
深圳先进院等创造出含有定点共翻译修饰核小体的酵母菌

作者：writer 来源：中国科学院

本文原地址：<https://www.iikx.com/news/progress/18609.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！

随着蛋白质谱技术的发展，许多组蛋白赖氨酸残基的酰化修饰被鉴定出来，其中巴豆酰化修饰是一类在酵母、哺乳动物等真核生物中保守存在的组蛋白酰化修饰。自2011年被发现以来，巴豆酰化修饰俨然成为了领域内的研究热点。这是因为该修饰是一种重要的表观遗传机制调节基因转录的翻译后修饰。尽管巴豆酰化和乙酰化基团的化学结构类似，却可能存在不同于乙酰化修饰的生物学功能。因此，揭示不同酰化修饰在组蛋白同一位点的生物学功能差异是研究组蛋白酰化修饰的难点问题。

5月30日，中国科学院深圳先进技术研究院合成生物学研究所罗小舟课题组与北京大学药学院刘涛课题组以及北京大学基础医学院刘小云课题组合作，在Angew. Chem. Int. Ed.上在线发表了题为Creation of a Yeast Strain with Co-translationally Acylated Nucleosomes的研究论文。

2002年，科学家研究表明，自然界中的产甲烷菌存在一套正交的翻译机器，可识别琥珀密码子（TAG），将除20种经典氨基酸以外的吡咯赖氨酸通过遗传编码的方式编码到蛋白中。因此，吡咯赖氨酸成为了古生菌中一种独特存在的共翻译修饰（Co-Translational Modification, CTM）方式。受到这一修饰方式的启发，研究团队以酿酒酵母为模式生物，借助基因密码子扩展（Genetic Code Expansion, GCE）技术创造出一种含有CTM核小体的酵母菌株。他们发现与组蛋白H3K56位点巴豆酰化共修饰相比，该菌株中组蛋白H3K56位点的乙酰化共修饰能够为酿酒酵母DNA损伤修复提供更为有利的染色质环境，且二者对其他位点翻译后修饰（Post-translational Modification, PTM）丰度的影响也存在一定差异（图1）。该研究探索性地将定点共翻译修饰作为合成表观遗传学的研究手段，为真核生物中不同组蛋白酰化修饰生物学功能的研究提供了一种不可替代的研究方法。

基因密码子扩展技术即通过与宿主生物正交的氨酰tRNA合成酶（aminoacyl-tRNA synthetase, aaRS）/tRNA对，将非经典氨基酸（Non-canonical Amino Acid, ncAA）编码到宿主目标蛋白的特定位点上。研究

人员汇总了现有的酿酒酵母基因

密码子扩展体系（包括PylRS和E.coli

LeuRS体系），将EGFP的荧光信号强度作为GCE体系编码效率的评估指标，并构建了一系列GCE体系，比较这些体系将乙酰赖氨酸（Acetyl-lysine, AcK）插入到EGFP特定位点的效率，从中筛选出插入效率高且正交的GCE体系——PLRS

/4xtRNA^{Leu}

对（图2a）。同时研究人员发现PLRS/4xtRNA^{Leu}对巴豆酰赖氨酸（Crotonyl-lysine，CroK）以及AcK类似物KetoTK具有较好的兼容性（图2b）。

在CTM菌株中，基因组编码的野生型组蛋白H3被CTM组蛋白H3突变体所取代。组蛋白H3突变体可借助酿酒酵母基因密码子扩展体系对其56位点进行ncAA突变获得。这一菌株被命名为pM56菌株（图2c），该菌株呈现出ncAAs依赖生长的特性，即在含有一定浓度ncAAs的培养基中，pM56菌株才能存活。研究人员针对不同pM56菌株中组蛋白H3K56位点酰化修饰水平进行定量蛋白组学研究，结果表明，pM56AcK菌株中组蛋白H3K56位点的乙酰化修饰水平（~12%）低于野生型酵母菌株（~23%），pM56CroK菌株中组蛋白H3K56位点除存在~14%的巴豆酰化修饰以外，还存在~10%的乙酰化修饰，这说明pM56菌株中存在动态的修饰调控过程。为了研究组蛋白H3K56位点发生乙酰化共修饰或巴豆酰化共修饰之后，二者的生物学功能存在哪些差异，研究人员做了pM56菌株DNA损伤耐受实验，比较pM56AcK和pM56CroK菌株对甲磺酸甲酯（methyl methanesulfonate，MMS）的耐受差异，结果显示，pM56AcK对MMS的耐受程度高于pM56CroK菌株（图3a）。RNA测序结果显示，相比于MMS处理的pM56CroK菌株，pM56AcK菌株中水解酶表达水平显著性上调，酵母生殖和细胞壁相关的基因也出现了上调表达的情况，而pM56CroK菌株中激酶相关基因表达水平上调（图3b）。

该研究通过跨学科交叉合作，基于酿酒酵母的基因密码子扩展体系，探索性地将定点共翻译修饰作为合成表观遗传学的研究手段，创造了另一种可能的生命形式，即通过人为引入共翻译修饰的方式维持酵母生命活动的生命形式。这一特殊的生命体不仅为探索真核生物组蛋白翻译后修饰错综复杂的生物学功能提供了更多可能性，同时也为研究在漫长进化过程中翻译后修饰的角色演变提供了新的思路和视角。

该研究工作获得国家自然科学基金项目、深圳合成生物学创新研究院对外开放基金项目、国家重点研发计划项目以及北京市自然科学基金项目的支持。

[论文链接](#)

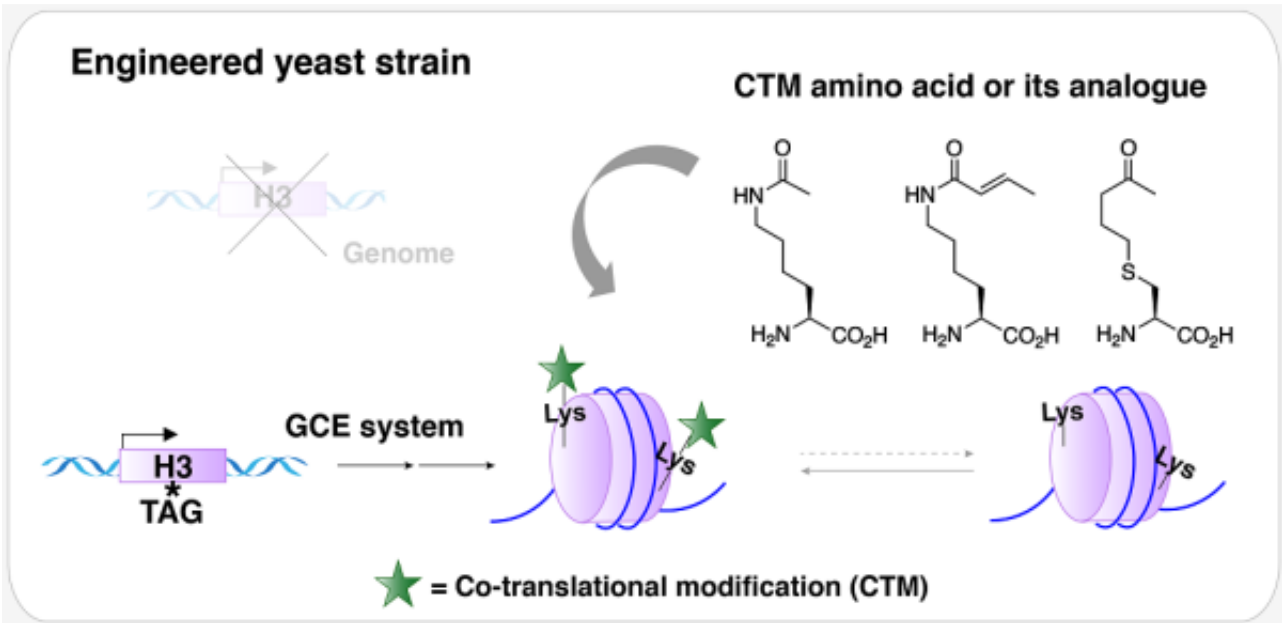


图1 含有CTM核小体的酿酒酵母菌株

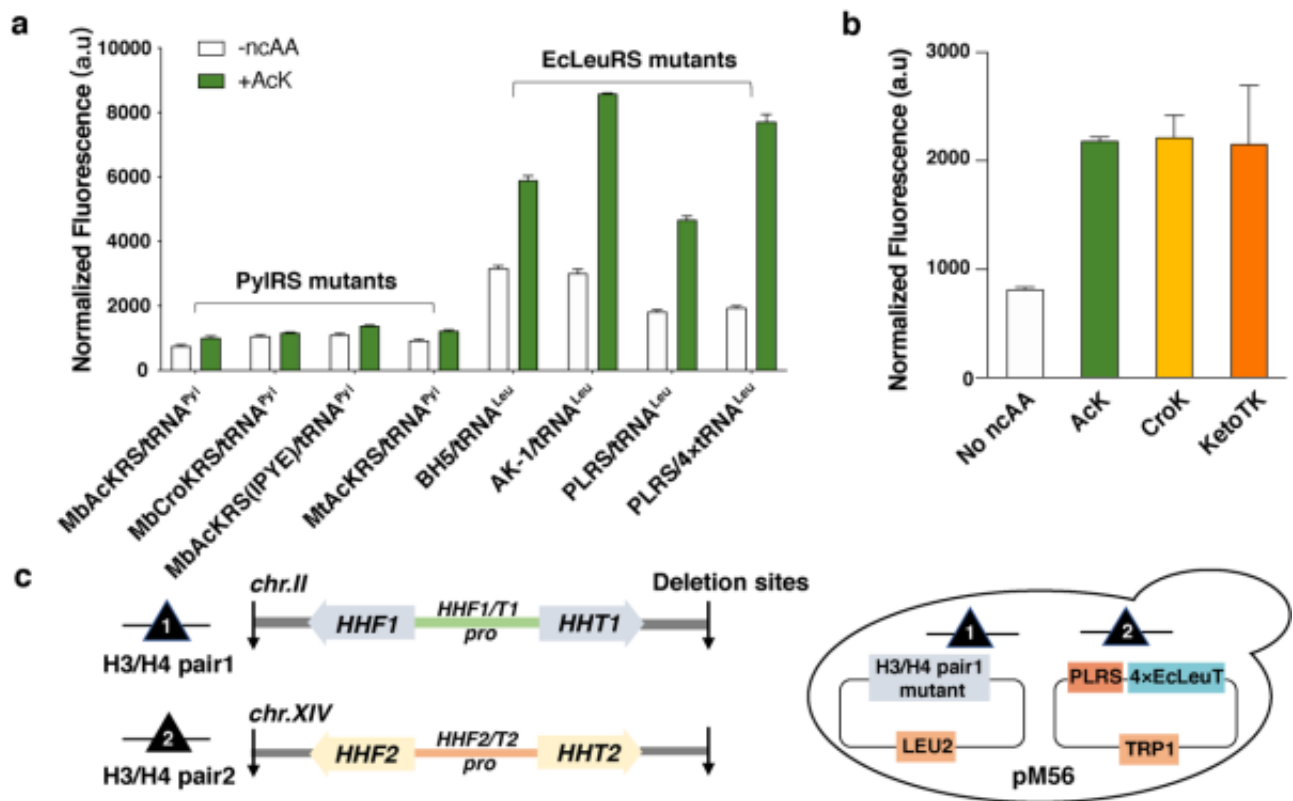


图2 酿酒酵母基因密码子扩展体系的筛选及含CTM核小体的酵母菌株（即pM56菌株）示意图

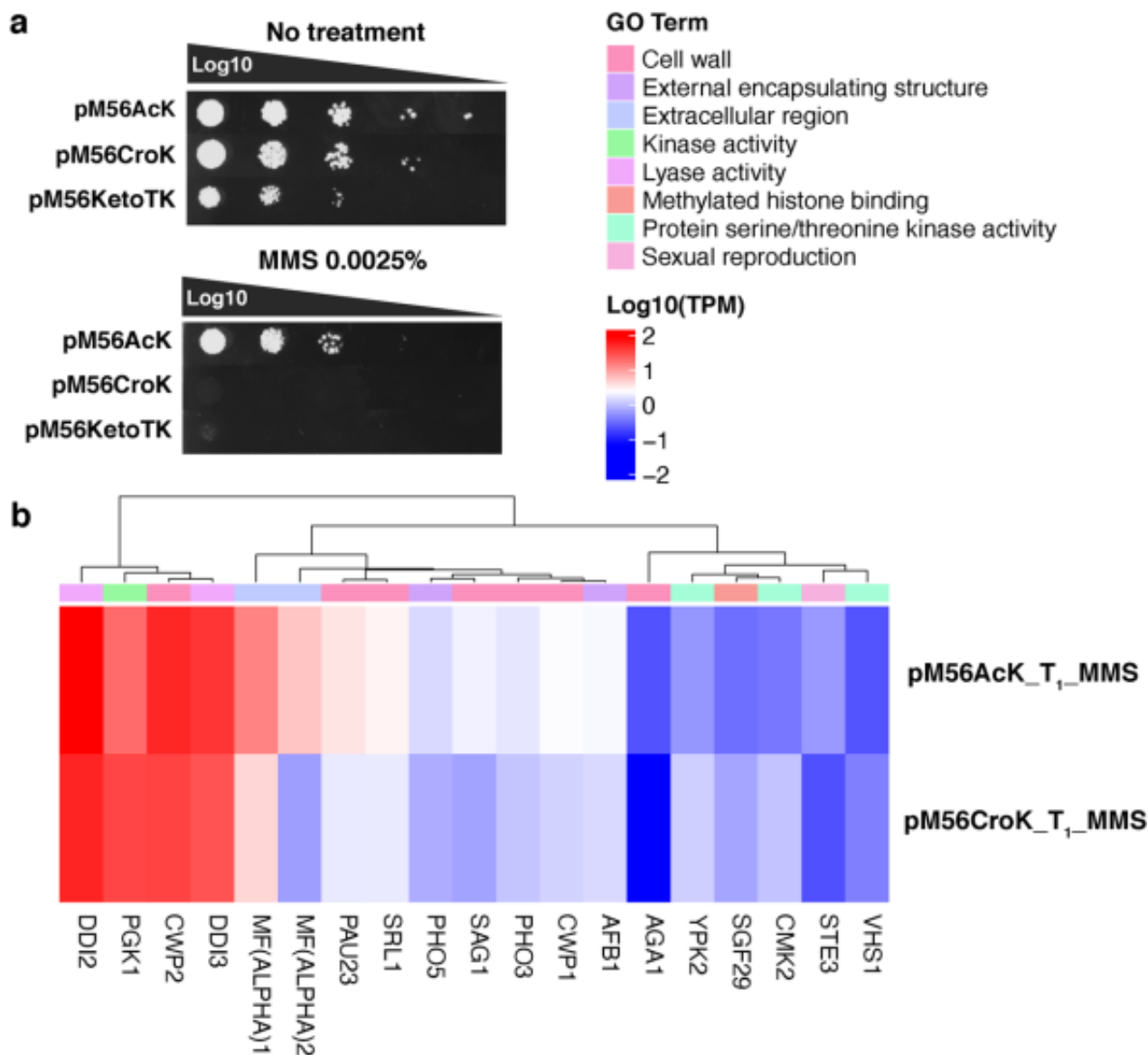


图3 pM56AcK和pM56CroK菌株产生不同的DNA损伤应答反应

研究团队单位：深圳先进技术研究院

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](https://www.iikx.com)转发