

综 述 Reviews

植物中DNA甲基化模式及其相关机制

孙颖, 葛锋*, 刘迪秋, 陈朝银

昆明理工大学生命科学与技术学院, 昆明650224

摘要: DNA甲基化是表观遗传修饰的重要形式之一, 是植物中较早发现的DNA共价修饰方式。在植物的正常生长发育中, DNA甲基化与植物基因组维持、体细胞无性系变异、外来基因防御、内源基因的表达、转基因沉默以及基因印迹之间有着极大的关系, 因此, 植物DNA甲基化的研究对植物基因工程的发展有着举足轻重的作用。本文介绍了参与DNA甲基化的各种酶和蛋白质, 阐述了DNA甲基化相关机制的最新研究进展。

关键词: DNA甲基化; DNA甲基转移酶; RNA指导的DNA甲基化; 组蛋白修饰; DNA去甲基化

DNA Methylation Patterns and Its Related Mechanism in Plants

SUN Ying, GE Feng*, LIU Di-Qiu, CHEN Chao-Yin

College of Life Science and Technology, Kunming University of Science and Technology, Kunming 650224, China

Abstract: DNA methylation is one of the most important forms of the epigenetic, and it is a DNA covalent modification which was found in the plant in the earlier time. During the development of plants, DNA methylation is closely related with maintaining genome, progress in plant somaclonal variation, the defense of external genes, the regulation of endogenesis expression, the transgenesis silencing and gene imprinting. The research of DNA methylation in plants plays an important role in the development of botanic genetic engineering. In this context, we recommend enzymes and proteins related to DNA methylation, state the advanced studies on the mechanism of DNA methylation.

Key words: DNA methylation; DNA methyltransferase; RNA-directed DNA methylation; histone modification; DNA demethylation

多细胞生物的细胞中含有同样的DNA序列, 但最终的表型却不尽相同, 这种记录了细胞生长和环境因素影响的非基因的细胞记忆正是表观遗传学的基础。DNA甲基化、组蛋白修饰、核小体的定位以及无编码功能的RNA组成表观遗传学的调控系统充当了来自外界环境压力的敏感因子, 通过变化植物表型以对抗外界环境的变化。由于表观遗传学的遗传性、自我维持性及可逆性的特点, 变化可以遗传给后代, 最终可能导致植物的进化。

DNA甲基化是表观遗传学的重要组成部分, 普遍存在于生物界中, 是目前研究的热点之一。它指DNA复制后, 在DNA甲基化酶的作用下, 将S-腺苷甲硫氨酸(SAM)分子上的甲基转移到DNA分子中的胞嘧啶残基的5位碳原子上进行DNA甲基化的修饰。它主要有两种修饰方式: 重新甲基化(*de novo* methylation)以及维持甲基化(maintenance

methylation)。这两种修饰方式不改变基因组的碱基序列, 而是在碱基序列外的各种修饰位点和与之相关的各种蛋白质或RNA的协同作用下, 调控基因的表达, 以完成生命周期或适应环境变化, 更重要的是此系统能在代与代之间遗传, 由此可以看出DNA甲基化并不符合孟德尔遗传定律。本文对DNA甲基化的模式和相关机制做一综述, 以便人们对DNA甲基化有全面的了解。

1 DNA甲基化模式及与其相关的酶

植物中DNA甲基化主要以5-甲基胞嘧啶(5-^mC)形式为主, 也有少量的N6-甲基腺嘌呤(N6-^mA)和7-甲基鸟嘌呤(7-^mG)。在高等植物中, DNA

收稿 2011-02-24 修定 2011-08-09

资助 国家自然科学基金项目(31060044)和云南省科技计划项目(2009ZC046M)。

* 通讯作者(E-mail: gefeng79@yahoo.com.cn; Tel: 1580-8853070)。

甲基化总是发生在CG富含区和重复序列中,包括着丝粒区域重复序列、核糖体RNA编码序列和转座子序列等。

1.1 DNA甲基化的模式

DNA甲基化发生在三种不同的序列位点:对称的CG和CHG位点以及非对称的CHH位点(H=C、T或者A)。动物中大部分的胞嘧啶甲基化只发生在CG位点,CHG和CHH位点的甲基化在生殖细胞中有发现。而在植物中,CG、CHG和CHH位点均可发生广泛的甲基化。植物生长发育过程中形成甲基化的不同模式可由甲基转移酶通过重新甲基化和维持甲基化来完成。重新甲基化是指从未发生甲基化的位点被甲基化,它最终导致新的甲基化形式的产生。维持甲基化是指在DNA复制后仍然保持原有位点甲基化形式不变的过程。在拟南芥中,所有位点的重新甲基化都要依靠域重排甲基转移酶(domains rearranged methyltransferase, DRM),该酶是通过RNA指导的DNA甲基化途径发挥作用的。一旦甲基化建立就需要维持其状态,拟南芥中不同位点维持甲基化所需要的酶不同,其中,CG甲基化的维持靠甲基转移酶(methyltransferase, MET),CHG的甲基化由植物特有的染色质域甲基转移酶(chromomethylase 3, CMT3)和组氨酸甲基转移酶(kryptonite, KYP)来维持,而CHH的甲基化则由RNA指导的DNA甲基化(RNA-directed DNA methylation, RdDM)途径来维持。维持甲基化可以保证转座子继续在沉默状态,并且保持细胞类型的一致性。

1.2 DNA甲基化相关的酶

1.2.1 甲基转移酶(methyltransferase, MET) 1993年, Finnegan和Dennis从拟南芥中克隆出第1个编码植物DNA甲基转移酶的基因,即*MET1*,该基因所编码的甲基转移酶与动物中DNA甲基转移酶[DNA (cytosine-5)-methyltransferase 1, DNMT1]在结构上具有50%的同源性,其主要功能是维持CG位点的甲基化(Finnegan和Kovac 2000)。迄今为止,拟南芥中*MET1*多基因家族有5个成员,其中*MET1*、*MET2a*、*MET2b*以及*MET3*四个基因被证实来源于同一个祖先,*MET1*的转录只在分生组织中发生,而*MET2a*、*MET2b*在所有组织中都可以转录,但是从转录水平来看,*MET1*转录能力是

*MET2a*和*MET2b*的10 000倍以上,目前没有关于*MET3*转录水平的相关报道,所以*MET1*仍然是占主导地位的甲基转移酶(Genger等1999)。现已在胡萝卜、豌豆、西红柿和玉米等植物中鉴定出了*MET1*及其同源物(Vanyushin 2006)。

除上述4个甲基转移酶基因外,在拟南芥中还发现了*MET1*发挥作用的辅助因子即甲基化调节因子(variation in methylation, VIM),它是一种在DNA复制位点识别半甲基化的蛋白质(Feng等2010)。*MET1*除了发挥维持甲基化的作用外,还在由RNA指导的DNA甲基化过程中发挥重要作用。RdDM在无RNA引物时,可遗传的甲基化仅限于在对称位点的胞嘧啶上发生,并且需要*MET1*的维持。不仅如此,*MET1*还可与DRM共同作用于RNA介导的CG位点二核苷酸的重新甲基化。而在拟南芥*met1-RNAi*突变体中发现DNA甲基化的程度降低,且大部分低甲基化现象发生在正调基因的启动子区域,并产生了转座子激活和异染色质化的现象,说明了*MET1*在非编码RNA参与的RNAi过程中有重要作用(Chen等2008)。

1.2.2 染色质域甲基转移酶(chromomethylase, CMT) 染色质域甲基转移酶最早是从拟南芥的基因测序中鉴定得来的,是植物中特有的DNA甲基化酶,其结构与哺乳动物中的DNMT1相似,对于维持CHG位点的甲基化具有重要作用。在拟南芥中发现*CMT*家族共有3个成员,它们是*CMT1*、*CMT2*和*CMT3*,因其编码的甲基转移酶蛋白包含有染色质域而得名,其中,*CMT1*被认为是没有功能的。*CMT*的保守位点与*MET1*中的保守位点同源性高达70%,但是*CMT*蛋白的N端保守区域是多样的,且与*MET1*没有任何的相似性。在拟南芥*cmt3*突变体中整个基因组的CHG位点都未发生甲基化,同时,在*SUP*基因5'端序列的CHG位点和其它非对称位点也表现出低甲基化现象,所以,*CMT3*除了保持CHG位点的甲基化外,还维持其它序列的甲基化。除了拟南芥,还在玉米中发现了*CMT*的同源物ZMET2a和ZMET2b,其中ZMET2b还未发现其功能性(Vanyushin 2006)。

1.2.3 域重排甲基转移酶(domains rearranged methyltransferase, DRM) 植物域重排甲基转移酶家族与哺乳动物的从头甲基转移酶家族DNMT3同

源,只在催化域的排列顺序上存在差异。从拟南芥、烟草、大豆和玉米中分离出的DRM蛋白均具有泛素结合域(ubiquitin-associated domain, UBA domain),说明DRM具有蛋白质间相互作用的功能(Cao等2000)。拟南芥DRM家族共有2个成员DRM1和DRM2。植物中非对称位点的从头甲基化离不开DRM基因,它们的维持甲基化也是依靠DRM依赖RNA指导的DNA甲基化完成的。在拟南芥*drm1*、*drm2*、*cmt3*三突变体中CHH位点的甲基化才会被完全废除,但CG位点的甲基化不受任何的影响,而且*drm*突变体和*cmt3*突变体都不会对CG位点已经建立起来的RdDM产生影响,但在*drm*突变体中没有发现CHH位点的甲基化,并且部分的CHG位点发生了甲基化的缺失。通过比较分析可以看出其余的非对称位点的甲基化可依靠CMT3来实现,从而说明了DRM和CMT3对非CG位点的甲基化的重要作用(Cao等2003)。

1.2.4 组蛋白甲基转移酶(Histone Lysine Methyltransferase, HKMT) 组蛋白构成了染色质的蛋白质骨架,核内DNA依靠组蛋白进行组织以组成染色体的基本单元。组蛋白翻译后的修饰经常发生在N末端和C末端或者与重组相关的DNA序列处。大多数的HKMT都包含有SET区域,它是酶的活性区域,分别以果蝇的3种蛋白质命名的: SUV (suppressor of variegation)、EZ (enhancer of zeste) 和ATX (atrithorax),它们是SDG (the SET domain group)蛋白质超家族中的成员(Gendler等2008)。拟南芥中根据SET域的结构及酶催化活性的不同将HKMT分为7类(I~VII),其中与DNA甲基化相关的是种类V,即SUVH家族的蛋白质。SUVH家族蛋白质结构有以下4个部分: SET区域、前SET区域、后SET区域以及专供5-甲基胞嘧啶结合的环境指结构域(RING finger-associated, SRA)。SUVH家族共有10个成员,它们都是植物所特有的,与哺乳动物中的SU(VAR)3-9序列同源,其中SUVH4即通常所说的KYP,是植物中最早研究的组蛋白甲基转移酶,它能介导甲基基团从S-腺苷甲硫氨酸向组蛋白H3K9位点上转移(Pontvianne等2010)。不同的SUVH酶结合并活化不同的异染色质区域,比如在拟南芥*suvh4*的突变体中发现H3K9甲基化降低,*SUPERMAN*位点同样出现了胞嘧啶甲基化降低的

现象; SUVH2则作用于异染色质组蛋白标志的H3K9和H3K27的单甲基化、双甲基化以及H4K20的单甲基化; SUVH4和SUVH5共同调控转座子序列; SUVH4和SUVH6共同调控反向重复序列的转录(Ebbs和Bender 2006)。

1.2.5 DNA去甲基化酶 长期以来,人们已经对DNA甲基化的建立和维持进行了很多研究,一个DNA葡萄糖基酶(DNA glycosylases)家族的发现揭开了DNA去甲基化的面纱,从此人们对DNA去甲基化途径的认识逐步加深(Chan等2005)。该家族主要有4种蛋白质: 沉默抑制因子(repressor of silencing 1, ROS1)、转葡萄糖基酶(demeter, DME)、类转葡萄糖基酶蛋白2和3 (demeter-like proteins 2 and 3, DML2 and DML3)。在结构上,它们都是螺旋-发卡-螺旋的结构,利用 β,δ -连续降解的方式从DNA中移除5-甲基胞嘧啶并降解磷酸二酯键组成的基本骨架,最终留下一条需进一步处理以产生适合聚合和连接的3-OH末端的空隙(Zhu 2009)。

DME只在雌配子体中表达,对基因印迹的建立有十分重要的作用。植物中,印迹只发生在胚乳中,其建立是在受精前靠在中央细胞中的DME将特异性位点的甲基化移除来完成的。到目前为止,DME被证实与植物中三个基因的印迹相关: *MEDEA (MEA)*、*FLOWERING WAGENINGEN (FWA)*和*FERTILIZATION INDEPENDENT SEED2 (FIS2)* (Choi等2002; Ponferrada-Marin等2011; Bauer和Fischer 2011)。但是胚乳中在基因组范围内CG位点甲基化水平的下降大部分也与DME相关,这就说明DME在DNA甲基化中具有全面的调控作用(Hsieh等2009; Gehring等2009)。与DME不同,ROS1是在营养组织中表达的(Penterman等2007a)。ROS1是从一个低温调节基因(cold regulated 78, COR78)启动子-荧光素蛋白作为报告的基因筛选中发现的,它是一个大蛋白,转葡萄糖基域只是一小部分。在研究拟南芥*ros1*变异体时发现含有与细胞内同源的启动子转基因的沉默现象明显降低(Gong等2002)。DML2和DML3则是在研究基因组序列和T-DNA插入突变时发现的(Ortega-Galisteo等2008)。在研究拟南芥*ros1*、*dml2*和*dml3*单突变体时,仅发现少数的特异性位点甲基化增加

的现象,但是在研究三突变体时大量的特异性位点产生不同程度的甲基化现象,这些特异性位点主要是转座子位点、重复的DNA序列和siRNA的结合位点,而且增加的甲基化主要发生在基因的3'端和5'端(Penterman等2007b)。

2 DNA甲基化的相关机制

2.1 RNA介导的DNA甲基化(RdDM)

RNA介导的DNA甲基化是基因组表观遗传修饰的重要形式,它最初是在类病毒侵染的转基因植物中发现的,是由dsRNA诱导目的DNA中与之同源的区域发生胞嘧啶的甲基化,它可在所有序列(CG、CHG和CHH)的胞嘧啶上发生,尤其是RNA-DNA互补的区域中。

目前,RdDM在拟南芥中研究的最为深入。它在所有位点的重新甲基化、CG和CHG位点的维持甲基化以及CHH位点的去甲基化中都有涉及。反向重复的DNA序列经过PolII (DNA-dependent RNA polymerase II)作用转录为dsRNAs,而串联的DNA重复序列则在PolIV的作用下转录为单链的RNA(ssRNAs)之后,再经RDR2 (RNA-dependent RNA polymerase 2)作用转变为dsRNAs。以这两种方式合成的dsRNAs被酶DCL3 (dicer-like protein 3)切成21~25 nt的siRNAs。随后siRNA与AGO4 (argonaute 4)结合成siRNA-AGO4复合物后再与PolV (DNA-dependent RNA polymerase V)以及染色质重塑蛋白DRD1 (defective in RNA-directed DNA methylation 1)在DRM2的作用下进行重新甲基化(Naumann等2011)。而对于涉及RdDM的维持甲基化中,DDM1 (defective in DNA methylation)和HDA6 (histone deacetylase 6)是维持CG位点的甲基化是必须的;CMT3及KYP和AGO1是维持CHG位点所必须的。而CHH的去甲基化则需要DNA糖基化酶ROS1和DME (Bei等2007)。在以上所涉及的所有酶和蛋白质中,PolIV和PolV是植物中所特有的蛋白质(Matzke等2007; Chan 2008)。其中PolIV是在RdDM上游用来生产和扩增小RNA引物的,值得注意的是PolV是下游在结构水平上而非酶催化水平上巩固siRNA的形成并介导甲基化的产生(Piikaard等2008; Lahmy等2009)。

除了以上传统意义上的DNA胞嘧啶甲基转移酶、组蛋白修饰酶以及RNA聚合酶外,通过进一

步深入研究又发现了在RdDM过程中起作用的几类酶和蛋白质。2006年,Habu等发现植物中MOM1 (morpheus' molecule 1)可以不依赖DNA甲基化的方式引起转录后的基因沉默,像包含有异常RNA结构(如含有转录沉默信息及5S rRNA)的目标序列的复活都被证实缺乏MOM1。近期研究表明MOM1在siRNA的积累中发挥作用,可能引起RdDM,并且有人提出MOM1还可以帮助将核心区域的RdDM信号转变成组蛋白修饰信号(Yokthongwattana等2009; Numa等2010)。此外,发现了一种新的植物特有的蛋白质SPT5 (suppressor of Ty insertion 5),也在RdDM中发挥作用,拟南芥*spt5*突变体表现出24 nt小RNA的积累以及不同位点不同程度的低甲基化(Wang和Dennis 2009)。另一种与SPT5类似的调控因子KTF1, C端包含GW/WG重复序列,并与AGO4和RNA的转录物结合以发挥作用,其功能的丧失会导致DNA甲基化程度的降低,并且不需要废除siRNA引物就可以暴露出被RdDM沉默的位点(He等2009)。2009年,Ausin等又在拟南芥的两种不能建立DNA甲基化的突变体*idn*和*idn2*中发现了2种新的蛋白质IDN1和IDN2 (involved in de novo 1 and 2),它们控制着重新甲基化和siRNA介导的维持甲基化,且是RdDM途径的组成元素。而另一影响因子DMS4 (defective in meristem silencing 4)是与酵母中IWR1类似的保守的转录因子,它对PolIV产生siRNA、PolV介导的RdDM以及由PolII驱使的基因的表达等过程会产生直接或者间接的影响(Kanno等2010)。

2.2 DNA甲基化与组蛋白修饰

除DNA甲基化外,核小体组蛋白N端的翻译后修饰也是一种重要的表观遗传信号,比起DNA甲基化,组蛋白修饰更容易调控和发生改变,它可以通过调节染色质结构的变化来影响基因的活性,在植物的生长发育和自我保护中扮演重要角色。组蛋白的共价修饰方式主要有乙酰化、甲基化、磷酸化以及泛素化。它主要有4种类型: H2A、H2B、H3和H4,其中最容易修饰的是H3和H4,到目前为止,植物中已经发现5种赖氨酸的修饰位点,包括组蛋白3中的赖氨酸4、9、27和36四个位点以及组蛋白4中的赖氨酸20位点。HKMTs是一种非常重要的组蛋白修饰酶,这些酶与建立和维持

常染色质和异染色质的活化状态以及转录中被抑制的序列有关(Cairns 2009; Talbert和Henikoff 2010)。在众多的共价修饰方式中乙酰化、磷酸化和泛素化可以促进基因的表达, 而H3K9和H3K27的二甲基化和生物素化等则可以抑制基因的表达(Chen等2010)。DNA甲基化和组蛋白修饰都是表观遗传学的重要组成部分, 许多实验证明DNA甲基化和组蛋白修饰之间存在着密切的联系, 这两个过程具有共同的酶和蛋白质, 比如DDM1、含有jmc结构域的蛋白质以及KYP, 它们依赖DNA转录的序列特异性位点可以调节染色质的高级结构, 在拟南芥中还发现H3K9的甲基化是在CHG位点发生DNA甲基化的先决条件(Bernatavichute等2008; Matzke等2009)。

DNA甲基化和组蛋白修饰在建立和维持染色质状态中发挥重要作用, 而染色质结构的变化会对植物的生长发育过程(如细胞分化、胚胎干细胞的维持和衰老)产生一系列的影响(Hochedlinger和Plath 2009)。组蛋白修饰可以直接引起染色质结构的变化, 也可以通过能够识别其信号的蛋白质复合物来间接调控染色质的变化。根据“组蛋白密码假说”, 一个已知的修饰方式是激活还是抑制基因的表达不仅取决于其修饰的方式(如乙酰化、甲基化、磷酸化以及泛素化)和修饰的程度(如单甲基化、二甲基化及多甲基化), 还取决于在已知序列中组蛋白修饰的不同信号的组合, 这些信号决定了染色质结构的变化(Chi等2010)。

核小体的定位对于基因组本身具有高度的依赖性。在每个核小体中DNA序列的可操作性靠组蛋白的共价修饰及包围在组蛋白周围的DNA的胞嘧啶甲基化进行进一步的修饰。DDM1编码SWI/SNF家族的蛋白质, 它能够引起染色质的重组, 与哺乳动物中的Lsh同源。将野生型植物与*ddm1*和*met1*变异型的植物就着丝粒序列的位置、DNA甲基化和组氨酸修饰的因素以及树叶核间期异染色质结构等方面相比较, 可以看出在野生型植物中所有序列的甲基化程度均比*ddm1*和*met1*变异体的高。变异体的异染色质化比野生型少25%~30%, 而两者同时变异的表型比单独变异的少20%~25%, 说明DNA和H3K9的甲基化程度的降低使核染色中心的大小降低(Soppe等2002)。

2.3 DNA去甲基化

尽管DNA甲基化可以稳定遗传, 但是在植物生长发育的过程中还是有甲基化水平下降的现象发生, 此即DNA去甲基化, 它是一种重要的DNA功能调节机制, 依靠碱基切除修复(base excision repair, BER)机制激活, 它既可以一种积极的方式存在, 也就是我们所说的主动去甲基化, 它的发生通常需要糖基化酶的参与, 在糖基化酶的作用下移除甲基化的胞嘧啶恢复基因功能; 又可以一种消极的方式存在, 即被动去甲基化, 它是指在新合成的DNA上利用未甲基化的胞嘧啶替代甲基化的胞嘧啶, 其发生不需要甲基化酶的参与(Law和Jacobson 2011)。

从拟南芥的基因组中敲除编码ROS1、DML2和DML3三种糖基化酶的基因后, 基因组的甲基化水平并未产生严重的影响, 但是这些酶可以作为RdDM系统调节特定位点甲基化水平的有利工具(Lister等2008)。而在拟南芥*ROS1*变异体中显示胞嘧啶位点的高度甲基化, 通过拟南芥中去甲基化酶的分析得知, 许多转座子是ROS1的目标物(Zhu等2007)。近年来, 又发现了一种新的含有RRM(RNA-recognition motif)位点的酶ROS3, 其作用方式与ROS1相同, 它以序列特异性的方式识别长度在21~26 nt的ssRNAs, 它的存在可能对ROS1结合特异性位点有所帮助(Zheng等2008; Zhu 2009)。近年来, 研究发现在拟南芥雌配子体发育过程中MET1也可引起DNA的去甲基化, 它依靠成视网膜细胞瘤途径介导被动的甲基化丢失。在配子发育过程中, MET1的表达被成视网膜细胞瘤途径所抑制, 这种抑制引起营养组织和母系等位基因的甲基化的被动移除, 导致半甲基化形式的产生, 最终在DME的作用下完成去甲基化(Jullien等2008; Berger和Chaudhury 2009)。随着研究的不断深入发现由DME产生的去甲基化也可能激活转座子的表达, 它使转座子的转录物发生RNAi, 并产生格外的siRNA以介导非CG位点的甲基化, 这种甲基化方式在野生型的胚乳中大量存在, 但是在*dme*突变体中却很少发生, 因为胚乳细胞的基因组并不传递给后代, 在胚乳基因组中发生的转座子的激活可能是无害的, 并且可以加强卵细胞以及后期胚胎中转座子的沉默这样有助于维持基因组的稳定

性(Huh等2008)。

3 展望

作为一种重要的表观遗传修饰方式,在植物整个发育过程中对于那些具有组织、器官以及发育阶段特异性的基因的表达调控,DNA甲基化都扮演着重要角色。为了能使这个能够动态控制基因表达的调控方式遍布植物发育的整个过程,DNA甲基化本身必须是动态的,它通过相应的表达和多种类型的DNA甲基转移酶(DNA MTases)、DNA糖基化酶以及染色质重组因子的参与使其对基因的调控形象化、具体化。因植物DNA甲基化的调控相对复杂,需要更多的研究解释其建立和保持的机制以及各种调控因子之间的关系,这将有助于我们更好地理解生命体的遗传过程,尤其是我们所重视的表观遗传现象。近10多年来经过人们不断地探索,植物DNA甲基化的相关机制比如RNA介导的DNA甲基化和DNA去甲基化逐渐被人们所认识,它们都是现在的研究热点,在植物中尤其是模式生物拟南芥中已经取得了重大进展,因其在植物生长发育过程中发挥重要作用而越来越受到人们的重视。但是现在DNA甲基化研究主要集中于模式生物,还缺乏在普通生物中的大量研究资料;现在越来越多的研究者将表观遗传修饰应用于植物的抗逆性研究,在基因表达层面上探究植物的抗逆性机理;在理解DNA甲基化的各种机制的基础上,人们试图利用各种调控因子的突变体得到有益的受体植株,使DNA甲基化在分子育种上有用武之地;并且随着植物甲基化组学和转录组学的应用,从分子以及细胞水平上阐明DNA甲基化的动力学和遗传学也将是我们今后研究的重中之重。

参考文献

- Ausin I, Mockler TC, Chory J, Jacobsen SE (2009). IDN1 and IDN2 two proteins required for *de novo* DNA methylation in *Arabidopsis thaliana*. *Nat Struct Mol Biol*, 16 (12): 1325~1327
- Bauer MJ, Fischer RL (2011). Genome demethylation and imprinting in the endosperm. *Curr Opin Plant Biol*, 14 (2): 1~6
- Bei YX, Pressman S, Carthew R (2007). SnapShot: small RNA-mediated epigenetic modifications. *Cell*, 130 (4): 756
- Berger F, Chaudhury A (2009). Parental memories shape seeds. *Trends Plant Sci*, 14 (10): 550~556
- Bernatavichute YV, Zhang X, Cokus S, Pellegrini M, Jacobson SE (2008). Genome-wide association of histone H3 lysine nine methylation with CHG DNA methylation in *Arabidopsis thaliana*. *PLoS One*, 3 (9): e3156
- Cairns BR (2009). The logic of chromatin architecture and remodeling at promoters. *Nature*, 461 (7261): 193~198
- Cao XF, Springer NM, Muszynski MG, Phillips RL, Kaeppler S, Jacobson SE (2000). Conserved plant genes with similarity to mammalian *de novo* DNA methyltransferases. *Proc Natl Acad Sci*, 97 (9): 4979~4984
- Cao XF, Werner A, Daniel Z, Florian MM, Michael SH, Marjori M, Steven EJ (2003). Role of the *DRM* and *CMT3* methyltransferases in RNA-directed DNA methylation. *Curr Biol*, 13 (24): 2212~2217
- Chan SW (2008). Inputs and outputs for chromatin-targeted RNAi. *Trends Plant Sci*, 13 (7): 383~389
- Chan SW, Henderson IR, Jacobson SE (2005). Gardening the genome: DNA methylation in *Arabidopsis thaliana*. *Nat Rev Genet*, 6 (5): 351~360
- Chen M, Ha M, Lackey E, Wang J, Chen ZJ (2008). RNAi of *met1* reduced DNA methylation and induces genome-specific changes in gene expression and centromeric small RNA accumulation in *Arabidopsis allopolyploids*. *Genetics*, 178 (4): 1845~1858
- Chen M, Lv SL, Meng YJ (2010). Epigenetic performers in plants. *Develop Growth Differ*, 52 (6): 555~566
- Chi P, Allis CD, Wang GG (2010). Covalent histone modifications-miswritten, misinterpreted and mis-erased in human cancers. *Nat Rev Cancer*, 10 (7): 457~469
- Choi Y, Gehring M, Johnson L, Hannon M, Harada JJ, Goldberg RB, Jacobsen SE, Fischer RL (2002). DEMETER, a DNA glycosylase domain protein, is required for endosperm gene imprinting and seed viability in *Arabidopsis*. *Cell*, 110 (1): 33~42
- Ebbs ML, Bender J (2006). Locus-specific control of DNA methylation by the *Arabidopsis* SUVH5 histone methyltransferase. *Plant Cell*, 18 (5): 1166~1176
- Feng S, Jacobsen SE, Reik W (2010). Epigenetic reprogramming in plant and animal development. *Science*, 330 (6004): 622~627
- Finnegan EJ, Kovac KA (2000). Plant DNA methyltransferases. *Plant Mol Biol*, 43 (2~3): 189~201
- Gendler K, Paulsen T, Napoli C (2008). ChromDB: the chromatin database. *Nucleic Acids Res*, 36: D298~D302
- Genger RK, Kovac KA, Dennis ES, Peacock WJ, Finnegan EJ (1999). Multiple DNA methyltransferase genes in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Mol Biol*, 41 (2): 269~278
- Gehring M, Bubb KL, Henikoff S (2009). Extensive demethylation of repetitive elements during seed development underlies gene imprinting. *Science*, 324 (5933): 1447~1451
- Gong Z, Morales-Ruiz T, Ariza RR, Roldan-Arjona T, David L, Zhu JK (2002). ROS1, a repressor of transcriptional gene silencing in *Arabidopsis*, encodes a DNA glycosylase/lyase. *Cell*, 111 (6): 803~814
- Habu YM, Mathieu O, Tariq M, Probst AV, Smathajitt C, Zhu T, Paszkowski J (2006). Epigenetic regulation of transcription in intermediate heterochromatin. *EMBO Rep*, 7 (12): 1279~1284
- He XJ, Hsu YF, Zhu S, 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 (3): 498~508
- Hsieh TF, Ibarra CA, Silva P, Zemach A, Eshed-Williams L, Fischer RL, Zilberman D (2009). Genome-wide demethylation of *Arabidopsis* endosperm. *Science*, 324 (5933): 1451~1454
- Hochedlinger K, Plath K (2009). Epigenetic reprogramming and induced pluripotency. *Development*, 136 (4): 509~523
- Huh JH, Bauer MJ, Hsieh TF, Fischer RL (2008). Cellular programming of plant gene imprinting. *Cell*, 132 (5): 735~744
- Jullien PE, Mosquana JA, Ingouff M, Sakata T, Ohad N, Berger F (2008). Retinoblastoma and its binding partner MSI1 control imprinting in *Arabidopsis*. *PLoS Biol*, 6 (8): e194
- Kanno T, Bucher E, Daxinger L, Huettel B, Kreil DP, Breinig F, Lind M, Schmitt MJ, Simon SA, Gurazada SG et al (2010). RNA-directed DNA methylation and plant development require an IWR1-type transcription factor. *EMBO report*, 11 (1): 65~71
- Lahmy S, Pontier D, Cavel E, Vega D, El-Shami M, Kanno T, Lagrange T (2009). Pol (Pol b) function in RNA-directed DNA methylation requires the conserved active site and an additional plant-specific subunit. *Proc Natl Acad Sci*, 106 (3): 941~946
- Law JA, Jacobson SE (2011). Establishing, maintaining and modifying DNA methylation patterns in plants and animals. *Nature*, 11 (3): 204~220
- Lister R, O'Malley Tonti-Filippini J, Gregory BD, Millar AH, Ecker JR (2008). Highly integrated single-base resolution maps of the epigenome in *Arabidopsis*. *Cell*, 133 (3): 523~536
- Matzke M, Kanno T, Daxinger L, Huettel B, Matzke AJM (2009). RNA-mediated chromatin-based silencing in plants. *Curr Opin Cell Biol*, 21 (3): 367~376
- Matzke M, Kanno T, Huettel B, Daxinger L Matzke AJM (2007). Targets of RNA-directed DNA methylation in *Arabidopsis*. *Curr Opin Plant Biol*, 10 (5): 512~519
- Naumann U, Daxinger L, Kanno T, Eun C, Long Q, Lorkovic ZJ, Matzke M, Mataka JM (2011). Genetic evidence that DNA methyltransferase DRM2 has a direct catalytic role in RNA-directed DNA methylation in *Arabidopsis thaliana*. *Genetics*, 187 (3): 977~979
- Numa H, Kim JM, Matsui A, Kurihara Y, Morosawa T, Ishida J, Mochizuki Y, Kimura H, Shinozaki K, Toyoda T et al (2010). Transduction of RNA-directed DNA methylation signals to repressive histone marks in *Arabidopsis thaliana*. *EMBO J*, 29 (2): 352~362
- Ortega-Galisteo AP, Morales-Ruiz T, Ariza RR, Roldan AT (2008). *Arabidopsis* DEMETER-LIKE proteins DML2 and DML3 are required for appropriate distribution of DNA methylation marks. *Plant Mol Biol*, 67 (6): 671~681
- Penterman J, Uzawa R, Fischer RL (2007a). Genetic interactions between DNA demethylation and methylation in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 145 (4): 1549~1557
- Penterman J, Zilberman D, Huh JH, Ballinger T, Henikoff S, Fischer RL (2007b). DNA demethylation in the *Arabidopsis* genome. *Proc Natl Acad Sci*, 104 (16): 6752~6757
- Pikaard CS, Haag JR, Ream J, Wierzbicki AT (2008). Roles of RNA polymerase IV in gene silencing. *Trends Plant Sci*, 13 (7): 390~397
- Ponferrada-Marin MI, Parrilla-Doblas JT, Roldan-Arjona T, Ariza RR (2011). A discontinuous DNA glycosylase domain in a family of enzymes that excise 5-methylcytosine. *Nucleic Acids Res*, 39 (4): 1473~1484
- Pontvianne F, Blevins T, Pikaard CS (2010). *Arabidopsis* histone lysine methyltransferases. *Adv Bot Res*, 53: 1~22
- Scoppe WJ, Jasencakova Z, Houben A, Kakutani T, Meister A, Huang MS, Jacobsen SE, Schubert I, Fransz PF (2002). DNA methylation controls histone H3 lysine 9 methylation and heterochromatin assembly in *Arabidopsis*. *EMBO J*, 21 (23): 6549~6559
- Talbert PB, Henikoff S (2010). Histone variants-ancient wrap artists of the epigenome. *Nature*, 11 (4): 264~275
- Vanyushin BF (2006). DNA methylation in plants. *Curr Top Microbiol Immunol*, 301: 67~122
- Wang MB, Dennis ES (2009). SPT5-like, a new component in plant RdDM. *EMBO Rep*, 10 (6): 573~575
- Yokthongwattana C, Bucher E, Caikovski M, Vaillant I, Nicolet J, Scheid OM, Paszkowski J (2009). MOM1 and Pol-IV/V interactions regulate the intensity and specificity of transcriptional gene silencing. *EMBO J*, 29 (2): 340~351
- Zheng X, Pontes O, Zhu J, Miki D, Zhang F, Li WX, Lida K, Kapoor A, Pikaard CS, Zhu JK (2008). ROS3 is an RNA-binding protein required for DNA demethylation in *Arabidopsis*. *Nature*, 455 (7217): 1259~1262
- Zhu JK (2009). Active DNA demethylation mediated by DNA glycosylases. *Annu Rev Genet*, 43: 143~166
- Zhu J, Kapoor A, Sridhar VV, Agius F, Zhu JK (2007). The DNA glycosylase/lyase ROS1 functions in pruning DNA methylation patterns in *Arabidopsis*. *Curr Boil*, 17 (1): 54~59