

FOXM1₆₈₈₋₇₄₈ 结构域相互作用蛋白的鉴定

谭拥军[†], 杨仕平, 余雳, 黄小芹, 陈燕, 谭桂湘
(湖南大学 生物学院, 湖南 长沙 410082)

摘要: 为了鉴定转录因子 FOXM1 转录激活结构域 (C-端第 688 位到 748 位氨基酸序列) 的互作蛋白, 以 FOXM1 的 cDNA 为模板, 采用聚合酶链式反应 (Polymerase Chain Reaction, PCR) 方法扩增获得其转录激活结构域序列, 克隆进入原核表达载体 pGEX-4T2; 利用大肠杆菌原核表达获得融合谷胱甘肽 S-转移酶 (Glutathione S-Transferase, GST) 标签的重组蛋白 GST-FOXM1₆₈₈₋₇₄₈; 通过 GST-pulldown 结合质谱方法鉴定 FOXM1₆₈₈₋₇₄₈ 的互作蛋白, 成功构建了原核表达质粒 pGEX-4T2-FOXM1₆₈₈₋₇₄₈, 获得了原核表达的重组蛋白 GST-FOXM1₆₈₈₋₇₄₈. 将质谱鉴定获得的互作蛋白进行分析和归类, 预示一些互作蛋白可以参与激活 FOXM1 的转录活性, 如 RPN2、MISP、MCM7 蛋白, 一些互作蛋白可以参与调控 FOXM1 蛋白的稳定性, 如 USP9Y、CUL4A、HSPB1、BAG2 蛋白. FOXM1 蛋白的转录激活结构域与许多不同功能的蛋白发生相互作用, 暗示该结构域具有重要的分子生物学作用, 期望为以 FOXM1 为靶点的临床药物研发提供实验依据.

关键词: 转录因子 FOXM1; FOXM1₆₈₈₋₇₄₈ 结构域; 原核表达; 相互作用

中图分类号: Q786

文献标志码: A

Identification of FOXM1₆₈₈₋₇₄₈ Domain-interacting Proteins

TAN Yongjun[†], YANG Shiping, YU Li, HUANG Xiaoqin, CHEN Yan, TAN Guixiang
(College of Biology, Hunan University, Changsha 410082, China)

Abstract: To identify the interacting proteins of transactivation domain of forkhead box protein M1 which is located on the 688th to the 748th amino acid sequence of C-terminal end, the cDNA of FOXM1 was used as a template, the transcription activation domain sequence was amplified by polymerase chain reaction and cloned into the prokaryotic expression vector pGEX-4T2. The recombinant protein GST-FOXM1₆₈₈₋₇₄₈ fused with glutathione S-transferase tag was obtained by *Escherichia coli* prokaryotic expression. The interacting proteins were identified by GST-pulldown assay and mass spectrometry. The pGEX-4T2-FOXM1₆₈₈₋₇₄₈ prokaryotic expression plasmid was constructed successfully and the FOXM1₆₈₈₋₇₄₈ recombination protein was obtained. According to the mass spectrometry results, the interacting proteins were analyzed and classified to show that some of them activated the transcriptional activity of FOXM1, such as RPN2, MISP, and MCM7 proteins, and some of them regulated the stability of FOXM1 protein, such as USP9Y, CUL4A, HSPB1, and BAG2 proteins. The transcription activation domain of FOXM1 protein interacts with

* 收稿日期:2020-12-10

基金项目:国家自然科学基金资助项目(81472718), National Natural Science Foundation of China(81472718)

作者简介:谭拥军(1967—),男,湖南长沙人,湖南大学教授,博士生导师

[†] 通信联系人, E-mail: yjtan@hnu.edu.cn

many proteins participating in different pathways, indicating that this domain has an important molecular biological role, which can expect to provide experimental basis for clinical drug development targeting FOXM1.

Key words: FOXM1; FOXM1₆₈₈₋₇₄₈ domain; prokaryotic expression; interaction

FOXM1 (Forkhead box M1) 是转录因子 FOX 家族的成员, 该家族成员都有一个保守的翼状螺旋 DNA 结合结构域^[1]. FOXM1 几乎在所有肿瘤细胞中高表达, 是基因表达和细胞循环机制以及其他重要生理过程的关键调节器^[2], 参与肿瘤细胞的增殖、迁移、侵袭、转移、上皮-间质转化、肿瘤血管生成、防止细胞过早衰老等过程^[3-7], 它与癌症的发生和发展存在着至关重要的关系, 已被确立用于癌症诊断、治疗和预后^[8]. FOXM1 蛋白主要包含 3 个结构域, 分别是保守的 DNA 结合结构域 (DBD)、N-端抑制结构域 (NRD)、C-端转录激活结构域 (TAD)^[9]. FOXM1 激活靶基因转录的机制中, 通过直接结合靶基因启动子后招募其他共激活因子, 激活基础转录机器, 从而启动转录^[10]. 通常情况下, FOXM1 的 N-端抑制结构域与 C-端转录激活结构域相互作用, 抑制 FOXM1 的转录活性^[11-12]. FOXM1 需要发挥转录激活作用时, 主要依赖细胞周期蛋白依赖性激酶 (CDKs) 和 PLK1 激酶, 对 FOXM1 的 TAD 进行磷酸化, 使 TAD 构象发生变化, 诱导 NRD 释放 TAD. 随后磷酸化的 TAD 可募集共激活剂 CBP, 实现激活基因转录^[13].

目前, 已发现 FOXM1 与许多蛋白发生相互作用. 一些互作蛋白作为 FOXM1 的正调节因子, 通过激活 FOXM1 的功能, 增强其在癌细胞中的活性, 如 NPM、MELK、Pin1 等蛋白^[14]. 另一些互作蛋白可作为 FOXM1 的负调节因子, 通过抑制 FOXM1 的功能来减弱其在癌细胞中的活性. 如在蛋白毒性应激下, HSP70 与 FOXM1 的相互作用抑制了 FOXM1 的 DNA 结合能力^[15]. 此外, FOXM1 与其他蛋白相互作用, 发挥介导这些蛋白激活或增强其致癌通路的功能. 如在胶质瘤细胞中, FOXM1 直接结合 β -catenin, 增强了 β -catenin 的核定位和转录活性, 从而激活 WNT 信号通路^[16].

近几十年来, 对 FOXM1 的转录激活研究较多集中在其转录激活结构域的氨基酸修饰上, 而对直接调控转录激活结构域的研究较少. 为了拓展 FOXM1 转录激活结构域对其转录活性影响的认识, 本文通过体外纯化该结构域的方法, 来研究其

他可能通过 TAD 结构域调控 FOXM1 转录活性的机制, 这对揭示 FOXM1 蛋白的分子功能具有重要的生物学意义.

1 材料与方法

1.1 材料

质粒 pGEX-4T2、FOXM1 CDS 序列由本实验室保存; 乳腺癌细胞 MDA-MB-231 购自美国模式培养物保藏所 (American Type Culture Collection, ATCC); 胎牛血清 (FBS) 购自 GIBCO 公司; 感受态细胞 DH5 α 、BL21 Rosetta (DE3)、DNA 聚合酶、PCR 引物、1 kb DNA maker 购自北京擎科生物技术有限公司; T4 DNA 连接酶购自 Ferments 公司; 限制性内切酶 XhoI、BamHI 购自 Thermo Fisher 公司; Glutathione Sepharose 4B 珠子、GST 抗体、Rabbit 二抗购自碧云天生物技术公司; Mouse 二抗购自 Bio-Rad 公司; FOXM1 抗体购自 CST (cell signaling technology) 公司; BAG2 抗体购自上海生工生物工程股份有限公司.

1.2 方法

1.2.1 pGEX-4T2-FOXM1₆₈₈₋₇₄₈ 载体的构建

在 NCBI 中检索 FOXM1 的 CDS 区序列, 截取其第 688 位到 748 位氨基酸对应的核苷酸序列并结合载体 pGEX-4T2 的 MCS 位点确定 FOXM1₆₈₈₋₇₄₈ 的引物. 其上游引物为 GCGGATCCATGTCCCGGAGCCACAGGTT, 下游引物为 GCCTCGAGCTA CTGTAGCTCAGGAAT, 划线部分为限制性内切酶 BamHI、XhoI 的酶切位点. 以 FOXM1 的 CDS 序列为模板, 扩增出 FOXM1₆₈₈₋₇₄₈ 片段. 扩增条件为 98 $^{\circ}$ C, 2 min; 98 $^{\circ}$ C, 10 s; 60 $^{\circ}$ C, 15 s; 72 $^{\circ}$ C, 15 s; 35 个循环. 将 PCR 产物克隆入 pGEX-4T2 空载体中, 经 BamHI、XhoI 双酶切鉴定后送擎科生物有限公司测序.

1.2.2 重组蛋白 GST-FOXM1₆₈₈₋₇₄₈ 的表达和纯化

将 pGEX-4T2-FOXM1₆₈₈₋₇₄₈、pGEX-4T2 质粒转化入感受态细胞 BL21 中, 挑选阳性单克隆, 加入含有氨苄的 LB 培养基中, 37 $^{\circ}$ C、220 r/min, 扩大培养至

OD 值为 0.6~0.8 的产物, 加入终浓度为 0.8 mmol/L IPTG, 28.5 °C 诱导过夜, 4 000 r/min, 离心 20 min, 收集菌体, 加入终质量浓度为 200~400 mg/mL 溶菌酶冰上裂解 30 min. 超声破碎, 离心收集上清, 加入 GST 珠子, 4 °C 孵育 2 h. 离心弃上清, 用 PBS 将珠子洗 5 遍, GST Elution Buffer 洗脱纯化的蛋白, 收集蛋白并用考马斯亮蓝染色检测其纯化效果.

1.2.3 细胞培养

MDA-MB-231 细胞用体积分数为 10% 的 FBS 和 1% 双抗(100 mg/L 青霉素和链霉素)的 DMEM 完全培养基培养, 置于 37 °C、体积分数为 5% 的 CO₂、相对湿度为 90% 的细胞培养箱中培养, 当 MDA-MB-231 细胞密度达到 90% 后用于 Pulldown 实验.

1.2.4 GST-pulldown

收集 MDA-MB-231 细胞, 加入 500 μL 的 IP 裂解液, 以体积比 1:100 的比例加入蛋白酶抑制剂, 冰上裂解 1 h, 12 000 r/min, 离心 5 min, 收集上清. 加入 30 μL GST 珠子, 4 °C 预孵育 1 h. 1 000 r/min 离心 2 min, 收集上清, 一分为二, 分别加入 50 μg 原核纯化的 GST、GST-FOXMI₆₈₈₋₇₄₈ 蛋白、30 μL GST 珠子, 4 °C 孵育 2 h. 1 000 r/min, 离心 2 min 收集 GST 珠子, 用预冷的 PBS 漂洗 4 次, 加入 30 μL 1xLoading Buffer, 98 °C 变性 15 min 后进行 SDS-PAGE 和考马斯亮蓝检测.

1.2.5 质谱分析

将 Pulldown 拖下来的蛋白通过聚丙烯酰胺凝胶电泳(polyacrylamide gel electrophoresis, PAGE)分离后, 切下来送上海胡珀生物有限公司打质谱. 将实验组与对照组蛋白去重后, 选择质谱分数大于 2 的蛋白用 UniProtKB 在线网站(<https://www.uniprot.org/>)分析分子功能, 将结果进行整理和归类, 得到不同功能的蛋白. 为了验证质谱结果的可靠性, 挑选潜在的互作蛋白 BAG2 进行互作验证, 方法同 1.2.3 节中的方法.

2 结果与分析

2.1 pGEX-4T2-FOXMI₆₈₈₋₇₄₈ 载体的构建

以 FOXMI CDS 序列为模板, 扩增出 FOXMI₆₈₈₋₇₄₈ 目的条带, 其大小为 200 bp 左右(图 1(a)). 将该片段克隆入经酶切后的 pGEX-4T2 载体中, 进行菌落 PCR 和双酶切鉴定, 琼脂糖凝胶电泳显示其在 100~300 bp 有明显的条带(图 1(b)(c)), pGEX-4T2-FOXMI₆₈₈₋₇₄₈ 载体示意图如图 1(d)所示. 将构建好的

载体进行序列比对, 结果显示与本文设计结果相同(图 1(e)). 由此可知, 本文成功构建了 pGEX-4T2-FOXMI₆₈₈₋₇₄₈ 原核表达载体.

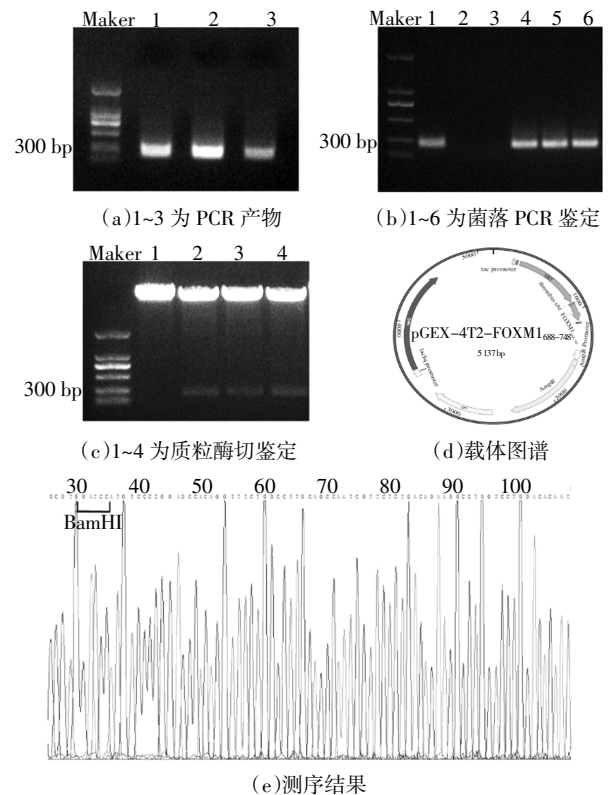


图 1 pGEX-4T2-FOXMI₆₈₈₋₇₄₈ 质粒的构建及鉴定

Fig.1 Construction and identification of pGEX-4T2-FOXMI₆₈₈₋₇₄₈ plasmid

2.2 重组蛋白 GST-FOXMI₆₈₈₋₇₄₈ 的表达与纯化

将克隆成功的 pGEX-4T2-FOXMI₆₈₈₋₇₄₈ 质粒转化入大肠杆菌感受态细胞 BL21 Rosetta, 挑选阳性单克隆扩大培养, 用 GST 珠子纯化, 考马斯亮蓝染色展示纯化结果如图 2 所示. 由图 2 可知, GST 和 GST-FOXMI₆₈₈₋₇₄₈ 蛋白的纯化效果较好, 并且可以得到较高浓度的 GST、GST-FOXMI₆₈₈₋₇₄₈ 蛋白, 为后续的 Pulldown 实验提供实验材料.

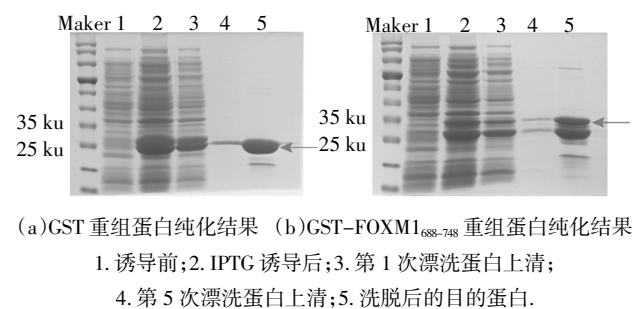


图 2 重组蛋白 GST 和 GST-FOXMI₆₈₈₋₇₄₈ 考马斯亮蓝染色

Fig.2 Coomassie blue staining of GST and GST-FOXMI₆₈₈₋₇₄₈ proteins

2.3 FOXM1₆₈₈₋₇₄₈ 与 FOXM1 全长蛋白相互作用

为了验证 FOXM1₆₈₈₋₇₄₈ 与 FOXM1 全长蛋白的作用关系,通过 GST-pulldown 的方法来验证它们的相互作用.用预清除的 MDA-MB-231 细胞裂解液分别与 GST、GST-FOXM1₆₈₈₋₇₄₈ 重组蛋白孵育,用 FOXM1、GST 抗体进行免疫印记检测.重组蛋白 GST-FOXM1₆₈₈₋₇₄₈ 可以拖下其全长蛋白 FOXM1,而 GST 蛋白在同一位置未检测到 FOXM1 条带,表明 FOXM1₆₈₈₋₇₄₈ 可以与其全长相互作用(图 3),证实了纯化的重组蛋白 FOXM1₆₈₈₋₇₄₈ 具有良好的生物活性.

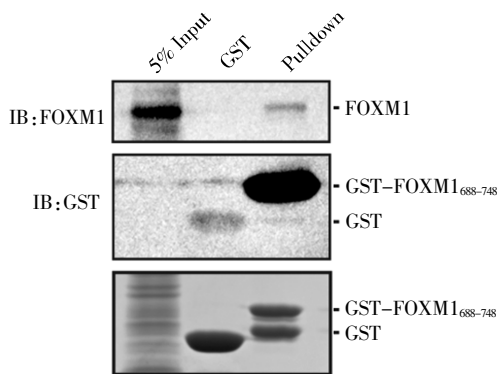


图 3 Pulldown 结果及 Western blot 分析

Fig.3 Pulldown result and Western blot analysis

2.4 FOXM1₆₈₈₋₇₄₈ 互作蛋白的鉴定

为了研究 FOXM1₆₈₈₋₇₄₈ 可能的生物学作用,将 GST-pulldown 拖下来的蛋白送公司进行质谱鉴定,取质谱分数大于 2 的蛋白进行分析,得到 112 个蛋白,其中有 2 个蛋白已被证明与 FOXM1 的转录激活结构域互作,分别是 CDK1 和 FOXM1.对质谱中的蛋白进行分类和整理,发现这些蛋白分子功能较多集中于蛋白质的加工和分泌、细胞周期和分裂、翻译过程(图 4).在蛋白质的加工和分泌方面,捕获到的蛋白有 HSP90AB1、HSPB1、BAG2、USP9Y、DERL1、UBB、FAM129A 等,其中 HSP90AB1、HSPB1、BAG2 与蛋白质的折叠有关,USP9Y、DERL1、UBB 与蛋白质的泛素化有关,FAM129A 参与翻译后蛋白质的磷酸化.在细胞周期和分裂方面,捕获到的蛋白有 CDK1、FOXM1、MCM7、RPN2、MISP、NCAPG 等,这些蛋白在细胞分裂过程中发挥了重要的作用.在翻译方面,捕获到的蛋白有 GCN1、RACK1、LARS、DDX39A、HNRNPA0 等,GCN1、RACK1、LARS 参与蛋白质的合成过程,而 DDX39A、HNRNPA0 分别参与 mRNA 的前期剪接和细胞因子 mRNA 的转录后调控.

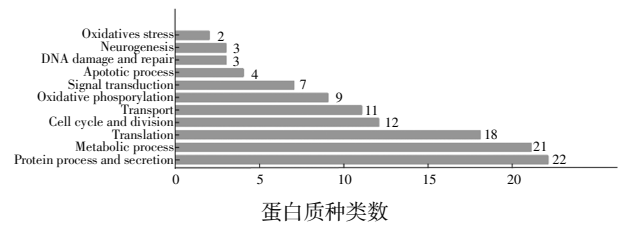


图 4 互作蛋白的功能分析

Fig.4 Functional analysis of interacting proteins

2.5 FOXM1₆₈₈₋₇₄₈ 与 BAG2 的互作验证

为了验证质谱结果的可靠性,从质谱中挑选潜在的互作蛋白 BAG2 进行互作验证.在 Pulldown 实验结果中,原核表达的 FOXM1₆₈₈₋₇₄₈ 可与 MDA-MB-231 细胞中内源的 BAG2 相互作用(图 5).上述结果证实了质谱结果的可靠性,并为研究 FOXM1 C 端互作蛋白的功能及分子机制提供实验依据.

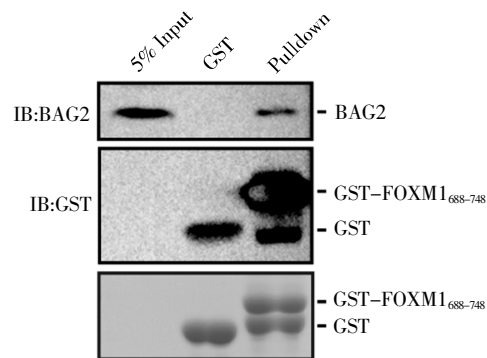


图 5 FOXM1₆₈₈₋₇₄₈ 与 BAG2 互作

Fig.5 FOXM1₆₈₈₋₇₄₈ interacts with BAG2

3 讨论

Pulldown 是一种广泛用于体外检测两种或多种蛋白质之间的物理相互作用的方法,以确认预测的蛋白质-蛋白质之间的相互作用或捕获新的互作蛋白^[7].在这项研究中,本文成功纯化了 FOXM1 转录激活结构域 FOXM1₆₈₈₋₇₄₈,并利用 Pulldown 实验证实它能够与 FOXM1 全长蛋白互作,这是由于 FOXM1 的 NRD 可以与其 TAD 相互作用^[1].由于内源 FOXM1 的 TAD 需要在细胞周期蛋白依赖性激酶的磷酸化后才能被 NRD 释放,为了直接获得与 FOXM1 转录激活结构域相互作用的蛋白,利用 GST-pulldown 方法,在不受 NRD 影响的情况下,通过质谱鉴定得到一系列与其相互作用的蛋白. FOXM1 在肿瘤的发生发展中具有至关重要的作用,这离不开各种互作蛋白对 FOXM1 的翻译后调控.在质谱结果中,我们捕获到一些已知的 FOXM1 互作蛋白,如 CDK1.在细

胞分裂的 S 期或 M 期, CyclinB1/CDK1 复合物结合 FOXM1 的转录激活结构域, 诱导 CDK1 磷酸化 FOXM1, 磷酸化后的 FOXM1 招募共激活因子 CBP, 从而激活 FOXM1 的转录活性^[10]. 根据质谱结果中蛋白质的功能, 预示 RPN2、MISP、MCM7、FAM129A 蛋白可能参与调节 FOXM1 的转录活性.

除了对 FOXM1 翻译后的修饰实现的调控外, 一些互作蛋白还可以参与维持 FOXM1 蛋白的稳定性, 它们通过对 FOXM1 的去泛素化作用来增强 FOXM1 的稳定性, 如 USP21. 在基底样乳腺癌细胞中, USP21 与 FOXM1 互作, 使 FOXM1 去泛素化免受蛋白酶体的降解^[18]. 质谱结果中也存在一些泛素化分子, 如 USP9Y、CUL4A, 预示这些蛋白参与 FOXM1 蛋白的泛素化或去泛素化, 从而调节其蛋白质的稳定性. 此外, 一些与蛋白质折叠有关的分子伴侣也出现在质谱结果中, 如 HSPB1、USP9Y、BAG2. Pulldown 实验也证实 BAG2 与 FOXM1 的互作, 预示这些蛋白可能通过对 FOXM1 蛋白的折叠来维持其稳定性.

FOXM1 作为经典的转录因子, 其主要的功能是结合到下游靶基因的启动子上, 招募一些转录复合物, 实现对靶基因的转录激活^[9]. 质谱中也出现了一些与转录相关的蛋白, 如 RuvBL1. RuvBL1 是 NuA4 组蛋白乙酰转移酶复合物的成分, 主要通过对核小体组蛋白 H4 和 H2A 的乙酰化参与靶基因的转录激活, 这种修饰既可以改变核小体与 DNA 的相互作用, 又可以促进修饰的组蛋白与其他可正向调节转录的蛋白质的相互作用^[20]. 预示 RuvBL1 可能被招募到转录复合物中, 参与 FOXM1 对下游靶基因的激活.

综上所述, 利用 FOXMI₆₈₈₋₇₄₈ 重组蛋白为原料, 通过 Pulldown 结合质谱的方法获得了 FOXM1 转录激活结构域的潜在互作蛋白, 并对这些潜在互作蛋白的分子功能进行分析归类. 这为后续研究 FOXM1 转录激活结构域的互作蛋白提供可靠的实验依据, 对探究 FOXM1 分子的生物学功能具有重要的意义.

参考文献

- [1] LI Y M, WU F, TAN Q, *et al.* The multifaceted roles of FOXM1 in pulmonary disease[J]. *Cell Communication and Signaling*, 2019, 17(35): 1–16.
- [2] NANDI D, CHEEMA P S, JAISWAL N, *et al.* FOXM1: repurposing an oncogene as a biomarker [J]. *Seminars in Cancer Biology*, 2018, 52: 74–84.
- [3] ZHONG S B, ZHOU A Y, QI F H, *et al.* Downregulating forkhead box M1 inhibits proliferation by inhibiting autophagy in the SW480 cell line[J]. *Biomedical Reports*, 2017, 7(1): 47–50.
- [4] ZHANG J, NIU Y, HUANG C. Role of FOXM1 in the progression and epithelial to mesenchymal transition of gastrointestinal cancer [J]. *Recent Patents on Anti-Cancer Drug Discovery*, 2017, 12(3): 247–259.
- [5] JIANG L, WANG P, CHEN L, *et al.* Down-regulation of FOXM1 by thiothrepton or small interfering RNA inhibits proliferation, transformation ability and angiogenesis, and induces apoptosis of nasopharyngeal carcinoma cells [J]. *International Journal of Clinical and Experimental Pathology*, 2014, 7(9): 5450–5460.
- [6] CHOI Y W, NAM G E, KIM Y H, *et al.* Abrogation of B-RafV600E induced senescence by FOXM1 expression [J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2019, 516(3): 866–871.
- [7] ZHANG Z Y, TU K J, LIU F Y, *et al.* FOXM1 promotes the migration of ovarian cancer cell through KRT5 and KRT7 [J]. *Gene*, 2020, 757: 144947.
- [8] ALVAREZ-FERNÁNDEZ M, MEDEMA R H. Novel functions of FOXM1: from molecular mechanisms to cancer therapy[J]. *Frontiers in Oncology*, 2013, 3(30): 1–5.
- [9] LIAO G B, LI X Z, ZENG S, *et al.* Regulation of the master regulator FOXM1 in cancer[J]. *Cell Communication and Signaling*, 2018, 16(57): 1–15.
- [10] MAJOR M L, LEPE R, COSTA R H. Forkhead box M1B transcriptional activity requires binding of CDK-cyclin complexes for phosphorylation-dependent recruitment of p300/CBP coactivators [J]. *Molecular and Cellular Biology*, 2004, 24(7): 2649–2661.
- [11] PARK H J, WANG Z, COSTA R H, *et al.* An N-terminal inhibitory domain modulates activity of FOXM1 during cell cycle [J]. *Oncogene*, 2008, 27(12): 1696–1704.
- [12] ANDERS L, KE N, HYDBRING P, *et al.* A systematic screen for CDK4/6 substrates links FOXM1 phosphorylation to senescence suppression in cancer cells [J]. *Cancer Cell*, 2011, 20(5): 620–634.
- [13] MARCEAU A H, BRISON C M, NERLI S, *et al.* An order-to-disorder structural switch activates the FOXM1 transcription factor [J]. *Elife Sciences*, 2019, 8: e46131.
- [14] GARTEL A L. FOXM1 in cancer: interactions and vulnerabilities [J]. *Cancer Research*, 2017, 77(12): 3135–3139.
- [15] HALASI M, VÁRALJAI R, BENEVOLENSKAYA E, *et al.* A novel function of molecular chaperone HSP70: suppression of oncogenic FOXM1 after proteotoxic stress [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2016, 291(1): 142–148.
- [16] ZHANG N, WEI P, GONG A, *et al.* FOXM1 promotes β -catenin nuclear localization and controls WNT target-gene expression and glioma tumorigenesis [J]. *Cancer Cell*, 2011, 20(4): 427–442.
- [17] LOUCHE A, SALCEDO S P, BIGOT S. Protein-protein interactions: pull-down assays [J]. *Methods in Molecular Biology*, 2017, 1615: 247–255.
- [18] ARCECI A, BONACCI T, WANG X X, *et al.* FOXM1 deubiquitination by USP21 regulates cell cycle progression and paclitaxel sensitivity in basal-like breast cancer [J]. *Cell Reports*, 2019, 26(11): 3076–3086.
- [19] WIERSTRA I. Chapter three –the transcription factor FOXM1 (Forkhead box M1): proliferation-specific expression, transcription factor function, target genes, mouse models, and normal biological roles [M]. San Diego: Elsevier Academic Press Inc, 2013: 164–167.
- [20] DOYON Y, SELLECK W, LANE W S, *et al.* Structural and functional conservation of the NuA4 histone acetyltransferase complex from yeast to humans [J]. *Molecular and Cellular Biology*, 2004, 24(5): 1884–1896.