doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2014.07.048

CHD4 在染色体重塑中的作用 *

徐 涛[1,2] 万传君[3] 王建校[1] 李珊珊[1] 顾永清[1,2△]

（1 石河子大学医学院 新疆 石河子 832000；
2 军事医学科学院放射与辐射医学研究所 北京 100850；3 驻马店市卫生学校 河南 驻马店 463000）

摘要：染色质作为真核细胞遗传信息，体内外各种因素的作用致使不断的产生损伤，但是细胞仍能保持正常的生长、分裂和繁殖，这与基因组稳定性和完整性保持，并且通过自身的损伤修复有着密切的联系。ATP 依赖的染色质重塑是染色质重塑的最重要的方式之一，主要是利用 ATP 水解释放的能量，将凝聚的异染色质打开，协调损伤修复蛋白与 DNA 损伤位点的作用，通过对组蛋白的共价键修饰或 ATP 依赖的染色质重塑复合物开启了 DNA 的损伤修复的大门。CHD4/Mi-2β 的类 SWI2/SNF2 ATP 酶 / 解螺旋酶域结构域保守性最强，这一结构域存在与多种依赖于 ATP 的核小体重构复合物。Mi-2 蛋白复合物称为核小体重塑及去乙酰化酶 NuRd (nucleoside remodeling and deacetylase, NuRD)，是个多亚基蛋白复合物，Mi2β/CHD4 是该复合物的核心成员。近来的研究发现，CHD4 具有染色质重塑功能，并且参与 DNA 损伤修复的调控。CHD4 羧基端的 PHD 通过乙酰化或甲基化识别组蛋白 H3 氨基端 Lys9(H3K9ac 和 H3K9me)，并且通过 Lys4 甲基化(H3K4me)或 Ala1 乙酰化(H3A Lac)抑制与 H3、H4 的结合，为染色质重塑提供了保障。Mi-2β/CHD4 参与 DNA 损伤反应，定位于 DNA 损伤 γ-H2AX 的 foci。沉默 Mi-2β/CHD4 基因，细胞自发性 DNA 损伤增多和辐射敏感性增强。表明 CHD4 在染色质重塑中具有重要的作用。

关键词：CHD4；染色质重塑；DNA 损伤修复

中图分类号：Q75，Q774 **文献标识码**：A **文章编号**：1673-6273(2014)07-1385-03

Effect of CHD4 in Chromatin Remodeling*

XU Tao[1,2], WAN Chuan-jun[3], WANG Jian-xiao[1], LI Shan-shan[1], GU Yong-qing[1,2△]

(1 School of Medicine , Shihezi University, Shihezi, Xinjiang, 832000, China; 2 Department of Radiation Toxicology and Oncology, Beijing Institute of Radiation Medicine, Beijing, 100850, China; 3 Zhumadian health School, Zhumadian, Henan, 463000, China)

ABSTRACT: It is necessary for the conservation and genomic stability and integrity of chromatin to prevent from various factors causing continuous damage and keep cell maintain normal growth, division and reproduction in vitro and vivo. ATP- Dependent Chromatin-Remodeling that is one of the most important way of DNA damage repair response mainly exposure chromatin condensation by the energy of ATP hydrolysis and coordinate effect of the damage repair protein and the sites of DNA damage by histone covalent modifications or ATP- Dependent Chromatin-Remodeling Complexes which open the door of DNA damage repair response.It is recently reported that CHD4 can participate in the regulation of DNA damage repair with functions of chromatin remodeling. It is very important that the second PHD finger (PHD2) of CHD4 recognizes the N-terminus of histone H3 and that this interaction is facilitated by acetylation ormethylation of Lys9(H3K9ac andH3K9me respectively) but is inhibited by methylation of Lys4(H3K4me) or acetylation of Ala1 (H3A1ac) to provide protection for chromatin remodeling. Mi-2β / CHD4 is Colocalization with γ-H2AX foci in the DNA damage response. Silence Mi - 2 beta/CHD4 genes, cells increase spontaneous DNA damage and radiation sensitivity. Show CHD4 in chromatin remodeling plays an important role.Silence Mi-2β/CHD4 regulates cell sensitivity to spontaneous DNA damage and radiosensitivity. CHD4 has an important role in chromatin remodeling.

Key words: CHD4; Chromatin remodeling; DNA damage

Chinese Library Classification(CLC): Q75, Q774 Document code: A

Article ID: 1673-6273(2014)07-1385-03

CHD4 基因位于人类染色质 12p13，CHD4/Mi-2 蛋白最初是从人类皮肌炎患者中鉴定出来的自身抗原，Mi-2β 又 CHD4 (chromodomain-helicase-DNA-binding protein, CHD4)，是 NuRD 复合物之一参与转录调控作用。Mi-2β/CHD4 参与 DNA 损伤反应，定位于 DNA 损伤 γ-H2AX 的 foci[1]。沉默 Mi-2β/CHD4 基因，细胞自发性 DNA 损伤增多和辐射敏感性增强[2]。Mi-2β/CHD4 是 ATM 激酶的底物，其 S1349 位点可被 ATM 磷酸化，CHD4-pS1349 蛋白与染色质结合更为紧密，为 DNA 损伤修复提供时间上的保障[3]。最新文献表明，CHD4 在染色质重塑和 DNA 损伤修复方面具有非常重要的作用。

* 基金项目：国家自然科学基金项目（30960093；31160183；31270894）
作者简介：徐涛（1983-），男，硕士研究生，研究方向：蛋白质疾病与功能
△通讯作者：顾永清（1970-），女，博士，研究方向：DNA 损伤与修复，E-mail:yqgu96@163.com
(收稿日期：2013-08-26 接受日期：2013-09-23)

1 CHD4 结构、功能

CHD4 基因位于人类染色质 12p13，编码了 1973 个氨基酸，大约 210KDa 。因一级结构中依次含有染色质调节区、类 SWI2/SNF2 的 ATP 酶 / 解旋酶和 DNA 结合域而得名。但是这些结构域的存在是如何参与核小体重塑的目前还不是很清楚。在早期体外研究中已经证实 CHD4 PHD 结合在 HDAC1/NURD 蛋白上[4]。研究进一步发现 CHD4 两个 PHD 结构借助于组蛋白的甲基化也同样结合在组蛋白的尾端，然而这种结果的效应却有差异例如，H3K9 甲基化使二者的结合更紧密，但是 H3K4 甲基化却弱化了这一结合能力，显示出 CHD4 的两个 PHD 结构在染色质重塑中具有相互独立调控方式[5-8]。

关于 CHD4 的两个染色质结构域的研究报道很少。LeRoy 等证实 CHD1 通过 H3K4 甲基化作用结合在组蛋白的尾端。但 CHD4 的这一类似的功能与之不同 [9,10]。在果蝇中发现 CHD4 参与染色质重塑，与组蛋白的介导不是必须的。但是 CHD4 的两个染色质结构域与核小体 DNA 的结合已明确[11,12]。

Watson 等证实 CHD4 的 PHD 结构域，染色质结构域与 ATP 酶 / 解螺旋酶域结构域有相互作用，并且 PHD 与染色质相互作用形成相对稳定的结构，这种结构在一定程度上能够抵抗限制性蛋白水解。研究表明 CHD4 PHD 结构影响核小体的绑定和重塑功能，在染色质重塑的过程中具有重要的作用。体外实验发现，CHD4 的 PHD 结构在弱化与核小体的结合的同时，又促进 ATP 酶 / 解螺旋酶域结构域活性，核小体的滑动。这为滑动学说提供了又一佐证[13]。

CHD4 的染色质调节域 (ATP- Dependent Chromatin-Remodeling Complexes)、类 SWI2/SNF2 ATP 酶 / 解螺旋酶域和 DNA 结合域三者在染色质重塑中表现出的关系非常的奇妙。染色质结构直接控制着 ATP 酶 / 解螺旋酶域结构提供所需要的能量。当 PHD 结构发现组蛋白，并将这一信息传递给染色质结构，调控染色质与 ATP 酶 / 解螺旋酶域结构的结合，从而参与染色质重塑过程[14]。

2 CHD4 缺失可以引发基因组不稳定性及其可能的机制

Mi-2β/CHD4 参与 DNA 损伤反应，定位于 DNA 损伤 γ-H2AX 的 foci。沉默 Mi-2β/CHD4 基因，细胞自发性 DNA 损伤增多和辐射敏感性增强。在辐射和药物对细胞造成的损伤中发现，沉默 Mi-2β/CHD4 基因细胞 53BP1、SMXC S957 表达量增加，随着剂量的增加细胞的生存率下降。敲低的 CHD4 导致常染色质水平升高，大量常染色质暴露，对损伤的敏感性增加。在 CHD4 的缺失细胞中 RNF168 泛素化酶的表达水平异常影响其局部的泛素化和 BRCA1 的组装。Mi-2β/CHD4 是 ATM 激酶的底物，其 S1349 位点可被 ATM 磷酸化，CHD4-pS1349 蛋白与染色质结合更为紧密，为 DNA 损伤修复提供时间上的保障[15,16]。

PRPP 是涉及 DNA 损伤应答早期重要的酶之一。PARP1 和 PARP2 抑制剂 KU-58948 或 PARP1/2 的缺失导致 CHD4 不能结合在染色质的损伤位点，并且 CHD4 与 DNA 修复酶链发生直接作用，在染色质损伤位点上 CHD4 起着募集染色质重塑复合物其它亚基的领头作用，CHD4 可能有与 DNA 修复酶链作用的区域[17]。沉默 Mi-2β/CHD4 基因 5min 后离开 DNA 损伤 γ-H2AX 的 foci，在 DNA 损伤 γ-H2AX 的 foci 上 HDAC1、MTA2（NuRD 复合物的亚基）的共定位现象仍存在。并且 HDAC1、MTA2（NuRD 复合物）各个基因的沉默彼此也不影响 CHD4 在细胞损伤时的表达。提示 CHD4 在 DNA 损伤早期可能起到主要领头作用。序列分析显示 CHD4 其氨基酸残端和羧基残端有与 DNA 修复酶链作用的潜在区域，CHD4 通过 PRPP 募集于 DNA 损伤位点[13]。

3 CHD4 参与 DNA 损伤修复

DNA 损伤反应中 CHD4 作为一个新的基因守护者，具备调节细胞周期监测点信号和 DNA 损伤的修复功能。CHD4 作为调节 G1/S 的重要调节因子，通过对 p53 脱磷酸化的调节参与细胞周期的调控，应对 DNA 损伤修复。敲低 CHD4 促使 Cdc25A 蛋白的降解、P21cip1 蛋白的表达增加，导致更多的细胞周期蛋白激酶下调，造成细胞阻滞在 G1 期，大量的染色质松驰暴露增加了 DNA 损伤机率，细胞的生存率明显下降。RNF168 泛素化酶的表达水平异常，在 CHD4 的缺失细胞中影响其局部的泛素化和 BRCA1 的组装[18]。

CHD4 的缺失延迟了 G1/S 的过渡，p21 表达增加，并且大部分伴随着 p53 增多。 p53 和 p21 在 G1 期是比较突出的蛋白。细胞内 DNA 的损伤引起依赖 p53 转录诱导 p21 增加在 CHD4 的缺失细胞中积累，造成细胞周期阻滞，为修复提供时间上的保障[19]。

CHD4 两个染色质结合域与 ATP 结合域均与 mb-1（CD79a）染色质结合，MB2 缺失或 DNA 甲基化丧失使 CHD4 与 Mb-1（CD79a）染色质结合的更紧密，增强了 Mb-1（CD79a）染色质的转录活性，提示 MBD2/NRRD 的转录抑制功能与 CHD4 结合组蛋白和甲基化的 DNA 相互作用的结构域有关，并且与 DNA 甲基化的结合是通过 MBD2 介导的。Mb-1（CD79a）基因是免疫球蛋白超家族结构相关基因的表达产物，协助磷脂酰肌醇 -3 激酶（PI3K）激活其下游信号蛋白，最终引起 B 细胞的活化、增殖，并发挥其生物学功能[20]。

有报道表明 CHD4 通过调控同源重组的修复（Homologous recombination repair）增强基因组的稳定性。同源重组修复是 DNA 损伤修复中一种重要的修复形式，对维护基因组完整性具有重要的作用。研究发现 CHD4 与 BRIT1（BRCT-repeat inhibitor of Ht ERT expression）的羧基端存在相互作用，共同参与同源重组修复的过程。CHD4 的缺失导致 BRIT1 在 DNA 损伤位点上的募集能力的下调，细胞对 DNA 损伤的敏感性增加，同时影响了同源重组修复的能力。CHD4 通过同源修复方式增加基因稳定性，为 CHD4 缺失的肿瘤治疗提供理论支持。BRIT1 也叫 MCPH1（micocephalin）是原发性小头畸形的主要发病基因之一，由于具有 3 个 BRCT 结构的特异性，在细胞凋亡或 DNA 损伤应答修复通路具有重要的作用，与肿瘤的发生发展有关已成为研究热点[21]。

综上所述，染色质的核小体结构是基因转录的一种屏障，它封闭了 DNA 与转录基因以及 RNA 聚合酶Ⅱ的结合，对基因的转录起到抑制作用。SWI/SNF 复合物具有染色质重塑活

性,能改变核小体的高级折叠结构,干扰组蛋白与 DNA 结合,暴露启动子序列的结合位点,使转录因子能与特异性启动子序列结合,从而激活基因转录。

CHD4 基因位于人类染色质 12p13, 编码了 1973 个氨基酸,大约 210KDa 。敲低 CHD4 导致更多的细胞周期蛋白激酶下调,细胞阻滞在 G1 期,大量的染色质松驰暴露,基因组不稳定增加。CHD4 的缺失细胞自发性损伤增加,对外源性造成损伤更加敏感,细胞的生存率下降。这些表明 CHD4 在染色质重塑、DNA 损伤修复和基因组稳定性方面担任着重要的角色。

CHD4 作为染色质重塑复合物之一, 参与 DNA 早期损伤修复,其 S1349 位点可被 ATM 磷酸化。ATM 与染色质重塑复合物在 DNA 损伤修复中扮演者重要的作用,二者与 CHD4 有着密切的联系,这为进一步研究 ATM 与染色质重塑复合物在 DNA 损伤修复中相互影响提供新的视角。CHD4 的研究不仅有助于进一步揭示染色质重塑复合物在 DNA 损伤修复中作用机制,而且也为肿瘤提供理论支持及新的靶蛋白。

参考文献(References)

[1] Urquhart AJ, Gatei M, Richard DJ, et al. ATM mediated phosphorylation of CHD4 contributes to genome maintenance[J]. Genome Integr, 2011, 2(1): 1-10

[2] Larsen DH, Poinsignon C, Gudjonsson T, et al. The chromatin-remodeling factor CHD4 coordinates signaling and repair after DNA damage[J]. J Cell Biol, 2010, 190 (5): 731-740

[3] Polo SE, Kaidi A, Baskcomb L, et al. Regulation of DNA-damage responses and cell-cycle progression by the chromatin remodeling factor CHD4[J]. EMBO, 2010, 29(18): 3130-3139

[4] Magdalena Murawska, Alexander Brehm. CHD chromatin remodelers and the transcription cycle[J]. Transcription, 2011, 2(6): 244-253

[5] Mansfield RE, Musselman CA, Kwan AH, et al. Plant homeodomain (PHD) fingers of CHD4 are histone H3-binding modules with preference for unmodified H3K4 and methylated H3K9 [J]. Biol.Chem., 2011, 286(13): 11779-11791

[6] Musselman, C. A, Mansfield, R. E, Garske, A. L. et al. Binding of the CHD4 PHD2 finger to histone H3 ismodulated by covalent modifications[J]. Biochem J, 2009, 423(2): 179-187

[7] Shi, X, Hong, T, Walter, K. L, et al. ING2 PHD domain links histone H3 lysine4 methylation to active gene repression[J]. Nature, 2006, 442(7089): 96-99

[8] Musselman, C. A, Ramirez, J, Sims, J. M, et al. Bivalent recognition of nucleosomes by the tandem PHD fingers of the CHD4 ATPase is required for CHD4-mediated repression [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2012, 109(3): 787-792

[9] Flanagan, J. F, Mi, L. Z, Chruszcz, M, Cymborowski M, et al. Double chromodomains cooperate to recognize the methylated histone H3 tail [J]. Nature, 2005, 438(7071): 1181-1185

[10] Flanagan JF, Blus BJ, Kim D, et al. Molecular implications of evolutionary differences in CHD double chromodomains[J]. Biol, 2007, 369(2): 334-342

[11] Bouazoune K, Mitterweger A, Langst G, et al. The dMi-2 chromodomains are DNA binding modules important for ATP-dependent nucleosome mobilization[J]. EMBO, 2002, 21(10):2430-2440

[12] Hauk G, McKnight N, Nodelman, et al. The chromodomains of the Chd1 chromatin remodeler regulate DNA access to the ATPase motor [J]. Cell, 2010, 39(5): 711-723

[13] Polo SE, Kaidi A, Baskcomb L, et al. Regulation of DNA-damage responses and cell-cycle progression by the chromatin remodeling factor CHD4[J]. EMBO, 2010, 29(18): 3130-3139

[14] Wagner E, Brehm A. Muscles and Tendons of a Nucleosome Remodeling Machine[J]. Mol.Biol, 2012, 422(1): 1-2

[15] Hirose F, Ohshima N, Kwon EJ, et al. Drosophila Mi-2 negatively regulates d DREF by inhibiting its DNA-binding activity[J]. Mol Cell Biol, 2002, 22(14): 5182-5193

[16] Polo SE, Backcomb L, Galanty Y, et al. Regulation of DNA-damage responses and cell-cycle progression by the chromatin remodeling factor CHD4[J]. EMBO, 2010, 29(18): 3130-3139

[17] Farmer H, McCabe N, Lord CJ, et al. Targeting the DNA repair defect in BRCA mutant cells as a therapeutic strategy[J]. Nature, 2005, 434(7035): 917-921

[18] Pegoraro G, Kubben N, Wickert U, et al. Ageing-related chromatin defects through loss of the NURD complex[J]. Nat Cell Biol, 2009, 11(10): 1261-1267

[19] Carter S, Vousden KH. Modifications of p53: competing for the lysines[J]. Curr Opin Genet Dev, 2009, 19(1): 18-24

[20] Ramirez J, Dege C, Kutateladze TG, et al. MBD2 and multiple domains of CHD4 are required for transcripitonal repression by Mi-2/NURD complexs[J]. Mol Cell Biol, 2012, 32(24): 5078-5088

[21] Pan MR, Hsieh HJ, Dai H, et al. Chromodomain helicase DNA-binding protein4 (CHD4) regulates homologous recombintion DNA repair, and its deficiency sensitizes cells to poly (ADP-ribose) polymerase(PARP) inhibitor treatment[J]. Biol Chem, 2012, 287(9): 6764-6772

(上接第 1249 页)

[16] Maaroufi Y, Heymans C, De Bruyne JM, et al. Rapid detection of Candida albicans in clinical blood samples by using a TaqMan-based PCR assay[J]. J Clin Microbiol, 2003, 41: 3293-3293

[17] Mackay IM. Real-time PCR in the microbiology laboratory [J]. Clin Microbiol Infect, 2004, 10: 190-212

[18] Pongpom M, Sirisanthana T, Vanittanakom N. Application of nested PCR to detect Penicillium marneffei in serum samples[J]. Med Mycol, 2009, 47(5): 549-553

[19] Mekha N, Sugita T, Makimura K, et al. The intergenic spacer region of the ribosomal RNA gene of Penicillium marneffei shows almost no DNA sequence diversity[J]. Microbiol Immunol, 2010, 54(11): 714-716

[20] De Marco D, Perotti M, Ossi CM, et al. Development and validation of a molecular method for the diagnosis of medically important fungal infections[J]. New Microbiol, 2007, 30: 308-312

[21] Lindsley MD, Hurst SF, Iqbal NJ, Morrison CJ. Rapid identification of dimorphic and yeast-like fungal pathogens using specific DNA probes[J]. J Clin Microbiol, 2001, 39: 3505-3511