基,形成一个 RG loop 暴露在核小体的最外侧,推测是其他 CENP 因子作用的位点。

包含 CENP-A 的核小体又会折叠成怎样的高级结构呢? CENP-A 核小体串珠在镁离子的作用下会形成一种双排梯状结构(ladder-like),这与常规核小体的 30 nm 结构有较大不同。如果将 CENP-A 的 RG 残基突变为 AA 残基对,突变体核小体串会形成类似 30 nm 的结构;而如果在 H3 的相应位置插入两个 RG 残基,则核小体串部分会折叠为类似 CENP-A 中的双排结构。由此可见,CENP-A 的这个 RG loop 对着丝粒区染色质的高级结构起到重要的调控作用^[21]。

3.1.3 CENP-A的识别

2007 年,华裔科学家 Carl Wu 研究组发现酵母中 Scm3 可以与 CenH3 (酵母中的 CENP-A) 共定位,并且可与 CenH3-H4 共组装^[22]。随后,法国科学家 Genevieve Almouzni 和美国科学家 Don Cleveland 共同报道了人源 HJURP 蛋白对于 CENP-A 在着丝粒的定位至关重要,通过 siRNA 干扰影响 HJURP 的表达,CENP-A 不能定位在着丝粒区域^[23-24]。序列比对发现,Scm3 和 HJURP 为进化上保守的蛋白,它们 N 端包含约 80 个氨基酸残基的区域,具有序列同源性,并且从酵母、线虫、青蛙到人均保守。

HJURP 与 CENP-A-H4 复合体的晶体结构揭示了 HJURP 阻止 CENP-A-H4 异二聚体形成四聚体,以及防止 CENP-A-H4 与 DNA 非特异性结合的结构基础,发现了决定 HJURP 特异性识别 CENP-A 的关键残基 Ser68,这是 CATD 以外决定 CENP-A 着丝粒特异性的关键位置(图 2A)^[25-26]。进一步的生物化学与细胞生物学实验表明,CENP-A 的 Ser68 可以通过可逆磷酸化修饰来调控 HJURP 的识别与结合能力,并且这种调控是细胞周期依赖型的。在 G₂/M 期,CENP-A 蛋白表达后会被 Cdk1/CyclinB 激酶复合物催化发生 Ser68 的磷酸化,因此,M 期

CENP-A 分子虽然存在, 但由于 Ser68 磷酸化的 CENP-A 不能被 HJURP 识别, 使得 CENP-A 不会在 M 期发生过早的装配。此时, 磷酸化的 CENP-A 会被 RbAp46/48 识别, 引发其泛素化降解途径; 在 M 期末期, 由于 Cdk1/CyclinB 活性降低, Ser68 的磷酸化修饰则被 PP1 α 催化发生去磷酸化, 使 HJURP 可以在这个阶段识别 CENP-A 并将 CENP-A 装配入着丝粒区域, 从而完成了着丝粒区域染色质在子代细胞中的精确维持 (图 2B)^[27]。

3.2 组蛋白H3变体H3.3

高等真核生物的染色质转录活性区域存在一类特殊的组蛋白变体 H3.3^[28]。H3.3 与常规 H3.1 只有 5 个氨基酸残基的差别: H3.3 的 N 端第 31 位残基是丝氨酸, 预示可能是磷酸化修饰的位点; 87~90 位置处有三个氨基酸差别, 是存在于组蛋白折叠区域两者最主要的差别; 另外还有 96 位半胱氨酸和丝氨酸之间的差别。但两者在功能上却有很大不同, 识别它们的伴侣也各不相同^[29]。已发现 3 种组蛋白分子伴侣 HIRA、DAXX 和 DEK 参与了 H3.3 核小体的组装^[30]。在人类细胞中, ASF1 将 H3.3-H4 异二聚体传递给 HIRA, 由 HIRA 递呈至具转录活性的启动子区域。这一过程可能是通过 HIRA 与 RNA 聚合酶 II 的相互作用来完成的; DAXX 蛋白可在染色质重塑复合体 ATRX 的作用下, 促进 H3.3-H4 在端粒区和近着丝粒区 (pericentric genomic loci) 染色体的组装, 但其具体的作用过程和机制仍不明确; 有报道称 DEK 则可在基因调节元件区域调节 H3.3-H4 变体的置入并参与异染色质的维持, 但是缺乏后续实验工作的进一步验证。已解析的 DAXX-H3.3-H4 复合体的晶体结构揭示了 DAXX 阻止 H3.3-H4 形成四聚体并防止组蛋白与 DNA 非特异

性结合的结构基础 (图 3A), 进一步研究发现了决定 DAXX 特异性识别 H3.3 的两个关键氨基酸位点, 即存在于 87~90 位置的 Ala87 和 Gly90。复合物的结构信息提示了一个双位点识别机制, DAXX 只要搜寻到其中一个位点, 即可特异识别组蛋白 (图 3B)^[31]。

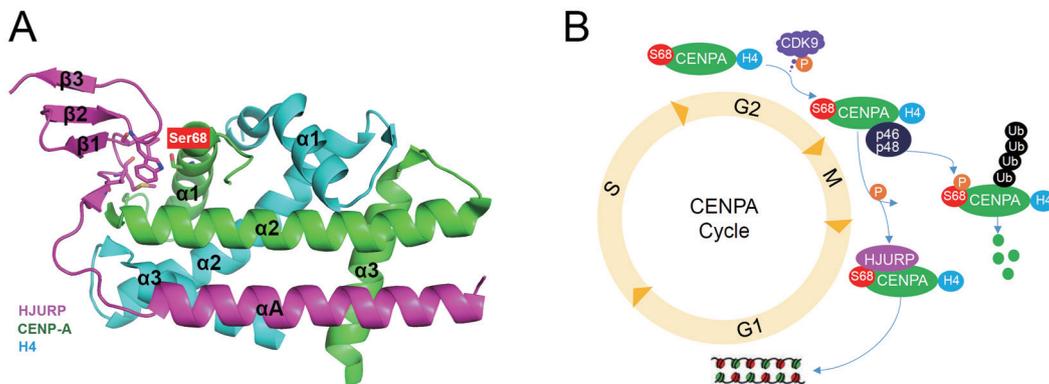
HIRA 复合体的结构研究还有待揭示。已知 HIRA 在组蛋白 H3.3-H4 的转运和递放过程中会与组蛋白伴侣 ASF1、其他蛋白质因子 UBN1 和 Cabin 等发生相互作用。美国 Wistar 研究所 Marmorstein 课题组解析了 UBN1 的 HRD 结构域 (Hpc2-related domain) 和 H3.3-H4-ASF1 复合体的结构, 提示 Gly90 是 H3.3 被 UBN1 特异识别的关键残基^[32]。美国梅奥医学中心的张志国研究组发现, 组蛋白 H4 第 47 位丝氨酸的磷酸化修饰可促进 HIRA 与 H3.3-H4 复合体的结合^[33]。进一步研究 HIRA 与 UBN1、Cabin、ASF1 和 H3.3-H4 的相互作用和复合体组装将为理解 H3.3 在不同组蛋白伴侣间的传递、其他蛋白因子对组蛋白伴侣与变体间识别的影响等提供重要的结构基础, 并为进一步围绕组蛋白变体对染色质高级结构的影响以及调控基因表达的研究提供线索。

3.3 组蛋白H2A的变体

组蛋白 H2A 的变体, 主要包括 H2A.Z、H2A.X、MacroH2A 和 H2A.Bbd。其中 H2A.Z 是启动子的标志, 也是染色质边界界定的信号; H2A.X 的磷酸化修饰是 DNA 双链断裂的信号; MacroH2A 是雌性失活 X 染色体特有的变体; 而 H2A.Bbd 是不失活的 X 染色体特有的变体。

3.3.1 H2A.Z

H2A.Z 在所有真核生物中均保守存在, 是染色体边界的界定标记。酵母中, H2A.Z 核小体富集在



(A)组蛋白伴侣HJURP识别CENP-A-H4的结构基础; (B) CENP-A在细胞周期的不同时期选择性地组装到着丝粒区域的分子机制。

图2 着丝粒特征组蛋白H3变体CENP-A

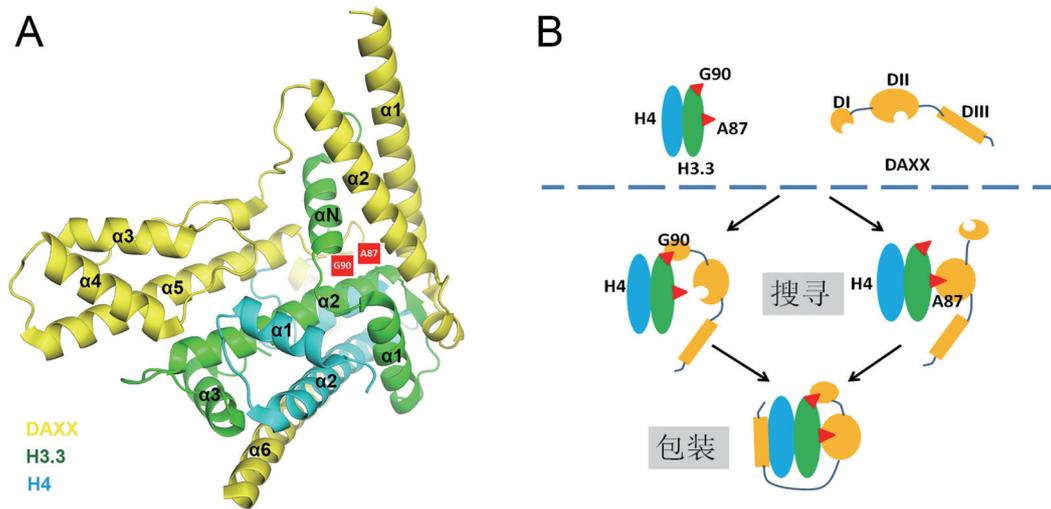


图3 DAXX识别组蛋白变体H3.3-H4的结构基础和可能的分子机制

启动子区域,并固定出现在-1位和+1位核小体的位置,-1位核小体随着基因表达的激活被剔除(evict),DNA随即暴露,+1位核小体的H2A.Z在NuA4或SAGA的催化下发生乙酰化修饰,进一步开放基因表达^[34]。H2A.Z核小体也富集在酵母端粒和交配型区域(*HM loci*),通常用于界定异染色质和常染色质的边界,阻止异染色质的进一步蔓延。在哺乳动物中,H2A.Z核小体可以压缩染色质,与H3.3发生拮抗作用^[35]。H2A.Z核小体是通过ATP依赖的染色质重塑复合物Swr1催化H2A.Z替换常规核小体中的H2A而形成的,这一过程是可逆的^[36-39]。有证据表明,另一个染色质重塑复合物INO80催化了H2A替换H2A.Z^[40]。目前已有Swr1和INO80复合物较低分辨率的电镜结构,进一步高分辨率的结构还有待揭示^[40-41]。美国国立卫生研究院的Carl Wu研究组报道了Chz1是H2A.Z的特征伴侣^[42-43];2014年两个课题组独立报道了Anp32e也是H2A.Z的特征伴侣^[44-45]。2016年又有染色质重塑复合物Swr1的YL1亚基可以特异识别H2A.Z的报道^[46-47]。这一系列的结构与功能研究揭示了这些伴侣区分H2A.Z和H2A的分子机制。

3.3.2 H2A.X

与H2A.Z不同,H2A.X相对均匀地分布在染色体上,其经典功能是当DNA发生双链断裂时,H2A.X会立即发生磷酸化修饰,警示细胞进入双链断裂损伤修复进程^[48-49]。然而,一个新的发现赋予了H2A.X新的功能,即H2A.X敲除的老鼠会出现雄性不育。Fernandez-Capetillo等^[50]研究表明,H2A.X的磷酸化修饰会出现在性体(*sex body*)区域,即雄

性不配对的X-Y染色体位置。缺少H2A.X的情况下,X和Y染色体将不能配对形成性体,参与性体形成的蛋白质也不能正确定位。

3.3.3 MacroH2A

MacroH2A是脊椎动物特有的组蛋白H2A变体,其特征是包含额外的C末端macro结构域。大的macro结构域阻碍了转录的进行,也妨碍了SWI/SNF等染色质重塑复合体的作用,因此,包含MacroH2A的染色质呈现浓缩的异染色质状态。MacroH2A富集在雌性失活X染色体上,但与H3K9me3并不发生共定位,推测其是兼性异染色质(facultative heterochromatin,可在异染色质和常染色质状态之间转换)的标记,而H3K9me3则是组成型异染色质的标记(constitutive heterochromatin,永久的异染色质状态)^[51]。

3.3.4 H2A.Bbd

H2A.Bbd是亲缘最远的H2A变体,它N端富含较多的精氨酸残基,但缺少C末端区域,包括重要的K119位点。Bbd是指Barr body deficient,即不存在于失活的X染色体中的变体^[52]。关于该变体的功能还缺少系统的研究报道。

4 结语

从进化的角度来看,四种常规组蛋白H3、H4、H2A和H2B都可以溯源到古菌。古菌中只有两种组蛋白类似蛋白,称为“doublet histones”A和B。A和B通过B与B之间的相互作用形成四聚体(Tetramer),DNA即缠绕在四聚体上。(A-B)₂四聚体进化为真核生物中的(H3-H4)₂四聚体,四聚体又

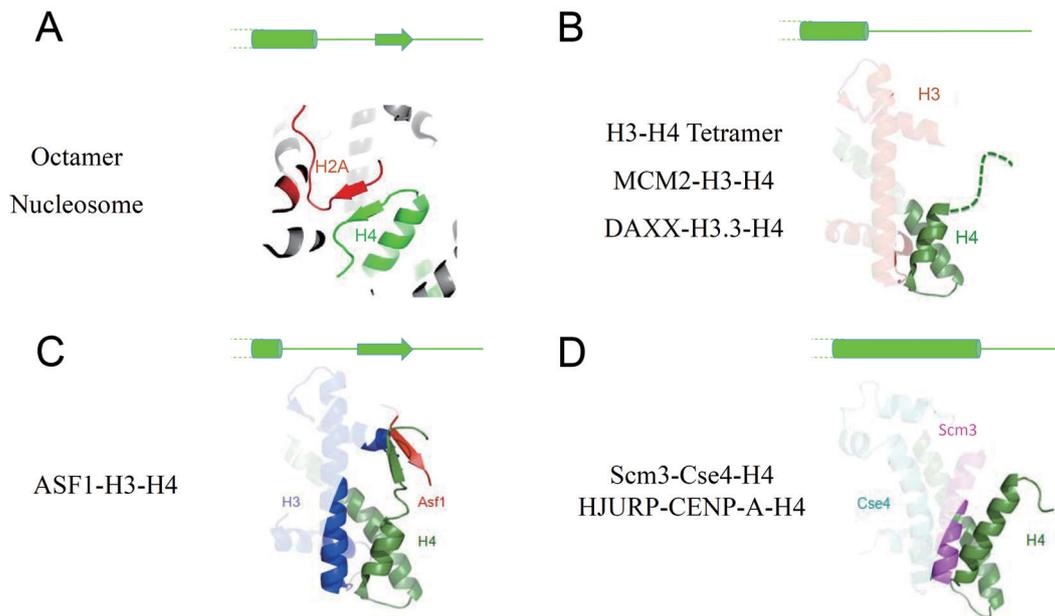
逐渐进化为现在真核生物中普遍存在的八聚体 (Octamer)^[53]。其中 H3 和 H2A 是从古菌组蛋白 B 进化而来的, 可形成同源二聚体, 多发生变异; H4 和 H2B 是从组蛋白 A 进化而来的, 分别可与 H3 和 H2A 形成异二聚体, 变异较少。目前发现的组蛋白 H2B 变体只有 H2BFWT (H2B histone family member W) 和 hTSH2B (human testis/sperm-specific histone H2B), 均是睾丸组织特异性的变体, 功能研究得很少。

迄今为止尚未发现组蛋白 H4 的变体。但 H4 具有一个“可塑”的 C 末端尾巴 (ALKRQGR TLYGFGG), 结构多变 (图 4)。在核小体和组蛋白八聚体中, 该区域形成短 α 螺旋和一个短 β 段, 该 β 段与 H2A 的一个短 β 段形成平行相互作用 (图 4A)^[54-55]; 在组蛋白 H3-H4 四聚体中则只含有短 α 螺旋, β 折叠区域转换为无规则 loop。有意思的是, 在组蛋白伴侣 MCM2 和 DAXX 结合组蛋白异二聚体的结构中, 该 β 折叠区域也没有形成规则的二级结构 (图 4B)^[56-58]; 而在组蛋白伴侣 ASF1 存在下, 该 β 段发生了近 90 度的摆动, 与 ASF1 的一个短 β 段发生反平行相互作用 (图 4C)^[59]; 更有趣的是, HJURP 识别 CENP-A 的结构中, H4 的这个 C 末端尾巴形成了一个长的 α 螺旋结构 (图 4D)^[25]。可见, H4 有

其独特的“变异”机制, 通过自身结构的变化增强其可塑性及多样性。

[参 考 文 献]

- [1] Kornberg RD. Chromatin structure: a repeating unit of histones and DNA. *Science*, 1974, 184: 868-71
- [2] Richmond TJ. Hot papers - Crystal structure - Crystal structure of the nucleosome core particle at 2.8 angstrom resolution by K. Luger, A.W. Mader, R.K. Richmond, D.F. Sargent, T.J. Richmond - *Comments. Scientist*, 1999, 13: 15
- [3] Olins AL, Olins DE. Spheroid chromatin units (nu bodies). *Science*, 1974, 183: 330-2
- [4] Robinson PJJ, Fairall L, Huynh VAT, et al. EM measurements define the dimensions of the “30-nm” chromatin fiber: evidence for a compact, interdigitated structure. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103: 6506-11
- [5] Song F, Chen P, Sun D, et al. Cryo-EM study of the chromatin fiber reveals a double helix twisted by tetranucleosomal units. *Science*, 2014, 344: 376-80
- [6] Campos EI, Reinberg D. Histones: annotating chromatin. *Annu Rev Genet*, 2009, 43: 559-99
- [7] Talbert PB, Ahmad K, Almouzni G, et al. A unified phylogeny-based nomenclature for histone variants. *Epigenetics Chromatin*, 2012, 5: 7
- [8] Goldberg AD, Allis CD, Bernstein E. Epigenetics: a landscape takes shape. *Cell*, 2007, 128: 635-8
- [9] Henikoff S, Smith MM. Histone variants and epigenetics. *Cold Spring Harbor Perspect Biol*, 2015, 7: a019364



(A)在核小体和组蛋白八聚体中该区域形成短 α 螺旋和一个短 β 段; (B)在组蛋白H3-H4四聚体中和MCM2和DAXX结合组蛋白异二聚体的结构中则只含有短 α 螺旋, β 折叠区域转换为无规则loop; (C)在组蛋白伴侣ASF1存在下该 β 段发生了近90度的摆动, 与ASF1的一个短 β 段发生反平行相互作用; (D)在HJURP识别CENP-A的结构中, H4的这个C末端尾巴形成了一个长的 α 螺旋结构。

图4 组蛋白H4结构多变的C末端区域

- [10] Draizen EJ, Shaytan AK, Marino-Ramirez L, et al. HistoneDB 2.0: a histone database with variants-an integrated resource to explore histones and their variants. Database (Oxford), 2016
- [11] Avvakumov N, Nourani A, Cote J. Histone chaperones: modulators of chromatin marks. *Mol Cell*, 2011, 41: 502-14
- [12] Burgess RJ, Zhang Z. Histone chaperones in nucleosome assembly and human disease. *Nat Struct Mol Biol*, 2013, 20: 14-22
- [13] Das C, Tyler JK, Churchill ME. The histone shuffle: histone chaperones in an energetic dance. *Trends Biochem Sci*, 2010, 35: 476-89
- [14] De Koning L, Corpet A, Haber JE, et al. Histone chaperones: an escort network regulating histone traffic. *Nat Struct Mol Biol*, 2007, 14: 997-1007
- [15] Malik HS, Henikoff S. Phylogenomics of the nucleosome. *Nat Struct Biol*, 2003, 10: 882-91
- [16] Amor DJ, Kalitsis P, Sumer H, et al. Building the centromere: from foundation proteins to 3D organization. *Trends Cell Biol*, 2004, 14: 359-68
- [17] Amor DJ, Bentley K, Ryan J, et al. Human centromere repositioning "in progress". *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101: 6542-7
- [18] Black BE, Foltz DR, Chakravarthy S, et al. Structural determinants for generating centromeric chromatin. *Nature*, 2004, 430: 578-82
- [19] Sekulic N, Bassett EA, Rogers DJ, et al. The structure of (CENP-A-H4)₂ reveals physical features that mark centromeres. *Nature*, 2010, 467: 347-51
- [20] Tachiwana H, Kurumizaka H. Structure of the CENP-A nucleosome and its implications for centromeric chromatin architecture. *Genes Genet Syst*, 2011, 86: 357-64
- [21] Fang J, Liu Y, Wei Y, et al. Structural transitions of centromeric chromatin regulate the cell cycle-dependent recruitment of CENP-N. *Genes Dev*, 2015, 29: 1058-73
- [22] Mizuguchi G, Xiao H, Wisniewski J, et al. Nonhistone Scm3 and histones CenH3-H4 assemble the core of centromere-specific nucleosomes. *Cell*, 2007, 129: 1153-64
- [23] Dunleavy EM, Roche D, Tagami H, et al. HJURP is a cell-cycle-dependent maintenance and deposition factor of CENP-A at centromeres. *Cell*, 2009, 137: 485-97
- [24] Foltz DR, Jansen LE, Bailey AO, et al. Centromere-specific assembly of CENP-a nucleosomes is mediated by HJURP. *Cell*, 2009, 137: 472-84
- [25] Hu H, Liu Y, Wang M, et al. Structure of a CENP-A-histone H4 heterodimer in complex with chaperone HJURP. *Genes Dev*, 2011, 25: 901-6
- [26] Zhou Z, Feng H, Zhou BR, et al. Structural basis for recognition of centromere histone variant CenH3 by the chaperone Scm3. *Nature*, 2011, 472: 234-7
- [27] Yu Z, Zhou X, Wang W, et al. Dynamic phosphorylation of CENP-A at Ser68 orchestrates its cell-cycle-dependent deposition at centromeres. *Dev Cell*, 2015, 32: 68-81
- [28] Schwartz BE, Ahmad K. Transcriptional activation triggers deposition and removal of the histone variant H3.3. *Genes Dev*, 2005, 19: 804-14
- [29] 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: 51-61
- [30] Campos EI, Reinberg D. New chaps in the histone chaperone arena. *Genes Dev*, 2010, 24: 1334-8
- [31] Liu CP, Xiong C, Wang M, et al. Structure of the variant histone H3.3-H4 heterodimer in complex with its chaperone DAXX. *Nat Struct Mol Biol*, 2012, 19: 1287-92
- [32] Ricketts MD, Frederick B, Hoff H, et al. Ubinuclein-1 confers histone H3.3-specific-binding by the HIRA histone chaperone complex. *Nat Commun*, 2015, 6: 7711
- [33] Kang B, Pu M, Hu G, et al. Phosphorylation of H4 Ser 47 promotes HIRA-mediated nucleosome assembly. *Genes Dev*, 2011, 25: 1359-64
- [34] Zlatanova J, Thakar A. H2A.Z: view from the top. *Structure*, 2008, 16: 166-79
- [35] Chen P, Zhao J, Wang Y, et al. H3.3 actively marks enhancers and primes gene transcription via opening higher-ordered chromatin. *Genes Dev*, 2013, 27: 2109-24
- [36] Krogan NJ, Baetz K, Keogh MC, et al. Regulation of chromosome stability by the histone H2A variant Htz1, the Swr1 chromatin remodeling complex, and the histone acetyltransferase NuA4. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101: 13513-8
- [37] Mizuguchi G, Shen XT, Landry J, et al. ATP-driven exchange of histone H2AZ variant catalyzed by SWR1 chromatin remodeling complex. *Science*, 2004, 303: 343-8
- [38] Krogan NJ, Keogh MC, Datta N, et al. A Snf2 family ATPase complex required for recruitment of the histone H2A variant Htz1. *Mol Cell*, 2003, 12: 1565-76
- [39] Kobor MS, Venkatasubrahmanyam S, Meneghini MD, et al. A protein complex containing the conserved Swi2/Snf2-related ATPase Swr1p deposits histone variant H2A.Z into euchromatin. *PLoS Biol*, 2004, 2: E131
- [40] Tosi A, Haas C, Herzog F, et al. Structure and subunit topology of the INO80 chromatin remodeler and its nucleosome complex. *Cell*, 2013, 154: 1207-19
- [41] Nguyen VQ, Ranjan A, Stengel F, et al. Molecular architecture of the ATP-dependent chromatin-remodeling complex SWR1. *Cell*, 2013, 154: 1220-31
- [42] Zhou Z, Feng HQ, Hansen DF, et al. NMR structure of chaperone Chz1 complexed with histones H2A.Z-H2B. *Nat Struct Mol Biol*, 2008, 15: 868-9
- [43] Luk E, Vu ND, Patteson K, et al. Chz1, a nuclear chaperone for histone H2AZ. *Mol Cell*, 2007, 25: 357-68
- [44] Mao Z, Pan L, Wang WX, et al. Anp32e, a higher eukaryotic histone chaperone directs preferential recognition for H2A.Z. *Cell Res*, 2014, 24: 389-99
- [45] Obri A, Ouararhni K, Papin C, et al. ANP32E is a histone chaperone that removes H2A.Z from chromatin. *Nature*, 2014, 505: 648-53
- [46] Liang XP, Shan S, Pan L, et al. Structural basis of H2A.Z recognition by SRCAP chromatin-remodeling subunit YL1. *Nat Struct Mol Biol*, 2016, 23: 317-23

- [47] Latrick CM, Marek M, Ouararhni K, et al. Molecular basis and specificity of H2A.Z-H2B recognition and deposition by the histone chaperone YL1. *Nat Struct Mol Biol*, 2016, 23: 309-16
- [48] Morrison AJ, Shen XT. DNA repair in the context of chromatin. *Cell Cycle*, 2005, 4: 568-71
- [49] Lowndes NF, Toh GW. DNA repair: the importance of phosphorylating histone H2AX. *Curr Biol*, 2005, 15: R99-102
- [50] Fernandez-Capetillo O, Mahadevaiah SK, Celeste A, et al. H2AX is required for chromatin remodeling and inactivation of sex chromosomes in male mouse meiosis. *Dev Cell*, 2003, 4: 497-508
- [51] Chadwick BP, Willard HF. Multiple spatially distinct types of facultative heterochromatin on the human inactive X chromosome. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101: 17450-5
- [52] Chadwick BP, Willard HF. A novel chromatin protein, distantly related to histone H2A, is largely excluded from the inactive X chromosome. *J Cell Biol*, 2001, 152: 375-84
- [53] Talbert PB, Henikoff S. Histone variants - ancient wrap artists of the epigenome. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2010, 11: 264-75
- [54] Luger K, Mader AW, Richmond RK, et al. Crystal structure of the nucleosome core particle at 2.8 angstrom resolution. *Nature*, 1997, 389: 251-60
- [55] Arents G, Burlingame RW, Wang BC, et al. The nucleosomal core histone octamer at 3.1 A resolution: a tripartite protein assembly and a left-handed superhelix. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1991, 88: 10148-52
- [56] Wang H, Wang MZ, Yang N, et al. Structure of the quaternary complex of histone H3-H4 heterodimer with chaperone ASF1 and the replicative helicase subunit MCM2. *Protein Cell*, 2015, 6: 693-7
- [57] Huang HD, Stromme CB, Saredi G, et al. A unique binding mode enables MCM2 to chaperone histones H3-H4 at replication forks. *Nat Struct Mol Biol*, 2015, 22: 618-26
- [58] Elsasser SJ, Huang HD, Lewis PW, et al. DAXX envelops a histone H3.3-H4 dimer for H3.3-specific recognition. *Nature*, 2012, 491: 560-5
- [59] English CM, Adkins MW, Carson JJ, et al. Structural basis for the histone chaperone activity of Asf1. *Cell*, 2006, 127: 495-508