



颉伟博士, 清华大学生命科学学院教授, 美国霍华德休斯医学研究所(HHMI)国际学者。2003年本科毕业于北京大学生命科学学院。2008年在美国加州大学洛杉矶分校分子生物学系完成了博士学习, 同时获得了统计学的硕士双学位。之后在美国加州大学圣地亚哥分校完成博士后训练。2013年加入清华大学生命科学学院任研究员, 同时入选清华-北大生命科学联合中心。颉伟应用多学科交叉方法研究早期胚胎发育表观遗传信息的传递、建立和调控, 在分子水平阐明了哺乳动物早期胚胎发育中染色质开放性、组蛋白修饰和染色质高级结构等是如何重编程和调控的。颉伟共发表高水平论文40多篇, 引用数超过9 000次, 包括以第一或通讯作者身份在*Nature*、*Science*、*Cell*及其子刊发表多篇论文。曾入选中国青年千人计划、香港求是杰出青年学者, 获得国家基金委杰出青年基金、美国霍华德休斯医学研究所(HHMI)国际研究学者、谈家桢生命科学创新奖、树兰医学青年学者、中源协和生命科学创新奖、中国青年科技奖等。

<http://p.labscout.cn/xiew/>

哺乳动物早期胚胎发育中表观遗传信息的传递和重编程

卢绪坤 李元元 颉伟*

(清华大学生命科学学院, 清华-北大生命科学联合中心, 生物信息学教育部重点实验室, 干细胞与再生医学中心, 北京 100084)

摘要 高度特化的精子和卵子如何重编程形成全能性的受精卵? 受精卵又是如何通过时空有序的分化和分化形成各种细胞谱系, 进而发育成一个完整的个体? 这些问题是生殖生物学、发育生物学乃至整个生命科学领域基本和关键的科学问题。近年来, 随着技术的进步和研究的深入, 人们可以从全基因组水平以前所未有的广度、深度和精度窥探这一过程中重要的分子事件。研究发现, DNA的微环境染色质及其所携带的表观遗传信息在这些过程中发生了剧烈的重编程, 以完成亲代到子代的转换。DNA甲基化、组蛋白修饰、染色质开放程度以及染色质高级结构等表观遗传信息在配子发生和早期胚胎发育过程中经历了广泛的建立、擦除以及重建过程。同时, 部分表观遗传信息可以从亲代传递到子代。该文总结了近年来在哺乳动物早期胚胎发育中表观遗传信息的传递和重编程方面取得的研究进展, 同时阐述了表观遗传信息传递和重编程的潜在机制和生物学意义。

关键词 DNA甲基化; 组蛋白修饰; 染色质开放程度; 染色质高级结构; 重编程; 配子发生; 早期胚胎发育

The Inheritance and Reprogramming of Epigenetic Information During Mammalian Early Embryogenesis

清华大学-北京大学生命科学联合中心博士后基金资助

*通讯作者。Tel: 010-62771496, E-mail: xiewei121@tsinghua.edu.cn

This work was supported by the Postdoctoral Fellowship of THUPKU Center for Life Sciences

*Corresponding author. Tel: +86-10-62771496, E-mail: xiewei121@tsinghua.edu.cn

网络出版时间: 2019-06-13 17:44:17

URL: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20190613.1744.014.html>

Lu Xukun, Li Yuanyuan, Xie Wei*

(Center for Stem Cell Biology and Regenerative Medicine, MOE Key Laboratory of Bioinformatics,
THUPKU Center for Life Sciences, School of Life Sciences, Tsinghua University, Beijing 100084, China)

Abstract After fertilization, the highly differentiated sperm and oocyte are reprogrammed to a totipotent embryo, which subsequently develop into an individual through spatio-temporal cleavage and differentiation. How this process is accomplished is one of the most fundamental and key questions in reproductive biology, developmental biology and general biology. Recently, thanks to rapid development of technologies, the molecular bases underlying these events begin to be unfolded with unprecedented depth and resolution. Epigenetic reprogramming plays critical roles in these processes to facilitate the parental-to-zygotic transition. Epigenetic information, including DNA methylation, histone modification, chromatin accessibility and higher order chromatin structure, is extensively reset and reestablished during mammalian gametogenesis and early embryogenesis. Additionally, some epigenetic information can also be transmitted from parents to the offspring. In the review, we summarize recent progress in understanding epigenetic inheritance and reprogramming during mammalian early development, and their underlying mechanisms and biological implications.

Keywords DNA methylation; histone modification; open chromatin; chromatin higher order structure; reprogramming; gametogenesis; early development

在动物的有性生殖过程中, 生殖细胞通过减数分裂形成高度特化的单倍体精子和卵子。精子和卵子通过受精作用形成受精卵, 从而起始了整个生命过程。高度特化的精子和卵子如何重编程成为全能性的受精卵, 并进而发育成一个由多种细胞类型构成的完整个体, 是生命科学领域最基本和关键的问题之一。哺乳动物配子发生和早期胚胎发育过程伴随很多重要的细胞和分子事件, 包括减数分裂、受精、母源RNA降解、合子基因组激活(zygotic genome activation, ZGA)、细胞命运分化、X染色体失活等^[1]。这些事件是在储存于DNA序列中的遗传信息的指导下, 通过基因时空有序的表达实现的。例如, 在受精后以ZGA为标志, 转录组需经过剧烈的重编程以完成母源向合子的转变(maternal-to-zygotic transition, MZT)^[2]。随着技术的进步和研究的深入, 越来越多的证据表明, DNA序列之外的表观遗传信息(epigenetic information)同样发挥了重要的指导作用和调控功能^[3-5]。

表观遗传(epigenetics)最早由Waddington提出, 指的是由非DNA序列改变而引起的可遗传的基因表达或表型变化^[6], 主要包括DNA甲基化、组蛋白修饰、染色质开放状态、染色质高级结构以及非编码RNA等^[7-8]。表观遗传信息相对稳定但又经常发生动态变化, 可通过调控基因表达影响多种生物学

过程, 如细胞命运的维持和转变、细胞的增殖和分化、衰老和疾病发生等^[9]。一些表观修饰酶的突变或敲除会造成小鼠配子发生或早期胚胎发育缺陷甚至停滞, 表明表观遗传信息也是哺乳动物配子发生和早期胚胎发育必需的^[10-14]。借助于传统的免疫荧光检测手段, 人们发现全基因组DNA甲基化在哺乳动物早期胚胎发育中经历了广泛的重编程过程^[15-18]。但是受限于实验材料和实验手段, 无法在更高分辨率获得这些表观修饰的动态变化图谱, 这也阻碍了对其作用机制的研究。近年来, 随着一些适用于低起始样本量表观修饰研究手段的出现(表1), 研究人员可以从全基因组水平, 以前所未有的广度、深度和精度来研究哺乳动物配子发生和早期胚胎发育过程中表观修饰的动态变化和潜在的作用机制。研究发现, 在哺乳动物配子发生和早期胚胎发育过程中, 各种表观遗传信息都发生了广泛而剧烈的重编程过程, 包括建立、擦除、重建等^[3]。有些表观信息甚至可以由亲代传递给子代, 并在子代的早期胚胎发育中发挥了重要的调控作用^[19-22]。本文结合最近的研究进展, 主要从DNA甲基化、组蛋白修饰、染色质开放状态和染色质高级结构几个方面, 对哺乳动物配子发生和早期胚胎发育过程中的表观遗传变化进行阐述。对这些问题的理解将有助于深化对哺乳动物早期胚胎发育调控, 以及表观遗传信息作用机制

表1 用于研究哺乳动物配子发生和早期胚胎发育中表观遗传信息的代表性方法

Table 1 Representative methods for profiling epigenetic information during mammalian gametogenesis and early development

表观遗传信息 Epigenetic information	研究方法 Method	DNA/细胞量 DNA amount /cell number	实验步骤/特点 Experimental procedure/feature	参考文献 Reference
DNA methylation	scRRBS	single cell	Restriction enzyme digestion, library preparation, bisulfite treatment, PCR	[36]
	MethylC-seq	5-20 cells	Sonication, end repair, adaptor ligation, bisulfite treatment, PCR	[20]
	PBAT	5-100 ng DNA DNA/hundreds of cells	Bisulfite treatment, adaptor ligation, reduced DNA loss	[31]
	T-WGBS	0.5-20 ng DNA/100 cells	Tn5 treatment, bisulfite treatment, PCR	[47]
	STEM-seq	10 ng DNA/500 cells	Bisulfite treatment, library preparation using TELP, reduced sample loss	[41]
	scCOOL-seq	single cell	The combination of NOME-seq and PBAT-seq, multiple epigenetic information can be tested concomitantly	[37]
Histone modification	μ ChIP-seq	500 cells	Formaldehyde crosslinking, sonication, immunoprecipitation	[21]
	ULI-NChIP	500 cells	MNase treatment	[22]
	STAR ChIP-seq	200 cells	MNase treatment, library preparation with TELP	[19]
Chromatin accessibility	scCOOL-seq	single cell	The combination of NOME-seq and PBAT-seq, multiple epigenetic information can be tested concomitantly	[37]
	ATAC-seq+CARM	Hundreds of cells	Tn5 treatment, mitochondria DNA removed using CRISPR/Cas9	[43]
	liDNase-seq	30 cells	Dnase I treatment, optimized purification procedure, reduced sample loss	[44]
	3D chromatin structure			
	Single-nucleus Hi-C	single cell	Optimized <i>in situ</i> Hi-C, no biotin labeling, reduced sample loss	[45]
	<i>In situ</i> Hi-C	Hundreds of cells	Optimized <i>in situ</i> Hi-C, reduced sample loss	[39]
	sisHi-C	Hundreds of cells	Optimized <i>in situ</i> Hi-C, reduced sample loss	[46]

NOME-seq: 核小体占位和甲基化组测序; TELP: 加尾-延伸-连接-PCR。

NOME-seq: nucleosome occupancy and methylome sequencing; TELP: tailing-extension-ligation-PCR.

的认识。

1 哺乳动物配子发生和早期胚胎发育

在哺乳动物早期胚胎发育的过程中,一小部分细胞特化为原始生殖细胞(primordial germ cell, PGC)。二倍体的PGC逐步增殖、分化并最终经过减数分裂形成单倍体的精子或卵子,该过程即为配子发生(gametogenesis),包括精子发生(spermatogenesis)和卵子发生(oogenesis)^[5,23]。精子发生起始于精原干细胞(spermatogonial stem cells, SSC),主要包括有丝分裂、减数分裂和精子形成期(spermiogenesis)^[5,24-25]。精原干细胞通过有丝分裂形成A型精原干细胞和B型精原干细胞,前者具有自我更新能力,后者则具有减数分裂的潜能。随后,精子发生以B型精原干细胞为起点,经过两次连续的减数分裂,形成4个单倍体的圆形精

子。圆形精子经历一系列变化,包括头、颈、尾结构的出现,顶体形成,以及组蛋白被鱼精蛋白替换等发育成成熟的精子^[25]。雌性生殖细胞在E13.5天开始进入减数分裂,出生前后停滞在第一次减数分裂前期的双线期,并进入卵母细胞生长阶段。在这个阶段,卵母细胞积累大量的母源RNA和蛋白质并重建DNA甲基化图谱,包括基因印记^[26]。雌性哺乳动物性成熟后,在激素的刺激作用下完成第一次减数分裂并排出第一极体;随后停滞在第二次减数分裂中期(MII oocyte)。受精后,在精子的刺激下,卵母细胞完成第二次减数分裂并排出第二极体^[5]。

精子和卵子通过受精作用形成受精卵,成为哺乳动物胚胎发育的起点。受精卵经过一系列卵裂过程,形成2-细胞、4-细胞、8-细胞、桑椹胚(morula)和囊胚(blastocyst),这个阶段称为着床前胚胎发育

(pre-implantation development)。随后, 囊胚植入子宫壁开始着床后胚胎发育(post-implantation development)^[27-28]。在哺乳动物早期胚胎发育过程中伴随着一系列重要的生物学事件, 包括受精前后的母源RNA降解、2-细胞(小鼠)或8-细胞(人)阶段的ZGA, 囊胚时期经第一次细胞命运分化形成内细胞团和滋养外胚层, 内细胞团进一步分化形成上胚层和原始内胚层。着床之后, 细胞经历快速的增殖、迁移和分化, 形成包括近-远轴、前-后轴, 左-右轴、背-腹轴在内的细胞轴系。随后通过原肠作用(gastrulation)形成内、中、外三个胚层, 为之后的图示建立和组织器官发生奠定了基础^[27-28]。

配子发生和早期胚胎发育需要受到精确的基因表达调控。由于实验手段和材料的限制, 哺乳动物配子发生和早期胚胎发育研究长期进展缓慢。近年来, 随着单细胞测序手段的发展, 我们从转录组水平获得了大量有价值的信息^[29-34]。在表观遗传学层面, 由于适用于低起始样本量的表观遗传学研究方法的出现, 我们也初步开始了解哺乳动物, 包括人的配子发生和早期胚胎发育过程中表观基因组的动态变化、调控和潜在功能^[21-22,31,35-47]。这些工作为我们理解哺乳动物配子发生和早期胚胎发育提供了有价值的参考信息。

2 表观基因组

2.1 DNA甲基化

如上所述, 目前研究比较多的表观基因组包括DNA甲基化、组蛋白修饰、染色质开放状态以及染色质高级结构等^[7-8]。DNA甲基化指的是DNA分子在DNA甲基转移酶(DNA methyltransferase, DNMT)的作用下被加上甲基的过程。在哺乳动物中, DNA甲基化通常发生于CpG二联核苷酸中胞嘧啶(cytosine, C)的第5位碳原子^[48]。DNA甲基转移酶主要包括两类: 从头(*de novo*)DNA甲基转移酶和维持型DNA甲基转移酶^[49-50]。前者主要包括DNMT3A和DNMT3B, DNMT3L本身不具备甲基转移酶活性, 但是可以促进DNMT3A/3B的催化活性^[51]。最近, 在小鼠等啮齿类动物中还发现了另外一种从头DNA甲基转移酶——DNMT3C, 它对雄性生殖是必需的^[52]。DNMT3C本身的催化活性较低, 主要负责雄性生殖细胞中进化上比较年轻的逆转录转座子启动子区的甲基化, 维持基因组稳定性^[52]; 维持型

DNA甲基转移酶主要是DNMT1, 负责在DNA复制后维持新生链的甲基化水平^[49-50,53]。但是最近的研究表明, DNMT1或许也具有从头甲基化DNA的能力^[54]。另外, DNA甲基化也可以被擦除。例如, 如果复制过程中DNMT1由于某种原因(比如无法入核)无法维持DNA新链上的甲基化, 基因组中的甲基化会随着DNA复制和细胞分裂不断被“稀释”, 这一过程称为被动去甲基化; 另外, TET(Ten-eleven translocation)蛋白家族(包括TET1、TET2和TET3)可以通过氧化反应逐步主动去除DNA上的甲基化^[55], 这一过程称为主动去甲基化。

2.2 组蛋白修饰

核小体(nucleosome)是组成染色质的基本结构单位, 由各两个分子的H2A、H2B、H3和H4组成的组蛋白八聚体及缠绕在八聚体上的长约146 bp的DNA组成^[56-57]。其中, 组蛋白N-端尾巴通常暴露在核小体之外, 可以被甲基、乙酰基、磷酸基和泛素等修饰, 称为组蛋白修饰, 其在基因表达调控方面具有重要的作用^[58-60]。不同的组蛋白修饰通常由不同的酶参与介导, 但同一种组蛋白修饰也可以由多种酶调控。例如, 哺乳动物中参与H3K4甲基化建立的酶包括SET1A、SET1B、MLL1-4, 而负责H3K4甲基化去除的酶包括LSD1/2、JARID1A-1D等^[61-62]。同DNA甲基化一样, 组蛋白修饰也可以在酶的作用下被去除^[62]。不同的组蛋白修饰经常出现在不同的基因组区域, 并执行不同的功能。例如, H3K4me3大多出现在基因启动子区域, H3K27ac常见于基因的增强子(enhancer)区域, 它们是基因活跃转录的标志, 而H3K27me3和H3K9me3等修饰往往和基因转录抑制以及异染色质形成有关^[60]。

2.3 染色质高级结构

核小体在染色质上并不是均匀分布的, 有些区域比较松散, 另外一些区域则比较致密^[63]。比较松散的区域有利于转录因子或转录机器的结合, 这些区域叫做染色质开放区域(open chromatin), 通常是一些重要的调控区域^[64]。此外, 染色质在细胞核内通过层级压缩和折叠, 形成有序的三维空间结构^[65-68]。基因组中存在着众多的调控元件, 它们的靶基因可能在空间上与之距离较远, 但是通过染色质高级结构的变化, 调控元件便可以接近并调控位于同一条或不同染色体上的靶基因。借助于基于空间邻近染色质近端连接方法的染色质构象捕

获(chromosome conformation capture)技术以及高分辨率成像技术, 我们已经知道染色质在空间结构上分为染色质领域(chromosome territories)、区室A/B(compartment A/B)、拓扑结构域(topologically associating domain, TAD)和染色质环(chromatin loops)等^[67,69-72]。已有研究表明, 染色质高级结构能够广泛参与DNA复制、DNA修复、细胞分裂和转录调控等过程。例如, TAD内部的调控元件一般调控同一TAD中基因的表达。破坏不同TAD之间的边界将扰乱这种调控的特异性, 引起基因表达的改变, 从而可能引发疾病等^[73-74]。因此, 了解染色质的高级结构是了解生命过程的重要环节之一。

3 表观基因组对哺乳动物配子发生和早期胚胎发育的调控

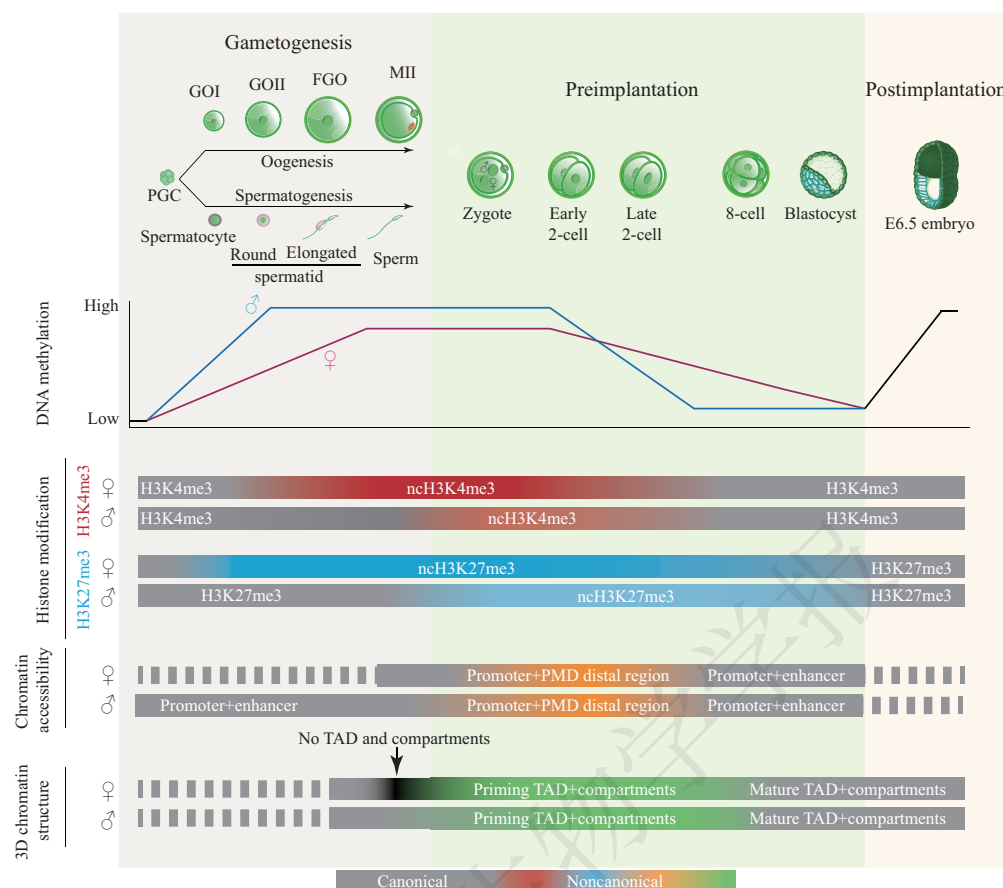
借助于传统的胚胎操作、基因修饰的细胞系和小鼠模型, 人们发现, 表观遗传信息, 包括DNA甲基化、组蛋白修饰和染色质高级结构等可能在哺乳动物配子发生和早期胚胎发育中发挥了重要功能。例如, 早期研究通过核移植(nuclear transfer)技术发现, 同时含有两套父本基因组或两套母本基因组的胚胎是无法存活的^[75-76]。后来证明, DNA甲基化调控的印记基因(imprinted genes)在父本和母本基因组正确的特异表达是胚胎正常发育必需的^[77-78]。而DNA甲基转移酶(DNMT1、DNMT3A/3B/3C)以及DNA去甲基化酶(TET1/2/3)的功能缺失会造成基因组不稳定或基因表达紊乱, 进而造成小鼠配子发生异常, 或者胚胎发育缺陷和死亡^[10-12,79-80]; 一些组蛋白修饰酶的功能缺失也会造成小鼠配子发生及胚胎发育异常, 例如H3K4甲基转移酶KMT2B缺失会导致胚胎致死和雌性、雄性不育^[14,81]。PRC2(polycomb repressive complex 2)是哺乳动物中负责催化H3K27me3的经典蛋白复合物, 主要包括: EZH1/2、SUZ12、EED和RbAp46/48在内的4种组分^[82]。研究表明, EZH2、SUZ12和EED任何一个成分的敲除都会降低H3K-27me3水平, 并导致胚胎在植入后时期死亡^[13,83-84]。同样, 染色质高级结构的破坏和紊乱也会造成小鼠配子发生和早期胚胎发育缺陷。CTCF(CCCTC-binding factor)是一种物种间保守的锌指蛋白, 参与调控基因表达和染色质的高级结构^[85]。研究发现, 缺失CTCF的卵母细胞无法进行正常的减数分裂, 而且受精后的胚胎死于囊胚时期^[86-87]。在雄性生殖细

胞中条件性敲除CTCF会影响精子形成, 导致不育。残存的精子显示不正常的头部形态和异常的染色质结构^[88]。另外, 小鼠中与四肢发育相关的*Epha4*基因受到TAD内增强子的严格调控, 如果TAD边界由于某种原因, 如DNA片段倒位(inversion)、遭到破坏, 作用于*Epha4*的增强子可能与其他启动子发生相互作用, 异常激活附近基因表达, 造成胚胎四肢畸形^[74]。因此, 表观修饰在哺乳动物配子发生和早期胚胎发育过程中具有重要的调控功能, 但是其发挥作用的机制还有待进一步研究。

表观修饰在基因表达调控方面发挥着重要作用, 因此研究哺乳动物配子发生和早期胚胎发育中表观修饰的动态变化和调控具有重要意义。近年来, 随着表观遗传调控研究方法的改进, 研究人员仅需要少量的细胞, 甚至是单个细胞, 就可以从全基因组水平检测DNA甲基化、组蛋白修饰、染色质开放程度以及染色体空间三维结构等(表1)^[19,21-22,31,35-47], 为从表观层面了解配子发生和胚胎发育过程创造了条件, 极大地丰富了人们对哺乳动物早期胚胎发育调控机制的认识。

3.1 DNA甲基化在哺乳动物配子发生和早期胚胎发育中的重编程

在哺乳动物配子发生和早期胚胎发育过程中, DNA甲基化经历了广泛的重编程过程(图1)。以小鼠为例, 一共有两次全基因组范围内的DNA甲基化去除和重建过程, 一次是在配子发生时期, 另一次则发生于受精后到胚层分化时期(图1)^[53,89]。在PGC发育的过程中, DNA甲基化水平由于被动去甲基化和TET蛋白介导的主动去甲基化逐渐下降。到E13.5天, 基因组上除了一些特定的重复序列区域, 如逆转录转座子IAP(intracisternal-A particle), 而包括基因印记(imprinting)区域在内的其他所有区域的甲基化几乎完全被去除^[90]。在之后的配子发生期间, 基因组又重新建立DNA甲基化。该过程在雄性和雌性之间是不同的。首先, 雄性生殖细胞基因组在E13.5天之后便重新建立甲基化, 在出生前基本完成; 而雌性生殖细胞基因组在出生之后, 伴随着卵母细胞发育逐渐建立甲基化(图1)。第二, 精子基因组上大约90%的CpG都是甲基化的; 而卵子大约只有40%的CpG是甲基化的。第三, 精子基因组上除了一些CpG岛和启动子区域, 几乎全部CpG都被甲基化; 而在卵子基因组上, 大片高甲基化区域和大片低甲基化区域交



在小鼠配子发生和早期胚胎发育过程中, 各种表观遗传信息发生了广泛的重编程。首先, DNA甲基化水平在雌雄配子发生过程中逐渐增加, 但成熟精子的DNA甲基化水平要显著高于MII卵子。受精后, 在主动去甲基化和被动去甲基化双重机制的作用下, DNA甲基化水平迅速下降, 到囊胚时期达到最低。着床之后, 胚胎基因组重新建立DNA甲基化。另外, 在原始生殖细胞迁移的过程中, 其基因组DNA也经历了剧烈的去甲基化过程, 包括基因印记区。在组蛋白修饰方面, H3K4me3和H3K27me3在精子中基本维持经典的窄峰模式, 但是在卵子发生过程中建立起特殊的“非经典”的宽峰模式, 被称为non-canonical H3K4me3和non-canonical H3K27me3, 或者ncH3K4me3和ncH3K27me3, 这些非经典的修饰很多位于基因间区和远端区域。受精后, 精子中的H3K4me3和H3K27me3水平迅速下降, 而母本的H3K4me3和H3K27me3会遗传至早期胚胎中, 并分别在2-细胞晚期(H3K4me3)和植入后胚胎(H3K27me3)中重建为经典模式。就染色质开放状态而言, 精子中的染色质开放区域主要集中在启动子和增强子区域。在ZGA之前的胚胎中, 开放染色质区域大多位于富含CpG的启动子以及卵子中与PMD重合的远端区域, 这些远端区域常带有ncH3K4me3修饰。在2-细胞晚期ZGA之后, 这些远端的开放染色质区域大多消失, 并在增强子区域重建, 但启动子区域的开放染色质得以保留。在染色质高级结构方面, MII卵子缺少TAD和compartment结构, 这可能与其停滞于减数分裂中期有关。精子具有正常的TAD和compartment结构。受精后, TAD和compartment结构较弱, 但随着胚胎发育逐渐增强, 到囊胚时期建立起成熟的TAD和compartment结构。经典的表现遗传信息模式以灰色表示, 其他特殊的模式以彩色表示。颜色强度代表修饰水平高低。虚线代表该时期的表观遗传信息变化尚不明确。GO: 生长的卵母细胞; FGO: 生长完全的卵母细胞; MII: 第二次减数分裂中期; PGC: 原始生殖细胞; TAD: 拓扑结构域。

During mouse gametogenesis and early development, the epigenetic information is extensively reprogrammed. Firstly, the DNA methylation level is gradually increased during spermatogenesis and oogenesis, with the level in mature sperm much higher than that in the MII oocyte. After fertilization, triggered by both the active and passive DNA demethylation mechanisms, DNA is rapidly demethylated, and to a low level at blastocyst stage. After implantation, DNA methylation is reestablished in the embryo genome. Additionally, the genome is also drastically demethylated during the migration of PGCs, including the imprinted regions. As for the histone modification, both the H3K4me3 and H3K27me3 modifications are in canonical patterns in the sperm. However, they exhibit specific “broad” peaks during oogenesis, which is referred to as non-canonical H3K4me3 (ncH3K4me3) or non-canonical H3K27me3 (ncH3K27me3). Many of these non-canonical patterns are observed in intergenic or distal regions. After fertilization, H3K4me3 and H3K27me3 in the paternal genome are rapidly erased, but the modifications in the maternal genome are transmitted to the embryos. They are reprogrammed to canonical patterns at late 2-cell (H3K4me3) and post-implantation (H3K27me3) stage, respectively. With respect to the open chromatin, they are mainly found at the promoter and enhancer regions in the sperm. In embryos prior to ZGA, open chromatin is frequently found at promoters enriched for CpG, and distal regions that overlap with PMDs in oocytes. These distal regions tend to be occupied by ncH3K4me3. After ZGA, the open chromatin in distal regions largely disappears, and reestablished at enhancer regions, with those at the promoter regions remained. There is no TADs and compartments in MII oocytes, which might be related to its arrested state at metaphase of the second meiosis, but TADs and compartments in the sperm are obvious. After fertilization, both the TADs and compartments are weakened, but are gradually reestablished with embryogenesis proceeds. Clear TADs and compartments can be observed in blastocysts. The canonical patterns of epigenetic information are labeled in grey, while non-canonical patterns are highlighted in colors. The intensity of colors denotes the level of individual epigenetic information. The dashed line denotes the epigenetic information at the stage is unknown. GO: growing oocyte; FGO: full-grown oocyte; MII: metaphase II; PGC: primordial germ cell; TAD: topologically associating domain.

图1 小鼠配子发生和早期胚胎发育过程中表观遗传信息的动态变化

Fig.1 The dynamics of epigenetic information during mouse gametogenesis and early development

替排列, 分别对应转录活跃区域与转录沉默区域。那些缺乏转录的大片低甲基化区域, 形成部分甲基化区域(partially methylated domains, PMD)^[90-92]。人类PGC在发育过程中也会经历大规模的DNA甲基化擦除过程。在胚胎发育到第10~11周时, DNA甲基化水平降至最低点, 仅有7.8%(男性PGC)或6.0%(女性PGC)左右。但与小鼠类似, 在一些重复序列元件上仍然残留大量DNA甲基化。另外, 一些和代谢以及神经功能相关的位点也能够保留部分DNA甲基化^[31,93-94]。

受精后, 由于参与维持DNA甲基化的DNMT1和UHRF1主要在细胞核外^[95-97], 无法入核维持复制过程中新链上的DNA甲基化, 导致双亲基因组的DNA甲基化在卵裂过程中不断被动去甲基化。另外, 去甲基化酶TET3在这个过程中发挥了主动去甲基化的功能(图1)^[20,98-102]。值得注意的是, 受精之后, 父本基因组DNA甲基化很快开始被去除, 但是此时复制还未开始, 而TET3介导的主动去甲基化主要发生在受精卵复制之后, 因此这个时期受精卵DNA甲基化去除的机制还有待进一步发掘。到囊胚时期, DNA去甲基化大部分完成, 此时仅有部分区域能够保持所有或者部分的甲基化, 比如基因印记区域^[103]。

胚胎着床后, 基因组开始重建甲基化(图1), 不过胚胎和胚外组织经历了不同的甲基化重建过程。胚胎组织发育到E6.5时, 甲基化基本重建完成。与胚胎组织相比, 胚外组织的甲基化水平普遍较低^[41,104]。但是在部分发育调控基因区域, 胚外组织的DNA甲基化水平却高于胚胎组织。通常大部分发育调控基因即使在沉默状态下, 它们的启动子也维持低甲基化。这些低甲基化区域覆盖范围通常远超过近端启动子, 形成甲基化谷(DNA methylation valley, DMV)^[105]或DNA methylation canyon^[106], 而这些区域在胚外组织则出现了异常的高甲基化, 这种差异的产生可能与FGF和WNT通路相关^[104]。

3.2 组蛋白修饰在哺乳动物配子向早期胚胎转变中的传递和重编程

组蛋白修饰在哺乳动物配子发生和早期胚胎发育过程中同样经历了广泛的重编程(图1)。在小鼠卵子发生过程中, 尤其是在完全生长的卵母细胞(full-grown oocyte)和成熟的MII卵母细胞中, 组蛋白H3K4me3修饰呈现出一种宽峰的形式, 它们不仅在启动子周围存在, 还广泛分布于不转录的

远端区域, 如基因间(intergenic)区域(图1)^[19,21,81]。这与常见的狭窄锐利形式的, 并且大多只分布于启动子区的经典的H3K4me3不同, 因而被称为非经典的H3K4me3(non-canonical H3K4me3, ncH3K4me3)。ncH3K4me3主要是由组蛋白甲基转移酶MLL2(KMT2B)负责建立, 并且似乎参与了卵母细胞中转录的抑制和受精之后的ZGA过程^[14,19,81]。另一方面, H3K27me3作为一种与基因沉默相关的组蛋白修饰, 通常出现在发育相关基因的启动子上。然而在小鼠卵母细胞发育过程中, H3K27me3并没有, 或者以极低水平出现在发育相关基因的启动子区, 而是以宽峰的形式广泛出现在转录活性很低的基因间和基因“荒漠区(gene desert)”^[42,81]。这种H3K27me3被称为非经典H3K27me3(non-canonical H3K27me3, ncH3K27me3)。有意思的是, ncH3K4me3和ncH3K27me3均分布于上文提到的PMD区域, 但两种组蛋白修饰之间却没有重叠^[19,42]。研究表明, DNA甲基化对ncH3K4me3的建立有部分影响^[81]。DNA甲基化的重编程和组蛋白修饰的重编程之间的联系还有待于进一步研究。

与卵子不同的是, 哺乳动物成熟精子中大部分组蛋白被鱼精蛋白(protamine)替换^[25]。但是精子中大部分常见组蛋白修饰依然可以被检测到, 而且大多维持着经典的分布模式(图1)^[107]。尽管如此, 精细胞的组蛋白分布也有其独特的形式。例如, 一般情况下DNA甲基化和H3K4me3修饰很少共存^[108-109], 但是在精母细胞和精细胞中, DNA甲基化可以和H3K4me3在部分活跃转录基因的启动子区共存, 而且这些基因大多和精子发生功能有紧密联系^[110]。

受精之后, 组蛋白修饰出现亲本特异的重编程现象。例如在小鼠中, 母源ncH3K4me3会在受精后遗传下来, 但在2-细胞晚期(大多数合子基因组被激活时)被去除, 并开始建立经典的H3K4me3模式(图1); 父源H3K4me3在受精后被迅速去除, 在2-细胞晚期建立起与母本相同的经典模式(图1)^[19]。同样, 父源H3K27me3在受精之后被迅速去除, 而母源ncH3K27me3会在受精卵中保留下来, 但在发育相关基因(如Hox基因)启动子区的H3K27me3会被特异去除(图1)^[42]。研究发现, 遗传下来的母源H3K27me3可能在基因印记方面具有重要功能, 是DNA甲基化之外调控基因印记的另外一种重要方式^[111-112]。在植入之后, 两条亲本上的H3K27me3都会重建, 并主要以经

典的形式出现在发育基因启动子周围(图1)^[22,42]。受精之后, 与异染色质相关的H3K9me3也经历了广泛的重编程^[113]。其中, 启动子区的H3K9me3修饰在受精后被大量去除, 在着床之后开始重建; 而LTR逆转录转座子区的H3K9me3修饰在受精后逐渐增加, 这种增加可能作为一种替代DNA甲基化的机制, 抑制逆转录转座子的活性, 以维持基因组稳定。另外, 父本和母本基因组的H3K9me3修饰呈现出不同的重编程, 母本基因组的修饰水平明显高于父本基因组, 而且这种差异一直持续到囊胚时期。着床之后, 启动子区建立的谱系特异的H3K9me3修饰, 可能在细胞谱系分化中具有重要作用^[113]。

3.3 染色质开放状态在哺乳动物早期胚胎发育中的变化

染色质开放状态对于转录调控因子结合目标序列至关重要, 因而在基因表达调控方面具有重要调控作用^[114]。由于适用于少量细胞的染色质开放状态研究方法的发展, 我们得以从全基因组水平获悉哺乳动物早期胚胎发育过程中的染色质动态变化^[37-38,40,43-44]。在小鼠中的研究发现, 虽然精子和卵母细胞基因组的组织方式不同, 但是两套基因组在2-细胞时期, 甚至更早PN3(pronucleus stage 3)已经建立了相似的染色质区域(图1), 随着胚胎发育的进行, 染色质开放位点逐渐增多^[43-44]。另外, 早期胚胎的染色质开放区域除了在启动子区域, 还会出现在转录的终止位置(图1)^[43], 但是它们在这些区域的功能还不得而知。有意思的是, 在基因组启动前的minor ZGA时期, 很多活跃转录的重复序列, 如MERVL区域, 会高度转录并伴随着染色质开放区^[43,115]。通过检测染色质开放区域, 多种潜在的早期胚胎发育调控元件和因子得以鉴定。例如实验证明转录因子NR5A2对早期细胞分化可能有重要的作用^[43], 而转录因子NFYA和OCT4有助于受精之后开放染色质区域的建立, 并且证明NFYA可能和ZGA有关^[44]。另一方面, 利用另外一种开放染色质检测方法scCOOL-seq, 研究者发现染色质开放程度在合子期相较于配子显著增加, 在合子后期降低, 然后在4-细胞时期再次增强, 呈现出一种更加动态的变化过程^[37]。这些结果表明, 不同研究方法可以获得染色质开放性的不同信息。

在人的早期胚胎中, ZGA之前的胚胎中已经存在大量的开放区域, 它们大多位于富含CpG的启动

子区域。这些开放区域或许与之后的基因激活有关^[40]。同时, 部分远端调控区域的染色质也呈现开放状态, 并且富含转录因子结合位点。这些区域常和卵母细胞中DNA低甲基化区域重合, 在ZGA之后很多会被逐渐关闭, 但胚胎会在很多新的调控元件位置, 比如增强子区建立新的染色质开放区域^[40]。另外, 人类着床前胚胎中特异性活跃转录的转座子如SVA和HERV-K附近也存在大量的染色质开放区, 这种活跃的转座子通常是进化中较为年轻的外来序列^[38]。

3.4 染色质高级结构在哺乳动物配子发生和早期胚胎发育中的重编程

在哺乳动物配子发生过程中, 染色质的高级结构也经历了剧烈的重组(图1)。最近的研究表明, 在小鼠和恒河猴精子发生的过程中, TAD在精原细胞和粗线期精母细胞中比较弱, 尤其是在粗线期精母细胞中, 但在圆形精子和成熟精子中逐渐变强^[116]。有意思的是, 在粗线期精母细胞中发现了一种新的染色质结构, 它们与经典的compartment类似, 但是在尺度上相对较小, 并且和基因表达高度相关, 被命名为“精细的(refined)”区室A/B。Refined区室A/B的出现伴随经典区室变弱, 而且可能与联会复合体相关^[116]。成熟精子基因组的组织形式和普通细胞差别比较大, 但是其染色质具有与普通细胞类似的TAD和区室结构(图1)^[107,117]。不同之处在于, 精子比普通细胞有更多长距离的染色体内和染色体间相互作用^[39], 这可能与精子基因组的高度压缩状态相关。

与精子相比, 卵母细胞染色质的高级结构比较特殊。小鼠中生长完全的卵子通常具有两类, 一类是转录仍然活跃的NSN(non-surrounded nucleolus)GV(germinal vesicle)期卵母细胞, 另一类是转录沉默的SN(surrounded nucleolus)GV期卵母细胞。与NSN状态的GV期卵母细胞相比, 小鼠SN状态的GV期卵母细胞中染色质有更多长距离的相互作用, 但是TAD和compartment相对更弱^[45,118-119]。而成熟的MII卵母细胞几乎没有TAD和区室结构^[39,46]。这与处于分裂期体细胞的染色质结构类似, 可能反应了分裂中期染色质高度浓缩形成棒状的结构特点^[120-122]。

受精之后, 电镜结果表明, 染色体结构是非常松散的, 在发育过程中慢慢变得致密^[123]。与此一致的是, 通过高通量Hi-C技术研究发现, 在受精后的1-细胞和2-细胞胚胎中, TAD和compartment都比较弱,

随着发育的进行,两种结构逐渐建立(图1)^[39,46]。在PN5时期,甚至更早的PN3时期的受精卵中,父源染色质存在着较母源染色质更少的远端相互作用,提示父源基因组可能处于一种更加松散的状态^[46]。另外,至少在8-细胞之前,来自亲本的两条染色质一直处于相对分离的状态,并且父源染色质的compartment结构与母源染色质相比要清晰^[46]。但是,这种染色质高级结构的重编程是什么引发的并不清楚。另外一个有意思的问题是,在发育过程中染色质高级结构是如何被逐步建立的。果蝇胚胎中的研究发现,在ZGA之前TAD是非常弱的,而ZGA发生时TAD逐渐增强。然而抑制转录并不会影响果蝇胚胎中TAD的建立,虽然对TAD之间的相互作用会产生一定的影响^[124]。在小鼠中,TAD结构的建立也不依赖于ZGA的发生,但是依赖于DNA复制过程^[39,46]。有趣的是,在小鼠ZGA发生时的2-细胞时期,TAD和compartment并没有完全建立,而基因组激活可以正常进行。因此,这个时期的转录似乎可以独立于TAD和compartment。而在这个过程中是否具有早期胚胎特异的转录调控是未来值得进一步探索的问题之一。

4 展望

生命是如何起始的是生命科学的基本问题之一。在精卵结合的过程前后,表观遗传信息是如何重编程的,亲代的表观遗传信息能否传递给子代,子代表观基因组又是如何建立的,这些都是表观遗传学和发育生物学领域重要的科学问题。随着技术的进步,人们开始了解表观信息的遗传和重编程是如何发生的。已有研究表明,DNA甲基化、组蛋白修饰、染色质开放状态以及染色质高级结构在哺乳动物配子发生和受精之后都发生了广泛的动态变化。在这些过程中,很多表观遗传信息被擦除,部分信息被保留并传递给子代,子代也会开始重建一些新的表观遗传信息,但是很多表观遗传信息的生物学功能及其调控机制仍有待进一步研究。例如,相比于其他一些脊椎动物如斑马鱼,哺乳动物中早期胚胎发育为什么需要经历特有的广泛的去甲基化和甲基化重建过程?亲代表观遗传信息去除之后,子代如何精确建立新的表观基因组?合子基因组是如何激活的?最早的细胞命运决定是如何发生的?表观基因组又是如何参与这些重要的过程的?表观作用机

制在物种间是否保守?这些重大科学问题的深入研究不仅将回答基本的生物学问题——生命是如何开始的,也将对产前检查、试管婴儿和不孕不育等相关疾病提供重要的理论指导。

参考文献 (References)

- 1 Li L, Zheng P, Dean J. Maternal control of early mouse development. *Development* 2010; 137(6): 859-70.
- 2 Li L, Lu X, Dean J. The maternal to zygotic transition in mammals. *Mol Aspects Med* 2013; 34(5): 919-38.
- 3 Xu Q, Xie W. Epigenome in early mammalian development: Inheritance, reprogramming and establishment. *Trends Cell Biol* 2018; 28(3): 237-53.
- 4 Tang WW, Kobayashi T, Irie N, Dietmann S, Surani MA. Specification and epigenetic programming of the human germ line. *Nat Rev Genet* 2016; 17(10): 585-600.
- 5 Sasaki H, Matsui Y. Epigenetic events in mammalian germ-cell development: reprogramming and beyond. *Nat Rev Genet* 2008; 9(2): 129-40.
- 6 Waddington CH. The epigenotype. 1942. *Int J Epidemiol* 2012; 41(1): 10-3.
- 7 Bird A. Perceptions of epigenetics. *Nature* 2007; 447(7143): 396-8.
- 8 Berger SL, Kouzarides T, Shiekhattar R, Shilatifard A. An operational definition of epigenetics. *Genes Dev* 2009; 23(7): 781-3.
- 9 Kim JK, Samaranyake M, Pradhan S. Epigenetic mechanisms in mammals. *Cell Mol Life Sci* 2009; 66(4): 596-612.
- 10 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.
- 11 Kaneda M, Okano M, Hata K, Sado T, Tsujimoto N, Li E, *et al.* Essential role for *de novo* DNA methyltransferase Dnmt3a in paternal and maternal imprinting. *Nature* 2004; 429(6994): 900-3.
- 12 Dai HQ, Wang BA, Yang L, Chen JJ, Zhu GC, Sun ML, *et al.* TET-mediated DNA demethylation controls gastrulation by regulating Lefty-Nodal signalling. *Nature* 2016; 538(7626): 528-32.
- 13 O'Carroll D, Erhardt S, Pagani M, Barton SC, Surani MA, Jenuwein T. The polycomb-group gene Ezh2 is required for early mouse development. *Mol Cell Biol* 2001; 21(13): 4330-6.
- 14 Andreu-Vieyra CV, Chen R, Agno JE, Glaser S, Anastassiadis K, Stewart AF, *et al.* MLL2 is required in oocytes for bulk histone 3 lysine 4 trimethylation and transcriptional silencing. *PLoS Biol* 2010; 8(8).
- 15 Santos F, Hendrich B, Reik W, Dean W. Dynamic reprogramming of DNA methylation in the early mouse embryo. *Dev Biol* 2002; 241(1): 172-82.
- 16 Santos F, Dean W. Epigenetic reprogramming during early development in mammals. *Reproduction* 2004; 127(6): 643-51.
- 17 Lepikhov K, Walter J. Differential dynamics of histone H3 methylation at positions K4 and K9 in the mouse zygote. *BMC Dev Biol* 2004; 4(1): 1-5.
- 18 Santos F, Peters AH, Otte AP, Reik W, Dean W. Dynamic chromatin modifications characterise the first cell cycle in mouse embryos. *Dev Biol* 2005; 280(1): 225-36.

- 19 Zhang B, Zheng H, Huang B, Li W, Xiang Y, Peng X, *et al.* Allelic reprogramming of the histone modification H3K4me3 in early mammalian development. *Nature* 2016; 537(7621): 553-7.
- 20 Wang L, Zhang J, Duan J, Gao X, Zhu W, Lu X, *et al.* Programming and inheritance of parental DNA methylomes in mammals. *Cell* 2014; 157(4): 979-91.
- 21 Dahl JA, Jung I, Aanes H, Greggains GD, Manaf A, Lerdrup M, *et al.* Broad histone H3K4me3 domains in mouse oocytes modulate maternal-to-zygotic transition. *Nature* 2016; 537(7621): 548-52.
- 22 Liu XY, Wang CF, Liu WQ, Li JY, Li C, Kou XC, *et al.* Distinct features of H3K4me3 and H3K27me3 chromatin domains in preimplantation embryos. *Nature* 2016; 537(7621): 558-62.
- 23 Hayashi K, de Sousa Lopes SM, Surani MA. Germ cell specification in mice. *Science* 2007; 316(5823): 394-6.
- 24 de Kretser DM, Loveland KL, Meinhardt A, Simorangkir D, Wreford N. Spermatogenesis. *Hum Reprod* 1998; 13(Suppl 1): 1-8.
- 25 Sharma R, Agarwal A. Spermatogenesis: an overview. *Sperm chromatin: biological and clinical applications in male infertility and assisted reproduction*. New York: Springer, 2011, 19-44.
- 26 Gosden RG. Oogenesis as a foundation for embryogenesis. *Mol Cell Endocrinol* 2002; 186(2): 149-53.
- 27 Takaoka K, Hamada H. Cell fate decisions and axis determination in the early mouse embryo. *Development* 2012; 139(1): 3-14.
- 28 Bedzhov I, Graham SJL, Leung CY, Zernicka-Goetz M. Developmental plasticity, cell fate specification and morphogenesis in the early mouse embryo. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 2015; 370(1661): 20140339.
- 29 Mohammed H, Hernando-Herraez I, Savino A, Scialdone A, Macaulay I, Mulas C, *et al.* Single cell landscape of transcriptional heterogeneity and cell fate decisions during mouse early gastrulation. *Cell Rep* 2017; 20(5): 1215-28.
- 30 Li L, Dong J, Yan LY, Yong J, Liu XX, Hu YQ, *et al.* Single-cell RNA-Seq analysis maps development of human germline cells and gonadal niche interactions. *Cell Stem Cell* 2017; 20(6): 858-73.
- 31 Guo F, Yan LY, Guo HS, Li L, Hu BQ, Zhao YY, *et al.* The transcriptome and DNA methylome landscapes of human primordial germ cells. *Cell* 2015; 161(6): 1437-52.
- 32 Yan LY, Yang MY, Guo HS, Yang L, Wu J, Li R, *et al.* Single-cell RNA-Seq profiling of human preimplantation embryos and embryonic stem cells. *Nat Struct Mol Biol* 2013; 20(9): 1131-9.
- 33 Fan XY, Zhang XN, Wu XL, Guo HS, Hu YQ, Tang FC, *et al.* Single-cell RNA-seq transcriptome analysis of linear and circular RNAs in mouse preimplantation embryos. *Genome Biol* 2015; 16(1): 148.
- 34 Xue ZG, Huang K, Cai CC, Cai LB, Jiang CY, Feng Y, *et al.* Genetic programs in human and mouse early embryos revealed by single-cell RNA sequencing. *Nature* 2013; 500(7464): 593-7.
- 35 Zhu P, Guo HS, Ren YX, Hou Y, Dong J, Li R, *et al.* Single-cell DNA methylome sequencing of human preimplantation embryos. *Nat Genet* 2018; 50(1): 12-9.
- 36 Guo HS, Zhu P, Yan LY, Li R, Hu BQ, Lian Y, *et al.* The DNA methylation landscape of human early embryos. *Nature* 2014; 511(7511): 606-10.
- 37 Guo F, Li L, Li JY, Wu XL, Hu BQ, Zhu P, *et al.* Single-cell multi-omics sequencing of mouse early embryos and embryonic stem cells. *Cell Res* 2017; 27(8): 967-88.
- 38 Gao L, Wu KL, Liu ZB, Yao XL, Yuan SL, Tao WR, *et al.* Chromatin accessibility landscape in human early embryos and its association with evolution. *Cell* 2018; 173(1): 248-59.
- 39 Ke YW, Xu YA, Chen XP, Feng SK, Liu ZB, Sun YY, *et al.* 3D Chromatin structures of mature gametes and structural reprogramming during mammalian embryogenesis. *Cell* 2017; 170(2): 367-81.
- 40 Wu JY, Xu JW, Liu BF, Yao GD, Wang PZ, Lin ZL, *et al.* Chromatin analysis in human early development reveals epigenetic transition during ZGA. *Nature* 2018; 557(7704): 256-60.
- 41 Zhang Y, Xiang YL, Yin QZ, Du ZH, Peng X, Wang QJ, *et al.* Dynamic epigenomic landscapes during early lineage specification in mouse embryos. *Nat Genet* 2018; 50(1): 96-105.
- 42 Zheng H, Huang B, Zhang BJ, Xiang YL, Du ZH, Xu QH, *et al.* Resetting epigenetic memory by reprogramming of histone modifications in mammals. *Mol Cell* 2016; 63(6): 1066-79.
- 43 Wu JY, Huang B, Chen H, Yin QZ, Liu Y, Xiang YL, *et al.* The landscape of accessible chromatin in mammalian preimplantation embryos. *Nature* 2016; 534(7609): 652-7.
- 44 Lu FL, Liu YT, Inoue A, Suzuki T, Zhao KJ, Zhang Y. Establishing chromatin regulatory landscape during mouse preimplantation development. *Cell* 2016; 165(6): 1375-88.
- 45 Flyamer IM, Gassler J, Imakaev M, Brandao HB, Ulianov SV, Abdennur N, *et al.* Single-nucleus Hi-C reveals unique chromatin reorganization at oocyte-to-zygote transition. *Nature* 2017; 544(7648): 110-4.
- 46 Du Z, Zheng H, Huang B, Ma R, Wu J, Zhang X, *et al.* Allelic reprogramming of 3D chromatin architecture during early mammalian development. *Nature* 2017; 547(7662): 232-5.
- 47 Gao F, Niu Y, Sun YE, Lu H, Chen Y, Li S, *et al.* *De novo* DNA methylation during monkey pre-implantation embryogenesis. *Cell Res* 2017; 27(4): 526-39.
- 48 Holliday R, Pugh JE. DNA modification mechanisms and gene activity during development. *Science* 1975; 187(4173): 226-32.
- 49 Bestor TH. The DNA methyltransferases of mammals. *Hum Mol Genet* 2000; 9(16): 2395-402.
- 50 Goll MG, Bestor TH. Eukaryotic cytosine methyltransferases. *Annu Rev Biochem* 2005; 74: 481-514.
- 51 Chedin F, Lieber MR, Hsieh CL. The DNA methyltransferase-like protein DNMT3L stimulates *de novo* methylation by Dnmt3a. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002; 99(26): 16916-21.
- 52 Barau J, Teissandier A, Zamudio N, Roy S, Nalesso V, Herault Y, *et al.* The DNA methyltransferase DNMT3C protects male germ cells from transposon activity. *Science* 2016; 354(6314): 909-12.
- 53 Wu H, Zhang Y. Reversing DNA methylation: mechanisms, genomics, and biological functions. *Cell* 2014; 156(1/2): 45-68.
- 54 Li Y, Zhang Z, Chen J, Liu W, Lai W, Liu B, *et al.* Stella safeguards the oocyte methylome by preventing *de novo* methylation mediated by DNMT1. *Nature* 2018; 564(7734): 136-40.
- 55 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.
- 56 Kornberg RD. Chromatin structure: a repeating unit of histones and DNA. *Science* 1974; 184(4139): 868-71.

- 57 Luger K, Mader AW, Richmond RK, Sargent DF, Richmond TJ. Crystal structure of the nucleosome core particle at 2.8 angstrom resolution. *Nature* 1997; 389(6648): 251-60.
- 58 Fischle W, Wang YM, Allis CD. Binary switches and modification cassettes in histone biology and beyond. *Nature* 2003; 425(6957): 475-9.
- 59 Strahl BD, Allis CD. The language of covalent histone modifications. *Nature* 2000; 403(6765): 41-5.
- 60 Bannister AJ, Kouzarides T. Regulation of chromatin by histone modifications. *Cell Res* 2011; 21(3): 381-95.
- 61 Vermeulen M, Timmers HTM. Grasping trimethylation of histone H3 at lysine 4. *Epigenomics* 2010; 2(3): 395-406.
- 62 Hyun K, Jeon J, Park K, Kim J. Writing, erasing and reading histone lysine methylations. *Exp Mol Med* 2017; 49(4): e324.
- 63 Henikoff S, Ahmad K. Assembly of variant histones into chromatin. *Annu Rev Cell Dev Biol* 2005; 21: 133-53.
- 64 Stamatoyanopoulos JA, Snyder M, Hardison R, Ren B, Gingeras T, Gilbert DM, *et al.* An encyclopedia of mouse DNA elements (Mouse ENCODE). *Gen Biol* 2012; 13(8): 418.
- 65 Iyer BVS, Kenward M, Arya G. Hierarchies in eukaryotic genome organization: Insights from polymer theory and simulations. *BMC Bio* 2011; 4(1): 8.
- 66 Schmitt AD, Hu M, Ren B. Genome-wide mapping and analysis of chromosome architecture. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2016; 17(12): 743-55.
- 67 Bonev B, Cavalli G. Organization and function of the 3D genome. *Nat Rev Genet* 2016; 17(12): 772.
- 68 Gibcus JH, Dekker J. The Hierarchy of the 3D Genome. *Mol Cell* 2013; 49(5): 773-82.
- 69 Beagrie RA, Scialdone A, Schueler M, Kraemer DC, Chotalia M, Xie SQ, *et al.* Complex multi-enhancer contacts captured by genome architecture mapping. *Nature* 2017; 543(7646): 519-24.
- 70 Dekker J, Misteli T. Long-Range Chromatin Interactions. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2015; 7(10): a019356.
- 71 Dekker J, Rippe K, Dekker M, Kleckner N. Capturing chromosome conformation. *Science* 2002; 295(5558): 1306-11.
- 72 Lieberman-Aiden E, van Berkum NL, Williams L, Imakaev M, Ragoczy T, Telling A, *et al.* Comprehensive mapping of long-range interactions reveals folding principles of the human genome. *Science* 2009; 326(5950): 289-93.
- 73 Valton AL, Dekker J. TAD disruption as oncogenic driver. *Curr Opin Genet Dev* 2016; 36: 34-40.
- 74 Lupianez DG, Kraft K, Heinrich V, Krawitz P, Brancati F, Klopocki E, *et al.* Disruptions of topological chromatin domains cause pathogenic rewiring of gene-enhancer interactions. *Cell* 2015; 161(5): 1012-25.
- 75 Mcgrath J, Solter D. Completion of mouse embryogenesis requires both the maternal and paternal genomes. *Cell* 1984; 37(1): 179-83.
- 76 Surani MAH, Barton SC, Norris ML. Development of reconstituted mouse eggs suggests imprinting of the genome during gametogenesis. *Nature* 1984; 308(5959): 548-50.
- 77 Leighton PA, Saam JR, Ingram RS, Tilghman SM. Genomic imprinting in mice: Its function and mechanism. *Biol Reprod* 1996; 54(2): 273-8.
- 78 Kelsey G. Genomic imprinting-Roles and regulation in development. *Dev Pan Neona Diabetes* 2007; 12: 99-112.
- 79 Bourc'his D, Bestor TH. Meiotic catastrophe and retrotransposon reactivation in male germ cells lacking Dnmt3L. *Nature* 2004; 431(7004): 96-9.
- 80 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. *Gene Dev* 2008; 22(12): 1607-16.
- 81 Hanna CW, Taudt A, Huang JH, Gahurova L, Kranz A, Andrews S, *et al.* MLL2 conveys transcription-independent H3K4 trimethylation in oocytes. *Nat Struct Mol Biol* 2018; 25(1): 73-82.
- 82 Margueron R, Reinberg D. The polycomb complex PRC2 and its mark in life. *Nature* 2011; 469(7330): 343-9.
- 83 Pasini D, Bracken AP, Hansen JB, Capillo M, Helin K. The polycomb group protein Suz12 is required for embryonic stem cell differentiation. *Mol Cell Biol* 2007; 27(10): 3769-79.
- 84 Faust C, Schumacher A, Holdener B, Magnuson T. The Eed Mutation Disrupts Anterior Mesoderm Production in Mice. *Development* 1995; 121(2): 273-85.
- 85 Arzate-Mejia RG, Recillas-Targa F, Corces VG. Developing in 3D: the role of CTCF in cell differentiation. *Development* 2018; 145(6).
- 86 Moore JM, Rabaia NA, Smith LE, Fagerlie S, Gurley K, Loukinov D, *et al.* Loss of maternal CTCF is associated with peri-implantation lethality of Ctcf Null embryos. *PLoS One* 2012; 7(4): e34915.
- 87 Wan LB, Pan H, Hannehalli S, Cheng Y, Ma J, Fedoriv A, *et al.* Maternal depletion of CTCF reveals multiple functions during oocyte and preimplantation embryo development. *Development* 2008; 135(16): 2729-38.
- 88 Hernandez-Hernandez A, Lilienthal I, Fukuda N, Galjart N, Hoog C. CTCF contributes in a critical way to spermatogenesis and male fertility. *Scientific Reports* 2016; 6: 28355.
- 89 Saitou M, Kagiwada S, Kurimoto K. Epigenetic reprogramming in mouse pre-implantation development and primordial germ cells. *Development* 2012; 139(1): 15-31.
- 90 Seisenberger S, Peat JR, Hore TA, Santos F, Dean W, Reik W. Reprogramming DNA methylation in the mammalian life cycle: building and breaking epigenetic barriers. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 2013; 368(1609): 20110330.
- 91 Smallwood SA, Kelsey G. *De novo* DNA methylation: a germ cell perspective. *Trends Genet* 2012; 28(1): 33-42.
- 92 Stewart KR, Veselovska L, Kelsey G. Establishment and functions of DNA methylation in the germline. *Epigenomics* 2016; 8(10): 1399-413.
- 93 Gkoutela S, Zhang KX, Shafiq TA, Liao WW, Hargan-Calvopina J, Chen PY, *et al.* DNA demethylation dynamics in the human prenatal germline. *Cell* 2015; 161(6): 1425-36.
- 94 Tang WW, Dietmann S, Irie N, Leitch HG, Floros VI, Bradshaw CR, *et al.* A Unique gene regulatory network resets the human germline epigenome for development. *Cell* 2015; 161(6): 1453-67.
- 95 Jeong YS, Oh KB, Park JS, Kim JS, Kang YK. Cytoplasmic localization of oocyte-specific variant of porcine DNA methyltransferase-1 during early development. *Dev Dyn* 2009; 238(7): 1666-73.
- 96 Kurihara Y, Kawamura Y, Uchijima Y, Amamo T, Kobayashi H, Asano T, *et al.* Maintenance of genomic methylation patterns

- during preimplantation development requires the somatic form of DNA methyltransferase 1. *Dev Biol* 2008; 313(1): 335-46.
- 97 Maenohara S, Unoki M, Toh H, Ohishi H, Sharif J, Koseki H, *et al.* Role of UHRF1 in *de novo* DNA methylation in oocytes and maintenance methylation in preimplantation embryos. *PLoS Genet* 2017; 13(10): e1007042.
 - 98 Gu TP, Guo F, Yang H, Wu HP, Xu GF, Liu W, *et al.* The role of Tet3 DNA dioxygenase in epigenetic reprogramming by oocytes. *Nature* 2011; 477(7366): 606-10.
 - 99 Guo F, Li X, Liang D, Li T, Zhu P, Guo H, *et al.* Active and passive demethylation of male and female pronuclear DNA in the mammalian zygote. *Cell Stem Cell* 2014; 15(4): 447-59.
 - 100 Shen L, Inoue A, He J, Liu Y, Lu F, Zhang Y. Tet3 and DNA replication mediate demethylation of both the maternal and paternal genomes in mouse zygotes. *Cell Stem Cell* 2014; 15(4): 459-71.
 - 101 Iqbal K, Jin SG, Pfeifer GP, Szabo PE. Reprogramming of the paternal genome upon fertilization involves genome-wide oxidation of 5-methylcytosine. *Proc Natl Acad Sci USA* 2011; 108(9): 3642-7.
 - 102 Wossidlo M, Nakamura T, Lepikhov K, Marques CJ, Zakhartchenko V, Boiani M, *et al.* 5-Hydroxymethylcytosine in the mammalian zygote is linked with epigenetic reprogramming. *Nat Commun* 2011; 2: 241.
 - 103 Messerschmidt DM, Knowles BB, Solter D. DNA methylation dynamics during epigenetic reprogramming in the germline and preimplantation embryos. *Genes Dev* 2014; 28(8): 812-28.
 - 104 Smith ZD, Shi J, Gu H, Donaghey J, Clement K, Cacchiarelli D, *et al.* Epigenetic restriction of extraembryonic lineages mirrors the somatic transition to cancer. *Nature* 2017; 549(7673): 543-7.
 - 105 Xie W, Schultz MD, Lister R, Hou Z, Rajagopal N, Ray P, *et al.* Epigenomic analysis of multilineage differentiation of human embryonic stem cells. *Cell* 2013; 153(5): 1134-48.
 - 106 Jeong M, Sun D, Luo M, Huang Y, Challen GA, Rodriguez B, *et al.* Large conserved domains of low DNA methylation maintained by Dnmt3a. *Nat Genet* 2014; 46(1): 17-23.
 - 107 Jung YH, Sauria MEG, Lyu X, Cheema MS, Ausio J, Taylor J, *et al.* Chromatin states in mouse sperm correlate with embryonic and adult regulatory landscapes. *Cell Rep* 2017; 18(6): 1366-82.
 - 108 Ooi SK, Qiu C, Bernstein E, Li K, Jia D, Yang Z, *et al.* DNMT3L connects unmethylated lysine 4 of histone H3 to *de novo* methylation of DNA. *Nature* 2007; 448(7154): 714-7.
 - 109 Zhang Y, Jurkowska R, Soeroes S, Rajavelu A, Dhayalan A, Bock I, *et al.* Chromatin methylation activity of Dnmt3a and Dnmt3a/3L is guided by interaction of the ADD domain with the histone H3 tail. *Nucleic Acids Res* 2010; 38(13): 4246-53.
 - 110 Hammoud SS, Low DH, Yi C, Carrell DT, Guccione E, Cairns BR. Chromatin and transcription transitions of mammalian adult germline stem cells and spermatogenesis. *Cell Stem Cell* 2014; 15(2): 239-53.
 - 111 Inoue A, Jiang L, Lu F, Suzuki T, Zhang Y. Maternal H3K27me3 controls DNA methylation-independent imprinting. *Nature* 2017; 547(7664): 419-24.
 - 112 Inoue A, Jiang L, Lu F, Zhang Y. Genomic imprinting of Xist by maternal H3K27me3. *Genes Dev* 2017; 31(19): 1927-32.
 - 113 Wang C, Liu X, Gao Y, Yang L, Li C, Liu W, *et al.* Reprogramming of H3K9me3-dependent heterochromatin during mammalian embryo development. *Nat Cell Biol* 2018; 20(5): 620-31.
 - 114 Tsompana M, Buck MJ. Chromatin accessibility: a window into the genome. *Epigenetics Chromatin* 2014; 7(1): 33.
 - 115 Abe K, Yamamoto R, Franke V, Cao M, Suzuki Y, Suzuki MG, *et al.* The first murine zygotic transcription is promiscuous and uncoupled from splicing and 3' processing. *EMBO J* 2015; 34(11): 1523-37.
 - 116 Wang Y, Wang H, Zhang Y, Du Z, Si W, Fan S, *et al.* Reprogramming of Meiotic chromatin architecture during spermatogenesis. *Mol Cell* 2019; 73(3): 547-61.
 - 117 Carone BR, Hung JH, Hainer SJ, Chou MT, Carone DM, Weng Z, *et al.* High-resolution mapping of chromatin packaging in mouse embryonic stem cells and sperm. *Dev Cell* 2014; 30(1): 11-22.
 - 118 De La Fuente R. Chromatin modifications in the germinal vesicle (GV) of mammalian oocytes. *Dev Biol* 2006; 292(1): 1-12.
 - 119 Miyara F, Migne C, Dumont-Hassan M, Le Meur A, Cohen-Bacrie P, Aubriot FX, *et al.* Chromatin configuration and transcriptional control in human and mouse oocytes. *Mol Reprod Dev* 2003; 64(4): 458-70.
 - 120 Gibcus JH, Samejima K, Goloborodko A, Samejima I, Naumova N, Nuebler J, *et al.* A pathway for mitotic chromosome formation. *Science* 2018; 359(6376): eaao6135.
 - 121 Nagano T, Lubling Y, Varnai C, Dudley C, Leung W, Baran Y, *et al.* Cell-cycle dynamics of chromosomal organization at single-cell resolution. *Nature* 2017; 547(7661): 61-7.
 - 122 Naumova N, Imakaev M, Fudenberg G, Zhan Y, Lajoie BR, Mirny LA, *et al.* Organization of the mitotic chromosome. *Science* 2013; 342(6161): 948-53.
 - 123 Ahmed K, Dehghani H, Rugg-Gunn P, Fussner E, Rossant J, Bazett-Jones DP. Global chromatin architecture reflects pluripotency and lineage commitment in the early mouse embryo. *PLoS One* 2010; 5(5): e10531.
 - 124 Hug CB, Grimaldi AG, Kruse K, Vaquerizas JM. Chromatin architecture emerges during zygotic genome activation independent of transcription. *Cell* 2017; 169(2): 216-28.