

谢文浩, 李成章, 俞瑜. 拟南芥 H3K27 甲基转移酶 CLF 响应环境温度和参与温度形态建成研究 [J]. 华南农业大学学报, 2023, 44(5): 818-826.
XIE Wenhao, LI Chengzhang, YU Yu. Study of *Arabidopsis* H3K27 methyltransferase CLF responding to ambient temperature and involving in temperature morphogenesis[J]. Journal of South China Agricultural University, 2023, 44(5): 818-826.

拟南芥 H3K27 甲基转移酶 CLF 响应环境温度和参与温度形态建成研究

谢文浩✉, 李成章, 俞瑜✉

(复旦大学生命科学学院/遗传工程国家重点实验室, 上海 200438)

摘要:【目的】探索拟南芥 H3K27 甲基转移酶 CURLY LEAF (CLF) 在温度形态建成中的作用。【方法】在不同温度条件 (22 和 16 °C) 下, 对拟南芥 *Arabidopsis* 野生型 Col-0 和突变体 *clf-29* 进行表型分析和转录组分析, 筛选差异表达基因。【结果】在不同温度条件下, *clf-29* 表现出显著的表型差异, 相较于 22 °C, 16 °C 时 *clf-29* 和 Col-0 的表型差异更小。转录组分析发现 CLF 的缺失会导致大量基因表达差异, 并将其分为 4 种类型 (仅在 Col-0 显著上调、下调, 仅在 *clf-29* 突变体显著上调、下调), 包含 96 个温度响应基因。【结论】拟南芥表观遗传调控因子 CLF 响应环境温度, 并参与温度形态建成。

关键词: 拟南芥; 甲基转移酶; H3K27me3; 温度形态建成

中图分类号: Q522; Q945

文献标志码: A

文章编号: 1001-411X(2023)05-0818-09

Study of *Arabidopsis* H3K27 methyltransferase CLF responding to ambient temperature and involving in temperature morphogenesis

XIE Wenhao✉, LI Chengzhang, YU Yu✉

(School of Life Sciences/State Key Laboratory of Genetic Engineering, Fudan University, Shanghai 200438, China)

Abstract: 【Objective】To explore the role of *Arabidopsis* H3K27 methyltransferase CURLY LEAF (CLF) in temperature morphogenesis. 【Method】The differentially expressed genes were screened by phenotypic analysis and transcriptome analysis of *Arabidopsis* wild type Col-0 and mutant *clf-29* under different temperatures of 22 and 16 °C. 【Result】*clf-29* showed significant phenotypic differences under different temperatures, there was less difference between *clf-29* and Col-0 at 16 °C than at 22 °C. Transcriptome analysis found that deletion of CLF led to expression changes of a large number of genes, which were divided into four types (significantly up-regulated/down-regulated only in Col-0, significantly up-regulated/down-regulated only in *clf-29* mutant), containing 96 temperature responsive genes. 【Conclusion】*Arabidopsis* epigenetic regulator CLF responds to ambient temperature and is involved in temperature morphogenesis.

Key words: *Arabidopsis*; Methyltransferase; H3K27me3; Temperature morphogenesis

收稿日期: 2023-03-30 网络首发时间: 2023-08-11 17:43:11

首发网址: <https://link.cnki.net/urlid/44.1110.S.20230811.1535.002>

作者简介: 谢文浩, 硕士研究生, 主要从事植物表观遗传学研究, E-mail: 20210700089@fudan.edu.cn; 通信作者: 俞瑜, 副教授, 博士, 主要从事植物表观遗传学研究, E-mail: yuy@fudan.edu.cn

基金项目: 国家自然科学基金 (31930017)

植物固着生长在不断变化的环境中,不能通过移动来规避周围不良环境,需要根据环境灵活地调整自身生长状况进行应对。植物通过多种复杂的机制感知各种环境因素,并做出相应的反应,已经确定多种转录因子、转运蛋白等分子成分参与植物的胁迫响应^[1-2]。在响应环境变化时,植物可以通过染色质结构的变化(包括 DNA 甲基化、组蛋白修饰、组蛋白变体、染色质重塑、非编码 RNA 等)来调控不同的生物学进程,从而适应外界环境的变化^[3-4]。

H3K27me3 是一种重要的组蛋白修饰,是一种抑制性的表观遗传标记,由 Polycomb repressive complex 2(PRC2)复合物催化建立^[5]。PRC2 属于多梳家族蛋白(Polycomb group, PcG),PcG 在表观遗传的调控方面起重要的作用,其最先在果蝇中被发现,参与许多重要的细胞活动和发育过程,具体包括干细胞多能性和可塑性、基因组印迹、X 染色体失活等多种表观遗传过程^[6-8]。在果蝇中 PRC2 的核心组分是一个含有 SET 结构域的甲基转移酶 E[z](Enhancer of zeste),具有催化 H3K27me3 建立的活性^[5]。

PRC2 在果蝇、哺乳动物和植物中高度保守^[9],拟南芥中存在和果蝇 PRC2 复合物核心亚基高度相似的蛋白,其中 CURLY LEAF(CLF)、MEDEA (MEA)、SWINGER(SWN)是 E[z] 的同源蛋白^[10-12]。在拟南芥生长发育过程中 PRC2 对调控基因的表达至关重要,涉及从种子萌发到胚形成的整个生命周期^[13]。CLF 和 SWN 主要在营养期起作用,而 MEA 主要在生殖期起作用^[9,13]。

拟南芥中 CLF 蛋白是 PRC2 蛋白复合物的重要组分,是 H3K27me3 甲基转移酶,CLF 的突变会使 H3K27me3 的水平降低^[14]。CLF 影响植物叶片、花序、种子和根的发育,具体表现为: *clf* 突变体叶片窄小而卷曲,叶片的细胞伸长长度和细胞数量显著减少^[10,15];萼片弯曲不足,不能包裹花蕾,导致早花表型,在短日照条件下开花时间比野生型早约 3 周,在长日照条件下开花时间比野生型早约 2 d^[10];种子更大,含油量更高^[16-17];主根长度伸长,侧根的数目增加^[18]。CLF 影响拟南芥生长发育过程的多个方面,调控植物的多种性状。

温度是控制植物生长发育、分布和季节行为的关键因素,植物的整个生命周期都受到环境温度的影响,植物通过优化生长发育,不断适应自然季节温度的变化^[19]。植物对温度非常敏感,甚至能感知到 1 °C 的温差^[20]。极端高温和低温都会对拟南芥的生长造成胁迫,导致生长缓慢、形态异常、种子产

量降低^[21]。在温和高温条件下,拟南芥表现出早花、下胚轴伸长、叶柄伸长、叶片变薄等性状^[22];而在温和低温条件下,拟南芥表现出晚花、下胚轴变短等表型^[20,23]。本研究通过在不同温度条件(16、22 °C)下,对野生型与 *clf-29* 突变体进行表型分析和差异表达基因分析,探索拟南芥表观遗传调控因子 CLF 在响应环境温度和温度形态建成中的作用。

1 材料与方法

1.1 供试材料与引物设计

本研究使用的拟南芥植株为哥伦比亚(Col-0)生态型,其中 *clf-29*(SALK_021003)为 T-DNA 插入突变体,鉴定突变体和 RT-qPCR 验证所需的引物见表 1。

表 1 本研究用到的引物
Table 1 Primers used in this study

用途 Usage	名称 Name	序列 Sequence
基因型 Genotyping	<i>clf-29</i> -BP	5'-ATTTTGCCGATTCGGAAC-3'
	<i>clf-29</i> -LP	5'-AAGAAACTTGCTAGTTCGCC-3'
	<i>clf-29</i> -RP	5'-GAGGCATTGACTTTGATTTGC-3'
RT-qPCR	<i>SUS1</i> -F	5'-GGCTAGGCTTGATCGTGTC-3'
	<i>SUS1</i> -R	5'-GATCCACCTGAACTGACCGT-3'
	<i>LHCA1</i> -F	5'-CAGTCCCGTGGGGTACTTTG-3'
	<i>LHCA1</i> -R	5'-GCCGCCGTTCTTGATCTC-3'
	<i>BIL</i> -F	5'-AATCTCCGATGGACCGTTGA-3'
	<i>BIL</i> -R	5'-AGAGCTTCTTAGCTCGCCG-3'
	<i>DIN10</i> -F	5'-CGCTTCTGATCTTGAAATCGC-3'
	<i>DIN10</i> -R	5'-ACACCGTTAGAATCGTCCG-3'
	<i>ACTIN 2</i> -F	5'-AGTGTTAGCTGCTGCCGCTGT-3'
	<i>ACTIN 2</i> -R	5'-ACCAGCAAACCAGCCTCACCA-3'

1.2 拟南芥生长条件和表型观察

拟南芥种子先用 75%(φ) 乙醇溶液消毒 12 min,再用 95%(φ) 乙醇溶液继续消毒 10 min 后,在 4 °C 冰箱避光放置 2 d,然后在 22 或 16 °C 长日照(16 h 光:8 h 暗)条件下生长。22 °C 条件下,取用生长 18 d 的植株拍摄表型;16 °C 条件下,取用生长 36 d 的植株拍摄表型。

1.3 RNA-seq 文库构建

取 0.1~0.2 g 植物材料迅速用液氮预冷,于研钵中研磨成粉末后使用植物总 RNA 提取试剂盒(Tiangen Biotech, Beijing, China)进行 RNA 提取,每个样品 3 次重复。链特异性 RNA-seq 文库的构

建参照 KAPA stranded mRNA-seq kit(Illumina® Platforms, KR0960-v5.17) 进行。构建好的文库进行琼脂糖凝胶电泳, 选取 250~500 bp 的片段进行回收纯化。文库送到上海逆耳生物科技有限公司用 Illumina Hiseq 6000 测序仪测序, 测序模式为双端 150 bp。

1.4 RNA-seq 数据分析

使用 cutadapt(v3.5) 去除接头和测序质量低于 Q_{20} 的碱基^[24], 再用 HISAT2(v2.1.0) 将筛选后的 reads 比对到拟南芥基因组 (tair10)^[25], 通过 SAMtools(v1.9) 筛选出高比对质量的 reads 进行后续分析^[26]。每个基因的 reads 数目通过 featureCounts(v1.6.2) 进行计算^[27], 并使用 R 包 DESeq2(v1.34.0) 以 $|\log_2(\text{Fold change, FC})| \geq \log_2 1.5$ 和 $P < 0.05$ 的条件鉴定差异基因^[28]。此外使用 deeptools(v3.5.1) 的 bamCoverage 工具将 reads 进行标准化处理生成 bigwig 文件^[29], 并使用 IGV(v2.11.2) 进行可视化^[30]。分析基因的 GO 功能注释时使用了 R 包 clusterProfiler(v4.2.2)^[31]。

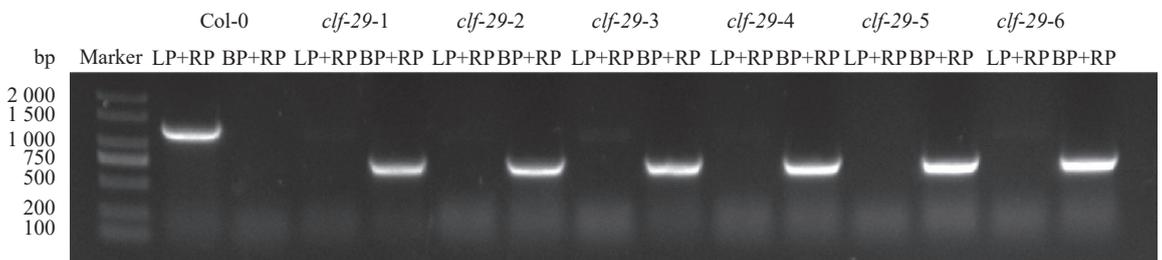
1.5 RT-qPCR

取 0.1~0.2 g 植物材料迅速用液氮预冷, 于研钵中研磨成粉末后使用 TRIzol(Invitrogen, 15596026) 进行 RNA 提取, 每个样品 3 次重复。利用反转录试剂盒 (TaKaRa, RR047A) 将提取的 RNA 反转录成 cDNA, 之后利用设计好的引物 (表 1) 进行 RT-qPCR, 以 *ACTIN 2* 作为内参基因, 根据 3 次生物学重复计算平均值和标准差。

2 结果与分析

2.1 *clf-29* 突变体在不同温度条件下的表型分析

我们分别在 22 和 16 °C 条件下种植拟南芥 Col-0 和 *clf-29* 突变体, 使用三引物法对 T-DNA 插入材料进行鉴定, PCR 结果显示, *clf-29* 仅在 T-DNA 边界引物+右侧基因组引物 (BP+RP) 组合中才出现特异性条带, 并且未出现 Col-0 中左侧基因组引物+右侧基因组引物 (LP+RP) 组合的特异性条带 (图 1), 说明所用植物材料为纯合突变体。



LP: 左侧基因组引物, RP: 右侧基因组引物; BP: T-DNA 边界引物
LP: Left genomic primer, RP: Right genomic primer, BP: T-DNA border primer

图 1 Col-0 和 *clf-29* 基因型鉴定

Fig. 1 Genotype identification of Col-0 and *clf-29*

16 °C 条件下, *clf-29* 突变体植株比 Col-0 稍小, 但整体差异不大, 叶片正常伸展, 略小; 而在 22 °C 条件下, *clf-29* 突变体与 Col-0 差异明显, 植株更小, 叶片卷曲而且显著减小 (图 2、3a)。无论在 22 °C 还是 16 °C, 相比 Col-0, *clf-29* 突变体都表现为抽苔时间提前和莲座叶数目减少, 在 16 和 22 °C 条件下, 抽苔时间分别提前 6 和 3 d, 叶片数目分别减少 4 和 1 片 (图 3b、3c)。 *clf-29* 突变体在不同温度条件下的形态差异, 说明 CLF 参与叶片形态、植株大小等发育进程, 暗示 CLF 参与调控了拟南芥的温度形态建成。

2.2 RNA-seq 数据的获取和处理

为了更深刻及全面地了解温度对 *clf-29* 突变体形态建成的调控机制, 我们进行了高通量 RNA-seq 测序分析。使用在 22 °C 培养箱生长 18 d 和在

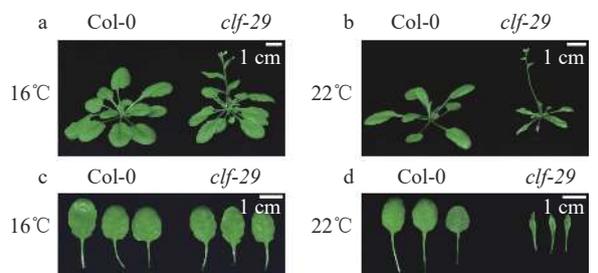


图 2 Col-0 和 *clf-29* 植株 (a、b) 和叶片 (c、d) 表型展示
Fig. 2 Phenotypic display of plant (a, b) and leaf (c, d) for Col-0 and *clf-29*

16 °C 培养箱生长 36 d 的整株植物材料进行取样、建库、测序, 每个样品各有 3 次重复。筛选出碱基质量高的 reads 比对到拟南芥基因组, 保留仅比对到染色质且比对质量较高的 reads 进行后续分析。结果显示, 所有样品的原始 Reads 都在 2 000 万条

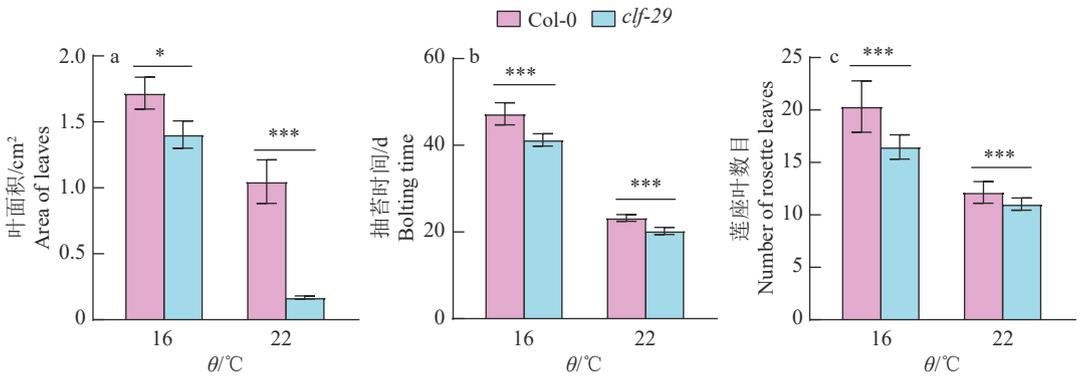


图 a 统计的叶片数量为 3 片, 图 b、c 统计的植株数量为 25 株; “*” 和 “***” 分别表示 Col-0 和 *clf-29* 在 $P < 0.05$ 和 $P < 0.001$ 水平差异显著 (t 检验)

The number of leaves counted in figure a is 3, the number of plants counted in figure b, c is 25; “*” and “***” indicate significant differences at $P < 0.05$ and $P < 0.001$ levels between Col-0 and *clf-29* respectively (t test)

图 3 Col-0 和 *clf-29* 在不同温度条件的表型统计

Fig. 3 Phenotypic statistics of Col-0 and *clf-29* at different temperatures

以上, 比对率都在 97% 以上, 表明所建的 RNA-seq 文库的数据质量较高 (表 2)。为确定样品材料无误, 查看了 *CLF* 基因的转录水平, 在 *clf-29* 突变体中, *CLF* 的表达量显著下降, 而其邻近基因

AT2G23370 的表达量未受影响, 说明试验材料是正确无误的 (图 4a)。此外转录组数据之间的相关性显示, 每个样品的 3 次重复各自聚在一起, 数据有良好的重复性 (图 4b)。

表 2 RNA-seq 数据统计¹⁾

Table 2 Statistical analyses of RNA-seq data

$\theta/^\circ\text{C}$	样品 Sample	N_{raw}	N_{trim}	$\eta_{\text{trim}}/\%$	N_{map}	$\eta_{\text{map}}/\%$	N_{filter}	$\eta_{\text{filter}}/\%$
22	Col-0-1	37 244 778	37 224 204	99.94	36 546 723	98.18	32 101 104	87.84
	Col-0-2	22 235 624	22 206 546	99.87	21 582 542	97.19	19 117 943	88.58
	Col-0-3	33 187 892	33 167 450	99.94	32 477 567	97.92	22 820 849	70.27
	<i>clf-29</i> -1	34 956 528	34 928 744	99.92	34 052 033	97.49	30 609 312	89.89
	<i>clf-29</i> -2	32 170 570	32 138 512	99.90	31 122 935	96.84	27 113 262	87.12
	<i>clf-29</i> -3	33 342 874	33 311 222	99.91	32 488 435	97.53	29 058 947	89.44
16	Col-0-1	22 773 106	22 750 524	99.90	22 163 560	97.42	20 064 343	90.53
	Col-0-2	28 556 576	28 521 012	99.88	27 642 565	96.92	24 617 366	89.06
	Col-0-3	29 554 426	29 506 424	99.84	28 694 997	97.25	26 892 274	93.72
	<i>clf-29</i> -1	31 924 456	31 886 896	99.88	30 662 439	96.16	28 160 281	91.84
	<i>clf-29</i> -2	34 539 696	34 510 886	99.92	33 692 978	97.63	29 642 353	87.98
	<i>clf-29</i> -3	30 517 278	30 473 504	99.86	29 717 761	97.52	25 571 998	86.05

1) N_{raw} : 原始测序的reads数目; N_{trim} , η_{trim} : 除去低质量碱基后的reads数目和对应的比例; N_{map} , η_{map} : 比对到拟南芥基因组的reads数目和对应的比例; N_{filter} , η_{filter} : 比对到拟南芥染色体上且高比对质量的reads数目和对应的比例

1) N_{raw} : The number of raw reads; N_{trim} , η_{trim} : The number and corresponding proportion of reads after removing the low quality bases; N_{map} , η_{map} : The number and corresponding proportion of reads that aligned on *Arabidopsi* genome; N_{filter} , η_{filter} : The number and corresponding proportion of reads that aligned on *Arabidopsi* with high quality

2.3 差异表达基因的筛选

为了探究温度对 CLF 的影响, 以 $|\log_2\text{FC}| \geq \log_2 1.5$ 和 $P < 0.05$ 为筛选条件, 对转录组数据进行差异基因分析。我们鉴定到了 Col-0、*clf-29* 各自在

16 °C 相较于 22 °C 的差异基因, 其中 Col-0 表达上调和下调的基因分别有 2 284 和 1 628 个, *clf-29* 突变体分别是 2 345 和 2 077 个 (图 5a、5b), Col-0 和 *clf-29* 在响应温度变化时改变的基因数目相近。我

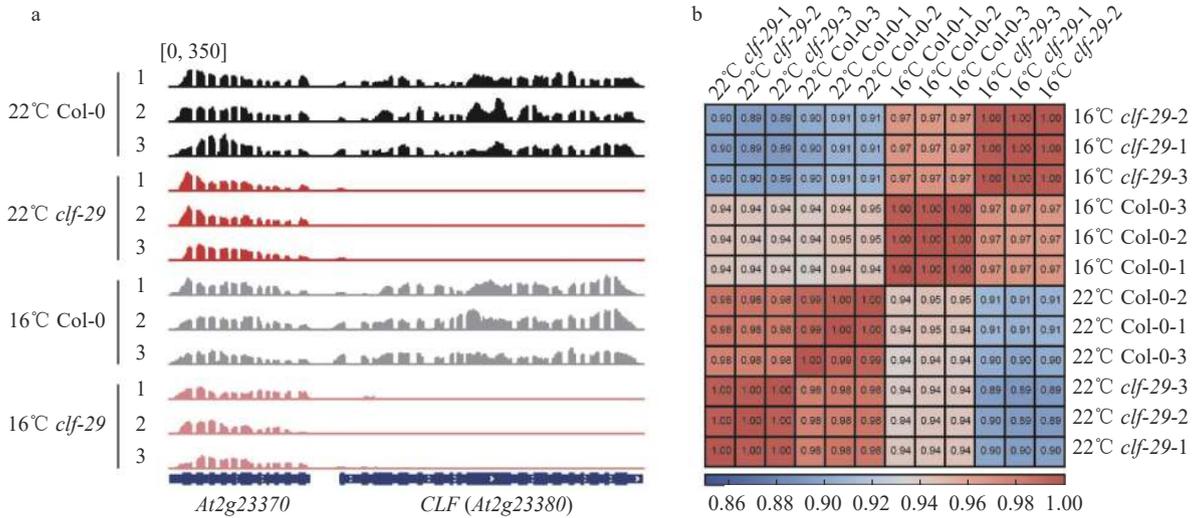
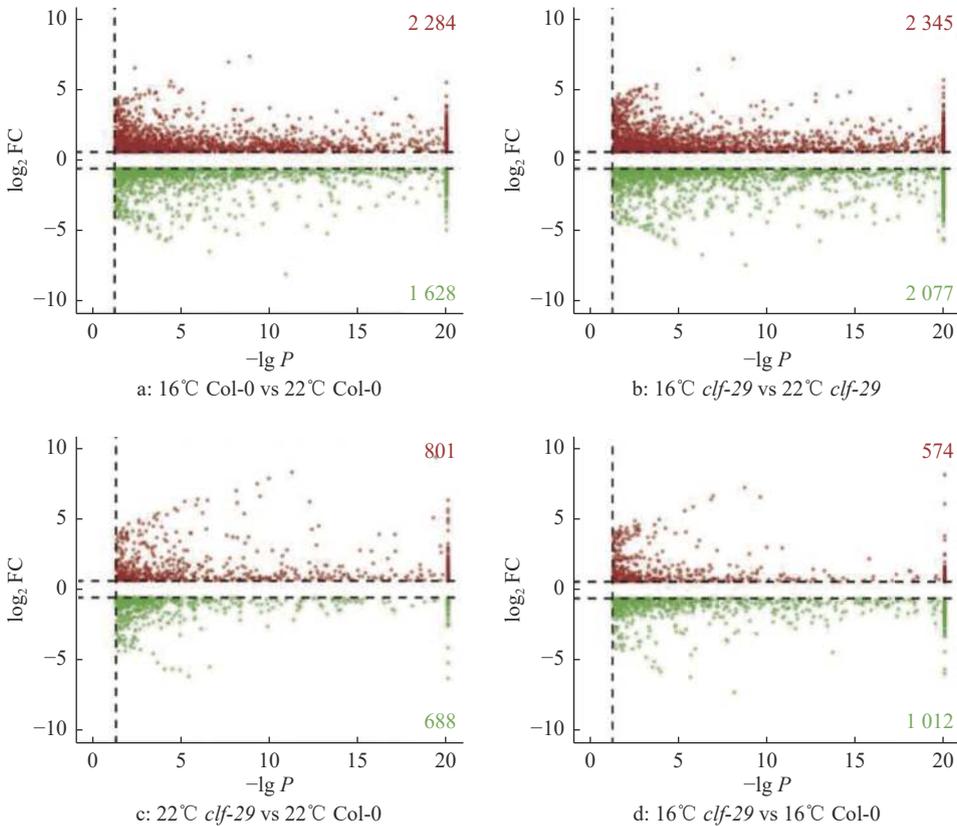


图 4 RNA-seq 数据的准确性 (a) 和相关性分析 (b)

Fig. 4 Accuracy (a) and correlation analyses (b) of RNA-seq data

图 5 不同温度条件下 Col-0 和 *clf-29* 的差异表达基因Fig. 5 Differentially expressed genes of Col-0 and *clf-29* at different temperatures

他们还鉴定到了相比于 Col-0, *clf-29* 突变体分别在 22 和 16 °C 的差异基因, 22 °C 条件下 *clf-29* 突变体相比野生型上调 801 个基因、下调 688 个基因, 而在 16 °C 条件下 *clf-29* 突变体相比野生型上调 574 个基因、下调 1 012 个基因 (图 5c、5d), 说明 CLF 的缺失会导致大量基因异常表达。

将 Col-0 在 16、22 °C 的差异基因和 *clf-29* 在 16、22 °C 的差异基因做交集。结果发现, 对于上调

基因, 两者的交集是 1 326 个基因, 仅在 Col-0 的是 958 个基因, 仅在 *clf-29* 的是 1 019 个基因; 对于下调基因, 两者的交集是 919 个基因, 仅在 Col-0 的是 709 个基因, 仅在 *clf-29* 的是 1 158 个基因 (图 6a、6b)。在不同温度条件下, Col-0 和 *clf-29* 有很多基因是共同改变的 (图 7), 而那些仅在 Col-0 或者仅在 *clf-29* 变化的基因更为重要。我们对这些基因进行 GO 富集分析, 发现仅在 Col-0 上调的基因更多

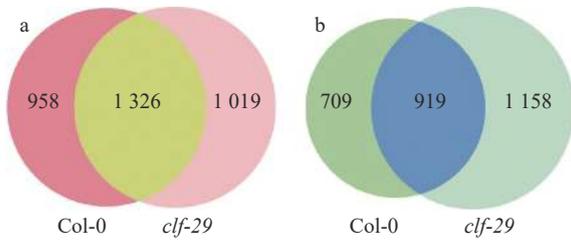


图 6 相比于 22 °C, 16 °C 条件下 Col-0 和 *clf-29* 的差异上调 (a) 和差异下调 (b) 基因的交集

Fig. 6 Intersection of differentially up-regulated (a) and down-regulated (b) genes at 16 °C compared to 22 °C

地富集在环境响应、物质转运等途径 (图 8a); 仅在 *clf-29* 上调的基因主要富集在响应刺激、激素运输、细胞壁生长等途径 (图 8b); 仅在 Col-0 下调的基因富集在物质合成、物质代谢等途径 (图 8c); 仅在 *clf-29* 下调的基因富集在刺激响应、合成代谢调控等途径 (图 8d)。

2.4 温度响应基因的改变

温度的变化造成了 *clf-29* 突变体的不同表型, 因此我们找到了上述 4 类差异表达基因 (图 6), 相

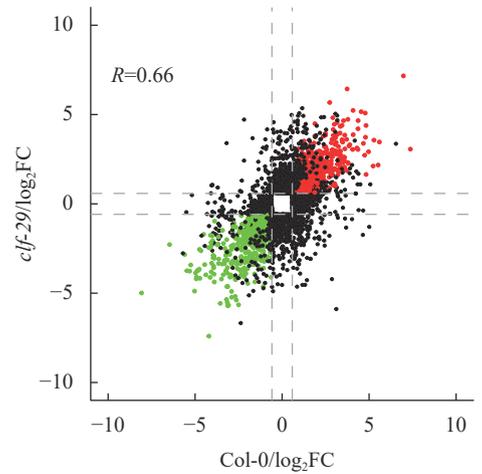


图 7 相比于 22 °C, 16 °C 条件下 Col-0 和 *clf-29* 差异表达基因的相关性

Fig. 7 Correlation of differentially expressed genes between Col-0 and *clf-29* at 16 °C compared to 22 °C

比于 22 °C, 在 16 °C 条件下在 Col-0 显著上调而在 *clf-29* 中未显著上调的, 称之为 Col-0 上调, 同样得到了 *clf-29* 上调、Col-0 下调、*clf-29* 下调, 通过 GO 注释在这 4 类基因中寻找与温度响应相关的基

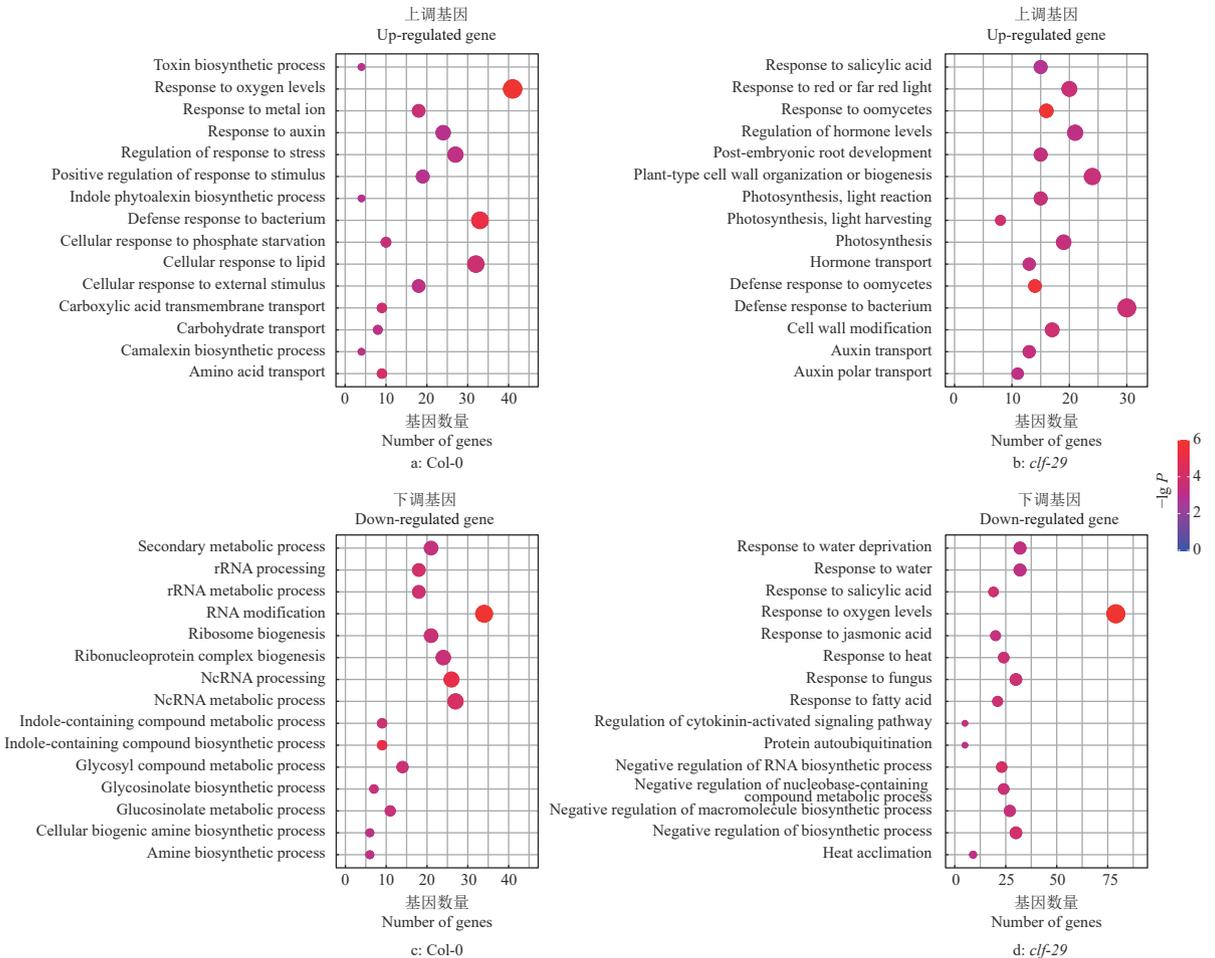


图 8 相比于 22 °C, 16 °C 条件下 Col-0 和 *clf-29* 各自差异表达基因的 GO 分析

Fig. 8 GO analyses of differentially expressed genes in Col-0 and *clf-29* respectively at 16 °C compared to 22 °C

因进行分析。有 19 个基因仅在 Col-0 上调表达, 有 14 个基因仅在 *clf-29* 上调表达 (图 9a); 仅在 Col-0 下调的是 26 个基因, 仅在 *clf-29* 下调的是 37 个基因 (图 9b)。在这 4 类基因中各选取特定基因 *SUCROSE SYNTHASE 1(SUS1)*、*PHOTOSYSTEM I LIGHT HARVESTING COMPLEX GENE 1(LHCA1)*、*BYPASS1-LIKE(BIL)*、*DARK INDUCIBLE 10(DIN10)* 进行 RT-qPCR 验证 (材料情况与构建 RNA-seq 文库一致), 相比于 *clf-29*, *SUS1* 在 Col-0 上调更加显著, 与之类似, *LHCA1* 在 *clf-29* 上调更

加显著, *BIL* 在 Col-0、*DIN10* 在 *clf-29* 的下调程度更高 (图 10), 这与热图结果基本一致。Col-0 材料在 12 °C 处理 1、3、5、10 h 后 *LHCA1* 表达量上升, 处理 24 h 后表达量下降^[32], 我们的结果与短时间处理一致; Col-0 材料在 4 °C 处理 1、3、6、12 h 后 *BIL* 表达量上升^[33], 处理 24 h 后表达量下降, 我们的结果与处理 24 h 一致。我们的结果与其他已发表文章结果的差异, 可能是处理温度与处理时间都存在差别而共同导致的。综上, CLF 的缺失造成了大量温度响应基因表达改变, 造成一系列的表型

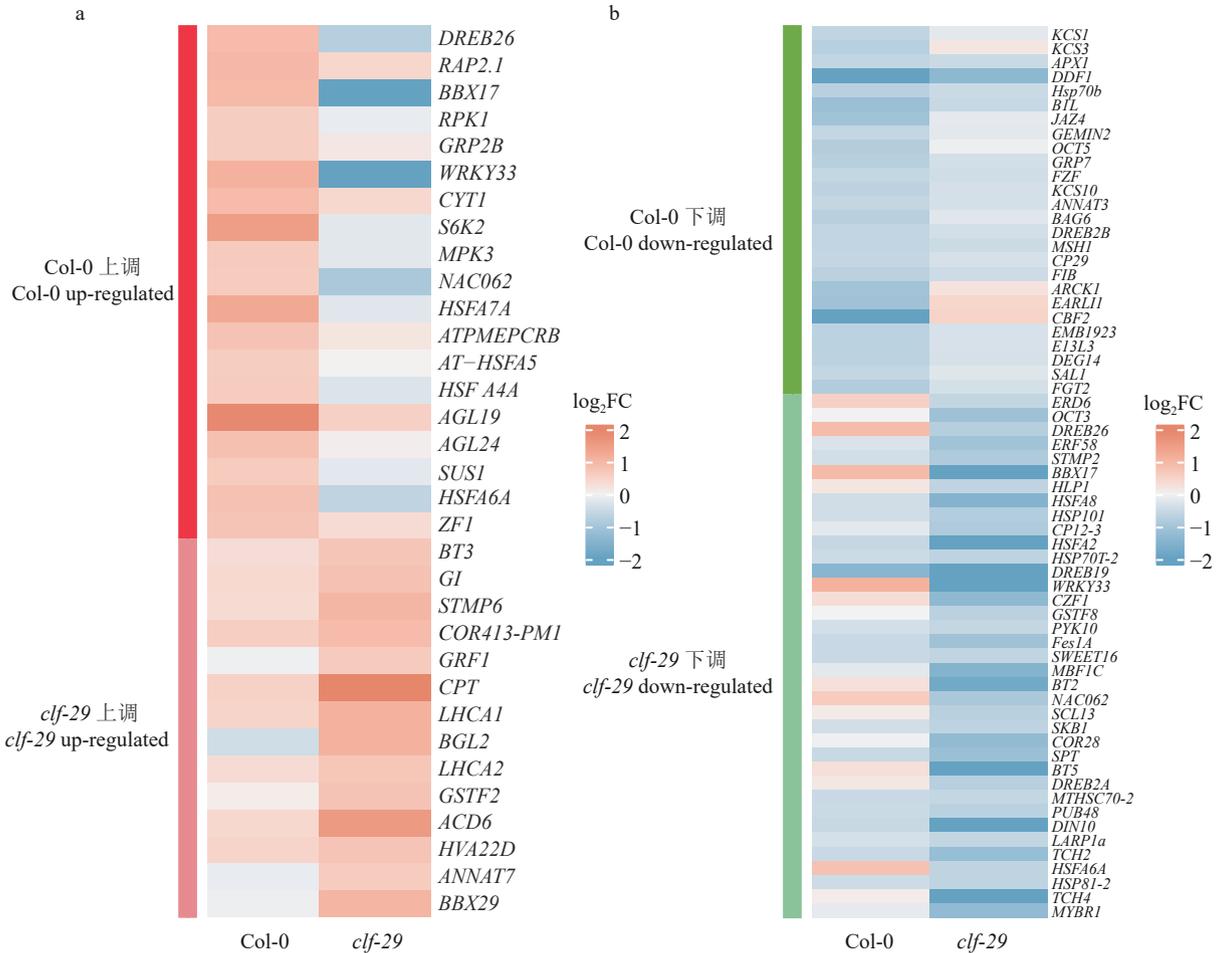


图 9 相比于 22 °C, 16 °C 条件下 Col-0 和 *clf-29* 各自温度响应基因的热图

Fig. 9 Heatmap of temperature-responsive genes in Col-0 and *clf-29* respectively at 16 °C compared to 22 °C

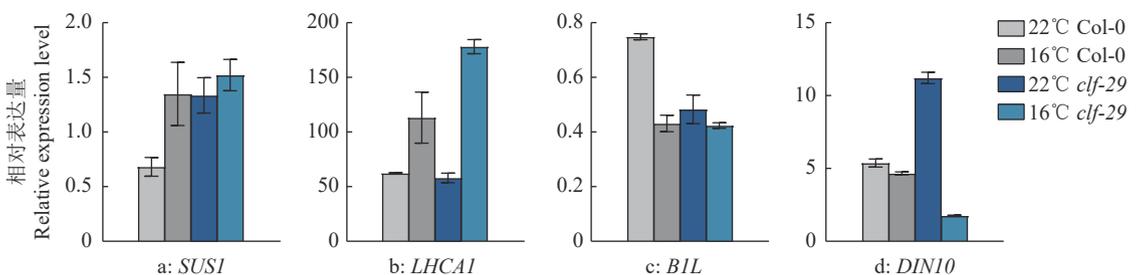


图 10 特定温度响应基因的 RT-qPCR 验证

Fig. 10 RT-qPCR verification of specific temperature-responsive genes

差异,证明了 CLF 在不同温度条件下调控生长发育的重要作用。

3 讨论与结论

拟南芥中的 CLF 是 PRC2 复合物的重要亚基,是 H3K27me3 甲基转移酶,CLF 蛋白结构保守,在多种植物如水稻、番茄中都报道过 CLF 的同源蛋白^[34-35]。CLF 调控植物生长发育的多个阶段,在拟南芥中鉴定到 6 854 个 H3K27me3 富集的基因,这些基因都是潜在的 CLF 可以调控的靶基因,涉及多种生长发育、响应刺激相关的通路,暗示 CLF 对植物的正常生长起至关重要的作用^[14]。本研究发现不同温度条件下 *clf-29* 突变体的形态建成存在差异,并且找到了多类可能导致表型差异的重要基因,其中仅在 Col-0 响应而在 *clf-29* 突变体未响应的基因说明 CLF 的缺失使突变体无法正常发挥功能,仅在 *clf-29* 响应的差异基因说明缺失 CLF 使其产生了更多的变化,并找到了多个和温度相关的基因,其发生明显的表达变化,这些结果说明 CLF 是参与拟南芥温度形态建成的重要表观调控因子。

不同温度条件下 *clf-29* 突变体的形态差异,极有可能是因为在不同温度下 CLF 介导的 H3K27 甲基化在基因组上的不同丰度造成的。温度是一种重要的环境影响因子,低温会影响拟南芥 H3K27me3 的富集。在低温条件(4 °C)下,低温响应基因 *COR15A* 和 *ATGOLS3* 的 H3K27me3 水平会降低从而导致基因表达的变化^[36-37]。温度变化也可以通过改变开花抑制基因 *FLOWERING LOCUS C(FLC)* 的 H3K27me3 水平来调控 *FLC* 的活性,从而调控植物开花时间^[38-39]。然而温度如何影响甲基转移酶 CLF 介导的 H3K27 甲基化的分布,是需要进一步探索的问题。

除了 H3K27 甲基化以外,其他的表观遗传标记也参与植物对环境温度的适应性调控,当植物生长环境的温度较低时,组蛋白变体 H2A.Z 会富集在 DNA 上,抑制基因的表达,当温度升高时,H2A.Z 富集程度降低,使基因正常表达^[20]。因此,在不同温度条件下,H3K27me3 与其他的表观遗传标记会产生怎样的偶联反应也是值得深思和深入探究的问题。

参考文献:

- [1] CHANG Y N, ZHU C, JIANG J, et al. Epigenetic regulation in plant abiotic stress responses[J]. *Journal of Integrative Plant Biology*, 2020, 62(5): 563-580.
- [2] LAMERS J, VAN DER MEER T, TESTERINK C. How plants sense and respond to stressful environments[J]. *Plant Physiology*, 2020, 182(4): 1624-1635.
- [3] ASHAPKIN V V, KUTUEVA L I, ALEKSANDRUSHKINA N I, et al. Epigenetic mechanisms of plant adaptation to biotic and abiotic stresses[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2020, 21(20): 7457. doi: 10.3390/ijms21207457.
- [4] GALLUSCI P, DAI Z, GENARD M, et al. Epigenetics for plant improvement: Current knowledge and modeling avenues[J]. *Trends in Plant Science*, 2017, 22(7): 610-623.
- [5] KASSIS J A, KENNISON J A, TAMKUN J W. Polycomb and trithorax group genes in *Drosophila*[J]. *Genetics*, 2017, 206(4): 1699-1725.
- [6] LEWIS E B. A gene complex controlling segmentation in *Drosophila*[J]. *Nature*, 1978, 276(5688): 565-570.
- [7] SCHUETTENGROBER B, GANAPATHI M, LEBLANC B, et al. Functional anatomy of Polycomb and trithorax chromatin landscapes in *Drosophila* embryos[J]. *PLoS Biology*, 2009, 7(1): 146-163.
- [8] SPARMANN A, VAN LOHUIZEN M. Polycomb silencers control cell fate, development and cancer[J]. *Nature Reviews Cancer*, 2006, 6(11): 846-856.
- [9] PIEN S, GROSSNIKLAUS U. Polycomb group and trithorax group proteins in *Arabidopsis*[J]. *Biochimica et Biophysica Acta: Gene Structure and Expression*, 2007, 1769(5/6): 375-382.
- [10] GOODRICH J, PUANGSOMLEE P, MARTIN M, et al. A Polycomb-group gene regulates homeotic gene expression in *Arabidopsis*[J]. *Nature*, 1997, 386(6620): 44-51.
- [11] GROSSNIKLAUS U, VIELLE-CALZADA J P, HOEPFNER M A, et al. Maternal control of embryogenesis by *MEDEA*, a Polycomb group gene in *Arabidopsis*[J]. *Science*, 1998, 280(5362): 446-450.
- [12] CHANVIVATTANA Y, BISHOPP A, SCHUBERT D, et al. Interaction of Polycomb-group proteins controlling flowering in *Arabidopsis*[J]. *Development*, 2004, 131(21): 5263-5276.
- [13] XIAO J, WAGNER D. Polycomb repression in the regulation of growth and development in *Arabidopsis*[J]. *Current Opinion in Plant Biology*, 2015, 23: 15-24.
- [14] SHU J, CHEN C, THAPA R K, et al. Genome-wide occupancy of histone H3K27 methyltransferases CURLY LEAF and SWINGER in *Arabidopsis* seedlings[J]. *Plant Direct*, 2019, 3(1): 100. doi: 10.1002/pld3.100.
- [15] KIM G T, TSUKAYA H, UCHIMIYA H. The *CURLY LEAF* gene controls both division and elongation of cells during the expansion of the leaf blade in *Arabidopsis thaliana*[J]. *Planta*, 1998, 206(2): 175-183.
- [16] LAFOS M, KROLL P, HOHENSTATT M L, et al. Dynamic regulation of H3K27 trimethylation during *Arabidopsis* differentiation[J]. *PLoS Genetics*, 2011, 7(4): e1002040.
- [17] LIU J, DENG S, WANG H, et al. *CURLY LEAF* regu-

- lates gene sets coordinating seed size and lipid biosynthesis[J]. *Plant Physiology*, 2016, 171(1): 424-436.
- [18] GU X, XU T, HE Y. A histone H3 lysine-27 methyltransferase complex represses lateral root formation in *Arabidopsis thaliana*[J]. *Molecular Plant*, 2014, 7(6): 977-988.
- [19] DING Y, SHI Y, YANG S. Molecular regulation of plant responses to environmental temperatures[J]. *Molecular Plant*, 2020, 13(4): 544-564.
- [20] KUMAR S V, WIGGE P A. H2A.Z-containing nucleosomes mediate the thermosensory response in *Arabidopsis*[J]. *Cell*, 2010, 140(1): 136-147.
- [21] GIL K E, PARK C M. Thermal adaptation and plasticity of the plant circadian clock[J]. *New Phytologist*, 2019, 221(3): 1215-1229.
- [22] QUINT M, DELKER C, FRANKLIN K A, et al. Molecular and genetic control of plant thermomorphogenesis[J]. *Nature Plants*, 2016, 2(1): 15190. doi: 10.1038/NPLANTS.2015.190.
- [23] BLAZQUEZ M A, AHN J H, WEIGEL D. A thermosensory pathway controlling flowering time in *Arabidopsis thaliana*[J]. *Nature Genetics*, 2003, 33(2): 168-171.
- [24] MARTIN M. Cutadapt removes adapter sequences from high-throughput sequencing reads[J]. *EMBnet Journal*, 2011, 17(1): 10-12.
- [25] KIM D, LANGMEAD B, SALZBERG S L. HISAT: A fast spliced aligner with low memory requirements[J]. *Nature Methods*, 2015, 12(4): 357-360.
- [26] LI H, HANDSAKER B, WYSOKER A, et al. The sequence alignment/map format and SAMtools[J]. *Bioinformatics*, 2009, 25(16): 2078-2079.
- [27] LIAO Y, SMYTH G K, SHI W. FeatureCounts: An efficient general purpose program for assigning sequence reads to genomic features[J]. *Bioinformatics*, 2014, 30(7): 923-930.
- [28] LOVE M I, HUBER W, ANDERS S. Moderated estimation of fold change and dispersion for RNA-seq data with DESeq2[J]. *Genome Biology*, 2014, 15(12): 550. doi: 10.1186/s13059-014-0550-8.
- [29] RAMIREZ F, RYAN D P, GRUNING B, et al. DeepTools2: A next generation web server for deep-sequencing data analysis[J]. *Nucleic Acids Research*, 2016, 44(W1): W160-W165.
- [30] THORVALDSDOTTIR H, ROBINSON J T, MESIROV J P. Integrative Genomics Viewer (IGV): High-performance genomics data visualization and exploration[J]. *Briefings in Bioinformatics*, 2013, 14(2): 178-192.
- [31] YU G, WANG L G, HAN Y, et al. ClusterProfiler: An R package for comparing biological themes among gene clusters[J]. *OMICS: A Journal of Integrative Biology*, 2012, 16(5): 284-287.
- [32] JUNG C G, HWANG S G, PARK Y C, et al. Molecular characterization of the cold- and heat-induced *Arabidopsis PXL1* gene and its potential role in transduction pathways under temperature fluctuations[J]. *Journal of Plant Physiology*, 2015, 176: 138-146.
- [33] CHEN T, CHEN J H, ZHANG W, et al. BYPASS1-LIKE, a DUF793 family protein, participates in freezing tolerance via the CBF pathway in *Arabidopsis*[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2019, 10: 807. doi: 10.3389/fpls.2019.00807.
- [34] BOUREAU L, HOW-KIT A, TEYSSIER E, et al. A CURLY LEAF homologue controls both vegetative and reproductive development of tomato plants[J]. *Plant Molecular Biology*, 2016, 90(4/5): 485-501.
- [35] LUO M, PLATTEN D, CHAUDHURY A, et al. Expression, imprinting, and evolution of rice homologs of the polycomb group genes[J]. *Molecular Plant*, 2009, 2(4): 711-723.
- [36] KWON C S, LEE D, CHOI G, et al. Histone occupancy-dependent and -independent removal of H3K27 trimethylation at cold-responsive genes in *Arabidopsis*[J]. *Plant Journal*, 2009, 60(1): 112-121.
- [37] RAMAKRISHNAN M, ZHANG Z, MULLASSERI S, et al. Epigenetic stress memory: A new approach to study cold and heat stress responses in plants[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2022, 13: 1075279. doi: 10.3389/fpls.2022.1075279.
- [38] TIAN Y, ZHENG H, ZHANG F, et al. PRC2 recruitment and H3K27me3 deposition at *FLC* require FCA binding of *COOLAIR*[J]. *Science Advances*, 2019, 5(4): eaau7246.
- [39] YANG H, BERRY S, OLSSON T S G, et al. Distinct phases of Polycomb silencing to hold epigenetic memory of cold in *Arabidopsis*[J]. *Science*, 2017, 357(6356): 1142-1145.

【责任编辑 李庆玲】