

植物 DNA 甲基化及其表观遗传作用

陈小强 王春国 李秀兰 宋文芹* 陈瑞阳

(南开大学生命科学学院, 天津 300071)

摘要 表观遗传学(epigenetics)是研究没有DNA序列变化的、可遗传的基因表达的改变。目前研究表明,表观遗传学在植物生长发育过程中起着极其重要的作用,主要通过包括DNA甲基化、RNA干涉、基因组印记、转基因沉默等多个方面来调控植物的生长发育。其中,DNA甲基化是表观遗传学的最重要研究内容之一,是调节基因组功能的重要手段。现对植物DNA甲基化的特征、维持机制、调控机制、表观遗传作用及其研究方法进行简要论述。

关键词 表观遗传学;植物DNA甲基化;甲基化研究方法

长期以来,人们一直认为生物体的遗传性状完全是由DNA决定的。目前,基因组计划已经揭示出人类和拟南芥的全套基因组序列。但随着研究的深入,发现有些生物表型千差万别,其基因序列却差异不大。而表观遗传学(epigenetics)正是系统研究没有DNA序列变化、可遗传的基因表达改变的遗传学分支学科。无论是在动物、植物还是微生物领域方面,表观遗传学作为阐明基因组功能及基因表达的关键研究领域,已成为生命科学研究热点之一^[1]。而甲基化作为基因组DNA的一种主要表观遗传修饰方式,在植物体的生长发育中起着重要的调节作用^[2]。为了帮助了解DNA甲基化对植物生长发育的影响,本文简要地对植物DNA甲基化特征、维持机理、调控机制、表观遗传作用及其研究方法方面的一些进展作一综述。

1 植物DNA甲基化特征

在高等植物中,多数DNA甲基化发生在GC富含区和高度重复序列处。重复序列甲基化发生在CpG二核苷酸对中的胞嘧啶第5位碳原子上,但也常发生在CAG、CTG三核苷酸和CCG模体(motif)中,并且常常是对称地甲基化,但也有非对称序列甲基化的报道^[3]。而非重复序列基因在这些位点常常并不发生甲基化^[4]。此外,植物DNA甲基化分布还具时空特异性。研究发现,所有的植物中都存在不同程度的DNA甲基化,胞嘧啶发生甲基化的比例因植物种类而异,裸子植物比开花植物DNA包含更少的甲基化胞嘧啶^[3],高等植物DNA的甲基化比例从4.6%~30%左右不等^[2]。植物DNA甲基化的这种种属差异

性有着非常重要的系统学意义^[3]。更有意义的是,在同一物种不同组织或同一类型细胞的不同发育阶段,基因组DNA各CpG位点甲基化状态也都各不相同。玉米中编码胚乳特异性表达的B-zip的Opaque2基因,启动子序列在叶片组织(非表达组织)DNA高度甲基化^[5];水稻幼苗和充分展开的旗叶中存在不同的DNA甲基化模式,幼苗期DNA甲基化程度比旗叶组织要高^[6]。此外,不同外界环境条件也会影响DNA甲基化的程度及模式。冷处理水稻48h后其基因组中一些CCGG位点发生了重新甲基化或去甲基化^[7],甲基化模式和水平发生明显改变。另外,植物特定基因及其启动子区域的甲基化分布模式也不同,Janousek等^[8]分析*Silene latifolia*雄性繁殖器官特异性表达基因(*MROS1*)在花粉粒发育过程中的DNA甲基化状态,发现上游区域99%的CpG二核苷酸序列DNA高度甲基化,而在转录序列中只有7%的CpG出现甲基化。总之,植物DNA甲基化有其独有的、复杂的基因组甲基化系统,通过甲基化模式的时空变化来控制植物的生长发育。植物基因组甲基化模式与基因表达密切相关,即基因在不表达的组织中甲基化,而在特表达的组织中去甲基化,甲基化模式变化很大。

2 植物DNA甲基化模式产生及维持机制

2.1 植物DNA甲基转移酶

甲基转移酶在甲基化不同模式变化中起着非常

收稿日期: 2006-12-21 接受日期: 2007-04-19

国家高技术研究发展计划(863计划)(No.2006AA100109),天津市支撑计划(No.072CKFNC01200)资助

*通讯作者。Tel: 022-23508241, E-mail: songwq@nankai.edu.cn

重要的作用。DNA 甲基化是在 DNA 复制后, 甲基转移酶催化将 S-腺苷酰-L-甲硫氨酸(SAM)上的甲基基团连接到DNA分子的胞嘧啶碱基的第五位碳原子上, 形成 5-甲基胞嘧啶, 进行 DNA 修饰的过程。研究表明, 在植物中广泛存在 4 类甲基转移酶^[9]。所有 DNA 甲基转移酶的催化结构域都包含 10 个模体, 其中有 5 个在所有物种中是高度保守的。利用催化结构域的这种高度保守性, Finnegan 等^[9]从拟南芥中分离出了第一个植物甲基转移酶基因 *Met1*, 它编码的蛋白质在结构上与哺乳动物的甲基化酶 *Dnmt1* 类似。MET1 家族在植物甲基化酶中占统治地位, 主要功能是在重复和单拷贝的 DNA 序列中维持甲基化^[9]。*Met1-1* 突变体的 CG 甲基化的减少会导致发育不正常^[10]。目前, 已在胡萝卜、西红柿、玉米等多种植物中分离到 *Met1* 基因^[3]。

另一种甲基转移酶为染色质甲基化酶(CMT), 其结构也与哺乳动物的 *Dnmt1* 相似, 广泛分布于植物中, 是植物特有的, 主要特征是其催化区 I 和 IV 连接一个染色质异染色质区氨基酸模体, 并且特异性地维持非 CG 序列的甲基化^[3]。在拟南芥中已经识别了至少 3 个 CMT 编码基因^[9]。研究发现, CMT-3 功能缺失并不会导致植物发育和生理异常, 这与 *Met1-1* 突变体不同^[3]。

第三种是结构域重排甲基转移酶(DRM), 它的结构与哺乳动物 *Dnmt3* 类似^[11], 特异指导在植物的 CNG 和 CHH(H 为除 G 之外的任何碱基)处发生甲基化。DRM 基因家族可能包括 DRM1、DRM2 和 *Zmet3* 三个成员, 目前还不能确定它们是否同哺乳动物甲基转移酶 *Dnmt3* 一样在基因组的从头甲基化中起作用。但有报道, 在所有烟草组织和细胞周期中呈组成型表达的 DRM *NtDRM1* 能使非 CG 序列处胞嘧啶从头甲基化^[12]。

此外, 植物中还存在第四类甲基转移酶, 例如玉米中的 DMT104 和拟南芥中的 DMT11, 它们可能是 DNMT2 家族的同系物, 虽然它们在不少物种中是保守的, 但其功能目前还不清楚^[13]。

现今, 已经从拟南芥、水稻、胡萝卜、大麦、玉米和芸苔等多种植物中分离到各种 DNA 甲基转移酶编码基因^[3,9,14~16]。拟南芥至少有 10 个基因编码 DNA 甲基转移酶, 比至今已测序的任何其他的真核生物都多^[3]。研究表明, DNA 甲基转移酶基因在分生细胞中充分表达, 可能与细胞分裂有关; 甲基转移酶基因的时空表达差异与植物发育中 DNA 甲基化的改

变有关。

2.2 DNA 甲基化产生及维持形式

植物发育过程中形成的甲基化不同模式可利用 DNA 甲基转移酶通过三种形式完成: 一是 DNA 甲基化的保持, 二是从头甲基化, 三是去甲基化。

DNA 甲基化的保持是指在世代间复制甲基化模式的过程。最简单的机制就是维持甲基化的 DNA 甲基转移酶, 按照模板的甲基化模式, 通过半保留复制方式将亲代的甲基化模式遗传给子代。例如, 拟南芥亲本印记就需要在许多世代间持续维持甲基化^[17]。但事实上, 维持甲基化并非如此简单。维持甲基化的 DNA 甲基转移酶, 只是部分地保证这个过程的稳定性, 可能还存在其他未知成份参与这个过程的维持。

DNA 从头甲基化(denovo methylation)是对 DNA 上甲基状态的重新构建, 它不依赖 DNA 复制, 在完全去甲基化的位点上引入甲基。DNA 甲基化转移酶在从头甲基化中发挥着重要的作用。在早期胚胎细胞中, 从头甲基化酶高度表达, 在这个时期, 从头甲基化是影响所有的 CpG 胞嘧啶的一个不加选择的过程。然而, 从头甲基化酶也不是都能同等地作用于所有的基因组区域。一种假设是, 从头甲基化发生需要一些辅助因子, 比如拟南芥基因组全甲基化就必须有 SNF2 蛋白质因子参与^[18]; 另一种假设认为从头甲基化酶的作用方式取决于 DNA 模板本质^[19], 某种环境下特定的 DNA 重复序列可以促进从头甲基化。植物中, 重复序列和反向重复序列都能够成为启动子甲基化和转录水平基因沉默的目标。据报道, 反向重复序列对在拟南芥的 PAI 位点处的表观遗传沉默是至关重要的, 可能直接指导 DNA-DNA 相互作用, 导致胞嘧啶甲基化在重复序列和反向重复序列间的转移^[20], 从而实现基因沉默。另外, 植物转录后基因沉默的分子遗传学研究表明双链 RNA 也可以促使同源基因组 DNA 从头甲基化。在烟草、豌豆和拟南芥中已经建立与 DNA 甲基化有关的双链 RNA 介导转基因沉默系统^[21]。最近, Matzke 等^[22]提出一个假设, 即不同的位点特异性 DNA 甲基化转移酶彼此协同作用来对 RNA 信号作出反应, 进而与组蛋白修饰酶共同建立和维持同源目标启动子的转录失活状态, 较为全面地介绍了 RNA 介导的植物 DNA 甲基化作用机制。

同时, 作为一种调控方式, 甲基化过程必然要求相应的去甲基化过程与之协调来解除甲基化的抑制作用, 使沉默的基因激活。目前有两种假说解释

DNA 去甲基化的分子机制。一种假说为被动去甲基化, 与 DNA 半保留复制有关, 认为甲基化形式不能被遗传, 而是在不断的传代过程中, 原有模板 DNA 上的甲基化被逐渐“稀释”的结果^[3]; 第二种假说与半保留复制无关, 为主动去甲基化。5-甲基胞嘧啶糖基化酶是体内候选的去甲基化酶。DNA 去甲基化可能是由糖基化酶或含有甲基化胞嘧啶结合域的多肽脱掉甲基化基团的方式进行^[23]; 也有报道认为在 DNA 复制过程中, 一些核因子结合于 DNA 上, 阻碍了甲基化酶对半甲基化 DNA 的识别; Cui 等^[24]曾报道转座子抑制突变的 Tnp 蛋白介导去甲基化。

综上所述, 目前普遍认为, 在胚胎早期, 整个基因组发生了普遍的非特异性去甲基化过程。细胞内新的甲基化模式一旦建成, 即可通过甲基化酶以“甲基化保持”的形式将新的 DNA 甲基化传递给所有子细胞 DNA 分子, 再加上具有组织和发育阶段的特异性去甲基化过程共同调控植物的生长发育。

3 植物 DNA 甲基化的表观遗传作用

DNA 甲基化模式不同时空变化是植物正常生长发育所必需的^[25]。在植物中, 甲基化不足使植株产生明显的表型异常。例如, 用去甲基化试剂 5-氮胞嘧啶处理水稻种子, 由于甲基化水平的降低, 导致组织中正常情况下不表达的基因进行表达, 其植株表现出矮化、叶片变小等可以遗传的异常表型^[3]。将甲基转移酶反义基因 *MET1* 转入拟南芥, 其甲基化水平降低, 导致该植株开花时间、生殖力以及叶和花的形态都发生改变。也有证据表明, 由反义过程、突变及基因失活^[3]引起的高甲基化也会引起植物生长、发育及表型的异常。云兰属植物 *Linaria vulgaris* 突变体的花从左右对称变为辐射状就是由于一个 *lcyc* 基因广泛甲基化, 因而不能表达的结果^[26]。笔者分析了大花蕙兰授粉前后子房全基因组 DNA 的甲基化状况, 发现在大花蕙兰子房发育过程中存在大量 DNA 甲基化状态的改变。除甲基化水平有变化外, 大部分检测位点的 DNA 甲基化模式在授粉前后存在显著差异。结果表明, 在大花蕙兰子房中同时存在 DNA 的甲基化和去甲基化现象, 授粉后可通过 DNA 甲基化的改变来调控基因的转录, 在特定时期关闭或开启基因, 从而促进子房发育(待发表)。总之, 大量研究表明, 基因表达活性同 DNA 胞嘧啶甲基化程度之间存在负相关性, DNA 甲基化程度越低, 基因表达活性越高; 反之, DNA 甲基化程度越高, 基因表达活

性也就越低。这样, DNA 甲基化在植物不同发育时期和不同环境下有效调控基因的时空表达, 实现其重要的表观遗传作用。

3.1 DNA 甲基化与植物转座子活动

植物中的转座子和反转座子是由重复序列组成, 通常在植物基因组中特异甲基化, 且比细胞编码基因的甲基化水平要高^[27]。玉米主要的 *Spm* 转座子系统遗传特性与其 5' 端调控区甲基化程度密切相关, 活性转座子转录起始点上游 0.2 kb 区内 CpG 主要是非甲基化或低甲基化水平, 而非活性转座子相应位点则大部分或全部甲基化^[24]。转座子元素的甲基化状态决定该转座子的转座能力^[28]。据报道, 植物转座子甲基化的丢失会激活转座子, 使其发生移动。例如, 在拟南芥甲基化缺失突变体中, 沉默的转座子元素重新被激活^[29]。水稻内源反转座子 *Tos17* 正常情况下是失活的, 在组织培养过程中被激活并伴随胞嘧啶的去甲基化以及邻近基因组区域甲基化模式可遗传性的改变^[30]。一个引入的反转座子(*Tto1*)的沉默与该元素的高甲基化有关, 而基因组范围的去甲基化会导致它的激活以及重新转座^[31]。这表明 DNA 甲基化状态在转座子活动中起重要作用, 并且调节基因的活性。

3.2 DNA 甲基化与植物春化作用及开花

春化作用可以促进开花; 而用去甲基试剂 5-azaC 处理也可促进早开花^[32]。这说明甲基化程度的降低可以促进提早开花。另外, 有实验表明, 对春化不敏感的植物对 5-azaC 的处理无反应, 5-azaC 处理和低温对促进开花具有加成性^[15], 这也说明去甲基化与春化和促进提早开花的机制密切相关。例如, 冬小麦比春小麦具有更高的 DNA 甲基化水平, 进行春化诱导后 DNA 发生去甲基化, 从而诱导开花^[33]。经过大量研究表明, 春化促进开花可能是由于诱导开花的重要基因或基因启动子去甲基化引起的, 例如, 冷处理通过两个明显的甲基化事件抑制开花抑制基因 *FLC* 活性^[34], 从而促进开花。

3.3 DNA 甲基化与杂种优势

Tsaftaris 等^[35]对一个玉米杂交种及其亲本的 DNA 甲基胞嘧啶分析发现杂种优势产生与 DNA 甲基化降低有关。水稻杂交种及其亲本基因组 DNA 的甲基化水平研究结果也表明, 虽然总体上甲基化程度与杂种优势不相关, 但某些特异位点上甲基化程度的改变却对杂种优势有显著的效应, 说明杂交种与亲本间不同的 DNA 甲基化模式可能是杂种优势表达的一个原因^[6]。仪治本等^[36]分析了 3 个高粱杂交种和 2 个玉

米杂交种及其相应亲本总 DNA 胞嘧啶的甲基化水平和杂交种与相应亲本甲基化的模式差异,探索 F1 代杂种优势形成的分子基础,证实杂种优势的产生确实与杂交种 F1 代基因组 DNA 甲基化模式的改变和重新调整有关。对 DNA 甲基化与基因抑制表达的分析认为,自交能导致甲基化程度的逐渐积累,而杂交能使甲基化程度得以解除或重新编排。

3.4 DNA 甲基化与转基因植物的基因沉默

早在 1985 年就有报道转基因烟草中 T-DNA 上的冠瘿碱基因由于发生甲基化而使表达受到抑制的现象。近年来的研究表明,几乎所有的转基因沉默现象都与转基因的甲基化有关,它既包括转基因自身 DNA 甲基化,也包括核基因组上转基因整合位点 DNA 甲基化。来自模式植物包括矮牵牛花、烟草及拟南芥的证据表明,多拷贝转基因可以作为重新甲基化作用目标序列,而 DNA 甲基化作用明显地影响到转化的外源基因在体内的表达。当转基因烟草外源 *Npt II* 基因被甲基化后,其表达水平大幅度下降,以至根本不能检测出活性;使用 5-azaC 处理后, *NPT- II* 酶活性得到恢复,转化组织的抗性增强^[37]。研究还发现,发生在启动子 5' 端的甲基化是造成转录水平基因沉默的主要原因。Meng 等^[38]在大麦转基因研究中发现启动子泛素 I 复合体区域,由于外元和内元 DNA 甲基化而导致大麦转基因株系的表达沉默。而基因转录后沉默主要是与基因编码区的甲基化有关。Meyer 等^[39]用玉米 A1 基因转化矮牵牛,得到 3 个插入位点不同但都仅含一个拷贝的转基因品系,经转录活性检测表明,转基因的不同转录水平与其整合位点的甲基化程度密切相关。Fu 等^[40]得到并分析了一个由三个连锁异位转基因(*bar*, *hpt*, *gusA*)组成的仅含一个拷贝的转基因品系的四个世代的植物。结果表明,除了几个维持非甲基化状态的植物可以进行正常的转基因表达外,大量植物发生转基因沉默,而且这种选择性沉默与 DNA 甲基化的几个不同模式有关。

3.5 DNA 甲基化与亲本印记

子代细胞与亲本存在适当的差异甲基化是植物正常发育的先决条件。不同亲本来源的两个等位基因中的一个在含有 CpG 岛的序列上发生甲基化会导致其在子代细胞中表达不同,亲本印记(parental imprinting)就是通过这一遗传机制保留亲本表观遗传信息的一种方式。在玉米和小麦胚乳中,几个基因家族的一些成员表现差异甲基化,而这种甲基化的差异与亲本印记有关^[40]。在许多世代间持续维持甲基

化对于涉及亲本印记的 CpG 位点是关键,例如,拟南芥的 *MEDEA* 基因是植物发育早期唯一的一个具备印记功能的关键基因^[41]。*MEA1* 印记发生在胚胎和胚乳中,它的突变, *MEDEA*, 导致母系遗传的种子败育,而父系遗传的 *MEA1* 不能使这种突变体恢复。*MEA1* 依赖一种能长期维持甲基化状态的 *DDM1* 基因, *MEA1* 和 *DDM1* 的相互作用说明拟南芥生命周期中 DNA 甲基化的维持是亲本印记所必需的^[41]。研究还表明,植物亲本印记不是动物那样的区域特定化而是等位基因特定化,玉米胚乳中,在受精后两个亲本等位基因获得不同的甲基化,仅母本遗传的、非甲基化的基因可以表达^[42]。

3.6 DNA 甲基化与植物组织培养及体细胞无性系变异

近年来,人们对组织培养过程中总甲基化的改变进行了大量研究,发现再生植株及其后代的 DNA 甲基化模式变异很大^[3]。Arnholz-Schmitt 等^[43]报道组织培养的胡萝卜再生植株总甲基化水平随生长期不同而改变。在辐射松(*Pinus radiata*)中观察到 DNA 甲基化水平和外植体离体成活能力有关^[44]。在组织培养再生植株中存在着一种可遗传的变异,称为体细胞无性系变异。研究表明, DNA 甲基化状态或水平变化可能是体细胞无性系变异的根本原因之一。在对组织培养诱发油椰子(*Elaeis guineensis*)基因组表观遗传变异的研究中,比较正常植株、离体组织培养苗以及再生植株基因组范围的 DNA 甲基化分布和结构,结果表明其表型是与基因组成分的甲基化模式的改变有关^[45],暗示 DNA 甲基化变异在组织培养诱导的体细胞无性系变异中确实起重要作用。

4 植物 DNA 甲基化的研究方法

随着对甲基化生物学功能研究的进展,用于检测 DNA 甲基化的方法也相应得到发展。目前已经报道有十多种检测基因组甲基化水平的方法^[46,47],根据研究所用处理方法大致可分为:基于甲基化敏感限制性内切酶酶切法;基于重亚硫酸盐处理靶 DNA 法;基于 PCR 扩增法。

限制性核酸内切酶法一般用对 5-甲基胞嘧啶敏感的限制性核酸内切酶消化基因组 DNA。对于不存在甲基化的 DNA,限制性核酸内切酶在识别位点处切断 DNA;对于存在甲基化的 DNA,则不能切断。不同的核酸内切酶识别序列不一样,应根据实验目的来选择不同的核酸内切酶。

表 1 植物 DNA 甲基化的研究方法

应用	技术方法	对 DNA 所用处理方法			参考文献
		限制酶酶切	重亚硫酸盐	PCR 扩增	
对全基因组 DNA 甲基化检测	MSRF	√		√	[48]
	MS-PCR		√	√	[49]
	MSAP	√		√	[50]
	MCA-RDA	√		√	[51]
	DMH		√	√	[52]
	RLGS	√		√	[53]
	MS-MCA		√	√	[54]
	MBD				[55]
	COMPARE-MS	√		√	[56]
	MSRE-Southern	√			[57]
对特异 DNA 片段甲基化检测	COBRA	√	√	√	[58]
	MS-SNuPE		√	√	[59]
	MS-SSCA		√	√	[60]
	Methylight		√	√	[61]
	MS-DHPLC		√	√	[62]
	MSO		√		[63]
	MS-DBA		√	√	[64]
	MS-MLPA	√		√	[65]

基于重亚硫酸盐处理靶 DNA 法, 是利用重亚硫酸盐处理 DNA, DNA 中非甲基化的胞嘧啶(C)经脱氨变成尿嘧啶(U), 而甲基化的胞嘧啶抗脱氨作用会保持不变, 随后用高度特异性的引物进行扩增, 模板上的尿嘧啶会被扩增为胸腺嘧啶(T), 然后对扩增片段进行分析, 就能得到扩增的所有 CpG 位点甲基化状态的详细信息。

现今, 大多数检测方法都是把上述处理方法联合使用。从研究目的来说, 植物 DNA 甲基化的检测方法可分为两大类(表 1)。

一是从全基因组角度, 从基因组水平上分析甲基化不仅可以分析基因组或染色体的特定区域的甲基化程度, 而且可以比较不同材料或组织以及同一组织不同发育时期之间的甲基化差异。Reyna-Lopez 等^[50]于 1997 年在 AFLP 技术基础上建立了甲基化敏感扩增多态性法(methylation-sensitive amplified polymorphism, MSAP), 采用两个对甲基化敏感程度不同的同裂酶, *HpaII* 和 *MspI*。此技术操作简便, 易分析, 现已被广泛应用于许多植物上分析胞嘧啶甲基化的水平和模式。笔者应用该技术分析了大花蕙兰授粉前后子房全基因组 DNA 甲基化状况, 认为大量的去甲基化和甲基化事件与授粉后子房的发育有关(待发表)。最近, Srinivasan 等^[56]报道了一种新技术, 联合甲基化敏感性限制性内切酶的 MBD 柱层析法(COMPARE-MS), 能够快速、敏感的检测 DNA 甲基化情况。二是对一些特异性基因启动子区域或基

因内部 CpG 位点甲基化状态进行研究。随着甲基化研究的深入, 近年建立了大量可以定性或定向确定特异位点处 DNA 甲基化情况的方法。其中, 亚硫酸氢化测序与限制性分析(combined bisulfite restriction analysis, COBRA), 是结合重亚硫酸盐的一种限制性内切酶法, 这种方法对标本 DNA 进行重亚硫酸盐处理及 PCR 扩增, 随后用限制性内切酶对 PCR 产物切割, 然后进行电泳分析, 根据电泳条带的不同亮度, 进行甲基化程度的定量分析。Akey 等^[66]在 COBRA 的基础上结合溶解曲线分析, 建立了 McCOBRA 的新方法, 可以简便、快速对 CpG 位点进行定量和定性分析。此外, 近年还开发出了一种新的能够定量或半定量分析样本中甲基化水平的方法——甲基化敏感性斑点分析(MS-DBA), 该方法快速、简便、易于掌握, 可能会成为植物甲基化分析的重要手段。

总之, DNA 甲基化的检测方法报道非常之多(表 1), 在应用时应根据实验目的和待检测位点的序列特征选择最合适的方法。

5 小结

表观遗传学是一个发展中的研究领域, 是遗传学发展的必然结果。表观遗传信息可以通过控制基因的表达时间、空间位置和表达方式来调控发育过程及各种生理反应。DNA 甲基化作为表观遗传学最重要的研究内容, 在植物方面虽然已经取得了一定进展, 但主要还是集中在总甲基化水平与植物生长发育的

关系上,对机制的研究还很缺乏;而且目前植物DNA甲基化检测的方法都是在研究动物的基础上发展起来的,还存在一定的局限性。因此,探索更适合于植物DNA甲基化的检测方法,深入研究DNA甲基化规律,阐明其对植物生长发育的调控机制,将对植物遗传和进化的理论研究具有启发作用,对植物生长发育的调控具有重要的指导实践意义。

参考文献(References)

- [1] Jablonka E *et al.* *Ann N Y Acad Sci*, 2002, **981**: 82
- [2] Finnegan EJ *et al.* *Curr Opin Genet Dev*, 2000, **10**: 217
- [3] Vanyushin BF. *Curr Top Microbiol Immunol*, 2006, **301**: 67
- [4] Yuan Y *et al.* *Genome Res*, 2002, **12**: 1345
- [5] Rossi V *et al.* *J Biol Chem*, 1997, **272**: 13758
- [6] Xiong LZ *et al.* *Mol Gen Genet*, 1999, **261**: 439
- [7] 华 扬等. *遗传*, 2005, **27**: 595
- [8] Janousek B *et al.* *Genome*, 2002, **45**: 930
- [9] Finnegan EJ *et al.* *Plant Mol Biol*, 2000, **3**: 189
- [10] Kankel MW *et al.* *Genetics*, 2003, **163**: 1109
- [11] Cao X *et al.* *Curr Biol*, 2002, **12**: 1138
- [12] Wada Y *et al.* *J Biol Chem*, 2003, **278**: 42386
- [13] Goodrich J *et al.* *Annu Rev Cell Dev Biol*, 2002, **18**: 707
- [14] Dai Y *et al.* *Biochim Biophys Acta*, 2005, **1729**: 118
- [15] 侯雷平等. *植物生理学通讯*, 2001, **37**: 584
- [16] Fujimoto R *et al.* *Genes Genet Syst*, 2006, **81**: 235
- [17] Jullien PE *et al.* *Plant Cell*, 2006, **18**: 1360
- [18] Jeddeloh JA *et al.* *Nat Genet*, 1999, **22**: 94
- [19] Okuwaki M *et al.* *J Biol Chem*, 2004, **279**: 2904
- [20] Luff B *et al.* *Cell*, 1999, **3**: 505
- [21] Mathieu O *et al.* *J Cell Sci*, 2004, **117**: 4881
- [22] Matzke M *et al.* *Biochim Biophys Acta*, 2004, **1677**: 129
- [23] Weiss A *et al.* *Cell*, 1996, **86**: 709
- [24] Cui H *et al.* *Plant Cell*, 2002, **14**: 2883
- [25] Klose RJ *et al.* *Trends Biochem Sci*, 2006, **31**: 89
- [26] Cubas P *et al.* *Nature*, 1999, **401**: 157
- [27] Rabinowicz PD *et al.* *Genome Res*, 2003, **13**: 2658
- [28] Ros F *et al.* *Genetics*, 2001, **157**: 1723
- [29] Kato M *et al.* *Curr Biol*, 2003, **13**: 421
- [30] Lippman Z *et al.* *Nature*, 2004, **430**: 471
- [31] Hirochika H *et al.* *Plant Cell*, 2000, **12**: 357
- [32] Burn JE *et al.* *Proc Natl Acad Sci USA*, 1993, **90**: 287
- [33] Sherman JD *et al.* *Genome*, 2002, **45**: 253
- [34] Bastow R *et al.* *Nature*, 2004, **427**: 164
- [35] Tsafaris AS. *J Crop Production*, 1998, **1**: 95
- [36] 仪治本等. *作物学报*, 2005, **9**: 1138
- [37] Baulcombe DC *et al.* *Curr Opin Biotechnol*, 1996, **7**: 173
- [38] Meng L *et al.* *Plant Mol Biol*, 2003, **53**: 327
- [39] Meyer P *et al.* *EMBO J*, 1994, **13**: 2084
- [40] Fu Y *et al.* *Plant Physiol*, 2004, **135**: 2040
- [41] Kinoshita T *et al.* *Plant Cell*, 1999, **11**: 1945
- [42] Gutiérrez-Marcos JF *et al.* *Nat Genet*, 2006, **38**: 876
- [43] Arnholt-Schmitt B *et al.* *Theor Appl Genet*, 1995, **91**: 809
- [44] Fraga MF *et al.* *Tree Physiol*, 2002, **22**: 813
- [45] Kubis E. *et al.* *Plant Mol Biol*, 2003, **52**: 69
- [46] Christina D *et al.* *Biogerontology*, 2003, **4**: 233
- [47] 沈佳尧等. *生命的化学*, 2003, **23**: 149
- [48] Huang TH *et al.* *Cancer Res*, 1997, **57**: 1030
- [49] Herman JG *et al.* *Proc Natl Acad Sci USA*, 1996, **93**: 9821
- [50] ReynaLopez GE *et al.* *Mol Gen Genet*, 1997, **253**: 703
- [51] Toyota M *et al.* *Cancer Res*, 1999, **59**: 2307
- [52] Huang TH *et al.* *Hum Mol Genet*, 1999, **8**: 459
- [53] Costello JF *et al.* *Nat Genet*, 2000, **24**: 132
- [54] Worm J *et al.* *Clin Chem*, 2001, **47**: 1183
- [55] Shiraishi M *et al.* *Ana Biochem*, 2004, **329**: 1
- [56] Yegnasubramanian S *et al.* *Nucleic Acids Res*, 2006, **34**: e19
- [57] 范保星等. *国外医学遗传学分册*, 2002, **25**: 99
- [58] Xiong Z *et al.* *Nucleic Acids Res*, 1997, **25**: 2532
- [59] Gonzalgo ML *et al.* *Nucleic Acids Res*, 1997, **25**: 2529
- [60] Maekawa M *et al.* *Biochem Biophys Res Commun*, 1999, **262**: 671
- [61] Eads CA *et al.* *Nucleic Acids Res*, 2000, **28**: E32
- [62] 邓大君等. *中华医学杂志*, 2001, **80**: 158
- [63] Gitan RS *et al.* *Genome Res*, 2002, **12**: 158
- [64] Clement G *et al.* *Clin Pathol*, 2005, **58**: 155
- [65] Nygren AO *et al.* *Nucleic Acids Res*, 2005, **33**: e128
- [66] Akey DT *et al.* *Genomics*, 2002, **80**: 376

DNA Methylation in Plants and Its Epigenetic Function

Xiao-Qiang Chen, Chun-Guo Wang, Xiu-Lan Li, Wen-Qin Song*, Rui-Yang Chen

(College of Life Sciences, Nankai University, Tianjin 300071, China)

Abstract Epigenetics is defined as gene-regulating activities with heritable characteristics that do not involve a change to the base sequences. It's responsible for the mechanisms of the temporal and spatial control of gene activity in plants through the study of DNA methylation, RNA interference, genomic imprinting, transcriptional gene silencing, etc. Thereinto, the best known and most thoroughly studied epigenetic phenomena is DNA methylation, which plays an important role in regulating gene expression during plant regeneration and development. In this review, the authors briefly introduced the characteristics of plant methylation, its regulating mechanisms, epigenetic functions and analysis techniques.

Key words epigenetics; plant DNA methylation; analysis techniques of DNA methylation

Received: December 21, 2006 Accepted: April 19, 2007

This study was supported by the National High-Tech Research and Development Program of China (863 Program) (No.2006AA100109) and the Key Program of Tianjin Science and Technology Support Plan (No.072CKFNC01200)

*Corresponding author. Tel: 86-22-23508241, E-mail: songwq@nankai.edu.cn