

植物组蛋白分子伴侣研究进展^{*}

朱炎¹ 刘自强^{1,2} 高娟^{1,2} 沈文辉² 董爱武^{1**}

1. 复旦大学生命科学学院, 植物生物学研究中心, 上海, 200433; 2. Institut de Biologie Moléculaire des Plantes du CNRS, Université Louis Pasteur de Strasbourg, 12 rue du Général Zimmer, 67084 Strasbourg Cédex, France

摘要 染色质作为真核生物遗传信息的载体, 其基本结构与功能单位是核小体。细胞核内与 DNA 相关的生理反应如 DNA 复制, 需要核小体的去组装以利于各类细胞因子与 DNA 结合, 再进行核小体的重新组装以重建有功能的染色质结构, 这些过程需要组蛋白分子伴侣的介导。目前的研究结果显示, 组蛋白分子伴侣对于染色质结构稳定和基因表达调控非常重要。文中对植物组蛋白分子伴侣的研究进展, 及其在植物生长发育过程中所发挥的作用进行综述。

关键词 植物 染色质 核小体 组蛋白分子伴侣 表观遗传

真核生物的细胞核很小, 如高等植物的细胞核直径仅为 5—20 μm。庞大的线性基因组 DNA 通过与蛋白质之间复杂而有序地相互作用, 以高度折叠的染色质形式贮存于细胞核内^[1]。染色质的基本单位是核小体(Nucleosome), 它由 146bp 的 DNA (随物种不同而长度略有变化)以左手螺旋方向围绕八聚体的核心组蛋白(Core Histone)构成。核心组蛋白由一个分子的组蛋白(H3-H4)₂ 四聚体和两个分子的组蛋白(H2A-H2B)二聚体构成, 核小体之间以 DNA 和组蛋白 H1 相连, 从而形成串珠状结构的核小体链^[2]。

组蛋白富含碱性氨基酸在生理环境下带正电荷, DNA 则带相反的负电荷, 两者在体外直接混合后会产生组蛋白-DNA 大分子沉淀, 而两者在体内形成正确的核小体结构, 需要一些分子伴侣的帮助。组蛋白分子伴侣的定义正是来源于此, 即以不依赖 ATP 的方式介导组蛋白与 DNA 相互作用, 并在反应结束后不残留在反应产物核小体中^[3]。组蛋白分子伴侣根据其亲和力的差异主要分为两类: H3-H4 组蛋白分子伴侣和 H2A-H2B 组蛋白分子伴

侣。根据体外重组类染色质结构的实验结果, 目前已经建立了核小体组装机制的基本模型。首先, H3-H4 组蛋白分子伴侣携带(H3-H4)₂ 四聚体与 DNA 结合形成亚核小体结构, 然后 H2A-H2B 组蛋白分子伴侣携带两个分子的 H2A-H2B 二聚体与亚核小体结合, 形成完整的核小体结构^[4,5]。

DNA 折叠的基本重复单位——核小体以及更高级别的 DNA 折叠可以有效地阻隔各类细胞因子与 DNA 的接近。因此, 细胞核内与 DNA 相关的各种生理生化反应可能都需要核小体的去组装或者重新组装过程^[6], 这也体现了核小体组装所必需的组蛋白分子伴侣的重要作用。现有的实验结果表明, 组蛋白分子伴侣参与染色质的复制过程, 也参与众多的转录和修复等过程^[3]。

目前, 有关组蛋白分子伴侣的研究结果主要来自于酵母和动物^[3]。然而由于酵母是单细胞生物, 无法解释多细胞生物的发育机制。而植物在胚胎发育和器官发生上与动物不同, 在胚胎时期, 动物往往就已经具备了基本的躯干框架和器官系统, 而植物器官的发生和发育有相当大的一部分是胚胎形成

2008-01-17 收稿, 2008-01-29 收修改稿

^{*} 国家自然科学基金(批准号: 30100094, 30570933, 30628004)和中国博士后科学基金(20070410161)资助项目

^{**}通信作者, E-mail: aiwudong@fudan.edu.cn

©1994-2018 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. <http://www.cnki.net>

后开始和完成的, 如花的发育和侧根的发生等^[7,8]. 染色质作为遗传信息的载体, 其结构改变对基因表达的表观遗传调控机制, 近几年来成为生物学的研究热点^[9,10]. 组蛋白分子伴侣参与染色质的组装、转录以及修复等过程, 因此对组蛋白分子伴侣功能的深入研究, 可以帮助我们更好地理解表观遗传调控的作用机制.

1 植物组蛋白分子伴侣

目前已报道的植物组蛋白分子伴侣(见表 1),

在酵母和动物基因组中都可以找到相应的同源蛋白质, 表明真核生物的核小体组装元件在进化过程中高度保守. 就研究的发展过程而言, 绝大部分已知的组蛋白分子伴侣是通过生化手段在酵母或动物中首先被分离鉴定^[11]. 本文将继续沿用对组蛋白不同亲和力的归纳方法来介绍植物组蛋白分子伴侣.

1.1 H3-H4 组蛋白分子伴侣

1.1.1 CAF-1 CAF-1(chromatin assembly factor-1)最初从人类细胞中分离, 由 p150, p60 和 p48 三个

表 1 植物组蛋白分子伴侣^{a)}

| | 名称 | 成员 | <i>Arabidopsis thaliana</i> | <i>Oryza sativa</i> | 功能 |
|-----------------|-------|-----------|-----------------------------|--------------------------|---------------|
| H3-H4 组蛋白分子伴侣 | CAF-1 | FAS1 | At1g65470 | Os01g67100 Os07g17210 | 顶端分生组织 |
| | | FAS2 | At5g64630 | Os08g01680 | |
| | | MSI1 | At5g58230 | — | 种子发育, 花发育 |
| | HIRA | | At3g44530 | — | 胚胎发育, 茎顶端分生组织 |
| | ASF1 | ASF1a | At5g38110 | Os01g49150 | — |
| ASF1b | | At1g66740 | Os05g48030 | | |
| H2A-H2B 组蛋白分子伴侣 | NAP1 | NAP1; 1 | At4g26110 | Os01g51540 | — |
| | | NAP1; 2 | At2g19480 | Os06g05660 | |
| | | NAP1; 3 | At5g56950 | Os05g46230 | |
| | | NAP1; 4 | At3g13782 | Os06g40920 | |
| | NRP | NRP1 | At1g18800 | Os04g38620 | 根的胚胎后发育 |
| | | NRP2 | At1g74560 | Os02g36710 | |

a) — 表示未确定

亚基组成, 该复合体可以在体外条件下参与类染色质结构的组装^[12]. CAF-1 复合体在真核生物中普遍存在, 在酵母中由 CAC1(chromatin assembly complex 1), CAC2 和 CAC3 组成, 在拟南芥中的同源蛋白质是 FAS1(Fasciata 1), FAS2 和 MSI1(multicopy suppressor of IRA 1)^[13]. 动物 CAF-1 的大亚基 p150 可以在体外、体内结合 PCNA (proliferating cell nuclear antigen), 能够将新生组蛋白引导到 DNA 复制叉并掺入到 DNA 子链上, 这也是唯一鉴定的与 DNA 复制偶联的核小体组装活性^[14,15]. 作为最小的亚基, p48 对 CAF-1 的活性和功能不可缺少, 它还存在于一些核小体修饰复合体之中, 对复合体的核小体修饰活性至关重要^[16]. 在动物细胞中, 剔除编码 p150 或 p60 的基因将导致细胞由于染色质组装缺陷而停滞在 S 期, 最终导致细胞死亡^[17-19]. 酵母和植物 CAF-1 同源蛋白质的核小体

组装活性同样也与 DNA 复制相关, 然而其功能缺失并不致死, 说明酵母和植物体内存在功能冗余的其他成员^[20].

缺失 CAF-1 活性的植物可以存活, 这对研究它在发育中的生理功能和调节机制非常有利. 拟南芥 *fas1*, *fas2* 单突变体与双突变体表型相似(在下文中统称为 *fas* 突变体), 最明显的表型是茎干宽扁, 相应的叶序和花序结构紊乱, 而扁化(fasciation)也正是 *fas* 命名的来源; 同时 *fas* 突变体的根发育受到抑制, 出现短根的表型^[21,22]. 植物的胚胎后发育生长, 源于体轴两端的分生组织: 茎顶端分生组织(SAM)和根顶端分生组织(RAM). 位于分生组织内部的细胞不断分裂以维持分生组织的容量, 而分生组织外围周边区的细胞不断分化以形成不同的侧生器官. *fas* 突变体中, SAM 和 RAM 在胚胎形成时期正常, 但在胚胎后发育过程中, SAM 结构扁

平扩展, 而 RAM 则混乱难以辨认. 因此, CAF-1 活性对于顶端分生组织的正常维持具有重要的作用^[22]. 除了分生组织以外, *fas* 突变体的多种器官发育也都受到了影响, 如幼苗下胚轴发育粗短, 叶片形态狭窄瘦小且边缘锯齿状, 叶面表皮毛分叉增多等^[23, 24]. *fas* 表型的多效性说明, 在植物整个的生长发育时期都需要 CAF-1 的参与.

拟南芥 *msi1* 单突变体胚胎致死, 而致死原因并非缺失 CAF-1 活性, 而是源于种子发育过程中的调控失活. 被子植物需要通过双受精形成二倍体合子和三倍体初生胚乳核, 进而发育成胚和胚乳完成种子发育, 受精前的孤雌生殖受到严格抑制. *msi1* 突变体的雌配子体中, 胚乳前身的极核在受精前提前发育成无生理活性的双倍体胚乳, 并无法后续受精, 导致种子发育夭折. 因此, *MSI1* 在拟南芥的胚胎发育过程中起到关键的负调控作用^[25, 26]. 不仅如此, *MSI1* 在植物营养生长转向生殖生长中也起到重要的调控作用. 通过部分基因互补或反义 RNA 干扰等手段, 转基因植株体内存在少量的 *MSI1* mRNA, 就可以克服胚胎致死, 但成株与野生型相比开花时间延迟, 而过量表达 *MSI1* 则表现早花. 开花植物选择开花时间依赖于诸多外界环境因素和自身遗传背景, 其调控机制复杂而精细, 显然 *MSI1* 参与其中^[27].

1.1.2 其他 H3-H4 组蛋白分子伴侣 绝大多数的真核生物中都存在组蛋白 H3 的变异体 H3.3. H3.3 在序列上和普通组蛋白 H3 只相差几个氨基酸, 然而 H3.3 的表达不受 S 期限制, 在染色质上主要分布在表达活跃的常染色质区域, 因此被认为与基因激活相关^[28-30]. 生化实验表明, H3 和 H3.3 的分子伴侣不同, 分别是 CAF-1 和 HIRA (histone regulatory homolog a)^[31-33]. 另一种组蛋白分子伴侣 ASF1 (anti-silencing function 1) 的体外核小体组装活性受到争议^[34-37], 其体内的功能被认为是可以协助 CAF-1 或 HIRA, 具有组蛋白供给和协助组装的作用^[37, 38]. 模式植物拟南芥含有一个 *HIRA* 和两个 *ASF1* 的同源基因(见表 1).

拟南芥 *HIRA* 基因的敲除导致胚胎致死, 其机理尚未阐明. 对过量表达产生共抑制效果的弱突变体 *hira* 的表型研究发现, *HIRA* 与叶和花的发育相

关. 与野生型相比, *hira* 弱突变体叶柄变短、叶片下卷, 而花器官的花萼、花瓣以及雄蕊体积缩小, 以致暴露出未成熟的雌蕊, 这些表型都与顶端分生组织的细胞分化相关^[39]. 目前, 对植物 *ASF1* 的唯一报道是拟南芥 *ASF1b* 和组蛋白 H3 可以被 TSL (TOUSLED) 激酶磷酸化^[40]. TSL 表达广谱, 活性随细胞周期而变化, 其基因敲除会导致植物生长的严重缺陷^[41], 说明 *ASF1b* 受到细胞周期相关的翻译后修饰, 而现有的数据也表明 *ASF1b* 的转录集中在顶端分生区域 (www.geneinvestigator.ethz.ch). 由于 *ASF1* 具有协助 CAF-1 或 HIRA 的功能, 对 *ASF1* 的功能研究将有助于理解在植物发育过程中不同组蛋白分子伴侣之间的协同作用.

1.2 H2A-H2B 组蛋白分子伴侣 NAP1/NRP

NAP1 (nucleosome assembly protein 1) 最早在纯化组蛋白时被发现, 具有体外组装类染色质的活性^[42], 其同源物在酵母和各类动物中陆续被鉴定^[42-45], 是目前唯一被确认的 H2A-H2B 组蛋白分子伴侣. 与低拷贝基因数的 H3-H4 组蛋白分子伴侣不同, NAP1 是具有多个成员的基因家族. 对于植物 NAP1 的研究起步相对较晚. 1995 年, Yoon 等从大豆中分离到第一个植物 NAP1 的 cDNA, 证明了 NAP1 在植物中保守^[46]. 随后我们实验室利用筛选 cDNA 文库的方法, 分离到多个编码水稻和烟草 NAP1 蛋白的基因^[47, 48]. 除 NAP1 之外, 动植物基因组还编码一类与 NAP1 序列具有同源性的蛋白质 NRP (NAP1 related protein), 其结构与 NAP1 非常类似, 因此也被纳入 NAP1 家族^[49].

亚细胞定位结果表明, 大多数 NAP1 定位于细胞质, 这与其组蛋白分子伴侣的功能不符, 所以这一结果一度令人费解^[48, 50]. 后来的研究发现, 酵母 NAP1 蛋白可以在细胞核与细胞质之间穿梭, 其 N 端核输出信号 (NES) 的突变可导致 NAP1 在核内的累积并影响 NAP1 的体内功能^[50]. 部分果蝇和人类 NAP1 蛋白的亚细胞定位与细胞周期以及翻译后修饰相关, 在 G₀/G₁ 时期它们被酪蛋白激酶 2 (CK2) 磷酸化并定位在细胞质, 而在 G₁/S 期则被去磷酸化并进核^[44, 51, 52].

生化分析显示, 尽管在体外以不同强度结合不同类型的组蛋白, 植物 NAP1 和 NRP 蛋白在体内

特异性地结合 H2A 和 H2B^[47-49]。通过绿色荧光蛋白(GFP)标记,发现 NRP 主要定位在细胞核中, NAP1 蛋白则表现多样的细胞定位模式。有的 NAP1 在细胞核和细胞质均有分布,如水稻 OsNAP1; 3(*Oryza sativa* NAP1; 3); 部分 NAP1 被证实可以在细胞核与细胞质之间穿梭,如水稻 OsNAP1; 1 和烟草 NtNAP1; 1 (*Nicotiana tabacum* NAP1; 1), 而且其出核与 NES 相关。其余 NAP1 蛋白则主要定位在细胞质,如 OsNAP1; 2, NtNAP1; 2-4 等^[47-49]。组蛋白在细胞质中合成,被运输到细胞核内进行组蛋白掺入,这种供求关系的平衡依赖于对组蛋白的贮存,如 S 期的 DNA 复制和间期的转录过程。NAP1 家族蛋白不同的亚细胞定位意味着不同成员在植物生长和发育过程中发挥着不同的作用。通过亚细胞结构分离发现,在叶发育早期,拟南芥 AtNAP1; 1 (*Arabidopsis thaliana* NAP1; 1) 定位在细胞核,促进细胞分裂,而在叶发育晚期,AtNAP1; 1 则被转移出核,定位在细胞质,促进细胞延伸,其机制尚不清楚^[53]。

拟南芥基因组中有两个 NRP 基因,任一基因敲除都不出现明显的表型变化。当两个 NRP 基因同时缺失时,植物出现短根表型^[49]。进一步的分析表明,根发育在胚胎时期正常,而在萌发一周后根的延长开始减缓。碘化丙啶(PI)染色显示, *nrp* 双突变体的 RAM 结构正常,但零散地出现死细胞,分生细胞的细胞周期随着时间的推移发生累积性的阻遏。正常拟南芥根部延伸区和根毛区的横切面呈同心圆结构,不同细胞类型围绕中柱鞘规则排列^[54],而 *nrp* 双突变体的相应区域则出现细胞异位分裂或死亡,以及错乱的细胞排列。与 *fas* 突变体的多效性表型不同^[22-24], *nrp* 双突变体的表型仅局限在根部。NRP 和 NAP1 的结构相似,同样可以在体内特异性结合 H2A-H2B,其在地表部分的功能是否被 NAP1 替代,需要通过进一步的功能分析来阐明。

2 植物组蛋白分子伴侣与基因表达调控

fas 突变体和 *nrp* 双突变体可以存活,方便了后续与基因转录相关的功能研究。*fas* 突变体中 SAM 和 RAM 结构的破坏,被认为与调控基因 *WUS* 和 *SCR* 的异位表达相关^[22]。*WUS* 在 SAM

特定位置的细胞中表达以维持 SAM 的干细胞特征^[55],而 *SCR* 则表达在植物根部内皮层细胞以及相应的前体分生细胞,对维持根器官的对称性和延伸起到关键作用^[56,57]。在 *fas* 突变体中, *WUS* 的表达蔓延到了 SAM 的其他细胞层并引发 SAM 扁平,而 *SCR* 在前体分生细胞中的正常表达模式被改变,以致 RAM 遭到了破坏^[22]。

有关 *fas* 突变体中基因异位表达最直观的研究结果来自于 3D FISH 实验 (3-Dimensional fluorescence *in situ* hybridization)^[58]。拟南芥根毛区的外表皮细胞分为纵向间隔排列的根毛细胞列和非根毛细胞列^[59],它们来源于相同的前体分生细胞,而 *GL2* 是调控这些细胞分化的关键基因^[60,61]。在 *GL2* 表达的非根毛细胞列中,基因附近的染色质区域能被杂交探针检测到,表明相应 DNA 构象开放易于探针接近;相反,在不表达 *GL2* 的根毛细胞列中,不能检测到杂交信号,表明 DNA 构象闭合。这种规则的构象在 *fas* 突变体中发生改变,所有的细胞列都能检测到杂交信号,表明 *GL2* 在突变体中已经异位表达^[58]。上述的实验结果表明,CAF-1 所介导的核小体组装过程以及后续的染色质重塑 (chromatin remodeling) 对于基因表达调控具有非常重要的作用。

基因芯片分析结果显示,拟南芥 *fas* 突变体中表达发生显著改变的基因有 87 个,在基因组中只占极小的比例。这些变化显著的基因中,很大比例与染色质结构相关^[20]。值得关注的是,其中编码变异组蛋白 H3.3 的两个基因分别上调约 1.5 倍和大于 5 倍。由于 H3.3 的表达基数非常高,因此 *fas* 突变体体内所激增的 H3.3 的含量相当惊人。变异组蛋白 H3.3 在真核生物中往往与基因激活相联,染色质中掺入过量的 H3.3 是否与诸多基因的异位表达相关,目前还不清楚。如前文所述,CAF-1 和 HIRA 分别介导组蛋白 H3 和 H3.3 的掺入, H3 与 DNA 复制相联在 S 期大量表达,而 H3.3 的表达则不受 S 期限制。CAF-1 活性在 *fas* 突变体中遭到破坏时, H3.3 的激增可以被理解为在 S 期时对 H3 掺入能力不足的整体补偿;而当 H3.3 掺入能力不足时,表达受 S 期限制的 H3 则不能做出相应补偿。根据这样的解释,就容易理解 *fas* 突变体不致死而 *hira* 致死的表型,当然这种解释尚待更多实验证据

的支持。

MSH1 不仅是 CAF-1 的亚基, 同时也是其他核小体修饰复合体的关键组分^[19]。在动物中, MSH1 与组蛋白甲基转移酶以及其他因子构成 PRC2 (polycomb repressive complex 2), 建立并维持对发育调节基因的转录抑制^[62-64]。在植物拟南芥中也发现了 PRC2 复合体, 其中 MSH1 引导 MEA^[65] 组蛋白甲基转移酶对 *PHE1* 的表观遗传负调节, 而 *PHE1* 在种子发育中具有关键的调节作用^[16, 69]。MSH1 作为共用亚基, 其是否作为分子桥梁, 在植物发育过程中如何衔接复制偶联的核小体组装与组蛋白表观遗传修饰, 值得深入研究。

nrp 双突变体的基因芯片结果显示, 102 个基因在双突变体中的表达发生显著改变, 但仍然只占基因组很小的比例^[49]。与 *fas* 突变体不同, *nrp* 双突变体内没有发现 H2A 变异组蛋白 (H2A. X 或 H2A. Z)^[67] 的表达发生明显改变。在表达明显改变的 102 个基因中, 有多个与细胞壁形成、细胞延伸以及植物激素相关, 而这些过程均与根器官的生长和延伸有着密切的关联, 表明 *NRP* 在根发育上具有直接而特异的调控作用^[49]。

单细胞真核生物酵母只含有一个 *NAP1* 基因, *NAP1* 基因的敲除造成基因组约 10% 的基因表达发生显著改变, 然而令人惊讶的是, 这种全局性的基因表达改变并不产生任何表型^[68, 69]。如前文所述, 酵母 *NAP1* 是穿梭蛋白, 在大部分时期 *NAP1* 定位于细胞质, 可能起到对组蛋白贮存等作用, 而在 S 期进入核内发挥核小体组装活性, 从组蛋白胞质合成到细胞核内掺入核小体, *NAP1* 可以说是全程意义上的组蛋白分子伴侣, *NAP1* 的功能缺失可能导致细胞核内染色质提升对 H2A-H2B 组蛋白新陈代谢调节的敏感度, 从而引发全局性的基因表达改变^[68]。植物基因组中含有多个 *NAP1* 基因, 它们之间的功能分配与协调尚缺乏研究。

3 植物组蛋白分子伴侣与基因组稳定性

真核生物的染色质根据形态和功能大致可分为异染色质和常染色质。异染色质形态高度紧凑折叠, 在功能上对应基因转录关闭; 而常染色质则形态伸展, 在功能上对应基因转录激活^[70]。在 CAF-1 活性缺失的植物细胞中, 异染色质含量下降, 常染

色质构像则更加伸展^[71]。共聚焦显微镜的分析结果显示, *fas* 突变体细胞核的 DAPI (4, 6-diamidino-2-phenylindole) 染色中心更加趋于弥散^[20, 71], 这一现象之前在 DNA 低甲基化突变体中被发现^[72]。虽然一般认为着丝粒区域的高甲基化水平是与异染色质维持相关的基因组印记, 然而 *fas* 似乎对其并没有影响^[20, 71]。另外, 很多内源性转座子转录水平的基因沉默 (TGS) 在 *fas* 突变体中得以释放, 与 DNA 低甲基化突变体相似, *fas* 突变体中的 TGS 释放在胚胎形成时期就已出现, 但相对而言程度较低而且更为随机^[20, 73]。因此在发育过程中, CAF-1 的核小体组装活性与其他表观遗传机制共同参与了染色质结构的形成和动态调节。

fas 突变体的细胞核对 DNase I 处理更加敏感。在正常的生长条件下, 作为植物 DNA 损伤修复的主要途径, 同源重组频率在 *fas* 突变体内大幅提升, 而参与 DNA 损伤修复的一些关键基因如 *RAD51*, *PARP1* 和 *BRCA1* 在突变体内组成型上调^[20, 71]。与之相应, 有丝分裂标记 *CYCB1*; 1::GUS 在体内累积, 标志着 G₂/M 阻滞的发生^[20]。综上所述, 虽然 CAF-1 核小体组装活性对植物存活不是必需的, 但其功能缺失将导致染色质结构紊乱和基因的错位表达, 并组成型激活细胞周期内源关卡以及后续的修复途径^[74]。

ChIP 实验发现, *NRP* 蛋白可以结合常染色质和异染色质的某些区域^[49]。在正常生长条件下 *nrp* 双突变体的染色质稳定性以及对 DNase I 敏感性与野生型相当。当植物受到较强的 DNA 损伤胁迫时, *NRP* 的缺失导致染色质稳定性的下降以及基因沉默的释放, 说明 *NRP* 同样对染色质结构的形成和稳定有作用, 只是同 CAF-1 相比作用较弱^[49]。

4 展望

真核生物的染色质重塑以及表观遗传的动态调节, 已经成为当今生物学的热点, 对组蛋白分子伴侣的研究是其中重要的组成部分。虽然起步相对较晚, 落后于占主导的酵母和动物系统, 然而组蛋白分子伴侣在植物领域的相关研究正凸现其相对优势。植物体系具备成熟的遗传分析系统、全基因组突变体库和某些弱表型突变体, 便于分析发育过程中表观遗传调控的作用机理。因此, 我们相信,

未来植物系统进行的相关研究工作将有助于揭示更多组蛋白分子伴侣在染色质组装和动态调节中的作用以及在植物生长发育过程中所参与的调节机制,并且对其他生物系统相应的研究产生影响。

致谢 感谢中国科学院植物生理生态研究所黄海研究员对本文的建议。

参 考 文 献

- 1 Hayes JJ, Hansen JC. Nucleosomes and the chromatin fiber. *Curr Opin Genet Dev*, 2001, 11(2): 124—129
- 2 Luger K. Dynamic nucleosomes. *Chromosome Res*, 2006, 14(1): 5—16
- 3 Polo SE, Almouzni G. Chromatin assembly: A basic recipe with various flavours. *Curr Opin Genet Dev*, 2006, 16(2): 104—111
- 4 Nakagawa T, Bulger M, Muramatsu M, et al. Multistep chromatin assembly on supercoiled plasmid DNA by nucleosome assembly protein-1 and ATP-utilizing chromatin assembly and remodeling factor. *J Biol Chem*, 2001, 276(29): 27384—27391
- 5 Tyler JK. Chromatin assembly: Cooperation between histone chaperones and ATP-dependent nucleosome remodeling machines. *Eur J Biochem*, 2002, 269(9): 2268—2274
- 6 Luger K. Structure and dynamic behavior of nucleosomes. *Curr Opin Genet Dev*, 2003, 13(2): 127—135
- 7 Howell SH. *Molecular Genetics of Plant Development*. Cambridge: Cambridge University Press, 1998, 192—221
- 8 Howell SH. *Molecular Genetics of Plant Development*. Cambridge: Cambridge University Press, 1998, 300—302
- 9 Henderson IR, Jacobsen SE. Epigenetic inheritance in plants. *Nature*, 2007, 447(7143): 418—424
- 10 Nishimura T, Paszkowski J. Epigenetic transitions in plants not associated with changes in DNA or histone modification. *Biochim Biophys Acta*, 2007, 1769(5—6): 393—398
- 11 Eitoku M, Sato L, Senda T, et al. Histone chaperones: 30 years from isolation to elucidation of the mechanisms of nucleosome assembly and disassembly. *Cell Mol Life Sci*, 2008, 65(3): 414—444
- 12 Smith S, Stillman B. Purification and characterization of CAF-1, a human cell factor required for chromatin assembly during DNA replication *in vitro*. *Cell*, 1989, 58(1): 15—25
- 13 Ridgway P, Almouzni G. CAF-1 and the inheritance of chromatin states: At the crossroads of DNA replication and repair. *J Cell Sci*, 2000, 113(15): 2647—2658
- 14 Verreault A, Kaufman PD, Kobayashi R, et al. Nucleosome assembly by a complex of CAF-1 and acetylated histones H3/H4. *Cell*, 1996, 87(1): 95—104
- 15 Kaufman PD, Kobayashi R, Kessler N, et al. The p150 and p60 subunits of chromatin assembly factor I: A molecular link between newly synthesized histones and DNA replication. *Cell*, 1995, 81(7): 1105—1114
- 16 Hennig L, Bouveret R, Gruissem W. MSI1-like proteins: An escort service for chromatin assembly and remodeling complexes. *Trends Cell Biol*, 2005, 15(6): 295—302
- 17 Hoek M, Stillman B. Chromatin assembly factor 1 is essential and couples chromatin assembly to DNA replication *in vivo*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100(21): 12183—12188
- 18 Ye X, Franco AA, Santos H, et al. Defective S phase chromatin assembly causes DNA damage, activation of the S phase checkpoint, and S phase arrest. *Mol Cell*, 2003, 11(2): 341—351
- 19 Nabatiyan A, Krude T. Silencing of Chromatin Assembly Factor 1 in human cells leads to cell death and loss of chromatin assembly during DNA synthesis. *Mol Cell Biol*, 2004, 24(7): 2853—2862
- 20 Schönrock N, Exner V, Probst A, et al. Functional genomic analysis of CAF-1 mutants in *Arabidopsis thaliana*. *J Biol Chem*, 2006, 281(14): 9560—9568
- 21 Leyser HMO, Furner IJ. Characterisation of three shoot apical meristem mutants of *Arabidopsis thaliana*. *Development*, 1992, 116(2): 397—403
- 22 Kaya H, Shibahara KI, Taoka KI, et al. FASCIATA genes for chromatin assembly factor-1 in *Arabidopsis* maintain the cellular organization of apical meristems. *Cell*, 2001, 104(1): 131—142
- 23 Exner V, Taranto P, Schönrock N, et al. Chromatin assembly factor CAF-1 is required for cellular differentiation during plant development. *Development*, 2006, 133(21): 4163—4172
- 24 Ramirez-Parra E, Gutierrez C. E2F regulates FASCIATA1, a chromatin assembly gene whose loss switches on the endocycle and activates gene expression by changing the epigenetic status. *Plant Physiol*, 2007, 144(1): 105—120
- 25 Köhler C, Hennig L, Bouveret R, et al. *Arabidopsis* MSI1 is a component of the MEA/FIE *Polycomb* group complex and required for seed development. *EMBO J*, 2003, 22(18): 4804—4814
- 26 Guitton AE, Berger F. Loss of function of MULTICOPY SUPPRESSOR OF IRA 1 produces nonviable parthenogenetic embryos in *Arabidopsis*. *Curr Biol*, 2005, 15(8): 750—754
- 27 Bouveret R, Schönrock N, Gruissem W, et al. Regulation of flowering time by *Arabidopsis* MSI1. *Development*, 2006, 133(9): 1693—1702
- 28 Henikoff S, Furuyama T, Ahmad K. Histone variants, nucleosome assembly and epigenetic inheritance. *Trends Genet*, 2004, 20(7): 320—326
- 29 Henikoff S, Ahmad K. Assembly of variant histones into chromatin. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 2005, 21: 133—153
- 30 Kamakaka RT, Biggins S. Histone variants: Deviants? *Genes*

- Dev, 2005, 19(3): 295—310
- 31 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(1): 51—61
- 32 van der Heijden GW, Dieker JW, Derijck AA, et al. Asymmetry in histone H3 variants and lysine methylation between paternal and maternal chromatin of the early mouse zygote. *Mech Dev*, 2005, 122(9): 1008—1022
- 33 Loppin B, Bonnefoy E, Anselme C, et al. The histone H3 3 chaperone HIRA is essential for chromatin assembly in the male pronucleus. *Nature*, 2005, 437(7063): 1386—1390
- 34 Tyler JK, Adams CR, Chen SR, et al. The RCAF complex mediates chromatin assembly during DNA replication and repair. *Nature*, 1999, 402(6761): 555—560
- 35 Munakata T, Adachi N, Yokoyama N, et al. A human homologue of yeast anti-silencing factor has histone chaperone activity. *Genes Cells*, 2000, 5(3): 221—233
- 36 Chimura T, Kuzuhara T, Horikoshi M. Identification and characterization of CIA/ASF1 as an interactor of bromodomains associated with TFIID. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99(14): 9334—9339
- 37 Tyler JK, Collins KA, Prasad-Sinha J, et al. Interaction between the *Drosophila* CAF-1 and ASF1 chromatin assembly factors. *Mol Cell Biol*, 2001, 21(19): 6574—6584
- 38 Loyola A, Almouzni G. Histone chaperones: a supporting role in the limelight. *Biochim Biophys Acta*, 2004, 1677(1—3): 3—11
- 39 Phelps-Durr TL, Thomas J, Vahab P, et al. Maize rough sheath2 and its *Arabidopsis* orthologue ASYMMETRIC LEAVES1 interact with HIRA, a predicted histone chaperone, to maintain *knox* gene silencing and determinacy during organogenesis. *Plant Cell*, 2005, 17(11): 2886—2898
- 40 Ehsan H, Reichheld JP, Durfee T, et al. T OUSLED kinase activity oscillates during the cell cycle and interacts with chromatin regulators. *Plant Physiol*, 2004, 134(4): 1488—1499
- 41 Roe JL, Rivin CJ, Sessions RA, et al. The Tousled gene in *A. thaliana* encodes a protein kinase homolog that is required for leaf and flower development. *Cell*, 1993, 75(5): 939—950
- 42 Ishimi Y, Yasuda H, Hirosumi J, et al. A protein which facilitates assembly of nucleosome-like structures *in vitro* in mammalian cells. *J Biochem*, 1983, 94(3): 735—744
- 43 Ishimi Y, Kikuchi A. Identification and molecular cloning of yeast homolog of nucleosome assembly protein 1 which facilitates nucleosome assembly *in vitro*. *J Biol Chem*, 1991, 266(11): 7025—7029
- 44 Ito T, Bulger M, Kobayashi R, et al. *Drosophila* NAP-1 is a core histone chaperone that functions in ATP-facilitated assembly of regularly spaced nucleosomal arrays. *Mol Cell Biol*, 1996, 16(6): 3112—3124
- 45 Steer WM, Abu-Daya A, Brickwood SJ, et al. *Xenopus* nucleosome assembly protein becomes tissue-restricted during development and can alter the expression of specific genes. *Mech Dev*, 2003, 120(9): 1045—1057
- 46 Yoon HW, Kim MC, Lee SY, et al. Molecular cloning and functional characterization of a cDNA encoding nucleosome assembly protein 1 (NAP-1) from soybean. *Mol Gen Genet*, 1995, 249(5): 465—473
- 47 Dong A, Zhu Y, Yu Y, et al. Regulation of biosynthesis and intracellular localization of rice and tobacco homologues of nucleosome assembly protein 1. *Planta*, 2003, 216(4): 561—570
- 48 Dong A, Liu Z, Zhu Y, et al. Interacting proteins and differences in nuclear transport reveal specific functions for the NAP1 family proteins in plants. *Plant Physiol*, 2005, 138(3): 1446—1456
- 49 Zhu Y, Dong A, Meyer D, et al. *Arabidopsis* NRP1 and NRP2 encode histone chaperones and are required for maintaining postembryonic root growth. *Plant Cell*, 2006, 18(11): 2879—2892
- 50 Miyaji-Yamaguchi M, Kato K, Nakano R, et al. Involvement of nucleocytoplasmic shuttling of yeast Nap1 in mitotic progression. *Mol Cell Biol*, 2003, 23(18): 6672—6684
- 51 Rodríguez P, Munroe D, Prawitt D, et al. Functional characterization of human nucleosome assembly protein-2 (NAP1L4) suggests a role as a histone chaperone. *Genomics*, 1997, 44(3): 253—265
- 52 Rodríguez P, Pelletier J, Price GB, et al. NAP-2: Histone chaperone function and phosphorylation state through the cell cycle. *J Mol Biol*, 2000, 298(2): 225—238
- 53 Galichet A, Gruissem W. Developmentally controlled farnesylation modulates AtNAP1; 1 function in cell proliferation and cell expansion during *Arabidopsis* leaf development. *Plant Physiol*, 2006, 142(4): 1412—1426
- 54 Dolan L, Janmaat K, Willemsen V, et al. Cellular organization of the *Arabidopsis thaliana* root. *Development*, 1993, 119(1): 71—84
- 55 Mayer KF, Schoof H, Haecker A, et al. Role of *WUSCHEL* in regulating stem cell fate in the *Arabidopsis* shoot meristem. *Cell*, 1998, 95(6): 805—815
- 56 Di Laurenzio L, Wysocka-Diller J, Malamy JE, et al. The *SCARECROW* gene regulates an asymmetric cell division that is essential for generating the radial organization of the *Arabidopsis* root. *Cell*, 1996, 86(3): 423—433
- 57 Wysocka-Diller JW, Helariutta Y, Fukaki H, et al. Molecular analysis of *SCARECROW* function reveals a radial patterning mechanism common to root and shoot. *Development*, 2000, 127(3): 595—603

- 58 Costa S, Shaw P. Chromatin organization and cell fate switch respond to positional information in *Arabidopsis*. *Nature*, 2006, 439(7075): 493—496
- 59 Dolan L, Duckett CM, Grierson C, et al. Clonal relationships and patterning in the root epidermis of *Arabidopsis*. *Development*, 1994, 120(9): 2465—2474
- 60 Masucci JD, Rerie WG, Foreman DR, et al. The homeobox gene *GLABRA2* is required for position-dependent cell differentiation in the root epidermis of *Arabidopsis thaliana*. *Development*, 1996, 122(4): 1253—1260
- 61 Hung CY, Lin Y, Zhang M, et al. A common position-dependent mechanism controls cell-type patterning and *GLABRA2* regulation in the root and hypocotyl epidermis of *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 1998, 117(1): 73—84
- 62 Czermin B, Melfi R, McCabe D, et al. *Drosophila* Enhancer of Zeste/ESC complexes have a histone H3 methyltransferase activity associated with a human multiprotein complex containing the Enhancer of Zeste protein. *Cell*, 2002, 111(2): 185—196
- 63 Müller J, Hart CM, Francis NJ, et al. Histone methyltransferase activity of a *Drosophila* Polycomb group repressor complex. *Cell*, 2002, 111(2): 197—208
- 64 Kuzmichev A, Nishioka K, Erdjument-Bromage H. Histone methyltransferase activity associated with a human multiprotein complex containing the Enhancer of Zeste protein. *Genes Dev*, 2002, 16(22): 2893—2905
- 65 Grossniklaus U, Vielle-Calzada JP, Hoepfner MA, et al. Maternal control of embryogenesis by *MEDEA*, a *Polycomb* group gene in *Arabidopsis*. *Science*, 1998, 280(5362): 446—450
- 66 Köhler C, Hennig L, Spillane C, et al. The polycomb-group protein MEDEA regulates seed development by controlling expression of the MADS-box gene *PHERES1*. *Genes Dev*, 2003, 17(12): 1540—1553
- 67 Yi H, Sardesai N, Fujinuma T, et al. Constitutive expression exposes functional redundancy between the *Arabidopsis* histone H2A gene *HTA1* and other H2A gene family members. *Plant Cell*, 2006, 18(7): 1575—1589
- 68 Ohkuni K, Shirahige K, Kikuchi A. Genome-wide expression analysis *NAP1* in *Saccharomyces cerevisiae*. *Biochem Biophys Res Commun*, 2003, 306(1): 5—9
- 69 Kellogg DR, Kikuchi A, Fujii-Nakata T, et al. Members of the NAP/SET family of proteins interact specifically with B-type cyclins. *J Cell Biol*, 1995, 130(3): 661—673
- 70 Hennig W. Heterochromatin. *Chromosoma*, 1999, 108(1): 1—9
- 71 Kirik A, Ecinka A, Wendeler E, et al. The Chromatin assembly factor subunit FASCIATA1 is involved in homologous recombination in plants. *Plant Cell*, 2006, 18(10): 2431—2442
- 72 Takeda S, Tadele Z, Hofmann I, et al. *BRU1*, a novel link between responses to DNA damage and epigenetic gene silencing in *Arabidopsis*. *Genes Dev*, 2004, 18(7): 782—793
- 73 Ono T, Kaya H, Takeda S, et al. Chromatin assembly factor 1 ensures the stable maintenance of silent chromatin states in *Arabidopsis*. *Genes Cells*, 2006, 11(2): 153—162
- 74 Ramirez-Parra E, Gutierrez C. The many faces of chromatin assembly factor 1. *Trends Plant Sci*, 2007, 12(12): 570—576