

玉米新着丝粒形成及其表观遗传学

刘亚林^{1,2}, 苏汉东^{1,2}, 韩方普¹

1. 中国科学院遗传与发育生物学研究所, 植物细胞与染色体工程国家重点实验室, 北京 100101;
2. 中国科学院大学, 北京 100049

着丝粒是染色体的重要组成部分, 功能保守, 在细胞分裂过程中确保染色体准确分离。在着丝粒区域的核小体中, 有一类组蛋白 H3 的变异体, 在植物中称为 CENH3, 在动物中称为 CENP-A; 同时植物中含有在第 133 位苏氨酸发生磷酸化的组蛋白 H2A, 这两类组蛋白是活性着丝粒的表观遗传学标记。着丝粒区域的 DNA 序列经历了高度的进化。除了酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)单个核小体构成功能着丝粒, 其他物种中着丝粒包含大量重复序列, DNA 序列复杂多变, 核心区域的核小体排布方式尚不明确, 在这些复杂的着丝粒中 CENH3 核小体的定位不是由特定 DNA 序列决定的。在不同物种中还发现了大量新着丝粒(在染色体上非着丝粒区域形成功能着丝粒)及双着丝粒(原有着丝粒失去活性, 由染色体上另一个活性着丝粒行使功能)。着丝粒形成有表观遗传学因素参与调控, 那么在着丝粒形成过程中 DNA 序列有什么作用, 是否存在核心 DNA 元件或特定的 DNA 排布引导 CENH3 核小体定位, 又有哪些表观遗传学修饰参与着丝粒形成? 中国科学院遗传与发育生物学研究所韩方普研究员多年来利用玉米(*Zea mays*)中各种着丝粒变异材料研究着丝粒形成及其表观遗传学, 并在着丝粒形成和功能研究方面取得了重要进展。

玉米着丝粒有大量重复序列, 包括反转座子序列 CRM(Centromeric retrotransposon of maize)和简单重复序列 CentC。玉米有 10 对 A 染色体, 还有一类额外染色体称为 B 染色体, B 着丝粒有特异的 B-repeat 重复序列, 在花药第二次有丝分裂中 B 着丝粒不分离。B 染色体与 A 染色体之间可以发生易位形成双着丝粒染色体, 在细胞分裂过程中发生着丝粒错分裂、不分离以及染色体断裂融合, 产生大量着丝粒变异的染色体类型。通过电离辐射将成熟



刘亚林(博士研究生)



苏汉东(博士研究生)

花粉的染色体打断并将其授与正常受体, 也可以产生着丝粒变异。本研究组通过这些不同途径的着丝粒变异发现大量新着丝粒材料并对其进行深入研究。

早期, 遗传学家 Stadler 利用射线辐照在玉米中发现一条可以在细胞分裂中稳定传递的小染色体名为 Dp3a。本研究组通过 FISH(Fluorescent *in situ* hybridization)验证发现 Dp3a 上丢失了着丝粒重复序列 CentC 和 CRM, 但是有正常的 CENH3 和 H2A-pThr133 信号; 利用 ChIP-seq 技术(Chromatin immunoprecipitation-sequencing)使用 CENH3 抗体, 发现位于 3 号染色体长臂端部 350 kb 的常染色体序列参与了 Dp3a 新着丝粒形成, 这个着丝粒远远小于正常着丝粒的大小, 并且有 11 个基因存在于 CENH3 紧密结合区域, 有利于进一步研究着丝粒结构与形成, 这一结果已于 2013 年 3 月 25 日在线发表于 *Proc Natl Acad Sci USA* (DOI:10.1073/pnas.1303944110)。

在早期研究中, 本研究组韩方普研究员在玉米 B-A 易位染色体中发现大量双着丝粒染色体, 在细胞分裂中经历染色体内重组, 失活着丝粒可以恢复活性 (*Plant Cell*, 2009)。本研究组发现小染色体 sDic15 中恢复活性的 B 着丝粒完全丢失 CentC 并丢失大部分 CRM 和 B-repeat 序列, 同时着丝粒区域有正常的 CENH3 信号。通过 ChIP-seq 发现来自 9 号染色体短臂靠近着丝粒的 723 kp DNA 序列参与了 sDic15 中新着丝粒形成, 这段 723 kp 区域的 DNA 甲基化水平在形成新着丝粒之前就已经达到与正常着丝粒相同的水平, 在形成新着丝粒之后维持同样的水平, 并且新着丝粒区域内的基因可以转录。进一步研究发现, 在新着丝粒和正常着丝粒区域都富

集 DNA motif, 说明 723 kb 结构与正常着丝粒有高度相似性, 这一结果于 2013 年 6 月 14 日在线发表于 *Plant Cell* (DOI:1105/tpc.113.110015)。

在近期研究中, 本研究组在玉米 B 着丝粒错分裂的材料中发现一系列新着丝粒形成。其中小染色体 derivative3-3 及其后代衍生材料完全丢失 CentC 和 CRM。Derivative3-3 中的 B-repeat 序列并不参与新着丝粒形成, 而是由来自 9 号染色体短臂端部 288 kb 的基因组 DNA 序列参与。在后代变异的小染色体中,

这个新形成的 288 kb 着丝粒失去活性, 由染色体上其他序列结合 CENH3 核小体形成功能着丝粒, 失活着丝粒依然保留其 DNA 痕迹(图 1)。说明新形成的 288 kb 着丝粒还不稳定, 在一定条件下容易被染色体其他部位所代替, 而一个着丝粒只有足够稳定才能抑制染色体上其他潜在形成着丝粒的位点。这一体系为将来分析着丝粒结构与功能之间的关系提供了特殊的材料。这一结果于 2015 年 3 月 2 日在线发表于 *Proc Natl Acad Sci USA* (DOI:10.1073/pnas.1418248112)。

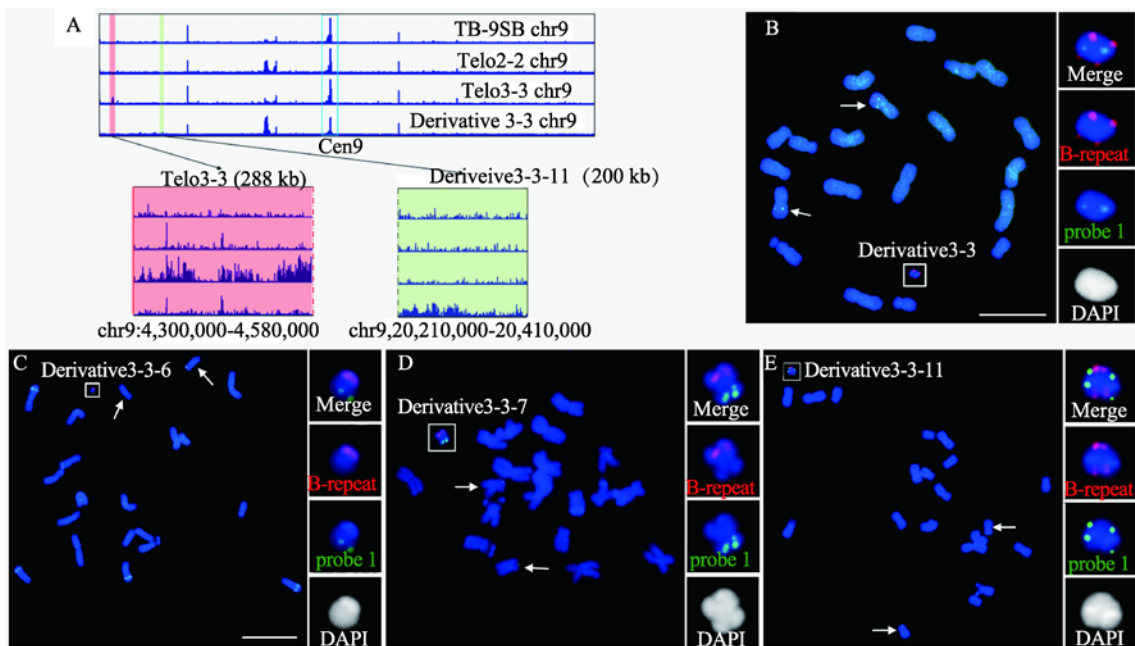


图 1 Derivative3-3 新着丝粒形成但在后代中失去活性

A: Derivative3-3 及其后代 3-3-11 的新着丝粒分别采用 9 号短臂 288 kb 和 200 kb DNA 序列; B: 根据 288 kb 序列设计的探针 probe1 位于 derivative3-3 着丝粒区; C: 代表 derivative3-3 着丝粒的 probe1 位于后代 derivative3-3-6 染色体的臂上而非着丝粒区域; D: 代表 derivative3-3 着丝粒的 probe1 位于后代 derivative3-3-7 染色体的臂上而非着丝粒区域; E: 代表 derivative3-3 着丝粒的 probe1 位于后代 derivative3-3-11 染色体的臂上而非着丝粒区域。