

DOI: 10.13376/j.cblls/2021075

文章编号: 1004-0374(2021)06-0709-09

组蛋白修饰在卵母细胞发育中功能和调控机制的研究进展

刘琳琳^{1,2}, 杜鸿斌^{1,2}, 孙梦莹^{1,2}, 丁悦¹, 鞠吉雨¹, 赵春玲^{1,3*}, 田春艳^{2*}

(1 潍坊医学院山东省高校免疫学重点实验室, 潍坊 261053; 2 军事科学院军事医学研究院生命组学研究所, 北京 102206; 3 潍坊医学院山东省高校生物药物重点实验室, 潍坊 261053)

摘要: 组蛋白修饰作为表观遗传调控网络的重要组成部分, 其主要的修饰类型包括乙酰化、甲基化、磷酸化等, 在卵母细胞减数分裂过程中呈现动态变化。在卵母细胞发育过程中, 表观遗传调控因子涉及的乙酰化、甲基化维持、磷酸化和组蛋白置换调控着卵母细胞减数分裂过程中基因的表达、纺锤体的组装、染色体的排列和基因组的稳定性, 确保了卵母细胞减数分裂的正常进行和卵母细胞的正常发育。该文对卵母细胞发育过程中组蛋白修饰的变化、功能和调控机制的研究进展进行综述。

关键词: 卵母细胞; 减数分裂; 表观遗传调控; 组蛋白修饰

中图分类号: Q512.7 **文献标志码:** A

Function and regulatory mechanism of histone modifications during oocyte development

LIU Lin-Lin^{1,2}, DU Hong-Bin^{1,2}, SUN Meng-Ying^{1,2}, DING Yue¹, JU Ji-Yu¹, ZHAO Chun-Ling^{1,3*}, TIAN Chun-Yan^{2*}

(1 Shandong University Key Laboratory of Immunology, Weifang Medical University, Weifang 261053, China; 2 State Key Laboratory of Proteomics, Beijing Proteome Research Center, National Center for Protein Sciences (Beijing), Beijing Institute of Lifeomics, Beijing 102206, China; 3 Shandong University Key Laboratory of Biopharmaceuticals, Weifang Medical University, Weifang 261053, China)

Abstract: Histone modifications, as an important part of the epigenetic regulatory network, including acetylation, methylation, phosphorylation, etc., show dynamic changes during oocyte meiosis. During oocyte development process, epigenetic regulation factor-related acetylation, methylation maintenance, phosphorylation and histone exchange regulate the expression of genes in the process of meiosis, spindle assembly, the arrangement of chromosome and genome stability, ensuring the normal oocyte meiosis and oocyte development. This review summarized the research progress of the dynamics, functions and regulation of histone modifications during oocytes development.

Key words: oocyte; meiosis; epigenetic regulation; histone modification

有性生殖是高等真核生物繁衍后代的重要途径, 其目的是保持基因组的稳定性和多样性。它是通过减数分裂产生单倍体配子和这些配子的融合来实现的。减数分裂几乎发生在所有有性繁殖的生物中, 哺乳动物卵母细胞的发育包括两次连续的细胞分裂, 即减数第一次分裂和减数第二次分裂。第一次分裂的前期较长, 一般把这个前期分为细线期、偶线期、粗线期、双线期和终变期^[1]。在细线期, 当 DNA 复制完成时, 染色质开始折叠和浓缩形成

染色体; 进入偶线期时, 同源染色体靠近、配对, 进行联会; 接下来是粗线期, 在这个阶段染色体进一步浓缩, 变得更短更厚; 在双线期, 联会复合体

收稿日期: 2020-12-14; 修回日期: 2021-01-21

基金项目: 国家自然科学基金项目(31771563, 81572578); 山东省自然科学基金项目(ZR2018MH014, ZR2015HM028)

*通信作者: E-mail: tianchunyan@ncpsb.org(田春艳); zhaochunlingbj@163.com(赵春玲)

开始去组装,四分体结构清晰可见;染色体在终变期继续浓缩,核仁消失,染色体在细胞核中均匀分布^[2]。与精子生成过程中的减数分裂不同,卵母细胞成熟过程中的减数分裂经历了两个停滞期。首先,处于生发泡(germinal vesicle, GV)时期的发育中的卵母细胞被阻滞在二倍体期,这种状态一直维持到发育期或更晚。减数分裂恢复的标志是生发泡破裂(GV breakdown, GVBD),它标志着G₂/M的过渡,到减数第二次分裂中期(metaphase of meiosis II, MII)时卵母细胞减数分裂再次停滞,等待与精子结合并完成整个减数分裂^[3]。

在卵母细胞发育过程中,表观遗传修饰起着重要作用。表观遗传修饰指不涉及DNA序列变化的可继承的性状,可以通过有丝分裂过程传递,也可以通过减数分裂从亲代个体传递到子代个体,包括DNA甲基化和组蛋白(histone, H)修饰、非编码和编码RNA^[4]。

组蛋白作为染色质的主要成分,其修饰对基因表达有重要影响。组蛋白会经历多种翻译后修饰(post-translational modification, PTM),包括乙酰化、甲基化、泛素化和磷酸化等。这些PTM确定了开放和封闭的染色质构象,进而调节了转录因子和其他调节性染色质结合蛋白向DNA的差异募集^[5]。在卵母细胞的减数分裂过程中,组蛋白修饰除影响基因表达外,还对染色体凝集和分离发挥特异性作用。组蛋白修饰的破坏会导致有缺陷的染色体凝聚

和分离,成熟进程延迟,甚至卵母细胞老化^[6]。到目前为止,对不同物种的卵母细胞成熟过程中发生的组蛋白修饰进行了很多研究。所有核心组蛋白在体内都会发生修饰,但组蛋白H3和H4的修饰要比H2A和H2B更广泛。常见的组蛋白修饰有组蛋白乙酰化、磷酸化和甲基化。乙酰化的关键位点包括组蛋白H4中至少4个高度保守的赖氨酸(lysine, K)残基(K5、K8、K12、K16)和组蛋白H3中2个高度保守的赖氨酸残基(K9和K14)。组蛋白甲基化通常发生在组蛋白H3、H4的N端精氨酸(arginine, R)残基,如H3R3、H3R17,或赖氨酸残基,如H3K4、H3K9、H3K79^[7-8]。所有核心组蛋白在其N末端结构域中都含有磷酸化位点:H2A和H4上的1位点丝氨酸, H2B上的14/32位点丝氨酸, H3上的10位点丝氨酸和3位点苏氨酸(图1)。本文以小鼠为例,总结了组蛋白乙酰化、磷酸化和甲基化在卵母细胞减数分裂成熟过程中的变化、调控功能和机制的研究进展。

1 组蛋白乙酰化

1.1 组蛋白乙酰化在卵母细胞成熟过程中的动态变化

在小鼠卵母细胞成熟过程中,存在着组蛋白H3和H4的乙酰化模式,并且乙酰化修饰谱发生着动态变化。H4/K5、H4/K8、H4/K12、H4/K16、H3/K9和H3/K14等这些位点在成熟GV期卵母细胞中均被乙酰化。然而,除H4/K8的乙酰化外,随着减数

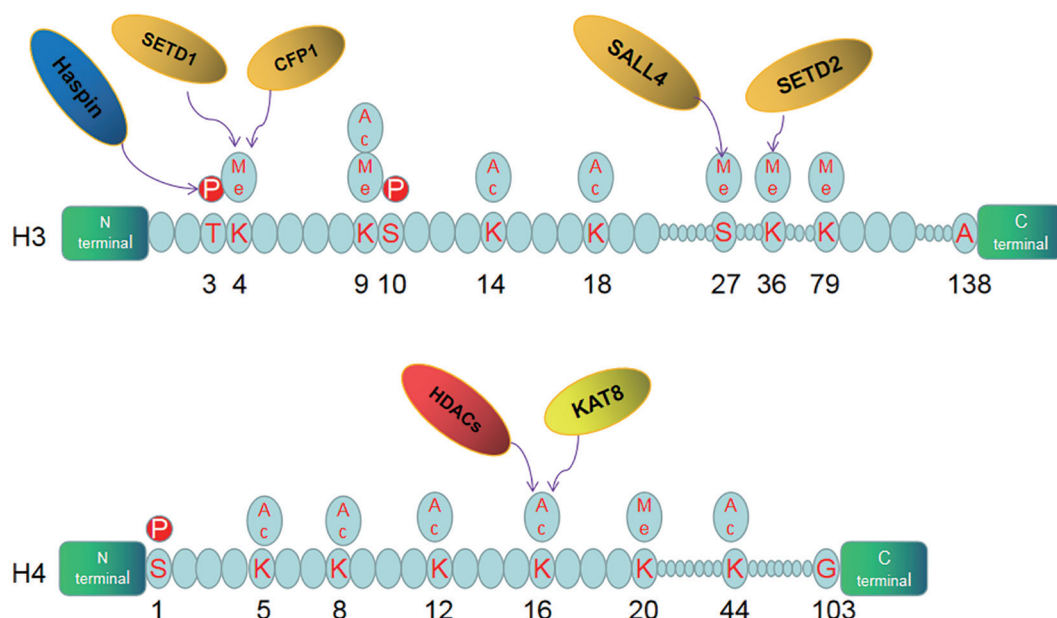


图1 参与减数分裂的主要组蛋白H3、H4的常见翻译后修饰位点及典型调控因子

分裂的恢复, 浓缩的染色体中发生去乙酰化, 并一直维持到 MII 期^[9-11]。在 GV 期到 GVBD 阶段, 上述赖氨酸残基的乙酰化水平均匀下降, 表明 GV 到 GVBD 的有序进程需要组蛋白去乙酰化。然而, H4/K5 和 H4/K16 在减数第一次分裂中期 (metaphase of meiosis I, MI) 的卵母细胞中完全去乙酰化后, 在减数第一次分裂后期中又经过了短暂的乙酰化, 最后在 MII 染色体上再次显著去乙酰化。有趣的是, H4/K5 和 H4/K16 乙酰化的强信号在第一个极体中仍然存在, 这表示卵母细胞中组蛋白去乙酰化模式受减数分裂影响, 但第一极体脱离了正常的细胞周期, 超出了这一机制的控制^[6]。组蛋白乙酰化修饰在小鼠卵母细胞减数分裂成熟过程的动态变化见表 1。

1.2 组蛋白乙酰化修饰在卵母细胞成熟过程中的功能和调控机制

合适的乙酰化水平是卵母细胞正常发育所必需的。蛋白赖氨酸位点上添加乙酰基能够减少组蛋白表面的负电荷, 进而降低组蛋白与 DNA 的结合能力, 使染色质处于开放状态, 从而为转录因子的结合提供合适的条件, 促进其结合到 DNA 上对基因进行转录调控。反之, 移除赖氨酸上的乙酰基增加组蛋白表面的负电荷, 进而增加了组蛋白与 DNA 的结合能力, 使染色质处于凝集状态, 从而抑制基因的转录^[12-14]。除此之外, 染色体的运动依赖于纺锤体微管和定位于着丝粒异染色质上的特殊区域之间的相互作用, 具有特定组蛋白修饰的着丝粒染色质是形成有功能的着丝粒所必需的。在减数分裂过程中, 着丝粒染色质组蛋白的去乙酰化是招募特定异染色质蛋白所必需的, 蛋白高乙酰化可能破坏着丝粒的异染色质结构域, 从而削弱着丝点和纺锤体微管之间的相互作用, 导致卵母细胞减数分裂中染色体无法正常分离。

在卵母细胞中, 组蛋白的乙酰化水平也是由组

蛋白乙酰转移酶 (histone acetyltransferases, HATs) 和组蛋白去乙酰化酶 (histone deacetylases, HDACs) 共同调节。

1.2.1 HATs

HATs 分为 GNAT (GCN5-related nacyetyltransferases)、MYST (MOZ、Ybf2/Sas3、Sas2 和 Tip60)、Gcn5/PCAF (general control nonderepressible-5/protein-associated factor) 及 p300/CBP (P300/cAMP responsive element-binding protein) 等 4 个家族。MYST 蛋白在 GV 期卵母细胞细胞核内积累, 当卵母细胞达到 MI 期时, 它们集中在减数分裂纺锤体附近而不是染色体上^[15]。能够影响卵母细胞发育的一个 MYST 家族的蛋白乙酰转移酶 KAT8 (lysine acetyltransferase 8) 可直接或通过增加 H4K16 的乙酰化水平促进卵母细胞发育进程中抗氧化基因的表达, 以降低 ROS 水平, 防止 DNA 损伤的产生, 并保证正常的卵母细胞和卵泡的发育。KAT8 是迄今为止首个发现的在小鼠卵泡发育过程中所必需的乙酰化转移酶^[16]。

1.2.2 HDACs

哺乳动物的 HDACs 包括 3 类, 17 个成员: I 类, 包括 HDAC1、2、3 和 8; II 类, 包括 HDAC4、5、6、7、9 和 10; III 类, 主要是 SIRT 家族成员^[8]。

在卵母细胞发育过程中, HDACs 定位呈动态变化。HDAC1~3 在卵母细胞核中富集。然而, 在 MI 和 MII 期, 只有 HDAC1 与中期板上聚集的染色体有关, 这种定位与 H4K5 去乙酰化有关^[8,17]。HDAC4 在 GV 期表达较低, 而在 MII 期高表达, 并且受精以后表达会逐渐降低, 提示 HDAC4 可能在小鼠卵母细胞成熟过程中发挥了特定的作用。此外, HDAC6 定位于小鼠 GV 卵母细胞的细胞质中, 这种酶的异位表达改变了核结构并导致染色质的凝聚^[18]。

HDACs 在卵母细胞发育中发挥重要功能。Ma 和 Schultz^[5] 研究发现, *Hdac2* 的母源性缺失会导致

表1 常见的组蛋白乙酰化修饰在小鼠卵母细胞成熟过程中的动态变化^[6]

修饰方式	修饰位点	卵母细胞发育各时期			
		GV	Pro-MI	MI	MI
乙酰化	H3/K9	+	-	-	-
	H3/K14	+	-	-	-
	H4/K5	+	-	-	-
	H4/K8	+	±	±	±
	H4/K12	+	-	-	-
	H4/K16	+	-	-	-

强荧光信号, +; 弱荧光信号, ±; 无信号, -; GV, 生发泡; Pro-MI, 前中期; MI, 减数第一次分裂中期; MII, 减数第二次分裂中期。

H4K16 过度乙酰化以及染色体凝集和纺锤体的缺陷, 进而导致非整倍体的产生。HDAC2 还可以通过靶向 DNMT3A2 调节卵母细胞中的整体 DNA 甲基化和基因组印记标记。2019 年, 研究发现, HDAC3 的过表达能够缓解老年小鼠卵母细胞的减数分裂缺陷, 卵母细胞中 HDAC3 的功能不足可能代表卵母细胞质量与生殖衰老之间的联系^[19-20]。Hdac6 是卵母细胞减数分裂和不对称分裂过程中纺锤体形成的关键因素, 是正常小鼠卵母细胞胞质分裂和染色体浓缩的重要因素^[21]。Hdac6 的缺失不仅影响 α -微管蛋白和 H4K16 乙酰化, 而且还降低小鼠卵母细胞减数分裂过程中 H3T3 的磷酸化、H3S10 的磷酸化和 mRNA 转录水平, 最终导致卵母细胞纺锤体和染色体组装的破坏, 成熟阻滞^[22]。III 类组蛋白去乙酰化酶 SIRT1 和 SIRT6 都可以调节 H4K16 的乙酰化程度, SIRT1 分布呈纺锤体模式, 它还可以调节 α -微管蛋白的乙酰化作用。Sirt6 的缺失会特异性诱导卵母细胞中 H4K16 超乙酰化, H4K16 的过度乙酰化会降低卵母细胞减数分裂过程中第一极体的排出率, 破坏纺锤体和线粒体的功能以及产生非整倍体^[23-24]。

排卵期前, 在具有 SN 结构的卵母细胞中, 利用 TSA (Trichostatin A) 抑制 HDACs 活性后, 会导致常染色质区域发生显著的去浓缩。从 GV 期到 GV 晚期, 组蛋白 H3 和 H4 上的不同赖氨酸呈现出均匀的去乙酰化趋势, 染色质也会在这个阶段逐渐浓缩, TSA 处理会破坏染色质的逐渐凝集, 表明在卵母细胞生长过程中组蛋白去乙酰化和染色质重塑之间有密切的联系^[25-26]。

2 组蛋白甲基化

2.1 组蛋白甲基化在卵母细胞成熟过程中的动态变化

小鼠卵母细胞在成熟过程中发生持续的组蛋白

甲基化, 与乙酰化相比, 组蛋白甲基化在卵母细胞成熟过程中相对稳定^[27]。在体内, 赖氨酸的甲基化可以是单甲基化、二甲基化或三甲基化状态, 而精氨酸可以是单甲基化或二甲基化。甲基化组蛋白在哺乳动物卵母细胞中多与染色体共定位。其中, H3K79me3 定位在减数分裂染色体着丝粒周围的异染色质区域。在 GV 期, H3R17me 和 H4R3me 分布在细胞核, 呈点状染色, 仅与染色质有较弱共定位。随着减数分裂成熟的完成, 甲基化的 H3R17 和 H4R3 在 MII 期卵母细胞的染色体中几乎消失。然而, 对人类卵母细胞的研究表明, H4R3 在从 GV 期到 MII 期的进程中保持恒定的甲基化状态。组蛋白甲基化修饰在小鼠卵子发生过程的动态变化见表 2。

2.2 组蛋白甲基化在卵母细胞成熟过程中的功能与调控

在卵母细胞的发育过程中, 组蛋白甲基化是基因组转录活性区和非活性区形成的主要决定因素。组蛋白的甲基化修饰以赖氨酸甲基化修饰为主, 其通常影响基因表达及染色质结构等。组蛋白不同位点的赖氨酸的甲基化受到保守的不同酶家族的严格调控, 组蛋白赖氨酸甲基转移酶 (histone lysine methyltransferases, KMTs) 在 K 位点加入甲基, 而组蛋白赖氨酸脱甲基酶 (histone lysine demethylases, KDMs) 可以将它们除去。目前已经报道了多种组蛋白甲基化和去甲基化的调控因子, 这些调控因子通过不同的机制影响着卵母细胞的组蛋白甲基化修饰, 进而影响卵母细胞的发育过程。

2.2.1 MLL (mixed lineage leukemia)

MLL 平衡的 H3K4 甲基化状态不仅对于维持正在生长的卵母细胞中的转录至关重要, 而且对于触发合子基因组激活也至关重要。最近的多项全基因组研究表明, 在稳态或动态变化的条件下, 实际上在去除染色质上的大多数 H3K4me3 后转录水平

表2 常见的组蛋白甲基化修饰在小鼠卵母细胞成熟过程中的动态变化^[6]

修饰方式	修饰位点	卵母细胞发育各时期			
		GV	Pro-MI	MI	MII
甲基化	H3/K4me2	+	-	+	+
	H3/K9me3	+	+	+	+
	H3/K79me2	+	+	+	+
	H3/K79me3	+/PC	+/PC	+/PC	+/PC
	H3/R3me2	+	/	-	-
	H3/R17me	+	/	-	-

强荧光信号, +; 无信号, -; GV, 生发泡; Pro-MI, 减数第一次分裂前期; MI, 减数第二次分裂中期; MII, MII中期; PC, 着丝粒周围的异染色质上密集分布。

变化很小, 因此, H3K4me3 在染色质上的富集被认为是转录的结果而不是转录的指令。在哺乳动物细胞中, H3K4me3 主要是由 SETD1 及其复合物和混合谱系白血病 (mixed lineage leukemia, MLL) 蛋白家族介导的。Andreu-Vieyra 等^[28] 研究发现, 卵母细胞中 *Mil2* 的缺失导致 H3K4me3 水平下降, 进而导致女性不育。研究也证明, *Mil2* 在卵母细胞中特异性缺失会导致卵母细胞中 H3K4me2 及 H3K4me3 降低、卵巢发生早衰、细胞内纺锤体和染色体形态异常、排卵异常、转录抑制被破坏等^[28-29]。

2.2.2 CXXC 手指蛋白 1 (CXXC finger protein 1, CFP1)

SETD1 是第一个 H3K4 甲基化酶, 其含有的 SET 结构域通过与一个 450 kDa 的复合物相关联发挥组蛋白甲基转移酶的作用, 该复合物包括 CFP1、RBBP5、ASH2、WDR5 和 WDR82。其中, CFP1 由小鼠 *Cxxc1* 基因编码, 是 SETD1 复合物的关键成分, 能够利用其 CXXC 手指结构域与 DNA 结合, 将 SETD1 招募到特定的基因组区域^[11]。在小鼠卵母细胞中特异性敲除 *Cfp1* 后, 极大地影响组蛋白交换、H3K4me3 水平和卵母细胞基因组的转录活性, 导致转录活性的整体下调、DNA 复制能力降低、减数分裂和母体-合子转换的缺陷, 进而使卵母细胞不能完全成熟, 并且受精后合子无法获得发育能力^[30]。同时, CFP1 还能参与卵母细胞中染色质晶格的形成。卵母细胞是一种非常大的细胞, 含有比体细胞多得多的细胞器 (包括线粒体和高尔基体), 卵母细胞将这些细胞器保持在适当的亚细胞位置并防止其异常聚集是至关重要的。细胞质晶格是卵母细胞中独特的细胞骨架结构, 对合子胞质分裂至关重要^[31-32]。CFP1 介导的卵母细胞基因组表观遗传调控对于细胞质晶格成分的表达和细胞器的正确分布也至关重要^[33]。

2.2.3 LSD1 (lysine specific demethylase 1)

赖氨酸去甲基化酶 LSD1 调节小鼠卵母细胞中的 H3K4me2。在发育的卵母细胞中, *Lsd1* 缺失使 H3K4me2 水平异常升高和 CDC25B 表达升高, 进而激活 CDK1, 使减数分裂过早恢复, 从而引起纺锤体组装和染色体排列缺陷以及染色体非整倍性增加, 进而增强 DNA 损伤, 无法完成 MI, 最终发生细胞凋亡^[2]。后续研究进一步证实 LSD1 是受精后合子基因组激活过程中染色质和转录的重要调控因子, 在建立合子的正确表观遗传模式, 保持基因组完整性和启动早期胚胎发育的新基因组表达新模式方面起着至关重要的作用^[34]。

2.2.4 SETDB1 (SET domain bifurcated histone lysine methyltransferase 1)

SETDB1 是一种赖氨酸甲基转移酶。Kim 等^[35] 发现, SETDB1 控制发育中卵母细胞的 H3K9me2。*Setdb1* 缺失导致 CDC14B 上调, 使卵母细胞的减数分裂停滞在生发泡和 MI 阶段, 无法进行到 MII 期, 从而导致成熟卵的数量大大减少, 还会导致卵母细胞 DNA 损伤的增加; CDC14B 在 1 细胞胚胎中过表达可导致有丝分裂阻滞并抑制合子基因组激活。

2.2.5 SETD2 (SET domain containing 2)

SETD2 是 H3K36me3 的甲基转移酶, SETD2 在建立卵母细胞表观基因组中发挥核心作用, 能够调控 DNA 从头甲基化 (特别是在印迹区域) 和几个关键组蛋白的 H3K36me3、H3K4me3 和 H3K27me3 的修饰。*Setd2* 在卵母细胞的特异性缺失导致 H3K36me3 丢失, 从头开始的 DNA 甲基化不再局限于转录区域, 导致卵母细胞印迹的完全丧失^[36]。此外, SETD2 的缺失会导致异位甲基化发生在全基因组的其他地方, 无法建立卵母细胞中正确的 DNA 甲基化组, MII 期卵母细胞数量大大减少和不育^[36]。

2.2.6 SALL4 (spalt like transcription factor 4)

近期有研究发现, SALL4 也是小鼠卵母细胞组蛋白修饰必不可少的调控因子。SALL4 编码锌指转录因子, 主要在早期胚胎、胚胎干细胞 (ESCs)、原始生殖细胞 (PGCs) 和具有不同特定功能的生殖细胞中表达。SALL4 通过调节卵母细胞中关键组蛋白脱甲基酶编码基因 *Kdm5b*、*Kdm6a* 和 *Kdm6b* 的表达来调节 H3K4me3 和 H3K27me3 水平。*Sall4* 特异性敲除的卵母细胞 *Kdm5b* 的表达水平会升高, *Kdm5b* 的高表达导致 H3K4me3 的表达水平降低。*Sall4* 的缺失还会使 *Kdm6a* 和 *Kdm6b* 的表达水平会下降, 从而引起 H3K27me3 的表达水平升高^[37]。异常的 H3K4me3 和 H3K27me3 会导致基因的错误表达, *Sall4* 的母源性缺失也会导致卵母细胞在生发泡阶段染色质转变为 NSN 构型的停滞, 并且阻碍减数分裂的恢复, 导致卵母细胞组蛋白修饰异常^[37]。

3 组蛋白磷酸化

3.1 组蛋白磷酸化在卵母细胞成熟过程中的动态变化

所有核心组蛋白在其 N 末端结构域中都含有磷酸化位点: H2A 和 H4 上的 1 位点丝氨酸、H2B 上的 14/32 位点丝氨酸、H3 上的 10/28 位点丝氨酸和 3/11 位点苏氨酸。在这些位点中, 组蛋白 H3 上 10/28 位点丝氨酸残基和 3 位点苏氨酸残基的磷酸

化 (H3S10ph、H3S28ph 和 H3T3ph) 在小鼠卵母细胞的发育过程中呈现动态变化^[38-39]。免疫荧光染色发现, 在卵母细胞发育的 GV 期到 GVBD 期间, 染色质上 H3S28ph 水平很低, 减数分裂恢复后, H3S28ph 在 MI 期的染色体边缘分布, 这种分布一直维持到 MII 期。小鼠卵母细胞中 H3S10ph 的动态变化与 H3S28ph 完全不同, 在 GV 期卵母细胞中, H3S10ph 与染色质紧密共定位, 随着卵母细胞进入减数分裂, 在 MI 期和 MII 期, H3S10ph 信号覆盖整个染色体。通常, H3S10ph 和 H3S28ph 开始于染色体边缘区域, 并在 G₂-M 相转变期间扩散到染色体各处, 从而促进染色体的形成^[40-41]。Western blot 结果显示, H3T3ph 在 GV 期时未检测到, 仅在 GVBD 后表达, 在 MI 时逐渐升高至峰值, MII 期时急剧下降。同样, 免疫荧光显示, H3T3ph 只在 GVBD 后的染色体上明亮标记, 在 MI 期的整个染色体轴上均有较高的表达, 但到了 MII 期, 仅在姐妹着丝粒之间的区域有表达^[42]。组蛋白磷酸化修饰在小鼠卵子发生过程的动态变化见表 3。

3.2 组蛋白磷酸化在卵母细胞成熟过程中的功能与调控

磷酸化是翻译后最重要的修饰之一, 在各种细胞过程中发挥着不可替代的作用。磷酸化的作用主要通过激活或抑制其下游因子或招募相关蛋白来实现, 尤其是组蛋白磷酸化在 DNA 损伤修复、基因转录和染色质凝集等方面具有多种功能。在减数分裂过程中, 组蛋白磷酸化可促进 DNA 双链断裂 (double strand break, DSB) 的形成和修复, 促进同源染色体的联会和重组。Gernand 等^[43]研究发现, H3S28ph 在 MI 前期卵母细胞和前期胚胎中被准时触发, 在有丝分裂细胞中也报道了类似的结果, 显示 H3S28ph 总是在染色体浓缩的前期开始。因此, H3S28 的磷酸化可能是与染色体浓缩相关的一个关键因素。

组蛋白磷酸化可能是通过两种机制影响染色体的结构和功能: 磷酸基团携带的负电荷中和了组蛋

白上的正电荷, 造成了组蛋白与 DNA 之间亲和力的下降, 易于基因转录; 同时, 磷酸化修饰还能够产生与蛋白质识别模块 (protein recognition modules) 结合的表面, 促进与特异的蛋白质复合物相互作用。

Aurora 家族在减数分裂期间与组蛋白 H3 的磷酸化有关, 这些激酶的活性对 H3 磷酸化依赖型的凝缩复合物的适当募集和纺锤体的正确组装是必需的。这类激酶的作用与蛋白磷酸酶 1 (protein phosphatase 1, PP1) 相反, 用 PP1 处理未成熟小鼠卵母细胞后 H3S10 和 H3S28 的磷酸化水平显著降低, 而 PP1 抑制剂花萼海绵诱癌素 (calyculin A, CL-A) 和冈田酸 (okadaic acid, OA) 可快速诱导磷酸化的组蛋白 H3 的染色体凝缩。小鼠卵母细胞经 OA 处理后, 组蛋白 H3 的 S10 和 S28 位点磷酸化水平平均高于对照组。基于这些发现, Aurora B 激酶和 PP1 活性的平衡有可能调节了小鼠卵母细胞中组蛋白 H3 在减数分裂过程中的磷酸化^[44]。Haspin 催化的 H3T3ph 修饰是卵母细胞恢复减数分裂、染色质凝聚和纺锤体组装检查点功能建立的必要条件, 从而保证了卵母细胞在减数分裂周期转换过程中准确的染色体分离^[42]。有研究发现, H3T3ph 在小鼠卵母细胞的染色体上与 H3K4me3 相邻, 但不重叠, 证明了 H3K4me3 以分子间方式调节 H3T3ph^[45]。

4 组蛋白置换在卵母细胞成熟过程中的功能

核心组蛋白的翻译后修饰有助于决定转录激活和抑制中的染色质状态, 从而调节各种细胞功能。随着组蛋白变体的发现和研究的深入, 发现组蛋白变体的置换也能够影响组蛋白的修饰和染色质结构的进一步变化^[46]。在哺乳动物中, 组蛋白 H3 的 3 种变体, 即 H3.1、H3.2 和 H3.3 在染色质中的富集模式和翻译后修饰均有所不同。组蛋白 H3.1 和 H3.2 在 S 期表达, 它们在染色质中的富集依赖于 DNA 复制。相比之下, H3.3 变体在整个细胞周期中以一种与 DNA 复制无关的方式在染色质中表达和富集^[47]。卵母细胞染色质中的动态组蛋白交换对

表3 常见的组蛋白磷酸化在小鼠卵母细胞成熟过程中的动态变化^[6]

修饰方式	修饰位点	卵母细胞发育各时期			
		GV	Pro-MI	MI	MI
磷酸化	H3/Ser10	+	+/PC	+/PC	+/PC
	H3/Ser28	-	+/rim	+/rim	+/rim

强荧光信号: +; 无信号: -; GV: 生发泡; Pro-MI: 减数第一次分裂前期; MI: 减数第一次分裂前中期; MII: 减数第二次分裂前中期; rim: 在染色体上的边缘分布; PC: 在着丝粒周围的异染色质上密集分布。

于维持正常的转录活性至关重要。在 H3.3 中 H3K4me3 具有较高的水平, 因此, H3.3 的富集与转录基因活化相关^[48]。H3.1 中的 H3K9me2 水平较高, 这与基因沉默和异染色质形成有关; H3.2 富含与基因沉默相关的其他组蛋白修饰, 也与基因沉默和异染色质形成有关^[49]。虽然 H3.1 和 H3.2 这两种变体之间的富集模式和功能的差异尚未完全揭示, 但细胞系之间表达水平的差异和翻译后修饰表明 H3.1 可能具有与 H3.2 不同的功能。总之, H3 变体在基因组中的分布及其不同的修饰模式在一定程度上决定了细胞的分化状态, 并且在卵母细胞的发育过程中起着重要的作用。

5 总结与展望

近年来的研究表明, 组蛋白修饰在卵母细胞成

熟过程中呈现动态调控模式的差异, 表明了其在卵母细胞中的功能需求 (图 2)。组蛋白修饰的破坏导致染色体浓缩和分离缺陷, 成熟进程延迟, 甚至卵母细胞老化等。虽然已经在小鼠卵母细胞中发现了几种组蛋白修饰酶, 但要确定它们如何在单独的卵母细胞中调控组蛋白修饰, 还需要更多的工作。深入研究卵母细胞发育过程中组蛋白修饰对雌性生殖系统的基因组稳定性的影响, 明确其精细的调控机制, 将有助于丰富人们对雌性生殖能力影响因素的认识, 并为研究与之相关的疾病提供理论依据。通过先进的检测技术, 特别是单细胞测序, 可以剖析表观基因组模式及其在动物和人类配子以及早期胚胎的生长和分化中的调控作用; 通过高通量测序, 能够研究全基因组和单碱基水平的组蛋白修饰。然而, 尽管已经探究了卵母细胞发育过程中表观遗传

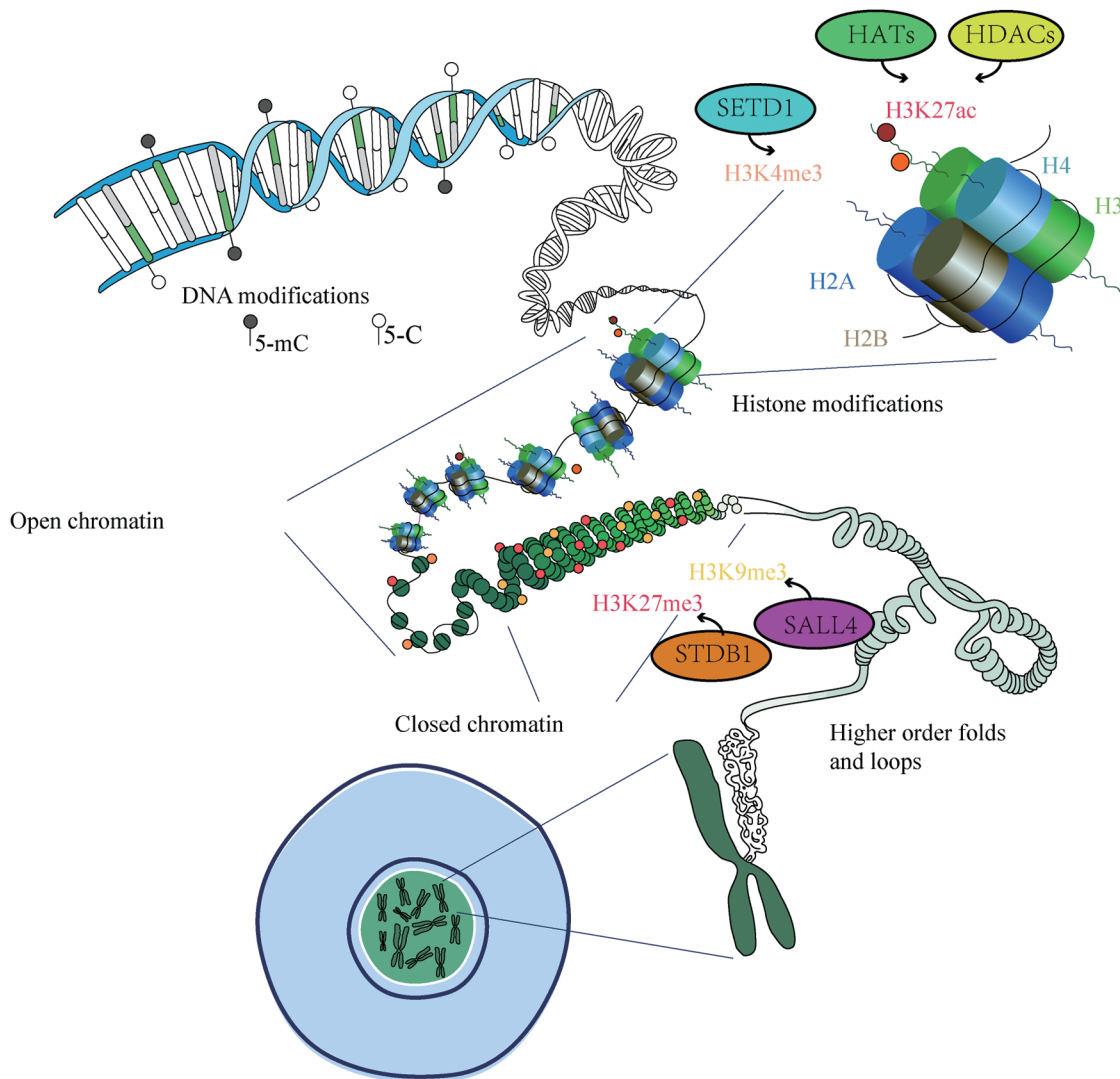


图2 组蛋白修饰的调节酶及其在卵母细胞发育中的功能作用

学的概况,但对表观遗传学的理解仍然远远不够。主流方法提供的检测整个表观基因组的实际覆盖率仍然较低,而且与这些方法相关联的工作流程是复杂的。但是,随着下一代测序技术的快速改进,相信在不久的将来对卵母细胞中的整个表观基因组会有一个全面的了解。

[参 考 文 献]

- [1] Zhang K, Smith GW. Maternal control of early embryogenesis in mammals. *Reprod Fertil Dev*, 2015, 276: 880-96
- [2] Kim J, Singh AK, Takata Y, et al. LSD1 is essential for oocyte meiotic progression by regulating CDC25B expression in mice. *Nat Commun*, 2015, 6: 10116
- [3] Jin Y, Yang M, Gao C, et al. Fbxo30 regulates chromosome segregation of oocyte meiosis. *Cell Mol Life Sci*, 2019, 76: 2217-29
- [4] Rivera RM, Ross JW. Epigenetics in fertilization and preimplantation embryo development. *Prog Biophys Mol Biol*, 2013, 113: 423-32
- [5] Ma P, Schultz RM. HDAC1 and HDAC2 in mouse oocytes and preimplantation embryos: specificity versus compensation. *Cell Death Differ*, 2016, 23: 1119-27
- [6] Gu L, Wang Q, Sun QY. Histone modifications during mammalian oocyte maturation: dynamics, regulation and functions. *Cell Cycle*, 2010, 9: 1942-50
- [7] Sendzikaitė G, Kelsey G. The role and mechanisms of DNA methylation in the oocyte. *Essays Biochem*, 2019, 63: 691-705
- [8] de Ruijter AJ, van Gennip AH, Caron HN, et al. Histone deacetylases (HDACs): characterization of the classical HDAC family. *Biochem J*, 2003, 370: 737-49
- [9] Nagashima T, Maruyama T, Furuya M, et al. Histone acetylation and subcellular localization of chromosomal protein BRD4 during mouse oocyte meiosis and mitosis. *Mol Hum Reprod*, 2007, 13: 141-8
- [10] Kageyama S, Liu H, Kaneko N, et al. Alterations in epigenetic modifications during oocyte growth in mice. *Reproduction*, 2007, 133: 85-94
- [11] Keshavarzi S, Salehi M, Farifteh-Nobijari F, et al. Melatonin modifies histone acetylation during *in vitro* maturation of mouse oocytes. *Cell J*, 2018, 20: 244-9
- [12] Samata M, Alexiadis A, Richard G, et al. Intergenerationally maintained histone H4 lysine 16 acetylation is instructive for future gene activation. *Cell*, 2020, 182: 127-44.e23
- [13] Barnes CE, English DM, Cowley SM. Acetylation & Co: an expanding repertoire of histone acylations regulates chromatin and transcription. *Essays Biochem*, 2019, 63: 97-107
- [14] Thomas T, Voss AK. The diverse biological roles of MYST histone acetyltransferase family proteins. *Cell Cycle*, 2007, 6: 696-704
- [15] McGraw S, Morin G, Vigneault C, et al. Investigation of MYST4 histone acetyltransferase and its involvement in mammalian gametogenesis. *BMC Dev Biol*, 2007, 7: 123
- [16] Yin S, Jiang X, Jiang H, et al. Histone acetyltransferase KAT8 is essential for mouse oocyte development by regulating reactive oxygen species levels. *Development*, 2017, 144: 2165-74
- [17] Singh VP, Yueh WT, Gerton JL, et al. Oocyte-specific deletion of Hdac8 in mice reveals stage-specific effects on fertility. *Reproduction*, 2019, 157: 305-16
- [18] Verdel A, Seigneurin-Berny D, Faure AK, et al. HDAC6-induced premature chromatin compaction in mouse oocytes and fertilised eggs. *Zygote*, 2003, 11: 323-8
- [19] He Y, Li X, Gao M, et al. Loss of HDAC3 contributes to meiotic defects in aged oocytes. *Aging Cell*, 2019, 18: e13036
- [20] Wang H, Cai H, Wang X, et al. HDAC3 maintains oocyte meiosis arrest by repressing amphiregulin expression before the LH surge. *Nat Commun*, 2019, 10: 5719
- [21] Zhou D, Choi YJ, Kim JH. Histone deacetylase 6 (HDAC6) is an essential factor for oocyte maturation and asymmetric division in mice. *Sci Rep*, 2017, 7: 8131
- [22] Sui L, Huang R, Yu H, et al. Inhibition of HDAC6 by tubastatin A disrupts mouse oocyte meiosis via regulating histone modifications and mRNA expression. *J Cell Physiol*, 2020, 235: 7030-42
- [23] Han L, Ge J, Zhang L, et al. Sirt6 depletion causes spindle defects and chromosome misalignment during meiosis of mouse oocyte. *Sci Rep*, 2015, 5: 15366
- [24] Nevorál J, Landsmann L, Stianivnická M, et al. Epigenetic and non-epigenetic mode of SIRT1 action during oocyte meiosis progression. *J Anim Sci Biotechnol*, 2019, 10: 67
- [25] De La Fuente R. Chromatin modifications in the germinal vesicle (GV) of mammalian oocytes. *Dev Biol*, 2006, 292: 1-12
- [26] De La Fuente R, Viveiros MM, Wigglesworth K, et al. ATRX, a member of the SNF2 family of helicase/ATPases, is required for chromosome alignment and meiotic spindle organization in metaphase II stage mouse oocytes. *Dev Biol*, 2004, 272: 1-14
- [27] Sarmiento OF, Digilio LC, Wang Y, et al. Dynamic alterations of specific histone modifications during early murine development. *J Cell Sci*, 2004, 117: 4449-59
- [28] Andreu-Vieyra CV, Chen R, Agno JE, et al. MLL2 is required in oocytes for bulk histone 3 lysine 4 trimethylation and transcriptional silencing. *PLoS Biol*, 2010, 8: e1000453
- [29] Hanna CW, Taudt A, Huang J, et al. MLL2 conveys transcription-independent H3K4 trimethylation in oocytes. *Nat Struct Mol Biol*, 2018, 25: 73-82
- [30] Yu C, Fan X, Sha QQ, et al. CFP1 regulates histone H3K4 trimethylation and developmental potential in mouse oocytes. *Cell Rep*, 2017, 20: 1161-72
- [31] Sha QQ, Dai XX, Jiang JC, et al. CFP1 coordinates histone H3 lysine-4 trimethylation and meiotic cell cycle progression in mouse oocytes. *Nat Commun*, 2018, 9: 3477
- [32] Sha QQ, Jiang Y, Yu C, et al. CFP1-dependent histone H3K4 trimethylation in murine oocytes facilitates ovarian follicle recruitment and ovulation in a cell-nonautonomous

- manner. *Cell Mol Life Sci*, 2020, 77: 2997-3012
- [33] Jiang Y, Zhang HY, Lin Z, et al. CXXC finger protein 1-mediated histone H3 lysine-4 trimethylation is essential for proper meiotic crossover formation in mice. *Development*, 2020, 147: dev183764
- [34] Ancelin K, Syx L, Borensztein M, et al. Maternal LSD1/KDM1A is an essential regulator of chromatin and transcription landscapes during zygotic genome activation. *Elife*, 2016, 5: e08851
- [35] Kim J, Zhao H, Dan J, et al. Maternal Setdb1 is required for meiotic progression and preimplantation development in mouse. *PLoS Genet*, 2016, 12: e1005970
- [36] Xu Q, Xiang Y, Wang Q, et al. SETD2 regulates the maternal epigenome, genomic imprinting and embryonic development. *Nat Genet*, 2019, 51: 844-56
- [37] Xu K, Chen X, Yang H, et al. Maternal *Sall4* is indispensable for epigenetic maturation of mouse oocytes. *J Biol Chem*, 2017, 292: 1798-807
- [38] Polioudaki H, Markaki Y, Kourmouli N, et al. Mitotic phosphorylation of histone H3 at threonine 3. *FEBS Lett*, 2004, 560: 39-44
- [39] Preuss U, Landsberg G, Scheidtmann KH. Novel mitosis-specific phosphorylation of histone H3 at Thr11 mediated by Dlk/ZIP kinase. *Nucleic Acids Res*, 2003, 31: 878-85
- [40] Bui HT, Van Thuan N, Kishigami S, et al. Regulation of chromatin and chromosome morphology by histone H3 modifications in pig oocytes. *Reproduction*, 2007, 133: 371-82
- [41] Gu L, Wang Q, Wang CM, et al. Distribution and expression of phosphorylated histone H3 during porcine oocyte maturation. *Mol Reprod Dev*, 2008, 75: 143-9
- [42] Wang Q, Wei H, Du J, et al. H3 Thr3 phosphorylation is crucial for meiotic resumption and anaphase onset in oocyte meiosis. *Cell Cycle*, 2016, 15: 213-24
- [43] Gernand D, Demidov D, Houben A. The temporal and spatial pattern of histone H3 phosphorylation at serine 28 and serine 10 is similar in plants but differs between mono- and polycentric chromosomes. *Cytogenet Genome Res*, 2003, 101: 172-6
- [44] Francisco L, Wang W, Chan CS. Type 1 protein phosphatase acts in opposition to IpL1 protein kinase in regulating yeast chromosome segregation. *Mol Cell Biol*, 1994, 14: 4731-40
- [45] Sha QQ, Zhang J, Fan HY. Function and regulation of histone H3 lysine-4 methylation during oocyte meiosis and maternal-to-zygotic transition. *Front Cell Dev Biol*, 2020, 8: 597498
- [46] Loyola A, Almouzni G. Marking histone H3 variants: how, when and why? *Trends Biochem Sci*, 2007, 32: 425-33
- [47] 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
- [48] Jin C, Felsenfeld G. Nucleosome stability mediated by histone variants H3.3 and H2A.Z. *Genes Dev*, 2007, 21: 1519-29
- [49] Peters AH, Schubeler D. Methylation of histones: playing memory with DNA. *Curr Opin Cell Biol*, 2005, 17: 230-8