上海药物所等解析de novo DNA甲基转移酶和天然底物核小体的高分辨率结构

作者：writer 来源：中国科学院

本文原地址：https://www.iikx.com/news/progress/11191.html

本文仅供学习交流之用，版权归原作者所有，请勿用于商业用途！

近期，中国科学院上海药物研究所徐华强课题组与美国温安洛研究所Peter Jones课题组、Karsten Melcher课题组合作，利用冷冻电镜技术首次解析de novo DNA甲基转移酶（DNMT3A2/DNMT3B3）和天然底物核小体的高分辨率结构，阐述了DNMT3A2/DNMT3B3与核小体的结合模式，提出全基因组DNA甲基化的模型。相关成果以*Structure of nucleosome-bound DNA methyltransferases DNMT3A and DNMT3B*为题，发表在《自然》上。

DNA甲基化可改变染色质结构、DNA稳定性及DNA与蛋白质等相互作用，从而控制基因表达。DNA甲基化可随DNA的复制过程遗传给新生的子代DNA，是一种重要的表观遗传机制。在染色质环境中，DNA甲基化比在溶液中复杂得多，核小体作为遗传物质的组成单位，包裹在其外围的DNA更加难以被甲基化。然而，大多数核小体结合的de novo DNA甲基转移酶处于非激活状态。de novo DNA 甲基化转移酶3A和3B催化的CpG甲基化对哺乳动物的发育和细胞分化至关重要，并且常常与癌症的发生密切相关。通过对大量正常组织（GTEx数据库）和癌症组织（TCGA数据库）中不同亚型DNMT的表达分析，该研究以人类癌症中主要的两种DNMT亚型DNMT3A2和DNMT3B3与核小体核的相互作用为重点。目前，DNMT3A催化结构域和DNMT3L类催化结构域以及其与游离DNA的晶体结构已经解析，但由于其局限性，DNMT与其天然底物核小体的相互作用机制并未得到阐述。

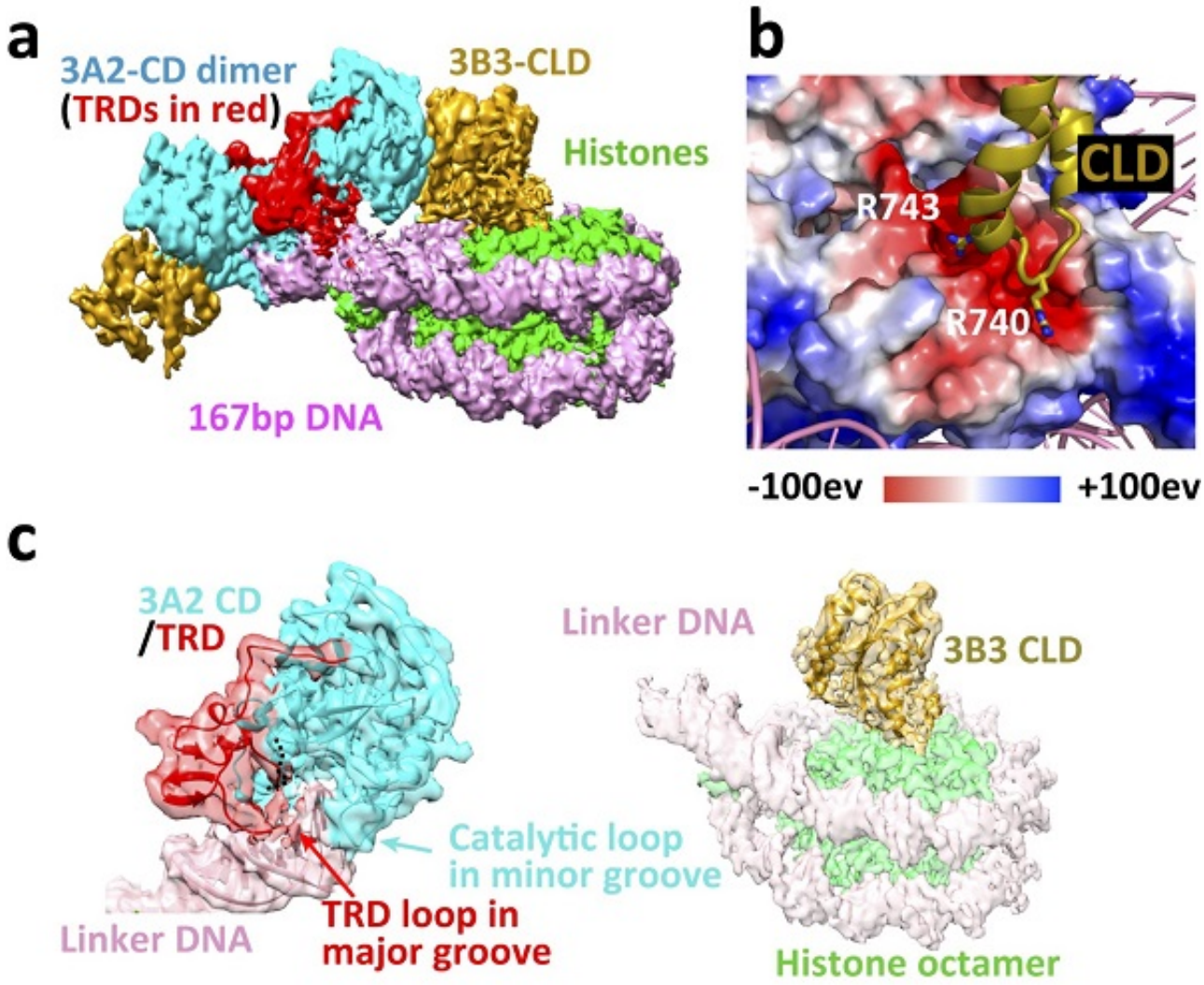
该合作团队长期致力于研究DNA甲基化对基因表达调控的重要影响及其对人类癌症发生发展的广泛参与。为揭示DNMT3A2/3B3与核小体的相互作用并了解染色体上DNA甲基化，团队利用冷冻电镜技术成功解析DNMT3A2/3B3和核小体复合物近原子分辨率的冷冻电镜结构。该结构显示，异源四聚体复合物（3B3-3A2-3A2-3B3）与分离的DNMT3A催化结构域和DNMT3L类催化结构域复合物非常相似，但是却非对称地和核小体相互作用。DNMT3B3类催化结构域之一锚定在核小体的酸性补丁（acidic patch）区域，其作用核心区域为DNMT3B3 740位和743位的精氨酸指（Arginine finger）。核小体酸性补丁区域与多种核小体结合蛋白都有至关重要的相互作用。然而，DNMT3A2催化结构域并不与核小体核心区域相互作用，而是随着DNA的路径，与一端的连接DNA（linker DNA）相互作用并催化其CpG甲基化。尽管DNMT3家族蛋白具有高度的保守性，该研究通过DNA结合的DNMT3A2和核小体核心区域结合的DNMT3B3的结构对比，揭示了目标识别区域（TRD）结构域的开关功能。所有具有催化活性的DNMT3亚型都含有对目标DNA作用至关重要的TRD结构域，虽然其在空间上阻断了催化结构域与核小体核心区域相互作用，但是增强了DNA的结合能力。

为验证酸性补丁相互作用对核小体募集的重要性，该研究对精氨酸指（R740和R743）进行了突变

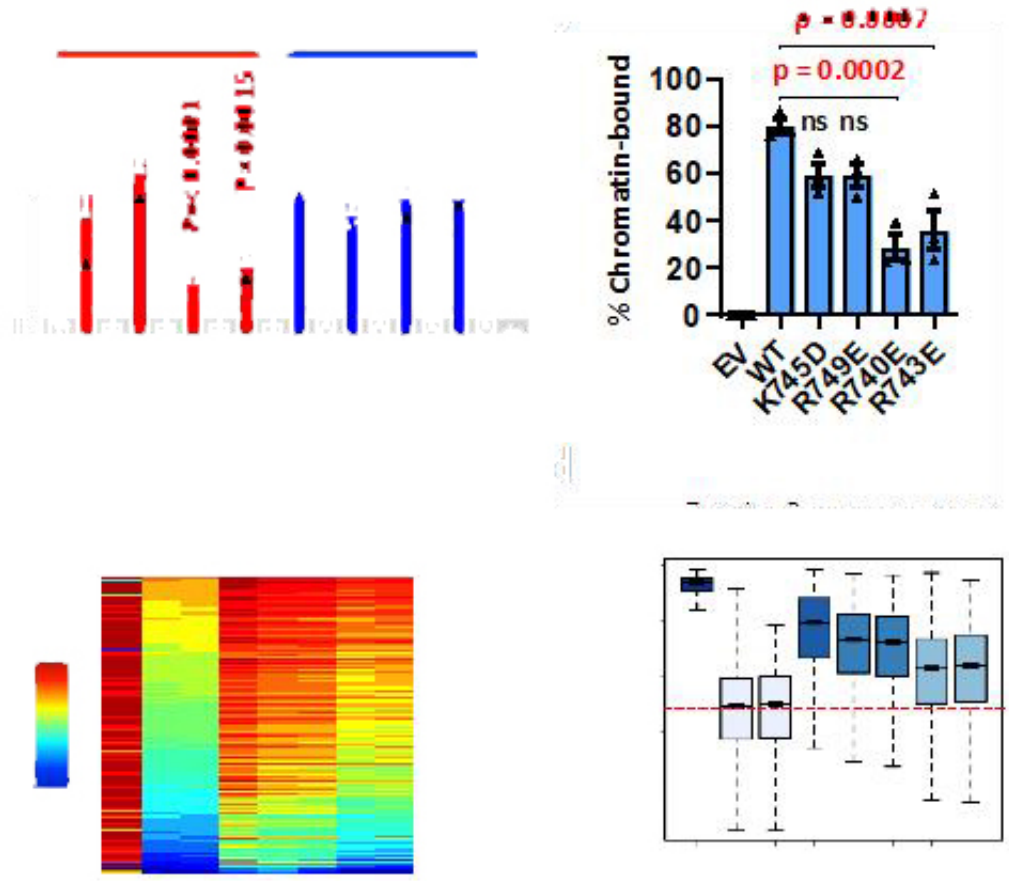
分析，并以远离酸性补丁区域的氨基酸（K745和R749）作为对照。体外相互作用实验（ALPHA Screen）显示，相互作用核心区域740和743精氨酸指相反电荷的突变显著减弱了DNMT3A2/3B3与核小体的相互作用，而非核心区域或者相同电荷的突变则如预期，结合能力没有显著变化。细胞内染色质结合能力实验（chromatin association assay）也证实与酸性补丁相互作用740和743精氨酸指的突变导致与染色质的结合显着降低。DNA甲基化阵列（Infinium MethylationEPIC BeadChip）同样证实DNMT3B3与核小体酸性补丁之间的相互作用对于体内DNA甲基化重建的重要性。突变体DNMT3B3恢复DNA甲基化的能力和其与染色质的结合能力密切相关。作为对照的K745和R749突变，甲基化恢复水平几乎与野生型DNMT3B3一样。相反，显著降低与染色质结合的R740E和R743E突变，甲基化恢复效率低得多。有限的微球菌核酸酶消化实验（MNase digestion）进一步证实了存在DNMT复合物的情况下，核小体的任一侧都显著增加了约10碱基对的保护区域。这些数据支持DNMT复合物的类催化结构域与酸性补丁相互作用对于核小体募集和DNA甲基化的重要性，并且与DNA的结合并不依赖于酶的活性位点CpG。

DNMT3A2/3B3与核小体复合物的结构以及功能分析揭示了DNMT3B3类催化结构域出乎意料的核小体靶向功能，将DNMT3A2/3B3催化结构域定位在核小体连接DNA区域，这对全基因组DNA甲基化非常重要。通过DNMT类催化结构域和催化结构域将DNMT核心核小体靶向和CpG甲基化分离，可将DNMT3复合物募集到难以接近的核小体附近，同时将CpG甲基化靶向连接DNA区域。这表明，在体内将DNA甲基化传播至核小体DNA需要核小体核的重塑，例如通过DNA复制、转录或其他核小体重塑事件。

论文链接



a：复合物结构的冷冻电镜电子密度图；b：酸性补丁相互作用；c：DNMT3A2催化结构域与连接DNA相互作用和DNMT3B3类催化结构域与核小体核心相互作用



AlphaScreen实验测定His标记的DNMT3A2-DNMT3B3复合物与生物素标记的NCP相互作用、DNMT3 染色质结合实验、HCT116细胞和DKO8共转DNMT3B3细胞的CpG位点的甲基化热图、箱形图显示了109998个探针的DNA甲基化水平分布

研究团队单位：上海药物研究所

更多 科学进展 请访问 https://www.iikx.com/news/progress/

本文版权归原作者所有，请勿用于商业用途，爱科学iikx.com转发