

组蛋白乙酰化在转录调节中的作用*

任庆虎 童坦君

(北京医科大学生化与分子生物学系, 北京 100083)

摘要 组蛋白乙酰化对染色质结构有重要影响, 与特定位点的基因活化有直接联系, 是转录调节的重要方式, 在细胞生长、分化、衰老过程中起重要作用.

关键词 组蛋白, 乙酰化, 转录调节

真核细胞胞核中的染色质是一动态大分子聚合体. 核小体为其基本结构, 由核心颗粒与连接区两部分组成: 核心颗粒为 145 bp 长 DNA 缠绕组蛋白八聚体 (H2A、H2B、H3、H4 各两分子组成) $1\frac{3}{4}$ 圈而成; 连接区由组蛋白 H1 和 0~ 80 bp 长 DNA 链构成.

染色质在转录时可连续不断地改变其组成和构象以调节基因活性. 它不同于转录因子参与的精细调节, 属于转录调节中的粗调, 在细胞生长、分化、衰老中的作用可能比精细调节更重要.

组蛋白化学修饰包括磷酸化、乙酰化、泛素化、ADP-核糖化等, 是改变染色质构象的重要途径. 近来, 组蛋白乙酰化及其在转录调节中所起作用逐渐成为热点, 本文就此方面作一概述.

1 组蛋白乙酰化

组蛋白乙酰化反应多发生在核心组蛋白 N 端碱性氨基酸集中区的特定 Lys 残基. 于此, 将乙酰辅酶 A 的乙酰基转移到 Lys 的 ϵNH_3^+ , 中和掉一个正电荷. 这样可减弱 DNA 与组蛋白的相互作用. 染色质特定部位的组蛋白乙酰化状态由两类酶及其相对活性决定, 它们是组蛋白乙酰基转移酶 (histone acetyltransferase, HAT) 和组蛋白去乙酰化酶 (histone deacetylase, HD).

编码这两类酶的基因虽未完全克隆, 但已

有进展: Kleff 等^[1]在温度敏感性酵母突变株细胞提取物中发现至少有两种 HAT 活性, 可使 H4 第 1~ 28 个氨基酸残基中的 Lys 乙酰化. hat-1 突变株无其中之一种活性, 其相应基因定位于第 16 号染色体中心粒附近. 目前 HAT1 基因已被克隆出来, 它编码一条 374 个氨基酸残基的肽链, 可乙酰化 H4 第 12 位的 Lys 残基. Brownell 等^[2]在四膜虫的核区纯化出 HAT 的一个亚单位 p55, 发现它与酵母的转录因子 Gcn5p 极为相似, 并证明 Gcn5p 本身就是一种 HAT.

真核细胞 HAT 分为两型: A 型主要存在于胞核中, 与染色质结合, 乙酰化染色质组蛋白; B 型主要存在于胞浆中, 乙酰化游离的组蛋白^[2].

酶抑制剂是研究组蛋白乙酰化的重要工具, 可用于观察其对基因转录, 细胞生长、分化的影响. 近来发现两种微生物代谢产物 trichostatin A (TSA) 和 trapoxin 是 HD 的特异强效抑制剂, 可在 nmol/L 水平抑制酶活性. TSA 是非竞争性抑制剂, 可逆性抑制 HD, 而 trapoxin 可与 HD 不可逆结合而抑制其活性.

组蛋白乙酰化状态呈多样性. 核小体上有多个位点可供乙酰化, 但特定基因部位的组蛋白乙酰化和去乙酰化以一种非随机的, 位点特异方式进行.

* 国家自然科学基金资助项目 (3948009).

收稿日期: 1996-06-18, 修回日期: 1996-10-09

2 组蛋白乙酰化与转录调节

2.1 组蛋白乙酰化与染色质构象

体外研究发现, 在类似生理条件的离子强度和缺乏 H1 时, 将乙酰化的组蛋白八聚体与海胆的 5S rRNA 基因的线状 DNA 结合后, 乙酰化的核小体复合物呈伸展状态, 而未乙酰化的对照组核小体的构象呈紧缩状态^[3]. 如在体外将组蛋白乙酰化, 可发现与其结合的染色质折叠程度降低^[4].

2.2 组蛋白乙酰化与转录活性

组蛋白乙酰化与转录活性有密切关系: 高乙酰化组蛋白特异地聚集于活性染色质功能区; 低乙酰化组蛋白聚集在无转录活性的非功能区. 体外将核心颗粒中 H2A·H2B 二聚体乙酰化^[5]或 (H3·H4)₂ 四聚体乙酰化^[6]后, 组蛋白对转录的抑制作用大大减弱, RNA 合成效率提高. 用 TSA 抑制 HD 后, 组蛋白 H4 乙酰化程度提高, 可引起人类脐静脉内皮细胞中组织纤溶酶原激活因子 (t-PA) 产量增加^[7]. Giardot 等^[8]发现 TSA 诱导的组蛋白乙酰化与组蛋白 H1^o (H1 家族中一类分化相关蛋白) 基因表达密切相关. H1^o 启动子对染色质乙酰化很敏感, H4 单一乙酰化已足以使其表达增加. 用 5 μg/L TSA 处理野生型 FM3A 细胞可观察到 H1^o 基因的高表达, 在其衍生的 TSA 抗性细胞系 TR303 (无 TSA 时, 单一乙酰化的 H4 水平已经很高) 中, 也能观察到 H1^o 的高表达. Vanlint 等^[9]最近发现: HIV-1 病毒基因与宿主细胞基因组整合后, 在其启动子转录起始位点有一个核小体 (nuc-1), 可抑制 HIV-1 基因转录, 使宿主细胞处于潜伏期. 用 trapoxin 或 TSA 抑制 HD 可使 nuc-1 破裂, HIV-1 转录启动, 病毒产量大大增加. 这说明 HIV-1 转录激活可通过染色质化学修饰完成. 以上事实都表明组蛋白乙酰化可激活转录.

2.3 组蛋白的定点乙酰化 (targetion)

Brownell 等^[3]通过阐明一类 HAT 分子的结构特征和作用方式, 将组蛋白乙酰化与基因活化直接联系起来, 并指出组蛋白乙酰化是针

对特异基因功能区的定点修饰方式. 据报道: 四膜虫核内 HAT 的一个亚单位 p55 与酵母 Gcn 5p 极其相似, 在羧基末端都有一段 60 个氨基酸残基的高度保守区 ——bromodomain^[10]. 这一区段存在于多种转录因子, 在染色质定点化学修饰中起重要作用.

Gcn5p 是一种转录调节因子, 通过与转录因子选择性相互作用而结合于特定基因启动子附近, 发挥 HAT 活性^[2]. 核小体组蛋白乙酰化水平的升高, 可使 DNA-组蛋白抑制性结构破裂, 有利于基本转录因子与转录起始部位结合以及转录起始复合物 (含有 RNA 聚合酶 II) 的产生. 这种转录激活作用特异性强, 定位于特定基因的功能区.

3 组蛋白乙酰化修饰的生物学功能

3.1 与细胞周期的关系

HD 的强效抑制剂 TSA 可抑制细胞增殖. 用正常大鼠成纤维细胞研究发现^[11]: TSA 可将增殖细胞特异地锁定在 G1 和 G2 期, 可见 G1, G2 期的演进需要 HD. 去除 TSA 后, 锁定在 G1 期的细胞同步进入 S 期, 而锁定在 G2 期的细胞不能进入 M 期, 而是再次进入 S 期, 形成增殖性四倍体细胞. 这可能是由于细胞内形成了 G2 到 G1 期的直接通道, 造成周期反复现象. 用 5 μg/L 及 100 μg/L 的 TSA 处理野生型 FM3A 细胞, 使其 70% 的 H4 乙酰化后仍可进行细胞分裂, 如用浓度更高的 TSA 处理, 则细胞增殖受抑制^[11]. 这表明至少一些染色质功能区的组蛋白乙酰化可造成生长抑制. TSA 引起的细胞周期锁定可能是由于其造成的组蛋白高乙酰化状态干预了细胞周期调节因子 (如周期蛋白) 的作用.

3.2 与细胞分化、衰老的关系

TSA 具有很强的诱导 MEL (murine erythroleukemia) 细胞分化的作用^[11], 将 MEL 细胞暴露在 nmol/L 浓度的 TSA 4~5 d 即可产生高分化的血红蛋白阳性细胞. 用 TSA 处理分化极低的肿瘤细胞, 如 HeLa 细胞, F9 细胞和其他转化细胞, 可诱导其形态学分化, 变

得与正常细胞形态相似^[12]。人类白血病 HL-60 细胞中, 乙酰化 H4 在编码区附近较多, 而中心和端粒异染色质 CCCTAA 重复序列的 H4 只有少量 (< 1%) 乙酰化; 用二甲基亚砷诱导 HL-60 分化后, 编码区 H4 乙酰化程度不变, 但中心异染色质区 H4 乙酰化水平短暂升高^[13]。这表明分化与核心蛋白乙酰化可能有某种联系。

TSA 可影响胚胎发育。低浓度 TSA 可在间充质形成前早期原肠胚阶段抑制海星胚胎发育。TSA 处理非洲爪蟾胚胎可延迟其原肠胚形成, 阻止正常的中胚层形成^[11]。表明组蛋白乙酰化调节在原肠胚形成阶段起重要作用。

近来发现, TSA 处理人类癌细胞系可诱导产生凝溶胶蛋白 (gelsolin), 一种 Ca^{2+} 依赖性肌动蛋白纤维切断和封顶蛋白。未分化和增殖力强的癌细胞系该蛋白水平很低, 而在高分化和不增殖的细胞系该蛋白高表达。用丁酸 (一种较弱的 HD 抑制剂) 处理 ν -ras 基因转化的成纤维细胞使之形态学上恶性发生逆转后, 凝溶胶蛋白水平剧烈升高^[12]。这表明凝溶胶蛋白基因表达的诱导可能与高乙酰化状态肿瘤细胞或转化细胞形态学上的回复有关。

在肝细胞核中, HAT 活性与年龄有关。不同年龄大鼠正常肝细胞和再生肝细胞中 HAT 活性随增龄而下降。组蛋白八聚体乙酰化程度亦随之降低, 其中 H3 和 H4 乙酰化程度降低尤其明显^[14]。组蛋白乙酰化速度亦降低, 似与衰老过程中肝细胞转录、增殖活性降低有关。同龄小鼠再生肝细胞中 HAT 活性高于正常肝细胞, 可能与肝细胞由 G_0 期转入 G_1 期, 由无转录、复制活性向有活性状态转变有关, 这或许是体内的一种代偿机制^[15]。

4 结 语

组蛋白乙酰化参与染色质构象及转录调节。其乙酰化状态呈多样性。特定基因部位的组蛋白乙酰化以位点特异方式进行。染色质特定部位的组蛋白乙酰化由组蛋白乙酰基转移酶和去乙酰化酶, 以及两者相对活性决定。

阐明组蛋白乙酰化在细胞生长、分化过程中的作用, 对于理解生物体生长、发育、衰老的分子机理及其调节具有重要意义。

参 考 文 献

- 1 Kleff S, Andrulis E D, Anderson C W *et al.* Identification of a gene encoding a yeast histone H4 acetyltransferase. *J Biol Chem*, 1995, **270** (42): 24674~ 24677
- 2 Allis C D, Zhou J X, Ranalli T *et al.* Tetrahymena histone acetyltransferase A: a homolog to yeast Gcn5p linking histone acetylation to gene activation. *Cell*, 1996, **84** (6): 843~ 851
- 3 Garcia-Ramirez M, Rocchini C, Ausio J. Modulation of chromatin folding by histone acetylation. *J Biol Chem*, 1995, **270** (30): 17923~ 17928
- 4 Krajewski W A. Effect of nonenzymatic histone acetylation on chromatin high-order folding. *Biochem Biophys Res Commun*, 1996, **221** (2): 295~ 299
- 5 Puerta C, Hernandez F, Lopez-Alarcon L *et al.* Acetylation of histone H2A • H2B dimers facilitates transcription. *Biochem Biophys Res Commun*, 1995, **210** (2): 409~ 416
- 6 Hernandez F. Transcriptional properties of oligonucleosomal templates containing acetylated (H3 • H4)₂ tetramers. *Biochem Biophys Res Commun*, 1995, **213** (1): 232~ 238
- 7 Arts J, Lansink M, Grimbergen J *et al.* Stimulation of tissue-type plasminogen activator gene expression by sodium butyrate and trichostatin A in human endothelial cells involves histone acetylation. *Biochem J*, 1995, **310** (1): 171~ 176
- 8 Giardot V, Rabilloud T, Yoshida M *et al.* Relationship between core histone acetylation and histone H1^o gene activity. *Eur J Biochem*, 1994, **224**: 885~ 892
- 9 Vanlint C, Emiliani S, Ott M *et al.* Transcriptional activation and chromatin remodeling of the HIV-1 promoter in response to histone acetylation. *EMBO J*, 1996, **15** (5): 1112~ 1120
- 10 Marcus G A, Silverman N, Berger S L *et al.* Functional similarity and physical association between GCN5 and ADA2: putative transcriptional adaptors. *EMBO J*, 1994, **13**: 4807 ~ 4815
- 11 Yoshida M, Horinouchi S, Beppu T. Trichostatin A and trapoxin: novel chemical probes for the role of histone acetylation in chromatin structure and function. *BioEssays*, 1995, **17** (5): 423~ 430
- 12 Hoshikawa Y, Kwon H J, Yoshida M *et al.* Trichostatin A induces morphological changes and gelsolin expression by inhibiting histone deacetylase in human carcinoma cell lines. *Exp Cell Res*, 1994, **214**: 189~ 197
- 13 O'Neill L P, Turner B M. Histone H4 acetylation distinguishes coding regions of the human genome from heterochromatin in a differentiation-dependent but transcription-independent manners. *EMBO J*, 1995, **14** (16): 3946~ 3957
- 14 童坦君, 张宗玉. 医学老年学: 衰老与长寿. 北京: 人民卫生出版社, 1995. 90~ 91
- 15 Kozurkova M, Misurova E, Kropacova K *et al.* Effect of aging and gamma radiation on acetylation of rat liver histones. *Mech Ageing Dev*, 1995, **78** (1): 1~ 14

Histone Acetylation and Its Roles in Transcriptional Regulation. REN Qinghu, TONG Tanjun (*Department of Biochemistry and Molecular Biology, Beijing Medical University, Beijing 100083, China*).

Abstract Histone acetylation has profound effects on chromatin structure, and it is directly

linked to the gene activation of specific domains on genomic DNA. Histone acetylation is one of the most important ways in transcriptional regulation, functioning in the processes of cellular proliferation, differentiation and senescence.

Key words histone, acetylation, transcriptional regulation

MRP 基因与肿瘤的多药耐药性

毕 锋 张学庸 樊代明

(第四军医大学西京医院, 西安 710032)

摘要 在人肿瘤非典型性多药耐药机制的研究中发现了一个新的基因——多药耐药相关蛋白基因 (*MRP*)。该基因位于人 16 号染色体 P13: 3, 编码 1 531 个氨基酸。其产物为多药耐药相关蛋白 (*MRP*), 分子质量 190 ku, 故又名 p190。MRP 属 ABC 超家族成员, 主要分布在细胞的质膜上。MRP 的功能可能是在能量依赖的外排系统中发挥作用。除了一些肿瘤细胞系外, *MRP* 基因的高表达还见于一些血液系肿瘤及乳腺癌等。*MRP* 基因的高表达还可能与某些肿瘤的复发和预后有关。

关键词 多药耐药相关蛋白, 肿瘤, 抗药性, *MRP* 基因

肿瘤细胞的多药耐药性 (multidrug resistance, MDR) 一直是影响肿瘤化疗疗效的重要因素。近些年来, 肿瘤 MDR 发生机理的研究从以往单纯的细胞生物学机制的研究逐步发展到分子生物学机制的探讨, 特别是分子水平的研究进展较快。自 MDR1 基因的发现及分离成功后^[1], 又发现了许多与 MDR 相关的蛋白和基因。多药耐药相关蛋白 (multidrug resistant associated protein, *MRP*) 及其编码基因即是其中较重要的一个。

1 MRP 基因

尽管不少耐药的肿瘤细胞系和肿瘤患者有 P-糖蛋白 (由 *MDR1* 编码) 的高表达, 但仍有许多耐药的肿瘤细胞系无此现象。*MDR1* 在肿瘤患者中的表达也并不十分常见。这些均提示 P-糖蛋白的高表达显然不是肿瘤 MDR 的唯一因素, 肿瘤细胞的耐药机制还远未阐明。

1989 年, McGrath^[2] 在两株耐药细胞系 HL60/VCR 和 HL60/ADR 中发现, 尽管两者

胞内均有抗肿瘤药物浓度的减少, 但前者有 P-糖蛋白的表达, 后者却没有。维拉帕米又均能使两者细胞内药物的蓄积增加, 用 AZ ATP32 标记法发现在 HL60/ADR 的细胞膜上有一种亲本细胞中不存在的蛋白质, 分子质量为 190 ku。据此, 他们认为发现了一种新的耐药相关蛋白——p190, 并推测其功能可能是在能量依赖的外排系统中发挥作用。

Cole 等^[3] 在用阿霉素筛选的具有多药耐药性的小细胞肺癌细胞系 H69AR 发现: a. H69AR 无 *MDR1* mRNA 及其产物 P-糖蛋白的高表达; b. H69AR 中蓄积的阿霉素无明显外排现象; c. 环孢菌素 A 等化疗增敏剂可使 H69AR 的耐药逆转。因此他们开始寻找引起 H69AR 耐药的蛋白质。通过随机引物法建立 H69AR 的 cDNA 文库并经差式杂交进行筛选, 经用一个 2.8 kb 的 cDNA 进行杂交, 在 H69AR 中发现了一个强阳性克隆, 其浓度比