中国科学: 生命科学 2025 年 第 55 卷 第 5 期: 957 ~ 970
SCIENTIA SINICA Vitae lifecn.scichina.com
《中国科学》杂志社 SCIENCE CHINA PRESS
评 述 中国知名大学及研究院所专栏 北京大学生命科学100周年专辑

复制叉上组蛋白携带的表观遗传信息继承

冯建勋[1,2], 李晴[1,2*]

1. 北京大学生命科学学院, 基因功能研究与操控全国重点实验室, 北京 100871
2. 北京大学前沿交叉学科研究院, 北大-清华生命科学联合中心, 北京 100871
* 联系人, E-mail: li.qing@pku.edu.cn

收稿日期: 2025-01-20; 接受日期: 2025-03-11; 网络版发表日期: 2025-04-17

摘要 真核生物中, 组蛋白的修饰是表观遗传信息的主要载体之一, 指导染色质景观的建成, 调节基因组表达, 是细胞实现功能的基础. 在有丝分裂过程中, 子代细胞需要继承亲本细胞的表观遗传信息, 以维持细胞的身份. DNA复制偶联的核小体组装是该过程的关键一环. 在此过程中, 亲本组蛋白通过复制叉被重新组装到两条新的DNA子链上, 从而实现了亲本细胞表观遗传信息的继承. 因此, 亲本组蛋白在复制叉前的解组装、回收和通过复制叉进行递送, 重新组装入新合成子链上是组蛋白携带的表观遗传信息被子代细胞继承的核心环节. 适逢最近几篇研究亲本组蛋白在复制叉区域回收机制的重要论文发表, 本综述围绕亲本组蛋白的继承机制, 概述此方向的研究历史和最新进展, 介绍亲本组蛋白在DNA复制过程中被分配到两条子链的调控机制. 针对最近的研究进展, 重点阐述复制叉前沿组蛋白分子伴侣FACT和复制体组分(主要包括复制叉保护复合物和解旋酶Mcm2亚基等)的合作捕获解组装的亲本组蛋白, 将其分配和递送到两条子链上的分子机制, 并据此提出“分子伴侣-组蛋白-复制体元件”(shuttle chaperone-histones-guiding chaperone)作为一个亲本组蛋白回收单元, 保证亲本表观遗传信息的有效继承. 同时, 针对内源复制体捕获的六聚体($(H3\text{-}H4)_2$-(H2A-H2B))结构单元, 探讨组蛋白H3-H4和H2A-H2B携带的表观遗传信息继承机制.

关键词 表观遗传信息继承, 染色质复制, 核小体组装, DNA复制, 组蛋白

人体由约60万亿、近400多种细胞组成. 这些细胞由一枚受精卵增殖和分化而来, 拥有几乎相同的基因组DNA, 以核小体为基本单位形成染色质, 储存在细胞核里. 染色质携带有丰富的表观信息, 但是在基因组一维尺度上分布是不均匀的, 主导基因组水平染色质结构, 形成染色质景观, 进而决定染色质开放与否, 形成与细胞功能相匹配的基因表达谱. 在细胞增殖时, 基因组DNA忠实复制的同时还要保证染色质携带的表观遗传信息通过DNA复制传承给子代细胞, 使得子代细胞的基因组也建立与亲本细胞一致的表观基因组, 驱动正确的染色质景观建成, 继承基因组表达谱, 保证子代细胞的功能与亲本细胞相同[1].

核小体是染色质的基本结构单元. 常规核小体通常由约147 bp的DNA缠绕一个组蛋白八聚体组成, 该八聚体通常含有一个$(H3\text{-}H4)_2$四聚体和两个H2A-H2B二聚体. 组蛋白携带多种翻译后修饰, 这些翻译后修饰形成复杂的信息, 组成一层染色质编码的基本表观遗传信息. 在细胞增殖驱动的DNA复制过程中, 复制叉

引用格式: 冯建勋, 李晴. 复制叉上组蛋白携带的表观遗传信息继承. 中国科学: 生命科学, 2025, 55: 957–970
Feng J X, Li Q. Histone-based epigenetic information inheritance at the DNA replication fork (in Chinese). Sci Sin Vitae, 2025, 55: 957–970, doi: 10.1360/SSV-2024-0306

© 2025《中国科学》杂志社

https://www.sciengine.com/doi/10.1360/SSV-2024-0306

前携带亲本细胞表观遗传信息的核小体被解组装，亲本组蛋白进而被回收并递送至两条子链，组装为新核小体. 最近的研究表明, 在芽殖酵母中, 亲本组蛋白回收的缺陷将削弱ssDNA gap (single strand DNA gap)诱导的同源重组，可能是复制叉前亲本核小体没有及时解组装或者亲本组蛋白过多地组装在同源重组入侵链上所导致的[2]，暗示亲本组蛋白回收对维持基因组稳定非常重要. 此外, 研究表明, 果蝇中完全抑制新组蛋白合成, 只有回收的亲本组蛋白组装的新核小体, 结果表明核小体占位区间变大、更容易接触DNA，使得基因表达错误上调，但是和发育相关的基因的转录程序却被部分控制[3]，暗示亲本组蛋白的回收是保障发育重要前提. 与此相一致的是, 最近的研究表明, 在小鼠胚胎干细胞中，如果MCM2组蛋白结合结构域(histone binding domain, HBD)结合组蛋白功能受损, 导致亲本组蛋白回收缺陷，那么小鼠胚胎干细胞表观遗传景观重建失败，异质性大幅度增加，进而细胞命运决定紊乱，导致发育失败[4~6]. 此外，将MCM2的HBD结合组蛋白功能受损的乳腺癌细胞系植入小鼠，发现该突变促进植入的原位肿瘤生长和转移，进一步表明亲本组蛋白回收的缺陷导致染色质景观重建紊乱，促进肿瘤的恶化[7]. 因此, 亲本组蛋白回收是恢复染色质结构以保障基因组稳定和继承表观遗传信息以重建染色质景观来保障发育的核心基础. 以下将根据时间和研究的发展，概括DNA复制偶联的组蛋白携带的表观信息继承的研究历史和进展现状，进一步展望未来的研究方向.

1 DNA复制过程中的亲本组蛋白回收的研究历史

关于染色质、组蛋白和核小体的研究历史，可以追溯到19世纪. 早在1879年，德国生物学家Walther Flemming为描述细胞分裂过程中细胞核内被碱性染料深染的线状结构，创造了染色质(chromatin)一词(chroma，源自希腊语，意为“颜色”). 弗莱明的研究发现染色质在细胞分裂中会分配到两个子细胞，为染色质及其在遗传中的作用奠定基础. 而组蛋白的发现则要追溯到1884年德国生物化学学家Albrecht Kossel，他从细胞核中分离并鉴定一组碱性蛋白质，将其命名为“组蛋白”. 科塞尔发现组蛋白富含赖氨酸和精氨酸，也为后续组蛋白翻译后修饰的发现和研究奠定基础. 到20世纪初，科学家开始认识到染色质由DNA和蛋白质(主要是组蛋白)组成. 1928年，Emil Heitz提出“常染色质”(松散包装、转录活跃的染色质)和“异染色质”(紧密包装、转录不活跃的染色质)的概念，揭示染色质的功能多样性，初步形成染色质景观的概念. 此后，伴随DNA是遗传物质以及双螺旋结构的发现，认识和解析真核生物的遗传物质成为研究的重点.

作为真核生物遗传物质的主要载体染色质，解析其结构和功能的一项重要技术在早期当首推米勒铺展技术(Miller spreading technique). 囿于传统的显微技术无法看到DNA、染色质和其上的分子事件，1969年细胞生物学家Miller和Beaty[8]开发米勒铺展技术，用于研究染色质结构及其转录和复制等活性. 该方法从细胞核中温和提取染色质将其铺展，辅以重金属染色以增强对比度，在电子显微镜下观察以获得高分辨图像. 通过该技术，研究人员首次发现染色质在天然状态下的清晰图像, 揭示核小体的“串珠状”结构[9]. 基于生物化学对染色质组成蛋白的分离和分析，结合核酸酶酶解分析，1974年，Kornberg和Thomas[10]提出“核小体假说”，认为染色质由DNA缠绕组蛋白形成的重复单元组成. 这一假说基于X射线衍射和生化研究, 显示染色质中规则的“串珠”结构，该假说进一步被Olins和Olins[11]分别通过电子显微镜观察到染色质的“串珠状”结构所支持(图1A).

Miller铺展技术至今仍是染色质研究中的经典方法, 并启发其他先进成像技术的发展, 如冷冻电子显微镜技术(cryo-electron microscopy, cryo-EM)和超分辨率显微技术. 此外, 核小体假说的提出, 也促进对核小体结构研究的进展. 1977年，Finch等人[12]结晶了核小体核心颗粒, 并解析其近原子分辨率的结构. 他们发现核小体由146个碱基对的DNA缠绕在组蛋白八聚体(由H2A，H2B，H3和H4各两个拷贝组成)上. 这一发现揭示DNA在细胞核内的包装方式，以及组蛋白在染色质组织中的核心作用. 1997年，Luger等人[13]发表里程碑式核小体结构，揭示核小体内DNA和组蛋白相互作用的分子细节，促进染色质和表观遗传学领域的蓬勃发展.

在DNA复制过程中亲本组蛋白的回收机制，早在20世纪70年代就开始探讨. 早期的研究发现核小体结合在新合成的DNA子链上，亲本核小体组蛋白被回收

https://www.sciengine.com/doi/10.1360/SSV-2024-0306

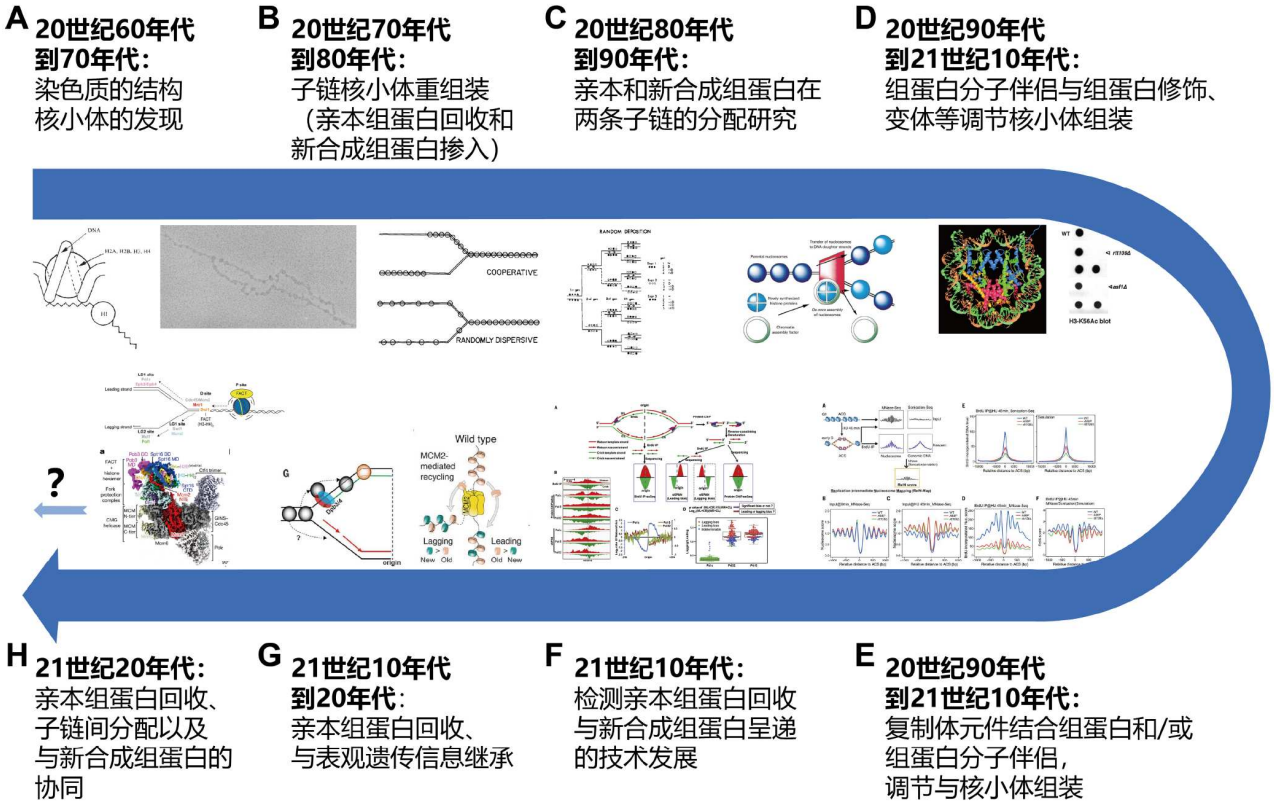

图 1　复制叉处组蛋白介导的表观遗传信息继承研究时间线. 本图概述不同历史时期关于亲本组蛋白回收的研究进展. 图中展示了具有代表性的研究或综述文章中的关键数据和模型示意图. 由于篇幅所限, 无法涵盖所有重要成果, 敬请谅解

Figure 1　Timeline of research on histone-based epigenetic inheritance at the replication fork. The figure presents a historical timeline of key studies on parental histone recycling at the replication fork across different eras. Representative data or model diagrams from landmark studies and reviews are illustrated. Due to space limitations, not all significant contributions can be included, and we sincerely apologize for any omissions

到子链，复制的DNA上会快速恢复染色质结构[14~16]. 1981年，Jackson和Chalkley[17]也发现细胞新合成的两条子链上都结合核小体，而新合成的H3-H4可以长时间地滞留在新合成的DNA上，H2A-H2B只是短暂地停留在新合成的DNA上. 科学家进一步证明亲本组蛋白被分配到两条子链上[18,19]. Jackson[20]还发现新合成的H3-H4以四聚体，H2A-H2B以二聚体的形式组装在DNA上，同时发现新合成的$(H3\text{-}H4)_2$四聚体会和已有的亲本H2A-H2B二聚体形成混合的核小体，暗示亲本组蛋白回收中有不同的结构单元. Sugasawa等人[21]还发现新组装的核小体几乎均等地分配在前导链和滞后链上. 因此, 在这一阶段的研究中, 研究人员的共识是: 一方面亲本核小体组蛋白会被回收，进而通过复制叉区域递送并组装到两条新合成的DNA子链上，另一方面，组蛋白分子伴侣例如CAF-1会把新合成的组蛋白H3-H4组装到两条子链上，保证两条子链被亲本和新合成组蛋白一起保护[22](图1B和C). 然而, 关于亲本组蛋白的追踪, 囿于技术手段分辨率有限, 对于亲本组蛋白回收的研究逐渐沉寂下来.

随着新合成组蛋白的特异修饰被发现和表观遗传学领域的蓬勃发展，新合成组蛋白呈递机制的研究日益受到关注[23~26]. 新合成组蛋白的呈递机制的解析，伴随着对组蛋白分子伴侣的分离和纯化，组蛋白分子伴侣对组蛋白修饰和组蛋白变体的特异性识别，以及组蛋白分子伴侣和DNA复制体元件的相互作用以偶联DNA复制和新生链上的核小体组装(图1D和E). 1989年，Stillman实验室[27]纯化和鉴定出第一个DNA复制叉上的新合成组蛋白分子伴侣，染色质组装因子CAF-1 (chromatin assembly factor 1). CAF-1从酵母到哺乳动物细胞都非常保守[28]. 鉴于CAF-1在芽殖酵母中并不必需，暗示其他组蛋白分子伴侣参与了新组蛋白的呈递. Zhang实验室[29]和李晴实验室[30]先后发现

https://www.sciengine.com/doi/10.1360/SSV-2024-0306

组蛋白分子伴侣Rtt106和FACT都参与DNA复制偶联的核小体组装, 表明多个组蛋白分子伴侣协作完成新组蛋白的呈递和组装. FACT的功能在哺乳动物也非常保守[31]. 除组蛋白分子伴侣, 组蛋白修饰和变体的识别也非常重要. 例如, 哺乳动物中CAF-1主要识别H3.1-H4变体[32]. 另外, 新合成组蛋白H4尾巴上通常带有乙酰化修饰(H4K5,8,12ac)[33]. 除组蛋白尾巴上的修饰, 组蛋白球形区域的修饰也直接调节DNA复制偶联的核小体组装, 例如发生在H3赖氨酸56位乙酰化修饰(H3K56ac), 主要发生在新合成组蛋白上, 李晴实验室[30]和Zhang实验室[34,35]发现H3K56ac作为新合成组蛋白修饰, 可以促进CAF-1, Rtt106和FACT等分子伴侣识别新合成组蛋白, 呈递到复制叉上. 最后, 组蛋白分子伴侣携带新组蛋白需要呈递到复制叉上. Shibahara和Stillman[36]以及Zhang等人[37]发现CAF-1和PCNA(复制叉上DNA聚合酶的滑动夹蛋白)有相互作用, 是偶联CAF-1介导的新组蛋白呈递和组装的基础; 李晴实验室[38]发现组蛋白分子伴侣CAF-1, Rtt106和FACT都可以通过组蛋白H3-H4促进其和复制叉上的单链DNA结合蛋白RPA存在相互作用, 促进DNA复制偶联的核小体组装. 上述研究表明, 组蛋白修饰、组蛋白分子伴侣和复制体元件都主动参与调节DNA复制偶联的核小体组装.

2 复制体元件参与亲本组蛋白回收

得益于近年来冷冻电子显微镜技术的进步和结构生物学的迅速发展, 结合体外重组、遗传筛选等方法, 真核生物DNA复制体的组成和结构日益清晰. 鉴于真核生物复制体的保守性和以酵母为研究模式进展的突出性, 本文重点以酵母为例, 描述复制体的结构和其对亲本组蛋白回收的调节. 位于复制叉上的DNA复制体作为操纵DNA复制的主要机器, 由几十个亚基组成, 其核心是CDC45-$MCM_{2\text{-}7}$-GINS (CMG)解旋酶复合物, 主要负责把亲本双链DNA解开形成两条单链DNA, 作为模板合成两条子链DNA. 同时CMG复合物也作为DNA复制锚点, 结合许多与DNA复制相关的因子, 包括前导链DNA聚合酶Pol ε复合物, 与滞后链合成相关的Ctf4, Pol α引发聚合酶复合物, 以及复制叉前端的复制叉保护复合物(Mrc1, Csm3和Tof1)等. 在CMG解旋酶作用下, 滞后链的前端常常观察到ssDNA, 被ssDNA结合蛋白RPA结合, Pol α在ssDNA上生成引物, PCNA被招募单－双链位置, 进而继续招募DNA Pol δ合成冈崎片段[39,40].

2013年, Labib实验室[41]通过在酵母提取物中系统筛选和组蛋白相互作用的复制体元件, 发现Mcm2和FACT协同作用结合从染色质释放的组蛋白, 并且鉴定Mcm2的N端结构域含有一个组蛋白结合区域, 这一发现很重要, 重启关于对亲本组蛋白回收机制的研究. 2015年, Patel和Groth合作解析体外重构的Mcm2-HBD-$(H3\text{-}H4)_2$的复合物结构, 发现两分子的Mcm2-HBD结合$(H3\text{-}H4)_2$四聚体, 一对伸展的Mcm2-HBD结构域包裹在$(H3\text{-}H4)_2$四聚体的外侧表面, 占据通常核小体DNA的结合位点[42]. 最重要的是, 在内源纯化的复制体结构中, 翟元樑、高宁和李晴等人发现FACT的Spt16亚基的CTD结构域稳定H2A-H2B二聚体与$(H3\text{-}H4)_2$四聚体的结合, 而空缺的另一个H2A-H2B位点被Mcm2-HBD结构域占据[43]. 这种MCM2独特的组蛋白结合模式赋予复制解旋酶在DNA复制过程中基因组水平回收组蛋白的理想特性. 体外研究表明, 在SV40系统中, 核小体通过DNA复制被回收, 和其原始位置相关性不强; 然而在非洲爪蟾提取物中, 通过DNA复制大部分的核小体(组蛋白H3和H4)仍保留在其起始位置附近[44]. 两个体系的区别在于前者的解旋酶是来自病毒的T-antigen, 后者是MCM解旋酶. 这些结果表明, 真核细胞的复制体元件参与亲本组蛋白回收, 该机制帮助回收的亲本核小体保留在其原始位置, 实现亲本表观信息的继承. 与此相一致, 李晴实验室[45]研究表明, 组蛋白分子伴侣FACT通过Spt16-N端结构域与复制体相互作用, 促进形成FACT-histones-Mcm2-HBD复合物, 保证组蛋白H3-H4原位回收的效率.

此外, 检测技术的发展, 尤其是定量质谱和链特异性测序等技术大大促进重启亲本组蛋白回收的研究(图1F). 关于技术的进步, 更详细的细节可以参考Li和Zhang[46]的最近综述. 2010年, Sarkies等人[47]发现DNA复制是亲本组蛋白回收的基础. 如果DNA复制和亲本组蛋白回收脱钩, 会导致局部表观遗传信息的改变, 表明亲本组蛋白的有效回收是建立正确表观遗传信息的基础. 同年, 朱冰实验室利用定量质谱技术证明在哺乳动物细胞系中, 亲本组蛋白H3.1和H3.3形成的$(H3\text{-}H4)_2$四聚体在DNA复制中不会被分解为二聚体, 而是主要以四聚体的形式被回收[48]. 近年来, Groth实验

https://www.sciengine.com/doi/10.1360/SSV-2024-0306

室[49]应用联合新生染色质捕捉技术和稳定同位素标记氨基酸细胞培养技术发现亲本组蛋白携带的翻译后修饰可以通过DNA复制传递到新合成的子链上，甲基化修饰被新合成的组蛋白稀释到原来水平的一半，而后组蛋白修饰在一个细胞周期中恢复到原来水平．朱冰实验室[50]也使用稳定同位素标记和定量质谱发现组蛋白的甲基化水平在S期降低, 亲本组蛋白和新掺入的新合成组蛋白的甲基化存在明显差异，但整体组蛋白的甲基化水平在随后的细胞周期中逐渐恢复．Groth[51]实验室应用ChOR-seq (chromatin occupancy after replication sequencing)发现亲本组蛋白回收保留组蛋白修饰, 而且这些亲本组蛋白修饰是稳定的, 可以被子代细胞继承并恢复到原来水平. Danny Reinberg实验室应用“CRISPR-生物素标记技术”追踪特定区域亲本组蛋白回收，发现在沉默染色质区域的亲本组蛋白随着DNA复制基本原位回收，在活跃染色质区域的亲本组蛋白则在较大范围内回收，细胞命运改变会导致亲本核小体回收位置的调整，反映染色质结构的相应变化[52]．Rine实验室[53]和朱冰实验室[54]也独立发现酵母细胞中DNA复制过程中亲本组蛋白是原位回收的, 而且DNA复制体元件Mcm2和Dpb3在此过程中是必需的．雄性果蝇的生殖干细胞具有独特的解剖位置与形态特征，其分裂则是典型的不对称模式，一个生殖干细胞经过不对称分裂后会形成一个保持干性的生殖干细胞与一个进行分化的原始生殖细胞．2012年，Chen实验室[55,56]利用荧光标记的方法观察到在雄性果蝇的生殖干细胞的不对称分裂过程中，亲本组蛋白H3-H4基本保留在果蝇的生殖干细胞中，新合成的组蛋白H3-H4主要分配到分化的子代细胞中．该团队进一步报道在果蝇生殖干细胞分化过程中亲本组蛋白在DNA复制时优先分配到前导链，而新合成的组蛋白则富集在滞后链上[57]，在果蝇肠道干细胞和雌性生殖干细胞中两个子细胞在与维持干细胞状态或促进分化相关的关键基因上继承不同的组蛋白，但在组成型活性或沉默基因上没有[58,59]. 这些研究表明, 亲本组蛋白是原位回收, 不仅维持染色质景观, 而且作为掺入的新合成的组蛋白修饰模板, 指导新合成组蛋白修饰, 为下一次细胞分裂作准备; 此外, 亲本组蛋白在复制中两条子链的分配机制对于亲本表观信息继承和细胞命运决定是非常重要的.

2014年，Zhang实验室[60,61]开发的eSPAN (enrichment and sequencing of protein associated nascent strand DNA)技术，在复制区域分析子链特异性的蛋白分布，推动亲本组蛋白回收进入一个新高潮．eSPAN是基于染色质免疫沉淀和二代测序的技术，能够检测复制叉上蛋白倾向于结合前导链或滞后链．2018年他们将该方法应用于组蛋白翻译后修饰的研究，以H3K56ac作为新合成组蛋白的标记，H3K4me3作为亲本组蛋白标记, 研究组蛋白的分配[62]. 类似的分析方法也在哺乳动物细胞成功建立[63,64](图1F和G).

基于eSPAN技术, 2018年Zhang实验室[65]在芽殖酵母发现Mcm2-Ctf4-Pol α形成轴, 协助亲本组蛋白呈递到滞后链上．同时，Groth实验室通过SCAR-Seq方法(sister chromatids after replication sequencing)在小鼠胚胎干细胞得到相同的结论：MCM2结合组蛋白并将其递送到滞后链[64]．Zhang实验室[63]发现在小鼠胚胎干细胞中DNA引发-聚合酶Pol α可以和组蛋白H3-H4发生直接相互作用，和酵母细胞一致，调节亲本组蛋白H3-H4向滞后链回收．DNA聚合酶Pol ε的两个亚基POLE3-POLE4在哺乳动物细胞中被检测出具有组蛋白分子伴侣活性, 体外实验表明POLE3-POLE4可以诱导八聚体核小体形成，体内可以结合亲本和新合成的组蛋白，保障染色质的复制[66]．2018年，Zhang实验室[62]发现在酵母中对应的两个亚基Dpb3与Dpb4的单基因敲除均会造成亲本组蛋白更多地分布在滞后链上，揭示DNA Pol ε调节亲本组蛋白递送到前导链．Zhang实验室[67]还发现亲本组蛋白H3.3和H3.1共享一套回收途径，即Mcm2-Pol α负责递送到滞后链，Pole3-Pole4负责递送到前导链．此外，巩志忠实验室在拟南芥中发现复制体必需蛋白AtMCM10可以直接结合组蛋白H3-H4，*Atmcm10*突变使得H3.1丰度和H3K27me1/3修饰水平下降，部分转座子丧失沉默特性，暗示MCM10也极有可能参与亲本组蛋白回收[68]．上述研究表明，复制体若干亚基都存在与组蛋白相互作用的能力，参与调节亲本组蛋白在复制叉的回收和递送，这样的机制保障调节基因组表达的表观信息正确继承, 维持基因组稳定性.

3　复制叉前沿FACT和复制叉保护复合物回收亲本组蛋白的分子机制

组蛋白分子伴侣在组蛋白回收中发挥着不可或缺

https://www.sciengine.com/doi/10.1360/SSV-2024-0306

的作用. 自Labib实验室[41]发现组蛋白分子伴侣FACT和Mcm2可以共同结合染色质释放的组蛋白后, Diffley实验室[69]进一步在体外重组的复制体系发现, 如果用核小体DNA作为模板, 必须在FACT存在的情况下才可以进行DNA合成, 暗示FACT对模板核小体解组装的必要性. 李国红实验室[70]通过单分子磁镊等技术手段发现FACT既能破坏核小体的稳定性以推进复制或转录进程, 也参与维持核小体完整性, SPT16能够替换组蛋白H2A-H2B二聚体从而干扰核小体的外层包裹, 使其结构变得不稳定. SSRP1-HMG则通过保持DNA上的组蛋白$(H3\text{-}H4)_2$四聚体来维持内层包裹, SSRP1还能够促进组蛋白H2A-H2B的回收. 此外, 李晴实验室[71]也发现FACT在异染色质建成和维持中很重要, 进一步提供FACT直接参与亲本组蛋白回收的证据. 朱冰实验室[54]也发现Asf1和FACT对于原位回收亲本组蛋白很重要.

为检测FACT在亲本组蛋白在复制叉回收的作用机制, 李晴实验室[45]通过eSPAN分析系列FACT突变体. 在Spt16快速降解条件下, 发现两条子链的亲本组蛋白回收都受到显著影响, 并且亲本组蛋白分配在两条子链没有偏好, 暗示FACT同时贡献于两条子链. 进一步分析Spt16结合组蛋白H3-H4有缺陷的突变体, 发现类似的表型, 说明Spt16的组蛋白结合能力贡献于亲本组蛋白回收, 但是不决定两条链的分配. 有趣的是, 李晴实验室[45,72]研究表明FACT的大亚基Spt16的N端可以作为一个蛋白-蛋白相互作用结构域, 帮助FACT和DNA复制和转录中的相关元件相互作用. Duderstadt实验室[73]体外实验发现Spt16的N端和复制叉保护复合物亚基Tof1的C端相互作用. 值得注意的是, 在Spt16的N端缺失(*spt16-ΔN*)突变体进行亲本组蛋白eSPAN分析, 发现亲本组蛋白的链间分配明显失衡, 呈现显著的前导链偏好和滞后链缺陷, 说明Spt16和复制体的相互作用对决定亲本组蛋白的递送方向非常重要[45].

为分析亲本组蛋白回收的分子机制, 经过长期探索, 翟元梁、高宁、李晴和Tye实验室合作从酵母细胞纯化内源复制体复合物, 捕获到含有亲本组蛋白回收的瞬间, 解析其高分辨结构, 进而阐明亲本组蛋白在复制叉处的递送机制[43](图2A~C). 在该复合物中, 发现FACT与亲本DNA双链结合, 通过Spt16的中间结构域(MD)和酸性羧基末端结构域(CTD)捕获解开的组蛋白六聚体. 其中, CTD结构域稳定H2A-H2B二聚体与$(H3\text{-}H4)_2$四聚体的结合, 而空缺的另一个H2A-H2B位点被Mcm2的组蛋白结合结构域(histone binding domain, HBD)占据(图2D~F). Mcm2-HBD上游缠绕在一个H3-H4二聚体的整个DNA结合面上, 并延伸穿过H3-H4四聚体的四聚化界面, 终止于Spt16-MD的结合位点(图2D~F). 值得注意的是, 这是一个往滞后链递送的瞬间, 这种作用机制使得另一个H3-H4二聚体的DNA结合表面暴露, 暗示其有助于后继过程中亲本组蛋白在分子伴侣间的递送以组装入子链. 与此发现一致, 许瑞明课题组应用电子晶体学方法解析体外重组的人源Spt16-histones-Mcm2-HBD复合物结构, 也发现FACT大亚基Spt16的MD-CTD结构域、MCM2-HBD结构域和六聚体组蛋白形成稳定复合物, 其结构特点与酵母内源复合物完全一致[74]. 此外, 体外重组的人源Mcm2-HBD和组蛋白H3-H4四聚体复合物结构表明, Mcm2-HBD通过α2螺旋伸入MCM2-HBD-(H3-H4)复合物的内部和H4的α2-α3螺旋发生相互作用, 类似H2B的α1-α2螺旋和H4的α2-α3螺旋的相互作用[42]. 这些结果表明, FACT和Mcm2-HBD合作一起捕获亲本组蛋白在机制上是保守的.

此外, 在复制叉前端, 复制体结构也展示出复制叉保护复合物(fork protection complex, FPC)直接参与亲本组蛋白的回收和递送过程[43,73,75~77]. Mrc1/CLASPIN, Tof1/TIMELESS和Csm3/TIPIN形成FPC, 酵母中是Mrc1, Tof1和Csm3, 对应哺乳动物细胞的CLASPIN, TIMELESS和TIPIN[78~80]. Mrc1/CLASPIN被定义为DNA复制期检查点中一个重要的中介蛋白[79,81~83]. 在捕获的酵母内源复制体结构中发现, Tof1和Csm3形成一个新月形环状结构坐落在Mcm2-7复合物N端环之前, 为FACT-hexamer-Mcm2提供一个接合平台(图2A~C). 利用eSPAN分析表明, Tof1和Mcm2的相互作用对于亲本组蛋白往滞后链的递送非常重要[43].

遗憾的是, Mrc1亚基因其结构的无序性, 在此结构中只能看到一小段(图2A和B). 然而, 最近三篇研究同时报道在芽殖酵母中、裂殖酵母和哺乳动物Mrc1的C端鉴定到一个含有组蛋白H3-H4结合结构域的区域[75~77]. 李晴和Danesh Moazed实验室合作通过深度人工智能学习发现酿酒酵母的Mrc1的C端Mrc1-Like结构域(氨基酸701-837)和组蛋白H3-H4四聚体形成相互作用, 具有高置信度得分. Mrc1-Like结构域(α1-3)中的

https://www.sciengine.com/doi/10.1360/SSV-2024-0306

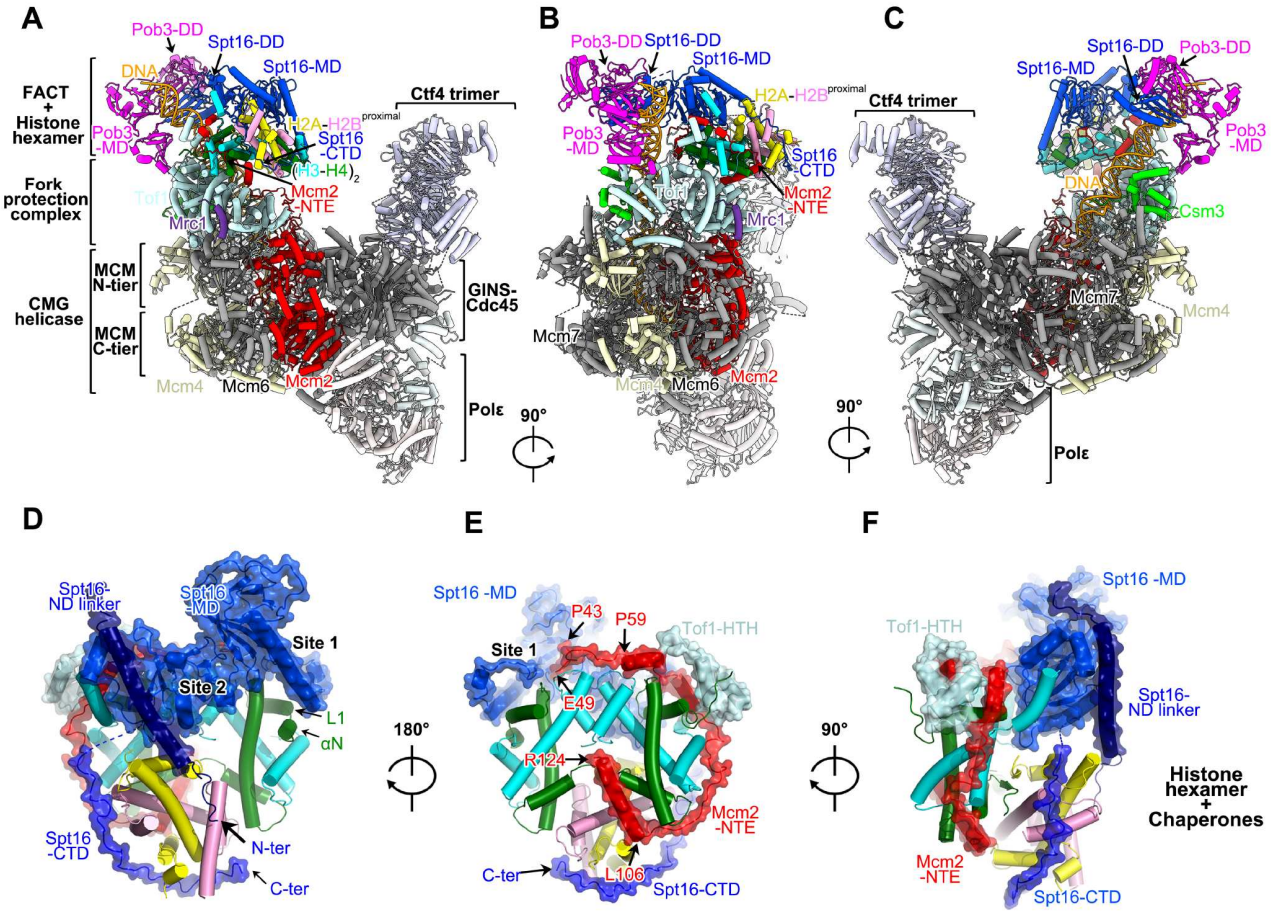

图 2　冷冻电子显微镜解析的含亲本组蛋白的酵母内源复制体复合物高分辨结构. A~C: 圆柱原子模型展示三种代表性复制体复合物的冷冻电子显微镜图, 其中包含稳定结合的 FACT-组蛋白复合物. MCM亚基, Ctf4, Tof1, Csm3, Mrc1, Spt16, Pob3和组蛋白均按照颜色编码并标注; D~F: 示意图展示复制叉处捕获的组蛋白-分子伴侣-复制体组件复合物, 形成组蛋白回收模块. Spt16, Mcm2和Tof1的表面示意图分别叠加在三个不同视图中, 以直观呈现其空间布局. C: C端; N: N端; ND linker: Spt16 NTD-DD 接头; site1/2: Spt16-MD 结合位点1/2. 图片修改自文献[43], 已获得Springer Nature的版权许可

Figure 2　Cryo-EM analysis of yeast endogenous replisome complex containing parental histones. A–C: Cylindrical atomic models showing cryo-EM views of three representative replisome complexes from different viewing angles with stably associated FACT-histone complexes. MCM subunits, Ctf4, Tof1, Csm3, Mrc1, Spt16, Pob3, and histones are color-coded and labeled accordingly; D–F: schematic illustrations depicting the histone chaperone-histone-replisome complexes captured at the replication fork from different viewing angles, forming a histone recycling module. The surface representations of Spt16, Mcm2, and Tof1 are overlaid in three different views to highlight their spatial arrangement. C: C-terminus; N: N-terminus; ND linker: Spt16 NTD-DD linker; site1/2: Spt16-MD binding sites 1/2. Adapted from ref. [43] with copyright permission from Springer Nature

三个α螺旋形成一个支架, 以不对称的方式包裹组蛋白H3-H4四聚体, 预测Mrc1-Like结构域的α1和α3结合在H3-H4四聚体中的每一个二聚体上, 并且中间的α2螺旋会同时与两个H4亚基相互作用(图3). 这种独特的相互作用界面允许单个Mrc1-Like结构域结合整个H3-H4四聚体, Mrc1-Like结构域的静电表面还与核小体DNA、H2B-α2和H2A的C末端尾部相似, Mrc1-Like结构域模拟核小体特征的方式与H3-H4四聚体结合, 导致Mrc1和核小体的复合物中核小体DNA和至少一个H2A-H2B二聚体被置换, 这个和已经结构解析发现的亲本核小体以六聚体的方式回收类似[43,75]. 这种Mrc1-Like结构域结合H3-H4四聚体的方式有助于稳定H3-H4的四聚体, 保障在DNA复制偶联的核小体组装中H3-H4四聚体稳定, 促进表观遗传信息的正确继承[75]. 值得注意的是, Mrc1-Like结构域不但贡献于亲本组蛋白往滞后链的递送, 也同时贡献于其往前导链的递送.

https://www.sciengine.com/doi/10.1360/SSV-2024-0306

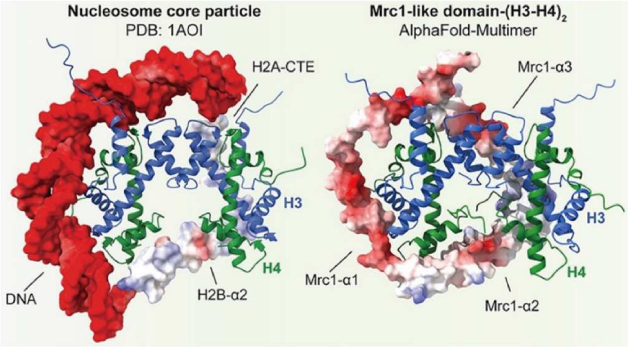

图 3 裂殖酵母Mrc1-Like结构域和(H3-H4)$_2$之间的相互作用界面预测。核小体核心颗粒的晶体结构(左)与AlphaFold-Multimer 预测的Mrc1-Like结构域-(H3-H4)$_2$四聚体的预测结构(右)的比较。图片修改(引用)自文献[75], 已获得Elsevier版权许可

Figure 3 Predicted interaction interface between the fission yeast Mrc1-like domain and (H3-H4)$_2$ by AlphaFold-Multimer. Comparison of the crystal structure of the nucleosome core particle (left) with the predicted structure of the Mrc1-Like domain-(H3-H4)$_2$ tetramer complex (right). Adapted (reproduced) from ref. [75] with copyright permission from Elsevier

考虑到该区段不但贡献于Mrc1和组蛋白H3-H4的结合, 也影响Mrc1和Mcm2以及其他复制体中非组蛋白组分的结合, 因此, 本文认为, 亲本组蛋白递送的方向不但受其组蛋白分子伴侣与组蛋白的结合能力调节, 也受复制体整体构象的影响.

综上, 组蛋白分子伴侣FACT直接参与亲本组蛋白的回收, 并同时贡献于两条子链的亲本组蛋白的递送[41,45,73,75,84~86]: Spt16 (FACT大亚基)的N端锚定复制体元件保障亲本组蛋白回收, Spt16的N端结构域可以保护FACT捕获的亲本组蛋白, 保护其不被随意释放, Spt16 MD-CTD结构域可以结合H3-H4四聚体, 也可以结合H2A-H2B二聚体, 保障其结合多种组蛋白模块; 在FACT结合到复制体元件时, 如Mcm2-7复合物, Tof1, Mrc1, DNA聚合酶α和RPA等, 组蛋白促进其形成FACT-组蛋白-复制体元件组成单元. 考虑到FACT作为分子伴侣相对比较灵活, 而复制体的组分在复制叉相对位置比较固定, FACT和Mcm2, Mrc1以及其他复制组分一起形成一个伴侣网络, 协调完整的亲本组蛋白尤其是H3-H4四聚体向新复制的DNA的转移[75~77]. 基于此, 本文提出, FACT作为穿梭分子伴侣(shuttle), 携带亲本组蛋白, 和复制体组分相互作用, 形成FACT (shuttle chaperone)-histones-replisome components (guiding chaperones)这样的组合单元, 调节新本组蛋白回收(图4). 在复制叉前沿, FACT与FPC的Tof1亚基相互作用与解离DNA的亲本六聚体核小体结合, 随后和Mcm2相互作用, 形成FACT-Tof1-六聚体核小体-Mcm2复合物, 使得亲本组蛋白以六聚体的形式被Mcm2捕获, 将亲本组蛋白回收到滞后链. 而Mrc1和FACT相互作用回收亲本组蛋白, 可以和Mcm2协同作用, 一方面转移到Ctf4-Polα和Polδ等, 促进在滞后链上组装核小体. 另一方面, FACT和Mrc1相互作用也可能将亲代组蛋白传递给前导链聚合酶亚基Dpb3-Dpb4, 促进在前导链上组装核小体. 值得一提的是, 在两条子链上, 前导链聚合酶亚基Dpb3-Dpb4和滞后链聚合酶亚基Pol32都可以直接结合组蛋白H3-H4, 又分别可以跟各自聚合酶大亚基发生相互作用, 其行为更像穿梭伴侣(shuttle chaperone). 在将来, 进一步研究亲本组蛋白在复制体组分间的递送机制会明晰组蛋白的传递路径(图1H).

4 亲本组蛋白回收模块和染色质景观维持

最近的系列围绕Mrc1研究表明, Mrc1调节亲本组蛋白在复制叉的回收功能对于异染色质的沉默非常重要[75~77], 为亲本组蛋白尤其是H3-H4回收维持染色质景观提供重要例子. 2023年, Groth实验室通过定量组学的手段测量小鼠胚胎干细胞的细胞周期中H2A-H2B修饰与H2A.Z的动态变化, 发现在复制过程中H2AK119ub1, H2BK120ub1与H2A.Z都得以回收, 携带修饰的H2A-H2B被对称地分配到两条子链上, H2AK119ub1还参与调节复制后H3K27me3的重建, 揭示复制过程中组蛋白H2A-H2B通过回收能够建立短期的表观记忆[87]. 同年, Zhang实验室[88]发现细胞S期H3K9me3非对称递送, 优先递送到前导链, 这个过程也是由Pol ε亚基(POLE3和POLE4)介导的, 同时HUSH复合物(MPP8和TASOR)参与调节这个过程, 猜测是前导链的复制方向和LINE的转录方向同向, 需要更多的H3K9me3修饰来抑制其转录. 这些结果暗示亲本组蛋白回收模块和分配机制在不同染色质区域可能存在调节.

早期研究表明, 通常而言, 核小体组装过程是分步组装的: 首先是(H3-H4)$_2$四聚体被dsDNA包裹形成前核小体, 继而两组H2A-H2B二聚体分别加到前核小体的两侧形成完整核小体. 相较于(H3-H4)$_2$四聚体, 核小

https://www.sciengine.com/doi/10.1360/SSV-2024-0306

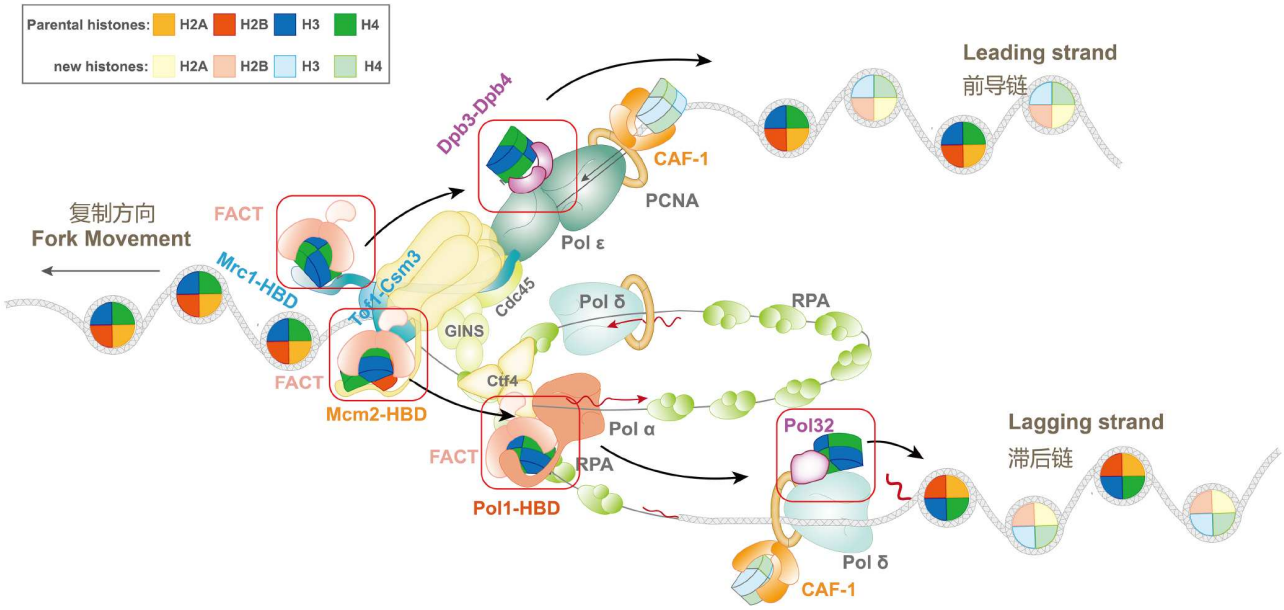

图 4　亲本组蛋白回收机制模式图. 在DNA复制偶联的亲本组蛋白回收过程中, 组蛋白分子伴侣协同多种复制体元件完成复制叉前解组装, 复制叉前回收, 复制叉上递送, 最终新合成子链DNA上组装. 在这个过程中经典的组蛋白分子伴侣, 如FACT, 携带回收的组蛋白, 与复制叉上的不同复制体元件发生相互作用, 形成三元复合物, 以保证亲本组蛋白锚定在复制叉区域. 我们将FACT称之为穿梭伴侣, 而多种具有组蛋白结合结构域的复制体元件, 它们锚定在复制体的不同位置, 指引回收组蛋白递送的流向, 被称为引导伴侣(guiding-chaperone), 这样由穿梭伴侣-组蛋白-引导伴侣(shuttle chaperone-histones-guiding chaperone)组成亲本组蛋白回收模块(parental histone recycling module, PHRM)完成亲本组蛋白回收、递送和组装. 红色方块表示不同的回收模块. 需要注意的是, 在两条子链上, 前导链聚合酶亚基Dpb3-Dpb4和滞后链聚合酶亚基Pol32都可以直接结合组蛋白H3-H4, 又分别可以跟各自聚合酶大亚基发生相互作用, 其行为更像穿梭伴侣

Figure 4　Model of parental histone recycling mechanism. In the DNA replication-coupled parental histone recycling process, histone chaperones work together with various replisome components to complete the processes of nucleosome disassembly, parental histone recycling, transfer at the replication fork, and reassembly nucleosome on newly synthesized daughter strand DNA. In this process, classical histone chaperones, such as FACT, carry recycled histones and interact with different replisome components at the replication fork to form ternary complexes, ensuring that parental histones are anchored in the fork region. We refer to FACT as the shuttle chaperone, while multiple replisome components with histone-binding domains, which anchor at different locations of the replisome and guide the direction of histone transfer, are termed guiding chaperones. Together, the shuttle chaperone-histones-guiding chaperone forms the PHRM to complete the recycling, transfer, and assembly of parental histones. Red squares indicate different recycling modules. It is noteworthy that on daughter strands, the leading strand polymerase subunits Dpb3-Dpb4 and lagging strand polymerase subunit Pol32 can directly bind histone H3-H4 and interact with their respective polymerase catalytic subunits, behaving more like shuttle chaperones

体中H2A-H2B二聚体是动态的, 容易从核小体中解离, 但是其携带的表观修饰对于基因的表达和基因组稳定也不可或缺. 在捕获的内源复制体复合物中发现亲本组蛋白以六聚体($(H3-H4)_2$-(H2A-H2B))的形式被Spt16和Mcm2捕获[43]. 人源Mcm2-HBD和Spt16的体外重构也支持六聚体结合模型[74]. 因此, 尽管体外重组的Mcm2-HBD和组蛋白H3-H4可以形成双Mcm2-HBD缠绕一个H3-H4四聚体模型[42], 考虑到复制叉前沿通常只存在一个Mcm2-HBD, 而单Mcm2-HBD和H3-H4四聚体结合界面与其他两个复合物模型中基本一致, 都是Mcm2-HBD围绕在H3-H4四聚体外侧, 其中Mcm2的α2 α螺旋伸入MCM2-HBD-H3-H4复合物的内部和H4的α2-α3螺旋发生相互作用, 类似H2B的α1-α2螺旋和H4的α2-α3螺旋的相互作用, 在FACT充足的情况下, 在细胞内六聚体递送可能比较常见. 这种方式不仅保证了核小体核心组蛋白$(H3-H4)_2$携带表观信息被完整回收, 也保证亲本核小体的其中一个H2A-H2B二聚体被准确回收. Groth实验室[87]也发现H2A-H2B的修饰和变体在复制后很快恢复, 而且H2AK119ub1指导H3K27me3精确快速恢复. 考虑到H2A-H2B在核小体中非常动态的特点, 这些观察暗示亲本组蛋白在复制叉的回收对于染色质景观重建和基因表达调控是可能受染色质环境影响的, 也进一步暗示亲本组蛋白回收模块调节的重要性.

https://www.sciengine.com/doi/10.1360/SSV-2024-0306

综上所述, 亲本组蛋白携带丰富的表观信息, 和基因表达、细胞命运决定、个体发育和肿瘤等疾病密切相关, 因此DNA复制偶联的染色质重建过程中亲本组蛋白的高效准确回收对于表观信息的继承是一个重要的保障. 复制叉上亲本组蛋白的回收是一个十分复杂的问题, 经过近半个世纪的努力, 已有的工作建立亲本组蛋白的回收轮廓, 组蛋白分子伴侣如FACT和若干复制体组分发挥不可或缺的作用. 这些分子伴侣与组蛋白的结合不但保障了原位回收, 同时对亲本组蛋白在子链的分配也很重要. 当然, FACT和FPC复合物相互作用如何协同亲本组蛋白分配到前导链和滞后链目前尚不清楚, 关注重点是FACT-Mrc1相互作用回收亲本组蛋白到前导链和滞后链的分配机制, 这个作用是冗余的还是与其他复制体元件协同作用的. 此外, 组蛋白六聚体以及H3-H4四聚体回收单元的发现也为解析不同染色质环境下调节亲本组蛋白回收单元机制、助力于表观遗传景观重建提供新的启发. 后续的研究还应该关注: (1) 不同组蛋白修饰以及其他表观遗传修饰(如DNA甲基化和染色质RNA及修饰等)协同回收和重建染色质景观的作用机制; (2) 组蛋白H3-H4的回收和H2A-H2B回收是否存在协同机制; (3) 亲本组蛋白和新合成组蛋白分配“双平衡”协同的分子机制; (4) 亲本组蛋白回收和新组蛋白掺入对染色质景观重建的调节机制及其对发育的影响等.

参考文献

1 Du W, Shi G, Shan C M, et al. Mechanisms of chromatin-based epigenetic inheritance. Sci China Life Sci, 2022, 65: 2162–2190

2 González-Garrido C, Prado F. Parental histone distribution and location of the replication obstacle at nascent strands control homologous recombination. Cell Rep, 2023, 42: 112174

3 Mühlen D, Li X, Dovgusha O, et al. Recycling of parental histones preserves the epigenetic landscape during embryonic development. Sci Adv, 2023, 9: eadd6440

4 Wenger A, Biran A, Alcaraz N, et al. Symmetric inheritance of parental histones governs epigenome maintenance and embryonic stem cell identity. Nat Genet, 2023, 55: 1567–1578

5 Xu X, Hua X, Brown K, et al. Mcm2 promotes stem cell differentiation via its ability to bind H3-H4. eLife, 2022, 11: e80917

6 Wen Q, Zhou J, Tian C, et al. Symmetric inheritance of parental histones contributes to safeguarding the fate of mouse embryonic stem cells during differentiation. Nat Genet, 2023, 55: 1555–1566

7 Tian C, Zhou J, Li X, et al. Impaired histone inheritance promotes tumor progression. Nat Commun, 2023, 14: 3429

8 Miller O L, Beatty B R. Visualization of nucleolar genes. Science, 1969, 164: 955–957

9 Miller OL Jr, Hamkalo B A. Visualization of RNA synthesis on chromosomes. Int Rev Cytol, 1972, 33: 1–25

10 Kornberg R D, Thomas J O. Chromatin structure: oligomers of the histones. Science, 1974, 184: 865–868

11 Olins D E, Olins A L. Chromatin history: our view from the bridge. Nat Rev Mol Cell Biol, 2003, 4: 809–814

12 Finch J T, Lutter L C, Rhodes D, et al. Structure of nucleosome core particles of chromatin. Nature, 1977, 269: 29–36

13 Luger K, Mäder A W, Richmond R K, et al. Crystal structure of the nucleosome core particle at 2.8 Å resolution. Nature, 1997, 389: 251–260

14 McKnight S L, Miller O L. Electron microscopic analysis of chromatin replication in the cellular blastoderm *Drosophila* melanogaster embryo. Cell, 1977, 12: 795–804

15 Weintraub H. Cooperative alignment of nu bodies during chromosome replication in the presence of cycloheximide. Cell, 1976, 9: 419–422

16 Seale R L. Studies on the mode of segregation of histone nu bodies during replication in HeLa cells. Cell, 1976, 9: 423–429

17 Jackson V, Chalkley R. A new method for the isolation of replicative chromatin: selective deposition of histone on both new and old DNA. Cell, 1981, 23: 121–134

18 Cusick M E, DePamphilis M L, Wassarman P M. Dispersive segregation of nucleosomes during replication of simian virus 40 chromosomes. J Mol Biol, 1984, 178: 249–271

19 Jackson V, Chalkley R. Histone segregation of replicating chromatin. Biochemistry, 1985, 24: 6930–6938

20 Jackson V. Deposition of newly synthesized histones: hybrid nucleosomes are not tandemly arranged on daughter DNA strands. Biochemistry, 1988, 27: 2109–2120

21 Sugasawa K, Ishimi Y, Eki T, et al. Nonconservative segregation of parental nucleosomes during simian virus 40 chromosome replication *in*

https://www.sciengine.com/doi/10.1360/SSV-2024-0306

vitro. Proc Natl Acad Sci USA, 1992, 89: 1055–1059
22 Krude T. Chromatin assembly during DNA replication in somatic cells. Eur J Biochem, 1999, 263: 1–5
23 Hyland E M, Cosgrove M S, Molina H, et al. Insights into the role of histone H3 and Histone H4 core modifiable residues in *Saccharomyces cerevisiae*. Mol Cell Biol, 2005, 25: 10060–10070
24 Masumoto H, Hawke D, Kobayashi R, et al. A role for cell-cycle-regulated histone H3 lysine 56 acetylation in the DNA damage response. Nature, 2005, 436: 294–298
25 Li Q, Burgess R, Zhang Z. All roads lead to chromatin: multiple pathways for histone deposition. Biochim Biophys Acta, 2012, 1819: 238–246
26 Burgess R, Zhang Z. Histone chaperones in nucleosome assembly and human disease. Nat Struct Mol Biol, 2013, 20: 14–22
27 Smith S, Stillman B. Purification and characterization of CAF-I, a human cell factor required for chromatin assembly during DNA replication *in vitro*. Cell, 1989, 58: 15–25
28 Kaufman P D, Kobayashi R, Kessler N, et al. The p150 and p60 subunits of chromatin assemblyfactor I: a molecular link between newly synthesized histories and DNA replication. Cell, 1995, 81: 1105–1114
29 Huang S, Zhou H, Katzmann D, et al. Rtt106p is a histone chaperone involved in heterochromatin-mediated silencing. Proc Natl Acad Sci USA, 2005, 102: 13410–13415
30 Yang J, Zhang X, Feng J, et al. The histone chaperone FACT contributes to DNA replication-coupled nucleosome assembly. Cell Rep, 2016, 16: 3414
31 Nakagawa T, Morohoshi A, Nagasawa Y, et al. SPT16 ubiquitylation by DCAF14-CRL4 regulates FACT binding to histones. Cell Rep, 2022, 38: 110541
32 Tagami H, Ray-Gallet D, Almouzni G, et al. Histone H3.1 and H3.3 complexes mediate nucleosome assembly pathways dependent or independent of DNA synthesis. Cell, 2004, 116: 51–61
33 Verreault A, Kaufman P D, Kobayashi R, et al. Nucleosome assembly by a complex of CAF-1 and acetylated histones H3/H4. Cell, 1996, 87: 95–104
34 Li Q, Zhou H, Wurtele H, et al. Acetylation of histone H3 lysine 56 regulates replication-coupled nucleosome assembly. Cell, 2008, 134: 244–255
35 Su D, Hu Q, Li Q, et al. Structural basis for recognition of H3K56-acetylated histone H3-H4 by the chaperone Rtt106. Nature, 2012, 483: 104–107
36 Shibahara K, Stillman B. Replication-dependent marking of DNA by PCNA facilitates CAF-1-coupled inheritance of chromatin. Cell, 1999, 96: 575–585
37 Zhang Z, Shibahara K, Stillman B. PCNA connects DNA replication to epigenetic inheritance in yeast. Nature, 2000, 408: 221–225
38 Liu S, Xu Z, Leng H, et al. RPA binds histone H3-H4 and functions in DNA replication-coupled nucleosome assembly. Science, 2017, 355: 415–420
39 Costa A, Diffley J F X. The initiation of eukaryotic DNA replication. Annu Rev Biochem, 2022, 91: 107–131
40 Yao N Y, O'Donnel M E. The DNA replication machine: structure and dynamic function. Subcell Biochem, 2021, 96: 233–258
41 Foltman M, Evrin C, De Piccoli G, et al. Eukaryotic replisome components cooperate to process histones during chromosome replication. Cell Rep, 2013, 3: 892–904
42 Huang H, Strømme C B, Saredi G, et al. A unique binding mode enables MCM2 to chaperone histones H3-H4 at replication forks. Nat Struct Mol Biol, 2015, 22: 618–626
43 Li N, Gao Y, Zhang Y, et al. Parental histone transfer caught at the replication fork. Nature, 2024, 627: 890–897
44 Madamba E V, Berthet E B, Francis N J. Inheritance of histones H3 and H4 during DNA replication *in vitro*. Cell Rep, 2017, 21: 1361–1374
45 Wang X, Tang Y, Xu J, et al. The N-terminus of Spt16 anchors FACT to MCM2–7 for parental histone recycling. Nucleic Acids Res, 2023, 51: 11549–11567
46 Li Z, Zhang Z. A tale of two strands: decoding chromatin replication through strand-specific sequencing. Mol Cell, 2025, 85: 238–261
47 Sarkies P, Reams C, Simpson L J, et al. Epigenetic instability due to defective replication of structured DNA. Mol Cell, 2010, 40: 703–713
48 Xu M, Long C, Chen X, et al. Partitioning of histone H3-H4 tetramers during DNA replication-dependent chromatin assembly. Science, 2010, 328: 94–98
49 Alabert C, Barth T K, Reverón-Gómez N, et al. Two distinct modes for propagation of histone PTMs across the cell cycle. Genes Dev, 2015, 29:

https://www.sciengine.com/doi/10.1360/SSV-2024-0306

585–590
50 Xu M, Wang W, Chen S, et al. A model for mitotic inheritance of histone lysine methylation. EMBO Rep, 2011, 13: 60–67
51 Reverón-Gómez N, González-Aguilera C, Stewart-Morgan K R, et al. Accurate recycling of parental histones reproduces the histone modification landscape during DNA replication. Mol Cell, 2018, 72: 239–249.e5
52 Escobar T M, Oksuz O, Saldaña-Meyer R, et al. Active and repressed chromatin domains exhibit distinct nucleosome segregation during DNA replication. Cell, 2019, 179: 953–963.e11
53 Schlissel G, Rine J. The nucleosome core particle remembers its position through DNA replication and RNA transcription. Proc Natl Acad Sci USA, 2019, 116: 20605–20611
54 Shan Z, Zhang Y, Bu J, et al. The patterns and participants of parental histone recycling during DNA replication in *Saccharomyces cerevisiae*. Sci China Life Sci, 2023, 66: 1600–1614
55 Tran V, Lim C, Xie J, et al. Asymmetric division of *Drosophila* male germline stem cell shows asymmetric histone distribution. Science, 2012, 338: 679–682
56 Xie J, Wooten M, Tran V, et al. Histone H3 threonine phosphorylation regulates asymmetric histone inheritance in the *Drosophila* male germline. Cell, 2015, 163: 920–933
57 Wooten M, Snedeker J, Nizami Z F, et al. Asymmetric histone inheritance via strand-specific incorporation and biased replication fork movement. Nat Struct Mol Biol, 2019, 26: 732–743
58 Kahney E W, Zion E H, Sohn L, et al. Characterization of histone inheritance patterns in the *Drosophila* female germline. EMBO Rep, 2021, 22: e51530
59 Zion E H, Ringwalt D, Rinaldi K, et al. Old and newly synthesized histones are asymmetrically distributed in *Drosophila* intestinal stem cell divisions. EMBO Rep, 2023, 24: e56404
60 Yu C, Gan H, Zhang Z. Strand-specific analysis of DNA synthesis and proteins association with DNA replication forks in budding yeast. Methods Mol Biol, 2018, 1672: 227–238
61 Yu C, Gan H, Han J, et al. Strand-specific analysis shows protein binding at replication forks and PCNA unloading from lagging strands when forks stall. Mol Cell, 2014, 56: 551–563
62 Yu C, Gan H, Serra-Cardona A, et al. A mechanism for preventing asymmetric histone segregation onto replicating DNA strands. Science, 2018, 361: 1386–1389
63 Li Z, Hua X, Serra-Cardona A, et al. DNA polymerase α interacts with H3-H4 and facilitates the transfer of parental histones to lagging strands. Sci Adv, 2020, 6: eabb5820
64 Petryk N, Dalby M, Wenger A, et al. MCM2 promotes symmetric inheritance of modified histones during DNA replication. Science, 2018, 361: 1389–1392
65 Gan H, Serra-Cardona A, Hua X, et al. The Mcm2-Ctf4-Polα axis facilitates parental histone H3-H4 transfer to lagging strands. Mol Cell, 2018, 72: 140–151.e3
66 Bellelli R, Belan O, Pye V E, et al. POLE3-POLE4 is a histone H3-H4 chaperone that maintains chromatin integrity during DNA replication. Mol Cell, 2018, 72: 112–126.e5
67 Xu X, Duan S, Hua X, et al. Stable inheritance of H3.3-containing nucleosomes during mitotic cell divisions. Nat Commun, 2022, 13: 2514
68 Zhao X, Wang J, Jin D, et al. AtMCM10 promotes DNA replication-coupled nucleosome assembly in *Arabidopsis*. JIPB, 2023, 65: 203–222
69 Kurat C F, Yeeles J T P, Patel H, et al. Chromatin controls DNA replication origin selection, lagging-strand synthesis, and replication fork rates. Mol Cell, 2017, 65: 117–130
70 Chen P, Dong L, Hu M, et al. Functions of FACT in breaking the nucleosome and maintaining its integrity at the single-nucleosome level. Mol Cell, 2018, 71: 284–293.e4
71 Yan X, Yang J, Xu J, et al. Histone chaperone Spt16p is required for heterochromatin mediated silencing in budding yeast. Protein Cell, 2018, 9: 652–658
72 Leng H, Liu S, Lei Y, et al. FACT interacts with Set3 HDAC and fine-tunes *GAL1* transcription in response to environmental stimulation. Nucleic Acids Res, 2021, 49: 5502–5519
73 Safaric B, Chacin E, Scherr M J, et al. The fork protection complex recruits FACT to reorganize nucleosomes during replication. Nucleic Acids Res, 2022, 50: 1317–1334

https://www.sciengine.com/doi/10.1360/SSV-2024-0306

74 Gan S, Yang W S, Wei L, et al. Structure of a histone hexamer bound by the chaperone domains of SPT16 and MCM2. Sci China Life Sci, 2024, 67: 1305–1307

75 Yu J, Zhang Y, Fang Y, et al. A replisome-associated histone H3-H4 chaperone required for epigenetic inheritance. Cell, 2024, 187: 5010–5028.e24

76 Charlton S J, Flury V, Kanoh Y, et al. The fork protection complex promotes parental histone recycling and epigenetic memory. Cell, 2024, 187: 5029–5047.e21

77 Toda T, Fang Y, Shan C M, et al. Mrc1 regulates parental histone segregation and heterochromatin inheritance. Mol Cell, 2024, 84: 3223–3236.e4

78 Katou Y, Kanoh Y, Bando M, et al. S-phase checkpoint proteins Tof1 and Mrc1 form a stable replication-pausing complex. Nature, 2003, 424: 1078–1083

79 Noguchi E, Noguchi C, McDonald W H, et al. Swi1 and Swi3 are components of a replication fork protection complex in fission yeast. Mol Cell Biol, 2004, 24: 8342–8355

80 Bando M, Katou Y, Komata M, et al. Csm3, Tof1, and Mrc1 form a heterotrimeric mediator complex that associates with DNA replication forks. J Biol Chem, 2009, 284: 34355–34365

81 Kumagai A, Dunphy W G. Claspin, a novel protein required for the activation of Chk1 during a DNA replication checkpoint response in Xenopus egg extracts. Mol Cell, 2000, 6: 839–849

82 Alcasabas A A, Osborn A J, Bachant J, et al. Mrc1 transduces signals of DNA replication stress to activate Rad53. Nat Cell Biol, 2001, 3: 958–965

83 Tanaka K, Russell P. Mrc1 channels the DNA replication arrest signal to checkpoint kinase Cds1. Nat Cell Biol, 2001, 3: 966–972

84 Simon A C, Zhou J C, Perera R L, et al. A Ctf4 trimer couples the CMG helicase to DNA polymerase α in the eukaryotic replisome. Nature, 2014, 510: 293–297

85 Wittmeyer J, Formosa T. The *Saccharomyces cerevisiae* DNA polymerase α catalytic subunit interacts with Cdc68/Spt16 and with Pob3, a protein similar to an HMG1-like protein. Mol Cell Biol, 1997, 17: 4178–4190

86 Tan B C M, Chien C T, Hirose S, et al. Functional cooperation between FACT and MCM helicase facilitates initiation of chromatin DNA replication. EMBO J, 2006, 25: 3975–3985

87 Flury V, Reverón-Gómez N, Alcaraz N, et al. Recycling of modified H2A-H2B provides short-term memory of chromatin states. Cell, 2023, 186: 1050–1065.e19

88 Li Z, Duan S, Hua X, et al. Asymmetric distribution of parental H3K9me3 in S phase silences L1 elements. Nature, 2023, 623: 643–651

https://www.sciengine.com/doi/10.1360/SSV-2024-0306

Histone-based epigenetic information inheritance at the DNA replication fork

FENG JianXun[1,2] & LI Qing[1,2*]

[1] *State Key Laboratory of Gene Function and Modulation Research, School of Life Sciences, Peking University, Beijing 100871, China*
[2] *Peking-Tsinghua Center for Life Sciences, Academy for Advanced Interdisciplinary Studies, Peking University, Beijing 100871, China*
* *Corresponding author, E-mail: li.qing@pku.edu.cn*

In eukaryotes, histone modifications serve as one of the primary carriers of epigenetic information, shaping the chromatin landscape and regulating genome expression, which is fundamental for cellular function. During mitosis, daughter cells must inherit the epigenetic landscape of the parent cell to maintain cellular identity. DNA replication-coupled nucleosome assembly is a critical step in this process. During this process, parental histones are disassembled ahead of the replication fork and reassembled onto the newly synthesized daughter strands, facilitating the transmission of epigenetic information. Thus, the disassembly and recycling of parental histones ahead of the replication fork, as well as their transfer through the fork and reassembly onto the daughter strands, constitute the core steps for the inheritance of histone-carried epigenetic information by daughter cells. In light of recent advances in understanding parental histone recycling, this review highlights the mechanisms underlying parental histone inheritance. It provides an overview of the historical research and recent progress in this field, focusing on the fate of parental histones during DNA replication, their recycling onto nascent DNA strands, and their balanced distribution between the leading and lagging strands. In light of recent progress, this review highlights the collaborative capture of disassembled parental histones by the histone chaperone FACT at the replication fork and components of the replisome (primarily including the fork protection complex and the Mcm2 subunit of the replicative helicase). It elucidates the molecular mechanisms by which these histones are allocated and delivered to the two daughter strands. Based on this, we propose the concept of a "shuttle chaperone-histones-guiding chaperone" unit as a functional module for parental histone recycling, ensuring the effective inheritance of parental epigenetic information. Additionally, we discuss the mechanisms of epigenetic information inheritance carried by histones H3-H4 and H2A-H2B, focusing on the hexameric structural unit ($(H3\text{-}H4)_2$-(H2A-H2B)) captured by the endogenous replisome.

epigenetic inheritance, chromatin replication, nucleosome assembly, DNA replication, histone

doi: 10.1360/SSV-2024-0306

https://www.sciengine.com/doi/10.1360/SSV-2024-0306