

· 成果简介 ·

利用冷冻电镜技术解析 30 nm 染色质高级结构

朱 平* 李国红* 许瑞明

(中国科学院生物物理研究所生物大分子国家重点实验室, 北京 100101)

[关键词] 30 nm 染色质, 冷冻电镜, 三维重构, 双螺旋

人类基因组计划完成后的一个重要生物学问题是: 人体内 200 多种具有相同基因组, 但形态和功能迥异的细胞的命运是如何决定和分化的? 这其中, 由染色体的基本单元——核小体经多次折叠后形成的 30 nm 染色质可能起了重要的作用。在高等生物个体的发育和分化过程中, 生命体通过各种表观遗传机制调控染色质高级结构(特别是 30 nm 染色质纤维)的动态变化, 进而调控基因的开放、关闭和转录水平, 从而决定细胞的组织特异性和细胞命运。因此, 染色质的高级结构、动态变化及其调控机制对于理解生命过程的本质具有重要的意义, 也是现代分子生物学的基本问题之一。

由于缺乏一个系统性的、合适的手段和体系, 对于 30 nm 染色质纤维的高级精细结构组成还具有较大的争议。最近, 我们利用染色质体外组装和冷冻电镜三维重构方法, 获得了一个具有较高分辨率的 30 nm 染色质三维重构结果, 发现 30 nm 染色质具有一种和 DNA 右手双螺旋结构类似的左手双螺旋高级结构, 在 30 nm 染色质纤维高级结构这一问题上取得了较为重要的进展。

1 DNA 右手双螺旋结构

早期的研究发现, 细胞核中存在一种能在弱酸性溶液中析出而在弱碱性溶液中溶解的白色丝状物质, 这就是现在人们所熟知的 DNA。后来的研究表明, DNA, 而不是之前认为的蛋白质, 才是遗传信息的真正物质载体。

1953 年 4 月 25 日, 英国剑桥大学卡文迪许实验室的沃森(James Dewey Watson, 1928—)和克里克(Francis Harry Compton Crick, 1916—2004)发表了一篇划时代的论文^[1], 宣告他们发现了 DNA

的双螺旋结构(图 1)。DNA 双螺旋模型显示 DNA 中四种碱基排列在双螺旋的内部, 并以 A-T、C-G 的方式配对; 脱氧核糖和磷酸基团排列在外部, 通过磷酸二酯键交替连接起来; 两条主链以麻花状绕同一螺旋轴以右手方向盘旋形成方向相反的双螺旋。



图 1 DNA 右手双螺旋结构模型^[1]

双螺旋结构揭示了 DNA 分子在细胞分裂时能够以自我复制的方式将核苷酸序列中的信息完整地传递给子代分子, 解释了生物体维持遗传稳定性的机制。同时, DNA 双螺旋结构也为人们提供了对 DNA 分子进行人工操作的结构基础, 生命科学自此进入了分子生物学时代。在其后的几十年中, 以基因工程为代表的一系列分子生物学技术和研究获得了极大的发展。

2 人类基因组 DNA、染色质和染色体

人类是二倍体生物, 受精卵经过发育分化, 形成亿万个各种功能各异的细胞, 这些具有组织特异性

* Email: zhup@ibp.ac.cn; liguohong@ibp.ac.cn

本文于 2014 年 5 月 14 日收到。

的细胞再有机结合,成为各种组织、器官和个体。据估算,人体内一个细胞的 DNA 长度加起来约有 2 米。那么,这么长的基因组 DNA 分子又是怎样组装、紧密压缩到 10—20 微米的细胞核空间内的呢?细胞中有一类性质特异的蛋白质,组蛋白八聚体,能够组装基因组 DNA 形成染色质,并进一步折叠凝聚形成非常复杂的染色质三维结构,把基因组 DNA 压缩到真核生物的细胞核内。一般认为,这个过程是分 4 步完成的,这 4 个过程对应着 4 个结构:第一级结构是核小体,它是 DNA 双螺旋“绳子”缠绕在组蛋白上而形成的;第二级结构是核小体进一步螺旋化形成 30 nm 螺线管,这里 6 个核小体组成一圈形成中空结构的管状螺旋体,即 30 nm 染色质纤维;第三级结构是由螺线管再进一步螺旋化成为直径为 0.4 微米的筒状体,也称为超螺旋体;第四级结构就是可以在光学显微镜下看到的染色体,它是由超螺旋体进一步折叠盘绕成的。通过以上 4 步, DNA 的长度被凝缩了 8400 倍左右。以上关于 DNA 的凝缩模型是目前科学界关于 DNA、染色质和染色体组成的基本认识,也是现代生命科学教科书的经典内容。

3 染色质是表观遗传调控的平台和载体

生命体的遗传信息储存在染色体的 DNA 中,但任何有关 DNA 的生命活动(包括基因转录、DNA 复制、修复和重组等)都是在由 DNA 与其所缠绕的组蛋白组装形成的染色质这个结构平台上进行的。染色质结构的高度动态变化在基因转录沉默和激活过程中起重要作用,为表观遗传提供了一个重要的信息整合平台。一方面,核小体折叠形成结构紧密的高级结构 30 nm 纤维,导致基因沉默;另一方面,基因激活过程中的一个关键步骤则是 30 nm 染色质纤维的解聚和重塑,使得各种转录因子及转录机器可以接近 DNA,并以其为模板进行转录。以染色质结构及变化为载体的表观遗传调控机制是生命活动中一种普遍存在的调控方式,涉及生命现象的方方面面。生命体通过表观遗传机制有选择地进行基因沉默和基因激活,从而控制细胞自我维持或定向分化,决定细胞的组织特异性和细胞命运,从而形成复杂的组织、器官和生命体。

4 染色质的结构模型

核小体是染色质结构的基本单元,由 147bp 的 DNA 缠绕组蛋白八聚体(由四种组蛋白 H2A、H2B、H3 和 H4 各两个分子组成的扁球状八聚体)

1.75 圈组成(图 2),其晶体结构于 1997 年被 Richmond 研究组解析^[2]。2005 年,他们研究组又解析了由 4 个核小体组成、不含连接组蛋白的复合物晶体结构(图 3)^[3]。

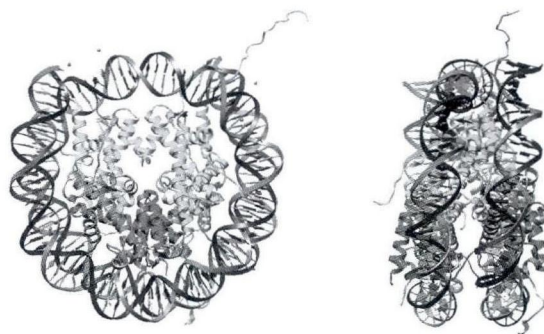


图 2 单个核小体晶体结构^[2]

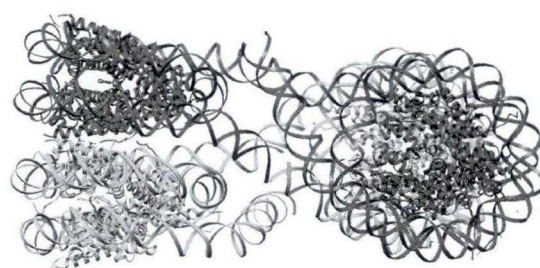


图 3 四个核小体晶体结构^[3]

虽然染色质的概念早在 1879 年就被提出,但是直到一百年后的 1974 年,Kornberg 等人才利用生物化学和电镜成像技术发现染色质的一级结构,即由 DNA 串联的 11 nm 核小体串珠结构^[4]。在此基础上,染色质一级结构折叠形成直径约 30 nm 的染色质二级结构,即“30 nm 染色质纤维”。由于缺乏合适的手段和体系,30 nm 染色质纤维的精细结构一直没有被解析^[5]。研究者依据各自的观察结果提出了两种具有代表性的 30 nm 染色质纤维的结构模型^[6]:单螺旋的 solenoid 模型和双螺旋的 Zig-Zag 模型,但这些模型并没有被正式以结构生物学手段获得解析,30 nm 染色质的高级结构仍存在重大争议,没有形成共识。

5 染色质的体外组装和冷冻电镜三维重构

核小体以何种方式组装形成 30 nm 染色质高级结构,以及该结构受什么因素调控一直是研究者希望获得的信息,但这个问题一直困扰了研究者 30 余年。其困难性主要来源于 2 个方面:第一,细胞核内的染色质结构高度变化,受多种因素的影响,难以获得适合高分辨率结构研究、具有高度均一性的染色质样品;第二,30 nm 染色质是一个典

型的超大分子复合体,对这种超大分子复合体的高分辨率研究缺乏一个系统性的、合适的研究手段和体系,具有很大的技术难度和挑战性。对于第一个方面的困难,研究者通过多年的努力,发现利用体外表达一种具有特殊性质的 601 DNA 和组蛋白八聚体,可以获得适合高分辨率研究的核小体和染色质;同时,通过改变不同的组蛋白修饰、组蛋白变体、不同的连接 DNA 长度等多种条件可以对各种影响染色质结构及动态变化的复杂因素在体外进行相关研究;对于第二方面的困难,近年来在结构生物学领域蓬勃发展,在近原子分辨率三维结构重构等多方面取得重要突破^[7-8]的冷冻电镜三维重构方法为研究 30 nm 染色质的高级结构提供了一个最为合适的工具。

6 染色质左手双螺旋高级结构的确立

中国科学院生物物理研究所几个具有不同研究特长的研究组发挥各自优势,对 30 nm 染色质高级结构这一问题进行了长期的合作研究并于近期获得了较为重要的进展^[9]。李国红研究组依据多年来在 30 nm 染色质和表观遗传学研究方面的积累,建立了一套染色质体外重建和结构分析平台,获得了适合高分辨率研究的高度均一的 30 nm 染色质样品;朱平研究组依靠在冷冻电镜高分辨率结构解析方面的长期积累,利用冷冻电镜单颗粒三维重构方法获得了由 12 个和 24 个核小体组成的 30 nm 染色质纤维的高分辨率三维重构结果。许瑞明研究组依据在 X 射线晶体学和表观遗传学结构机理等方面的多年前沿研究协助构建了 30 nm 染色质高级结构模型。我们解析的结构(图 4)显示:30 nm 染色质纤维以四个核小体为基本结构单元;结构单元的形成和单元之间的扭转由不同方式的作用力介导;结构单元之间通过相互扭曲折叠形成一个左手双螺旋高级结构;四聚核小体结构单元之间的空隙可能是组蛋白修饰、染色质重塑等重要表观遗传现象发生的调控控制区域。同时,我们的研究还发现连接组蛋白 H1 在单个核小体内部及核小体单元之间的不对称分布及相互作用促成 30 nm 高级结构的形成,首次明确了连接组蛋白 H1 在 30 nm 染色质纤维形成过程中的重要作用。这些研究结果对于 30 nm 染色质纤维高分辨率结构精细模型建立,以及染色质的高级结构组装和表观遗传调控机制的研究是一个较为重要的进展,为预测体内染色质结构建立的分子基础以及各种表观遗传因素包括组蛋白变体、组蛋白化学

修饰等对染色质结构调控的可能机理提供了结构基础。

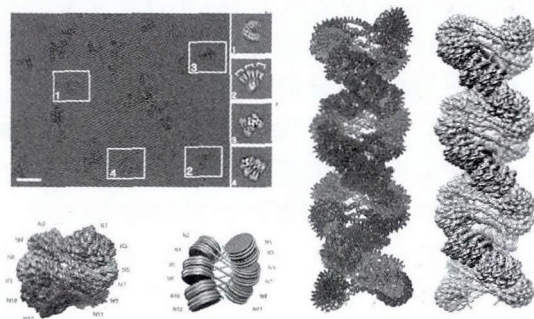


图 4 30 nm 染色质冷冻电镜三维重构及左手双螺旋高级结构模型^[9]

7 研究展望

DNA 是遗传信息的载体,生命体的遗传信息是由 DNA 中碱基排列序列所决定的。然而,某一种基因是否表达,或者在哪些细胞中表达,染色质的空间结构及动态变化则起到了非常重要的作用。

表观遗传及其调控机制的研究主要集中在染色质 DNA 甲基化和组蛋白甲基化、乙酰化、磷酸化等修饰等方面。表观遗传信息建立后,通常认为是通过影响染色质高级结构或者在效应蛋白的帮助下影响染色质高级结构的动态变化,来实现对基因表达的调控。然而,由于染色质本身的高级结构都未得以解析,表观遗传信息如何影响染色质的高级结构就知之更少。

30 纳米染色质纤维的左手双螺旋高级结构的解析^[9],为继续研究表观遗传信息对 30 纳米染色质结构的影响提供了较好的基础,使得我们有望回答染色质修饰(包括 DNA 甲基化和组蛋白修饰)、染色质变体组成等一系列表观遗传信息对 30 纳米染色质纤维的结构影响,明确其结构动态变化在基因转录调控中的作用机理。

目前,30 nm 染色质在细胞内的结构甚至体内是否存在 30 nm 染色质形式还存在争议^[10-11]。细胞核中染色质的整体组织形式除了受到细胞周期调控以外,其局部结构也是高度动态变化的,会受到各种表观遗传因素(如组蛋白变体,DNA 和组蛋白化学修饰等)的调控,需要进行进一步的深入研究。尽管如此,在体外、低盐条件、依赖于连接组蛋白 H1 组装形成的 30 nm 染色质左手双螺旋高级结构主要是由于 DNA 和组蛋白的内在物理和化学性质决定的,其基本原则对体内染色质也可能适用。

参 考 文 献

- [1] Watson JD, Crick FHC. Molecular structure of nucleic acids. *Nature*, 1953, 171: 737—738.
- [2] Luger K, Mäder AW, Richmond RK, et al. Crystal structure of the nucleosome core particle at 2.8 Å resolution. *Nature*, 1997, 389: 251—260.
- [3] Schalch T, Duda S, Sargent DF, et al. X-ray structure of a tetranucleosome and its implications for the chromatin fibre. *Nature*, 2005, 436: 138—141.
- [4] Kornberg RD. Chromatin structure: a repeating unit of histones and DNA. *Science*, 1974, 184: 868—871.
- [5] Travers A. The 30-nm Fiber Redux. *Science*, 2014, 344: 370—372.
- [6] Li G, Reinberg D. Chromatin higher-order structures and gene regulation. *Current Opinion in Genetics & Development*, 2011, 21: 175—186.
- [7] Liao M, Cao E, Julius D, et al. Structure of the TRPV1 ion channel determined by electron cryo-microscopy. *Nature*, 2013, 504: 107—112.
- [8] Amunts A, Brown A, Bai X, et al. Structure of the Yeast Mitochondrial Large Ribosomal Subunit. *Science*, 2014, 343: 1485—1489.
- [9] Song F, Chen P, Sun D, et al. Cryo-EM Study of the Chromatin Fiber Reveals a Double Helix Twisted by Tetranucleosomal Units. *Science*, 2014, 344: 376—380.
- [10] Eltsov M, MacLellan K M, Maeshima K, et al. Analysis of cryo-electron microscopy images does not support the existence of 30-nm chromatin fibers in mitotic chromosomes *in situ*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2008, 105: 19732—19737.
- [11] Scheffer M P, Eltsov M, Frangakis A S. Evidence for short-range helical order in the 30-nm chromatin fibers of erythrocyte nuclei. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2011, 108: 16992—16997.

Higher Order Structure of 30 nm Chromatin Fiber Revealed by Cryo-electron Microscopy

Zhu Ping Li Guohong Xu Ruiming

(National Laboratory of Biomacromolecules, Institute of Biophysics, Chinese Academy of Sciences, Beijing, 100101)

Key words 30 nm Chromatin fiber, Cryo-electron microscopy, 3D reconstruction, Double helix

· 资料信息 ·

《中国科学基金》征稿简则

《中国科学基金》(双月刊)创刊于 1987 年,由国家自然科学基金委员会主管、主办,旨在成为国家自然科学基金委员会联系广大科学基金项目申请者、承担者、评审者和管理者的桥梁与纽带。

本刊已被 CSCI、CSSCI 等国内各主要检索系统及日本《科学技术文献速报》等国外部分重要检索系统收录。

欢迎学术思想新颖、观点明确、有学术水平和对科学基金工作者有指导意义的论文和评述文章,尤其是欢迎有关基金资助项目的研究进展及关于科学基金资助管理的研讨性论文。

本刊常设栏目简介:

学科进展:刊登有关学科的具有战略性、全局性、前瞻性的综述性和评论性文章,以促进学科间的了解、交叉与融合。

科学论坛:刊登的文章本着“百家争鸣,百花齐放”的原则,围绕科技界普遍关注研究评价、科研道

德的热点与焦点问题,各抒己见,展开讨论。

成果简介:报道和选登重要的、有影响的、具有代表性的科学基金资助项目的研究进展以及优秀人才和优秀群体介绍。

基金纵横:报道国家自然科学基金委员会制定的各种重要的政策、规定和文件通告等;探讨和交流基金申请、评审、管理等方面的经验或体会。

资料信息:及时公布重大研究计划、重大、重点科学基金项目批准情况和重要的信息以及科学基金工作的海内外动态。

编辑部地址:北京市海淀区双清路 83 号,邮政编码:100085

期刊网址:<http://pub.nsfc.gov.cn/sficc/ch/currentissue.aspx>

投稿邮箱:weikan@nsfc.gov.cn。

联系电话:010-62326893