

第十一章 基因组印记

一、印记的发现

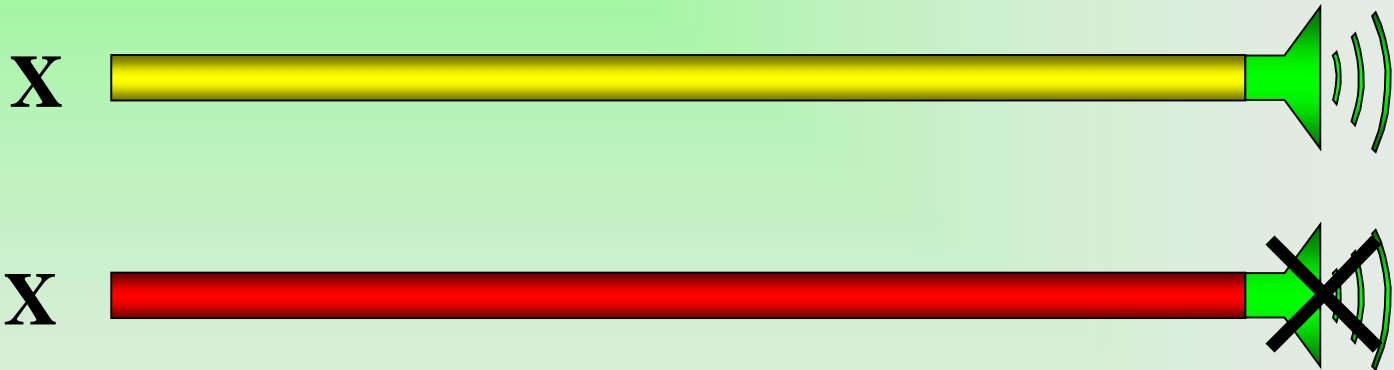
基因组印记？

组织或细胞中，**基因的表达具有亲本选择性**，即只有一个亲本的等位基因表达，而另一亲本的等位基因不表达或很少表达的现象，相应的基因则称为印记基因

- 父系不表达称父系印记
- 母系不表达称母系印记

一、印记的发现

- **Helen Crouse**于1960 年在昆虫中首次提出



一、印记的发现

- McGrath和Solter的小鼠核移植实验(1984):

种质细胞在受精发育过程中

雄原核替代雌原核 → 胚胎组织
雌原核替代雄原核 → 胎盘组织

} → 胚胎死亡

可见，父系和母系基因组在发育过程中担负的任务是不同的，且两者同时存在是正常发育所必需的

一、印记的发现

- DeChiara小鼠*Igf2*基因敲除实验(1991):
 - ◉ 父系敲除，则发育成的动物个体小
 - ◉ 母系敲除，则动物的个体没有变化
 - ◉ 雌性敲除小鼠，它们后代的个体大小也没有变化
 - ◉ 进一步的实验证实父系的等位基因被敲除后，*Igf2*不再表达

首次证实了印记基因的存在

小鼠*Igf2*基因为第一个被鉴定的印记基因

一、印记的发现

- 1993年Rainier等和Wgawa等首次发现基因组印记也存在于人类，印记松弛或缺失将导致疾病；
- 90年代末到现在，相继在羊、牛和猪等家畜中也发现印记基因的存在，很多印记基因还是重要经济性状的主效基因，对家畜的胚胎发育和出生后生长起着重要的调控作用；

一、印记的发现

迄今为止，除人类和哺乳动物外，报道印记的物种还有有袋类动物和种子植物。而在鸟类、鱼类、爬行类和两栖动物中普遍认为不存在印记。

二、印记基因的特点

(1) 印记基因成簇存在

- 印记控制中心(imprinting control elements, ICE)
- 交互印记

(2) 非编码RNA基因

通常延伸数百kb，以顺式作用调控邻近编码基因的表达；

- “正义” RNA基因，如*H19*、*XIST*
- 反义RNA基因，如*Igf2r/Air*、*UBE3A/UBE3A-AS*
- microRNA基因
- 其他RNA基因

二、印记基因的特点

(3)差异甲基化区域

差异甲基化区域(differentially methylated region, DMR), 是指染色体上甲基化状态具有亲本特异性的区域, 即来源于不同亲本的DNA序列甲基化状态不同的区域

差异甲基化主要发生在基因的启动子区, 少数在外显子, 现已发现的印记基因大多数具有DMR或受DMR调控。

二、印记基因的特点

(4) 印记具有组织及发育阶段多态性

- 人*KCNQ1*基因在多数组织表现为父系印记，但在心脏中则表现为双亲表达(Lee et al., 1997)
- 小鼠*Grb10*基因在多数胚胎组织器官中是父系印记，但在大脑中是双等位基因表达，而成体的大脑中则倾向于父本等位基因表达(Hikichi et al., 2003)

二、印记基因的特点

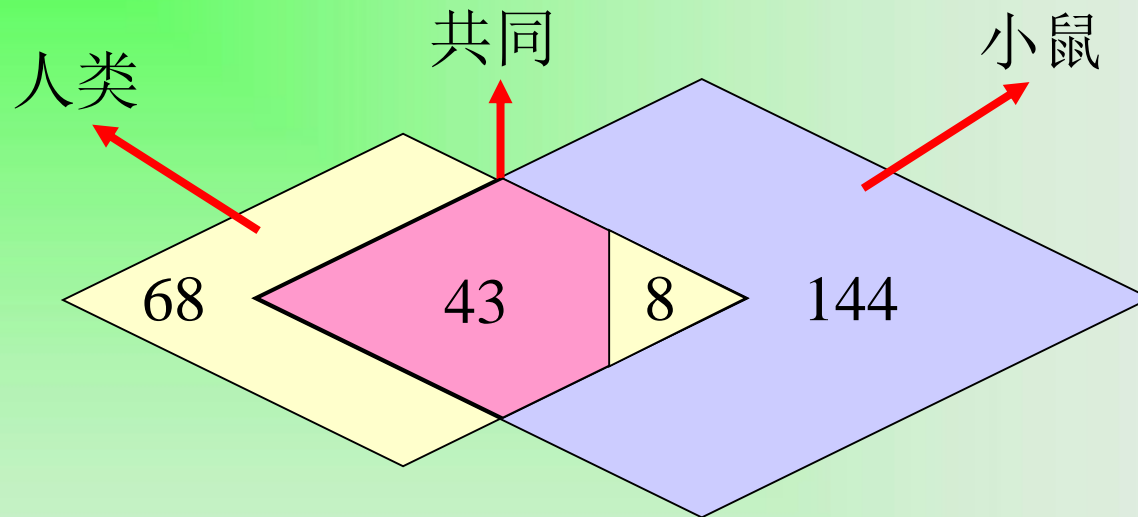
(5) 印记基因遗传印记的保守性

即大多数印记基因在不同的物种中印记状态与印记方向一致；

如*PEG10*基因在人、鼠、牛、猪、羊等物种中均表现为母系印记。

在人类和小鼠中签定的印记基因(部分)

基因名	位置(染色体)		印记状态	
	人	小鼠	人	小鼠
<i>COMMD1</i>	2	11	否	父系
<i>PLAGL1</i>	6	10	母系	母系
<i>IGF2R</i>	6	17	父系	父系
<i>GRB10</i>	7	11	多态	多态
<i>PEG10</i>	7	6	母系	母系
<i>PPP1R9A</i>	7	6	父系	父系
<i>DLX5</i>	7	6	父系	父系
<i>MEST</i>	7	6	母系	母系
<i>COPG2</i>	7	6	母系	父系
<i>H19</i>	11	7	父系	父系
<i>IGF2</i>	11	7	母系	母系
<i>IGF2AS</i>	11	7	母系	母系
<i>TSPAN32</i>	11	7	否	母系
<i>TSSC4</i>	11	7	否	父系
<i>KCNQ1</i>	11	7	父系	父系
<i>KCNQ1OT1</i>	11	7	母系	母系
<i>CDKN1C</i>	11	7	父系	父系

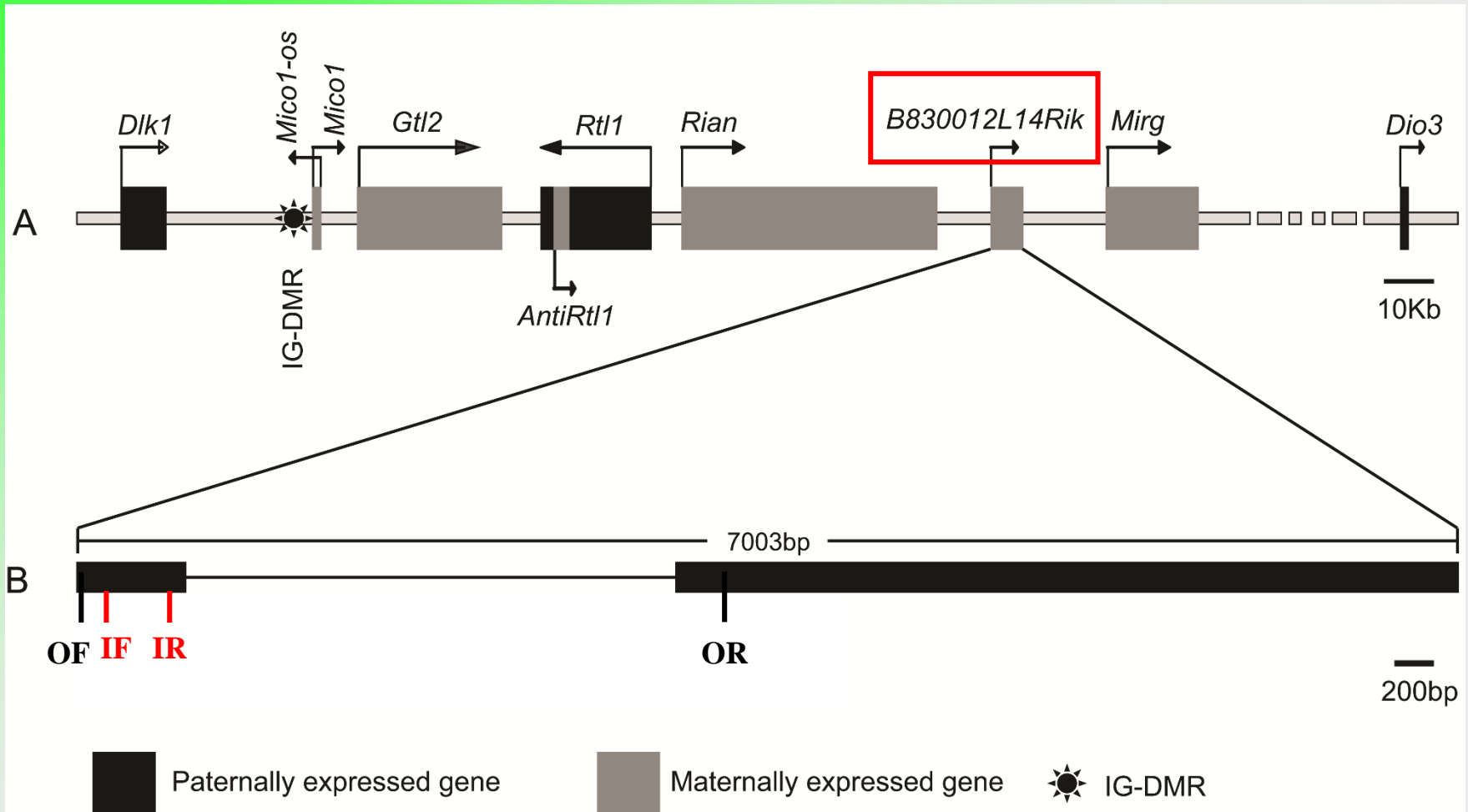


2015年12月

<http://igc.otago.ac.nz/home.html>

<http://www.mgu.har.mrc.ac.uk/printing/implinkhtml>

印记基因的鉴定方法



1、SNP检索

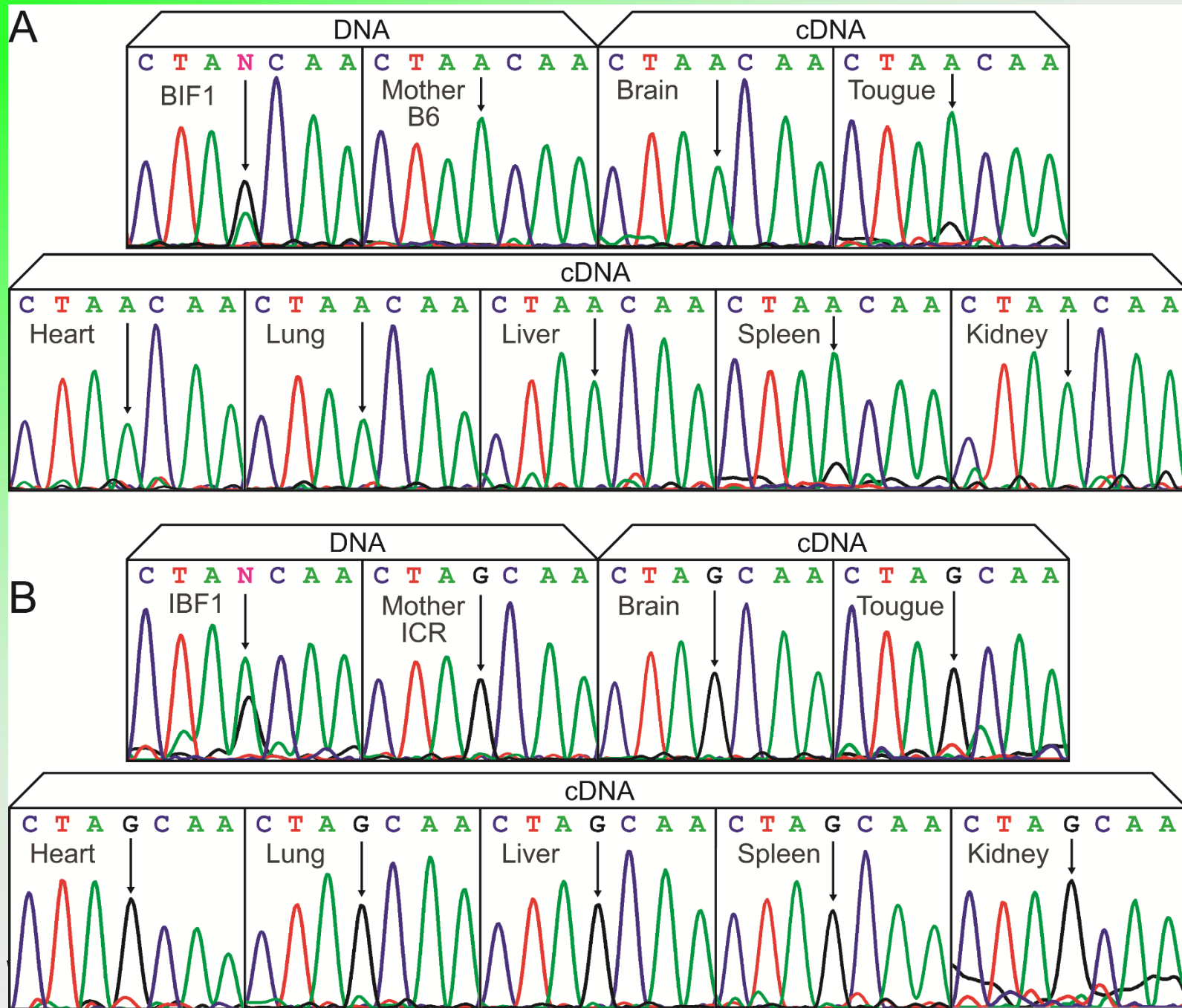
2、样品制备（小鼠正反交）

3、PCR扩增

	DNA	cDAN	引物
父本	√		IF/IR
母本	√		IF/IR
子代	√		IF/IR
子代各组织器官		√	OF/OR和IF/IR

4、PCR产物纯化

5、PCR产物测序






三、基因组印记的分子机制

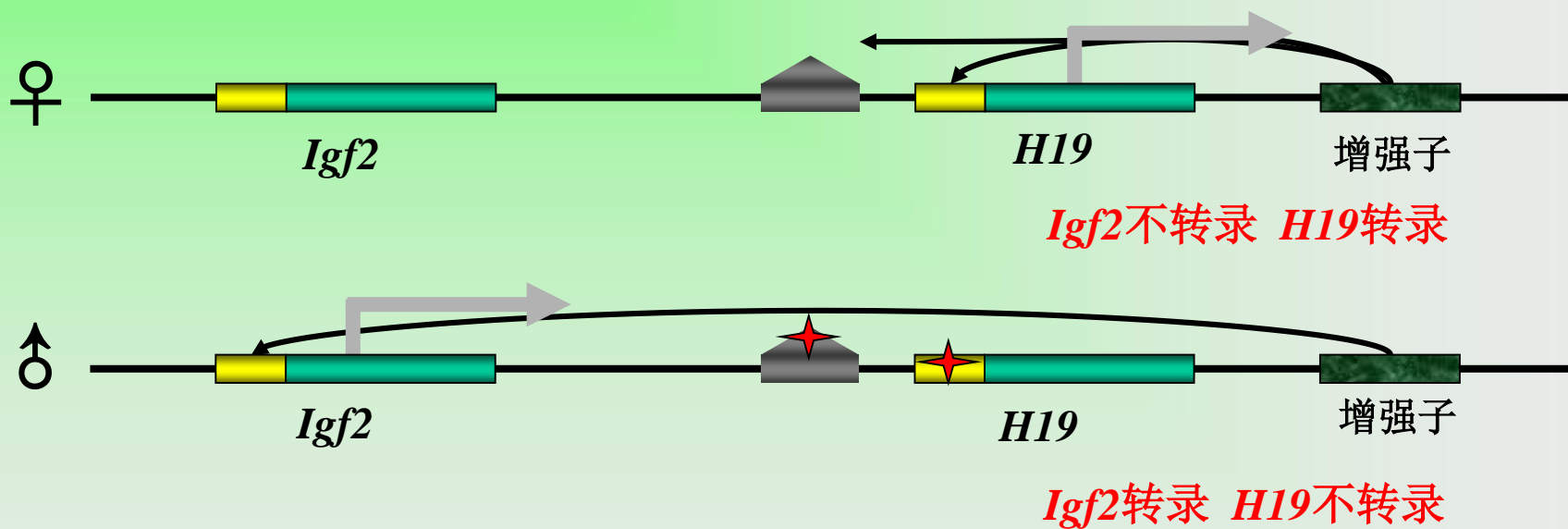
1、印记基因表达调控的经典实例

(1)、*H19*和*Igf2*的边界元件作用模式

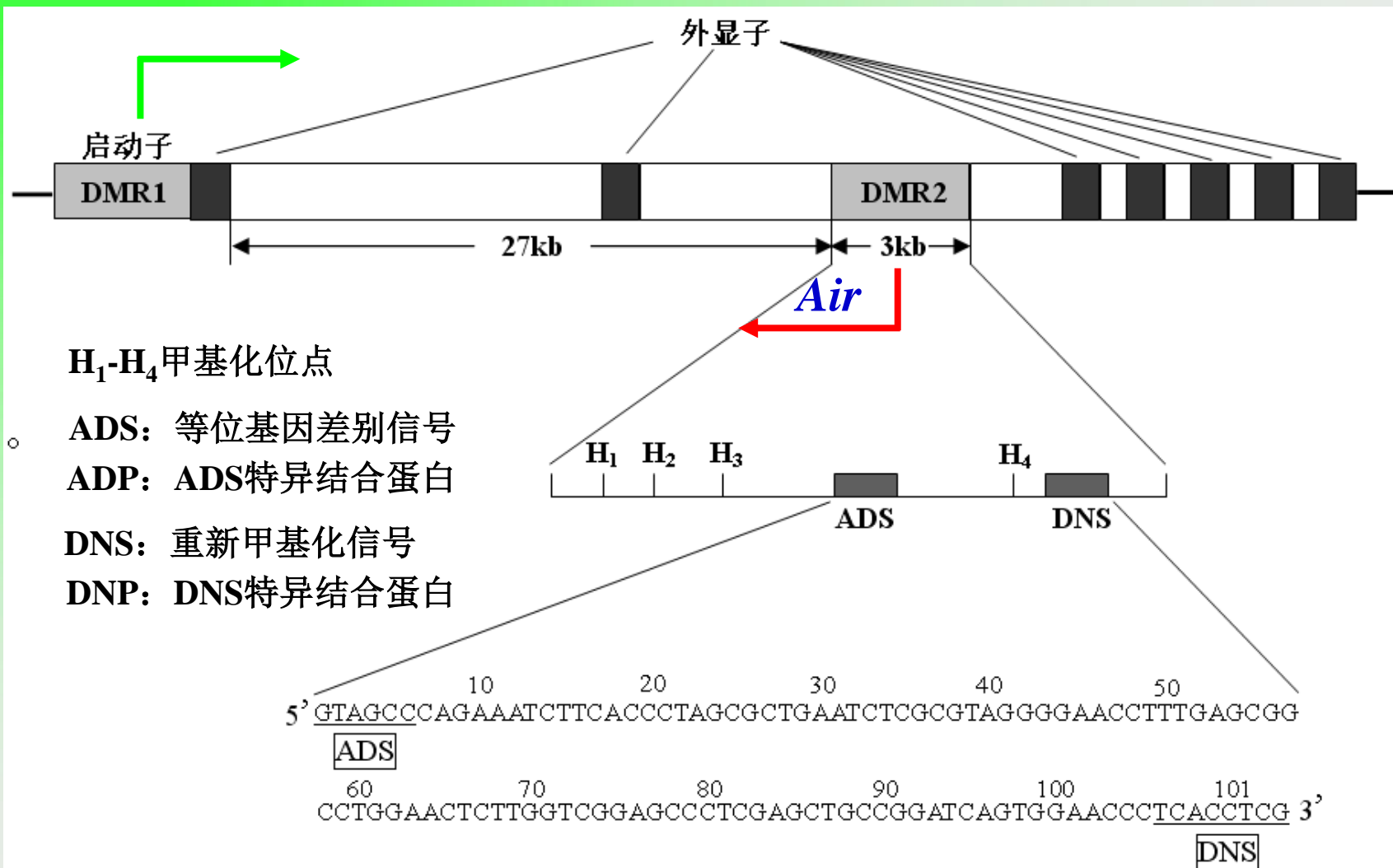
- *Igf2*和*H19*分别位于人和小鼠的11号和7号染色体;
- 位于同一基因簇内, 位置相邻, *Igf2*位于上游;
- 交互印记(*Igf2*母系印记, *H19*父系印记);
- 在*H19*基因的上游有DMR控制基因的表达;
- 在*H19*下游存在一个增强子;
- *Igf2*和*H19*之间存在一个ICE, 也是DMR;

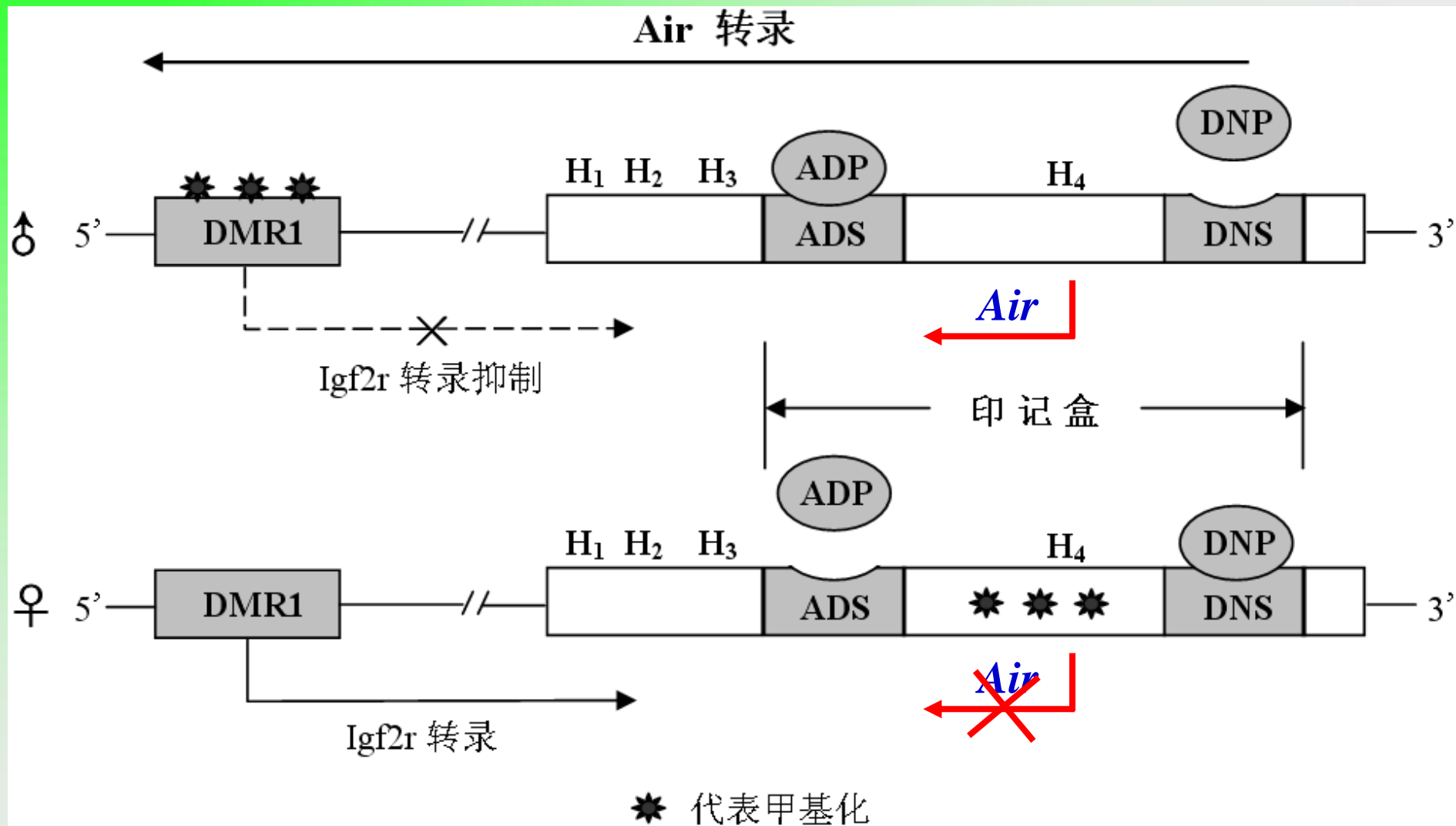
 增强子阻遏蛋白(CTCF)

 甲基化
 启动子
 印记控制中心

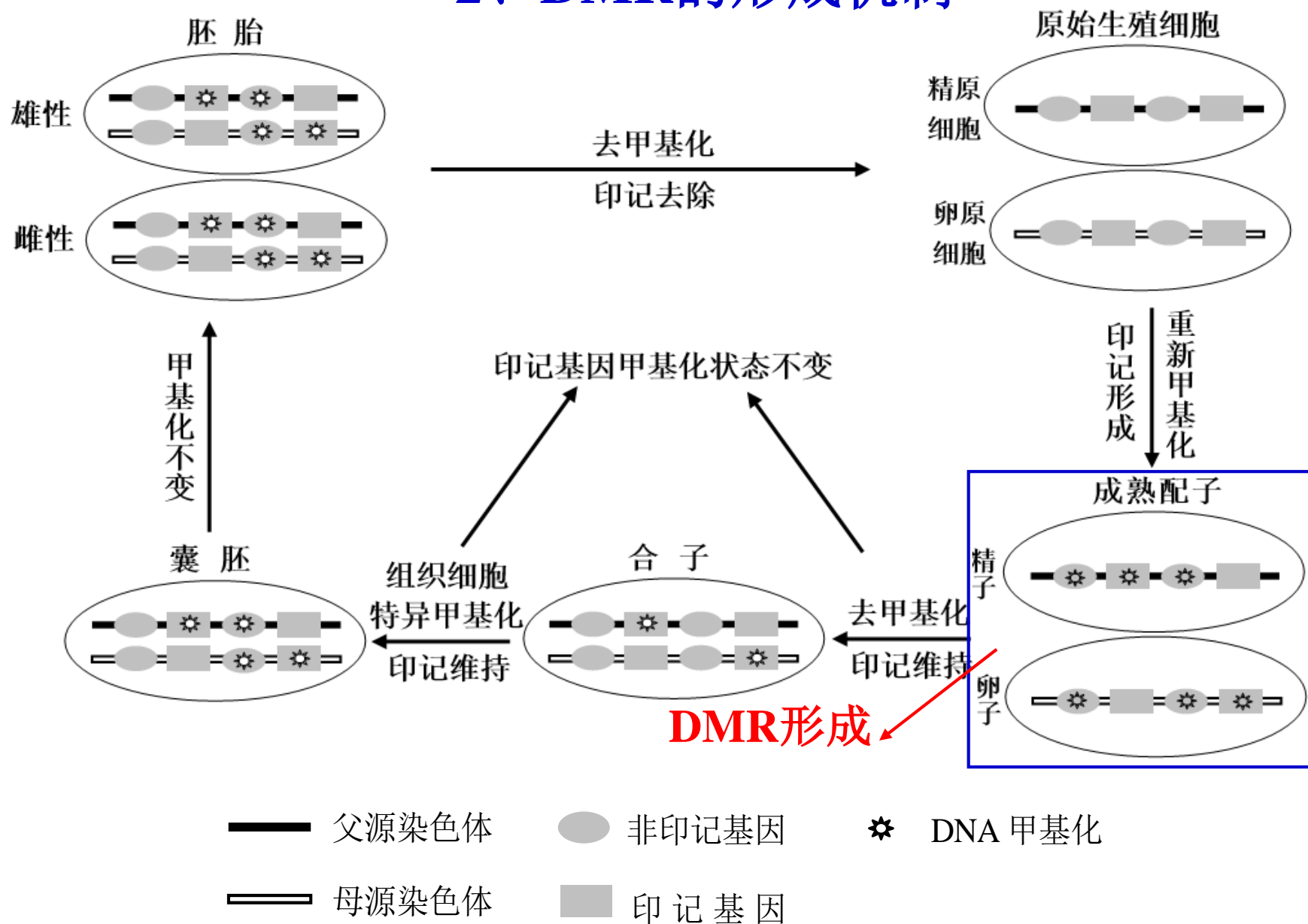


(2)、*Igf2r*和*Air*的印记盒调控模式





2、DMR的形成机制



印记基因与非印记基因的甲基化在生命周期中变化的异同点：

相同点：都要经历两次去甲基化和重新甲基化的过程；

不同点：

➤印记基因在经历第一次去甲基化和重新甲基化后甲基化状态保持不变，非印记基因则在第二次去甲基化和重新甲基化后甲基化状态保持不变；

➤印记基因的父亲源与母源等位基因在经历了第一次重新甲基化后甲基化状态不同，而非印记基因则在两次去甲基化和重新甲基化的过程中甲基化状态始终一致；

3、关于揭示印记机制的关键性问题

配子中，甲基化如何区分父系印记基因、母系
印记基因和非印记基因？

四、印记基因的生理功能

在生理上主要是调节细胞周期(分裂与凋亡)，表型上表现为：

- 1、调节胚胎和出生后的生长发育
- 2、调节神经系统的发育
- 3、其他功能

五、与基因组印记异常有关的疾病

1、 PWS (Prader-Willi Syndrome)

普拉德-威利综合征

先天性神经异常发育综合征

病因：15q11-q13区父本表达基因的缺失或母本的单亲二体(UPD)

症状：智能障碍、婴儿时期肌肉张力低、发育迟缓、身材矮小、手掌及脚掌偏小、因过于旺盛的食欲导致肥胖并伴有早发性糖尿病。





2、 AS (Angel-man Syndrome)

安格曼综合征

快乐木偶综合征

病因：15q11-q13区母本表达基因的缺失或父本的单亲二体(UPD)

症状：智能障碍、常发笑、痉挛、缺乏语言能力、移动与平衡运动困难，有颤抖的步伐与颤动的四肢，时有癫痫症状。



3、 BWS (Beckwith-Wiedemann Syndrome)

贝克威思-威德曼综合征

生长过剩综合征

病因： 11p15.5印记区印记基因(主要是 $IGF2$ 和 $CDKN1C$)
的表达异常

症状：舌巨大，脐膨出和生长过剩为三大主要特征，同时伴有内脏肿大（主要为肝、肾和脾的肿大），出生时低血糖，单侧肥大（身体的一侧生长过剩）等生长异常。



4、RSS (Russell-Silver Syndrome)

罗素-西弗氏综合征

不对称身材-矮小-性发育异常综合征

病因：11p15.5印记区印记基因(主要是*IGF2*和*CDKN1C*)
的表达异常

症状：身材矮小，发育迟缓，面部特征异常，四肢长度不对称，第五手指弯曲向内，单侧肥大（身体的一侧生长过剩）等生长异常。



5、肿瘤 (Tumours)

病因：任何印记基因的表达异常

症状：略。

如：Wilms tumor (nephroblastoma)



六、基因组印记与进化

- 在二倍体中，一些有害的退化性突变被隐藏而在单倍体中则显现出来，因而对生物而言，保持两套染色体较一套染色体更有利。

为什么在一些二倍体生物的组织中，一些基因受印记控制，行为上类似于单倍体呢？



1、冲突假说

- 基因作为选择的单位，通常编码一种“自私”策略，以使自身能够生存并传播到将来的世代
- 在雌性哺乳动物怀孕期间，母亲提供给胎儿的营养总量一方面影响母亲未来的生殖潜能，另一方面也影响当前胎儿的生存状态

对当前和未来生殖的权衡便构成了冲突假说的中心

- 父本基因使自己的后代尽量多地从母本吸收营养，
因而父本基因尽量促进个体生长

本身不表达抑制生长的基因 → 父系印记

- 母本基因要尽量地减少营养被某个个体过多吸收，
因而母本基因尽量抑制个体生长

本身不表达促进生长的基因 → 母系印记

结论： 根据营养冲突假说，母方使那些能促进胚胎和胎盘生长的基因发生印记，而父方却使那些抑制其生长的基因发生印记，即父本表达的印记基因是促进生长的基因，母本表达的印记基因是抑制生长的基因

- *大部分印记基因的功能支持冲突假说
- *卵生动物不存在印记基因

与现实的矛盾：

- 一些印记基因与生长无关；
- 一些与生长有关的印记基因在其他物种中是非印记的；

2、适应假说

印记是一种防御机制，可以区分两个亲本的基因组，从而防止孤性生殖、染色体增加或丢失、不利的体细胞突变等现象的发生。鱼类有单性生殖，鸟类有孤雌生殖，因而这些物种中不存在印记。

问题与展望

- 为何印记?

是进化还是
退化?

是大自然对高等生命
无节制繁衍的制约?

强调两性和谐、共生?



问题与展望

- 如何印记?

为什么DNA甲基化能够区分父系印记基因、母系印记基因和非印记基因?

指导差异甲基化的物质有哪些?



请思考

鉴定印记基因为什么采用正反交？