

# TET蛋白质在动物原始生殖细胞发育过程中的作用

李 铭 李东锋 杜文兴 于敏莉\*

(南京农业大学动物科技学院, 南京 210095)

**摘要** 原始生殖细胞(primordial germ cell, PGC)是指能发育成精子或卵子的祖先细胞。PGC在向生殖细胞发育过程中会经历原有基因印记的去除、新印记的形成和维持,而DNA去甲基化是维持这一过程的主要机制。研究发现,TETs(ten-eleven translocations)蛋白质可以通过不同机制调控DNA去甲基化过程,在原始生殖细胞的形成和胚胎发育过程中发挥重要作用。该文综述了TET家族的结构、调控去甲基化的机制及其在动物原始生殖细胞发育过程中的作用。

**关键词** TET蛋白质;生殖细胞;表观遗传;去甲基化;胚胎发育

## The Effect of TETs on the Development of Primordial Germ Cell in Animals

Li Ming, Li Dongfeng, Du Wenxing, Yu Minli\*

(College of Animal Science and Technology, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

**Abstract** Primordial germ cell (PGC) is ancestor cell which can develop into the sperm and egg. The processes of PGC developing into germ cell include the removal of the original gene imprinting, the formation and maintenance of new imprinting, while DNA demethylation is the main mechanism responsible for these processes. The previous study indicates that TETs are involved in the control of DNA demethylation via different mechanisms. Ten-eleven translocations (TETs) play vital roles in primordial germ cell formation and embryonic development. In the present paper, we review the structure of TETs, the molecular mechanisms of DNA demethylation and their functions in the development of PGC in animals.

**Keywords** TETs; germ cell; epigenetic; demethylation; embryonic development

近几十年来,人们一直认为DNA是基本遗传单位,直接决定着生命需要的各种蛋白质,进而决定着生物的表型。随着研究的不断深入,人们发现,有些基因型相同的生物个体在不同的环境条件下具有不同的表型,但其基因碱基序列并没有发生改变。在减数分裂启动之前,原始生殖细胞会发生一系列的表观重编程步骤,比如富集CpG双核苷酸序列的DNA上,5-甲基胞嘧啶(5-methylcytosine, 5mC)位置会出现DNA甲基化的全面清除<sup>[1]</sup>。大量研究发现,表观遗传学在探讨生殖细胞的正常发育分化过

程中起到关键作用<sup>[2]</sup>,尤其是在配子发生及受精卵的发育过程中的基因表达调控方面,若错误的表观遗传修饰发生在配子发生和胚胎植入前阶段,会导致早期胚胎流产及胚胎和出生后遗传表型异常等现象<sup>[2-4]</sup>。因此,生殖细胞发育分化的表观遗传学研究对于遗传疾病的防治具有重要的指导意义。

### 1 DNA甲基化的概念

DNA甲基化是一种主要的表观遗传修饰方式,对调控胚胎发育有着至关重要的作用,该调控可以

收稿日期: 2016-03-11 接受日期: 2016-05-30

国家自然科学基金(批准号: 31402074)资助的课题

\*通讯作者。Tel: 025-84395036, E-mail: yuminli@njau.edu.cn

Received: March 11, 2016 Accepted: May 30, 2016

This work was supported by National Natural Science Foundation of China (Grant No.31402074)

\*Corresponding author. Tel: +86-25-84395036, E-mail: yuminli@njau.edu.cn

网络出版时间: 2016-08-29 16:30:04

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20160829.1630.002.html>

去除亲本印记的标识,建立起子代新的遗传印记。在胚胎发育早期,组蛋白修饰和DNA甲基化中染色质的变化在一个特定细胞谱系的建立和维持中起到了关键作用<sup>[5]</sup>。已有研究表明,DNA甲基化通常与染色质压缩和基因失活有关,这两个过程是胚胎干细胞(embryo stem cell, ESC)分化期间建立细胞系的关键<sup>[6]</sup>。5-羟甲基胞嘧啶(5-hydroxymethylcytosine, 5hmC)水平的增加与ESC的全能性密切相关<sup>[7-9]</sup>。虽然,胸腺嘧啶DNA糖基化酶与ESC甲基化密切相关,但其很少在小鼠受精卵中表达<sup>[10]</sup>。由于DNA主动去甲基化作用仅限于卵子受精后、分裂前和生殖细胞生成过程,时间窗口很短,细胞来源有限,无法获得足够数量的细胞或组织进行分子生物学操作来鉴定基因,因此研究起来极其困难。禽类PGC是研究禽类细胞分化机制及与发育调控有关基因的重要材料。在禽类胚胎期,E3.0时大量PGC进入生殖嵴,PGC迁移过程经历了DNA去甲基化过程、基因组印记消除及染色体重组过程(图1)。虽然,目前科学家们已经了解了减数分裂过程中关键的几个表观遗传调控因子,如Dnmt3l、组蛋白甲基化转移酶G9A和Prdm9<sup>[12]</sup>,但对于这一过程中基因的表达受到什么调控以及如何控制正常减数分裂进行,知之甚少,甲基化标记在原始生殖细胞重编程过程中是如何被消除的也仍然是一个谜。

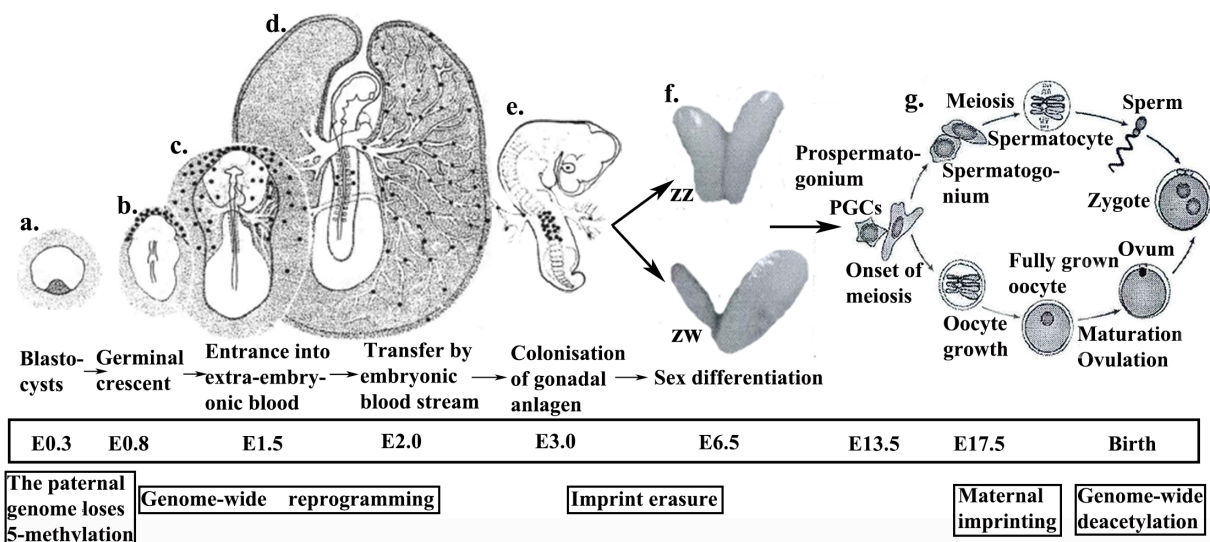
## 2 PGC的发育过程

### 2.1 PGC的起源

PGC是具有高度未分化的发育全能性细胞。目前的研究普遍认为,禽类PGC起源于胚盘上胚层。1981年,Eyal-Giladi等<sup>[13]</sup>将鸡胚盘的上、下胚层作嵌合胚胎进行体外培养,证实鸡PGC起源于上胚层。Sutasurya等<sup>[14]</sup>通过培养鸡胚的上、下胚层,发现在原条期形成的PGC会逐渐由上胚层向下胚层移行,同样说明了PGC最早是出现在上胚层的。家禽原始细胞的发育具有一定的阶段性,在发育的特定阶段向生殖嵴定向迁移,性腺的分化发生于PGC迁移到达生殖嵴之后,PGC迅速分裂增殖,然后在体细胞的诱导下可分化成为精原干细胞或卵原细胞,其对应的体细胞将分化为雄性的支持细胞或雌性的颗粒细胞<sup>[15-16]</sup>。哺乳动物的PGC中碱性磷酸酶的表达水平高,可用组织化学染色的方法来检测PGC在胚胎中的分布<sup>[17]</sup>。在小鼠原肠胚结束时PGC位于尿囊基部,并进入后肠内胚层中<sup>[18]</sup>。小鼠胚胎发育至7.25 d时外胚层PGC开始特化,随后逐渐向胚内迁移,发育至11.5 d之后,大量PGC进入生殖嵴<sup>[19-20]</sup>。

### 2.2 PGC的迁移

禽类PGC的迁移有独特的规律。PGC的聚集从胚盘上胚层移行到下胚层,在孵化18 h后随下胚层迁移至生殖新月部位,生殖新月区位于上胚层和



a: 发育至0.3 d即原条期前,PGC由上胚层向下胚层转移; b、c: 0.8~1.5 d时,PGC集中于生殖新月期; d: 鸡胚发育至2.0 d时,PGC开始通过血液循环系统迁移; e、f: 3.0~6.5 d时,PGC迁移至性腺并开始性别分化; g: 发育至13.5 d后,PGC进行减数分裂并形成配子。

a: the migration of PGC from the upper layer to the down layer in primitive streak stage before embryonic 0.3 day (E0.3); b,c: the accumulation of PGC in germinal crescent from E0.8 to E1.5; d: the penetration of the PGC into blood circulatory system in E2.0s; e,f: PGC settled in gonads and started to sex differentiation from E3.0 to E6.5; g: after E13.5, the meiosis initiation of PGC and gametogenesis.

图1 鸡原始生殖细胞迁移及发育过程(根据参考文献[13]修改)

Fig.1 Migration and development of PGC in chicken embryos (modified from reference [13])

下胚层之间<sup>[21-22]</sup>。当中胚层出现时,每一个胚胎中PGC的数目大约为150~200个,此时的PGC体积大、呈圆形、细胞质中均匀分布糖原颗粒、脂质和卵黄。PGC随血液循环在15期穿过血管壁进入生殖原基部位<sup>[23]</sup>。鸡胚孵化4 d后,PGC全部迁移到生殖嵴处<sup>[24]</sup>。鸡胚孵化6.5 d后,性腺开始分化,含有PGC的皮质区将分化为卵巢生殖原基,含有PGC的髓质区将分化为睾丸生殖原基<sup>[25]</sup>。鸡胚在8~10 d时,PGC增殖后定居在次级性索,并发生形态的变化,形成生殖系囊泡,卵子开始发生直至孵育末期<sup>[26]</sup>。小鼠的PGC迁移过程可分为两个阶段<sup>[27]</sup>。第一个阶段大约从7.5~9.0 d,PGC从远眺的后端随着后肠的内卷进入胚胎内部,并到达后肠的内胚层。第二个阶段大约从9.5~12.5 d,PGC离开后肠内胚层,最终进入生殖嵴。

### 3 TETs蛋白质在PGC发育过程中的作用

TETs是一种在体细胞重编程中扮演重要角色的表观遗传学因子,这种蛋白质在DNA脱甲基过程和干细胞重新编程方面起关键作用<sup>[28-29]</sup>。TET家族共有三个成员,分别是TET1、TET2、TET3,TET家族含有富含半胱氨酸结构域和催化结构域,其中TET1还含有一个CXXC型锌指结构<sup>[30]</sup>。*Tet1*基因在生殖细胞发育方面越来越受到关注<sup>[31]</sup>。有报道,*Tets*基因家族通过催化5mC化学修饰参与DNA去甲基化和基因表达调控,*Tet1*基因具有将5mC转化为5hmC的活性<sup>[28]</sup>。目前研究显示,小鼠如果缺乏*Tet1*基因,虽然并不会对原始生殖细胞的全基因组范围内去甲基化造成极大的影响,但是却会导致DNA去甲基化缺陷,并且降低一组减数分裂基因的表达<sup>[32]</sup>,但*Tet1*基因如何调节DNA去甲基化从而影响减数分裂的机制尚待进一步阐明。

#### 3.1 生殖细胞发育分化过程中的表观遗传修饰

在组成生物体的所有细胞中,生殖细胞是唯一在发生受精之后能够获得全能性的细胞,因此保证了生物从一代到下一代的生命循环。从印记基因概念提出以来,生殖细胞发育过程中的表观遗传机制研究,一直很受研究人员的青睐。然而,由于分离纯化早期生殖细胞存在技术上的难题,同时对于有限细胞样品的分析技术还不成熟,使得对生殖细胞表观遗传的研究进展缓慢。随着DNA甲基化分析技术的发展,生殖细胞表观遗传机制的研究有了较大

的突破<sup>[33]</sup>。原始生殖细胞是精子和卵子的前体细胞,起源于上胚层,随后进入血液循环系统迁移,最终定居在生殖嵴形成原始性腺,PGC迁移阶段的表观遗传重编程包括全基因组DNA去甲基化、父源性和母源性印迹擦除以及失活X染色体的重新活化<sup>[31]</sup>。其中,全基因组DNA甲基化和H3K9me2表达下调激活的靶基因以及H3K27me2表达上调沉默的靶基因有着密切的关系<sup>[34]</sup>。但是,PGC在经历血液循环、定居生殖嵴和形成原始性腺的过程中发生了哪些重编程,尤其是在表观修饰上有什么变化,这些改变对PGC的进一步发育起到什么具体作用尚不清楚,仍然需要系统而深入地研究来阐明。

哺乳动物精卵受精后,来源于精子的父源DNA发生迅速地主动去甲基化,而来源于卵子的母源DNA随着胚胎卵裂过程发生DNA复制依赖型的被动去甲基化<sup>[31]</sup>。Maatouk等<sup>[3]</sup>对生殖细胞发育过程中甲基化修饰的研究显示,该过程主要包括两个阶段:第一个阶段的表观遗传修饰出现在原始生殖细胞中,其内在的印记基因被清除;第二个阶段发生在受精之后,主要是印记基因重新获得甲基化,而其他非印记基因则会逐渐丧失甲基化。Xu等<sup>[35]</sup>研究显示,受精后,只有一个拷贝并且高度凝聚的父本基因组立即改变鱼精蛋白或组蛋白的甲基化状态,在DNA复制之前完成去甲基化。Santos等<sup>[36]</sup>对小鼠早期胚胎发育的研究证明,伴随着精子的快速去甲基化,卵子在第一次卵裂之后开始逐渐去甲基化过程,在卵裂进行到16细胞期时,精卵的基因组经历去甲基化后均保持了较低的甲基化状态。Lucifero等<sup>[37]</sup>对*Snrpn* DMR1甲基化的分析表明,在出生后1 d的精母细胞和卵母细胞中,等位基因均发生去甲基化过程;而出生后15 d的精母细胞与卵母细胞相比,其等位基因的甲基化程度依然差异很大(精母细胞为22%,卵母细胞为88%),这说明卵母细胞的甲基化早于精母细胞。Hajkova等<sup>[29]</sup>的研究显示,*Dnmt3l*在精子发生时期高水平表达。但是这种快速的去甲基化过程并非发生在所有的哺乳动物生殖细胞中。Beaujean等<sup>[5]</sup>的研究表明,小鼠、猪、牛和人的精子在受精之后将经历快速地去甲基化,而绵羊和兔则并不经历相似的去甲基化过程,至于为何会有如此大的差异至今仍不清楚。

#### 3.2 *Tet1*基因调控生殖细胞去甲基化

在哺乳动物中,早期胚胎的发育和配子的发生



需要紧密的调节机制来维持基因表达的时间和空间的协调<sup>[1,38-39]</sup>。在这一过程中,表观基因组经历了深刻的重编程,此过程发生异常将导致胚胎发育的异常、流产和出生后动物表型异常<sup>[40]</sup>。存在于广谱性表达基因的启动子上的CpG大部分是不受修饰的,但是在组织特异性基因启动子上的这些区域在其他细胞中是高度甲基化的,除了在其表达的细胞中都没有发生甲基化或处于低甲基化状态<sup>[41]</sup>。在生理条件下,印记只有在建立性别特异性甲基化的标志之前才能消除,使得很难研究支撑印记消除和建立的分子机制<sup>[42]</sup>。除了控制管家基因和印记基因的表达之外,甲基化同时调节细胞分化和对在早期胚胎发育和配子发生过程中,起重要作用的基因的时空限制性表达作用同时也起着调控作用<sup>[1,35,43]</sup>。在性腺开始分化后,就开始发生全基因组范围的5mC去甲基化<sup>[11,32]</sup>。目前发现,在PGC和受精卵中5mC的修饰(脱氨基和羟甲基化)是基因组范围的DNA主动去甲基化的前提<sup>[29]</sup>。虽然,5mC在基因增强子和启动子时期的累积与基因抑制有关,5hmC具有与其不同的生物学功能<sup>[44]</sup>。生殖细胞特异性基因在生殖细胞中的特异性表达的一个潜在的机制是通过它们的调控区域的分化性DNA甲基化及转录因子的共同调节<sup>[1]</sup>。生殖细胞特异性基因的甲基化异常通常与不育不孕症的发生具有密切的关系<sup>[4]</sup>。

### 3.3 TET蛋白质对胚胎发育的影响

TET不仅能调控CpG富集启动子处的DNA甲基化水平,还能促进干细胞中与多能性相关因子的转录。在小鼠囊胚期内细胞团中,*Tet1*基因的表达较滋养外胚层细胞高,敲除*Tet1*基因的小鼠囊胚期阶段内细胞团特化受阻,而滋养外胚层细胞则易于形成<sup>[28]</sup>,表明*Tet1*基因与囊胚期内细胞团特化相关。*Tet1*基因也参与维持ESC特性相关的转录因子如*Nanog*基因表达调节<sup>[35]</sup>。有研究显示,TET可以将5hmC进一步转化成5-氟胞嘧啶和5-羧酸胞嘧啶<sup>[45-46]</sup>。如在未分化的小鼠ESC中,*Tet1*基因表达可降低*Nanog*启动子5mC/5hmC比值,即发生DNA去甲基化以增强*Nanog*表达,在ESC分化过程中则伴有*Tet1*基因表达减少和5hmC浓度降低<sup>[47-48]</sup>。目前发现,越来越多的生殖特异性的转录因子参与生殖细胞发生发育过程中,而且转录因子的调控作用很大程度上受到了甲基化影响。例如,在小鼠胚胎分化过程中,从头甲基化酶促进Oct4和*Nanog*的甲基化作

用<sup>[40]</sup>;小鼠体内生殖细胞特异表达基因*Mvh*(mouse vasa homologue)、*Dazl*(deleted in azoospermia-like)和*Scp3*(synaptonemal complex protein 3)在完成迁移前后被擦除甲基化并且维持了短暂的表达<sup>[32]</sup>;H1FOO(oocyte-specific linker histone)是小鼠生殖系细胞被发现的一个主要的连接组蛋白,在胚泡时期的极体和早期的受精卵中表达,H1FOO的差异甲基化区域在精子、体细胞和干细胞中维持高甲基化,但是在卵母细胞中被去除甲基化<sup>[41]</sup>。基因*Figla*和*Sohlh2*是卵泡发育过程中生殖细胞特异表达的转录因子,它们启动子区特异的CpG位点在卵泡发育中经历着去甲基化和重新甲基化的重编程过程,而且甲基化动态学过程与基因的激活表达呈现负相关<sup>[29]</sup>。此外,*Tet1*基因在调节雌性小鼠生殖细胞减数分裂中起十分重要作用,小鼠PGC的*Tet1*基因功能缺乏导致了DNA去甲基化缺陷与减数分裂基因表达减少,从而降低了小鼠生殖细胞数量与生育能力<sup>[38]</sup>。近几年,在重编程PGC中的DNA甲基化动力学分析表明,*Tet1*基因能清除剩余的甲基化,包括在重编程后期的印记基因<sup>[31,49]</sup>。并且,研究人员还发现了雌性生殖细胞系中*Tet1*基因的这种消除作用,*Tet1*基因能通过调控减数分裂基因表达来操控减数分裂过程,而具体的分子机理目前尚不清楚,相关研究都处于起步阶段,亟待开展*Tet1*对PGC发育作用机制的研究。

## 4 结语

综上所述,原始生殖细胞去甲基化的调控是一个极其复杂的过程,受多方面因素的影响,对于生殖细胞发育的相关调控机制了解甚少,还需进行大量的探索工作。减数分裂是生殖细胞基因组表观修饰重建的重要时期,*Tet1*基因在维持PGC多能性和发育过程中的作用及如何调控减数分裂相关基因的表达等方面,都有待我们进一步探究。研究PGC发育过程中的甲基化变化,为揭示动物生殖细胞发育的调控机理、为利用PGC的基因修饰进行育种改良的实践应用以及提高生产力等提供理论基础,具有重要的科学价值和应用前景。

### 参考文献 (References)

- 1 Vincent JJ, Huang Y, Chen PY, Feng S, Calvopina JH, Nee K. *et al.* Stage-specific roles for tet1 and tet2 in DNA demethylation in primordial germ cells. *Cell Stem Cell* 2013; 12(4): 470-8.
- 2 Allegrucci C, Thurston A, Lucas E, Young L. Epigenetics and the

- germline. *Reproduction* 2005; 129(2): 137-49.
- 3 Maatouk DM, Kellam LD, Mann MR, Lei H, Li E, Bartolomei MS, *et al.* DNA methylation is a primary mechanism for silencing postmigratory primordial germ cell genes in both germ cell and somatic cell lineages. *Development* 2006; 133(17): 3411-8.
- 4 Dawlaty MM, Breiling A, Le T, Raddatz G, Barrasa MI, Cheng AW, *et al.* Combined deficiency of Tet1 and Tet2 causes epigenetic abnormalities but is compatible with postnatal development. *Dev Cell* 2013; 24(3): 310-23.
- 5 Chen T, Dent SY. Chromatin modifiers and remodellers: Regulators of cellular differentiation. *Nat Rev Genet* 2014; 15(2): 93-106.
- 6 Smith ZD, Meissner A. DNA methylation: Roles in mammalian development. *Nat Rev Genet* 2013; 14(3): 204-20.
- 7 Ficiz G, Branco MR, Seisenberger S, Santos F, Krueger F, Hore TA, *et al.* Dynamic regulation of 5-hydroxymethylcytosine in mouse ES cells and during differentiation. *Nature* 2011; 473(7347): 398-402.
- 8 Williams K, Christensen J, Pedersen MT, Johansen JV, Cloos PA, Rappsilber J, *et al.* TET1 and hydroxymethylcytosine in transcription and DNA methylation fidelity. *Nature* 2011; 473(7347): 343-8.
- 9 Wu H, Zhang Y. Tet1 and 5-hydroxymethylation: A genome-wide view in mouse embryonic stem cells. *Cell Cycle* 2011; 10(15): 2428-36.
- 10 Xue JH, Xu GF, Gu TP, Chen GD, Han BB, Xu ZM, *et al.* Uracil-DNA glycosylase UNG promotes Tet-mediated DNA demethylation. *J Biol Chem* 2016; 291(2): 731-8.
- 11 Kobayashi H, Sakurai T, Miura F, Imai M, Mochiduki K, Yanagisawa E, *et al.* High-resolution DNA methylome analysis of primordial germ cells identifies gender-specific reprogramming in mice. *Genome Res* 2013; 23(4): 616-27.
- 12 Reis Silva AR, Adenot P, Daniel N, Archilla C, Peynot N, Lucci CM, *et al.* Dynamics of DNA methylation levels in maternal and paternal rabbit genomes after fertilization. *Epigenetics* 2011; 6(8): 987-93.
- 13 Eyal-Giladi H, Kochav S. From cleavage to primitive streak formation: A complementary normal table and a new look at the first stages of the development of the chick. I. General morphology. *Dev Biol* 1976; 49(2): 321-37.
- 14 Surani MA, Hayashi K, Hajkova P. Genetic and epigenetic regulators of pluripotency. *Cell* 2007; 128(4): 747-62.
- 15 Kuwana T, Rogulska T. Migratory mechanisms of chick primordial germ cells toward gonadal anlage. *Cell Mol Biol* 1999; 45(5): 725-36.
- 16 Macdonald J, Glover JD, Taylor L, Sang HM, McGrew MJ. Characterisation and germline transmission of cultured avian primordial germ cells. *PLoS One* 2010; 5(11): 15518.
- 17 Buehr M. The primordial germ cells of mammals: Some current perspectives. *Exp Cell Res* 1997; 232(2): 194-207.
- 18 Cooke JE, Godin I, Ffrench-Constant C, Heasman J, Wylie CC. Culture and manipulation of primordial germ cells. *Methods Enzymol* 1993; 225: 37-58.
- 19 Hajkova P, Erhardt S, Lane N, Haaf T, El-Maarri O, Reik W, *et al.* Epigenetic reprogramming in mouse primordial germ cells. *Mech Dev* 2002; 117(1/2): 15-23.
- 20 Kota SK, Feil R. Epigenetic transitions in germ cell development and meiosis. *Dev Cell* 2010; 19(5): 675-86.
- 21 Ginsburg M, Eyal-Giladi H. Primordial germ cells of the young chick blastoderm originate from the central zone of the area pellucida irrespective of the embryo-forming process. *Development* 1987; 101(2): 209-19.
- 22 Buehr M, McLaren A, Bartley A, Darling S. Proliferation and migration of primordial germ cells in WelWe mouse embryos. *Dev Dyn* 1993; 198(3): 182-9.
- 23 Ginsburg M. Primordial germ cell formation in birds. *Ciba Found Symp* 1994; 182: 52-61; discussion 61-7.
- 24 Nakamura M, Yoshinaga K, Fujimoto T. Histochemical identification and behavior of quail primordial germ cells injected into chick embryos by the intravascular route. *J Exp Zool* 1992; 261(4): 479-83.
- 25 Clawson RC, Domm LV. Developmental changes in glycogen content of primordial germ cells in chick embryo. *Proc Soc Exp Biol Med* 1963; 112: 533-7.
- 26 Pepling ME. Follicular assembly: Mechanisms of action. *Reproduction* 2012; 143(2): 139-49.
- 27 Han JA, An J, Ko M. Functions of TET proteins in hematopoietic transformation. *Mol Cells* 2015; 38(11): 925-35.
- 28 Ito S, D'Alessio AC, Taranova OV, Hong K, Sowers LC, Zhang Y. Role of Tet proteins in 5mC to 5hmC conversion, ES-cell self-renewal and inner cell mass specification. *Nature* 2010; 466(7310): 1129-33.
- 29 Hajkova P, Ancelin K, Waldmann T, Lacoste N, Lange UC, Cesari F, *et al.* Chromatin dynamics during epigenetic reprogramming in the mouse germ line. *Nature* 2008; 452(7189): 877-81.
- 30 Han JA, An J, Ko M. Functions of TET proteins in hematopoietic transformation. *Mol Cells* 2015; 38(11): 925-35.
- 31 Yamaguchi S, Shen L, Liu Y, Sandler D, Zhang Y. Role of Tet1 in erasure of genomic imprinting. *Nature* 2013; 504(7480): 460-4.
- 32 Yamaguchi S, Hong K, Liu R, Shen L, Inoue A, Diep D, *et al.* Tet1 controls meiosis by regulating meiotic gene expression. *Nature* 2012; 492(7429): 443-7.
- 33 Lee SG, Cho SY, Kim MJ, Oh SH, Cho EH, Lee S, *et al.* Genomic breakpoints and clinical features of MLL-TET1 rearrangement in acute leukemias. *Haematologica* 2013; 98(4): e55-7.
- 34 Seki Y, Yamaji M, Yabuta Y, Sano M, Shigeta M, Matsui Y, *et al.* Cellular dynamics associated with the genome-wide epigenetic reprogramming in migrating primordial germ cells in mice. *Development* 2007; 134(14): 2627-38.
- 35 Xu M, Soloveyichik M, Ranger M, Schertzberg M, Shah Z, Raisner R, *et al.* Timing of transcriptional quiescence during gametogenesis is controlled by global histone H3K4 demethylation. *Dev Cell* 2012; 23(5): 1059-71.
- 36 Santos F, Peat J, Burgess H, Rada C, Reik W, Dean W. Active demethylation in mouse zygotes involves cytosine deamination and base excision repair. *Epigenetics Chromatin* 2013; 6(1): 39.
- 37 Lucifero D, Suzuki J, Bordignon V, Martel J, Vigneault C, Therrien J, *et al.* Bovine SNRPN methylation imprint in oocytes and day 17 *in vitro*-produced and somatic cell nuclear transfer embryos. *Biol Reprod* 2006; 75(4): 531-8.
- 38 Costa Y, Ding J, Theunissen TW, Faiola F, Hore TA, Shliha P V, *et al.* NANOG-dependent function of TET1 and TET2 in

- establishment of pluripotency. *Nature* 2013; 495(7441): 370-4.
- 39 Fan A, Ma K, An X, Ding Y, An P, Song G, *et al.* Effects of TET1 knockdown on gene expression and DNA methylation in porcine induced pluripotent stem cells. *Reproduction* 2013; 146(6): 569-79.
- 40 Surani MA, Hayashi K, Hajkova P. Genetic and epigenetic regulators of pluripotency. *Cell* 2007; 128(4): 747-62.
- 41 Gehring M, Reik W, Henikoff S. DNA demethylation by DNA repair. *Trends Genet* 2009; 25(2): 82-90.
- 42 Bermejo-Alvarez P, Ramos-Ibeas P, Park KE, Powell AP, Vansandt L, Derek B, *et al.* Tet-mediated imprinting erasure in H19 locus following reprogramming of spermatogonial stem cells to induced pluripotent stem cells. *Sci Rep* 2015; 5: 13691.
- 43 Huang Y, Chavez L, Chang X, Wang X, Pastor WA, Kang J, *et al.* Distinct roles of the methylcytosine oxidases Tet1 and Tet2 in mouse embryonic stem cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2014; 111(4): 1361-6.
- 44 Chapman CG, Mariani CJ, Wu F, Meckel K, Butun F, Chuang A, *et al.* TET-catalyzed 5-hydroxymethylcytosine regulates gene expression in differentiating colonocytes and colon cancer. *Sci Rep* 2015; 5: 17568.
- 45 He YF, Li BZ, Li Z, Liu P, Wang Y, Tang Q, *et al.* Tet-mediated formation of 5-carboxylcytosine and its excision by TDG in mammalian DNA. *Science* 2011; 333(6047): 1303-7.
- 46 Ito S, Shen L, Dai Q, Wu SC, Collins LB, Swenberg JA, *et al.* Tet proteins can convert 5-methylcytosine to 5-formylcytosine and 5-carboxylcytosine. *Science* 2011; 333(6047): 1300-3.
- 47 Wu H, D'Alessio AC, Ito S, Xia K, Wang Z, Cui K, *et al.* Dual functions of Tet1 in transcriptional regulation in mouse embryonic stem cells. *Nature* 2011; 473(7347): 389-93.
- 48 Wu H, Zhang Y. Tet1 and 5-hydroxymethylation: A genome-wide view in mouse embryonic stem cells. *Cell Cycle* 2011; 10(15): 2428-36.
- 49 Jackson SA, Sridharan R. The nexus of Tet1 and the pluripotency network. *Cell Stem Cell* 2013; 12(4): 387-8.