

组蛋白分子伴侣 CAF-1 与 DNA 损伤修复相关研究进展

李睿姝¹, 韩榕^{2*}

(1. 山西师范大学生命科学学院, 山西临汾 041004; 2. 植物分子与环境胁迫响应山西省高等学校重点实验室, 山西临汾 041004)

摘要 DNA 的完整稳定是真核生物正常生命活动的基础, 为了保证自身基因结构的稳定, 生物体进化出了完整的 DNA 损伤反应 (DDR) 系统及应对各种损伤的修复系统。染色质作为生物遗传信息的承载, 它的动态调节对包含 DNA 复制、转录、重组和修复等生物学过程在内的生命活动至关重要。组蛋白分子伴侣以不依赖 ATP 的方式在染色质组织中发挥着关键作用, 影响着染色质的动力学变化。有研究表明, H3-H4 组蛋白分子伴侣 CAF-1 在染色质相关的 DNA 损伤修复中发挥着一定作用。就近年来对 CAF-1、DNA 损伤修复及两者相关性的研究进行探讨, 并对 DNA 损伤修复的深入研究进行展望。

关键词 染色质; 组蛋白分子伴侣; CAF-1; DNA 损伤修复

中图分类号 Q945 文献标识码 A

文章编号 0517-6611(2021)18-0012-06

doi: 10.3969/j.issn.0517-6611.2021.18.004



开放科学(资源服务)标识码(OSID):

Research Progress of Histone Chaperone CAF-1 and DNA Damage Repair

LI Rui-shu¹, HAN Rong² (1. College of Life Science, Shanxi Normal University, Linfen, Shanxi 041004; 2. Higher Education Key Laboratory of Shanxi Province in Response to Plant Molecular and Environmental Stress, Linfen, Shanxi 041004)

Abstract The integrity and stability of DNA is the basis of normal life activities of eukaryotes. In order to ensure the stability of their own gene structure, organisms have evolved a complete DNA damage response (DDR) system and repair system to deal with various kinds of damage. Chromatin serves as the carrier of biological genetic information, and its dynamic regulation is essential for life activities including biological processes such as DNA replication, transcription, recombination and repair. Histone chaperones play a key role in chromatin tissue in an ATP-independent manner, affecting chromatin dynamics. The studies have shown that the H3-H4 histone chaperone CAF-1 plays a role in chromatin related DNA damage repair. In this paper, the research on CAF-1, DNA damage repair and the correlation between the two in recent years was discussed, and the further research on DNA damage repair was prospected.

Key words Chromatin; Histone chaperones; CAF-1; DNA damage repair

在真核生物的细胞中, 由碱性组蛋白及酸性 DNA 经过复杂过程形成染色质(chromatin)是其遗传物质^[1]。染色质作为遗传物质在直径仅为 5~20 μm 的植物细胞核内的存在形式, 既要保证遗传物质稳定地存在于细胞核中, 又要保证在进行如 DNA 复制、转录翻译、DNA 重组和相应修复等生物学过程时, DNA 能够快速准确反应, 保证与相应的蛋白质或者作用因子发生作用, 在这些过程中需要相应的物质和调节机制, 染色质动态是细胞周期进程所必需的, 对基因组复制、转录沉默、DNA 修复和重组至关重要^[2]。核小体由 (H3-H4)₂ 四聚体和 2 个 H2A-H2B 二聚体组成, 组蛋白八聚体表面覆盖 147 bp DNA^[3], 是组成染色质的基本结构, 在进行核小体组装(nucleosome assembly)这一复杂过程时, 为了防止带负电荷 DNA 与带正电荷的组蛋白发生相互作用形成大分子沉淀需要组蛋白分子伴侣(histone chaperone)和起驱动作用的依赖三磷酸腺苷(ATP)的染色质重塑因子(chromatin remodeling)的参与, 保证核小体结构正确组装, 核小体结构的重复叠加和有效组装, 通过不断压缩、折叠和排列形成更为高级复杂的染色质结构^[4]。因此, 研究表明的染色质基本结构和主要功能的调节机制包括依赖 ATP 的染色质重塑因子、组蛋白的共价修饰、组蛋白变异替换和组蛋白分子伴侣^[5]。组蛋白分子伴侣以不依赖 ATP 的方式在染色质组织

中发挥着关键作用, 影响着生物细胞中染色质的动力学变化^[6]。深层探究组蛋白分子伴侣作用, 其作为高酸性蛋白, 保护组蛋白以防止错误作用和聚集, 引导组蛋白在 DNA 上有序沉积形成核小体^[7]。种类多样且具有不同功能特点的组蛋白分子伴侣通过发挥自身作用在复制独立和复制依赖过程中驱动核小体的组装和拆卸^[8], 影响着染色质生物学包括组蛋白供给需求调节、组蛋白变异沉淀及组蛋白功能域等方面^[9]。组蛋白分子伴侣进化保守, 根据与不同组蛋白的相关性, 主要分为 H2A-H2B 组蛋白分子伴侣及 H3-H4 组蛋白分子伴侣^[10], 其中 H2A-H2B 组蛋白分子伴侣主要包括 NAP1(nucleosome assembly protein 1)和 FACT(facilitates chromatin transcription), 而 H3-H4 组蛋白分子伴侣主要包括 CAF-1(chromatin assembly factor-1)、HIRA(histone regulatory homolog A)和 ASF-1(antisilencing function 1)等, 既往试验在酵母及果蝇、小鼠等动物中对组蛋白分子伴侣的研究初步表明, 这些组蛋白分子伴侣在参与细胞染色质组装与去组装和包括 DNA 复制、DNA 修复和基因转录等在内的重大过程时发挥着无以伦比的作用, 因此对生物的生命活动具有极其重要的意义^[11]。

植物的生长需要固定在一定环境中汲取生长所需的物质, 由于这种属性, 植物无法逃避周围环境物质改变对其造成的影响, 生长和生产力不得不要受到各种生物和非生物胁迫的不良影响, 其中对植物造成不良影响的生物胁迫主要包括真菌、细菌、病毒及昆虫等, 非生物胁迫主要包括温度差异(寒冷及炎热)、水量多少(洪涝及干旱)、盐性高低(低盐及

基金项目 国家自然科学基金项目(30671061); 山西师范大学科技创新项目(2019XS018)。

作者简介 李睿姝(1992—), 女, 山西襄汾人, 硕士研究生, 研究方向: 细胞生物学。*通信作者, 教授, 博士, 博士生导师, 从事植物响应环境胁迫研究。

收稿日期 2021-02-23

高盐)、重金属离子、紫外线辐射、电离辐射、化学物品等^[12]。这些生物非生物胁迫作用于植物,严重时 will 影响植物 DNA,对植物造成基因毒性和细胞毒性,因此引发蛋白质合成减少、细胞膜破坏、各种作用蛋白受损等生物效应,影响整个生物体^[13]。植物为了自身的生存发展,必须抵消和纠正 DNA 损伤造成的有害影响,因此植物通过不断进化,发展出一种复杂的、进化上保守的损伤检测及防御机制,称为 DNA 损伤反应(DNA damage repair,DDR)^[14]。近期许多研究发现真核细胞 DNA 损伤反应过程是在染色质情况下启动,DNA 损伤和修复依赖于染色质动力学的稳定性,因此染色质在 DDR 中起着关键的调控作用^[14]。作为染色质组织调节的重要因子,研究发现组蛋白分子伴侣是 DNA 损伤反应中受损染色质区域转录活性的关键调节因子,发挥着积极推动瞬态染色质瓦解和组蛋白重塑响应 DNA 损伤的作用^[15]。因此研究组蛋白分子伴侣与 DNA 损伤反应之间的相关性,有助于深入了解 DNA 损伤的内部调节机制,搞清损伤修复中的关键环节,为 DNA 损伤修复的深层次精细研究奠定基础。

1 组蛋白分子伴侣 CAF-1 研究进展

作为 H3-H4 组蛋白分子伴侣中重要的成员,存在于几乎所有真核生物中的 CAF-1 (chromatin assembly factor-1) 是进化保守的,最早从人类 HELa 细胞的细胞核中提取出来^[16]。CAF-1 借助相关的加工因子,这种加工因子由增殖细胞核抗原 (proliferating cell nuclear antigen, PCNA) 的 DNA 聚合酶产生^[17],定位于正在进行的 DNA 合成位点,发挥促进新合成组蛋白 H3-H4 与新合成的 DNA 结合的作用,将核小体组装到正在复制的 DNA 上。同时,有研究显示,CAF-1 通过调控异染色质形成、信号转导和转录,在包括果蝇在内的多细胞生物的发育过程中发挥着关键作用^[18]。

研究酵母体内的 CAF-1 相关亚基发现,由亚基 CAC1 (chromatin assembly complex 1)、CAC2 和 CAC3 组成酵母体内的 CAF-1^[19]。在酵母中,CAF-1 亚基的缺失不会导致个体致死,但会导致转录沉默发生异常,增加对 DNA 损伤的敏感性^[20]。研究通过用甲磺酸甲酯 (methyl methanesulfonate, MMS) 处理野生型酵母及 CAF-1 酵母突变体发现,突变体酵母对 MMS 处理敏感性高,CAF-1 功能缺失的酵母会因此导致基因组染色质组装不足,caf-1 突变体在应对 DNA 损伤和修复后分别完全能够激活和灭活其 DNA 损伤检查点,参与同源重组 (homologous recombination, HR) 途径,同时也参与不涉及重要的 DNA 合成的非同源末端连接 (nonhomologous end joining, NHEJ)^[21]。对于 UV-B 造成的 DNA 损伤,CAF-1 也发挥着积极的作用^[22-23]。着丝粒装配需要含有组蛋白 H3 变体 CenH3 的核小体,CenH3 在芽殖酵母中被称为 Cse4^[24]。CAF-1 可以在芽殖酵母中充当组蛋白 H3 变体 Cse4 伴侣,重组 CAF-1 可以在体外组装 Cse4 核小体,当 Cse4 过表达时,yCAF-1 的缺失显著减少了 Cse4 在染色质全基因组内的沉积量,yCAF-1 促进了 Cse4 在活性基因启动子和子端粒区域 (XY'型) 的错合,将 Cse4 合并到非着丝粒核小体中,从而导致错误合并^[25]。在果蝇中,CAF-1 由 CAF1-

p180、CAF1-p105 和 CAF1-p55 这 3 个亚基组成^[26]。果蝇 CAF1-p55 和人 CAF1-p48 不仅存在于 CAF-1 复合物中,还存在于许多染色质调节复合物中,表明 CAF-1 具有多种功能,不仅限于充当组蛋白伴侣^[27]。CAF-1 参与果蝇成虫盘发育过程中的 Notch 信号激活,果蝇中 CAF1-p105 或 CAF1-p180 亚基的缺失会造成 Notch 信号的提前激活和 Notch 靶蛋白的早期表达,导致果蝇卵母细胞有丝分裂的下调,CAF-1 在维持细胞增殖方面发挥着双重作用,通过积极或消极的方式,以组织环境依赖的方式调节果蝇 Notch 信号^[26]。在斑马鱼中 CAF-1 的中等亚基 CAF-1b 的活性减低,使斑马鱼出现细胞周期进程、细胞分化异常,同时某些器官的发育出现异常,如视网膜、顶盖、头骨等^[28]。

在人类细胞中,通过试验中的凝胶迁移率确定了 CAF-1 中 3 个大亚基的命名,称为 p150、p60 和 p48^[16],CAF-1 是正常的 S 期进展和异染色质形成所必需的,并参与 DNA 修复后的染色质修复^[29],CAF-1 蛋白水平与细胞增殖和癌症预后相关^[30]。在皮肤黑色素瘤 (cutaneous melanoma, CM) 这种较高发的皮肤癌中,研究发现所有 CM 均表达 CAF-1 p60,说明 CAF-1 中 p60 亚基的过表达与皮肤及淋巴结和/或远处转移的可能性有显著的统计学意义 ($P < 0.05$)^[31]。通过用组织芯片技术 (tissue microarray technique, TMA) 检测临床提取的如口腔鳞状细胞癌、唾液腺肿瘤、皮肤黑色素瘤和前列腺癌等恶性肿瘤标本,发现 CAF-1 p60 在组织切片和 TMA 标本中均过表达,在侵袭性和转移性更强的肿瘤中表达水平最高,确认染色质组装因子 1 (CAF-1 p60) 可以作为一种新的肿瘤增殖和预后标志物^[32]。有相关研究表明,人体 CAF-1 亚基 CAF-1 p150 的异常表达与某些类型的恶性肿瘤的发生有关^[33]。XU 等^[34] 研究发现,CAF-1 p150 在肝细胞的 6 种细胞系和 116 对肝细胞癌 (hepatocellular carcinoma, HCC) 中表达以及与之匹配的正常肿瘤相邻组织中表达,在裸鼠中进行皮下肿瘤模型研究以评估体内肿瘤的生长,发现在裸鼠肝癌组织中 CAF-1 p150 的表达明显高于在邻近的非肿瘤组织中的表达 ($P < 0.01$); 临床分析表明,CAF-1 p150 的表达与肝癌组织中的淋巴结转移、肿瘤数目和分化密切相关 ($P < 0.05$); CAF-1 p150 可能作为 HCC 患者 5 年总体生存和无病生存的不良预后指标 ($P < 0.05$)。在小鼠中,敲除 CAF-1 p150 后胚胎发育在细胞间期停止,进一步研究发现是小鼠细胞中被破坏的组成型异染色质的结构导致的,说明 CAF-1 对于细胞核中染色体建立正确的空间结构很重要^[35]。

在拟南芥中,由 FAS1 (FASCIATA 1, p150 的同源物)、FAS2 (FASCIATA 2, p60 的同源物) 和 MSI1 (Mu-Iticopy Suppressor of Ira 1, p48 的同源物) 共同组成 CAF-1 复合物^[36-37]。拟南芥 FAS1 和 FAS2 亚基的突变体不会致死,是可以存活的,拟南芥的 CAF-1 的亚基可以与若干调控蛋白相互作用,发挥协同或相反的作用,造成茎片状、叶和花形态发育异常、顶端分生组织紊乱^[36-37] 以及 SCN (stem cell niche) 缺失^[36]、侧根发育受损等表现^[38]。通过 *sdg2-3* 和 *fas2-4* 单突变体之间的遗传杂交建立 *sdg2/fas2-4* 双突变体,双突变体表现

出明显的生长停滞表型,SDG2-3和FAS2-4的协同作用表明,SDG2和CAF-1在基因上是平行的,它们是维持根SCN组织和干细胞活性所独立需要的^[39]。FAS1和FAS2亚基突变体显示45S rDNA拷贝和端粒的逐步丢失^[40]。进一步研究与HR相关的RAD51及其同源蛋白与CAF-1的相关性,通过建立*fas1/rad 51b*双突变体,发现RAD51B的缺失降低了rDNA的丢失率,证实了在CAF1突变体中rDNA丢失与RAD51B依赖重组有关。在*fas*突变体中,45S rDNA中双链断裂的积累进一步支持了DNA损伤修复的参与^[41]。拟南芥CAF-1亚基FAS1及FAS2与拟南芥的同源重组(HR)相关^[42],其中任何一个亚基的缺失均会导致HR及T-DNA整合频率增高。Hisanaga等^[43]通过微阵列分析,发现许多参与DNA损伤反应的基因在CAF-1的亚基*fas1*突变体中上调,在DNA损伤处理后,*fas1-4*突变体的叶片更窄,锯齿更多,同时*fas1-4*比野生型细胞叶表皮下层栅栏细胞减少约40%,但平均单个细胞的大小与野生型相比大150%,说明*fas1-4*中DNA损伤反应的激活和伴随的细胞数量减少与ATM(ataxia telangiectasia mutated)有关,而与ATR(A TM and RAD3 related)无关,CAF-1与ATM依赖性的DNA损伤反应在*fas1-4*中起上游触发器作用,延迟细胞周期并促进进入内循环,导致突变体细胞补偿扩张。CAF-1的功能缺失或突变会造成拟南芥毛状体形状的改变^[44],通过与微管组装及毛状体模式、数量有关的STICHEL(STI)调控表现为*fas1*或*fas2*的突变造成拟南芥叶片毛状分支增多^[45]。拟南芥FAS1和FAS2基因维持SAM(shoot apical meristem)和RAM(root apical meristem)的细胞和组织功能,突变体*fas1*和*fas2*在维持SAM中的WUSCHEL(WUS)和RAM中的SCARECROW(SCR)的表达状态方面存在缺陷,说明CAF-1在胚胎后发育过程中通过促进基因表达状态的稳定维持,在SAM和RAM的组织中起关键作用^[36]。

拟南芥MSI1是真核生物中WD40蛋白家族中MSI1-like蛋白中的一员,它们形成作用于染色质的几个蛋白复合物的亚基,在拟南芥研究发现5个MSI1-like蛋白编码基因MSI1-MSI5^[46]。拟南芥MSI1与HDA19(Histone deacetylase 19)通过结合,形成组蛋白去乙酰化酶复合体,MSI1-HDA19复合物通过与脱落酸(ABA)受体基因的染色质结合以及维持组蛋白H3的低水平乙酰化来调节ABA信号,从而影响ABA受体基因的表达水平,MSI1或HDA19的减少导致ABA受体基因的上调和ABA反应基因的敏感^[47]。在植物中,转录抑制作用的PcG蛋白通过形成如PRC1(polycomb repressive complex 1)和PRC2在内的多亚基蛋白复合物,其中PRC2发挥在靶基因调节下催化组蛋白H3赖氨酸27的三甲基化(H3K27me3)的作用,作为PRC1的重要组分LIKE HETEROCHROMATIN PROTEIN 1(LHP1)通过MSI1的作用识别H3K27me3位点,发挥抑制*FLC*(flowering locus c)、*FT*(flowering time)、*AG*(agamous)等PcG蛋白靶点的作用^[48]。拟南芥MSI1是MEA/FIE PcG蛋白复合体的组成部分,直接与FIE相互作用。当突变等位基因为母系遗传时,*msi1*杂合的

突变植物的种子败育率增高,说明MSI1是种子发育所必需的,在种子发育的正确启动和进程中具有重要的作用^[49]。另一方面,拟南芥的花整合子基因*SOC1*(suppressor of *col1*)的正确表达需要MSI1。在长日(LD)光周期中,MSI1通过光周期途径降低*CO*(constans)的正常表达。导致*FT*和*SOC1*的激活失败,造成拟南芥开花延迟,说明拟南芥对光周期的正常敏感性需要MSI1^[50]。

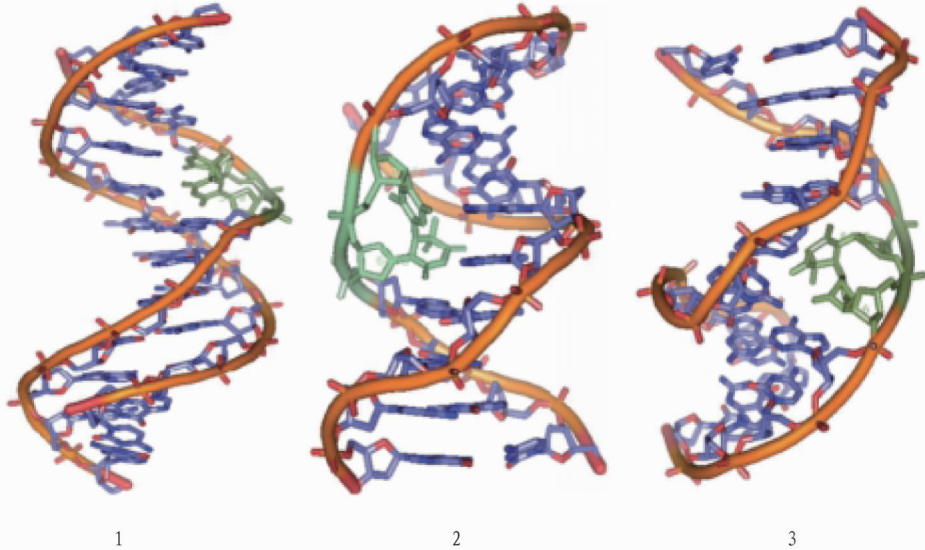
2 DNA损伤修复研究进展

生物体细胞会因为细胞复制、重组错误、代谢产生活性氧(ROS)^[51]的过量等内源性原因产生DNA损伤,植物也不例外。在受到诸如紫外线、电力辐射、化学诱变等外界环境压力胁迫时,植物除了生理结构、各种产物成分会受到严重影响外,基因组核DNA也会受到影响^[52]。数据采集表明到达地面的太阳辐射中UV-B辐射仅占太阳能辐射不到1%的极小一部分,但它却是太阳辐射的非常活跃的成分,一定剂量的UV-B辐射对DNA产生影响^[53-54]。细胞DNA对UV-B的吸收尤其强烈,因此DNA是UV-B辐射损伤的关键靶点^[55]。细胞中的DNA损伤主要表现为核苷酸被修饰如碱基丢失、碱基化学修饰,链内或链间交联以及磷酸二酯键的断裂^[56]。严重的细胞DNA损伤是影响细胞遗传物质,造成细胞中的单链DNA断裂(DNA single strand breaks,SSBs),甚至造成双链DNA断裂(DNA double strand breaks,DSBs)。紫外线UV-B辐射在植物细胞DNA中产生2种主要类型的病变:环丁烷嘧啶二聚体(cyclobutane pyrimidine dimers,CPDs)及6-4光产物(6-4 photo product,6-4 PPs)^[55]。CPD作为UV-B辐射产生的主要危害约占75%,6-4 PPs约占25%^[53]。CPD会影响DNA的结构,造成DNA双螺旋结构的轻微弯曲,而6-4 PPs则会造成DNA双螺旋结构更多的弯曲和解旋,6-4 PPs二聚体还可以被UV-A光异构化,形成Dewar异构体,三者的模拟三维结构如图1所示^[50,52]。UV-B辐射对DNA碱基的损伤主要依赖DNA链的柔韧性及碱基的位置和种类,单链DNA(ssDNA)中2个嘧啶碱基与poly(dA)-(dT)缩合带柔性末端的环加成反应可以形成CPD,显然易变形和解选的部位更容易被损伤^[57]。在植物细胞中存在转录因子TATA-box结合蛋白(TATA-box binding protein,TBP),这种结合蛋白影响CPD的选择性形成。6-4 PPs的TATA-box可以中和DNA弯曲的地方,而CPD优先形成在TATA box的边缘和DNA没有弯曲的外部^[58]。

许多研究表明,不同的细胞周期节点、不同原因导致的不同类型的DNA损伤下,有着各自针对性的损伤修复机制。在植物中UV-B辐射导致的低频率DNA损伤主要依赖光修复(photoreactivation)这种修复途径,光解酶(photolyase)是单体黄素依赖性修复酶,通过含有的2个生色团吸收蓝光/UV-A(320~400 nm)光介导主要过程,利用吸收的蓝光能量切断二聚体,将二聚体单体化^[52,59]。CPD光解酶和6-4光溶酶介导光溶酶特异性地结合在DNA损伤上,通过吸收300~600 nm的光,有效快速地去除了UV-B辐射造成的CPDs和6-4 PPs^[60-61]。除拟南芥外,水稻^[62]、苜蓿^[63]、紫菜^[62]、烟

草^[64]中都开展了可靠的研究。除光修复外还存在与之相应的不需要借助光的暗修复,暗修复可以分为切除修复(包含NER、碱基切除修复(base excision repair, BER)在内),参与严重DNA损伤DSBs修复的同源重组(HR)和非同源端连接(NHEJ),及保障DNA正确配对的错配修复(mismatch repair, MMR)等DNA修复途径^[65]。NER是修复暴露于紫外线或环境诱变引起的大量DNA损伤的分子途径,包括修复整个基因组DNA损伤的全基因组核苷酸切除修复(global genom-

ic NER, GG-NER)和选择性修复转录DNA链的转录偶联核苷酸切除修复(transcription-coupled NER, TCR)^[66]。BER是防止各种形式氧化、烷基化和自发性DNA损伤的主要保护修复途径,DNA糖基化酶识别损伤产生脱嘌呤/嘧啶(apurinic/apyrimidinic, AP)位点,通过切割磷酸糖链、切除碱性残基或含有寡核苷酸的碱性残基以及DNA合成和连接来启动修复过程^[13]。对于复制中发生错误等导致的碱基错误配对依靠MMR将错误碱基用正确的碱基置换,完成修复^[67]。



注:DNA双链体的结构显示存在病变部位(绿色),其中绿色部位分别表示(1)CPD、(2)6-4 PPs和(3)Dewar异构体,图中未显示氢原子
Note: The structure of DNA double-stranded body shows the presence of lesion sites (green), in which the green sites represent (1) CPD, (2) 6-4 PPs and (3) Dewar isomers, and hydrogen atoms are not shown in the figure

图1 UV-B辐射所致植物细胞DNA病变三维模型

Fig.1 Three-dimensional model of plant cell DNA lesions caused by UV-B radiation

3 组蛋白分子伴侣CAF-1与DNA损伤修复

作为一个复杂的DNA损伤感知和修复响应通路,DDR信号的调节需要借助一系列表观遗传修饰影响染色质动力学,如改变核小体位置和结构的染色质重塑,包含乙酰化、甲基化、磷酸化、泛素化等在内的组蛋白修饰,DNA(去)甲基化,与非编码RNA产生相应的反应。真核细胞中,主要的DNA修复机制如HR、NHEJ、BER、NER和MMR都受到多种染色质重塑的影响,包括INO80、SWR1、RAD54等在内的染色质重塑复合体已被证明在植物DDR中发挥重要作用^[14],当收到DNA损伤信号,产生修复途径时,会引起染色质重排^[67],DNA损伤会引起组蛋白修饰的改变,引起染色质组织不稳定,随着DNA修复,染色质也会被相应修复^[68],而在此过程依赖组蛋白分子伴侣的协助。

CAF-1复合物在植物中是进化保守的,其损伤会导致多种表型,包括DDR缺陷^[69]。已发现CAF-1与包括PCNA、DNA解旋酶BLM和WRN在内的多种蛋白质在不同的DNA修复过程中协同作用^[70]。研究发现DNA修复和染色质组装之间有相应的联系,在具有修复能力的无细胞提取物中对紫外线照射损伤的DNA进行孵育,发现核小体的重新组装与NER同时发生^[71]。核小体装配途径涉及CAF-1,该因子

的最大亚基(p150)与增殖细胞核抗原(PCNA)直接相互作用,并在2个蛋白上绘制了这种相互作用的关键区域。在DNA损伤处理和检查点控制的背景下,CAF-1与PCNA之间的相互作用极其重要,PCNA和CAF-1与受损DNA的结合取决于DNA损伤的数量,依赖于ATP提供能量^[72]。DNA损伤后,CAF-1定位于受损病灶,在NER和DSBs修复后重组核小体^[73]。在拟南芥中,CAF-1任意1个亚基的缺失均导致体细胞HR的频率增加40倍左右,同时T-DNA整合的频率也发生增加,说明CAF-1的功能缺失会延迟染色质组装,从而导致未染色质化的DNA被介导HR或NHEJ的酶所影响,产生修复^[42]。对人体静息细胞通过博来霉素(Bleomycin)处理,发现CAF-1和其相互作用蛋白PCNA显著表达,CAF-1和PCNA被招募到受损的染色质中通过NER和NHEJ修复途径进行SSBs和DSBs的DNA损伤修复,再通过RNA干扰导致CAF-1的缺失,静息细胞活力显著下降、DSBs增加,说明CAF-1在人类静息细胞中发挥着修复DNA链断裂后重组染色质的作用^[74]。

4 总结与展望

真核细胞内DNA损伤被识别时,会激活DDR,关于DNA损伤及修复的产物、途径及相关机制已有较长的历史及

较深入的研究。目前已经有许多证据证明 DNA 损伤反应 (DDR) 与核小体重装、染色质重塑以及染色质的相关活动有相应的联系,但是染色质背景下 DNA 损伤修复的作用机制还尚待解决。目前关于组蛋白分子伴侣 CAF-1 结合染色质在 DNA 损伤修复中的作用机制及在 NER 的相关作用研究还停留在浅表。DDR 和 DNA 修复机制是如何被一系列指导染色质重塑和表观遗传修饰的表观遗传修饰协同调控的是未来研究 DNA 损伤修复的研究方向。未来希望通过研究组蛋白伴侣在参与染色质相关的 DNA 损伤识别修复机制,深入了解表观遗传在 DNA 损伤修复中起到的作用,加深认识 DNA 损伤修复的深层作用机制。

参考文献

- [1] KARETSOU Z,EMMANOULIDOU A,SANIDAS I, et al. Identification of distinct SET/TAF-Ibeta domains required for core histone binding and quantitative characterisation of the interaction[J]. BMC Biochem, 2009, 10: 10-22.
- [2] VERGARA Z,GUTIERREZ C. Emerging roles of chromatin in the maintenance of genome organization and function in plants [J]. Genome Biol, 2017, 18(1): 96-108.
- [3] OJOLO S P, CAO S, PRIYADARSHANI S V G N, et al. Regulation of plant growth and development: A review from a chromatin remodeling perspective [J]. Front Plant Sci, 2018, 9(13): 1232-1245.
- [4] MELLO J A, ALMOUZI G. The ins and outs of nucleosome assembly[J]. Curr Opin Genet Dev, 2001, 11(2): 136-141.
- [5] MELLOR J. The dynamics of chromatin remodeling at promoters [J]. Mol Cell, 2005, 19(2): 147-157.
- [6] MEAS R, WYRICK J J, SMERDON M J. Nucleosomes regulate base excision repair in Chromatin [J]. Mutat Res/Rev Mutat Res, 2019, 780: 29-36.
- [7] DAS C, TYLER J K, CHURCHILL M E. The histone shuffle; Histone chaperones in an energetic dance [J]. Trends Biochem Sci, 2010, 35(9): 476-489.
- [8] SAUER P V, GU Y, LIU W H, et al. Mechanistic insights into histone deposition and nucleosome assembly by the chromatin assembly factor-1 [J]. Nucleic Acids Res, 2018, 46(19): 9907-9917.
- [9] PARDAL A J, FERNANDES-DUARTE F, BOWMAN A J. The histone chaperoning pathway: From ribosome to nucleosome [J]. Essays Biochem, 2019, 63(1): 29-43.
- [10] PARK Y J, LUGER K. Histone chaperones in nucleosome eviction and histone exchange [J]. Curr Opin Struct Biol, 2008, 18(3): 282-289.
- [11] GURARD-LEVIN Z A, QUIVY J P, ALMOUZI G. Histone chaperones: Assisting histone traffic and nucleosome dynamics [J]. Annu Rev Biochem, 2014, 83: 487-517.
- [12] MAHAJAN S, TUTEJA N. Cold, salinity and drought stresses: An overview [J]. Arch Biochem Biophys, 2005, 444(2): 139-158.
- [13] BRITT A B. Molecular genetics of DNA repair in higher plants [J]. Trends Plant Sci, 1999, 4(1): 20-25.
- [14] KIM J H. Chromatin remodeling and epigenetic regulation in plant DNA damage repair [J]. Int J Mol Sci, 2019, 20(17): 4093-4115.
- [15] GONZÁLEZ-ARZOLA K, DÍAZ-MORENO I, CANO-GONZÁLEZ A, et al. Structural basis for inhibition of the histone chaperone activity of SET/TAF-1β by cytochrome c [J]. PNAS, 2015, 112(32): 9908-9913.
- [16] SMITH S, STILLMAN B. Purification and characterization of CAF-I, a human cell factor required for chromatin assembly during DNA replication *in vitro* [J]. Cell, 1989, 58(1): 15-25.
- [17] SHIBAHARA K, STILLMAN B. Replication-dependent marking of DNA by PCNA facilitates CAF-1-coupled inheritance of chromatin [J]. Cell, 1999, 96(4): 575-585.
- [18] YU Z S, LIU J Y, DENG W M, et al. Histone chaperone CAF-1: Essential roles in multi-cellular organism development [J]. Cell Mol Life Sci, 2015, 72(2): 327-337.
- [19] LIU W H, ROEMER S C, ZHOU Y, et al. The Cac1 subunit of histone chaperone CAF-1 organizes CAF-1-H3/H4 architecture and tetramerizes histones [J]. Elife, 2016, 5: e18023-e18049.
- [20] KAUFMAN P D, COHEN J L, OSLEY M A. Hir proteins are required for position-dependent gene silencing in *Saccharomyces cerevisiae* in the absence of chromatin assembly factor I [J]. Mol Cell Biol, 1998, 18(8): 4793-4806.
- [21] ADKINS M W, HOWAR S R, TYLER S R. Chromatin disassembly mediated by the histone chaperone Asf1 is essential for transcriptional activation of the yeast *PHO5* and *PHO8* genes [J]. Mol Cell, 2004, 14(5): 657-666.
- [22] PRAKASH S, PRAKASH L. Nucleotide excision repair in yeast [J]. Mutat Res, 2000, 451(1/2): 13-24.
- [23] KAUFMAN P D, KOBAYASHI R, STILLMAN B. Ultraviolet radiation sensitivity and reduction of telomeric silencing in *Saccharomyces cerevisiae* cells lacking chromatin assembly factor-I [J]. Genes Dev, 1997, 11(3): 345-357.
- [24] CHOY J S, MISHRA P K, AU W C, et al. Insights into assembly and regulation of centromeric chromatin in *Saccharomyces cerevisiae* [J]. Biochim Biophys Acta, 2012, 1819(7): 776-783.
- [25] HEWAWASAM G S, DHATCHINAMOORTHY K, MATTINGLY M, et al. Chromatin assembly factor-1 (CAF-1) chaperone regulates Cse4 deposition into chromatin in budding yeast [J]. Nucleic Acids Res, 2018, 46(9): 4440-4455.
- [26] LO P K, HU Y C, CORCORAN D, et al. Inhibition of Notch signaling by the p105 and p180 subunits of *Drosophila* chromatin assembly factor 1 is required for follicle cell proliferation [J]. J Cell Sci, 2019, 132(2): 1-10.
- [27] KAUFMAN P D, 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 [J]. Cell, 1995, 81(7): 1105-1114.
- [28] 赵占克, 王玉凤. 组蛋白伴侣在发育过程中的功能 [J]. 遗传, 2010, 32(1): 41-48.
- [29] KLAPHOLZ B, DIETRICH B H, SCHAFFNER C, et al. CAF-1 is required for efficient replication of euchromatic DNA in *Drosophila* larval endocycling cells [J]. Chromosoma, 2009, 118(2): 235-248.
- [30] STAIBANO S, MASCOLO M, MANCINI F P, et al. Overexpression of chromatin assembly factor-1 (CAF-1) p60 is predictive of adverse behaviour of prostatic cancer [J]. Histopathology, 2009, 54(5): 580-590.
- [31] MASCOLO M, VECCHIONE M L, ILARDI G, et al. Overexpression of Chromatin Assembly Factor-1/p60 helps to predict the prognosis of melanoma patients [J]. BMC Cancer, 2010, 10(1): 1-14.
- [32] MASCOLO M, ILARID G, MEROLLA F, et al. Tissue microarray-based evaluation of Chromatin Assembly Factor-1 (CAF-1)/p60 as tumour prognostic marker [J]. In J Mol Sci, 2012, 13(9): 11044-11062.
- [33] WU Z H, CUI F F, YU F D, et al. Up-regulation of CHAF1A, a poor prognostic factor, facilitates cell proliferation of colon cancer [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2014, 449(2): 208-215.
- [34] XU M, JIA Y L, LIU Z K, et al. Chromatin assembly factor 1, subunit A (P150) facilitates cell proliferation in human hepatocellular carcinoma [J]. Onco Targets Ther, 2016, 9: 4023-4035.
- [35] HOULARD M, BERLIVET S, PROBST A V, et al. CAF-1 is essential for heterochromatin organization in pluripotent embryonic cells [J]. PLoS Genetics, 2006, 2(11): 1686-1696.
- [36] KAYA H, SHIBAHARA K I, TAOKA K I, et al. FASCIATA genes for chromatin assembly factor-1 in *Arabidopsis* maintain the cellular organization of apical meristems [J]. Cell, 2001, 104(1): 131-142.
- [37] KIRIK A, PECINKA A, WENDELER E, et al. The chromatin assembly factor subunit FASCIATA1 is involved in homologous recombination in plants [J]. Plant Cell, 2006, 18(10): 2431-2442.
- [38] MANZANO C, RAMIREZ-PARRA E, CASIMIRO I, et al. Auxin and epigenetic regulation of SKP2B, an F-box that represses lateral root formation [J]. Plant Physiol, 2012, 160(2): 749-762.
- [39] YAO X Z, FENG H Y, YU Y, et al. SDG2-mediated H3K4 methylation is required for proper *Arabidopsis* root growth and development [J]. PLoS One, 2013, 8(2): 1-11.
- [40] SERRA H, DA INES O, DEGROOTE F, et al. Roles of XRCC2, RAD51B and RAD51D in RAD51-independent SSA recombination [J]. PLoS Genet, 2013, 9(11): 1-9.
- [41] MUCHOVA V, AMIARD S, MOZGOVA I, et al. Homology-dependent repair is involved in 45S rDNA loss in plant CAF-1 mutants [J]. Plant J, 2015, 81(2): 198-209.
- [42] ENDO M, ISHIKAWA Y, OSAKABE K, et al. Increased frequency of homologous recombination and T-DNA integration in *Arabidopsis* CAF-1 mutants [J]. EMBO J, 2006, 25(23): 5579-5590.
- [43] HISANAGA T, FERJANI A, HORIGUCHI G, et al. The ATM-dependent DNA damage response acts as an upstream trigger for compensation in the *fas1* mutation during *Arabidopsis* leaf development [J]. Plant Physiol, 2013, 162(2): 831-841.
- [44] ONO T, KAYA H, TAKEDA S, et al. Chromatin assembly factor 1 ensures the stable maintenance of silent chromatin states in *Arabidopsis* [J]. Genes

- Cells, 2006, 11(2):153-162.
- [45] PLETT J M, MATHUR J, REGAN S. Ethylene receptor ETR2 controls trichome branching by regulating microtubule assembly in *Arabidopsis thaliana* [J]. *J Exp Bot*, 2009, 60(13):3923-3933.
- [46] HENNIG L, BOUVERET R, GRUISSEM W. MSI1-like proteins: An escort service for chromatin assembly and remodeling complexes [J]. *Trends Cell Biol*, 2005, 15(6):295-302.
- [47] MEHDI S, DERKACHEVA M, RAMSTRÖM M, et al. The WD40 domain protein MSI1 functions in a histone deacetylase complex to fine-tune abscisic acid signaling [J]. *Plant Cell*, 2016, 28(1):42-54.
- [48] DERKACHEVA M, STEINBACH Y, WILDHABER T, et al. *Arabidopsis* MSI1 connects LHP1 to PRC2 complexes [J]. *EMBO J*, 2013, 32(14):2073-2085.
- [49] 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 [J]. *EMBO J*, 2003, 22(18):4804-4814.
- [50] STEINBACH Y, HENNIG L. *Arabidopsis* MSI1 functions in photoperiodic flowering time control [J]. *Front Plant Sci*, 2014, 5:77-85.
- [51] BIEDERMANN S, MOONEY S, HELLMANN H. Recognition and repair pathways of damaged DNA in higher plants [M]//Selected Topics in DNA Repair. [s.l.]: InTech, 2011:201-236.
- [52] TUTEJA N, AHMAD P, PANDA B B, et al. Genotoxic stress in plants: Shedding light on DNA damage, repair and DNA repair helicases [J]. *Mutat Res*, 2009, 681(2/3):134-149.
- [53] SINHA R P, HÄDER D P. UV-induced DNA damage and repair: A review [J]. *Photochem Photobiol Sci*, 2002, 1(4):225-236.
- [54] RASTOGI R P, RICHA, KUMAR A, et al. Molecular mechanisms of ultraviolet radiation-induced DNA damage and repair [J]. *J Nucleic Acids*, 2010, 2010:1-32.
- [55] GILL S S, ANJUM N A, GILL R, et al. DNA damage and repair in plants under ultraviolet and ionizing radiations [J]. *Sci World J*, 2015, 2015:1-11.
- [56] MANOVA V, GRUSZKA D. DNA damage and repair in plants - from models to crops [J]. *Front Plant Sci*, 2015, 6:885-911.
- [57] LYAMICHEV V. Unusual conformation of (dA)_n · (dT)_n-tracts as revealed by cyclobutane thymine-thymine dimer formation [J]. *Nucleic Acids Res*, 1991, 19(16):4491-4496.
- [58] ABOUSSEKHRA A, THOMA F. TATA-binding protein promotes the selective formation of UV-induced (6-4)-photoproducts and modulates DNA repair in the TATA box [J]. *EMBO J*, 1999, 18(2):433-443.
- [59] GALLEGO F, FLECK O, LI A, et al. AtRAD1, a plant homologue of human and yeast nucleotide excision repair endonucleases, is involved in dark repair of UV damages and recombination [J]. *Plant J*, 2000, 21(6):507-518.
- [60] PANG Q S, HAYS J B. UV-B-Inducible and temperature-sensitive photo-reactivation of cyclobutane pyrimidine dimers in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Plant Physiol*, 1991, 95(2):536-543.
- [61] TAKEUCHI Y, MURAKAMI M, NAKAJIMA N, et al. The photorepair and photoisomerization of DNA lesions in etiolated cucumber cotyledons after irradiation by UV-B depends on wavelength [J]. *Plant Cell Physiol*, 1998, 39(7):745-750.
- [62] TERANISHI M, TAGUCHI T, ONO T, et al. Augmentation of CPD photolyase activity in japonica and indica rice increases their UVB resistance but still leaves the difference in their sensitivities [J]. *Photochem Photobiol*, 2012, 11(5):812-820.
- [63] KUMAGAI T, SATO T. Inhibitory effects of increase in near-UV radiation on the growth of Japanese rice cultivars (*Oryza sativa* L.) in a phytotron and recovery by exposure to visible radiation [J]. *Ikushugaku zasshi*, 1992, 42(3):545-552.
- [64] 李韶山, 王艳, LARS OLOF BJÖRN. 温度对 UV-B 诱导的烟草叶圆片 DNA 损伤的影响 [J]. *生态科学*, 2002, 21(2):115-117.
- [65] BRAY C M, WEST C E. DNA repair mechanisms in plants: Crucial sensors and effectors for the maintenance of genome integrity [J]. *New Phytol*, 2005, 168(3):511-528.
- [66] HANAWALT P C, SPIVAK G. Transcription-coupled DNA repair: Two decades of progress and surprises [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2008, 9(12):958-970.
- [67] LEONARD J M, BOLLMANN S R, HAYS J B. Reduction of stability of *Arabidopsis* genomic and transgenic DNA-repeat sequences (microsatellites) by inactivation of AtMSH2 mismatch-repair function [J]. *Plant Physiol*, 2003, 133(1):328-338.
- [68] DANTUMA N P, VAN ATTIKUM H. Spatiotemporal regulation of post-translational modifications in the DNA damage response [J]. *EMBO J*, 2016, 35(1):6-23.
- [69] DONÀ M, MITTELSTEN SCHEID O. DNA damage repair in the context of plant chromatin [J]. *Plant Physiol*, 2015, 168(4):1206-1218.
- [70] JIAO R, HARRIGAN J A, SHEVELEV I, et al. The Werner syndrome protein is required for recruitment of chromatin assembly factor 1 following DNA damage [J]. *Oncogene*, 2007, 26(26):3811-3822.
- [71] GAILLARD P H L, MARTINI E M, KAUFMAN P D, et al. Chromatin assembly coupled to DNA repair: A new role for chromatin assembly factor 1 [J]. *Cell*, 1996, 86(6):887-896.
- [72] MOGGS J G, GRANDI P, QUIVY J P, et al. A CAF-1-PCNA-mediated chromatin assembly pathway triggered by sensing DNA damage [J]. *Mol Cell Biol*, 2000, 20(4):1206-1218.
- [73] ZHANG W, TYL M, WARD R, et al. Structural plasticity of histones H3-H4 facilitates their allosteric exchange between RbAp48 and ASF1 [J]. *Mol Biol*, 2013, 20(1):29-35.
- [74] NABATIYAN A, SZÜTS D, KRUDE T. Induction of CAF-1 expression in response to DNA strand breaks in quiescent human cells [J]. *Mol Cell Biol*, 2006, 26(5):1839-1849.

(上接第 11 页)

- [48] 周学森. 苦水玫瑰精油及花渣中色素的提取纯化 [D]. 兰州: 甘肃农业大学, 2010.
- [49] EREN E, GOK E C, SEYHAN B N, et al. Evaluation of anthocyanin, a rose residue extract, for use in dye-sensitized solar cell [J]. *Asian journal of chemistry*, 2015, 27(10):3745-3748.
- [50] 肖丽宏, 李子兰, 李建宾, 等. 云南墨红玫瑰花色素粗提物的体外抗氧化活性研究 [J]. *食品科技*, 2019, 44(7):291-296.
- [51] USMAN M, ZHANG C N, PATIL P J, et al. Potential applications of hydrophobically modified inulin as an active ingredient in functional foods and drugs-A review [J]. *Carbohydrate polymers*, 2021, 252:1-25.
- [52] NYSTRAND B T, OLSEN S O, TUDORAN A A. Individual differences in functional food consumption: The role of time perspective and the Big Five personality traits [J]. *Appetite*, 2021, 156:1-11.
- [53] OLIVEIRA S M, GRUPPI A, VIEIRA M V, et al. How additive manufacturing can boost the bioactivity of baked functional foods [J/OL]. *Journal of food engineering*, 2021, 294 [2020-09-21]. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2020.110394>.
- [54] GHATTAMANENI N K R, BROWN L. Functional foods from the tropics to relieve chronic normobaric hypoxia [J]. *Respiratory physiology & neurobiology*, 2020, 286:103599-103599.
- [55] 李婷, 梁琪, 蒋玉梅, 等. 苦水玫瑰花渣果酱的研制 [J]. *食品科技*, 2011, 36(5):135-138.
- [56] 谢秋涛. 超临界 CO₂ 提取玫瑰精油工艺优化及副产物综合利用研究 [D]. 长沙: 中南大学, 2013.
- [57] 徐洁, 李霁昕, 毕阳, 等. 超声波和微波辅助提取苦水玫瑰鲜花和花渣中原花青素的工艺优化及其比较 [J]. *食品科学*, 2018, 39(12):268-275.
- [58] 王泽平, 樊继强, 王彦人, 等. 玫瑰花渣乳酸菌发酵低糖饮料的研制 [J]. *饮料工业*, 2019, 22(2):31-37.
- [59] 樊筑君, 王琼芳, 金学敏. 玫瑰酱油研制报告初探 [J]. *天然产物研究与开发*, 1990, 2(4):71-73.
- [60] 郭永来, 张静菊, 郭锋, 等. 格拉斯玫瑰花渣精油的成分分析 [J]. *香料香精化妆品*, 2012(4):17-21.
- [61] 郭畅, 张娟, 刘朝政, 等. 在玫瑰花渣中提取玫瑰精油及抗氧化性研究 [J]. *应用化工*, 2020, 49(8):1930-1932, 1937.
- [62] GUO C C, ZHANG J, LIU C Z, et al. Extracting rose essential oil from rose slag with ionic liquid [J]. *Biomass conversion and biorefinery*, 2020, 2:1-8.
- [63] 杨盛鑫. 中国苦水玫瑰精油加工过程废水中玫瑰红色素的回收工艺研究 [D]. 兰州: 西北师范大学, 2015.
- [64] 梁文博, 胡亚云. 蔚芹. 法国玫瑰精油加工废水中色素的提取及稳定性研究 [J]. *西北林学院学报*, 2007, 22(5):128-131.
- [65] 陆秀云. 苦水玫瑰精油提取后废水中多酚类化合物研究-分离与抗氧化性 [D]. 兰州: 西北师范大学, 2018.