

Histone Modifications and It's Relation with Functional Aspects

Han-Chul Kang* · Jong-Bum Kim · Kyung Hee Roh · Hyun-UK Kim ·
Kyung-Ryeol Lee · Sun Hee Kim

히스톤의 변이와 이와 관련된 기능적 측면

강한철* · 김종범 · 노경희 · 김현욱 · 이경렬 · 김순희

Received: 17 September 2014 / Accepted: 14 October 2014 / Published Online: 31 December 2014
© The Korean Society for Applied Biological Chemistry 2014

Abstract Chromatin is an instructive DNA structure that can widely respond to external signals. An important change of chromatin is the modifications of histone for this regulation. There are accumulating lists of these modifications and the complexity of their action is gradually understood. It is evident that histone modifications play important roles in most biological processes that are involved in the expression or repression of DNA. The surface of nucleosomes is susceptible to multiplicity of modifications. Chromatin modifications can play either by eliminating chromatin contacts or by recruiting non-histone proteins to chromatin. Many of these regulations seem to be epigenetically inherited. Thus, histone modifications are closely correlated with many fundamental biological processes in animal, plant and microbial kingdoms. Failures of histone modification lead, in general, to defective chromosome condensation or decondensation, impeding many biological functions including development, maturation, and protection against various diseases.

Keywords chromatin · histone · modification

H.-C. Kang · J.-B. Kim · K. H. Roh · H.-U. Kim · K.-R. Lee · S. H. Kim
Department of metabolic engineering, National Academy of Agricultural Science, Rural Development Administration, Jeonju-si Wansangu Nongsaengmyeongro 370, Jeollabukdo 560-500, Republic of Korea

*Corresponding author (H.-C. Kang: hckang09@korea.kr)

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

서론

한 종류의 생물체내에 서로 다른 조직들이 모두 같은 genome을 가지고 있지만 이들은 결국 서로 다른 phenotype으로 발현이 된다. 따라서 같은 유전자의 발현의 변화는 서로 다른 기능과도 연관이 된다. 세포들의 서로 다른 형상은 특히 발생 동안에 고유의 유전자 발현에 의해서 생성이 된다. Chromatin 구조는 유전자 발현에 상당히 깊은 영향을 미치며 고유의 세포 형태의 유지에 기여한다.

실제 식물체 또는 동물체의 각각의 발생단계는 chromatin 상태의 구조적 변화와 같이 이루어 진다(Kumar와 Rao, 2013; Zachary와 Alexander, 2013).

후생유전학은 DNA의 공유결합 및 chromatin의 단백질 구성성분의 변화가 근간을 이루고 있다. 진핵생물의 경우에는 히스톤은 100–200 가량의 base로 이루어진 DNA와 히스톤 octamer 등으로 이루어진 nucleosome 핵심입자형태로 이루어지고 있다. Histone 연결체인 H1은 nucleosome core 입자 사이에서 DNA와 연결될 수 있으며 따라서 chromatin 구조를 단단하게 할 수 있다. 일반적으로 히스톤은 수축된 형태 또는 덜 수축된 형태로 구분이 된다. 전자의 경우는 유전자 발현이 멈추고 있는 heterochromatin이며 후자는 발현이 활발히 이루어지는 euchromatin이다. 생체내의 다수의 DNA는 heterochromatin의 형태이며 이들은 telomere, pericentric 부위, 및 repetitive sequence 등으로 구성되어 있다. Core histone는 N-말단 꼬리 부분과 둥근형의 C-말단 부위로 구성되어 있다.

일반적으로 여러 형태의 히스톤 변이가 히스톤 단백질 전체에 걸쳐 일어나지만 대부분의 변이는 N-말단 꼬리 부분에서 관찰되고 있다. 이러한 많은 변이들은 효소학적으로 가역반응의 형태로 이루어지고 있다. 이러한 변이의 생물학적 의미가 충분히 이해되지 않고 있지만 이러한 변이 들은 유전자 발현, DNA 손상회복, 및 chromatin 의 응축 등에 영향을 미친다. 히스톤의 N-말단은 일반적으로 상당히 염기성이다. 따라서 이러한 구조들

은 그 들 자신의 nucleosome으로부터 밀어내는 작용이 일어나며 따라서 인접한 nucleosome에 다시 결합을 할 수가 있다. 꼬리 부분의 구조 변경은 nucleosome 사이의 관계에 영향을 미치는 것 같으며 따라서 chromatin의 전체구조에도 영향을 미친다. 히스톤 변이는 chromatin의 구조 조절에 관여하는 역할 이외에도 chromatin을 재구성하는 효소들의 집합에도 관여를 한다(Bannister와 Kouzarides, 2011). 이러한 경우에 효소들은 nucleosome을 재구성하기 위하여 ATP 를 분해시킨 에너지를 사용하게 된다.

히스톤 변이에 의해 유도되는 chromatin 구조의 변화는 직접 이루어지거나 chromatin을 재구성하는 요인들의 활성화에 의해 이루어진다. 일반적으로 히스톤 변이는 유전자 발현을 제어하기 위하여 세포 신호전달 회로에 간접하게 된다. 히스톤은 효소활성을 가지는 단백질 복합체들에 의하여 인식될 수 있고 따라서 서로 다른 변이 사이 또는 서로 다른 후생유전회로들(예. Noncoding RNAs 및 DNA methylation 등)과 서로 신호를 주고 받고 할 수 있다. 최근 들어 히스톤 변이의 역할은 서로 다른 형태의 세포 분화 등과 관련하여 많은 진전을 보이고 있다(Castel과 Martienssen, 2013; Pastor 등, 2013; Skene과 Meissner, 2013). 따라서 본 논문에서는 이러한 추세에 따라 최근에 이루어지고 있는 각종 히스톤 변이 및 이와 관련된 각종 역할 등에 대하여 정리하여 보았다.

히스톤 변이의 기작

Chromatin 구조의 변화와 단백질의 재집결(recruitment)에 의하여 히스톤 변이는 세포 신호 전달, 발생, 성장 및 손상된 유전자 교정 등에 관여하는 수많은 유전자 발현을 조절할 수 있다. 이러한 두 가지중 하나는 히스톤 변이에 의하여 chromatin 구조가 짧거나 또는 긴 거리에서 전체 구조에 영향을 미칠 수 있다. 또 다른 기작은 chromatin에 결합하는 effector 분자들이 관여하는 것이며 이렇게 함으로써 유전자를 발현시키거나 억제시킬 수 있다. 히스톤의 번역후(post-translation) 변이에는 여러 종류가 있다. 히스톤 변이와 관계가 되는 chromatin 구조의 연구는 nucleosome에 대한 X-ray 구조에 대한 고해상도 능력에 힘입어 많은 발전을 이루어 왔다.

Chromatin 상태의 조절, 즉 chromatin 의 수축 상태 등은 수많은 종류의 DNA 변이 등에 의해 조절 되는데 다음과 같은 것 들이 있다. Methylation, hydroxymethylation, histone들의 번역 후 변이(예, acetylation, phosphorylation, methylation, 및 ubiquitylation 등) 및 ATP와 관련되어 작용하는 chromatin 재정

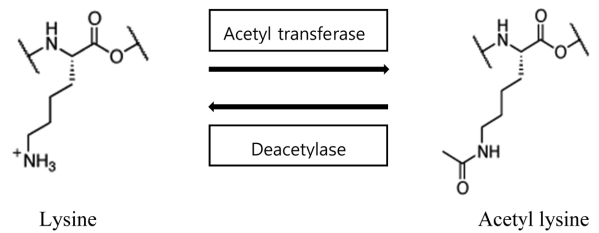


Fig. 1 Acetylation of lysine and its related enzymes.

립(remodeling) 등이다. 이외에도 non-coding RNA에 의해 유도되는 chromatin의 재정립 등이 연구되고 있다. Acetylation (Fig. 1) 또는 phosphorylation은 히스톤의 양성전하를 감소시키게 된다. 따라서 전하의 변화는 히스톤과 DNA 사이에서 정전기적 균형을 파괴시키게 된다. 이러한 현상은 chromatin을 보다 덜 수축된 형태로 만들게 되며 따라서 전사에 관여되는 단백질들이 목표로 하는 DNA에 보다 쉽게 접근할 수가 있다. Acetylation은 H3K9, H3K14, H3K18, H4K5, H4K8, 및 H4K12들을 포함하는 수많은 히스톤 꼬리의 lysines 상에서 발생하고 있다(Chen 등, 2006). 이러한 부분들이 많다는 이야기는 히스톤 꼬리 부분의 전하는 genome의 hyperacetylation 된 부위에서 쉽게 중성화되어질 수 있음을 나타내는 것이다. 다양한 히스톤 acetylation은 유전자의 프로모터 부위 enhancer 부위에서 자주 발견되며 따라서 이러한 변이는 전사조절인자(transcription factor)의 접근에 영향을 미친다(Wang 등, 2008). 이러한 기능과는 반대로 H4K16의 경우는 *in vitro* 실험결과 상당히 발현 억제 효과를 나타내었다(Shogren 등, 2006). 히스톤의 phosphorylation은 DNA 서열 등에 대해 상당히 특정 부위 등에만 작용하는 것으로 나타나고 있으며 실제 acetylation되는 부분에 비해 상대적으로 부위가 발견되고 있다. H4K16ac의 경우에는 오직 하나의 부위만이 변이가 일어나지만 chromatin의 전체 구조에 영향을 미칠 수 있다. 감수분열 동안에 발생하는 H3S10의 phosphorylation은 chromatin 의 수축과 연관이 된다(Wei 등, 1998). 또 다른 종류의 변이인 ubiquitylation 은 히스톤에 큰 분자를 결합시킬 수 있다. 이러한 변이는 nucleosome 의 전체적 구성에 변화를 야기시키는 것으로 보인다. 따라서 ubiquitylation은 nucleosome 사이의 관계 및 chromatin 결합 복합체 등에 영향을 미칠 수 있다. 히스톤 꼬리가 꼬이게 되면 H3의 첫 번째 21 아미노산이 손실되는 꼴이 된다. 그렇지만 히스톤 methylation을 포함하는 중성 변이는 히스톤 구조를 심하게 변경시키지 않는 것 같다. 이상의 연구 결과 보고 등과 관련하여 Table 1은 히스톤에서 발생하는 여러 종류의 변이 형태들을 정리한 것이다.

Table 1 Different types of modifications observed on histones

Chromatin modifications	Residues modified	Functions
Methylation (lysines)	K-me1 K-me2 K-me3	repair, transcription
Methylation (arginines)	R-me1 R-me2a R-me2s	transcription
Acetylation	K-ac	transcription, repair, replication, condensation
Phosphorylation	S-ph T-ph	transcription, repair, condensation
Ubiquitylation	K-ub	transcription, repair
Sumoylation	K-su	transcription
ADP ribosylation	E-ar	transcription
Proline isomerization	P-cis P-trans	transcription
Deimination	R-cit	transcription

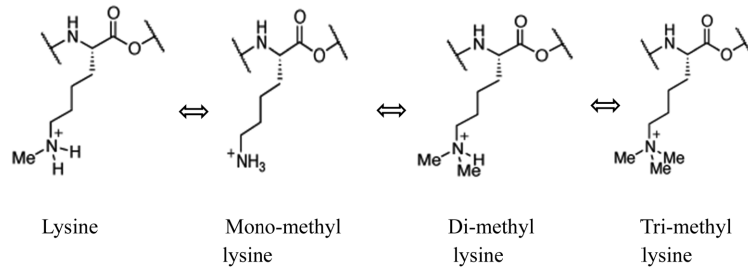


Fig. 2 Methylation of lysine. Methylation is performed by lysine methyltransferase. This reaction is reversible by the aid of lysine demethylase.

히스톤 변이에 관련되는 효소들

히스톤 변이에 관련되는 효소들은 acetylation (Sterner와 Berger, 2000; Hodawadekar와 Marmorstein, 2007), methylation (Zhang과 Reinberg, 2006; Bedford와 Clarke, 2009), phosphorylation (Dawson 등, 2009; Hu 등, 2009), ubiquitination (Shilatifard, 2006; Kim, 2009), sumoylation (Nathan 등, 2006), ADP-ribosylation (Cohen-Armon, 2007), deamination (Cuthbert 등, 2004; Wang 등, 2004), 및 proline isomerization (Nelson 등, 2006) 등에 관하여 알려지고 있다.

대부분의 히스톤 변이들은 lysine의 methylation과 같이 가역적으로 일어나며(Fig. 2) 따라서 이들 변이들을 제거시킬 수도 있다. 그렇지만 하나의 예는 아르기닌의 methylation인데 현재까지도 이에 대한 demethylation 작용이 발견되지 않고 있다. 그렇지만 deamination 작용은 잘 알려지고 있으며 이는 methyl-arginines의 소멸과도 관련이 있는 것으로 알려지고 있는데 이는 deamination이 arginine methylation에 대하여 길항작용을 할 수 있는 것으로 판단되고 있다. 현재까지도 많은 효소들이 이러한 변이에 관련되는 것으로 알려지고 있는데 이들은 lysine methyltransferases, lysine demethylases (KDMs), histone acetyltransferases (HATs), lysine acetyltransferases, histone deacetylases (HDACs), lysine deacetylases, ubiquitylation enzymes (E1, E2, 및 E3 enzymes) 및 deubiquitylases 들이다. 이러한 변이관련 효소들은 다수의 subunit 을 갖추는 복합체로 나타나고 있으며 변이가 되는 부분은 N-말단의 꼬리 및 히스톤의 구형 부위 등(H2A, H2B, H3, 및 H4)이 포함된다. 모든 히스톤 변이관련 효소 들 중에서 methyltransferase와 kinase들은 가장 기질 특이적으로 반응이 일어나는 것으로 알려지고 있다. 따라서 methylation이 지금까지 많이 연구되어온 이유이기도 하다. 일부의 경우 히스톤 변이 효소들의 기질특이성은 여러 요인에 의해 영향을 받기도 하는데 이들 단백질들은 변이를 시킬 아미노산 잔기 또는 methylation을 시킬 정도 등에 대하여 특이성을 보이고 있다(Metzger 등, 2005; Steward 등, 2006).

DNA Methylation

전핵생물과 진핵생물의 DNA는 아데닌 및 시토신의 methylation에 의해 변이가 될 수 있다. 현재까지 DNA methylation의 역할에 대하여 광범위하게 연구되어 왔다. 전핵생물체에서 DNA methylation은 DNA-숙주 특이성 관계, 독성, chromosome 복제,

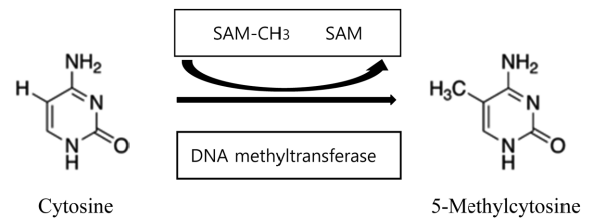


Fig. 3 Methylation of cytosine. SAM is S-adenosyl methionine.

세포주기 조절, 손상된 DNA의 복구 등 다양한 작용과 관련된다. 한편 고등의 진핵세포에서 DNA methylation은 여러 유전자 발현, chromatin 구조, 세포 분화, X-chromosome 불활성화 등과 관련이 되고 있다. 동물체에서 DNA methylation은 히스톤 변이와 더불어 후생유전 변이에서 중요한 역할을 하고 있다. 식물체에서 DNA methylation은 5-methylcytosine glycosylases (예. DEMETER)에 의하여 형성되고 chromatin 등에서 폭 넓게 발생하고 있다(Gehring 등, 2006; Hsieh 등, 2009) (Fig. 3). 동물체내에서 5-methylcytosine을 제거하기 위하여 cytosine deaminases AID (activation-induced cytidine deaminase)들과 apolipoprotein B mRNA-교정 polypeptide1 (APOBEC1)들이 보통 작용한다(Morgan 등, 2004). Bisulphate 염기서열을 이용한 genome-wide DNA methylation의 분석 결과 DNA는 남성과 여성 모두의 primordial germ 세포에서 methylation이 소량으로 이루어지고 있다(Popp 등, 2010). 쥐에서의 DNA methylation은 정자 세포와 줄기세포 등에서 관찰이 된다.

H3K9me2와 H3K27me3에서 발생하는 DNA methylation과 히스톤 변이는 전사 억제와 자주 연관되며 이러한 부위들은 무발현 유전자(silenced chromosome)들을 표시하는데 이용되기도 한다. 히스톤 변이들이 서로 연관되어 작용하는 이외에도 DNA methylation의 재구성은 히스톤 변이하고도 관련되는데 초기의 embryo 단계, germ 세포 및 암세포 들에서 관찰되고 있다(Golebiewska 등, 2009; Hammoud 등, 2009). H3K9me3와 H4K20me3는 접합자(zygote)에서 덜 발견되고 있다. 부계 전핵(paternal pronucleus)은 잔여 DNA methylation 을 갖추고 있으며 H3K9me1은 중심립에서 유지가 되고 있다(Puschendorf 등, 2008). H3K9me3 및 H4K20me3들은 접합자에서는 덜 발견된다. 그러나 부계전핵은 잔여의 DNA methylation을 함유하고 있으며 H3K9me1은 pericentromeric 부위에서 유지되고 있다(Puschendorf 등, 2008). Table 2는 DNA의 methylation 종류, 발견되는 생명체, methylation 되는 염기서열 등을 정리한 것이다.

Table 2 Types of DNA modifications

Base of methylation	Organism found	Methylation sequences
C5-methylcytosine	Bacteria, some fungi, some insects, mammals and plants	CpG, CpHpG1, CpHpH1, or varies (e.g., CCAGG)
C5-hydroxymethylcytosine	Bacteriophages, mammals	CpG, CpHpG1, CpHpH1, or varies (e.g., CCGG, GATC)
N4-methylcytosine	Bacteria	Varies (e.g., CTCTTC, CCCGGG)
N6-methyladenine	Bacteria, protists, archaea, bacteriophages, some fungi, and plants	Varies (e.g., GATC, GANTC, GAAGAG)

후생유전체 조절 및 히스톤 변이에 있어서의 non-coding RNA

전체 동물체 genome 의 약 1-2%만이 단백질을 코드하고 있으며 다른 진핵생물인 *C.elegans*의 경우도 비슷한 양상을 보이고 있다(Caminci 등, 2005). 따라서, 전사는 단순히 단백질을 코드하는 차원을 넘어서 non-coding RNA와 같이 광범위한 유전자들과 관련이 된다. 길이가 긴 non-coding RNA (일반적으로 200 base pair 이상)는 발생, 성장, 방어 및 DNA 손상복구 등 다양한 역할을 수행한다(Sone 등, 2007; Mercer 등, 2008). Homeotic gene들의 발현은 non-coding RNAs의 도움에 의하여 조절이 될 수 있다. 예를 들어 Ash1 histone methyltransferase의 chromatin내 출현은 noncoding RNAs에 의해 영향을 받으며 cis-regulatory response elements와 결합하고 따라서 methyltransferase는 Ultrabithorax 유전자를 활성화 시킬 수 있다(Sanchez 등, 2006). Ash1은 non-coding TRE 서열 전사체의 도움에 의하여 TRE 쪽으로 재결집 된다. TRE 전사체가 작은 크기의 siRNA에 의하여 분해되었을 때 Ash1의 TRE 쪽으로의 재결집은 감소되는데 이는 Ubx의 발현이 non-coding TRE 전사체에 의하여 상당히 영향을 받음을 나타내는 것이다(Sanchez 등, 2006). 후생 발현 억제(epigenetic silencing) 동안에 길이가 긴 non-coding RNA는 중요한 역할을 수행한다. 쥐에 존재하는 Xist, Air 및 Kcnq1ot1 및 인체의 HOTAIR은 여러 유전자들의 후생 발현억제에 필수 불가결하다. 한편 전자의 세 종류의 유전자는 cis-mode로 작동하고 나머지 후자는 trans-mode로 작용한다(Rinn 등, 2007). 전사가 활발한 유전자들 중에서 H3K4 methylation과 H3K9 acetylation은 일반적으로 체세포로부터 발생한다. 발생과 관련되는 일부 유전자들은 bivalent 라고도 불리는 데 이는 촉진과 억제 양쪽의 기능과 관련되기 때문이며 이러한 예로는 H3K27me3와 H3K4me3 등이 있다. 많은 히스톤 변이 효소들은 보조조절 복합체로 간주되는 데 그 이유는 이들 효소들이 유전자 발현의 조절을 위하여 전사인자와 협력하여 작용하기 때문이다. 대부분의 경우에 있어서 보조 조절 복합체는 DNA 결합 능력이나, DNA 결합 전사인자, DNA methylation 등을 보이지 않는다. 반면에 non-coding RNA들은 히스톤 변이 복합체들의 재결집에 관여한다.

Chromatin 요인들의 결합

히스톤 변이와 관련하여 특이적 관계를 보이는 chromatin 관련 요인들이 많이 존재한다. 프로테오믹스 방법의 발전 덕분에 이러한 수많은 단백질들이 보고되고 있다(Bartke 등, 2010; Vermeulen 등, 2010). 특이한 도메인을 갖는 multivalent 단백질 또는 단백질 복합체들이 존재하는데 이들은 여러가지 변이에 있어서 동시 인식 작용을 한다. 이러한 부류로는 PHD, Tudor, PWWP, 및 MBT 등이다(Champagne과 Kutateladze,

2009). 변이된 히스톤의 같은 lysine이 다수의 도메인에 의해 인식될 수 있다. 예를 들면 H3K4me3는 PHD에 의해 인식되는데 PHD는 ING family (ING 1-5) 안에 위치하고 있다. HATs 및 HDACs 들을 포함하는 chromatin 변이용 물질들은 ING 단백질들에 의하여 재결집된다(Champagne과 Kutateladze, 2009). Tri-methylated H3K4는 CHD1 안에서 발견되는 tandem chromodomain에 의하여 결합된다. 이 효소는 nucleosome의 위치 재구성과 관련되며 그의 작용을 위하여 ATP 의존적 반응을 나타낸다(Sims 등, 2005). 이렇게 변이가 이루어진 부위는 히스톤 demethylase에 속하는 JMJD2A 안에 있으며 역시 tandem 구조인 Todor 도메인에 의해 결합된다(Huang 등, 2006).

히스톤의 번역후 변이는 chromatin의 수축 또는 재결합 등에 영향을 미칠 수 있다. 이러한 번역후 변이는 chromatin 변이 또는 chromatin 재구성 복합체 또는 effector 단백질들을 위한 결합 부위를 만들어 주게 될 수 있으며 이렇게 함으로서 전사 시작 또는 시슬연장 등에 영향을 미칠 수 있다. Polycomb 억제 복합체 1은 RING1A 또는 RING1B 를 포함한다. RING1A 또는 RING1B는 lysine 119 (H2AK119ub)에서 H2A의 monoubiquitylation에 관여한다. Polycomb 억제복합체2는 H3의 trimethylation을 촉매하는데 이는 EZH2를 함유하며 이러한 methylation은 lysine 27 (H3K27me3)에서 발생한다. 일부 Trithorax 그룹(TrxG) 단백질들은 methyltransferase의 MLL family를 함유하는데 이는 H3K4me3의 촉매와 관련된다. 히스톤의 번역후 변이 이외에도 chromatin의 응축성은 ATP 의존적 재구성 복합체 들에 의하여 매개된다. 이러한 과정에서 ATP 분해의 에너지를 사용한다. 따라서 이러한 복합체들은 히스톤은 교환하고 chromatin 상태를 재구성할 수 있다. 현재까지 동물체에서 ATPase subunit을 코드하는 유전자가 약 30여개가 보고되고 있다. DNA 서열과 이러한 ATPase의 구조적 분석을 근간으로 하여 chromatin 재구성과 관련이 되는 단백질 복합체는 SWI/SNF, ISWI, CHD, 및 INO80와 같이 4종류의 family로 구분될 수 있다.

세포의 복제 cell cycle 기간 동안 chromatin 의 응축 및 이완들이 일반적으로 형성된다. 이러한 과정을 위해서 포유류의 세포에서 두 가지 종류의 phosphorylation 이 감수분열 동안 중요한 역할을 하게 된다. 첫 번째 형태는 H3S10의 phosphorylation이며 Aurora B kinase에 의하여 촉진된다. H3S10의 phosphorylation은 H3K9me로부터 HP1의 교체에 의해 이루어지는 것으로 추측되며 결국 chromatin이 응축되게 된다(Fischle 등, 2005). 두 번째 형태의 phosphorylation은 H3T3에서 발생하며 이는 Haspin kinase에 의해 촉진된다(Dai 등, 2005). 이러한 변이는 정상적인 중기(metaphase) chromosome의 배열에 필요하며 많은 종류의 부위들이 다른 phosphorylation과 연관된다. H4S1 또는 H2BS10의 phosphorylation은 포자형성(sporulation) 또는 과산화물(peroxide) 유도에 의한 세포자멸사(apoptosis) 등을 조절하게 된다(Krishnamoorthy 등, 2006). 포유류의 H2BS14의 phosphorylation은 역시 비슷한 기능을 수행하는 것으로 추측된다. Chromatin의 응축은 class

III deacetylase SirT2에 의해 유도되는 것으로 알려지고 있으며 이 효소는 H4K16Ac에 대한 기질 특이성을 보인다(Vaquero 등, 2006). 반면에 H4K16Ac는 chromatin의 이완에 관련되는 것으로 추측되고 있다(Shogren-Knaak 등, 2006).

보조 조절용 복합체의 subunit 구성분은 결합 및 기능 수행에 기여하는 것으로 추측된다. 이러한 개념은 heterogeneous PRC1 복합체의 연구에 의한 발견으로부터 보다 확실시 되고 있다. Genome의 위치 정립을 위해서 canonical chromobox homolog 단백질(CBX) 함유 PRC1은 H3K27me3의 존재를 필요로 한다. 그러나 noncanonical YY1-결합 단백질(RyBP) 함유 PRC1 복합체와 RING1들은 CBX 단백질들이 부족하다. 이는 H2A ubiquitylation과 H3K27me3에 비의존적인 단백질 재결집을 보인다(Gao 등, 2012; Tavares 등, 2012).

서로 다른 CBX 단백질들을 함유하는 canonical PRC1 복합체들은 서로 겹치지 않는 기능을 수행하는 것으로 보인다. PRC1 복합체는 H3K36에 특이하게 작용하는 demethylase KDM2B의 도움에 의하여 CpG의 부근에서 재결집이 이루어지는 것으로 보인다(He 등, 2013; Wu 등, 2013). 배아줄기세포에서 주종을 이루는 CBX 단백질인 CBX7은 줄기세포의 pluripotency 단계에 필요하다. 그러나 세포 분화에 의해 발현이 촉진되는 CBX2, CBX4, 및 CBX8 들은 계통보존(lineage commitment)에 있어서 역할을 하는 것으로 추측된다(Morey 등, 2012; Ologhlen 등, 2012). 보조 조절자 들은 보조활성자 또는 보조 억제자로 나뉜다. 예를 들면 HAT 함유 복합체(예, SAGA)들은 일반적으로 보조 활성자로 작용한다 그러나 HDAC 함유 복합체(예 Sin3)는 보조 억제자로 작용한다. 보조 억제자들은 전사가 활발히 일어난 유전자 부위는 물론 이미 억제가 되어있는 유전자들과도 작용을 한다.

히스톤 변이와 기능과의 관련

하나의 nucleosome 사이에서 수축현상을 와해시키고 따라서 chromatin 구조를 풀어지게 하는 것이다(Fig. 4). 또 다른 기작은 비히스톤 단백질들을 재결집(recruitment)하는 것이다. 이 두 가지 기작중에서 뒷 부분의 기작이 현재까지 더 연구되어 졌다. 여러 종류의 단백질이 하나처럼 모여서 히스톤 변이에 따라

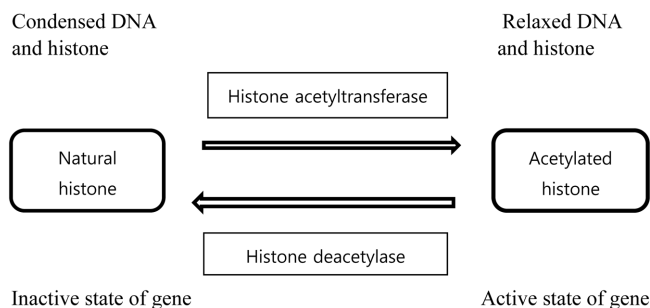


Fig. 4 Acetylation of histone and changes in histone compactness.

chromatin에 결합할 수가 있는 것이다. 이러한 단백질 들은 chromatin 변이에 필요한 효소활성(예, ATPase)을 보이고 있다. 알려진 변이들 중에서 acetylation은 chromatin을 풀어내는 데 가장 강력한 것으로 추정되고 있는데 그 이유는 이러한 변이가 lysine의 염기성 charge를 중성화 시킬 수 있기 때문이다. 이러한 기능은 in vivo에서 쉽게 관찰이 될 수 없으며 생물물리학 분석법에 의하면 nucleosome 사이의 결합 등은 chromatin 구조의 안정화에 상당히 중요한 것으로 생각되고 있다. 따라서 히스톤 전하에 있어서 어떠한 변화도 전체 chromatin의 구조에 영향을 미칠 수 있다. 더욱이 특정 부위를 변이시킨 재조합 nucleosome을 이용하여 연구를 시도하기도 한다(Shimahara 등, 2013). H4K16의 acetylation은 화학적으로 결합시킨 꼬리 peptide를 재조합 histone core에 화학적으로 결합시킴으로서 발생하는 30-nanometer fiber 형성에 대해 부정적 효과를 나타낸 것으로 알려지고 있고 이는 chromatin 구조를 유지하는 것으로 추측되고 있다(Shogren-Knaak 등, 2006). 이와 같이 히스톤은 다양하게 변이를 일으킬 수 있으며 따라서 히스톤의 변이는 다양한 기능 변화를 가져올 수 있다. 히스톤의 변이는 기능적으로 서로 연결이 되며 보통 cross-talk라고 불리운다. 이러한 cross-talk는 다른 유전자의 발현을 촉진시키거나 반대로 억제시키기도 하며 같은 히스톤 말단 부분에서 자주 발견이 된다. 또한 히스톤 변이에 의한 cross-talk는 trans-histone 효과를 나타내기도 하여 하나의 히스톤 변이가 다른 히스톤의 변이를 유발시키기도 한다. 이러한 변이들은 종종 chromatin immune

Table 3 Classification of histone component and the effects of each histone modification

Histone	Modification	Effect
H1	Phosphorylation	Gene-specific activation and repression
	Ubiquitination	Activation of transcription
H2A	Acetylation	Tetrahymena survival
	Ubiquitination	Unclear
H2B	ADP-ribosylation	Unclear
	Ubiquitination	Indispensable for H3 methylation
	Phosphorylation	Condensation of chromatin
	Acetylation	Remodelling of chromatin
H3	Methylation	Stabilization of chromatin
	Acetylation	Activation of transcription
	Phosphorylation	Activation of transcription
	Ubiquitination	Loosening of nucleosome
H4	Acetylation	Activation of transcription
	Methylation	Activation or repression of transcription

Table 4 Representative examples of phenomena which are induced by lack of histone modifications

Gene	Domains	Resulting phenotype	References
Mll	SET domain	Impaired segmental identity and embryonic lethal.	Hong et al., 2011
Mll2	SET domain	Genome-wide reduction in H3K4me3 in oocyte, oocyte death etc.	Glaser et al., 2009
Ash21	unknown	Embryonic lethal early during gestation	Shogren et al., 2006
Men1	SPRY domain	Embryonic lethal. Heterozygotes leads to endocrine tumors.	Chen et al., 2006
Ezh2	SET domain	Depletion of maternal Ezh2. Severe growth retardation of neonates.	Shen et al., 2008
Eed	WD40 repeats	Embryonic lethal. Disrupted axial patterning	Shen et al., 2008
Suz12	Zinc-finger domain	Early post-implantation lethality	Pasini et al., 2007
Yy1	Zinc-finger domain	Peri-implantation lethality. Developmental defects	Donoho et al., 1999
Jarid2	JmjC domain	Neural, cardiac, liver and hemato- poietic defects	Li et al., 2010
Pcl2Mtf2	PHD-finger domain	Growth defects	Walker et al., 2010
Ring1b	RING-finger domain	Hindrance in early gastrulation	Leeb et al., 2010
Ring1a	RING-finger domain	Axial skeletal patterning abnormalities	Endoh et al., 2008
Bmi1	RING-finger domain	Neurological abnormalities	Akasaka et al., 2001
Mel18	RING-finger domain	Death of mice. Posterior homeotic transformation	Akasaka et al., 2001
M33	Chromodomain	Severe growth defects	Kim et al., 2006
Rae28	Zinc-finger SPM	Posterior skeletal transformation	Takahara et al., 1997
Glp	SET domain	Embryonic lethality. Severe growth retardation	Tachibana et al., 2005
G9a	SET domain	Global loss of H3K9me2. Severe growth retardation	Tachibana et al., 2005
Eset	SET domain	Peri-implantation lethality	Bilodeau et al., 2009
Suv39h1	SET domain	Growth retardation. Reduced viability after E12.5.	Peters et al., 2001
Dpy30	unknown	Failure to properly differentiate	Jiang et al., 2011
Erd5	WD repeats	Severe defects in embryonic stem cell maintenance	Ang et al., 2011
Ezh1	SET domain	Defects of methylation on HeK27me3 target gene	Shen et al., 2008

precipitation 기술을 사용하여 분석하기도 한다. Table 3과 4는 히스톤의 변이와 관련된 기능을 정리한 것이다.

초 록

크로마틴은 DNA 구조를 다시 결정해주는 것과 같은 존재로 각종 신호에 폭넓게 반응한다. 크로마틴의 중요한 변화는 이러한 조절을 위한 히스톤의 변이이다. 이러한 변화들에 대한 지식이 점점 축적되고 있으며 이러한 반응의 복잡성이 점점 더 명확히 이해되고 있다. 히스톤의 변화가 대부분의 생명체의 반응에 있어서 DNA 의 발현 또는 억제를 통하여 중요한 역할을 한다는 사실이 명확해지고 있다. Nucleosome 의 표면은 각종 변화를 수용할 수 있다. 크로마틴 변화는 크로마틴 수축을 제거하거나 또는 비히스톤 단백질을 불러 모으는 과정을 통하여 작용될 수 있다. 히스톤 변이를 매개로 하는 이러한 많은 조절들이 유전적으로 보존되어 전달되는 것으로 추측된다. 따라서 히스톤 변이는 동물, 식물 또는 미생물 세계의 기본적인 생물학적 반응과 상당히 밀접한 관계가 있다. 히스톤 변이가 제대로 이루어지지 않을 경우 크로모좀의 응축 또는 이완이 제대로 안되며 결국은 발생, 성숙, 생물체 방어 등 다방면에 대해 기능을 제대로 수행하지 못한다.

Keywords 변화 · 크로마틴 · 히스톤

감사의 글 본 연구는 Agricultural Science and Technology Development (프로젝트번호 PJ010075032914, 국립농업과학원, 농촌진흥청) 의 지원에 의하여 수행된 과제이다.

References

- Akasaka T, van Lohuizen M, van der Lugt N, and Mizutani-Koseki Y (2001) Mice doubly deficient for the Polycomb Group genes Mel18 and Bmi1 reveal synergy and requirement for maintenance but not initiation of Hox gene expression. *Development* **12**, 1587–97.
- Ang YS, Tsai SY, Lee DF, Monk J, Su J, and Ratnakumar K (2011) Wdr5 mediates self-renewal and reprogramming via the embryonic stem cell core transcriptional network. *Cell* **14**, 183–97.
- Bannister AJ and Kouzarides T (2011) Regulation of chromatin by histone modifications. *Cell Research* **21**, 381–95.
- Bedford MT and Clarke SG (2009) Protein arginine methylation in mammals; who, what and why. *Mol Cell* **3**, 11–3.
- Bilodeau S, Kagey MH, Frampton GM, Rahl PB, and Young RA (2009) SetDB1 contributes to repression of genes encoding developmental regulators and maintenance of ES cell state. *Genes Dev* **23**, 2484–9.
- Carninci P, Kasukawa T, Katayama S, and Gough J (2005) The transcriptional landscape of the mammalian genome. *Science* **30**, 1559–63.
- Castel SE and Martienssen RA (2013) RNA interference in the nucleus: roles for small RNAs in transcription, epigenetics and beyond. *Nature Rev Genet* **14**, 100–12.
- Champagne KS and Kutateladze TG (2009) Structural insight into histone recognition by the ING PHD fingers. *Curr Drug Targets* **10**, 432–41.
- Chen Z, Zang J, and Whetstone J (2006) Structural insights into histone demethylation by JMJD2 members. *Cell* **125**, 691–702.
- Cohen-Armon M, Visochek L, and Rozensal D (2007) DNA independent PARP-1 activation by phosphorylated ERK2 increases Elk1 activity; a link to histone acetylation. *Mol Cell* **25**, 297–308.
- Cuthbert GL, Daujat S, Snowden AW, and Erdjument-Bromage H (2004) Histone deamination antagonizes arginine methylation. *Cell* **118**, 545–53.
- Dai J, Sultan S, Taylor SS, and Higgins JM (2005) The kinase haspin is required for mitotic histone H3 Thr 3 phosphorylation and normal metaphase chromosome alignment. *Genes Dev* **19**, 472–88.
- Dawson MA, Bannister AJ, and Gottgens DA (2009) JAK2 phosphorylates

- histone H3Y41 and excludes HP1alpha from chromatin. *Nature* **461**, 819–22.
- Endoh M, Endo TA, Endoh T, Fujimura Y, and Ohara O (2008) Polycomb group proteins Ring1A/B are functionally linked to the core transcriptional regulatory circuitry to maintain ES cell identity. *Development* **135**, 1513–24.
- Fischle W, Tseng BS, Dormann HL, and Ueberheide BM (2005) Regulation of HP1-chromatin binding by histone H3 methylation and phosphorylation. *Nature* **438**, 1116–22.
- Gao Z, Zhang J, and Bonasio R (2012) PCGF homologs, CBX proteins, and RYBP define functionally distinct PRC1 family complexes. *Mol Cell* **45**, 344–56.
- Gehring M, Huh JH, Hsieh TF, Penterman J, and Choi Y (2006) DEMETER DNA glycosylase establishes MEDEA polycomb gene self-imprinting by allele-specific demethylation. *Cell* **124**, 495–506.
- Glaser S, Lubitz S, Loveland KL, Ohbo K, and Robb L (2009) The histone 3 lysine 4 methyltransferase, Mll2, is only required briefly in development and spermatogenesis. *Epigenetics Chromatin* **2**, 5–11.
- Golebiewska A, Atkinson SP, Lako M, and Armstrong L (2009) Epigenetic landscaping during hESC differentiation to neural cells. *Stem Cells* **27**, 1298–308.
- Hammoud SS, Nix DA, Zhang H, and Purwar J (2009) Distinctive chromatin in human sperm packages genes for embryo development. *Nature* **460**, 473–8.
- He J, Shen L, and Wan M (2013) Kdm2b maintains murine embryonic stem cell status by recruiting PRC1 complex to CpG islands of developmental genes. *Nature Cell Biol* **15**, 373–84.
- Hodawadekar SC and Marmorstein R (2007) Chemistry of acetyl transfer by histone modifying enzymes; structure, mechanism and implications for effector design. *Oncogene* **26**, 5528–40.
- Hong SH, Rampalli S, Lee JB, and McNicol J (2011) Cell fate potential of human pluripotent stem cells is encoded by histone modifications. *Cell Stem Cell* **9**, 34–6.
- Hsieh TF, Ibarra CA, Silva P, and Zemach A (2009) Genome-wide demethylation of *Arabidopsis* endosperm. *Science* **32**, 1451–4.
- Hu S, Xie Z, and Onishi A (2009) Profiling the human protein DNA interactome reveals ERK2 as a transcriptional repressor of interferon signaling. *Cell* **139**, 610–22.
- Huang Y, Fang J, Bedford MT, Zhang Y, and Xu RM (2006) Recognition of histone H3 lysine-4 methylation by the double tudor domain of JMJD2A. *Science* **312**, 748–51.
- Jiang H, Shukla A, Wang X, Chen WY, Bernstein BE, and Roeder RG (2011) Role for Dpy-30 in ES cell-fate specification by regulation of H3K4 methylation within bivalent domains. *Cell* **144**, 513–25.
- Kim J, Daniel J, and Espejo A (2006) Tudor, MBT and chromodomains gauge the degree of lysine methylation. *EMBO Rep* **7**, 397–403.
- Krishnamoorthy T, Chen X, Govin J, and Cheung WL (2006). Phosphorylation of histone H4 Ser1 regulates sporulation in yeast and is conserved in fly and mouse spermatogenesis. *Genes Dev* **20**, 2580–92.
- Kumar R and Rao DN (2013) Role of DNA methyltransferases in epigenetic regulation in bacteria. *Subcell Biochem* **61**, 81–102.
- Mercer TR, Dinger ME, Mariani J, and Kosik KS (2008) Noncoding RNAs in long-term memory formation. *Neuroscientist* **14**, 434–45.
- Metzger E, Wissmann M, Yin N, Muller JM, Schneider R, and Peters AH (2005) LSD1 demethylates repressive histone marks to promote androgen-receptor-dependent transcription. *Nature* **437**, 436–9.
- Morey L, Pascual G, and Cozutto L (2012) Nonoverlapping functions of the Polycomb group Cbx family of proteins in embryonic stem cells. *Cell Stem Cell* **10**, 47–62.
- Morgan HD, Dean W, Coker HA, Reik W, and Petersen-Mahrt SK (2004) Activation-induced cytidine deaminase deaminates 5-methylcytosine in DNA and is expressed in pluripotent tissues: implications for epigenetic reprogramming. *J Biol Chem* **279**, 52353–60.
- Nathan D, Ingvarsdottir K, Sterner DE, and Bylebyl GR (2006) Histone sumoylation is a negative regulator in *Saccharomyces cerevisiae* and shows dynamic interplay with positive acting histone modifications. *Genes Dev* **20**, 966–76.
- Nelson CJ, Santos-Rosa H, and Kouzarides T (2006) Proline isomerization of histone H3 regulates lysine methylation and gene expression. *Cell* **126**, 906–16.
- Pasini D, Bracken A, Hansen J, Capillo M, and Helin K (2007) The polycomb group protein Suz12 is required for embryonic stem cell differentiation. *Mol Cell Biol* **27**, 3769–79.
- Pastor WA, Aravind L, and Rao A (2013) TETonic shift; biological roles of TET proteins in DNA demethylation and transcription. *Nature Rev Mol Cell Biol* **14**, 341–56.
- Peters AH, O'Carroll D, Scherthan H, and Mechtler K (2001) Loss of the Suv39h histone methyltransferases impairs mammalian heterochromatin and genome stability. *Cell* **107**, 323–37.
- Popp C, Dean W, Feng S, and Cokus SJ (2010) Genome-wide erasure of DNA methylation in mouse primordial germ cells is affected by AID deficiency. *Nature* **463**, 1101–5.
- Puschendorf M, Terranova R, Boutsma E, and Mao X (2008) PRC1 and Suv39h specify parental asymmetry at constitutive heterochromatin in early mouse embryos. *Nat Genet* **40**, 411–20.
- Rinn JL, Kertesz M, Wang JK, Squazzo SL, and Xu X (2007) Functional demarcation of active and silent chromatin domains in human HOX loci by noncoding RNAs. *Cell* **129**, 1311–23.
- Shen X, Liu Y, Hsu YJ, Fujiwara Y, and Kim J (2008) EZH1 mediates methylation on histone H3 lysine 27 and complements EZH2 in maintaining stem cell identity and executing pluripotency. *Mol Cell* **32**, 491–502.
- Shilatifard A (2006) Chromatin modifications by methylation and ubiquitination; implications in the regulation of gene expression. *Annu Rev Biochem* **75**, 243–69.
- Shimahara H, Hirano T, and Ohya K (2013) Nucleosome structural changes induced by binding of non-histone chromosomal proteins HMG1 and HMG2. *FEBS* **3**, 184–91.
- Shogren-Knaak M, Ishii H, Sun JM, and Pazin MJ (2006) Histone H4K16 acetylation controls chromatin structure and protein interactions. *Science* **311**, 844–7.
- Sims RJ, Chen CF, Santos-Rosa H, Kouzarides T, Patel SS, and Reinberg D (2005) Human but not yeast CHD1 binds directly and selectively to histone H3 methylated at lysine 4 via its tandem chromodomains. *J Biol Chem* **280**, 41789–92.
- Skene PJ and Henikoff S (2013) Histone variants in pluripotency and disease. *Development* **140**, 2513–24.
- Sone M, Hayashi T, and Tarui H (2007) The mRNA-like noncoding RNA Gomafu constitutes a novel nuclear domain in a subset of neurons. *J Cell Sci* **120**, 2498–506.
- Steward MM, Lee JS, Donovan A, Wyatt M, Bernstein BE, and Shilatifard A (2006) Molecular regulation of H3K4 trimethylation by ASH2L, a shared subunit of MLL complexes. *Nat Struct Mol Biol* **13**, 852–54.
- Tachibana M, Sugimoto K, Nozaki M, and Ueda J (2002) G9a histone methyltransferase plays a dominant role in euchromatic histone H3 lysine 9 methylation and is essential for early embryogenesis. *Genes Dev* **16**, 1779–91.
- Tachibana M, Ueda J, Fukuda M, and Takeda N (2005) Histone methyltransferases G9a and GLP form heteromeric complexes and are both crucial for methylation of euchromatin at H3-K9. *Genes Dev* **19**, 815–26.
- Takahara Y, Tomotsune D, Shirai M, and Katoh-Fukui Y (1997) Targeted disruption of the mouse homologue of the *Drosophila* polyhomeotic gene leads to altered anteroposterior patterning and neural crest defects. *Development* **124**, 3673–82.
- Tavares L, Dimitrova E, and Webster J (2012) RYBP-PRC1 complexes mediate H2A ubiquitylation at polycomb target sites independently of PRC2 and H3K27me3. *Cell* **148**, 664–78.
- Vaquero A, Scher, MB, Lee DH, and Sutton A (2006) SirT2 is a histone deacetylase with preference for histone H4 Lys 16 during mitosis. *Genes Dev* **20**, 1256–61.
- Vermeulen M, Eberl HC, and Matarese F (2010) Quantitative interaction proteomics and genome-wide profiling of epigenetic histone marks and their readers. *Cell* **142**, 967–80.
- Walker E, Chang WY, Hunkapiller J, Cagney G, and Garcha K (2010) Polycomb-like 2 associates with PRC2 and regulates transcriptional

- networks during mouse embryonic stem cell self-renewal and differentiation. *Cell Stem Cell* **6**, 153–66.
- Wang Z, Zang C, and Rosenfeld JA (2008) Combinatorial patterns of histone acetylations and methylations in the human genome. *Nat Genet* **40**, 897–903.
- Wei Y, Mizzen CA, Cook RG, Gorovsky MA, and Allis CD (1998) Phosphorylation of histone H3 at serine 10 is correlated with chromosome condensation during mitosis and meiosis in *Tetrahymena*. *Proc Natl Acad Sci USA* **95**, 7480–4.
- Wu X, Johansen JV, and Helin K (2013) Fbxl10/Kdm2b recruits polycomb repressive complex 1 to CpG islands and regulates H2A ubiquitylation. *Mol Cell* **49**, 1134–46.
- Zachary DS and Alexander M (2013) DNA methylation; roles in mammalian development. *Nat Rev Genet* **14**, 204–20.
- Zhang Y and Reinberg D (2006) Transcription regulation by histone methylation: interplay between different covalent modifications of the core histone tails. *Genes Dev* **15**, 2343–60.