

体细胞核重编程中表观遗传学的研究进展*

关 娜 徐燕宁 张庆华 雷 蕾**

(哈尔滨医科大学组织学与胚胎学教研室, 哈尔滨 150081)

摘要 促使体细胞核重编程的方法很多, 除了传统的体细胞核移植方法外, 科学家们努力寻求从法律、道德、伦理等方面更易被人们接受的新方法. 近年来多能干细胞与体细胞融合、多能细胞的抽提物与体细胞共孵育以及将编码多潜能因子的基因导入体细胞中等方法都能使体细胞核发生重新编程, 将已分化的体细胞转变为一种全能的胚胎状态. 主要论述了生殖细胞及早期胚胎、体细胞核移植和其他形式的体细胞核重编程的表观遗传学的改变, 对表观遗传学的深入研究将有助于我们进一步了解体细胞核重编程的机制, 从而不断完善各种技术促进供体核的重新编程, 使其更好地应用于基础研究和生产实践.

关键词 重编程, 表观遗传学, 甲基化

学科分类号 Q291

自克隆羊 Dolly 诞生以来, 体细胞核移植先后在十余种哺乳动物上取得了成功, 该技术取得了很大的进展, 但克隆胚胎的发育率较体外受精或体内正常受精获得的胚胎要低得多, 目前认为其中的一个主要原因是体细胞核的不完全重编程. 传统的核移植方法可使体细胞核重新编程, 但存在着供卵缺乏、伦理道德及政府法规的限制等问题, 因此科学家们努力寻求从法律、道德、伦理等方面更易被人们接受的体细胞核重编程的方法. 近年来多潜能细胞与体细胞融合、多潜能细胞的抽提物与体细胞共孵育, 以及将编码多潜能因子的基因导入体细胞中等方法都能使体细胞核发生重新编程, 将已分化的体细胞转变为一种全能的胚胎状态, 其中体细胞记忆的擦除以及随后胚胎基因的适当表达等过程中, 每一步都包括了复杂的表观遗传(epigenetic)的改变.

早在 1942 年, Waddington 首次提出表观遗传学的概念, 并指出表观遗传与遗传是相对的, 它主要研究基因型和表型的关系. 几十年后, 霍利迪(Holiday)针对表观遗传学提出了新的系统性概念, 即在不改变基因组序列的前提下, 通过 DNA 和组蛋白的修饰来调控基因表达^[1]. 表观遗传学研究包括染色质重塑、DNA 甲基化、X 染色体失活和非编码 RNA 调控 4 个方面, 其中 DNA 甲基化是研究最为深入的表观修饰之一. DNA 的甲基化是在

DNA 甲基转移酶的作用下使 CpG 二核苷酸 5' 端的胞嘧啶转变为 5' 甲基胞嘧啶, 这种 DNA 修饰方式并没有改变基因序列, 但它由此调控了基因的表达^[2].

体细胞核重编程在哺乳动物以及克隆胚胎的发育过程中, 对建立起核的全能性起到关键作用^[3], 该综述主要论述了生殖细胞及早期胚胎、体细胞核移植和其他形式的体细胞核重编程的表观遗传的改变.

1 生殖细胞及早期胚胎的表观遗传调节

在细胞分化的过程中, 基因的甲基化状态将遗传给后代细胞. 但在哺乳动物的生殖细胞发育时期和植入前胚胎期, 其基因组范围内的甲基化模式通过大规模的去甲基化和接下来的再甲基化过程发生重编程, 从而产生具有发育潜能的细胞^[4], 如图 1 所示.

小鼠原始生殖细胞经过一段时间发育为成熟的配子, 在胚胎期 11.5 天到 12.5 天, 包括印记基因在内的基因组发生了 DNA 的去甲基化, 随后配子基因组从头甲基化并获得印记. 受精标志着植入前胚胎第二个周期的重编程过程的开始, 囊胚形成前

* 国家自然科学基金(30671025)和哈尔滨医科大学基础医学学院科研基金资助项目.

** 通讯联系人. Tel: 0451-86674518, E-mail: LeiL086@yahoo.com.cn

收稿日期: 2007-09-14, 接受日期: 2007-11-06

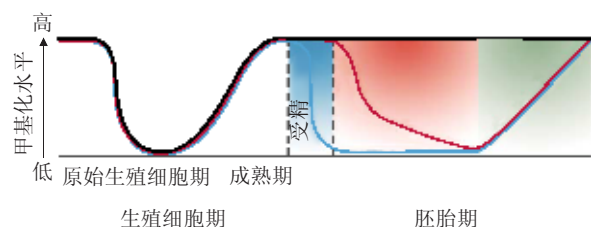


Fig. 1 Methylation levels of various classes of genes during germ cell and early embryonic development of mouse (modified from [3])

图 1 小鼠在生殖细胞和胚胎发育早期阶段不同基因的甲基化水平(修改自文献[3])

黑色线代表印记基因, 红色线代表母源非印记基因, 蓝色线代表父源非印记基因。

的早期细胞周期中基因组被动地发生了 DNA 的去甲基化, 但印记基因在这个重编程过程中保持了甲基化; 从头甲基化与囊胚期最初两个谱系的分化相一致, 内细胞团相对于滋养外胚层是高甲基化的^[4]. 牛^[5]的正常胚胎在 8- 细胞前, 甲基化程度进一步下降, 8- 细胞到 16- 细胞时发生了从头甲基化。

组蛋白的氨基端尾部可通过多种方式来修饰, 包括甲基化、乙酰化和磷酸化等. 牛的早期胚胎发育过程中, 组蛋白 3 赖氨酸 9(H3K9)的甲基化模式与 DNA 甲基化模式相似, 4- 细胞时下降的乙酰化水平随后在 8- 细胞时开始上升^[6]. 小鼠 H3K9 三甲基化与二甲基化修饰在正常胚胎雌雄原核中呈不对称分布^[7].

印记基因已成为表观遗传学理论的重要组成部分. 同源染色体上基因表达活性不同的遗传现象称为基因组印记. 对于小鼠印记基因变化时程的研究最为深入, 其基因组原来已有印记的去除发生在原始生殖细胞向生殖嵴迁移的过程中, 在胚胎发育的第 13~14 天雄性和雌性生殖细胞去甲基化完成, 基因组的甲基化水平达到最低. 此时, 细胞也分别进入了有丝分裂停滞(雄性)和减数分裂停滞(雌性)时期. 胚胎发育到 15~16 天, 雄性生殖细胞首先发生重新甲基化, 开始建立新的印记模式^[4]. 而雌性生殖细胞中印记的重新建立则要到出生后才发生, 在卵母细胞生长的过程中逐步建立, 第二次减数分裂中期的卵母细胞完全获得重建的所有印记^[8].

2003 年, Lee^[9]提出 X 染色体失活是基因组印记形成的推动力. 他认为 X 染色体失活与基因组印记有共同的起源, 而且这种印记首先出现在雌性个体失活的 X 染色体上以解决剂量补偿问题. X

染色体失活特定转录物基因(X-inactive specific transcript, Xist)编码非翻译 RNA 是 X 染色体失活的前提条件, 其表达受 DNA 甲基化的调节. 小鼠^[10]原始生殖细胞中 X 染色体的重激活是逐步发生的, 于 XistRNA 消失后开始重激活, 即原始生殖细胞由后肠迁移至生殖嵴的阶段。

2 体细胞克隆的表观遗传学

体细胞克隆是将高度分化的体细胞移入去核的卵母细胞构成重构胚, 并发育成为一个个体. 尽管多个动物品种的多数组织细胞作为供体核可获得克隆动物, 但克隆胚胎发育到期的比率很低. 成功的体细胞克隆需要将供体细胞核重编程为全能的、胚胎化的状态, 体细胞移入去核的卵母细胞后要经历一系列的改变, 体细胞核停止其特定基因的表达, 供体染色质组织特异性的基因修饰信息将被擦除, 并接受卵胞质内的信息表现出一种新的转录模式^[11].

2.1 DNA 甲基化和组蛋白修饰

DNA 甲基化水平的变化对体细胞核重新编程很关键, 是核移植后体细胞核转化为全能态并最终发育为成体动物的基础^[12]. 小鼠体细胞核移植胚胎中, 分化甲基化区域(differentially methylated region, DMR)出现甲基化异常^[13]; Jaenisch 等^[12]首例报道证实了供体细胞的分化程度及甲基化水平影响小鼠克隆胚发育至囊胚的比率, 用未分化的神经干细胞和低甲基化水平的供体体细胞可显著提高克隆效率. 克隆牛^[5]1- 细胞胚胎的甲基化水平已开始下降, 但 2- 细胞以后的胚胎并没有发生进一步的去甲基化, 相反, 大部分的克隆胚胎发生了过早的从头甲基化, 这可能是因为体细胞核中 Dnmt1 的存在形式和卵中的不同^[3]. Kang 等^[14]用亚硫酸盐测序法分析克隆牛桑椹和囊胚的一些重复序列或单一序列的甲基化水平, 发现附植前胚胎尤其是一些重复序列处于高甲基化状态, 与供体体细胞核很相似, 表明大多数附植前的克隆胚核重编程不完全, 尤其是去甲基化明显不足. 克隆胚胎囊胚的不同部位发生不同的去甲基化, 克隆牛^[5]囊胚中内细胞团的甲基化水平相对正常, 而滋养外胚层细胞异常的高甲基化. 限制性标记基因组扫描(RLGS)技术首次观察到了克隆牛胎儿组织的表观构象^[15], 应用该技术可获得位于非重复序列中的 Not I 位点的甲基化构象, 结果表明, 大约 2 600 个 Not I 位点未甲基化, 至少 35 个 Not I 位点出现了不同的甲基化水平,

来自于人工授精和核移植的胎牛和胎盘组织中在 CpG 岛基因组的甲基化构象中出现了组织特异性差异, 且不充分的基因组范围内的去甲基化可能并非 DNA 甲基化构象杂乱无章的唯一机制。

用兔的成纤维细胞和卵丘细胞为核供体的核移植重构胚^[16]与正常受精胚甲基化模式相似, 附植前胚胎基因组甲基化水平无明显变化, 这表明基因组范围内的去甲基化并不是兔胚胎表观修饰的必需条件。Bonk 等^[17]通过基因芯片技术发现猪供体细胞的甲基化构象与体内正常发育的囊胚甲基化构象相似程度越大, 体细胞核移植的重构胚囊胚发育率越高。绵羊克隆胚^[18]的 1- 细胞期到 8- 细胞期, 虽然在每一个的发育阶段都有着比正常胚胎相对要高的甲基化水平, 但是基因组甲基化变化的总体趋势与正常绵羊基因组甲基化变化趋势相似, 从 8- 细胞期到囊胚期, 重构胚与正常受精胚 DNA 甲基化水平一致, 但是二者 DNA 甲基化的分布却有着显著差别, 而且滋养外胚层细胞也表现出不完全的去甲基化, 这将影响重构胚的发育。

研究^[17]小鼠体细胞克隆胚胎, 发现 1- 细胞期体细胞的组蛋白某些赖氨酸位点(H3K9, H3K14, H4K16)在核移植后能很快地去乙酰化, 随后在胚胎激活过程中又发生了再乙酰化。然而, 另外一些赖氨酸位点(H4K8, H4K12)在核移植和胚胎激活过程中乙酰化水平一直维持在高水平, 仅有轻微的去乙酰化现象发生。通过这两种途径, 克隆胚胎建立起了与单精注射(ICSI)获得的正常胚胎相似的组蛋白乙酰化修饰状态。H3K9 三甲基化与二甲基化修饰在克隆胚胎形成的两个或多个类原核中均匀分布, 并逐渐发生去甲基化, H3K9 去甲基化的发生可能对克隆胚胎基因的激活起重要作用。Wakayama 等^[19]发现曲古抑菌素(TSA)不仅可提高杂交系小鼠的克隆效率, 而且还首次成功克隆出远交系小鼠。

2.2 印记基因的表达

印记基因对于胎儿生长发育, 个体的行为和认知, 特别是胎盘的发育都极为重要。Ogawa 等^[20]分析克隆小鼠胚胎和胎盘中 8 个印记基因的表达情况, 发现了 H19 和 IGF2 的异常表达以及 H19 和 IGF2R 基因的异常甲基化状态, 并且还发现 IGF2 的异常表达可能导致胚胎和胎盘的过度生长。Kono 等^[21]通过核移植得到了含有未生长的卵母细胞核与完全生长的卵母细胞核的孤雌胚, 其中未生长的卵母细胞基因组中的印记基因 H19 被敲除,

并最终得到了能够生长到成年并具有繁殖能力的孤雌小鼠。这个实验打破了单亲哺乳动物后代不能发育的定论, 同时证明了基因组保持正常的印记状态对哺乳动物发育的重要性。基因组印记的异常, 可能导致了克隆效率低下, 克隆胎儿与胎盘发育不健全。研究显示克隆小鼠单个印记基因的表达异常与胎儿异常生长没有显著的相关性。似乎表明胎儿和胎盘异常增大等表型可能是由许多印记基因的异常调控累积造成的, 单个印记基因的效应并不足以引起生长异常, 即使是表型正常的克隆动物, 其体内也存在着一定量的印记基因的异常表达^[22]。先前报道表明, 有一些印记基因的甲基化状态, 如小鼠的 *Snrpn*^[23]和绵羊的 *IGF2R*^[24]至少在发育早期仍存在于胚外组织。重亚硫酸盐测序法分析牛^[25]克隆胚的 *Snrpn* 基因表达情况, 发现大多数克隆胚出现了严重的低甲基化, 此结果与小鼠克隆胚^[13]研究结果一致。

2005 年, Yamazaki 等^[26]发现交配后 8.5~9.5 天迁移过程中的原始生殖细胞可成功地被用来当作核移植供体, 获得发育到期的克隆胚胎, 并最终得到了具有繁殖能力的健康成体。他们分析了原始生殖细胞在 H19 和 *Snrpn* 印记位点的特定等位基因的甲基化水平, 认为交配后 8.5~9.5 天的原始生殖细胞仍然有一些印记基因大部分保持完整, 能支持克隆胚的发育, 随后在交配后 10.5 天即原始生殖细胞进入生殖嵴时发生了印记擦除, 这证明了基因组印记对克隆胚发育的重要性。

2.3 X 染色体失活及其他

X 染色体失活发生异常, 可能影响到动物的克隆效率和个体发育。Eggan 等^[27]将绿色荧光蛋白(GFP)转染到小鼠父源的 X 染色体(Xp)上, 研究 Xp 在小鼠克隆胚胎早期的失活变化。结果发现在克隆胚胎的分裂阶段, 两条 X 染色体均有活性, 随后 X 染色体在胚胎组织发生随机失活, 然而在滋养外胚层, X 染色体失活是非随机性的, 供体细胞中失活的 X 染色体被特定选择失活。Nolen 等^[28]认为, 尽管失活的 X 染色体在小鼠克隆胚胎发育中能被再次激活, 但却不能对 Xic(X inactivation center, Xic)进行有效的调节。

克隆过程也导致一些重要基因的表达异常。对小鼠克隆囊胚与正常囊胚 Oct-4 及其 10 个相关基因的检测表明, 克隆囊胚中对这些基因全部正常表达的只有 62%, 而正常囊胚则 100% 的正常表达^[29]。有报道^[30]证实 Oct-4 基因的重激活受 Oct-4

启动子去甲基化的调节, 表明克隆胚胎中 Oct-4 的无效激活可能由于 Oct-4 启动子未有效地去甲基化。

3 其他形式体细胞核重编程的表观遗传学

供卵缺乏, 伦理道德及政府法规的限制等问题, 使得研究者们致力于用不同的方法对体细胞核进行重新编程, 主要有多能干细胞与体细胞融合^[31, 32], 胚胎干细胞^[33]、多潜能癌细胞^[33, 34]的抽提物与体细胞共孵育以及将编码多潜能因子的基因导入体细胞中^[35~37]等方法。

体细胞核移植和体细胞与胚胎干细胞的融合这两种技术为细胞抽提物重新编程体细胞提供了理论支持。Collas 等^[34]用未分化的人胚胎癌性细胞的抽提物处理上皮细胞后, Oct-4 和 Nanog 基因调控区发生了 DNA 甲基化重组和组蛋白修饰, 引起多潜能基因的表达(如 Oct-4 和 Nanog), 以及体细胞特定基因的下调(如 lamin A)。第一周 Oct-4 调控区发生了去甲基化, 第二周有所加强, 在邻近的启动子和远侧的增强子处最明显, Nanog 启动子在抽提物处理后 4 周也发生了去甲基化。然而, Oct-4 调控区发生了不完全的去甲基化, 且 Nanog 启动子看来更易去甲基化。最初的染色质重组取决于 Oct-4 和 Nanog 上的 H3K9 的乙酰化和二甲基化的 H3K9 的去甲基化, 这与基因转录激活一致。

2006 年 Yamanaka 等^[35]介绍了一种利用小鼠成纤维细胞替代卵细胞的系统, 编码 4 种转录因子 (Oct4, Sox2, Klf4 和 c-Myc) 特异蛋白的基因通过逆转录病毒被转入细胞中, 这些蛋白质启动了其他基因的表达, 从而导致细胞变成了全能性细胞, 即成纤维细胞具有了类胚胎干细胞(embryonic stem cell-like)的行为, 那些被选出的重组细胞被称作“被诱导的多能性干细胞”(iPS 细胞), 但通过 Fbx15 的表达而选择 iPS 细胞的 Oct-4 启动子去甲基化不完全, 影响其编码的转录因子的表达, 未能得到成活的嵌合体。今年 Yamanaka 等^[36]采用了更好的选择标记, 通过 Nanog 的表达来挑选 iPS 细胞, 获得嵌合体并发生生殖系传递。Jaenisch 等^[37]将 4 种转录因子通过逆转录病毒转导入成纤维细胞, 通过激活内源性 Oct-4 或 Nanog 基因, 从中仔细选出高度表达 Oct-4 和 Nanog 基因的重编程细胞即 iPS 细胞, 将这些细胞注射入囊胚时获得了存活的嵌合体, 且生殖系也发生了嵌合。iPS 细胞的 Oct-4 和 Nanog 位点都发生了去甲基化, 由转录抑

制的(体细胞)状态重新编程为转录激活(胚胎)状态。在甲基转移酶 Dnmt1 抑制时 iPS 细胞不发生基因组范围内的去甲基化, 恢复 Dnmt1 活性时 iPS 细胞可能因 Dnmt3a 和 Dnmt3b 的激活而重新甲基化, 且印记基因 Snrpn 和 Peg3 没有甲基化的变化。

4 展 望

迄今为止, 我们还不清楚核重编程异常的确切机制, 表观遗传修饰是核重新编程的关键, 对表观遗传学的深入研究将有助于我们对其机制的进一步了解, 从而不断完善各种技术更好地促进供体核的重新编程。本实验室主要研究在体外培养条件下如何降低核移植供体细胞的分化甲基化程度, 在核移植前用原始生殖细胞抽提物处理供体体细胞, 从而促进核重编程, 提高体细胞克隆效率, 期望建立一种更高效的核移植方法, 使其更好地应用于基础研究和生产实践。

《自然》杂志(Nature)^[38]最近发表的论文证明了间期受精卵也可支持体细胞核重编程, 用 Nocodazole 和 MG-132 处理分裂间期的受精卵作为核供体, 可产生存活的胎儿, 研究者认为转化到原核中的核重编程或胚胎发育所需的关键因子可通过该方法能释放入受精卵胞质中, 从而支持了克隆胚的发育。该研究提供了一种新的替代卵细胞的核移植方法, 正常倍性的受精卵和双雄原核或双雌原核的非整倍性受精卵都可支持体细胞核重编程, 这对建立人类胚胎干细胞系来说是很大的进步。

参 考 文 献

- 1 Wu Ct, Morris J R. Genes, genetics and epigenetics:a correspondence. Science, 2001, **293**(5532): 1103~1105
- 2 Dahl C, Guldberg P. DNA methylation analysis techniques. Biogerontology, 2003, **4**(4): 233~250
- 3 Reik W, Dean W, Walter J. Epigenetic reprogramming in mammalian development. Science, 2001, **293** (5532): 1089~1093
- 4 Dean W, Morgan H D, Reik W, *et al.* Epigenetic reprogramming in mammals. Human Molecular Genetics, 2005, **14**(1): R47~58
- 5 Dean W, Santos F, Stojkovic M, *et al.* Conservation of methylation reprogramming in mammalian development: aberrant reprogramming in cloned embryos. Proc Natl Acad Sci USA, 2001, **98**(24): 13734~13738
- 6 Santos F, Zakhartchenko V, Stojkovic M, *et al.* Epigenetic marking correlates with developmental potential in cloned bovine preimplantation embryos. Curr Biol, 2003, **13**(13): 1116~1121
- 7 Wang F, Kou Z, Zhang Y, *et al.* Dynamic reprogramming of histone acetylation and methylation in the first cell cycle of cloned mouse embryos. Biol Reprod, 2007, **77**(6): 1007~1016

- 8 Lucifero D, Mertineit C, Clarke H J, *et al.* Methylation dynamics of imprinted genes in mouse germ cells. *Genomics*, 2002, **79**(4): 530~538
- 9 Lee J T. Molecular links between X-inactivation and autosomal imprinting: X-inactivation as a driving force for the evolution of imprinting. *Curr Biol*, 2003, **13**(6): R242~254
- 10 de Napoles M, Nesterova T, Brockdorff N. Early loss of Xist RNA expression and inactive X chromosome associated chromatin modification in developing primordial germ cells. *PLoS ONE*, 2007, **2**(9): e860
- 11 Armstrong L, Lako M, Dean W, *et al.* Epigenetic modification is central to genome reprogramming in somatic cell nuclear transfer. *Stem Cells*, 2006, **24**(4): 805~814
- 12 Blelloch R, Wang Z, Jaenisch R, *et al.* Reprogramming efficiency following somatic cell nuclear transfer is influenced by the differentiation and methylation state of the donor nucleus. *Stem Cells*, 2006, **24**(9): 2007~2013
- 13 Mann M R, Chung Y G, Nolen L D, *et al.* Disruption of imprinted gene methylation and expression in cloned preimplantation stage mouse embryos. *Biol Reprod*, 2003, **69**(3): 902~914
- 14 Kang Y K, Park J S, Koo D B, *et al.* Limited demethylation leaves mosaic-type methylation states in cloned bovine pre-implantation embryos. *EMBO J*, 2002, **21**(5): 1092~1100
- 15 Kremenskoy M, Kremenska Y, Suzuki M. DNA methylation profiles of donor nuclei cells and tissues of cloned bovine fetuses. *J Reprod Dev*, 2006, **52**(2): 259~266
- 16 Shi W, Dirim F, Wolf E, *et al.* Methylation reprogramming and chromosomal aneuploidy in *in vivo* fertilized and cloned rabbit preimplantation embryos. *Biol Reprod*, 2004, **71**(1): 340~347
- 17 Bonk A J, Li R, Lai L, *et al.* Aberrant DNA methylation in porcine *in vitro*, parthenogenetic, and somatic cell nuclear transfer-produced blastocysts. *Mol Reprod Dev*, 2007, **75**(2): 250~264
- 18 Beaujean N, Taylor J, Gardner J, *et al.* Effect of limited DNA methylation reprogramming in the normal sheep embryo on somatic cell nuclear transfer. *Biol Reprod*, 2004, **71**(1): 185~193
- 19 Kishigami S, Bui H T, Wakayama S, *et al.* Successful mouse cloning of an outbred strain by Trichostatin A treatment after somatic nuclear transfer. *J Reprod Dev*, 2007, **53**(1): 165~170
- 20 Ogawa H, Ono Y, Shimozawa N, *et al.* Disruption of imprinting in cloned mouse fetuses from embryonic stem cells. *Reproduction*, 2003, **126**(4): 549~557
- 21 Kono T, Obata Y, Wu Q, *et al.* Birth of parthenogenetic mice that can develop to adulthood. *Nature*, 2004, **428**(6985): 860~864
- 22 Humpherys D, Eggan K, Akutsu H, *et al.* Epigenetic instability in ES cells and cloned mice. *Science*, 2001, **293**(5527): 95~97
- 23 Mann M R, Lee S S, Doherty A S, *et al.* Selective loss of imprinting in the placenta following preimplantation development in culture. *Development*, 2004, **131**(15): 3727~3735
- 24 Young L E, Fernandes K, McEvoy T G, *et al.* Epigenetic change in IGF2R is associated with fetal overgrowth after sheep embryo culture. *Nat Genet*, 2001, **27**(2): 153~154
- 25 Lucifero D, Suzuki J, Bordignon V, *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): 531~538
- 26 Yamazaki Y, Low E W, Marikawa Y, *et al.* Adult mice cloned from migrating primordial germ cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, **102**(32): 11361~11366
- 27 Eggan K, Akutsu H, Hochedlinger K, *et al.* X-chromosome inactivation in cloned mouse embryos. *Science*, 2000, **290**(5496): 1578~1581
- 28 Nolen L D, Gao S, Han Z, *et al.* X chromosome reactivation and regulation in cloned embryos. *Dev Biol*, 2005, **279**(2): 525~540
- 29 Bortvin A, Eggan K, Skaletsky H, *et al.* Incomplete reactivation of Oct4-related genes in mouse embryos cloned from somatic nuclei. *Development*, 2003, **130**(8): 1673~1680
- 30 Simonsson S, Gurdon J. DNA demethylation is necessary for the epigenetic reprogramming of somatic cell nuclei. *Nat Cell Biol*, 2004, **6**(10): 984~990
- 31 Tada M, Takahama Y, Abe K, *et al.* Nuclear reprogramming of somatic cells by *in vitro* hybridization with ES cells. *Curr Biol*, 2001, **11**(19): 1553~1558
- 32 Kimura H, Tada M, Nakatsuji N, *et al.* Histone code modifications on pluripotent nuclei of reprogrammed somatic cells. *Mol Cell Biol*, 2004, **24**(13): 5710~5720
- 33 Taranger C K, Noer A, Sorensen A L, *et al.* Induction of dedifferentiation, genomewide transcriptional programming, and epigenetic reprogramming by extracts of carcinoma and embryonic stem cells. *Mol Biol Cell*, 2005, **16**(12): 5719~5735
- 34 Freberg C T, Dahl J A, Timoskainen S, Collas P. Epigenetic reprogramming of OCT4 and NANOG regulatory regions by embryonal carcinoma cell extract. *Mol Biol Cell*, 2007, **18**(5): 1543~1553
- 35 Takahashi K, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell*, 2006, **126**(4): 663~676
- 36 Okita K, Ichisaka T, Yamanaka S. Generation of germline-competent induced pluripotent stem cells. *Nature*, 2007, **448**(7151): 313~317
- 37 Wernig M, Meissner M, Foreman R, *et al.* *In vitro* reprogramming of fibroblasts into a pluripotent ES-cell-like state. *Nature*, 2007, **448**(7151): 311~324
- 38 Egli D, Rosains J, Birkhoff G, *et al.* Developmental reprogramming after chromosome transfer into mitotic mouse zygotes. *Nature*, 2007, **447**(7145): 679~685

The Progress of Epigenetics in Somatic Nuclear Reprogramming*

GUAN Na, XU Yan-Ning, ZHANG Qing-Hua, LEI Lei**

(Department of Histology and Embryology, Harbin Medical University, Harbin 150081, China)

Abstract Many Novel approaches of epigenetic reprogramming of somatic cells have been reported. However, ethical issues caused by somatic nuclear transfer have triggered the development of alternative strategies for reprogramming somatic cells. Recently, many new advances have been acquired for reprogramming somatic cells, which could reverse differentiated somatic cells to a totipotent embryonic state, such as fusion of potential stem cells with somatic cells, incubation of cells in potential cell-free extraction and introduction of defined pluripotency factors into somatic cells. The epigenetic modification in these reprogramming processes, including germ cells and early embryos, somatic nuclear transfer and other approaches for reprogramming of somatic cells were reviewed. Studies of epigenetics will be benefit for understanding the precise mechanism and improving the efficiency of somatic nuclear reprogramming, which will be eventually applied in the basic study and practice.

Key words reprogramming , epigenetics , methylation

*This work was supported by a grant from The National Natural Science Foundation of China(30671025) and Scientific Foundation from Basic Medical College in Harbin Medical University.

**Corresponding author. Tel: 86-451-86674518, E-mail: LeiL086@yahoo.com.cn

Received: September 14, 2007 Accepted: November 6, 2007