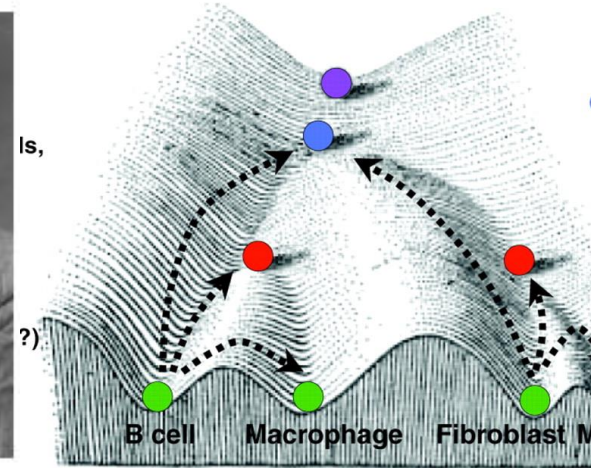
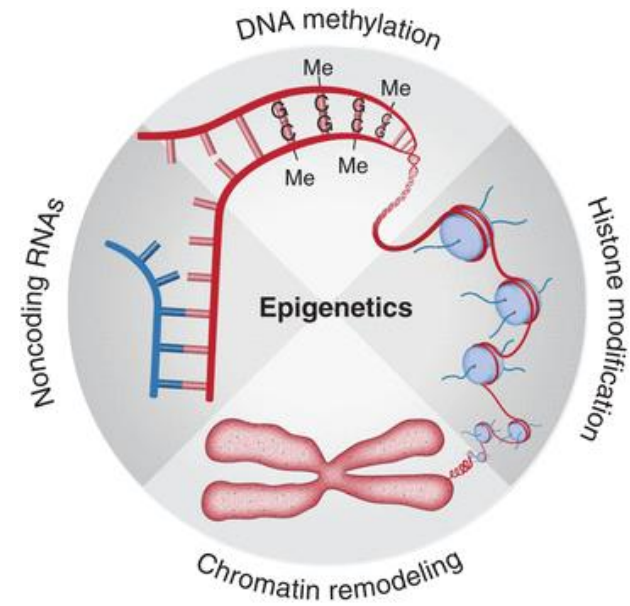


表观遗传调控

■ 1942年: 英国发育学家 Waddington 首先提出 epigenetics 作为遗传学的分支学科, 用于解释从基因型到表型的发育过程中除遗传以外的机制。

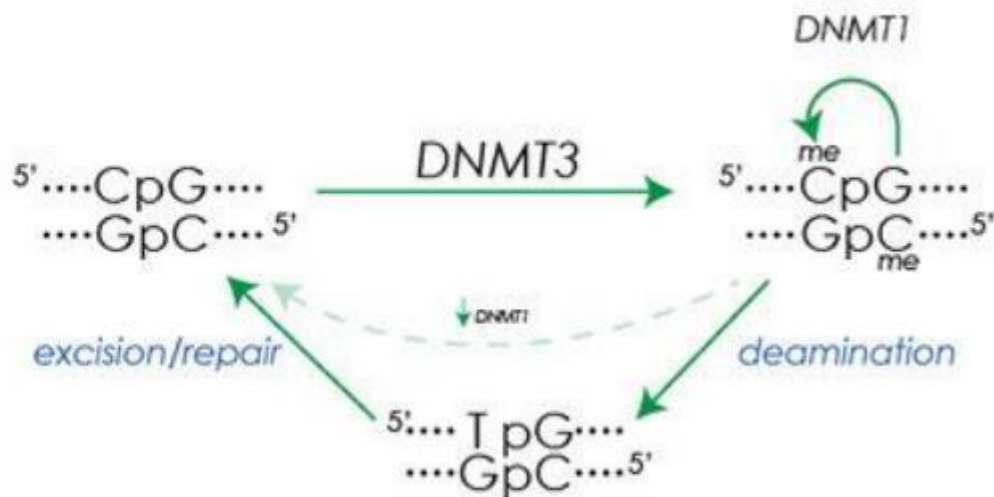
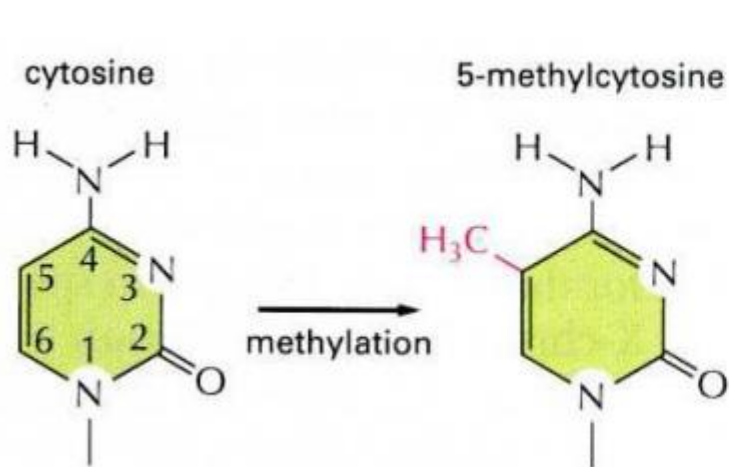


■ 2007年: 由DNA甲基化、组蛋白修饰、RNA介导的基因沉默等造成的染色体结构适应性变异, 可改变染色体的表达活性, 但并不一定可遗传。---- Adrian Bird



一、DNA甲基化

- DNA序列中的胞嘧啶(C)能够被甲基化修饰，形成5-甲基胞嘧啶 (5mC);
- 催化DNA甲基化修饰的是DNA甲基转移酶 (DNA methyltransferase, DNMT);
- 哺乳动物细胞中，DNA甲基化主要发生在5'-CpG-3'中的C上;

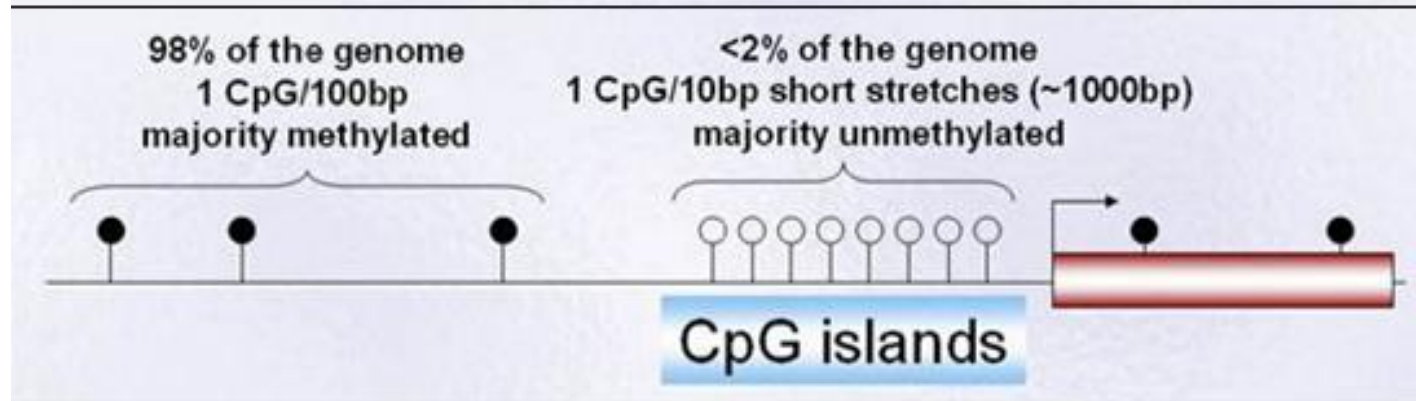


Genomic distribution of DNA methylation

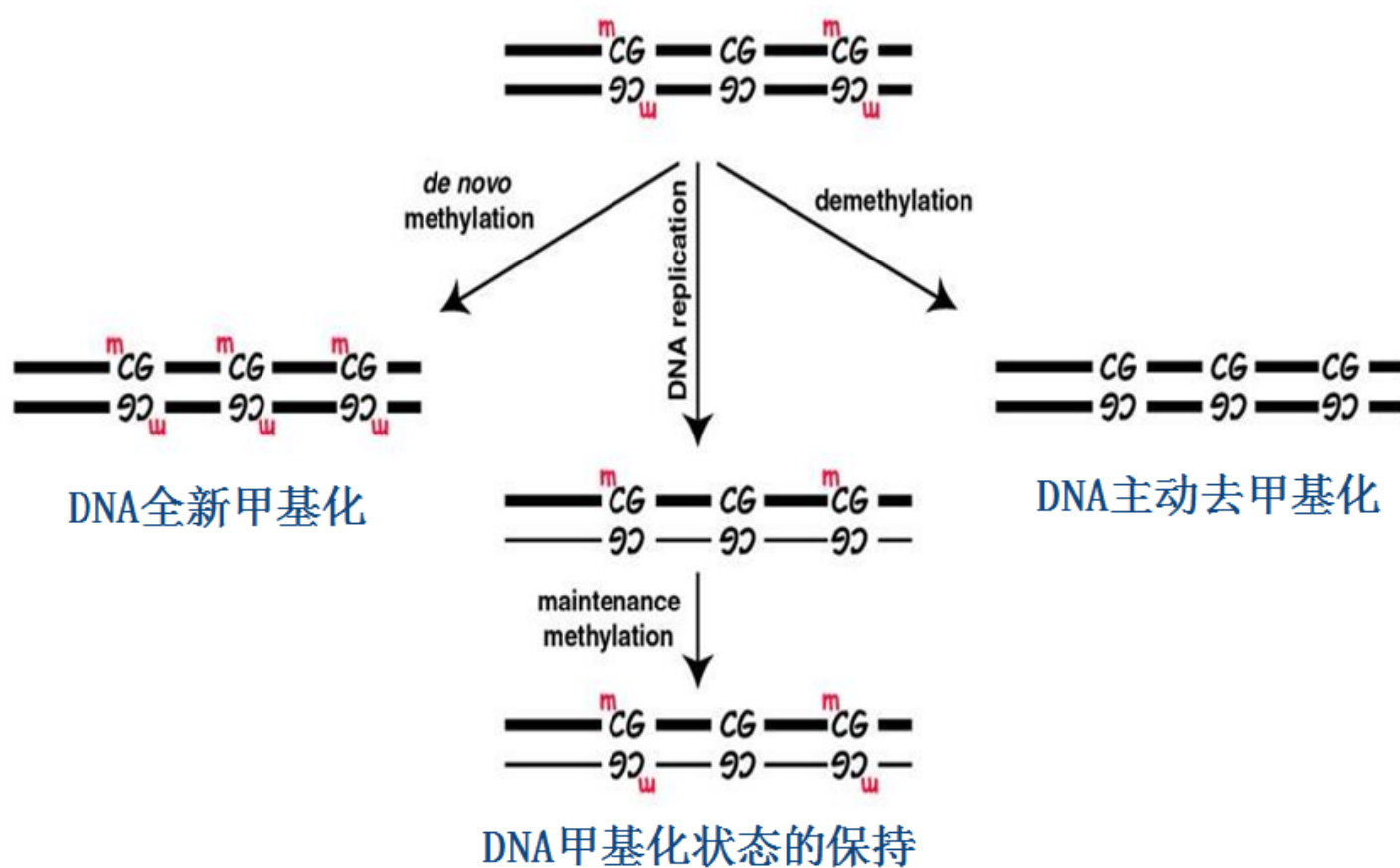
Methyl-Cytosine



4% of all cytosines are methylated
70-80% of all CpGs are methylated






- CpG二核苷酸在哺乳动物基因组中的分布显著不均匀。多数区域密度极低且多被甲基化修饰，少数区域呈现高密度分布且没有甲基化修饰；
- **CpG岛(CpG island):** 哺乳动物基因组中，长度为0.3-3kb，富含CpG二核苷酸成分(GC含量> 50%) 的DNA序列。多位于基因上游的转录调控区域，与编码基因的表达密切相关。



动物中DNA 甲基转移酶有两种：

- 1) DNMT1：持续性DNA 甲基转移酶——作用于仅有一条链甲基化的DNA 双链，使其完全甲基化，可参与DNA 复制双链中的新合成链的甲基化；
- 2) DNMT3a、DNMT3b：从头甲基转移酶，它们可甲基化CpG，使其半甲基化，继而全甲基化。

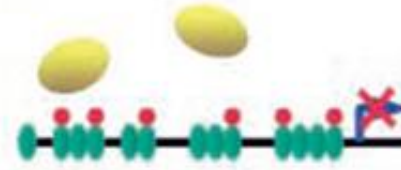
 CpG pair  CH₃ on cytosine  transcription factor

A



Unmethylated (or hypomethylated) promoter allows gene transcription

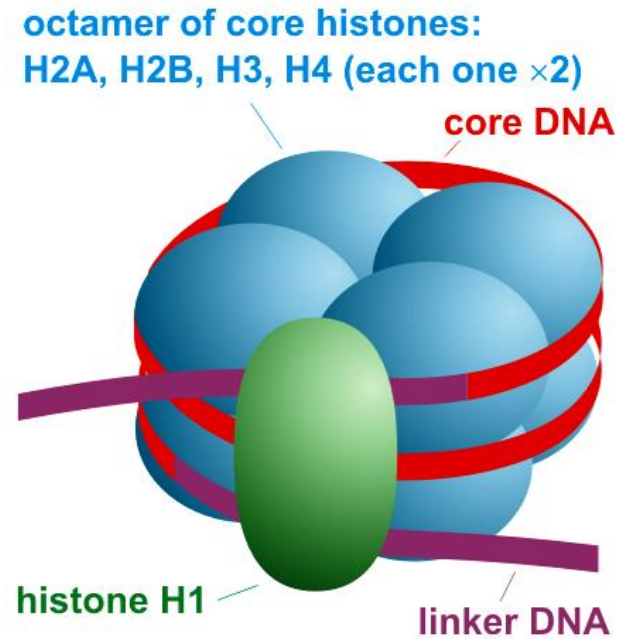
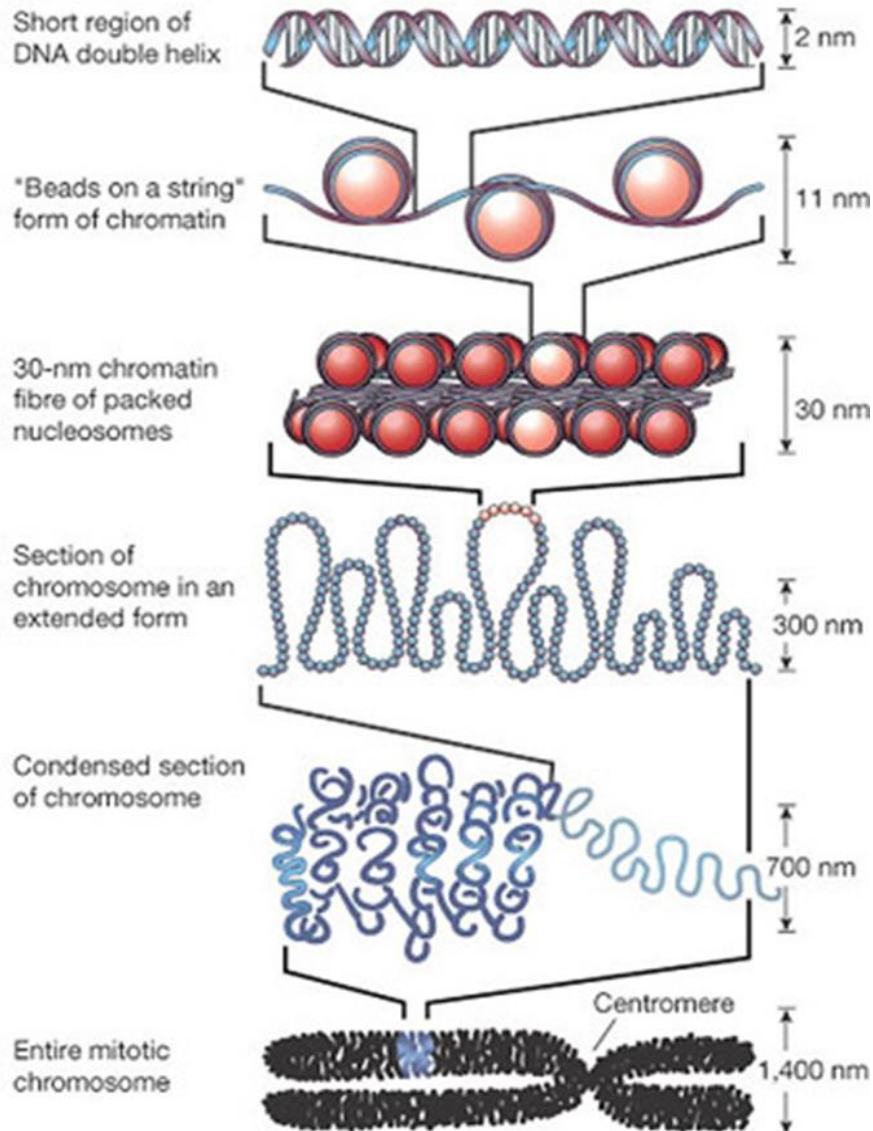
B



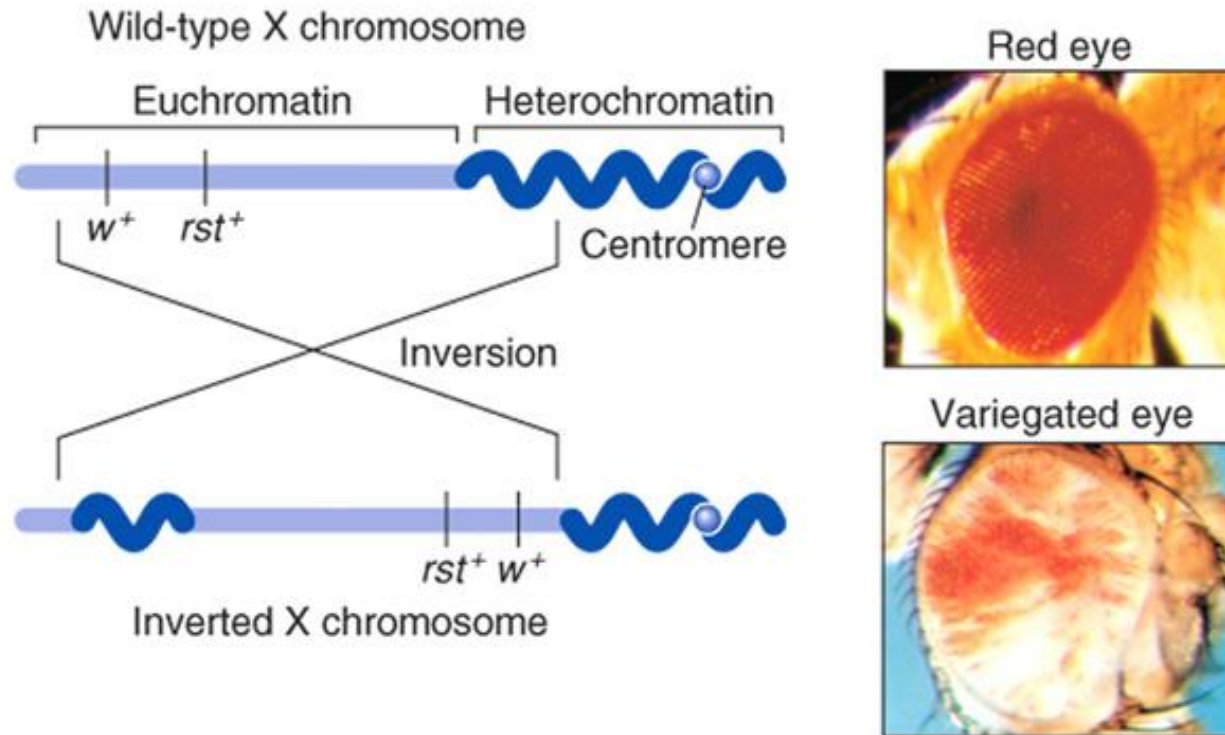
Methylated CpGs block binding of TFs; hence, transcription blocked

甲基化/去甲基化的CpG岛招募不同的DNA结合蛋白，动态调节染色质结构，从而促进编码基因的表达关闭/开启（或转座序列的沉默/转座）。

二、染色质结构与组蛋白修饰

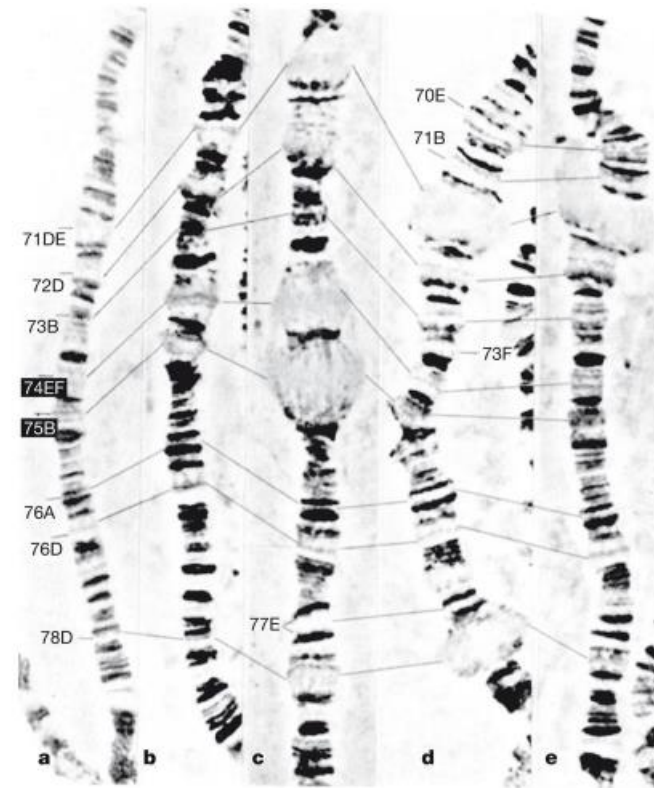


Position-effect variegation



斑点位置效应 (Position-effect variegation, PEV): 当常染色质区基因人为转移到异染色质环境时, 其功能可能发生异常; 从而在个体中表现出正常和异常的混合性状。

果蝇唾液腺染色体 上的“puff”结构

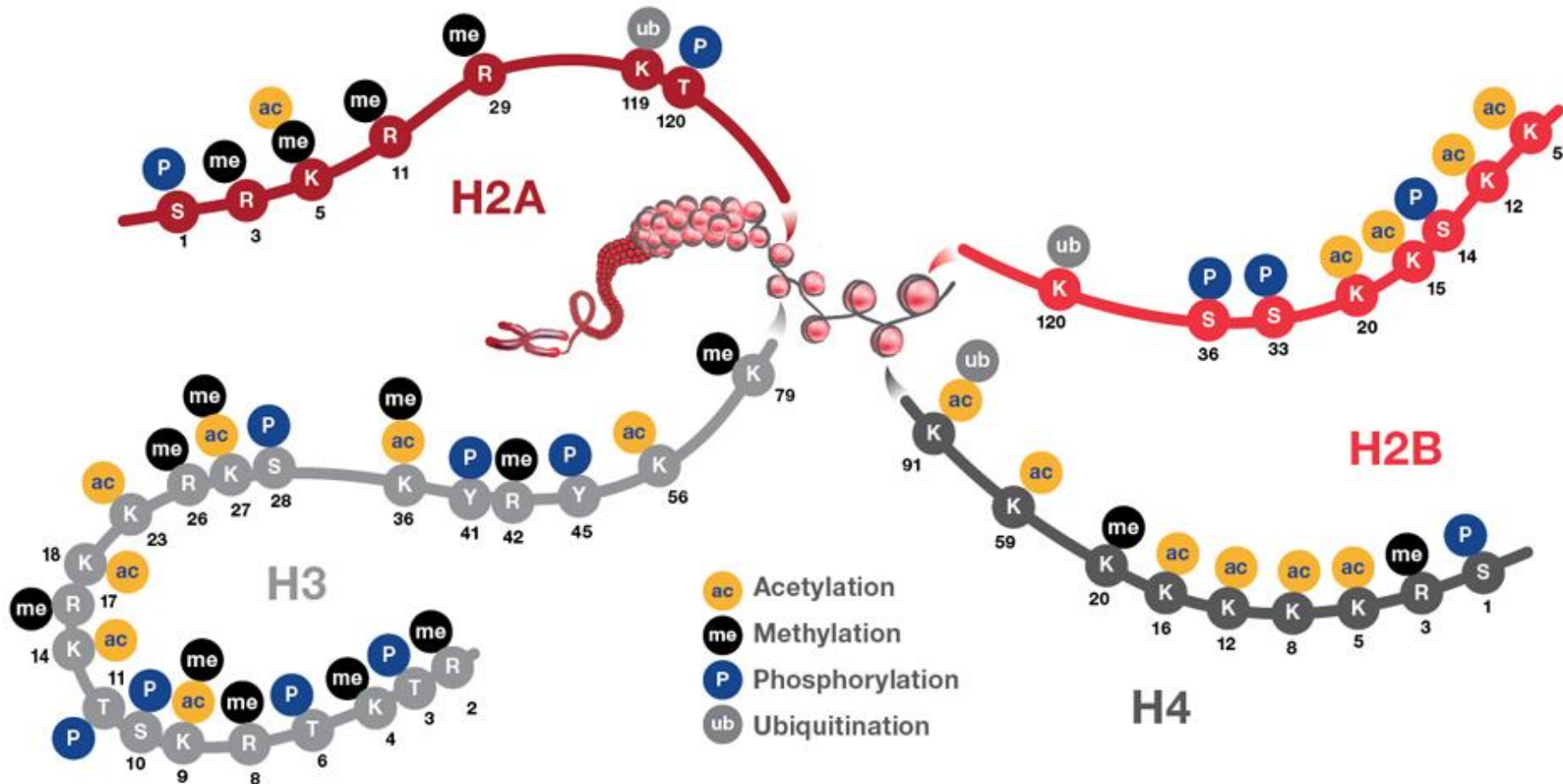


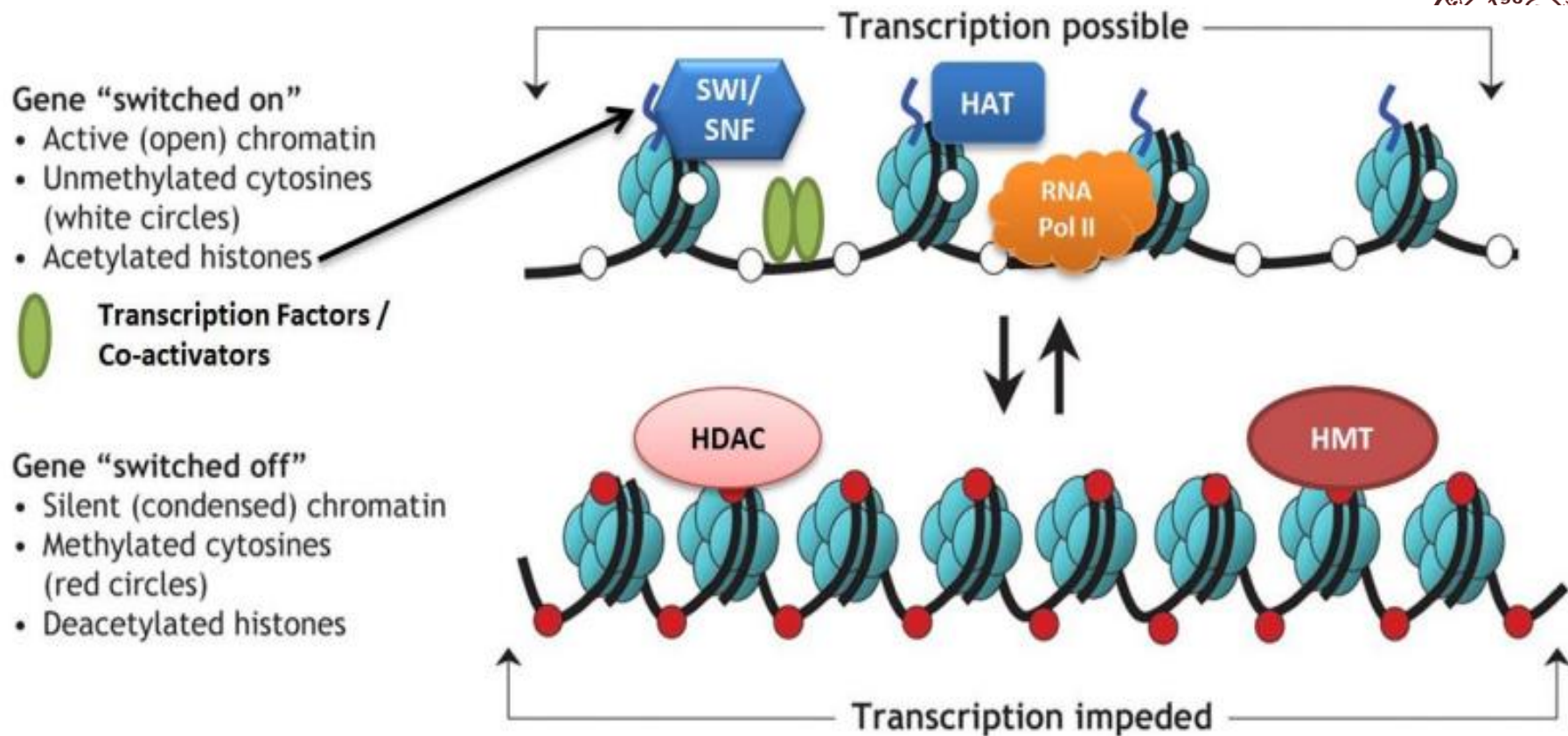
John T. Lis, *Nature* 450, 198-202(2007)

染色质重塑 (chromatin remodeling): 核小体包装程度在转录、复制、修复等过程中发生动态变化。影响染色质重塑的因素包括组蛋白的修饰与DNA甲基化。

组蛋白修饰:

乙酰化、磷酸化、糖基化、甲基化、泛素化





- HAT (histone acetyltransferase)与SWI/SNF染色质重构复合物促进组蛋白的乙酰化;
- HDAC (histone deacetylase)促进组蛋白的去乙酰化; HMT (histone methyltransferase) 促进组蛋白的甲基化;

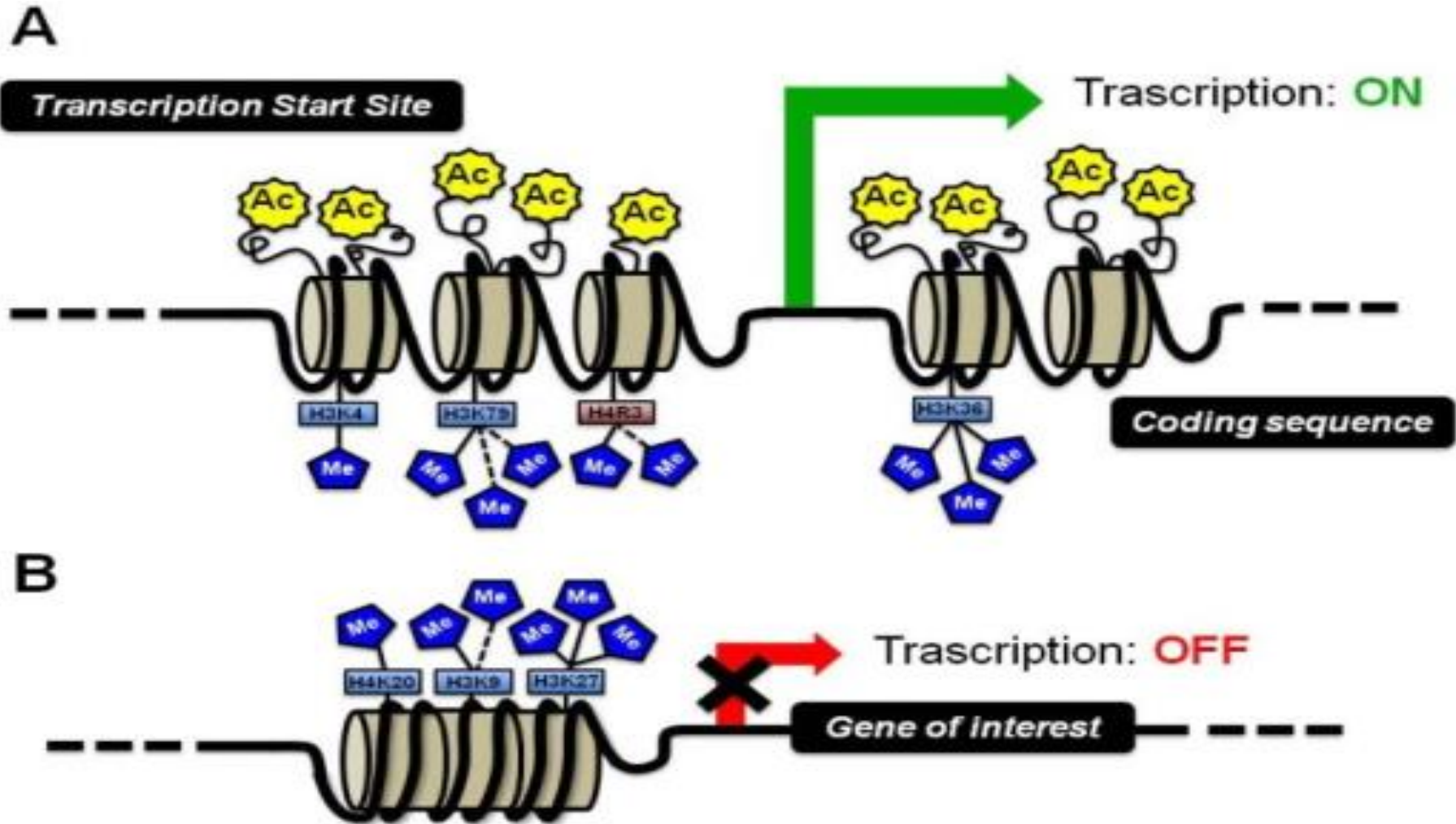


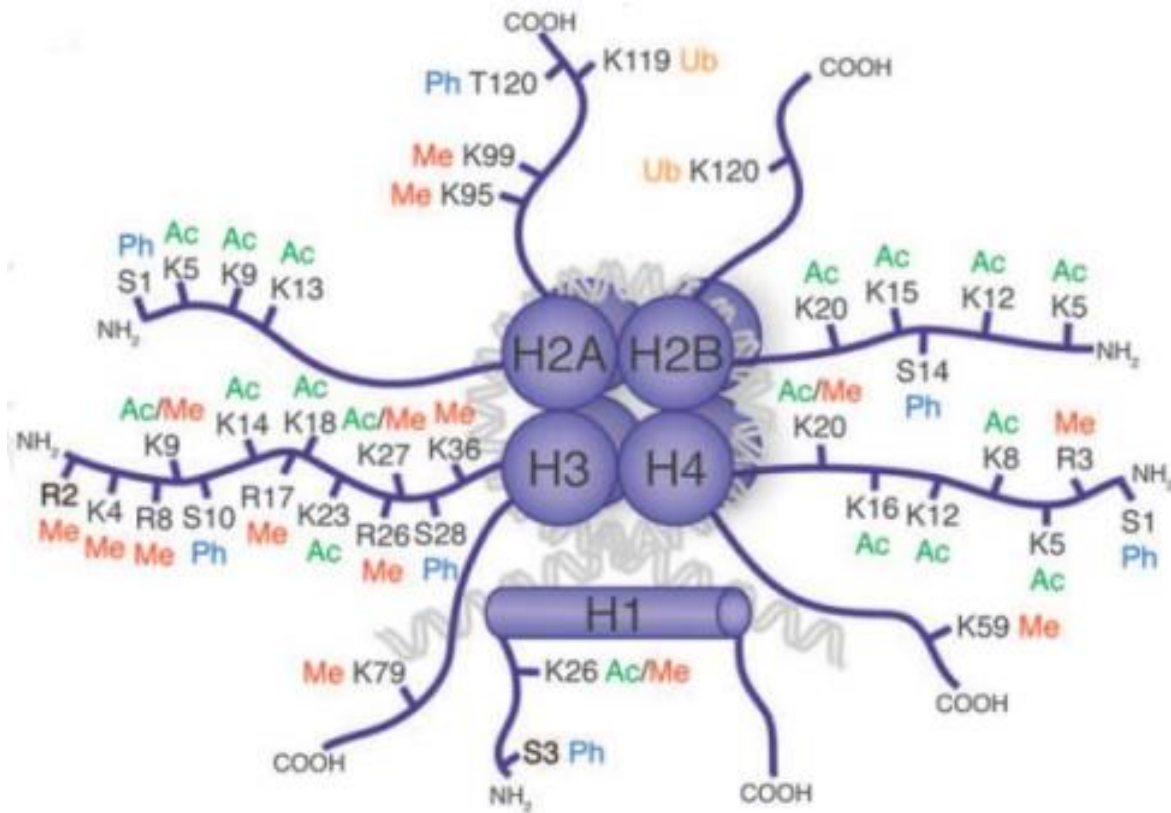
组蛋白甲基化

- 组蛋白的**赖氨酸**残基能够发生单、双、三甲基化，而**精氨酸**残基能够单、双甲基化
- 不同程度的甲基化极大地增加了组蛋白修饰和调节基因表达的复杂性。

Type of modification	Histone				
	H3K4	H3K9	H3K27	H3K79	H2BK5
mono-methylation	activation	activation	activation	activation	activation
di-methylation		repression	repression	activation	
tri-methylation	activation	repression	repression	activation	repression

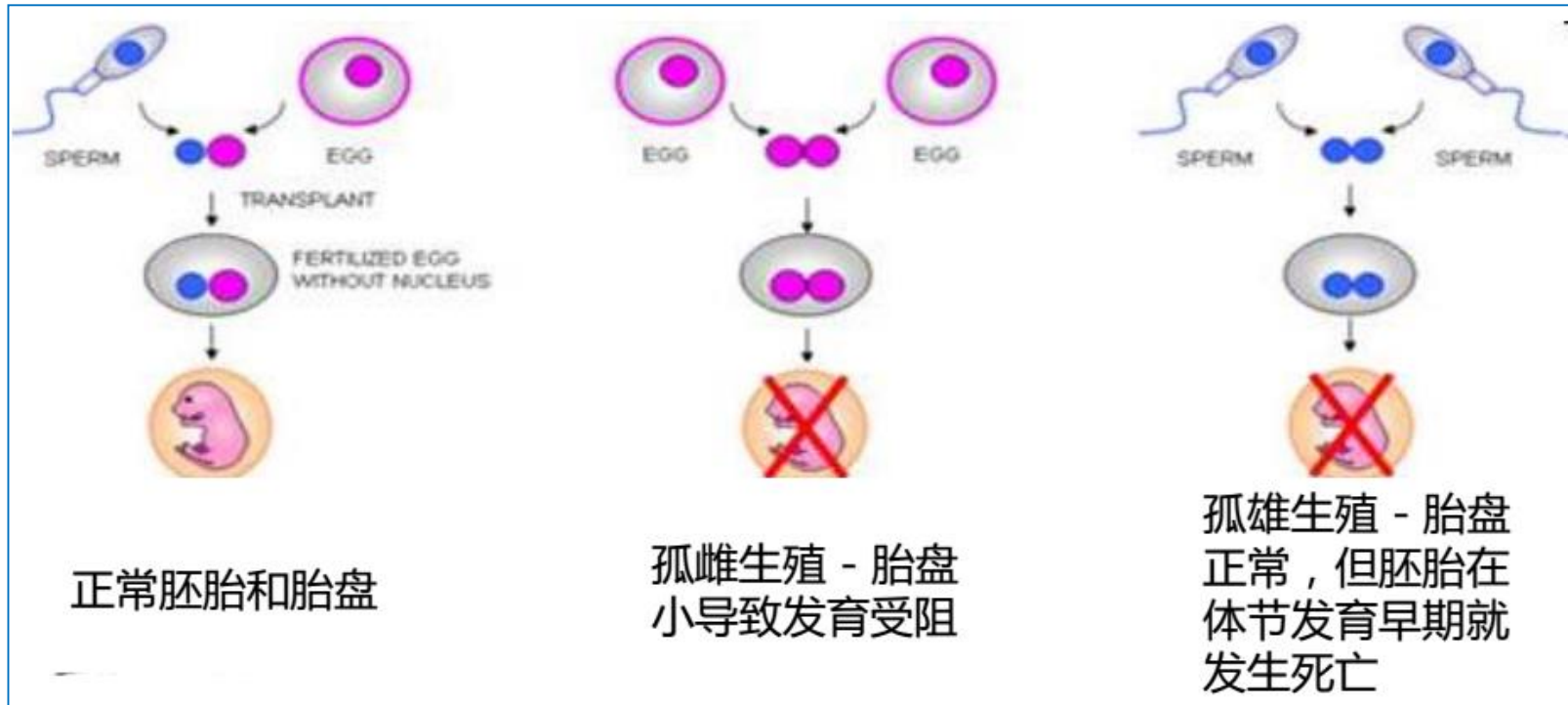
H3K9、H3K27: 乙酰化激活; 甲基化沉默;
H3K4、H3K79: 甲基化激活





- 组蛋白通过多种修饰方式灵活调控染色质的结构与功能，这些能被识别的修饰信息的总和称为**组蛋白密码**。
- 组蛋白并非只是一种包装蛋白，而是在DNA和细胞其他组分之间构筑了一个**动态的功能界面**。

三、基因组印记



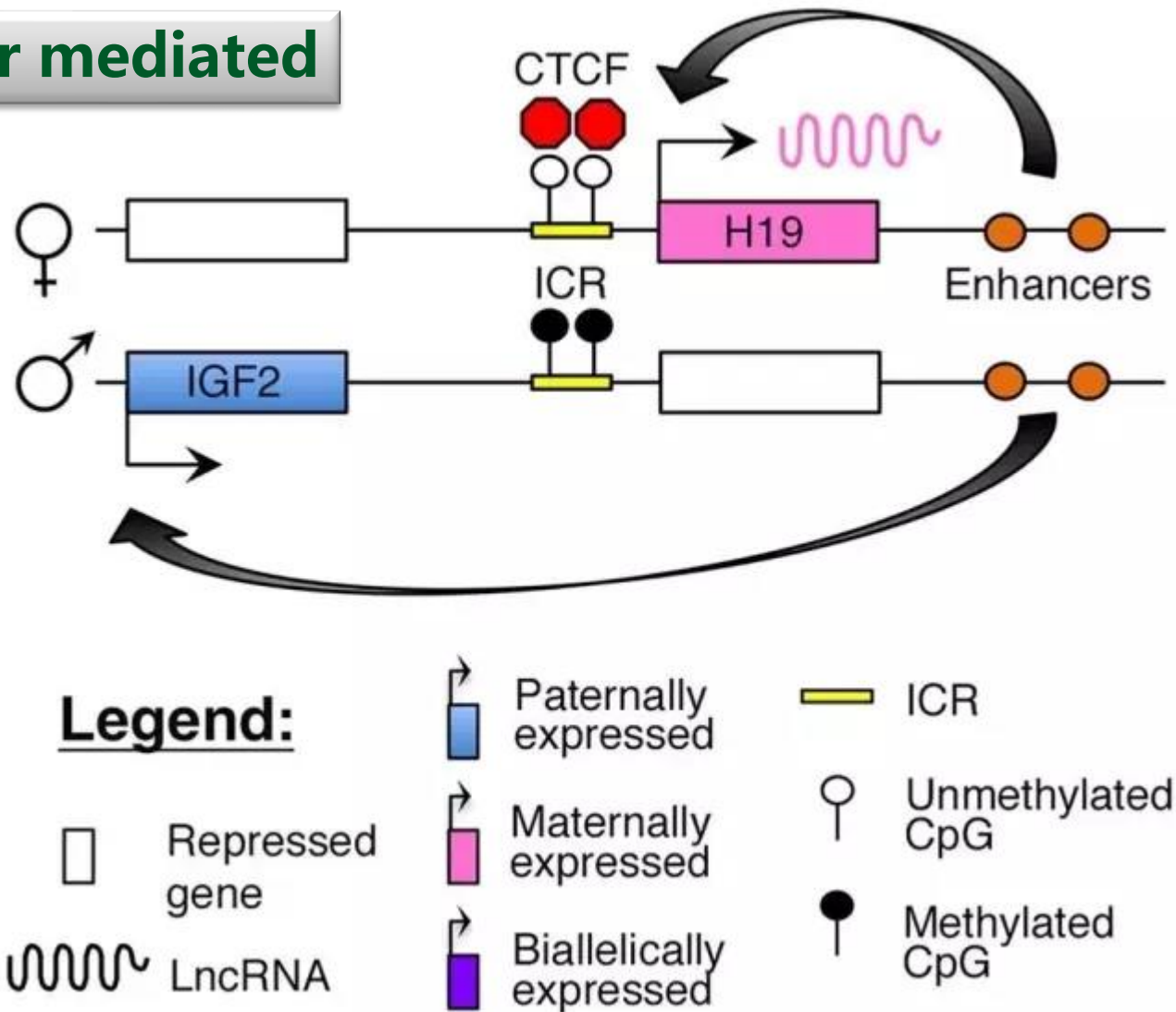
- 哺乳动物父本和母本的基因组在胚胎发育过程中具有不同的作用，都是胚胎正常发育所必需的；
- 区别父本和母本基因组的关键就是“印记”。基因组印记是调控胚胎早期发育和胚后生长的重要表观遗传机制。



- **基因组印记 (genomic imprinting):** 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;
- 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;
- 印记的存在使得基因组在一些基因座上成为了功能上的“单倍体”, 在遗传过程中表现出特殊的效应。
- 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。

Mechanism of genomic imprinting: 1

Insulator mediated

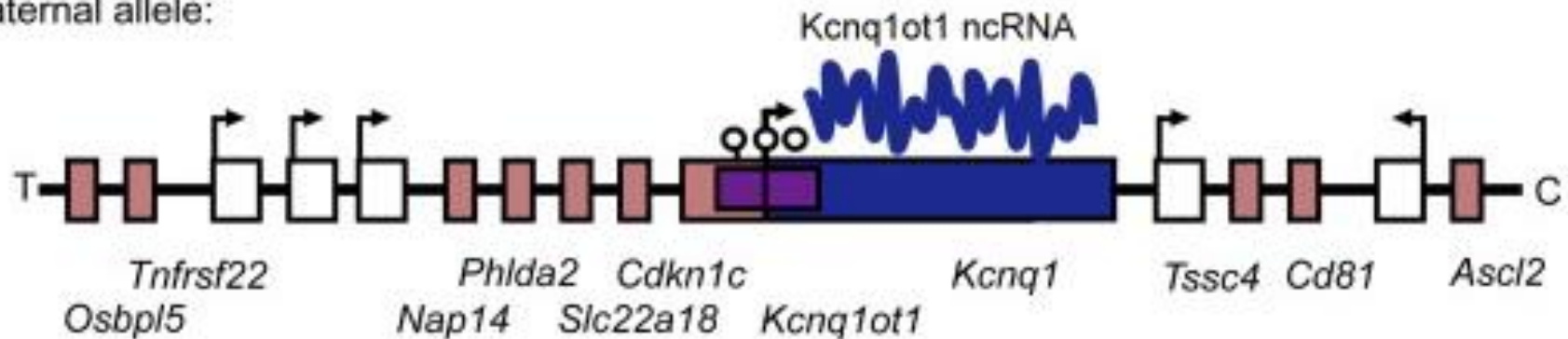


Mechanism of genomic imprinting: 2

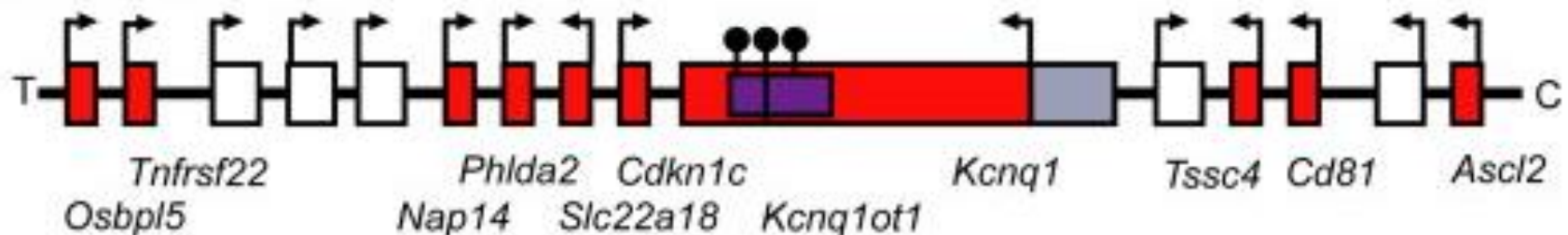
ncRNA mediated

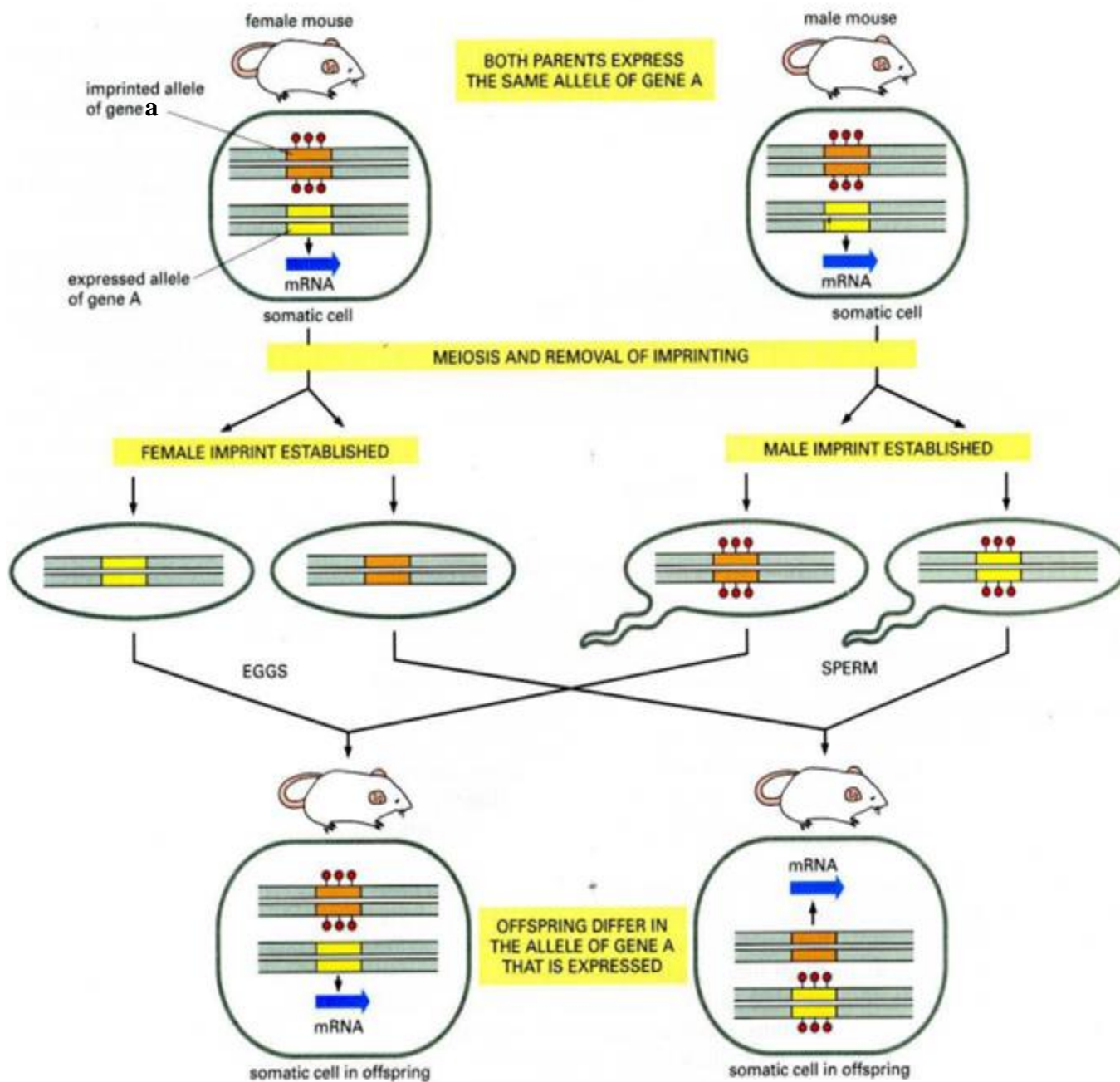
ncRNA Model of Imprinting: The Kcnq1 Domain

Paternal allele:



Maternal allele:





**亲代印记
的维持**

**生殖细胞发
生过程中印
记被去除，
并重新建立**

**子代中出现
新印记模式**



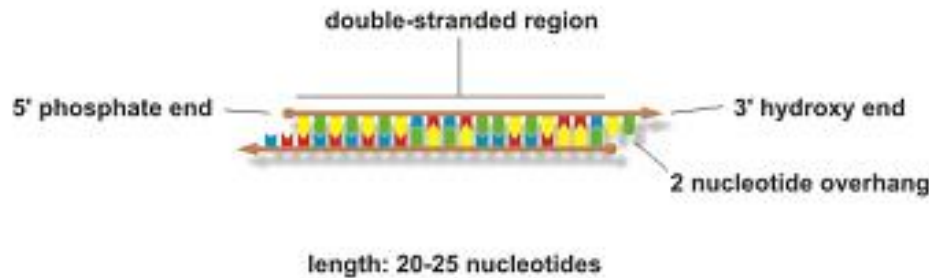
四、RNA介导的基因沉默

RNA干扰 (RNA interferece): 指与靶基因序列同源的双链RNA所诱导一种序列特异性的转录后基因沉默现象。

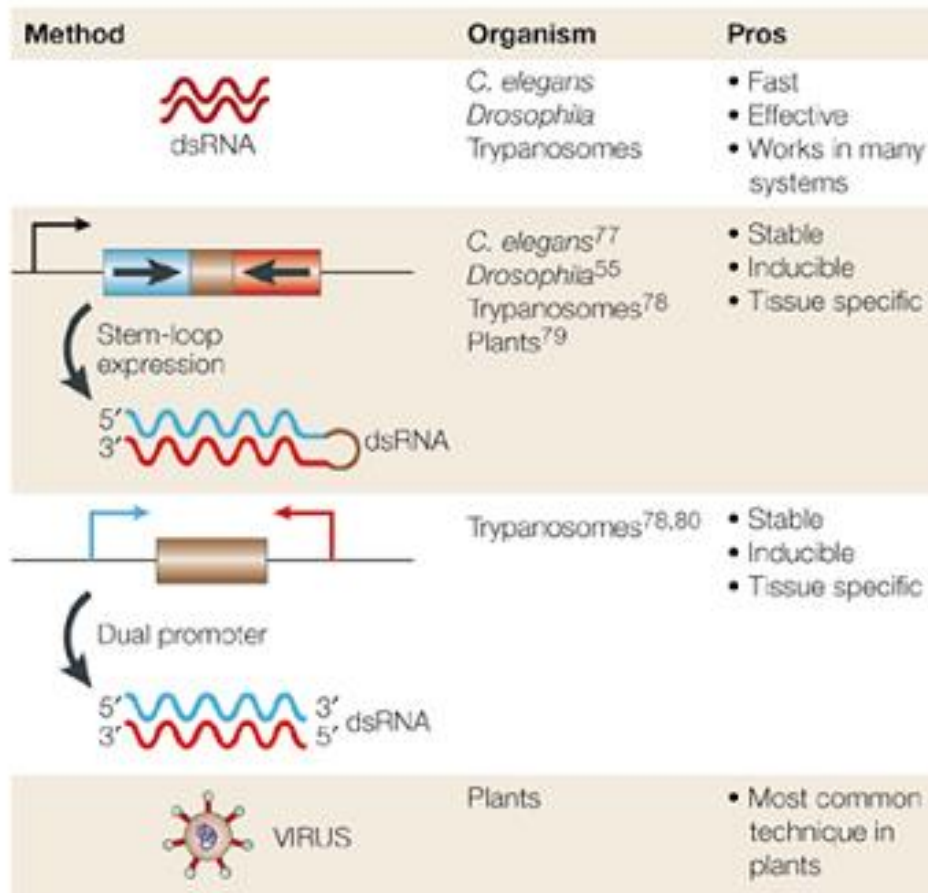
- **siRNA (small interfering RNA)**

- **miRNA (microRNA)**

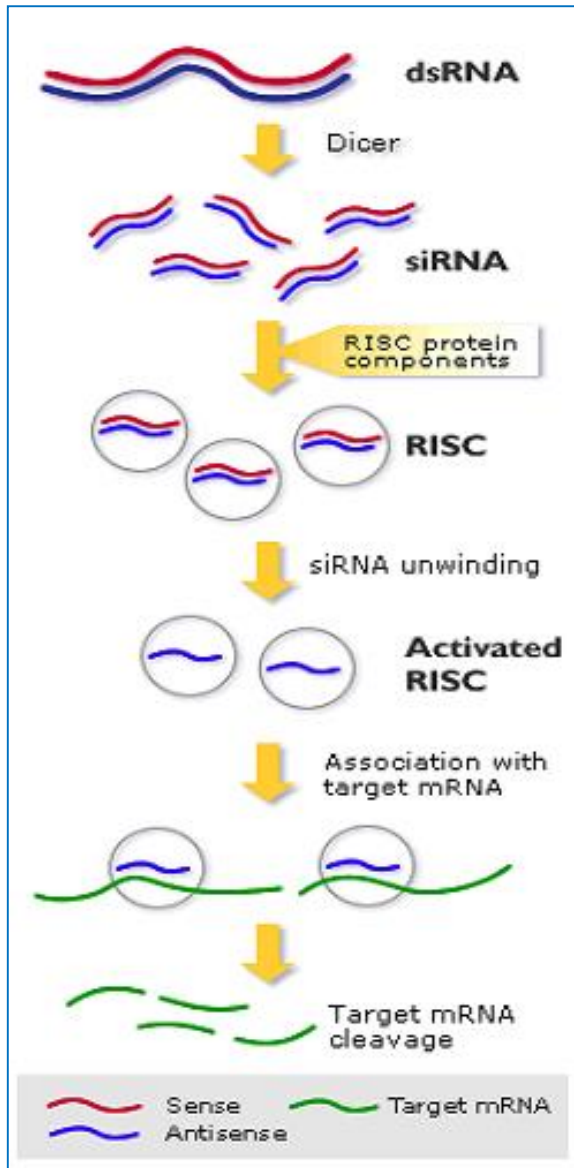
siRNA (small interfering RNA)



- 为双链RNA分子，全长20-25nt, 3' 末端具有2bp突出的粘性末端；序列与靶基因之间高度同源；
- 常见来源：
 - 1) 人工合成和直接注射；
 - 2) RNA病毒入侵；
 - 3) 基因组中反向重复序列的转录产物；
 - 4) 同一基因的双向转录产物；



siRNA介导的RNAi过程



- dsRNA经过**核酸酶Dicer**的加工成为siRNA;
- siRNA被组装至RNA诱导的基因沉默复合体 (**RNA-induced silencing complexes, RISC**)中, RISC由内切核酸酶、外切核酸酶及解旋酶等多种蛋白组成。在RISC复合物中, 双链的siRNA发生解旋, 正义链被降解, 反义链被保留;
- siRNA的反义链与靶mRNA配对结合;
- 互补结合的mRNA被RISC复合物中的RNase切割降解mRNA, 从而抑制基因表达;

Double-stranded RNA
sense



antisense



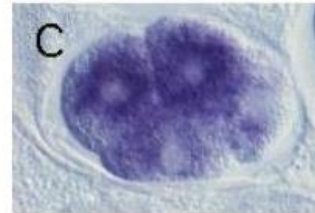
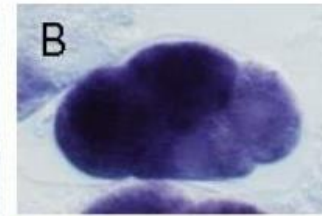
inject



C. elegans

Neg. control

Uninjected

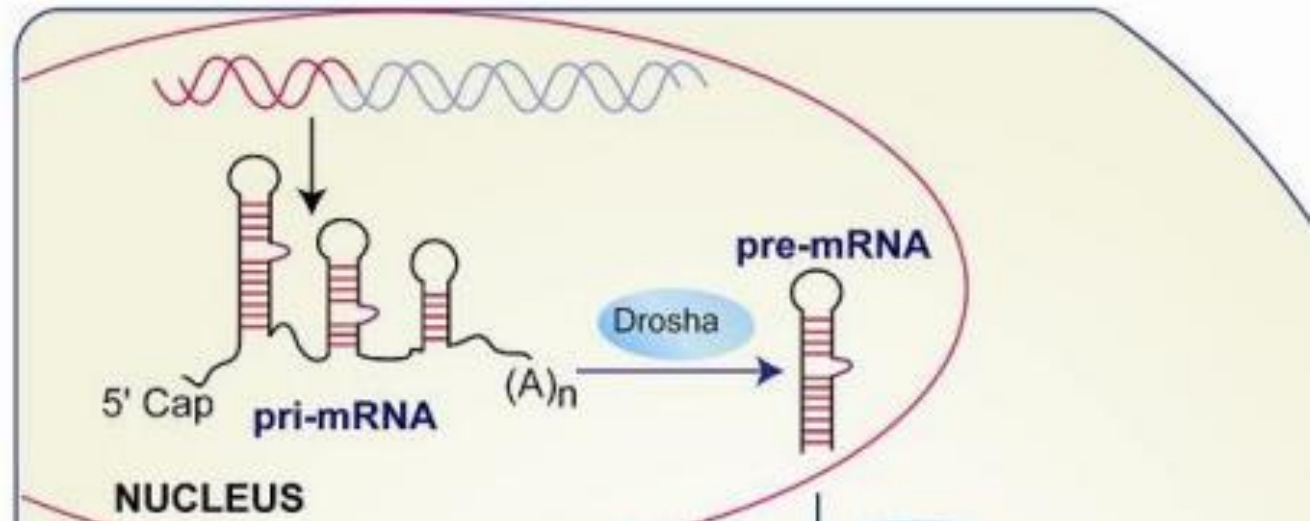


Antisense RNA dsRNA

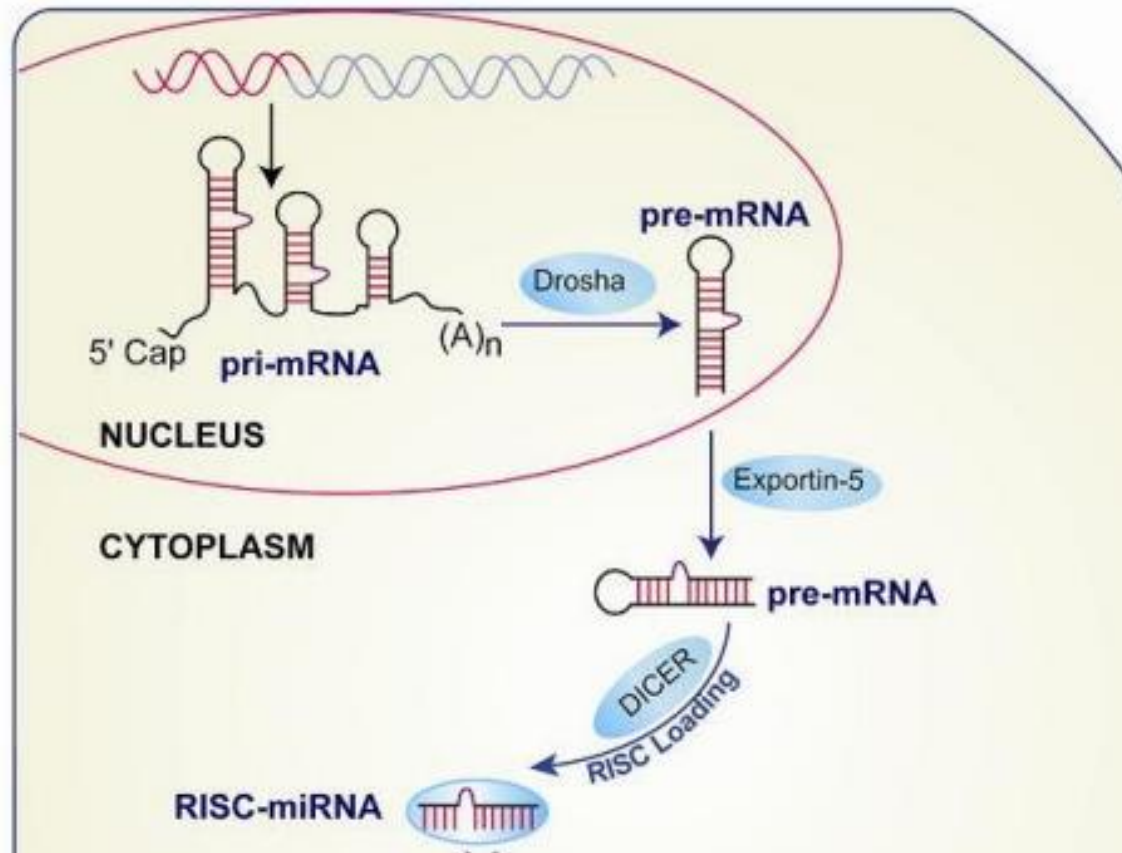
Mex-3 mRNA detection in embryos
by *in situ* hybridization

- **siRNA具有级联放大作用：**一方面siRNA可作为一种特殊引物，在RNA依赖RNA聚合酶(RdRp)作用下以靶mRNA为模板合成dsRNA，新合成的RNA可继续被降解形成新的siRNA；另一方面，RNA干扰产生的双链RNA片段还能够继续组装到RISC中，降解mRNA。

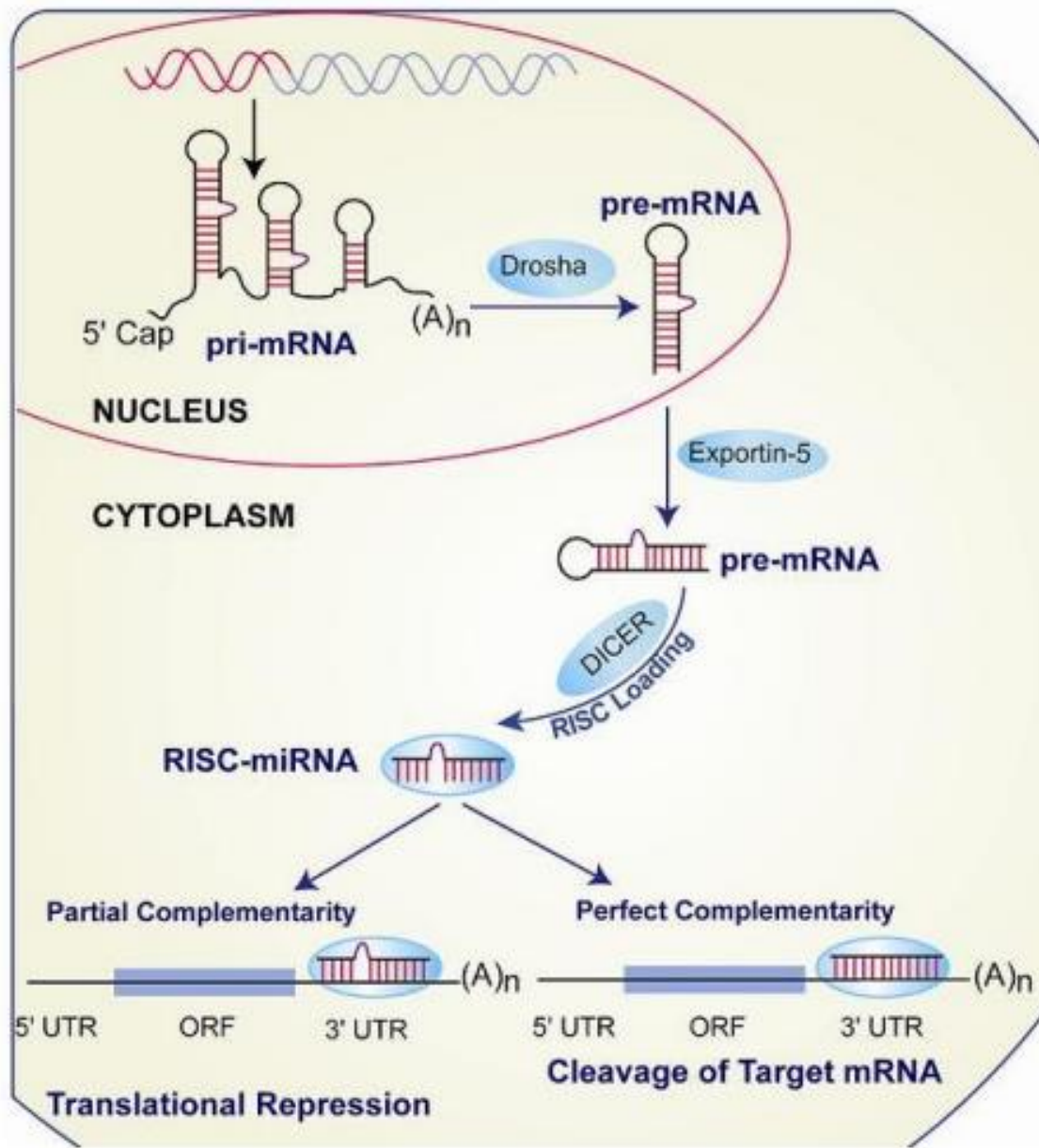
II. *microRNA*



- 由基因组序列编码，被**RNA聚合酶II**转录产生的miRNA基因产物被称为初级miRNA(primary miRNA)；
- 初级miRNA经过核酸酶**Drosha**的加工形成前体miRNA(precursor miRNA)。前体miRNA约为70nt, 呈茎环结构；

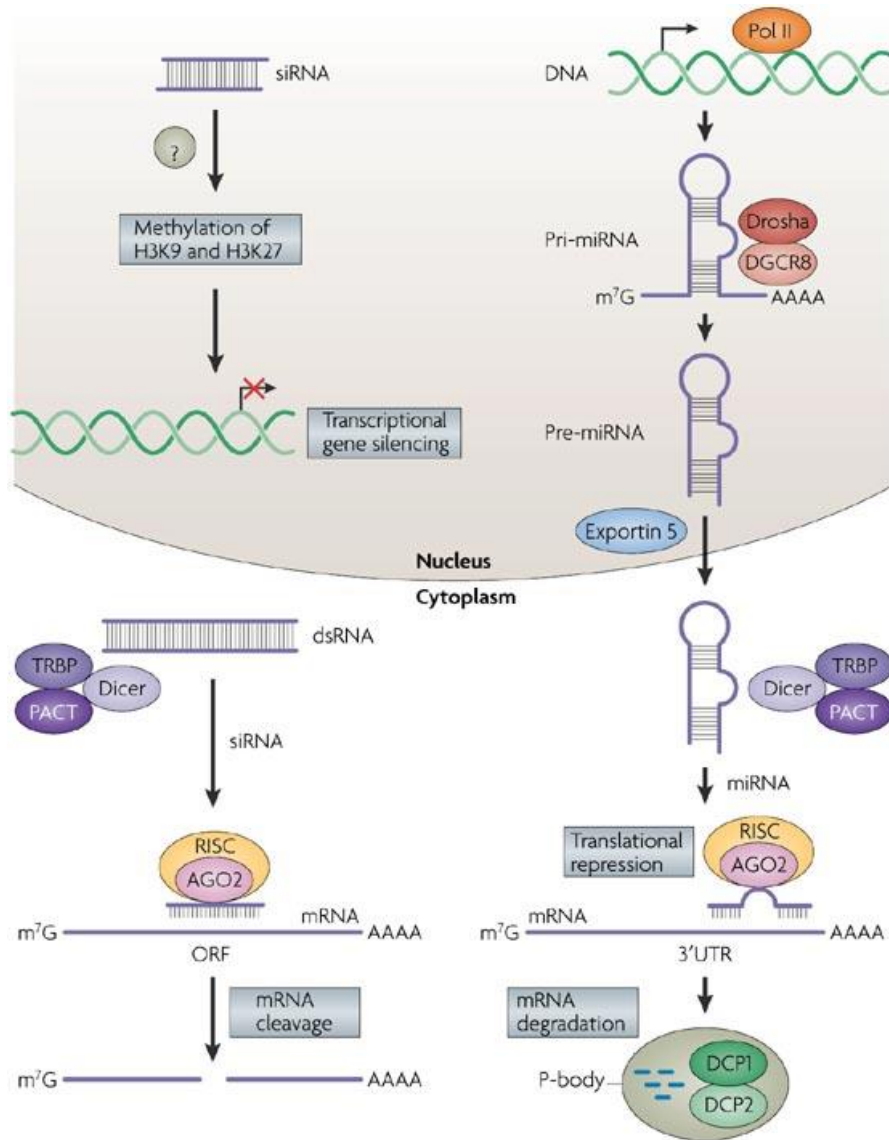


- 前体miRNA经**Exportin-5**蛋白转运到胞质中，在核酸酶Dicer的继续加工下形成成熟的miRNA: **18-25nt**, 3'末端2bp突出，但**内部不完全配对**；
- 成熟miRNA在解旋酶作用下打开双链，其中一条链被包装到RISC复合物中；



- miRNA对基因表达调控的方式取决于它与靶mRNA的匹配程度：如果miRNA不能与靶mRNA完全匹配，miRNA-RISC复合物则发挥**抑制翻译**的作用；如果miRNA与靶mRNA完全互补，miRNA-RISC复合物则能够**降解靶mRNA**（与siRNA相同）；
- 一条miRNA可以调控多个基因，而一个基因也可以受到多个miRNA的调节。

siRNA vs. miRNA



- miRNA由基因组编码，而大多数siRNA来自外源RNA；
- miRNA参与正常情况下生长发育基因调控，而siRNA一般只有在病毒或其它dsRNA诱导情况下才产生siRNA；
- miRNA在翻译水平也起作用，而siRNA仅有降解mRNA作用；
- miRNA与靶mRNA可以不完全配对，而siRNA完全配对；
- 一个miRNA可以调节多个mRNA，而siRNA一般都是特异性的。

X失活机制 —— lncRNA介导的表观调控



- X染色体随机失活由X失活中心 (X inactivation center, Xic)调控，缺少Xic的X染色体不能失活；
- Xic位点包含许多X失活的调节基因，其中Xist基因编码 Xist RNA，负责起始X染色体的失活；
- 在发生失活的X染色体上，转录表达的 Xist RNA包裹在 X染色体上，并从Xic向两端扩展，并诱发X染色体上的DNA甲基化和组蛋白修饰，建立和维持X染色体的失活状态；
- 在没有失活的另一条X染色体上，Xist DNA的转录被阻断因子沉默。

