

生命科学名著

[美] C.D. Allis  
[德] T. Jenuwein  
[美] D. Reinberg  
[美] M. Caparros  
朱冰 孙方霖 主译  
编著



# 表观遗传学

... Epigenetics ...



科学出版社  
www.sciencepress.com

生命科学导论系列

生命科学导论系列  
系列教材  
《Epigenetics》  
《表观遗传学》



# 表观遗传学

## Epigenetics

王颖 主编



生命科学名著

# 表观遗传学

## Epigenetics

〔美〕 C. D. Allis

〔德〕 T. Jenuwein 编著

〔美〕 D. Reinberg

〔美〕 M. Caparros

朱冰 孙方霖 主译

科学出版社

北京

图字：01-2008-2171 号

## 内 容 简 介

生命是一个复杂的过程，有很多的例外情况，许多最关键的现象往往不能用已有理论来解释。表观遗传学正是在这些例外的基础之上发展成型的。这些非 DNA 变化但可继承的现象与癌、衰老、动植物发育等热点问题密切相关，受到广泛关注。

本书是表观遗传学领域领军人物的扛鼎之作，是该领域第一本系统性、权威性论著，不仅涉及一线研究的方方面面，还用专门章节讲述了表观遗传学的发展历程。通过本书，读者可以对这门新兴热点学科有一个深入而完整的认识。

本书适宜于相关领域的研究人员参考之用，作为该领域的教学用书也是非常合适的。

Originally published in English as *Epigenetics* by David C. Allis, Thomas Jenuwein, Danny Reinberg, Marie-Laure Caparros © 2007 Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York, USA © 2009 Science Press. Printed in China.

Authorized Simplified Chinese translation of the English edition © 2007 Cold Spring Harbor Laboratory Press. Cold Spring Harbor Laboratory Press, the owner of all rights to publish and sell the same.

### 图书在版编目(CIP)数据

表观遗传学/ (美) Allis, C. D. 等编著; 朱冰, 孙方霖主译. —北京: 科学出版社, 2009

(生命科学名著)

ISBN 978-7-03-023806-1

I. 表… II. ①A…②朱…③孙… III. 发育遗传学 IV. Q344

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2008)第 207034 号

责任编辑: 李 晓/责任校对: 桂伟利

责任印制: 钱玉芬/封面设计: 陈 敬

科 学 出 版 社 出 版

北京东黄城根北街16号

邮政编码: 100717

<http://www.sciencep.com>

双 青 印 刷 厂 印 刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

\*

2009年7月第 一 版 开本: 787×1092 1/16

2009年7月第一次印刷 印张: 36 3/4

印数: 1—2 500 字数: 851 000

定价: 98.00 元 (含光盘)

(如有印装质量问题, 我社负责调换〈长虹〉)

## 《表观遗传学》译者名单

主 译：朱 冰（北京生命科学研究所） 孙方霖（清华大学）

翻译和校对人员：（按姓氏笔画排序）

马 奔 王大亮 王译莹 吕雯雯 朱慧君  
刘 岩 杨 鹏 李红艳 吴 慧 张 慧  
张道永 郑 泳 赵 磊 赵 璟 袁 文  
常建峰 谢精卫

## 译者序

对于科学家们来讲，无法被经典理论解释的“意外”现象总是颇具魅力。表观遗传学正是基于对种种“意外”的非孟德尔遗传现象的困惑发展而来。

众所周知，DNA 是生命的基本遗传物质，但“令人怦然心动的是，你可以继承的不仅仅只有 DNA 序列”还有“表观遗传信息”（James Watson 2003）。

在过去的二十多年里，科学家们对 DNA 和染色质的修饰与重塑、组蛋白变体及 RNA 等领域不断深入，使得表观遗传学渐成一派，从对若干非孟德尔现象的零星研究汇聚成了一个新兴的学科。表观遗传学与癌症、衰老、干细胞、克隆等研究的密切关系进一步吸引了许多其他学科的科学家和青年学生投入到对该领域的研究，因此，编写一本表观遗传学的教科书也就变得十分必要。2006 年，冷泉港实验室出版社邀请活跃于该前沿学科的三位著名学者 David Allis、Thomas Jenuwein、Danny Reinberg 组织了数十位相关领域的专家，系统编撰了这本涵盖表观遗传学历史、现状和展望的教科书。科学出版社的编辑同志和笔者也希望借此中文版更好地将这门学科介绍给国内的青年学生和其他领域的科学家。

值得指出的是，传统上，我们将“inheritance”及“genetics”均翻译为“遗传”。而表观遗传学研究结果表明，细胞和个体可“继承”的不仅有传统的“遗传”信息，还有“表观遗传”信息。为避免混淆，笔者在本书中将“inheritance”统译为“继承”，这也突出了本学科的宗旨。

笔者及实验室成员承担了本书主体的翻译任务，初稿经审校后再由科学出版社的编辑人员进一步编校成书。我们在此向所有参与本书翻译、校对的人员表示深深的谢意。

由于笔者水平有限，本书难免会有误译之处，欢迎读者批评指正。

朱 冰（北京生命科学研究所）

孙方霖（清华大学）

## 前 言

《表观遗传学》是许多才华横溢的同事们的创作结晶，他们的共同努力使本书得以成稿并让这个编撰过程成为一个富有意义的人生经历。编者毫不犹豫地向往在伦敦的 Marie-Laure Caparros 女士致以最高的谢意，没有她的帮助，本书不可能得以最终出版。在本书编撰过程的早期，编者认识到需要有人协调这一庞大的工作。尤其是需要有专人与 40 多名作者保持沟通、反馈意见，并让作者们认识到我们需要的不仅仅是他们的专业论述和细致工作。Marie-Laure 激励着大家保持创作的动力，勇敢地提出必要的批评意见，提醒着大家保持进度，维持着工作的一致性，使得各章节从雏形发展成终稿。没有她，本书将不可能变为现实。我们也对各自的助手表示感谢，他们是：Elizabeth Conley (David Allis)、Christopher Robinson (Thomas Jenuwein) 和 Shelli Altman (Danny Reinberg)，是他们使我们的工作井井有条，他们是本书的幕后英雄。我们对他们大大小小、不计其数的贡献表示感谢；也感谢他们对我们每个人古怪的工作方式和作为编者的各种缺点所抱有的无尽的耐心。

2004 年夏天，在成功的第 69 届冷泉港“表观遗传学”会议的鸡尾酒会上我们完成了本书雏形的讨论。本书是由冷泉港实验室出版社通过 Alex Gann 等同事在 2003 年初委托撰写的，由 David Allis、Thomas Jenuwein 和 Danny Reinberg 组织了编者队伍。本书最初的轮廓，包括章节与作者的选择，形成于 2003 年 6 月在美国科罗拉多州 Snowmass 召开的 FASEB “染色质与转录”会议的野餐会上。此后我们非常幸运地获得了各领域学术带头专家撰写各个章节的承诺。

在早期策划阶段，我们产生了一个新的思路。我们的每一章节均邀请两位专家撰写，试图为染色质生物学的学生和其他领域的同事提供一整套概述性的介绍，突出那些重要的发现，而非堆砌一些可能很快就会过时的综述。我们希望本书能通过保持一个概述性的框架，而拥有更长久的影响力。此外，通过加入大量的图表和附录，我们希望能尽可能多地列出已知的研究系统和表观遗传标志。每一章前都有一个对本章进行概括的独立成文的摘要，章前也设置了相关图片以吸引读者阅读。

本书的另一重要特点是插图，第 3 章尤其具代表性。Marie-Laure Caparros 和 Jenuwein 实验室 (IMP, 维也纳) 的博士生 Stefan Kubicek 是创作这些图表的大师。他们对各章节中的图，有些甚至从草图开始，进行了一稿又一稿的润饰，让我们能获得更为一致的表述。来自各个作者实验室的数位博士后和博士生 (Gabriella Farkas、Fatima Santos、Heike Wöhrmann 等) 也为本书贡献了出色的图片。然而，我们并未能将所有图表加以修改。我们还要特别感谢 Allis、Jenuwein 和 Reinberg 实验室的 Monika Lachner、Mario Richter、Roopsha Sengupta、Patrick Trojer 等博士生和博士后对附录表格和摘要的修改、校对和定稿。Steven Gray 博士 (St. James 医院，都柏林) 对确认及补充目前所有已知组蛋白修饰的列表给予了极大的帮助。

完成的章节也进行了同行评阅，这些重要的点评使得本书更加流畅并澄清了一些复杂的概念。虽然并非所有的点评都被采纳，但确实对许多章节的形成和全书的整体构架有所帮助。为此，我们对 G. Almouzni、P. Becker、H. Cedar、V. Chandler、W. Dean、R. Feil、A. Ferguson-Smith、M. Gartenberg、S. Grewal、M. Hampsey、E. Heard、R. Metzberg、V. Pirrotta、F. Santos、T. Schedl、D. Solter、R. Sternglanz、S. Tilghman 等表示深深的感谢。

最后，我们感谢所有作者为本书所贡献的智慧和激情。他们所付出的努力只要看到写就的章节和图表就不言而喻。然而，他们还有着看不见的贡献——他们与编者队伍交流、反馈，引导本书最终成型。概述与概念一章就充分反映了这项贡献，因为在初稿中我们有着太多的个人偏好色彩。我们感谢他们的智慧，使得本书达到更高的境界和平衡。如仍有错误和不足，则完全归因于我们。

本书由冷泉港实验室出版社（纽约）、表观基因组 FP6 NoE 计划（欧盟）、IMP（维也纳）、洛克菲勒大学（纽约）和霍华德-休斯医学院/罗伯特-伍德-强生医学院（Piscataway，新泽西）提供资助。此外，表观遗传学领域试剂和工具的两个领导厂商 Upstate（Lake Placid，纽约）和 AbCam（剑桥，英国）也提供了重要的赞助。

C. D. Allis  
T. Jenuwein  
D. Reinberg



# 目 录

译者序

前言

第 1 章	表观遗传学：从现象到领域	1
第 2 章	表观遗传学发展简史	17
第 3 章	概述与概念	27
第 4 章	酿酒酵母的表观遗传学	75
第 5 章	果蝇位置效应花斑、异染色质形成和基因沉默	97
第 6 章	表观遗传学研究的真菌模型：裂殖酵母和链孢霉	121
第 7 章	纤毛动物的表观遗传学	151
第 8 章	RNAi 和异染色质组装	179
第 9 章	植物的表观遗传调控	199
第 10 章	染色质修饰及其作用机理	227
第 11 章	Polycomb 蛋白家族调控的转录沉默	251
第 12 章	三胸蛋白家族 (trxG) 与转录调控	275
第 13 章	组蛋白变体和表观遗传学	295
第 14 章	染色体遗传的表观遗传学调控	315
第 15 章	秀丽隐杆线虫 X 染色体的表观遗传学调控	345
第 16 章	果蝇中的剂量补偿效应	363
第 17 章	哺乳动物中的剂量补偿效应	379
第 18 章	哺乳动物的 DNA 甲基化	405
第 19 章	哺乳动物基因组印记	423
第 20 章	生殖细胞系和多能干细胞	445
第 21 章	淋巴细胞生成的表观遗传学调控	467
第 22 章	核移植和基因组重编程	489
第 23 章	表观遗传学和人类疾病	513
第 24 章	癌症的表观遗传决定因素	539
附录 A	网络资源	561
附录 B	组蛋白修饰	563
附录 C	不同模式生物中的表观遗传机制	570
附录 D	组蛋白修饰的 <i>Brno</i> 命名法	571
索引		572

# 第 1 章

## 表观遗传学：从现象到领域

Daniel E. Gottschling

*Fred Hutchinson Cancer Research Center, Seattle, Washington 98109*

### 本章目录

- |                   |         |
|-------------------|---------|
| 1. 引言             | 3.4 朊粒  |
| 2. 冷泉港会议中的表观遗传学简史 | 3.5 新现象 |
| 3. 第 69 届会议       | 4. 结束语  |
| 3.1 组蛋白密码假说       | 致谢      |
| 3.2 动态的沉默染色质      | 参考文献    |
| 3.3 细胞核的构造        |         |

## 1. 引言

2004年夏,本书的许多作者出席了以“表观遗传学”为主题的第69届冷泉港定量生物学会会议。作为这次会议的亲历者,我深信这是一次有趣的会议。会议简单地起始于试图对“表观遗传学”作一定义。经过一周的争论,大家意识到这就像是试图给“家庭价值观”下定义一样,每个人都知道它意味着什么,然而每个人又对它有着不同的理解。David Haig对“表观遗传学”这一词起源的论述也许部分地解释了为何大家对它有着不同的理解。该词在20世纪的生物学文献中有两个不同的起源,而其含义至今仍在持续演化。Waddington在对“基因型决定表型”过程中的“偶然性机制”研究中最先使用了这一名词。此后,Nanney用这一名词来解释为何具有相同基因型的细胞可以有不同的表型,且这一现象可以持续许多代。

我将表观遗传学现象定义为“非DNA突变引起的可继承的表型变化”。而且这一表型变化必须是开关型的,即“开”或“关”,而非程度上的变化。此外,这一改变必须可继承,即便最初引起这一改变的因素已经消失。这样,我认为表观遗传学现象包含以下事件:lambda噬菌体在裂解型(lysis)和溶原型(lysogeny)间的转变(Ptashne 2004),尿路致病性大肠杆菌的菌毛(pili)形态转变(Hernday et al. 2003),果蝇的位置效应花斑(position-effect variegation)现象(Henikoff 1990),四膜虫可继承的外皮层模式转变(Frankel 1990),朊粒疾病(Wickner et al. 2004a)和X染色体失活(Lyon 1993)。

第69届会议的召开恰逢冷泉港实验室开展遗传学研究100周年,以表观遗传学为主题非常适时。鉴于其历史背景,我想通过对早先冷泉港会议的回顾来解释表观遗传学非常合适。虽然第69届会议才第一次以表观遗传学为主题,但表观遗传学研究的内容在这一优秀的会议历史中均有涉及。我将回顾的历史因我个人了解的不周和偏好多有不足。若想要有更完整并严谨地描述,我推荐阅读过去五年来发表的有关表观遗传学的上千篇综述。

通过以下编年史,我希望能表达一种感觉,来阐明这众多的看上去相距甚远的现象是怎样汇聚成一个影响整个生物学研究的领域的。那就是,表观遗传学建立于对解释各种意外现象的尝试,这一点也许比所有其他生物学研究领域都更加鲜明。

## 2. 冷泉港会议中的表观遗传学简史

早在1941年第9次冷泉港会议上,著名的果蝇遗传学家H. J. Muller讲述了他最先报道的对“eversporting displacement”现象的研究进展。先前他用此术语描绘染色体大片段重排后,位于断点附近的基因在个体上出现的嵌合表达现象。在那次会议中,他正式将此现象称为“位置效应花斑”(position effect variegation, PEV)。现在已经很清楚这一现象是因为受影响的基因插入到了“异染色质相邻区域”,从而导致该“常染色质区段”被不同程度地部分“异染色质化”。然而,额外拷贝的异染色质染色体会导

致那些受到影响的基因在功能上趋于正常，这个现象在当时颇为费解，现在我们已经知道这其实是由于它消耗了有限的异染色质组成成分。

1951年，在第16次冷泉港会议上，对基因这一概念的充分理解占据了最重要的位置。所以虽然更多的PEV实例被发现，但对此现象的理解却进展寥寥。然而，会议开幕致词点出PEV会是未来的一个令人振奋的研究领域（Goldschmidt 1951）。Barbara McClintock指出染色体位置效应是玉米“可突变基因座”（mutable loci）差异性的原因，并推测她所观察到的玉米突变能力的可变性与果蝇的PEV现象可能有着相同的根源（McClintock 1951）。

到第21届冷泉港会议时，McClintock关于其“控制元件”（controlling elements）的观点得到了发展（McClintock 1956）。其中有两点与表观遗传学有着明显的联系。在*Spm*控制元件体系中，她发现了一些变种能够让反式因子“抑制”（suppress）某个基因（指减弱或消除其表型），而不是突变该基因。她还指出有些控制元件不但能抑制其插入的基因座，还能抑制与其插入位点两侧有一定距离的基因。其他科学家也讨论了这一“蔓延”现象。J. Schultz则论述了对异染色质含有量不同的果蝇的生化 and 生理分析（Schultz 1956）。虽然这一工作非常初步，结论也有限，但它是对异染色质结构进行剖析的早期尝试的代表，也体现了这一任务的艰巨性。

第23届冷泉港会议上的两个发言对于我们今天的会议来说是里程碑式的。首先，R. A. Brink描述了他对玉米*R*基因座副突变（paramutation）的惊人发现。 $R^{st}$ 和 $R^r$ 纯合子有着不同的表型，然而 $R^{st}/R^r$ 杂合子自交产生的 $R^r$ 纯合子却具有 $R^{st}$ 表型，尽管其并不含有 $R^{st}$ 等位基因（Brink 1958）。但是这一表型却不稳定，会在后代中回复成 $R^r$ 表型。他将这一现象直观地称为副突变，表明这一现象不同于突变，却有相似之处。而后，D. L. Nanney花了大量的时间来阐述“遗传与表观遗传的概念和作用区别”。简言之，他将表观遗传学赋予了不同于Waddington最初提出时的意义。他认为这对于解释其在四膜虫中发现的亲本细胞质能对子代的接合型产生影响是必需的。他的定义同样也适用于其他研究，包括Brink在*R*基因座的工作和McClintock于第21届冷泉港会议上提及的工作。

Mary Lyon早先提出的雌性哺乳动物X染色体失活假说（Lyon 1961）在第29届冷泉港会议上引起了众多关注。S. Gartler、E. Beutler和W. E. Nance提出了更多的证据来支持这一假说（Beutler 1964；Gartler and Linder 1964；Nance 1964）。Beutler综述了X染色体连锁基因在女性中出现嵌合体表型的多个例证，支持了X染色体随机失活的本质。通过对X染色体连锁基因产物细致的定量分析，Nance推断出X染色体失活发生于胚胎发育的32细胞期之前。

以“染色体结构和功能”为主题的第38届冷泉港会议代表了对真核生物染色体研究的回潮。先前由于在原核与噬菌体系统中的研究产生了重大进展，细菌基因表达主导了蓬勃发展的分子生物学。然而，真核生物染色质（DNA及其组蛋白和非组蛋白）开始得到关注，但是染色质是否在染色体结构、功能还是两者上都具有意义仍不清楚（Swift 1974）。不过，若干研究组开始推测染色质蛋白（包括组蛋白）的翻译后修饰与基因转录或染色体整体结构相关（Allfrey et al. 1974；Louie et al. 1974；Weintraub

1974)。当时关于表观遗传与染色质的相关性只有一丝淡淡的痕迹。由于 McClintock 的控制元件在基因组中重复存在, DNA 重复序列曾经被认为是真核生物多数基因的调控者。然而, 有报道表明大多数重复序列与基因无关 (Peacock et al. 1974; Rudkin and Tartof 1974)。由于这些报道, 重复元件调节基因表达的学说失去了多数与会者的支持。更重要的是, 同样是这些研究, 发现了大多数重复序列存在于异染色质。

第 42 届冷泉港会议表明, 在短短四年中, 数量惊人的技术和思想革新彻底改观了对真核生物染色体的研究 (Chambon 1978)。这包括限制性内切核酸酶的应用、DNA 重组技术的发展、蛋白质和核酸提取的简化、Southern 和 Northern 杂交的使用、DNA 和 RNA 测序的快速化和染色体免疫荧光技术的使用。核小体的概念被提出、mRNA 剪接被发现, 染色质结构, 特别是转录活跃区和转录沉默区的生化与细胞学差异, 占据了此次会议的中心。然而, 与表观遗传最直接相关的是, H. Weintraub 及其同事论述了染色质是如何参与基因表达花斑现象的观点 (Weintraub et al. 1978)。

第 45 届冷泉港会议是对 Barbara McClintock 发现“可移动遗传元件”的庆典 (Yarmolinsky 1981)。细菌转座子机制研究取得的巨大进展, 几乎占据了一半的发言, 而其他人士则报道了转座或受调控的基因组重排现象不仅在玉米中发生, 还存在于各种真核生物中 (如果蝇、金鱼草、锥体虫、子囊菌和酵母)。在这样的背景下, 所有观察到的基因表达花斑现象都被归因于转座。对“控制元件负责大多数基因调控”观点 (Campbell 1981) 的认真考问更是出现了沉默, 这甚至使某些科学家提出“控制元件的唯一功能是提供遗传可变性”的观点。而异染色质在位置效应花斑现象中的作用受到了质疑。对表观遗传学研究, 最值得一提的讨论可能是对酿酒酵母中“沉默交配匣” (silent mating cassette) 的深入了解 (Haber et al. 1981; Klar et al. 1981; Nasmyth et al. 1981; Rine et al. 1981)。

到第 47 届时, 人们对脊椎动物逐渐形成了一个普遍认识, 即转录活跃基因的 DNA CpG 甲基化水平低于沉默基因。然而, 该现象存在例外, 会上也论述的更细致的分析表明启动子区特定区域的甲基化更为重要 (Cedar et al. 1983; Doerfler et al. 1983; La Volpe et al. 1983)。基于细菌限制/修饰体系的研究, DNA 甲基化被认为可以阻止重要调节因子的结合。此外, 在脊椎动物中 DNA 的甲基化模式能在有丝分裂中被继承。这引出了一个假说, 即 DNA 甲基化可能在发育过程中细胞分裂时作为一种转录活性的“记忆”形式 (Shapiro and Mohandas 1983)。另一项主要的表观遗传发现是鉴定出了酿酒酵母“沉默交配匣”两侧的 DNA 序列, 其存在导致了盒内基因的转录抑制。这是首个被鉴定的参与染色体位置效应的 DNA 序列 (Abraham et al. 1983)。

第 50 届会议的主题是“发育的分子生物学”, 会上也涵盖了一些重要的进展。被一致认同的最激动人心的进展之一是基本的分子特性在进化上是保守的。例如, 人的 RAS 在酿酒酵母中也可以起作用, 同源异型盒蛋白在果蝇和人之间是保守的 (Rubin 1985)。对染色体印记研究的新尝试开始于小鼠核移植技术的发展 (Solter et al. 1985)。这些研究显示, 新受精卵的父源和母源基因组中存在有标识其亲本来源性的信息; 重要的不仅仅是 DNA, 还包括染色体上所含的有关它们亲本来源的额外信息, 这种信息为胚胎成功发育所必需。基因的差异性表达依赖于染色体的亲本来源的现象可能揭示了部

分答案 (Cattanach and Kirk 1985)。

还有一系列的研究意在弄清双胸复合体 (bithorax complex) 的调节机制。值得一提的是, E. B. Lewis 特别强调了已知的调节该基因座的反式因子都有令人好奇的共性, 即它们几乎全部是该基因座的阻遏因子 (Lewis 1985)。因而, 在多次细胞分裂过程中维持一个基因的沉默状态, 是正常发育所必需的。这与当时的主流想法正相反, 即认为基因的活化/诱导是发育过程调控的关键。

DNA 转化和插入突变技术此前在一些物种中取得了进展。其中一项特别有创造性并与表观遗传相关的应用是在果蝇中构建一个含有白眼基因的 *P* 元件 (*P* element) 转座子并插入整个基因组 (Rubin et al. 1985)。这在果蝇全基因组范围寻找 PEV 发生位点提供了一种方法。

此外, 在果蝇 (Belote et al. 1985; Maine et al. 1985) 和线虫 (Hodgkin et al. 1985; Wood et al. 1985) 中出现了分析性别决定和性染色体剂量补偿效应的首个遗传学手段也是这次会议的亮点。

第 58 届会议突出了对沃森和克里克发现的 40 周年纪念。纪念的部分内容是众多表观遗传现象的聚会: 一些新现象被鉴定, 一些现象开始了分子水平分析, 一些系统也已取得了足够的进展来提出假说并加以验证。

在锥形虫 (trypanosome) 中, 位于端粒附近的可变表面抗原基因 (variable surface antigen gene, *VSG*) 家族大都沉默, 每一时间段只有一个 *VSG* 表达。尽管这一物种未显示含有甲基化 DNA, 有研究报道沉默的 *VSG* 基因含有一种新的稀有碱基:  $\beta$ -D-葡萄糖羟甲基尿嘧啶 (Borst et al. 1993)。这一碱基在 DNA 中替代了胸腺嘧啶。很容易得出这与其他物种中胞嘧啶甲基化的相似之处: 这两种修饰都对维持基因沉默具重要性。但这一碱基如何被导入 DNA, 或者它怎样被赋予这一作用尚不清楚。

对脊椎动物表观遗传现象的研究也取得了进展, 这包括染色体印记和 X 染色体失活 (Ariel et al. 1993; Li et al. 1993; Tilghman et al. 1993; Willard et al. 1993)。到这次会议时, 已清楚地知道哺乳动物中很多染色体位点有印记, 在二倍体细胞中只有一个等位基因表达, 且表达依赖于其亲本来源。*Igf2-H19* 位点特别有趣, 因为它含有两个相邻但调控方式相反基因。源自父系染色体的 *Igf2* 表达而母源的被抑制, *H19* 则是父源的被抑制而母源的表达。更有趣的是, 在父系染色体这两个基因的上游观察到可甲基化的 CpG。有假说认为差异性甲基化调控着两个基因与相邻增强子的结合。该增强子更接近 *H19*, 且紧邻于其下游 (Tilghman et al. 1993)。因此设想这两个基因排他性地竞争与增强子的结合; 当 *H19* 被甲基化时, 自由增强子可以激活相对更远距离的 *Igf2* 基因。DNA 甲基化在此过程中起调控角色的证据来自于小鼠的研究。在 ES 细胞中将首个编码 5-甲基胞嘧啶 DNA 甲基转移酶的基因突变显示, 在胚胎发育过程中, 父源的 *H19* 低甲基化且该基因活跃转录 (Li et al. 1993)。

对<sup>5Me</sup>CpG 如何起调节作用的一个重要发现是第一个<sup>5Me</sup>CpG DNA 结合复合体 (MeCP1) 被纯化出来 (Bird 1993)。MeCP1 不仅结合 DNA, 而且当与一个报告基因上游序列结合时, MeCP1 导致该基因被阻遏。尽管这并不能解释 *Igf2-H19* 位点的调控, 但它确实提供了一个潜在机制来说明 DNA 甲基化与基因阻遏之间的普遍相关性。

多年来,遗传定位研究发现人类 X 染色体的一段对 X 染色体失活具关键作用。对 X 染色体失活中心的分子克隆研究导致 *Xist* 基因的发现 (Willard et al. 1993),一段约 17 kb 的非编码 RNA 只在失活的 X 染色体表达。小鼠的 *Xist* 基因与人的在结构和序列上具有令人惊奇的同源性,这提供了一个优秀的模式系统,用以剖析该 RNA 通过何种途径实现对大部分 X 染色体的抑制。

链孢霉中有两项值得注意的发现 (Selker et al. 1993)。首先,胞嘧啶 DNA 甲基化的发生并不局限于 CpG 双核苷酸处,它似乎发生在任何 DNA 序列中。第二项发现则是对重复序列诱导的点突变 (Repeat induced point mutation, RIP) 现象令人惊奇的描述。当在单倍体基因组中发生 DNA 序列倍增时(连锁的或非连锁的),该序列就会发生重复序列诱导的突变,并可经接合作用通过生殖周期传递到子代。在此过程中有两个事件发生:一是倍增 DNA 序列两个拷贝同时发生 G:C→A:T 的突变,二是重复序列诱导的点突变 (RIP) 的序列附近的数百个碱基对内发生 DNA 甲基化。这种对基因组的双重攻击极为高效——约 50% 的非连锁位点发生重复序列诱导的点突变 (RIP),而紧密连锁位点的发生概率近 100%——从而轻易地破坏其基因功能。

当果蝇中的 *brown* 基因易位至异染色质附近时,表现出显性 PEV;易位的拷贝能抑制野生型拷贝的表达。在寻找这一反式失活现象的增强因子和抑制因子的过程中,Henikoff 发现,位于异染色质附近的基因倍增增加了对正常基因拷贝的抑制水平 (Martin-Morris et al. 1993)。尽管这一现象的机制还不清楚,人们猜想该现象可能与链孢霉的 RIP 相似,但前者在没有 DNA 甲基化的情形下发生,因为甲基化不存在于果蝇中。

Paul Schedl 阐述了染色体“边界元件”(boundary element)的概念 (Vazquez et al. 1993)。第一个被发现的边界元件位于果蝇一热激位点的蓬松(puff)区域两侧,其发现归因其不寻常的染色质结构:一段约 300bp 核酸酶不敏感的核心区,而其两侧均为核酸酶高敏感位点。这些元件被推测能在染色体上划分染色质区域。有两项体内实验支持该假说:①当边界元件位于报告基因两侧时,这些元件能有效消除报告基因随机插入基因组时常见的染色体位置效应;②边界元件的界定也含有其对增强子的抑制作用。当边界元件被插至某基因的启动子和增强子之间时,该基因的表达被抑制。在其他物种中,边界元件的概念虽然还未被清晰地定义,但也在发展,尤其是哺乳动物的珠蛋白位点 (Clark et al. 1993)。

酿酒酵母为研究染色质相关的表观遗传学现象的发生机制提供了良好的系统。沉默交配位点的沉默子被证明是一些 DNA 结合蛋白的识别位点。其结合的效应表现出环境依赖性,如 Rap1 蛋白不仅对基因沉默有重要作用,也结合于一系列基因的上游以激活转录 (综述见 Laurenson and Rine 1992)。

多年来,在 DNA 复制和基因组的转录静止区域之间建立了很多联系。失活的 X 染色体、异染色质和沉默的印记位点在 S 期的复制均晚于基因组中的转录活跃区。此外,沉默交配位点的基因沉默的建立需要经过 S 期,表明沉默的染色质必须由新复制的 DNA 来构建。这就使得以下发现变得非常有趣——沉默子是 DNA 复制的起始位点,且其起始活性与沉默功能不可分割 (Fox et al. 1993)。并且,在近期被发现的复制起

始识别复合物 (origin recognition complex, ORC) 的突变体中, 它表现出沉默缺陷 (Bell et al. 1993; Fox et al. 1993)。

研究发现酿酒酵母端粒与果蝇中的相似, 表现出 PEV, 为仔细研究异染色质结构及其对基因表达的影响提供了另一视角。插至端粒附近的报告基因导致同一菌落的表达混杂性。阻遏状态所依赖的很多基因 (*SIR2*、*SIR3*、*SIR4*) 与沉默交配位点基因沉默所必需的基因相一致。对沉默染色质结构以及花斑效应的调控的一些重要方面已经被阐述。值得一提的是, 异染色质在细胞学上被定义为致密化的染色质, 但酿酒酵母的沉默染色质从未观察到此现象, 不过, 因其有与果蝇相似的 PEV 现象, 我们倾向于认为酵母的沉默染色质是异染色质的等价物 (Weintraub 1993)。

通过对酵母的研究, 一系列基本概念开始成形。首先, 组蛋白 H3 和 H4 的重要性变得清晰。特别是组蛋白 H3 和 H4 的 N 端尾巴与沉默的异染色质的形成直接相关 (Thompson et al. 1993)。这些组蛋白尾端的特定突变体能消除沉默或使沉默不完全, 从而引出这样一种看法, 即认为尾部残基的净电荷与尾部的某些特定残基均作用于基因沉默。另外, 早期的染色质免疫沉淀 (ChIP) 显示, 位于组蛋白 H4 氨基末端尾部的赖氨酸, 与基因组其他部分相比, 在沉默染色质区域表现为低乙酰化。而且, 其中一个组蛋白突变体说明 H4 K16 (能被乙酰化), 对沉默染色质的形成有关键作用。

端粒为研究 Sir 蛋白调控基因沉默提供了一个最简单的系统。招募沉默蛋白 (recruiting silencing protein) 的概念得以发展。简言之, 通过酵母双杂交方法, 发现端粒结合蛋白 Rap1 与 Sir3 和 Sir4 有相互作用 (Palladino et al. 1993)。因而, Rap1 能“招募”这些 Sir 蛋白到基因组的端粒区。有证据显示, Sir3 和 Sir4 能相互结合, 而且最重要的是, Sir3 (可能还有 Sir4) 与组蛋白 H3 和 H4 的尾端有相互作用 (Thompson et al. 1993)。此外, 过表达 Sir3 会导致其从端粒沿染色质纤维向内“蔓延”, 说明 Sir3 是沉默染色质的限制性成分并能沿染色质发生“多聚化” (Renauld et al. 1993)。总而言之, 可能存在一个对于基因沉默具有重要意义的大型相互作用网络: 由于其与蛋白 Rap1 的相互作用, Sir 蛋白开始在端粒 DNA 处的装配, 而后可能借助与组蛋白 H3 和 H4 尾端的结合, 从端粒处沿染色质纤维多聚化。

端粒表达花斑性中的转录状态的转换, 可能是基因表达沉默和活跃间竞争的结果 (Aparicio and Gottschling 1994; Weintraub 1993)。如果一个端粒位置的基因的转录激活因子缺失, 该基因的本底转录机制就不足以表达而使该基因发生组成型沉默。反之, 转录激活因子的过表达导致端粒位置的基因组成型表达, 即该基因永不沉默。在缺失 *SIR3* (或 *SIR2* 或 *SIR4*) 的情况下, 本底基因表达足够高, 但若增加 *SIR3* 的量, 则会相应增加沉默细胞的比例。尽管通过细胞周期, 转录激活因子能压制基因沉默, 当细胞处于 S 期尤为有效, 该时期正是染色质被复制的阶段, 因此对竞争最为敏感。有些出人意料的是, 处于  $G_2/M$  期的细胞也很容易转换, 表明沉默染色质在此时尚未完全被装配。

酵母的沉默染色质表现出对核酸酶和 DNA 修饰酶的抗性, 说明与基因组其他部分相比, 其所含 DNA 更不易被接近 (Thompson et al. 1993)。

看起来在酵母基因组中存在着不同等级的沉默: 端粒最易被干扰, *HML* 次之,



*HMR* 则最不敏感。事实上, 当 *SIR1* 基因被突变后, 正常情况下完全沉默的 *HM* 位点表现出表达的花斑性 (Pillus and Rine 1989)。

最后 *Sir3* 和 *Sir4* 定位于细胞核边缘区域, 而端粒也是在此。有假设认为细胞核的构成使得核边缘为沉默提供了一个特殊环境 (Palladino et al. 1993)。

裂殖酵母也含有沉默交配匣, 据推测与酿酒酵母沉默交配匣的效果类似。不过, 裂殖酵母接合型转变的故事多了一点波折。在一系列精巧实验中, Amar Klar 提出了在细胞中某个“标记”是如何在 DNA 的一条链上留下印记的构想 (Klar and Bonaduce 1993)。当双链断裂促使接合型发生转变时, 经过两次细胞分裂, 该标记存在于四个孙细胞中的一个。裂殖酵母并没有任何已知的 DNA 修饰 (甲基化等), 因此推测是一种不同类型的印记留存于 DNA 链上。

第 59 次大会的主题是“肿瘤分子遗传学”。肿瘤抑制基因的构想成立以后, 肿瘤形成中表观遗传调控的概念得以发展。已有一些研究支持该观念, 但一有趣的变化发生于研究 Beckwith-Wiedemann 症和 Wilms 肿瘤患者的过程中。两种患者的突变被定位于一含有印记的 *H19-IGF2* 基因的位点。Feinberg 等在受影响的患者中发现了这些基因的“印记丢失” (loss of imprinting) 现象: 母源位点丢失其印记, *H19* 被抑制而 *IGF2* 得以表达。因此, 原则上在基因组其他部位也可以发生 LOI 现象, 可能导致肿瘤形成中的重要基因出现双等位基因同时表达和 (或) 表达抑制。

到主题为“转录机制”的 63 次大会前的数年间, 对一些表观遗传现象分子层面的理解取得了一些重要进展。发现了组蛋白的修饰酶, 准确说是组蛋白乙酰化酶和去乙酰化酶。其中一些酶在基因表达调控中扮演重要角色。这为研究直接影响 PEV 和沉默的基因产物提供了一条途径。这些发现在这次大会上露出了冰山一角 (Losick 1998)。对酵母中沉默蛋白 *Sir3* 和 *Sir4* 的精细研究显示了它们之间相互作用的多价性, 也揭示了所有 *Sir* 蛋白、组蛋白以及各种 DNA 结合因子之间的相互作用网络是如何装配沉默染色质的。此外, 各种不同位点 (端粒、*rDNA*、*HM* 位点、双链断裂点) 怎样竞争有限的 *Sir* 蛋白的细节也得以揭示。削弱某一特定位点招募沉默因子的能力, 在其他位点的 *Sir* 蛋白水平得到提高 (Cockell et al. 1998)。这为某一位点的沉默会影响其他位点的表观遗传沉默且受浓度作用的影响的观点提供了直接证据, 该观点最初来源于对果蝇 PEV 的研究, 此前一直未得到验证 (Locke et al. 1988)。

另一项发现则解释了 DNA 甲基化是怎样借助染色质来调控基因表达的。这来自对 MeCP2 蛋白复合物的鉴别, MeCP2 能结合甲基化的 DNA 和组蛋白去乙酰化酶 (Wade et al. 1998)。甲基化的 DNA 可能招募去乙酰化酶至某位点, 从而促进相邻基因的沉默。

边界元件的概念被从果蝇延伸到哺乳动物。来自  $\beta$  珠蛋白位点的直接证据表明, 在后生动物 (也可能在所有真核生物) 中, 染色质边界元件确实都保守存在 (Bell et al. 1998)。

主题为“免疫系统中信号传导和基因表达”的第 64 次会议提供了单等位基因表达如何发生, 及其发生可能比原先想象的更为广泛分布的证据。淋巴细胞中免疫球蛋白位点的单等位基因表达已经被观察到了相当一段时间, 该现象保证每一个淋巴细胞只产生