基础研究 DOI:10.13406/j.cnki.cyxb.000635

UHRF2通过其 PHD 结构域与组蛋白 H3K9 乙酰化相互作用

张 婷,赵灵琳,曾盛源,段昌柱
重庆医科大学基础医学院细胞生物学遗传学教研室,重庆 400016)

[摘 要]目的:探讨 UHRF2 蛋白与组蛋白组蛋白 H3 第9 位赖氨酸残基乙酰化 (Histone H3 Lys9 acetylation,H3K9ac) 的相互作用及两者相互作用结合区域的测定。方法:在 LO2 和 HepG2 细胞中转染 pCMV-FLAG-UHRF2,激光共聚焦分别检测 UHRF2 与组蛋白 H3、H3K9ac 和 H3K14ac 在细胞内的共定位。采用免疫沉淀技术分别检测 UHRF2 与组蛋白 H3、H3K9ac 和组蛋白 H3 第14 位赖氨酸基乙酰化 (Histone H3 Lys14 acetylation,H3K14ac) 在细胞中的相互作用,以及用 UHRF2 的不同缺失体层粒分别与组蛋白 H3K9ac 相结合方法来检测 UHRF2 与之相互作用的功能性结合区域。结果:①UHRF2 与组蛋白 H3、H3K9ac 和 H3K14ac 在 LO2 和 HepG2 细胞中存在共定位现象。②在 LO2 和 HepG2 细胞中,UHRF2 与 H3K9ac 相互结合。③在正常肝细胞 LO2 中,UHRF2 与 H3K9ac 相互作用的结合区域为 PHD 结构域。而在肝癌细胞 HepG2 中,除了 PHD 结构域以外,YDG/SRA 结构域也是UHRF2 与 H3K9ac 的关键结构域。结论:UHRF2 通过其 PHD 结构域与 H3K9ac 相互作用。

[关键词]UHRF2;组蛋白 H3;组蛋白 H3K9 乙酰化;组蛋白 H3K14 乙酰化;表观遗传学
[中图分类号]R735.7;Q755;Q51 [文献标志码]A [收稿日期]2015-01-23

UHRF2 interacts with histone H3K9 acetylation through its PHD domain

Zhang Ting, Zhao Linglin, Zeng Shengyuan, Duan Changzhu
(Teaching and Research Section of Cell Biology and Medical Genetics, College of Basic Medicine, Chongqing Medical University)

[Abstract] ***Objective*** To investigate the association of ubiquitin-like with PHD and ring finger domains 2 (UHRF2) with histone H3 Lys9 acetylation (H3K9ac) and to find the required domain for UHRF2 interacting with H3K9ac. ***Methods*** LO2 and HepG2 cells were transfected with pCMV-FLAG-UHRF2 to observe the colocation between UHRF2 and histone H3 (H3), H3K9ac, histone H3 Lys14 acetylation (H3K14ac) by immunofluorescence assay and laser scanning confocal microscopy. The interaction between UHRF2 and H3, H3K9ac, H3K14ac in LO2 and HepG2 cells were detected by immunoprecipitation. Then, LO2 and HepG2 cells were transfected with deletion mutants of UHRF2 to test the functional binding region for UHRF2 interacting with H3K9ac. ***Results*** ① UHRF2 colocalized with H3, H3K9ac and H3K14ac in LO2 and HepG2 cells. ② UHRF2 interacted with H3K9ac in LO2

作者介绍:张 婷,Email:1037930471@qq.com,
研究方向:UHRF2 蛋白与组蛋白 H3 乙酰的相互作用及作用机制研究。
通信作者:段昌柱,Email:duanchzhu@cqmu.edu.cn。

优先出版:http://www.cnki.net/kcms/detail/50.1046.r.20150519.1757.004.html (2015-05-19)

[7] Jarrar MH, Baranova A, Collantes R, et al.Adipokines and cytokines in non-alcoholic fatty liver disease[J].Alimentary Pharmacology & Therapeutics, 2008, 27(9): 412-421.
[8] Shen C, Zhao CY, Wang W, et al.The relationship between hepatic resistin overexpression and inflammation in patients with nonalcoholic steatohepatitis[J].Bmc Gastroenterology, 2014, 14(8): 2120-2126.
[9] 霍 超,徐桂花.枸杞生理功效和活性成分的研究进展[J].中国食物与营养,2007,13(11):50-53.
[10] 古 赛,王丕龙,姜 蓉.枸杞多糖对酒精性脂肪肝大鼠肝细胞色素 P4502E1 基因及蛋白表达的影响[J].重庆医科大学学报,2006,31(5):688-694.
[11] 古 赛,姜 蓉.枸杞多糖对酒精性脂肪肝大鼠肝细胞色素 P4503A 的影响[J].重庆医科大学学报,2007,32(4):371-375.
[12] 古 赛,姜 蓉.枸杞多糖预防大鼠酒精性脂肪肝的实验研究[J].中华肝脏病杂志,2007,15(3):201-205.
[13] 杨林辉,陈东风.油酸诱导培养肝细胞脂肪变模型的建立[J].重庆医学,2007,36(8):698.
[14] 古 赛,蒋小黎.枸杞多糖治疗酒精性脂肪肝大鼠的实验研究[J].重庆医学,2007,1(36):60-62.
[15] Yamauchi T, Kamon J, Ito Y, et al.Cloning of adiponectin receptots that mediate antidiabetic metabolic effects[J].Nature, 2003, 423(6941): 762-769.
[16] Shehzd A, Iqbal W, Shehzad O, et a1.Adiponectin: regulation of its production and its role in human diseases[J].Hormones (Athens), 2012, 11(1): 8-20.
[17] 徐丽英,梁小仲.有氧运动对非酒精性脂肪肝患者抵抗素水平的影响[J].现代诊断与治疗,2013,24(7):1486-1487.

责任编辑:冉明会)

and HepG2 cells. 3) In LO2 cells, PHD domain was the key domain for UHRF2 to interact with H3K9ac, while in HepG2 cancer cells, not only PHD domain but also YDG/SRA domain was the functional binding region for UHRF2 interacting with H3K9ac. ***Conclusion*** : UHRF2 interacts with H3K9ac through its PHD domain.

[Key words] ubiquitin-like with PHD and ring finger domains 2; histone H3; histone H3 Lys9 acetylation; histone H3 Lys14 acetylation; epigenetics

组蛋白翻译后修饰（post-translational modifications，PTMs）又称为组蛋白密码，是指组蛋白在翻译后其氨基端的一些氨基酸残基发生可逆或不可逆的共价修饰[1]。组蛋白翻译后修饰是表观遗传修饰的重要一种，包括磷酸化、乙酰化、甲基化、泛素化、ADP-核糖基化等[2]，其中以乙酰化和甲基化修饰尤为常见[3-4]。组蛋白乙酰化主要由组蛋白乙酰化转移酶（histone acetylases，HATs）催化完成，HATs 通过在组蛋白赖氨酸残基乙酰化，激活基因转录。乙酰化的组蛋白能广泛参与调节细胞生物学过程，如调节如核小体组装、染色质凝集、折叠、异染色体沉默、基因转录等生物过程[5]。组蛋白 H3 乙酰化的位点主要是第 9 位赖氨酸和第 14 位赖氨酸，即 组蛋白 H3 第 9 位赖氨酸残基乙酰化（Histone H3 Lys9 acetylation，H3K9ac）和组蛋白 H3 第 14 位赖氨酸基乙酰化（Histone H3 Lys14 acetylation，H3K14ac）。目前已经探明，这 2 个位点的乙酰化与促进及加强转录因子有关[6-8]。近年来的研究表明，组蛋白乙酰化修饰异常与肿瘤的发生、发展过程有着密切的关联，也与癌症的临床预后有关[9-12]，并且组蛋白去乙酰化酶（histone deacetylase，HDAC）的抑制剂已被应用于临床治疗恶性肿瘤[13-15]。

UHRF2（Ubiquitin-like with PHD and ring finger domains 2）是新近发现的一种核蛋白，定位于人类染色体 9p23~24.1，全长由 802 个氨基酸残基组成，包含 UBL、Tudor、PHD、YDG/SRA 和 RING finger 5 个结构域和一个 Rb 结合位点[16-17]。UHRF2 能结合 p53 并促进其泛素化[18]，也能与细胞周期素（如 A2、B1、D1 和 E1）、细胞周期依赖性激酶（如 CDK1、CDK2、CDK4 和 CDK6）、增殖细胞核抗原（proliferating cell nuclear antigen，PCNA）形成复合物参与细胞周期调控[19]。最新研究发现，UHRF2 在表观遗传学也起着重要作用，它能与 DNA 甲基转移酶（如 DNMT1、DNMT3a 和 DNMT3b）、组蛋白去乙酰化酶 1（HDAC1）、组蛋白甲基转移酶 G9a、组蛋白 H3K9 二/三甲基化（H3K9me2/me3）、DNA 半甲基化等相互作用参与 DNA 甲基化和组蛋白修饰[20-23]。目前关于 UHRF2 与组蛋白 H3 乙酰化的文献较少，并且 UHRF2 与组蛋白 H3 乙酰化（H3K9ac 和 H3K14ac）之间的关系尚不明确，本文旨在探讨 UHRF2 与 H3K9ac、H3K14ac 之间的相互作用及作用机制。

1 材料和方法

1.1 细胞和质粒

人正常肝细胞 LO2 和人肝癌细胞 HepG2 由本实验室保存。载体 pCMV-3×FLAG，全长质粒 pCMV-3×FLAG-UHRF2 以及 UHRF2 的各结构域缺失体质粒由本实验室自制和保存。

1.2 试剂

DMEM 高糖培养基购自 Hyclone 公司，RIPM1640 培养基购自 Gibco 公司，优级胎牛血清购自天津市灏洋生物制品（FBD）公司，Lipofectamine 2000 购自 Invitrogen 公司，蛋白酶抑制剂（Protease Inhibitor Cocktail Tablets）购自 Roche 公司，曲古抑菌素 A（Trichostatin A，TSA）购自 Sigma 公司，IP 纯化试剂 Protein G-Agarose、FLAG 抗体购自碧云天公司，鼠抗人 UHRF2 以及兔抗人 H3、H3K9ac 和 H3K14ac 抗体购自 Abcam 公司。

1.3 细胞培养、转染和收获

LO2 和 HepG2 细胞分别用 RIPM1640 培养基（含 10%优级胎牛血清）和 DMEM 高糖培养基（含 10%优级胎牛血清）在 37 ℃、5% CO_2 的孵箱培养。细胞培养至 80%时，按照 Lipofectamine 2000 转染试剂说明书按要求转染质粒，转染 4 h 后更换培养基，同时添加去乙酰化酶抑制剂 TSA，继续培养，24 h 后收获细胞。细胞用预冷的 PBS 缓冲液洗涤 3 次，于 4 ℃用细胞裂解液裂解 30 min，产物经 14 000 r/min 离心 30 min 后，收集上清备用。

1.4 免疫荧光标记激光共聚焦检测

将 LO2 和 HepG2 细胞接种于含有盖玻片的 6 孔板中，待细胞培养至为 80%时，进行质粒转染，24 h 后进行免疫荧光标记。具体步骤为：PBS 缓冲液洗 3 次后，依次用 4%多聚甲醛固定细胞 30 min、0.1% Triton X-100 通透冰上静置 10 min、PBS 缓冲液洗 3 次。用 5%山羊血清封闭 1 h，分别用

H3、H3K9ac、H3K14ac 和 UHRF2-抗于 4 ℃静置孵育过夜。细胞用 PBS 缓冲液洗涤后孵二抗，甘油封片，激光共聚焦显微镜观察结果。

1.5 免疫沉淀实验（immunoprecipitation，IP）

LO2 和 HepG2 细胞转染相应质粒后，培养 24 h 收获细胞，向细胞裂解液中加入 1μg Flag 抗体，4 ℃孵育过夜。12~16 h 后，细胞裂解液和抗体的混合物中分别加入 20 μl 充分垂悬的 protein G-Agarose，4 ℃孵育 4~6 h。用 IP 洗涤液以 2 500 g 速度冷冻离心洗涤，最后离心去上清，加入 15 μl 的 2× SDS 上样缓冲液，样品经 SDS-PAGE 电泳后进行免疫印迹分析。

2 结 果

2.1 UHRF2 与 H3、H3K9ac、H3K14ac 在 LO2 和 HepG2 细胞中的共定位

激光共聚焦结果表明，UHRF2、H3、H3K9ac 和 H3K14ac 蛋白均在细胞核内表达，UHRF2 蛋白呈绿色荧光，H3、H3K9ac 和 H3K14ac 蛋白呈红色荧光（图 1）。经细胞亚定位比较分析，可以发现它们具有共同的细胞亚定位，在同一个细胞内是相伴存在。进一步将 UHRF2 分别与 H3、H3K9ac 和 H3K14ac 融合作图之后可以观察到单独呈现红、绿荧光的区

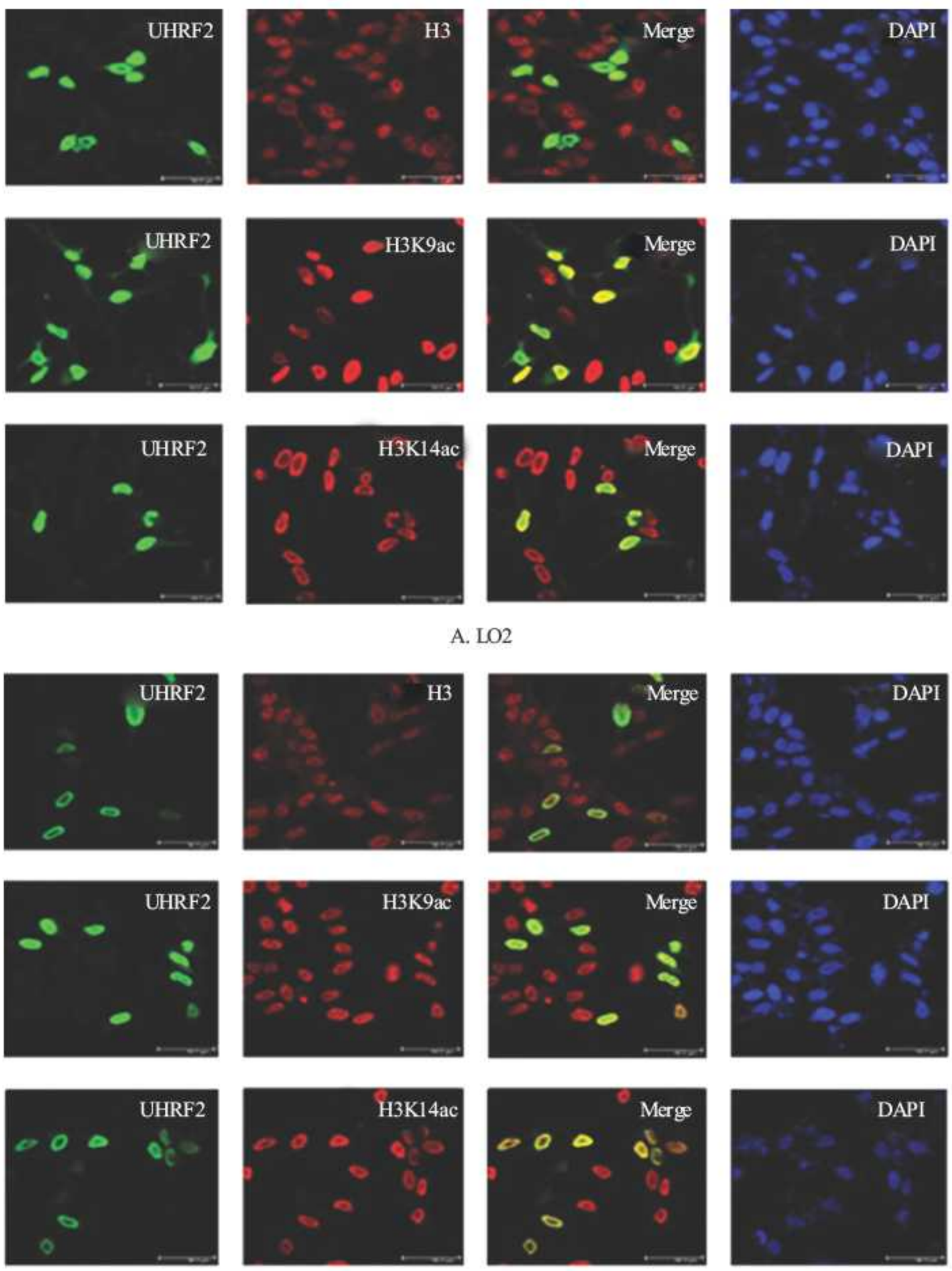


图 1 激光共聚焦检测 UHRF2 与 H3、H3K9ac 和 H3K14ac 在 LO2 和 HepG2 细胞中的定位（400×）

Fig.1 Colocalization of UHRF2 and H3, H3K9ac, H3K14ac by laser scanning confocal microscope (400×)

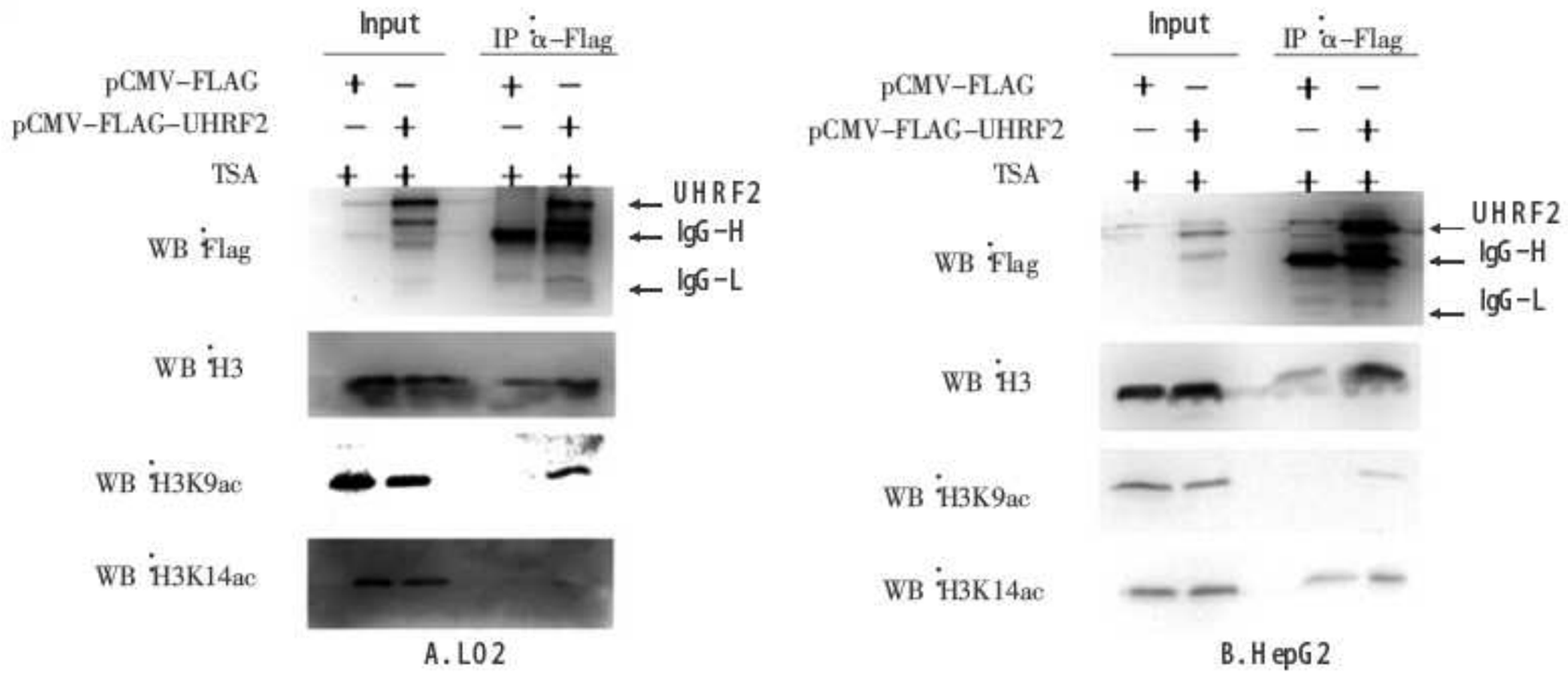


图 2　免疫共沉淀实验鉴定在 LO2 和 HepG2 细胞中 UHRF2 与 H3K9ac 间的相互作用

Fig.2　UHRF2 interacts with H3K9ac in L02 and HepG2 cells

域出现黄色（图 1），更加直观地表现这种共定位现象。表明在 LO2 和 HepG2 细胞内，UHRF2 与 H3、H3K9ac 和 H3K14ac 之间存在明确的共定位现象。这种共定位现象说明 UHRF2 与 H3、H3K9ac 和 H3K14ac 在细胞内可能存在着某种方式的功能联系。DAPI 标记为细胞核。

2.2　UHRF2 与 H3K9ac 在 LO2 和 HepG2 细胞内的相互作用

为了研究 UHRF2 与 H3、H3K9ac 和 H3K14ac 在细胞内是否相互作用，利用免疫共沉淀技术进行了更进一步的检测。LO2 和 HepG2 细胞分别转染 pCMV-3×FLAG-UHRF2，细胞裂解液用 Flag 抗体进行免疫沉淀分析。实验结果显示，UHRF2 与 H3K9ac 在细胞内存在相互结合现象，即当用 Flag 抗体免疫沉淀 FLAG-UHRF2 时，其产物中检测到了 H3K9ac。但同样方法检测 H3K14ac 时，UHRF2 不能与 H3K14ac 相结合（图 2）。这表明在细胞核内 UHRF2 虽然与 H3K9ac 和 H3K14ac 均具有共定位现象，但只有 H3K9ac 才能与 UHRF2 相互结合。组蛋白乙酰化是一个可逆的过程，为了方便检测，在转染细胞更换的培养基时加入去乙酰化酶抑制剂 TSA。

2.3　UHRF2 与 H3K9ac 相互作用的结合区域测定

UHRF2 是一个多结构域的核蛋白，为了进一步研究 UHRF2 蛋白中哪个结构域与 H3K9ac 相互结合作用中起着必不可少、关键作用的结合区域，构建了 UHRF2 的各结构域缺失体质粒[24]。将这些缺失体质粒分别转染细胞，进行免疫共沉淀分析。实验结果显示，在 LO2 正常肝细胞中，ΔUBL、ΔYDG/SRA 和 ΔRING 缺失体质粒能检测到 H3K9ac，ΔPHD 缺失体质粒不能检测到 H3K9ac（图 3A），而在 HepG2 肝癌细胞中，只有 ΔUBL 和 ΔRING 缺失体质粒才能检测到 H3K9ac，ΔPHD 和 ΔYDG/SRA 缺失体质粒都未能检测到 H3K9ac（图 3B），pCMV-3×FLAG 为空载体对照。表明在 LO2 细胞中，UHRF2 与 H3K9ac 结合的区域为 PHD 结构域，而在 HepG2 细胞中，除了 PHD 结构域外，YDG/SRA 结构域也是 UHRF2 与 H3K9ac 结合的部位。

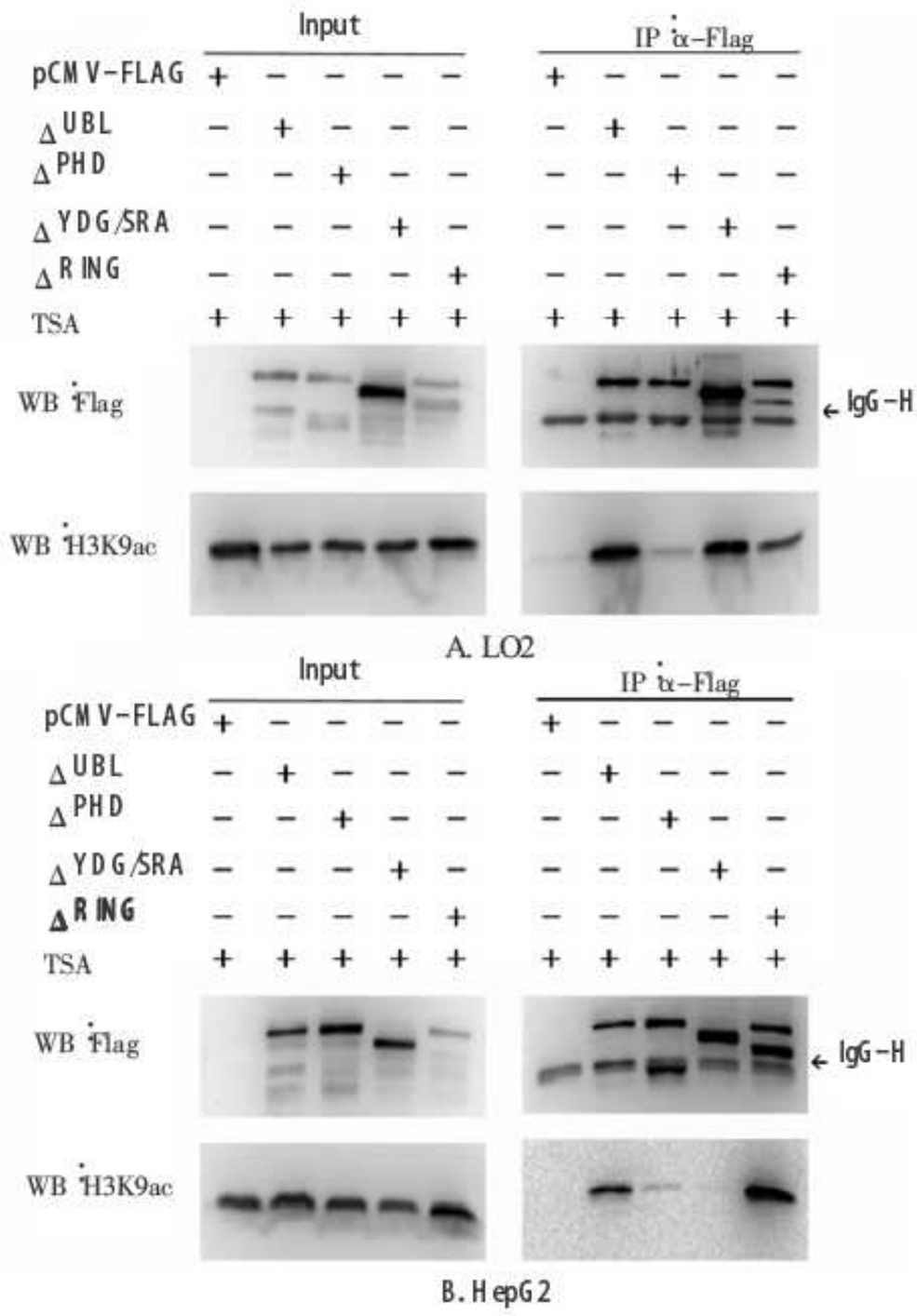


图 3　UHRF2 通过其 PHD 结构域与 H3K9ac 相互结合作用

Fig.3　UHRF2 interacts with H3K9ac through its PHD domain

3　讨　论

已有研究表明，UHRF2 参与许多重要的表观遗传翻译后蛋白修饰，包括 DNA 甲基化、组蛋白甲基化、乙酰化[25-26]，因此推测 UHRF2 与组蛋白 H3 乙酰

化之间可能存在某种形式的结合和相互作用。实验结果表明 UHRF2 与 H3、H3K9ac 和 H3K14ac 在 L02 和 HepG2 细胞中存在共定位，并且 UHRF2 通过其 PHD 结构域与 H3K9ac 相结合，结果证实了我们的推测，这也是第一次报道 UHRF2 与 H3K9ac 的相互作用。近年来，表观遗传学研究已成为生命科学中研究的热点之一。其组蛋白乙酰化和甲基化，特别是组蛋白 H3 乙酰化研究更是组蛋白翻译后修饰研究领域的热点。组蛋白 H3 乙酰化的位点很多，而且每个位点的乙酰化的作用不尽相同。已有多项研究证实，H3K9ac 与减数分裂重组热点有关，还和其他因子一起参与基因重组[27]，同时也参与 DNA 损伤修复[28]，H3K9ac 修饰异常与肿瘤的发生、发展过程有着密切的关联并预示癌症的临床预后[29]。与 H3K9ac 相比，H3K14ac 却没有上述生物学功能。我们的研究也表明，UHRF2 能与 H3K9ac 的结合，却不能与 H3K14ac 结合，说明 UHRF2 与乙酰化组蛋白结合时，具有位点特异性。只有当特定位点被乙酰化后，组蛋白才能与 UHRF2 相互结合，也因此才触发特定下游事件发生。

UHRF2 是含 UBL、Tudor、PHD、YDG/SRA 和 RING finger 5 个结构域核蛋白，前期的研究发现，其 TTD-PHD 之间的区域特异性地结合到 H3K9me2/3 上[20]。同时 UHRF 家族的另一个家庭成员 UHRF1，在序列和结构上与 UHRF2 非常类似，也能通过其 PHD 结构域与甲基化 H3K9 结合[22]。已有文献报道，PHD 已成为表观遗传效应物之一，能够识别翻译后组蛋白修饰和未修饰的组蛋白尾（Histone tails）[30-32]。此外，UHRF2 其 YDG/SRA 结构域也能特异性地与 DNA[33]甲基化的 CpG 岛结合参与分化细胞的基因调控表达[23]。YDG 结构域可以特异性识别一种新的表观遗传修饰碱基：5-羟甲基胞嘧啶（5-hydroxymethylcytosine，5hmC）[34]，并且，YDG/SRA 结构域对于绑定组蛋白 H3 是至关重要的[35]。以上文献表明，PHD 和 YDG/SRA 结构域都能参与表观遗传学组蛋白翻译后修饰。我们的研究结果也再次证实了这一点，PHD 和 YDG/SRA 结构域为 UHRF2 与 H3K9ac 结合的关键结合区域。值得注意的是，我们的实验结果表明，UHRF2 与 H3K9ac 结合的关键结合区域在正常细胞和癌细胞中显示出差异性。在正常肝细胞 LO2 中，UHRF2 与 H3K9ac 结合的区域为 PHD 结构域，而在肝癌细胞 HepG2 中，两者结合的区域除了 PHD 结构域外，还有 YDG/SRA 结构域。这种差异是不是一种普遍存在的现象还有待进一步证实，同时产生这种差异的原因和内在规律还有待进一步阐明。

本实验中选择 HepG2 肝癌细胞，因为本课题组前期的实验研究中发现在 HepG2 细胞中 UHRF2 能下调与 HBV cccDNA 结合的组蛋白 H3 和乙酰化组蛋白 H3 的表达[36]，同时选择 LO2 正常肝细胞为正常对照组，为本课题后续进一步研究 UHRF2 与乙酰化组蛋白 H3 相互作用在肝癌发生发展中的一些生物学上的机制和作用奠定良好基础。总之，本研究结果揭示 UHRF2 蛋白在组蛋白 H3 乙酰化修饰规律，这为 UHRF2 功能研究和 H3 乙酰化研究提供了更新研究内容。

参 考 文 献

[1] Basu A，Rose KL，Zhang J，et al.Proteome-wide prediction of acetylation substrates[J].Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America，2009，106（33）：13785-13790.

[2] Arnaudo AM，Garcia BA.Proteomic characterization of novel histone post-translational modifications[J].Epigenetics & Chromatin，2013，6（1）：24.

[3] Tan M，Luo H，Lee S，et al.Identification of 67 histone marks and histone lysine crotonylation as a new type of histone modification[J].Cell，2011，146（6）：1016-1028.

[4] Qiang M，Denny A，Lieu M，et al.Histone H3K9 modifications are a local chromatin event involved in ethanol-induced neuroadaptation of the NR2B gene[J].Epigenetics，2011，6（9）：1095-1104.

[5] Shahbazian MD，Grunstein M.Functions of site-specific histone acetylation and deacetylation[J].Annu Rev Biochem，2007，76：75-100.

[6] Karmodiya K，Krebs AR，Oulad-Abdelghani M，et al.H3K9 and H3K14 acetylation co-occur at many gene regulatory elements，while H3K14ac marks a subset of inactive inducible promoters in mouse embryonic stem cells[J].BMC Genomics，2012，13（1）：424.

[7] Pokholok DK，Harbison CT，Levine S，et al.Genome-wide map of nucleosome acetylation and methylation in yeast[J].Cell，2005，122（4）：517-527.

[8] Wang Z，Zang C，Rosenfeld JA，et al.Combinatorial patterns of histone acetylations and methylations in the human genome[J].Nat Genet，2008，40（7）：897-903.

[9] Hung SY，Lin HH，Yeh KT，et al.Histone-modifying genes as biomarkers in hepatocellular carcinoma[J].Int J Clin Exp Pathol，2014，7（5）：2496-2507.

[10] Neureiter D，Jager T，Ocker M，et al.Epigenetics and pancreatic cancer：pathophysiology and novel treatment aspects[J].WJG，2014，20（24）：7830-7048.

[11] He C，Xu J，Zhang J，et al.High expression of trimethylated histone H3 lysine 4 is associated with poor prognosis in hepatocellular carcinoma[J].Hum Pathol，2012，43（9）：1425-1435.

[12] Elsheikh SE，Green AR，Rakha EA，et al.Global histone modifications in breast cancer correlate with tumor phenotypes，prognostic factors，and patient outcome[J].Cancer Res，2009，69（9）：3802-3809.

[13] Venturelli S，Armeanu S，Pathil A，et al.Epigenetic combination therapy as a tumor-selective treatment approach for hepatocellular carcinoma[J].Cancer，2007，109（10）：2132-2141.

[14] Chuang MJ，Wu ST，Tang SH，et al.The HDAC inhibitor LBH589 induces ERK-dependent prometaphase arrest in prostate cancer via HDAC6 inactivation and down-regulation[J].PlOS One，2013，8（9）：e73401.

[15] Tran HT，Kim HN，Lee IK，et al.Improved therapeutic effect against leukemia by a combination of the histone methyltransferase inhibitor chaetocin and the histone deacetylase inhibitor trichostatin A[J].J Korean Med Sci，2013，28（2）：237-246.

[16] 段昌柱，蒲淑萍，Mori T，等.NIRF 对 P53 蛋白泛素化作用的研究[J].生物化学与生物物理进展，2006，33（2）：163-168.

[17] Mori T，Li Y，Hata H，et al.NIRF，a novel RING finger protein，is involved in cell-cycle regulation[J].Biochem Biophysical Res Commun，2002，296（3）：530-536.

[18] 王筱绘，白 露，段昌柱.NIRF 泛素化 p53 的作用过程中 NIRF 与 p53 结合域的测定[J].中国生物化学与分子生物学报，2012，28（2）：147-151.

[19] Mori T，Ikeda DD，Fukushima T，et al.NIRF constitutes a nodal point in the cell cycle network and is a candidate tumor suppressor[J].Cell Cycle，2011，10（19）：3284-3299.

[20] Zhang J，Gao Q，Li P，et al.S phase-dependent interaction with DNMT1 dictates the role of UHRF1 but not UHRF2 in DNA methylation maintenance[J].Cell Res，2011，21（12）：1723-1739.

[21] Bronner C，Achour M，Arima Y，et al.The UHRF family：oncogenes that are drugable targets for cancer therapy in the near future?[J].Pharmacol Ther，2007，115（3）：419-434.

[22] Karagianni P，Amazit L，Qin J，et al.ICBP90，a novel methyl K9 H3 binding protein linking protein ubiquitination with heterochromatin formation[J].Mol Cell Biol，2008，28（2）：705-717.

[23] Pichler G，Wolf P，Schmidt CS，et al.Cooperative DNA and histone binding by Uhrf2 links the two major repressive epigenetic pathways[J].J Cell Biochem，2011，112（9）：2585-2593.

[24] 白 露，王筱绘，胡 斌，等.UHRF2 不同结构域缺失突变体的真核表达[J].中国生物制品学杂志，2013，26（9）：44-47.

[25] Luo T，Cui S，Bian C，et al.Uhrf2 is important for DNA damage response in vascular smooth muscle cells[J].Biochem Biophys Res Commun，2013，441（1）：65-70.

[26] Lu S，Yan D，Wu Z，et al.Ubiquitin-like with PHD and ring finger domains 2 is a predictor of survival and a potential therapeutic target in colon cancer[J].Oncol Reports，2014，31（4）：1802-1810.

[27] Yamada S，Ohta K，Yamada T.Acetylated Histone H3K9 is associated with meiotic recombination hotspots，and plays a role in recombination redundantly with other factors including the H3K4 methylase Set1 in fission yeast[J].Nucleic Acids Res，2013，41（6）：3504-3517.

[28] Tjeertes JV，Miller KM，Jackson SP.Screen for DNA-damage-responsive histone modifications identifies H3K9Ac and H3K56Ac in human cells[J].EMBO J，2009，28（13）：1878-1889.

[29] Ma L，Chua MS，Andrisani O，et al.Epigenetics in hepatocellular carcinoma：an update and future therapy perspectives[J].WJG，2014，20（2）：333-345.

[30] Musselman CA，Kutateladze TG.Handpicking epigenetic marks with PHD fingers[J].Nucleic Acids Res，2011，39（21）：9061-9071.

[31] Rajakumara E，Wang Z，Ma H，et al.PHD finger recognition of unmodified histone H3R2 links UHRF1 to regulation of euchromatic gene expression[J].Mol Cell，2011，43（2）：275-284.

[32] Dreveny I，Deeves SE，Fulton J，et al.The double PHD finger domain of MOZ/MYST3 induces alpha-helical structure of the histone H3 tail to facilitate acetylation and methylation sampling and modification[J].Nucleic Acids Research，2014，42（2）：822-835.

[33] Li E.Chromatin modification and epigenetic reprogramming in mammalian development[J].Nat Rev Genet，2002，3（9）：662-673.

[34] Zhou T，Xiong J，Wang M，et al.Structural basis for hydroxymethylcytosine recognition by the SRA domain of UHRF2[J].Mol Cell，2014，54（5）：879-886.

[35] Citterio E，Papait R，Nicassio F，et al.Np95 Is a Histone-Binding Protein Endowed with Ubiquitin Ligase Activity[J].Mol Cell Biol，2004，24（6）：2526-2535.

[36] 周丹琳，斌 胡，宣艳艳，等.NIRF 对 HBV 复制的影响及其对组蛋白 H3 乙酰化水平的修饰[J].中国细胞生物学学报，2013，35（3）：322-327.

（责任编辑：冉明会）