

组蛋白脱乙酰化酶及其与基因转录的关系*

陈 坚¹⁾ 张晓琴¹⁾ 傅继梁²⁾

(¹⁾第二军医大学军队卫生教研室, 上海 200433; ²⁾第二军医大学医学生物技术和分子遗传研究所, 上海 200433)

摘要 含有组蛋白脱乙酰化酶活性的分子有两类: 一类是与酵母 RPD3 同源的分子, 另一类是与 RPD3 不同源的分子. 它们各有其不同的来源, 存在于各自的复合物中, 催化不完全相同的组蛋白或其他蛋白质脱乙酰化; 这些脱乙酰化酶与基因转录的调控存在着密切的关系, 主要是介导基因转录的抑制.

关键词 组蛋白脱乙酰化酶, 基因转录, 组蛋白脱乙酰化

学科分类号 Q784

组蛋白乙酰化和脱乙酰化与基因转录的关系是错综复杂的. 一般认为, 组蛋白的乙酰化与基因转录的激活有关, 而组蛋白的脱乙酰化与基因转录的抑制有关. 早在 1991 年, 就有人发现鸡红细胞的细胞核基质内存在有组蛋白脱乙酰化酶 (histone deacetylase, HDAC). 目前, 已经发现的含有组蛋白脱乙酰化酶活性的分子有两类: 一类是与酵母 RPD3 同源的分子, 包括 yRPD3、HDAC1、HDAC2、HDAC3 等; 另一类是与 RPD3 不同源的分子, 包括玉米 HD2、与酵母 HAD 同源的 HDAC 等. 它们各有其不同的来源, 存在于各自的复合物中, 催化不完全相同的组蛋白或其他蛋白质脱乙酰化; 这些脱乙酰化酶与基因转录的调控存在着密切的关系.

1 与 RPD3 同源的 HDAC

1996 年, 美国哈佛大学的 Taunton 等^[1]利用经过改造的组蛋白脱乙酰化抑制剂 Trapoxin 作亲和基质, 分离了人的 HDAC1, 其蛋白质含 482 个氨基酸, 分子质量约 55 ku, 发现其与 Vidal 等^[2]在酿酒酵母中发现的与基因转录调节有关的蛋白质 RPD3 有 60% 的同源性. 其重组蛋白有组蛋白脱乙酰化的活性. Rundlett 等^[3]也证实了酵母 RPD3 与酵母组蛋白的脱乙酰化有关: 含有酵母 RPD3 的复合物可使组蛋白脱乙酰化, 而 RPD3 突变可提高组蛋白 H3 和 H4 的乙酰化. 后来, Bartl 等从小鼠 T 细胞中克隆了白介素 2 诱导的小鼠 HDAC1 基因. 虽然与酵母 RPD3 有高度同源性, 但不能补偿酵母 RPD3 缺失导致的功能突变.

HDAC1 发现的同年 (1996 年), Yang 等^[4]利用酵母双杂交系统寻找与哺乳动物转录因子 YY1

相互作用的蛋白质时, 找到了一个与酵母 RPD3 有高度同源性和人和鼠的 HDAC2, 与 HDAC1 比较有 85% 的一致性.

1997 年底, 有两个实验室各自独立地发现了 HDAC3. Yang 等^[5]从 EST 数据库中找到与 HDAC1 和 HDAC2 有高度同源性的一段 EST, 将其用作探针筛选人成纤维细胞和 HeLa 细胞 cDNA 文库, 获得一条新的完整的 cDNA, 命名为 HDAC3 cDNA. 是一个编码 428 个氨基酸, 分子质量约为 49 ku 的蛋白质, 其序列与 HDAC1 比较, 有 60% 相似, 53% 相同; 与 HDAC2 比较, 有 58% 相似, 52% 相同. 与其他 RPD3 相关蛋白也有高度同源性. 但 HDAC3 的 C 端与其他 HDAC 是不同的. 另外, 他们还发现了 HDAC3 的两个不同形式: 一个是 HDAC3 氨基端截断的 HDAC3C, 另一个是氨基端有两个重复序列的 HDAC3A. Emiliani 等^[6]也独立地从 EST 数据库中筛选到与 RPD3 高度同源的 HDAC3. 他们两者的研究均表明, 与 HDAC1 和 HDAC2 一样, HDAC3 也广泛地在不同的组织中表达, 主要是在细胞核中表达. Emiliani 等的实验还显示, HDAC3 既对游离的组蛋白 H4 有 HDAC 活性, 又对纯化的核小体组蛋白 H3 和 H4 有 HDAC 活性. HDAC 抑制剂丁酸、TPX、TSA 可抑制 HDAC3 的功能. 最近, Mahlknecht 等克隆了 HDAC3 的基因组, 长约 13 kb, 包含 15 个外显子, 原位杂交显示, 其位于染色体 5q31 上.

HDAC1、HDAC2 和 HDAC3 与酵母 RPD3 均具有高度的同源性, 具有相似的结构和某些相同的

* 国家自然科学基金资助项目 (39800082).

Tel: (021) 25070311, E-mail: chenjian@263.net

收稿日期: 1999-11-12, 修回日期: 2000-07-20

功能, 属于同一家族. 它们共同存在于细胞中, 各个 HDAC 可能也有其不同的功能. HDAC1 和 HDAC2 可通过与共抑制子 mSin3 的相互作用被招募到相应的启动子区域, 而 HDAC3 却不能与 mSin3 相互作用, 用抗 HDAC3 抗血清获得的免疫沉淀物中的蛋白质, 与抗 HDAC1 抗血清获得的免疫沉淀物中的蛋白质不相同. 这些结果表明, HDAC3 被招募到的启动子与 HDAC1 或 HDAC2 的不同. 另外, 各个 HDAC 具有不完全相同的功能还可能与其催化的底物不同有关, HDAC3 对 H4 的脱乙酰化作用比 HDAC1 更加完全. Hassig 等^[7]也研究了人的三种 HDAC 的生化性质和各自特异的底物. HDAC1、HDAC2、HDAC3 的免疫沉淀物的 HDAC 活性在体外均可被 trapoxin (TPX) 抑制. 在 HeLa 细胞中 HDAC1 和 HDAC2 在同一个复合物中, 而与 HDAC3 免疫复合物分开.

除了哺乳动物细胞存在有与 RPD3 同源的 HDAC 外, 人们也陆续发现在其他生物中也存在有与 RPD3 同源物. 例如 de Rubertis 等克隆了果蝇的 RPD3 同源物. Takami 等克隆了两个鸡的 HDAC, 主要分布在核中. Joshi 从 *Plasmodium falciparum* 的基因组和 cDNA 文库中克隆了 HDAC 的基因, 其编码蛋白质含 449 个氨基酸残基, 与人、酵母和其他真核生物的 HDAC 有高度同源性, 其分子质量约为 50 ku. Rossi 等则从玉米中克隆了一个 RPD3 同源物的 cDNA, 在功能上可补偿酵母 rpd3 的无义突变. 同时发现玉米中 RPD3 同源物基因是一个多基因家族. Lodomery 等则克隆了蟾蜍的 HDAC: HDm. 与其他 HDAC 比较, 发现从蛋白质的 N 端到中心区域是 HDAC 的保守区. 与其他乙酰化代谢相关的酶比较, 也有共同的保守区. 提示 HDAC 是属于乙酰化代谢酶古老家族中的一员. 另外, 还在丽线虫 *C. elegans* 和 *X. laevis* 中发现了 RPD3 的同源物.

2 与 RPD3 不同源的 HDAC

Lechner 等^[8]发现玉米中还存在有其他 3 种 HDAC, 与 RPD3 没有同源性: HD1-A, HD1-B (I, II) 和 HD2, 进一步发现, HD1-B 又可分成 2 个独立的 HDAC: HD1-B I 和 HD1-B II. HD1-A 又可分为磷酸化和非磷酸化形式. 后来, 进一步发现纯化的 HD2 是一个约 400 ku 的酸性的核磷酸化蛋白质, 它可与染色质结合, 调节核糖体染色质的结构和功能.

最近, 有数家实验室分别独立发现了与 RPD3 不同源的, 而与另一个酵母组蛋白脱乙酰化酶 Hda1 同源的 HDAC. 例如 Grozinger 等^[9]根据酵母 Hda1 蛋白序列, 从人 EST 文库中筛选到 3 个另一类人 HDAC (HDAC4、5、6), 其蛋白质含有第一类 HDAC 的催化功能域的一些特征, 但还包含其他序列功能域. 免疫共沉淀显示这些 HDAC 不包含在 HDAC1 和 HDAC2 复合物中, 而 HDAC4 和 HDAC5 与 HDAC3 在体内相互作用. 提示第二类 HDAC 与 HDAC1 和 HDAC2 在细胞内有不同的功能. Verdel 等^[10]则在小鼠中发现了与酵母 Hda1 同源的 HDAC, 其中的一个 mHDA2 包含有两个脱乙酰化酶的功能域, 而另一个 mHDA1 仅包含有一个脱乙酰化酶的功能域, 位于其 C 端. 它们的酶活性在体外可被 TSA 抑制. Emiliani 等^[11]也克隆了一个与酵母 HDA1 同源的 HDAC-A, 其蛋白质含有 967 个氨基酸残基.

综上所述, HDAC 存在于不同的生物中, 而且, 许多生物存在多种不同的 HDAC, 也各自与不同的蛋白质相互作用, 具有较特异的乙酰化底物和位点的特异性. 在不同 HDAC 的研究过程中, 人们发现许多 HDAC 与基因转录的调控有密切的关系.

3 HDAC 与基因转录的抑制有关

一般认为, 核心组蛋白脱乙酰化导致基因转录受到抑制. 在 HDAC 克隆以前, 人们就发现, 低乙酰化的组蛋白在基因抑制区域积聚, 同时 HDAC 抑制剂能够诱导某些不同基因的转录, 提示 HDAC 与基因的抑制有关.

早在 1991 年, Vidal 等^[2]就发现, 在后来证明为组蛋白脱乙酰化酶的 RPD3 缺失的酵母中, 有的基因转录活性提高了 2~5 倍, 提示酵母 RPD3 可抑制基因的转录. 另外, Yang 等^[5]找到的 HDAC2, 既可介导 YY1 的转录抑制效应, 也有直接抑制转染质粒转录的作用. Nagy 等也发现了 Gal4-HDAC1 融合蛋白可抑制体外转染质粒的转录. 1997 年, 有数家实验室报道了组蛋白脱乙酰化酶与某些位点特异的 DNA 结合的转录抑制子之间的关系. Pazin 等^[12]综合其内容, 对两者的关系提出了一种解释: 首先, DNA 结合的转录抑制子 (例如, Mad 家族、非配体化的核受体、Ume6) 结合到转录共抑制子 Sin3 (包括酵母 Sin3 或哺乳动物的 Sin3A 和 Sin3B), Sin3 再结合组蛋白脱乙

酰化酶 HDAC, 此复合物位于启动子附近, 使核心组蛋白脱乙酰化, 基因转录受到抑制。另外, 转录共抑制子 N-CoR 或 SMRT 也能与 Sin3 结合, 二者共同与 HDAC 结合成复合物, 抑制转录。综上所述, 组蛋白脱乙酰化酶可能最终介导了位点特异 DNA 结合的转录抑制子的转录抑制功能。

1998 年, Brehm 等^[13]发现了 Rb 可与 HDAC 相互作用, 可通过招募 HDAC 复合物抑制 E2F 基因转录。Lin 等^[14]也发现了急性早幼粒细胞白血病 (acute promyelocytic leukaemias, APL) 融合蛋白与 HDAC 复合物相互作用模型: 染色体转位产生了 PML-RAR α 、PLZF-RAR α 两种融合蛋白, 它们通过与转录共抑制子 N-CoR 或 SMRT 的相互作用, 招募 HDAC 复合物到维甲酸靶基因的启动子区域, 使组蛋白脱乙酰化, 抑制基因转录。Nan^[15]和 Jones^[16]等则发现, 甲基化结合蛋白 MeCP2 也可招募 HDAC 复合物, 而抑制基因转录。

最近, Koipally 等^[17]发现, 淋巴系决定因子 (lymphoid lineage-determining factors) Ikaros 和 Aiolos 是较强的转录抑制子, Ikaros 及其转录抑制功能域在体内外均可与 mSin3 共抑制子相互作用, 从而结合 HDAC 复合物, 因此, 他们认为在淋巴系统发育时, Ikaros 家族成员通过招募 HDAC 复合物到启动子区域, 而修饰基因表达。

有关研究确实证明了上述位点特异的转录抑制涉及到局部组蛋白的脱乙酰化和局部染色质结构的修饰。例如, Rundlett 等^[18]用组蛋白 H4 特异性抗体 (对 H4 不同部位的单个位点乙酰化特异性) 沉淀染色质成分, 来研究 UME6 调节基因上的组蛋白乙酰化状况: RPD3 或 SIN3 的缺失突变导致 UME6 调节的 INO1、IME2、和 SPO13 基因启动子上 H4 的第 5 位赖氨酸乙酰化的升高, 提示 RPD3 和共抑制子在 UME6 调节的基因上的定位可使附近组蛋白 H4 的第 5 位赖氨酸脱乙酰化, 抑制基因转录。后来, 有人用染色质免疫沉淀方法, 分析酵母细胞体内受抑的启动子上染色质结构状况, 发现依赖与 DNA 结合抑制子 UME6、SIN3 和 RPD3 的组蛋白 H3 和 H4 (尤其是其第 5、12 位赖氨酸) 的乙酰化下降。

因此, HDAC 主要是与基因转录的抑制有关。但是, 并非所有转录抑制子的转录抑制功能都是由组蛋白脱乙酰化酶介导的。例如, 有人发现, 酵母 Rpd3 对于转录抑制子 Cyc8-Tup1 和 Acr1 也不是必要的。另外, 有人发现, 缺失 mSin3A 中与

HDAC2 相互作用的区域后, 没有消除 mSin3A 的转录抑制功能; 还有人发现, mSin3B 的截断形式 mSin3Bsf 不能与 HDAC1 结合, 但能抑制转录。这都说明, 共抑制子 mSin3A 和 mSin3B 的抑制转录功能也并非必须结合组蛋白脱乙酰化酶。van Lint 等用脱乙酰化酶抑制剂 trichostatin A 处理不同的细胞, 在检测的 340 个基因中, 仅发现 8 个基因的转录活性发生了变化。因此, 组蛋白脱乙酰化可能是介导某些转录抑制子的抑制转录的充分条件, 而非必要条件。

4 HDAC 与基因激活的关系

此外, 人们还发现, 组蛋白脱乙酰化酶也可能与基因转录的激活有关。例如, Vidal 等^[2]发现, 在 RPD3 缺失的酵母中, 也可使一些基因转录抑制 2~5 倍。后来, Rundlett 等^[3]也发现酵母 RPD3 的缺失抑制了 PHO5 启动子的激活。de Rubertis 等^[19]则发现果蝇 RPD3 的缺失抑制果蝇某些基因的转录激活。Olsson 等^[20]也发现, 裂殖酵母组蛋白脱乙酰化酶 had+ 的缺失增强了位于端粒附近、结合位点附近和中心粒中的标记基因转录的抑制。这些都说明组蛋白脱乙酰化酶还可能介导基因转录的激活。

那么, 组蛋白乙酰化和脱乙酰化究竟如何调控基因转录? 其机理怎样? 细胞中是否还存在有其他 HDAC 等这些问题, 仍需要进一步研究。

参 考 文 献

- 1 Taunton J, Hassig C A, Schreiber S L. A mammalian histone deacetylase related to the yeast transcriptional regulator Rpd3p. *Science*, 1996, **272** (5260): 408~411
- 2 Vidal M, Gaber R F. RPD3 encodes a second factor required to achieve maximum positive and negative transcriptional sites in *Saccharomyces cerevisiae*. *Mol Cell Biol*, 1991, **11** (12): 6317~6327
- 3 Rundlett S E, Carmen A A, Kobayashi R, *et al.* HDA1 and RPD3 are members of distinct yeast histone deacetylase complex that regulate silencing and transcription. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1996, **93** (25): 14503~14508
- 4 Yang W-M, Inuye C, Zeng Y, *et al.* Transcriptional repression by YY1 is mediated by interaction with a mammalian homolog of the yeast global regulator RPD3. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1996, **93** (23): 12845~12850
- 5 Yang W M, Yao Y L, Sun J M, *et al.* Isolation and characterization of cDNAs corresponding to an additional member of the histone deacetylase gene family. *J Biol Chem*, 1997, **272** (44): 28001~28007
- 6 Emiliani S, Fischie W, Lini C V, *et al.* Characterization of a human RPD3 ortholog, HDAC3. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, **95** (6): 2795~2800

- 7 Hassig C A, Tong J K, Fleischer T C, *et al.* A role for histone deacetylase activity in HDAC1-mediated transcription repression. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, **95** (7): 3519~ 3524
- 8 Lechner T, Lusser A, Brosch G, *et al.* A comparative study of histone deacetylase of plant, fungal and vertebrate cells. *Biochim Biophys Acta*, 1996, **1296** (2): 181~ 188
- 9 Grozinger C M, Hassig C A, Schreiber S L. Three proteins define a class of human histone deacetylases related to yeast Hda1p. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1999, **96** (9): 4868~ 4673
- 10 Verdel A, Khochbin S. Identification of a new family of higher eukaryotic histone deacetylases. Coordinate expression of differentiation-dependent chromatin modifiers. *J Biol Chem*, 1999, **274** (4): 2440~ 2445
- 11 Emiliani S, Hendzel M J, Nagase T, *et al.* A new family of human histone deacetylases related to *Saccharomyces cerevisiae* HDA1p. *J Biol Chem*, 1999, **274** (17): 11713~ 11720
- 12 Pazin M J, Kadonaga J T. What's up and down with histone deacetylation and transcription? *Cell*, 1997, **89** (3): 325~ 328
- 13 Brehm A, Miska E A, McCance D J, *et al.* Retinoblastoma protein recruits histone deacetylase to repress transcription. *Nature*, 1998, **391** (6667): 597~ 601
- 14 Lin R J, Nagy L, Inoue S, *et al.* Role of the histone deacetylase complex in acute promyelocytic leukaemia. *Nature*, 1998, **391** (6669): 811~ 814
- 15 Nan X, Ng H H, Johnson C A, *et al.* Transcriptional repression by the methyl-CpG-binding protein MeCP2 involves a histone deacetylase complex. *Nature*, 1998, **393** (6683): 386~ 389
- 16 Jones P L, Veenstra G J, Wade P A, *et al.* Methylated DNA and MeCP2 recruit histone deacetylase to repress transcription. *Nat Genet*, 1998, **19** (2): 187~ 191
- 17 Koipally J, Renold A, Kim J, *et al.* Repression by Ikaros and Aiolos is mediated through histone deacetylase complexes. *EMBO J* 1999, **18** (11): 3090~ 3100
- 18 Rundlett S E, Carmen A A, Suka N, *et al.* Transcription by UME6 involves deacetylation of lysine5 of histone H4 by RPD3. *Nature*, 1998, **392** (6678): 831~ 835
- 19 de Rubertis F, Kadosh D, Henchoz S, *et al.* The histone deacetylase RPD3 counteracts genomic silencing in *Drosophila* and yeast. *Nature*, 1996, **384** (6609): 589~ 588
- 20 Olsson T G S, Ekwall K, Allshire R C, *et al.* Genetic characterisation of hda1⁺, a putative fission yeast histone deacetylase gene. *Nucleic Acids Res*, 1998, **26** (13): 3247~ 3254

Histone Deacetylase and It's Relationship with Gene Transcription. CHEN Jian, ZHANG Xiao-Qin, FU Ji-Liang¹⁾ (*Department of Military Hygiene, ¹⁾ Institute of Medical Biotechnology and Molecular Genetics, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China*).

Abstract There are two kinds of molecular containing histone deacetylase activity: One is homology with yeast RPD3, and another is not homology with yeast RPD3. These deacetylases have different sources, exist in different complex, and catalyze different histone or other proteins deacetylation; There are close relationship between deacetylases and the regulation of gene transcription, especially repression of gene transcription.

Key words histone deacetylase, gene transcription, histone deacetylation

细菌鞭毛马达——一种卓越的分子机器

邓国宏 徐启旺 刘俊康 丛严广

(第三军医大学生物波研究中心, 重庆 400038)

摘要 鞭毛马达 (flagellar motor) 是一种分子旋转马达, 它在细菌鞭毛的结构与功能中起着中心作用. 鞭毛马达的结构已基本清楚, 主要由 Mot A、Mot B、Fli G、Fli M 和 Fli N 5 种蛋白组成定子 (stator) 和转子 (rotor), 其驱动力来自于跨膜的 H⁺ 或 Na⁺ 流. 目前对鞭毛马达的旋转动力学及旋转力矩产生机制已有初步的了解. 鞭毛马达可作为研究分子旋转马达的理想模型, 对其深入研究将有助于认识生物能量转化利用及细胞运动的机制并具有广泛的生物学意义.

关键词 鞭毛马达, 质子运动力, 分子旋转马达

学科分类号 Q935