

植物中表观遗传修饰研究进展

郑小国^{1, 2}, 陈亮¹, 罗利军^{1, 2*}

¹上海市农业生物基因中心, 上海 201106; ²华中农业大学, 武汉 430070

摘要 表观遗传是指DNA序列不发生变化, 但基因表达发生了可遗传的改变, 主要涉及DNA与染色体上的一些可逆修饰以及一些转录调控机制。DNA甲基化、组蛋白修饰和非编码RNA调控是表观遗传学研究的三大支柱。三者在植物生长发育、应对生物和非生物胁迫以及适应环境变化中发挥着极其重要的作用。该文综述了植物中DNA甲基化、组蛋白修饰、非编码RNA调控的研究进展及其对植物株高、生育期、花型、果实着色以及应对环境胁迫等方面的影响。

关键词 植物, DNA甲基化, 组蛋白修饰, 非编码RNA调控

郑小国, 陈亮, 罗利军 (2013). 植物中表观遗传修饰研究进展. 植物学报 48, 561–572.

表观遗传(epigenetic)是指DNA序列不发生变化, 但基因表达却发生了可遗传的改变。这种改变是细胞内除了DNA序列外的其它可遗传物质发生的改变, 且这种改变在发育和细胞增殖过程中能够稳定遗传(Egger et al., 2004; Bird, 2007)。即细胞分裂过程中, 在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甲基化和组蛋白修饰等功能)及基因型对表型的决定作用(Holliday, 2006)。表观遗传有两个层次的含义: 其一是同一基因型在不同的环境下有不同的表型变化, 这种表型变化是环境与基因组相互作用, 引起基因选择性表达的结果, 而不是DNA序列发生变化的结果; 另一层含义是这种表型变化能够遗传给下一代, 环境或胁迫诱导的修饰改变大多数在胁迫去除后会恢复到原始状态, 而有一些却稳定了下来, 可能作为一种“胁迫记忆”, 这种“胁迫记忆”可以通过有丝分裂和减数分裂遗传给子细胞或下一代, 当植物再次遭遇胁迫时, 这种“表观胁迫记忆”可以帮助子代更有效地应对同样的胁迫(Chinnusamy and Zhu, 2009)。

植物中表观遗传现象很多。基因组印记(genomic imprinting)(Garnier et al., 2008)、转基因沉默(transgene silencing)、核仁显性(nucleolar dominance)

(Preuss and Pikaard, 2007; Finigan and Martienssen, 2008; Tucker et al., 2010)、休眠转座子激活(transposon activation)、副突变(paramutation)和染色质重塑(chromatin remodeling)等都是典型的表观遗传现象(Bender, 2004; Vaniushin, 2006)。

表观遗传学的研究内容主要分为两大部分: 一部分是基因选择性转录表达的调控, 主要包括DNA甲基化和组蛋白共价修饰, 这些修饰主要调控基因的转录, 诱导或抑制基因的选择性表达; 另一部分是基因转录后调控, 主要涉及siRNA、miRNA、lncRNA和asRNA等一些非编码RNA的调控(non-coding RNA regulation)。这些非编码RNA可以诱导mRNA的降解, 调节基因的翻译表达, 使基因沉默(Kurth and Mochizuki, 2009; Liu et al., 2012a, 2012b; Wierzbicki, 2012)。目前, 表观遗传学中研究较多的有DNA甲基化、组蛋白修饰以及非编码RNA调控。这三者构成表观遗传学研究的三大支柱。

1 DNA甲基化

DNA甲基化是指在DNA甲基转移酶(DNA methyltransferases, DNMTs)的作用下以SAM(S-腺苷甲硫氨酸)为底物将甲基转移到DNA分子的碱基上。常见

收稿日期: 2013-01-07; 接受日期: 2013-05-02

基金项目: 国家高技术研究发展计划(No.2012AA101102)、上海市科技兴农重点攻关项目(沪农科攻字(2010)第1-1号)和上海市科委研发平台专项(No.13DZ2290800)

* 通讯作者。E-mail: lijun@sagc.org.cn

的DNA甲基化发生在DNA链上的胞嘧啶(C)第5位碳原子上,形成5甲基胞嘧啶(5mC)。除此以外,在植物中还有一小部分腺嘌呤(A)N6位置可以引入1个甲基,形成N6甲基腺嘌呤(N6-mA)(Bird, 2002; Goll and Bestor, 2005)。DNA甲基化是常见的表观遗传现象,在真核生物中它与基因沉默相关。哺乳动物中甲基化缺陷会导致胚胎死亡,植物中甲基化缺失则会导致多种形态学缺陷(Cubas et al., 1999; Santos et al., 2002; Manning et al., 2006)。在哺乳动物和植物中,DNA甲基化由不同的酶来构建和维持。哺乳动物中,甲基化绝大部分发生在CG二核苷酸中,在动物基因组内70%–80%CG二核苷酸是甲基化的,另外20%–30%未甲基化的CG二核苷酸常在表达基因的启动子区域聚集成簇,形成CpG岛(CpG islands),哺乳动物中甲基化由DNMT3建立,由DNMT1维持。在植物中,甲基化既可以发生在对称的CG和CHG序列中,也可发生在不对称的CHH序列中(H=A, C, T),它们都是由DRM2建立。在维持上,CG的甲基化是由MET1维持;CHG的甲基化是由CMT3维持,CMT3是植物特有的甲基化酶;CHH的甲基化则是由DRM2来维持(Law and Jacobsen, 2010)。

CpG岛是指富含CpG的区域,长度在500 bp到1 kb之间,GC含量超过55%。它在动植物基因组中是非随机出现的,约60%的编码基因5'UTR(转录起始区域)都含有CpG岛(Kakumani et al., 2011)。CG二核苷酸在体内出现的理论概率为1/16(~6.25%),但在体内出现的实际概率却很小(~1%),这是因为CG二核苷酸中的C有很高的突变率,C-T转换的概率是其它碱基对转换概率的40倍以上。CG中C在甲基化转移酶的作用下形成5mC,5mC在一系列酶的作用下可以脱氨基形成T(Lutsenko and Bhagwat, 1999)。CG-TG的转换难以被DNA修复系统识别,因此可以遗传,是点突变的重要来源。CpG岛可被HpaII酶切(C|CGG)成小片段,因此也被称为HTF岛。

在基因组中,DNA甲基化的功能主要有2种模型:一种是宿主防御模型,另一种是基因调控模型。宿主防御模型指动植物体内有很多的转座子(transposon),这些转座子在基因组内不稳定,容易跳来跳去,对机体十分有害。例如,在人类基因组中约有45%的区域是转座子;水稻基因组中有17%的反转录转座子;小麦基因组中90%以上是反转录转座子。DNA甲

基化与转座子活性有十分密切的关系,机体为了抑制转座子活性,通常将这些转座子甲基化。甲基化类似于“铆钉”将转座子钉住,抑制转座子的转移活性(Hirochika et al., 2000; Tompa et al., 2002)。基因调控模型显示,DNA甲基化在基因组中的调控作用主要是使基因转录沉默(silencing transcription)。在高等动植物中基因根据表达状况分为3类:持家基因、诱导表达基因和异染色质中的沉默基因。基因的甲基化状态也分为3类:持家基因的启动子区域通常不被甲基化或处于持续的低甲基化状态;而诱导表达的基因,如发育阶段特异性表达基因、环境胁迫诱导表达基因、组织特异性表达基因及生殖特异性表达基因等表达时,被诱导为去甲基化状态;而异染色质中的沉默基因通常是被高甲基化的,如基因印迹和X染色体失活等。DNA甲基化对基因表达调控的机制有3种:一种是干扰转录因子对DNA元件的识别和结合,DNA甲基化后其空间结构发生了变化,导致RNA聚合酶与其它一些转录因子无法识别和结合到DNA上;另一种是将转录因子的DNA识别序列转变为抑制因子的识别序列,抑制因子结合上去,进而抑制转录;第3种机制是DNA甲基化有利于招募染色质重塑或修饰因子,导致染色质重塑,基因失活。DNA甲基化是基因沉默的结果而不是原因。

近年来,越来越多的研究表明,DNA甲基化在植物生长发育以及应对环境胁迫中发挥重要作用。DNA甲基化可以影响植物的株高、花型、果实着色、抗病性、生育期及其与环境的互作等。

1.1 DNA甲基化对株高的影响

在日本九州大学(Kyushu University)有一个保存了90多年的影响水稻株高的表观遗传突变体*Epi-d1*,这个突变体株系以嵌合的形式存在,在单个植株上既有矮化型分蘖,也有正常的分蘖,矮化分蘖具深绿色叶片、紧凑的穗型及小圆谷粒。不同突变体植株中矮化及正常分蘖各占不同比例,从完全矮化到完全正常,单个正常分蘖稻穗也会产生嵌合型,在同一个稻穗上,既有小谷圆粒,也有正常籽粒。

该突变体表型可遗传,表型的世代传递呈亚稳态(metastable),部分个体表型可转换。*Epi-normal*和*Epi-dwarf*正反交F₂代基本上以3:1的比例分离,表明矮化性状为隐性,无等位基因间互作,与副突变有区

别; *Epi-dwarf*与*IR24*或*Taichung65*正反交也按3:1比例分离, 进一步验证*Epi-dwarf*不影响野生等位基因。采用*Epi-d1*与*Kasalath*杂交产生16 000个F₂单株, 对*Epi-d1*进行精细定位, 在第5号染色体的33.5 kb区间的4个候选基因中, 发现了已报道的矮秆基因*DW-ARF1(D1)*-编码GTP结合蛋白 α -亚基。*D1*抑制表达后代株型与*Epi-d1*类似。进一步分析发现*Epi-d1*是*D1*的等位基因。

*Epi-normal*和*Epi-dwarf*序列无差异, 与*D1*基因相比仅在启动子区有2个SNP。互补实验表明*Epi-normal*、*Epi-dwarf*及*D1*基因均具正常功能。表达谱分析发现*Epi-d1*表型的不稳定是由于*D1*基因的表达不稳定引起的。采用近等基因系进行进一步精细定位, 发现基因上游重复序列Repeat A在表观遗传表型中起决定作用。采用甲基化抑制剂(5-氮杂胞苷)处理*Epi-dwarf*植株, 会诱导产生不同比例的嵌合性植株。采用甲基化敏感酶切并结合Southern杂交分析, 发现*D1*基因启动子区域发生了甲基化, 进而导致产生差异甲基化条带。表明该突变体的表型变化来源于*D1*基因启动子区域的超甲基化抑制基因表达(Miura et al., 2009)。

有报道表明DNA甲基化对拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)的株高也有影响(Johannes et al., 2009)。利用拟南芥Col *ddm1-2*突变体(甲基化缺陷)与其野生型DDM1(Col-wt)杂交, 两亲本之间DNA序列差异很小, 但DNA甲基化差异较大(Lippman et al., 2004)。选取杂交后代的一个F₁作为母本与Col-wt回交, 然后选取500株DDM1/DDM1基因型株系构建表观等位基因重组自交系(Col-wt epiRILs), epiRILs内每个株系连续自交, 单种子传代6代。每个个体应该有高度相似的基因组和显著差异的表观基因组。通过epiQTL定位, 结果表明拟南芥的株高和生育期均受DNA甲基化的影响。

1.2 DNA甲基化对生育期的影响

在拟南芥生育期延迟突变体*fwa-1*中, 发现相关基因*FWA*在野生型和突变体中序列无差异, 生育期延迟是由于*FWA*易位表达引起, *FWA*易位表达与可遗传的甲基化缺失相关(Soppe et al., 2000)。虽然DNA甲基化缺失引起了生育期延迟, 但是没有证据证明在野生型中*FWA*甲基化受发育的调控, 也没有证据表明这个基因在正常生长发育中控制生育期。*FWA*功能缺

失并不影响其功能缺失突变体的生育期。

通过对正常生长发育条件下的*FWA*表达检测, 发现*FWA*在种子胚乳和种皮部分表达, 而在胚中无表达。对其它组织的检测表明, *FWA*表达仅限于发育的胚乳和种皮。GFP荧光定位实验证明, 受精前该基因定位在中央细胞核——成熟卵细胞胚乳的前体, 受精后定位在受精细胞核和发育中的胚乳。原位杂交也证明*FWA*在胚乳中特异性表达, 而在胚和营养体中无表达(Kinoshita et al., 2004)。

使用重亚硫酸盐测序的方法检测种子中胚、胚乳、种皮以及花药中*FWA*基因的甲基化, 结果表明胚乳中*FWA*基因5'端区域的正向重复序列的甲基化水平显著降低。

利用等位基因特异性RT-PCR(allele specific RT-PCR)检测*FWA*印迹, 结果表明仅在Col-0和Ler正反交F₁代种子的胚乳和种皮部分发现了来自母本等位基因的转录本, 而在胚中母本和父本等位基因沉默。将野生型Col-0与甲基转移酶突变体(*drm1*和*drm2*、*cmt3*和*met1*)正反交, 使用等位特异性RT-PCR检测F₁解剖的种子。结果表明, 当父本是*met1*(CG序列甲基化维持酶)发生突变时, 父本来源的*FWA*转录本均能被检测到; 当母本是*met1*发生突变时, 母本来源的*FWA*在胚乳和种皮部分均可检测到表达, 而父本来源的*FWA*不表达, 表明*met1*突变母本不能诱导父本*FWA*在胚、胚乳和种皮部分表达。这说明父本*FWA*缺失沉默在受精前就已发生, 同时也表明印迹不是由DRM2(甲基化从头合成酶)和CMT3(CHG序列甲基化维持酶)引起的。

随后对*DME*的作用进行检测, 发现它在受精前能激活中央细胞中母本*MEDEA(MEA)*等位基因的表达。*DME*编码一个含有DNA糖基化酶结构域的蛋白, 在体内有DNA糖基化活性。*dme-1*突变体导致*FWA*转录本不能在纯合*dme-1*突变卵细胞中积累。在*dme-1*突变体中, *FWA*启动子活性检测也证明母本特异性*FWA*表达也依赖于有功能的雌配子*DME*等位基因。虽然受精后*DME*不表达, 但它对*FWA*表达的影响持续到受精后。这表明*DME*影响*FWA*和*MEA*上的一个可遗传的表观标记。

开花植物印迹的一个特性是胚乳内的表观修饰状态不需要重编程, 因为随着种子的成熟, 胚乳会退化, 它不会传递遗传或表观遗传信息到下一代。在中

央细胞中形成印迹并在双受精后的胚乳中维持,使植物利用这种单向印迹进行调控。当胚中甲基化丢失(如*met1*突变)时,*fwa*表观突变体及其有关的生育期延迟表型会稳定遗传多代(张美善和刘宝, 2012)。

1.3 DNA甲基化对花型的影响

柳穿鱼(*Linaria vulgaris*)野生型植株的花序为不对称双向花序, 250多年前发现了一个突变体从两侧对称花变为对称径向花。研究发现该突变体与野生型中控制花发育的相关基因*Lcyc*序列完全相同,但是突变体中*Lcyc*基因超甲基化而转录沉默。突变体中偶然发现的恢复突变体表现出野生型花序,伴随着*Lcyc*基因去甲基化并表达。超甲基化的*Lcyc*基因保持了250多年(Cubas et al., 1999)。

1.4 DNA甲基化对果实着色的影响

番茄(*Lycopersicon esculentum*)成熟的调控网络中有一个重要组成成分是控制成熟的*Cnr*(Colorless non ripening)基因位点,*Cnr*突变会抑制果实正常成熟,造成果皮无色、粉状且细胞间失去黏着力(Eriksson et al., 2004)。

Tör等(2002)研究认为,*Cnr*区域定位在番茄2号染色体长臂常染色质区域CT277标记附近。利用基因步行(gene walking)和长片段扩增PCR(long-range PCR)定位了一个跨越*Cnr*区域的95 kb区段,测序发现该区段覆盖了14个ORFs。距离*Cnr*位点两侧最近的交叉区约为13 kb,该区间包含了ORF7的启动子区域,完整的ORF8和ORF9,以及ORF10的启动子区域。测序分析发现,野生型和突变型在13 kb区段及95 kb区段,序列均无差异。表明*Cnr*区域的核酸序列信息与突变无关。

对95 kb区段内的14个ORF做半定量RT-PCR,研究其基因表达,结果表明13个ORF在果皮中表达,其中12个也在叶片中表达,只有13 kb区段内ORF7在果实中特异性表达。ORF7也是唯一在突变体中表达有变化的基因。对ORF7进行定量RT-PCR分析表明其在突变体果实成熟期表达量显著减少。序列分析发现ORF7与转录因子SBP-box(SPL)家族同源,遗传和表达数据证明这个基因位于*Cnr*区域,命名为*LeSPL-CNR*。

在野生型和突变体中*Cnr*区域的核酸序列无差

异,表明突变可能是由于这个区域内基因组表观修饰改变引起的。事实上,在突变体上可偶然观察到恢复突变“成熟区”表型与野生型相似,这也与表观突变(epimutant)相符合。然而这些恢复突变区很少,从1993年以来在3 000多株番茄中仅观察到3个恢复表型果实,表明突变非常稳定,但偶尔可恢复。Manning等(2006)使用重亚硫酸盐测序技术检测了*LeSPL-CNR*启动子区域的甲基化状态,结果表明在*Cnr*突变体*LeSPL-CNR*第1个ATG上游2.4 kb区域中有286 bp高度甲基化;在*Cnr*突变表型的植株中,叶片和果实的DNA该部分区域也常常高度甲基化。

1.5 DNA甲基化对水稻抗病性的影响

5-N杂胞苷(5-azadeoxycytidine)是DNA甲基化抑制剂,它是一种5-甲基胞嘧啶类似物,可竞争性地与甲基转移酶作用,导致位点低甲基化。Akimoto等(2007)用5-N杂胞苷处理水稻(*Oryza sativa*)种子,并将其后代连续种植了10年以上。

1 000粒水稻种子经5-N杂胞苷处理后发芽,大部分幼苗在3叶期死亡,仅存活35株。培养至成熟后,35株中有33株表型与野生型无差异;另外2株表型矮化,这种矮化表型可用于后续研究的标记表型,其后代比野生型茎秆短28%,生育期延迟10–14天。

使用甲基化敏感扩增多态性(methylation sensitive amplification polymorphism, MSAP)方法检测后代与亲本甲基化的变化情况,共鉴定了20多个片段(在对照组中有而在后代中没有)。对其中的6个片段进行测序,发现有1个片段编码retrotransposon gag-pol polyprotein(在后代中5mC完全消除),但没有检测到它的转录和表达;另有1个片段编码蛋白Xa-21的类似蛋白(putative protein kinase Xa21, receptor type precursor)Xa21G。在野生型中,Xa21G基因的启动子区域的所有C都是甲基化的,且不表达,而在后代中该基因表达且所有C都是去甲基化的。侵染黄单胞杆菌的水稻变种(*Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*),其野生型无Xa21G表达,表现高度敏感,而后代表现抗性。

1.6 DNA甲基化与环境互作

1.6.1 春化作用

表观遗传修饰提供了一种将基因活跃状态从一个世

代传递到另一个世代的机制。因为表观状态是可逆的,故可以被环境因子修饰,发育过程中的非正常表型与此相关。对某特定环境刺激产生的生理反应也是由表观机制介导的(Jaenisch and Bird, 2003)。最典型的例子就是高纬度地区植物的春化作用(vernalization)。

春化作用是一个缓慢的量变积累过程,其有作用的临界点,只有当低温处理足够长的时间后,植株才会产生明显的春化反应。春化作用不改变植物的基因,不具遗传性。春化作用的效果只可通过有丝分裂在当代植株中保持稳定,而不能通过有性生殖传递给后代。春化作用的感受位点在植物的茎尖和根尖,只有具分裂活性的细胞才能对春化作用做出反应。春化作用并不直接导致开花,而只是在很大程度上加速了开花的进程(Amasino, 2004)。

用甲基化抑制剂(5-N杂胞苷)处理植株或抑制其*MET1*基因表达等均可产生与春化作用相同的效果,表明春化作用与甲基化相关(Finnegan et al., 1998)。*FLC*是春化作用的关键基因,春化作用状态可以通过有丝分裂稳定地遗传(Sheldon et al., 2000)。*FLC*基因活性受DNA甲基化调控(Sheldon et al., 1999)。

营养生长期*FLC*基因表达,从而抑制生殖生长的发生。低温胁迫下,*VIN3*表达,抑制*FLC*(甲基化及去乙酰化作用)从而促进植株的生殖生长。*VRN1*和*VRN2*基因表达,使组蛋白甲基化,增强了*FLC*的抑制状态,促进了生殖生长(Amasino, 2004)。

1.6.2 DNA甲基化与非生物胁迫

外界环境变化会导致植物基因组DNA甲基化状态改变,从而影响相关基因的表达;高盐和低温等逆境胁迫可诱导抗逆相关基因编码区去甲基化,增加基因的表达量以应对环境胁迫(Steward et al., 2000; Karan et al., 2012; Song et al., 2012)。干旱胁迫可诱导水稻DNA甲基化发生变化,启动抗旱相关基因的表达,使水稻抗旱性增强,这些干旱胁迫诱导的甲基化变化中约有四分之一的去甲基化位点在复水后不能恢复到原始状态,而甲基化位点中约有一半不能恢复,可以遗传给下一代(Wang et al., 2011)。

与甲基化密切相关的基因*MET1*的去甲基化会导致多个胁迫反应相关基因的特异表达,间接证明了DNA甲基化在逆境胁迫反应中的重要作用。采用RNA干扰*MET1*,烟草(*Nicotiana tabacum*)植株的形态发

生变化,同时与抗逆相关的31个基因的表达上调,转基因植株的抗逆性增强(Wada et al., 2004)。

进一步研究表明,ABA参与介导的DNA甲基化在植物应对外界环境胁迫过程中起着不可或缺的作用。在植物中,调节DNA甲基化应对环境胁迫,代表了一种潜在的健康基因表达调控网络机制。

1.6.3 DNA甲基化与生物胁迫

Downen等(2012)用细菌性病原体(bacterial pathogen)、非病原细菌(avirulent bacteria)以及植物激素水杨酸(salicylic acid, SA)处理拟南芥后,使用全基因组甲基化作图分析细菌性病原体植株的甲基化情况,揭示了广泛分布的甲基化应对病原体感染。

DNA甲基化作图分析表明,不同的胁迫条件将导致植株不同的DNA甲基化模式,且植株中CG、CHG和CHH表现出不同的变化趋势。SA诱导的转座子位点的差异甲基化区域(DMRs)与21-nt siRNA和可变转录相关。

2 组蛋白修饰

同一有机体中所有的细胞类型都具有相同的核酸组,但每种细胞类型仅具有一个独特的表观修饰组。核酸组DNA序列用来储存遗传信息,而染色体等结合表观修饰组用来管理和组织遗传信息。核小体是组成染色体的基本单位,由H2A、H2B、H3和H4四种组蛋白二聚体构成的核心八聚体结合DNA序列组成。这4种组蛋白上会发生一些共价修饰,例如甲基化、乙酰化和磷酸化等,这些修饰对染色质构型和基因表达等均具有重要影响。

目前,研究较多的组蛋白修饰有6种,即甲基化(methylation)、乙酰化(acetylation)、磷酸化(phosphorylation)、泛素化(ubiquitylation)、SUMO化(sumoylation)和ADP-核糖基化(ribosylation)(Liu et al., 2010)。在植物中,组蛋白甲基化和组蛋白乙酰化的功能研究得较为清楚。

2.1 组蛋白甲基化

组蛋白甲基化主要发生在H3、H4组蛋白的赖氨酸(lys, K)残基以及精氨酸(Arg, R)上,主要分子作用是增加氨基酸残基的疏水作用力,在1个lys残基上可加

上1–3个甲基,形成单甲基化(mono-methylation, me1)、双甲基化(di-methylation, me2)和三甲基化(tri-methylation, me3)(Li et al., 2008)。组蛋白甲基化通常是一个长期的过程,一旦发生甲基化,在较长的时期内都会维持这种状态。以往的研究认为,组蛋白甲基化是一个不可逆的过程;而最近的研究表明,组蛋白的甲基化与去甲基化是通过HKMTs(histone lysine methyltransferases)(Valencia-Morales et al., 2012)和PRMTs(protein arginine methyltransferases)(Dowden et al., 2010)两种甲基化转移酶及LSD1和JmjC两个家族去甲基化酶来维持平衡的(Shi et al., 2004; Chen et al., 2006; Tsukada et al., 2006; Amente et al., 2010; Liu et al., 2010)。组蛋白甲基化既与基因抑制有关,也与基因激活相关,这往往取决于被修饰的位置和程度。例如, H3K9、H3K27和H4K20甲基化与异染色质形成、X染色体失活和常染色质基因沉默相关,而H3K4、H3K36和H3K79甲基化与转录激活有关。在动物中, H3K9me3和H3K27me3是沉默的异染色质的主要特征, H3K9me2对常染色质基因表达是必需的。有丝分裂期间,动粒(centromere)附近的H3K9me3负责染色体顺利完成分离(Zhu et al., 2012)。

Li等(2008)研究表明,在水稻中H3K4me3与DNA甲基化呈负相关;与基因转录丰度和基因表达的组织数目呈正相关。H3K4me3主要出现在表达量高的non-TE基因中,标记一个转录活跃状态,并允许更强的转录强度。因为H3K27me3在细胞分裂过程中提供维持目的基因转录抑制状态的细胞记忆,它在植物生长发育调控中起重要作用(Liu et al., 2010)。Wang等(2009)在对玉米(*Zea mays*)的研究中发现, H3K27me3抑制基因表达,与基因转录丰度成反比。在拟南芥中, H3K9甲基化主要以H3K9me1和H3K9me2的形式存在,而H3K9me3很少被检测到(Johnson et al., 2004)。H3K9me2是一个抑制标记,在转座子和重复序列中富集,抑制基因表达;与之相反, H3K9me3在常染色质中富集(Turck et al., 2007; Zhou et al., 2010)。组蛋白H3K9甲基化和DNA甲基化相互作用关系的研究表明, H3K9甲基化在维持基因组转录基因沉默和维持基因组稳定性上起着非常关键的作用(Vaillant and Paszkowski, 2007)。Polycomb抑制复合体2参与H3K27me3介导的基因表达抑制,

FIE1(FERTILIZATION-INDEPENDENT ENDOSPERM1)基因编码Polycomb抑制复合体2中一个与Esc类似的核心元件。Zhang等(2012)在水稻中发现了1个*FIE1*的表观等位基因*Epi-df*,该等位基因可导致矮化和多种花型缺陷。研究表明*Epi-df*与*FIE1*的核酸序列无差异,但它在5'端区域低甲基化并伴随H3K9me2修饰减少和H3K4me3修饰增多,表明该基因受甲基化、H3K9me2和H3K4me3三种修饰调控。突变体中*FIE1*基因异位表达并且印迹被中断。*FIE1*与水稻中*Zeste*的同源增强子作用,抑制H3K27me3;突变体中*Epi-df*异位表达导致上百个基因中H3K27me3的修饰改变。

2.2 组蛋白乙酰化

组蛋白乙酰化主要发生在赖氨酸残基(K)上,由HAT(Histone acetyltransferase)及HDAC(Histone deacetylase)维持动态平衡。它的分子效应主要是中和赖氨酸上的正电荷,增强组蛋白与DNA的排斥力,使DNA结构变得疏松,从而导致基因的转录活化。它的主要生物学功能是促进转录和DNA损伤修复(Tamburini and Tyler, 2005; Costelloe and Lowndes, 2010)。Zhou等(2010)研究表明,在拟南芥中H3K9ac主要分布在non-TE基因中,倾向分布于基因5'端区域,在ATG位点达到峰值,它与基因的高表达相关。在玉米中, H3K9ac与高表达量基因呈正相关(Wang et al., 2009)。胁迫环境下,组蛋白甲基化及乙酰化影响染色体的结构,从而调节基因的表达。水稻受到水淹胁迫时,诱导*ADH1*和*PDC1*基因组蛋白甲基化和乙酰化,两基因上调表达以应对胁迫环境,一旦胁迫被解除,组蛋白就会恢复到原始状态(Tsuji et al., 2006)。

2.3 组蛋白的其它修饰

组蛋白磷酸化主要发生在Ser残基上,一般与基因活化相关(Houben et al., 2005)。H2AX的磷酸化是DNA损伤的一种标记(Sharma et al., 2012)。组蛋白泛素化一般是C端的Lys被修饰,它与启动基因表达相关(Mutiú et al., 2007)。SUMO是一种类泛素蛋白,组蛋白SUMO化可稳定异染色质,抑制基因的转录表达(Shiio and Eisenman, 2003; Nathan et al., 2006)。组蛋白ADP-核糖基化与信号识别、DNA修复、DNA复制和转录相关,它可直接改变核小体的构型,促进

转录(Messner and Hottiger, 2011; Martinez-Zamudio and Ha, 2012)。

转录后修饰的组蛋白单独或者互相组合在一起发挥作用, 共同构成组蛋白的密码(histone code), 在解码过程中通过特殊的解码蛋白影响基因的转录表达。

3 非编码RNA调控

DNA甲基化和组蛋白修饰都是转录水平上的调控, 转录后水平的调控大多由非编码RNA(non-coding RNA)介导。目前已知的非编码RNA有很多, 包括rRNA、tRNA、snRNA、snoRNA、asRNA、miRNA、siRNA、piRNA和lncRNA等。对转录后调控研究较多的有siRNA、miRNA和snRNA等。

1989年, Victor在线虫中发现了miRNA(micro-RNAs), 它是真核生物中广泛存在的一种长约21–23个核苷酸的RNA分子, 可调节其它基因的表达。从DNA转录而来且无法进一步转译成蛋白质的RNA属于非编码RNA。miRNA通过与靶信使核糖核酸(mRNA)特异性结合, 从而抑制转录后基因的表达, 其在调控基因表达、细胞周期和生物体发育时序等方面起着重要作用(Vaucheret et al., 2004; Navarro et al., 2006; Willmann and Poethig, 2007; Joven et al., 2012; de Felippes, 2013)。在拟南芥中, miR393可以通过抑制生长素信号来增强抗生素的抗性(Navarro et al., 2006)。通过下调miR398转录可以诱导表达拟南芥的2个铜/锌过氧化物歧化酶基因, 这对提高拟南芥对氧化胁迫的耐受性十分重要(Sunkar et al., 2006)。MicroRNA395可以介导拟南芥中硫酸盐富集和分配的调控(Liang et al., 2010)。在水稻中, 可通过OsmiR156调控OsSPL14形成理想的株型(Jiao et al., 2010)。

小干扰RNA(small interfering RNA, siRNA)有时被称为短干扰RNA(short interfering RNA)或沉默RNA(silencing RNA), 它是长度为20–25个核苷酸的双链RNA, 在生物学上有许多不同的功能。目前, 已知siRNA主要参与RNA干扰(RNAi), 并以专一性的方式调节基因的表达。此外, siRNA也参与一些与RNAi相关的反应途径, 如抗病毒机制或是染色质结构的改变。siRNA最早是由英国的David Baulcombe团队发现的, 它是植物中后转录基因沉默(post-transcriptional gene silencing, PTGS)现象的一部分(Hamil-

ton and Baulcombe, 1999)。siRNA在介导DNA甲基化上起重要作用, 主要参与RdDM途径(RNA-directed DNA methylation)。ssRNature在CLSYI和RDR2的作用下转变成dsRNA, 然后在DCL3的作用下转化为24 nt siRNAs, siRNA与AGO4蛋白结合装配进而形成沉默复合体, 沉默复合体再招募DMS3、DRD1、HDACs(组蛋白去乙酰化酶)以及HMTs(组蛋白甲基转移酶)。通过它们相互作用, 介导DRM2(植物DNA甲基转移酶)聚集, 再与SUVH2和SUVH9等共同作用介导特定位点的DNA甲基化。siRNA调控是基因转录水平调控的一种重要机制(Henderson and Jacobsen, 2007; He et al., 2009)。

小核RNA(small nuclear RNA, snRNA)是长度为100–215个核苷酸的非编码RNA, 它是真核生物转录后加工过程中RNA剪接体(spliceosome)的主要成分。snRNA参与mRNA的可变剪切, 调控植物的生长发育(Ohtani et al., 2008)。

长非编码RNA(long non-coding RNA, lncRNA)是长度在200–100 000 nt之间的RNA分子, 不编码蛋白, 参与细胞内多种过程的调控, 其种类、数量和功能尚不明确(Wu et al., 2010; Han et al., 2012)。lncRNA主要包括: 反义长非编码RNA(Antisense lncRNA)、内含子非编码RNA(Intronic transcript)、lincRNA(large intergenic noncoding RNA)、启动子相关lncRNA(promoter-associated lncRNA)和非翻译区lncRNA(UTR associated lncRNA)。其主要功能如下: (1) 编码蛋白基因的上游启动子区域转录, 干扰下游基因的表达; 抑制RNA聚合酶II或者介导染色质重构以及组蛋白修饰, 影响下游基因的表达; (2) 与编码蛋白基因的转录本形成互补双链, 干扰mRNA的剪切, 形成不同的剪切形式; (3) 与编码蛋白基因的转录本形成互补双链, 在Dicer酶的作用下产生内源性siRNA; (4) 与特定蛋白质结合, lncRNA转录本可调节相应蛋白的活性; (5) 作为结构组分与蛋白质形成核酸蛋白质复合体; 结合到特定的蛋白质上, 改变该蛋白质的细胞定位; (6) 作为小分子RNA(如miRNA、piRNA)的前体分子。

4 结语与展望

随着表观遗传机制研究的不断深入, 越来越多的证据

表明,表观遗传修饰在调控植物生长发育、应对环境变化以及适应生态环境方面发挥着极其重要的作用。

现已证明,DNA甲基化在植物生长发育调控中发挥着极其重要的作用,如在水稻中引起植株矮化(Miura et al., 2009),在番茄中影响果实成熟着色(Manning et al., 2006)等。另外,其在植物应对生物与非生物胁迫,调节植物对环境的适应性方面也发挥着重要作用(Steward et al., 2000; Wang et al., 2011; Karan et al., 2012; Song et al., 2012)。目前,DNA甲基化及其功能的研究较多,也较彻底,但环境信号是如何介导特定位点的甲基化变化的尚不明确。另外,有些报道显示部分诱导的甲基化变化是可遗传的,且在拟南芥、水稻以及蒲公英(*Taraxacum mongolicum*)中均已得到证实(Zilberman and Henikoff, 2005; Akimoto et al., 2007; Verhoeven et al., 2010),但是这种甲基化变化如何通过配子遗传给后代?甲基化在配子中是否有变化?这种遗传又如何在后代中保持稳定?以上方面的研究相对较少,值得进一步探讨。除此以外,DNA甲基化在自然群体中的漂变与遗传(Kalisz and Purugganan, 2004; Richards, 2008);不同地域生态环境下同一物种及同一物种不同倍性间表观基因组的差异也值得探讨(Paun et al., 2010; 颜菱等, 2012)。

组蛋白修饰在植物基因组中的主要作用是改变染色体的构象,使其“紧缩”或“疏松”,控制DNA的不可接近性,从而抑制或促进转录。目前,研究较多的是甲基化、乙酰化、磷酸化、泛素化、SUMO化和ADP-核糖基化。由于已知的甲基转移酶(writers)、去甲基化酶(erasers)和组蛋白修饰识别因子(readers)较少,鉴定更多的writers和readers以及研究writers对特定位点的修饰机制、readers对特异修饰的识别机制,从而介导环境信号产生特异的生物功能,这将是十分有意义的工作(Liu et al., 2010)。迄今为止,虽然发现了2个候选家族的去甲基化酶,但尚需更多的生化以及遗传学证据来鉴定内源性组蛋白去甲基化酶(包括赖氨酸和精氨酸去甲基化酶),并探讨其在调控植物生长发育和维持基因组稳定性中所起的作用(Liu et al., 2010)。有关组蛋白修饰的遗传报道较少。

目前,已经发现许多种非编码RNA参与基因表达的调控过程。miRNA和siRNA分别以非特异性和特异性的方式调节目标基因的表达,siRNA通过RdDM

途径参与介导DNA甲基化(Henderson and Jacobsen, 2007; He et al., 2009)。除此之外, lncRNA在基因表达调控上也发挥着重要作用。随着测序技术的发展,尤其是转录组测序技术的成熟,将有越来越多的非编码RNA被发现。但它们对植物基因表达的调控机制尚需要进一步研究。

在植物基因组中,DNA甲基化、组蛋白修饰、非编码RNA调控三者之间并不是单独起作用,而是相辅相成共同起作用的。通常,DNA甲基化、组蛋白去乙酰化与染色质的压缩状态、DNA的不可接近性、基因处于抑制和静息状态相关;而DNA的去甲基化、组蛋白乙酰化和染色质压缩状态的开启则与转录的启动、基因活化和行使功能有关,即DNA甲基化常伴随着组蛋白去乙酰化,抑制基因的表达。而组蛋白乙酰化常伴随着DNA去甲基化,启动或活化基因的表达。DNA甲基化在植物体内通常是由siRNA通过RdDM途径介导,siRNA的转录又受到组蛋白修饰的调控(Havecker et al., 2010; Numa et al., 2010)。DNA去甲基化、组蛋白被乙酰化以及甲基化修饰(如H3K4me3),基因组转录状态开启,在RNA聚合酶Pol IV以及其它转录因子的作用下,以DNA为模板转录出单链RNA(ssRNA),随后启动RdDM。

参考文献

- 颜菱,刘义飞,黄宏文 (2012). 猕猴桃倍性混合居群基因组遗传和表观遗传变异. 植物学报 47, 454–461.
- 张美善,刘宝 (2012). 植物胚乳发育的表观遗传学调控. 植物学报 47, 101–110.
- Akimoto K, Katakami H, Kim HJ, Ogawa E, Sano CM, Wada Y, Sano H (2007). Epigenetic inheritance in rice plants. *Ann Bot* 100, 205–217.
- Amasino R (2004). Vernalization, competence, and the epigenetic memory of winter. *Plant Cell* 16, 2553–2559.
- Amente S, Bertoni A, Morano A, Lania L, Avvedimento EV, Majello B (2010). LSD1-mediated demethylation of histone H3 lysine 4 triggers Myc-induced transcription. *Oncogene* 29, 3691–3702.
- Bender J (2004). DNA methylation and epigenetics. *Annu Rev Plant Biol* 55, 41–68.
- Bird A (2002). DNA methylation patterns and epigenetic memory. *Genes Dev* 16, 6–21.
- Bird A (2007). Perceptions of epigenetics. *Nature* 447, 396–398.

- Chen ZZ, Zang JY, Whetstone J, Hong X, Davrazou F, Kutateladze TG, Simpson M, Mao QL, Pan CH, Dai SD, Hagman J, Hansen K, Shi Y, Zhang GY (2006). Structural insights into histone demethylation by JMJD2 family members. *Cell* **125**, 691–702.
- Chinnusamy V, Zhu JK (2009). Epigenetic regulation of stress responses in plants. *Curr Opin Plant Biol* **12**, 133–139.
- Costelloe T, Lowndes NF (2010). Chromatin assembly and signaling the end of DNA repair requires acetylation of histone H3 on lysine 56. *Subcell Biochem* **50**, 43–54.
- Cubas P, Vincent C, Coen E (1999). An epigenetic mutation responsible for natural variation in floral symmetry. *Nature* **401**, 157–161.
- de Felippes FF (2013). Downregulation of plant genes with miRNA-induced gene silencing. *Methods Mol Biol* **942**, 379–387.
- Dowden J, Hong W, Parry RV, Pike RA, Ward SG (2010). Toward the development of potent and selective bisubstrate inhibitors of protein arginine methyltransferases. *Bioorg Med Chem Lett* **20**, 2103–2105.
- Downen RH, Pelizzola M, Schmitz RJ, Lister R, Downen JM, Nery JR, Dixon JE, Ecker JR (2012). Widespread dynamic DNA methylation in response to biotic stress. *Proc Natl Acad Sci USA* **109**, E2183–E2191.
- Egger G, Liang G, Aparicio A, Jones PA (2004). Epigenetics in human disease and prospects for epigenetic therapy. *Nature* **429**, 457–463.
- Eriksson EM, Bovy A, Manning K, Harrison L, Andrews J, De Silva J, Tucker GA, Seymour GB (2004). Effect of the *Colorless non-ripening* mutation on cell wall biochemistry and gene expression during tomato fruit development and ripening. *Plant Physiol* **136**, 4184–4197.
- Finigan P, Martienssen RA (2008). Nucleolar dominance and DNA methylation directed by small interfering RNA. *Mol Cell* **32**, 753–754.
- Finnegan EJ, Genger RK, Peacock WJ, Dennis ES (1998). DNA methylation in plants. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol* **49**, 223–247.
- Garnier O, Laouielle-Duprat S, Spillane C (2008). Genomic imprinting in plants. *Adv Exp Med Biol* **626**, 89–100.
- Goll MG, Bestor TH (2005). Eukaryotic cytosine methyltransferases. *Annu Rev Biochem* **74**, 481–514.
- Hamilton AJ, Baulcombe DC (1999). A species of small antisense RNA in posttranscriptional gene silencing in plants. *Science* **286**, 950–952.
- Han L, Zhang K, Shi Z, Zhang J, Zhu J, Zhu S, Zhang A, Jia Z, Wang G, Yu S, Pu P, Dong L, Kang C (2012). LncRNA profile of glioblastoma reveals the potential role of lncRNAs in contributing to glioblastoma pathogenesis. *Int J Oncol* **40**, 2004–2012.
- Havecker ER, Wallbridge LM, Hardcastle TJ, Bush MS, Kelly KA, Dunn RM, Schwach F, Doonan JH, Baulcombe DC (2010). The Arabidopsis RNA-directed DNA methylation argonautes functionally diverge based on their expression and interaction with target loci. *Plant Cell* **22**, 321–334.
- He XJ, Hsu YF, Zhu SH, Wierzbicki AT, Pontes O, Pikaard CS, Liu HL, Wang CS, Jin H, Zhu JK (2009). An effector of RNA-directed DNA methylation in Arabidopsis is an ARGONAUTE 4- and RNA-binding protein. *Cell* **137**, 498–508.
- Henderson IR, Jacobsen SE (2007). Epigenetic inheritance in plants. *Nature* **447**, 418–424.
- Hirochika H, Okamoto H, Kakutani T (2000). Silencing of retrotransposons in Arabidopsis and reactivation by the *ddm1* mutation. *Plant Cell* **12**, 357–369.
- Holliday R (2006). Epigenetics: a historical overview. *Epigenetics* **1**, 76–80.
- Houben A, Demidov D, Rutten T, Scheidtmann KH (2005). Novel phosphorylation of histone H3 at threonine 11 that temporally correlates with condensation of mitotic and meiotic chromosomes in plant cells. *Cytogenet Genome Res* **109**, 148–155.
- Jaenisch R, Bird A (2003). Epigenetic regulation of gene expression: how the genome integrates intrinsic and environmental signals. *Nat Genet* **33**, 245–254.
- Jiao YQ, Wang YH, Xue DW, Wang J, Yan MX, Liu GF, Dong GJ, Zeng DL, Lu ZF, Zhu XD, Qian Q, Li JY (2010). Regulation of *OsSPL14* by *OsmiR156* defines ideal plant architecture in rice. *Nat Genet* **42**, 541–544.
- Johannes F, Porcher E, Teixeira FK, Saliba-Colombani V, Simon M, Agier N, Bulski A, Albuissou J, Heredia F, Audigier P, Bouchez D, Dillmann C, Guerche P, Hospital F, Colot V (2009). Assessing the impact of transgenerational epigenetic variation on complex traits. *PLoS Genet* **5**, e1000530.
- Johnson L, Mollah S, Garcia BA, Muratore TL, Shabanowitz J, Hunt DF, Jacobsen SE (2004). Mass spectrometry analysis of Arabidopsis histone H3 reveals distinct combinations of post-translational modifications. *Nucleic Acids Res* **32**, 6511–6518.
- Joven J, Espinel E, Rull A, Aragonès G, Rodríguez-

- Gallego E, Camps J, Micol V, Herranz-López M, Menéndez JA, Borrás I, Segura-Carretero A, Alonso-Villaverde C, Beltrán-Debón R (2012). Plant-derived polyphenols regulate expression of miRNA paralogs miR-103/107 and miR-122 and prevent diet-induced fatty liver disease in hyperlipidemic mice. *Biochim Biophys Acta* **1820**, 894–899.
- Kakumani R, Ahmad MO, Devabhaktuni V (2011). Identification of CpG islands in DNA sequences using matched filters. *Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc* **2011**, 6029–6032.
- Kalisz S, Purugganan MD (2004). Epialleles via DNA methylation: consequences for plant evolution. *Trends Ecol Evol* **19**, 309–314.
- Karan R, DeLeon T, Biradar H, Subudhi PK (2012). Salt stress induced variation in DNA methylation pattern and its influence on gene expression in contrasting rice genotypes. *PLoS One* **7**, e40203.
- Kinoshita T, Miura A, Choi Y, Kinoshita Y, Cao XF, Jacobsen SE, Fischer RL, Kakutani T (2004). One-way control of *FWA* imprinting in Arabidopsis endosperm by DNA methylation. *Science* **303**, 521–523.
- Kurth HM, Mochizuki K (2009). Non-coding RNA: a bridge between small RNA and DNA. *RNA Biol* **6**, 138–140.
- Law JA, Jacobsen SE (2010). Establishing, maintaining and modifying DNA methylation patterns in plants and animals. *Nat Rev Genet* **11**, 204–220.
- Li XY, Wang XF, He K, Ma YQ, Su N, He H, Stolc V, Tongprasit W, Jin WW, Jiang JM, Terzaghi W, Li SG, Deng XW (2008). High-resolution mapping of epigenetic modifications of the rice genome uncovers interplay between DNA methylation, histone methylation, and gene expression. *Plant Cell* **20**, 259–276.
- Liang G, Yang F, Yu D (2010). MicroRNA395 mediates regulation of sulfate accumulation and allocation in *Arabidopsis thaliana*. *Plant J* **62**, 1046–1057.
- Lippman Z, Gendrel AV, Black M, Vaughn MW, Dedhia N, McCombie WR, Lavine K, Mittal V, May B, Kasschau KD, Carrington JC, Doerge RW, Colot V, Martienssen R (2004). Role of transposable elements in heterochromatin and epigenetic control. *Nature* **430**, 471–476.
- Liu CH, Wu DY, Pollock JD (2012a). Bioinformatic challenges of big data in non-coding RNA research. *Front Genet* **3**, 178.
- Liu CY, Lu FL, Cui X, Cao XF (2010). Histone methylation in higher plants. *Annu Rev Plant Biol* **61**, 395–420.
- Liu XF, Li D, Zhang WM, Guo MZ, Zhan QM (2012b). Long non-coding RNA *gadd7* interacts with TDP-43 and regulates *Cdk6* mRNA decay. *EMBO J* **31**, 4415–4427.
- Lutsenko E, Bhagwat AS (1999). Principal causes of hot spots for cytosine to thymine mutations at sites of cytosine methylation in growing cells: a model, its experimental support and implications. *Mutat Res* **437**, 11–20.
- Manning K, Tor M, Poole M, Hong YG, Thompson AJ, King GJ, Giovannoni JJ, Seymour GB (2006). A naturally occurring epigenetic mutation in a gene encoding an SBP-box transcription factor inhibits tomato fruit ripening. *Nat Genet* **38**, 948–952.
- Martinez-Zamudio R, Ha HC (2012). Histone ADP-ribosylation facilitates gene transcription by directly remodeling nucleosomes. *Mol Cell Biol* **32**, 2490–2502.
- Messner S, Hottiger MO (2011). Histone ADP-ribosylation in DNA repair, replication and transcription. *Trends Cell Biol* **21**, 534–542.
- Miura K, Agetsuma M, Kitano H, Yoshimura A, Matsuoka M, Jacobsen SE, Ashikari M (2009). A metastable *DWARF1* epigenetic mutant affecting plant stature in rice. *Proc Natl Acad Sci USA* **106**, 11218–11223.
- Mutiu AI, Hoke SM, Genereaux J, Liang GY, Brandl CJ (2007). The role of histone ubiquitylation and deubiquitylation in gene expression as determined by the analysis of an *HTB1_{K123R}* *Saccharomyces cerevisiae* strain. *Mol Genet Genomics* **277**, 491–506.
- Nathan D, Ingvarsdottir K, Sterner DE, Bylebyl GR, Dokmanovic M, Dorsey JA, Whelan KA, Krsmanovic M, Lane WS, Meluh PB, Johnson ES, Berger SL (2006). Histone sumoylation is a negative regulator in *Saccharomyces cerevisiae* and shows dynamic interplay with positive-acting histone modifications. *Genes Dev* **20**, 966–976.
- Navarro L, Dunoyer P, Jay F, Arnold B, Dharmasiri N, Estelle M, Voinnet O, Jones JDG (2006). A plant miRNA contributes to antibacterial resistance by repressing auxin signaling. *Science* **312**, 436–439.
- Numa H, Kim JM, Matsui A, Kurihara Y, Morosawa T, Ishida J, Mochizuki Y, Kimura H, Shinozaki K, Toyoda T, Seki M, Yoshikawa M, Habu Y (2010). Transduction of RNA-directed DNA methylation signals to repressive histone marks in *Arabidopsis thaliana*. *EMBO J* **29**, 352–362.
- Ohtani M, Demura T, Sugiyama M (2008). Differential requirement for the function of SRD2, an snRNA transcription activator, in various stages of plant development. *Plant Mol Biol* **66**, 303–314.
- Paun O, Bateman RM, Fay MF, Hedrén M, Civeyrel L,

- Chase MW** (2010). Stable epigenetic effects impact adaptation in allopolyploid orchids (*Dactylorhiza*: Orchidaceae). *Mol Biol Evol* **27**, 2465–2473.
- Preuss S, Pikaard CS** (2007). rRNA gene silencing and nucleolar dominance: insights into a chromosome-scale epigenetic on/off switch. *Biochim Biophys Acta* **1769**, 383–392.
- Richards EJ** (2008). Population epigenetics. *Curr Opin Genet Dev* **18**, 221–226.
- Santos F, Hendrich B, Reik W, Dean W** (2002). Dynamic reprogramming of DNA methylation in the early mouse embryo. *Dev Biol* **241**, 172–182.
- Sharma A, Singh K, Almasan A** (2012). Histone H2AX phosphorylation: a marker for DNA damage. *Methods Mol Biol* **920**, 613–626.
- Sheldon CC, Burn JE, Perez PP, Metzger J, Edwards JA, Peacock WJ, Dennis ES** (1999). The FLF MADS box gene: a repressor of flowering in Arabidopsis regulated by vernalization and methylation. *Plant Cell* **11**, 445–458.
- Sheldon CC, Rouse DT, Finnegan EJ, Peacock WJ, Dennis ES** (2000). The molecular basis of vernalization: the central role of *FLOWERING LOCUS C (FLC)*. *Proc Natl Acad Sci USA* **97**, 3753–3758.
- Shi YJ, Lan F, Matson C, Mulligan P, Whetstone JR, Cole PA, Casero RA, Shi Y** (2004). Histone demethylation mediated by the nuclear amine oxidase homolog LSD1. *Cell* **119**, 941–953.
- Shiio Y, Eisenman RN** (2003). Histone sumoylation is associated with transcriptional repression. *Proc Natl Acad Sci USA* **100**, 13225–13230.
- Song Y, Ji D, Li S, Wang P, Li Q, Xiang F** (2012). The dynamic changes of DNA methylation and histone modifications of salt responsive transcription factor genes in soybean. *PLoS One* **7**, e41274.
- Soppe WJJ, Jacobsen SE, Alonso-Blanco C, Jackson JP, Kakutani T, Koornneef M, Peeters AJM** (2000). The late flowering phenotype of *fwa* mutants is caused by gain-of-function epigenetic alleles of a homeodomain gene. *Mol Cell* **6**, 791–802.
- Steward N, Kusano T, Sano H** (2000). Expression of *ZmMET1*, a gene encoding a DNA methyltransferase from maize, is associated not only with DNA replication in actively proliferating cells, but also with altered DNA methylation status in cold-stressed quiescent cells. *Nucleic Acids Res* **28**, 3250–3259.
- Sunkar R, Kapoor A, Zhu JK** (2006). Posttranscriptional induction of two Cu/Zn superoxide dismutase genes in Arabidopsis is mediated by downregulation of miR398 and important for oxidative stress tolerance. *Plant Cell* **18**, 2051–2065.
- Tamburini BA, Tyler JK** (2005). Localized histone acetylation and deacetylation triggered by the homologous recombination pathway of double-strand DNA repair. *Mol Cell Biol* **25**, 4903–4913.
- Tompa R, McCallum CM, Delrow J, Henikoff JG, van Steensel B, Henikoff S** (2002). Genome-wide profiling of DNA methylation reveals transposon targets of CHROMOMETHYLASE3. *Curr Biol* **12**, 65–68.
- Tör M, Manning K, King GJ, Thompson AJ, Jones GH, Seymour GB, Armstrong SJ** (2002). Genetic analysis and FISH mapping of the *colourless non-ripening* locus of tomato. *Theor Appl Genet* **104**, 165–170.
- Tsuji H, Saika H, Tsutsumi N, Hirai A, Nakazono M** (2006). Dynamic and reversible changes in histone H3-Lys4 methylation and H3 acetylation occurring at submergence-inducible genes in rice. *Plant Cell Physiol* **47**, 995–1003.
- Tsukada Y, Fang J, Erdjument-Bromage H, Warren ME, Borchers CH, Tempst P, Zhang Y** (2006). Histone demethylation by a family of JmjC domain-containing proteins. *Nature* **439**, 811–816.
- Tucker S, Vitins A, Pikaard CS** (2010). Nucleolar dominance and ribosomal RNA gene silencing. *Curr Opin Cell Biol* **22**, 351–356.
- Turck F, Roudier F, Farrona S, Martin-Magniette ML, Guillaume E, Buisine N, Gagnot S, Martienssen RA, Coupland G, Colot V** (2007). Arabidopsis TFL2/LHP1 specifically associates with genes marked by trimethylation of histone H3 lysine 27. *PLoS Genet* **3**, e86.
- Vaillant I, Paszkowski J** (2007). Role of histone and DNA methylation in gene regulation. *Curr Opin Plant Biol* **10**, 528–533.
- Valencia-Morales Mdel P, Camas-Reyes JA, Cabrera-Ponce JL, Alvarez-Venegas R** (2012). The Arabidopsis thaliana SET-domain-containing protein ASHH1/SDG26 interacts with itself and with distinct histone lysine methyltransferases. *J Plant Res* **125**, 679–692.
- Vaniushin BF** (2006). DNA methylation and epigenetics. *Genetika* **42**, 1186–1199.
- Vaucheret H, Vazquez F, Crété P, Bartel DP** (2004). The action of ARGONAUTE1 in the miRNA pathway and its regulation by the miRNA pathway are crucial for plant development. *Genes Dev* **18**, 1187–1197.
- Verhoeven KJ, Jansen JJ, van Dijk PJ, Biere A** (2010).

- Stress-induced DNA methylation changes and their heritability in asexual dandelions. *New Phytol* **185**, 1108–1118.
- Wada Y, Miyamoto K, Kusano T, Sano H** (2004). Association between up-regulation of stress-responsive genes and hypomethylation of genomic DNA in tobacco plants. *Mol Genet Genomics* **271**, 658–666.
- Wang WS, Pan YJ, Zhao XQ, Dwivedi D, Zhu LH, Ali J, Fu BY, Li ZK** (2011). Drought-induced site-specific DNA methylation and its association with drought tolerance in rice (*Oryza sativa* L.). *J Exp Bot* **62**, 1951–1960.
- Wang XF, Elling AA, Li XY, Li N, Peng ZY, He GM, Sun H, Qi YJ, Liu XS, Deng XW** (2009). Genome-wide and organ-specific landscapes of epigenetic modifications and their relationships to mRNA and small RNA transcripts in maize. *Plant Cell* **21**, 1053–1069.
- Wierzbicki AT** (2012). The role of long non-coding RNA in transcriptional gene silencing. *Curr Opin Plant Biol* **15**, 517–522.
- Willmann MR, Poethig RS** (2007). Conservation and evolution of miRNA regulatory programs in plant development. *Curr Opin Plant Biol* **10**, 503–511.
- Wu SC, Kallin EM, Zhang Y** (2010). Role of H3K27 methylation in the regulation of lncRNA expression. *Cell Res* **20**, 1109–1116.
- Zhang L, Cheng Z, Qin R, Qiu Y, Wang JL, Cui X, Gu L, Zhang X, Guo X, Wang D, Jiang L, Wu CY, Wang H, Cao X, Wan J** (2012). Identification and characterization of an epi-allele of FIE1 reveals a regulatory linkage between two epigenetic marks in rice. *Plant Cell* **24**, 4407–4421.
- Zhou JL, Wang XF, He K, Charron JBF, Elling AA, Deng XW** (2010). Genome-wide profiling of histone H3 lysine 9 acetylation and dimethylation in Arabidopsis reveals correlation between multiple histone marks and gene expression. *Plant Mol Biol* **72**, 585–595.
- Zhu YN, van Essen D, Sacconi S** (2012). Cell-type-specific control of enhancer activity by H3K9 trimethylation. *Mol Cell* **46**, 408–423.
- Zilberman D, Henikoff S** (2005). Epigenetic inheritance in Arabidopsis: selective silence. *Curr Opin Genet Dev* **15**, 557–562.

Research Progress in Epigenetic Modification and Its Function in Plants

Xiaoguo Zheng^{1, 2}, Liang Chen¹, Lijun Luo^{1, 2*}

¹Shanghai Agrobiological Gene Center, Shanghai 201106, China; ²Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China

Abstract Epigenesis is defined as heritable changes that can modulate gene expression without any changes in DNA sequence, including reversible modification of DNA and chromatin and post-transcriptional regulation. DNA methylation, histone modification and non-coding RNA regulation are the 3 pillars of epigenetics research. These epigenetic mechanisms play important roles in developmental regulation, the response to biotic and abiotic stress, and environmental adaptation of plants. This review covers the research into epigenetic modifications in plants and impact on the developmental process of plants (e.g., plant height, flowering time, floral symmetry, fruit ripening) and the response of plants to environmental stresses.

Key words plant, DNA methylation, histone modification, non-coding RNA regulation

Zheng XG, Chen L, Luo LJ (2013). Research progress in epigenetic modification and its function in plants. *Chin Bull Bot* **48**, 561–572.

* Author for correspondence. E-mail: lijun@sagc.org.cn