

DOI: 10.13376/j.cblls/2016152

文章编号: 1004-0374(2016)10-1138-09



周道绣, 华中农业大学教授。主要从事植物表观修饰的建立、识别和重建机制以及控制基因表达和生长发育的表观遗传机理等方面研究。在 SCI 杂志上发表论文 80 余篇。担任 SCI 期刊 *Plant Biotechnol J*、*Front Plant Genet Genom* 副主编, 以及 *Epigenetics* 编委。

水稻表观基因组研究进展

周 超, 赵 毓, 周少立, 周道绣*

(华中农业大学作物遗传改良国家重点实验室, 武汉 430070)

摘 要: 水稻是世界上主要的粮食作物之一, 也是功能基因组研究的模式植物。近年来水稻表观基因组研究取得了重大进展, 表观基因组是指在特定的内在和外界环境条件下, 细胞内全基因组染色质的修饰(如 DNA 甲基化、组蛋白修饰、核小体在基因组 DNA 上的排列等)状态。表观基因组在调控水稻生长发育、产量、品质、适应性以及抗性基因表达重编程过程中起重要作用, 在水稻生物学和遗传育种科学研究中起着重要的作用。现试图描述水稻表观基因组的特征, 总结近年来研究所取得的成就, 讨论未来的发展方向。

关键词: 作物; 表观基因组; 染色质; DNA 甲基化; 组蛋白修饰

中图分类号: Q75; S511 **文献标志码:** A

Progresses and perspectives of crop epigenome research

ZHOU Chao, ZHAO Yu, ZHOU Shao-Li, ZHOU Dao-Xiu*

(National Key Laboratory of Crop Genetic Improvement, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China)

Abstract: Rice is one of the most important food crops in the world and has been established as a model for plant functional genome study. Recently, significant progress has been made in rice epigenomics research. Epigenomes are a collection of various chemical modification profiles of cell chromatin under specific environmental conditions. Epigenomes play important roles in gene expression reprogramming occurred during cell differentiation, plant development and growth, and responses to stress. Rice epigenomic research is at the center of rice biology and molecular genetics. This paper summarizes the features of rice epigenomes, recent development and future directions of rice epigenomic research.

Key words: rice; epigenome; chromatin; DNA methylation; histone modification

收稿日期: 2016-07-11

基金项目: 国家高技术研究发展计划(“863”计划)(2012AA10A303, 2012AA10A303); 国家重点研发计划“水稻功能基因组研究与应用”项目(2016-YFD0100900)

*通信作者: E-mail: dxzhou@mail.hzau.edu.cn

表观基因组包括基因组水平上各种表观遗传修饰, 主要为 DNA 甲基化、组蛋白修饰、核小体排列及非编码 RNA 等。表观基因组与植物的生长发育和适应非生物逆境密切相关。表观基因组是一个动态的概念, 同一基因组在不同的发育时期或不同的环境因素的影响下会产生不同的表观基因组^[1]。水稻作为单子叶模式植物及重要的粮食作物, 因其基因组最小, 是第一个被全基因组测序的禾谷类作物; 与其他禾谷类作物如玉米、小麦和大麦等基因组存在着广泛的共线性; 易于遗传操作, 具有高效成熟的遗传转化体系, 便于基因功能研究; 长期受人工栽培选择, 种质资源丰富。因此, 水稻已经成为作物基因组和表观基因组研究的模式植物 (<http://rice.plantbiology.msu.edu/cgi-bin/gbrowse/rice/>)。

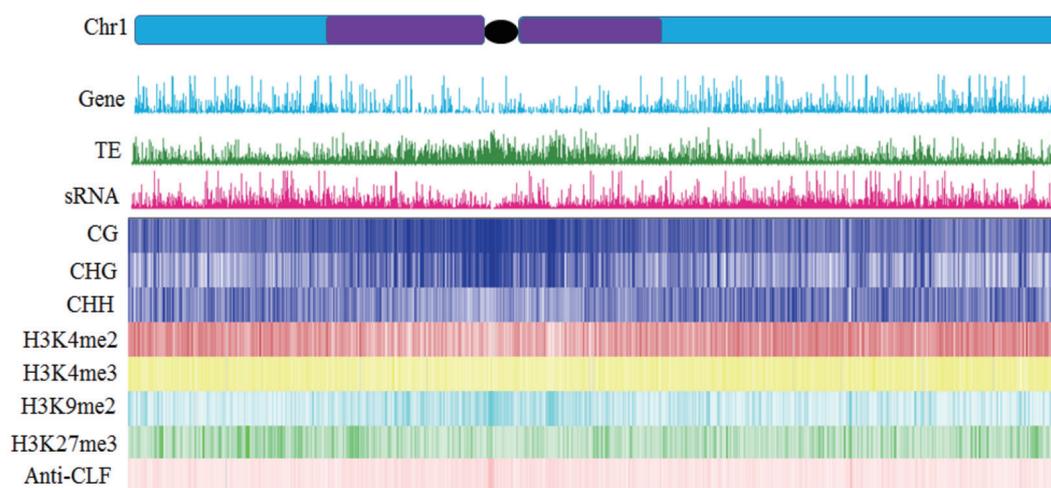
1 水稻表观基因组研究现状

1.1 DNA甲基化

DNA 甲基化是动植物基因组一种重要的表观遗传修饰, 在抑制转座子、抑制基因表达和维持基因组稳定性等方面起重要作用。DNA 甲基化机制在动物(哺乳动物)和植物中都非常保守, 它是在 DNA 甲基转移酶催化下, 以 S-腺苷甲硫氨酸(SAM)作为甲基供体而发生在 DNA 碱基上的修饰反应。DNA 甲基化包括胞嘧啶第 5 位碳原子和腺嘌呤第 6 位氮原子上的甲基化动态修饰, 其中胞嘧啶的甲基化修饰是最主要的也是研究得较为深入的修饰^[2-3]。

动物中的 DNA 甲基化主要发生在 CG 序列上, 而植物中的 DNA 甲基化涉及 CG、CHG 和 CHH (其中 H 代表 A、C 或 T) 三种不同的序列。由于植物基因组中含有大量的重复序列和转座子, DNA 胞嘧啶甲基化对于这些重复序列和转座子的抑制在稳定植物基因组结构中起非常重要的作用^[2]。

近年来, 随着研究方法和技术的进步, 水稻中已经拥有 30 多套全基因组胞嘧啶甲基化的图谱数据, 这些数据的获得主要来自粳稻和籼稻的不同发育时期及不同组织部位(如幼苗期地上和地下部分、幼穗、乳熟期的胚和胚乳、萌发的种子、愈伤组织等)、不同的非生物胁迫条件以及 DNA 甲基化相关突变体材料^[4-14]。与拟南芥相比, 水稻 DNA 甲基化有以下特点。(1) 水稻基因组中 CG、CHG 和 CHH 三种序列的平均甲基化水平及总体胞嘧啶甲基化密度(分别为 44.46%、20.14%、4.02% 和 24.7%) 远远高于拟南芥的平均水平(分别是 24%、6.7%、1.7% 和 5.26%)^[10]。(2) CG 和 CHG 甲基化主要集中在水稻的异染色质区域, 修饰转座元件和转座元件相关基因; 而 CHH 甲基化则在水稻的常染色质区富集, 修饰一些长度较短的转座元件(长度小于 1 kb)(图 1)^[8]。水稻基因组中有大量的 MITEs 类短小 DNA 转座元件, MITEs 一般以多拷贝形式分布在基因间区, 主要被 CHH 甲基化修饰, 因此其出现的频率与 CHH 甲基化在基因组上的分布基本一致^[8, 15]。最近的研究还发现, MITEs 上的 CHH 甲基化在调控其



深紫色代表异染色质区域, 浅蓝色代表常染色质区域, 黑色代表着丝粒区域; 每个统计单元(1 kb)中的基因、转座子以及 sRNA 的数目决定峰值高低; 每一个统计单元(1 kb)中三种序列(CG/CHG/CHH)的 DNA 甲基化程度、组蛋白修饰(H3K4me2、H3K4me3、H3K9me2、H3K27me3)以及 H3K27me3 甲基转移酶 SDG711 富集程度由颜色深浅表示, 颜色越深, 修饰程度越高。

图1 水稻1号染色体上DNA甲基化及组蛋白修饰等分布图

附近基因的表达中起着非常重要的作用^[8,16]。(3) 水稻基因组中很多功能基因都在 CHG 和 CHH 序列上有甲基化修饰, 其中很多基因在甲基化丢失后表达激活, 说明这种 DNA 甲基化修饰参与抑制大量的水稻功能基因的表达。(4) 水稻生长发育过程不同组织中 CG 序列甲基化水平比较稳定, 但是 CHG 和 CHH 序列甲基化水平随着发育具有逐步增高的趋势^[17]。

1.2 组蛋白修饰

组蛋白修饰是指在相关酶作用下组蛋白末端氨基酸残基上发生的乙酰化、甲基化、磷酸化、腺苷酸化、泛素化和 ADP 核糖基化等修饰。不同的组蛋白修饰可以有协同或拮抗的作用, 多种组蛋白修饰的组合形成特定的表观标志, 被称为“组蛋白密码”^[18]。目前水稻组蛋白修饰研究得比较多的是组蛋白赖氨酸乙酰化和赖氨酸甲基化。

1.2.1 组蛋白乙酰化

组蛋白乙酰化的动态修饰由组蛋白乙酰基转移酶 (HAT) 和组蛋白去乙酰化酶 (HDAC) 调节, 它们在基因组功能和基因转录调控中起着非常重要的作用。水稻组蛋白乙酰化修饰图谱的研究主要集中在组蛋白 H3 第 9 位 (H3K9)、第 23 位 (H3K23)、第 27 位 (H3K27) 赖氨酸以及组蛋白 H4 第 12 位 (H4K12) 和第 16 位 (H4K16) 赖氨酸的乙酰化。

在籼稻明恢 63(MH63)11 天的幼苗中, H3K9ac 修饰主要在基因上富集, 并且偏向较长基因 (>1.5 kb) 的 5' 端区域; 对于长于 5 kb 的基因, H3K9ac 修饰在 3' 端区域也有少量的富集; 但是对于小基因 (<1.5 kb) 来讲, 并不存在这种富集模式^[19]。该修饰在 87.4% 的表达基因转录起始位点 (TSS) 后面强烈富集, 到 3' 端时急剧减少。被 H3K9ac 修饰的核小体数量在转录起始位点上游比较少, 但是在下游处于积累的状态^[20]。在日本晴生长 2 周的幼苗叶片中发现, H3K9ac 与水稻染色体着丝粒 (Cen4、Cen5、Cen7 和 Cen8) 附近常染色质相关^[21]。

在水稻基因组中, H3K27ac 与 H3K9ac 的分布规律类似, 主要在基因 (61.9%) 启动子区富集。研究还表明, H3K27ac 也分布在 DNA 酶敏感位点 (DNase hypersensitive site, DHS), 相关性较高 (63.9%), 暗示着 H3K27ac 可能影响核小体在 DHS 位点的排列, 与基因的转录激活密切相关。同时, H3K27ac 与 H3K9ac 之间有很好的关联性 ($r=0.55$), 它们在基因组中同时存在的频率高达 80%。H3K9ac 和 H3K27ac 与基因转录相关性在 70% 以上, 说明不同位点的乙酰化修饰对于基因表达的调控有协同作用^[20]。

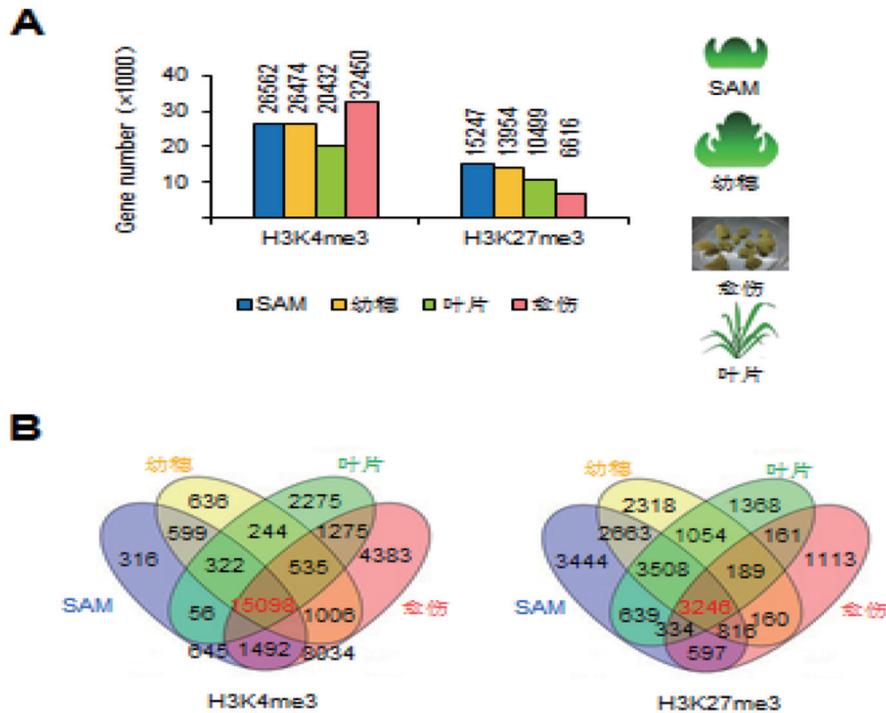
H4K16ac 和 H3K23ac 在拟南芥和水稻中存在一定的保守性, 在染色体上均分布于常染色质, 在转座子中分布较少。水稻 H4K16ac 和 H3K23ac 主要显著富集于低表达基因; 拟南芥 H4K16ac 和 H3K23ac 在转录起始位点区域高富集性程度约为 90%, 水稻中 H4K16ac 和 H3K23ac 分别为 56.5% 和 52.6%^[22]。另外, 在水稻 4 周的幼苗中还发现, H4K12ac 和 H3K9ac 修饰在基因间区的 DHS 位点上都呈现降低的趋势^[23]。

1.2.2 组蛋白甲基化

组蛋白末端赖氨酸残基的甲基化也是一种非常重要的表观修饰, 该类修饰常参与异染色质的形成和基因表达的重编程过程。组蛋白赖氨酸末端残基上常常可以发生单、二和三甲甲基化, 赖氨酸甲基化是一个动态的过程, 由组蛋白甲基转移酶 (HMT) 和组蛋白去甲基化酶 (HDM) 催化。不同位点的甲基化由特定甲基酶介导, 在基因表达中起不同的作用; 同一作用位点上不同的甲基化程度对基因的表观调控也不同。总而言之, 组蛋白甲基化修饰位点及修饰水平在基因表观调控中起不同的作用。目前, 水稻基因组范围内研究比较多的组蛋白甲基化有 H3K4、H3K9、H3K27 和 H3K36 等位点。

H3K4 甲基化有 H3K4me1、H3K4me2 和 H3K4me3, H3K4me2/3 在基因组的分布与 H3K9ac 和 H3K27ac 修饰具有相类似的趋势, 偏向于常染色质的基因区域 (图 1), H3K4me3 修饰的基因数目在不同的组织器官基本一致 (图 2)。与组蛋白 H3K9ac 和 H3K27ac 不同的是, H3K4me2/3 一般分布在基因编码区的外显子和启动子区域。具体而言, H3K4me2/3 主要在编码基因起始位点上游 150 bp 和下游 500 bp 处富集, H3K4me3 的富集值明显高于 H3K4me2, 很多处于活跃表达状态的基因都有高水平 H3K4me2/3 修饰^[5, 20, 24]。

H3K27me3 主要分布在基因编码区域 (图 1), 在维持基因抑制状态中起重要作用。水稻基因组中大约 20% 的基因被 H3K27me3 修饰, 这些主要是一些低表达或者在特定的发育阶段或环境条件下处于沉默状态的基因, 这一点和拟南芥基因组中的情况类似^[24-26]。最近的研究表明, H3K27me3 修饰基因在水稻不同的组织中, 如愈伤、幼苗、营养顶端 (SAM) 和生殖顶端 (IM) 中呈现动态变化 (图 2)。一般认为, H3K27me3 去甲基化酶在 H3K27me3 的动态变化和重编程中起重要作用。但最近的结果认为, H3K27me3 甲基转移酶在发育过程表达量的变化是



(A)水稻SAM、幼穗、愈伤和苗中鉴定的H3K4me3、H3K27me3修饰的基因数目；(B)水稻各个组织中H3K4me3、H3K27me3修饰基因交集情况。

图2 水稻不同组织器官中H3K4me3和H3K27me3修饰的基因数目

H3K27me3 重编程的关键。H3K27me3 和 H3K4me3 在基因调控中有拮抗作用^[24, 27]，但是研究发现这两种修饰可以同时被染色质修饰因子 CHR729 识别和调控，参与水稻表观变异的稳定遗传^[28]。水稻基因组中一部分基因可以被 H3K4me3 和 H3K27me3 共同修饰^[24, 26]。在水稻幼穗发育过程中，H3K27me3/H3K4me3 的比例对代谢途径相关基因的表达有关键调控作用^[27]。另外，最近发现，水稻基因组中 H3K27me3 与 CHH 序列甲基化相关性较大^[8]。

H3K36me3 在基因编码区域呈现较宽的分布趋势，在表达活跃基因的转录区域富集^[21]。H3K9me2 修饰主要集中于异染色质区，主要参与重复序列和转座子的抑制。H3K9me2 与 CG 和 CHG 甲基化紧密关联^[8]。

1.3 水稻表观基因组与转录组的关系

不同的表观修饰及组合协调参与基因的激活或抑制。一般认为，DNA 甲基化处于基因表观修饰主导地位时，基因处于沉默状态；H3K4me2 处于主导地位时，基因转录处于可激活状态；H3K4me2 和 H3K4me3 处于平衡地位时，基因转录水平处于中等强度的状态；然而，当 H3K4me3 处于主导地位时，基因转录水平处于活跃状态^[25]。

He 等^[25] 对水稻全基因组 DNA 甲基化和组蛋白修饰 (H3K4me3、H3K9ac、H3K27me3) 进行了分析，发现 DNA 甲基化和这三种组蛋白修饰在基因上的共存性不到 7.0%，然而这三种组蛋白修饰之间的共存性均高于 50%，其中 H3K9ac 和 H3K4me3 的共存性高达 97.6%。同时，研究者还发现，DNA 甲基化修饰散布在基因转录区域，而这三种组蛋白修饰主要位于基因转录起始位点下游约 1 kb 的区域。

2 表观修饰调控对水稻生长发育、逆境适应性和产量的作用

2.1 表观基因组与生长发育

表观修饰因子通过改变染色质状态调控基因转录，影响生长发育和对环境的适应性。到目前为止，已经有 30 多个水稻表观修饰因子的功能被报道，它们主要是 DNA 甲基化酶、DNA 去甲基化酶、组蛋白修饰酶和染色体变构因子等，分析发现这些因子在种子发育、组织器官形成、抽穗期和开花等过程中有重要调控功能^[29]。这些生长过程都会直接或间接地影响水稻的产量。因此，从全基因组的角度去解析这些表观修饰因子如何通过改变染色体状态影响水稻生长发育过程有着十分重要的理论和实践意义。

2.1.1 水稻表观基因组与种子和穗发育以及愈伤形成
水稻种子胚乳作为胚的营养供体，是稻米的主要组成成分。水稻胚和胚乳的 DNA 甲基化单碱基分辨率图谱分析发现，水稻胚乳中 DNA 甲基化程度比胚中的低，CHG 和 CHH 序列的甲基化表现得尤为明显。特别是胚乳中储存蛋白和淀粉合成相关基因的甲基化水平变低，说明 DNA 去甲基化过程对水稻胚乳发育起重要作用^[17]。其实，在胚乳发育过程中 DNA 甲基化呈现动态变化。在受精后 2~3 天的胚乳组织中，DNA 甲基化程度显著降低；在受精后多天的胚乳中，低表达的基因和短序列的 DNA 转座子的甲基化程度变得较高。因此，同一组织在不同发育时期的 DNA 甲基化模式存在着一些差异^[7]。这种差异可能有利于胚乳的发育或者储藏物质的积累。

水稻开花时间决定了品种的季节性和地区的适应性，是影响水稻产量的重要因素之一。水稻开花时间由一系列关键基因控制。水稻有两个组蛋白 H3K27 甲基转移酶 SDG711 和 SDG718，这两个酶通过调控 H3K27me3 抑制不同日照条件下水稻开花关键基因的表达，精细地调控不同日照条件下水稻开花的时间^[30]。另外，营养生长到生殖生长的转变是水稻生长发育的关键阶段，表观修饰的重编程在这个转变过程中起关键性的调控作用。例如，在营养生长到生殖生长的转变过程中，SDG711 介导的 H3K27me3 抑制了花序分生组织中细胞分裂素氧化酶基因的表达，上调 SDG711 的表达会促进幼穗发育。在此过程中，H3K4 去甲基化酶 JMJ703 也起同样重要的作用。下调 JMJ703 的表达会导致细胞分裂素氧化酶基因的 H3K4me3 水平增高和 H3K27me3 水平降低，使得该基因表达上升，降低顶端细胞分裂素水平，抑制幼穗发育。这些结果表明，SDG711 和 JMJ703 在调控 H3K27me3 和 H3K4me3 的比例以及花序分生组织中关键基因的表达过程中起着相辅相成的作用^[27]。

水稻愈伤组织细胞具有很强的分裂能力。研究表明，在愈伤组织中，总体 H3K4me3 水平上升和 DNA 甲基化水平下降，有些缺失 DNA 甲基化的位点可以稳定地遗传到下一代。研究认为，H3K4me3 修饰在某些位点的增加可能是该位点 DNA 甲基化缺失稳定遗传的原因^[28]；在转基因过程中常会发生体细胞变异，这极有可能与组织培养过程引起的表观修饰变化有关^[12]。

2.1.2 水稻表观基因组与营养器官的发育

与水稻胚中的 DNA 甲基化相比，营养器官中

CG 序列的甲基化比较稳定，虽然 CHG 和 CHH 序列的甲基化随着叶片的发育呈现增加的趋势^[17]。维持 DNA 甲基化水平对水稻生长发育十分重要。DNA 甲基化转移酶 OsMET1 突变后，CG 甲基化水平降低了近 80%。CG 甲基化的缺失可导致转座子和大量基因的激活，从而产生苗期发育缓慢、种子发育畸形等严重的表型^[13]。DNA 甲基转移酶 OsDRM2 的缺失导致水稻基因组中 CHH 和 CHG 甲基化分别大约下降 85% 和 23%^[8]。而染色质变构因子 OsDDM1 的缺失则导致 CG 和 CHG 甲基化下降。同时发现，染色质变构因子 OsDDM1 也可能协同 OsDRM2 介导的 CHH 甲基化过程。在 *osdrm2* 和 *osddm1alb* 突变体材料中，大量编码蛋白基因表达上升，导致成熟致死的表型。突变体的极端表型可能是由于 DNA 甲基化严重缺失导致大量基因激活而产生^[8]。玉米中 DDM1 或 DRM2 蛋白功能丧失后，也可导致严重的发育缺陷，特别是在生殖发育过程中，可产生配子发育畸形等表型^[31]。水稻和玉米中 *ddm1* 和 *drm2* 突变体植株具有比拟南芥中更严重的表型，说明禾本科作物 DNA 甲基化在功能基因表达调控中起更重要的作用。

同时识别 H3K4me3 和 H3K27me3 的染色质变构因子 CHR729，通过其 PHD 结构域在体外可以结合这两种甲基化修饰。CHR729 基因突变后引起 H3K27me3 和 H3K4me3 修饰基因的表达下调（大约分别为 56% 和 23%），并且这些下调基因大多为低表达基因或者沉默基因；进一步研究发现，H3K4me3 下调的基因主要是编码一些结合 DNA 的转录因子。这些结果表明，CHR729 是影响和识别 H3K4 和 H3K27 甲基化的关键染色质重塑因子，在水稻幼苗发育转录调控网络中起重要作用^[24]。

2.2.3 水稻表观基因组与逆境胁迫

表观修饰在植物适应生物和非生物逆境基因表达重编程过程中起重要作用。研究表明，水稻受到干旱胁迫时，4 837 个基因的 H3K4me3 修饰水平发生变化，其中 3 972 个基因的 H3K4me3 修饰处于上升状态，而 910 个基因的 H3K4me3 修饰下降；而且被 H3K4me3 修饰且表达上调的基因主要是基因组中表达水平低的基因，处于下调的基因则是表达水平高的基因^[32]。

白叶枯菌可以诱导 15 个组蛋白去甲基化酶基因的转录表达，表明这些去甲基化酶基因可能参与水稻的抗病反应^[33]。负责去除 H3K27me2/3 修饰的组蛋白去甲基化酶基因 JMJ705 的表达可以受到非

生物逆境(如高盐、脱落酸和乙烯)信号和病原菌(PXO99)的诱导。*jmj705*突变体表现出对白叶枯菌感病,而*JMJ705*超表达植株则表现出抗病的表型。研究表明,当病原菌侵染时,*JMJ705*组蛋白去甲基化活性增强并参与茉莉酸信号转导,通过去除H3K27me3修饰,可提高抗病相关基因的表达,从而增强水稻抗病性^[34]。*jmj704*突变体则表现出对白叶枯菌更感病的表型,*JMJ704*通过去除H3K4me2/3修饰抑制水稻某些抗病负调控因子的转录表达^[33]。

OsSRT1是依赖NAD⁺的组蛋白去乙酰化酶SIR2家族蛋白,研究表明*OsSRT1*的表达下调可以促进H3K9ac整体水平增加和H3K9me2修饰水平降低,促进抗病性或者细胞凋亡过程相关基因的表达,以及DNA转座子和反转录转座子的表达,最终导致H₂O₂积累、DNA片段化产生、细胞死亡以及对病原菌敏感等表型^[35]。进一步的研究发现,OsSRT1直接结合于低水平的H3K9ac位点,并且直接调控H3K9ac水平,逆境和代谢相关基因的表达,以及转座子的沉默^[19]。另外,植物特有的HD2家族的组蛋白去乙酰化酶HDT701通过调节模式识别受体(PRR)和防御相关基因的H4组蛋白乙酰化水平,负调控水稻的内源免疫反应^[36]。

2.3 表观突变与水稻产量性状

在基因组序列相似的群体中,可遗传的表观变异相比于基因组变异能够提供更为广泛的遗传资源。研究表明,自然发生的可遗传的表观等位位点对于水稻产量的提高有着重要的作用^[37]。例如,一个叫做WFP的控制穗大小的数量性状位点,其DNA甲基化和组蛋白修饰的差异导致了*OsSPL14*(SBP-like14)基因表达水平的不同,从而产生每穗枝梗和每穗粒数的差异^[38]。“假胎生”现象是植物在极端环境下代替有性生殖而形成的一种无性生殖策略,*OsMADS1*启动子区域的DNA甲基化水平增加导致水稻产生“假胎生”的表观突变^[39]。另外,在组织培养过程中,*OsFIE1*基因5'端的DNA甲基化缺失,伴随H3K9me2降低和H3K4me3升高,导致*OsFIE1*基因在水稻中异位表达,产生植株矮化等表观突变表型^[40]。

除此之外,水稻不同群体中存在着大量的DNA甲基化表观变异。例如日本晴(粳稻)和93-11(籼稻)相比,DNA甲基化的表观突变频率大约为7%(1/15胞嘧啶),而单核苷酸多态性(SNP)则为0.4%(1/253)^[11]。因此,DNA甲基化可能对水稻表观遗传多态性和基因组多态性都有着积极的贡

献。基因组序列的反式作用(如siRNA)和顺式作用(如转座子插入或者重复序列)、环境的改变和染色质修饰因子的变化等都可能引起表观变异位点的产生。

2.4 水稻表观基因组与杂种优势

不同水稻自交系的杂种后代表现出比亲本更加明显的生长发育和产量优势。亲本有差异的基因组和表观基因组间的互作可能是水稻杂种优势的基础。表观修饰参与亲本基因组互作可引起杂种后代差异基因的表达,如日本晴和93-11的杂交后代由于亲本DNA甲基化的不同而导致基因表达的差异^[11,25]。在杂种中,一些位点表现出非加性DNA甲基化,而这些非加性的DNA甲基化可能是小RNA参与的甲基化介导的反式作用效应引起的^[11,25]。但是进一步研究发现,杂种中大多数的基因表达改变与DNA甲基化改变并没有直接的关系,这表明可能有其他因子参与了杂种优势相关的非加性基因的表达^[41]。研究证实,组蛋白修饰在非加性基因表达中也起着一定的作用。例如,组蛋白去乙酰化酶基因*OSHDT1*调控杂种中开花期基因的非加性表达^[42]。

最近的研究发现,亲本不同的等位基因上也存在特异的组蛋白修饰;反过来,这些特异的组蛋白修饰也可以影响杂种F1中特异等位基因的表达。Guo等^[43]分析了籼稻广陆(GL)和93-11以及广陆和特青的F1杂交后代的H3K27me3和H3K36me3修饰位点,发现H3K36me3特异修饰位点可以增强杂种F1中特异表观等位基因的表达。

目前关于表观基因组、基因表达与杂种优势表型之间的相关性研究还较少,无法确定表达发生改变的基因与F1表型变化之间的关系。鉴于表观基因组对基因表达的潜在调控,亲本表观基因组的变异可能改变杂种中基因的表达模式,这可能对杂种优势起一定作用。尽管水稻杂种优势的表观分子机理还没有研究得十分透彻,但是对于基因组序列相近的水稻品种之间杂交产生的杂种优势,表观遗传变异可能起更重要的作用。

3 水稻表观基因组研究展望

3.1 建立全面精细的水稻表观基因组

表观遗传修饰是植物发育和对环境适应性的基础,影响作物的抗性、产量和品质等农艺性状,是水稻功能基因组研究的重要内容。

水稻表观基因组经过近10年的研究已经获得了一些有价值的信息,但是还存在以下局限性。(1)

表观基因组数据来源于有限的组织器官。目前已报道的表观基因组数据来源主要集中于一些相对容易取材的组织,如幼苗、幼穗、胚和胚乳等。(2)涉及的表观修饰类型较少。目前仅有的DNA甲基化图谱是胞嘧啶甲基化修饰,组蛋白修饰图谱也仅限于H3K4、H3K9、H3K27甲基化和H3K9乙酰化等修饰。因此,DNA的腺嘌呤甲基化、组蛋白变体、组蛋白其他位点的各种修饰、核小体排列等将会是未来涉及的研究范围。(3)单细胞表观基因组数据缺乏。不同细胞类型在不同的环境条件下具有不同的表观信息。单细胞表观基因组是研究水稻生长发育重编程的基础。(4)不同生物或非生物环境下表观数据的获得。这些表观基因组数据的获得有助于了解水稻对不同环境适应性的机制,帮助人们选择适应特定环境的水稻品种,指导水稻育种。

3.2 表观基因组建立以及重编程调控机制

细胞的正常形态和功能的发挥需要表观基因组的正确建立,而在生长发育过程中表观基因组需要一个重编程过程。一般来讲,重编程包括DNA甲基化的和组蛋白修饰等在内的表观修饰重新建立的过程。但是相关的调控机制还基本不清楚。

3.3 表观基因组在育种中的应用

研究表明,有些表观遗传修饰可以稳定地遗传到子代。Visscher等^[47]利用*ddm1*突变体与其对应的野生型杂交得到F2代群体,经过8代自交(单粒传)获得稳定的DNA甲基化变异群体,即表观重组自交系(epiRIL)群体。由于亲本之间的基因组信息基本相同,但是DNA甲基化差异较大,epiRIL主要是表观遗传差异群体,该群体中开花期和株高表型显示出多态性和高度可遗传性。Reinders等^[48]也利用类似的策略构建了另一个epiRIL群体,研究发现该群体在大约28%的植株中存在转座子的随机跳跃;表明来自两个表观基因组差异较大亲本的杂交群体,其表观基因组的差异性可以使表观等位点长期相互作用,这和孟德尔遗传规律不一致。

应用关联分析方法发掘植物数量性状基因已成为目前的研究热点之一。类似的表观基因组关联分析(epigenome-wide association studies, EWAS)也有成功的范例。例如,Ong-Abdullah等^[49]利用DNA甲基化图谱并借助EWAS的分析方法,成功地揭示了非洲油棕(*E. guineensis*)果实的“地幔”(mantling)表型产生的分子机制。Dublin等^[50]对处于不同温度下的拟南芥DNA甲基化图谱进行测序,通过EWAS分析发现,由不同温度导致的CHH甲基化

相关的变异与遗传变异(顺式和反式)均相关,特别是与DNA甲基化转移酶基因*CMT2*的反式作用相关性极高。因此,epiRIL和EWAS在植物中成功运用的实例为表观基因组学在作物育种方面的应用提供了借鉴和参考。

4 结束语

水稻作为世界主要的粮食作物之一,养育了全世界近半数的人口。中国作为世界上最大的水稻生产国,水稻基因组解析、重要性状的调控网络、各种组学研究以及作物基因组育种技术将成为未来的发展趋势。而水稻表观基因组的研究和发展为这些目标的实现提供了新的理论和数据支持。近年来的研究表明,表观调控和表观遗传在水稻对环境的适应性(包括生物逆境和非生物逆境)、重要农艺性状的改良和水稻产量的提高等方面起着关键的作用。因此,在未来水稻功能基因组的研究中,水稻表观基因组学将扮演越来越重要的角色。同时,其研究结果也将为其他作物提供经验。

[参 考 文 献]

- [1] Mirouze M, Vitte C. Transposable elements, a treasure trove to decipher epigenetic variation: insights from *Arabidopsis* and crop epigenomes. *J Exp Bot*, 2014, 65: 2801-12
- [2] Law JA, Jacobsen SE. Establishing, maintaining and modifying DNA methylation patterns in plants and animals. *Nat Rev Genet*, 2010, 11: 204-20
- [3] Feng S, Jacobsen SE, Reik W. Epigenetic reprogramming in plant and animal development. *Science*, 2010, 330: 622-7
- [4] Feng S, Cokus SJ, Zhang X, et al. Conservation and divergence of methylation patterning in plants and animals. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107: 8689-94
- [5] Li X, Wang X, He K, et al. High-resolution mapping of epigenetic modifications of the rice genome uncovers interplay between DNA methylation, histone methylation, and gene expression. *Plant Cell*, 2008, 20: 259-76
- [6] Yan H, Kikuchi S, Neumann P, et al. Genome-wide mapping of cytosine methylation revealed dynamic DNA methylation patterns associated with genes and centromeres in rice. *Plant J*, 2010, 63: 353-65
- [7] Xing MQ, Zhang YJ, Zhou SR, et al. Global analysis reveals the crucial roles of DNA methylation during rice seed development. *Plant Physiol*, 2015, 168: 1417-32
- [8] Tan F, Zhou C, Zhou Q, et al. The ortholog of DDM1 is mainly required for CHG and CG methylation of heterochromatin and is involved in DRM2-mediated CHH methylation that targets mostly genic regions of the rice genome. *Plant Physiol*, 2016 [Epub ahead of print]
- [9] Zemach A, McDaniel IE, Silva P, et al. Genome-wide

- evolutionary analysis of eukaryotic DNA methylation. *Science*, 2010, 328: 916-9
- [10] Li X, Zhu J, Hu F, et al. Single-base resolution maps of cultivated and wild rice methylomes and regulatory roles of DNA methylation in plant gene expression. *BMC Genomics*, 2012, 13: 1-15
- [11] Chodavarapu RK, Feng S, Ding B, et al. Transcriptome and methylome interactions in rice hybrids. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, 109: 12040-5
- [12] Stroud H, Ding B, Simon SA, et al. Plants regenerated from tissue culture contain stable epigenome changes in rice. *eLife*, 2013, 2: e00354
- [13] Hu L, Li N, Xu C, et al. Mutation of a major CG methylase in rice causes genome-wide hypomethylation, dysregulated genome expression, and seedling lethality. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2014, 111: 10642-7
- [14] Rodrigues JA, Ruan R, Nishimura T, et al. Imprinted expression of genes and small RNA is associated with localized hypomethylation of the maternal genome in rice endosperm. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, 110: 7934-9
- [15] Zemach A, Kim MY, Silva P, et al. Local DNA hypomethylation activates genes in rice endosperm. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107: 18729-34
- [16] Wei L, Gu L, Song X, et al. Dicer-like 3 produces transposable element-associated 24-nt siRNAs that control agricultural traits in rice. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2014, 111: 3877-82
- [17] Zemach A, Kim MY, Silva P, et al. Local DNA hypomethylation activates genes in rice endosperm. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107: 18729-34
- [18] Jenuwein T, Allis CD. Translating the histone code. *Science*, 2001, 293: 1074-80
- [19] Zhong X, Zhang H, Zhao Y, et al. The rice NAD⁺-dependent histone deacetylase OsSRT1 targets preferentially to stress- and metabolism-related genes and transposable elements. *PLoS One*, 2013, 8: e66807
- [20] Du Z, Li H, Wei Q, et al. Genome-wide analysis of histone modifications: H3K4me2, H3K4me3, H3K9ac, and H3K27ac in *Oryza sativa* L. Japonica. *Mol Plant*, 2013, 6: 1463-72
- [21] Wu Y, Kikuchi S, Yan H, et al. Euchromatic subdomains in rice centromeres are associated with genes and transcription. *Plant Cell*, 2011, 23: 4054-64
- [22] Lu L, Chen X, Sanders D, et al. High-resolution mapping of H4K16 and H3K23 acetylation reveals conserved and unique distribution patterns in *Arabidopsis* and rice. *Epigenetics*, 2015, 10: 1044-53
- [23] Zhang W, Wu Y, Schnable JC, et al. High-resolution mapping of open chromatin in the rice genome. *Genome Res*, 2012, 22: 151-62
- [24] Hu Y, Liu D, Zhong X, et al. CHD3 protein recognizes and regulates methylated histone H3 lysines 4 and 27 over a subset of targets in the rice genome. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, 109: 5773-8
- [25] He G, Zhu X, Elling AA, et al. Global epigenetic and transcriptional trends among two rice subspecies and their reciprocal hybrids. *Plant Cell*, 2010, 22: 17-33
- [26] Malone BM, Tan F, Bridges SM, et al. Comparison of four ChIP-Seq analytical algorithms using rice endosperm H3K27 trimethylation profiling data. *PLoS One*, 2011, 6: e25260
- [27] Liu X, Zhou S, Wang W, et al. Regulation of histone methylation and reprogramming of gene expression in the rice inflorescence meristem. *Plant Cell*, 2015, 27: 1428-44
- [28] Chen X, Liu X, Zhao Y, et al. Histone H3K4me3 and H3K27me3 regulatory genes control stable transmission of an epimutation in rice. *Sci Rep*, 2015, 5: 13251
- [29] Shi J, Dong A, Shen WH. Epigenetic regulation of rice flowering and reproduction. *Front Plant Sci*, 2014, 5: 803
- [30] Liu X, Zhou C, Zhao Y, et al. The rice enhancer of zeste [E(z)] genes SDG711 and SDG718 are respectively involved in long day and short day signaling to mediate the accurate photoperiod control of flowering time. *Front Plant Sci*, 2014, 5: 591
- [31] Garcia-Aguilar M, Michaud C, Leblanc O, et al. Inactivation of a DNA methylation pathway in maize reproductive organs results in apomixis-like phenotypes. *Plant Cell*, 2010, 22: 3249-67
- [32] Zong W, Zhong X, You J, et al. Genome-wide profiling of histone H3K4-tri-methylation and gene expression in rice under drought stress. *Plant Mol Biol*, 2013, 81: 175-88
- [33] Hou Y, Wang L, Wang L, et al. JM1704 positively regulates rice defense response against *Xanthomonas oryzae pv. oryzae* infection via reducing H3K4me2/3 associated with negative disease resistance regulators. *BMC Plant Biol*, 2015, 15: 286
- [34] Li T, Chen X, Zhong X, et al. Jumonji C domain protein JM1705-mediated removal of histone H3 lysine 27 trimethylation is involved in defense-related gene activation in rice. *Plant Cell*, 2013, 25: 4725-36
- [35] Huang L, Sun Q, Qin F, et al. Down-regulation of a SILENT INFORMATION REGULATOR2-related histone deacetylase gene, *OsSRT1*, induces DNA fragmentation and cell death in rice. *Plant Physiol*, 2007, 144: 1508-19
- [36] Ding B, Bellizzi Mdel R, Ning Y, et al. HDT701, a histone H4 deacetylase, negatively regulates plant innate immunity by modulating histone H4 acetylation of defense-related genes in rice. *Plant Cell*, 2012, 24: 3783-94
- [37] Richards EJ. Natural epigenetic variation in plant species: a view from the field. *Curr Opin Plant Biol*, 2011, 14: 204-9
- [38] Miura K, Ikeda M, Matsubara A, et al. OsSPL14 promotes panicle branching and higher grain productivity in rice. *Nat Genet*, 2010, 42: 545-9
- [39] Tooke F, Ordidge M, Chiurugwi T, et al. Mechanisms and function of flower and inflorescence reversion. *J Exp Bot*, 2005, 56: 2587-99
- [40] Zhang L, Cheng Z, Qin R, et al. Identification and characterization of an epi-allele of FIE1 reveals a regulatory linkage between two epigenetic marks in rice. *Plant Cell*, 2012, 24: 4407-21
- [41] Greaves IK, Groszmann M, Ying H, et al. Trans chromosomal methylation in *Arabidopsis* hybrids. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, 109: 3570-5
- [42] Li C, Huang L, Xu C, et al. Altered levels of histone

- deacetylase OsHDT1 affect differential gene expression patterns in hybrid rice. *PLoS One*, 2011, 6: e21789
- [43] Guo Z, Song G, Liu Z, et al. Global epigenomic analysis indicates that epialleles contribute to allele-specific expression via allele-specific histone modifications in hybrid rice. *BMC Genomics*, 2015, 16: 232
- [44] Feng S, Jacobsen SE, Reik W. Epigenetic reprogramming in plant and animal development. *Science*, 2010, 330: 622-7
- [45] Calarco JP, Borges F, Donoghue MT, et al. Reprogramming of DNA methylation in pollen guides epigenetic inheritance via small RNA. *Cell*, 2012, 151: 194-205
- [46] Takahashi K, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell*, 2006, 126: 663-76
- [47] Visscher PM, Johannes F, Porcher E, et al. Assessing the impact of transgenerational epigenetic variation on complex traits. *PLoS Genet*, 2009, 5: e1000530
- [48] Reinders J, Wulff BB, Mirouze M, et al. Compromised stability of DNA methylation and transposon immobilization in mosaic *Arabidopsis* epigenomes. *Genes Dev*, 2009, 23: 939-50
- [49] Ong-Abdullah M, Ordway JM, Jiang N, et al. Loss of Karma transposon methylation underlies the mantled somaclonal variant of oil palm. *Nature*, 2015, 525: 533-7
- [50] Dubin MJ, Zhang P, Meng D, et al. DNA methylation in *Arabidopsis* has a genetic basis and shows evidence of local adaptation. *eLife*, 2015, 4: e05255
- [51] The 3,000 rice genomes project. *Gigascience*, 2014, 3: 7