



表观遗传学

(**epigenetics**)

南京农业大学

生命科学学院 沈文飏 教授

2012年11月16



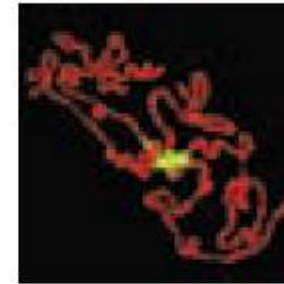




twins



Barr body

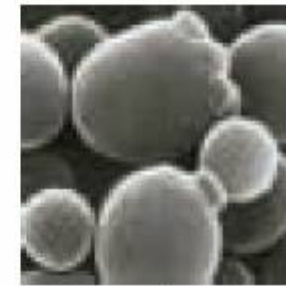


polytene
chromosomes



cloned cat

epigenetic biology



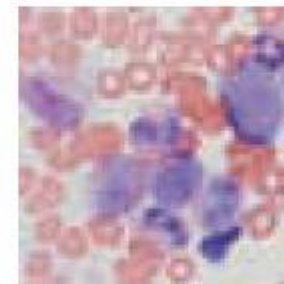
yeast mating types



mutant plant



tumor tissue



blood smear



发展历史

- ❖ 2000多年前，古希腊哲学家亚里士多德在《On the Generation of Animals》一书中首先提出后生理论（the theory of epigenesis），它相对于先成论，新器官的发育由未分化的团块逐渐形成的。

发展历史

- ❖ 1939年，生物学家 Waddington CH 首先在《现代遗传学导论》中提出了 **epihenetics** 这一术语，
- ❖ 并于1942年定义表观遗传学为“生物学的分支，研究基因与决定表型的基因产物之间的因果关系”。

发展历史

- ❖ 1975年，Holliday R 对表观遗传学进行了较为准确的描述。
- ❖ 他认为表观遗传学不仅在发育过程，而且应在成体阶段研究可遗传的基因表达改变，这些信息能经过有丝分裂和减数分裂在细胞和个体世代间传递，而不借助于DNA序列的改变，也就是说表观遗传是非DNA序列差异的核遗传。

概 述

❖ 表观遗传学

- 研究不涉及DNA序列改变的基因表达和调控的可遗传变化的，或者说是研究从基因演绎为表型的过程和机制的一门新兴的遗传学分支。

❖ 表观遗传

- 所谓表观遗传就是不基于DNA差异的核酸遗传。即细胞分裂过程中，DNA 序列不变的前提下，全基因组的基因表达调控所决定的表型遗传，涉及染色质重编程、整体的基因表达调控（如隔离子，增强子，弱化子，DNA甲基化，组蛋白修饰等功能），及基因型对表型的决定作用。

概 述

❖ Definition of Epigenetics

- Any changes in gene expression resulting from either a DNA and chromatin modification or resulting from a post post-transcriptional mechanism. However, it does not reflect a difference in the DNA code.

❖ A unifying definition of epigenetics: (Adrian Bird, nature, 2007)

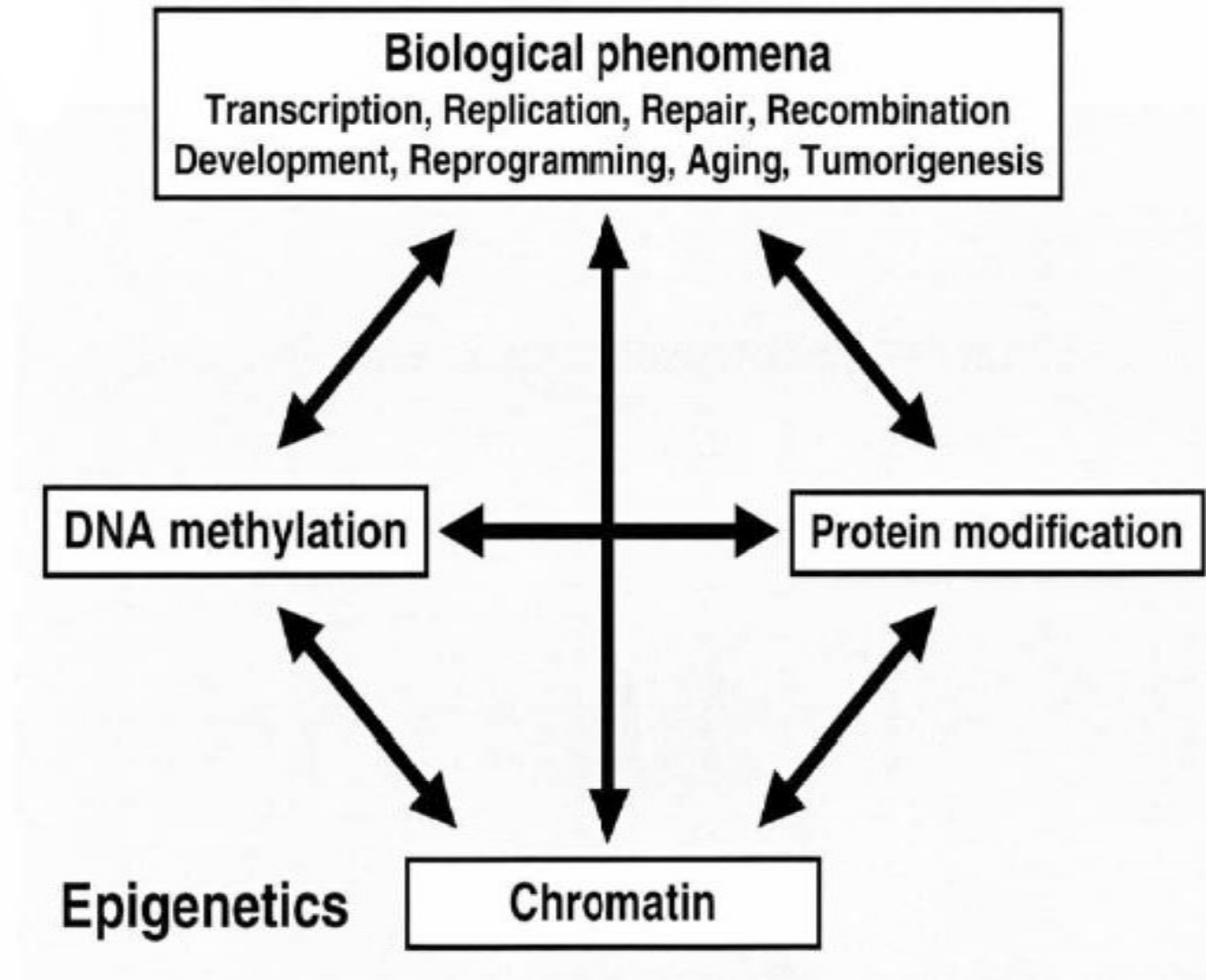
- the structural adaptation of chromosomal regions so as to register, signal or perpetuate altered activity states.
- This definition is inclusive of chromosomal marks, because transient modifications associated with both DNA repair or cell-cycle phases and stable changes maintained across multiple cell generations qualify.

概 述

❖ 表观遗传学的特点：

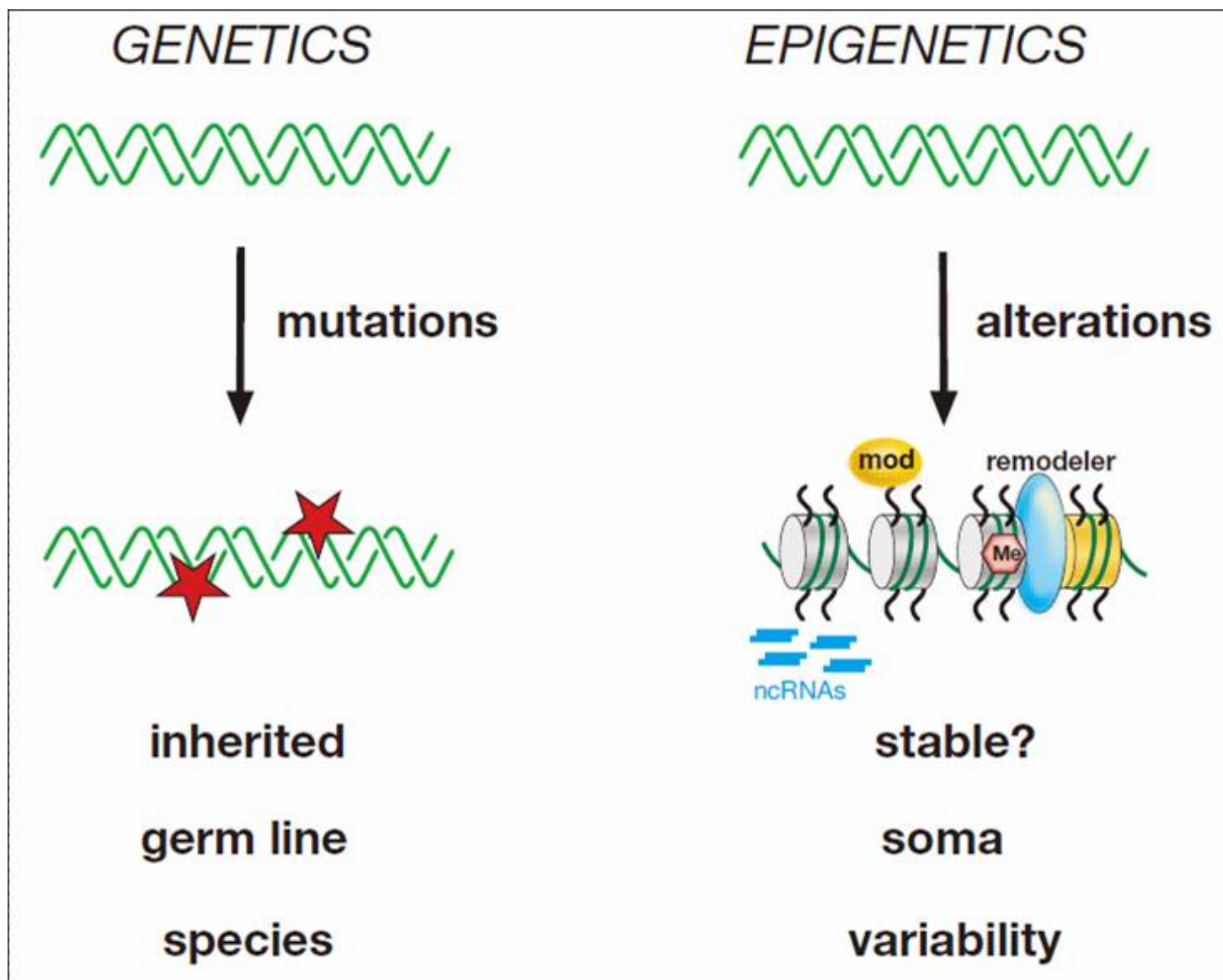
- **可遗传的**，即这类改变通过有丝分裂或减数分裂，能在细胞或个体世代间遗传；
- **可逆性**的基因表达调节，也有较少的学者描述为基因活性或功能的改变；
- 没有DNA序列的改变或不能用DNA序列变化来解释。

概 述

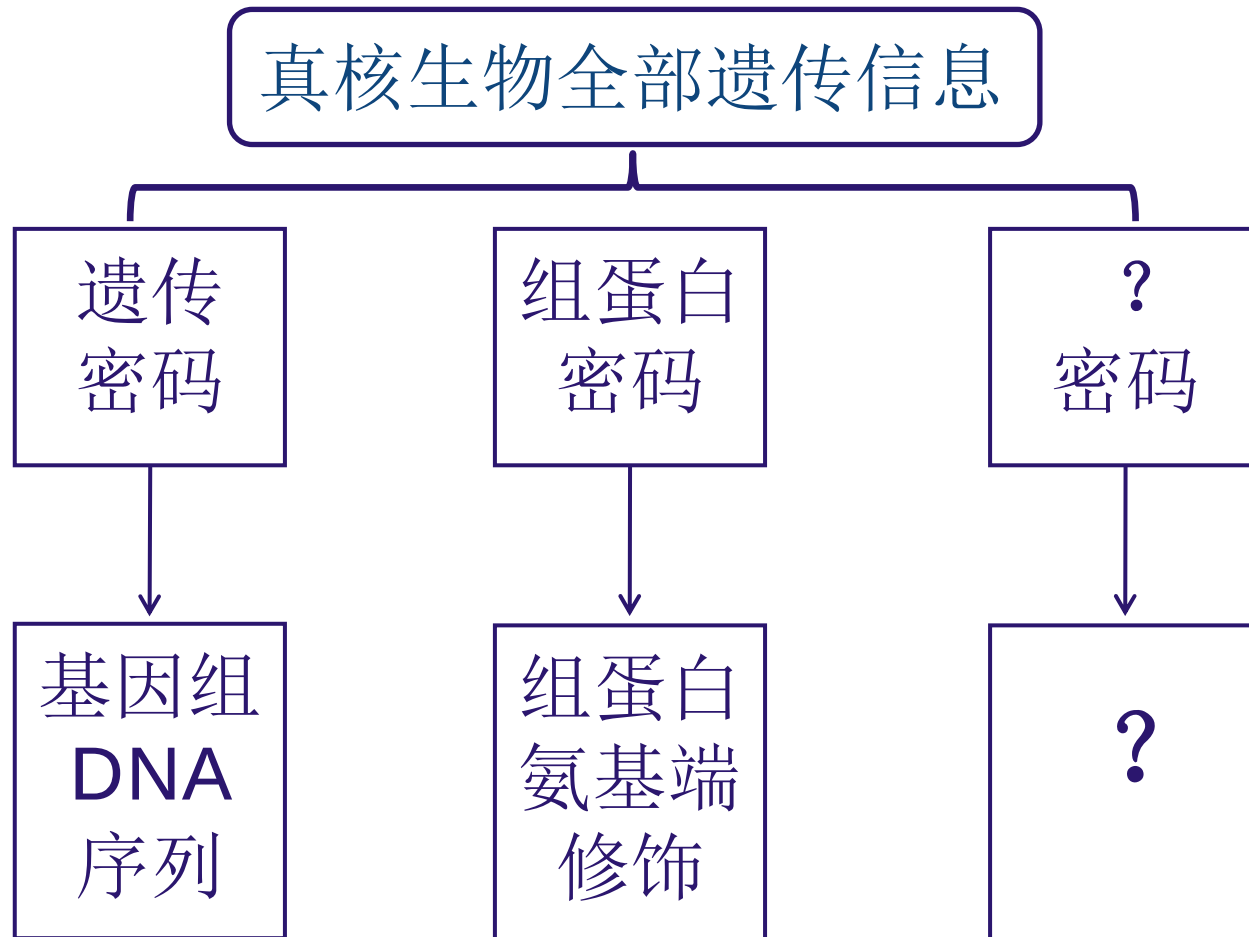


概述

遗传与表观遗传

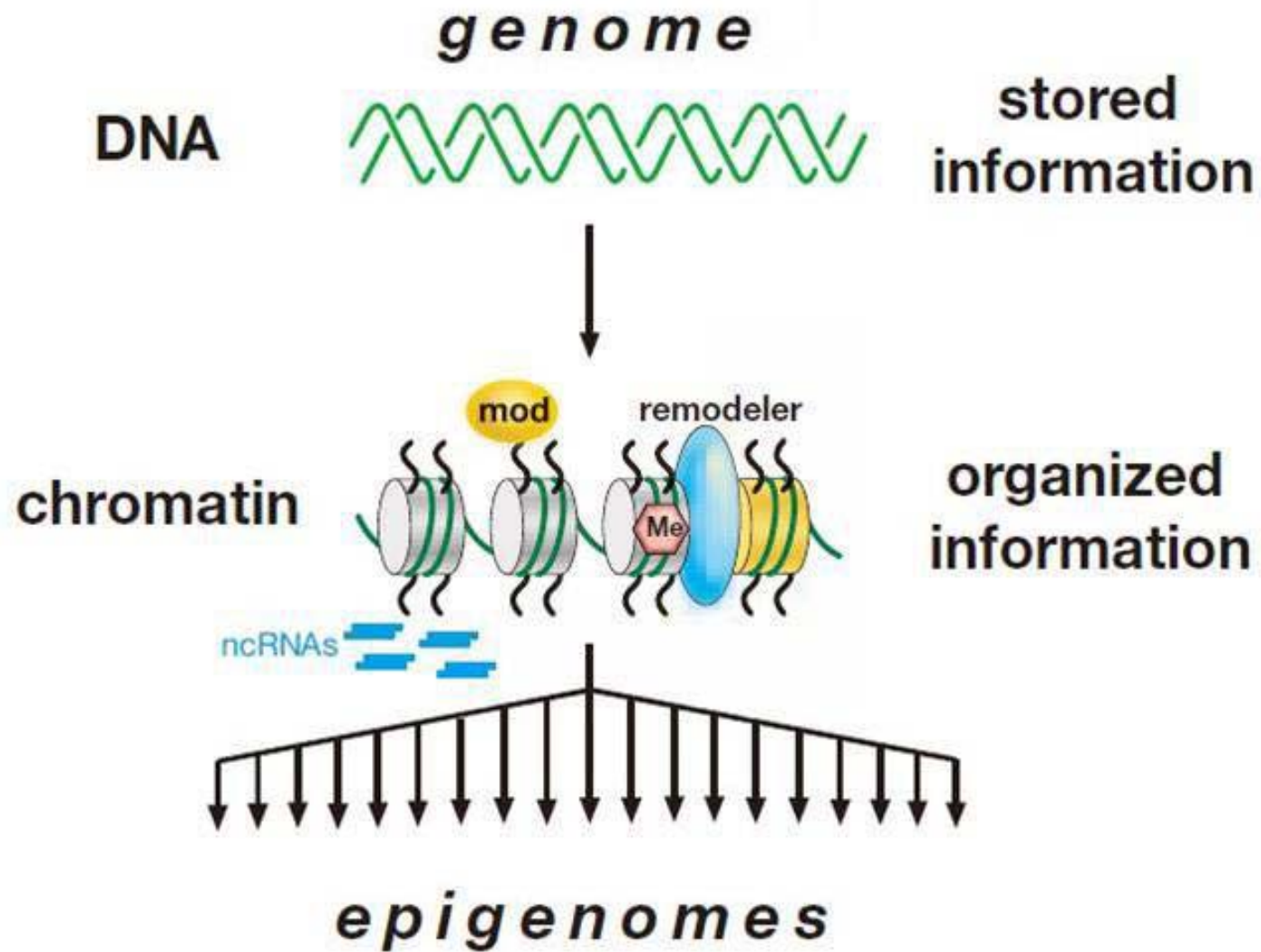


概 述

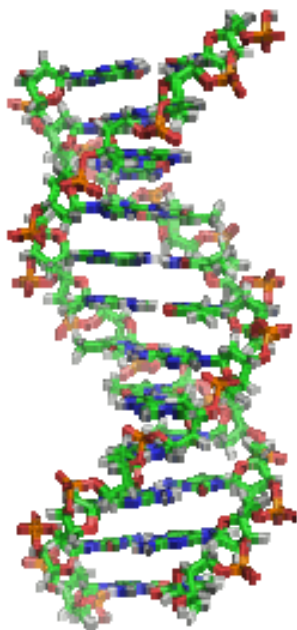


概 述

DNA与染色质



概述



相同的基因型

基因表达模式



不同的表现型

概 述

❖ 基因表达模式

- ❖ 决定细胞类型的不是基因本身，而是基因表达模式，通过细胞分裂来传递和稳定地维持具有组织和细胞特异性的基因表达模式对于整个机体的结构和功能协调是至关重要的。
- ❖ 基因表达模式在细胞世代之间的可遗传性并不依赖细胞内DNA的序列信息。
- ❖ 基因表达模式有表观遗传修饰决定。



Aaron D. Goldberg et al, cell, 2007

概 述

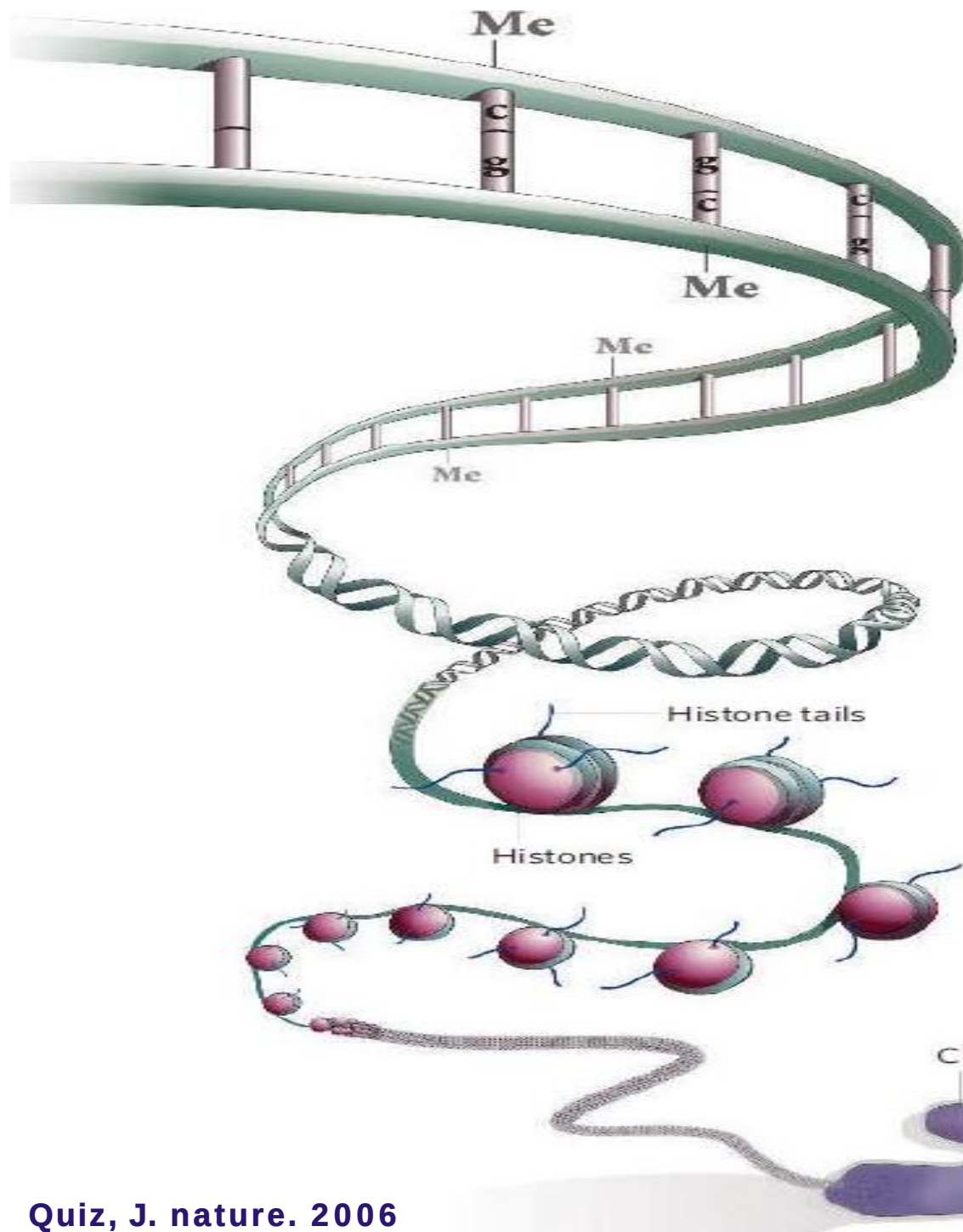
❖ 表观遗传学的研究内容:

● 基因选择性转录表达的调控

- ◆ DNA甲基化
- ◆ 基因印记
- ◆ 组蛋白共价修饰
- ◆ 染色质重塑

● 基因转录后的调控

- ◆ 基因组中非编码RNA
- ◆ 微小RNA (miRNA)
- ◆ 反义RNA
- ◆ 内含子、核糖开关等



The two main components of the epigenetic code

DNA methylation

Methyl marks added to certain DNA bases repress gene activity.

Histone modification

A combination of different molecules can attach to the 'tails' of proteins called histones. These alter the activity of the DNA wrapped around them.

表观遗传学机制

1

DNA 甲基化

2

组蛋白修饰

3

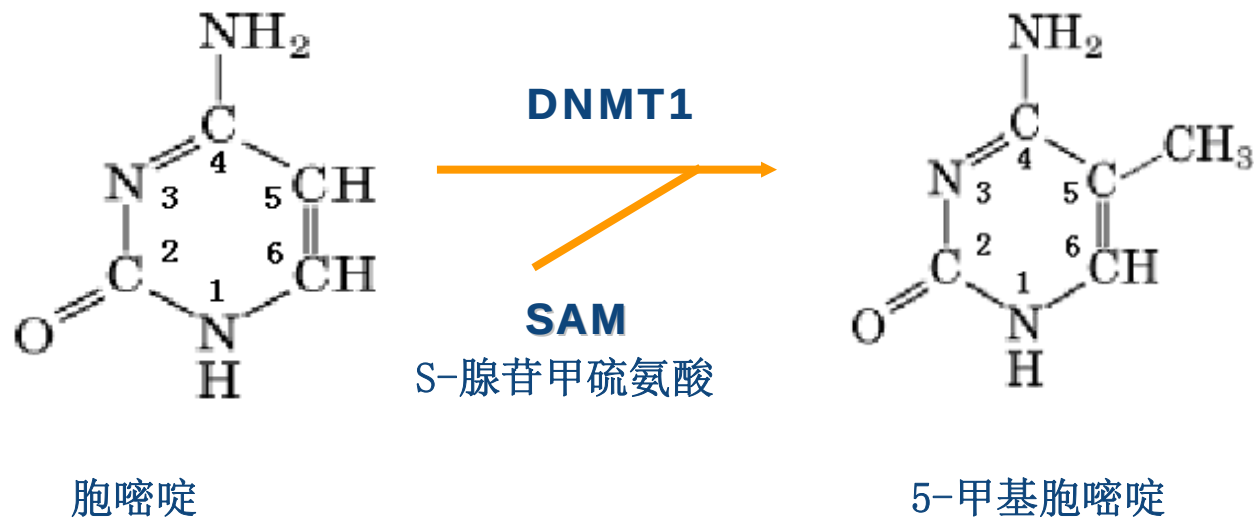
染色质重塑

4

RNA 调 控

一、DNA甲基化

DNA甲基化(DNA methylation)是研究得最清楚、也是最重要的表观遗传修饰形式，主要是基因组DNA上的胞嘧啶第5位碳原子和甲基间的共价结合，胞嘧啶由此被修饰为5甲基胞嘧啶(5-methylcytosine, 5mC)。



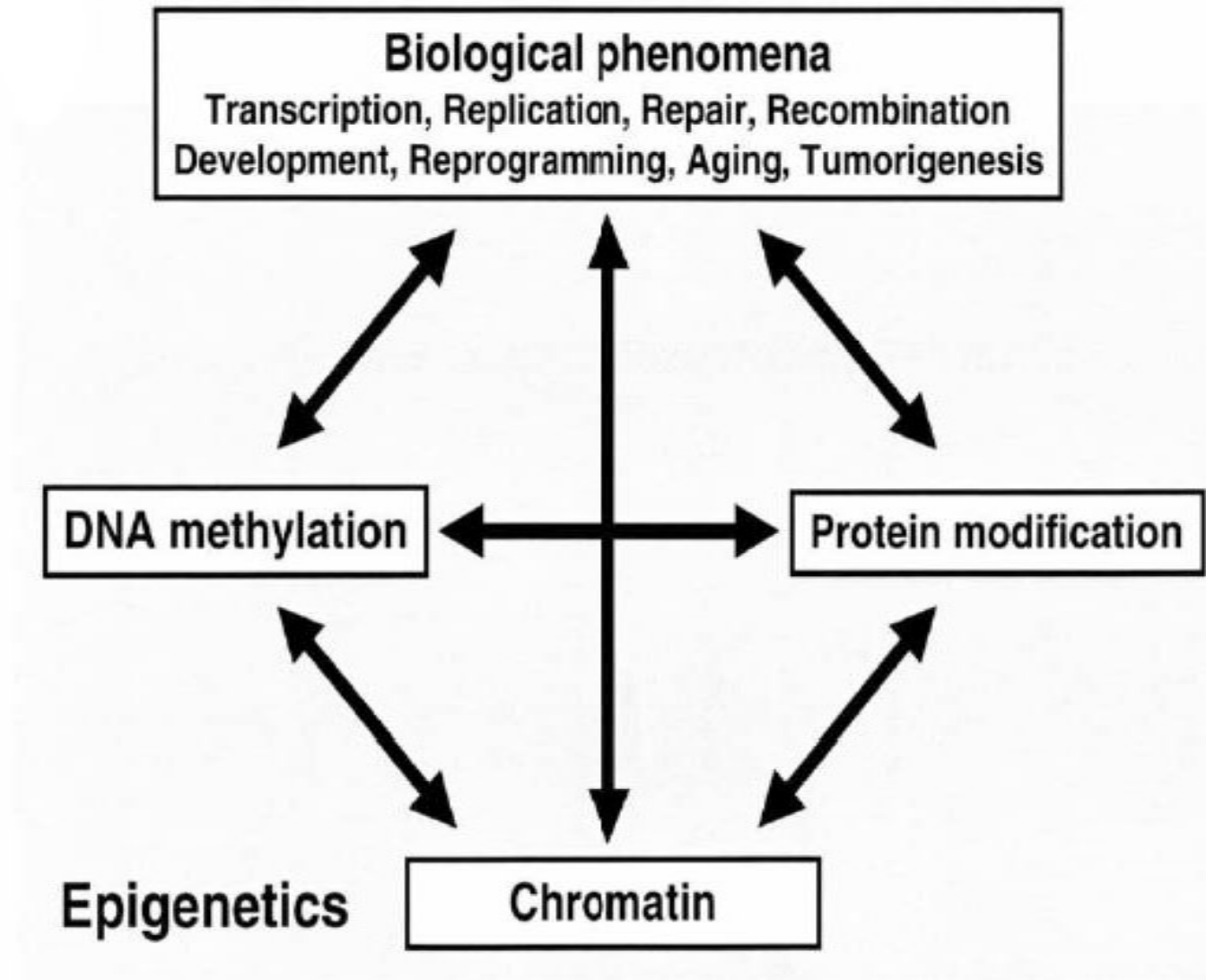
胞嘧啶甲基化反应



以基因型为 a/a 的母鼠及其孕育的基因型为 AVY/a 的仔鼠作实验对象。孕鼠分为两组，试验组孕鼠除喂以标准饲料外，从受孕前两周起还增加富含甲基的叶酸、乙酰胆碱等补充饲料，而对照组孕鼠只喂饲标准饲料。

结果实验组孕鼠产下的仔鼠大多数在身体的不同部位出现了大小不等的棕色斑块，甚至出现了以棕褐色为主要毛色的小鼠。而对照组孕鼠的仔鼠大多数为黄色。分析表明喂以富甲基饲料的孕鼠所产仔鼠的IAP所含CpG岛的甲基化平均水平远高于对照组，转录调控区的高甲基化使原该呈异位表达的基因趋于沉默，毛色也趋于棕褐色。

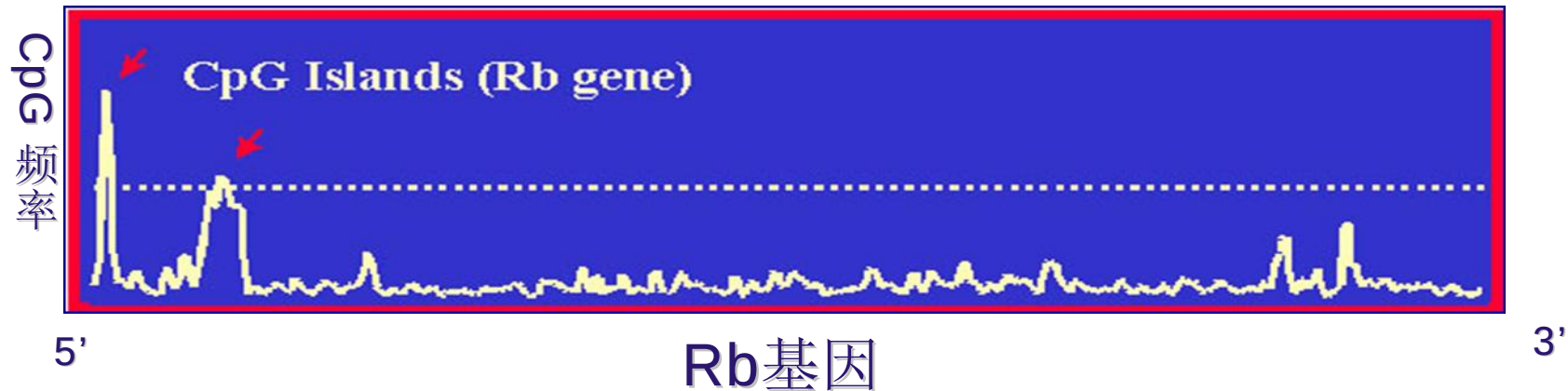
一、DNA甲基化



一、DNA甲基化

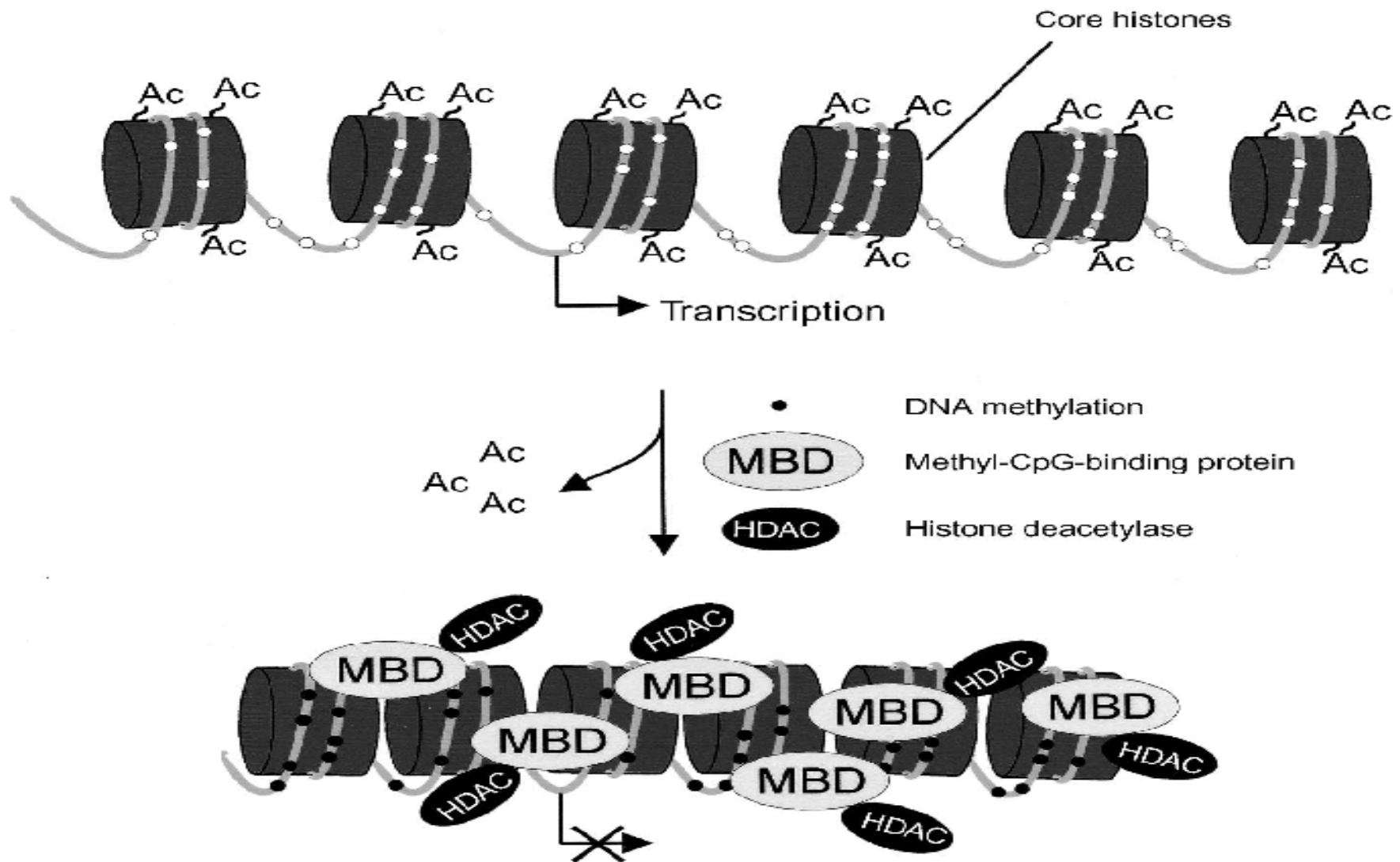
- ❖ 哺乳动物基因组中5mC占胞嘧啶总量的2%-7%，约70%的5mC存在于CpG二连核苷。
- ❖ 在结构基因的5'端调控区域，CpG二连核苷常常以成簇串联形式排列，这种富含CpG二连核苷的区域称为CpG岛(CpG islands)，其大小为500-1000bp，约56%的编码基因含该结构。
- ❖ 基因调控元件(如启动子)所含CpG岛中的5mC会阻碍转录因子复合体与DNA的结合。
 - DNA甲基化一般与基因沉默相关联；
 - 非甲基化一般与基因的活化相关联；
 - 而去甲基化往往与一个沉默基因的重新激活相关联。

一、DNA甲基化



- ❖ CpG岛主要处于基因5' 端调控区域。
- ❖ 启动子区域的CpG岛一般是非甲基化状态的，其非甲基化状态对相关基因的转录是必须的。
- ❖ 目前认为基因调控元件（如启动子）的CpG岛中发生5mC修饰会在空间上阻碍转录因子复合物与DNA的结合。因而DNA甲基化一般与基因沉默相关联。

一、DNA甲基化



一、DNA甲基化

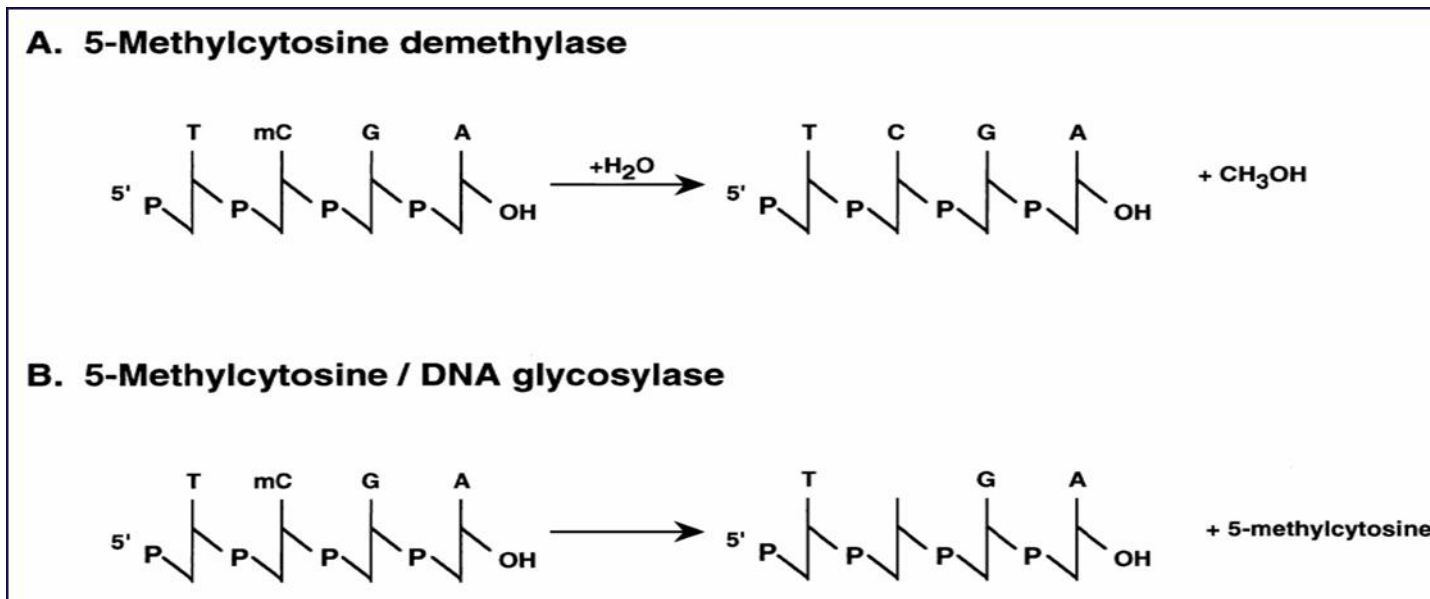
❖ DNA甲基化状态的遗传和保持：

- DNA复制后，新合成链在DNMT1的作用下，以旧链为模板进行甲基化。（缺乏严格的精确性，95%）
- 甲基化并非基因沉默的原因而是基因沉默的结果，其以某种机制识别沉默基因，后进行甲基化。
- DNA全新甲基化。引发因素可能包括：
 - ◆ DNA本身的序列、成分和次级结构。
 - ◆ RNA根据序列同源性可能靶定的区域。
 - ◆ 特定染色质蛋白、组蛋白修饰或相当有序的染色质结构。

一、DNA甲基化

❖ DNA去甲基化

● 主动去甲基化

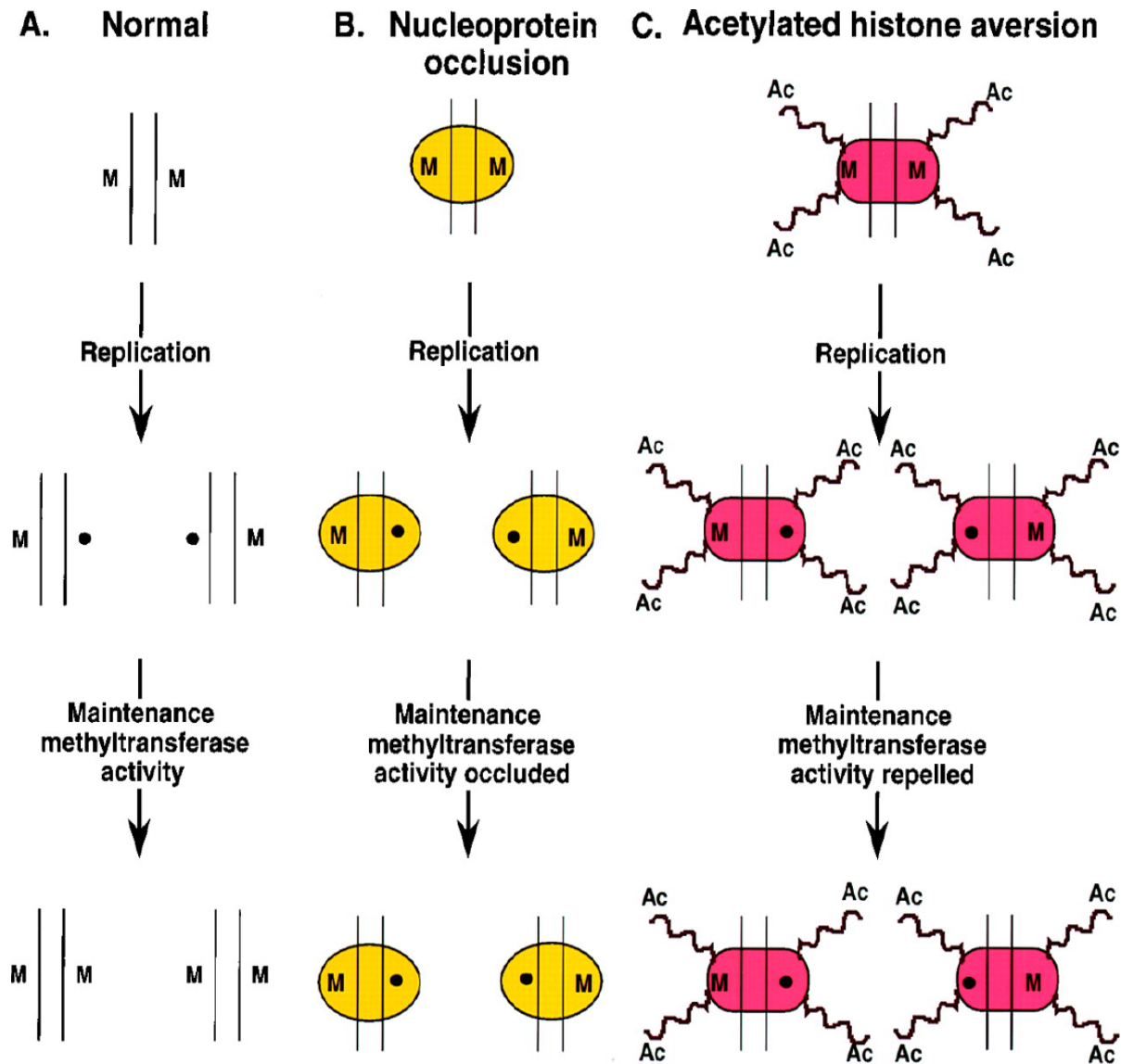


● 复制相关的去甲基化

- 在复制过程中维持甲基化酶活性被关闭或维持甲基化酶活性被抵制。

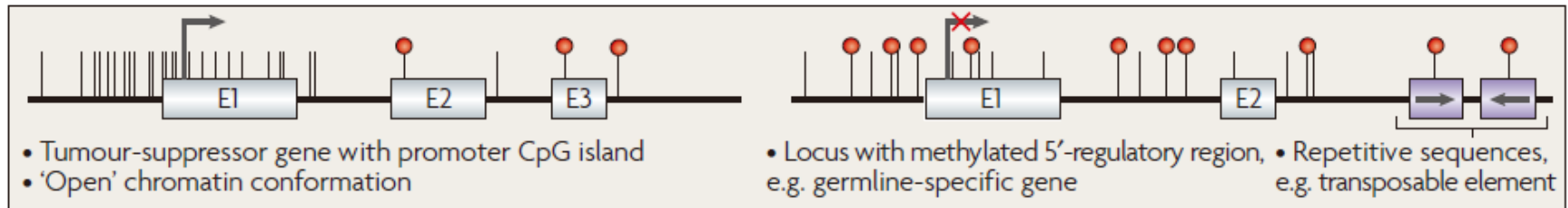
一、DNA甲基化

复制相关的DNA去甲基化

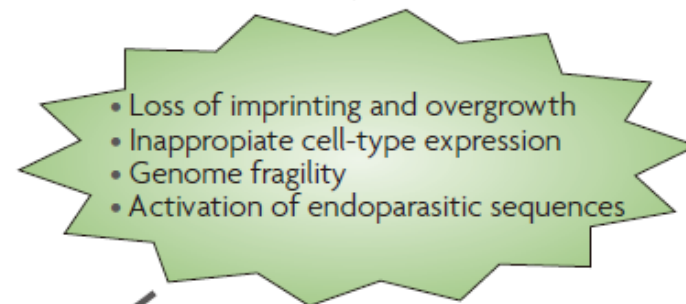
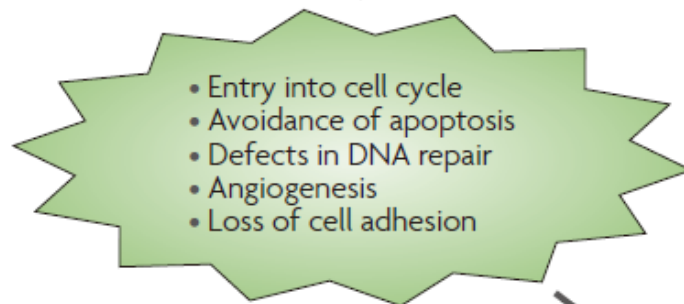
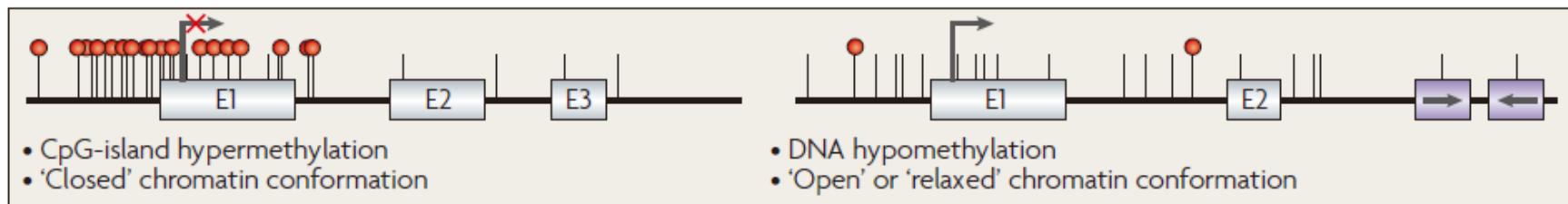




Normal cell



Cancer cell

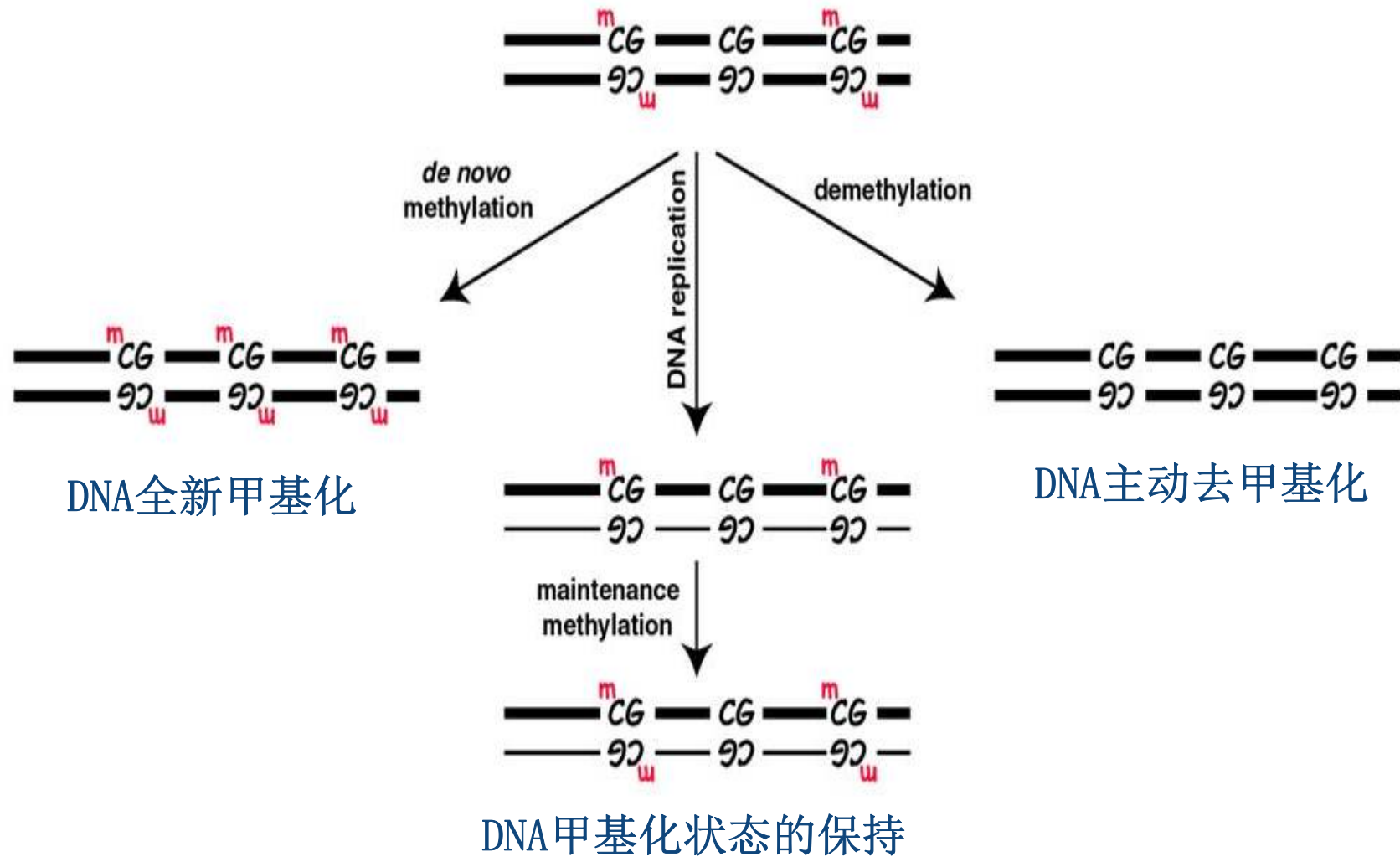


Tumorigenesis

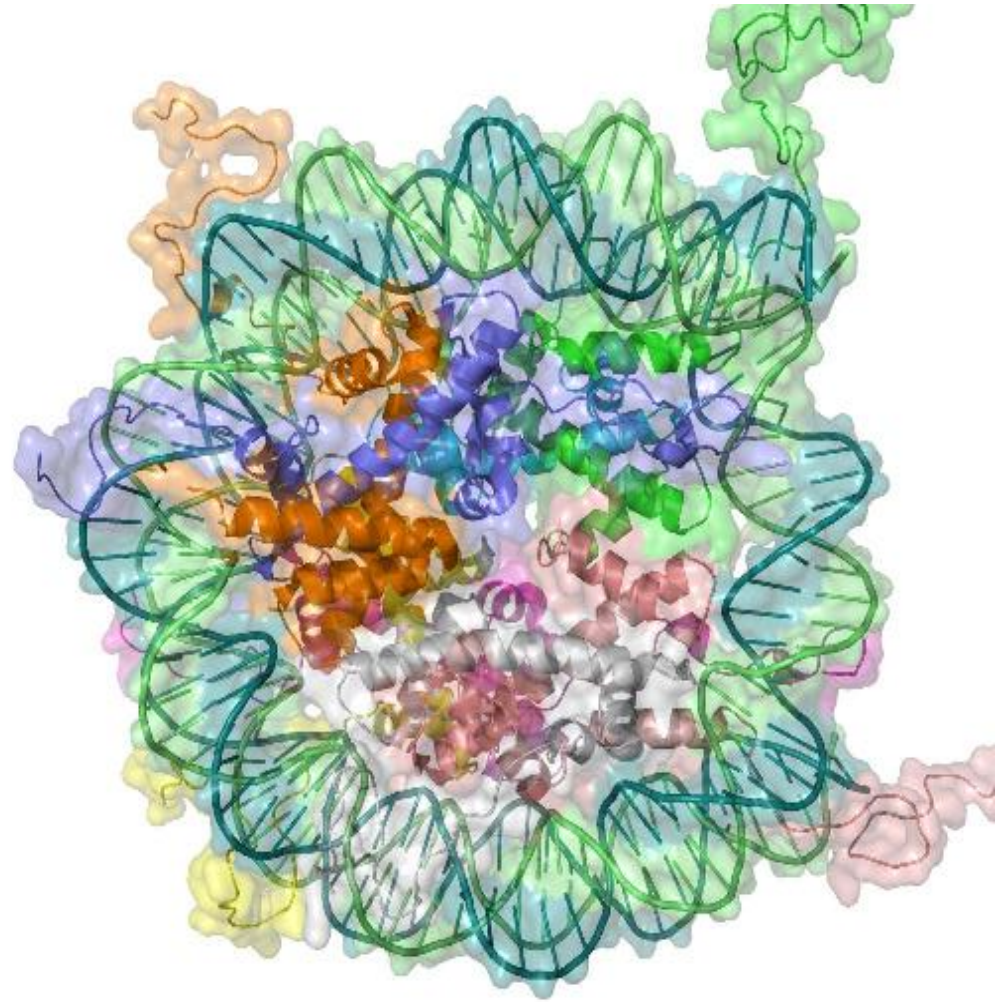
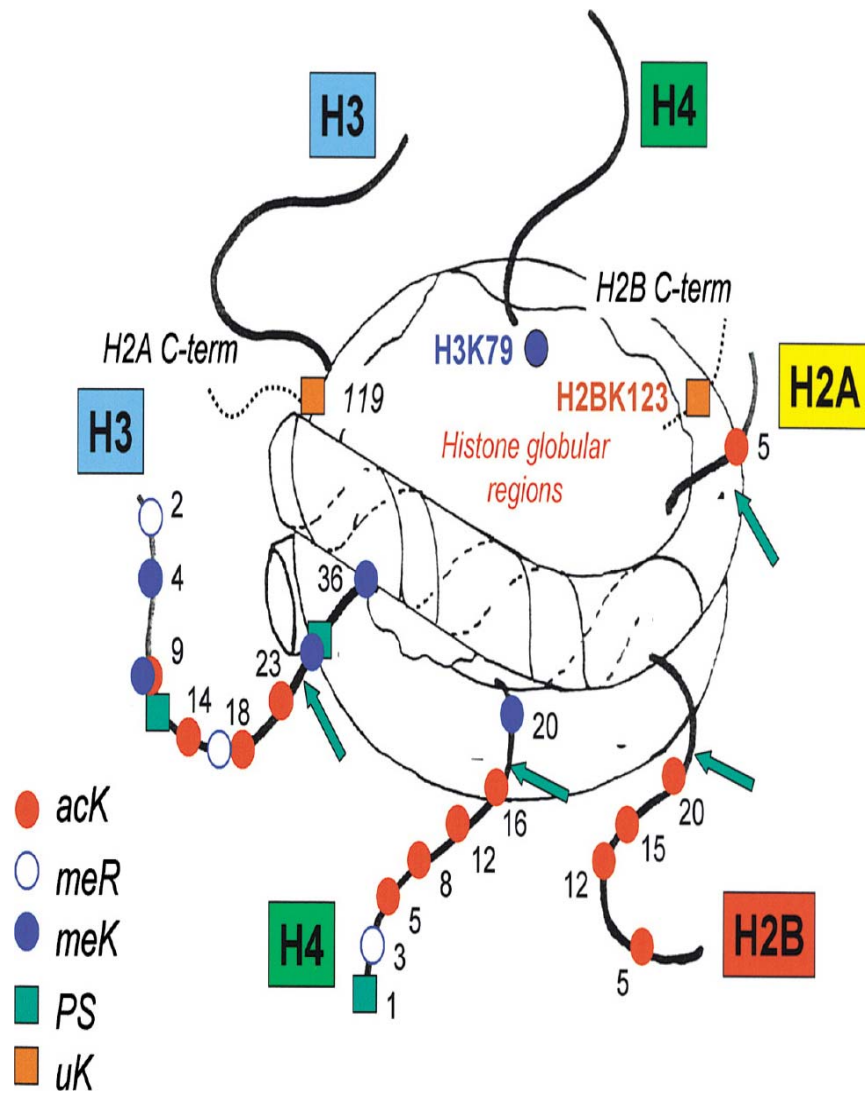
| Unmethylated CpG • Methylated CpG

Manel Esteller, nature, 2007

一、DNA甲基化



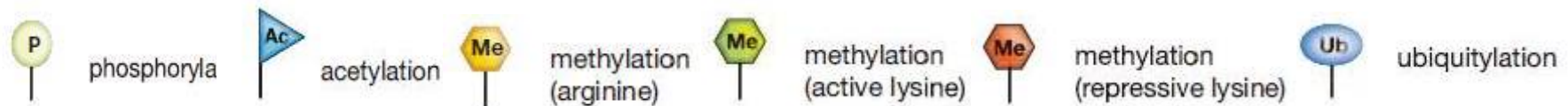
二、组蛋白修饰



二、组蛋白修饰

- ❖ 组蛋白修饰是表观遗传研究的重要内容。
- ❖ 组蛋白的 N端是不稳定的、无一定组织的亚单位，其延伸至核小体以外，会受到不同的化学修饰，这种修饰往往与基因的表达调控密切相关。
- ❖ 被组蛋白覆盖的基因如果要表达，首先要改变组蛋白的修饰状态，使其与DNA的结合由紧变松，这样靶基因才能与转录复合物相互作用。因此，组蛋白是重要的染色体结构维持单元和基因表达的负控制因子。

二、组蛋白修饰



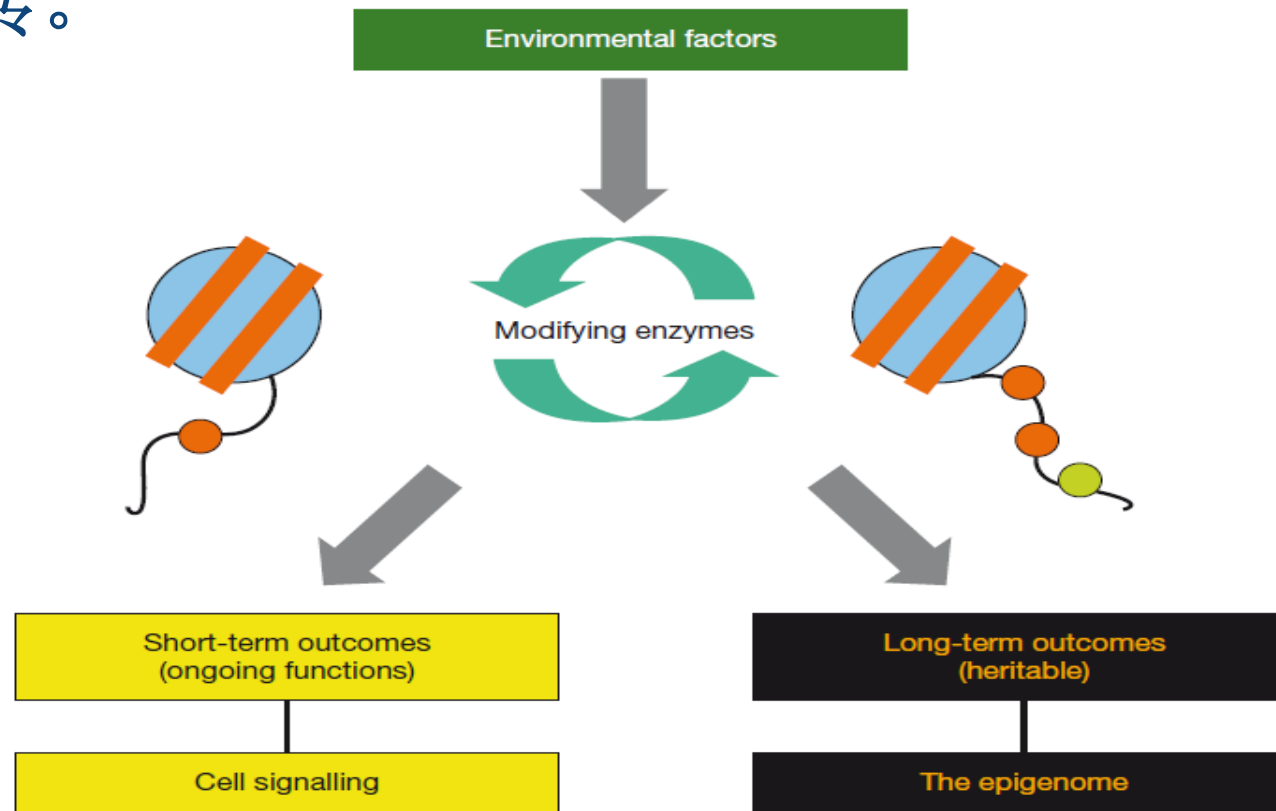
二、组蛋白修饰

❖ 组蛋白修饰种类

- 乙酰化——一般与活化的染色质构型相关联，乙酰化修饰大多发生在H3、H4的 Lys 残基上。
- 甲基化——发生在H3、H4的 Lys 和 Asp 残基上，可以与基因抑制有关，也可以与基因的激活相关，这往往取决于被修饰的位置和程度。
- 磷酸化——发生与 Ser 残基，一般与基因活化相关。
- 泛素化——一般是C端Lys修饰，启动基因表达。
- SUMO（一种类泛素蛋白）化——可稳定异染色质。
- 其他修饰

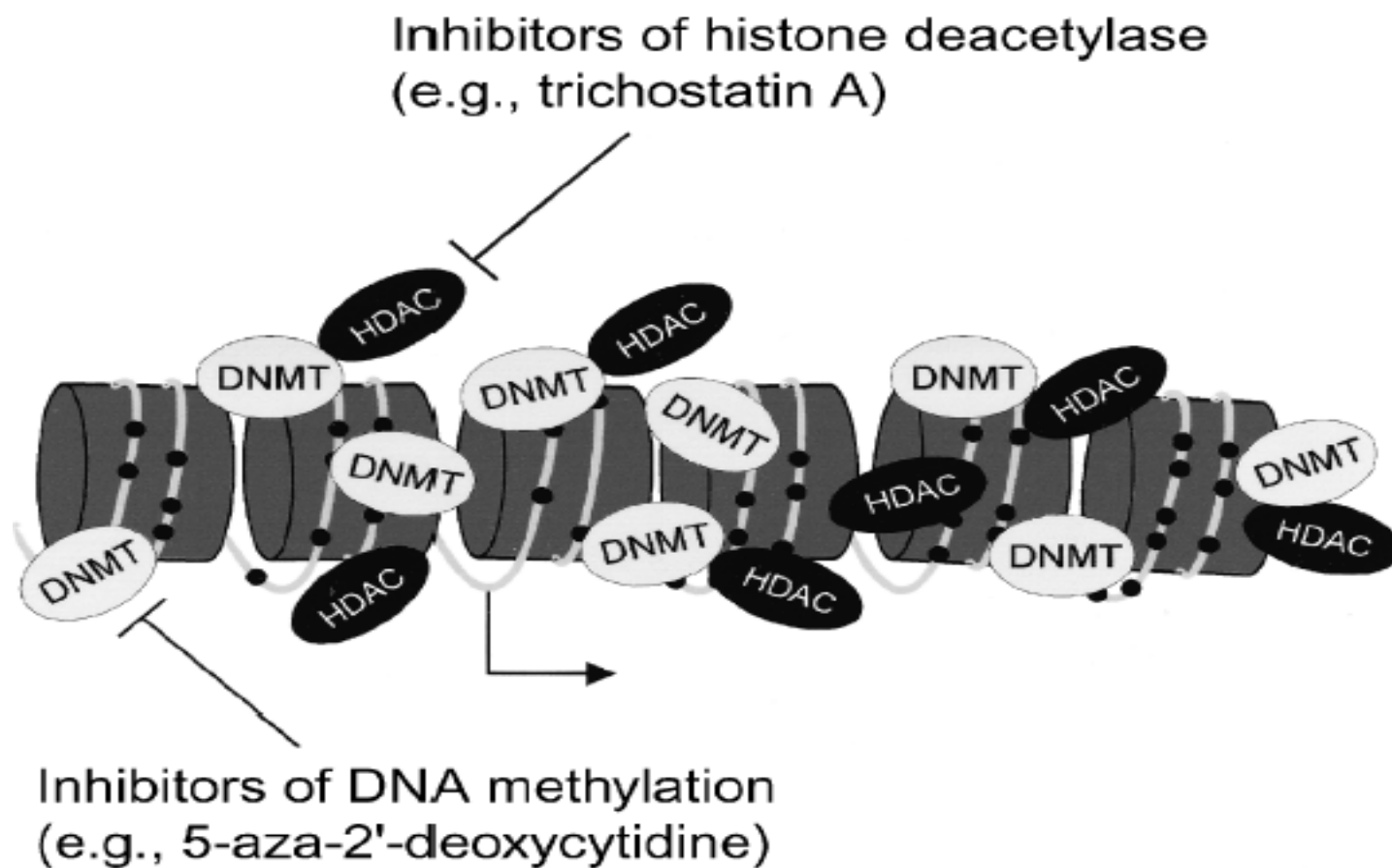
二、组蛋白修饰

- ❖ 组蛋白中被修饰氨基酸的种类、位置和修饰类型被称为组蛋白密码（histone code），遗传密码的表观遗传学延伸，决定了基因表达调控的状态，并且可遗传。



Bryan M. Turner, nature cell biology, 2007

二、组蛋白修饰

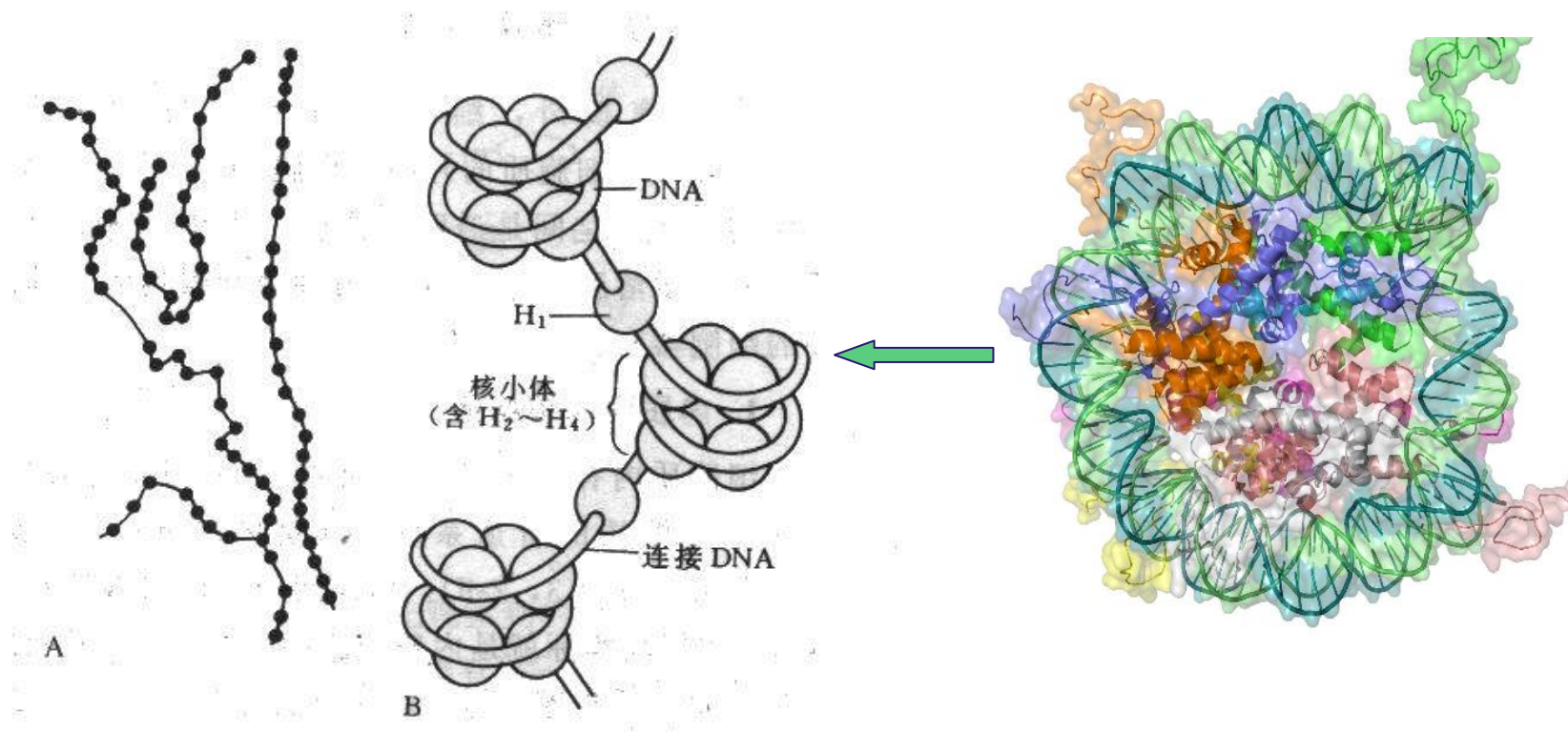


三、染色质重塑

- ❖ 染色质重塑（chromatin remodeling）是一个重要的表观遗传学机制。
- ❖ 染色质重塑是由染色质重塑复合物介导的一系列以染色质上核小体变化为基本特征的生物学过程。
- ❖ 组蛋白尾巴的化学修饰（乙酰化、甲基化及磷酸化等）可以改变染色质结构，从而影响邻近基因的活性。

三、染色质重塑

核小体



三、染色质重塑

- ❖ 核小体定位是核小体在DNA上特异性定位的现象。
- ❖ 核小体核心DNA并不是随机的，其具备一定的定向特性。
- ❖ 核小体定位机制：
 - 内在定位机制：每个核小体被定位于特定的DNA片断。
 - 外在定位机制：内在定位结束后，核小体以确定的长度特性重复出现。
- ❖ 核小体定位的意义：
 - 核小体定位是DNA正确包装的条件。
 - 核小体定位影响染色质功能。

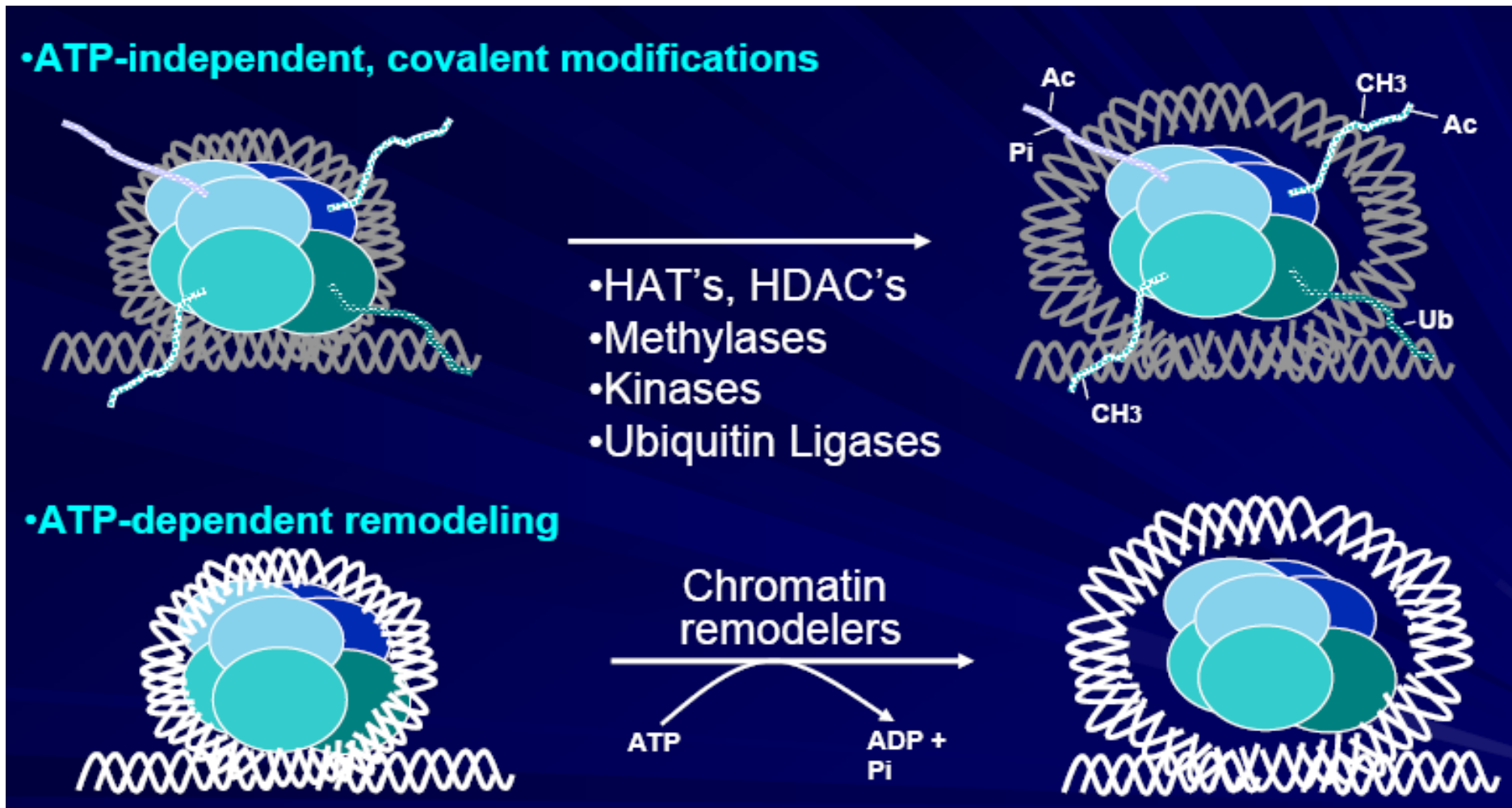
三、染色质重塑

❖ 重塑因子调节基因表达机制的假设有两种：

- 机制1：一个转录因子独立地与核小体DNA 结合（DNA可以是核小体或核小体之间的），然后，这个转录因子再结合一个重塑因子，导致附近核小体结构发生稳定性的变化，又导致其他转录因子的结合，这是一个串联反应的过程；（重建）
- 机制2：由重塑因子首先独立地与核小体结合，不改变其结构，但使其松动并发生滑动，这将导致转录因子的结合，从而使新形成的无核小体的区域稳定。（滑动）

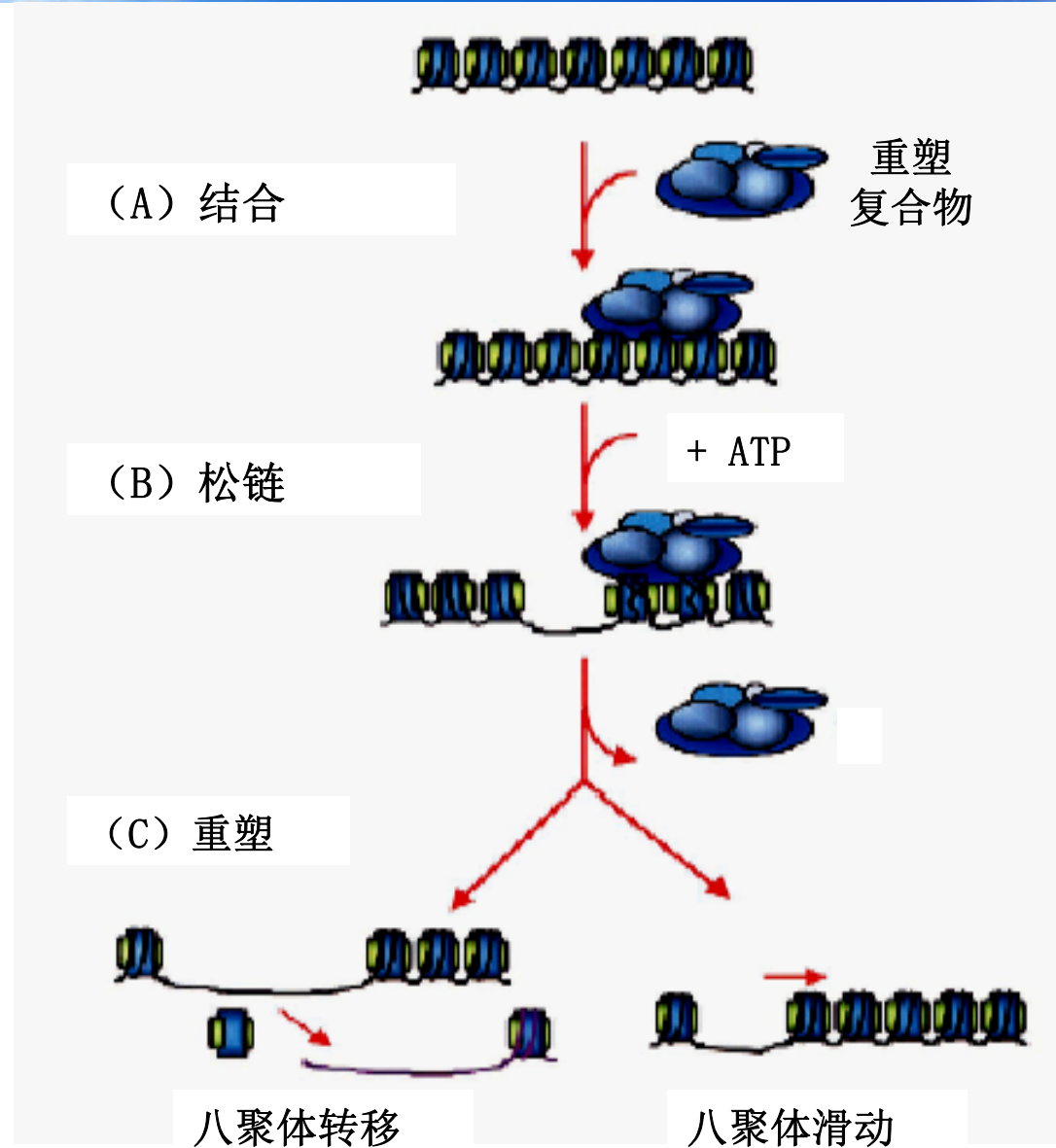
三、染色质重塑

染色质修饰与重塑（共价修饰型与ATP依赖型）



三、染色质重塑

ATP 依赖的染色质重构机制



三、染色质重塑

- ❖ 边界子 (boundary elements) : 相邻基因间的物理隔离元件。也可称为隔离子 (insulator elements) 。
- ❖ 边界子和隔离子的隔离功能 :
 - 封阻末梢增强子对启动子的作用。
 - 防止染色质位置效应 (CPE) 。
- ❖ 由边界子所确定的染色质片断是基因组调节的基本单位，其构成染色质的功能与或区室，这即是染色质区室化。

四、RNA调控

- ❖ 1995, RNAi现象首次在线虫中发现。
- ❖ 1998, RNAi概念的首次提出。
- ❖ 1999, RNAi作用机制模型的提出。在线虫、果蝇、拟南芥及斑马鱼等多种生物内发现RNAi现象。
- ❖ 2001, RNAi技术成功诱导培养的哺乳动物细胞基因沉默现象。RNAi技术被《Science》评为2001年度的十大科技进展之一。
- ❖ 至今，蓬勃发展，成为分子生物学领域最为热门的方向之一。

四、RNA 调控

- ❖ RNA干扰（**RNAi**）作用是生物体内的一种通过双链RNA分子在mRNA水平上诱导特异性序列基因沉默的过程。
- ❖ 由于**RNAi**发生在转录后水平，所以又称为转录后基因沉默（post-transcriptional gene silencing, PTGS）。
- ❖ **RNA干扰**是一种重要而普遍表观遗传的现象。

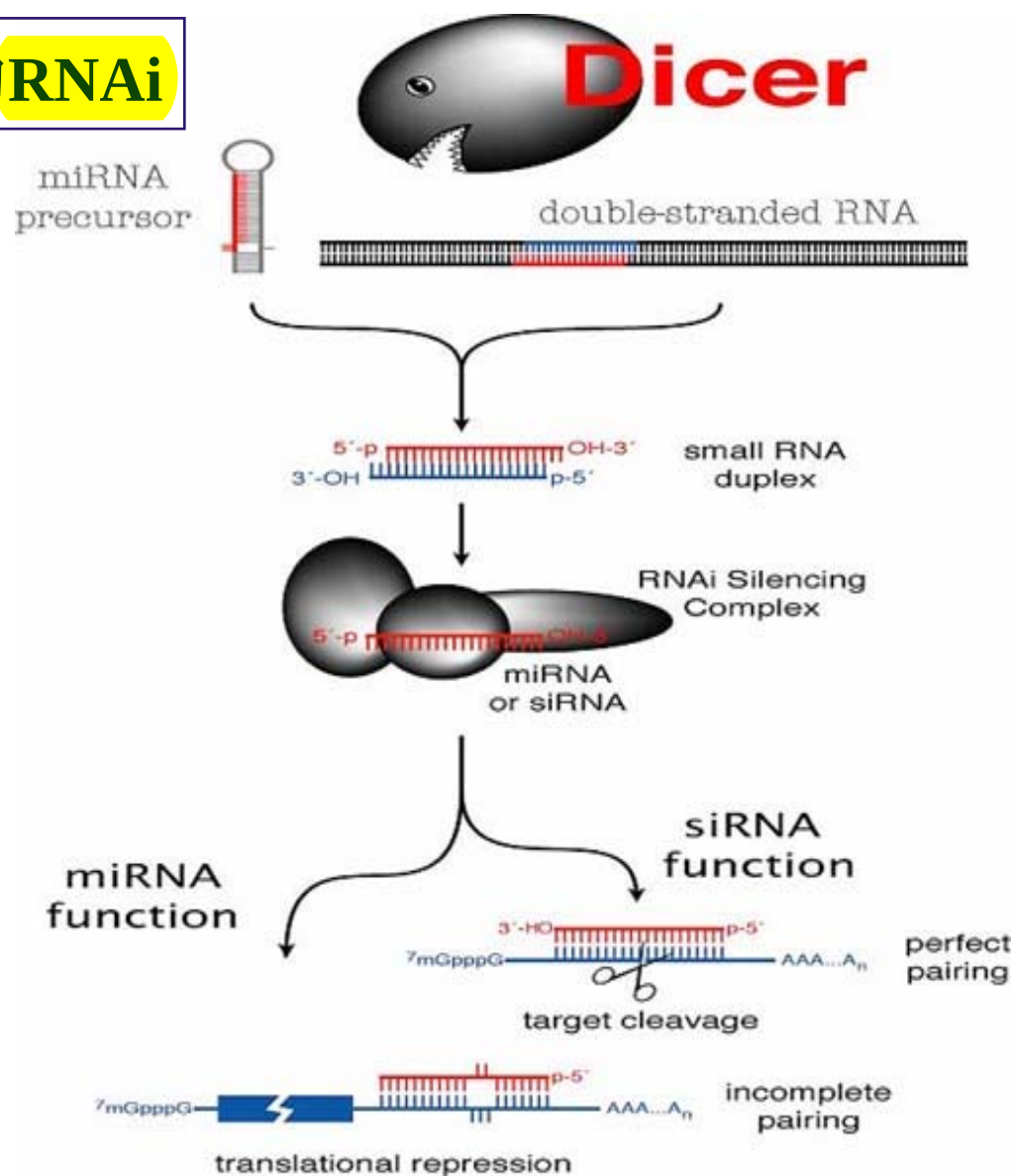
四、RNA 调控

siRNA

- ❖ **siRNA结构**: 21-23nt的双链结构, 序列与靶 mRNA有同源性, 双链两端各有2个突出非配对的 3'碱基。
- ❖ **siRNA功能**: 是RNAi 作用的重要组分, 是RNAi 发生的中介分子。内源性siRNA是细胞能够抵御转座子、转基因和病毒的侵略。

四、RNA 调控

siRNA介导的RNAi



四、RNA 调控

❖ siRNAi 的特点:

- 高效性和浓度依赖性
- 特异性
- 位置效应
- 时间效应
- 细胞间RNAi的可传播性
- 多基因参与及ATP依赖性

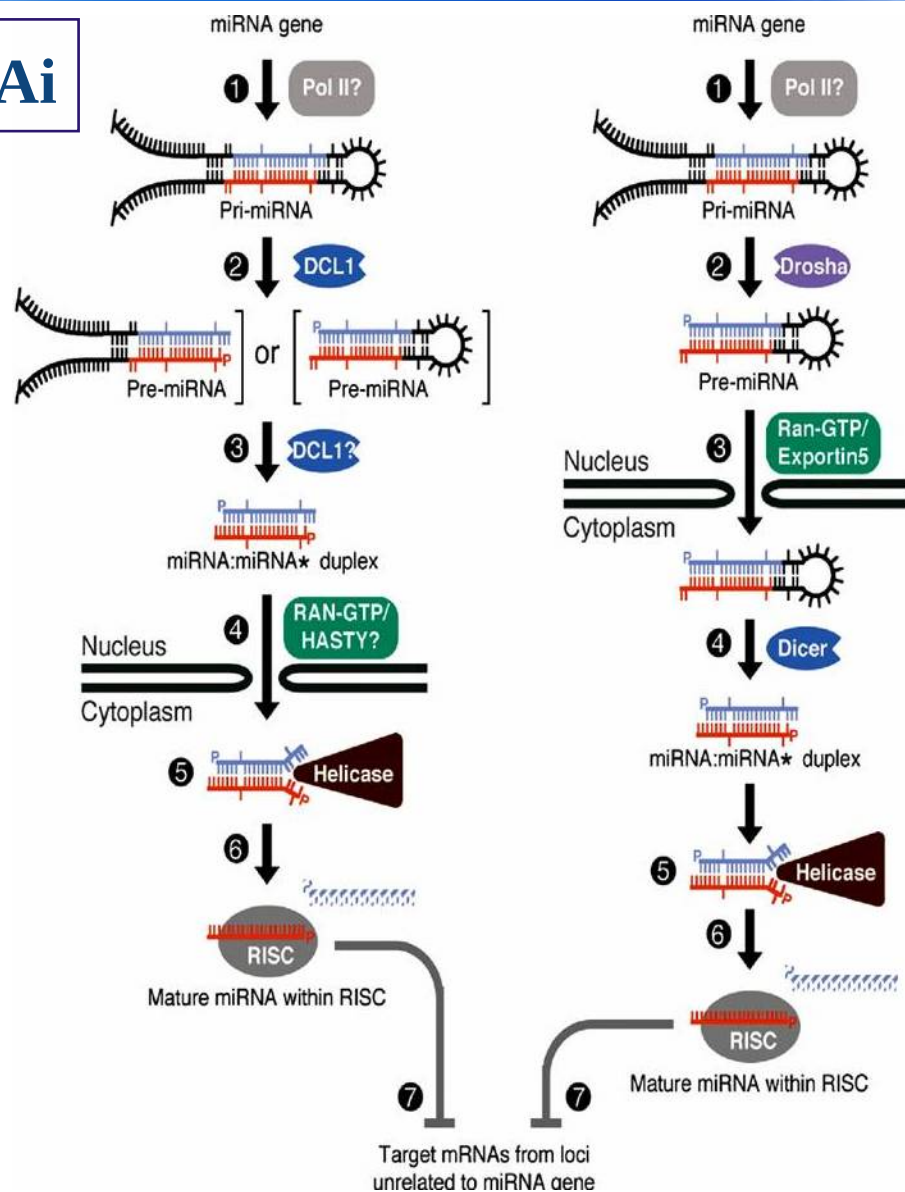
四、RNA 调控

miRNA

- ❖ 结构：21-25nt长的单链小分子RNA，5' 端有一个磷酸基团，3' 端为羟基，由具有发夹结构的约70-90个碱基大小的单链RNA前体经过Dicer酶加工后生成。
- ❖ 特点：具有高度的保守性、时序性和组织特异性。
- ❖ 功能：

四、RNA 调控

siRNA介导的RNAi



四、RNA调控

相同点/联系点	siRNA	miRNA
长度及特征	都约在22nt左右，5'端是磷酸基，3'端是羟基	
合成的底物	miRNA和siRNA合成都是由双链的RNA或RNA前体形成的	
Dicer酶	依赖Dicer酶的加工，是Dicer的产物，所以具有Dicer产物的特点	
Argonaute家族蛋白	都需要Argonaute家族蛋白参与	
RISC组分	二者都是RISC组分，所以其功能界限变得不清晰，如二者在介导沉默机制上有重叠；产生了on target和off target的问题	
作用方式	都可以阻遏靶标基因的翻译，也可以导致mRNA降解，即在转录水平后和翻译水平起作用	
进化关系	可能的两种推论：siRNA是miRNA的补充，miRNA在进化过程中替代了siRNA	

不同点/分歧点	siRNA	miRNA
机制性质	往往是外源引起的，如病毒感染和人工插入dsRNA之后诱导而产生，属于异常情况	是生物体自身的一套正常的调控机制
直接来源	长链dsRNA	发夹状pre-miRNA
分子结构	siRNA是双链RNA，3'端有2个非配对碱基，通常为UU	miRNA是单链RNA
对靶RNA特异性	较高，一个突变容易引起RNAi沉默效应的改变	相对较低，一个突变不影响miRNA的效应
作用方式	RNAi途径	miRNA途径
生物合成，成熟过程	由dsDNA在Dicer酶切割下产生；发生在细胞质中	pri-miRNA在核内由一种称为Drosha酶处理后成为60nt的带有茎环结构的Precursor miRNAs (pre-miRNAs)；这些pre-miRNAs在转运到细胞核外之后再由Dicer酶进行处理，酶切后成为成熟的miRNAs；发生在细胞核和细胞质中
Argonaute (AGO) 蛋白质	各有不同的AGO蛋白质	各有不同的AGO蛋白质
互补性 (complementarity)	一般要求完全互补	不完全互补，存在错配现象
RISCs的分子量不同 (Martinez and Tuschl, 2004; Martinez et al., 2002; Nykanen et al., 2001; Pham et al., 2004)	siRISCs	miRISCs/miRNP

不同点/分歧点	siRNA	miRNA
各自的生物学功能不同	i 抵抗病毒的防御机制 (Pfeffer et al., 2004; Ding et al., 2004); ii 沉默那些过分表达的mRNA; iv 保护基因组免受转座子的破坏 (Mello and Conte, Jr., 2004; Hannon, 2002; Tabara et al., 1999) -9;	对有机体的生长发育有重要作用 (Rhoades et al., 2002)
重要特性	高度特异性	高度的保守性、时序性和组织特异性
作用机制	单链的siRNA结合到RISC复合物中, 引导复合物与mRNA完全互补, 通过其自身的解旋酶活性, 解开siRNAs, 通过反义siRNA链识别目的mRNA片段, 通过内切酶活性切割目的片段, 接着再通过细胞外切酶进一步降解目的片段。同时, siRNA也可以阻遏3' UTR具有短片断互补的mRNA的翻译 (off target)。	成熟的miRNAs则是通过与miRNP核蛋白体复合物结合, 识别靶mRNA, 并与之发生部分互补, 从而阻遏靶mRNA的翻译。在动物中, 成熟的单链miRNAs与蛋白质复合物miRNP结合, 引导这种复合物通过部分互补结合到mRNA的3' UTR (非编码区域), 从而阻遏翻译。除此之外, miRNA也可以切割完全互补的mRNA。
加工过程	siRNA对称地来源于双链RNA的前体的两侧臂	miRNA是不对称加工, miRNA仅是剪切pre-miRNA的一个侧臂, 其他部分降解。
对RNA的影响	降解目标mRNA; 影响mRNA的稳定性	在RNA代谢的各个层面进行调控; 与mRNA的稳定性无关
作用位置	siRNA可作用于mRNA的任何部位	miRNA主要作用于靶标基因3'-UTR区
生物学意义	siRNA不参与生物生长, 是RNAi的产物, 原始作用是抑制转座子活性和病毒感染	miRNA主要在发育过程中起作用, 调节内源基因表达

五、其他表观遗传机制

- ❖ 除DNA甲基化、组蛋白修饰、染色质重塑、和RNA调控以外，还有遗传印迹、X染色体失活、转座、负突变等。
- ❖ 遗传印迹、X染色体失活的本质仍为DNA甲基化、组蛋白修饰、染色质重塑。

遗传印迹

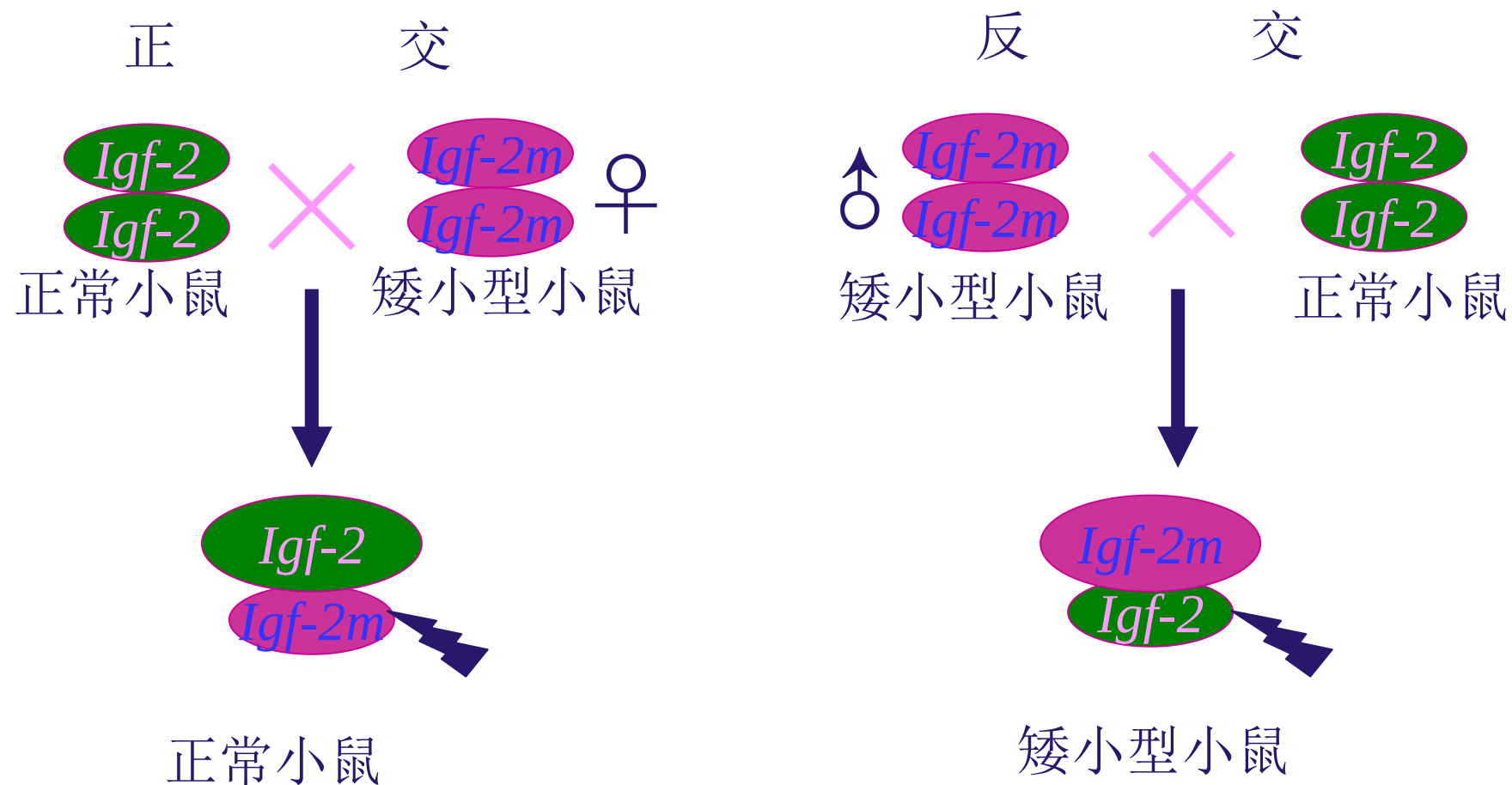
❖ 概念:

- 或称亲本印迹 (**parent imprinting**)
- 是指基因组在传递遗传信息的过程中, 通过基因组的化学修饰 (**DNA**的甲基化; 组蛋白的甲基化、乙酰化、磷酸化、泛素化等) 而使基因或**DNA**片段被标识的过程。

❖ 特点:

- 基因组印迹依靠单亲传递某种性状的遗传信息, 被印迹的基因会随着其来自父源或母源而表现不同, 即源自双亲的两个等位基因中一个不表达或表达很弱。
- 不遵循孟德尔定律, 是一种典型的非孟德尔遗传, 正反交结果不同。

遗传印迹



遗传印迹

❖ 由正反交实验可以看出：

- 印迹基因的正反交结果不一致、不符合孟德尔定律。
- 小鼠 **Igf-2** 基因总是母本来源的等位基因被印迹，父本来源的等位基因表达，因此是母本印迹。
- 基因印迹使基因的表达受到抑制，导致被印迹的基因的生物功能的丧失。

遗传印迹

❖ 基因印迹过程

● 印迹的形成

印迹形成于成熟配子，并持续到出生后。

● 印记的维持

● 印记的去除

印记的去除过程是发生在原始生殖细胞的早期阶段。

❖ 基因组印迹的机制

- 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。

X染色体失活

- ❖ 1961年M.F.Lyon就提出了关于雌性哺乳动物体细胞的两条X染色体中会有一条发生随机失活的假说，并认为这是一种基因剂量补偿的机制。以后的研究表明在给定的体细胞有丝分裂谱系中，有一条X染色体是完全失活并呈异染色质状态，而在另一个细胞谱系中同一条X染色体又可以是活化的且呈常染色质状态。
- ❖ 1996年G.D.Penny等发现X染色体的Xq13.3区段有一个X失活中心(X-inaction center, Xic)，X-失活从Xic区段开始启动，然后扩展到整条染色体。

X染色体失活

起始阶段：两条 X 染色体都表达不稳定的 *XIST* RNA



进展阶段：其中一条 X 染色体表达的 *XIST* RNA 包裹自身并启动异染色质化和失活过程



终末阶段：活性 X 染色体停止表达 *XIST* RNA



X染色体失活过程模式图

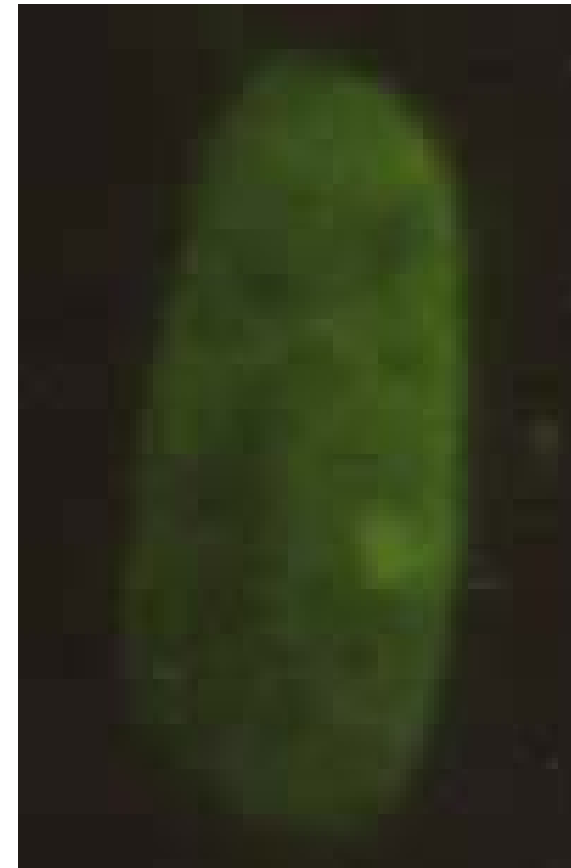
X染色体失活

❖ 失活X染色体即为巴氏小体。

巴氏小体

❖ 失活X染色体特点：

- 组蛋白H4不被乙酰化
- CpG岛的高度甲基化





Thank You
For Your Attention !

2012年11月16