

一种简便可靠的组蛋白乙酰转移酶(HAT) 抑制剂荧光检测方法

赵晋燕 闫 征 刘子良 王 楠*

(中国医学科学院, 北京协和医学院药物研究所, 北京 100050)

摘要 组蛋白乙酰转移酶(HAT)参与真核细胞基因转录的调节, 其抑制剂由于具有调节转录并产生抗病毒、抗炎、抗氧化等作用, 有望成为一类新药. 非放射性分光光度 HAT 测定方法虽然可替代广泛使用的放射性检测方法, 但缺乏灵敏度和准确性. 建立了一种简单的非放射性荧光检测方法, 即测量辅酶 A(CoASH)与邻苯二甲醛(OPA)和巯基乙醇反应的荧光产物. 此法与分光光度法相比具有更高的准确性, 可进行多种化合物 HAT 抑制活性的筛选. 这种新方法有望成为研究转录调节和新药开发方面的一种有效工具.

关键词 组蛋白乙酰转移酶(HATs), 辅酶 A(CoASH), 邻苯二甲醛(OPA)

学科分类号 Q5

真核细胞的染色质是高度有组织的蛋白质与 DNA 的动态复合体, 它的基本单位是核小体, 每个核小体由长度约 180 bp 的 DNA 双螺旋和核心组蛋白所组成, 核心组蛋白包括一个 H3/H4 四聚体和两个 H2A/H2B 二聚体^[1]. 在核心组蛋白的 N 端尾部, 具有一个遗传保守的区域, 在此处可进行甲基化、磷酸化、泛素化、乙酰化等多种修饰^[2,3], 这与细胞 DNA 复制、转录、损伤修复等多种生物活性密切相关^[4]. 乙酰化是一种研究最为广泛的组蛋白翻译后修饰, 组蛋白乙酰化水平由组蛋白乙酰转移酶(histone acetyltransferases, HATs)和组蛋白去乙酰酶(histone deacetylases, HDACs)共同决定并维持其动态平衡. HATs 和 HDACs 活性异常可导致从神经性病变到癌症等多种疾病的产生. 目前已发现并合成了多种 HDAC 抑制剂, 部分活性较高的 HDAC 抑制剂已经进入临床研究, 其中 SAHA 已成功上市. 随着人们研究的逐步深入, 发现 HAT 过表达可以促进 HIV 病毒转录^[5], 诱发如癌症^[6]、哮喘^[7]、心肌梗大^[8]等疾病, 而 HAT 抑制剂由于具有调节转录^[8]、抗病毒^[9]、抗炎、抗氧化^[7]等特性, 很可能发展成为一类新药. 目前已知的 HAT 抑制剂只有寥寥数种, 为了找到更多的 HAT 抑制剂进行深入研究, 急需一种快速、准确性高的 HAT 抑

制剂检测方法.

HAT 催化反应的主要原理是 HAT 催化乙酰辅酶 A(acetyl-CoA, AcCoA)的乙酰基转移到核心组蛋白氨基端特定 Lys 残基的 ϵ -氨基基团上, 产物是乙酰组蛋白和辅酶 A(CoASH)(图 1). 目前的检测方法有同位素法——检测产物乙酰组蛋白的含量^[9,10], 分光光度法——检测产物 CoASH 的含量来反映 HAT 活性^[11]. 前者虽然灵敏度高, 但是操作复杂, 技术要求高, 同时不可避免地造成一定的环境污染; 后者虽然操作相对简单, 但是分光光度法的测定数值较小, 准确度不高. 邻苯二甲醛(OPA)是一种多用于检测伯胺含量的化学试剂^[12], OPA、伯胺和巯基有机物三者在弱碱性水溶液中可反应生成单一荧光衍生物, 反应在 1 min 内即可完成, 反应机制如图 2 所示. 利用这一特性, 既可使伯胺与过量的 OPA 和巯基化合物反应生成荧光物质, 用于检测伯胺^[12], 同样地, 也可使巯基化合物与过量的 OPA 和伯胺反应生成荧光物质, 用于巯基化合物的检测^[13]. 我们将 CoASH 与过量的 OPA 和乙醇

* 通讯联系人.

Tel: 010-83172984, E-mail: wangnan@imm.ac.cn

收稿日期: 2008-01-13, 接受日期: 2008-04-15

胺(一种伯胺)混合产生荧光物质, 以荧光强度反映 HAT 反应产物 CoASH 的含量, 进而反映 HAT 活性. HAT 活性的改变与否可直接反映待测样品是否具有 HAT 抑制活性. 该方法操作简单, 无放射性污染, 同时具有较高的灵敏度和准确性.

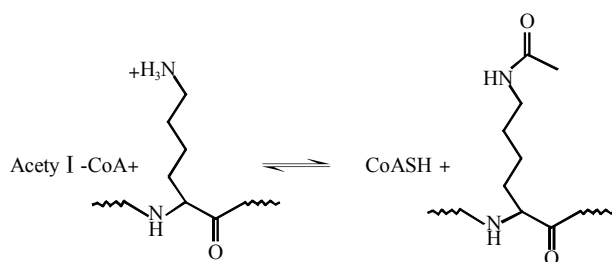


Fig. 1 Enzyme reaction catalyzed by HAT

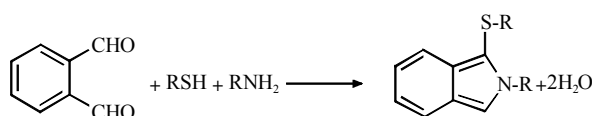


Fig. 2 Reaction with OPA converts thiol to a fluorescent isoindole derivative

1 材料和方法

1.1 试剂与仪器

Histone II-S 购自 Sigma 公司, 其余均为国产分析纯试剂. 姜黄素(Curcumin)DMSO 配制成 500 mmol/L 贮存液, 置于 -20°C 保存, 临用前用双蒸水稀释到所需浓度.

荧光酶标仪为美国 Molecular Devices 公司产品, 型号为 Spectra MAX Gemini XS.

1.2 CoASH 的检测

1.2.1 荧光法检测 CoASH. 不同浓度的 CoASH (6.25 ~ 200 $\mu\text{mol/L}$) 与 OPA 检测液^[14] (含有 2.985 mmol/L OPA 和 6.557 mmol/L 乙醇胺的 50 mmol/L 硼酸溶液, pH 10)充分混匀, 检测荧光, 激发波长 340 nm, 发射波长 450 nm.

1.2.2 分光光度法检测 CoASH. 不同浓度的 CoASH (6.25 ~ 200 $\mu\text{mol/L}$), 用 100 mmol/L Na_2HPO_4 - NaH_2PO_4 (pH 6.8) 调节 pH, 加入终浓度为 500 $\mu\text{mol/L}$ 的 DTNB, 412 nm 检测吸光度.

1.3 HAT 粗制品的制备

HAT 粗制品提取自大鼠肝脏, 方法参考文献[15], 稍有修改. 具体操作如下: 雄性大鼠肝脏剪碎, 在 3 倍体积的等渗蔗糖溶液(0.25 mol/L 蔗

糖, 5 mmol/L MgCl_2 , 0.2 mmol/L PMSF, 10 mmol/L Tris-HCl(pH 8.0))中电动匀浆, 匀浆液过滤(250 目筛网)制成单细胞悬液, 1 000 r/min 离心 10 min, 沉淀物在含有 0.1% Triton X-100 的等渗蔗糖溶液中再次匀浆, 匀浆液在 6~7 倍体积的 2.2 mol/L 蔗糖, 5 mmol/L MgCl_2 , 0.2 mmol/L PMSF, 10 mmol/L Tris-HCl(pH 8.0)中 28 000 r/min 离心 60 min, 沉淀用 5 倍体积的等渗蔗糖溶液洗 2 次, 在 5 ml 含有 500 mmol/L NaCl, 0.5 mmol/L EDTA, 0.2 mmol/L PMSF, 12.5% 甘油, 10 mmol/L Tris-HCl(pH 7.5)的溶液中第 3 次匀浆, 32 000 r/min 离心 30 min, 取上清在 20 mmol/L Tris-HCl(pH 8.0), 0.5 mmol/L EDTA, 100 mmol/L KCl, 10%甘油中透析 18~24 h^[16], 12 000 r/min 离心 10 min, 以上操作均在 4°C 进行. 取上清使用 Bradford 方法, 牛血清白蛋白作为标准进行蛋白质定量, 分装后 -20°C 保存.

1.4 HAT 活性检测

以 50 mmol/L Hepes (pH 7.9), 0.1 mmol/L EDTA, 50 mg/L BSA 为检测缓冲液的 50 μl 反应体系中, 含有 12 μg 组蛋白 (Histone II-S), 150 $\mu\text{mol/L}$ AcCoA, 11.2 μg HAT 粗制品. 将酶与底物分别温育至 30°C 后混合, 30°C 水浴反应 12 h, 3 次重复. 反应液加入 OPA 检测液检测荧光, 激发波长 340 nm, 发射波长 450 nm. 以荧光强度代表 HAT 活性, 荧光值越大则 HAT 活性越高.

1.5 HAT 抑制剂的检测

以 50 mmol/L Hepes (pH 7.9), 0.1 mmol/L EDTA, 50 mg/L BSA 为检测缓冲液的 50 μl 反应体系中, 含有 12 μg Histone II-S, 150 $\mu\text{mol/L}$ AcCoA, 11.2 μg HAT 粗制品和不同浓度的待测样品. 将酶与底物(含有不同浓度的待测样品)分别温育至 30°C 后混合, 30°C 水浴反应 12 h, 3 次重复. 反应结束时加入 OPA 检测液检测荧光, 激发波长 340 nm, 发射波长 450 nm. 如果待测样品对本底有影响(如姜黄素), 则在反应结束时使用终浓度为 0.6%的三氯乙酸(TCA)沉淀蛋白质, 高速离心后取上清液, 同样加入 OPA 检测液检测荧光.

以三氯乙酸在反应开始时抑制 HAT 活性为阳性对照, 抑制率为 100%; 以不加入待测样品为阴性对照, 抑制率为 0, 计算样品不同浓度的抑制率. 用计算机程序 SigmaPlot 拟和量效曲线, 并计算 IC_{50} .

抑制率 /%=(待测样品荧光强度-阴性对照荧光强

度)/(阳性对照荧光强度-阴性对照荧光强度) $\times 100\%$.

1.6 统计学分析

所有数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 t 检验进行统计学分析.

2 结 果

2.1 荧光法和分光光度法检测 CoASH 的比较

我们将 CoASH (6.25 ~ 200 $\mu\text{mol/L}$) 与过量的 OPA (2.985 mmol/L) 和乙醇胺 (6.557 mmol/L) 充分混合后检测荧光强度 (激发波长 340 nm, 发射波长 450 nm). 由图 3a 可见, 在 6.25 ~ 200 $\mu\text{mol/L}$ 范围

内, OPA 均可与 CoASH 形成荧光物质, 且荧光强度随 CoASH 浓度的增加而增加, 呈线性关系. 我们同时使用分光光度法检测 CoASH, 在 6.25 ~ 200 $\mu\text{mol/L}$ 内 CoASH 和 DTNB 结合物的 A 值也随 CoASH 浓度的增加而增加, 同样呈现良好的线性关系 (图 3b). 这说明无论是荧光法还是分光光度法检测 CoASH, 两者的检测灵敏度基本相同. 但是计算回归方程发现, 荧光法的斜率为 3.69, 远远大于分光光度法 0.001 4 的斜率值, 具有更高的准确度. 因此选用荧光法检测 HAT 催化反应释放的 CoASH.

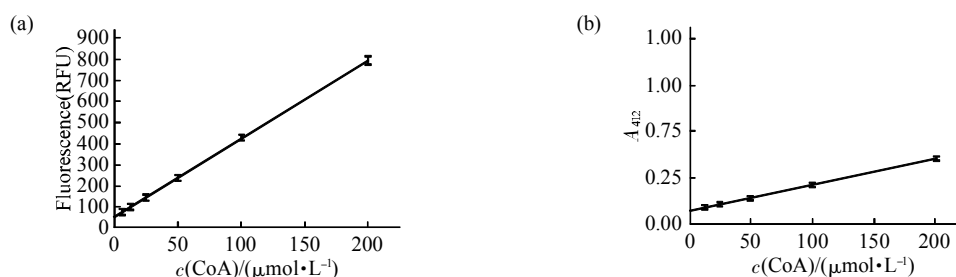


Fig. 3 Determination of CoASH by fluorescence (a) and Optical density (b)

Different concentration CoASH (6.25 ~ 200 $\mu\text{mol/L}$) was reacted with OPA (a) or DTNB (b) as described in **Materials and Methods** and fluorescence or A was measured. Data are $\bar{x} \pm s$ ($n=3$).

2.2 荧光法测定 HAT 活性

我们参考 Yukioka 的方法^[5]制备了 HAT 粗制品, 为了降低高浓度一价盐 (NaCl) 对 HAT 活性的抑制作用, 对粗酶进行了透析. Yukioka 在提供 HAT 粗制品制备方法的同时, 使用同位素方法证明了提取的粗酶具有较好的 HAT 活性. 图 4 为我们使用荧光法测定粗酶 HAT 活性的结果, 反应组 HAT1, HAT2 的荧光强度明显高于没有发生反应的对照组, 这说明从大鼠肝脏提取的酶粗制品具有良好的 HAT 活性, 与 Yukioka 的结果相同. 同时,

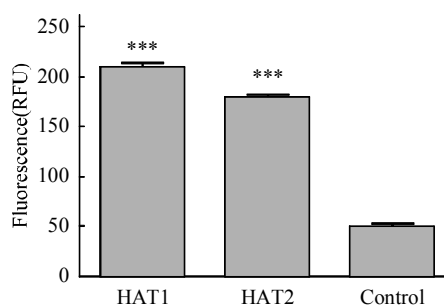


Fig. 4 HAT activity of rat liver crude lysate

Released CoASH were measured fluorescently without (HAT1) or with TCA precipitation (HAT2) after HAT reaction. A control was present by TCA precipitation before the reaction. Data are $\bar{x} \pm s$ ($n=3$). *** $P < 0.001$ vs control.

HAT1 组的荧光值较 HAT2 组稍高, 这是由于 OPA 和乙醇胺不仅可与反应释放的 CoASH 结合, 也可与反应体系中蛋白质的巯基结合产生荧光, 成为反应的本底值. 本底在对照组和反应组中同时存在, 所以在数据处理时将之减去即可. 此方法可用于 HAT 活性检测, 同时也可用于 HAT 抑制剂的检测.

2.3 HAT 抑制剂的检测

我们将待测样品与酶和底物共同孵育, 而后通过以上荧光法测定 HAT 活性, 根据所测得活性的变化来观察 HAT 抑制活性, 从而测定待测样品是否为 HAT 抑制剂. 近年研究表明, 姜黄素 (Curcumin) 是一个典型的 HAT 抑制剂, 可直接抑制细胞 HAT 活性^[9, 10]. 由于姜黄素是一个巯基 (-SH) 修饰剂, 可以直接修饰蛋白质巯基从而改变蛋白质活性^[17], 因此在应用 HAT 抑制剂荧光检测法之前, 应首先检测姜黄素对 CoASH 和作为本底值的蛋白质巯基的修饰作用是否影响该方法的结果分析.

2.3.1 姜黄素对 CoASH 的修饰作用. 我们先将高中低 3 个浓度的 CoASH 与不同浓度的姜黄素混合, 再使用 OPA 检测液检测混合物中 CoASH 的

浓度. 由图 5 可见, 低浓度姜黄素($< 25 \mu\text{mol/L}$)对高浓度 CoASH($150 \mu\text{mol/L}$)与 OPA- 乙醇胺结合的抑制作用不明显, 只有在姜黄素浓度较高时($> 25 \mu\text{mol/L}$)才会对结合产生较明显的抑制作用. 而对于中低浓度 CoASH(75 或 $37.5 \mu\text{mol/L}$), 姜黄素浓度在 $0 \sim 200 \mu\text{mol/L}$ 间对 CoASH-OPA- 乙醇胺的结合都没有明显的抑制作用. 结合图 3a 和图 4 可知本文建立的荧光检测方法中 HAT 催化生成 CoASH 的含量 $< 50 \mu\text{mol/L}$, 因此姜黄素对反应释放的 CoASH 与 OPA- 乙醇胺结合形成的荧光衍生物没有明显的抑制作用. 由此可见, 姜黄素对反应释放 CoASH 的巯基修饰作用并不明显, 对 HAT 活性分析不构成突出影响.

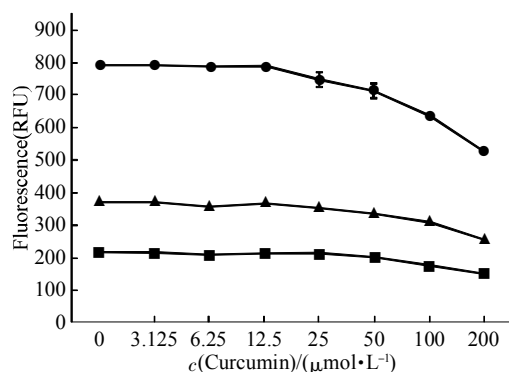


Fig. 5 Effect of Curcumin on the CoASH converted fluorescence

CoASH was incubated with Curcumin and fluorescence was measured after OPA reaction. Data are $\bar{x} \pm s$ ($n=3$). ●—●: $150 \mu\text{mol/L}$; ▲—▲: $75 \mu\text{mol/L}$; ■—■: $37.5 \mu\text{mol/L}$.

2.3.2 姜黄素对本底值的影响.

我们将不同浓度的姜黄素和固定浓度的酶蛋白混合, 而后使用 OPA 检测液检测蛋白质的本底值. 发现, 随着姜黄素浓度的增加, 酶蛋白巯基与 OPA- 乙醇胺结合产生的荧光物质明显减少(图 6), 说明姜黄素对蛋白质巯基的修饰作用逐渐增强. 由于不同浓度姜黄素对蛋白质巯基与 OPA- 乙醇胺结合的抑制作用不同(低浓度抑制率约 20%, 高浓度抑制率约 60%), 由此组间本底值产生了明显差异. 如不将反应本底除去而直接进行结果分析, 将得到高于实际的 HAT 抑制活性, 就会产生不必要的偏差, 因此使用姜黄素验证 HAT 抑制剂荧光检测方法时必须先行排除本底干扰.

我们在 HAT 反应结束时先行除去体系中的蛋白质, 而后检测反应释放 CoASH 的含量, 以排除本底干扰. 通过比较高氯酸(HClO_4)和三氯乙酸的

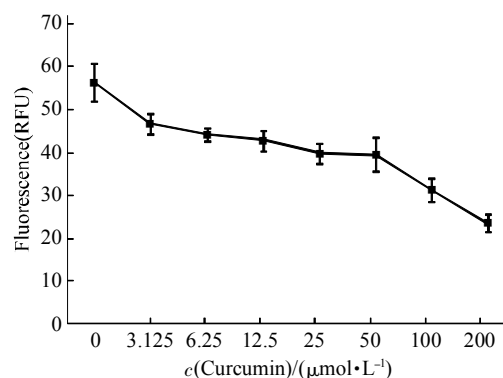


Fig. 6 Effect of Curcumin on the protein converted fluorescence background

Protein from rat liver crude lysate was incubated with Curcumin and fluorescence was measured after OPA reaction. Data are $\bar{x} \pm s$ ($n=3$).

沉淀效果, 发现高氯酸具有强氧化作用, 单独使用即可催化 AcCoA 转化为 CoASH, 影响结果分析, 因此使用三氯乙酸来进行蛋白质沉淀. 有文献报道不同体积的三氯乙酸对蛋白质的沉淀效果不同^[18], 经检测选择对 CoASH 回收率较高($70\% \sim 80\%$)且沉淀效果较好的终浓度为 0.6% 的三氯乙酸进行蛋白质沉淀.

2.3.3 姜黄素抑制 HAT 活性的量效曲线. 排除本底影响后使用 HAT 抑制剂荧光检测方法检验姜黄素的 HAT 抑制活性, 量效曲线如图 7 所示, IC_{50} 为 $53 \mu\text{mol/L}$. 有文献报道, 使用同位素方法检测姜黄素对细胞 HAT 粗制品抑制作用的 IC_{50} 为 $44 \mu\text{mol/L}$ ^[10], 对重组表达 p300/CBP 蛋白抑制作用的 IC_{50} 为 $25 \mu\text{mol/L}$ ^[9], 与我们使用荧光法测定姜黄素 HAT 抑制活性的 IC_{50} 基本相同, 从而验证了荧光法的可靠性.

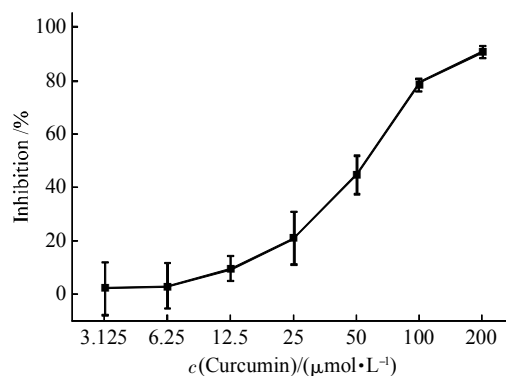


Fig. 7 Dose-response curve of Curcumin on HAT inhibition

HAT activity was assayed in the presence of different concentrations of Curcumin (The protein was precipitation by 0.6% TCA after HAT reaction). Data are $\bar{x} \pm s$ ($n=3$).

3 讨 论

以往的 HAT 检测方法不是操作复杂就是准确性低, 都不能适应现代快速高效的检测要求, 因此我们建立了一种基于荧光检测 CoASH 的 HAT 活性检测方法. 虽然很早以前就有人提出使用 OPA 直接检测谷胱甘肽(GSH)^[9], 但是其灵敏度低, 需要添加金属离子等试剂来增强荧光值, 因此很少有人使用 OPA 直接检测巯基. 本实验中利用 OPA、CoASH 和乙醇胺三者弱碱性条件下结合形成单一荧光物质的特性, 使用 OPA 检测液检测 HAT 反应释放的 CoASH 的含量. 这种荧光法检测 CoASH 的灵敏度与分光光度法持平, 而准确性则高出许多. 我们将待测样品与酶和底物共同孵育, 而后通过荧光法测定 HAT 活性, 从而建立了一种简便可靠的 HAT 抑制剂荧光检测方法. 随后, 我们使用姜黄素这一具有可靠 HAT 抑制活性的化合物来验证该检测方法. 结果表明, 荧光法得到的姜黄素 HAT 抑制活性的 IC_{50} 值与文献结果基本相同, 进一步验证了该方法的可靠性.

本文建立的 HAT 抑制剂荧光检测方法操作简单, 只需两步: 首先, 将待测样品、HAT 粗制品和底物共同孵育进行反应, 第二步, 加入 OPA 检测液检测 HAT 反应释放的 CoASH, 即可计算出样品的 HAT 抑制活性. 如果待测样品对反应的本底有一定的影响(如姜黄素), 在两步之间加入一步蛋白质沉淀排除本底干扰即可. 此法与以往的同位素、分光光度法相比具有操作简单、无同位素污染、高灵敏度、高准确性的优点, 可用于快速高效的 HAT 抑制剂筛选.

参 考 文 献

- 1 Ito K, Barnes P J, Adcock I M. Glucocorticoid receptor recruitment of histone deacetylase 2 inhibits interleukin-1 beta-induced histone H4 acetylation on lysines 8 and 12. *Mol Cell Biol*, 2000, **20**(18): 6891~6903
- 2 Allfrey V G, Faulkner R, Mirsky A E. Acetylation and methylation of histones and their possible role in the regulation of RNA synthesis. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1964, **51**(5): 786~794
- 3 Bradbury E M. Reversible histone modifications and the chromosome cell cycle. *BioEssays*, 1992, **14**(1): 9~16
- 4 Grunstein M. Histone acetylation in chromatin structure and transcription. *Nature*, 1997, **389**(6649): 349~352
- 5 Demonte' D, Quivy V, Colette Y, *et al.* Administration of HDAC inhibitors to reactivate HIV-1 expression in latent cellular reservoirs: implications for the development of therapeutic strategies. *Biochem Pharmacol*, 2004, **68**(6): 1231~1238
- 6 Sobufo O M, Borrow J, Tomek R, *et al.* MLL is fused to CBP, a histone acetyltransferase, in therapy-related acute myeloid leukemia with at(11; 16)(q23; p13.3). *Proc Natl Acad Sci USA*, 1997, **94**(16): 8732~8737
- 7 Ito K, Caramori G, Lim S, *et al.* Expression and activity of histone deacetylases in human asthmatic airway. *Am J Respir Crit Care Med*, 2002, **166**(3): 392~396
- 8 Gusterson R J, Jazrawi E, Adcock I M, *et al.* The transcriptional co-activators CREB-binding protein (CBP) and p300 play a critical role in cardiac hypertrophy that is dependent on their histone acetyltransferase activity. *J Biol Chem*, 2003, **278**(9): 6838~6847
- 9 Balasubramanyam K, Varier R A, Altaf M, *et al.* Curcumin, a novel p300/CREB-binding protein-specific inhibitor of acetyltransferase, represses the acetylation of histone/nonhistone proteins and histone acetyltransferase-dependent chromatin. *J Biol Chem*, 2004, **279**(49): 51163~51171
- 10 Kang J H, Chen J, Shi Y F, *et al.* Curcumin-induced histone hypoacetylation: The role of reactive oxygen species. *Biochem Pharmacol*, 2005, **69**(8): 1205~1213
- 11 Thompson P R, Wang D X, Wang L, *et al.* Regulation of the p300 HAT domain via a novel activation loop. *Nat Struct Mol Biol*, 2004, **11**(4): 308~315
- 12 Benson J R, Hare P E. O-Phthalaldehyde: fluorogenic detection of primary amines in the picomole range. Comparison with fluorescamine and ninhydrin. *Proc Nat Acad Sci USA*, 1975, **72**(2): 619~622
- 13 Nakamura H, Tamura Z. Fluorometric determination of thiols by liquid chromatography with postcolumn derivatization. *Anal Chem*, 1981, **53**(14): 2190~2193
- 14 Mopper K. Trace determination of biological thiols by liquid chromatography and precolumn fluorometric labeling with o-phthalaldehyde. *Anal Chem*, 1984, **56**(13): 2557~2560
- 15 Yukioka M, Sasaki S, Qi S L, *et al.* Two species of histone acetyltransferase in rat liver nuclei. *J Biol Chem*, 1984, **259**(13): 8372~8377
- 16 Chicoine L G, Richman R, Cook R G, *et al.* A single Histone acetyltransferase from tetrahymena Macronuclei catalyzes deposition-related acetylation of free histones and transcription-related acetylation of nucleosomal histones. *J Cell Biol*, 1987, **105**(1): 127~135
- 17 Jurrmann N, Brigelius-Flohé R, Böhl G F. Curcumin blocks interleukin-1 (IL-1) signaling by inhibiting the recruitment of the IL-1 receptor-associated kinase IRAK in murine thymoma EL-4 cells. *J Nutr*, 2005, **135**(8): 1859~1864
- 18 曾经泽. 生物药物分析. 第二版. 北京: 北京医科大学中国协和医科大学联合出版社, 1998. 28
- 19 Zeng J Z. Biopharmaceutical Analysis. 2nd. Beijing: Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College Press, 1998. 28
- 19 Victor H C, Jerry L. A fluorometric assay for glutathione. *Anal Biochem*, 1966, **14**(3): 434~440

A Simple Reliable Fluorescent Assay Method for Histone Acetyltransferase (HAT) Inhibitors

ZHAO Jin-Yan, YAN Zheng, LIU Zi-Liang, WANG Nan*

(Institute of Materia Medica Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Beijing 100050, China)

Abstract Histone acetyltransferases (HATs) are involved in the regulation of gene transcription in eukaryotic cells and their inhibitors could be a promising class of drugs due to their ability to modulate transcription and exert antiviral, anti-inflammatory as well as antioxidant effects. Nonradioactive spectrophotometric HAT assay is an alternative method to the widespread radioactive assay but suffers from drawbacks as lack of sensitivity and accuracy. A simple, non-radioactive fluorescent assay that measures the production of CoASH was established by its facile reaction with O-phthalaldehyde and 2-amino-ethanol. This method gives much higher accuracy compared to spectrophotometric assay, and allows screening of various compounds with potential HAT inhibition. The novel assay should be a valuable tool in transcriptional research and especially drug discovery.

Key words histone acetyltransferases(HATs), coenzyme A(CoASH), O-phthalaldehyde(OPA)

*Corresponding author.

Tel: 86-10-83172984, E-mail: wangnan@imm.ac.cn

Received: January 13, 2008 Accepted: April 15, 2008