

染色体三维空间构象变化在拟南芥叶片衰老过程中的功能分析

彭冲龙, 陈茂盛*

(云南民族大学 民族医药学院, 昆明 650500)

摘要: 叶片是植物进行光合作用的主要器官, 是植物所需能量与有机营养的根本来源。为探究染色体三维构象变化在拟南芥叶片衰老过程中对基因表达的影响, 该研究基于拟南芥叶片在幼年、成年、衰老 3 个关键发育时期的转录组数据和三维基因组数据, 系统分析了拟南芥叶片衰老过程中染色质空间构象的动态变化及其与基因表达的关联。结果表明: (1) 拟南芥的衰老过程中涉及大量基因的时期特异性差异表达, 是一个分阶段、多层次的调控过程。(2) 拟南芥的衰老过程中染色体空间组织结构的有序性逐渐降低, 染色质间的相互作用强度与线性基因组距离之间的相关性逐渐减弱。(3) 拟南芥的衰老过程中基因表达和染色质空间构象变化之间具有一定的耦连和调控作用, 在叶片成熟期尤为明显, 整体表现为促进上调基因的表达, 并抑制下调基因的表达。该研究初步揭示了衰老并不是植物被动的走向死亡, 而是一个主动、程序化的过程, 为解析植物发育和衰老的调控机制奠定了三维基因组层面的基础。

关键词: 叶片发育, 衰老, 转录组, Hi-C, 调控

中图分类号: Q943 **文献标识码:** A

Functional analysis of three-dimensional chromosomal conformational changes during leaf senescence in

Arabidopsis thaliana

PENG Chonglong, CHEN Maosheng*

(Yunnan Minzu University, Kunming 650500)

Abstract: As the primary photosynthetic organ, leaves serve as a crucial source of energy and nutrients for plants. To investigate the impact of three-dimensional chromatin conformation changes on gene expression during leaf senescence, we systematically analyzed the dynamic changes in chromatin spatial conformation and their association with gene expression across three developmental stages of *Arabidopsis* leaves (juvenile, mature, and senescent), based on transcriptomic and 3D genomic data. The results showed that a large number of genes are involved in leaf senescence, with stage-specific differentially expressed genes, indicating a stepwise and multi-level regulatory process. During senescence, the spatial organization of chromatin becomes progressively less ordered, and the correlation between chromatin interaction strength and linear genomic distance gradually weakens. Gene expression and chromatin spatial conformation changes are coupled and exert mutual regulation, which is particularly prominent during the mature stage, generally promoting the expression of upregulated genes and suppressing

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (31971628); 云南基础研究项目 (202205AC160030); 中国科学院西双版纳热带植物园“十四五”科技创新规划项目 (E32KFF7B01)。

第一作者: 彭冲龙(2000—), 硕士研究生, 主要研究方向为拟南芥发育过程中表观遗传修饰的调控作用, (E-mail)93424633@qq.com。

***通信作者:** 陈茂盛, 博士, 副研究员, 研究方向为木本植物花发育研究、表观遗传修饰在植物发育过程中的调控作用, (E-mail)chenms@xtbg.org.cn。

that of downregulated genes. This study preliminarily reveals the tight coupling between gene expression and chromatin spatial conformation dynamics during *Arabidopsis* leaf senescence, providing a new perspective for elucidating the regulatory mechanisms of plant development and senescence.

Key words: leaf development, senescence, transcriptome, Hi-C, regulation

衰老是叶片发育的终端程序化阶段, 涉及叶绿素、蛋白质、核酸和脂类等大分子物质的分解, 其降解产物作为营养物质被输送至活跃生长部位重新利用 (Ay et al., 2009)。伴随叶片从幼年经成年至衰老的发育进程, 叶色、细胞器结构、生理代谢活动及基因表达谱均发生显著变化 (Hohmann-Marriott et al., 2011), 且受复杂调控网络与多种内外因素协同影响 (Woo et al., 2019)。叶片衰老并非转录因子级联激活与代谢通路被动衰退的线性过程 (Cao et al., 2002), 而是以完整功能模块为单位协同发生, 线性调控逻辑无法解释这种协同是否暗示衰老存在更高层级的调控机制。高通量染色质构象捕获 (high-throughput chromosome conformation capture, Hi-C) 技术为解析上述问题提供了新视角, 真核生物基因组在细胞核内并非线性随机排列, 而是经有序折叠形成层级化三维结构, 在物理空间上增加转录因子、调控元件与启动子间的接触概率, 进而实现基因的协同转录调控 (Bonev et al., 2017)。迄今, 水稻、玉米和辣椒等作物的染色质三维基因组结构特征已相继被解析 (Peng et al., 2019; Zhao et al., 2019; Liao et al., 2022)。水稻与拟南芥三维基因组的比较分析表明, 水稻基因组中存在大量边界清晰的拓扑关联结构域 (TAD), 而拟南芥基因组则缺乏典型 TAD 结构, 表明染色质三维基因组结构存在物种间差异 (Wang et al., 2015; Chang et al., 2017)。在衰老调控方面, Cao 等 (2024) 发现核纤层蛋白 KAKU4 缺失可降低 H3K27me3 在 SARD1、SAG113/HAI1 等衰老相关基因位点的沉积, 加速衰老, 证明表观修饰对染色质结构与衰老基因表达的关键调控作用。同时, 衰老细胞中染色质长距离相互作用呈衰减趋势 (Anna-Maria et al., 2024), 转录因子 SbWRKY50 亦可通过抑制性表观遗传修饰途径调控高粱叶片衰老 (Qin et al., 2023)。以上结果表明表观遗传修饰参与衰老进程, 但染色质三维构象变化在植物衰老过程中的作用缺乏系统分析, 具体调控机制有待解析。此外, 表观遗传修饰参与叶片衰老的调控, 染色质三维构象作为表观遗传调控的一个重要方面, 很可能也参与衰老进程。然而, 其在植物衰老过程中的动态变化规律及其与基因表达之间的调控关系仍缺乏系统分析, 具体作用机制仍未阐明。

因此, 本研究以模式植物拟南芥为材料, 选取幼年、成年和衰老三个发育阶段的叶片, 整合转录组测序与高通量染色质构象捕获数据, 系统解析叶片衰老过程中染色质空间构象的重塑特征及其与基因转录变化的关联性, 旨在从三维基因组层面为深入理解植物叶片衰老的分子调控机制提供新的视角, 并为后续作物延衰育种、养分再动员优化的研究奠定基础。

1 材料与方法

1.1 植物材料

拟南芥 (Columbia-0) 种子经表面消毒 (10%次氯酸钠处理 10 min, 无菌水冲洗 5 次) 后, 播种于 1/2 MS 培养基上。置于 4 °C 春化处理 2 d 后, 转移至植物生长室中培养。待幼苗生长至 1 周龄, 种植于在 (25±1) °C 的 16 h 光照/8 h 黑暗的周期条件下的土壤中。分别采集三个时期的叶片, 幼年期 (Young): 莲座叶展开后, 叶龄约 14 d, 叶片完全展开但未达最大面积。成年期 (Mature): 叶龄约 28 d, 叶片面积达最大, 叶色深绿, 光合能力最强。衰老期 (Old): 叶龄约 45 d, 叶片绿度下降超过 50%, 出现明显黄化。每时期设置 3 个生物学重复 (Y1 - Y3、M1 - M3、O1 - O3), 每个重复取自 10 株独立植株的混合叶片。样品采集后用于转录组测序的样品直接在液氮中速冻保存于 -80 °C 冰箱备用; 用于高通量染色

质构象捕获的样品先用 1%的甲醛固定后，再用液氮速冻保存于-80 °C 冰箱。

1.2 转录组测序和差异表达基因分析

使用 TRIzol 法提取叶片总 RNA，以 *Dnase I* 消化去除残留基因组 DNA。RNA 完整性通过 Agilent 2100 Bioanalyzer 检测，确保 RIN 值 ≥ 7.0 ；纯度与浓度以 NanoDrop 分光光度计评估，要求 $OD_{260/280}$ 为 1.8~2.1。取 1 μg 合格总 RNA，利用 Oligo(dT)磁珠富集 mRNA，随后以逆转录酶合成 cDNA 第一链，再合成第二链。对双链 cDNA 进行末端修复、加 A 尾、连接测序接头，经 PCR 扩增构建测序文库。文库质检合格后，在 Illumina NovaSeq 6000 平台进行双端 150 bp 测序。测序原始数据使用 Trim Galore (version 0.6.7; RRID: SCR_011847) 在默认参数下去除接头序列和低质量读段 (Phred 质量分数 < 20)。Clean reads 使用 SUBREAD 程序包 (version 1.6.2; RRID: SCR_009803) 中的 subread-align 工具比对到拟南芥参考基因组 (TAIR10) 上，参数设置为 -t 0、--SAMoutput、--keepReadOrder (Liao et al., 2013)。随后使用 Picard 软件中的 MarkDuplicates 命令标记并去除 PCR 重复序列。使用 htseq-count 命令计算基因表达水平，参数设置为 -f bam、-r pos、-t exon。差异表达基因 (differentially expressed genes, DEGs) 使用 edgeR 软件包 (version 1.46; RRID: SCR_012802) 进行筛选 (Robinson et al., 2010)。首先以 TMM (trimmed mean of M-values) 法进行标准化，随后采用拟似然比检验 (quasi-likelihood F-test) 进行差异分析。显著 DEGs 的筛选标准为：错误发现率 (false discovery rate, FDR) ≤ 0.01 ，且绝对倍数变化 ($|\log_2\text{FC}| \geq 1$)，即倍数变化 (fold change, FC) ≥ 2.0 。

1.3 Hi-C 文库的制备和数据分析

取经 1%甲醛固定后的叶片材料，提取细胞核。将细胞核重悬后，加入 62 °C 预热的 0.5% SDS 溶液处理 10 min，以透化核膜。随后加入 Triton X-100 至终浓度 2% (m/V)，37 °C 孵育 15 min 以淬灭 SDS。经 *DpnII* 限制性内切酶 (New England Biolabs, R0543) 于 37 °C 消化 4 h 后，62 °C 灭活 20 min。消化产物在 37 °C 下用 *Klenow* 酶 (New England Biolabs, M0210) 进行末端补齐，并掺入 Biotin-dCTP (Invitrogen, 19518018) 标记 30 min。随后加入 T4 DNA 连接酶 (New England Biolabs, M0202)，于 25 °C 进行平末端邻近连接 4 h。连接产物于 1,500 $\times g$ 离心 3 min，弃上清液，沉淀以 SDS 缓冲液 (50 mmol/L Tris-HCl, 1% SDS, 10 mmol/L EDTA, pH 8.0) 重悬，加入蛋白酶 K (TransGen Biotech, GE201) 于 55 °C 处理 30 min。随后补加 NaCl 至终浓度 0.5 mol/L，65 °C 孵育过夜以实现彻底解交联。解交联后的 DNA 经苯酚/氯仿抽提纯化后，使用超声波破碎仪 (Scientz II-D) 将 DNA 打断至 300~500 bp 的片段。利用链霉亲和素磁珠 (Life Technologies, 65002) 富集含生物素标记的 DNA 片段。对富集的 DNA 进行末端修复、3'端加 A，随后连接 Illumina 测序接头。经 PCR 扩增后，文库在 Illumina HiSeq X Ten 平台上进行双端 150 bp 测序。测序数据使用 Juicer pipeline (version 1.8.9; RRID: SCR_017226) (Durand et al., 2016) 进行处理，过滤 PCR 重复、自连接产物及低质量读段，生成二进制.hic 文件。利用 juicer_tools 基于 Knight-Ruiz (KR) 归一化方法构建多分辨率交互矩阵。利用特征向量算法 (eigenvector algorithm) 鉴定区室特征向量，其值的正负分别指示读段位于 A 区室或 B 区室；用 arrowhead algorithm 鉴定拓扑关联结构域 (topologically associating domains, TADs)，针对拟南芥基因组较小、TAD 特征较不显著的特点，TAD 边界识别在 5 kb 分辨率下进行。

1.4 数据分析与统计方法

转录起始位点 (transcription start site, TSS) 上游 1 500 kb 到 TSS 为基因启动子区。差异基因启动子区与 A/B 区室和 TADs 区域有重叠，则定义为此差异基因在 A/B 区室和 TADs 区域内，重叠区域计算使用 BEDtools 中的 intersect 命令 (version 2.31.0)。所有统计分析与图形绘制均在 R 环境 (version 4.3.2) 中完成，图形绘制采用 ggplot2 包 (version 3.2.1; RRID: SCR_014601)。组间差异的显著性检验使用 Wilcoxon 秩和检验 (双尾)。GO 富集

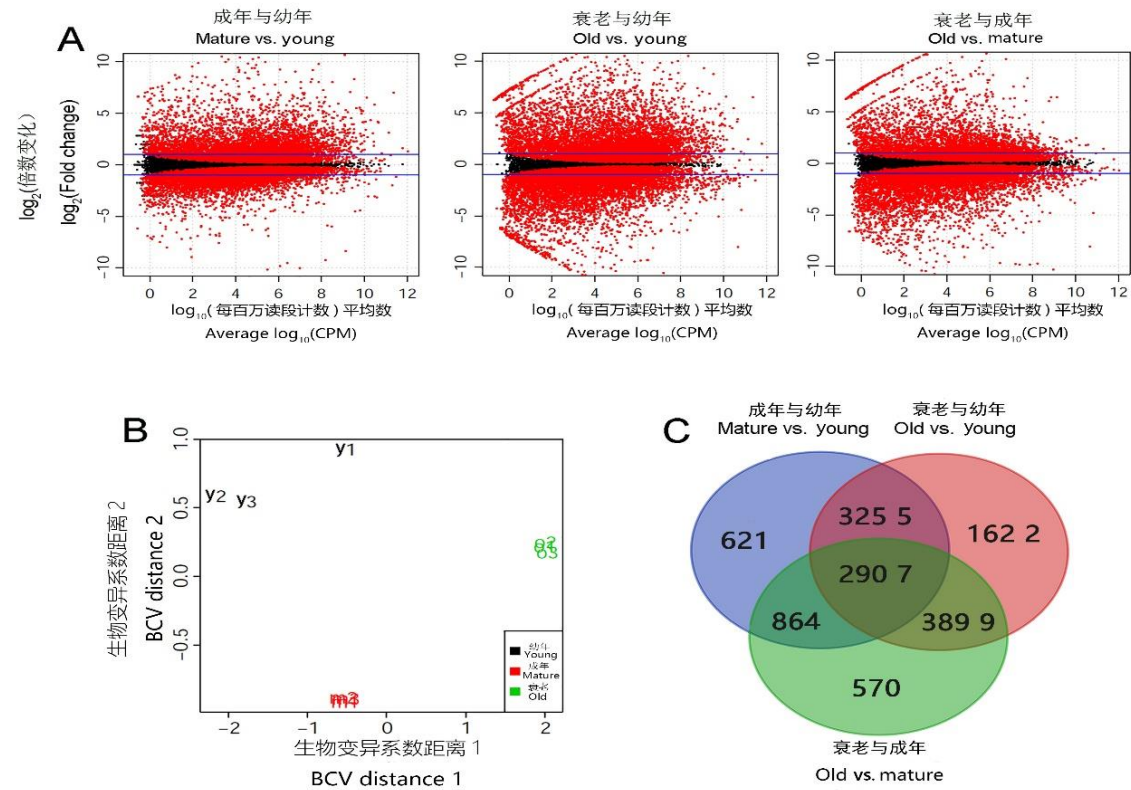
分析借助 DAVID 数据库 (Database for Annotation, Visualization and Integrated Discovery) 进行, 以错误发现率 (FDR) <0.05 作为显著富集的阈值 (Sherman et al., 2022)。原始测序数据来源于 Chen 等 (2025) 预印本中的部分数据。

2 结果与分析

2.1 叶片发育过程中基因表达变化的分析

对幼年、成年和衰老 3 个阶段的叶片进行了转录组测序, 共检测到 20 243 (占基因组注释基因总数的 73.6%) 个基因具有明显的转录活动, 其中 13 758 个是差异表达基因 (DEGs)

($FC \geq 2.0$; $FDR \leq 0.05$), 约占表达基因的 68.0% (图 1: A)。多维标度 (multidimensional scaling, MDS) 分析显示, 不同发育阶段的生物学重复样品很明显的分离 (图 1: B)。以上结果表明, 拟南芥叶片从幼年到衰老的发育过程中伴随着大规模的转录重编程, 每个时期均表现出特异的优势基因群体以适应叶片的生理生化形态。其中, 有 621 个 DEGs 特异参与幼年-成年阶段转换, 570 个特异参与成年-衰老阶段转换, 1 622 个特异参与幼年-衰老阶段转换 (图 1: C)。幼年和衰老叶片转换的差异表达基因数量是其他两组的 2.6~2.8 倍, 表明叶片的发育是一个相对有序过程, 相邻发育阶段间的转录组转变相对平稳; 而幼年与衰老阶段之间的发育跨度较大, 需要调动更多的基因表达变化以适应如此剧烈的阶段转换。



A. 差异表达基因的分布 (CPM 表示每百万计数); B. 不同阶段生物学重复样品的聚类分析 (y1、y2、y3 代表幼年叶片样品, m1、m2、m3 代表成年叶片样品, o1、o2、o3 代表衰老叶片样品, BCV 表示生物变异系数); C. 不同发育阶段样品间差异表达基因的重叠分析。

A. Distribution of differentially expressed genes (CPM indicates counts per million); B. Clustering analysis of biological replicates across developmental stages (y1, y2, y3 indicate young leaf samples, m1, m2, m3 indicate mature leaf samples, o1, o2, o3 indicate old leaf samples, BCV indicates biological coefficient of variation); C. Overlap analysis of differentially expressed genes among developmental stages.

图 1 拟南芥不同发育阶段的差异表达基因分析

Fig. 1 Analysis of differentially expressed genes in Arabidopsis across different developmental stages

GO 富集分析显示(图 2),幼年-成年转换的差异表达基因特异性富集于乙烯信号转导、细胞核定位、核糖体结构组分及 DNA 结合相关功能,表明该阶段以建立转录调控与翻译机器的核心能力为主要特征。成年-衰老转换的 DEGs 则富集于碳水化合物代谢过程和胞外区功能,提示衰老启动依赖于碳代谢重构及胞外组分的动态变化,以驱动营养物质的再分配。幼年-衰老转换的 DEGs 富集于叶绿体结构、内质网膜、RNA 代谢过程及 rRNA 结合等功能,表明衰老进程可能涉及从转录主导向转录后和翻译调控的切换,并通过叶绿体解体、代谢紊乱和翻译能力衰退实现细胞的有序解体。上述结果表明,拟南芥叶片发育过程中的阶段转换是一个涉及多类生物学过程的分阶段、多层次的调控进程。

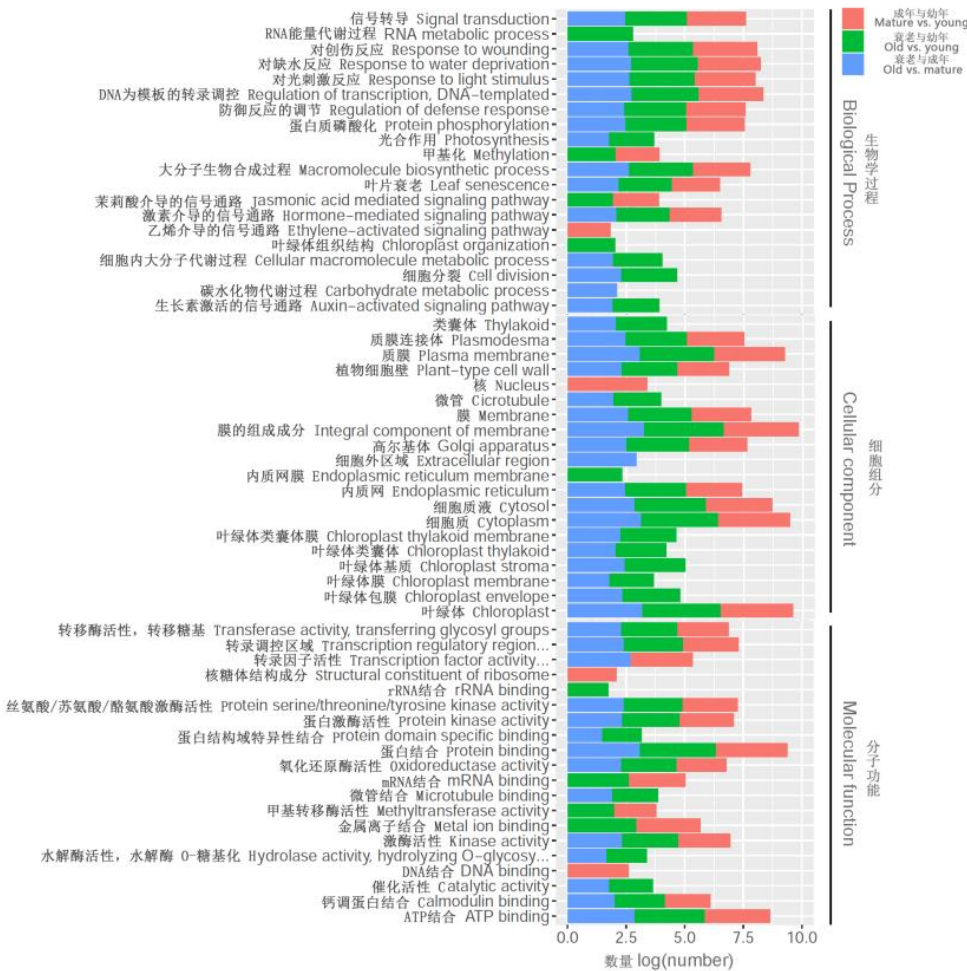


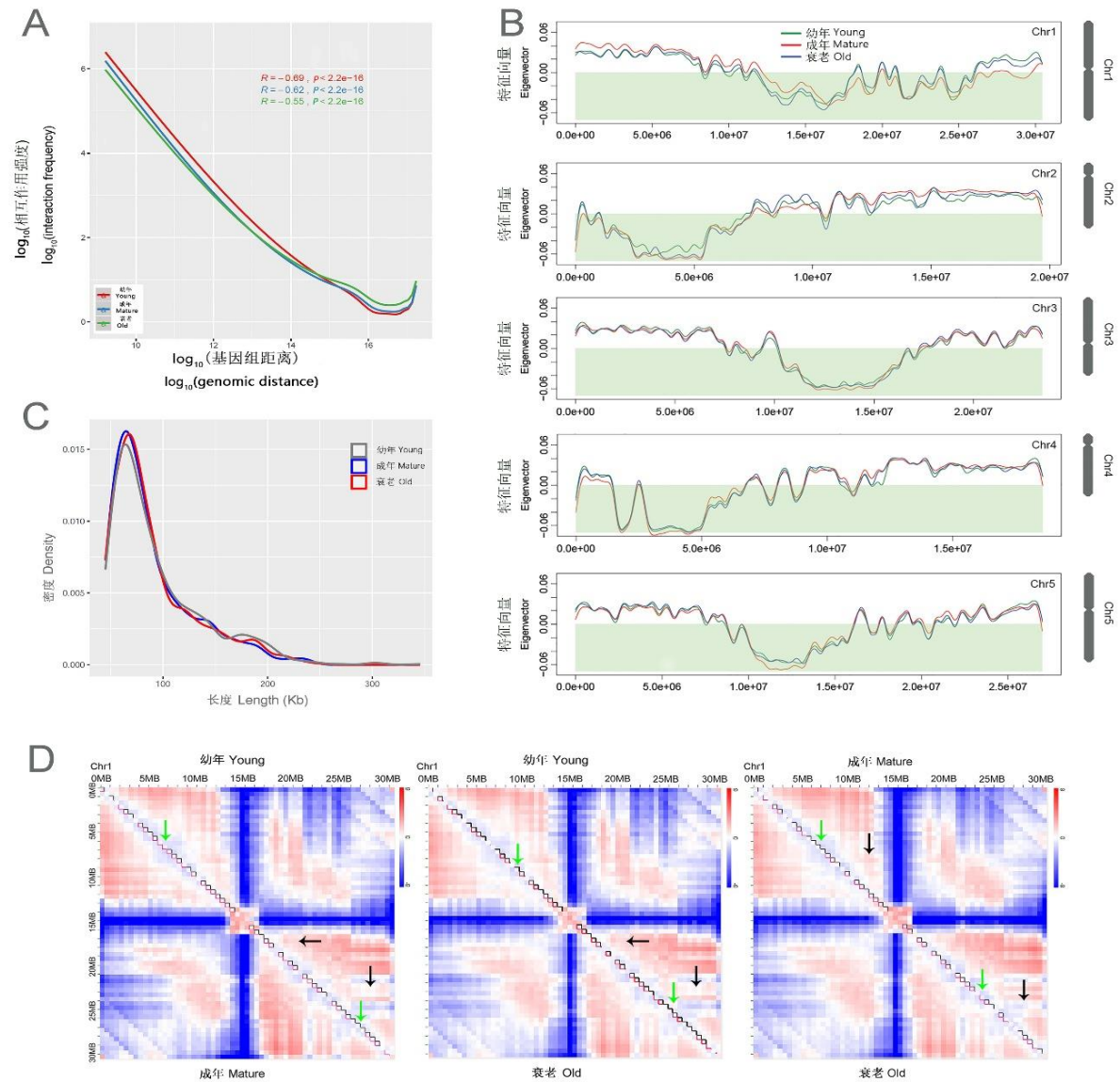
图 2 不同发育阶段样品间差异表达基因的 GO 富集分析

Fig. 2 GO enrichment analysis of differentially expressed genes across developmental stages

2.2 叶片发育过程中染色质构象变化

使用 Hi-C 技术,系统分析了拟南芥幼年、成年和衰老 3 个发育阶段叶片的染色质构象动态。在各发育阶段,染色质相互作用强度均随线性基因组距离的增加而衰减,表现出距离依赖的衰减特征(图 3: A)。其中,幼年期染色质互作强度与距离的相关系数最高($R=0.69$),成年期次之($R=0.62$),衰老期降至最低($R=0.55$)。这一递降趋势表明,随着叶龄增长,高度有序、且保守的染色质空间组织度逐渐降低,染色质构象趋于“松散”和“可及”,使更长距离的染色质互作概率上升,导致原有区室化结构对互作范围的约束弱化,区室内部及区室间的互作格局发生部分重塑。对不同发育阶段染色质 A/B 区室特征向量(Eigenvector)分析显示,幼年、成熟和衰老期的区室空间分布在染色体局部区域发生了转变,尤以 1 号和 2

号染色体上的变化最为显著（图 3: B），说明这两条染色体所携带的基因可能在衰老过程中承担了更为重要的功能。在三个发育阶段，鉴定出的类 TAD 结构域长度主要分布在 50~100 kb 之间，TAD 结构域的整体大小维持相对稳定（图 3: C）。进一步对 1 号染色体的相互作用热图分析显示，随发育进程，染色质构象发生了明显改变，伴随多个 TAD 结构域的形成与解散（图 3: D）。以上结果表明，染色质空间构象的重塑与拟南芥叶片发育进程存在关联，这种构象变化可能通过重排基因在三维核空间中的物理位置，调控相应基因的时空表达，从而参与叶片发育的调控。



A. 相互作用强度与作用距离的相关性分析；B. 染色质 A/B 区室分析；C. 不同发育阶段叶片 TAD 结构域的大小分布；D. 染色质相互作用热图，黑色箭头指示相互作用的变化区域，绿色箭头指示 TAD 结构变化区域。

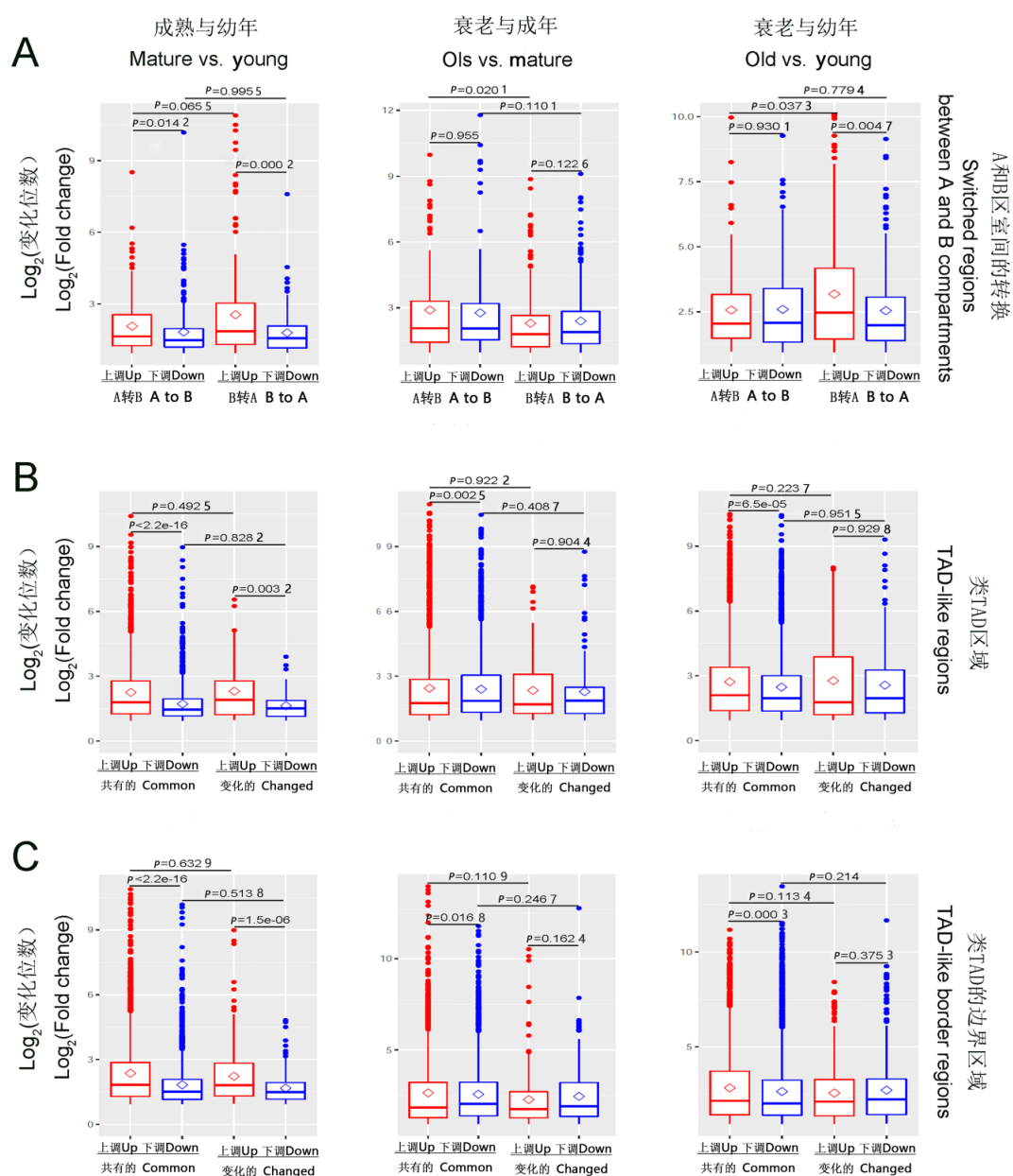
A. Correlation analysis of interaction strength and interaction distance; B. Chromatin A/B compartment analysis; C. Size distribution of leaf TAD domains across developmental stages; D. Chromatin interaction heatmap, black arrows indicate regions of differential interactions, green arrows indicate regions of TAD structural alterations.

图 3 拟南芥叶片发育过程中的染色质空间构象变化

Fig. 3 Chromatin spatial conformation changes during leaf development in *Arabidopsis thaliana*

2.3 染色质空间构象变化对基因表达的影响

为探究染色质三维构象动态变化对基因表达的影响,比较了不同发育阶段在染色质区室转换 ($A \rightarrow B$ 和 $B \rightarrow A$)、TAD 区域类型 (保守区域与变化区域) 以及 TAD 边界类型 (保守边界与变化边界) 中的差异表达基因转录倍数变化 (fold change)。在区室转换区域,幼年向成年转换的差异表达基因中,发生 $B \rightarrow A$ 区室转换的上调基因表达倍数显著高于下调基因;成年向衰老转换时,发生 $A \rightarrow B$ 区室转换的上调基因表达倍数显著高于下调基因;而幼年向衰老转换的基因中,同样表现为 $B \rightarrow A$ 区室转换的上调基因表达倍数显著高于下调基因 (图 4: A)。对 TAD 保守区域的分析显示,幼年向成年转换的 DEGs 中,位于保守 TAD 区域的上调基因表达倍数显著高于下调基因;成年向衰老转换时,保守 TAD 区域的下调基因表达倍数显著高于上调基因;幼年向衰老转换时,保守 TAD 区域的上调基因表达倍数则显著高于下调基因 (图 4: B)。此外, TAD 边界区域的分析结果与上述 TAD 保守区域的变化趋势一致 (图 4: C)。这些结果表明,染色质三维构象的动态重塑与基因表达变化间具有明显的关联性,且不同发育阶段呈现出不同的变化特征。



A. 染色质区室转换对基因表达的影响；**B.** TAD 区域变化对基因表达的影响；**C.** TAD 边界区域变化对基因表达的影响。“up”表示上调表达基因，“down”表示下调表达基因，“A to B”表示染色质区室 A 转换为 B 的区域，“B to A”表示染色质区室 B 转换为 A 的区域，“common”表示两个阶段叶片中 TAD 或其边界区域共有的区域，“changed”表示两个阶段叶片中 TAD 或其边界区域变化的区域。

A. Effects of chromatin compartment switching on gene expression; **B.** Effects of TAD region alterations on gene expression; **C.** Effects of TAD boundary region alterations on gene expression. "up" denotes upregulated genes, "down" denotes downregulated genes, "A to B" denotes regions where chromatin compartment A switches to B, "B to A" denotes regions where chromatin compartment B switches to A, "common" denotes regions common to TADs or their boundaries across two developmental stages in leaves, "changed" denotes regions with altered TADs or their boundaries across two developmental stages in leaves.

图 4 染色质空间构象变化与基因表达的关联分析

Fig. 4 Analysis of the association between chromatin spatial conformation changes and gene expression

3 讨论

拟南芥叶片发育和衰老过程伴随着大规模的转录重编程。从幼年期到成年期是发育程序中的一次重大转变，植物由此从快速生长的幼嫩状态过渡至功能完备的成熟状态。此阶段，与光合作用、细胞壁加固、次生代谢物合成及抗性增强相关的基因被激活，而细胞分裂和初生长相关基因则受到抑制（Liu et al., 2019）。成年期到衰老期则标志着衰老程序的正式执行，大量维持成年期功能的基因，尤其是光合作用和蛋白质合成等资源密集型通路，被系统性关闭。幼年期与衰老期之间鉴定到的阶段特异性差异表达基因数量远多于相邻阶段，而幼年-成年与成年-衰老的特异性差异基因数量相近，表明拟南芥叶片的成年与衰老是两个既相互区别又彼此连续的过程。衰老是在成年基础上启动的一种独特、主动的转录程序。这一转录组动态特征在不同植物物种中具有一定的保守性。在水稻旗叶从幼嫩到衰老的转录组研究中，同样观察到以功能模块为单位的协同表达变化。衰老过程中光合作用相关基因（如 LHCb 和 RBCS 家族）显著下调，而营养再动员相关基因（如自噬基因 ATG 家族和谷氨酰胺合成酶 GS1）被激活（Lee et al., 2023）。在玉米中，乙烯信号驱动的叶片衰老伴随类似的转录重编程模式。叶绿素生物合成基因（如 ZmLES22）被系统性抑制，叶绿素降解基因（如 ZmNYC1）和自噬相关基因（如 ZmATG5）则显著上调（Xing et al., 2024）。Gao 等（2023）在陆地棉叶片衰老的转录组分析中进一步发现，幼年-成年与成年-衰老阶段转换中差异表达基因的数量和功能富集模式与本研究结果高度一致。成年-衰老转换阶段差异基因显著富集于碳水化合物分解代谢和营养转运通路，而幼年-成年阶段则主要富集于光合系统构建和蛋白质翻译相关通路。然而，不同物种之间也存在显著差异。与水稻和玉米等单子叶植物相比，拟南芥在衰老阶段表现出更明显的长距离染色质互作增加和区室化强度下降，这可能与拟南芥基因组较小、染色质整体处于相对活跃的状态有关，使其在衰老程序启动时更易发生全局性染色质构象松弛。

在三维基因组层面，拟南芥叶片发育过程中染色质整体构象未发生大规模重塑，主要表现为局部区域的重排。染色质相互作用强度始终与线性基因组距离呈反比关系，相关系数 R 可反映染色质空间折叠的物理特性。与幼年期（ $R=0.69$ ）和成年期（ $R=0.62$ ）相比，衰老期 R 值降至 0.55，其降低主要源于长距离染色质互作强度的上升。长距离互作增强意味着区室化结构的隔离能力下降，原本空间上聚集的活跃基因簇趋于松散，细胞核内染色质从有序的相分离状态向熵增的混合状态偏移（Dekker et al., 2002）。衰老进程中染色质区室化程度的衰减并非拟南芥所特有，在 Zhang 等（2023）冷胁迫响应的 Hi-C 研究中，同样观察到 A/B 区室转换、区室化减弱和长距离染色质环的丢失。尽管冷胁迫与发育性衰老性质不同，但两者在染色质构象层面均呈现出松散化和可及性增强的趋同变化，暗示染色质高级结构有序性

下降可能是植物应对长期胁迫或发育信号的共性响应策略；水稻不同品种的 Hi-C 比较分析也发现，染色质互作衰减模式存在遗传背景差异，且衰减系数与局部基因表达活跃程度呈负相关，进一步支持了长距离互作强度增加与转录活性重塑之间的内在关联 (Zhao et al., 2019)；此外，动物细胞衰老过程中同样伴随区室化减弱和长距离互作增强 (Chandra et al., 2015)，表明染色质三维结构的松弛可能是跨越真核生物界的高度保守特征。在区室转换层面，无论是幼年至成年期的 B→A 转换，还是成年至衰老期的 A→B 转换，上调基因的表达倍数均显著高于下调基因，表明区室转换整体上有利于上调基因的表达变化。这一现象在 Zhang 等 (2023) 冷胁迫研究中得到呼应，该研究发现冷诱导的 A/B 区室转换与差异表达基因显著关联，且冷响应基因主要定位于 A 区室，但转录变化更多依赖 TA 重塑而非单纯的区室转换。本研究中，叶片衰老虽也呈现区室转换与基因表达的耦联，但与冷胁迫模式下区室转换主要关联基因抑制不同，衰老期 A→B 转换伴随的上调基因倍数反而高于下调基因。这种差异提示发育性衰老中的区室重塑可能拥有独特的功能取向，主动通过染色质构象变化“释放”某些在成年期被空间约束的基因位点，而非仅被动关闭活性区域。在叶片成年期，区室转换倾向服务于营养生长相关程序的激活；而在衰老期，则可能转向支持生殖生长相关程序的启动。

在类 TAD 结构域层面，边界与核心区域的保守意味着局部染色质互作模式稳定，改变则对应结构重排。成年期两类区域的差异表达基因均表现为上调倍数显著高于下调，显示 TAD 构象在此阶段主要促进基因激活，支撑叶片生长。TAD 在发育中的相对稳定性并非拟南芥特有。Zhang 等 (2023) 冷胁迫下 TAD 平均尺寸虽由约 80 kb 缩减至约 50 kb，多数边界仍保守；大豆幼苗光照-黑暗转换中 TAD 亦多数维持，仅少数条件性重组 (He et al., 2024)。这说明植物 TAD 作为染色质基本单元，对发育与环境信号具有较高结构韧性，功能调控主要依赖内部互作强度微调而非大规模边界重塑。Ma 等 (2024) 整合 10 余种植物 Hi-C 数据，进一步揭示串联重复基因簇形成的 TAD-like 结构域进化上高度保守且不依赖 H3K27me₃，暗示植物 TAD 的进化角色与动物不尽相同。本研究中拟南芥衰老期 TAD 边界总体稳定，但保守 TAD 内上调基因显著受抑，呈现“结构保守、功能反转”的模式，提示衰老可能通过局部重塑机制。比如通过改变增强子-启动子环而非重组 TAD 边界来调控基因表达，与衰老细胞长距离染色质环丢失现象 (Anna-Maria et al., 2024) 逻辑衔接。衰老期 TAD 维持转而发挥抑制功能，被抑制基因可能涉及光合作用与碳固定等成年期标志功能。以上结果表明，发育阶段转录重编程在物种间具保守性，差异基因功能富集方向与阶段转换性质对应；区室化程度在衰老或胁迫下普遍下降，但区室转换-表达耦联方向因物种与情境而异；进化上高度保守的 TAD 构成染色质稳定框架，功能调控依赖表观修饰与局部构象微调，而非大规模边界重排。

作者贡献

彭冲龙是本研究的实验设计者和实验研究的执行人，完成数据分析，论文初稿的写作；陈茂盛是项目的构思者及负责人，指导实验设计、数据分析、论文写作与修改。全体作者都阅读并同意最终的文本。

致谢

本研究由国家自然科学基金面上项目 (31971628)；云南基础研究项目 (202205AC160030)；中国科学院西双版纳热带植物园“十四五”科技创新规划项目 (E32KFF7B01) 共同资助。感谢西双版纳热带植物园的陈茂盛老师对我的帮助和指导；感谢西双版纳热带植物园昆明分部中心实验室提供实验场地和器材；同时感谢云南民族大学提供联合培养的机会。

参考文献:

- Anna-Maria G, Zhou S D, Wang Z D, 2024. Mutations of PDS5 genes enhance TAD-like domain formation in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Nature Communications*, 15(10): 84-90.
- Ay N, Irmeler K, Fischer A, et al., 2009. Epigenetic programming via histone methylation at WRKY53 controls leaf senescence in *Arabidopsis thaliana* [J]. *The Plant Journal*, 58(2): 333-346.
- Bonev B, Cavalli G, 2017. Organization and function of the 3D genome [J]. *Nature Reviews Genetics*, 17(11): 661-678.
- Cao X, Jacobsen S E, 2002. Role of the *Arabidopsis* DRM methyltransferases in de novo DNA methylation and gene silencing [J]. *Current Biology*, 12(13): 1138-1144.
- Cao Y, Yan H, Sheng M, et al., 2024. KAKU4 regulates leaf senescence through modulation of H3K27me3 deposition in the *Arabidopsis* genome [J]. *BMC Plant Biology*, 24(1): 1-13.
- Chandra T, Ewels P A, Schoenfelder S, et al., 2015. Global reorganization of the nuclear landscape in senescent cells [J]. *Cell Reports*, 10(4): 471-483.
- Chang L, Ying J C, Jia W W, et al., 2017. Prominent topologically associated domains differentiate global chromatin packing in rice from *Arabidopsis* [J]. *Nature Plants*, 3(9): 742-748.
- Chen M S, Yan X, Niu L, et al., 2025. Genome-wide identification of silencers and their regulatory mechanism in gene transcription in *Arabidopsis* [J]. *Research Square*, Preprint.
- Dekker J, Rippe K, Dekker M, et al., 2002. Capturing chromosome conformation [J]. *Science*, 295(5558): 1306-1311.
- Durand N C, Shamim M S, Machol I, et al., 2016. Juicer provides a one-click system for analyzing loop-resolution Hi-C experiments [J]. *Cell Systems*, 3(1): 95-98.
- Gao J, Zhang Y, Li X, et al., 2023. Transcriptome profiling reveals the molecular mechanisms of leaf development and senescence in upland cotton (*Gossypium hirsutum* L.) [J]. *Frontiers in Plant Science*, 14: 1187652.
- He H, Deng X W, Li D, et al., 2024. Chromatin topological domains associate with the rapid formation of tandem duplicates in plants [J]. *Advanced Science*, 11(12): 202408861.
- Hohmann-Marriott M F, Blankenship R E, 2011. Evolution of photosynthesis [J]. *Annual Review of Plant Biology*, 62(5): 15-48.
- Kim J, Kim J H, Lyu J I, et al., 2018. New insights into the regulation of leaf senescence in *Arabidopsis* [J]. *Journal of Experimental Botany*, 69(4): 787-799.
- Lee S, Kim H J, Woo H R, et al., 2023. Comparative transcriptome analysis of leaf senescence in rice: identification of conserved and species-specific senescence-associated genes [J]. *Journal of Plant Biology*, 66(3): 215-228.
- Liao Y, Wang J, Zhu Z, et al., 2022. The 3D architecture of the pepper genome and its relationship to function and evolution [J]. *Nature Communications*, 13(1): 34-79.
- Liao Y, Smyth G K, Shi W, 2013. The Subread aligner: fast, accurate and scalable read mapping by seed-and-vote [J]. *Nucleic Acids Research*, 41(10): e108.
- Liu P, Zhang S, Zhou B, et al., 2019. The Histone H3K4 demethylase JM16 represses leaf senescence in *Arabidopsis* [J]. *The Plant Cell*, 31(2): 430-443.
- Peng Y, Xing D, Li X, et al., 2019. Chromatin interaction maps reveal genetic regulation for quantitative traits in maize [J]. *Nature Communications*, 10(1): 26-32.
- Qin H, Chen W, Li Y, et al., 2023. Ethylene-responsive SbWRKY50 suppresses leaf senescence by inhibition of chlorophyll degradation in sorghum [J]. *New Phytologist*, 238(3): 1129-1145.
- Robinson M D, McCarthy D J, Smyth G K, 2010. edgeR: a Bioconductor package for differential expression analysis of digital gene expression data [J]. *Bioinformatics*, 26(1): 139-140.

- Sherman B T, Hao M, Qiu J, et al., 2022. DAVID: a web server for functional enrichment analysis and functional annotation of gene lists (2021 update) [J]. *Nucleic Acids Research*, 50(W1): W216-W221.
- Wang C, Liu C, Roqueiro D, et al., 2015. Genome-wide analysis of local chromatin packing in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Genome Research*, 25(2): 246-256.
- Woo H R, Kim H J, Lim P O, et al., 2019. Leaf senescence: systems and dynamics aspects [J]. *Annual Review of Plant Biology*, 70(1): 347-376.
- Xing J, Feng Y, Zhang Y, et al., 2024. Ethylene-accelerated maize leaf senescence in response to nitrogen deficiency: transcriptome reprogramming and gene regulatory network [J]. *The Crop Journal*, 12(5): 1391-1403.
- Zhang Y, Dong G, Chen L, et al., 2023. High-resolution Hi-C maps highlight multiscale chromatin architecture reorganization during cold stress in *Brachypodium distachyon* [J]. *BMC Plant Biology*, 23(1): 260.
- Zhao L, Wang S, Cao Z, et al., 2019. Chromatin loops associated with active genes and heterochromatin shape rice genome architecture for transcriptional regulation [J]. *Nature Communications*, 10(1): 26-30.