

NSD 家族组蛋白赖氨酸转移酶分子机制研究的新进展*

王占新†

(北京师范大学生命科学学院细胞增殖及调控生物学教育部重点实验室, 100875, 北京)

中图分类号 Q71

DOI: 10.12202/j.0476-0301.2021040

人源 NSD 家族蛋白由 NSD1、NSD2 和 NSD3 等 3 个成员组成, 都是组蛋白 H3 第 36 位赖氨酸(H3K36)的二甲基转移酶. NSD 家族蛋白在真核生物中非常保守, 参与多种重要的生理功能, 例如 NSD3 调控神经嵴细胞的基因表达^[1]. NSD 家族蛋白被人们关注的另一个重要原因是该家族蛋白与人类的多种癌症密切相关, 例如 NSD2 又被称为 MMSET, 与多发性骨髓瘤相关^[1]. 但是, 目前尚未研发出靶向 NSD 家族蛋白的特效药. NSD 家族蛋白的催化结构域在没有底物的时候形成一种自抑制的构象^[2], 即自身的一段序列结合在底物相应结合的位置而抑制了酶的催化活性. 此外, 合成的小肽底物并不能激活 NSD 家族蛋白的催化活性, 只有核小体底物存在时, NSD 蛋白才能被激活, 并特异催化核小体 H3K36 位点的二甲基化修饰^[3]. 但是 NSD 蛋白对核小体底物的倾向性以及激活的分子机制并不清楚.

近年来, 随着核小体体外重组方法的普及以及冷冻电镜技术的发展, 以核小体为底物的组蛋白修饰酶的分子机制研究取得了一系列突破性的进展. 2020 年 2 月 18 日, 北京师范大学生命科学学院细胞增殖及调控生物学教育部重点实验室与南方科技大学冷冻电镜中心、美国斯隆凯特琳癌症研究所的 Dinshaw Patel 实验室以及斯坦福大学的 Or Gozani 实验室合作, 在《Nature》发表题为《Molecular basis of nucleosomal H3K36 methylation by NSD methyltransferases》的研究论文^[4], 通过冷冻电镜方法、生化分析以及细胞和老鼠模型, 获得了 NSD2 和 NSD3 与核小体复合物较高分辨率的结构, 揭示了 NSD2 和 NSD3 特异性催化底物 H3K36 位点的机制以及致癌突变增强 NSD2 和 NSD3 催化活性的分子机制. 同期的《Nature》还刊发

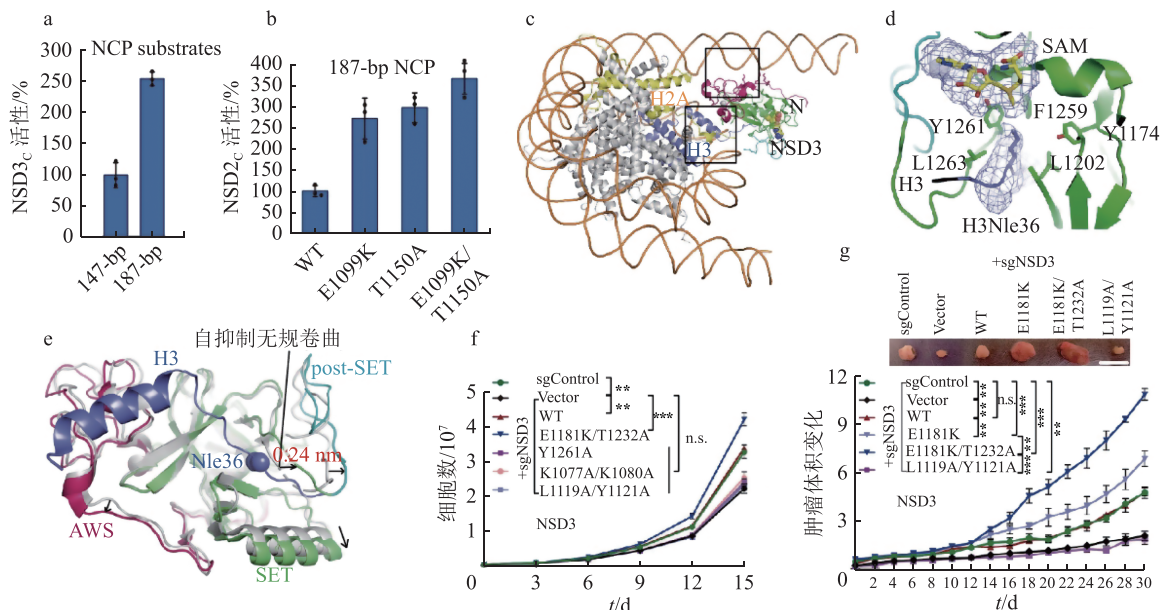
了一篇 Or Gozani 实验室与合作者发表的 NSD3 与疾病相关的文章, 揭示 NSD3 蛋白导致肺鳞癌机制^[5]. 为此, 《Nature》专门写了一篇《News & Views》, 对这 2 篇文章进行综合评述^[6], 指出 2 篇文章的研究结果为靶向 NSD 家族蛋白导致的癌症提供药理学治疗方案.

本实验室与合作者应用了多种方法对 NSD 家族蛋白展开了系统性的研究. 首先通过对 NSD2 和 NSD3 进行深入的生化分析, 发现 NSD 家族蛋白能够稳定地结合在核小体上, 而且 NSD2 和 NSD3 对含有连接 DNA 的核小体有更高的亲和力和催化活性(图 1-a). 此外, 我们还发现一些致癌突变, 例如 NSD2 的 E1099K 突变、T1150A 突变以及这 2 个位点在 NSD3 中的对应突变能够分别增强 NSD2 和 NSD3 对核小体底物的催化活性(图 1-b). 这 2 个位点的组合突变能够大大增强(约 1 个数量级)NSD2 和 NSD3 对底物的催化活性. 基于此, 我们分别解析了 NSD2 和 NSD3 与核小体复合物 0.375 和 0.315 nm 分辨率的冷冻电镜结构. NSD2 和 NSD3 的催化结构域以相似的方式结合在核小体上. 以 NSD3 为例, 结构解析发现, NSD3 解离核小体上缠绕在核心颗粒出口或入口处的 DNA, 以便于 NSD3 的催化结构域结合在解离的 DNA 和核心组蛋白之间(图 1-c). 这样, NSD3 的催化结构域就能够接触到组蛋白 H3 的 N 末端尾巴, 使得催化反应可以发生. NSD3 通过对核小体 DNA 和组蛋白一系列位点特异的相互作用, 获得了对核小体底物的高亲和性和特异性. NSD3 与核小体出口或入口处解离的 DNA 的小沟, 以及核小体内圈 DNA 的小沟都有相互作用; 此外, NSD3 还与组蛋白 H2A 的尾巴以及 H3 的 N 端的一长段序列都发生相互作

* 国家自然科学基金资助项目(31870725 和 31570729); 中央高校基本科研业务费专项资金资助项目(2017EYT19)

† 通信作者: 王占新(1977—), 男, 博士, 教授. 研究方向: 表观遗传调控的分子机制. E-mail: wangz@bnu.edu.cn

收稿日期: 2021-02-19



a. NSD3 催化 187-bp DNA 核小体的活性高于 147-bp DNA 的核小体。b. NSD2 的 E1099K、T1150A 突变和二者的组合突变体活性都强于野生型的 NSD2。c. NSD3 与 187-bp DNA 核小体复合物的冷冻电镜结构。NSD3 与核小体 DNA 和组蛋白的多个位点发生相互作用。d. 配体 SAM 和组蛋白 H3K36 (K36 被 norleucine 取代) 的催化口袋。e. 结合核小体的激活态 NSD3 与自抑制构象 NSD3 的结构叠合比较。f. 野生型和 E1181K/T1232A 突变活性增强型 NSD3 增加了 HNSCC 细胞的增殖能力。g. 野生型和活性增强型 NSD3 转化的 UD-SCC-2 细胞促进移植瘤在裸鼠体内的增长。

图 1 NSD3 和 NSD2 的结构、生化和细胞生物学分析^[4]

用。这些相互作用使得 H3 的尾巴正好结合在 NSD3 的催化结构域中, H3K36 的侧链正对着配体 SAM 分子(图 1-d), 这样就解释了 NSD3 催化 H3K36 的位点特异性。

通过与自抑制状态的 NSD3 的单体结构进行比较, 可以发现结合核小体的 NSD3 发生了构象变化, 呈现一种激活的状态(图 1-e)。自抑制构象的 NSD3, 其催化结构域结合底物的位置被自身的一段序列占据。合成的小肽作为底物, 可能由于与 NSD3 的亲合力不够无法挤开这段自抑制序列, 因此无法激活 NSD3。NSD3 结合核小体之后, 通过与核小体 DNA 和组蛋白的多重相互作用, 催化结构域变得向外伸展(图 1-e)。在这种伸展的构象下, 组蛋白 H3 尾巴可以挤开 NSD3 的自抑制序列并结合在相应的催化位点上, 因此 NSD3 被激活。这就解释了 NSD 家族蛋白被核小体底物激活的分子机制。

为了验证 NSD2 和 NSD3 的突变与癌症的关系, 我们实验室与 Or Gozani 实验室合作, 研究 NSD 蛋白的活性变化在细胞和动物模型中的癌症表型。实验发现, NSD2 和 NSD3 的活性增强突变(也称获得性突变), 如 NSD2 的 E1099K 突变和 NSD3 的 T1232A 突变, 都能分别增强转化相应蛋白的细胞的增殖能力(一种致癌表型), 而活性减弱突变则会减弱相应

表达细胞的增殖能力(图 1-f), 表明 NSD2 和 NSD3 的活性增强突变会增强二者的致癌性。裸鼠成瘤实验表明, 活性增强的 NSD3 突变体会大大增强裸鼠的成瘤能力, 而含有活性减弱的 NSD3 突变的裸鼠则不会产生肿瘤(图 1-g)。这些结果表明, 活性增强突变的确是 NSD2 的 E1099K 突变和 NSD3 的 T1232A 突变致癌的重要原因。通过结构分析, 该研究对这 2 个突变位点增强相应蛋白的催化活性给出了合理的分子解释。NSD2 的 E1099K 突变是一个 NSD2 突变频率较高的致癌突变, 同期 Or Gozani 实验室关于 NSD3 的文章详细阐述了 NSD3 的 T1232A 突变致癌的机制^[5]。因此, 本实验室与合作者的这篇文章以及同期的 Or Gozani 实验室与合作者的文章从不同角度系统地阐述了 NSD2 和 NSD3 的活性增强突变与癌症的相关性, 为靶向 NSD2 和 NSD3 的催化活性治疗相关的癌症奠定了理论基础。同时, NSD2 和 NSD3 的结构生物学研究也为小分子药物研发提供了非常有价值的分子模型, 意义十分重大。

当然, 靶向 NSD2 和 NSD3 催化位点的小分子药物研发并不容易, 需要做大量的筛选和分析优化工作。而且, 由于 NSD2 和 NSD3 的生理功能并不相同, 获得二者各自特异性的小分子药物是十分必要的。相信基于我们这项研究的结构生物学基础, 靶向 NSD2

和 NSD3 的小分子药物研发会很快取得突破。

参考文献

- [1] BENNETT R L, SWAROOP A, TROCHE C, et al. The role of nuclear receptor-binding SET domain family histone lysine methyltransferases in cancer[J]. Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine, 2017, 7(6): a026708
- [2] QIAO Q, LI Y, CHEN Z, et al. The structure of NSD1 reveals an autoregulatory mechanism underlying histone H3K36 methylation[J]. The Journal of Biological Chemistry, 2011, 286(10): 8361
- [3] LI Y, TROJER P, XU C F, et al. The target of the NSD family of histone lysine methyltransferases depends on the nature of the substrate[J]. The Journal of Biological Chemistry, 2009, 284(49): 34283
- [4] LI W Q, TIAN W, YUAN G, et al. Molecular basis of nucleosomal H3K36 methylation by NSD methyltransferases[J]. Nature, 2021, 590(7846): 498
- [5] YUAN G, FLORES N M, HAUSMANN S, et al. Elevated NSD3 histone methylation activity drives squamous cell lung cancer[J]. Nature, 2021, 590(7846): 504
- [6] SROKA M W, VAKOC C R. An epigenetic tipping point in cancer comes under the microscope[J]. Nature, 2021, 590(7846): 399

【责任编辑: 武 佳】