

网络出版时间: 2026-06-25

网络出版地址: <https://link.cnki.net/urlid/61.1359.S.20260625.1055.006>

1B/1R 易位下小麦 A 亚基因组三维染色质重塑与转录调控

王震¹, 张彬¹, 石利朝¹, 刘瑞¹, 李金秀¹, 李金榜¹, 陈君²

(1. 南阳市科学院, 河南南阳 473000; 2. 河南省南召县农村合作经济服务站, 河南南阳 474650)

摘要: 1B/1R 易位系小麦因兼具抗病性和产量稳定性而在育种中得到广泛应用, 但其对非易位亚基因组三维染色质结构及转录调控的影响仍缺乏系统认识。本研究以 1B/1R 易位系品种宛麦 270 及其不含 1B/1R 易位片段的近等基因系为试验材料, 综合利用 Hi-C 技术、转录组测序及 qRT-PCR, 从三维基因组层面系统解析 1B/1R 易位背景下小麦 A 亚基因组染色质空间结构的重塑特征及其与基因表达调控之间的关系。在 A 亚基因组中鉴定到大量 A/B 区室状态转换区段, 且整体以 B→A 转换为主, 但区室重排在不同染色体间呈现明显的非均一分布特征。为验证区室转换与基因表达变化之间的关联性, 对位于区室转换区段内的 20 个差异表达基因进行 qRT-PCR 分析。结果表明, A→B 转换区段内基因在宛麦 270 中的表达量整体低于其近等基因系, 而 B→A 转换区段内基因则整体表现为表达量升高, 其表达量变化与区室状态转换趋势一致。亚区室分析显示, 宛麦 270 在 A 亚基因组整体上表现为 A1/A2 亚区室比例降低、B1/B2 亚区室比例升高, 其中 1A 和 3A 染色体的亚区室重构最为显著。经 TAD(拓扑关联结构域)分析, 两种材料在 A 亚基因组尺度上维持相对稳定的 TAD 结构框架, 但在部分染色体局部区域中, 宛麦 270 出现了 TAD 合并和边界重组现象。通过进一步结合转录组分析, A/B 区室转换区段内富集了大量差异表达基因, 这些基因主要涉及染色质组织、DNA 复制、碳水化合物代谢及氨基酸代谢等功能过程。经 GO、KEGG 及 GSEA 分析, 宛麦 270 的转录差异并非表现为基础代谢通路的整体激活, 而更多体现为特定通路内基因的精细化调控。综上, 1B/1R 易位在保持 A 亚基因组整体三维结构稳定的同时, 引发了区室、亚区室及局部 TAD 层级的空间重塑, 并通过改变基因所处的空间调控环境影响其转录响应。

关键词: 小麦; 1B/1R 易位; 三维基因组; A 亚基因组; 染色质区室; 转录调控

中图分类号: S512.1; S330

文献标识码: A

文章编号: 1009-1041(2026)07-0897-12

Three-Dimensional Chromatin Remodeling and Transcriptional Regulation in a Subgenome of the Wheat 1B/1R Translocation Line

WANG Zhen¹, ZHANG Bin¹, SHI Lichao¹, LIU Rui¹, LI Jinxiu¹, LI Jinbang¹, CHEN Jun²

(1. Nanyang Academy of Sciences, Nanyang, Henan 473000, China; 2. Rural Cooperative Economic Service Station of Nanzhao County, Nanyang, Henan 474650, China)

Abstract: Wheat lines carrying the 1B/1R translocation have been widely utilized in breeding due to their enhanced disease resistance and yield stability. However, its impact on the three-dimensional (3D) chromatin architecture and transcriptional regulation of non-translocated subgenomes remains largely unexplored. Here, we used a 1B/1R translocation line, Wanmai 270, and its corresponding near-isogenic line lacking the 1B/1R segment to investigate chromatin spatial remodeling in the wheat A subgenome and its relationship with gene expression. By integrating Hi-C, RNA-seq, and qRT-PCR, we systematically characterized the effects of the 1B/1R translocation on 3D genome organization. A substantial number of A/B compartment switching regions were identified in the A subge-

收稿日期: 2026-01-21 修回日期: 2026-03-20

基金项目: 国家现代农业产业技术体系项目(CARS-03); 河南省农业良种联合攻关项目(2022010101); 襄阳市科技计划项目(关键核心技术攻关专项)

第一作者 E-mail: nywangzhen@yeah.net(王震); zhangbin3268@126.com(张彬)

通讯作者 E-mail: nyjlb12@163.com(李金榜)

nome, with a predominance of B-to-A transitions. Notably, compartment reorganization exhibited pronounced heterogeneity across chromosomes. To assess the association between compartment switching and transcriptional changes, 20 differentially expressed genes located within translocation regions were selected for qRT-PCR. Genes in A-to-B regions showed reduced expression in Wanmai 270 relative to those in the near-isogenic line, whereas genes in B-to-A regions exhibited increased expression, consistent with the direction of compartment transitions. Subcompartment analysis revealed a genome-wide decrease in A1/A2 proportions and an increase in B1/B2 proportions in the A subgenome of Wanmai 270, with the most prominent reorganization observed on chromosomes 1A and 3A. Topologically associating domains(TAD) analysis showed that the overall TAD framework was largely conserved between the two lines, although local TAD merging and boundary reorganization occurred in specific regions of Wanmai 270. Integration with transcriptome data further indicated that compartment-translocation regions were enriched for differentially expressed genes involved in chromatin organization, DNA replication, carbohydrate metabolism, and amino acid metabolism. GO, KEGG, and GSEA analyses revealed that transcriptional differences in Wanmai 270 were not characterized by global activation of basal metabolic pathways, but rather by fine-tuned regulation within specific pathways. In summary, the 1B/1R translocation preserves the overall 3D chromatin framework of the A subgenome while inducing multiscale spatial remodeling at the levels of compartments, subcompartments, and local TADs, thereby modulating transcriptional responses through changes in the chromatin regulatory landscape.

Keywords: Wheat; 1B/1R translocation; Three-dimensional genome; A subgenome; Chromatin compartment; Transcriptional regulation

小麦(*Triticum aestivum* L.)是典型的异源六倍体作物,由A、B和D3个亚基因组共同组成,其基因组结构和调控网络高度复杂。已有研究表明,尽管3个亚基因组在进化来源、重复序列组成、基因密度等方面存在显著差异,但在三维空间中并非彼此独立,而是通过跨染色体、跨亚基因组的互作共同构建核内整体调控框架^[1]。1B/1R易位系品种因整合了黑麦(*Secale cereale*)染色体短臂1RS,在抗条锈病、叶锈病、白粉病以及逆境适应性、产量稳定性等方面表现出显著优势,被广泛应用于全球小麦育种实践中^[2-3]。随着研究的深入,人们逐渐认识到,1B/1R易位不仅改变了目标染色体本身的遗传组成,还可能通过影响染色质空间组织方式,对普通小麦基因组整体的调控网络产生深远影响^[4]。

2009年,Aiden等^[5]首次提出并建立了高通量染色体构象捕获(high-throughput chromosome conformation capture, Hi-C)技术,实现了在全基因组尺度解析DNA不同位点间空间互作关系的突破性进展。Hi-C及其衍生技术的出现,使三维基因组学成为可能,为系统研究染色质空间结构与基因表达调控之间的关系提供了关键技术手

段。三维基因组研究表明,基因组在细胞核中呈现出明显的层次化空间组织结构,根据观察尺度由大到小依次可划分为染色体疆域(chromosome territories)、A/B区室(compartments)、拓扑关联结构域(topologically associating domains, TADs)以及染色质环(loops)^[6-8]。Bolzer等^[9]通过DNA成像技术发现,每条染色体在细胞核中占据相对独立的空间区域即染色体疆域。进一步研究表明,染色体疆域在细胞核中的空间分布具有明显偏好性:基因密度较高的染色体通常位于核内部,而基因密度较低的染色体则更多分布于核周区域^[10]。在染色体疆域的基础上,研究人员进一步发现了染色质区室化结构,即A/B区室^[5]。A区室通常对应基因密集、转录活跃的常染色质区域,而B区室多与转录活性较低的异染色质相关^[11-12]。随着原位Hi-C技术的发展,A/B区室在更高分辨率下被进一步细分为亚区室(sub-compartments),包括与转录活性密切相关的A1、A2亚区室以及相对不活跃的B1、B2亚区室^[13]。在更精细的尺度上,多个研究团队几乎同时报道了TAD的存在^[14-18]。TAD在Hi-C热图中表现为沿对角线分布的三角形结构,其内部染

染色质互作显著强于不同 TAD 之间^[16-17]。TAD 边界在限制跨结构域互作、维持基因调控空间特异性方面发挥着重要作用,且通常具有富集转录起始位点、结构蛋白以及活性组蛋白修饰等特征^[13-14]。

三维基因组技术的发展,为从空间结构层面系统解析 1B/1R 易位背景下染色质结构重塑及其与基因表达调控和优良性状形成之间的内在联系,提供了全新的研究视角和理论基础。染色体结构变异(如易位、缺失或外源染色体导入)不仅会重塑目标亚基因组的空间结构,还可能通过核内空间重排,引发其他亚基因组染色质构象的适应性调整^[19]。这种跨亚基因组的三维结构联动,被认为是多倍体作物在进化和驯化过程中实现基因功能协调与表型稳定的重要机制之一。近年来的 Hi-C 研究显示,小麦 A 与 B 亚基因组之间存在显著的空间互作偏好,其区室状态、亚区室分布及 TAD 结构在一定程度上呈现协同变化特征^[4],但 1B/1R 易位对普通小麦 A 亚基因组染色质空间结构及转录调控网络的影响尚不清楚,亟需从三维基因组层面进行深入解析。本研究以 1B/1R 易位系品种宛麦 270 及其不携带易位片段的近等基因系为研究对象,综合利用 Hi-C 技术、转录组测序及多层级三维基因组分析方法,系统解析 1B/1R 易位背景下小麦 A 亚基因组的 A/B 区室、亚区室及 TAD 等层级的空间结构特征及其重塑模式,并进一步探究染色质空间结构变化与基因表达调控之间的关系。研究旨在揭示 1B/1R 易位系品种优良性状形成的三维基因组学基础,为小麦近缘种优异基因易位系的精准利用和分子设计育种提供理论依据和数据支撑。

1 材料与方法

1.1 试验材料

宛麦 270(WM270)为南阳市科学院自育品种,先后通过河南省及国家审定和湖北省引种。淮麦 24 是宛麦 270 的母本,不含有 1B/1R 易位片段,由江苏徐淮地区淮阴农业科学研究所提供。

1.2 近等基因系选育方法

试验在河南省南阳市卧龙区潦河镇南阳市科学院试验基地进行,2020 年以宛麦 270 为母本,淮麦 24 为父本配制杂交组合,获取杂交 F₁ 的种子。以宛麦 270 为轮回亲本连续回交,获得回交后代群体。在以上各代群体中,利用荧光原位杂交(fluorescence in situ hybridization, FISH)检

测 1B/1R 易位片段,选择不含有易位片段的单株与轮回亲本回交。在 BC₅F₅ 代中选取不携带 1B/1R 易位染色体的植株作为宛麦 270 的近等基因系材料(NIL270)。

1.3 1B/1R 易位片段 FISH 验证

在室温下将 20 粒待测种子放在铺有湿润滤纸的培养皿中进行发芽,待主根长到 3 cm 时用镊子取 2 cm 左右根尖,放入到离心管中。然后向离心管加入 90% 的冰醋酸,冰上放置 5 min 进行根尖的固定。用蒸馏水清洗 3 遍,将根尖端部分生区切下大约 2 mm 放入根尖酶解液中,37 °C 酶解 1 h。酶解完成后用 70% 的酒精洗 2 次,用解剖针将根尖捣碎。6 000 r·min⁻¹ 离心 1 min,倒掉离心管中的酒精,加入 100% 冰醋酸 35 μL,涡旋振荡。用移液器吸取 7 μL 细胞悬浮液滴在载玻片的中央,放置 5~10 min。取出载玻片在显微镜下进行镜检。

将镜检后的片子置于紫外交联仪中交联。将标记好的黑麦探针用 2×SSC:1×TE 稀释至 10 μL(黑麦探针由中国科学院遗传与发育生物学研究所韩方普实验室提供),每张片子探针用量控制在 50~100 ng 之间,将稀释后的探针滴到载玻片具有分裂相的位置,盖上塑料盖玻片。将加好探针的载玻片置于铝制托盘中,沸水浴 5 min,取出载玻片迅速放入 55 °C 预热的铝盒中,孵育 6 h。加入 DAPI 进行染色,置于 Olympus BX61 荧光显微镜下观察鉴定,荧光光源由 X-Cite[®] exacte 提供。

1.4 Hi-C 测序及数据分析

待测种子进行易位片段检测后,分别移栽到营养土中,经过 4 °C 低温春化 35 d,于 2025 年 1 月 17 日移栽至河南省南阳市卧龙区潦河镇南阳市科学院试验基地,管理同大田生产。扬花期分别剪取同一植株不同分蘖的旗叶,无菌超纯水冲洗两遍,用无尘纸吸干水分,放入 50 mL 的 EP 管中,每管样本量 4 g 左右,3 次重复,液氮速冻 10 min 后放置于干冰中送安诺优达基因科技(北京)有限公司交联酶切建库^[20-21](酶:DPnII;酶切位点:GTAC),利用华大 DNBSEQ-T7 平台进行测序。

下机数据首先使用 Fastp 进行质控,去除接头序列并过滤低质量序列,以获得高质量序列。随后使用 Burrows-Wheeler Aligner(BWA)软件将序列比对至参考基因组(CS_Gapless_V1.1^[22]),使用 SAMtools 工具将 SAM 文件转换为 BAM 格式,同时对比对结果进行排序和索引。使用 HiCEplorer

工具集中的 hicBuildMatrix 程序构建基因组范围内的 Hi-C 接触矩阵。对于同一品种的多个生物学重复样本,分别构建接触矩阵后,使用 hicSum-Matrices 软件对生物学重复进行合并,对合并后的 Hi-C 接触矩阵进行标准化处理,标准化步骤使用 hicNormalize 完成以实现不同样本之间的组间标准化,保证不同材料间 Hi-C 接触信号的可比性。标准化后的接触矩阵以 cool 格式保存,并进一步使用 cooler zoomify 工具对矩阵进行多分辨率缩放处理,将单一分辨率的 cool 文件转换为包含多种分辨率信息的 mcool 文件。采用 CALDER2 软件在 250 kb 分辨率下对染色质 A/B 区室进行分析。使用 HiCEplorer 中的 hicFind-TADs 对 TAD 进行识别,TAD 分析在 50 kb 分辨率下进行。

1.5 转录组测序及数据分析

转录组测序样品的取样时间和处理送样方法与 Hi-C 测序相同,利用 Illumina HiSeq4000 PE150 平台进行 RNA-seq 测序。对测序后返回的原始数据进行质控和过滤,利用 HISAT2 将过滤后数

据比对至参考基因组(CS_Gapless_V1.1)。使用 featureCounts 进行转录本表达量分析,以 FPKM 值来表示基因表达量。选用 DESeq2 进行基因差异表达分析,设置显著性 $P < 0.05$ 和 $|\log_2 FC| \geq 2$ 为筛选差异表达基因的阈值。采用 R 语言 clusterProfiler 包对差异表达基因进行 GO、KEGG 和 GSEA 富集分析。

1.6 qRT-PCR

材料取样时间与 Hi-C 测序相同,将叶片在液氮中迅速研磨成粉末,采用 RN53-EASYspin Plus 试剂盒(北京艾德莱生物科技有限公司)提取其 RNA。提取的 RNA 在 1.0% 琼脂糖凝胶上电泳检测其完整性,同时用紫外分光光度仪测定吸光值,检验纯度。采用 PC54 TRUEscript RT kit 反转录试剂盒(北京艾德莱生物科技有限公司)合成 cDNA。在 4A 染色体上选取两个材料 A/B 区室转换区段内表达量差异显著的 20 个基因,利用 Primer Premier 6 依据 GC 含量及 Tm 值设计引物(表 1),使用 NCBI 网站(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov>)BLAST 比对序列确定

表 1 qRT-PCR 引物信息
Table 1 qRT-PCR primer information

A/B 区室转换类型 A/B compartment translocation types	编码 Code	基因 ID Gene ID	上游引物序列 Upstream primer sequence(5'-3')	下游引物序列 Downstream primer sequence(5'-3')
A→B	A1	TraesCSC4A01G096400	GTTAGTAGTTTCTGTACAGATTGGTG	CGTTATGCATTAAACAGGGAAGAACATA
	A2	TraesCSC4A01G103700	CACAGGGAAACAGTTCAATATACTAGC	AACCACTCTTTATTCCATCAGAATTTCG
	A3	TraesCSC4A01G119100	TATTTACAACCTCCTATAAGTTGCCGA	TAGTAAAAGAAAACGAGTGTGGAAGTG
	A4	TraesCSC4A01G129500	ATTAAGATTAAAGATGGTCCAGGGTGAT	TATATTCACGTGTATCGGTATAGGAGC
	A5	TraesCSC4A01G148300	TAATACAGTTCCTAGTTGGTCGACTTT	GCTTACACAAGAAAGAAACAAGAAACC
	A6	TraesCSC4A01G153100	AGCCATGCTTATGTCTACCTAGTAAAT	GATTCAGAAACAGAAGTGGACATCAAT
	A7	TraesCSC4A01G157300	AAAAACGAATCCCTTGCTACATATACC	ATGGAAACCGATAAGCATATATTTCAGC
	A8	TraesCSC4A01G157400	TTTAGCAGATGATCGATCTTACATGTG	ATGCATCTTTATTTATTGACGACACCA
	A9	TraesCSC4A01G253700	AAAACCTTTGCAAATCAAATCTCACAG	TCAATCATGTGATGTGTGAAAGGATTT
	A10	TraesCSC4A01G311100	GTTCAGTCCAGTGAAGAATAAAGACTC	TGACATGAAAAACTTAACACTATGCCC
B→A	B1	TraesCSC4A01G002100	GCATCAAAGTTTGTCAGAACTAGAGAA	GTTCCCTTAATTAATGCAGCACACATC
	B2	TraesCSC4A01G005400	TGGTCAATAGTCCTACCAATTGATCAT	AGCTTATTCGGCATTTAACAATCTCAA
	B3	TraesCSC4A01G079200	GTGTACGTTTTCTTTTTCCGGATAGTA	GCCTCATTTATTACAAAGAGTTTCCGA
	B4	TraesCSC4A01G108600	TATTGGTAGCGAAGAGATAATAAGGGG	ATAGTCTACGTGTTAACAAGTACTGCT
	B5	TraesCSC4A01G212800	TATAATTTTCATGTCTTCAGCCAAGAGC	CATGAACCAAAATGCATATGTCTGTTT
	B6	TraesCSC4A01G248900	GTCTTCGTTACTCAAACATCAGTACTC	GGGTTACGTTAAAGAAAAGGTCATCTT
	B7	TraesCSC4A01G252100	ATTTTGTTTCACACTCAGCCATTATCT	AACTATTCCCACCAGCTTAGCTTT
	B8	TraesCSC4A01G080800	GAAGGTAGAATCTGTACAGGATGGTTG	ATTCCAAGTGCTAAACAATGAGAAAAGT
	B9	TraesCSC4A01G086700	TTAAGAGTCTCCAAAACCCAAATCATG	TACAAACTCGGCCTAAATCAACCTATA
	B10	TraesCSC4A01G106600	GAAAAACCATCGAAAGCTTCTTTGATC	AGAAGCTGCTGATGAATCTTTTGTTTA
Ref.		<i>β-Actin</i>	CTCCCTCACAACAACCGC	TACCAGGAAGTTCCATACCAAC

引物特异性,引物由睿博兴科生物技术有限公司合成。采用 RocheLightCycler[®] 480 实时荧光定量 PCR 系统进行 qRT-PCR。qRT-PCR 体系 20 μL :2 $\times$ Biomed Green qPCR Master Mix 10 μL , cDNA 模板 2 μL ,10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 上、下游引物各 0.4 μL ,ddH₂O 7.2 μL 。扩增程序:95 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 2 min;95 $^{\circ}\text{C}$ 变性 15 s,60 $^{\circ}\text{C}$ 退火 15 s,72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 30 s,共 40 个循环。基因相对表达量采用 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 方法计算,每个样品 3 次重复,以 $\beta\text{-Actin}$ 为内参基因。

2 结果与分析

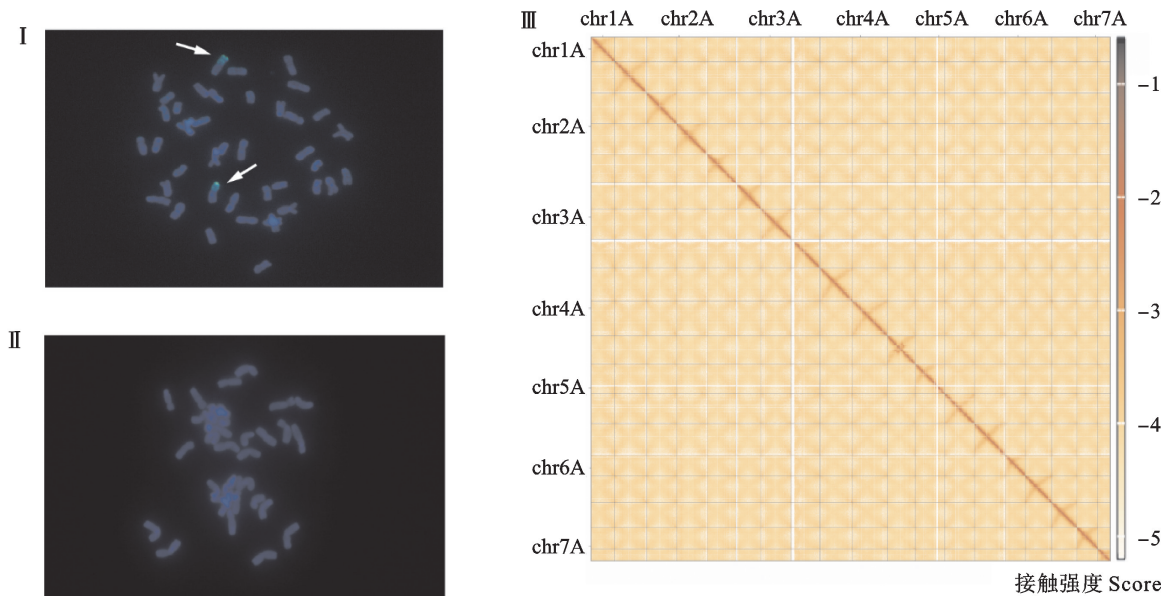
2.1 1B/1R 易位系验证及数据质控

荧光原位杂交结果显示,宛麦 270 为 1B/1R 易位系品种(图 1 I),对照材料宛麦 270 近等基因系(NIL270)不含有 1B/1R 易位片段(图 1 II)。对 Hi-C 测序数据进行系统质控评估,共获得约 5.21×10^8 条原始测序序列,其中可唯一比对且质量合格的序列对为 1.24×10^7 ,对应有效 Hi-C 相互作用对为 7.51×10^7 ,占总测序序列的 14.42%。在比对过程中,低比对质量序列和非唯一比对序列分别占 32.74%和 42.74%,未比对序

列所占比例较低(0.67%)。无效连接类型中,同一限制性片段序列和悬挂末端序列分别占 17.15%和 10.80%,重复序列比例为 4.97%。在有效 Hi-C 联系对中,染色体长程互作($\geq 20\text{ kb}$)占比最高,达到 60.10%,而染色体间互作占 27.73%。不同读段方向(inward,outward,left 和 right)分布较为均衡,表明文库构建质量良好。hicBuildMatrix 根据有效成对比对的序列统计不同基因组区段之间的相互作用频率,生成 A 亚基因组初始的接触矩阵(图 1 III),矩阵背景均一、噪声较低,整体显示出较高的数据一致性与可靠性。总体而言,该样品 Hi-C 数据质量可靠,可满足后续染色质三维结构分析的需求。

2.2 1B/1R 易位背景下小麦 A 亚基因组染色质 A/B 区室及亚区室的变化特征

基于 Hi-C 数据的分析,对宛麦 270 与不含 1B/1R 片段的 NIL270 在 A 亚基因组尺度上的染色质 A/B 区室组成进行比较,识别到多处发生区室状态转换的差异区段。整体来看,宛麦 270 在 A 亚基因组中共鉴定到 194 个 A $\rightarrow$ B 转换区段以及 364 个 B $\rightarrow$ A 转换区段。就区段数量而言,B $\rightarrow$ A 转换区段数量明显高于 A $\rightarrow$ B 转换区段,表明



I :宛麦 270 的荧光原位杂交,绿色标记显示 1B/1R 易位染色体(箭头所示); II :宛麦 270 近等基因系(NIL270)的荧光原位杂交,无 1B/1R 易位信号(非易位对照); III :宛麦 270 的 A 亚基因组 Hi-C 平衡化接触矩阵,展示 A 亚基因组内染色体间及染色体内的整体互作模式。chr1A~chr7A 分别指 1A~7A 染色体。

I : Fluorescence *in situ* hybridization(FISH) image of Wanmai 270, showing the 1B/1R translocation chromosomes marked by green signals(arrows); II : FISH image of the Wanmai 270 near-isogenic line(NIL270) lacking the 1B/1R translocation, used as the non-translocation control; III : Balanced Hi-C contact matrix of the A subgenome in Wanmai 270, showing the global intra-and inter-chromosomal interaction patterns. chr1A~chr7A referto chromosomes 1A~7A, respectively.

图 1 宛麦 270 1B/1R 易位鉴定和 A 亚基因组互作特征

Fig. 1 Identification of the 1B/1R translocation in Wanmai 270 and chromatin interaction patterns of the A subgenome

在两种材料之间,宛麦 270 的 A 亚基因组中存在较多由相对封闭状态向相对开放状态转变的染色质区域。对应的区段总长度亦呈现出相似趋势,其中 A→B 转换区段的累计长度为 288.25 Mb,而 B→A 转换区段的累计长度达到 1 095.25 Mb,说明在 A 亚基因组中,宛麦 270 的区室状态重排主要以 B→A 转换为主。从染色体尺度进一步分析发现,A/B 区室转换区段在不同 A 亚基因组染色体上的分布并不均一,呈现出明显的染色体特异性(图 2 I)。其中,4A 染色体上检测到的区室转换区段总数最多(共 125 个),且累计转换长度最高(391.75 Mb),表明该染色体在宛麦 270 与不含 1B/1R 片段的近等基因系之间经历了更为显著的区室状态重排。3A 染色体(78 个)与 7A 染色体(72 个)的 B→A 转换区段数量较为突出,显示其区室状态变化具有明显偏向性。相比之下,6A 染色体上检测到的转换区段总数最少(42 个)且累计长度最低(51.00 Mb),其整体区室状态在两种材料间相对稳定。本结果表明,两个材料 A 亚基因组内部不同染色体在 A/B 区室层级上对 1B/1R 易位背景的空间响应程度存在明显差异。

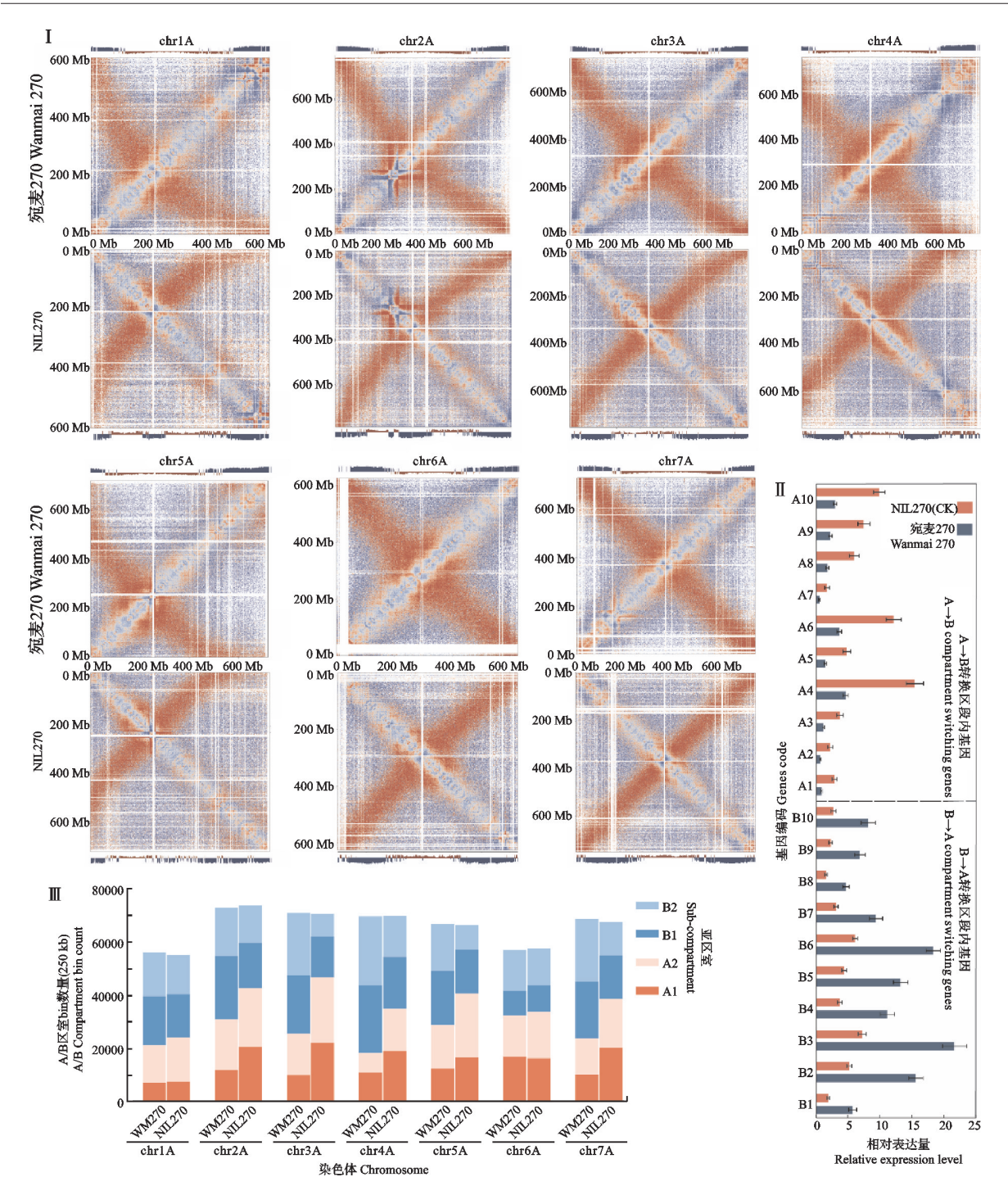
为验证区室状态转换与基因表达变化之间的关联性,对区室转换最明显的 4A 染色体上位于转换区段内的 20 个差异基因进行了 qRT-PCR 相对表达量检测(图 2 II)。结果显示,A→B 转换区段内基因(A1~A10)在宛麦 270 中与其近等基因系相比表达水平整体呈下降趋势,而 B→A 转换区段内基因(B1~B10)则表现为宛麦 270 与其近等基因系相比表达水平上调,表达变化方向与区室状态转换趋势一致。研究结果进一步支持区室转换与转录活性变化之间存在协同关系。

为系统评估染色质区室层级的空间组织特征,进一步对宛麦 270 与近等基因系在 A 亚基因组上的亚区室组成进行了比较分析(图 2 III)。结果显示,两种材料在 A 亚基因组中均呈现出清晰的亚区室分化结构,但在不同亚区室类型的组成比例上存在明显差异。整体而言,宛麦 270 在 A 类亚区室(A1 和 A2)的比例相对降低,而 B 类亚区室(B1 和 B2)的比例相对升高。宛麦 270 的 A1 和 A2 亚区室分别占 A 亚基因组长度的 16.87%和 22.10%,而在近等基因系中,对应比例分别为 26.37%和 30.30%;相应地,宛麦 270 中 B1 与 B2 亚区室的占比分别提高至 30.47%和 30.56%,均

高于近等基因系中的 23.97%和 19.36%。进一步比较每条染色体的亚区室组成发现,在 1A 和 3A 染色体上,宛麦 270 中 A1 与 A2 亚区室比例较近等基因系明显降低,而 B1 与 B2 亚区室比例同步升高,表现出由 A 类亚区室向 B 类亚区室偏移的染色质空间组织特征。其中,A 类亚区室(A1/A2)的降低幅度在这两条染色体上最为显著,而 B 类亚区室(B1/B2)在宛麦 270 中占据更高比例,表明其染色质空间状态发生了较为明显的重构。相比之下,6A 染色体上不同亚区室类型在两种材料间的组成比例变化幅度最小,其 A1/A2 与 B1/B2 亚区室比例整体保持相对稳定,显示该染色体在亚区室层级上的空间组织较为保守。值得注意的是,7A 染色体在宛麦 270 中同样表现出 B 类亚区室比例上升、A 类亚区室比例下降的趋势,其变化幅度虽低于 1A 和 3A 染色体,但明显高于 6A 染色体,表明其在亚区室层级上并非高度稳定,而是发生了一定程度的空间组织调整。总之,1B/1R 易位背景下的 A 亚基因组在亚区室层级上的空间重塑呈现出明显的染色体特异性特征,其中 1A 和 3A 染色体的亚区室重构最为显著,而 6A 染色体的空间组织相对稳定,其余染色体则表现出不同程度的中间型变化。

2.3 1B/1R 易位背景下小麦 A 亚基因组 TAD 结构特征

基于 Hi-C 数据在 50 kb 分辨率下识别 A 亚基因组的拓扑关联结构域(TAD),系统比较宛麦 270 与不含 1B/1R 片段的近等基因系 NIL270 在 TAD 数量、尺度分布及局部结构特征上的差异。在宛麦 270 中,1A~7A 染色体上分别识别到 547、738、747、676、684、588 和 710 个 TAD,不同染色体间 TAD 数量存在一定波动,其中 2A 与 3A 染色体的 TAD 数量相对较多,而 1A 与 6A 染色体较少。近等基因系在对应染色体上的 TAD 数量分别为 539、706、744、683、691、568 和 677 个,整体分布趋势与宛麦 270 相似,在部分染色体上存在一定差异。从 TAD 大小分布来看(表 2),宛麦 270 在 A 亚基因组各染色体上的 TAD 总覆盖长度介于 587.80~790.45 Mb,平均 TAD 大小主要分布在 1 006.36~1 115.16 kb,中位数多集中于 750~800 kb。近等基因系 NIL270 的 TAD 总覆盖长度介于 600.20~791.05 Mb,平均 TAD 大小分布在 1 011.42~1 120.47 kb,中位数同样集中于 750~800 kb 区间。总体



I : 基于 Hi-C 数据构建的 A 亚基因组染色体的染色质 O/E 接触矩阵热图(1 Mb 分辨率); 横纵坐标分别表示染色体上的基因组位置(Mb); 颜色由蓝到红表示标准化后的接触频率由低到高; 热图上方与下方的条形注释分别表示对应染色体区域的 A/B 区室状态, 其中红色代表 A 区室, 蓝色代表 B 区室; II : 位于 A/B 区室转换区段的 20 个差异表达基因的 qRT-PCR 相对表达量, A1~A10 为在宛麦 270 中由 A 区室转换为 B 区室的基因; B1~B10 为由 B 区室转换为 A 区室的基因; III : 宛麦 270 与其近等基因系在 A 亚基因组各染色体上的 A/B 亚区室组成统计。chr1A~chr7A 分别指 1A~7A 染色体。

I : Chromatin observed/expected(O/E) contact heatmaps of A subgenome chromosomes constructed from Hi-C data(1 Mb resolution); Genomic coordinates along the chromosomes are shown on both axes in megabases(Mb); Colors range from blue to red, indicating low to high normalized contact frequencies, respectively; Tracks above and below each heatmap indicate A/B compartment states along the corresponding chromosomal regions, with red representing A compartments and blue representing B compartments; II : qRT-PCR of 20 differentially expressed genes located within A/B compartment translocation regions; genes A1–A10 correspond to loci that shifted from A to B compartments in Wanmai 270, whereas genes B1–B10 indicate those shifted from B to A compartments; III : Quantitative comparison of A/B sub-compartment composition across A subgenome chromosomes in Wanmai 270 and NIL270. chr1A—chr7A refer to chromosomes 1A—7A, respectively.

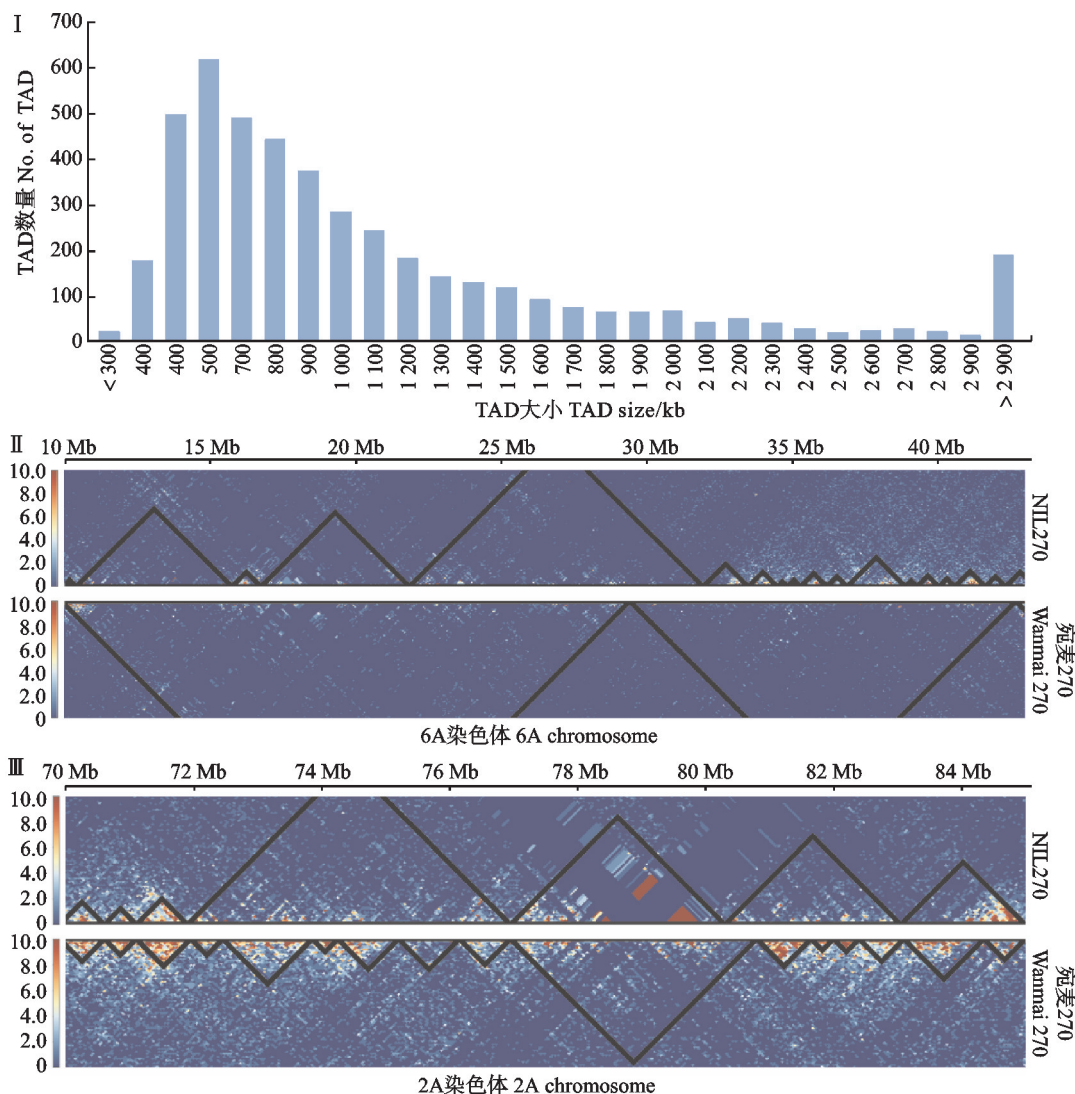
图 2 宛麦 270 与其近等基因系在 A 亚基因组染色体上的三维染色质结构、区室转换基因表达及亚区室组成比较

Fig. 2 Three-dimensional chromatin organization, expression of compartment-translocation genes, and sub-compartment distribution in the A subgenome between Wanmai 270 and its NIL270

而言,两种材料在 A 亚基因组尺度上的 TAD 大小分布高度相似,表明染色体层级的三维结构组织整体较为保守。尽管整体特征一致,在部分染色体上仍可观察到局部差异。如在 1A 染色体上,宛麦 270 检测到 547 个 TAD,平均 TAD 大小为 1 074.59 kb,而近等基因系 NIL270 中 539 个 TAD,平均大小为 1 113.54 kb,显示两种材料在 TAD 数量与尺度分布上存在细微差别。

进一步对宛麦 270 的 TAD 大小频率进行统计分析(图 3 I)发现,大多数 TAD 集中于 400~

1 000 kb 区间,其中 500~700 kb 区间内的 TAD 数量达到峰值,而大于 2 000 kb 的超大 TAD 数量较少,表明 A 亚基因组以中等尺度 TAD 为主。为直观比较局部染色质折叠差异,按差异大小选取 6A、2A 染色体上的代表性区段进行可视化分析(图 3 II 和图 III)。在 6A 染色体的局部区域中,近等基因系 NIL270 显示出多个相对独立、边界清晰的 TAD 结构,而宛麦 270 在相同区段内呈现出跨度更大的连续 TAD,部分相邻 TAD 显示出合并趋势,TAD 边界分布相对简化。类似的结



I : A 亚基因组中拓扑相关结构域(TAD)大小的分布直方图; II : 6A 染色体 10~43 Mb 区域的 Hi-C O/E 接触矩阵示例,颜色由蓝到红表示标准化后的接触频率由低到高,黑色折线表示基于 Hi-C 数据识别的 TAD 边界; III : 2A 染色体 70~85 Mb 区域的 Hi-C O/E 接触矩阵示例。

I : Histogram showing the size distribution of topologically associated domains(TADs) on the A subgenome; II : Hi-C observed/expected(O/E) contact heatmaps of a representative region on chromosome 6A(10—43 Mb), colors from blue to red indicate low to high normalized contact frequencies, respectively, black lines denote TAD boundaries identified from Hi-C data; III : Hi-C O/E contact heatmaps of a representative region on chromosome 2A(70—85 Mb).

图 3 A 亚基因组 TAD 大小分布特征及代表性染色体区域的局部三维结构比较

Fig. 3 TAD size distribution and local 3D chromatin architecture on representative regions of the A subgenome

表 2 宛麦 270 和其近等基因系 NIL270 A 亚基因组 TAD 大小分布情况

Table 2 Size distribution of TADs on the A subgenome chromosomes in Wanmai 270 and its NIL270

样本 Sample	染色体 Chromosome	TAD 总数 Total TADs	总大小 Total size/Mb	最小 TAD Minimum TAD/kb	最大 TAD Maximum TAD/kb	平均 TAD Mean TAD/kb	中位数 TAD Median TAD/kb
宛麦 270 Wanmai 270	chr1A	547	587.80	250	6 600	1 074.59	750
	chr2A	738	790.45	200	11 950	1 071.07	750
	chr3A	747	751.75	100	12 500	1 006.36	750
	chr4A	676	753.85	225	13 900	1 115.16	800
	chr5A	684	716.60	250	13 500	1 047.66	750
	chr6A	588	623.60	250	10 100	1 060.54	800
	chr7A	710	746.45	200	9 300	1 051.34	750
NIL270	chr1A	539	600.20	250	7 250	1 113.54	800
	chr2A	706	791.05	200	9 700	1 120.47	800
	chr3A	744	752.50	200	9 650	1 011.42	800
	chr4A	683	754.05	100	11 850	1 104.03	800
	chr5A	691	705.30	200	10 250	1 020.69	750
	chr6A	568	623.60	200	19 525	1 097.89	800
	chr7A	677	742.85	225	8 550	1 097.27	800

chr1A~chr7A 分别指 1A~7A 染色体。
chr1A—chr7A refer to chromosomes 1A—7A, respectively.

构差异在 2A 染色体的局部区域中同样可以观察到,表明宛麦 270 在部分染色体区段中发生了 TAD 边界重组或结构整合。综合认为,宛麦 270 与其不含 1B/1R 易位片段的近等基因系 NIL270 在 A 亚基因组中均维持稳定的 TAD 结构框架,但在部分染色体及局部区域中,TAD 的数量、尺度及边界组织方式存在可检测差异。

2.4 A 亚基因组 A/B 区室差异区段内基因的转录响应及功能富集特征

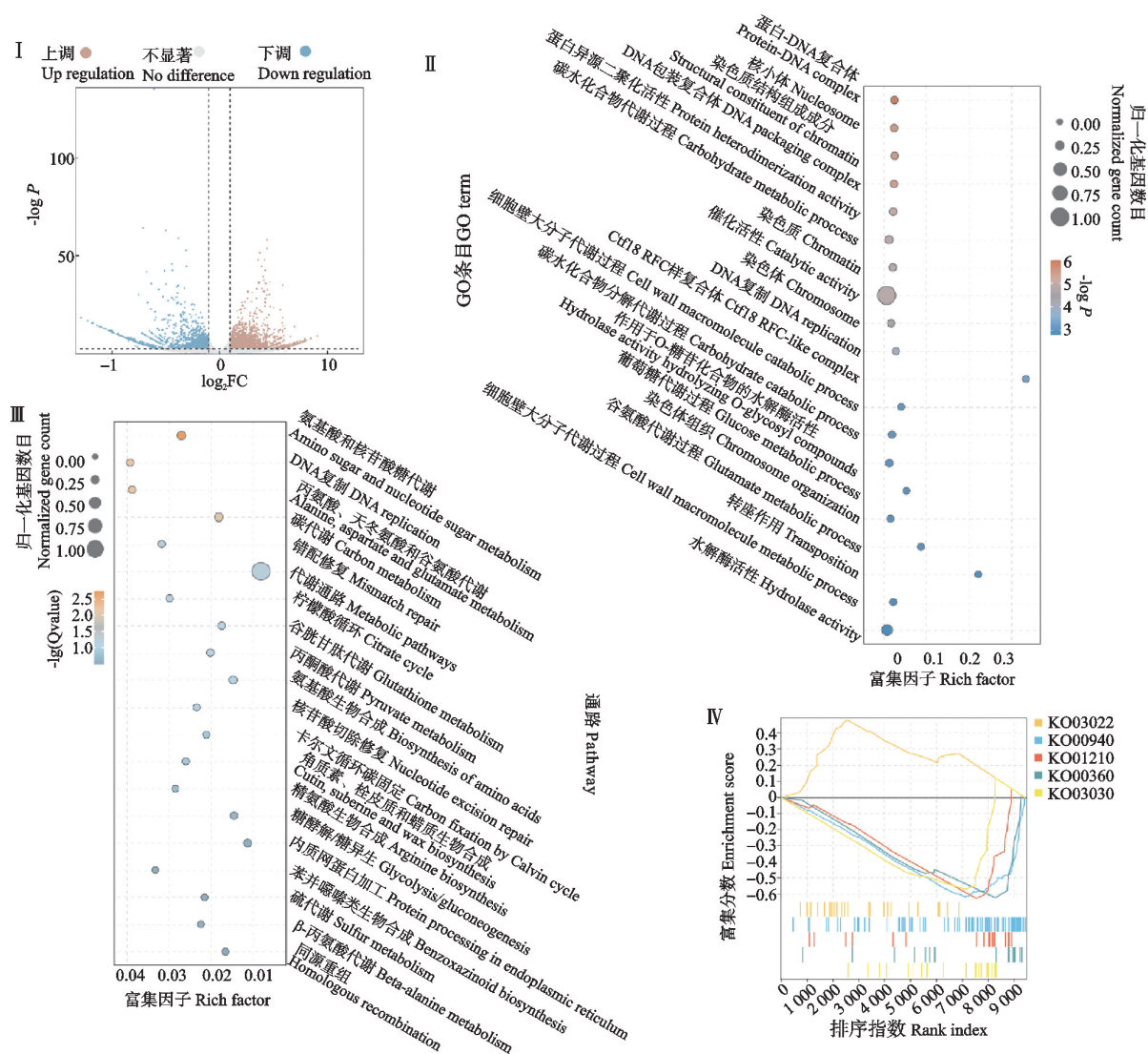
A/B 区室转换区段内的基因分布统计结果显示,在 A 亚基因组范围内,宛麦 270 相较于其近等基因系 NIL270 的 A→B 转换区段共包含 14 025 个基因,而 B→A 转换区段内包含 7 169 个基因,尽管 B→A 转换区段数量更多,但 A→B 区段覆盖的基因数目更高。结合转录组测序对 A/B 区室转换区段内的基因进行表达量分析,发现转换区段内有 1 773 个基因表达量上调,1 333 个基因表达量下调(图 4 I)。差异表达基因 GO 富集分析结果显示(图 4 II),在生物过程层面,差异表达基因主要富集于 DNA 复制(GO:0006260)、碳水化合物代谢及分解代谢过程(GO:0005975,GO:0016052,GO:0006006)、谷氨酸代谢过程(GO:0006536)以及细胞壁大分子分解与代谢相关过程(GO:0016998,GO:0044036),表明这些基因在遗传信息维持及基础物质代谢调控中具有重要作

用。在分子功能层面,差异表达基因显著富集于催化活性(GO:0003824)、水解酶活性(GO:0016787)、作用于 O-糖苷化合物的水解酶活性(GO:0004553)以及蛋白异源二聚化活性(GO:0046982),发生表达变化的基因多为直接参与生化反应和分子互作的功能执行型分子。在细胞组分层面上,差异表达基因主要定位于蛋白-DNA 复合体(GO:0023993)、核小体(GO:0000786)、染色质结构组成成分(GO:0030527)等通路,并涉及染色体组织(GO:0051276)和 Ctf18 RFC 样复合体(GO:0031390),表明染色质结构与复制相关复合体是差异表达基因的重要功能定位区域。总体来看,GO 富集结果显示差异表达基因在染色质结构调控、DNA 复制及基础代谢等多个功能层级中呈现出高度集中分布特征。

KEGG 通路富集分析结果(图 4 III)显示,显著富集的通路主要集中于氨基糖和核苷酸糖代谢(KO00520)、DNA 复制(KO03030)、丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸代谢(KO00250),同时涉及错配修复(KO03430)、核苷酸切除修复(KO03420)以及同源重组(KO03440)等基因组稳定性相关通路。此外,柠檬酸循环(KO00020)、谷胱甘肽代谢(KO00480)、丙酮酸代谢(KO00620)等能量与物质代谢通路亦显著富集。研究结果表明,差异表达基因广泛参与遗传信息处理与多条基础

代谢通路,呈现出多通路协同变化的特征。为进一步从整体表达趋势层面评估功能通路在两种材料中的差异,对 KEGG 有代表性的通路进行了 GSEA 分析(图 4Ⅳ)。结果显示,基础转录因子通路(KO03022)在排序基因列表中呈现正向富集趋势,表明该通路相关基因在宛麦 270 中整体表达水平较高;而苯丙烷类生物合成(KO00940)、2-氧代羧酸代谢(KO01210)、苯丙氨酸代谢(KO00360)以及 DNA 复制通路(KO03030)则表现为负向富集,其富集曲线在排序列表后段

达到极值,说明这些通路在不含 1B/1R 片段的近等基因系 NIL270 中整体表达水平相对更高。GSEA 分析结果与 KEGG 富集分析在通路类型上形成互补,一方面显示差异表达基因涉及多条代谢与遗传信息处理通路,另一方面揭示这些通路在整体表达水平上的方向性差异。总之,1B/1R 影响的 A 亚基因组在 A/B 区室转换区段的基因差异表达并非导致通路的全面激活或抑制,而更可能体现通路内部基因表达的精细化调整。



Ⅰ: 差异表达基因的火山图; Ⅱ: 差异表达基因的 GO 富集分析; Ⅲ: 差异表达基因的 KEGG 通路富集分析; Ⅳ: A/B 区室转换区段内差异表达基因在代表性 KEGG 通路中的 GSEA 分析结果,横坐标表示排序基因列表中的基因排名,底部刻线表示对应通路基因在排序基因列表中的分布位置。所展示的通路包括:基础转录因子(KO03022)、苯丙烷类生物合成(KO00940)、2-氧代羧酸代谢(KO01210)、苯丙氨酸代谢(KO00360)和 DNA 复制(KO03030)。

Ⅰ: Volcano plot of differentially expressed genes; Ⅱ: Gene Ontology(GO) enrichment analysis for differentially expressed genes; Ⅲ: KEGG pathway enrichment analysis for differentially expressed genes; Ⅳ: Gene set enrichment analysis(GSEA) of representative KEGG pathways for differentially expressed genes located in A/B compartment translocation regions; the x-axis indicates the gene rank in the ranked gene list, and vertical ticks at the bottom represent the positions of pathway-associated genes in the ranked list. The displayed pathways include basal transcription factors (KO03022), phenylpropanoid biosynthesis (KO00940), 2-oxocarboxylic acid metabolism (KO01210), phenylalanine metabolism (KO00360), and DNA replication (KO03030).

图 4 A/B 区室转换区段差异表达基因的功能富集特征与通路富集分析

Fig. 4 Functional and pathway enrichment of differentially expressed genes associated with A/B compartment translocation regions

3 讨论

1B/1R易位是小麦育种中最具代表性的染色体结构变异之一,与抗病性、产量稳定性及环境适应性等重要农艺性状密切相关^[2]。然而,已有研究主要聚焦于易位染色体本身的遗传效应,对于其是否会对非易位亚基因组的三维染色质结构产生影响缺乏系统认识。本研究以1B/1R易位系品种宛麦270及其不含1B/1R片段的近等基因系NIL270为材料,基于Hi-C技术从三维基因组层面对A亚基因组的空间组织特征进行了系统比较,为揭示染色体结构变异的跨亚基因组效应提供了新的证据。在A/B区室层级上,宛麦270与NIL270在A亚基因组中识别到大量区室状态发生转换的差异区段,且整体以B→A转换为主,表明在易位背景下,A亚基因组中部分区域由相对封闭状态向相对开放状态转变。这种区室重排在不同染色体间呈现明显的不均一性,部分染色体(1A、3A和4A)区室转换更为显著,而另一些染色体(6A)整体保持相对稳定,推测A亚基因组内部不同染色体对1B/1R易位背景的空间响应程度存在差异。

进一步的亚区室分析显示,尽管B→A转换区段在数量上占优势,但亚区室分析显示宛麦270在A亚基因组整体上表现为A1/A2比例下降、B1/B2比例升高。需要指出的是,A/B区室转换与亚区室比例变化分别反映不同层级的空间组织特征:前者强调局部区段的状态转换事件,后者反映整体染色质在核内空间中的重新分配。由于亚区室类型并不完全等同于A/B区室所代表的“开放/封闭”状态,其变化更多反映空间结构及功能分区的差异,例如增强子、启动子及其他调控元件的组织方式,而不是A/B区室的直接对应关系。因此二者可以同时存在,并共同指示不同尺度的空间重塑过程。在染色体尺度上,1A和3A染色体的亚区室变化尤为明显,其A类亚区室比例显著降低而B类亚区室比例同步升高,表明这些染色体在宛麦270中整体空间状态更偏向于相对封闭的染色质构象;相比之下,6A染色体在不同亚区室类型上的比例变化较小,显示出较高的结构稳定性。

在更精细的TAD层级上,宛麦270与其近等基因系NIL270在A亚基因组整体上均保持了清晰且连续的TAD结构框架。两种材料在

TAD数量、平均大小和中位数分布等指标上高度相似,说明染色体尺度的三维折叠模式整体较为保守。然而,在部分染色体的局部区段中仍观察到明显差异,例如宛麦270在2A和6A染色体的特定区域中出现了TAD合并、边界简化或跨度增大的现象。这类局部结构重塑并未显著改变全染色体层面的TAD统计特征,但可能通过改变基因与其顺式调控元件的空间邻域关系,对特定基因簇的协同表达产生影响,为某些与抗病性、适应性或产量稳定性相关基因提供新的调控空间基础。

将三维结构变化与转录组数据相结合的功能分析进一步揭示了这些空间重构的潜在生物学意义。GO和KEGG富集结果显示,A/B区室转换区段内的差异表达基因主要涉及染色质组织、DNA复制、碳水化合物代谢、氨基酸代谢及细胞壁相关过程等功能模块,表明区室转换并非随机发生,而更倾向于作用于具有重要生理功能的基因区域。GSEA分析表明,多条基础代谢和遗传信息处理相关通路在两种材料中呈现出整体富集方向的差异,但并未在宛麦270中表现为系统性的通路整体激活,而是更多体现为通路内部部分基因的差异表达。这一结果与区室和TAD层级上观察到的局部结构重塑特征相一致,表明宛麦270的转录调控更可能依赖于精细化、区域化的调控模式。

本研究表明1B/1R易位可能通过改变核内染色体互作网络在不破坏A亚基因组整体三维结构稳定性的前提下,引发了非易位亚基因组的区室、亚区室及局部TAD层级的空间重塑,并通过改变基因所处的空间调控环境影响其转录响应。这种跨亚基因组的三维结构联动,可能是多倍体小麦在结构变异背景下维持基因功能协调与表型稳定的重要机制之一,也为今后在小麦遗传改良中综合考虑染色体结构变异与三维基因组调控奠定了理论基础。

参考文献:

- [1]肖军,鲁非,邓娴,等.植物基因组与表观遗传学研究进展[J].植物生理学报,2023,59(9):1665.
XIAO J, LU F, DENG X, *et al.* Research progress of plant genomics and epigenetics [J]. *Plant Physiology Journal*, 2023, 59(9):1665.
- [2]苏亚蕊,王子成,张大乐,等.黄淮麦区以1B/1R类品种为抗源主要育成小麦品种的遗传多样性分析[J].植物遗传资源学报,2006,7(3):321.
SU Y R, WANG Z C, ZHANG D L, *et al.* Genetic diversity of

- Huanghuai river zone wheat varieties which originated from 1B/1R by SSR [J]. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2006, 7(3):321.
- [3] 李峰奇, 韩德俊, 魏国荣, 等. 黄淮麦区 126 个小麦品种(系)抗条锈病基因的分子检测[J]. 中国农业科学, 2008, 41(10): 3060.
- LI F Q, HAN D J, WEI G R, *et al.* Molecular detection of stripe rust resistant genes in 126 winter wheat varieties from the Huanghuai wheat region [J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2008, 41(10):3060.
- [4] JIA J Z, XIE Y L, CHENG J F, *et al.* Homology-mediated inter-chromosomal interactions in hexaploid wheat lead to specific subgenome territories following polyploidization and introgression [J]. *Genome Biology*, 2021, 22(1):26.
- [5] LIEBERMAN-AIDEN E, VAN BERKUM N L, WILLIAMS L, *et al.* Comprehensive mapping of long-range interactions reveals folding principles of the human genome [J]. *Science*, 2009, 326(5950):289.
- [6] DEKKER J, MIRNY L. The 3D genome as moderator of chromosomal communication [J]. *Cell*, 2016, 164(6):1110.
- [7] GIBBUS J H, DEKKER J. The hierarchy of the 3D genome [J]. *Molecular Cell*, 2013, 49(5):773.
- [8] FRASER J, WILLIAMSON I, BICKMORE W A, *et al.* An overview of genome organization and how we got there: From FISH to hi-C [J]. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 2015, 79(3):347.
- [9] BOLZER A, KRETH G, SOLOVEI I, *et al.* Three-dimensional maps of all chromosomes in human male fibroblast nuclei and prometaphase rosettes [J]. *PLoS Biology*, 2005, 3(5):e157.
- [10] CROFT J A, BRIDGER J M, BOYLE S, *et al.* Differences in the localization and morphology of chromosomes in the human nucleus [J]. *The Journal of Cell Biology*, 1999, 145(6):1119.
- [11] DIXON J R, SELVARAJ S, YUE F, *et al.* Topological domains in mammalian genomes identified by analysis of chromatin interactions [J]. *Nature*, 2012, 485(7398):376.
- [12] FRASER J, FERRAI C, CHIARIELLO A M, *et al.* Hierarchical folding and reorganization of chromosomes are linked to transcriptional changes in cellular differentiation [J]. *Molecular Systems Biology*, 2015, 11(12):MSB156492.
- [13] RAO S S P, HUNTLEY M H, DURAND N C, *et al.* A 3D map of the human genome at kilobase resolution reveals principles of chromatin looping [J]. *Cell*, 2014, 159(7):1665.
- [14] DIXON J R, JUNG I, SELVARAJ S, *et al.* Chromatin architecture reorganization during stem cell differentiation [J]. *Nature*, 2015, 518(7539):331.
- [15] NORA E P, LAJOIE B R, SCHULZ E G, *et al.* Spatial partitioning of the regulatory landscape of the X-inactivation centre [J]. *Nature*, 2012, 485(7398):381.
- [16] SEXTON T, YAFFE E, KENIGSBERG E, *et al.* Three-dimensional folding and functional organization principles of the *Drosophila* genome [J]. *Cell*, 2012, 148(3):458.
- [17] CRANE E, BIAN Q, MCCORD R P, *et al.* Condensin-driven remodelling of X chromosome topology during dosage compensation [J]. *Nature*, 2015, 523(7559):240.
- [18] HSIEH T S, WEINER A, LAJOIE B, *et al.* Mapping nucleosome resolution chromosome folding in yeast by micro-C [J]. *Cell*, 2015, 162(1):108.
- [19] DIXON J R, GORKIN D U, REN B. Chromatin domains: The unit of chromosome organization [J]. *Molecular Cell*, 2016, 62(5):668.
- [20] WANG C M, LIU C, ROQUEIRO D, *et al.* Genome-wide analysis of local chromatin packing in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Genome Research*, 2015, 25(2):246.
- [21] WANG N, WANG Z D, TZOURTZOU S, *et al.* The plant nuclear *Lamina* disassembles to regulate genome folding in stress conditions [J]. *Nature Plants*, 2023, 9(7):1081.
- [22] WANG Z J, MIAO L F, TAN K W, *et al.* Near-complete assembly and comprehensive annotation of the wheat Chinese Spring genome [J]. *Molecular Plant*, 2025, 18(5):892.