

哺乳动物基因组印记的保护与维持

张美玲 朱屹然 杨树宝 王春风 栾维民* 马馨*

(吉林农业大学动物科学技术学院, 长春 130118)

摘要 基因组印记是生殖细胞基因组发生父源或母源单等位基因表达的一种表观调控现象, 哺乳动物单性生殖的胚胎不能存活, 表明在全基因组重编程过程中, 印记的保护和维持十分重要。因此, 在受精后全基因组发生的主动与被动去甲基化过程中, 必须保留印记位点在配子发生期间获得的差异甲基化状态。为了更深入地理解植入前胚胎重组期间参与保护和维持基因组印记的分子机制, 尤其是基于ZFP57(zinc finger protein 57)和TRIM28(tripartite motif-containing 28)相互作用组成的转录共抑制复合体, 该文阐述了该复合体及其他相关因子近几年的研究进展, 并探讨了这些分子对基因组印记保护与维持的表观调控机制。

关键词 基因组印记; 重编程; DNA甲基化

Protection and Maintenance of Genomic Imprints in Mammal

Zhang Meiling, Zhu Yiran, Yang Shubao, Wang Chunfeng, Luan Weimin*, Ma Xin*

(College of Animal Science and Technology, Jilin Agricultural University, Changchun 130118, China)

Abstract Genomic imprinting is an epigenetic regulation phenomenon, which can restricts monoallelic expression to either the maternally or paternally inherited copy of the gene. Uniparental embryos leads to embryonic lethality indicates that protecting and maintaining of imprinting are critical in the process of genome reprogramming. Therefore, differential methylation status in imprinted loci which acquired during gametogenesis must be maintained and protected in the process of an active and passive demethylation after fertilization. To further study these molecules, especially the transcriptional co-repressor complex achieved via ZFP57/TRIM28 (zinc finger protein 57/tripartite motif-containing 28) interactions, which protect imprinted methylation sites during preimplantation embryonic development. In this review, the recent study progress of this complex and other related factor (eg. DPPA3, DNMT1) are summarized, and the epigenetic regulatory mechanism of these molecules are discussed.

Keywords imprinting; reprogramming; DNA methylation

基因组印记是一种表观调控现象。哺乳动物是二倍体生物, 拥有两条相互配对的染色体, 一条来自父亲一条来自母亲, 因此每个基因都有两个拷贝。一般情况下, 父系和母系的基因具有相同的表达潜能, 但是印记基因经表观修饰后, 只在两条亲代染色体中的一条表达。基因组印记既影响雄性后代也影

响雌性后代, 因此是亲代遗传, 而非性别遗传。例如, 父系印记基因H19(母系表达, 父系印记), 在母系遗传的染色体中有活性, 在父系遗传的染色体中沉默, 呈现单等位基因表达, 而无论在雌性后代还是雄性后代H19都是这种表达模式。哺乳动物孤雌胚胎和孤雄胚胎, 由于仅含父系或母系二倍体基因组, 因此

收稿日期: 2016-03-17 接受日期: 2016-07-06

国家自然科学基金青年基金(批准号: 31302047)资助的课题

*通讯作者。Tel: 0431-84533480, E-mail: luanweimin1957@163.com; E-mail: maxin3202@163.com

Received: March 17, 2016 Accepted: July 6, 2016

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.31302047)

*Corresponding authors. Tel: +86-431-84533480, E-mail: luanweimin1957@163.com; E-mail: maxin3202@163.com

网络出版时间: 2016-10-28 13:31:02 URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20161028.1331.002.html>

印记基因表达并不相同,当然也不同于正常胚胎,不能正常发育。另外,许多重大疾病包括多种癌症中都伴随着印记丢失的现象^[1],因此,印记基因的正确表达在正常生长发育过程中十分重要。

印记基因通常成簇存在,每个基因簇包含一个差异印记控制区(imprinting control regions, ICRs)。ICRs是印记基因表达的关键调控序列,印记基因最终是否表达取决于ICRs的差异DNA甲基化,即在卵母细胞和精子发生过程开始, DNA甲基化标记ICRs,使双亲等位基因出现差异表达^[2]。独立进化机制确保等位基因特异性表达超过80种不同的印记基因,但它们最终是否表达取决于ICRs的差异DNA甲基化。这种在母源或父源生殖细胞系特定位点甲基化始终贯穿整个胚胎发育过程,并通常在已分化的成熟组织中持续存在^[2-4]。

1 基因组印记的表观调控

有机体所有细胞(除了少数例外)均携带相同的遗传信息。细胞在发育期间特殊功能的分化是基因差异转录的结果,并不是拥有不同的遗传信息。这些差异转录和翻译程序主要通过表观遗传修饰DNA和染色质进行引导和调控基因表达,包括DNA甲基化、组蛋白修饰、染色质重塑和RNA介导的基因沉默等,其中DNA甲基化的研究最为广泛,也是基因组印记的主要表观调控机制^[4]。细胞的表现基因组并不影响遗传代码,但是在每个细胞有丝分裂周期中是可遗传的^[5]。

新的生命周期开始,表观基因组也需随之恢复到无修饰的空白状态。体外可以通过在体细胞中转染转录因子来迫使其达到“诱导多能性”状态^[6],体内某些体细胞也可能发生病理性表观重编程,但最重要的重编程过程发生在原始生殖细胞(primordial germ cell, PGC)的发生、发育及卵母细胞向胚胎转变期间。基因组印记(主要是ICRs的DNA甲基化)也在此过程中经历了建立、维持、擦除的循环过程^[7]。以小鼠为例,胚胎7.5 d(E7.5)外胚层细胞特化形成原始生殖细胞(PGC),E8.5~E11.5的PGC向生殖脊迁移。在PGC形成及迁移的初期,同其他外胚层细胞具有相同的表观修饰模式,当PGC到达生殖脊(E11.5),包括甲基化在内的表观标记在此过程中被擦除^[8-9]。PGC去甲基化完成后,随着PGC的分化过程,ICRs甲基化标记重新建立,并且雌雄配子遵循不同的途径,即雄

性生殖细胞印记甲基化的建立开始于胚胎时期的前精原细胞增殖期,而雌性配子开始于出生后排卵前的卵子成熟期。甲基化的重获,依赖于DNA甲基转移酶3a(DNA methyltransferase 3a, DNMT3a)。DNMT3a的活性依赖酶的活性调节因子DNMT3L,失去DNMT3L同样导致失去母源和父源的印记^[10-11]。父系基因组在受精后、第一次卵裂之前发生由TET3介导的主动去甲基化,TET3(ten-eleven translocation 3)将5-甲基胞嘧啶(5-methylcytosine, 5mC)氧化成5-羟甲基胞嘧啶(5-hydroxymethylcytosine, 5hmC),失去了绝大部分的5-甲基胞嘧啶(5-mC)标志^[11-13],本实验室前期研究也得出了一致的结论^[4]。与主动去甲基化相反,第一次卵裂直到囊胚阶段,母系基因组依赖复制,细胞分裂发生被动去甲基化。印记基因能够抵御这种全基因的主动及被动去甲基化过程而被维持。印记DNA序列的一个重要特点是在两个亲代配子中,只有一个是被修饰的,因此,印记建立需要两种不同类型的系统,每个系统指导不同的DNA序列。印记一旦建立,受精后必须在同一条亲代染色体中维持,并且稳定遗传。

目前,已经鉴定出一些主要的在植入前早期胚胎保护和维持印记基因甲基化位点的蛋白,包括母源胚胎发育多能性蛋白3(developmental pluripotency-associated 3, DPPA3, 或称STELLA、PGC7)、TRIM28(tripartite motif-containing 28, 或称KAP1、TIF1 β)、ZFP57(zinc finger protein 57)和DNA甲基转移酶1(DNA methyltransferase 1, DNMT1)。

2 DPPA3

DPPA3, 又称PGC7或STELLA蛋白。DPPA3具有保护母源和父源印记基因免受主动去甲基化的作用^[15]。DPPA3行使功能的关键时期是受精后、2-细胞之前。TET酶家族能将5mC氧化成5hmC,有研究表明,DPPA3在体内外均能抑制TET2和TET3酶的活性^[16]。此外,缺乏DPPA3会导致DNA甲基化印迹位点的丢失,大部分受精卵会在4-细胞之前停止发育,几乎不能到达囊胚阶段。所以,DPPA3对植入前早期胚胎的发育十分重要。最近的一项研究表明,组蛋白H3第9位赖氨酸残基二甲甲基化(dimethylated histone H3 lysine 9, H3K9me2)能特异性招募DPPA3蛋白到母系和父系ICRs上,防止DNA的这些位点被TET酶催化主动去甲基^[17]。值得注意的是,DPPA3

蛋白也在PGC中表达,最早在小鼠胚胎E7.5时出现并且贯穿PGC发生全过程持续表达,但是它在PGC中的表达并不抑制ICRs的主动或是被动去甲基^[18]。

3 TRIM28和ZFP57

TRIM28(也称为KAP1或TIF1 β)是由Friedman等^[19]于1996年分离并克隆得到的一种辅助抑制因子,它能与KRAB结构域(Kruppel相关型锌指蛋白)结合,是一种异染色质诱导复合体的核心连接元件,该复合体包含多个染色质修饰因子。TRIM28是60个TRIM基因家族成员之一,与其他的3个TRIM家族成员(TIF1 α 、TIF1 γ 和TIF1 δ)高度相关。TRIM28是正常发育和分化过程中的关键调控因子,在卵巢和早期胚胎中高表达。母系TRIM28对于胚胎正常发育是功能性的,删除母源TRIM28导致印记丢失,但是对于不同印记位点的影响存在差异^[17],在ZFP57变异体中也观察到了这种对印记位点影响的可变性。近来有研究同时删除了小鼠胚胎母源及合子的TRIM28,对胚胎印记维持产生剧烈的影响,导致检测的所有胚胎均发生印记丢失,证明母源和合子的TRIM28均为早期胚胎印记维持所必需,并推测基因组印记对于TRIM28的表达量具有敏感性^[20]。敲除TRIM28的小鼠胚胎能发育至囊胚并植入子宫,但是在发育至原肠胚前即全部被吸收,说明TRIM28是早期植入后胚胎发育中的关键调节蛋白^[21]。成年鼠特异性地敲除前脑TRIM28导致小鼠焦虑和压力增加以及学习记忆能力的改变^[22]。同时,TRIM28也在维持多能性中起到重要作用,它能启动或抑制不同成体细胞的分化,也能终止小鼠胚胎干细胞的分化。

TRIM28和KRAB型锌指蛋白ZFP57组成转录抑制复合体,ZFP57是第一个与印记控制区连接的复合体组件。敲除小鼠受精卵中母源ZFP57导致印记基因沉默和父源母源甲基化ICRs丢失^[23]。在对人的研究中,ZFP57突变体的功能丧失导致多处ICRs低甲基化,最终导致新生儿糖尿病^[21,24]。而在小鼠中,合子ZFP57突变体对印记维持影响并不明显,并且母源ZFP57的丢失可以完全由合子中父系ZFP57的表达挽救^[19]。

ZFP57和TRIM28组成的表观遗传修饰复合体能保护印记区全面抵抗受精后全基因重编程。虽然TRIM28及ZFP57突变体胚胎对不同印记基因ICRs影响并不相同,但所有印记ICRs均检测到TRIM28

和ZFP57的结合以及组蛋白H3第9位赖氨酸残基三甲基化(dimethylated histone H3 lysine 9, H3K9me3)和组蛋白甲基转移酶1(histone H3 lysine 9-specific methyltransferase 1, SETDB1)的存在^[18]。这种广泛的结合已经通过全基因组DNA结合分析得到证实,即所有已知的ICRs都是通过一个含有ZFP57的复合体连接的。Zuo等^[25]在ZFP57敲除ES细胞系中表达野生型ZFP57及缺少KRAB结构域的ZFP57变异体,发现野生型ZFP57能防止DNA甲基化的丢失,但是如果缺少KRAB结构域的ZFP57变异体,将不能与TRIM28相互作用,导致甲基化维持的失败,进一步证明了TRIM28作为桥梁蛋白在ZFP57和TRIM28组成的表观遗传修饰复合体参与的甲基化维持过程中的关键作用。ZFP57和TRIM28组成的表观遗传修饰复合体的结合依赖于ICRs的甲基化。在ES细胞中敲除KAP1导致所有ICRs大量的丢失异染色质标记H3K9me3及组蛋白乙酰化水平升高。在低甲基化ICRs母源TRIM28突变胚胎中,TRIM28与ZFP57结合以及H3K9me3积累不再进行,即使是当父系等位基因表达TRIM28也不能拯救这种母源TRIM28缺失导致的甲基化维持失败^[26],说明ZFP57与DNA的结合依赖5mC,一旦ICRs的DNA甲基化丢失就不能恢复。Messerschmidt等^[17]对7个E12.5母系TRIM28变异体胚胎进行分析,7个胚胎中有4个胚胎的差异性甲基化(differentially methylated regions, DMRs)富集TRIM28,这4个DMRs都具有正常的甲基化状态,而3个低甲基化的DMRs都没有出现TRIM28的富集。因此,缺乏母源TRIM28导致DNA甲基化的丢失和后续发育阶段的父源TRIM28的缺乏,说明TRIM28转录抑制复合体的结合依赖于DMRs的甲基化。在ZFP57敲除ES细胞系中表达野生型ZFP57,ICRs的DNA甲基化并没有恢复,也证明了上述观点^[25]。

ZFP57/TRIM28复合体结合到ICRs能防止DNA主动去甲基化,这与DDPA3的功能相似。然而,通过结合亚硫酸氢盐的限制酶切分析(combined bisulfite restriction analysis, COBRA)发现,ZFP57/TRIM28复合体对2细胞阶段胚胎的H19作用并不明显,这表明DNA甲基化是缓慢进行的^[26-27]。DNA主动去甲基化通过碱基切除修复的方式实现,与在原始生殖细胞中观察到的结果一样,这表明在受精卵发生的不可可能是被动机制。另外,由TET酶催化的DNA主动去甲基化产生的中间产物5-羟甲基胞嘧啶(5-hmC),能

在植入前胚胎中得到保护, 并随着DNA复制而被削弱^[28]。

4 DNMT1

DNMT1对印记基因DNA甲基化的保护和维持同样起着至关重要的作用。DNA甲基化转移酶DNMT3a和DNMT3b主要作用于重头甲基化, 重头甲基化并不依赖已有的甲基化DNA链, 而是在一个新位点将DNA链中胞嘧啶C5甲基化, 与维持甲基化对应。DNMT3L没有催化能力, 但是能够增强DNMT3a和DNMT3b的活性。DNMT1既能催化重头甲基化又能维持DNA甲基化。在小鼠体内, DNMT1有2个亚型, 卵母细胞特异型(DNMT1o)和体细胞特异型(DNMT1s)。DNMT1o出现在成熟的卵母细胞和植入前胚胎, DNMT1s也在植入前胚胎中存在, 但是比DMNT1o浓度低^[29]。DNMT1o的缺乏并不影响卵母细胞甲基化的获得, 但是引起母源DNMT1o突变体胚胎一系列印记甲基化的丢失^[27]。敲除母源DNMT1s, 同样在桑葚胚阶段出现了H19印记甲基化的丢失。因此, 缺失母源DNMT1o及DNMT1s会导致印记基因甲基化的部分丢失, 致使胚胎无法正常发育。

DNMT1参与招募因子[如SETDB1、异染色质蛋白1(heterochromatinprotein 1, HP1)及NP95等]到达DNA甲基化位点上参与维持甲基化。敲除DNMT1、DNMT3a和DNMT3b, KAP1不再聚集于ICRs, 揭示了ZFP57/KAP1与DNMTs和NP95之间存在相互作用^[30]。为证明KAP1与NP95、DNMTs的相互作用, 将FLAG标记的NP95变异体引入ES细胞, 利用KAP1和FLAG特异性抗体进行免疫共沉淀, 证明KAP1与NP95相互结合, 进一步利用免疫共沉淀证明了DNMT1、DNMT3a和DNMT3b在ES细胞中与KAP1、ZFP57共沉淀^[29]。近来研究表明, DNMT1能够自动抑制与泛素化的组蛋白H3的结合, 并且确

保DNMT1招募的因子能够精确地到达DNA甲基化位点^[26]。泛素化是指泛素(一类低分子量的蛋白质)分子在一系列特殊的酶作用下, 从细胞内的蛋白质中选出靶蛋白分子, 并对靶蛋白进行特异性修饰的过程。组蛋白H3的泛素化对DNMT1招募因子到达ICRs位点上十分重要, 这有助于促进DNA半甲基化到甲基化的转变^[31]。

5 结论

在植入前早期胚胎中, 甲基化的ICRs参与调控基因组印记。锌指蛋白ZFP57/TRIM28复合体直接作用于母源和父源ICRs, 从而保护和维持ICRs的甲基化。ZFP57和TRIM28组成的表观遗传修饰复合体与印记基因调控区甲基化的TGCCGC识别位点结合, 维持差异甲基化状态, 抑制基因表达, 同时募集多种转录抑制效应因子, 如HP1、SETDB1、DNMT1、DNMT3a、DNMT3b及NP95等, 形成转录抑制复合物, 阻止ICRs的去甲基化, 沉默印记位点相应等位基因。ZFP57/TRIM28复合体招募SETDB1和HP1到靶位点, SETDB1能将H3K9me2转变为H3K9me3并调节H3K9me3的沉积, HP1连接于KAP1的PxVxL结构域, 直接与H3K9me3作用, 有助于建立更稳定的KAP1复合体, 当KAP1与ZFP57结合, HP1-H3K9me3相互作用有助于KAP1-SETDB1复合体的作用扩散和紧密的异染色质区域的形成。NP95招募DNMT1到半甲基化的DNA, 并与DNMT1形成复合体联合DNMT3a、DNMT3b在ICRs的DNA甲基化维持过程中起重要作用。这些转录调控因子发挥特异的转录抑制功能, 调节染色质构象, 使附近基因表达沉默。复合体结合ICRs贯穿胚胎植入前的发育阶段, 维持5-mC在重编程和去甲基化基因组环境中的平衡(图1), 但是关于ZFP57/TRIM28复合体招募相关分子维持DNA甲基化的确切机制仍有待进一步研究。

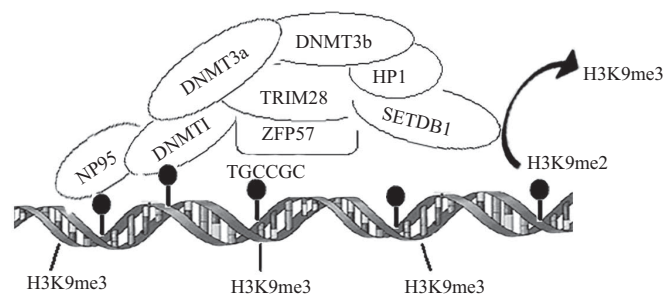


图1 ZFP57/TRIM28复合体模型

Fig.1 Model of ZFP57/TRIM28 complex

植入前胚胎的表观遗传重编程过程中, 基因组印记能够被保护和维持, 而不同遗传模型间的主要差异需要进一步研究, 例如, 母系ZFP57突变体与母系TRIM28突变体致命性的比较以及对体内特定ICRs的非重叠性的影响。随着研究的不断深入, 人们逐渐分析并了解了由ZFP57和TRIM28组成的表观遗传修饰复合体以及其他相关分子的作用, 也逐渐了解了这些分子对基因组印记的表观调控机制, 这些发现也给基因组印记调控研究带来了新的机遇。

参考文献 (References)

- Hoeijmakers L, Kempe H, Verschure PJ. Epigenetic imprinting during assisted reproductive technologies: the effect of temporal and cumulative fluctuations in methionine cycling on the DNA methylation state. *Mol Reprod Dev* 2016; 83(2): 94-107.
- Li E, Zhang Y. DNA methylation in mammals. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2014; 6(5): a19133.
- Ferguson-Smith AC, Surani MA. Imprinting and the epigenetic asymmetry between parental genomes. *Science* 2001; 293(5532): 1086-9.
- Bird A. Perceptions of epigenetics. *Nature* 2007; 447(7143): 396-8.
- Bernstein BE, Meissner A, Lander ES. The mammalian epigenome. *Cell* 2007; 128(4): 669-81.
- Takahashi K, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell* 2006; 126(4): 663-76.
- Ferguson-Smith AC. Genomic imprinting: The emergence of an epigenetic paradigm. *Nat Rev Genet* 2011; 12(8): 565-75.
- 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.
- Saitou M, Kagiwada S, Kurimoto K. Epigenetic reprogramming in mouse pre-implantation development and primordial germ cells. *Development* 2012; 139(1): 15-31.
- Jia D, Jurkowska RZ, Zhang X, Jeltsch A, Cheng X. Structure of Dnmt3a bound to Dnmt3L suggests a model for *de novo* DNA methylation. *Nature* 2007; 449(7159): 248-51.
- Bourc'His D, Xu GL, Lin CS, Bollman B, Bestor TH. Dnmt3L and the establishment of maternal genomic imprints. *Science* 2001; 294(5551): 2536-9.
- Wu H, Wu X, Shen L, Zhang Y. Single-base resolution analysis of active DNA demethylation using methylase-assisted bisulfite sequencing. *Nat Biotechnol* 2014; 32(12): 1231-40.
- Amouroux R, Nashun B, Shirane K, Nakagawa S, Hill PW, D'Souza Z, *et al.* *De novo* DNA methylation drives 5hmC accumulation in mouse zygotes. *Nat Cell Biol* 2016; 18(2): 225-33.
- Zhang P, Su L, Wang Z, Zhang S, Guan J, Chen Y, *et al.* The involvement of 5-hydroxymethylcytosine in active DNA demethylation in mice. *Biol Reprod* 2012; 86(4): 104.
- Bian C, Yu X. PGC7 suppresses TET3 for protecting DNA methylation. *Nucleic Acids Res* 2014; 42(5): 2893-905.
- Nakamura T, Arai Y, Umehara H, Masuhara M, Kimura T, Taniguchi H, *et al.* PGC7/Stella protects against DNA demethylation in early embryogenesis. *Nat Cell Biol* 2007; 9(1): 64-71.
- Messerschmidt DM, de Vries W, Ito M, Solter D, Ferguson-Smith A, Knowles BB. Trim28 is required for epigenetic stability during mouse oocyte to embryo transition. *Science* 2012; 335(6075): 1499-502.
- Denomme MM, Mann MR. Maternal control of genomic imprint maintenance. *Reprod Biomed Online* 2013; 27(6): 629-36.
- Friedman JR, Fredericks WJ, Jensen DE, Speicher DW, Huang XP, Neilson EG, *et al.* KAP-1, a novel corepressor for the highly conserved KRAB repression domain. *Genes Dev* 1996; 10(16): 2067-78.
- Alexander KA, Wang X, Shibata M, Clark AG, Garcia-Garcia MJ. TRIM28 controls genomic imprinting through distinct mechanisms during and after early genome-wide reprogramming. *Cell Rep* 2015; 13(6): 1194-205.
- Cammas F, Mark M, Dolle P, Dierich A, Chambon P, Losson R. Mice lacking the transcriptional corepressor TIF1beta are defective in early postimplantation development. *Development* 2000; 127(13): 2955-63.
- Jakobsson J, Cordero MI, Bisaz R, Groner AC, Buskamp V, Bensadoun JC, *et al.* KAP1-mediated epigenetic repression in the forebrain modulates behavioral vulnerability to stress. *Neuron* 2008; 60(5): 818-31.
- Takikawa S, Wang X, Ray C, Vakulenko M, Bell FT, Li X. Human and mouse ZFP57 proteins are functionally interchangeable in maintaining genomic imprinting at multiple imprinted regions in mouse ES cells. *Epigenetics* 2013; 8(12): 1268-79.
- Strogantsev R, Krueger F, Yamazawa K, Shi H, Gould P, Goldman-Roberts M, *et al.* Allele-specific binding of ZFP57 in the epigenetic regulation of imprinted and non-imprinted monoallelic expression. *Genome Biol* 2015; 16: 112.
- Zuo X, Sheng J, Lau HT, McDonald CM, Andrade M, Cullen DE, *et al.* Zinc finger protein ZFP57 requires its co-factor to recruit DNA methyltransferases and maintains DNA methylation imprint in embryonic stem cells via its transcriptional repression domain. *J Biol Chem* 2012; 287(3): 2107-18.
- Misaki T, Yamaguchi L, Sun J, Orii M, Nishiyama A, Nakanishi M. The replication foci targeting sequence (RFTS) of DNMT1 functions as a potent histone H3 binding domain regulated by autoinhibition. *Biochem Biophys Res Commun* 2016; 470(3): 741-7.
- Shi X, Ni Y, Zheng H, Chen S, Zhong M, Wu F, *et al.* Abnormal methylation patterns at the IGF2/H19 imprinting control region in phenotypically normal babies conceived by assisted reproductive technologies. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2011; 158(1): 52-5.
- Ruzov A, Tsenkina Y, Serio A, Dudnakova T, Fletcher J, Bai Y, *et al.* Lineage-specific distribution of high levels of genomic 5-hydroxymethylcytosine in mammalian development. *Cell Res* 2011; 21(9): 1332-42.
- Quenneville S, Verde G, Corsinotti A, Kapopoulou A, Jakobsson J, Offner S, *et al.* In embryonic stem cells, ZFP57/KAP1 recognize a methylated hexanucleotide to affect chromatin and DNA methylation of imprinting control regions. *Mol Cell* 2011; 44(3): 361-72.
- Hirasawa R, Chiba H, Kaneda M, Tajima S, Li E, Jaenisch R, *et al.* Maternal and zygotic Dnmt1 are necessary and sufficient for the maintenance of DNA methylation imprints during preimplantation development. *Genes Dev* 2008; 22(12): 1607-16.
- Nishiyama A, Yamaguchi L, Nakanishi M. Regulation of maintenance DNA methylation via histone ubiquitylation. *J Biochem* 2016; 159(1): 9-15.