

组蛋白去甲基化酶 LSD1 的结构和功能研究进展

阮建彬, 臧建业

(中国科学技术大学生命科学学院, 安徽合肥 230027)

摘要: 组蛋白去甲基化酶 LSD1 的发现是表观遗传学领域的重要进展, 揭示了组蛋白赖氨酸甲基化和其他化学修饰如乙酰化、磷酸化、泛素化等一样是一个动态调节的过程. 结构和功能研究显示 LSD1 调控着基因转录的激活和抑制以及 p53 的活性, 在癌症的发生和发展中起着重要的作用, 是一个潜在的抗癌药物开发靶蛋白.

关键词: LSD1; 组蛋白去甲基化酶; p53; 胺氧化酶; 抑制剂

中图分类号: Q71 **文献标识码:** A

The progress in exploring the structure and function of histone demethylase LSD1

RUAN Jian-bin, ZANG Jian-ye

(School of Life Science, University of Science and Technology of China, Hefei 230027, China)

Abstract: The discovery of histone demethylase LSD1 is an important progress in the field of epigenetics, indicating that histone lysine methylation is a reversible and dynamic process like other covalent histone modifications such as acetylation, phosphorylation and ubiquitylation. Structural and functional research results demonstrate that LSD1 regulates the activation and silencing of gene transcription and the function of p53. LSD1 plays a significant role in the development of several cancers and is a potential target protein for developing anti-cancer drugs.

Key words: LSD1; histone demethylase; p53; amine oxidase; inhibitor

0 引言

在真核生物细胞核中, 组蛋白 H2A、H2B 紧密相互作用形成二聚体, H3、H4 形成四聚体, 两个 H2A、H2B 二聚体和一个 H3、H4 四聚体组成核心组蛋白八聚体, 大约 146bp 长的 DNA 缠绕着核心

组蛋白八聚体形成核小体, 核小体是染色体的基本组成单元. 真核生物基因组 DNA 与组蛋白组装成染色体的这种形式, 为调节 DNA 的可接近性提供了一道天然的屏障, 调控着细胞中的多种生物学过程, 如 DNA 的转录、复制和修复等^[1].

组蛋白的翻译后修饰是调控核小体结构的一种

收稿日期: 2008-06-28; 修回日期: 2008-07-05

基金项目: 国家重点基础研究发展(973)计划(2006CB806500)资助.

作者简介: 阮建彬, 男, 1984年生, 硕士生. 研究方向: 结构生物学. E-mail: jianbin@mail.ustc.edu.cn

通讯作者: 臧建业, 博士/教授, 中国科学院“百人计划”候选人. 1998年本科毕业于中国科学技术大学材料科学与工程系; 2003年博士毕业于中国科学技术大学生命科学学院结构生物学专业; 2003~2007年在美国科罗拉多健康科学中心全国犹太医学研究中心做博士后研究; 2007年入选中国科学院“百人计划”候选人, 任中国科学技术大学生命科学学院教授. 2008年参与国家重点基础研究发展(973)计划项目“蛋白质机器及分子机制”. 主要从事表观遗传学的结构机理研究. 在 Cell, Proc. Natl. Acad. Sci. U S A, J. Biol. Chem. 等国际学术期刊发表学术论文. E-mail: zangjy@ustc.edu.cn

常见途径。组蛋白翻译后存在多种化学修饰,包括甲基化、乙酰化、磷酸化、泛素化、sumo 化以及 ADP 核糖糖基化等。这些组蛋白的翻译后修饰调节着染色质的凝集状态,如组蛋白 H3K9 的甲基化是基因转录抑制的标志,能引起染色质凝集,形成异染色质^[2];组蛋白的翻译后修饰,如赖氨酸的泛素化能影响 DNA 与转录因子、RNA 聚合酶、DNA 损伤修复因子等功能蛋白质或蛋白质复合物的可接近程度^[3-6];组蛋白上特定的氨基酸修饰,如赖氨酸和精氨酸的甲基化、丝氨酸的磷酸化等能为特定的功能蛋白质或蛋白质复合物(如 activator、repressor、DNA 损伤修复因子等)提供结合位点^[4,7]。组蛋白的翻译后修饰之间能相互影响,相互作用,形成一个复杂的调控体系,这些不同的修饰又被称为“组蛋白密码”^[8]。这些密码可以被含有特定结构域如 Bromodomain、Chromodomain、PHD domain、WD40repeat 和 Tudor domain 等的蛋白解读,从而启动下游的生物学反应,调控基因转录的激活、沉默、DNA 损伤修复等重要生物学过程^[9]。

组蛋白的精氨酸和赖氨酸可以被甲基化,其中精氨酸可以被单甲基化和二甲基化,而赖氨酸可以被单甲基化、二甲基化和三甲基化。组蛋白 H3 和 H4 中共有五个精氨酸(H3R2、H3R8、H3R17、H3R26 和 H4R3)可以被 PRMT 家族组蛋白甲基化转移酶甲基化,组蛋白精氨酸甲基化既能激活基因转录又能抑制基因转录^[10]。组蛋白共有 6 个赖氨酸(H3K4、H3K9、H3K27、H3K36、H3K79 和 H4K20)能被甲基化,H3K4、H3K36 和 H3K79 的甲基化通常与基因转录的激活相关,而 H3K9、H3K27 和 H4K20 的甲基化通常和基因转录的抑制相关^[2]。组蛋白赖氨酸甲基化转移酶分为两类,含有 SET 结构域家族的组蛋白甲基化转移酶和不含有 SET 结构域的组蛋白甲基化转移酶(主要包括酵母的组蛋白甲基化转移酶 DOT1 及其在哺乳动物中的同源蛋白 DOT1L)^[2,7,11-13]。组蛋白赖氨酸可以被单甲基化、二甲基化和三甲基化,不同的甲基化状态在细胞中启动不同的下游生物学反应,行使着相应的生物学功能。例如甲基化的 H3K4 通常是基因转录激活的标志,三甲基化的 H3K4(H3K4Me3)仅存在于基因转录激活区域,而二甲基化的 H3K4(H3K4Me2)既存在于基因转录激活区,又存在于基因转录非激活区,H3K4Me2 只是允许染色体进入

基因转录激活的状态,而 H3K4Me3 才决定了染色体处于激活基因转录的状态^[14]。同一种组蛋白赖氨酸的甲基化修饰状态被不同的效应蛋白识别后也可以产生不同的结果,例如 H3K4Me3 被染色体重塑复合物 NURF 中的 BPTF 识别后可以激活基因的转录^[15],而被组蛋白去乙酰化酶复合物 Sin3/HDAC 中的 ING2 识别后能使基因转录迅速转入抑制状态^[16]。正是因为其参与众多表观遗传学过程及其对生物学过程调控的复杂性,在 2000 年发现了第一个组蛋白赖氨酸甲基转移酶以后^[17],组蛋白甲基化修饰引起了广泛的关注。

1 组蛋白去甲基化酶的发现

很多组蛋白化学修饰都是可逆的,例如组蛋白的乙酰化、磷酸化和泛素化分别受到乙酰基转移酶和去乙酰化酶、激酶和磷酸脂酶、泛素化连接酶和去泛素化酶的动态调控,相应地改变着染色体的状态,对快速改变的基因转录过程迅速作出响应^[18-20]。但是与上述的这些组蛋白修饰不同,在发现组蛋白赖氨酸甲基化后的几十年里,人们一直认为组蛋白赖氨酸甲基化是不可逆的,是一个稳定的组蛋白标记。早在 1973 年就有研究组报道,鼠的肾组织提取物能使小牛胸腺组蛋白去甲基化,组蛋白去甲基化的酶活性主要存在于细胞核与线粒体组分中,甲醛是去甲基化反应的产物之一^[21]。但是,具有组蛋白去甲基化活性的酶并没有被分离和鉴定,因此组蛋白赖氨酸甲基化是永久性的表观遗传标记这一概念并没有被改变。直到 2004 年,第一个组蛋白赖氨酸去甲基化酶 LSD1(Lysine Specific Demethylase 1)的发现,才改变了人们的这种观念^[22]。组蛋白甲基化和组蛋白乙酰化、磷酸化、泛素化一样,是一个动态的过程。通过组蛋白甲基转移酶和去甲基化酶的相互作用,动态地调节组蛋白的甲基化状态,调节组蛋白和其他功能蛋白的相互作用,进而调控基因转录的激活和抑制、X 染色体失活等生物学过程^[23,24]。

LSD1 又叫 KIAA0601, p110b, BHC110, NPAO,稳定存在于一些组蛋白去乙酰化酶复合物中^[25-29]。序列分析显示 LSD1 含有一个 N 端 SWIRM(Swi3p、Rsc8p and Moira)结构域,很多与染色体相互作用的蛋白都含有 SWIRM 结构域^[30],一个 C 端 FAD 依赖的胺氧化酶结构域(图 2(a)),从小分子胺到蛋白质都可能是胺氧化酶的底物。根

据序列同源性分析和功能结构域预测的结果以及 LSD1 存在于组蛋白去乙酰化酶复合物中的现象, 哈佛医学院的 Yang Shi 和他的同事认为 LSD1 可能是组蛋白赖氨酸的去甲基化酶. 用重组的 LSD1 进行的体外生化实验显示, LSD1 能使 H3K4Me₂ 和 H3K4Me 多肽去甲基化, 含有 H3K4Me₂ 和 H3K4Me 的组蛋白也是 LSD1 的底物, 但是 LSD1 不能使核小体上甲基化的 H3K4 发生去甲基化反应. ChIP 实验证明 LSD1 位于钠离子通道 SCN1、SCN2、SCN3 和乙酰胆碱受体 AchR 基因的启动子区域, RNAi 介导的基因 knockdown 使启动子区域的 LSD1 明显减少, 而启动子区域 H3K4Me₂ 的量增加, 目的基因的表达量上调^[22].

LSD1 催化底物发生氧化反应时需要胺基上带一个质子(见 LSD1 的催化机理), 仅能使单甲基化和二甲基化的底物去甲基化, 而组蛋白赖氨酸可以被三甲基化, 因此还存在以不同化学反应机理使三甲基化的组蛋白赖氨酸去甲基化的其他去甲基化酶. 在大肠杆菌中含有 JmjC 结构域蛋白 AlkB 能使甲基化的 DNA 去甲基化^[31], 这个反应的机理可能和组蛋白的去甲基化反应机理类似, 而人类基因组中有很多含有 JmjC 结构域蛋白功能未知, 因此推测含有 JmjC 结构域蛋白可能是组蛋白赖氨酸去甲基化酶. 并且这一家族的蛋白用铁和 α 酮戊

二酸作为辅基催化氧化反应, 不需要胺基上带质子, 可以使三甲基化的赖氨酸去甲基化(图 1(b)). 在发现 LSD1 后不久, 就发现了第一个含有 JmjC 结构域的组蛋白去甲基化酶 JHDM1, 底物是二甲基化的 H3K36^[32]. 随后又发现了其他含有 JmjC 结构域的组蛋白去甲基化酶(表 1), 可以使各种甲基化状态的组蛋白去甲基化.

表 1 含 JmjC 结构域的组蛋白去甲基化酶

Fig. 1 JmjC domain containing histone demethylase

含 JmjC 结构域的 去甲基化酶亚家族	人	酵母	果蝇	底物
JHDM1 ^[32~34]	JHDM1	JHD1P	/	H3K36Me ₂ H3K36Me
JHDM2 ^[35]	JHDM2	/	/	H3K9Me ₂ H3K9Me
JHDM3/JMJD2 ^[36~38]	JMJD2A	/	/	H3K36Me ₃
	JMJD2B	Rph1	/	H3K36Me ₂
	JMJD2C	/	/	H3K9Me ₃
	JMJD2D	/	/	H3K9Me ₂
JARID ^[39~46]	SMCX	Jhd2p	/	H3K4Me ₃
	RBP2	JMJ2	lid	H3K4Me ₂
	PLU-1	/	/	
UTX /JMJD3 ^[47~54]	UTX	/	/	H3K27Me ₃
	UTY	/	/	H3K27Me ₂
	JMJD3	/	/	H3K27Me

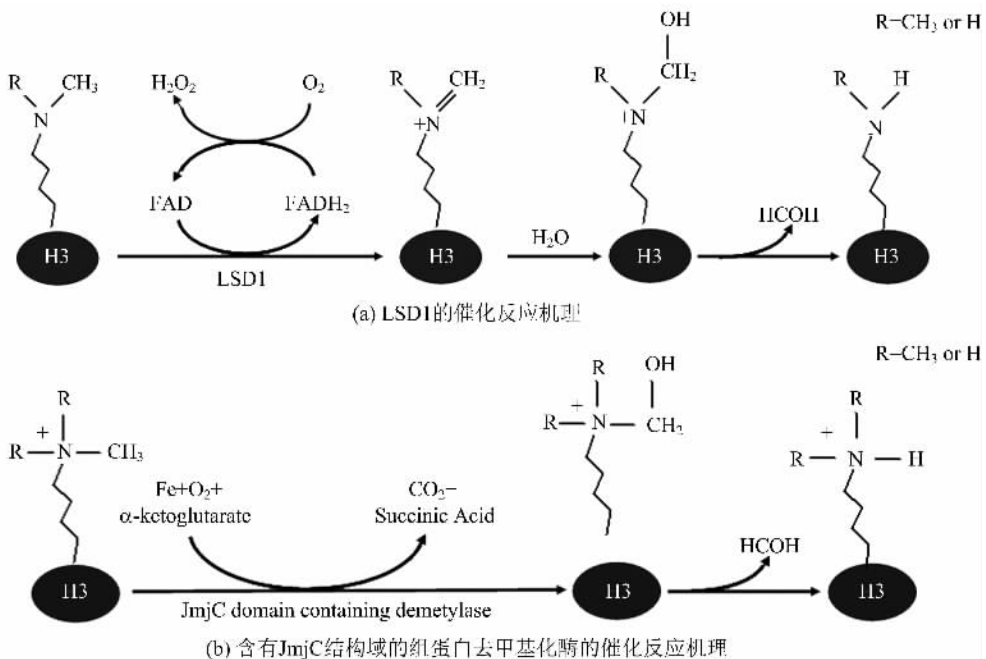


图 1 组蛋白去甲基化酶的反应机理

Fig. 1 The reaction mechanism of histone demethylase

2 LSD1 的催化机理和底物特异性

序列比较显示 LSD1 属于 FAD 依赖的胺氧化酶超家族,胺氧化酶能氧化底物的 C-N 键,生成胺基、甲醛和 H_2O_2 。LSD1 与底物反应时 FAD 从甲基化的组蛋白赖氨酸得到质子,生成 $FADH_2$,甲基化的赖氨酸失去质子生成亚胺中间物, $FADH_2$ 被氧化生成 FAD 和 H_2O_2 ,亚胺中间物加水后生成胺基和甲醛(图 1(a))。LSD1 催化氧化反应时胺基底物上必须要有一个质子,因此只能催化单甲基化和二甲基化的赖氨酸底物去甲基化^[22]。

因为 LSD1 和胺氧化酶超家族蛋白的序列同源性较高,不同小分子的胺化合物都被用来检测是不是 LSD1 的底物,LSD1 不能使这些小分子的化合物发生反应^[22,23,55]。另一类 LSD1 的可能的底物是甲基化的蛋白质如组蛋白。重组的 LSD1 被用来检测能否使不同甲基化状态的组蛋白多肽如 H3K4、H3K9、H3K27、H3K36、H3K79 和 H4K20 发生去甲基化反应,生化实验说明 LSD1 能使 H3K4Me 和 H3K4Me2 多肽去甲基化。LSD1 也能使组蛋白上的 H3K4Me 和 H3K4Me2 去甲基化,但是不能以核小体作为底物,使核小体去甲基化^[22]。在细胞中,LSD1 存在于组蛋白去乙酰化酶复合物中,这一复合物中还有其他蛋白如 CoREST、BHC80、HDAC1/2、BRAF35 等,这些蛋白能调控 LSD1 的活性。其中 CoREST 含有 SANT 结构域,能和 DNA 结合^[56]。与重组的 CoREST 结合后 LSD1 能以核小体为底物使之去甲基化,在细胞中 CoREST 还能使 LSD1 更稳定^[57,58]。

在寻找新的雄激素受体结合蛋白时发现 LSD1 可以与雄激素受体结合,GST-Pulldown 实验证实雄激素受体的 N 端结构域、DNA 结合结构域和配体结合结构域都能与 LSD1 结合。ChIP 实验显示 LSD1 在前列腺特异性基因(PSA)的启动子区域与雄激素受体形成复合物,并诱导基因表达。组蛋白 H3K9、H3K27 和 H4K20 的甲基化能抑制基因转录,对这些组蛋白赖氨酸甲基化水平分析显示,甲基化的 H3K9 是 LSD1 的底物。胺氧化酶抑制剂 Pargyline 能抑制 LSD1 的 H3K9 的去甲基化酶活性,使启动子区域的 H3K9Me 和 H3K9Me2 增加,抑制 PSA 的表达^[59]。

全基因组扫描发现 LSD1 能和很多启动子结合,按严格的选择标准,有 4 212 个启动子区域富含

LSD1,其中 74% 是转录激活的,LSD1 在基因转录激活中起着更广泛的作用。在基因组中有约 580 个启动子的激活与雌激素受体相关,而这些启动子区域有 60% 富集 LSD1,大部分雌激素受体调控的基因同时也受 LSD1 的调控。目的基因在雌激素调控下招募雌激素受体和 LSD1 复合物后,启动子区域的 H3K4Me2 和 H3K9Me2 水平同时降低,RNAi 介导的 LSD1 基因 knockdown 能抑制雌激素受体与 LSD1 依赖的基因表达(如 TFF1 和 GREB1),在 LSD1 基因 knockdown 的细胞中,RNAi 介导的组蛋白 H3K9 甲基化转移酶 RIZ1、ESET 和 EU-HMTase1 的基因 knockdown 能解除这些基因表达的抑制,说明在与雌激素受体结合的条件下,LSD1 也能使 H3K9Me2 去甲基化,激活基因表达^[60]。

从酵母到哺乳动物中都有 LSD1 的同源蛋白存在,它们的序列同源性很高。非洲爪蟾(*Xenopus laevis*)的 LSD1 同源物 xLSD1 能使 H3K4Me2、H3K4Me、H3K9Me2 和 H3K9Me 去甲基化^[61],而裂殖酵母(*S. pombe*)的 LSD1 同源物 spLSD1 的底物是甲基化的 H3K9。但是 spLSD1 的体外催化活性很低,用质谱和 Western-blot 都检测不到甲基化的组蛋白多肽、组蛋白和核小体去甲基化反应的发生,只有用更灵敏的放射性同位素检测手段才能检测到去甲基化反应中释放出的甲醛^[62~64]。目前仍然不清楚为什么 xLSD1 和 spLSD1 的底物特异性会发生改变,测定它们的结构将能为解释这一现象提供依据。

甲基化的组蛋白 H3 是 LSD1 的底物,而 LSD1 能使甲基化的 p53 去甲基化。生化实验证明 LSD1 能使 370 位赖氨酸单甲基化(K370Me)和二甲基化(K370Me2)的 p53 去甲基化,在细胞内,LSD1 特异性地选择 K370Me2 作为底物。K370Me2 能被 53BP1 通过两个连续的 tudor 结构域识别,激活 p53 信号途径的下游生物学反应。LSD1 能使 K370Me2 去甲基化,抑制 p53 信号途径的传递,调控着 p53 的生物学活性^[65]。

3 LSD1 活性的调控与生理功能

组蛋白 H3 的表观遗传修饰会影响 LSD1 的活性,组蛋白 H3 的过乙酰基化能抑制 LSD1 的去甲基化酶的活性,H3K9 的乙酰基化能使 LSD1 的活性降低 6 倍^[66,67],在体内,LSD1 存在于去乙酰化酶

复合物中, LSD1 的去甲基化酶活性受组蛋白去乙酰化酶的调控, 加入去乙酰化酶的抑制剂抑制组蛋白去乙酰化活性后, LSD1 的去甲基化酶活性也被抑制^[68]. CoREST 含有两个 SANT 结构域和一个 ELM 结构域, 在其他组蛋白去乙酰化酶复合物中 SANT 结构域起调控去乙酰化酶活性的作用^[69,70], 而 CoREST 是用 ELM 结构域与 HDAC1 结合^[68], 用两个 SANT 结构域之间的连接 α 螺旋和 LSD1 结合, CoREST 作为桥梁, 连接组蛋白去乙酰化酶复合物中两种不同的表观遗传修饰活性. H3 上的精氨酸甲基化对 LSD1 活性的影响依赖于精氨酸的位置, H3R2 的甲基化能使 LSD1 的活力降低 80%, H3R8 的甲基化能使 LSD1 彻底丧失活性, 而 H3R17 的甲基化对 LSD1 的活性影响很小. H3S10 的磷酸化也能使 LSD1 丧失活性. 组蛋白 H3 的 N 端表观遗传修饰中唯一对 LSD1 活性没有影响的是 H3K9 的甲基化^[66,67].

LSD1、CoREST 和 BHC80 通常存在于同一个组蛋白去乙酰化酶复合物中, 在体内 CoREST 能使 LSD1 稳定, 并在与染色质结合后招募 LSD1, 在非神经细胞中使其行使 repressor 的功能, 抑制神经细胞特异性基因的表达^[22,57]. BHC80 的功能一直不是很清楚, 有文献报道 BHC80 能与 CoREST 紧密结合^[71], 在体外 BHC80 能抑制 LSD1 的组蛋白去甲基化酶活性, 同时也能抑制细胞中 LSD1-CoREST 复合物的核小体去甲基化酶活性^[57]. 最近, 同一个研究组报道, BHC80 的 PHD 结构域能结合没有甲基化的 H3K4 (H3K4Me0), RNAi 介导的 LSD1 基因 knockdown 使 SYN1 和 SCN1A 基因启动子区域的 H3K4 二甲甲基化水平增加, BHC80 在这些启动子区域的结合减少. 体外的结合实验显示, BHC80 能明显增强 CoREST 和 LSD1 复合物与 H3K4Me0 多肽的结合能力, 而 BHC80 基因 knockdown 的细胞中, 靶基因启动子区域的 LSD1 明显减少. knockdown BHC80 的基因后, 受 LSD1 抑制调控的基因表达量明显增强, 说明 BHC80 能使 LSD1 复合物在组蛋白 H3K4 去甲基化后稳定结合在靶基因的启动子区域, 抑制目的基因的表达, BHC80 能增强 LSD1 的活性^[72]. 关于 BHC80 对 LSD1 活性的调控作用, 生化实验和细胞水平的实验结果互相矛盾, 目前还不清楚是什么原因导致这种现象.

在与雄激素受体结合后, LSD1 能使甲基化的 H3K9 去甲基化, 激活雄激素受体依赖的基因表达.

但是 LSD1 只能使 H3K9Me 和 H3K9Me2 去甲基化, 不能使 H3K9Me3 去甲基化, 因此还存在另一种去甲基化酶使 H3K9Me3 去甲基化, 与 LSD1 协同作用, 共同激活雄激素受体依赖的基因表达. 用串连亲和层析(TAP)方法纯化得到的 LSD1 和雄激素受体复合物中含有 Jmjd2C (一种 H3K9Me3 去甲基化酶), Jmjd2C 能和雄激素受体以及 LSD1 结合. 在细胞中, LSD1、雄激素受体和 Jmjd2C 在 PSA 基因的启动子区域形成一个功能复合物. 共表达 LSD1 和 Jmjd2C 能显著增强 PSA 基因的表达, 而共表达 LSD1 和 Jmjd2C 的失活突变体对 PSA 基因表达的激活作用明显减弱, RNAi 介导的 Jmjd2C 基因 knockdown 也使雄激素受体依赖的基因表达下调. LSD1 和 Jmjd2C 在体内协同作用, 共同调控雄激素受体依赖的基因表达^[73].

染色体的修饰在基因表达中起着重要的调控作用, 染色质又可以分为常染色质和异染色质, 在常染色质中主要是 H3K4 被甲基化, 而异染色质中富集了甲基化的 H3K9. LSD1 调控着染色体功能区的结构, 在裂殖酵母和果蝇中, LSD1 的同源蛋白 spLSD1 和 SU(VAR)3-3 在维持常染色质和异染色质的边界过程中起着关键的作用. 因为 spLSD1 是甲基化 H3K9 的去甲基化酶, SU(VAR)3-3 是甲基化 H3K4 的去甲基化酶, 它们保持常染色质和异染色质边界的机理也不同^[62,74]. 在裂殖酵母中, spLSD1 存在于常染色质和异染色质边界区域以及常染色质的启动子区域, 在常染色质和异染色质边界区域 spLSD1 使 H3K9Me2 去甲基化, 保持常染色质区域的 H3K9 不被甲基化. SpLSD1 突变失活后, 常染色质区域 H3K9Me2 和 H3K9Me3 的量增加, 这一区域结合的 HP1 同源蛋白 swi6 的量增多, 异染色质延伸到常染色质区域, 抑制常染色质区域的基因表达^[62]. 在 spLSD1 失活突变的酵母中, 1 号染色体端粒区的异染色质能延伸到距端粒区 30 kb 处^[63]. 这些研究揭示了 LSD1 通过使 H3K9Me2 去甲基化在裂殖酵母中维持着异染色质的边界. 果蝇的 LSD1 同源蛋白 SU(VAR)3-3 是甲基化组蛋白 H3K4 的去甲基化酶, 在体内 SU(VAR)3-3 能与 SU(VAR)3-9、HP1、RPD3 等相互结合形成功能复合物, 生化和分子生物学研究显示 SU(VAR)3-3 使甲基化的 H3K4 去甲基化是 SU(VAR)3-9 使 H3K9 甲基化的前提条件. SU(VAR)3-3 使甲基化的 H3K4 去甲基化, 然后 RPD3 使乙酰化的 H3K9

去乙酰化, SU(VAR)3-9 使 H3K9 甲基化后招募 HP1, 限制常染色质向异染色质区域延伸, 从而维持两者的边界^[74].

在脑垂体发育的过程中, LSD1 既能激活基因的转录又能抑制基因转录, 在细胞分化的过程中起着决定性的作用. LSD1 能通过 pit1 结合被招募到 MLL1 coactivator 复合物中, 结合到受 pit1 调控的基因如 GH 启动子区, 激活基因转录. 在出生后, 催乳素细胞开始表达 ZEB1、LcoR 和 PC2, 这些蛋白招募含有 LSD1 的 CtBP corepressor 复合物到 GH 基因的启动子区域, 抑制 GH 基因的表达. 在脑垂体发育的过程中, LSD1 通过与不同蛋白结合, 分别结合到 coactivator 或 corepressor 复合物中, 调控目的基因转录的激活或抑制, 调控着脑垂体细胞的分化^[75].

端粒酶逆转录酶(TERT)是端粒酶的一个活性亚基, 在细胞的永生中起着重要的作用, 在正常的细胞中 TERT 基因是不表达的, 而在 90% 的癌细胞中 TERT 的基因处于转录激活状态. 在正常的纤维原细胞中, 胺氧化酶抑制剂 tranylecypromine 能抑制 LSD1 的活性, 使 TERT 基因的启动子区域 H3K4Me2 的量增加, TERT 基因表达量上调, 端粒酶活性增强. LSD1 knockdown 的细胞中, TERT 基因表达量也会上调^[76].

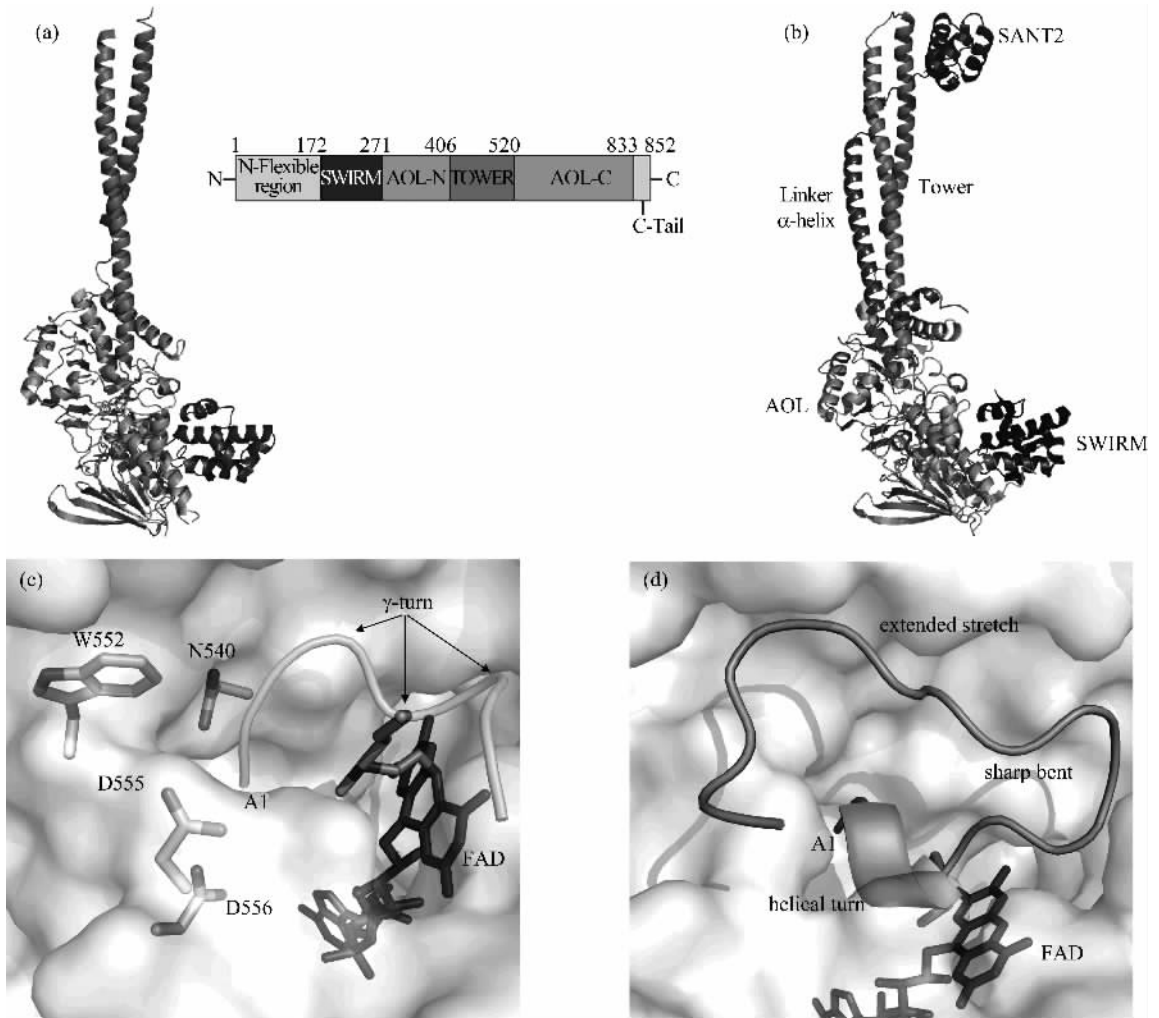
4 LSD1 的结构

在发现 LSD1 后不久, 有两个研究组分别报道了 LSD1 的结构. 在 LSD1 的晶体结构中, 有一个 N 端的 SWIRM 结构域, 一个 Tower 结构域和一个 C 端的胺氧化酶结构域(图 2(a)). SWIRM 结构域由六个 α 螺旋和 2 个 β 折叠组成, 与 C 端的胺氧化酶结构域相互作用, 结合面的面积大约有 1 600 nm². 在其他与染色体相互作用的蛋白中, SWIRM 结构域通常是与 DNA 相互作用的, 在 LSD1 中, SWIRM 结构域不能与 DNA 结合, 具体的功能还不清楚. Tower 结构域是由从 C 端胺氧化酶结构域向外伸出的两个很长的平行 α 螺旋形成, 在一级结构中, Tower 结构域把胺氧化酶结构域分成两个部分, 在三级结构中, 胺氧化酶结构域的两个部分仍然紧密结合在一起, 形成一个完整的具有催化活性的结构域. 这一个特殊的结构对于 LSD1 的功能有着重要的作用, Tower 结构域的缺失突变能使 LSD1 丧失活性. 在 LSD1 的 C 端有一个胺氧化酶结构域, 这一

结构域又可以分成两个部分, FAD 结合结构域和催化活性中心. LSD1 的催化活性中心深约 15 Å, 宽约 25 Å, 组蛋白底物与 LSD1 结合时可以形成比较伸展的构象^[77,78].

随后 LSD1 和 CoREST 复合物的结构获得测定, 在 LSD1 和 CoREST 的复合物结构中, Tower 结构域与 CoREST 的两个 SANT 结构域中间一个很长的连接 α 螺旋相互作用, 使 LSD1 和 CoREST 形成紧密的复合物(图 2(b)). CoREST 的 SANT2 结构域含有四个 α 螺旋, ITC 和 NMR 实验证实这一结构域能和 DNA 结合. LSD1 不能使核小体底物去甲基化, 而与 CoREST 结合以后能以核小体作为底物. 根据这些结果可以推测, CoREST 的 SANT2 结构域与核小体上的 DNA 结合, 然后与 LSD1 结合, 募集 LSD1 到核小体上, 使 LSD1 能以核小体作为底物^[56].

LSD1 与 H3K4Me2 的结合能力较弱, 在 LSD1-CoREST 与 H3K4Me2 多肽共结晶时, H3K4Me2 多肽不能与 LSD1 结合^[56]. 为了获得 LSD1 对组蛋白 H3K4 特异性识别的信息, 用 LSD1 的自杀性抑制剂 N-methylpropargyl-K4 H3₁₋₂₁ 与 LSD1 反应, 形成共价连接的复合物后结晶, 测定了 LSD1 与这一自杀性抑制剂复合物的结构. 长为 21 个氨基酸残基的 H3 多肽仅有 N 端 7 个氨基酸残基有电子云密度, 能构建模型. N 端的 7 个氨基酸形成了 3 个连续的 γ 转折, 与 LSD1 形成大量的静电相互作用. 其中 N 端的 Ala1 插入一个由 N540、W552、D555 和 D556 形成的带负电荷的口袋中, 这一结构决定了 LSD1 的甲基化底物在 N 端不能超过 3 个氨基酸(图 2(c))^[79]. 用甲硫氨酸代替 H3 第四位的赖氨酸后(pLys4Met), 与 LSD1 的结合能力能提高 30 倍. 在 LSD1-CoREST 与 pLys4Met 多肽复合物结构中, N 端 16 个氨基酸残基的结构模型能被成功构建. 在这一复合物结构中, H3 多肽的主链构象与 LSD1 与 N-methylpropargyl-K4 H3₁₋₂₁ 中 H3 的主链构象略有差别. 它由三个结构单元组成, 一个 helical turn(氨基酸残基 1-5), 一个 sharp bent(氨基酸残基 6-9) 和一个 extended stretch(氨基酸残基 10-16). 其中 Arg2 与 Gly12、Gly13 的羰基氧原子和 Ser10 的侧链形成链内的氢键, 维持着这种紧凑的主链构象. 和前一个复合物结构类似, 多肽的 N 端伸向同一个结合口袋, 决定 LSD1 的甲基化底物在 N 端不



(a) The structure of LSD1; (b) The complex structure of LSD1 and CoREST; (c) The binding pocket structure of LSD1 complexed with the suicide inhibitor N-methylpropargyl-K4 H₃₁₋₂₁. The N-terminus of the peptide inhibitor points to an acidic pocket. (d) The binding pocket structure of LSD1 complexed with the pLys4Met peptide. The N-terminus of the pLys4Met peptide points to the same pocket in (c)

图 2 LSD1 单体及其复合物结构

Fig. 2 The structure of LSD1 and its complex

能超过 3 个氨基酸(图 2(d))^[80]. 这两个复合物结构中, H3 多肽的构象不同, 因为 LSD1-CoREST 和 N-methylpropargyl-K4 H₃₁₋₂₁ 中 H3 多肽和 FAD 是共价连接的, H3 多肽构象是非天然状态的, 在 LSD1-CoREST 和 pLys4Met 多肽复合物中, H3 多肽的构象更接近真实的状态.

5 LSD1 的小分子抑制剂

生化实验显示特异性的单胺氧化酶抑制剂如 clorgyline 和 deprenyl 对 LSD1 活性的抑制效率很低, 而非特异性的单胺氧化酶抑制剂如 phenelzine 和 tranlycypromine 对 LSD1 活性的抑制能力很强.

用 2 μ M 的 tranlycypromine 处理 P19 细胞三小时后, 受 LSD1 抑制的基因如 *Oct4* 和 *Egr1* 的表达量上调^[81]. 通过对一系列双胍类多聚胺类似物的筛选, 找到了 2 个 LSD1 的强抑制剂. 用这两种抑制剂处理大肠癌细胞后, 在大肠癌中被错误抑制的基因如 *SFRP4* 和 *SFRP5* 能重新表达^[82]. 在多种癌症的发生和发展的过程中, 很多肿瘤抑制基因的表达被异常抑制. LSD1 的抑制剂能使大肠癌细胞中这些被异常抑制的基因重新表达, 使 LSD1 和组蛋白去乙酰化酶一样成为癌症治疗药物开发的靶蛋白, LSD1 的这些分子抑制剂是癌症治疗药物开发的有效前导化合物.

6 研究展望

第一个组蛋白去甲基化酶 LSD1 发现后,对其生化性质、生物学活性的调控和生理功能的研究取得了很大的进展,但是还有一些问题需要进一步研究.生化实验显示 BHC80 能抑制 LSD1 的活性,而细胞实验显示 BHC80 能增强 LSD1 的基因表达抑制功能,BHC80 究竟是怎样调控 LSD1 的活性的?是什么原因造成生化实验和细胞实验结果的矛盾?尽管细胞生物学实验显示与雄激素/雌激素受体结合以后 LSD1 能使启动子区域甲基化 H3K9 的量减少,还需要有直接的生化实验证实这一现象.另一个重要的问题是雄激素/雌激素受体是怎样改变 LSD1 的底物特异性的,有一种可能是与雄激素/雌激素受体结合后,LSD1 活性中心的构象发生了改变,导致底物特异性的变化,这需要通过测定 LSD1 与相应受体复合物的三维结构来证实.除了组蛋白和 p53,还有其他蛋白如 TAF10 能被甲基化, LSD1 是否还有其他底物?在与雌激素受体结合后, LSD1 催化甲基化的 H3K9 去甲基化反应产生的 H₂O₂ 会引起 DNA 损伤,产生 8-oxo-guanine. DNA 损伤修复因子 OGG1 和拓扑异构酶 II β 结合到 DNA 损伤位点行使修复功能,使启动子区域的 DNA 解旋,激活基因转录的起始^[83].在 LSD1 与组蛋白去乙酰化酶复合物结合时,通常是抑制基因表达的.细胞是怎样处理 LSD1 催化甲基化 H3K4 去甲基化反应生成的副产物 H₂O₂ 引起的 DNA 损伤的?在 DNA 修复过程中如何避免基因转录的激活?

组蛋白去甲基化酶 LSD1 的发现,是表观遗传学研究的一个重要进展.对这一类蛋白的进一步研究,将发现更多的关于染色体结构的动态调控以及基因转录调控的分子机制,有助于更深入地了解疾病中表观遗传学变化,为基于表观遗传学机理的疾病治疗和药物开发提供理论依据.

参考文献(References)

- [1] Kornberg R D, Lorch Y. Twenty-five years of the nucleosome, fundamental particle of the eukaryote chromosome[J]. *Cell*, 1999, 98: 285-294.
- [2] Martin C, Zhang Y. The diverse functions of histone lysine methylation[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2005, 6: 838-849.
- [3] Mailand N, Bekker-Jensen S, Fastrup H, et al.

- RNF8 ubiquitylates histones at DNA double-strand breaks and promotes assembly of repair proteins[J]. *Cell*, 2007, 131: 887-900.
- [4] Kolas N K, Chapman J R, Nakada S, et al. Orchestration of the DNA-damage response by the RNF8 ubiquitin ligase[J]. *Science*, 2007, 318: 1 637-1 640.
- [5] Huen M S, Grant R, Manke I, et al. RNF8 transduces the DNA-damage signal via histone ubiquitylation and checkpoint protein assembly [J]. *Cell*, 2007, 131: 901-914.
- [6] Wyce A, Xiao T, Whelan K A, et al. H2B ubiquitylation acts as a barrier to Ctk1 nucleosomal recruitment prior to removal by Ubp8 within a SAGA-related complex [J]. *Mol Cell*, 2007, 27: 275-288.
- [7] Volkel P, Angrand P O. The control of histone lysine methylation in epigenetic regulation [J]. *Biochimie*, 2007, 89: 1-20.
- [8] Jenuwein T, Allis C D. Translating the histone code [J]. *Science*, 2001, 293: 1 074-1 080.
- [9] Ruthenburg A J, Li H, Patel D J, et al. Multivalent engagement of chromatin modifications by linked binding modules[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2007, 8: 983-994.
- [10] Wysocka J, Allis C D, Coonrod S. Histone arginine methylation and its dynamic regulation [J]. *Front Biosci*, 2006, 11: 344-355.
- [11] Lachner M, O'Sullivan R J, Jenuwein T. An epigenetic road map for histone lysine methylation[J]. *J Cell Sci*, 2003, 116: 2 117-2 124.
- [12] Margueron R, Trojer P, Reinberg D. The key to development: Interpreting the histone code [J]. *Curr Opin Genet Dev*, 2005, 15: 163-176.
- [13] Zhang Y, Reinberg D. Transcription regulation by histone methylation: interplay between different covalent modifications of the core histone tails [J]. *Genes Dev*, 2001, 15: 2 343-2 360.
- [14] Santos-Rosa H, Schneider R, Bannister A J, et al. Active genes are tri-methylated at K4 of histone H3 [J]. *Nature*, 2002, 419: 407-411.
- [15] Wysocka J, Swigut T, Xiao H, et al. A PHD finger of NURF couples histone H3 lysine 4 trimethylation with chromatin remodelling [J]. *Nature*, 2006, 442: 86-90.
- [16] Shi X, Hong T, Walter K L, et al. ING2 PHD domain links histone H3 lysine 4 methylation to active gene repression [J]. *Nature*, 2006, 442: 96-99.
- [17] Rea S, Eisenhaber F, O'Carroll D, et al. Regulation of chromatin structure by site-specific histone H3

- methyltransferases[J]. *Nature*, 2000, 406: 593-599.
- [18] Biel M, Wascholowski V, Giannis A. Epigenetics: An epicenter of gene regulation — histones and histone-modifying enzymes[J]. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2005, 44: 3 186-3 216.
- [19] Shahbazian M D, Grunstein M. Functions of site-specific histone acetylation and deacetylation[J]. *Annu Rev Biochem*, 2007, 76: 75-100.
- [20] Zhang Y. Transcriptional regulation by histone ubiquitination and deubiquitination [J]. *Genes Dev*, 2003, 17: 2 733-2 740.
- [21] Paik W K, Kim S. Enzymatic demethylation of calf thymus histones[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1973, 51: 781-788.
- [22] Shi Y, Lan F, Matson C, et al. Histone demethylation mediated by the nuclear amine oxidase homolog LSD1 [J]. *Cell*, 2004, 119: 941-953.
- [23] Shi Y, Whetstine J R. Dynamic regulation of histone lysine methylation by demethylases [J]. *Mol Cell*, 2007, 25: 1-14.
- [24] Klose R J, Zhang Y. Regulation of histone methylation by demethylimination and demethylation[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2007, 8: 307-318.
- [25] Tong J K, Hassig C A, Schnitzler G R, et al. Chromatin deacetylation by an ATP-dependent nucleosome remodelling complex[J]. *Nature*, 1998, 395: 917-921.
- [26] Hakimi M A, Dong Y, Lane W S, et al. A candidate X-linked mental retardation gene is a component of a new family of histone deacetylase-containing complexes [J]. *J Biol Chem*, 2003, 278: 7 234-7 239.
- [27] You A, Tong J K, Grozinger C M, et al. CoREST is an integral component of the CoREST- human histone deacetylase complex[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2001, 98: 1 454-1 458.
- [28] Humphrey G W, Wang Y, Russanova V R, et al. Stable histone deacetylase complexes distinguished by the presence of SANT domain proteins CoREST/ kiaa0071 and Mta-L1 [J]. *J Biol Chem*, 2001, 276: 6 817-6 824.
- [29] Shi Y, Sawada J, Sui G, et al. Coordinated histone modifications mediated by a CtBP co-repressor complex [J]. *Nature*, 2003, 422: 735-738.
- [30] Aravind L, Iyer L M. The SWIRM domain: A conserved module found in chromosomal proteins points to novel chromatin-modifying activities [J]. *Genome Biol* 3, 2002, RESEARCH0039.
- [31] Treweek S C, Henshaw T F, Hausinger R P, et al. Oxidative demethylation by *Escherichia coli* AlkB directly reverts DNA base damage[J]. *Nature*, 2002, 419: 174-178.
- [32] Tsukada Y I, Fang J, Erdjument-Bromage H, et al. Histone demethylation by a family of JmjC domain-containing proteins[J]. *Nature*, 2005.
- [33] Fang J, Hogan G J, Liang G, et al. The *Saccharomyces cerevisiae* histone demethylase Jhd1 fine-tunes the distribution of H3K36Me2[J]. *Mol Cell Biol*, 2007, 27: 5 055-5 065.
- [34] Tu S, Bulloch E M, Yang L, et al. Identification of histone demethylases in *Saccharomyces cerevisiae*[J]. *J Biol Chem*, 2007, 282: 14 262-14 271.
- [35] Yamane K, Toumazou C, Tsukada Y, et al. JHDM2A, a JmjC-containing H3K9 demethylase, facilitates transcription activation by androgen receptor [J]. *Cell*, 2006, 125: 483-495.
- [36] Klose R J, Yamane K, Bae Y, et al. The transcriptional repressor JHDM3A demethylates trimethyl histone H3 lysine 9 and lysine 36 [J]. *Nature*, 2006, 442: 312-316.
- [37] Whetstine J R, Nottke A, Lan F, et al. Reversal of histone lysine trimethylation by the JMJD2 family of histone demethylases [J]. *Cell*, 2006, 125: 467-481.
- [38] Klose R J, Gardner K E, Liang G, et al. Demethylation of histone H3K36 and H3K9 by Rph1: A vestige of an H3K9 methylation system in *Saccharomyces cerevisiae*[J]. *Mol Cell Biol*, 2007, 27 (11): 3 951-3 961.
- [39] Liang G, Klose R J, Gardner K E, et al. Yeast Jhd2p is a histone H3 Lys4 trimethyl demethylase[J]. *Nat Struct Mol Biol*, 2007, 14: 243-245.
- [40] Iwase S, Lan F, Bayliss P, et al. The X-Linked Mental Retardation Gene SMCX/JARID1C Defines a Family of Histone H3 Lysine 4 Demethylases[J]. *Cell*, 2007, 128: 1 077-1 088.
- [41] Christensen J, Agger K, Cloos P A, et al. RBP2 belongs to a family of demethylases, specific for tri- and dimethylated lysine 4 on histone 3[J]. *Cell*, 2007, 128: 1 063-1 076.
- [42] Seemance J, Li L, Carlos L, et al. The Trithorax group protein Lid is a trimethyl histone H3K4 demethylase required for dMyc-induced cell growth[J]. *Genes Dev*, 2007, 21: 537-551; doi: 10. 1101/gad. 1523007.
- [43] Yamane K, Tateishi K, Klose R J, et al. PLU-1 is an H3K4 Demethylase Involved in Transcriptional Repression and Breast Cancer Cell Proliferation [J]. *Mol Cell*, 2007, 25(6): 801-812.
- [44] Huarte M, Lan F, Kim T, et al. The fission yeast Jmj2 reverses histone H3 Lysine 4 trimethylation[J]. *J*

- Biol Chem, 2007,282:21 662-21 670.
- [45] Seward D J, Cubberley G, Kim S, et al. Demethylation of trimethylated histone H3 Lys4 in vivo by JARID1 JmjC proteins[J]. Nat Struct Mol Biol, 2007,14:240-242.
- [46] Lee N, Zhang J, Klose R J, et al. The trithorax-group protein Lid is a histone H3 trimethyl-Lys4 demethylase [J]. Nat Struct Mol Biol, 2007, 14: 341-343; doi: 10.1038/nsmb1216.
- [47] Smith E R, Lee M G, Winter B, et al. Drosophila UTX is a histone H3 Lys27 demethylase that colocalizes with the elongating form of RNA polymerase II [J]. Mol Cell Biol, 2008, 28: 1 041-1 046.
- [48] Hong S, Cho Y W, Yu L R, et al. Identification of JmjC domain-containing UTX and JMJD3 as histone H3 lysine 27 demethylases[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2007,104:18 439-18 444.
- [49] Lan F, Bayliss P E, Rinn J L, et al. A histone H3 lysine 27 demethylase regulates animal posterior development[J]. Nature, 2007,449:689-694.
- [50] Lee M G, Villa R, Trojer P, et al. Demethylation of H3K27 regulates polycomb recruitment and H2A ubiquitination[J]. Science,2007,318:447-450.
- [51] Agger K, Cloos P A, Christensen J, et al. UTX and JMJD3 are histone H3K27 demethylases involved in HOX gene regulation and development [J]. Nature, 2007,449:731-734.
- [52] Jepsen K, Solum D, Zhou T, et al. SMRT-mediated repression of an H3K27 demethylase in progression from neural stem cell to neuron [J]. Nature, 2007, 450:415-419.
- [53] Xiang Y, Zhu Z, Han G, et al. JMJD3 is a histone H3K27 demethylase [J]. Cell Res, 2007, 17: 850-857.
- [54] De Santa F, Totaro M G, Prosperini E, et al. The histone H3 lysine-27 demethylase Jmjd3 links inflammation to inhibition of polycomb-mediated gene silencing[J]. Cell, 2007,130:1 083-1 094.
- [55] Culhane J C, Cole P A. LSD1 and the chemistry of histone demethylation [J]. Curr Opin Chem Biol, 2007,11:561-568.
- [56] Yang M, Gocke C B, Luo X, et al. Structural basis for CoREST-dependent demethylation of nucleosomes by the human LSD1 histone demethylase [J]. Mol Cell, 2006,23:377-387.
- [57] Shi Y J, Matson C, Lan F, et al. Regulation of LSD1 histone demethylase activity by its associated factors [J]. Mol Cell, 2005, 19:857-864.
- [58] Lee M G, Wynder C, Cooch N, et al. An essential role for CoREST in nucleosomal histone 3 lysine 4 demethylation[J]. Nature, 2005,437:432-435.
- [59] Metzger E, Wissmann M, Yin N, et al. LSD1 demethylates repressive histone marks to promote androgen-receptor-dependent transcription[J]. Nature, 2005,437:436-439.
- [60] Garcia-Bassets I, Kwon Y S, Telese F, et al. Histone methylation-dependent mechanisms impose ligand dependency for gene activation by nuclear receptors[J]. Cell,2007,128:505-518.
- [61] Chen W, Obara M, Ishida Y, et al. Characterization of histone lysine-specific demethylase in relation to thyroid hormone-regulated anuran metamorphosis [J]. Dev Growth Differ, 2007,49:325-334.
- [62] Lan F, Zaratiegui M, Villen J, et al. S. pombe LSD1 Homologs Regulate Heterochromatin Propagation and Euchromatic Gene Transcription [J]. Mol Cell, 2007, 26:89-101.
- [63] Gordon M, Holt D G, Panigrahi A, et al. Genome-wide dynamics of SAPHIRE, an essential complex for gene activation and chromatin boundaries [J]. Mol Cell Biol, 2007,27:4 058-4 069.
- [64] Opel M, Lando D, Bonilla C, et al. Genome-wide studies of histone demethylation catalysed by the fission yeast homologues of mammalian LSD1 [J]. PLoS ONE, 2007,2, e386.
- [65] Huang J, Sengupta R, Espejo A B, et al. p53 is regulated by the lysine demethylase LSD1 [J]. Nature, 2007,449:105-108.
- [66] Forneris F, Binda C, Vanoni M A, et al. Human histone demethylase LSD1 reads the histone code [J]. J Biol Chem, 2005,280:41 360-41 365.
- [67] Forneris F, Binda C, Dall'aglio A, et al. A highly specific mechanism of histone H3-K4 recognition by histone demethylase LSD1 [J]. J Biol Chem, 2006,281 (46):35 289-35 295.
- [68] Lee M G, Wynder C, Bochar D A, et al. Functional interplay between histone demethylase and deacetylase enzymes [J]. Mol Cell Biol, 2006, 26: 6 395-6 402.
- [69] Guenther M G, Barak O, Lazar M A. The SMRT and N-CoR corepressors are activating cofactors for histone deacetylase 3 [J]. Mol Cell Biol, 2001, 21: 6 091-6 101.
- [70] Zhang Y, Ng H H, Erdjument-Bromage H, et al. Analysis of the NuRD subunits reveals a histone deacetylase core complex and a connection with DNA methylation [J]. Genes Dev, 1999, 13: 1 924-1 935.
- [71] Iwase S, Januma A, Miyamoto K, et al.

- Characterization of BHC80 in BRAF-HDAC complex, involved in neuron-specific gene repression [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2004, 322: 601-608.
- [72] Lan F, Collins R E, De Cegli R, et al. Recognition of unmethylated histone H3 lysine 4 links BHC80 to LSD1-mediated gene repression[J]. *Nature*, 2007, 448: 718-722.
- [73] Wissmann M, Yin N, Muller J M, et al. Cooperative demethylation by JMJD2C and LSD1 promotes androgen receptor-dependent gene expression[J]. *Nat Cell Biol*, 2007, 9(3):347-353.
- [74] Rudolph T, Yonezawa M, Lein S, et al. Heterochromatin Formation in *Drosophila* Is Initiated through Active Removal of H3K4 Methylation by the LSD1 Homolog SU(VAR)3-3[J]. *Mol Cell*, 2007, 26: 103-115.
- [75] Wang J, Scully K, Zhu X, Cai L, et al. Opposing LSD1 complexes function in developmental gene activation and repression programmes [J]. *Nature*, 2007, 446 (7 138):882-887.
- [76] Zhu Q, Liu C, Ge Z, et al. Lysine-Specific Demethylase 1 (LSD1) Is Required for the Transcriptional Repression of the Telomerase Reverse Transcriptase (hTERT) Gene [J]. *PLoS ONE* 3, 2008, 3(1):e1446.
- [77] Stavropoulos P, Blobel G, Hoelz A. Crystal structure and mechanism of human lysine-specific demethylase-1 [J]. *Nat Struct Mol Biol*, 2006, 13:626-632.
- [78] Chen Y, Yang Y, Wang F, et al. Crystal structure of human histone lysine-specific demethylase 1 (LSD1) [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2006, 103: 13 956-13 961.
- [79] Yang M, Culhane J C, Szewczuk L M, et al. Structural basis for the inhibition of the LSD1 histone demethylase by the antidepressant trans-2-phenylcyclopropylamine [J]. *Biochemistry*, 2007, 46: 8 058-8 065.
- [80] Forneris F, Binda C, Adamo A, et al. Structural basis of LSD1-CoREST selectivity in histone H3 recognition [J]. *J Biol Chem*, 2007, 282: 20 070-20 074.
- [81] Lee M G, Wynder C, Schmidt D M, et al. Histone H3 lysine 4 demethylation is a target of nonselective antidepressive medications [J]. *Chem Biol*, 2006, 13: 563-567.
- [82] Huang Y, Greene E, Murray Stewart T, et al. Inhibition of lysine-specific demethylase 1 by polyamine analogues results in reexpression of aberrantly silenced genes [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2007, 104: 8 023-8 028.
- [83] Perillo B, Ombra M N, Bertoni A, et al. DNA oxidation as triggered by H3K9Me2 demethylation drives estrogen-induced gene expression [J]. *Science*, 2008, 319: 202-206.