



猪营养代谢与 表观遗传学

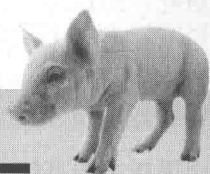
Porcine

Nutrition Metabolism and Epigenetic

黄飞若 著



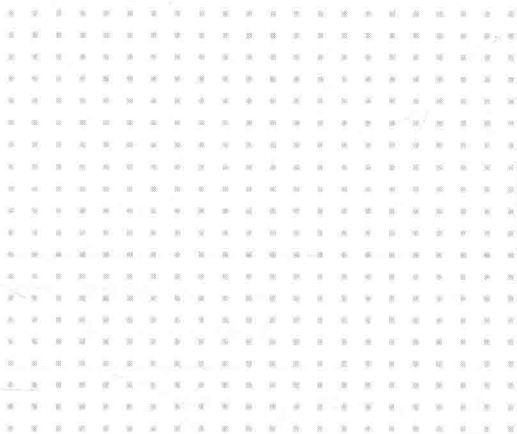
化学工业出版社



猪营养代谢与 表观遗传学

**Porcine
Nutrition Metabolism and Epigenetic**

黄飞若 著



化学工业出版社

· 北京 ·

图书在版编目 (CIP) 数据

猪营养代谢与表观遗传学/黄飞若著. —北京: 化学工业出版社, 2016. 3
ISBN 978-7-122-26258-5

I. ①猪… II. ①黄… III. ①猪-家畜营养学-研究②猪-发育遗传学-研究 IV. ①S828.5②Q959.842.03

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2016) 第 024878 号

责任编辑: 邵桂林

文字编辑: 焦欣渝 李瑾 何芳

责任校对: 边涛

装帧设计: 关飞

出版发行: 化学工业出版社 (北京市东城区青年湖南街 13 号 邮政编码 100011)

印刷: 北京永鑫印刷有限责任公司

装订: 三河市宇新装订厂

710mm×1000mm 1/16 印张 17 $\frac{1}{4}$ 字数 331 千字 2016 年 4 月北京第 1 版第 1 次印刷

购书咨询: 010-64518888 (传真: 010-64519686) 售后服务: 010-64518899

网 址: <http://www.cip.com.cn>

凡购买本书, 如有缺损质量问题, 本社销售中心负责调换。

定 价: 75.00 元

版权所有 违者必究

前 言

动物营养代谢与调控是动物营养学的经典研究内容。动物营养代谢过程，会受到环境、营养状况、应激和细胞内遗传物质等诸多因素的影响和调控。近年来，表观遗传学领域的研究得到迅速发展，并且其研究内容涉及许多学科领域。表观遗传学研究的重点是基因表达的调控机制，研究生物通过调控基因表达而不改变基因序列所导致的遗传现象的理论。所以，表观遗传学是环境因素和遗传物质相互作用的结果。动物体在生长发育过程中，也在不断进行着生理和代谢的变化和调整，从而提高机体对环境的适应能力。表观遗传学是研究基因与环境相互作用的学科，这门学科在动物营养与饲料科学领域涉及营养素对表观遗传的影响，以及表观遗传学修饰对营养代谢的调控。现在表观遗传学研究也成为动物营养代谢调控研究的热点，而目前没有有关猪营养代谢与表观遗传学相关的著作出版。

本书主要综述了作者近年来研究成果，包括脂质、蛋白质和碳水化合物三大类营养物质的营养代谢调控与表观遗传学的关系；以及肠道、肝脏、肌肉等不同的器官的营养物质代谢的表观学修饰的分析。同时辅以国内外相关研究进展，以补充猪营养代谢及表观遗传学领域相关著作空白，为科学研究、教学及动物生产提供理论依据。

动物营养学是一个正在发展的与许多学科有关的领域，其中动物营养代谢与表观遗传学修饰有密切关系，本书就是从这二者的联系展开的，内容包括两大部分：第一部分(第一~三章)是对表观遗传学的基本理论、动物营养代谢与调控的理论及方法的描述，涉及表观遗传学的形成和发展、主要研究内容、研究技术，动物营养代谢与调控的研究进展，以及表观遗传学在猪营养代谢中的研究等；第二部分(第四~八章)为猪营养代谢与表观遗传学的专题研究，涉及猪肠道脂肪代谢与乙酰化修饰，

日粮不同蛋白水平下猪肠道和肝脏氨基酸的代谢及甲基化分析,表观遗传修饰在肝脏糖脂及氮代谢中的作用,表观遗传学修饰在猪肌肉蛋白质降解中的作用,猪皮下脂肪与肌内脂肪形成的表观遗传学调控等。

本书的写作和出版得到了国家自然科学基金项目(No. 31572409)、国家重点基础研究计划“973计划”(No. 2013CB127304)、国家自然科学基金青年科学基金(No. 31101722)和瑞典国际青年科学基金(No. 720112-101204)项目的资助。同时,华中农业大学动物营养与饲料科学系硕士生李鲁鲁、包正喜、张萍、王悦、郑培培等在本书所涉及的课题开展和研究过程中倾注了大量的心血和汗水。在此一并致以诚挚的谢意!同时,对化学工业出版社为本书的尽早出版所付出的辛勤劳动表示衷心的感谢!

由于编者的水平有限,经验不足,时间仓促,专业发展迅速及涉及的学科领域较广等原因,书中难免有错漏和不妥之处,敬请广大读者批评指正。

黄飞若

华中农业大学

2016年2月

目 录

第一章 绪论 / 1

第一节 表观遗传学研究进展	1
一、表观遗传学的形成与发展	1
二、表观遗传学和遗传学的关系	2
三、表观遗传学的主要研究内容	3
四、表观遗传学的研究技术	6
五、表观遗传学的应用前景	10
第二节 猪营养代谢调控的研究进展	11
一、日粮因素对猪营养代谢的调控	12
二、环境因素对猪营养代谢的调控	13
三、微生物因素对猪营养代谢的调控	14
第三节 猪营养代谢中的表观遗传学研究	15
一、营养对表观遗传调控及机制	15
二、表观遗传对营养物质代谢的影响	17
三、内分泌激素与表观遗传学	22
四、表观遗传学、营养与环境的关系	26
参考文献	27

第二章 表观遗传学调控的分子机制 / 32

第一节 组蛋白修饰	32
一、组蛋白的甲基化修饰	33
二、组蛋白的乙酰化与去乙酰化修饰	34
三、组蛋白的磷酸化修饰	37
四、组蛋白的泛素化修饰	38
五、组蛋白的 SUMO 化修饰	40

第二节 染色质重塑	41
一、染色质的结构	42
二、核小体的定位	44
三、染色质重塑复合物	45
四、染色质重塑的模式	48
第三节 DNA 甲基化	50
一、DNA 甲基化	50
二、DNA 去甲基化	54
三、DNA 甲基转移酶的分类	56
第四节 非编码 RNA 调控	58
一、RNA 干扰的特点	59
二、RNA 干扰作用机制	61
三、miRNA 作用机制与功能	62
参考文献	66

第三章 猪营养代谢与调控 / 71

第一节 猪氨基酸代谢与调控	71
一、氨基酸的分类	71
二、氨基酸的功能	73
三、氨基酸的代谢途径	74
四、饲料中营养物质对氨基酸代谢的调控	76
五、激素对蛋白质氨基酸代谢的调控	80
六、氨基酸对基因表达的调节及机制	82
七、功能性氨基酸研究进展	85
第二节 猪碳水化合物的代谢与调控	89
一、碳水化合物的分类	89
二、碳水化合物的代谢途径	90
三、碳水化合物的营养生理作用	95
四、碳水化合物对猪营养代谢调控	96
第三节 脂肪组织与脂肪代谢	97
一、脂肪组织的分类	97
二、脂肪代谢	98
三、激素对脂肪代谢的调控	100
四、脂肪代谢的营养调控	105

五、猪脂肪代谢相关酶的调控	109
参考文献	112

第四章 猪肠道脂肪酸转运与乙酰化修饰 / 119

第一节 猪肠道生理与代谢特点	119
一、肠道结构与代谢特点	119
二、肠道微生物及微生态环境	120
三、肠道屏障与免疫功能	121
四、肠道营养与肠道健康	123
第二节 <i>n</i> -3PUFA 与肠上皮细胞脂肪酸转运的关系	125
一、脂肪酸的概念与分类	126
二、小肠中脂肪酸转运相关蛋白	126
三、 <i>n</i> -3 PUFA 调控小肠上皮细胞脂肪酸转运相关基因 表达	129
四、 <i>n</i> -3 PUFA 对小肠上皮细胞甘油三酯合成的抑制作用	129
第三节 <i>n</i> -3PUFA 调控肠上皮细胞乳糜微粒组装	130
一、脂肪酸在消化吸收过程中的特异性	131
二、肝型脂肪酸结合蛋白及乳糜微粒组装与分泌	133
三、Caco-2 细胞肠道脂质代谢模型	139
四、 <i>n</i> -3 PUFA 对肠上皮细胞 CM 合成和分泌的调控	143
第四节 猪肠道脂肪酸代谢与乙酰化修饰	144
一、短链脂肪酸与肠道组蛋白乙酰化修饰	144
二、乙酰化与去乙酰化修饰对肠上皮基因表达的调控	145
三、表观遗传学修饰对脂肪酸转运关键蛋白的调控	145
参考文献	146

第五章 低蛋白日粮下猪肝脏氨基酸的代谢及甲基化修饰 / 150

第一节 猪肠道与肝脏氨基酸代谢特点	150
一、必需氨基酸	151
二、非必需氨基酸	156
第二节 低蛋白水平日粮在仔猪日粮中的应用	159
一、猪蛋白质营养的研究进展	159

二、低蛋白水平日粮对仔猪生长性能的影响	160
三、低蛋白水平日粮对仔猪氮利用率的影响	161
四、低蛋白水平日粮对仔猪氮排泄的影响	163
第三节 不同蛋白水平日粮对仔猪肝脏氨基酸代谢的影响	163
一、血管插管技术在动物营养物质代谢研究中的应用	163
二、不同蛋白水平日粮对仔猪肝脏氨基酸代谢的影响	168
三、低蛋白水平日粮下肝脏和肠道氨基酸代谢的异同点	172
第四节 不同蛋白水平下氨基酸代谢的甲基化修饰	175
一、日粮蛋白水平调控氨基酸代谢相关基因表达	175
二、日粮蛋白水平调控甲基化修饰	176
参考文献	177

第六章 表观遗传修饰在肝脏糖脂及氮代谢中的作用 / 182

第一节 肝脏糖脂代谢特点	182
一、肝脏糖代谢	182
二、肝脏脂质代谢	183
第二节 表观遗传修饰在糖脂代谢中的作用	184
一、DNA 甲基化与糖脂代谢	184
二、组蛋白修饰与糖脂代谢	186
三、非编码 RNA 与糖脂代谢	187
四、染色质重塑与糖脂代谢	189
第三节 氮在肝脏内的代谢来源与去向	190
一、肝脏氮的来源	191
二、肝脏尿素循环与谷氨酰胺循环	191
三、肝-门静脉灌注模型及应用	193
四、不同门静脉血氨水平对猪肝脏营养代谢的影响	194
第四节 乙酰化与去乙酰化修饰在肝脏氮代谢中的调控作用	195
一、尿素循环酶的短期与长期调控	195
二、去乙酰化酶 Sirtuin 蛋白家族	196
三、SIRT3 与鸟氨酸氨甲酰基转移酶 OTC	198
四、SIRT5 与氨甲酰磷酸合成酶 CPS1	199
五、转录共激活因子 PGC-1 α 与 SIRT3 和 SIRT5	200
六、SIRT1/GCN5 与转录共激活因子 PGC-1 α	201

参考文献	202
------------	-----

第七章 免疫应激猪肌肉蛋白质降解与表观遗传学修饰 / 206

第一节 肌肉的生长发育与肌纤维类型	206
一、肌肉的结构及生长发育	206
二、肌纤维类型及其影响因素	207
三、肌纤维类型与肉品质的关系	210
第二节 免疫应激下动物骨骼肌蛋白质代谢特点	212
一、猪集约化生产与免疫应激	212
二、免疫应激与动物骨骼肌生长的关系	214
三、免疫应激诱导骨骼肌蛋白质分解途径的机制	214
第三节 <i>n-3</i> PUFA 在猪肌肉蛋白质降解中的作用	218
一、 <i>n-3</i> PUFA 调节生长肥育猪促炎因子和免疫功能	218
二、 <i>n-3</i> PUFA 改善生长肥育猪脂肪酸组成和肌肉重	224
三、 <i>n-3</i> PUFA 调控生长肥育猪组织中基因表达	228
四、 <i>n-3</i> PUFA 对肌肉蛋白质降解的作用机制	231
第四节 表观遗传修饰对骨骼肌蛋白质分解的作用	235
一、表观遗传学修饰对 NF- κ B 的调控	235
二、表观遗传学修饰对 PPAR γ 的调控	237
参考文献	238

第八章 猪皮下脂肪与肌内脂肪形成的表观遗传学调控 / 244

第一节 猪脂肪组织分布	244
一、猪脂肪组织沉积部位	244
二、皮下脂肪与肌内脂肪的差异	245
三、脂肪沉积与肉质的关系	246
第二节 脂肪细胞的生成与调控	247
一、脂肪细胞的起源	247
二、脂肪细胞的分化过程	248
三、脂肪细胞分化的关键转录因子	250

四、脂肪细胞分化的信号通路·····	252
五、皮下脂肪和肌内脂肪沉积差异的调控·····	254
第三节 动物体内脂肪生成中的表观遗传学调控 ·····	255
一、乙酰化与去乙酰化修饰在脂肪生成中的作用·····	256
二、miRNA 在脂肪细胞的分化中的调控作用 ·····	259
参考文献 ·····	260

第一章

绪论

表观遗传学研究在 DNA 序列不发生改变的情况下,由于 DNA 甲基化、染色质结构变化等因素而引起的基因的功能发生可遗传的变化并导致表型变异的遗传学机制。近年来,表观遗传学逐渐成为众多学者研究的热点。表观遗传学同样会受到环境因素的影响,在不同的环境状况下发生不同的表观遗传学修饰,以适应环境的变化。在营养学领域,表观遗传学研究也变得非常重要,不同营养条件和功能性饲料的添加可以通过多种方式改变表观遗传修饰,从而改变基因的表达状况,并且表观遗传修饰的改变也会进一步影响动物对营养物质的代谢。

第一节 表观遗传学研究进展

一、表观遗传学的形成与发展

经典遗传学认为,基因是一个结构单位,也是一个功能单位。基因结构的改变会引起生物体表现型 (phenotype) 的改变,而这种改变可以从上代传到下代。人类基因组 (genome) 有 20000 多个基因,但在成人体内的 200 种左右细胞中,每种细胞内都仅有一部分特定基因表达 (Albert 等, 2010)。简而言之,就是每个个体内虽然所有细胞都含相同的遗传信息,但由于基因表达模式的不同,使这些本来由同一个受精卵分裂而成的细胞经过分化后成了具有不同功能和形态的细胞 (如肝细胞、血细胞和上皮细胞等),从而形成不同的组织和器官。

在经典遗传学创立数十年后,1942 年生物学家沃丁顿 (Waddington) 研究基因型产生表型的过程中首次提出了表观遗传学 (epigenetics) 这一术语。Epigenetics 这一名词的中文译法有多种,常见的有“表观遗传学”“表现遗传学”“后生遗传学”“外因遗传学”“表遗传学”“外区遗传学”等。随着遗传学的快速

发展，这个词的意思越来越窄（Dupont 等，2009）。沃丁顿在描述生物体的基因型与表型之间的关系时指出，基因型的遗传（heredity）或传承（inheritance）是遗传学研究的主要内容，而基因型产生表型的过程则属于表观遗传学研究的范畴。在当时，许多生物学家认为细胞的分化是由于基因组的组成发生了改变。20世纪80年代，霍利德（Holliday）进一步指出可在两个层面上研究高等生物的基因属性（Holliday 等，1987）：第一个层面是基因的世代间传递的规律，这是遗传学；第二个层面是生物从受精卵到成体的发育过程中基因活性变化的模式，这是表观遗传学。1994年，霍利德又指出基因表达活性的变化不仅发生在发育过程中，在生物体已分化的细胞中也会发生；基因表达的某种变化可通过有丝分裂的细胞遗传下去（Holliday 等，1994）。他还指出，基因表达的可遗传的变化是可逆的；这种可逆的基因表达的变化并不是基因的DNA序列改变引起的。霍利德认为，表观遗传学研究的是“上代向下代传递的信息，而不是DNA序列本身”，这是一种“不以DNA序列的差别为基础的细胞核遗传”。1999年，乌尔福（Wollfe A）把表观遗传学定义为研究没有DNA序列变化的、可遗传的基因表达的改变。换句话说，表观遗传学是不改变基因DNA序列的基础表达，而改变基因表达以后蛋白质水平的遗传方式。随着表观遗传学的不断发展，表观遗传学定义为研究不涉及遗传物质核苷酸序列的改变，但可以通过有丝分裂和减数分裂实现代间遗传的生物现象的遗传学分支领域（薛京伦等，2006）。

在分子生物学空前发展的形势下，表观遗传学也在分子水平上得到了更为系统的研究，人们不仅发现了多种表观遗传修饰方式，而且探究了其错综复杂的生物学作用，如DNA甲基化对基因表达的抑制；组蛋白乙酰化和甲基化影响基因表达；染色质重塑与基因表达的关系；非编码RNA可能通过RNA干扰机制调节影响其他基因的活性等。因此表观遗传学现已成为生命科学领域的研究热点之一，形成了独立的分支学科。它不仅对基因表达、调控、遗传有重要作用，而且在肿瘤、免疫等许多疾病的发生和防治中也具有十分深远的意义。它是近年来生命科学领域中的一个突出进展，具有十分广泛的研究和应用前景。

二、表观遗传学和遗传学的关系

表观遗传学（epigenetics）与遗传学（genetics）是相对应的概念，既相互区别、彼此影响，又相辅相成，从而构成一个整体。经典遗传学经历了从孟德尔遗传到分子遗传的阶段，它认为DNA序列中储存着生命的全部遗传信息。经典遗传学主要是研究基因序列改变和染色体突变为基础所引起的基因表达水平的变化。表观遗传学则认为是在DNA序列不变化的基础上的遗传模式，以DNA甲基化形式和蛋白密码、RNA干涉等进行调控，实际上是以基因表达水平为主的遗传学。表观遗传变异也能遗传，而且表现出表型差异，但与经典遗传中基因突



变不同。首先，表观遗传学是逐渐积累的遗传过程而非突变的过程，而且表观遗传突变及其回复突变的频率也高于遗传中基因突变及其回复突变；第二，表观遗传变异往往是可逆的；第三，表观遗传改变多发生在非编码的启动子区，而遗传突变多发生在编码区等。遗传学和表观遗传学有共同的理论基础，即它们都主张遗传连续性和体质的不连续性（白丽荣等，2007）。在整个生命过程中，遗传学信息提供合成生命所必需的蛋白质结构模板，而表观遗传学则调控适当的一组表达基因及其表达的程度，即表观遗传学信息是提供何时、何地和怎样地应用遗传学信息的指令。在整个生命过程中，表观遗传学机制能对激素、生长因子等调节分子传递的环境信息作出反应，而不改变 DNA 序列。由此可见，遗传学和表观遗传学系统既相互区别又相互依存，共同确保细胞的正常功能。只有二者相互协同，生命过程才能正常进行，否则就会出现异常。表观遗传学把遗传和环境结合起来，由于表观遗传修饰具有潜在的遗传能力，这意味着环境可作为一种积极因素，通过表观遗传修饰作用于生物体，并遗传给后代，在进化的长河中，它也许是物种进化的动力之一。

三、表观遗传学的主要研究内容

真核基因的表达受细胞核内、外多种调节，包括遗传调控（genetic regulation）和表观遗传调控（epigenetic regulation）。遗传调控是指基因结构的改变会引起生物体表现型（phenotype）的改变，而这种改变可以从上代传到下代。主要包括基因转录、转录后加工、翻译以及翻译后修饰等环节，其中转录水平的调控是真核生物遗传信息传递过程中第一个具有高度选择性的环节。在遗传调控过程中，反式作用因子与顺式作用元件间的相互作用是构成基因表达调控网络的基础。表观遗传调控是指不涉及遗传物质核苷酸序列的改变，但可以通过有丝分裂和减数分裂实现代间遗传。它是真核基因组一种独特的调控机制，所以表观遗传调控又被称为以染色质为基础的基因表达调控。

现阶段较为公认的表现遗传的定义为：不依赖于 DNA 序列改变的可遗传的变异（Bonasio 等，2010）。这其中包含了三层含义：第一，可遗传的，即这类改变通过有丝分裂或减数分裂，能在细胞或个体世代间遗传；第二，可逆性的基因表达调节，也有较少的学者描述为基因活性或功能的改变；第三，没有 DNA 序列的变化或不能用序列变化来解释。这也是表观遗传区别于传统遗传的特点所在。而这类遗传信息以 DNA 甲基化、组蛋白翻译后修饰等形式来保存。近年来，表观遗传学已成为基因表达调控的研究热点之一。

目前，表观遗传学研究的具体内容主要分为两大类：基因选择性转录表达的调控和基因转录后的调控。前者主要研究作用于亲代的环境因素造成子代基因表达方式改变的原因，包括 DNA 甲基化（DNA methylation）、组蛋白共价修饰、

染色质重塑 (chromatin remodeling)、基因沉默 (gene silencing) 和 RNA 编辑 (RNA editing) 等; 后者主要研究 RNA 的调控机制, 包括基因组中非编码 RNA、微小 RNA (miRNA)、反义 RNA (antisense RNA)、核糖开关 (riboswitch) 等 (薛京伦等, 2006)。近年来研究较多的主要有 DNA 甲基化、染色质重塑、组蛋白共价修饰、非编码 RNA 调控等。

(一) 基因选择性转录表达调控

表观遗传学是指在基因的 DNA 序列没有发生改变的情况下, 基因功能发生可遗传的遗传信息变化, 并最终导致可遗传的表型变化, 而且这种改变在发育和细胞增殖过程中能稳定传递且具有可逆潜能。主要研究为什么作用于亲代的环境因素可以造成子代基因表达的改变。

1. DNA 甲基化

DNA 甲基化是表观遗传学的重要研究内容之一。DNA 甲基化现象广泛存在于真核生物基因组中, 是 DNA 的一种天然的修饰方式。人类染色体 CpG 二核苷酸是最主要的甲基化位点, 其作用是导致基因失活。一般来说, 高甲基化程度抑制基因的表达, 低甲基化促进基因表达。DNA 甲基化状态受多种酶的调节, 所以对调节 DNA 甲基化状态的酶的研究是非常有必要的。因此, DNA 甲基化有其重要的生物学意义。

2. 组蛋白共价修饰

组蛋白修饰是表观遗传修饰的另外一种重要方式。组蛋白是真核生物染色体的基本结构蛋白, 是一类小分子碱性蛋白质, 在进化上十分保守。组蛋白有两个活性末端: 羧基端和氨基端。羧基端与组蛋白分子间的相互作用和 DNA 缠绕有关, 而氨基端则与其他调节蛋白和 DNA 作用有关, 这类变化由乙酰化、磷酸化、甲基化等共价修饰引起, 由此构成多种多样的组蛋白密码。因此, 组蛋白共价修饰可能是更为精细的基因表达方式。目前研究较多的是组蛋白的甲基化和乙酰化。

(1) 组蛋白乙酰化 组蛋白乙酰化修饰是在组蛋白乙酰转移酶 (histone acetyltransferase, HAT) 和组蛋白去乙酰化酶 (histone deacetylase, HDAC) 的协调作用下进行的, 主要发生在组蛋白 N 端的赖氨酸。乙酰化修饰大多在组蛋白 H3 的 Lys9、14、18、23 和 H4 的 Lys5、8、12、16 等位点。例如, 干扰素- β 基因启动子附近组蛋白赖氨酸: 组蛋白 4 的 8 位赖氨酸 (H4K8)、组蛋白 3 的 9 位赖氨酸 (H3K9) 以及组蛋白 3 的 14 位赖氨酸 (H3K14) 的乙酰化。

(2) 组蛋白甲基化 组蛋白的甲基化修饰主要是在组蛋白甲基转移酶 (histone methyltransferase, HMT) 的作用下完成的, 主要发生在组蛋白的赖氨酸 (K) 和精氨酸 (R) 残基上 (Shi 等, 2007)。根据每一位点甲基化程度的不同,



赖氨酸残基能分别被单甲基化 (me1)、双甲基化 (me2, 对称或非对称) 和三甲基化 (me3), 精氨酸也可以是单甲基化或者双甲基化, 由精氨酸甲基转移酶 (protein arginine methyltransferase, PRMT) 催化完成。赖氨酸甲基化似乎是基因表达调控较为稳定的标记, 例如, H3K9 和 H3K27 的甲基化与基因沉默有关。相反, 精氨酸甲基化与基因激活先关, 而 H3 和 H4 中精氨酸的甲基化丢失与沉默基因相关。

(3) 其他组蛋白修饰方式 组蛋白氨基末端的多样性共价修饰, 除甲基化和乙酰化外, 还有泛素化、磷酸化和 ADP 核糖基化等。这些修饰可能通过两种机制影响染色质的结构与功能。首先, 这些修饰可以改变染色质的疏松或凝集状态; 其次, 通过招募其他调节蛋白参与 DNA 的加工过程。

3. 染色质重塑

染色质重塑 (chromatin remodeling) 是指染色质位置和结构的变化, 主要涉及核小体的置换或重新排列, 改变了核小体在基因启动序列区域的排列, 增加了基因转录装置和启动序列的可接近性。染色质重塑的发生和组蛋白 N 端尾巴修饰密切相关, 特别是对组蛋白 H3 和 H4 的修饰。修饰直接影响核小体的结构, 并为其他蛋白提供了和 DNA 作用的结合位点。染色质重塑主要包括两种类型: 一种是依赖 ATP 的物理修饰; 另一种是依赖共价结合反应的化学修饰。染色质重塑已经成为目前生物学中最重要和前沿的研究领域之一, 人们提出了与基因密码相对应的组蛋白密码来说明染色质重塑在基因表达调控中的作用。

(二) 基因转录后的调控

1. 基因组中非编码 RNA

非编码 RNA 主要来源于内含子和转录的基因间序列, 尽管不能被翻译成蛋白质, 但本身具有许多生理功能, 如在调节基因表达、基因转录、调整染色质结构、表观遗传记忆、RNA 选择性剪接以及蛋白质翻译中都发挥重要作用。按照非编码 RNA 的大小可分为长链非编码 RNA 和短链非编码 RNA。长链非编码 RNA 在基因簇以至于整个染色体水平发挥顺式调节作用; 短链 RNA 在基因组水平对基因表达进行调控, 其可介导 mRNA 的降解, 诱导染色质结构的改变, 决定着细胞的分化命运, 还对外源的核酸序列有降解作用, 以保护本身的基因组。

2. 微小 RNA

RNA (miRNA) 是一类小分子的、非编码基因。虽然目前已经从植物、线虫到人类的细胞中找到了 1500 个以上 miRNA, 并提出它们在细胞增殖、分化、代谢与死亡中发挥着重要的调节作用, 但是至今为止, 真正确认其功能的 miRNA 还是微乎其微。拟南芥叶的形态形成是受一种活性 RNA 的调节, 它不属于反应 RNA, 而是一种叫做 miRNA 的小分子 RNA。其能够自我折叠形成发

夹结构，通过 RNA 干扰 (RNAi) 或类似于 RNAi 的机制发挥其作用。

3. 反义 RNA

反义 RNA (antisense RNA) 最初发现于细菌中，它是一些较短的、散布的转录产物，本身缺乏编码能力，但能够与靶 mRNA 互补的 RNA 分子结合，从而阻抑基因的正常表达。近年来，人们不断发现原核生物和真核生物中自然存在的反义 RNA，这可能揭示另一个新的基因调控方式。反义 RNA 通过碱基配对，特异性地与 mRNA 结合，阻止 mRNA 的翻译，从而抑制细胞中内源性或外源性基因的表达。

4. 核糖开关

核糖开关 (riboswitch) 是 2002 年发现的 RNA 的特殊形式，充当 RNA 开关的作用。核糖开关可以在转录和翻译两个水平上调节基因表达，且均有抑制和激活两种方式。在细菌中有 7 种核糖开关分别调控维生素、氨基酸、核苷酸相关合成及转运的代谢基因的表达。其中 6 种核糖开关为抑制性，当存在相应代谢物时基因关闭；只发现 1 种激活性核糖开关，存在相应代谢物时，基因开始表达。

四、表观遗传学的研究技术

近年来，遗传学相关技术飞速发展，推动着基因组甚至整个生命科学的高速发展，出现了一系列新技术、新方法，包括基因靶标技术、全基因表达分析技术、蛋白激酶组学分析技术、生物信息学分析、细胞组学分析、基因组学研究、转录组学研究、蛋白组学研究、蛋白质谱分析技术、药物基因组学分析、高通量细胞荧光筛选技术以及高通量远红外细胞免疫筛选技术等现代的技术体系。表观遗传学是遗传学的研究领域，它的发展离不开遗传学研究的技术方法。目前，广泛用于表观遗传学研究的技术主要有表观基因组分析技术、表观遗传学生物信息学分析、DNA 甲基化分析技术、组蛋白修饰分析技术、染色质重塑分析、RNA 组学研究、基因表达谱分析技术、RNA 拼接图谱综合分析技术等专用技术和方法。

(一) DNA 甲基化的相关技术

随着 DNA 甲基化研究的深入，DNA 甲基化分析方法层出不穷，根据其原理的不同，主要可分为：依赖于甲基化敏感的限制性内切酶技术，依赖于重硫酸盐的甲基化分析方法等。

1. 依赖于甲基化敏感的限制性内切酶技术

(1) 限制性标记基因组扫描 (restrictive landmark genomic scanning, RLGS) 一些限制性内切酶的识别位点中含有 CpG 双核苷酸序列，它常常只能结合非甲基化的识别序列，而对发生甲基化的序列则没有结合活性。这样可以识

