

表观遗传之染色质重塑*

丁健 王飞 金景姬 蔡勇**

(吉林大学生命科学学院, 长春 130012)

摘要 真核细胞中的染色质重塑因子种类繁多, 多数以蛋白多聚体的形式存在于细胞中. 不同的染色质重塑因子在特定时间定位于特定的核小体上, 通过改变染色质结构, 影响基因转录活性, 进而确保细胞内各种生物学过程的正确运行. 另外, 染色质重塑因子根据所含功能结构域的不同, 大致分为 SWI/SNF、ISWI、CHD 和 INO80 四大家族, 不同的染色质重塑因子之间既有蛋白质结构和酶活性的相似性, 各自又有其特异性. 本综述的宗旨在于全面概括和总结染色质重塑因子的分类、结构特点以及其在细胞内的生物学功能, 为深入研究染色质重塑因子的生物学功能, 尤其是在发育和疾病发生中的作用机制提供理论基础.

关键词 染色质重塑, 核小体滑动, 组蛋白变异体置换, 基因转录

学科分类号 Q71

DOI: 10.16476/j.pibb.2015.0225

在真核生物中, 由 DNA 缠绕在组蛋白八聚体上形成染色质的基本结构单位——核小体, 再由链接 DNA(linker DNA)连接并进行高度折叠形成染色质, 最终被包装入细胞核中. 经典核小体是由经典组蛋白, 包括 2 个 H2A-H2B 异源二聚体和 1 个 (H3-H4)₂ 异源四聚体的组蛋白八聚体, 以及缠绕其上的约含 147 bp 的双螺旋 DNA 所组成. 非经典核小体具有相同的结构, 但是其中几个经典组蛋白可以被一些组蛋白变异体所替换, 从而使原有的染色质结构特征发生相应的改变. 参与组成核小体的每种组蛋白都具有一个 N 端“尾巴”伸出核小体外, 其上包含多种不同的氨基酸位点可以被多种酶所共价修饰, 从而对染色质的结构和功能起到重要的调控作用. 电镜下, 核小体之间由 linker DNA 相连形成串珠样结构, 这一染色质的一级结构在组蛋白(接头组蛋白)H1 的帮助下, 折叠成 6 个核小体/周的 30 nm 螺旋状结构, 并在 SMC (structural maintenance of chromosome)复合物的帮助下进一步折叠形成染色质高级结构, 最终使总长近 2 m 的基因组 DNA 分子包装进约 2 μm 大小的细胞核中. 所形成的染色质可根据其活跃程度大致分为 3 类: 活跃染色质、常染色质和非活跃异染色质. 但是, 到目前为止, 各种染色质的细微结构并不十分

清楚.

高度折叠的染色质结构对其包装进细胞核是必要的, 但是这种致密状态的染色质却阻碍了相应染色质部位的基因转录、DNA 复制及损伤修复等过程. 因此, 真核生物随着进化产生了一组染色质重塑酶和一些相关蛋白因子, 通过调控染色质上核小体的装配、拆解和重排等来调控染色质的结构. 其中就有一类蛋白质可以利用 ATP 水解产生的能量驱动核小体在 DNA 上的“滑动”, 或者介导核小体中组蛋白变异体与经典组蛋白之间的“置换”, 这类蛋白质就是 ATP 依赖的染色质重塑因子, 通常由多个亚基组成一个较大分子质量的染色质重塑复合物.

在真核细胞中, 染色质重塑因子通过改变染色质上核小体的装配、拆解和重排等方式来调控染色质结构, 从而改善转录因子等转录相关因子在其染色质 DNA 局部的可接近性. 在染色质重塑因子的

* 国家自然科学基金资助项目(31071131, 31171245)和中国科学院生物物理研究所生物大分子国家重点实验室开放课题(O5SY02110A, 2012kf04).

** 通讯联系人.

Tel/Fax: 0431-8515-5132, E-mail: caiyong62@jlu.edu.cn

收稿日期: 2015-07-22, 接受日期: 2015-07-23

作用下染色质结构趋于疏松时, 则增加了 RNA 聚合酶 II、转录因子等对染色质 DNA 的可接近性, 从而启动基因的转录。相反, 当染色质结构趋于致密时, RNA 聚合酶 II 和转录因子等对染色质 DNA 的可接近性减弱, 从而抑制了相关基因的转录。综上所述, 染色质重塑因子在基因转录调控中起着关键性的作用, 并参与细胞内多种重要的生物学过程。本文将综合已发表的对染色质重塑因子的相关研究, 从其结构组成、作用机制、翻译后修饰、与 DNA 甲基化修饰以及与发育和癌症发生间的关系等方面归纳总结。

1 染色质重塑因子的发现和鉴定

1.1 染色质重塑复合物的发现

最早发现和熟知的染色质重塑复合物 SWI (Switch)/SNF (sucrose nonfermenting), 最初是在酵母细胞中发现的。因其参与调控转化酶 SUC2 (sucrose invertase) 和核酸内切酶 HO (homothallic switching endonuclease) 基因的表达, 其中 SUC2 是蔗糖发酵所必需, HO 是交配型转换开关, 所以该复合物被取名为 SNF/SWI^[1-3]。SWI/SNF 复合物的核心亚基 Swi2/Snf2 具有类似于解旋酶的结构, 而且具有 DNA 诱导的 ATPase 活性。之后的研究发现, SWI/SNF 不仅对酵母基因具有广泛的调控作用^[3], 而且复合物中的各亚基在基因转录调控过程中相互依赖、相互协同, 说明 SWI/SNF 在细胞内可能以多亚基复合物的形式发挥生物学功能。随着 SWI/SNF 复合物从酵母和哺乳动物细胞中相继被纯化和鉴定, 对它的了解也越来越清晰。纯化的 SWI/SNF 复合物在体外试验中具有 ATP 依赖的改变染色质结构的活性, 并可以促进转录调控因子在所暴露出来的特定 DNA 序列上的募集^[4]。随着研究的进展, 果蝇和哺乳动物细胞中的 SWI/SNF 染色质重塑复合物的类似物也逐渐被发现和鉴定^[5]。例如, 果蝇中的 Swi2/Snf2 同源物 brahma (brm) 是在研究转录抑制蛋白 polycomb group (PcG) 时被发现^[6]。而在哺乳动物细胞中发现 Brm 在发育及细胞稳态中发挥着重要作用^[3]。从酵母到人细胞, Swi2/Snf2 类似染色质重塑复合物的催化亚基 ATPase, 在不同物种中存在着序列的保守性, 而且在进化过程中随着染色质结构的变化而更加复杂。目前已知的、潜在的染色质重塑因子有近 1 300 个(约 30 个在人细胞中), 统称为 SNF2 家族蛋白。根据它们的结构特征又可以分为 23 个亚家族^[7]。

1.2 染色质重塑因子家族分类

染色质重塑复合物是依赖 ATP 水解产生的能量来执行重塑功能的, 其核心亚基是它的 ATPase 催化亚基。现行的重塑复合物亚家族分类也是根据其催化亚基 ATPase 的结构特征而分类^[8], 大致可以归为 4 类: SWI/SNF、ISWI、CHD 和 INO80/SWR1^[9](表 1)。目前, 研究最清楚的 ATPase 催化亚基——Swi2/Snf2、ISWI、Chd1、Ino80、Swr1 是各亚家族的代表, 这些亚家族也因此命名。不同亚家族的催化亚基 ATPase 具有相似的功能结构域, 同时又具有各自特异的氨基酸序列和结构域。如: Ino80/SWR1 亚家族成员 ATPase 的一个显著特点是在 Helicase motif 中有一段约 300 个氨基酸长片段的插入。SWI2/SNF2 亚家族 ATPase 则具有一段 bromodomain 结构域。这个区域可以识别和结合组蛋白乙酰化的赖氨酸。另外, ISWI 亚家族 ATPase 的羧基端具有特异性的 SANT-SLIDE 结构域, 而 CHD 型 ATPase 的氨基端则有 chromodomain 结构域, 可以识别并结合组蛋白 H3 上甲基化的赖氨酸^[10]。除了这些独有的 ATPase 的结构域, 不同重塑酶亚家族还有一些其他结构域。例如 HSA (helicase-SANT-associated) 结构域, 可以结合 ARPs (actin-related protein), 它只在 SWI/SNF、RSC、SWR1 和 Ino80 复合物中出现^[11]。当然, 这种分类方法也有它的局限性。比如, CHD1 重塑酶 ATPase 的羧基端包含一段类似“SLIDE”的区域, 而这个“SLIDE”-DNA 结合域到目前为止被认为是属于 ISWI 亚家族的特点^[12](图 1)。

1.3 染色质重塑复合物的亚基组成

除了 CHD1 和 CHD2 染色质重塑酶可以单独发挥其重塑功能, 即改变核小体 -DNA 之间的定位关系外, 大多数重塑酶在体内通常以组成多亚基复合物的形式来行使其重塑功能, 所以称之为“染色质重塑复合物”。每一种重塑复合物所包含的亚基数目各不相同, 少的只有几个, 如 ISWI 家族复合物, 而多的则有十几个, 如 Ino80 家族中的 Ino80 和 SWI2 复合物(表 1)。尽管我们目前对大多数亚基在染色质重塑复合物中所起的作用并不十分清楚, 但是可以推测它们在特定位点的识别、特异蛋白的结合、复合物结构的稳定以及酶活性的调节等过程中发挥各自重要的作用。换言之, 这些染色质重塑复合物的亚基可能帮助复合物井然有序地参与细胞内的各种生物学过程, 如基因转录、DNA 复制和损伤修复等。

Table 1 Classification and subunit composition of chromatin remodeling complexes

表 1 染色质重塑复合物的分类、催化亚基以及组成复合物的亚基数

超家族		生物种属												
		酵母			果蝇			人类						
SWI/SNF 亚家族	复合物 (亚基数)	SWI/SNF (12)		RSC (17)		BAP (11)		PBAP (12)		BAF (10)			PBAF (12)	
	催化亚基	Swi2/Snf2		Sth1		Brm/Brahma			hBrm or Brg1			Brg1		
ISWI 亚家族	复合物 (亚基数)	ISWI (2)	ISWIb (3)	ISWI2 (2)	NURF (4)	ACF (2)	CHRAC (4)	ACF (2)	CHRAC (4)	NoRC (2)	RSF (2)	WICH (2)	NURF (3)	
	催化亚基	ISWI1		ISWI2	ISWI			Snf2H				Snf2L		
CHD 亚家族	复合物 (亚基数)	CHD1 (1)			CHD1 (1)	CHD2 (1)	NuRD (6)	CHD1 (1)		CHD2 (1)		NuRD (7)		
	催化亚基	Chd1			Chd2	Chd2	Mi-2	Chd1		Chd2		Chd3/Chd4 (Mi-2 α /Mi-2 β)		
INO80 亚家族	复合物 (亚基数)	<i>yINO8</i> (15)	SWR1 (16)	<i>dINO80</i> (7)		Tip60 (16)		INO80 (15)		SRCAP (9)		TRRAP/Tip60 (16)		
	催化亚基	Ino80	Swr1	Ino80		Domino		hIno80		SRCAP		P400		

SWI/SNF: 切换缺陷 / 蔗糖不发酵; RSC: 染色质结构重塑复合物; BAP/PBAP: BRM 相关蛋白 /Polybromo 相关 BAP; BAF/PBAF: BRG1 或 BRM 相关因子 /Polybromo 相关 BAF; ISWI: 模仿切换; NURF: 染色质重塑因子; ACF: ATP 依赖染色质组装和重塑因子; CHRAC: 染色质可接近性复合物; NoRC: 核仁重塑复合物; RSF: 重塑和间隔因子; WICH: Williams 综合征转录因子; CHD: Chromo 结构域、解旋酶、DNA 结合家族重塑子; NuRD: 染色质重塑和去乙酰化酶复合物; INO80: 肌醇蛋白 80; SWR1: 患 RSC/Rat1 复合物; TIP60: HIV 相互作用蛋白(60 ku); TRRAP: 转化 / 转录结构域相关蛋白; SRCAP, SNF2 相关 CREB 激活蛋白.

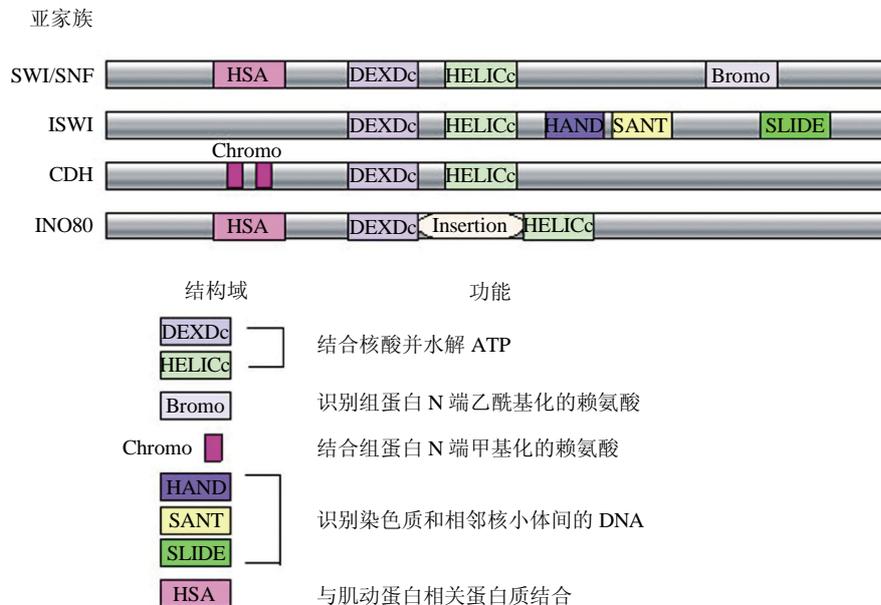


Fig. 1 Subfamily classification of chromatin remodeling factors is based on the catalytic domain

图 1 染色质重塑因子的催化结构域决定其家族分类

所有染色质重塑复合物都具有一个共享的 ATPase 结构域和独特的侧翼结构域。DEXDc: 或称 SNF2-N, 类似 DEAD 解旋酶结构域含有 ATP-Mg²⁺ 结合位点; HELICc: 或称 helicase-C, 解旋酶超家族 C 端结构域含有 ATP 和核苷酸结合位点; Bromo: Bromo 结构域; Chromo: Chromo 结构域; HAND: 与 SANT 和 SLIDE 结构域一起形成类似开放手形; SANT: SWI3 - ADA2 - N-COR - TFIIB; SLIDE: SANT 样 ISWI 结构域; HSA: 解旋酶 -SANT 相关结构域^[1].

不同种属的同源染色质重塑复合物中常常含有一些保守的亚基. 例如 SWI/SNF、RSC、Ino80 和 SWR1 复合物都含有 ARPs(actin-related protein) 亚基和核内 actin 蛋白. 不同的 ARPs 以不同的方式参与复合物的组装和重塑活性. 在某些情况下, ARPs 和 actin 可以特异地结合修饰后的组蛋白和组蛋白变异体, 从而介导复合物与染色质的相互作用. 而在另外的情况下, 它们又可以作为结合转录装置的媒介^[4]. 除了 ARPs 保守亚基外, 来自 AAA+ 家族的 Rvb1/Rvb2 ATPase 组成的六聚环是另一类保守亚基, 它们是 SWR1 和 Ino80 亚家族复合物中重要的组成部分.

2 染色质重塑因子的作用机制

2.1 介导核小体“滑动”

众所周知 DNA 解旋酶是一类依赖 ATP 水解所释放的能量打开 DNA 双螺旋的蛋白酶. 它分为 6 个亚家族(superfamily 1~superfamily 6, Sf1~Sf6), 其中 Sf2 家族解旋酶通常可以结合双链 DNA, 并以特定的方向沿着单链移动从而导致双链的分离.

SNF2 染色质重塑复合物家族的 ATPase 亚基虽然不具有类 Sf2 的解旋酶活性, 但是仍保存着类似的作用机制. 研究证明, 染色质重塑复合物具有类 DNA 移位酶作用, 即在 DNA 双链未解开的情况下可以使核小体沿着 DNA 滑动^[15]. 在此过程中重塑复合物识别并结合到特定的组蛋白和 DNA 上, 并且将 ATPase 亚基锚定在核小体 DNA 上的作用位点. 根据目前的观点, 锚定的 ATPase 亚基可以引起组蛋白八聚体表面与 DNA 的分离, 形成 DNA-“bulge”或称为“Loop”^[15]. 一方面 ATPase 亚基可能通过 ATP 水解所释放的能量驱动核小体在 DNA 上滑动, 导致 DNA-“bulge”的形成. 另一种可能的机制是重塑复合物“推”或“拉” linker DNA 进入核小体区域, 从而形成 DNA-“bulge”, 继而暴露或封闭某一段 DNA 序列. 无论哪种假设, 这种机械力造成的 DNA-“bulge”都会改变组蛋白八聚体与 DNA 之间的相互作用, 从而导致 DNA 在组蛋白表面相对位置的变化, 即达到核小体在 DNA 上滑动的效果(图 2).

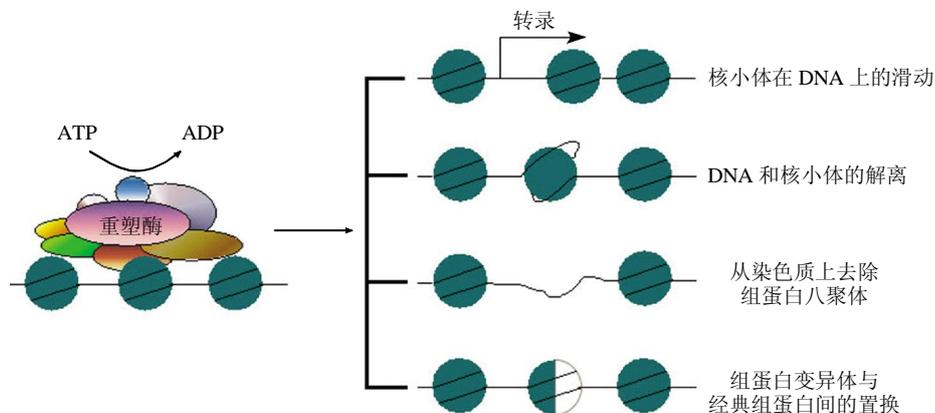


Fig. 2 Schematic of the ATP-dependent nucleosome accessibility regulation

图 2 ATP 依赖染色质重塑活性改变核小体 DNA 可接近性的模式图

利用 ATP 水解所产生的能量驱使核小体结构发生如下 4 种改变: (1)核小体在 DNA 上的滑动; (2)DNA 和核小体解离; (3)将组蛋白八聚体从染色质上去除; (4)组蛋白变异体和经典组蛋白间的置换.

2.2 介导核小体“置换”

染色质中大部分核小体是由 4 种经典组蛋白(H2A/H2B/H3/H4)构成, 但是有一部分核小体中的经典组蛋白可以被组蛋白变异体所替换. 含有组蛋白变异体的核小体在染色质上被特殊标记, 而且不同变异体所特有的结构特点使染色质结构发生一定的改变, 从而介导相应细胞功能的变化, 包括基因

转录调控和 DNA 损伤修复等. 目前已经发现, 一些染色质重塑复合物是组蛋白变异体置换进(或出)核小体的执行者. 最典型的例子是在酵母中 Swr1 可以催化 H2AZ-H2B 异源二聚体与核小体中经典 H2A-H2B 二聚体之间的替换^[16]. 同样, INO80 亚家族中人源 INO80/SRCAP/TRRAP-TIP60 复合物除了染色质重塑功能外, 也拥有组蛋白变异体置换功

能, 可以催化经典组蛋白 H2A 与组蛋白变体 H2AZ 之间的置换^[17-18]. H2A-H2AZ 之间的具体置换机制目前尚不清楚, 但有趣的是, Swr1/ SRCAP 复合物可以将 H2AZ 单向置换入核小体, 而 Ino80 则可以发挥相反作用, 即将 H2AZ 从核小体中置换出来, 说明不同的染色质复合物具有不同的功能特点(图 3). 还有数据表明 p400/TIP60 复合物也与 H2AZ 的置换有关, 而这种置换是否由 p400/TIP60 直接催化尚有待进一步证实. 细胞内组蛋白变体除了 H2AZ 外, 还有很多如 H3.3、H2AX、CENP-A 等, 那么这些变异体的分布是否也由染色质重塑复合物决定并负责置换? 如果是, 那么又是哪些染色质重塑复合物参与了 H3.3、H2AX、CENP-A 等变异体的置换? 这些问题还需要更深入的研究.

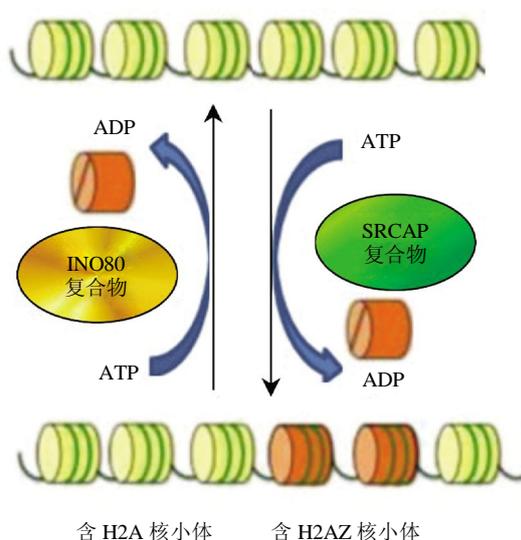


Fig. 3 Schematic of the histone exchange modulated by chromatin remodeling complexes

图 3 染色质重塑复合物置换组蛋白变异体的模式图

利用 ATP 水解所释放的能量, SWR1/SRCAP 复合物能够使组蛋白变体 H2AZ 置换入核小体内. 反之, INO80 复合物则使 H2AZ 从核小体中置换出来.

2.3 作用机制的结构基础

至于染色质重塑复合物的不同亚基蛋白如何被组装, 它又是如何参与复合物到其底物染色质的特定部位上, 以及它的作用机理如何, 可能还需要从它们的蛋白质三维结构研究入手. 由多亚基蛋白组成的染色质重塑复合物通常分子质量很大, 而且在细胞内发挥重塑作用时必然导致其结构的变化, 所以解析这些重塑复合物的立体结构相对困难. 目

前, 对重塑因子和复合物蛋白三维结构的研究主要利用对复合物中各个亚基的晶体分析和对复合物整体和某个部分的电镜解析, 尤其是近年来冷冻电镜技术的提高使其解析分辨率已经达到非常高的水平. 电镜分析已经得到 Swi/Snf 及其相似复合物 RSC 的三维结构^[19]. 酵母 RSC 在亚基组成和总体结构上与 Swi/Snf 复合物类似, 虽然它们属于同一亚家族, 但是其催化亚基为 Sth1 而非 Swi2/Snf2 ATPase.

最近, 从酵母中成功解析出 Ino80 和 Swr1 两个复合物的电镜结构^[20-21]. Swr1 和 Ino80 复合物同属于 Ino80 亚家族, 都拥有十几个亚基和相似的亚基组成, 二者的催化亚基 Ino80 和 Swr1 在其 ATPase 结构域都存在一个长片段的插入结构 (insertion domain), 用于募集共享的 Rvb1/2 AAA+ ATPases. 另外, 在其 ATPase 的 N 端都存在 HSA 结构域, 用于募集和结合 actin 和 Arps. 鉴于 Ino80 和 Swr1 具有相似的亚基组成和高度保守的结构域, 人们很容易猜想二者的高级结构也应该具有相似性. 然而从目前所得到的电镜结果来看, 二者的结构截然不同, Ino80 结构显得比较松散, 而 Swr1 结构表现致密, 其具体原因值得进一步深入研究. Tosi A 团队进一步结合电镜技术和蛋白质谱技术对酵母 Ino80 进行解析, 发现其结构类似于胎儿形状, 可分为 “head-neck-body-foot” 区域, 同时显示有 “开-闭” 的结构动态变化. 复合物中的 AAA+ ATPases Rvb1/Rvb2 形成异源二聚体结合在 “head” 区, Ies2 和 Arp5 结合在 “neck” 区, 与核小体高亲和力的 Nhp10 结合在 “body” 区, 而像 actin、Arp4 和 Arp8 蛋白则结合在 “foot” 区. 根据其结构推测, 当 Ino80 发挥功能时, 核小体结合在 “neck” 区凹面处, 并被夹在 “head” 和 “foot” 之间, 进而使核小体 DNA 朝向 “neck” 和 “body” 方向, 而 Arps(Arp8 和 Arp5) 分子则帮助结合组蛋白, 最后在这个可变的结构域里核小体被部分包绕^[20]. 与 Ino80 不同, Swr1 结构则由分离的两部分组成, 即具有底物结合能力的 N 和 C 模块, 并且它们面对面分布, 由 Swr1 催化亚基 ATPase 和 Rvb1/Rvb2 环聚在一起. Rvb1/2 六元环在 SWR1 复合物结构中发挥非常重要作用, 它为促使 N 和 C 模块结构的建立提供了平台, 而这种特殊的面对面分布又为结合核小体和 H2A.Z/H2B 二聚体提供了合适的空间平台^[21].

值得一提的是, 两种复合物的电镜结构均是在

核小体缺失情况下解析而得, 所以并不能真正反应出染色质重塑复合物在结合染色质或 ATP 时结构的变化. 总之, 关于染色质重塑复合物及其功能的更详尽机制目前还不是很清楚. 但可以确定的是, 每一个独立的染色质重塑酶的具体调控机制与其蛋白复合物的高次结构, 以及其在特定染色质和 DNA 上的定位, 更广义地讲, 在基因组上的分布等密切相关.

3 染色质重塑因子的作用方式

3.1 基因转录调控

细胞中的染色质结构处于动态变化中: 当染色质结构致密时, 会阻止初始转录因子及 RNA 聚合酶募集到特定 DNA 序列上, 使基因处于沉默状态; 当染色质结构疏松时, 初始转录因子就可以募集到基因的启动子区域, 激活相应基因的转录. 在真核细胞中, 染色质重塑因子负责染色质结构的改变, 从而调控基因的转录^[22]. 通常, 染色质重塑因子在调控基因转录起始过程时, 由特异的转录因子将其募集到其靶基因部位, 并作为共激活或共抑制因子而发挥作用. 例如在酵母中, 许多转录因子可以与 SWI/SNF 重塑复合物相互作用, 并将复合物募集到相应靶基因^[23]. 同样, 在哺乳动物细胞中, Swi/Snf 也可以与多种转录因子相互作用, 如类固醇受体(steroid receptors)、肿瘤抑制因子和一些致癌因子 RB、BRCA-1、c-Myc 和 MLL 等^[24], 可以使染色质重塑复合物募集到相应靶基因的启动子区, 通过核小体的“滑动”或组蛋白变异体的“置换”来改变相应靶基因启动子区的染色质结构, 从而引起相应基因的激活或抑制. 大多数染色质重塑因子既可以参与基因转录激活, 也可以参与基因转录抑制. 敲低或敲除重塑复合物中关键亚基的表达, 都会导致一部分基因的表达升高和另一部分基因表达的下降. 虽然其中对有些基因表达的调控是间接的, 但是可以推测, 染色质重塑复合物对基因的激活或抑制可能通过相似的机制, 即改变核小体和 DNA 之间的相互作用来改变染色质结构, 从而影响基因的转录水平.

尽管如此, 许多染色质重塑因子在调控基因转录激活或抑制时具有单方面的倾向性. 研究发现, 已知的许多染色质重塑因子在基因转录调控时主要起激活作用, 也有少数主要起抑制作用. 如, 在胚胎干细胞中, Brg1 结合在转录增强子和基因调控元件上, 发挥抑制因子的作用^[25], 而大部分 Ino80

则结合在转录起始位点区, 发挥激活因子的作用^[26]. 除了调控基因转录起始(激活或抑制)外, 染色质重塑复合物也能影响基因转录延伸过程. RNA 聚合酶 II 在转录延伸过程中会遇到基因组上由核小体形成的诸多障碍, 此时一系列转录延伸因子、组蛋白伴侣、组蛋白修饰酶以及染色质重塑因子等都参与其中, 帮助其完成整个转录过程^[27]. 另外, 在转录延伸过程中组蛋白会被乙酰化和甲基化, 全部或部分组蛋白八聚体在 RNA 聚合酶 II 经过后需要重新组装染色质以及对组蛋白的去乙酰化^[9], 而染色质重塑因子在此过程中可能发挥着重要的作用. 人源 Swi/Snf 是最早发现的这类重塑因子, 能够协助 RNA 聚合酶顺利通过由核小体阻碍所致的延伸阻滞^[28].

综上所述, 染色质重塑因子参与了从促进或抑制基因转录起始到辅助转录延伸的整个过程, 它们被转录因子、RNA 聚合酶和延伸因子募集到特定的染色质部位上, 参与了调控基因转录起始和延伸, 以及转录后核小体的重新组装和染色质重建等一系列过程.

3.2 染色质结构稳定性

在 DNA 复制过程中, 随着 DNA 双链的解离, 核小体结构也随之消失. 可是, 一旦复制完成, 在 2 条复制子链上核小体会迅速重新组装. 研究表明, 核小体的组装过程涉及一系列的辅助蛋白, 其中包括染色质重塑因子. 已知染色质重塑复合物 ISWI 家族成员 ACF 能够促进 DNA 在八聚体上的缠绕^[29]. 在体外, CHD1 依赖 ATP 水解产生的能量可以将组蛋白从 NAP1 组蛋白分子伴侣上转移到 DNA. 虽然 ACF 和 CHD1 都能够促进核小体形成, 但 ACF 能够组装包含 H1 的更高级的染色质结构. 这说明 CHD1 可以促进活跃型染色质组装, 而 ACF 则可以促进抑制型染色质的组装^[29]. 另外, 大部分核小体的组装发生在细胞周期的 S 期, 而且在 S 期许多重塑因子募集在 DNA 复制活跃的位点上. 还有, 在 DNA 损伤修复后核小体重新组装时, 也有许多不同的染色质重塑因子被募集到 DNA 损伤位点参与修复后的染色质重建过程.

4 染色质重塑复合物的翻译后修饰

染色质重塑复合物的翻译后修饰有多种方式, 包括乙酰化、磷酸化和聚腺苷二磷酸核糖基化(PARylation)等. 染色质重塑复合物中一些亚基的翻译后修饰可能通过改变蛋白质-蛋白质相互作用

用, 从而影响复合物的结构和酶活性及其与染色质的结合关系. 而且这些翻译后修饰将有助于重塑复合物对染色质功能更为精细的调控, 其具体的作用机制还有待于进一步深入研究. 如: Swi/Snf 家族重塑复合物在不同细胞周期中发生磷酸化修饰^[28]; 酵母 RSC 复合物的 Sfh1 亚基在细胞周期 G1 期被磷酸化; 人源 hBrm 和 Brg1 蛋白(Snf2 同源)则在有丝分裂过程中被磷酸化, 进而导致它们与染色质的分离; 酵母 Ino80 复合物的 Ies4 亚基也可在 DNA 损伤应答中被 Mec1/Tel1 激酶磷酸化, 而且在 DNA 损伤最初的识别反应中发挥重要作用^[17].

5 DNA 甲基化与染色质重塑复合物

基因启动子上的 DNA 甲基化是基因沉默的标志, 而且在细胞分裂时可以传递给子代细胞. 在脊椎动物中, DNA 甲基化主要通过 MBD(methyl-CpG binding domain)家族蛋白的识别来抑制基因转录. 研究发现 MBD 蛋白可以与一些转录调节因子相互作用, 包括组蛋白甲基化酶、组蛋白乙酰化酶和染色质重塑因子. 与 DNA 甲基化相关的水解复合物研究最多的是 Mi-2/NuRD 复合物. NuRD 复合物优先重塑和去乙酰化具有 DNA 甲基化的染色质, 其核心亚基 MBD2 可以直接与甲基化的 DNA 结合, 并抑制其基因的表达^[30].

6 染色质重塑因子在发育及癌症中的作用

在胚胎发育过程中, 胚胎干细胞不仅可以维持自我更新, 而且还可以分化成不同种类的细胞. 当干细胞失去干性分化成不同细胞时, 其特定的基因表达模式决定着干细胞向特定细胞分化的命运. 各种不同细胞基因表达模式的建立需要特定的基因表达环境. 而转录因子和染色质重塑因子则共同组建了不同细胞的基因表达环境. 例如: 在胚胎干细胞中 CHD1 可以通过改变染色质结构从而调控干细胞的分化; Tip60-p400 可以通过抑制分化相关基因的表达以维持干细胞的多能性; NuRD 则可以通过抑制多能性相关基因的表达, 从而使干细胞分化为特定的细胞类型.

已经知道人源 SWI/SNF 家族中的 BAF 亚家族, 在人类发育和癌症发生过程中起着非常重要的作用^[31]. BAF 复合物功能的多样性依赖于它的亚基组成的多样性. 在人的不同来源细胞中 BAF 复合物共享一些亚基, 形成一个具酶活性的核心结构. 除了这些核心亚基, BAF 复合物还包含一些不同

细胞所特有的亚基. 例如, 从胚胎干细胞中分离纯化的 BAF 复合物中含有特异的 BAF53a 和 BAF45a 亚基, 而不含有 ATPase 变异体 BRM 和 BAF170 亚基. 从有丝分裂后神经元细胞分离的 BAF 复合物中, BRG1 和 BAF155 则分别被 BRM 和 BAF170 所替代, 另外, 还包含有特异变异体 BAF53b 和 BAF45b/c^[31]. 对上述现象最好的解释是这些细胞中的相应特异性亚基会与相应特异性转录因子结合, 从而募集染色质重塑复合物到其相应靶基因上发挥基因转录调控作用. 另外, 很多 BAF 蛋白同时也是肿瘤抑制因子, 在多种癌症中已经发现 BAF 蛋白表达的缺失或减少.

虽然染色质重塑复合物在胚胎干细胞中的功能研究比较多, 但是其具体的作用机制还不十分清楚. 最近, Hu Guang 团队关于 Ino80 复合物在胚胎干细胞中功能的研究, 加深了人们对染色质重塑复合物作用机制的进一步了解. 数据显示 Ino80 复合物在小鼠胚胎干细胞多能性维持中发挥着至关重要的作用. 它通过将 OCT4、WDR5 以及其他重要转录因子一起募集到多能性相关基因的启动子区, 然后调控该区域染色质结构改变, 并促进 Mediator 和 RNA 聚合酶 II 的募集, 从而激活基因的转录^[29]. 另外, Ino80 复合物还可以与胚胎干细胞干性相关的主要转录因子 Oct4、Nanog 和 Sox2 共同形成一个自我调控机制. 已有研究报道, Oct4、Nanog 和 Sox2 等转录因子可以募集在处于激活和抑制两种状态基因的启动子区域, 而 Ino80 则只募集在处于激活状态基因的启动子区域. Ino80 调控启动子区染色质结构可能有两种方式: 一种是维持该区核小体的缺失而使染色质结构处于开放状态; 另一种是 Ino80 还可以调控组蛋白变异体 H2AZ 的分布, 即从启动子区移除 H2AZ^[17]. 在胚胎干细胞中 H2AZ 大部分分布在激活状态的基因启动子区, 也有少部分分布在临界状态(即可激活又可抑制)的基因启动子区. 有一点需要指出的是 H2AZ 的翻译后修饰可以影响相关基因的转录活性. 因此, Ino80 很可能识别 H2AZ 或翻译后修饰的 H2AZ 如乙酰基化的 H2AZ, 进而调控特定基因的转录活性.

7 结论与展望

近年来, 表观遗传调控作为维持细胞内环境稳定的重要角色而受到越来越多的重视, 而染色质重塑因子则是其中的一个重要组成成员. 由于染色质重塑因子种类繁多、家族成员组成复杂且具有功能

多样性, 因此多以核心催化亚基 ATPase 的保守性为依据对其进行分类, 以便于更深入的研究, 但是这种分类又无法诠释单一成员独特的特点. 另一方面, 虽然不同的染色质重塑因子具有各自的功能特异性, 但是保守亚基和共享亚基的存在又使不同染色质重塑因子之间可能存在着某种相关性. 因此, 如何能更准确地划分和归类染色质重塑因子将是一个值得探讨的问题.

染色质重塑因子大部分以多亚基复合物形式存在于细胞中. 虽然许多亚基的保守性为研究提供了很大便利, 但即使在核心亚基相同的情况下, 由不同的亚基可以组装成具有不同功能的复合物, 说明复合物中的每个亚基都有它不可或缺的特殊功能. 因此, 阐明复合物中各个亚基的生物学功能将有助于我们理解染色质重塑复合物如何向特定位点(靶点)募集, 同一复合物又如何在同一细胞状态下发挥不同细胞功能等问题. 另外, 各类染色质重塑复合物的三维结构解析将有助于我们更深入地了解其具体的生物学功能及其作用机制. 因此, 破解重塑复合物的三维结构也是研究这一领域所面临的一个艰巨任务.

目前, 研究染色质重塑复合物的方法越来越多, 手段也越来越先进. 我们坚信随着电镜技术的不断提高, 生物学实验技术的不断改进, 期待着在不久的将来能够揭开染色质重塑复合物的神秘面纱.

参 考 文 献

- [1] Neigeborn L, Carlson M. Genes affecting the regulation of SUC2 gene expression by glucose repression in *Saccharomyces cerevisiae*. *Genetics*, 1984, **108**(4): 845-858
- [2] Stern M, Jensen R, Herskowitz I. Five SWI genes are required for expression of the HO gene in yeast. *Journal of Molecular Biology*, 1984, **178**(4): 853-868
- [3] Hargreaves D C, Crabtree G R. ATP-dependent chromatin remodeling: genetics, genomics and mechanisms. *Cell Research*, 2011, **21**(3): 396-420
- [4] Collingwood T N, Urnov F D, Wolffe A P. Nuclear receptors: coactivators, corepressors and chromatin remodeling in the control of transcription. *Journal of Molecular Endocrinology*, 1999, **23**(3): 255-275
- [5] Martens J A, Winston F. Recent advances in understanding chromatin remodeling by Swi/Snf complexes. *Current Opinion in Genetics & Development*, 2003, **13**(2): 136-142
- [6] Tamkun J W, Deuring R, Scott M P, *et al.* Brahma: a regulator of *Drosophila* homeotic genes structurally related to the yeast transcriptional activator SNF2SWI2. *Cell*, 1992, **68**(3): 561-572
- [7] Ryan D P, Owen-Hughes T. Snf2-family proteins: chromatin remodellers for any occasion. *Current Opinion in Chemical Biology*, 2011, **15**(5): 649-656
- [8] Flaus A, Martin D M A, Barton G J, *et al.* Identification of multiple distinct Snf2 subfamilies with conserved structural motifs. *Nucleic Acids Research*, 2006, **34**(10): 2887-2905
- [9] Clapier C R, Cairns B R. The biology of chromatin remodeling complexes. *Annual Review of Biochemistry*, 2009, **78**: 273-304
- [10] Li W, Mills A A. Architects of the genome: CHD dysfunction in cancer, developmental disorders and neurological syndromes. *Epigenomics*, 2014, **6**(4): 381-395
- [11] Becker P B, Workman J L. Nucleosome remodeling and epigenetics. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 2013, **5**(9): a017905
- [12] Ryan D P, Sundaramoorthy R, Martin D, *et al.* The DNA-binding domain of the Chd1 chromatin-remodelling enzyme contains SANT and SLIDE domains. *The EMBO Journal*, 2011, **30**(13): 2596-2609
- [13] Längst G, Manlyte L. Chromatin remodelers: from function to dysfunction. *Genes*, 2015, **6**(2): 299-324
- [14] Shen X, Ranallo R, Choi E, *et al.* Involvement of actin-related proteins in ATP-dependent chromatin remodeling. *Molecular Cell*, 2003, **12**(1): 147-155
- [15] Gangaraju V K, Bartholomew B. Mechanisms of ATP dependent chromatin remodeling. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 2007, **618**(1): 3-17
- [16] Ranjan A, Mizuguchi G, FitzGerald P C, *et al.* Nucleosome-free region dominates histone acetylation in targeting SWR1 to promoters for H2A.Z replacement. *Cell*, 2013, **154**(6): 1232-1245.
- [17] Morrison A J, Shen X. Chromatin remodelling beyond transcription: the INO80 and SWR1 complexes. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 2009, **10**(6): 373-384
- [18] Papamichos-Chronakis M, Watanabe S, Rando O J, *et al.* Global regulation of H2A. Z localization by the INO80 chromatin-remodeling enzyme is essential for genome integrity. *Cell*, 2011, **144**(2): 200-213
- [19] Hauk G, Bowman G D. Structural insights into regulation and action of SWI2/SNF2 ATPases. *Current Opinion in Structural Biology*, 2011, **21**(6): 719-727
- [20] Nguyen V Q, Ranjan A, Stengel F, *et al.* Molecular architecture of the ATP-dependent chromatin-remodeling complex SWR1. *Cell*, 2013, **154**(6): 1220-1231
- [21] Tosi A, Haas C, Herzog F, *et al.* Structure and subunit topology of the INO80 chromatin remodeler and its nucleosome complex. *Cell*, 2013, **154**(6): 1207-1219
- [22] Cairns B R. The logic of chromatin architecture and remodelling at promoters. *Nature*, 2009, **461**(7261): 193-198
- [23] Fry C J, Peterson C L. Chromatin remodeling enzymes: who's on first?. *Current Biology*, 2001, **11**(5): R185-R197
- [24] Hargreaves D C, Crabtree G R. ATP-dependent chromatin remodeling: genetics, genomics and mechanisms. *Cell Research*, 2011, **21**(3): 396-420
- [25] Ho L, Jothi R, Ronan J L, *et al.* An embryonic stem cell chromatin remodeling complex, esBAF, is an essential component of the core

- pluripotency transcriptional network. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, **106**(13): 5187–5191
- [26] Wang L, Du Y, Ward J M, *et al.* INO80 facilitates pluripotency gene activation in embryonic stem cell self-renewal, reprogramming, and blastocyst development. *Cell Stem Cell*, 2014, **14**(5): 575–591
- [27] Bondarenko V A, Steele L M, Ujvári A, *et al.* Nucleosomes can form a polar barrier to transcript elongation by RNA polymerase II. *Molecular Cell*, 2006, **24**(3): 469–479
- [28] Vignali M, Hassan A H, Neely K E, *et al.* ATP-dependent chromatin-remodeling complexes. *Molecular and Cellular Biology*, 2000, **20**(6): 1899–1910
- [29] Lusser A, Urwin D L, Kadonaga J T. Distinct activities of CHD1 and ACF in ATP-dependent chromatin assembly. *Nature Structural & Molecular Biology*, 2005, **12**(2): 160–166
- [30] Clouaire T, Stancheva I. Methyl-CpG binding proteins: specialized transcriptional repressors or structural components of chromatin?. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 2008, **65**(10): 1509–1522
- [31] Ho L, Crabtree G R. Chromatin remodelling during development. *Nature*, 2010, **463**(7280): 474–484

Chromatin Remodeling in Epigenetics*

DING Jian, WANG Fei, JIN Jing-Ji, CAI Yong**

(School of Life Sciences, Jilin University, Changchun 130012, China)

Abstract Eukaryotic cells contain a wide range of chromatin remodeling factors that mostly exist in the form of multi-subunit protein complexes. To initiate or maintain a specific cellular process, different chromatin remodeling complexes localize to particular nucleosome at certain times, resulting in the alteration of chromatin structure and gene transcription activity. Among all the chromatin remodeling factors, some structural and functional similarities could be found. However, most chromatin remodeling factors also have their own specific domains that allow them to exert diverse regulating effects. According to the different functional domains they contain, chromatin remodeling factors can be divided into four subfamilies: SWI/SNF, ISWI, CHD and INO80. This review will focus on the recent advances in chromatin remodeling research concerning the classification, structure, and biological function of chromatin remodeling factors in the cell, as well as lay the foundation for further illustration of chromatin remodeling processes in organism development and disease occurrence.

Key words chromatin remodeling, nucleosome sliding, histone variant exchange, gene transcription

DOI: 10.16476/j.pibb.2015.0225

* This work was supported by grants from The National Natural Science Foundation of China (31071131, 31171245) and National Laboratory of Biomacromolecules, Institute of Biophysics, Chinese Academy of Sciences (O5SY02110A, 2012kf04)

**Corresponding author.

Tel/Fax: 86-431-8515-5132, E-mail: caiyong62@jlu.edu.cn

Received: July 22, 2015 Accepted: July 23, 2015