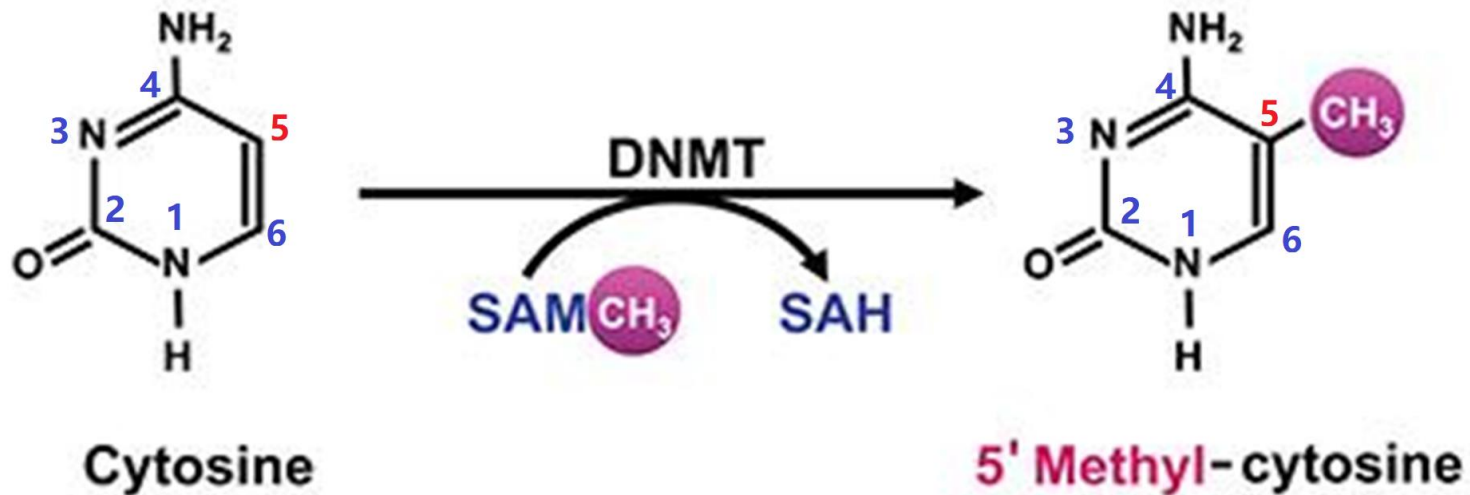


13. 2 DNA甲基化

DNA甲基化的概念

■ DNA序列上特定的碱基在DNA甲基转移酶（DNA methyltransferase, DNMT）的催化作用下，以S-腺苷甲硫氨酸（S-adenosyl methionine, SAM）作为甲基供体，通过共价键结合的方式获得一个甲基基团的化学修饰过程。

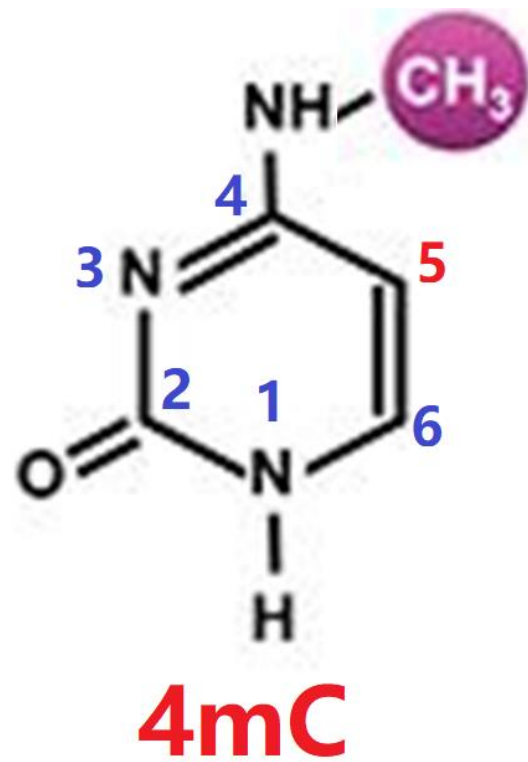
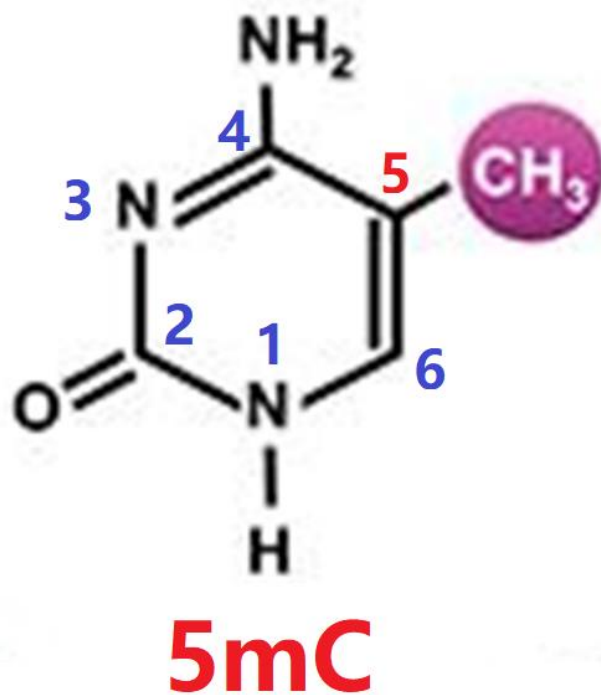


DNA甲基化的种类

■ 发生在胞嘧啶上的甲基化:

➤ 5-甲基胞嘧啶 (5mC)

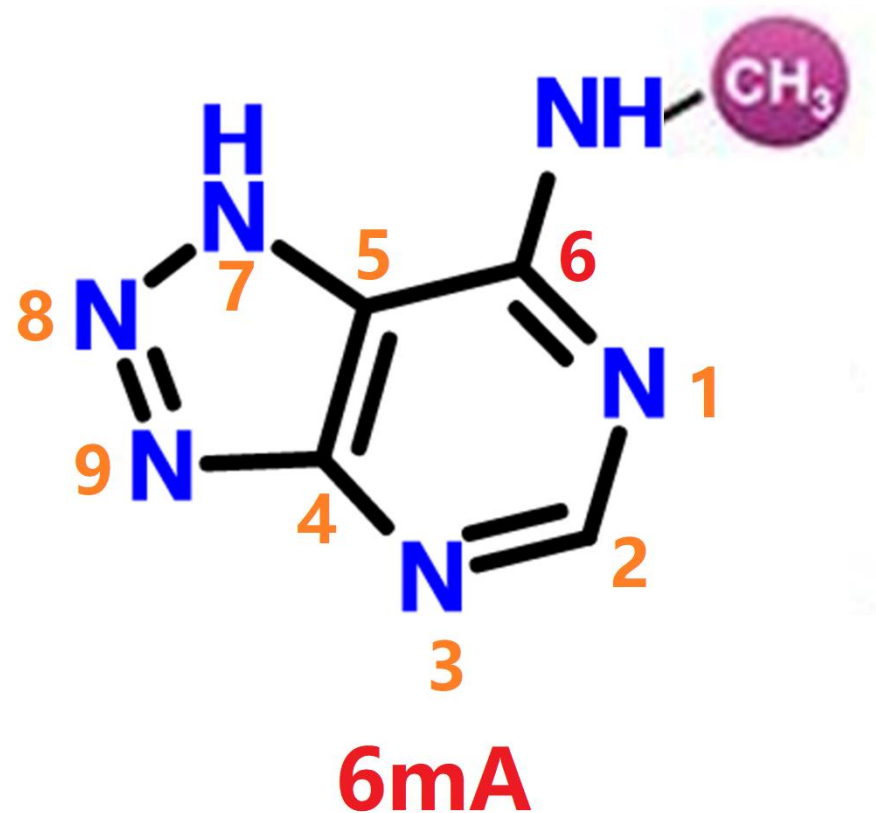
➤ N⁴-甲基胞嘧啶 (4mC)



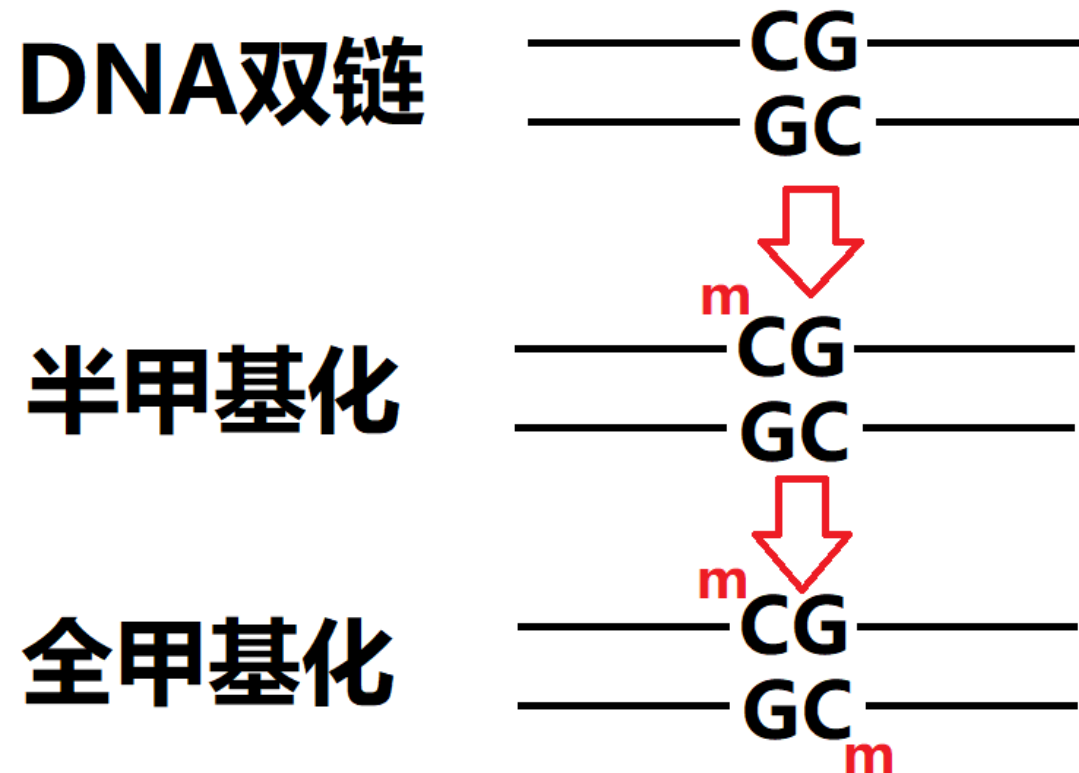
DNA甲基化的种类

■ 发生在腺嘌呤上的甲基化:

➤ N⁶-甲基腺嘌呤 (6mA)



全甲基化与半甲基化



DNA甲基化的机制

■ 5mC在高等真核生物中作用机制：从头建立、维持、识别和去除。

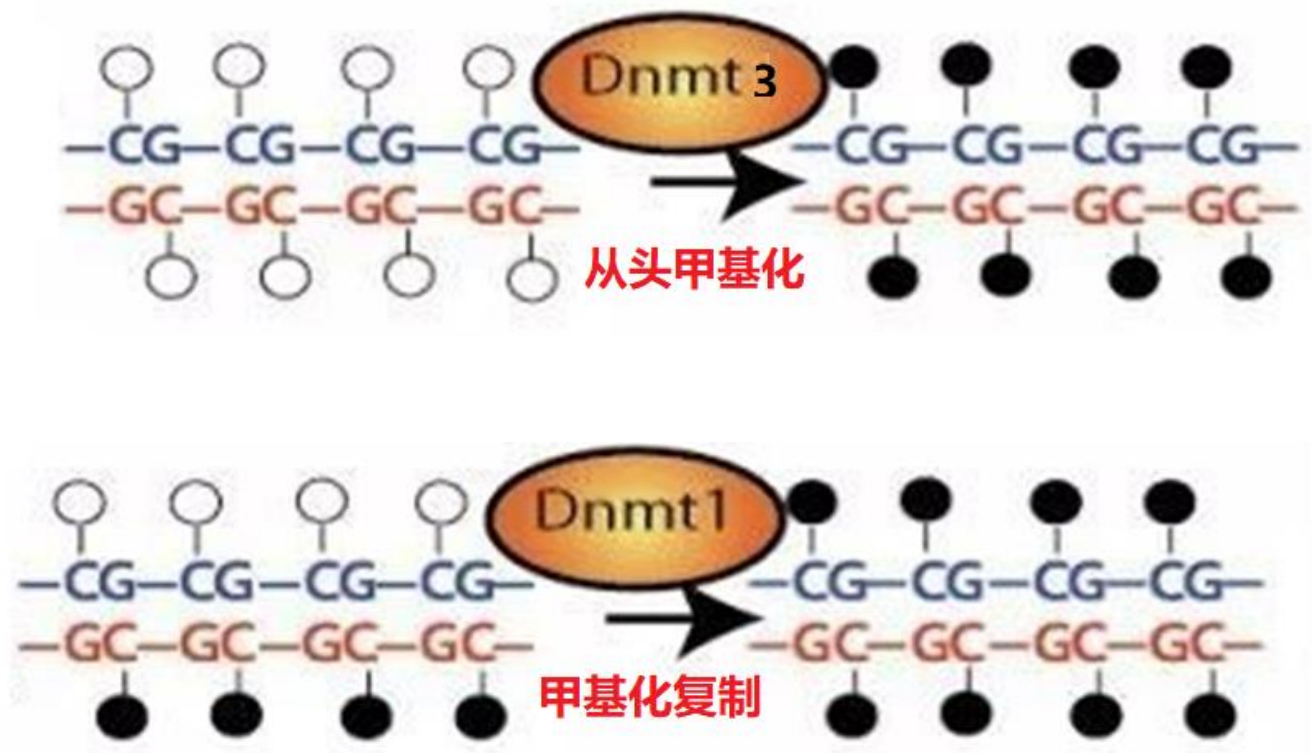
1. **从头建立**：DNMT3家族中的DNMT3a和DNMT3b是从头甲基转移酶，能够催化5mC从头建立甲基化。
2. **维持**：DNMT1家族不仅能够催化半甲基化DNA发生全甲基化，还能对5mC进行修复，在维持5mC中发挥关键作用。

DNA甲基化的机制

■ 两类甲基化酶：

➤ DNMT3：从头甲基化

➤ DNMT1：甲基化复制

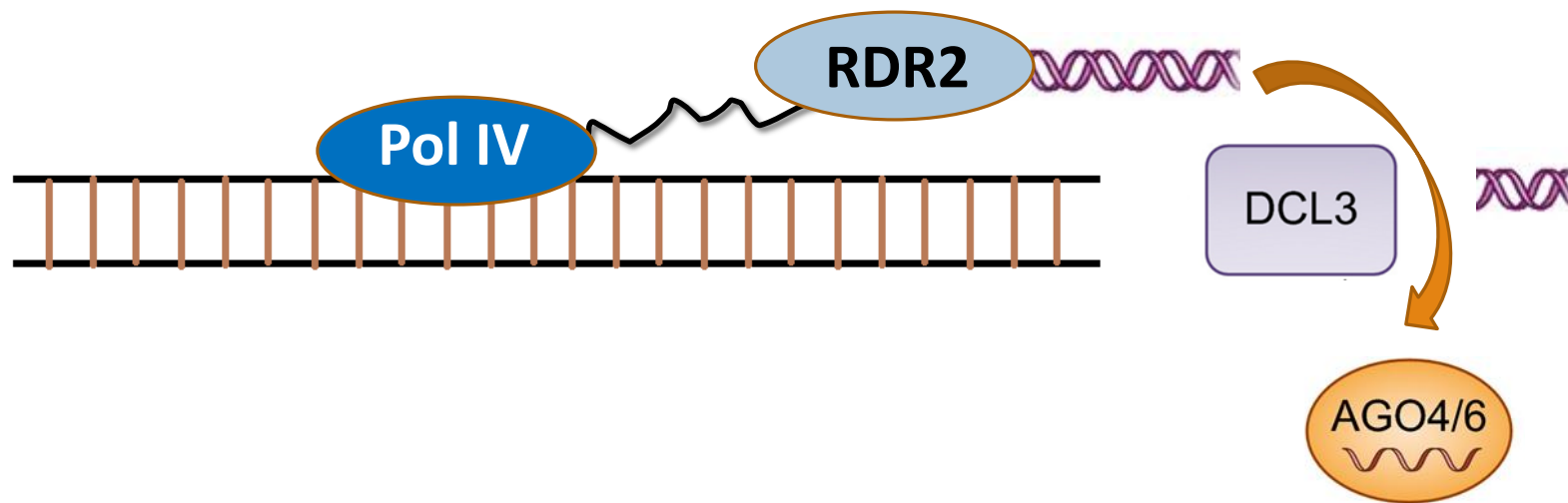


DNA甲基化的机制

3. **识别：**“reader”蛋白特异性识别和结合甲基化位点。根据识别甲基化胞嘧啶的结构域，DNA甲基化的“reader”蛋白被分为3个独立家族，即甲基化CpG结合蛋白、UHRF 蛋白和锌指（zinc-finger）蛋白。
4. **清除：**首先，5mC被AID/APOBEC（Activation-induced cytidine deaminase/apolipoprotein B mRNA-editing enzyme complex）脱氨或TET（Ten-eleven translocation）连续氧化为5-羟甲基胞嘧啶(5hmC)、醛基胞嘧啶（5fC）和羧基胞嘧啶（5caC），起始DNA去甲基化；然后，胸腺嘧啶DNA糖基化酶（TDG）与碱基切除修复（BER）共同将上述产物转化为未修饰的胞嘧啶。

植物DNA甲基化的机制

■ RNA介导的甲基化。

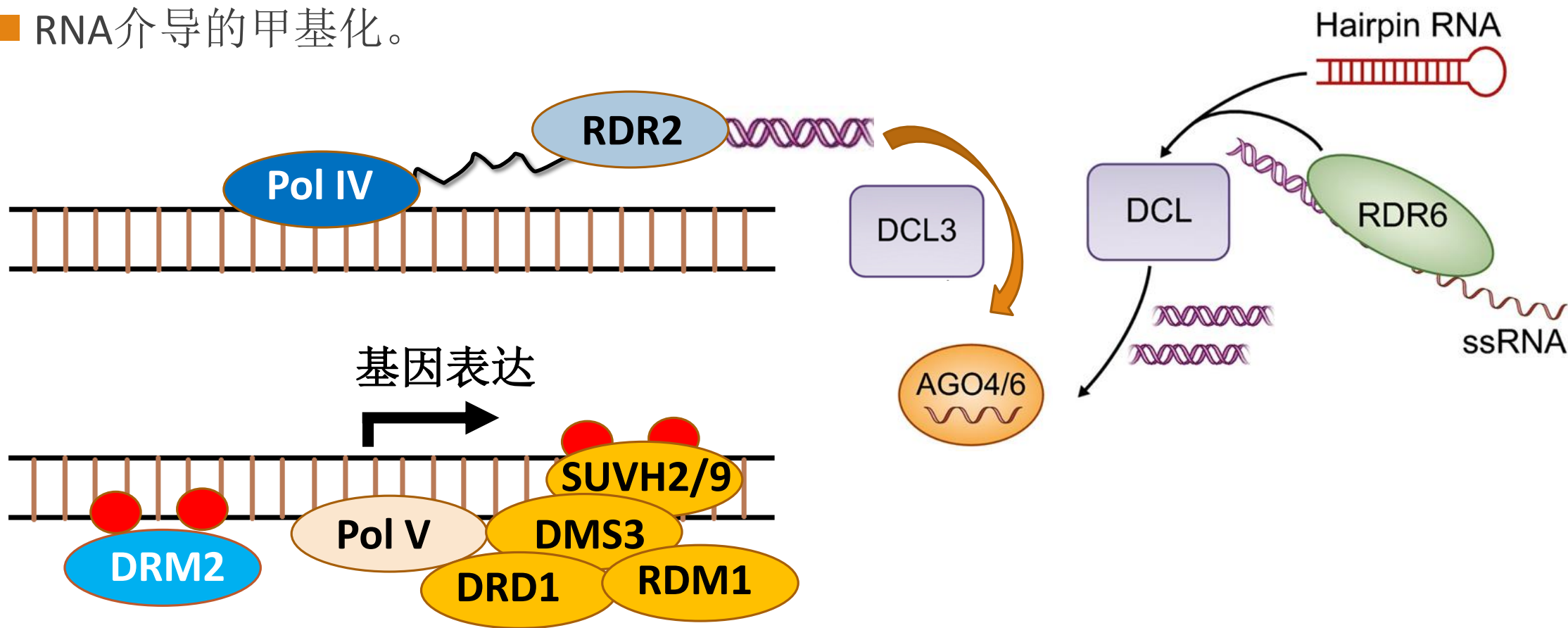


RDR2: RNA-Dependent RNA Polymerase 2

DCL3: DICER-like 3

植物DNA甲基化的机制

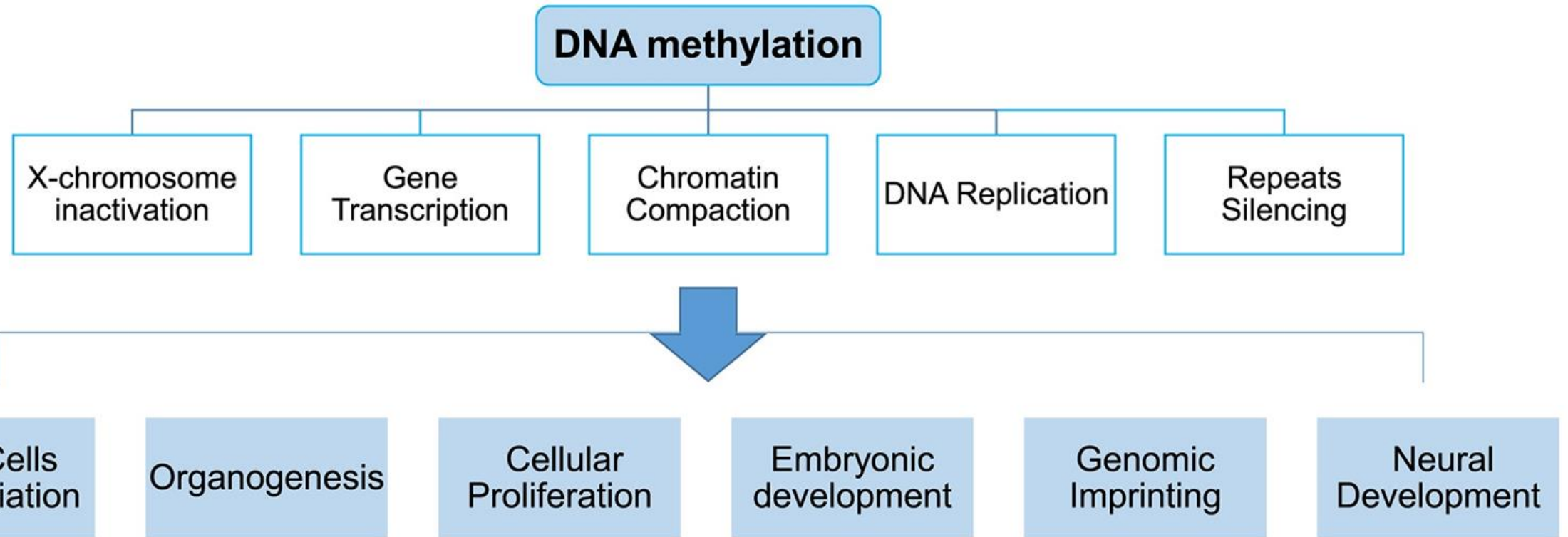
■ RNA介导的甲基化。



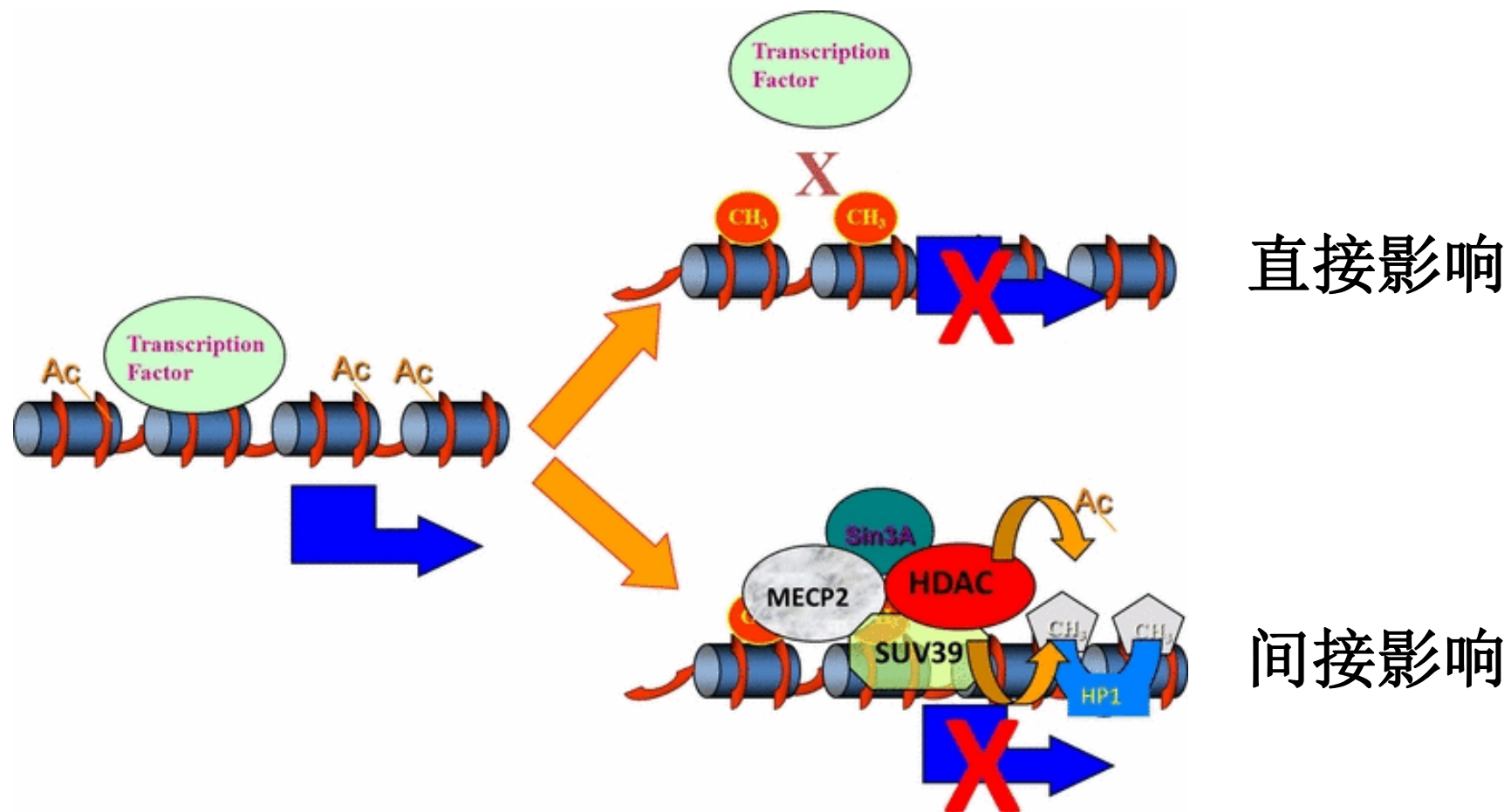
DNA甲基化的生物学功能

- 宿主防御：通过对转座子进行甲基化修饰，从而抑制转座子的活性，避免转座子对机体造成伤害。
- 基因调控：

DNA甲基化与基因调控

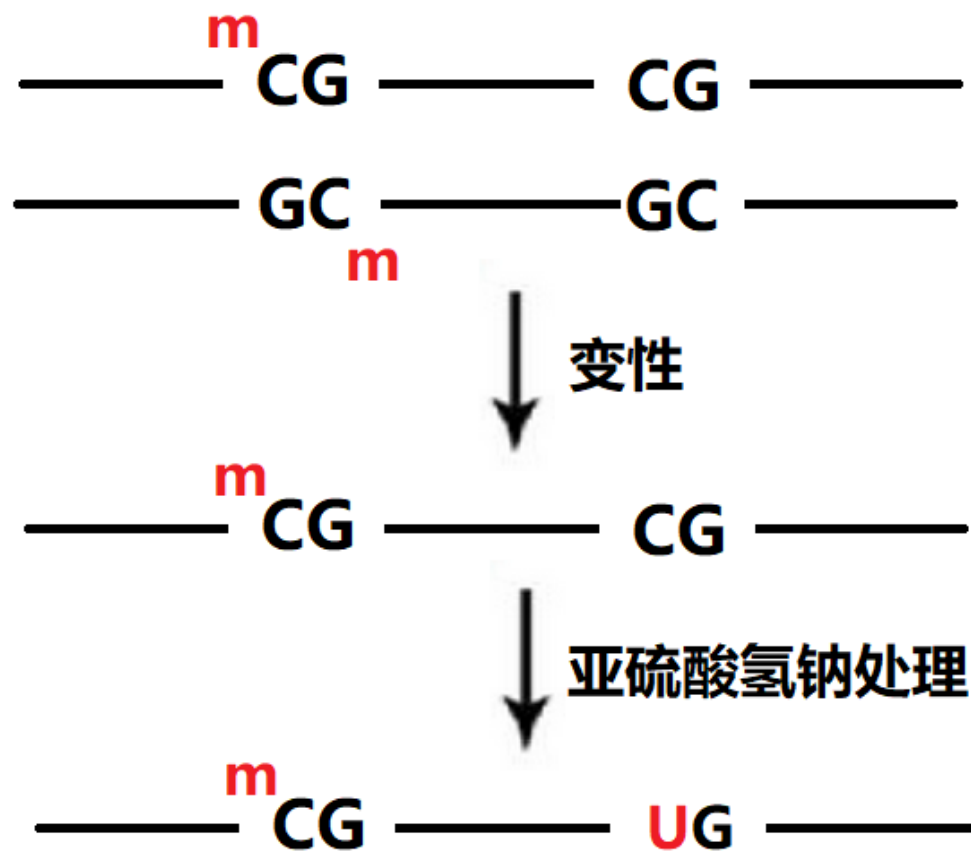


DNA甲基化对基因转录表达



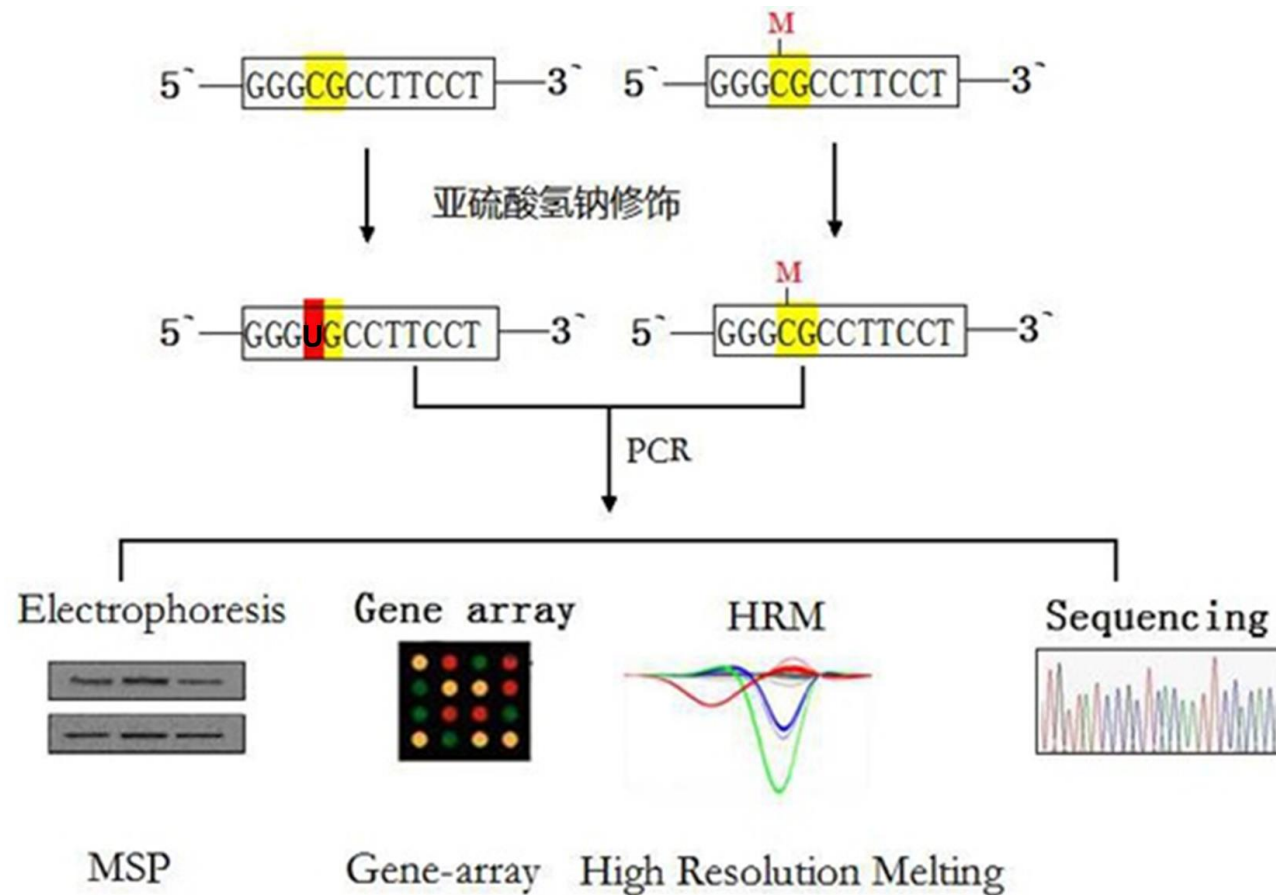
DNA甲基化的检测-1

- 亚硫酸盐转化法。
- 利用亚硫酸氢钠处理DNA样品，未发生甲基化的CG位点中的C碱基会转变为U碱基。
- 随后通过与未处理的样品进行比较，就可以知道哪个位点的CG发生了甲基化。



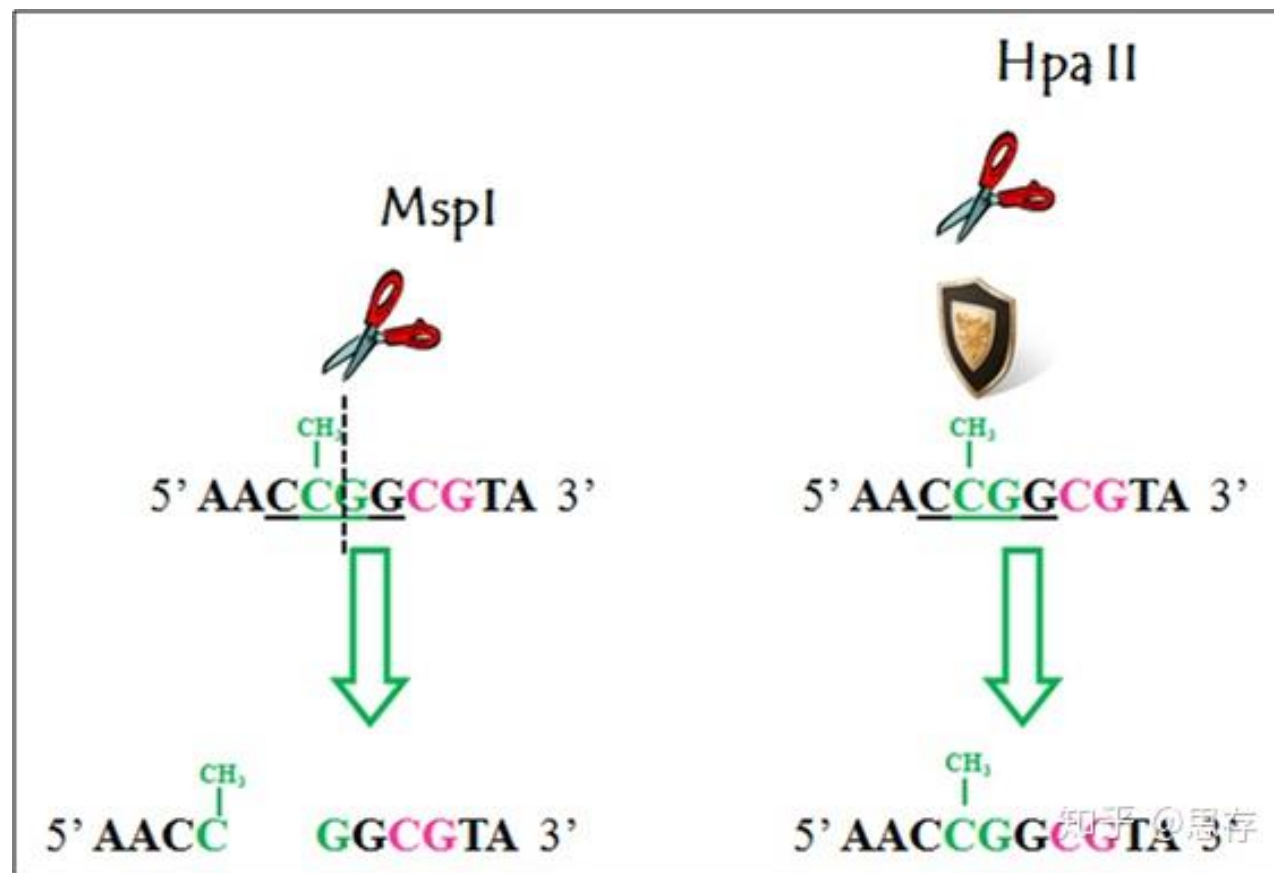
DNA甲基化的检测-1

- 甲基化特异性PCR检测法。
- DNA经亚硫酸盐处理后的DNA通过测序或使用特异性引物PCR得到非常准确的DNA序列甲基化位点信息。



DNA甲基化的检测-2

- 限制性内切酶法。
- 利用甲基化敏感性限制性内切酶对甲基化区域不切割的特性，将DNA消化为不同大小的片段后再进行分析。常用的经典酶对是Hpa II-Msp I（识别序列CCGG）。随后进行Southern或PCR扩增分离产物，以明确目标片段的甲基化状态。



DNA甲基化的检测-3

- 亲和富集测序法。
- 将基因组 DNA 超声波打断并变性后，使用 5- 甲基胞嘧啶特异性抗体富集甲基化片段，再分离纯化得到甲基化 DNA 片段，然后再用测序等方法分析。

