

# 稻瘟病菌组蛋白脱乙酰化酶 SIR2 HDACs 的功能初探

符稳群<sup>1\*</sup>, 纪春艳<sup>2</sup>, 杨晓琦<sup>1</sup>, 张敏敏<sup>1</sup>, 张振华<sup>1</sup>

(1. 漳州师范学院生物科学与技术系, 福建 漳州 363000; 2. 华南农业大学资源与环境学院, 广州 510642)

**摘要:**利用生物信息学方法对稻瘟病菌(*Magnaporthe grisea*)组蛋白脱乙酰化酶 SIR2 家族成员(SRT3001、SRT3002、SRT3003、SRT3004、SRT3005、SRT3006 和 SRT3007)的生物学功能进行研究。结果表明, SIR2 HDACs 家族成员位于不同的染色体上, 分布于细胞的不同部位; 它们编码的蛋白均含有蛋白激酶 C 磷酸化、酪蛋白激酶 II 磷酸化、N-糖基化、N-豆蔻酰化 4 个相同的位点; 它们均无跨膜区, 且为亲水蛋白质, 都无信号肽。多序列比对发现稻瘟病菌 SIR2 HDACs 家族结构域高度保守, 均含有 SIR2 结构域; 这些蛋白可能参与病原菌的转录调节、能量代谢和染色质沉默等过程。

**关键词:**稻瘟病菌; 组蛋白脱乙酰化酶; SIR2; 生物信息学

中图分类号: S946.5

文献标识码: A

文章编号: 1005-3395(2009)04-0371-07

## Functional Analysis of Histone Deacetylase SIR2 HDACs Family in *Magnaporthe grisea*

FU Wen-qun<sup>1\*</sup>, JI Chun-yan<sup>2</sup>, YANG Xiao-qi<sup>1</sup>, ZHANG Min-min<sup>1</sup>, ZHANG Zhen-hua<sup>1</sup>

(1. Department of Biological Sciences & Biotechnology, Zhangzhou Normal College, Zhangzhou 363000, China;

2. College of Nature Resources & Environment, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

**Abstract:** The silent information regulator protein (Sir2) and its homologues collectively known as Sirtuins, NAD<sup>+</sup>-dependent deacetylase enzymes, play an important role in physiological regulation, such as the survival, aging and apoptosis of cell. The biological function of SIR2 HDACs family from *Magnaporthe grisea* was investigated by using bioinformatics. The results showed that the members of SIR2 family were localized in the different chromosomes and different parts of *Magnaporthe grisea* cell, and their encoding proteins all have four sites, such as the protein kinase C phosphorylation site, the Casein kinase II phosphorylation site, the N-glycosylation site, and the N-myristoylation site. The SIR2 HDACs members all haven't transmembrane regions and they are hydrophilic proteins without signal peptide. The SIR2 HDACs members from *M. grisea* were aligned by ClustalW2 and their SIR2 domains are highly conserved. These SIR2 HDACs seemed to be involved in processes, such as transcription regulation, energy metabolism and chromatin silencing in *M. grisea*.

**Key words:** *Magnaporthe grisea*; Histone deacetylase; SIR2; Bioinformatics

真核生物中核心组蛋白的乙酰化和脱乙酰化是基因转录调控的一种重要机制, 组蛋白的乙酰化状态是由组蛋白乙酰转移酶和组蛋白脱乙酰化酶

及这两类酶的相对活性决定的。组蛋白乙酰转移酶通过促进组蛋白的乙酰化从而促进基因的转录, 而组蛋白脱乙酰化酶(histone deacetylase, HDACs)

收稿日期: 2007-09-28 接受日期: 2008-02-16

基金项目: 福建省自然科学基金青年人才项目(2009505090); 漳州师范学院科研启动项目(L20777)资助

\* 通讯作者 Corresponding author

通过从核心组蛋白中移去乙酰基团,提高核心组蛋白与 DNA 的结合而抑制基因的转录<sup>[1-4]</sup>。依赖于 NAD<sup>+</sup> 的组蛋白脱乙酰化酶 SIR2 (silent information regulator 2)<sup>[5]</sup>及其同源物是一类新发现的组蛋白脱乙酰化酶家族,主要位于细胞的核仁内,酶活性特别高,从细菌到人类都是高度保守的<sup>[6]</sup>,这些家族成员都含有 1 个约 250 个氨基酸组成的中心区域,大约有 25%~60% 的序列同源。目前已从人类中分离和鉴定出了 7 个 SIR2,即 SIR1~7<sup>[7]</sup>;在酵母中已发现了 4 种 SIR2 的同源物 HST1~4<sup>[8-12]</sup>。研究表明酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*)、小鼠 (*Mus musculus*)、人 (*Homo sapiens*) 和细菌 (Bacteria) SIR2 蛋白质具有依赖于 NAD<sup>+</sup> 的组蛋白脱乙酰化酶活性<sup>[6,13-14]</sup>和 ADP-核糖基转移酶活性<sup>[6]</sup>,有多种生物功能,包括调控转录、延缓衰老、抑制 rDNA 的重组、调控细胞周期、修复 DNA 损伤<sup>[12,15-19]</sup>,还影响组蛋白乙酰化和甲基化<sup>[20]</sup>。

稻瘟病菌 (*Magnaporthe grisea*) 基因组中也存在 SIR2 家族的 HDACs 成员——SRT3001、SRT3002、SRT3003、SRT3004、SRT3005、SRT3006 和 SRT3007 (植物染色质数据库: <http://www.chromdb.org>),与哺乳动物和酵母相比较,植物病原真菌中 SIR2 相关蛋白质的功能至今未见报道。本研究利用生物信息学方法,对稻瘟病菌 SIR2 HDACs 家族成员的跨膜螺旋区和亚细胞定位情况、保守结构域进行预测,并对稻瘟病菌的 SIR2 HDACs 结构域序列进行多序列比对,旨在了解稻瘟病菌 SIR2 HDACs 家族成员蛋白质的基本特性,并预测它们的功能,为进一步解读 SIR2 基因家族成员的功能奠定基础。

## 1 材料和方法

数据资料来源于植物染色质数据库 (Chromatin

Database) (<http://www.chromdb.org>) 中已注册的稻瘟病菌 SIR2 HDACs 的核苷酸序列及其对应的氨基酸序列,包括 SRT3001、SRT3002、SRT3003、SRT3004、SRT3005、SRT3006 和 SRT3007。

依据 Bioedit 软件和 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>、<http://www.ebi.ac.uk/>、<http://www.cbs.dtu.dk/>、<http://cn.expasy.org> 等网站提供的各类生物信息学软件进行在线分析。氨基酸跨膜结构域、信号肽、亲水性/疏水性和稳定性、亚细胞定位和功能位点的分析用在线工具 TMHMM 2.0 Server、Signal P、ProtScale、Wolfpsort、Prosite 完成, SIR2 结构域的预测利用 SMART 和 Pfam 完成,并对 SIR2 结构域保守氨基酸序列的同源性进行比对;利用 Protfun 和 GO 注释预测蛋白质的功能。

## 2 结果

### 2.1 稻瘟病菌 SIR2 HDACs 的来源

利用植物染色质数据库查找到稻瘟病菌 SIR2 HDACs 的基本信息 (表 1),包括 ChromDB ID、Gene ID、位点标签、染色体的位置、ORF 和氨基酸数目等。由表 1 可知, SRT3001 位于第 2 条染色体上, SRT3002 位于第 6 条染色体, SRT3003 和 SRT3006 位于第 7 条染色体, SRT3004 的还未确定, SRT3005 位于第 1 条染色体, SRT3007 位于第 5 条染色体。

### 2.2 蛋白质的疏水性和稳定性预测

蛋白质疏水性的预测在蛋白质组学研究中是必不可少的,通常根据蛋白质的 GRAVY (Grand average of hydropathicity) 值来预测。利用 expasy 中的工具 ProtParam (<http://cn.expasy.org/tools/protparam.html>) 预测稻瘟病菌 SIR2 HDACs 编码蛋白质的 GRAVY 值、不稳定系数和蛋白质的稳定

表 1 稻瘟病菌 SIR2 HDACs 的基本信息

Table 1 Informations of SIR2 HDACs in *M. grisea*

染色质数据库 ID	基因 ID	位点标签	染色体	RefSeq	开放阅读框	氨基酸
ChromDB ID	Gene ID	Locus tag	Chromosome		ORF (bp)	Amino acid
SRT3001	2681585	MGG_02488	II	XM_365786	1698	565
SRT3002	2680787	MGG_14173	VI	XM_365032	2391	793
SRT3003	2681820	MGG_10267	VII	XM_366047	1578	525
SRT3004	2680405	MGG_09320	undefined	XM_364606	3828	1275
SRT3005	2678115	MGG_04588	I	XM_362143	2373	790
SRT3006	2680071	MGG_12698	VII	XM_364179	1074	357
SRT3007	2684401	MGG_06246	V	XM_369731	1230	409

性,结果表明 GRAVY 值均为负值,表明这 7 种蛋白质均为亲水蛋白;SRT3001、SRT3002、SRT3004、SRT3005 为不稳定蛋白,SRT3003、SRT3006 和 SRT3007 为稳定蛋白。

### 2.3 蛋白质的跨膜区和亚细胞定位预测

应用 TMHMM2.0 Server<sup>[21]</sup> 预测稻瘟病菌 SIR2 HDACs 的跨膜结构域的结果表明,SIR2 HDACs 的每条肽链跨膜结构域的可能性均小于 1,而软件默认可能性大于 1 才具有跨膜结构,因此,预测的稻瘟病菌 SIR2 HDACs 属于非跨膜蛋白。利用 Signal P 预测稻瘟病菌 SIR2 HDACs 7 种蛋白质的信号肽,发现它们均无信号肽。通过工具 PSORT<sup>[22]</sup> (<http://wolfpsort.org>) 进行预测结果表明,SRT3001、SRT3004 和 SRT3005 主要位于细胞核中;SRT3002 和 SRT3006 主要位于细胞质中;SRT3003 主要位于细胞外;SRT3007 主要位于线粒体中。此外,SRT3006 也有一部分位于细胞外。

### 2.4 稻瘟病菌 SIR2 HDACs 蛋白质的功能位点预测

应用 Prosite 数据库查询稻瘟病菌 SIR2 HDACs 的功能位点,结果表明 SRT3001、SRT3002、SRT3003、SRT3004、SRT3005、SRT3006 和 SRT3007 均含有四个相同的功能位点,即:蛋白激酶 C 磷酸化位点、酪蛋白激酶 II 磷酸化位点、N-糖基化位点和 N-豆蔻酰化位点。此外,SRT3001、SRT3002、SRT3004 和 SRT3005 均含有依赖于 cAMP 和 cGMP 蛋白激酶磷酸化位点,SRT3001 和 SRT3007 含有细胞粘着序列,SRT3001 含有 p-loop,SRT3002、SRT3004 和 SRT3005 含有酪氨酸激酶磷酸化位点,SRT3002 和 SRT3004 含有酰胺化位点。

### 2.5 稻瘟病菌 SIR2 结构域序列比对结果

利用在线软件 Clustal W2 比对稻瘟病菌 SIR2 HDACs 结构域的氨基酸序列,结果表明(表 2),SRT3001 与 SRT3002 和 SRT3003 序列的同源性比较高,分别为 47% 和 44%;SRT3002 与 SRT3003 序列的同源性也比较高,达 60%,其它几个成员之间序列的同源性比较低。

原核生物和真核生物 SIR2 结构域比较保守,其中有几个保守的基序:GAGISXXXGIPXXR, PXXXH, TQNVD, HG, FGE, GTS, (I/V)N<sup>[6]</sup>,并有 2 个 CXXC 锌指结构域<sup>[9]</sup>。同样,在稻瘟病菌 SIR2 HDACs 家族中,所有的 SIR2 HDACs 都有 PXXXH, TQN(I/V)D, HG, (F/Y)GE, GTS 和 1 个 CXXC 锌指结构域;此外,除了 SRT3004 以外,其它的 SIR2 HDACs 均有 GAGSXXXGXXXXR 基序;除了 SRT3006 和 SRT3007 以外,其它的 SIR2 HDACs 还有 1 个 CXXC 锌指结构域(图 1)。多序列比对发现,稻瘟病菌 SIR2 HDACs 的结构域和基序比较保守,这与 SIR2 家族从原核生物到真核生物都是保守的这一观点<sup>[6]</sup>一致。

### 2.6 稻瘟病菌 SIR2 HDACs 的结构域预测

利用 SMART 和 Pfam 分别预测了稻瘟病菌 SIR2 HDACs 蛋白质的保守结构域(图 2),结构域的可信度见表 3,不同数据库的 E-value 值相差不大,表明它们的 SIR2 结构域很保守,SIR2 HDACs 的每个成员均含有 1 个 SIR2 结构域。此外,SRT3001 的 N 末端含有 1 个 HDAC\_interact 结构域,该结构域只存在于转录调节子中,并与组蛋白脱乙酰化酶相互作用<sup>[22]</sup>。SRT3002 的 C 末端含有 1 个 PALP (pyridoxal-phosphate dependent enzyme) 结构域。SRT3004 的 C 末端含有 1 个 Extensin\_2 结构域,表明它还可能是类伸展蛋白。

表 2 稻瘟病菌 SIR2 HDACs 的同源性比较

Table 2 Homologue comparison of the SIR2 proteins in *M. grisea*

蛋白质 Protein	SRT3001	SRT3002	SRT3003	SRT3004	SRT3005	SRT3006	SRT3007
SRT3001		47	44	22	29	23	17
SRT3002	47		60	21	33	32	26
SRT3003	44	60		23	26	26	22
SRT3004	22	21	23		31	16	18
SRT3005	29	33	26	31		24	19
SRT3006	23	32	26	16	24		21
SRT3007	17	26	22	18	19	21	

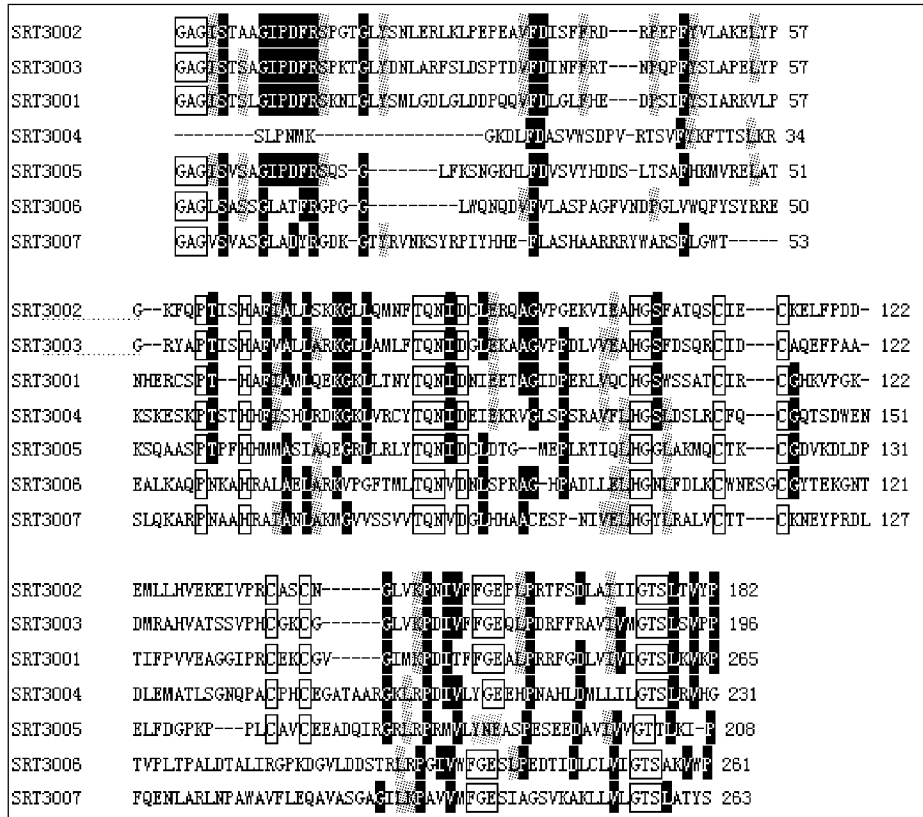


图 1 稻瘟病菌 SIR2 结构域的氨基酸序列相似性比较

Fig. 1 Alignment of the domains of SIR2 family in *M. grisea*

黑色表示相同的或高度保守的氨基酸残基,灰色表示相似残基。方框表示高度保守的 GAG、PXXXH、TQNXD、HG、FGE、GTS、CXXC 半胱氨酸锌指结构域。Black showed the same or highly conserved amino acid residues, while grey showed similar amino acid residues. Pane showed highly conserved putative zinc finger, such as GAG, PXXXH, TQNXD, HG, FGE, GTS, CXXC.

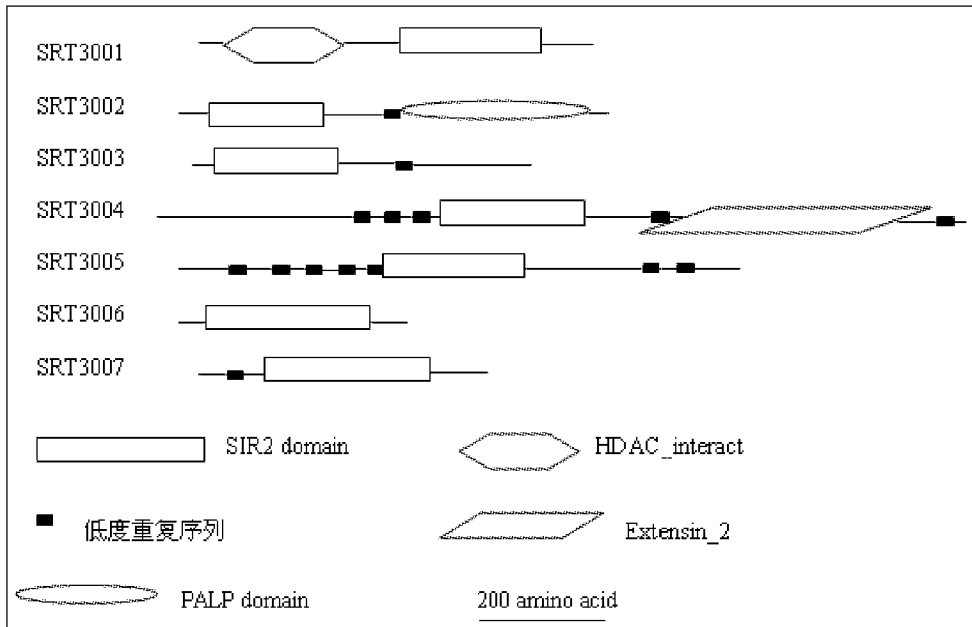


图 2 稻瘟病菌 SIR2 HDACs 蛋白质结构域组织图

Fig. 2 Domain organization of the SIR2 HDACs proteins in *M. grisea*

直线代表蛋白质;左边代表 N 末端。The line present the protein, and the left of each protein is the N-terminus.

表3 不同数据库预测 SIR2 结构域的可信度比较

Table 3 Comparison of E-value of SIR2 domain from different databases

蛋白质 Protein	数据库 Database	
	SMART	Pfam
SRT3001	4.30e-86	4.8e-86
SRT3002	2.20e-88	2.4e-88
SRT3003	2.40e-78	2.70e-78
SRT3004	4.10e-10	4.50e-10
SRT3005	1.60e-14	1.80e-14
SRT3006	3.30e-48	3.60e-48
SRT3007	2.20e-30	2.40e-30

## 2.7 稻瘟病菌 SIR2 HDACs 蛋白质功能分类

ProtFun 预测稻瘟病菌 SIR2 HDACs 编码蛋白的功能分类见表4, 所有 SIR2 HDACs 具有中间代谢、嘌呤、嘧啶、复制和转录功能的可能性远高于其

他功能。此外, SRT3001 具有调节、翻译、生物合成的辅助因子等功能的可能性也比较高, SRT3002、SRT3003、SRT3006 和 SRT3007 具有能量代谢、翻译、生物合成的辅助因子功能的可能性也很高, SRT3004 和 SRT3005 具有调节功能的可能性也比较高(\*号所示)。基因簇分类中, SRT3001、SRT3002、SRT3003、SRT3004、SRT3005、SRT3006 和 SRT3007 具有信号转导、转录调节和转录功能的可能性远高于其他功能(\*号所示)。

利用 <http://amigo.geneontology.org/cgi-bin/amigo/go.cgi> 数据库搜索稻瘟病菌 SIR2 HDACs 的 GO 注释(表5), 结果表明 SIR2 HDACs 均有依赖于 NAD<sup>+</sup> 组蛋白脱乙酰化酶活性、与 NAD、DNA 和锌离子结合的分子功能, 是染色质沉默复合物的组成部分, 还参与染色质沉默、调控转录和蛋白质脱乙酰化等

表4 稻瘟病菌 SIR2 HDACs 蛋白质功能分类的预测结果

Table 4 Functional category of SIR2 HDACs in *M. grisea*

功能 Function		SRT3001	SRT3002	SRT3003	SRT3004	SRT3005	SRT3006	SRT3007
功能分类	氨基酸合成 Amino acid biosynthesis	0.012	0.052	0.012	0.011	0.012	0.011	0.083
Functional category	生物合成的辅因子 Biosynthesis of cofactors	0.083*	0.349*	0.116*	0.033	0.031	0.185*	0.241*
	细胞膜 Cell membrane	0.032	0.049	0.033	0.044	0.030	0.033	0.031
	细胞进程 Cellular processes	0.027	0.031	0.042	0.027	0.027	0.098	0.062
	中间代谢 Central intermediary metabolism	0.152*	0.292*	0.185*	0.048*	0.067*	0.191*	0.062*
	能量代谢 Energy metabolism	0.033	0.352*	0.084*	0.023	0.023	0.350*	0.336*
	脂肪酸代谢 Fatty acid metabolism	0.020	0.040	0.020	0.016	0.016	0.066	0.048
	嘌呤和嘧啶 Purines and pyrimidines	0.254*	0.366*	0.286*	0.216*	0.203*	0.459*	0.507*
	调节功能 Regulatory functions	0.131*	0.023	0.018	0.282*	0.347*	0.025	0.032
	复制和转录 Replication and transcription	0.242*	0.050	0.124*	0.356*	0.302*	0.209*	0.091*
	翻译 Translation	0.129*	0.168*	0.092*	0.043	0.027	0.162*	0.217*
	转运和结合 Transport and binding	0.039	0.119	0.030	0.020	0.019	0.018	0.027
GO 分类	信号转导 Signal transducer	0.084*	0.080*	0.072*	0.076*	0.072*	0.053*	0.072*
Gene	受体 Receptor	0.005	0.008	0.006	0.004	0.032	0.009	0.006
ontology	激素 Hormone	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.002
category	结构蛋白 Structural protein	0.006	0.018	0.007	0.025	0.021	0.003	0.008
	转运 Transporter	0.025	0.025	0.025	0.024	0.025	0.025	0.025
	离子通道 Ion channel	0.011	0.011	0.010	0.009	0.011	0.012	0.010
	电压依赖性离子通道 Voltage-gated ion channel	0.005	0.005	0.005	0.004	0.002	0.004	0.004
	阳离子通道 Cation channel	0.010	0.011	0.010	0.010	0.010	0.010	0.010
	转录 Transcription	0.055*	0.048*	0.047*	0.273*	0.124*	0.064*	0.055*
	转录调控 Transcription regulation	0.052*	0.021*	0.042*	0.295*	0.170*	0.024*	0.030*
	胁迫响应 Stress response	0.009	0.015	0.014	0.005	0.009	0.020	0.011
	免疫应答 Immune response	0.011	0.048*	0.012	0.011	0.011	0.016	0.022
	生长因子 Growth factor	0.005	0.006	0.005	0.028	0.037	0.007	0.007
	金属离子转运 Metal ion transport	0.009	0.009	0.009	0.009	0.009	0.009	0.009

\* : 该功能的可能性远高于其他功能。\* : The probability of the function is far higher than other functions.

表 5 稻瘟病菌 SIR2 HDACs 蛋白质的 GO 注释

Table 5 Gene ontology of SIR2 HDACs proteins in *M. grisea*.

功能 Function	GO 注释 GO annotation
细胞组成 Cellular component	染色质沉默复合物 Chromatin silencing complex (GO: 0005677)
分子功能 Molecular function	DNA 结合蛋白 DNA binding (GO: 0003677) NAD 结合蛋白 NAD binding (GO: 0051287) 依赖于 NAD 的组蛋白脱乙酰化酶活性 NAD-dependent histone deacetylase activity (GO: 0017136) 锌离子结合蛋白 Zinc ion binding (GO: 0008270)
生物过程 Biochemical process	染色质沉默 Chromatin silencing (GO: 0006342) 依赖 DNA 的调控转录 Regulation of transcription, DNA-dependent (GO: 0006355) 蛋白质脱乙酰化 Protein amino acid deacetylation (GO: 0006476)

生物过程。

从 Protfun 和 GO 注释两方面来看,稻瘟病菌 SIR2 HDACs 参与转录调节、能量代谢、染色质沉默等过程。

### 3 讨论

用 Prosite 搜索稻瘟病菌 SIR2 HDACs 编码蛋白中的 Motif,发现其氨基酸序列中都存在 4 个功能位点,如蛋白激酶 C 磷酸化位点、酪蛋白激酶 II 磷酸化位点、N-糖基化位点和 N-豆蔻酰化位点,豆蔻酰化残基可能结合到疏水核心,从而起到稳定蛋白质结构的作用<sup>[23]</sup>。豆蔻酰化在膜的结合中有重要作用<sup>[24]</sup>,豆蔻酰化经常存在穿梭于膜之间的蛋白质,豆蔻酰化残基插入质膜内脂层使膜容易相互作用。推测 SIR2 HDACs 编码的蛋白质作为信号转导中的一部分,在细胞质内接受刺激信号,能穿过核孔将信号传递到核内。

HDAC 保守结构域是组蛋白脱乙酰化酶的重要特征,本文中预测的稻瘟病菌 SIR2 HDAC 均含有 SIR2 HDAC 保守结构域,具有组蛋白脱乙酰化酶的结构特点,因此可能也具有组蛋白脱乙酰化酶的功能或本身就是组蛋白脱乙酰化酶。稻瘟病菌 SIR2 保守结构域中存在 GAG, N(I/V)D, HG 和 CXXC 锌指结构域等保守基序,而酵母 SIR2 保守结构域中的 GAG、NID 和 C4 锌指结构域是 Sir2 基因沉默所必需的<sup>[25]</sup>,因此稻瘟病菌 SIR2 HDACs 也有可能引起基因沉默。人类 SIR2 保守结构域中与锌指结构域相邻的 HG 基序是 ADP 核糖基转移酶活性所必需的<sup>[7]</sup>,因此稻瘟病菌 SIR2 HDACs 也

具有 ADP 核糖基转移酶活性。结构决定功能,因此本文从结构上推测出稻瘟病菌 SIR2 HDACs 参与基因沉默、具有依赖于 NAD<sup>+</sup> 的组蛋白脱乙酰化酶活性和 ADP 核糖基转移酶的活性。此外,本文用 ProtFun 和 GO 注释来推测稻瘟病菌 SIR2 HDACs 的功能,同样它们都具有依赖于 NAD<sup>+</sup> 组蛋白脱乙酰化酶活性、与 NAD、DNA 和锌离子结合的分子功能,是染色质沉默复合物的组成部分,还参与染色质沉默、转录调节和蛋白质脱乙酰化等生化过程。

总之,本文从生物信息学角度,以稻瘟病菌 SIR2 HDACs 为分析对象,对 SIR2 HDACs 基因的核苷酸序列及其推导的氨基酸序列结构特征进行分析,同时,对其整个肽链的亲/疏水性、亚细胞定位和结构域进行了预测分析,为进一步研究蛋白质的高级结构及探寻 SIR2 HDACs 的潜在功能和了解整个基因转录过程,有一定的参考价值。

### 参考文献

- [1] Eberharter A, Becker P B. Histone acetylation: A switch between repressive and permissive chromatin [J]. EMBO Rep, 2002, 3: 224–229.
- [2] Kuo M H, Allis C D. Roles of histone acetyltransferases and deacetylases in gene regulation [J]. Bioessays, 1998, 20: 615–626.
- [3] Sterner D E, Berger S L. Acetylation of histones and transcription-related factors [J]. Microbiol Mol Biol Rev, 2000, 64: 435–459.
- [4] Struhl K. Histone acetylation and transcriptional regulatory mechanisms [J]. Genes Dev, 1998, 12: 599–606.
- [5] Shore D, Squire M, Nasmyth K A. Characterization of two genes required for the position-effect control of yeast mating-type genes [J]. EMBO J, 1984, 3: 2817–2823.
- [6] Frye R A. Phylogenetic classification of prokaryotic and eukaryotic

- Sir2-like proteins [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2000, 273: 793–798.
- [7] Frye R A. Characterization of five human cDNAs with homology to the yeast SIR2 gene: Sir2-like proteins (sirtuins) metabolize NAD and may have protein ADP-ribosyl transferase activity [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1999, 260: 273–279.
- [8] Chen X J, Clark-Walker G D. *sir2* mutants of *Kluyveromyces lactis* are hypersensitive to DNA-targeting drugs [J]. *Mol Cell Biol*, 1994, 14: 4501–4508.
- [9] Brachmann C B, Sherman J M, Devine S E, et al. The SIR2 gene family, conserved from bacteria to humans, functions in silencing, cell cycle progression and chromosome stability [J]. *Genes Dev*, 1995, 9: 2888–2902.
- [10] Derbyshire M K, Weinstock K G, Strathern J N. *HST1*, a new member of the SIR2 family of genes [J]. *Yeast*, 1996, 12: 631–640.
- [11] Yahiaoui B, Taibi A, Ouaisi A. A *Leishmania* major protein with extensive homology to silent regulator 2 of *Saccharomyces cerevisiae* [J]. *Gene*, 1996, 169: 115–118.
- [12] Tsang A W, Escalante-Semerena J G. CobB, a new member of the SIR2 family of eukaryotic regulatory proteins, is required to compensate for the lack of nicotinate mononucleotide: 5,6-dimethylbenzimidazole phosphoribosyltransferase activity in *cobT* mutants during cobalamin biosynthesis in *Salmonella typhimurium* LT2 [J]. *J Biol Chem*, 1998, 273: 31788–31794.
- [13] Imai S, Armstrong C M, Kaeberlein M, et al. Transcriptional silencing and longevity protein Sir2 is an NAD-dependent histone deacetylase [J]. *Nature*, 2000, 403: 795–800.
- [14] Landry J, Sutton A, Tafrov S, et al. The silencing protein SIR2 and its homologs are NAD-dependent protein deacetylase [J]. *PNAS*, 2000, 97: 5807–5811.
- [15] Guarente L. Sir2 links chromatin silencing, metabolism and aging [J]. *Genes Dev*, 2000, 14: 1021–1026.
- [16] Crampton A, Chang F, Pappas D L, et al. An ARS element inhibits DNA replication through a SIR2-dependent mechanism [J]. *Mol Cell*, 2008, 30(2): 156–166.
- [17] Guarente L. Sirtuins in aging and disease [J]. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol*, 2007, 72: 483–488.
- [18] Blank H M, Li C, Mueller J E, et al. An increase in mitochondrial DNA promotes nuclear DNA replication in yeast [J]. *PLoS Genet*, 2008, 4(4): e1000047.
- [19] Gao L, Gross D S. Sir2 silences gene transcription by targeting the transition between RNA polymerase II initiation and elongation [J]. *Mol Cell Biol*, 2008, 28(12): 3979–3994.
- [20] Yang B, Britton J, Kirchmaier A L. Insights into the impact of histone acetylation and methylation on Sir protein recruitment, spreading, and silencing in *Saccharomyces cerevisiae* [J]. *J Mol Biol*, 2008, 381(4): 826–844.
- [21] Ikeda M, Arai M, Lao D M, et al. Transmembrane topology prediction methods: A re-assessment and improvement by a consensus method using a dataset of experimentally-characterized transmembrane topologies [J]. *Inter Silico Biol*, 2002, 2(1): 19–33.
- [22] Nakayama J, Xiao G, Noma K, et al. Alp13, a MRG family protein, is a component of fission yeast Clr6 histone deacetylase required for genomic integrity [J]. *EMBO J*, 2003, 22(11): 2776–2787.
- [23] Zheng J, Knighton D R, Xuong N H, et al. Crystal structure of the myristoylated catalytic subunit of cAMP dependent protein kinase reveal open and closed conformations [J]. *Protein Sci*, 1993, 2: 1559–1573.
- [24] Vergeres G, Manenti S, Weber T, et al. The myristoyl moiety of myristoylated alanine-rich C kinase (MARCKS) and MARCKS-related protein is embedded in the membrane [J]. *Mol Biol*, 1996, 270: 19879–19887.
- [25] Sherman J M, Stone E M, Freeman-Cook L L, et al. The conserved core of a human SIR2 homologue functions in yeast silencing [J]. *Mol Biol Cell*, 1999, 10(9): 3045–3059.