

植物表观遗传学研究进展

韦荣昌^{1,2}, 唐 其¹, 马小军^{1,2,3}, 赵 欢², 覃喜军², 涂冬萍²

(1. 广西药用植物园, 广西 南宁 530023; 2. 中国医学科学院 北京协和医学院 药用植物研究所, 北京 100193;

3. 中国医学科学院 药用植物研究所 云南分所, 云南 景洪 666100)

摘 要:表观遗传学作为一个新的遗传学分支领域,指在不改变 DNA 序列的前提下,研究通过减数和(或)有丝分裂细胞分化而实现遗传基因的功能变化。植物生长发育过程中普遍受到表观遗传的调控,迄今为止,已经开展了多种植物表观遗传现象的研究。现对 DNA 甲基化、组蛋白密码、染色质重塑、基因组印记和非编码 RNA 调控等植物表观遗传现象研究进展进行阐述,并对以上研究内容进行了展望。

关键词:表观遗传学;DNA 甲基化;组蛋白密码;染色质重塑;基因组印记;非编码 RNA 调控

中图分类号:Q 37 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2013)18-0170-04

基因结构的改变能够引起生物体表型的变化并遗传给下一代。近年来,研究发现一种有悖经典遗传的现象,在不改变 DNA 序列的前提下,基因的表达也能够引起可遗传的改变,造成可遗传的表型变化。早在 1942 年,著名遗传学家 Waddington C H 就提出表观遗传学(Epigenetics)的概念,即“基因型和表型关系研究”(The study of the relationship between genotype and phenotype)^[1],并指出表观遗传与遗传是相对的。随后,众多科学家尝试着对表观遗传学进行诠释^[2-3]。其中,在 1994 年,Holliday 就表观遗传学提出了广为接受的系统性论断,在不改变 DNA 序列的前提下,研究通过减数和(或)有丝分裂细胞分化而实现遗传的基因功能变化的遗传学分支领域(The study of changes in gene function that are mitotically and/or meiotically heritable and that do not entail a change in DNA sequence)^[4]。透过表观遗传学的涵义,不难发现,表观遗传主要具有以下几个特点:一是不涉及 DNA 序列的改变或不能用 DNA 序列的改变来解释;二是可遗传性,个体或细胞代间传递(遗传)能通过减数和(或)有丝分裂实现;三是可逆性调节基因表达。

近年来,植物表观遗传学逐渐成为业内研究的热点,主要是通过基因表达的调控来影响植物的生物学特

性,相关研究集中在 DNA 甲基化(DNA methylation)、组蛋白密码(Histone code)、染色质重塑(Chromatin remodeling)、基因组印记(Genomic imprinting)和非编码 RNA 调控(Non-coding RNA regulation)5 个方面,它们共同调节植物体基因的表达。

1 DNA 甲基化

DNA 甲基化是指在 DNA 复制后,S-腺苷甲硫氨酸(SAM)上面的甲基基团在各种 DNA 甲基化酶或甲基转移酶(DNMT)催化的作用下,被转移到胞嘧啶(C)或腺嘌呤(A)残基上(主要是胞嘧啶,腺嘌呤偶有发现),从而实现 DNA 修饰的过程^[5]。植物的 DNA 甲基化通常情况下在 CHH(不对称的,H 表示 A、C、T)、CG 或者 CNG(N 表示任何碱基)处发生^[6]。DNA 甲基化不会改变其一级结构,但是阻断了遗传信息传递,引起 DNA 高级结构的变化,从而引发形态性状等一系列生物学功能变化^[7]。甲基化是基因组 DNA 的一种主要表观修饰形式,是维持基因组稳定性的主要手段,主要负责调控植物的基因表达、细胞分化以及个体或系统发育等重要方面^[8-11]。甲基化程度过高或过低,都会导致植物生长发育的不正常和形态异常^[12-13],如在转基因拟南芥中,产生巨大变异的表型表达就是由 DNA 去甲基化实现的^[14],此外,拟南芥胚胎发育和种子生活力均与 DNA 甲基化水平相关^[15]。

植物 DNA 甲基化主要有 2 种方式,1 种为从头甲基化(De novo methylation),指均未甲基化的 2 条链的 DNA 被甲基化;另 1 种为保留甲基化(Maintenance methylation),即双链 DNA 的 1 条链已存在甲基化,另 1 条未甲基化的链被甲基化。研究发现,植物体内主要有 4 类广泛存在的甲基转移酶可以实现 DNA 甲基化:首

第一作者简介:韦荣昌(1983-),男,广西梧州人,博士研究生,研究实习员,现主要从事生药学等研究工作。E-mail: wrc830612@163.com.

责任作者:马小军(1958-),男,北京人,博士,研究员,现主要从事生药学等研究工作。

基金项目:国家科技支撑计划资助项目(2011BAI01B03)。

收稿日期:2013-05-08

先, MET1 甲基转移酶最为重要, 负责维持单拷贝和重复的 DNA 序列甲基化, 此外, 对胚胎发育、形态建成、花期调控和移栽变化等过程也有一定影响^[16]; 其次是结构域重排甲基转移酶(DRM), 主要包括 DRM1、DRM2 和 Zmet3, 主要负责维持转基因沉默位点的胞嘧啶及失活转座子进行甲基化修饰, 同时甲基化非对称位点从头甲基化 DNA 序列, 此外, 还包括从头甲基化外源 siRNA 同源的 DNA 中全部胞嘧啶^[17]; 第 3 类是为植物所特有的染色质甲基化酶(CMT), 负责甲基化 CpNpN(N 非 G) 和 CpNpG 核苷酸序列中的胞嘧啶^[18]; 最后 1 类可能为 DNMT2 家族同系物, 如拟南芥的 DMT11 和玉米种的 DMT104, 但其作用机制有待进一步研究^[19]。

2 组蛋白密码

真核生物细胞核内的染色质是一切遗传学过程的物质基础, 而核小体作为染色质的基本结构单位, 主要由 DNA 和 5 种组蛋白分子(H₃、H₄、H₂A、H₂B、H₁)组成, 其中 H₃、H₄、H₂A、H₂B 4 种蛋白质组成核心组蛋白, 它们没有种属及组织特异性, 在进化上十分保守。Peterson 等^[20]研究发现, 核小体核心组蛋白并非通常认为的静态结构, 其 N 端尾部 15~38 个氨基酸常常会发生许多翻译后共价修饰(Posttranslational modifications), 包括乙酰化、甲基化、泛素化、磷酸化、SUMO 化(Small ubiquitin-mediated protein)和 ADP-核糖基化(ADP-ribosylation)等, 这就提供了一种能够识别的标记, 当 DNA 和其它蛋白质相互结合时, 产生拮抗或协同效应, 进而改变染色质的状态, 也可以影响转录因子与 DNA 序列的结合, 对基因表达调控具有类似 DNA 遗传密码的作用, 故称为“组蛋白密码”(又称组蛋白修饰)^[21-23]。其中, 研究最多的是甲基化和乙酰化, 它们不单是沉默基因, 在某些特殊情况下, 还有激活基因的作用。

3 染色质重塑

染色质的包装得益于核小体结构的存在, 但 DNA 与组蛋白八聚体的紧密结合却严重阻碍了基因的表达(图 1), 因此, 只有获得有活性的染色质结构, 才能正常表达基因。如果想改变基因启动子区的核小体排列, 从而增加启动子和基础转录装置的可接近性, 则必须通过一系列变化来实现, 如核小体变为疏松的开放式结构或染色质去凝集等。而染色质重组(Chromatin remodeling)是指伴随基因表达调控的一系列染色质位置和结构的改变现象^[24]。

组蛋白 N 端尾巴修饰和染色质重塑的发生关系密切, 其中, 为其它蛋白提供与 DNA 作用的结合位点并直接影响核小体结构的是组蛋白 H₃ 和 H₄ 的修饰^[25]。

目前, 主要有 3 类染色质重塑类型: 1 类是利用

ATP 水解释放的自由能改变染色质的结构, 主要通过 ATP 的物理修饰来实现; 第 2 类就是通常所说的“组蛋白密码”, 通过共价结合反应的化学修饰, 达到控制基因转录等染色质调控过程^[26]; 第 3 类是 DNA 甲基化, 通过对 CpG 的胞嘧啶进行甲基化修饰来标记顺式调控序列从而调节转录因子与 DNA 的相互作用, 或通过形成不活跃的染色质结构发挥作用^[27]。

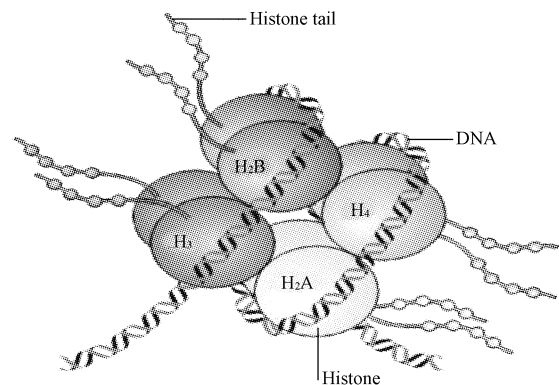


图 1 核小体结构图

Fig. 1 Nucleosomal structure

4 基因组印记

Kinoshita^[28]研究发现, 1 种不符合传统孟德尔遗传的表观遗传现象, 来自双亲的某些等位基因传递给子代时发生了某种修饰, 使子代只表现父本或母本的 1 种基因(取决于发生修饰的基因是来自父本还是母本), 从而呈现特征特异性表达的一种复杂的遗传现象, 就是基因组印记、遗传印记(Genomic imprinting)或亲本印记(Parental imprinting)。被印记的基因只是 1 种在 1 个世代中便可改变且具有种系专一性的遗传修饰, 而并非基因突变, 更不是永久的改变。研究表明, 由染色质介导的表观遗传基因或胞嘧啶的甲基化很可能直接导致基因组印记的发生^[29]。

Scott 等^[30]认为等位基因进入合子前所经历的表观遗传修饰, 是由 1 个位于减数分裂和配子发育间的配偶体来完成的。在有花植物的胚乳中常常会发生印迹的现象, 这是因为胚乳的发育主要受到一些被印迹的基因调控。通过积极移除 DNA 甲基化, 可以激活印迹的等位基因。在沉默的等位基因上, 通过 Polycomb group 复合体引起的组蛋白甲基化促成了另一层次的表观遗传调控。当中央细胞(Central cell)的授精受阻时, 还能从种子发育中分开胚乳基因印迹。研究表明, 印迹可能是胚乳中防止孤雌生殖从而确保中央细胞授精的一种新的作用机制^[31-32]。

5 非编码 RNA 调控

非编码 RNA 指不被翻译成蛋白质但参与蛋白质翻

译过程的 RNA,如 tRNA,rRNA 等,这些 RNA 在没有编码序列的改变下能够调控基因和蛋白的表达,因而在表观调节中有着重要作用^[33],能在加油站水平及染色体水平对基因表达进行调控,决定细胞分化的命运^[27]。非编码 RNA 分为看家非编码 RNA(housekeeping non-coding RNA)和调控非编码 RNA(regulatory non-coding RNA),后者按其大小又分为 2 类:短链非编码 RNA[包括小干涉 RNA(short interfering RNA,siRNA)、微小 RNA(microRNA,miRNA)和 piwi-interacting RNA(piRNA)]和长链非编码 RNA(long non-coding RNA,lncRNA)^[34](表 1)。

表 1 植物表观遗传学中
主要调控作用的非编码 RNA

Table 1 Main non-coding RNA of regulation on plant epigenetics

种类	长度	来源	主要功能
Type	Length/nt	Source	Main function
siRNA	21~25	长双链 RNA	转录基因沉默
miRNA	21~25	含发卡结构的 pri-miRNA	转录基因沉默
piRNA	24~31	长单链前体或起始转录产物等途径	生殖细胞内转座子的沉默
lncRNA	>200	多种途径	基因组印记和 X 染色体失活

5.1 长链非编码 RNA

作为核糖核蛋白复合物中的催化中心并在基因组中建立单等位基因表达模式的长链非编码 RNA,主要负责调控染色质结构的改变。

5.2 短链非编码 RNA

在基因组水平调控基因表达的短链非编码 RNA(又叫小 RNA),可以改变染色质的结构,降解 mRNA,决定细胞的分化途径,降解外源核苷酸序列以保护自身的基因组等。其中,微小 RNA(microRNA,miRNA)、小干涉 RNA(short interfering RNA, siRNA)和 piwi-interacting RNA(piRNA)是 3 类较为常见的短链非编码 RNA。

RNA 干扰(RNA interfering)的主要执行者为 siRNA,它是通过体外人工合成而转染到体内的^[35]。通过与 mRNA 同源配对而降解 mRNA,从而沉默靶基因,不失为一种高效而快速的促使靶基因失活的新技术。

miRNA 是一类长约 22 个核苷酸(nt)的内源性非编码小分子单链 RNA 基因产物,由长约 70 nt 的具有茎环结构的 pre-miRNA(precursor miRNA)剪切而来,在进化上具有高度的保守性、时序性和组织特异性,主要通过 3 种作用方式调控靶基因^[36]。

通过对植物表观遗传学的 5 个主要方面进行综述,发现它们之间并非各自独立,而是相互作用的。比如,需要彼此依赖方能起调控作用的组蛋白去乙酰化和染色质重塑,以及需要染色质重塑成分或组蛋白去乙酰化酶(HDACs)参与的 DNA 甲基化等^[37]。

6 展望

表观遗传学进一步充实了“中心法则”,即遗传信息

的载体并非只有核酸,以及基因的转录和翻译到底是由哪些因素决定的,表观遗传主要通过调节基因的表达模式和时空表达进而调控各种生理反应和发育进程,从而稳定地遗传给下一代。

由于表观遗传变化的分子机制适合复杂系统,所以吸收生态和进化遗传学家的看法、方法和研究系统是非常重要的^[38]。这种整合必须达到理解表观遗传的发生和传递,以及确定隔代表观遗传现象是如何实现的,对生态和进化条件下的表观遗传研究已成为研究热点^[39-40]。

通常情况下,植物通过抑制转座子和外源 DNA 的活性、抑制基因转录来完成从营养生长向生殖生长的转变以及花期调控等。可以相信,随着植物表观遗传的进一步深入研究,其调控网络将会不断清晰,调控机理也将逐渐被揭开。此外,生物信息学的崛起,将会进一步促进植物表观遗传学的全面发展。而下一代高通量测序技术也将加速植物表观基因组草图的产生。当多种植物表观遗传调节机制理解后,将更有助于全面理解已经成熟的表观遗传标记和状态的生物学重要性^[41]。

但是,表观遗传学作为一个发展中的研究领域,物种进化和维持的分子机理、基因表达的调控、生态因子调控基因表达等方面还有待于进一步深入研究。相信飞速发展的植物表观遗传学,将对探知植物生命活动规律、研究其进化机制并进行遗传改良等方面起到积极的推动作用。

参考文献

- [1] Waddington C H. Canalization of development and the inheritance of acquired characters [J]. Nature, 1942, 150: 563-565.
- [2] Holliday R. The inheritance of epigenetic defects[J]. Science, 1987, 238: 163-170.
- [3] Wu C T, Morris J R. Genes, genetics and epigenetics: a correspondence [J]. Science, 2001, 293: 1103-1105.
- [4] Holliday R. Epigenetics: an overview [J]. Developmental Genetics, 1994 (15): 453-457.
- [5] Adams R L P, Burdon R H. Molecular Biology of DNA Methylation [M]. New York, Berlin, Heidelberg, Tokyo: Springer-Verlag, 1985: 1, 6-7, 9-10, 13-14, 182-183.
- [6] Chan S W, Henderson I R, Jacobsen SE. Gardening the genome: DNA methylation in Arabidopsis thaliana [J]. Nat Rev Genet, 2005(6): 351-360.
- [7] Santi D V, Garrett C E, Barr P J. On the mechanism of inhibition of DNA-cytosine methyltransferases by cytosine analogs [J]. Cell, 1983, 33(1): 9-10.
- [8] Ronemus M J, Galbiati M, Ticknor C, et al. Demethylation-induced developmental pleiotropy in Arabidopsis [J]. Science, 1996, 273: 654-657.
- [9] Jones P A, Takai D. The role of DNA methylation in mammalian epigenetics [J]. Science, 2001, 293(5532): 1068-1070.
- [10] Xiao W, Custard K D, Brown R C, et al. DNA methylation is critical for Arabidopsis embryogenesis and seed viability [J]. Plant Cell, 2006, 18: 805-814.
- [11] 郭广平,袁金玲,吴晓丽,等. DNA 甲基化在植物研究中的应用与前景

景 [J]. 植物遗传资源学报, 2011, 12(3): 425-430.

[12] Finnegan E J, Peacock W J, Dennis E S. Reduced DNA methylation in *Arabidopsis thaliana* results in abnormal plant development [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1996, 93: 8449-8454.

[13] Finnegan E J, Peacock W J, Dennis E S. A key regulation of plant development and other processes [J]. Cur Opin in Genet and Develop, 2000 (10): 217-223.

[14] Ronemus M J, Galbiati M, Tehnor C, et al. Demethylation-induced developmental pleiotropy in *Arabidopsis* [J]. Science, 1996, 273: 654-657.

[15] Xixi W, Kendra D C, Brown R C. DNA methylation is critical for *Arabidopsis* embryogenesis and seed viability [J]. The Plant Cell, 2006, 18 (4): 805-814.

[16] Finnegan E J, Kovac K A. Plant DNA methyltransferases [J]. Plant Mol Biol, 2000, 43: 189-210.

[17] Cao X, Springer N M, Muszynski M G, et al. Conserved plant genes with similarity to mammalian de novo DNA methyltransferases [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2000, 97: 4979-4984.

[18] Genter R K, Kovac K A, Dennis E S. Multiple DNA methyltransferase genes in *Arabidopsis thaliana* [J]. Plant Mol Biol, 1999, 41: 269-278.

[19] Goodrich J, Tweedie S. Remembrance of things past: chromatin remodeling in plant development [J]. Annu Rev Cell Dev Biol, 2002, 18: 707-746.

[20] Peterson C L, Laniel M A. Histones and histone modifications [J]. Current Biology, 2004, 14(14): 546-551.

[21] Allis C D, Strahl B D. The language of covalent histone modifications [J]. Nature, 2000, 403: 41-45.

[22] Jenuwein T, Allis C D. Translating the histone code [J]. Science, 2001, 93: 1074-1080.

[23] Jaskelioff M, Peterson C L. Chromatin and transcription: histones continue to make their marks [J]. Nat Cell Biol, 2003, 5(11): 395-399.

[24] Fraga M F, Ballestar E, Paz M F, et al. Epigenetic differences arise during the lifetime of monozygotic twins [J]. Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America, 2005, 102 (30): 10604-10609.

[25] Lewin B. Gene VII [M]. Pemmon Prentice Hall Press, 2004: 735-749.

[26] Hath K, Fang J, Mlynarczyk-Evans SK, et al. Role of histone H3 lysine 27 methylation in X inactivation [J]. Science, 2003, 300: 131-135.

[27] 于红. 表观遗传学: 生物细胞非编码 RNA 调控的研究进展 [J]. 遗传, 2009, 31(11): 1077-1086.

[28] Kinoshita Y, Saze H, Kinoshita T, et al. Control of FWA gene silencing in *Arabidopsis thaliana* by SINE-related direct repeats [J]. Plant Journal, 2007, 49: 38-45.

[29] Alleman M, Doctor J. Genomic imprinting in plants: observations and evolutionary implications [J]. Plant Molecular Biology, 2000, 43: 147-161.

[30] Scott R J, Spielman M. Epigenetics: imprinting in plants and mammals-the same but different [J]. Current Biology, 2004, 9 (14): R201-R203.

[31] Huh J H, Bauer M J, Hsieh T F, et al. Endosperm gene imprinting and seed development [J]. Curr Opin Genet Dev, 2007, 17(6): 480-485.

[32] 魏华丽, 杨文华, 韩素英, 等. 表观遗传学在木本植物中的研究策略及应用 [J]. 中国农业科学导报, 2009, 11(2): 10-16.

[33] Maccani M A, Marsit C J. Epigenetics in the placenta [J]. American Journal of Reproductive Immunology, 2009, 62(2): 78-89.

[34] 李光雷, 喻熟迅, 范术丽, 等. 表观遗传学研究进展 [J]. 生物技术通讯, 2011(1): 40-49.

[35] Matzke M, Matzke A J, Kooter J M. RNA: guiding gene silencing [J]. Science, 2001, 293: 1080-1083.

[36] Couzin J. Breakthrough of the year. Small RNAs make big splash [J]. Science, 2002, 298: 2296-2297.

[37] 张春燕, 邹平. 表观遗传学及其研究进展 [J]. 四川生理科学杂志, 2006, 28(2): 72-74.

[38] Richards C L, Bossdorf O, Verhoeven K J. Understanding natural epigenetic variation [J]. New Phytol, 2010, 187: 562-564.

[39] Boyko A, Blevins T, Yao Y, et al. Transgenerational adaptation of *Arabidopsis* to stress requires DNA methylation and the function of Dicer-like proteins [J]. PLoS One, 2010, 5(3): e9514.

[40] Molinier J, Ries G, Zipfel C, et al. Transgenerational memory of stress in plants [J]. Nature, 2006, 442: 1046-1049.

[41] Stacey A S, Blake C M. Small RNA-mediated epigenetic modifications in plants [J]. Current Opinion in Plant Biology, 2011, 14: 148-155.

Research Advances on Plant Epigenetics

WEI Rong-chang^{1,2}, TANG Qi¹, MA Xiao-jun^{1,2,3}, ZHAO Huan², QIN Xi-jun², TU Dong-ping²

(1. Guangxi Botanical Garden of Medicinal Plants, Nanning, Guangxi 530023; 2. Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100193; 3. Yunnan Branch of Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences, Jinghong, Yunnan 666100)

Abstract: Epigenetics is a new branch field of genetics that study the gene function changes of inheritance through meiosis and (or) mitosis without DNA sequence changes. Plant growth was affected by epigenetic, so far, epigenetic of various plant had been studied. At present, the researchers were mainly concentrated in the aspects such as DNA methylation, histone code, chromatin remodeling, genomic imprinting and non-coding RNA regulation. The research advances on plant epigenetics were discussed and prospected.

Key words: epigenetics; DNA methylation; histone code; chromatin remodeling; genomic imprinting; non-coding RNA