

张惠铭, 喻勇飞, 卢辰, 等. 组蛋白甲基化对酿酒酵母铁离子代谢平衡基因表达的影响[J]. 江苏农业学报, 2019, 35(6): 1292-1298.

doi: 10.3969/j.issn.1000-4440.2019.06.004

组蛋白甲基化对酿酒酵母铁离子代谢平衡基因表达的影响

张惠铭, 喻勇飞, 卢辰, 薛勇

(江苏海洋大学江苏省海洋药物活性分子筛选重点实验室/江苏省海洋生物技术协同创新中心, 江苏 连云港 222005)

摘要: 为了了解组蛋白化学修饰在铁离子代谢平衡相关基因表达调控中的作用, 在酿酒酵母中通过敲除铁硫簇合成基因 *YFH1* 激活铁离子代谢平衡相关基因, 并在此基础上敲除组蛋白甲基化酶基因, 然后通过 RNA 测序检测组蛋白甲基化在铁离子代谢平衡相关基因激活中的作用。结果显示, 酿酒酵母中组蛋白甲基化的缺失并没有显著影响铁离子代谢平衡通路相关基因的激活, 表明组蛋白甲基化在铁离子代谢平衡基因的激活调控中并不是必须的。

关键词: 表观遗传; 铁离子代谢平衡; 组蛋白甲基化; 酿酒酵母

中图分类号: Q36 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4440(2019)06-1292-07

Effects of histone methylation on the expression of iron homeostasis genes in *Saccharomyces cerevisiae*

ZHANG Hui-ming, YU Yong-fei, LU Chen, XUE Yong

(Jiangsu Key Laboratory of Marine Pharmaceutical Compound Screening, Jiangsu Ocean University/Co-Innovation Center of Jiangsu Marine Bio-industry Technology, Lianyungang 222005, China)

Abstract: To understand the role of histone modifications in the transcriptional regulation of iron homeostasis genes, the ferroxidase gene *YFH1*, which promoted Fe-S cluster assembly in *Saccharomyces cerevisiae*, was knocked out to activate the expression of iron homeostasis genes. In addition, the role of histone methylations in the activation of these genes was investigated through RNA-Seq, with the presence or absence of histone methylations. Results showed that loss of histone methylation did not significantly affect the activation of genes involved in iron homeostasis, indicating that histone methylation was not necessary for the activation of iron homeostasis genes.

Key words: epigenetics; iron ion homeostasis; histone methylation; *Saccharomyces cerevisiae*

铁是几乎所有生物所必须的基本元素, 参与氧运输、脱氧核糖核苷酸(dNTP)合成、脂质代谢和血红素合成等细胞内多种重要代谢过程^[1]。更重要的是, 铁也是最古老的辅酶因子——铁硫簇(Fe-S

cluster)的关键组分, 参与完成呼吸链复合物中的电子传递、DNA复制和修复、端粒维持和蛋白质翻译等细胞内的关键生物学功能^[2-3]。然而, 铁过量又会催化形成高活性羟基自由基, 触发氧化应激^[4], 脂质过氧化^[5], 基因组不稳定和DNA修复缺陷^[6], 最终损害细胞活力并促进程序性细胞死亡^[7]。铁离子代谢失衡与许多人类疾病密切相关, 铁缺乏是贫血的主要原因, 而铁过量与心血管疾病、神经性疾病、炎症和感染、遗传性疾病以及癌症都有着密切的

收稿日期: 2019-05-02

作者简介: 张惠铭(1991-), 男, 江苏连云港人, 硕士研究生, 研究方向为基因组学分析。(E-mail) zhmofcpu@sina.com

通讯作者: 卢辰, (E-mail) luchen@hhit.edu.cn

关系^[8]。因此,维持铁离子代谢平衡在细胞功能和人类健康中都起到至关重要的作用。

维持铁离子代谢平衡很重要的方面是铁摄取系统的精确调控。细胞既可以通过非还原性铁载体转运系统从外部环境获得铁,亦可以通过还原性铁转运系统将铁从细胞外运送到细胞内^[9]。这些铁摄取系统相关的基因主要受到转录因子 Aft1p 的调控。在缺铁的时候,Aft1p 转移到细胞核内,与铁离子代谢平衡相关基因结合并调控相关基因的表达^[10-12]。除此之外,在线粒体内铁硫簇合成出现问题时,比如缺乏促进铁硫簇合成的铁伴侣 Yfh1p 时,也会激活转录因子 Aft1p 的转录和进入细胞核,进而调控铁离子代谢平衡相关基因的表达^[13]。

基因的表达除了受转录因子的调控外,还受到表观遗传学水平上组蛋白及其修饰的调控。比如组蛋白 H3K4 甲基化和基因激活相关,而组蛋白的乙酰基化则使得核小体结构松散更利于基因表达^[14-15]。研究结果表明,组蛋白修饰在铁离子代谢平衡相关基因的调控方面也起着重要的作用。例如 DNA 甲基化结合蛋白 MBD5 可通过募集组蛋白乙酰化酶 KAT2A,改变铁蛋白基因启动子区域的组蛋白乙酰化水平,从而激活基因转录,直接调控铁蛋白基因(*FTH1*)转录,进而调控铁离子代谢平衡^[16]。但整体而言,目前组蛋白修饰与铁离子代谢平衡基因之间关系的研究还比较少。另外,转录因子和组蛋白修饰在铁离子代谢平衡调控中的协同作用方式也不清楚。因此,铁离子代谢平衡和组蛋白甲基化之间的关系值得深入探讨。

组蛋白 H3 是修饰最多的组蛋白,具有甲基化、乙酰基化、磷酸化和泛素化等多种修饰方式。作为最简单的真核模式生物,酿酒酵母中组蛋白 H3 仅有的 3 个赖氨酸甲基化位点,分别位于 K4、K36 和 K79,对基因转录主要起到正调控的作用^[17]。其中

组蛋白 H3 K4 的甲基化主要聚集在活跃转录的启动子区域,而组蛋白 H3 K36 和 K79 的甲基化位于基因的编码区^[18]。为了研究酿酒酵母中铁离子代谢平衡相关基因的转录调控与组蛋白 H3 甲基化之间的关系,本研究首先敲除铁硫簇合成基因 *YFH1* 来诱导酵母细胞的缺铁反应,然后再分别敲除酿酒酵母中负责组蛋白 H3 K4、K36 和 K79 甲基化的 *SET1*、*SET2* 和 *DOT1* 3 个组蛋白甲基化酶基因,通过 RNA-Seq 观察组蛋白甲基化缺失对铁离子代谢平衡相关基因表达的影响。

1 材料与方法

1.1 试验材料

培养基为 YPD 培养基,加入相应抗生素。营养缺陷型培养基为 SC 培养基的相应缺陷品种。

酿酒酵母原始菌株 BY4741^[19]由加州大学洛杉矶分校馈赠,试验菌株以 BY4741 为基础进行改造,改造后的菌株基因型如表 1 所示。使用经典的酵母同源重组方法对菌株进行构建。将设计合成的重组片段转化进入野生型酵母菌株,同源重组片段中原有基因片段由一段筛选标签基因替换,转化后在相应的筛选培养基中筛选得到所需的基因敲除酵母菌株。首先从野生型酿酒酵母中用卡那霉素抗性基因替代 *YFH1* 基因,并在遗传霉素培养基上生长得到 $\Delta yfh1$ 敲除菌株。然后将 $\Delta yfh1$ 敲除菌株分别进行同源重组进一步敲除 3 个组蛋白甲基化酶基因。*SET1* 基因的敲除使用潮霉素抗性基因进行替换,*SET2* 基因的敲除使用组氨酸合成基因进行替换,*DOT1* 基因的敲除使用亮氨酸合成基因进行替换。其中, $\Delta yfh1 \Delta set1$ 敲除菌株在潮霉素培养基上筛选培养, $\Delta yfh1 \Delta set2$ 敲除菌株在组氨酸缺陷型培养基上筛选培养, $\Delta yfh1 \Delta dot1$ 敲除菌株在亮氨酸缺陷型培养基上筛选培养。

表 1 试验菌株基因型

Table 1 Genotypes of strains used in this study

菌株	基因型
WT	<i>MATa his3 Δ1 leu2 Δ0 met15 Δ0 ura3 Δ0</i>
$\Delta yfh1$	除 <i>YFH1 Δ::kanMX</i> 以外,其他基因型与 WT 一致
$\Delta yfh1 \Delta set1$	除 <i>YFH1 Δ::kanMX SET1 Δ::hphMX</i> 以外,其他基因型与 WT 一致
$\Delta yfh1 \Delta set2$	除 <i>YFH1 Δ::kanMX SET2 Δ::his3K</i> 以外,其他基因型与 WT 一致
$\Delta yfh1 \Delta dot1$	除 <i>YFH1 Δ::kanMX DOT1 Δ::leu2</i> 以外,其他基因型与 WT 一致

1.2 mRNA 的提取与 cDNA 文库构建

将试验菌株于 YPD 培养基上培养至对数生长期 ($A_{600} \approx 1$)。收集菌体并使用热酸酚法抽提总 RNA。提取的 RNA 使用 DNaseI (Ambion TURBO DNA-free kit) 处理并使用 TRIzol 试剂 (Ambion) 进行纯化。使用 Illumina TruSeq RNA sample preparation kit version 2 构建 mRNA 文库。提取的 RNA 送测序公司测序, 测序仪器为 HiSeq2500。

1.3 RNA 测序数据分析

使用 FastQC v0.11.6 检查原始测序数据质量, 并根据质量控制结果, 使用 Cutadapt v1.15 去除测序接头序列和低质量读序 (read)。从酵母基因组数据库 (SGD, <https://www.yeastgenome.org/>) 中下载酵母全开放阅读框 (ORF) 序列作为参考序列, 使用 Salmon v0.9.1 的准比对模式 (Quasi-mapping mode) 将质量控制后的测序数据匹配到酵母编码序列上, 使用 TPM (Transcripts per million, 每百万读序中的转录本数量) 计算基因表达量。每个基因匹配到的原始读序数据输入到 R/BioConductor 的 edgeR 包中, 用于分析样本间的基因差异表达情况。因本研究并未设置生物学重复, edgeR 中 bcv 参数设置为 0.01。P-value < 0.01 的基因被认为存在显著差异表达。基因本体 (Gene Ontology) 分析使用 SGD 网站的 Gene Ontology Term Finder。热图使用 R 语言的 pheatmap 包绘制 (为方便绘图, 部分 TPM 为 0 的基因在绘图时使用 TPM=0.1 替代)。

2 结果

2.1 酵母 RNA 测序结果概述

经过质量控制, 去除接头序列和低质量读序后, 5 个样本的 Clean reads 数量为 4 668 325~7 511 155。采用 Salmon 软件的准匹配模式, 有 3 931 768~6 785 928 个读序匹配到酵母编码基因上, 覆盖了 6 282~6 490 个酵母基因 (表 2)。整体可以反映不同基因型酵母细胞的转录组情况。

通过 EdgeR 分析, 发现 $\Delta yfh1$ 单敲除菌株相对于野生型有 1 398 个基因的表达量发生了显著上调, 461 个基因的表达量显著下调 (图 1A)。而 $\Delta yfh1 \Delta set1$ 、 $\Delta yfh1 \Delta set2$ 和 $\Delta yfh1 \Delta dot1$ 3 种双敲除菌株相对于 $\Delta yfh1$ 单敲除菌株, 则分别有 1 051、1 494 和 1 590 个基因表达显著上调, 1 831、1 290 和 1 217 个基因表达显著下调 (图 1B~图 1D)。

表 2 各菌株测序数据评估

Table 2 Assessment of sequencing data in each strain

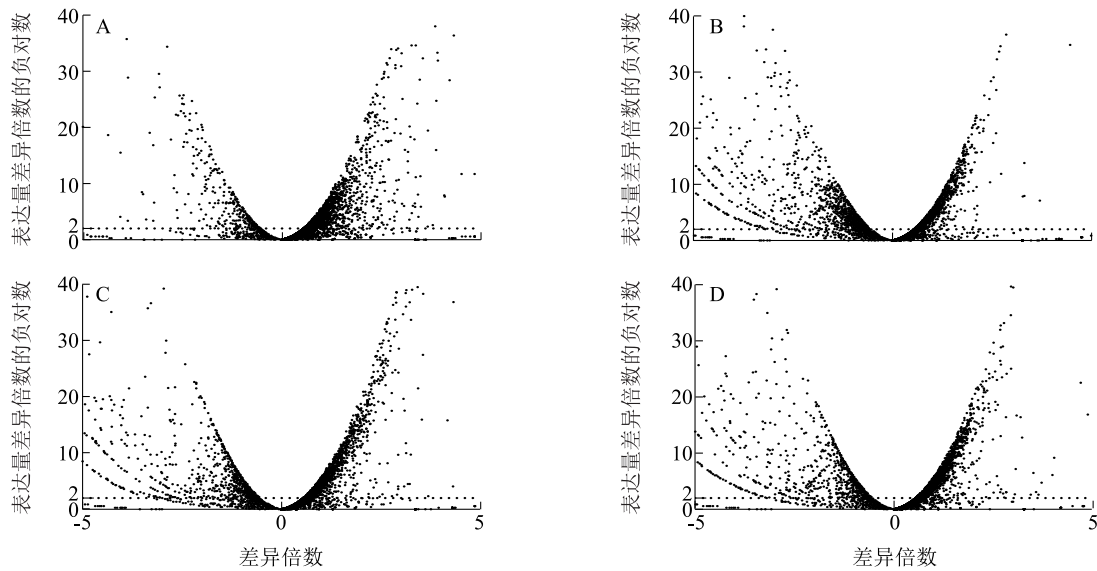
菌株	Clean reads 数目	Mapped reads 数目	Mapped cDNA 数目	Mapping 比率 (%)
WT	7 511 155	6 785 928	6 490	90.34
$\Delta yfh1$	5 616 458	5 199 914	6 445	92.58
$\Delta yfh1 \Delta set1$	5 194 859	4 503 365	6 282	86.69
$\Delta yfh1 \Delta set2$	4 668 325	3 931 768	6 341	84.22
$\Delta yfh1 \Delta dot1$	5 268 709	4 489 302	6 314	85.21

为了验证各突变型中相应敲除基因的表达是否与试验设计一致, 我们比较了各试验组中 *YFH1*、*SET1*、*SET2* 和 *DOT1* 等 4 个基因的表达量 (图 2)。野生型中 4 个基因都正常表达。 $\Delta yfh1$ 菌株中 *YFH1* 基因未表达, 其余 3 个组蛋白甲基化基因都表达正常。3 个双敲除酵母菌株中, *YFH1* 基因和相对应的组蛋白甲基化酶基因均未检测到表达。这一结果验证了我们所构建的试验菌株中目标基因表达情况与设计一致。

2.2 敲除 *YFH1* 基因后铁离子代谢平衡基因表达量变化

选择 SGD 中所注释的 27 个铁离子代谢平衡相关基因, 用以分析基因敲除前后铁离子代谢平衡相关基因表达量的变化。首先比较 $\Delta yfh1$ 菌株和野生型, 结果显示, 受到线粒体内铁硫簇合成相关基因 *YFH1* 被敲除的影响, $\Delta yfh1$ 敲除菌株中铁离子代谢平衡相关基因的表达与野生型相比有显著差异, 27 个铁离子代谢平衡相关基因中, 除了试验敲除的 *YFH1* 以外, 有 22 个基因的表达量都发生了显著上调 (图 3A), 仅有 *GMC1*、*MMT1*、*ATM1*、*FRE7* 等 4 个基因表达没有发生显著变化 (EdgeR 分析结果: $P > 0.01$)。使用单因素方差分析比较除 *YFH1* 以外 26 个铁离子代谢平衡相关基因的表达量, 结果表明 $\Delta yfh1$ 菌株中铁离子代谢平衡相关基因整体表达水平显著高于野生型 ($P < 0.01$) (图 3B)。

将 $\Delta yfh1$ 敲除菌株中所有在敲除前后表达量发生显著变化 ($P < 0.01$) 的基因导入 SGD Gene Ontology Term Finder 中, 分析这些表达差异显著的基因富集于哪些细胞代谢通路之中。结果显示, *YFH1* 敲除后发生上调的基因主要富集于金属离子代谢通路中, 尤其是铁离子代谢通路中 (图 3C)。这与我们前面分析得到的铁离子代谢平衡通路中基因发生了



A: $\Delta yfh1$ 与 WT 对比; B: $\Delta yfh1 \Delta set1$ 与 $\Delta yfh1$ 对比; C: $\Delta yfh1 \Delta set2$ 与 $\Delta yfh1$ 对比; D: $\Delta yfh1 \Delta dot1$ 与 $\Delta yfh1$ 对比。差异倍数小于 0 表示表达量显著下调的基因,差异倍数大于 0 表示表达量显著上调的基因,差异显著性负对数小于 2 表示表达量无显著差异。菌株见表 1。

图 1 不同菌株之间差异表达基因火山图

Fig.1 Volcano plots showing differentially expressed genes among different strains

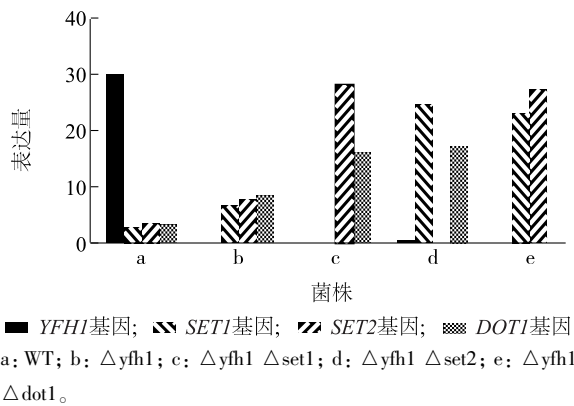


图 2 基因敲除结果验证

Fig.2 Checking of gene knockout results

显著上调的结果是一致的。*YFH1* 敲除后发生下调的基因则集中于细胞呼吸相关的氧化磷酸化与电子传递链等通路之中(图 3C)。

2.3 组蛋白甲基化酶对铁离子代谢平衡基因表达的影响

进一步比较 $\Delta yfh1 \Delta set1$ 、 $\Delta yfh1 \Delta set2$ 、 $\Delta yfh1 \Delta dot1$ 这 3 种双敲除菌株与 $\Delta yfh1$ 单敲除菌株之间 27 个铁离子代谢平衡相关基因表达量的差异(图 4A)。与 $\Delta yfh1$ 相比,虽然有个别基因(*FET4*、*ARN1*、*FRE7*)在组蛋白甲基化酶双敲除菌株中有表达量的改变,但是总体来看,在 $\Delta yfh1$ 基础上进一步分别敲除 3 个组蛋白甲基化酶基因后,绝大多数铁离子代谢

平衡相关基因的表达量并未发生显著变化。 $\Delta yfh1$ 敲除菌株中被上调表达的铁离子代谢平衡相关基因在敲除组蛋白甲基化酶基因后,仍然保持了较高的表达量。分别将 3 种双敲除菌株中除了 *YFH1* 以外的 26 个铁离子代谢平衡相关基因的整体表达量与 $\Delta yfh1$ 单敲除菌株进行单因素方差分析(图 4B),结果也显示与 $\Delta yfh1$ 单敲除菌株相比,3 种双敲除菌株中铁离子代谢平衡相关基因的整体表达量均没有显著差异($P>0.05$),说明在酿酒酵母中,缺失组蛋白甲基化酶并没有显著影响由 *YFH1* 缺失所造成的铁离子代谢平衡相关基因的激活。为了进一步分析 3 种组蛋白甲基化酶主要影响了哪些细胞功能通路,我们用 SGD Gene Ontology Term Finder 分析了 3 种双敲除菌株与 $\Delta yfh1$ 单敲除菌株相比表达量发生了显著变化($P<0.01$)的基因(图 4C~图 4E)。GO 富集结果显示,3 种含有组蛋白甲基化酶敲除的双敲除菌株与 $\Delta yfh1$ 单敲除菌株相比,染色体行为和细胞宏观调控相关基因表达量上调,包括转座、DNA 结合、生化调控、细胞代谢调控等。另一方面,3 种组蛋白甲基化酶缺失引起的基因下调通路有所区别, $\Delta yfh1 \Delta dot1$ 菌株中显著下调的基因集中于各种物质运输相关通路, $\Delta yfh1 \Delta set1$ 菌株中显著下调的基因未在有意义的代谢通路中富集,而 $\Delta yfh1 \Delta set2$ 菌株中显著下调的基因集中于核糖体相关代谢通路。

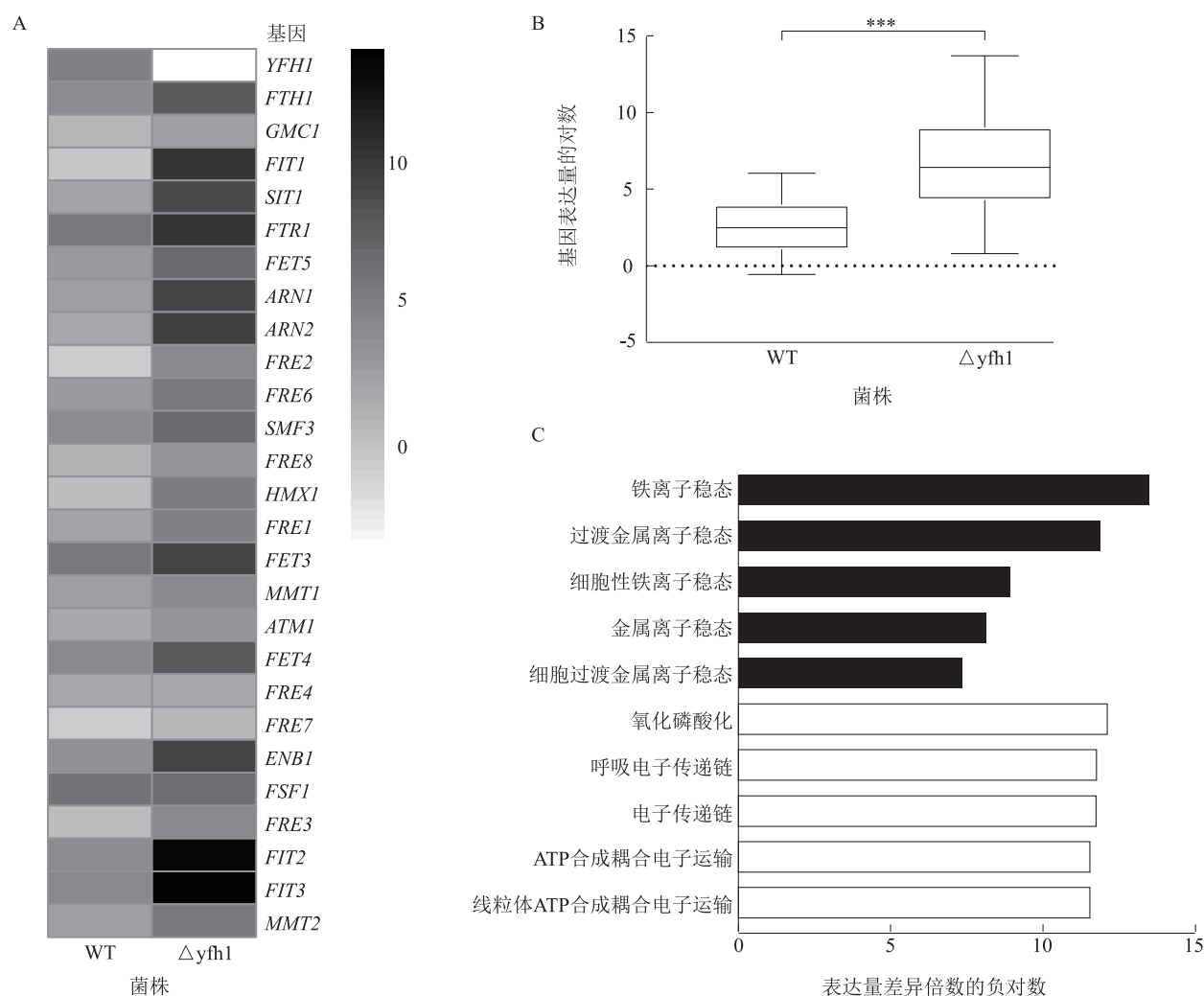
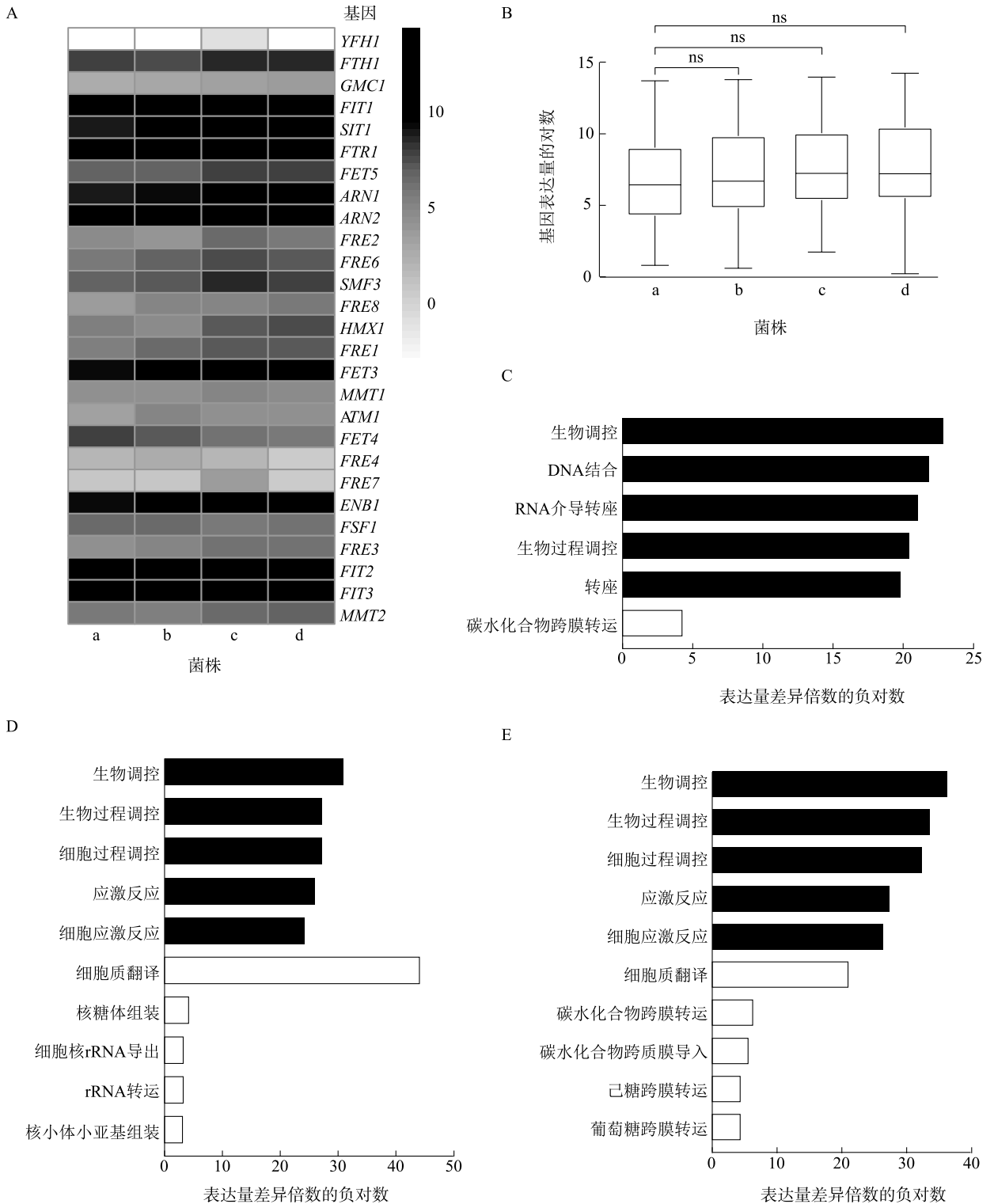


图 3 $\Delta yfh1$ 突变体铁代谢平衡相关基因表达情况与差异表达基因通路
Fig.3 Expression of iron homeostasis genes and pathway of differential expression genes between $\Delta yfh1$ and WT strain

3 讨论

铁离子代谢平衡在很多生物细胞内被发现与表观遗传修饰有密切联系。铁元素的缺乏会导致组蛋白甲基化水平的上升以及乙酰化水平的下降,小鼠中去乙酰化酶的抑制剂可以提高铁离子代谢平衡基因 *FTH1* 的表达,拟南芥中组蛋白二甲基化酶 *SKB1* 的敲除会促进铁摄取基因的表达上调。在酿酒酵母中组蛋白的酵母突变体和染色质修饰酶对铁螯合剂姜黄素敏感(其中包括 $\Delta set1_H3K4A$ 突变体),并且姜黄素会降低组蛋白乙酰化水平(比如 H3K56Ac)和甲基化(H3K4Me2)的水平^[20]。同时组蛋白 H3K4 甲基化酶复合物 SET1/Compass 复合物中 BRE2/BRE5 亚基缺失会造成对铁螯合剂红菲咯啉二磺酸(BPS)敏

感^[21]。因此我们推测组蛋白及其甲基化和乙酰化等修饰可能在铁离子代谢平衡相关基因的转录调控中起到重要作用。细胞在线粒体内铁硫簇合成能力有缺陷时($\Delta yfh1$)会诱导铁离子代谢平衡尤其是铁摄取相关基因的表达,因此我们通过敲除 *YFH1* 基因来激活铁离子代谢平衡相关基因的表达,并进一步敲除组蛋白甲基化相关的酶,来研究酿酒酵母细胞内铁离子代谢平衡相关基因的上调是否受组蛋白甲基化的调控。如果组蛋白甲基化对铁摄取相关基因的激活起到重要作用,那么在由 *YFH1* 基因的敲除所造成的铁离子代谢平衡相关基因的上调应发生显著的回落。因为组蛋白甲基化处在整体基因调控的上游区域,所以这个变化应该可以在铁离子代谢平衡相关基因的整体表达变化上体现出来。



A: $\Delta yfh1$ 和 3 个组蛋白甲基化双敲除突变体中铁离子代谢平衡相关基因表达量热图; B: $\Delta yfh1$ 和 3 个组蛋白甲基化双敲除突变体中铁离子代谢平衡相关基因表达量的整体变化; C: $\Delta yfh1 \Delta set1$ 与 $\Delta yfh1$ 相比差异表达基因的主要富集通路; D: $\Delta yfh1 \Delta set2$ 与 $\Delta yfh1$ 相比差异表达基因的主要富集通路; E: $\Delta yfh1 \Delta dot1$ 与 $\Delta yfh1$ 相比差异表达基因的主要富集通路。a: $\Delta yfh1$; b: $\Delta yfh1 \Delta set1$; c: $\Delta yfh1 \Delta set2$; d: $\Delta yfh1 \Delta dot1$ 。

图 4 3 个双敲除突变体与 $\Delta yfh1$ 相比铁代谢平衡基因表达情况与差异表达基因通路

Fig.4 Expression of iron homeostasis genes and pathway of differential expression genes between three double-knockout mutants and $\Delta yfh1$

我们使用 RNA-Seq 研究了 4 个酿酒酵母敲除菌株中基因表达的差异以及它们与表型之间的联系。分析结果显示包含组蛋白甲基化酶与 *YFHI* 的双敲除菌株与 $\Delta yfh1$ 敲除菌株相比在基因表达上存在很大差异。但很遗憾的是,与我们最初的推测不同,虽然组蛋白甲基化酶的缺失对大量基因的表达造成了影响,但并未对 $\Delta yfh1$ 敲除菌株中显著上调的铁离子代谢平衡相关基因产生可以归纳出生物学意义的影响。铁离子代谢平衡相关基因整体在 3 个双敲除菌株中与 $\Delta yfh1$ 敲除菌株相比没有显著变化。从整体看,我们的基因表达差异分析结果是可信的,所以组蛋白甲基化的缺失并不会影响细胞内铁离子代谢平衡相关基因的上调。我们认为这一结果可能是因为 *YFHI* 缺失所造成的铁离子代谢平衡相关基因的上调是由组蛋白甲基化调控以外的某些途径调控的,也有可能是因为组蛋白的其他化学修饰对组蛋白甲基化修饰有补充作用。因此我们将在之后的研究中对组蛋白的其他化学修饰相关基因进行敲除,进一步系统性研究表观遗传学修饰对铁离子代谢平衡相关基因转录的影响。

本试验通过敲除组蛋白甲基化酶基因与 *YFHI* 基因,研究组蛋白甲基化对铁离子代谢平衡基因上调的影响。结果显示在平衡状态下,3 种组蛋白甲基化双敲除菌株中铁离子代谢平衡相关基因的表达与 $\Delta yfh1$ 敲除菌株没有显著差异。因此我们推测,酿酒酵母的组蛋白甲基化并不是调控 *YFHI* 基因敲除后铁离子代谢平衡相关基因表达上调的主要因素。但这一结果并未体现铁离子代谢激活过程中的动态变化。后期我们将进一步研究其他组蛋白化学修饰和铁离子代谢动力学上的变化,希望找出调控铁离子代谢平衡相关基因表达上调的因子。

参考文献:

- [1] DLOUHY A C, OUTTEN C E. The iron metallome in eukaryotic organisms[J]. *Met Ions Life Sci*, 2013,12:241-278.
- [2] STEHLING O, LILL R. The role of mitochondria in cellular iron-sulfur protein biogenesis: mechanisms, connected processes, and diseases[J/OL]. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2013, 5: a011312 [2019-05-02]. <https://cshperspectives.cshlp.org/content/5/8/a011312>
- [3] XUE Y, SCHMOLLINGER S, ATTAR N, et al. Endoplasmic reticulum-mitochondria junction is required for iron homeostasis[J]. *J Biol Chem*, 2017,292:13197-13204.
- [4] MENEHINI R. Iron homeostasis, oxidative stress, and DNA damage[J]. *Free Radic Biol Med*, 1997,23:783-792.
- [5] BRAUGHLER J M, DUNCAN L A, CHASE R L. The involvement of iron in lipid peroxidation, Importance of ferric to ferrous ratios in initiation[J]. *J Biol Chem*, 1986,261:10282-10289.
- [6] ZHANG C. Essential functions of iron-requiring proteins in DNA replication, repair and cell cycle control[J]. *Protein Cell*, 2014, 5:750-760.
- [7] GOZZELINO R, AROSIO P. The importance of iron in pathophysiological conditions[J]. *Front Pharmacol*, 2015,6:26.
- [8] GOZZELINO R, AROSIO P. Iron homeostasis in health and disease[J]. *Int J Mol Sci*, 2016,17: 130.
- [9] PHILPOTT C C. Iron uptake in fungi: a system for every source[J]. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2006,1763:636-645.
- [10] PHILPOTT C C, PROTCHEKO O. Response to iron deprivation in *Saccharomyces cerevisiae*[J]. *Eukaryot Cell*, 2008,7:20-27.
- [11] RUTHERFORD J C, QJEDA L, BALK J, et al. Activation of the iron regulon by the yeast Aft1/Aft2 transcription factors depends on mitochondrial but not cytosolic iron-sulfur protein biogenesis[J]. *J Biol Chem*, 2005,280:10135-10140.
- [12] YAMAGUCHI-IWAI Y, DANCIS A, KLAUSNER R D. AFT1: a mediator of iron regulated transcriptional control in *Saccharomyces cerevisiae*[J]. *The EMBO Journal*, 1995,14:1231-1239.
- [13] BABCOCK M, DE SILVA D, OAKS R, et al. Regulation of mitochondrial iron accumulation by Yfh1p, a putative homolog of frataxin[J]. *Science*, 1997,276:1709-1712.
- [14] VAN LEEUWEN F, VAN STEENSEL B. Histone modifications: from genome-wide maps to functional insights[J]. *Genome Biol*, 2005,6:113.
- [15] RANDO O J, CHANG H Y. Genome-wide views of chromatin structure[J]. *Annu Rev Biochem*,2009,78:245-271.
- [16] TAO Y, WU Q, GUO X, et al. MBD5 regulates iron metabolism via methylation-independent genomic targeting of Fth1 through KAT2A in mice[J]. *Br J Haematol*, 2014,166:279-291.
- [17] FREITAG M. Histone methylation by SET domain proteins in fungi[J]. *Annu Rev Microbiol*,2017,71:413-439.
- [18] BLACK J C, VAN RECHEM C, WHETSTINE J R. Histone lysine methylation dynamics: establishment, regulation, and biological impact[J]. *Mol Cell*,2012,48:491-507.
- [19] BRACHMANN C B, DAVIES A, COST G J, et al. Designer deletion strains derived from *Saccharomyces cerevisiae* S288C: a useful set of strains and plasmids for PCR-mediated gene disruption and other applications[J]. *Yeast*, 1998,14:115-132.
- [20] AZAD G K, SINGH V, GOLLA U, et al. Depletion of cellular iron by curcumin leads to alteration in histone acetylation and degradation of Sml1p in *Saccharomyces cerevisiae*[J]. *PLoS ONE*, 2013,8:e59003.
- [21] JO W J, KIM J H, OH E, et al. Novel insights into iron metabolism by integrating deletome and transcriptome analysis in an iron deficiency model of the yeast *Saccharomyces cerevisiae*[J]. *BMC Genomics*,2009,10:130.

(责任编辑:张震林)