



武汉大学

Wuhan University

遗传学 (第3版)

第15章 表观遗传概论

1. 表观遗传学的概念及其演变
2. 以染色质为基础的表观遗传变异与调控
3. 基因组印记与表观遗传分析





15.1 表观遗传学的概念及其演变

15.1.1 表观遗传学的概念

(1) 表观遗传概念的演变

相同的基因型为什么会产生不同的细胞类型？如何才能使同样的基因组表达不同的基因、分化出表型（类型）不同的细胞呢？

1939年，英国胚胎学家、遗传学家 **C.H.Waddington** 首先提出**表观遗传学**（**epigenetics**）这一术语——

见《现代遗传学导论》一书

在**1942年**他将其定义为是“研究基因与决定表型的基因产物之间的相互作用及因果关系”。

这个定义涵盖了基因表达调控的基本范畴（图15-1）。





“中心法则” : genetic central dogma

DNA (基因) → RNA → 蛋白质

基因产物对基因表达过程的调控，包括RNA和/或蛋白质对DNA/染色质结构与转录活性的调控，蛋白质对RNA稳定性与蛋白质翻译及翻译后修饰过程的调控等。

广义的表观遗传学本质上就是研究基因表达调控的机制，也就是基因之间相互作用的机制，或者说性状决定的机制

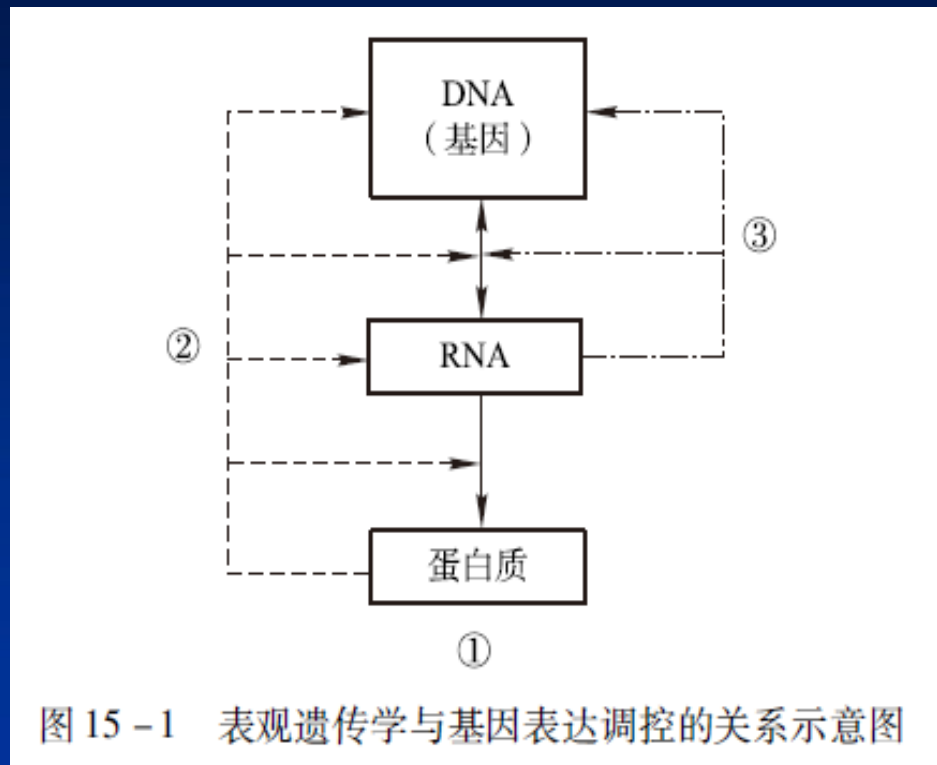


图 15 - 1 表观遗传学与基因表达调控的关系示意图

- ① 表示中心法则；
- ② 表示蛋白质对基因表达的调控作用；
- ③ 表示RNA对基因表达的调控作用



1994年 Holliday定义表观遗传学：“不依赖DNA序列差异的核遗传”

目前表观遗传的概念除了前述含义之外，还可以表述为如下3种：

① 不依赖于DNA序列改变的、“可遗传”的个体表型的改变；或在基因本身的DNA序列未发生改变的情况下，基因在表达与功能上发生的“可遗传”的变化。这一概念强调了表观遗传现象是“可遗传”的。

② 不改变DNA序列，通过改变染色质的结构与活性改变基因的表达与功能，并最终造成个体表型的改变。这是将表观遗传调控局限于染色质层面，但并未强调是“可遗传”的。

③ 不改变DNA序列，而是通过改变染色质的结构与活性改变基因的表达与功能，并最终产生“可遗传”的个体表型的改变。这显然是目前对表观遗传最为严格的一种定义，它既将表观遗传调控局限于染色质层面，又强调了它的“可遗传”性。



表观遗传学研究中的几个名词术语

表观遗传修饰 (epigenetic modification) : 对DNA (基因) 或其载体染色质结构的修饰作用。

表观遗传变异 (epigenetic variation) : 由表观遗传修饰导致的基因表达状态与表型的改变。

表观遗传调控 (epigenetic regulation/control) : 能够影响到基因的表达与活性的作用与机制, 而不涉及DNA序列改变的基因表达调控方式。

表观遗传效应 (epigenetic effect) : 由表观遗传调控所产生的表型效应; 或泛指所有不改变DNA序列, 而是通过影响基因表达与活性的各个环节导致细胞与个体表型改变的现象。

“以染色质为基础的表观遗传变异” (chromatin-based epigenetic variation) : 通过影响染色质的结构与活性调控基因表达的现象。



表观遗传性状 (epigenetic trait) : 由表观遗传变异所产生的表型

表观基因组 (epigenome) : 是各种基因组遗传修饰现象的总称,

这些表观基因组保证了在不改变DNA序列的情况下将基因表达模式稳定地遗传下去。 Sci, 330:598-599. 2010

或是附着在基因组上的化学标记模式, 其决定了哪些基因会被激活以及 它们激活的方式及时间。

跨代表观遗传学 (transgenerational epigenetics) : 能够通过生殖细胞向后代个体传递的表观遗传现象的研究。

记忆表观遗传学 (memigenetics) : “可遗传”的表观遗传变异研究。





(2) 表观遗传与遗传学

人类基因组测序结果表明：3300Mb碱基对中，编码蛋白质的序列只有约不到3%，不编码序列占97%，除去约7%的非转录区，其余90%的是非编码RNA (non-coding RNA, ncRNA)

因此，认为基因组含有两类遗传信息：

一类是传统意义上的遗传信息——基因是遗传编码信息，是DNA转录翻译为蛋白质的模板；

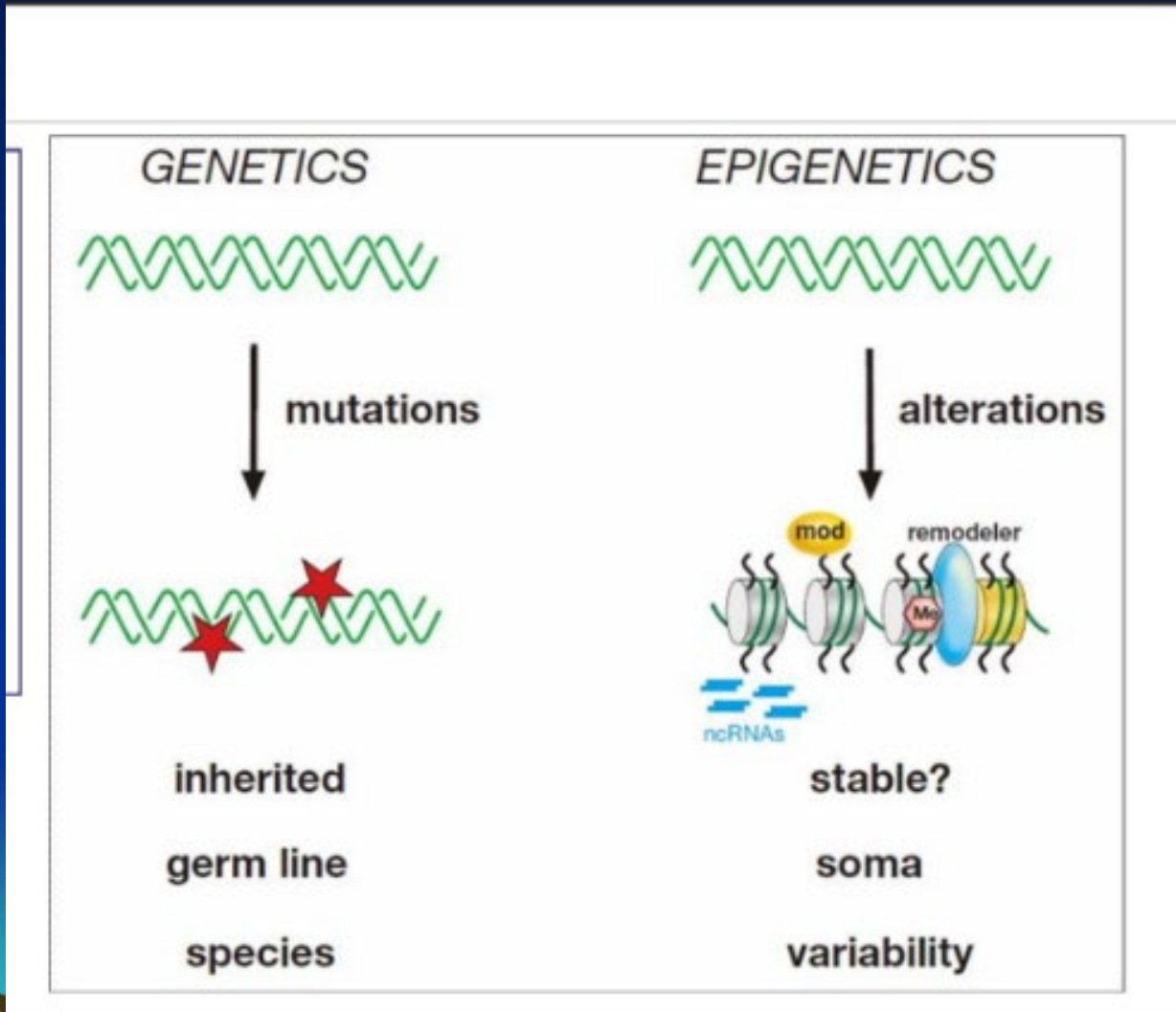
另一类是表观遗传学信息，它是通过DNA甲基化、组蛋白修饰、非编码RNA等来决定在何时、何地、以何种方式表达这些遗传信息。

经典遗传学——孟德尔遗传规律为基础，研究以DNA序列突变而导致等位基因的差异；表观遗传——不涉及DNA序列变异的与不含细胞质遗传的非孟德尔遗传。

无论是遗传学还是表观遗传学都是涉及到遗传信息的传递、调控和表现的问题，所以表观遗传是遗传学的重要组成部分，是在新的历史时期，遗传学研究领域的发展和丰富。

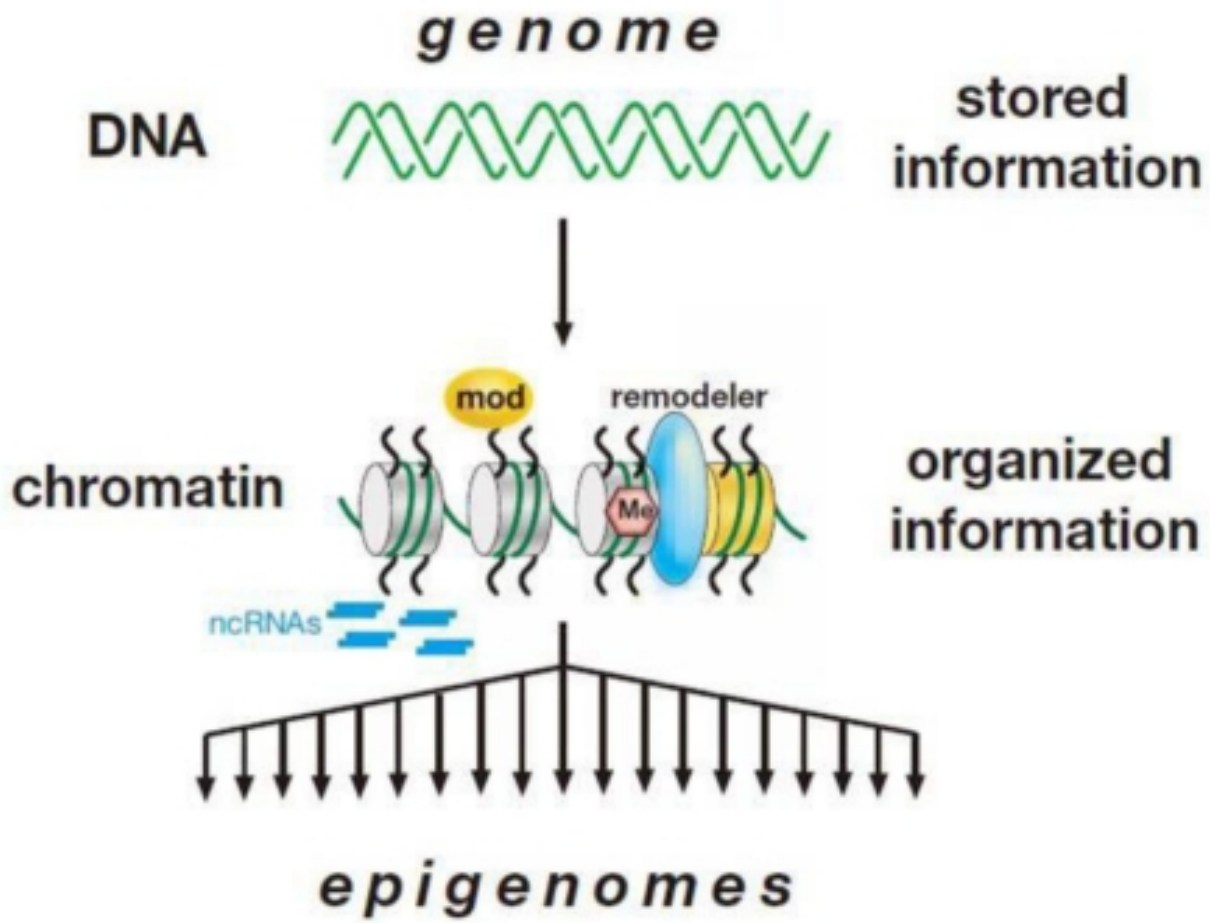


遗传学与表观遗传学





DNA与染色质





15.1.2 表观遗传学的研究内容与意义

表观遗传学主要研究表观遗传变异（epigenetic variation）现象不影响DNA序列的情况下改变基因组的修饰，这种改变不仅可以影响个体的发育，而且还可以遗传下去。因此，这类变异被称为表观遗传修饰（epigenetic modification）。

表观遗传修饰包括： DNA 甲基化（DNA methylation）、组蛋白修饰（histon modification）、染色质重塑（chromatin remodeling）、基因组印记（genomic imprinting）、X染色体失活（X chromosome inactivation）、RNA相关沉默（RNA interference等）、副突变（paramutation）、位置效应斑（position effect variegation）、组蛋白密码（histon code）、RNA 编辑（RNA editing）等。



(1) 表观遗传学的研究内容

① **基因选择性转录表达的调控**：包括DNA甲基化、组蛋白密码、染色质重塑、基因印记，以及转录因子或转录抑制因子对靶基因转录起始的调控等；

② **基因转录后的调控**：包括基因组中的miRNA等非编码RNA、反义RNA、RNA干扰、RNA的化学修饰、RNA编辑等；

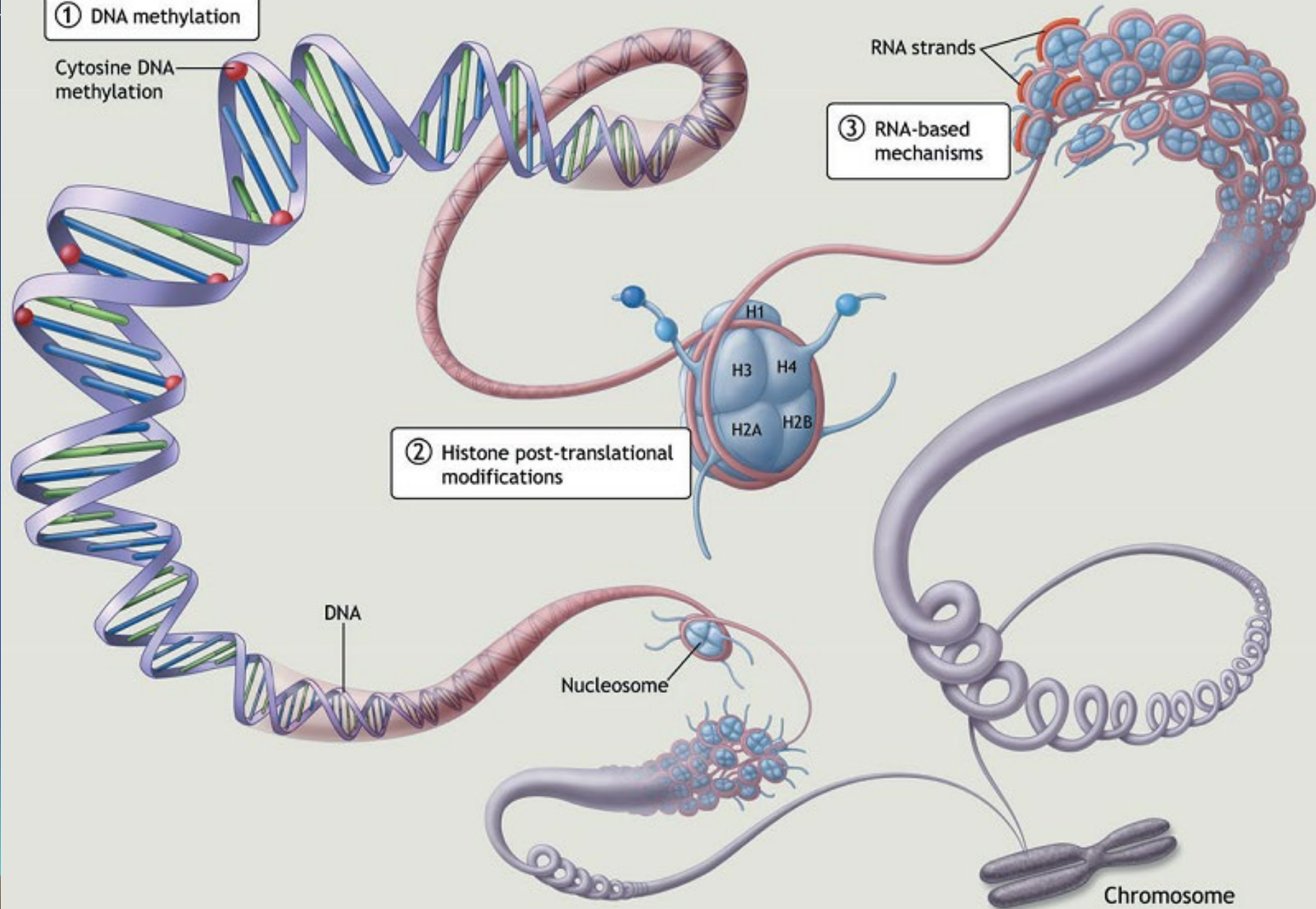
③ **蛋白质的翻译后修饰**：包括组蛋白修饰——组成核小体的组蛋白可以被多种化合物所修饰，如磷酸化、乙酰化和甲基化等。

① DNA methylation

Cytosine DNA methylation

② Histone post-translational modifications

③ RNA-based mechanisms





重点介绍:

DNA甲基化 (DNA methylation)

染色质重塑 (chromatin remodeling)

基因组印记 (genomic imprinting)

组蛋白修饰 (histon modification)

与组蛋白密码 (histon code)

RNA编辑 (RNA editing)

重编程



15.2 以染色质为基础的表现遗传变异与调控

“以染色质为基础的表现遗传调控”研究，表明染色质的结构与活性状态能够直接影响基因的表达状态。由谁来调控染色质的结构与活性状态？如何来调控染色质的结构与活性状态？目前已知，在分子水平上染色质的表现遗传状态与DNA的甲基化修饰、组蛋白的修饰、组蛋白变体密切相关；在染色质层面则与核小体的装配、染色质重塑以及异染色质化密切相关。这些不同的染色质调控与修饰因素之间相互作用，共同决定位于特定染色质区域的DNA的转录活性（图15-3）。

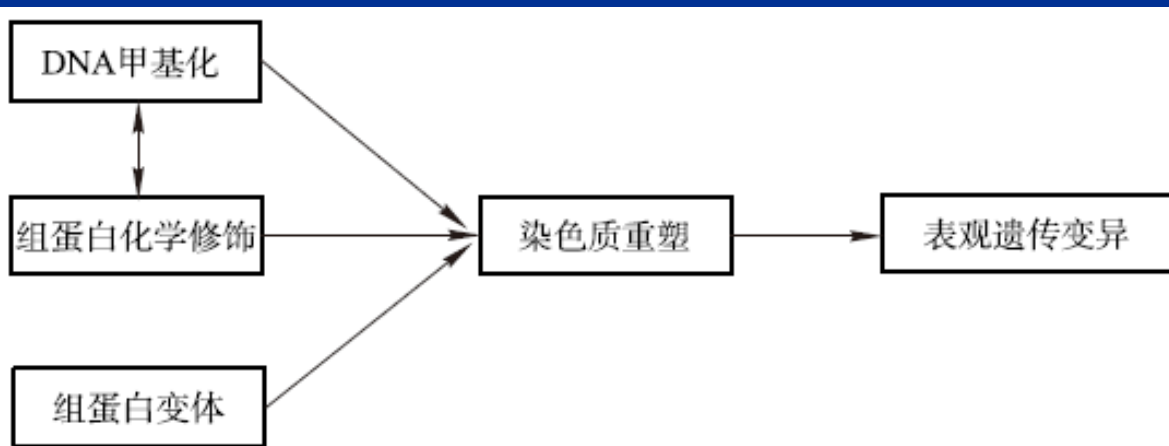


图 15 - 3 以染色质为基础的表现遗传变异示意图

DNA甲基化、组蛋白修饰和组蛋白变体影响染色质的结构与活性状态→改变该染色质区域的基因的转录活性，产生表现遗传调控效应→个体或细胞表现出表现遗传变异

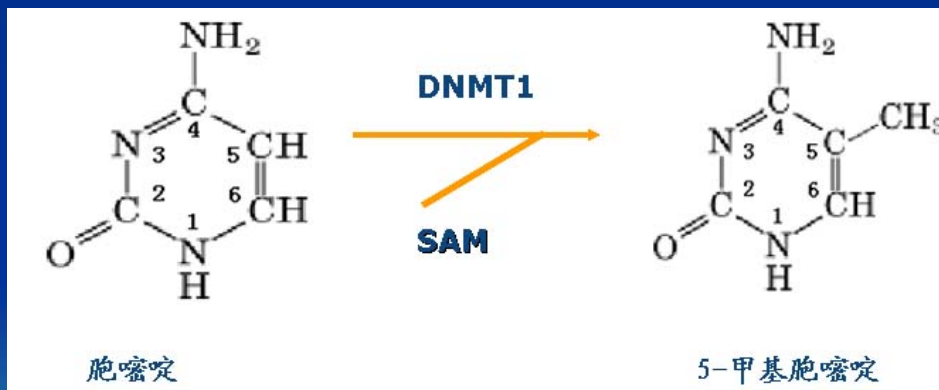


15.2.1 DNA甲基化与去甲基化修饰

(1) DNA甲基化修饰与功能

真核生物DNA甲基化酶 DNA甲基化 (DNA methylation) 是指在DNA碱基上增加甲基基团的化学修饰。DNA甲基化是真核细胞基因组中常见的DNA水平的表观遗传现象，其在DNA复制中的维持机制是表观遗传学的重要基础。

DNA甲基转移酶 (DNA methylation transferase, DNMT) 或称甲基化酶 (methylase) 催化:



在DNA甲基化转移酶的作用下，将一个甲基添加在DNA分子的碱基胞嘧啶 (C) 上，产生5-甲基胞嘧啶 (5^mC)

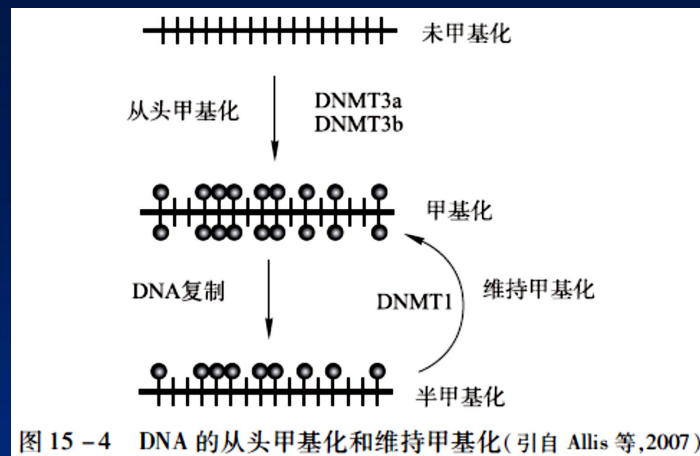


(2) 甲基化维持与从头甲基化

甲基化反应可分为：

维持甲基化 (maintenance of methylation)

从头甲基化 (*de novo* methylation)



维持甲基化与DNA复制相耦联，当甲基化的双链DNA复制后在生成的两条新的DNA链中，只有亲代链是甲基化的，而新合成的子代链是非甲基化的，因而新合成的DNA双链呈半甲基化 (hemimethylated)。而DNMT1对这种半甲基化双链DNA有较高的酶活性

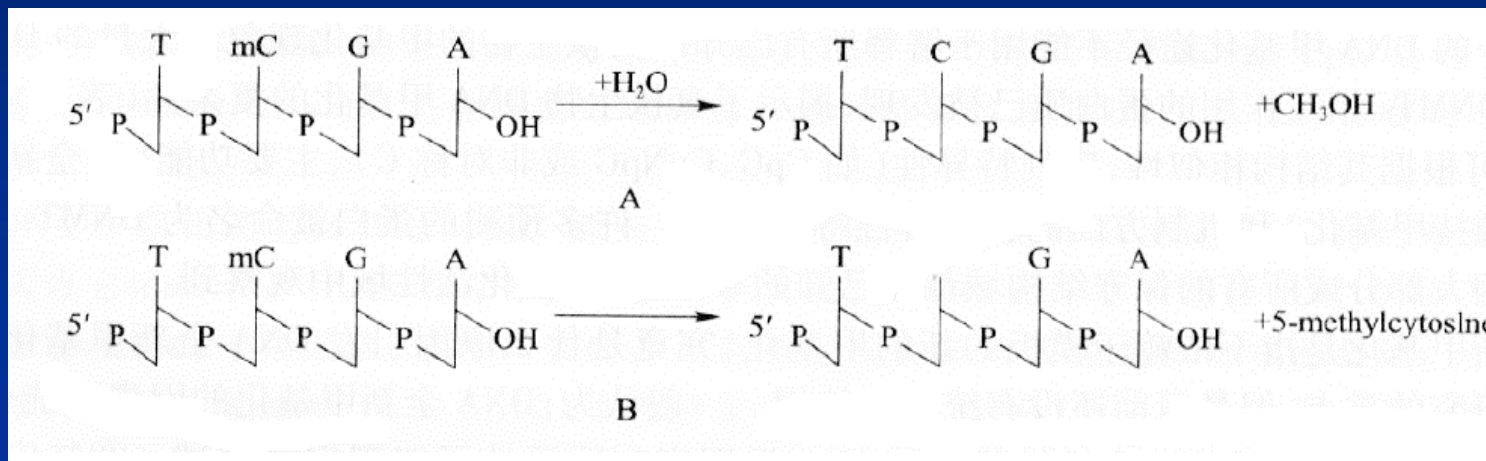
从头甲基化则是对DNA甲基化状态的重新构建，它不依赖DNA复制，在完全非甲基化位点上无需模板指导在DNMT3a和DNMT3b的催化下，引入甲基而从头建立甲基化模式。DNMT3a和DNMT3b也被称为从头合成甲基化酶 (*de novo* methylases)。它们可催化未甲基化的CpG位点，使其半甲基化，继而全甲基化。



(3) 真核生物DNA去甲基化酶与去甲基化

真核生物细胞内有DNA的甲基过程化，同时也存在DNA的去甲基化。

DNA主动去甲基化（DNA demethylation）是指在DNA去甲基化酶作用下，5^mC被胞嘧啶代替的过程。



其作用机制一般认为是，通过5-甲基胞嘧啶DNA糖基化酶的作用，将DNA中的甲基化胞嘧啶去除，留下完整的脱氧核苷，然后通过内切酶修复成胞嘧啶



(4) DNA甲基化对基因表达调节作用

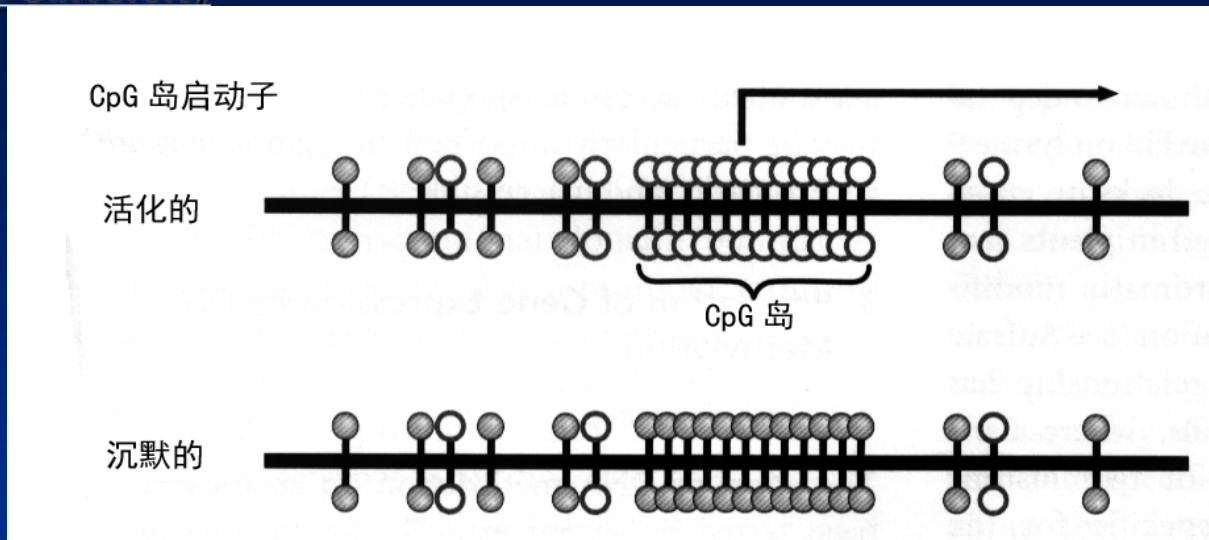
哺乳动物基因组DNA中5mC占胞嘧啶总量2%-7%，约70%~80% 5mC存在于CpG二联核苷中的胞嘧啶，特称为**甲基化的CpG位点**。其特点：

①CpG岛一般是非甲基化的，主要位于基因的启动子区，少数位于基因的**第一个外显子区**；

②看家基因的启动子都含CpG，且保持非甲基状态；

③启动子区CpG发生5mC修饰而阻碍转录调控因子与DNA结合而导致相关基因沉默，基因在甲基化后去甲基化则会让一个沉默基因重新激活；

④启动子CpG甲基化密度与转录抑制程度相关，弱的启动子能被密度较低的甲基化完全抑制，当启动子被增强子增强时可恢复转录功能，但如果甲基化的密度进一步增加，转录又会被抑制。

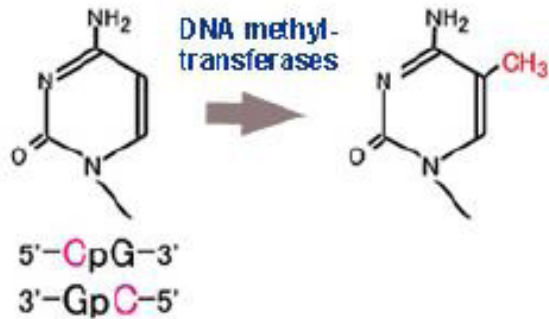


DNA甲基化与基因表达

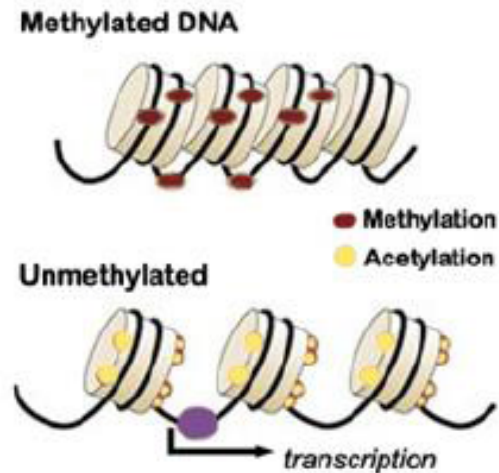
一般：DNA甲基化与基因沉默相关，非甲基化与基因活化相关；
去甲基化与一个沉默基因的重新激活相关。

DNA METHYLATION

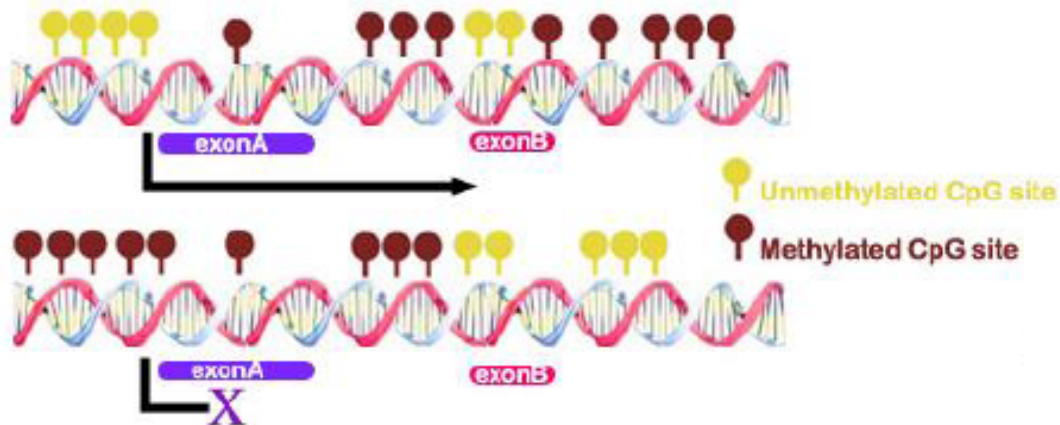
A



B



C



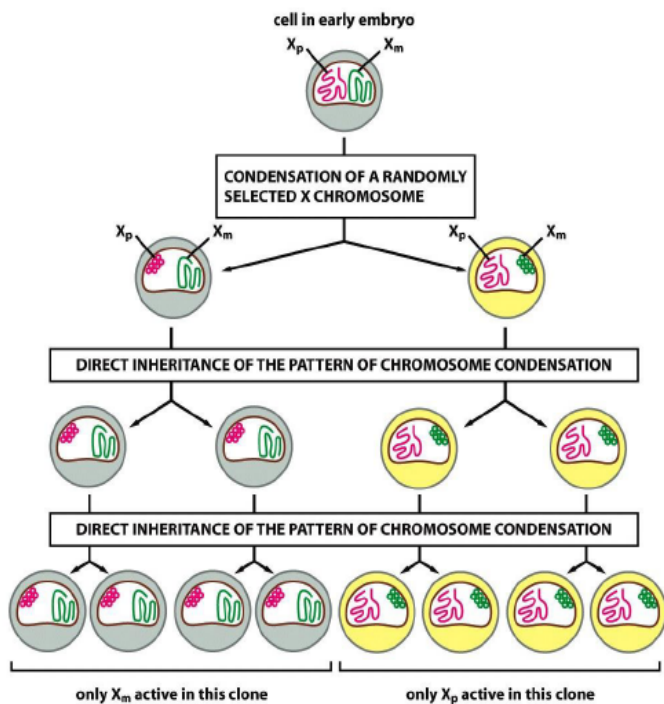
低甲基化

Hypomethylation
Hypermethylation

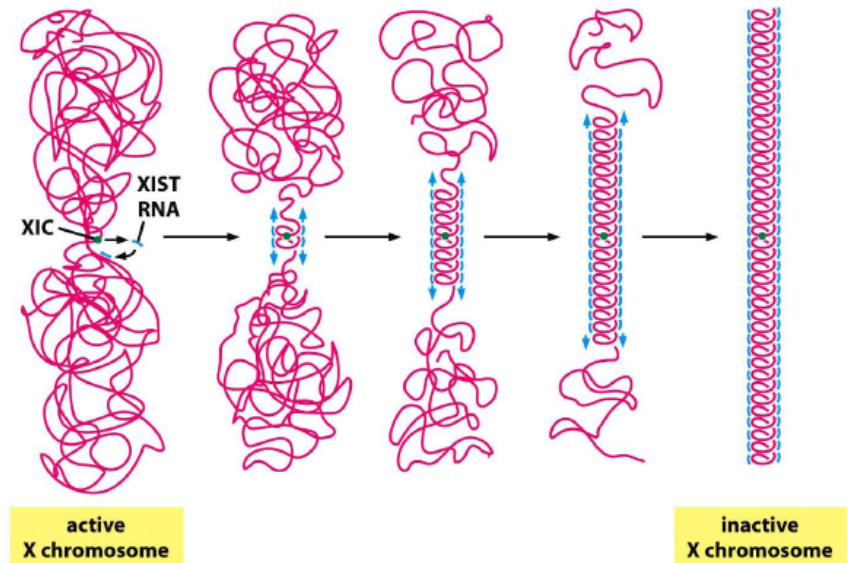
超甲基化

例如：人类女性两条X染色体中的一条染色体DNA高度甲基化（hypermethylation），因而基因处于失活状态；一直处于活性转录状态的管家基因则始终保持低水平的甲基化（hypomethylation）。

X-inactivation



Mammalian X-inactivation



10% X-genes escape the silencing;
a specific H2A variants;
Hypoacetylation of H3 and H4;

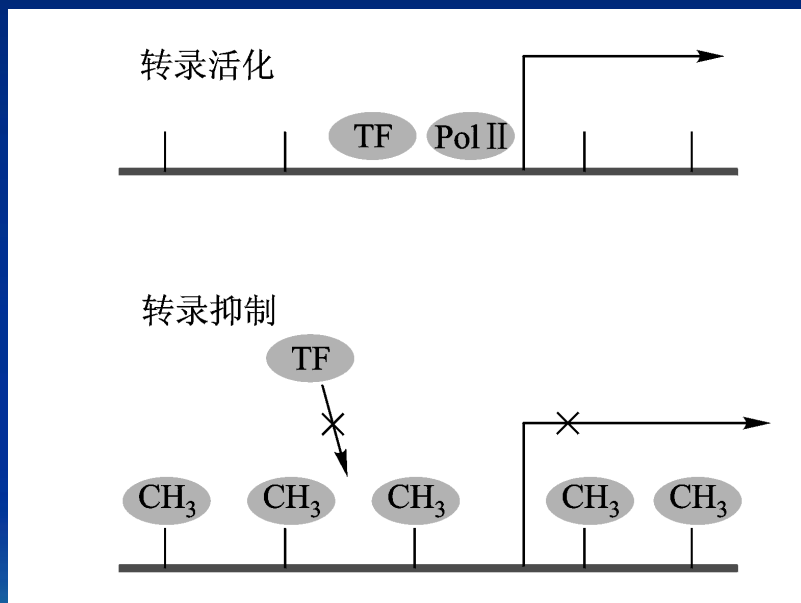
ub-H2A;
specific methyl-H3;
different methyl pattern of DNA



DNA甲基化介导基因沉默

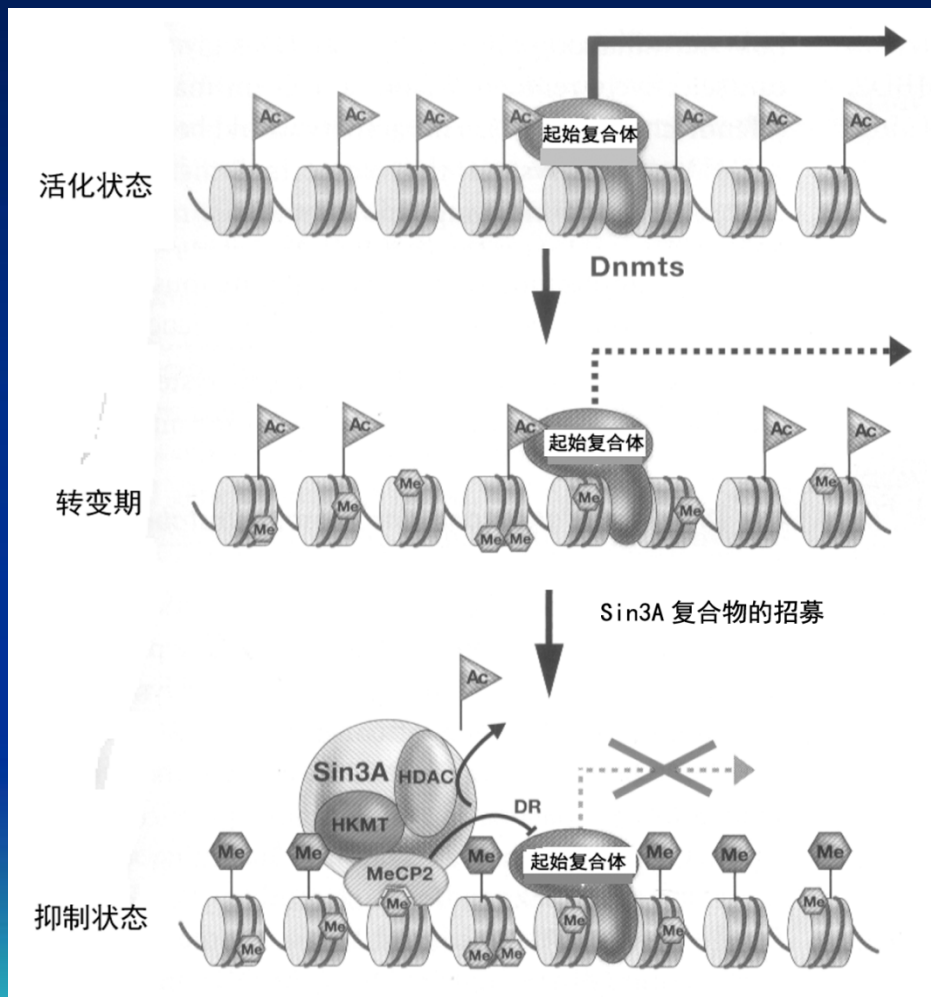
有证据表明是通过反式调节作用进行的，主要表现在：

① DNA甲基化干扰转录调节因子识别位点



双链DNA分子的大沟是许多转录因子结合的部位，如在大沟中出现甲基化则阻碍了特定基因转录活化的转录因子结合。许多转录因子识别包含CpG的GC富集序列，当CpG被甲基化后其中一些转录因子就不能结合DNA，即转录被抑制

② 甲基化CpG结合蛋白募集相关蛋白阻遏基因表达



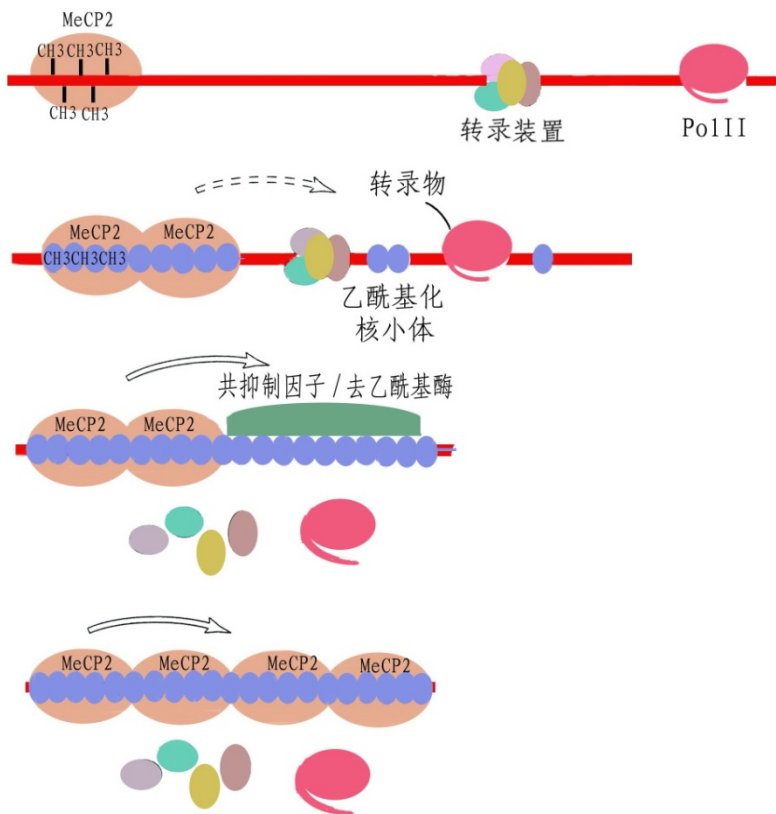
在MeCP2 (methyl-CpG-binding protein 2) 调节下, DNA甲基化可能会使一个启动子由非甲基化的活化态变成甲基化的失活态。这一过渡期, 转录的沉默和DNA甲基化都是迅速发生的。Sin3A组蛋白去乙酰化酶 (HDAC) 和组蛋白赖氨酸甲基转移酶 (HKMT) 被认为是通过MeCP2募集到甲基化位点上的。MeCP2等募集辅抑制物形成转录抑制复合物, 阻止转录因子与启动区靶序列结合, 参与依赖于甲基化的转录抑制过程

通过甲基化CpG结合蛋白募集辅抑制物



③ DNA甲基化介导染色质重塑而抑制基因转录

DNA甲基化主要是通过染色质结构变化而阻止转录因子与启动子或增强子的结合控制基因表达。已知MeCP2含有一个m5CpG结构功能域和一个抑制功能域，当其识别DNA的m5CpG位点并与之结合后，迅速募集共抑制因子Sin3A和HDAC等，将松驰的DNA重新包装在致密核小体中，并压缩间隔DNA使染色质变为更加收缩状态，驱使转录装置与RNA聚合酶脱离DNA而抑制基因转录



DNA甲基化与染色质重建



DNA甲基化直接制约基因的活化状态

DNA甲基化的生物学意义在于：

基因表达的时空调控以及保护基因组稳定性。

例如：

- ① 有些基因在发育早期甲基化，发育晚期被诱导去甲基化使基因在不同发育时期特异表达；
- ② **高度甲基化的基因处于失活状态**：女性两条X染色体中的一条X染色体上的基因随机失活；
- ③ 持家基因的低甲基化；印迹基因的高甲基化；
- ④ 抑癌基因的病理性再甲基化造成基因沉默；
- ⑤ 甲基化还可以抵御转座子沉默、病毒入侵；使一些基因转录抑制等。



DNA甲基化的遗传机制：

维持甲基化 (maintenance methylation)



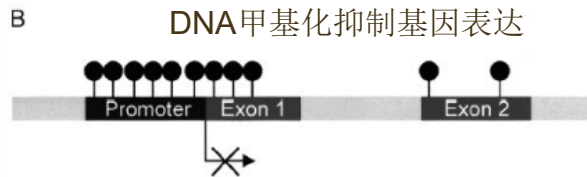
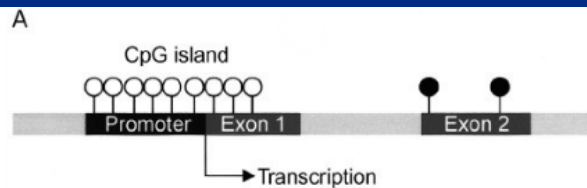
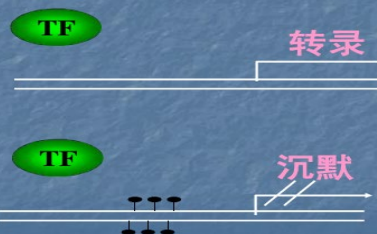
忠实度：95~98%

从头甲基化
(de novo methylation)



DNA甲基化导致基因沉默的机制

——干扰转录因子结合



DNA甲基化导致基因沉默
——基因之“锁”

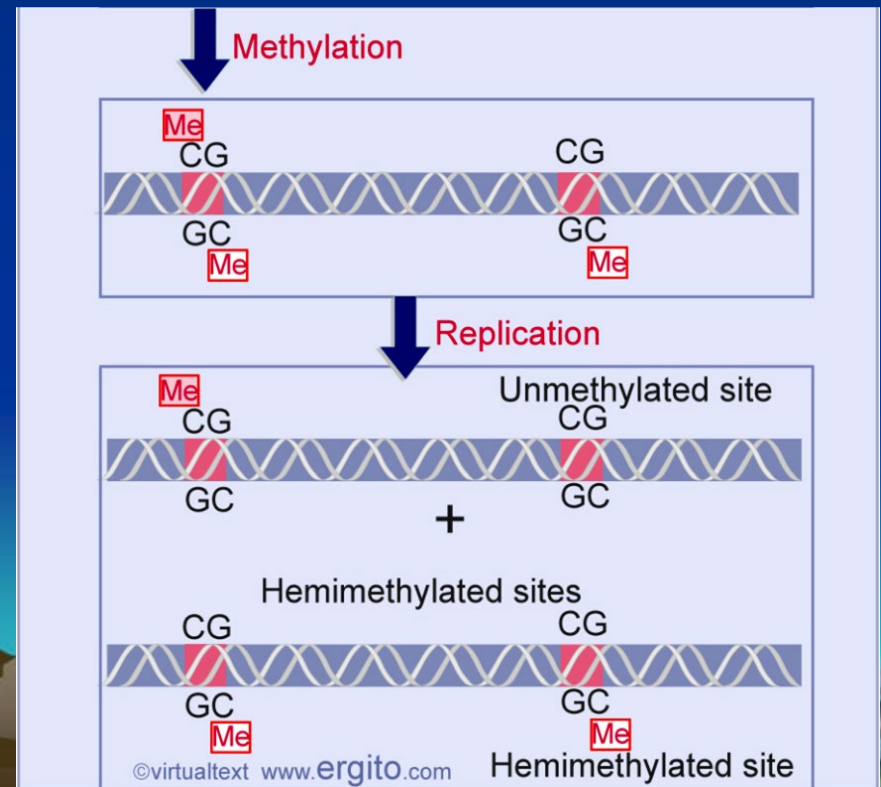
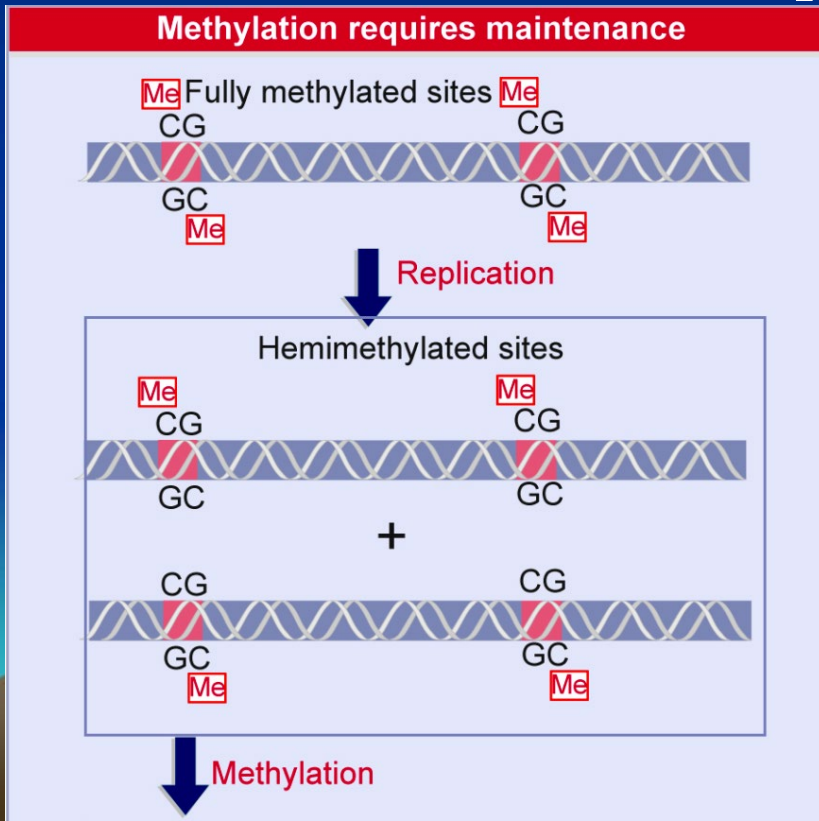


锁定“自私”基因



(3). DNA methylation is perpetuated by a maintenance methylase

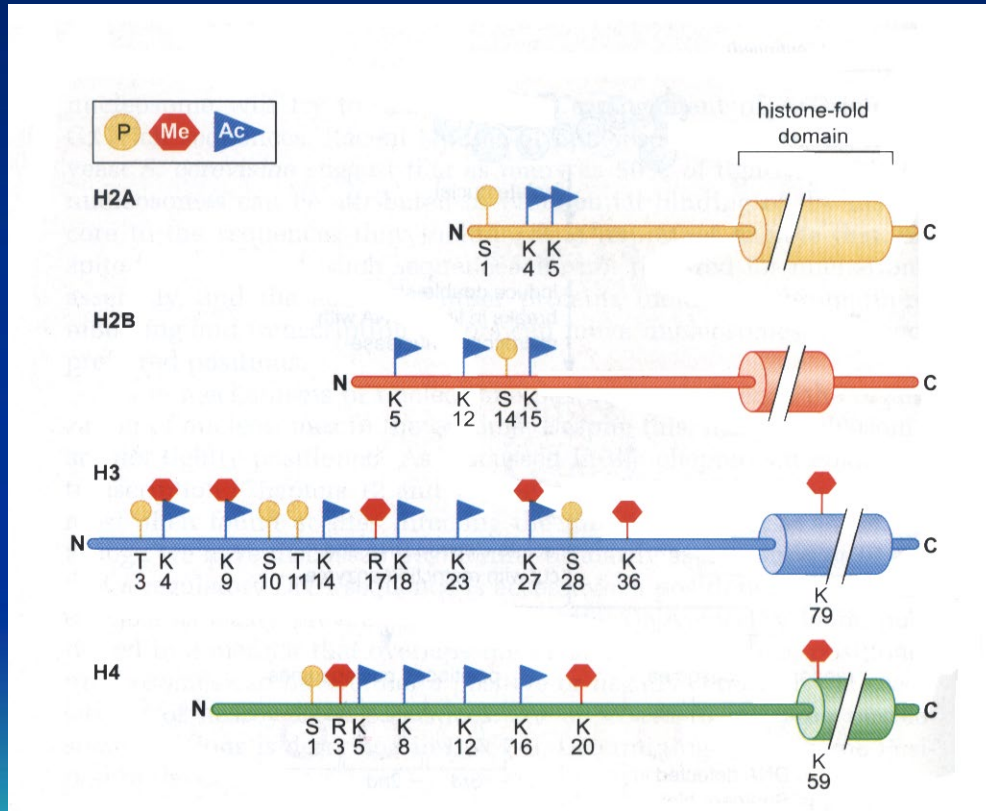
From 2-7% of the cytosines of animal cell DNA are methylated
Most of the methyl groups are found in CG "doublets", the structure



15.2.2 组蛋白修饰与组蛋白变体

(1) 组蛋白修饰与组蛋白密码假说

① 组蛋白修饰类型与作用



组蛋白N末端不同位点受到多种不同类型的组蛋白翻译后修饰如：

乙酰化 (acetylation, Ac)

甲基化 (methylation, M)

磷酸化 (phosphorylation, P)

泛素化 (ubiquitinylation, Ub) 生

物素化 (biotinylation, B1)

SUMO化 (small ubiquitin-like modifier)

ADP-核糖基化 (ADP-ribosylation)

等，调控染色质的结构和组成，直接影响转录因子与基因启动子的结合而调节基因表达的活化或沉默

合而调节基因表达的活化或沉默

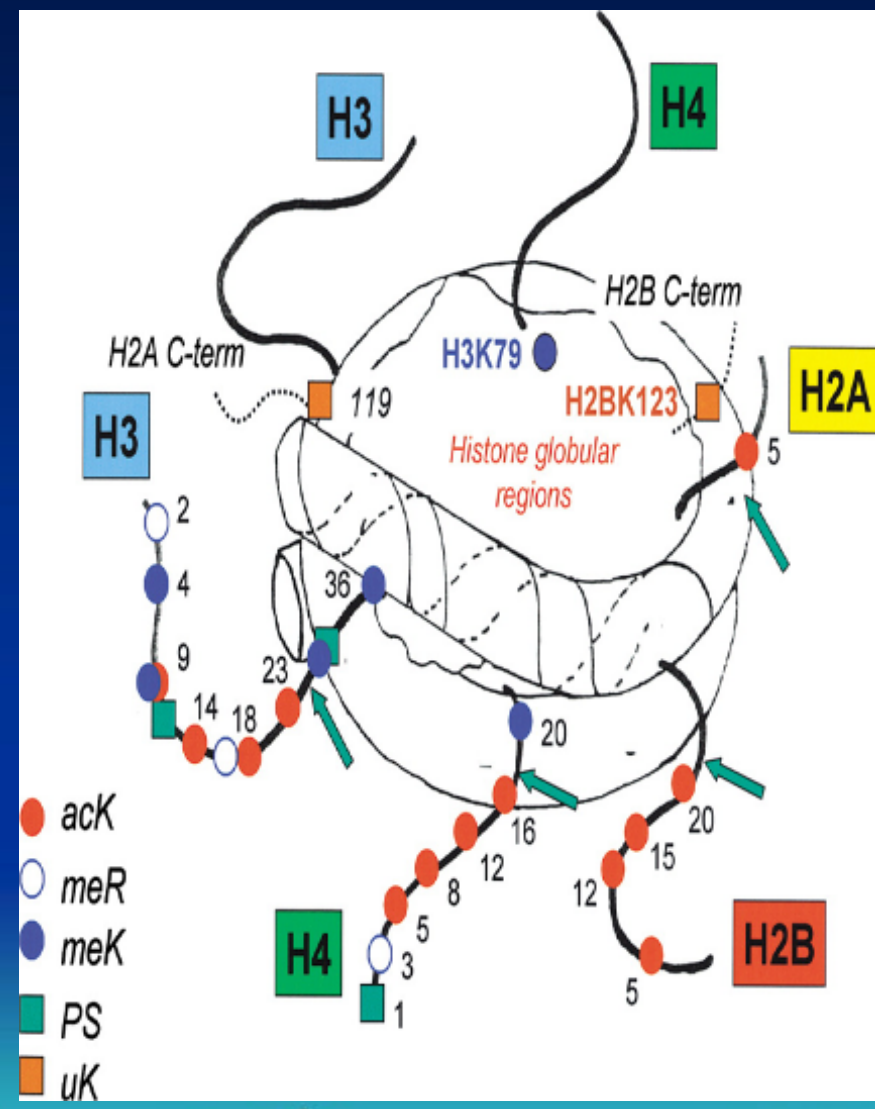
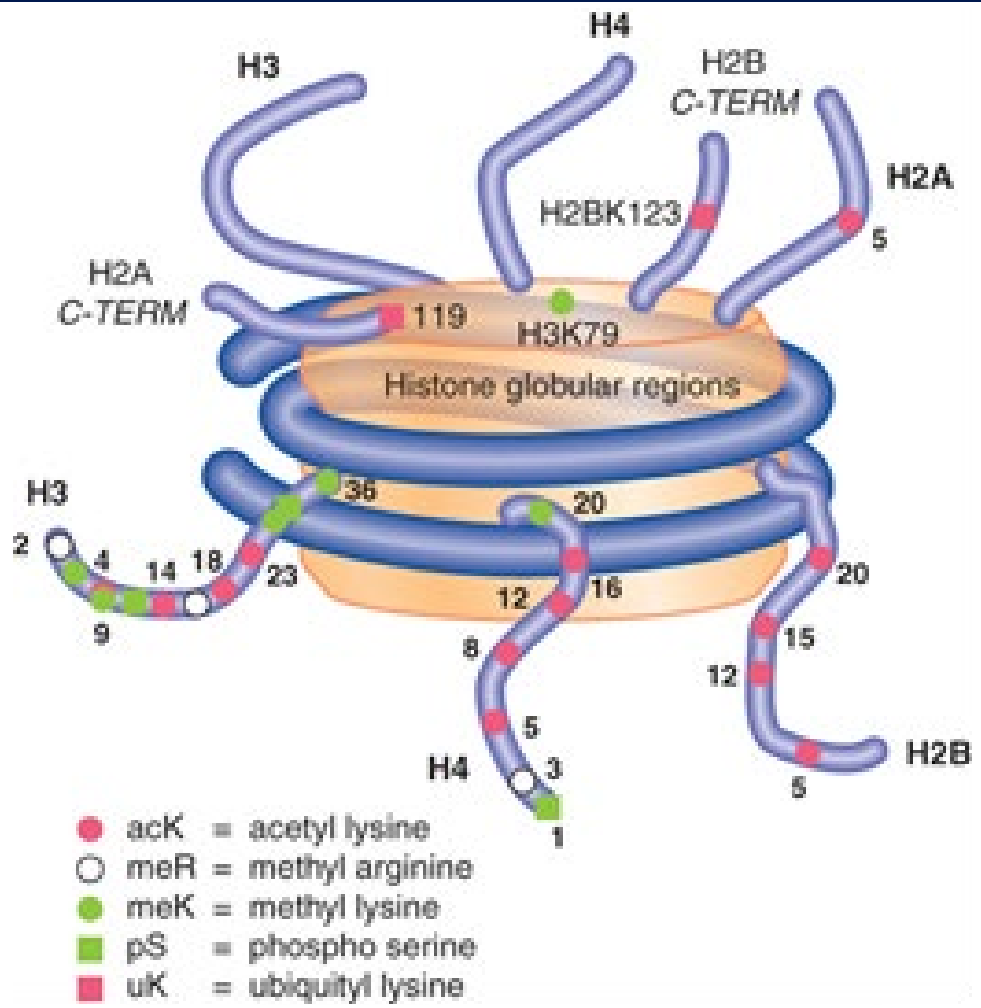


图 15 -5 核小体组蛋白末端化学修饰示意图(仿自 Krebs 等,2014)

核小体组蛋白修饰示意图



不同的修饰酶在组蛋白上各具特定的靶位（表15-1），不同的修饰对基因的活性产生不同的影响。本章仅简单介绍组蛋白的乙酰化、甲基化、磷酸化和泛素化等4种主要修饰

表 15 -1 HPTM 的类型与作用和修饰位点

修饰的类型		对转录的作用	组蛋白修饰位点		
小分子基团修饰	乙酰化	激活	H3(K9、K14、K18、K23) ; H4(K5、K8、K12、K16) ; H2A(K5、K9) ; H2B(K5、K12、K15、K20)	甘氨酸----Gly----G 丙氨酸----Ala----A 缬氨酸----Val----V 亮氨酸----Leu----L 异亮氨酸---Ile----I 苯丙氨酸---Phe---F 脯氨酸----Pro----P 色氨酸----Trp---W 丝氨酸----Ser---S 酪氨酸----Tyr---Y	半胱氨酸---Cys----C 蛋氨酸----Met----M 天冬氨酸---Asp----D 天冬酰胺---Asn----N 谷氨酰胺---Gln---Q 谷氨酸----Glu---E 苏氨酸-----Thr---T 赖氨酸-----Lys---K 精氨酸-----Arg---R 组氨酸-----His---H
	甲基化	激活 抑制	H3(K4、K36、K79) H3(K9、K27) ; H4(K20)		
	磷酸化	激活 抑制	H3(S10) H2A(S1)		
肽类修饰	泛素化	激活 抑制	H2B(K123) H2A(K119)		
	SUMO 化	抑制	H3(?) ; H4(K5、K8、K12、K16) ; H2A(K126) ; H2B(K6、K7、K16、K17)		



② 组蛋白密码假说

两种假说：

旧假说：认为组蛋白修饰是通过改变组蛋白尾部静电状态，使DNA松散，有利于转录因子结合。

新假说：提出组蛋白可以共价修饰而发生乙酰化、甲基化和磷酸化，由此构成多种多样的组蛋白密码。

即：组蛋白氨基端的修饰的组合方式构成组蛋白密码



组蛋白密码假说 (Histone code hypothesis)

：不同的组蛋白修饰酶（乙酰化酶、脱乙酰化酶、甲基化酶、脱甲基化酶、泛酸化酶、脱泛酸化酶等）对组蛋白进行修饰。特定的蛋白质复合体使被修饰的组蛋白装配起来，不同修饰的组合与基因的表达状况密切相关。组蛋白N-末端的各种修饰为其效应蛋白的结合提供了作用位点，而各种效应蛋白对修饰后组蛋白末端的结合效应控制着染色质的状态，从而进一步影响DNA的复制、基因的表达调控、X染色体的失活和基因组印迹等表观遗传现象。这就是所谓的组蛋白密码假说。



	N 末端 残基:	修饰状态	关联的 蛋白/模块	功能
H3	N 1 4 9 10 14 18 23 28	无修饰	Sir3/Sir4/Tup1	沉默
	N	乙酰化	溴区结构域	转录
	N	乙酰化	?	组蛋白沉积?
	N	磷酸化	SMC/ 凝缩蛋白?	有丝分裂/减数分裂
	N	磷酸化/乙酰化	?	转录
	N	甲基化	?	转录?
	N	高级密码组合	?	?
	H4	N 8 16	乙酰化	?
N 5 12		乙酰化	RCAF?	组蛋白沉积
CENP-A	N 7 17 27	磷酸化	?	有丝分裂

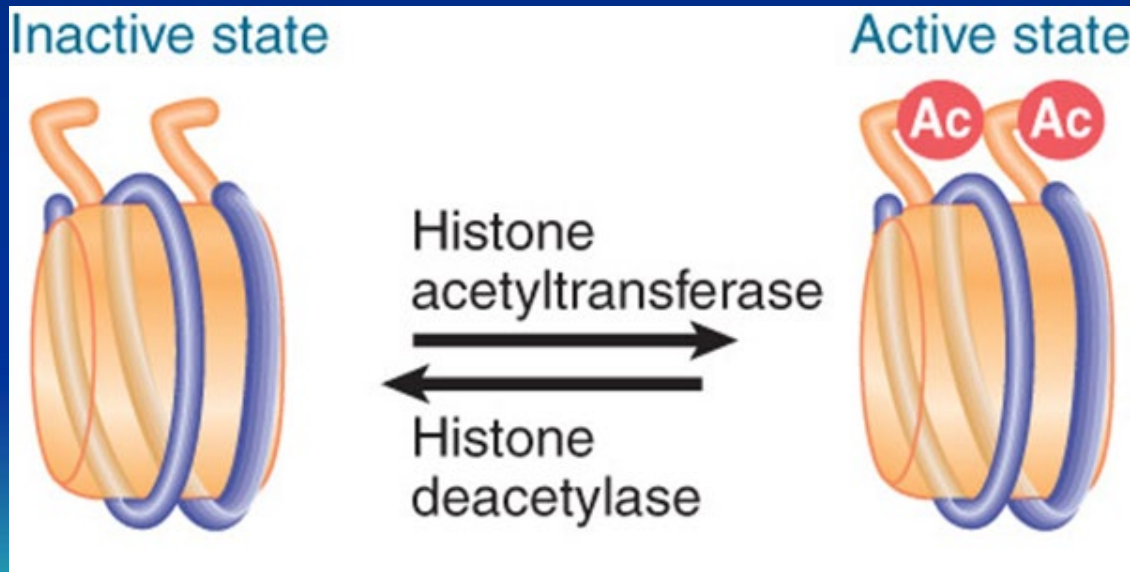
组蛋白密码



由于组蛋白中被修饰氨基酸的种类，修饰位点和修饰程度不同而效应不同，因此构成了独特的组蛋白密码（*histone, code*），它决定了染色质结构状态，调节基因表达。显然，组蛋白密码扩展了DNA序列自身包含的遗传信息，在更高层次上丰富了基因组信息，赋予了遗传信息更广泛的灵活性与多样性，构成了生物体不同发育期和不同条件下基因特异性表达的表观遗传标志（*epigenetic mark*）。

① 组蛋白乙酰化与去乙酰化修饰

这是由组蛋白乙酰转移酶（histone acetyltransferase, HAT）和组蛋白去乙酰化酶（histone deacetylase, HDAC）协调催化进行的一个可逆动态过程。



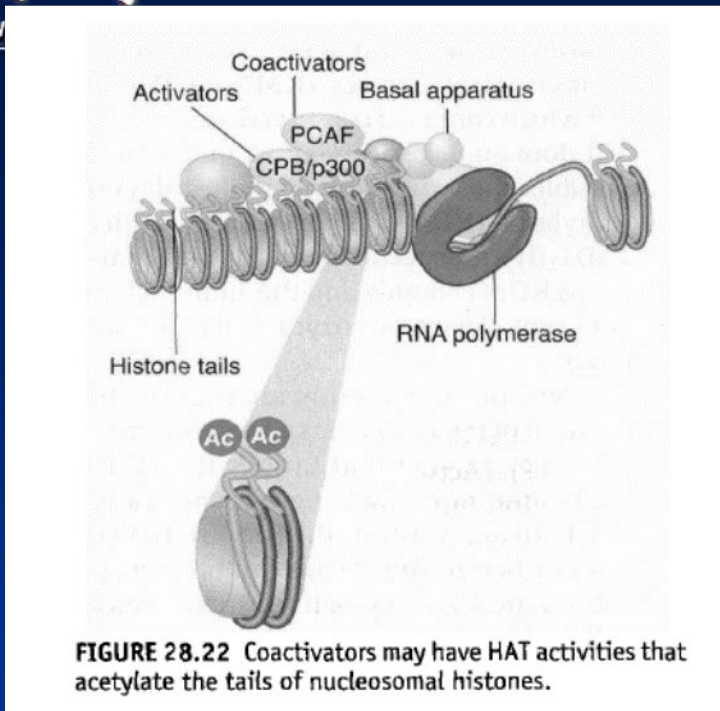
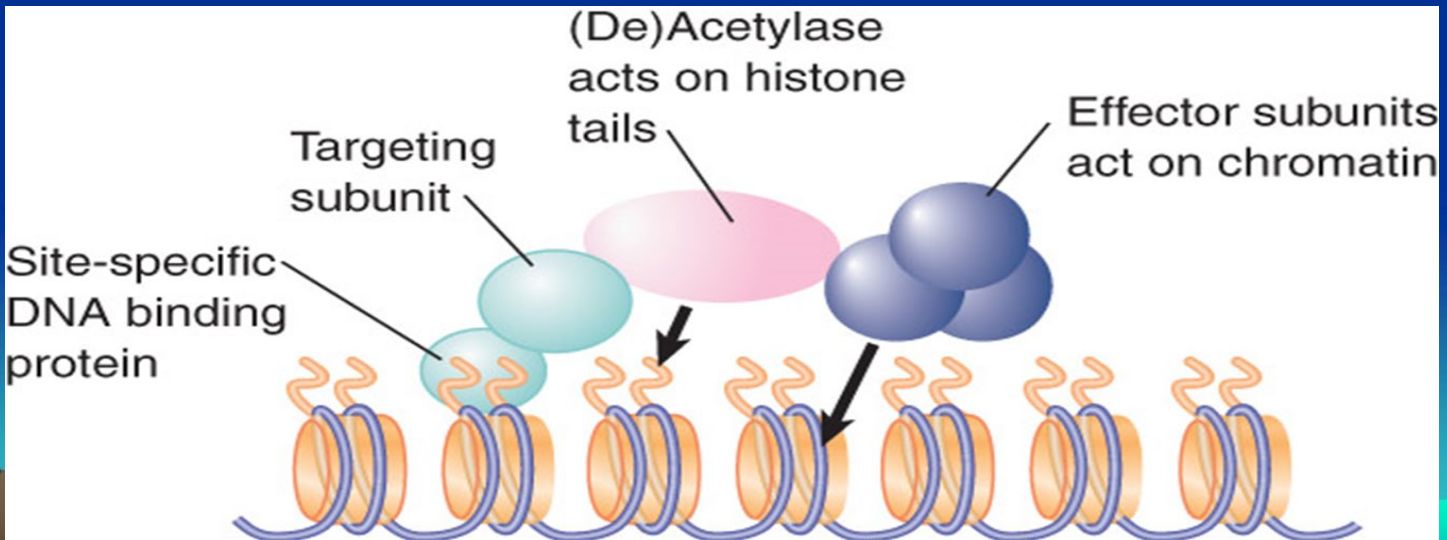
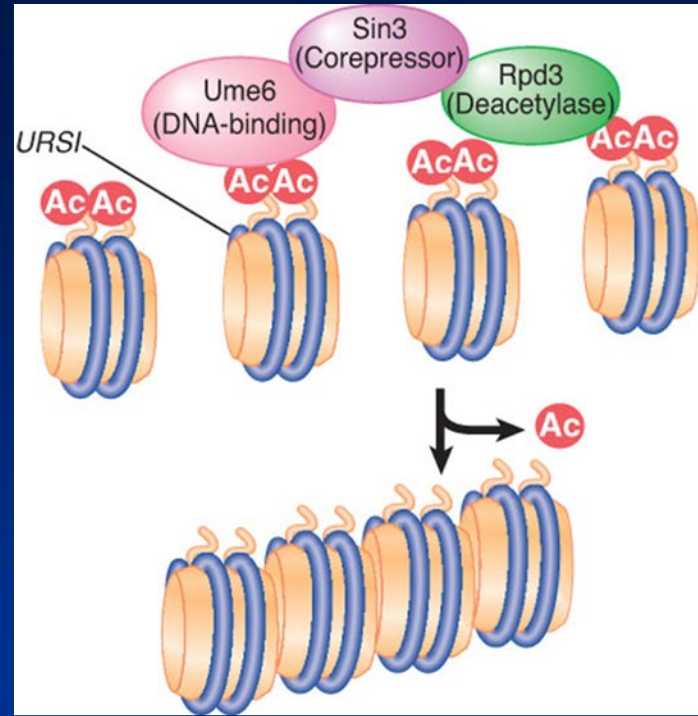


FIGURE 28.22 Coactivators may have HAT activities that acetylate the tails of nucleosomal histones.



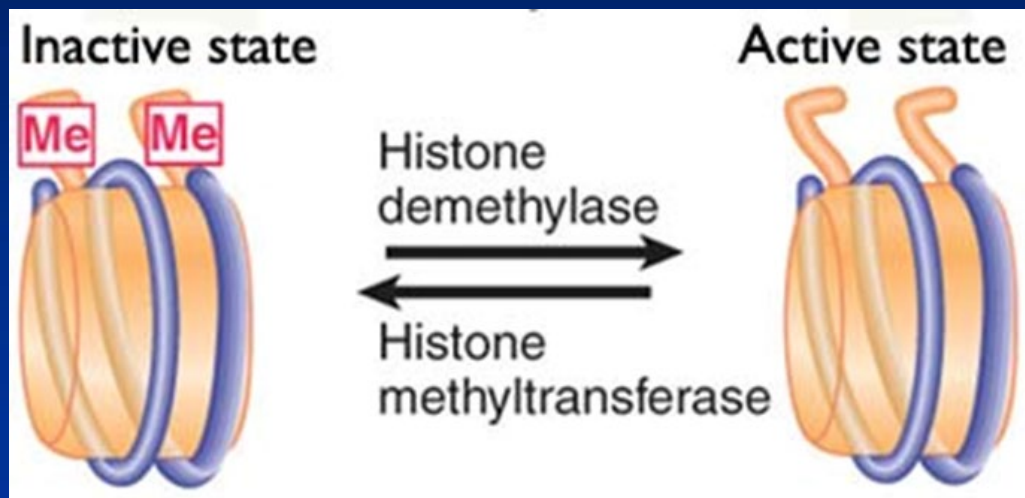


组蛋白乙酰化修饰一般与基因转录激活相关，而组蛋白去乙酰化则与基因沉默相关。乙酰化能够直接影响核小体的结构，使组蛋白八聚体与DNA的结合松动，有利于基因转录。其机制可能是乙酰化的N端携带的正电荷减少，导致组蛋白八聚体与DNA结合的稳定性降低，并且核小体排列的紧密程度也降低，便于转录因子、RNA聚合酶等与转录相关的蛋白质与启动子等调控序列的结合。



② 组蛋白甲基化与去甲基化修饰

一般情况下，组蛋白甲基化由组蛋白甲基转移酶（histone methyltransferase, HMT）催化，去甲基化由组蛋白去甲基化酶（histone demethylase）催化：



但是，组蛋白赖氨酸甲基化由特异的组蛋白赖氨酸甲基转移酶[histone lysine(K)methyltransferase, HKMT]催化，组蛋白精氨酸甲基化则由特异的蛋白质精氨酸甲基转移酶[protein-arginine(R)methyltransferase, PRMT]催化，使R的胍基氮原子加上一个或两个甲基基团。



在组蛋白修饰中，甲基化修饰最为复杂多样。甲基化不仅修饰位点不同，而且每个残基的甲基化程度也不同，K（赖氨酸）可以被单（me1）、双（me2）或三（me3）甲基化，R（精氨酸）也存在me1和me2甲基化，这就极大地增加了组蛋白甲基化修饰调控的复杂性与多样性。

组蛋白甲基化修饰既与基因的转录抑制相关，又与转录激活相关，这取决于被修饰的氨基酸残基所处的位置、被修饰的程度，以及甲基转移酶的性质。

就赖氨酸残基而言，一般H3K4、H3K36、H3K79的甲基化与转录激活相关，而H3K9、H3K27、H4K20的甲基化则与转录抑制相关。



就精氨酸残基的甲基化修饰而言，PRMT1催化H4R3甲基化，而PRMT4/CARM1催化H3R2、H3R17和H3R26的甲基化，这两个甲基化酶与转录激活相关。相反，PRMT5可甲基化H3R8和H4R3，与转录抑制有关。可见，PRMT1和PRMT5都可以甲基化H4R3，但前者是转录激活因子，后者是抑制因子。组蛋白甲基化在X染色体失活、基因印记中发挥着重要作用。

组蛋白的甲基化是一个可逆过程。组蛋白中甲基化赖氨酸的去甲基化由赖氨酸特异性去甲基化酶（lysine specific demethylase 1, LSD1）催化，它能够特异去除H3K4的甲基基团，参与转录抑制作用；当LSD1与雄激素受体（androgen receptor, AR）结合后其特异性发生改变，能够去除H3K9的甲基基团，从而参与基因转录的激活。



③ 组蛋白泛素化

组蛋白翻译后修饰的乙酰化、甲基化和磷酸化都是小化学基团翻译后的修饰，而泛素（ubiquitin）和泛素相关蛋白SUMO（small ubiquitin-mediated protein）则是较大的多肽。

泛素是由76个氨基酸残基组成的一种高度保守的蛋白质

SUMO是97个氨基酸残基组成的一种小分子类泛素介导蛋白，它们的修饰可将组蛋白增大约三分之二。

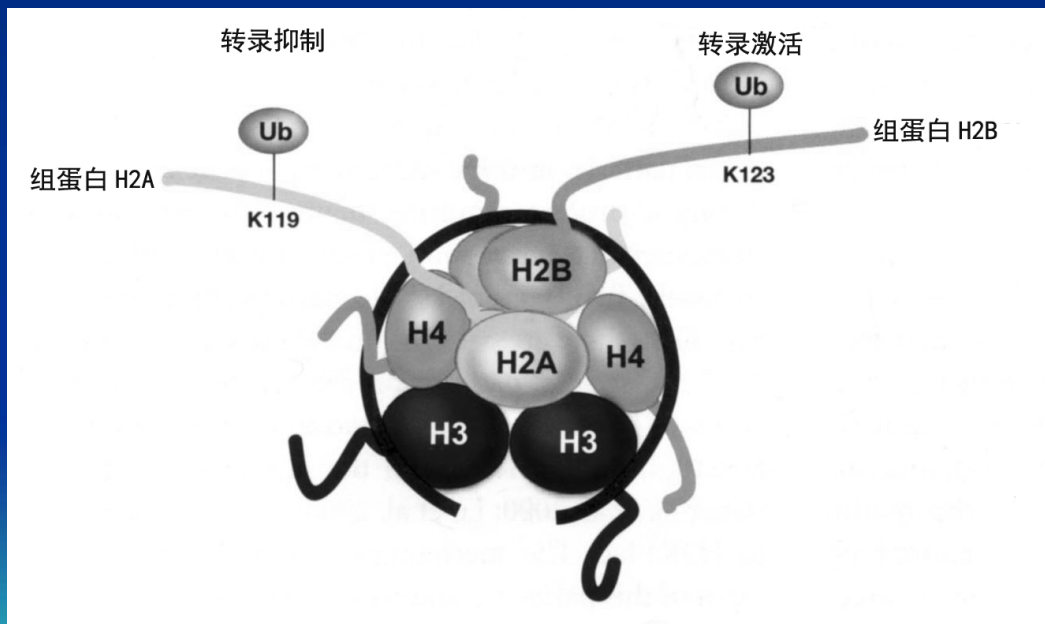
蛋白质泛素化（ubiquitinylation, Ub）是多种酶共同参与的级联酶促反应过程。

染色质核心组蛋白泛素化修饰多属于单泛素化修饰，参与基因表达的染色质调控和DNA复制等过程。组蛋白H2AK119Ub和H2BK123Ub的单泛素化分别对基因转录起抑制作用和激活作用



其作用机制一般认为：

- ①组蛋白泛素化修饰改变了染色质结构使DNA暴露而激活转录；
- ②组蛋白泛素化修饰可以作为募集其它转录因子的信号激活或抑制转录；
- ③组蛋白泛素化修饰通过影响其它类型的共价修饰而调节基因转录。



H2AK119的泛素化和
转录抑制相关。

H2BK123泛素化则相
反，与转录激活有关



④ 组蛋白苏素化

组蛋白苏素化 (sumoylation, SUMO) 在序列上与泛素有18%相同, 而且具有相同的三维结构, 同样可以共价结合目的蛋白特定的赖氨酸残基。Sumo化是一种抑制性的HPTM, 只是Sumo化不促进蛋白质降解, 而是通过改变蛋白质功能而发挥作用, 参与转录因子在细胞内定位, 转录活性和异染色质结构的调节等。Sumo化机制与组蛋白泛素化Ub相似。SUMO修饰促进了基因组完整性和稳定性, 并参与基因转录调控, 但其主要作用是抑制基因转录, 其作用机制可能是:

- 1) SUMO化直接封闭组蛋白上的赖氨酸位点, 而该位点既可能被乙酰化又可能被SUMO化;
- 2) SUMO化的组蛋白进一步募集HDACs和HP1, 从而介导基因沉默。



⑤ 组蛋白生物素化

组蛋白生物素化 (biotinylation, bio) 修饰是通过生物素酰胺酶 (biotinidase) 或羧化全酶合成酶 (holocarboxylase synthetase) 催化, 利用生物胞素 (biocytin, ϵ -N-生物素酰-L-赖氨酸) 作为底物、四种核心组蛋白都可以共价结合生物素 (biotin) 而被生物素化修饰, 其生物学功能参与细胞增殖、基因沉默和DNA损伤修复等过程。



(2) 组蛋白修饰之间以及与DNA甲基化的关系

组蛋白不同修饰之间的相互影响可发生在同一组蛋白上，称为顺式作用（*cis-acting*），如H3S10P促使形成H3K14Ac，同时抑制H3K9me，导致基因呈活化状态。相反，H3K9me抑制H3S10P、H3K9Ac和H3K14Ac，最终导致基因沉默。组蛋白H4的不同修饰之间也相互影响，H4R3me可以促进形成H4K8Ac和H4K12Ac，从而激活基因转录；而H4氨基端的4个赖氨酸残基中任何一个的甲基化均可抑制H4R3me。

组蛋白不同修饰之间的相互影响也可发生在不同组蛋白之间，称为反式作用（*trans-acting*），如H2BK123Ub导致形成H3K4me和H3K36me，从而激活基因转录；H3K4、K18或K23的乙酰化可抑制H2AS1P，从而部分消除H2AS1P对基因转录的抑制作用。



组蛋白修饰与DNA甲基化之间也存在相互作用

已知异染色质和稳定的常染色质的生化标志是：①组蛋白低乙酰化；②组蛋白H3K9甲基化；③DNA胞嘧啶甲基化。

组蛋白乙酰化状态控制DNA甲基化，即组蛋白低乙酰化可促进DNA甲基化，组蛋白高乙酰化可抑制DNA甲基化。可见，组蛋白乙酰化与DNA甲基化两种机制相互协调，从而更精细地调节基因表达。



(3) 组蛋白修饰与组蛋白变体

四种常规核心组蛋白(H3、H4、H2A、H2B)是真核生物核小体的结构性蛋白,它们的各类修饰对调节染色质结构、基因表达和DNA损伤修复等一系列重大生命过程中起着重要作用。

为了适应染色体行为和有关生命进程的特殊要求导致了组蛋白变体的产生。四种常规核心组蛋白以及组蛋白的变体和修饰共同参与染色质表观遗传(图15-6)。

在真核生物的5种组蛋白,组蛋白H4最保守,H1有多种序列变体,H2A最不保守,变体也最多。一些变体在细胞分化和个体发育过程中与已存在的核心组蛋白发生交换或定位于基因组的特定区域而发挥重要的生物学功能。

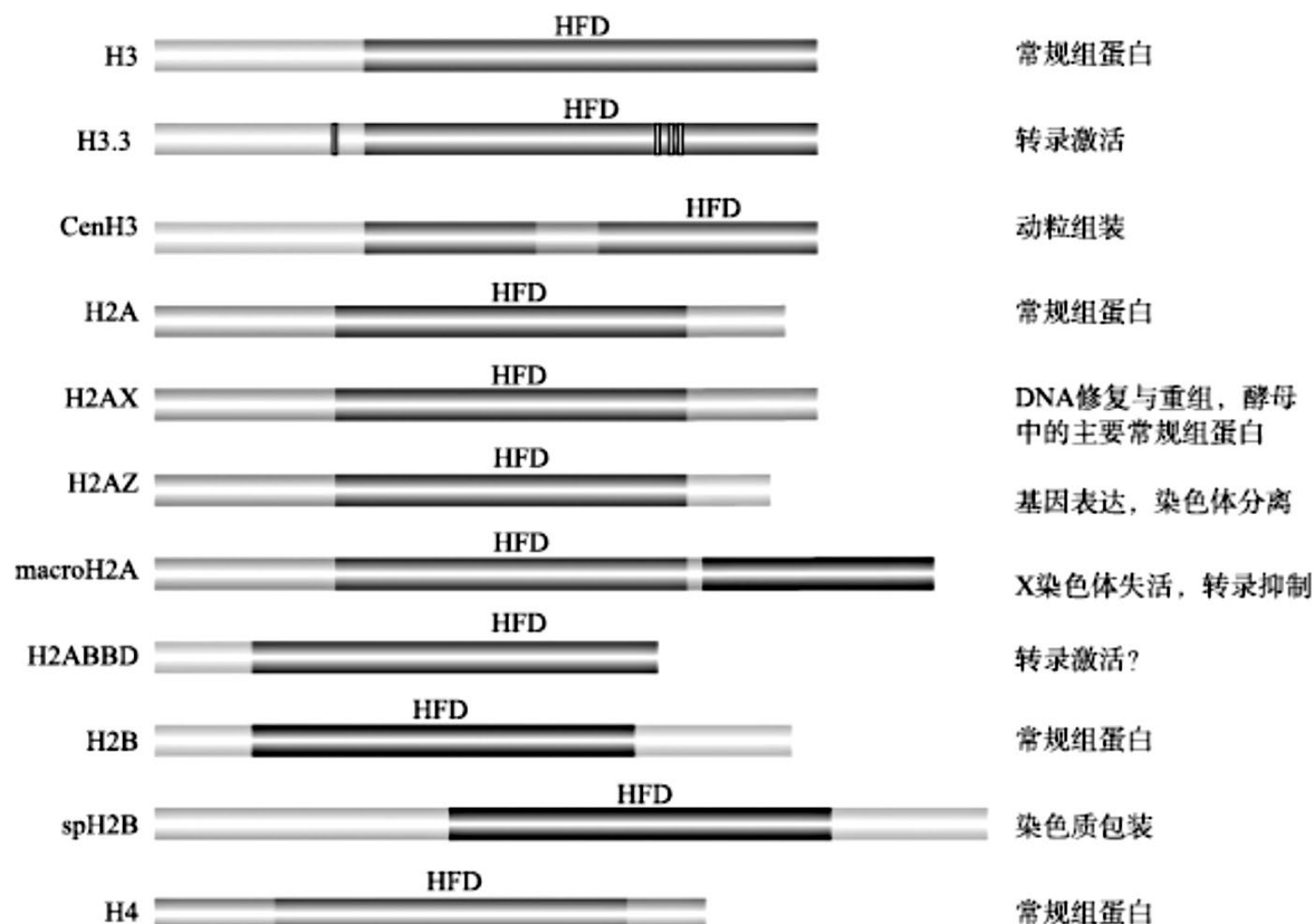


图 15-6 常规核心组蛋白和组蛋白变体(仿自 Krebs 等,2014)

常规核心组蛋白(H3、H4、H2A、H2B)以及组蛋白 H3、H2A 和 H2B 变体的结构域。

HFD: histone-fold domain, 组蛋白折叠结构域



一种组蛋白变体装入一个核小体将会引起染色质的深刻变化，从而进一步介导各类相应的表观遗传调节，并可能涉及表观遗传信息的传递或可抹除细胞“记忆”。

核心组蛋白变体的功能与作用机制各有不同：

组蛋白H3变体H3.3 以一种转录偶联机制置换H3，置换发生于活跃基因区，因此与基因转录激活相关，是一个具有潜在的表观遗传学意义的动态进程；

CenpA变体置入着丝粒中的核小体，形成了动粒组装的基础；

组蛋白H2A变体有H2A.Z，H2A.X和macroH2A

H2A.Z置换H2A后导致染色质结构开放，因而与基因转录激活相关

H2A.X磷酸化是DNA双链断裂修复中的一个早期事件

MicroH2A多存在异染色质中，为哺乳动物中X染色体失活相关的一种组蛋白特异性变体。



15.2.3 染色质重塑与核小体装配

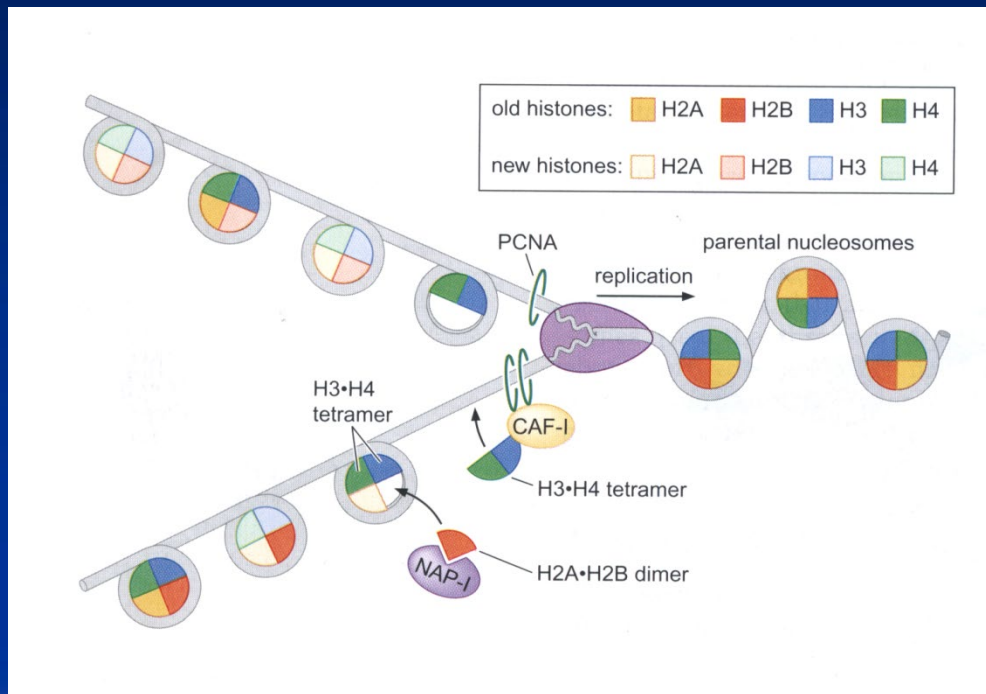
(1) 染色质重塑的概念

染色质重塑 (chromatin remodeling) 是表观遗传修饰中一种常见的方式，是指在**整个细胞周期中染色质结构和核小体位置改变的过程**，造成染色质凝集程度的变化，从而影响到基因表达活性改变，产生不同表型。

广义而言，染色质重塑是指在相关因子作用下，染色质结构的动态调整或重新塑造染色质结构。狭义上是专指由ATP提供能量，通过依赖于ATP的染色质重塑复合物改变组蛋白与DNA的结合状态，在靠近核心组蛋白的DNA表面建立特殊构象而调控基因表达。



1)、核小体组装与定位



染色体复制与核小体组蛋白的组装模型

① 核小体组装

真核生物DNA复制核小体组装时，不保留组蛋白八聚体，但是保留了H2A·H2B二聚体和H3·H4四聚体。DNA复制后核小体立即被组装，组装的第一步是结合一个H3·H4四聚体。一旦四聚体结合后，两个H2A·H2B二聚体接着结合形成最终的核小体。



② 核小体定位

由于核小体与DNA的动态相互作用，大多数核小体的位置是不固定的。但是在有些情况下，某些核小体被限定在基因组的固定位置上，或者说DNA序列仅以一种特定的构型组装成核小体，则DNA上的每个位点将一直位于核小体上的特定位置，我们称这种组装类型为核小体定位（Nucleosome positioning）。





核小体的定位由DNA结合蛋白或特殊的DNA序列所指导。在细胞中，最常见的方式是核小体与DNA结合蛋白的竞争

两种依赖于DNA结合蛋白的核小体定位模型：

a. 如果两个DNA结合蛋白与DNA结合位点的距离小于DNA组装成一个核小体所需的最小长度（约150bp），则这两个蛋白质之间的DNA不与核小体结合；

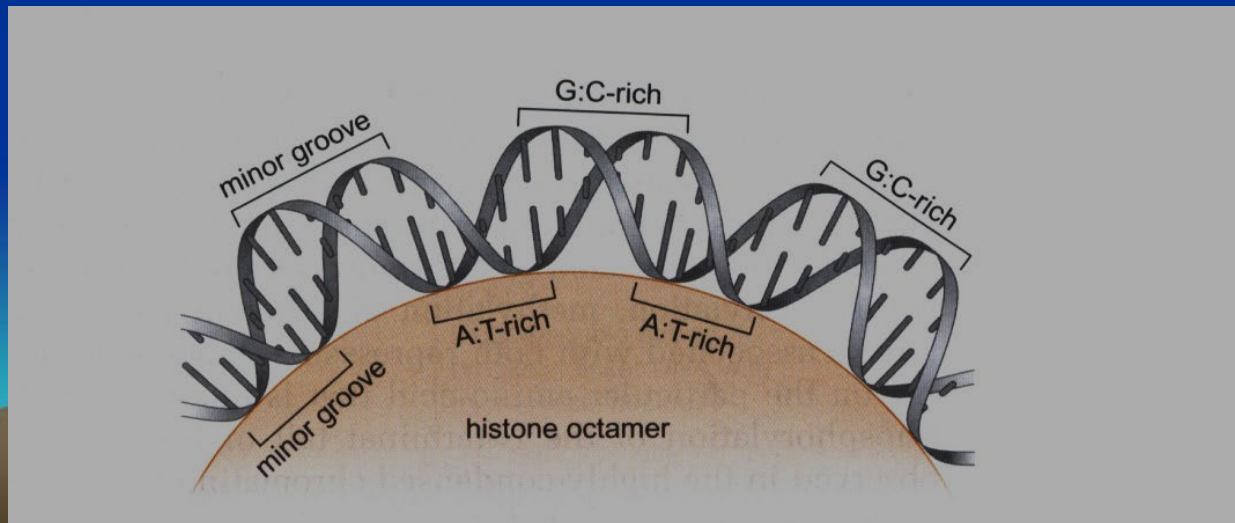
b. 一些DNA结合蛋白具有与核小体结合的能力。这些蛋白质一旦与DNA结合，将立即有助于核小体与相邻蛋白质DNA结合位点的结合。



由特殊的DNA序列所指导的核小体定位

核小体定位的另一种方式涉及特定的DNA序列，这些序列对核小体有高度的亲和性。由于DNA在与核小体结合的过程中会剧烈弯曲，所以具有内在弯曲倾向的DNA序列可以定位核小体。

A:T 碱基对有向DNA双螺旋小沟弯曲的内在趋势，G:C 碱基对则有相反的趋势。因此，富含A:T 的DNA有利于组装核小体，其小沟面对组蛋白八聚体。





核小体定位对基因的表达调控有重要的影响。核小体的定位变化总是伴随着基因从抑制到转录状态的转变。核小体的定位、或定位的去稳定、或解除，可能是影响基因转录调控的重要因素。大量的实验结果证明，核小体的形成和在染色质的精确定位为真核基因的表达所必需。



有人提出核小体的形成及其在染色质上的精确定位有以下两方面的作用：① 提供一个支架结构(scaffold), 使转录因子之间的信息传递更有效；② 染色质结构的不均一性, 即其某些区域不形成核小体, 从而保证了转录因子易于接近染色质模板。



(2) 染色质重塑复合物与基因表达调控

首先，在酵母中发现一种称为**SWI/SNF**的染色质结构重塑复合物，该复合物也常是转录起始复合体的一个组分。SWI/SNF复合物中存在多个NTP结合蛋白，具有**ATP驱动的DNA转位活性**，可改变组蛋白与DNA的相互作用，依靠SWI/SNF复合物**诱导染色质核小体解聚**，以帮助转录因子结合到DNA上

Swi: genes affecting yeast mating-type switching

SNF:sucrose non-fermenting



染色质重塑复合物的种类：

ATP依赖的染色质重塑复合物

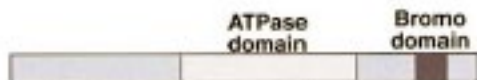
(ATP-dependent chromatin remodeling complex) 可分为三类：

①**SWI/SNF复合物**：是酵母 (yest) SWI/SNF (mating type switching defectine / sucrose non-fermenting) 的同源酶系家族。SWI-SNF复合物的功能可能是通过改变核小体结合的DNA分子，从而变为一种新的DNA分子功能状态。

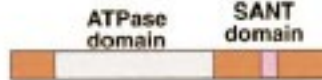
②**ISWI复合物**：是果蝇ISWI (imitation switch) 的同源酶系家族。其功能是加强DNA与蛋白质之间的相互作用，参与染色质重塑和起始转录与复制过程，可明显促进转录因子接近核小体边缘的DNA。

③**Mi-2/CHD复合物**：是人类的皮肤炎特异性自身抗原Mi-2/CHD (chromo-helicase and ATPase-DNA-binding) 同源酶系家族。其功能可结合于侧翼DNA的单核小体，参与阻遏基因转录。

SWI2/SNF2 family



ISWI family



Mi-2 family

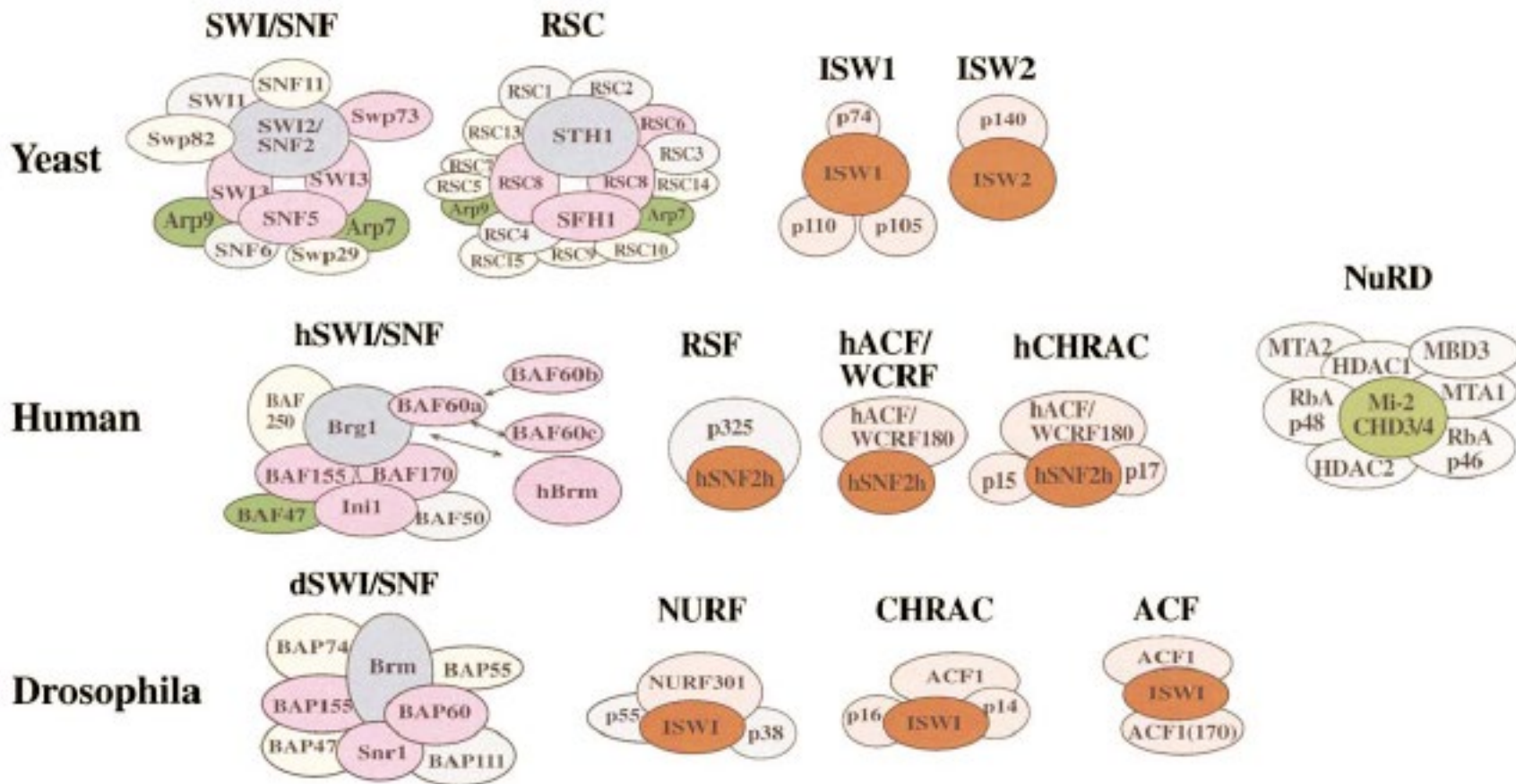
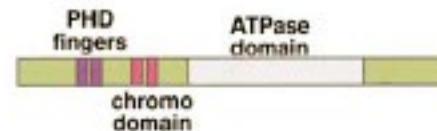


Figure 1. ATP-Dependent Remodeling Complexes



(3) 染色质重塑模型 (Chromatin remodeling)

染色质重塑模型主要涉及真核生物基因的转录调控

真核生物的启动子可能出现两种情况：

- 1) **失活状态** 核小体的存在阻碍基本因子和RNA聚合酶与启动子结合
 - 2) **激活状态** 基本转录装置占据启动子，组蛋白八聚体不能与其结合
- 在以上两种情况中染色体结构是稳定的。

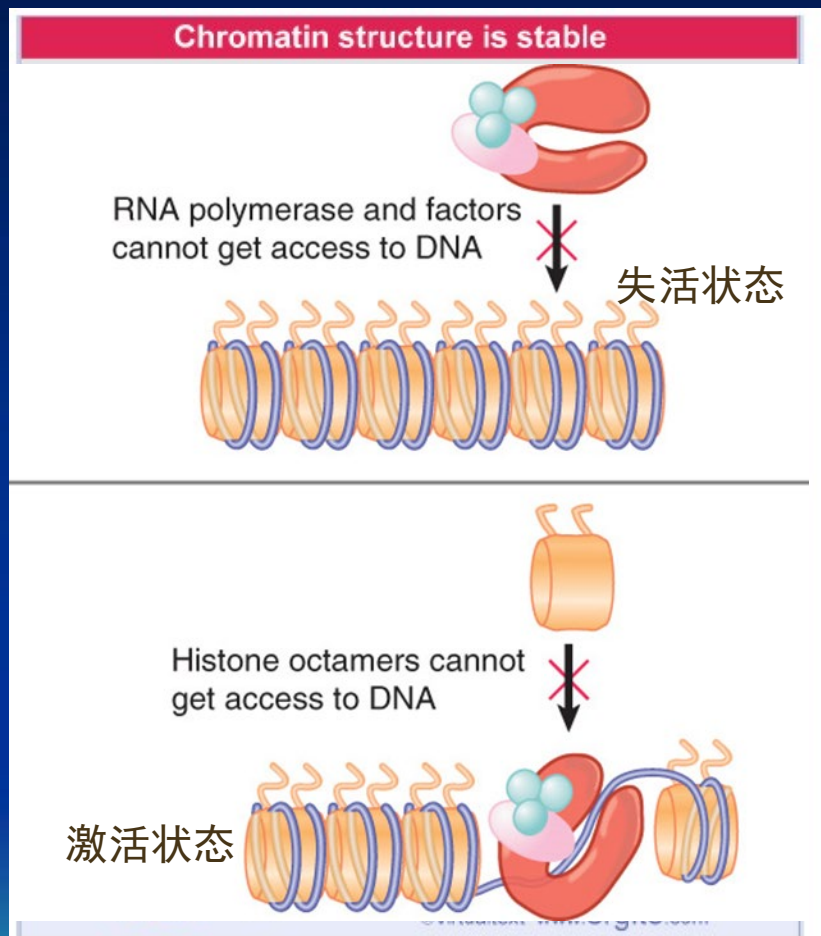


Figure 23.2 If nucleosomes form at a promoter, transcription factors (and RNA polymerase) cannot bind. If transcription factors (and RNA polymerase) bind to the promoter to establish a stable complex for initiation, histones are excluded.



武汉大学

Wuhan University

诱导染色质结构变化的

一般过程称为：

chromatin remodeling.

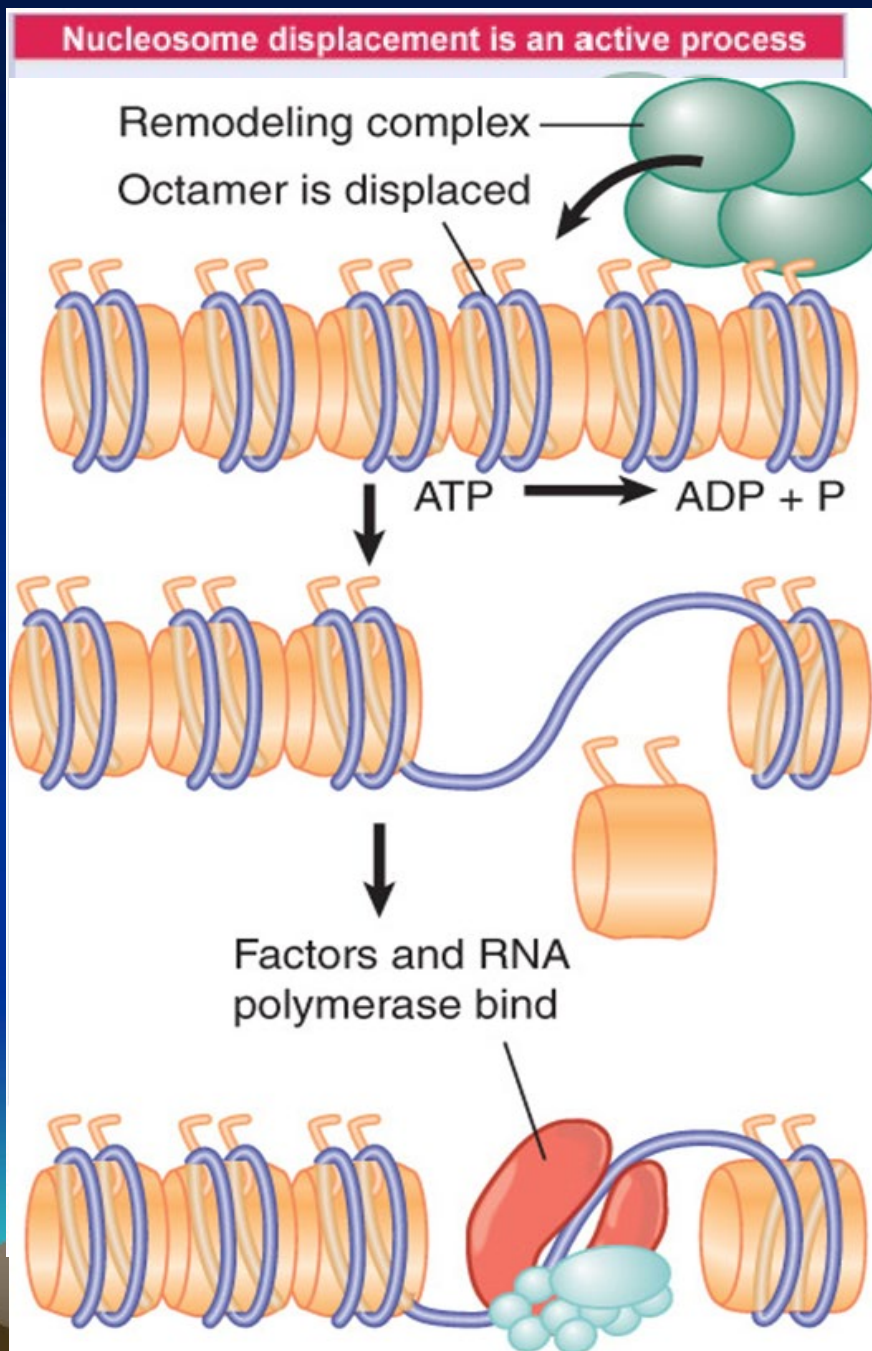
该过程需要能量以破坏

蛋白质—蛋白质

和蛋白质—DNA

的连接，使组蛋白从

染色质中释放出来。





染色质重塑的变化 包括：

组蛋白在DNA上滑
动，改变核酸与蛋白质
的关系

组蛋白间的间隙发生
变化

延伸变化，产生无
组蛋白的DNA区

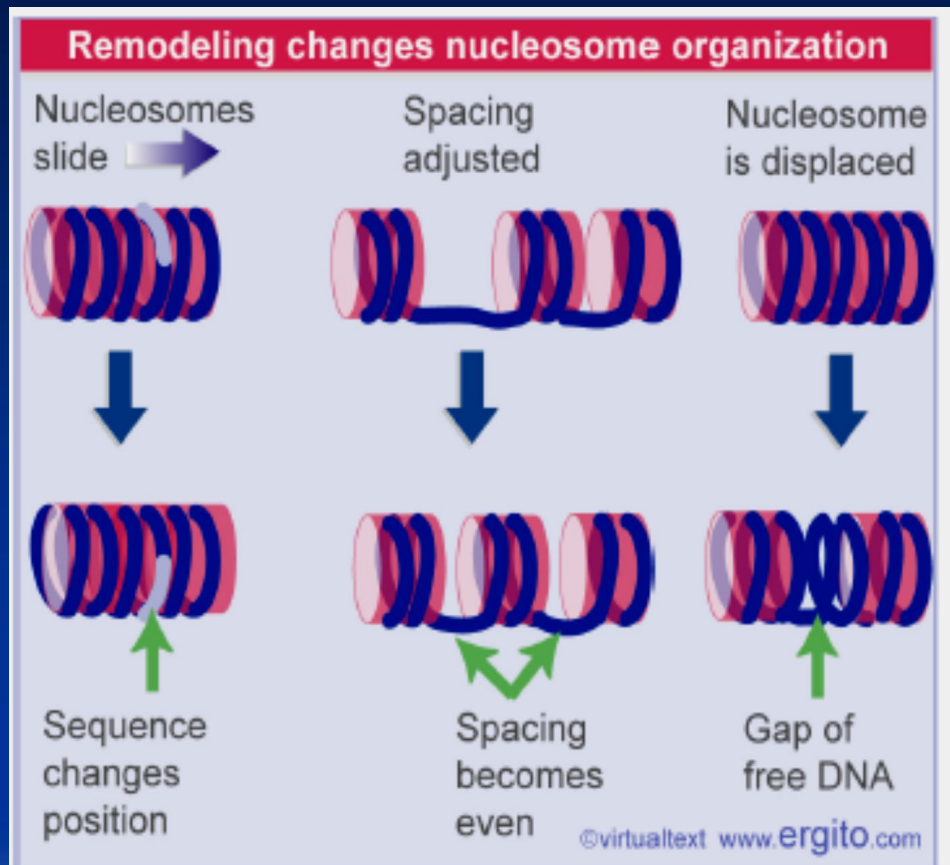


Figure 23.4 Remodeling complexes can cause nucleosomes to slide along DNA, can displace nucleosomes from DNA, or can reorganize the spacing between nucleosomes.



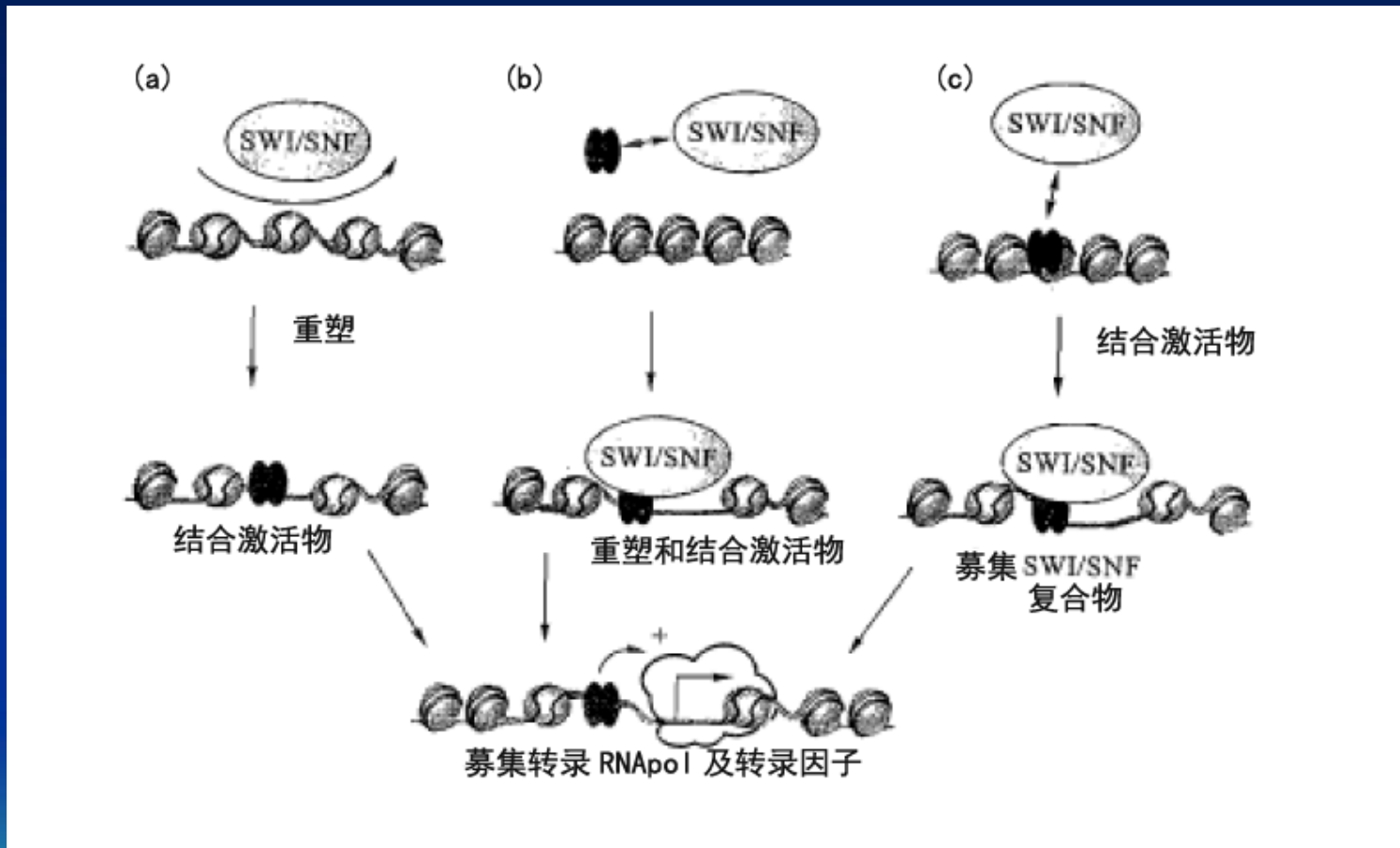
(4) 染色质重塑复合物与基因表达

染色质重塑贯穿于从遗传物质包装到基因表达整个环节，其基本功能是调控真核生物的基因组功能状态。决定染色质状态的基本因素是染色质重塑复合物、DNA甲基化动态和组蛋白修饰等。这里只讨论染色质重塑复合物与基因表达的关系





① 染色质重塑复合物与转录激活



激活作用机制



② 染色质重塑复合物与转录抑制

- (a) SWI/SNF与染色质重塑结构或与不同亚基结合介导的核小体重塑可向两个方向进行，既可激活转录，也可通过重塑核小体将染色质从一个激活构象转变为一个失活构象，抑制转录因子的结合而阻遏转录；
- (b) 哺乳动物异染色质蛋白HP1 (heterochromatin protein 1, HP1) 可募集SWI/SNF参与异染色质形成而抑制转录。
- (c) 染色质重塑复合物通过对组蛋白修饰或DNA甲基化而沉默基因表达。



15.3 基因组印记与表观遗传分析

15.3.1 基因组印记与印记基因

(1) 基因组印记的概念与证据

来自父方和母方的等位基因在通过精子和卵子传递给子代时发生了某种修饰，这种作用使其后代仅表达父源或母源等位基因的一种，这种现象被称作**基因印记**（gene imprinting）或**基因组印记**（genomic imprinting）也称**亲代印记**（parental imprinting）或**遗传印记**（genetic imprinting）。

若来自父本的等位基因不表达，只是来自母本等位基因表达，称为**父系印记**（paternal imprinting）；若来自母本的等位基因不表达，而父源等位基因表达，则称为**母系印记**（maternal imprinting）。具有印记现象的基因称为**印记基因**（imprinting gene）。印记基因只与父母本来源相关，而与性别无关，雄性和雌性都受基因组印记的调控。



武汉大学

Wuhan University

基因组印记中来自父亲和母亲的印记基因在子代的表型是不同的。

根据孟德尔遗传定律，来自父母双亲的位于同源染色体上的等位基因应进行同等表达，而基因组印记现象显然不符合孟德尔式遗传。

人类基因组26000多个基因→

只有几百个基因有基因组印记现象



基因组印记的证据：

1. 鼠合子的原核移植实验

从受精卵中移去雄性原核而代之以雌性原核
或移去雌性原核代之以雄性原核

鼠胚胎都不能正常发育

只有含有双亲的移植原核的合子可以正常发育

2. 人类的某些疾病情况

葡萄胎 含有两条父源性的染色体 发育异常

卵巢畸胎瘤 二倍体 均为母源性

研究表明：所存在的一些基因的表达依赖于提供这些基因来源的双亲的性别，正常的胚胎发育需要来自父母双方的平衡的一组基因



(2) 印记基因

基因组印记普遍存在，主要出现于胎生哺乳动物和被子植物中，在昆虫、线虫和斑马鱼中也有过报道。迄今，在哺乳动物（主要是人类和小鼠）中已发现几百个印记基因，遍布于整个基因组。印记基因具有如下特点：

① 印记基因成簇分布，形成印记基因簇，基因簇长度约为100~3 000kb不等，含3-10个印记基因，并共同形成一个印记转录单位。在印记基因簇中既存在父源印记基因，也存在母源印记基因；

② 印记基因簇中大多数都是编码蛋白mRNA的印记基因，但其中至少有一个非编码RNA（non-coding RNA, ncRNA）的印记基因，即只转录RNA，而不翻译蛋白质的印记基因；

③ 印记基因的内含子较小或者较少



- ④ 印记基因的DNA复制呈不同步性，如小鼠*Igf2r*、*Igf2*和H19ncRNA的两个亲源等位基因的复制是不同步的，其父源等位基因复制较早；
- ⑤ 印记基因的表达具有时空特异性，同一条染色体上两个印记基因之间的基因或与印记基因毗邻的基因通常不表现出印记修饰，因而这些父母本的等位基因均表达，而印记基因是在生长和发育的特定时期通过等位基因差异性表达而发挥作用；
- ⑥ 印记基因表达具有一定的保守性，哺乳动物中如小鼠和人类的胚胎和胚外组织中印记基因的表达均十分保守。印记基因的存在不仅证明父母两套基因组对哺乳动物生殖和种子植物繁殖都是必须的，并有效地抑制了单性生殖的发生，维持了遗传的稳定性与多样性。



15.3.2 基因组印记的分子与细胞机制

(1) DNA甲基化与基因组印记作用模型

基因组印记起因于DNA的甲基化，父源等位基因和母源等位基因具有不同的甲基化谱。配子在形成过程中DNA产生的甲基化、核组蛋白产生的乙酰化、磷酸化和泛素化等修饰，使基因的表达模式发生了改变。

例 小鼠的三个印记基因：

- ①类胰岛素生长因子2基因（insulin-like growth factor 2, *Igf2*），7号染色体上，系父源表达的印记基因；
- ②类胰岛素生长因子2型受体基因（insulin-like growth factor receptor-2, *Igf2r*），是*Igf2*的“清道夫”受体。位于小鼠17号染色体上，是母源表达的印记基因；
- ③ncRNA-H19基因，位于7号染色体与*Igf2*基因相距90kb，长达1Mb的印记基因簇的3'端存在一段ICR，是母源表达基因。



印记基因受ICR (ICR :imprinting control regions) 调控

在小鼠中 *Igf2* 和 *H19* 这两个基因连锁，但在雌鼠中印记基因 *Igf2* 失活，在雄性小鼠中印记基因 *H19* 失活。

The behavior of a region containing two genes, *Igf2* and *H19*, illustrates the ways in which methylation can control gene activity.

The ICR is methylated on the paternal allele. *H19* shows the typical response of inactivation. However, *Igf2* is expressed. The reverse situation is found on a maternal allele, where the ICR is not methylated. *H19* now becomes expressed, but *Igf2* is inactivated.

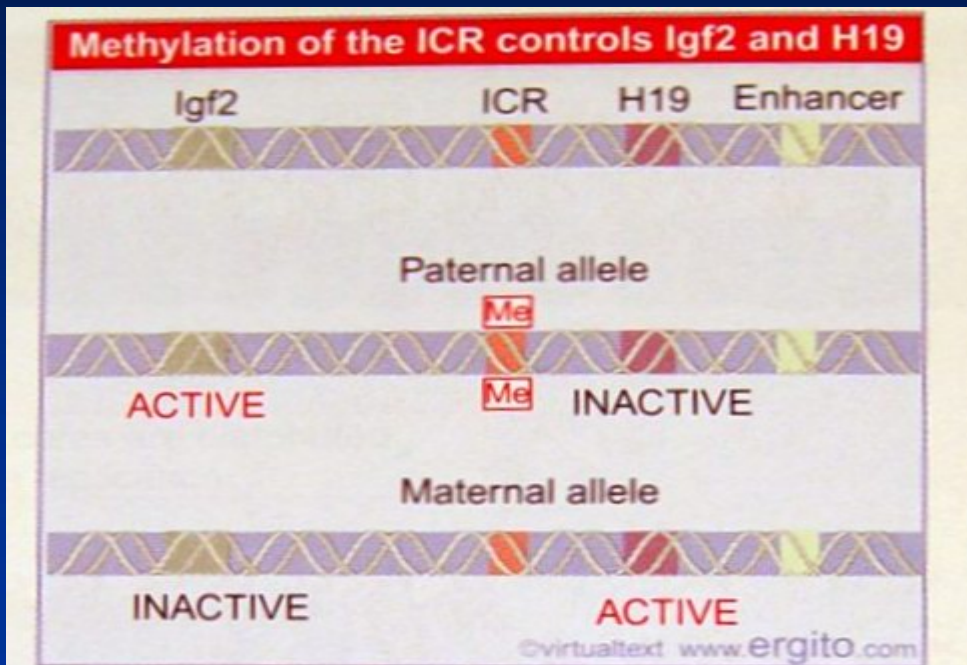


Figure 23.40 ICR is methylated on the paternal allele, where *Igf2* is active and *H19* is inactive. ICR is unmethylated on the maternal allele, where *Igf2* is inactive and *H19* is active.

ICR :imprinting control regions

The control of *Igf2* is exercised by **an insulator function of the ICR**. Figure 23.41 shows that when the ICR is unmethylated, it binds the protein CTCF. This creates an insulator function that blocks an enhancer from activating the *Igf2* promoter. This is an unusual effect in which methylation indirectly activates a gene by blocking an insulator.

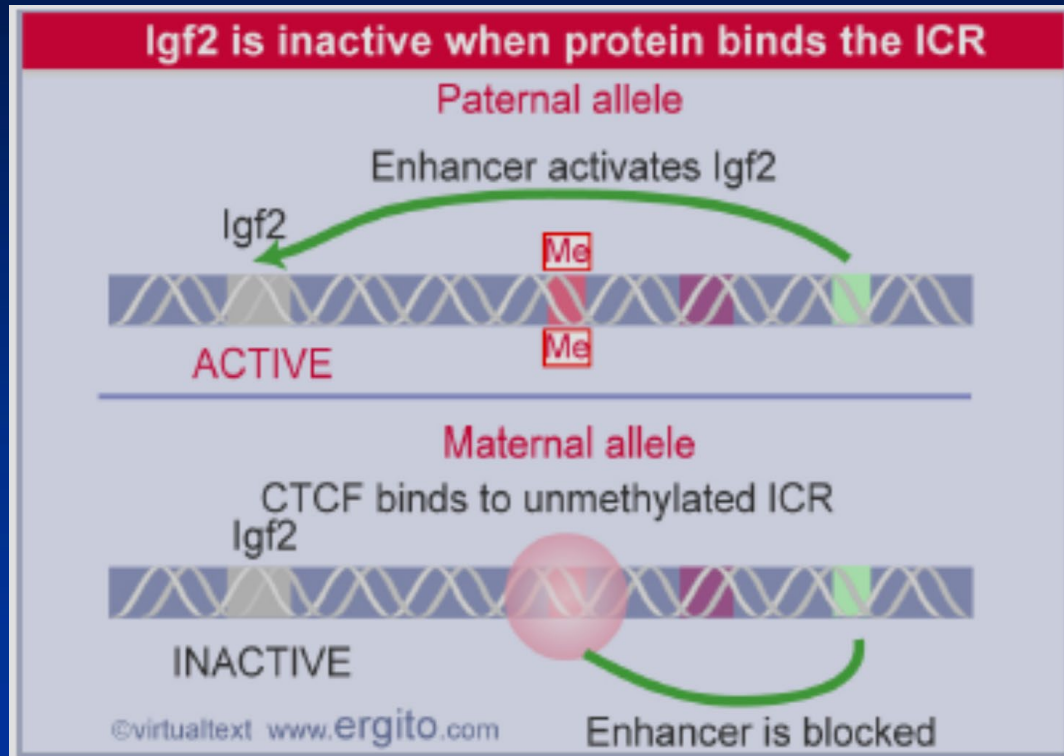


Figure 23.41 The ICR is an insulator that prevents an enhancer from activating *Igf2*. The insulator functions only when it binds CTCF to unmethylated DNA.



(2) 基因组印记世代传递的细胞基础

在哺乳动物中，印记基因中来自父母的“印记”在体细胞的有丝分裂中保持终身，但是，在生殖细胞中，配子在形成之前必须去甲基化消除父母印记，并根据自己的性别形成新的印记，这样才能保证基因组印记的稳定遗传，以下以小鼠 *Igf2* 印记基为例进行说明：

基因印迹过程

印迹的形成：印迹形成于配子，并持续到出生后

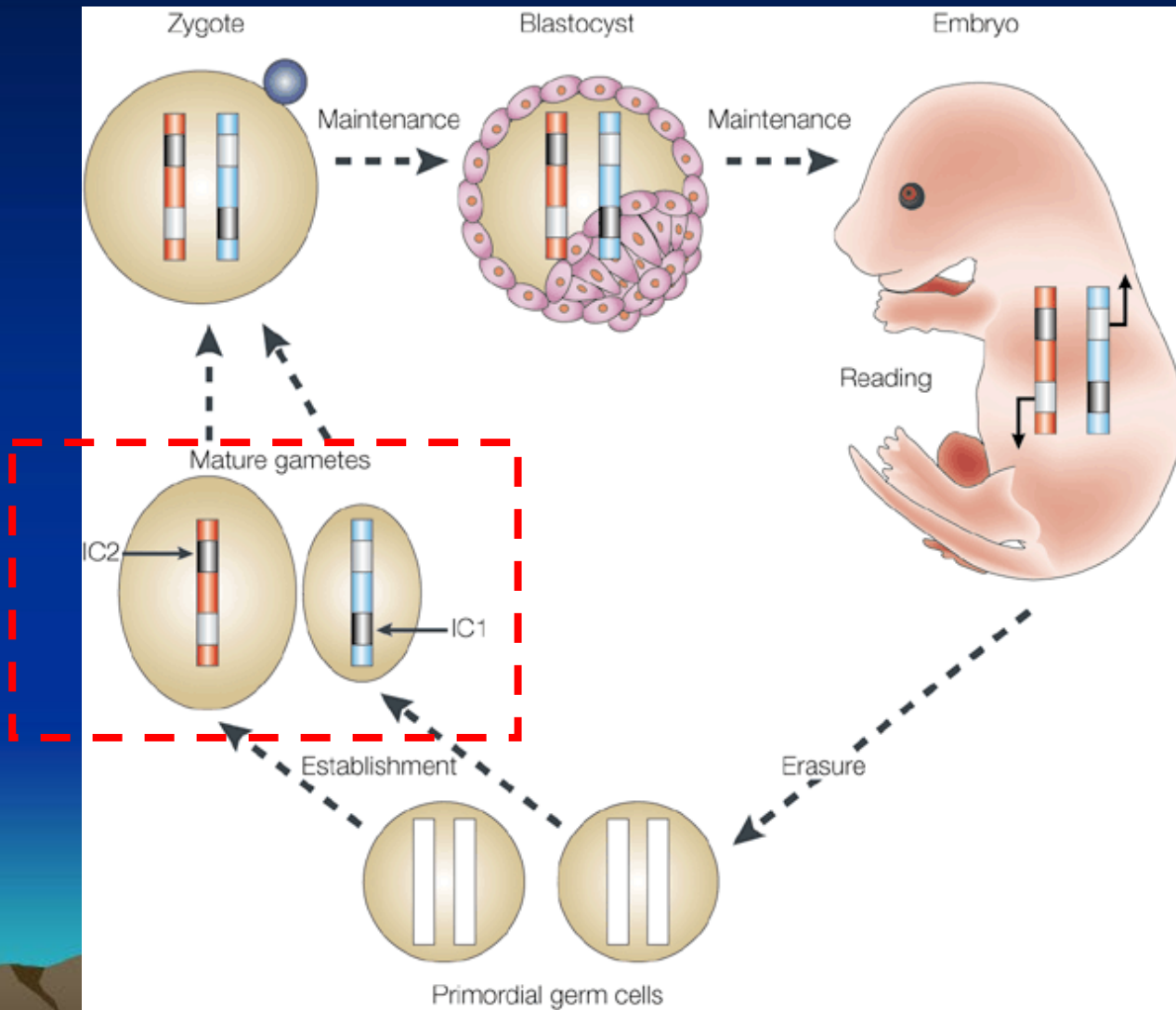
印迹的维持

印迹的去除：印迹的去除过程是发生在原始生殖

细胞的早期阶段



基因组印记的建立





在配子发生期间生殖细胞的甲基化模式的建立：

首先，存在的模式通过基因组去甲基化而被抹去，然后加上每一性别的特定甲基化模式。

当胚胎原始生殖细胞发生时，所有等位差异都消失；不考虑性别，以前的甲基化模式被抹掉，接着典型基因半甲基化。

在雄性中，模式发生在两个阶段：在**精母细胞**里，建立决定成熟精子的特定甲基化模式。**受精后**，该模式进一步发生变化；

在雌性中，当在出身后经减数分裂卵母细胞成熟，在卵子发生期建立母本模式。

主要问题是如何在雄性和雌性配子中决定甲基化的专一性？





性别特定模型的遗传要求在每一种配子发生期要**专门地建立甲基化模式**。在小鼠中一个理论位点的命运**如图所示**：

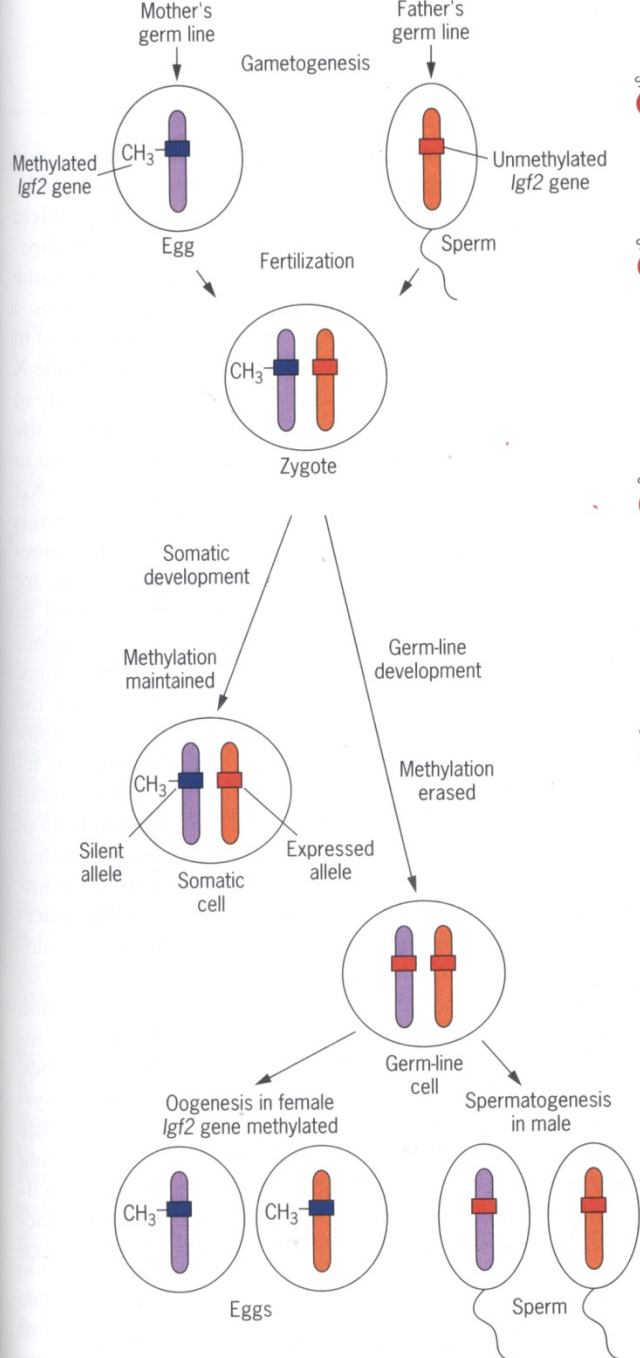
在早期胚胎，父本等位基因非甲基化而被表达，而母本等位基因甲基化而沉默。

当该小鼠自己形成配子时会发生什么情况？

如果它是一只雄鼠，遗传给精子的等位基因必须非甲基化，不管它原来甲基化没有。同样，当母本的等位基因发现自己在精子内时，它也必须脱甲基化；

如果该小鼠是一只雌鼠，它遗传给卵细胞的等位基因必须甲基化。同样，如果它原来来源于父本的等位基因，也必须增加甲基基团。





1 Alleles of the *Igf2* gene are imprinted in the parental germ lines—methylated in the female germ line and not methylated in the male germ line.

2 Imprinted alleles of the *Igf2* gene from each parent are combined in the zygote at fertilization.

3 During development of the somatic tissues, the maternally contributed allele remains methylated while the paternally contributed allele remains unmethylated. In somatic cells, only the unmethylated, paternally contributed allele is expressed. The methylated, maternally contributed allele is silent.

4 During development of the germ line, the methylation imprint is erased.

5 Methylation is re-established during oogenesis, but not during spermatogenesis. Thus, if the mouse is female, all *Igf2* genes will be methylated, even if they are copies of the unmethylated *Igf2* allele inherited from the father. If the mouse is male, none of the *Igf2* genes will be methylated even if they are copies of the methylated *Igf2* allele inherited from the mother.

同源染色体在配子发生期间经过生殖细胞的专一性加工修饰，分离进入配子后，这类修饰随同胚胎中的亲本染色体进行复制，结果使两个亲本来源的等位基因有不同的活性。

当这个个体进入配子发生期间，原来的印记被抹去，并根据发育中的个体的性别而引入新的印记。

即：有些基因的功能受到雌雄双亲基因组的影响，打上了基因组的印记。

Figure 24.20 Methylation and imprinting of the *Igf2* gene in mice. The gene is methylated in females but not in males.

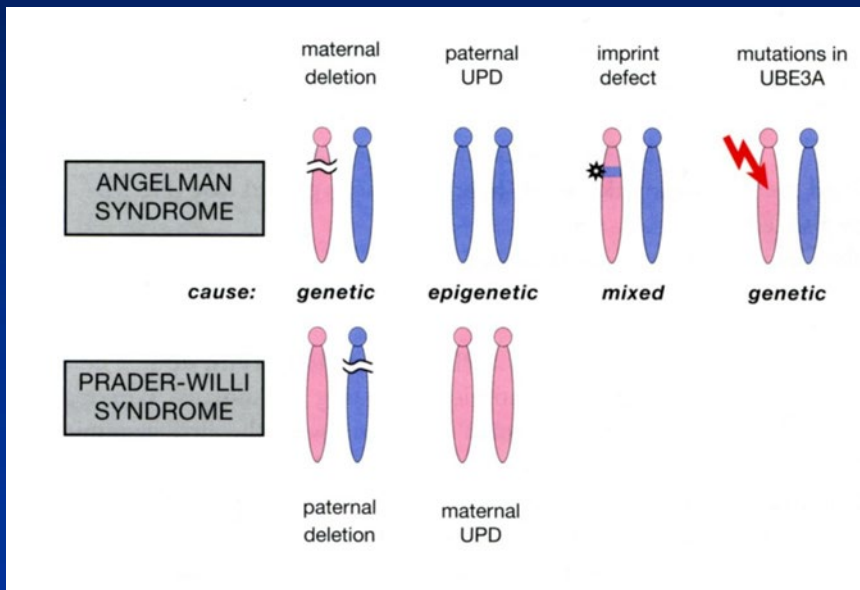


15.3.3 基因组印记与人类疾病

Prader-Willi综合征和

Angelman综合征 是人们最早研究的与基因组印记有关的遗传病

这两种综合征都涉及到15q13的基因异常，如删除该区域内的父系或母系基因序列，将分别发生Prader-Willi综合征或Angelman综合征，表明此两类综合征明显有印记的参与。



Prader-Willi综合征和Angelman综合征这两种综合征都可以由遗传缺陷、表观遗传缺陷或两者共同引起



现已证明 Angelman 综合征患者两组染色体 15q13 等位基因均由父亲遗传，即父亲单亲二体染色体（单亲二体性：指一个个体具有正常的二倍体染色体，但是只继承了双亲一方的一对同源染色体）

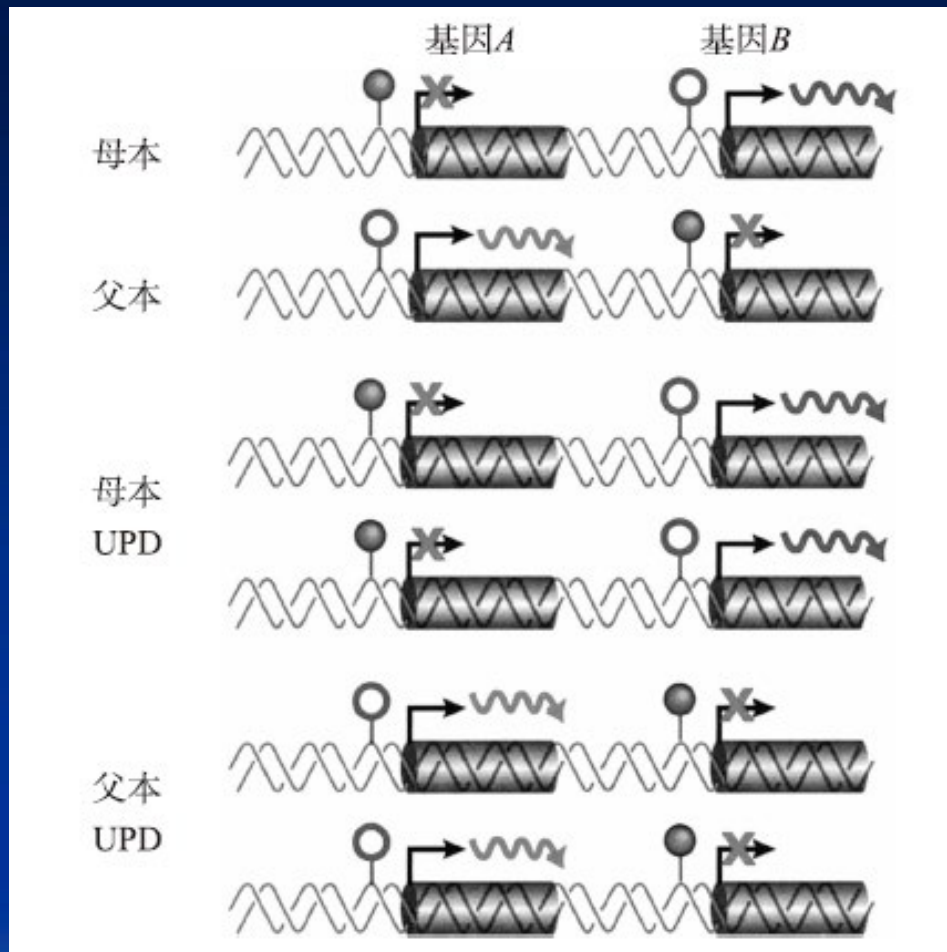


图 15-13 单亲二倍体(UPD)造成的印记基因功能失活(引自 Allis 等,2007)

实心圆指基因上游 CgG 岛的 DNA 被甲基化,空心圆指基因上游 CpG 岛的 DNA 未被甲基化。DNA 甲基化状态抑制其下游基因的表达。在母本 UPD 中,母源等位基因 B 倍增,而父源等位基因 A 基因缺失。父本 UPD 则正好相反



武汉大学

Wuhan University

谢谢！

作业 p375-1、4、8

本章结束





武汉大学

Wuhan University

