

DNA 甲基化在动物胚胎和生殖细胞发育过程中的重编程

王京京¹⁾ 刘江^{2)*}

¹⁾中国医学科学院基础医学研究所, 北京 100005;

²⁾中国科学院北京基因组研究所, 北京 100101)

摘要 表观遗传信息 DNA 甲基化在动物的发育、细胞分化和器官形成过程中, 起着至关重要的作用. 近期, 关于 DNA 甲基化在脊椎动物胚胎发育和生殖细胞发育过程重编程的研究取得了重要的进展. 发现斑马鱼的早期胚胎完整地继承了精子的 DNA 甲基化图谱, 而哺乳动物的早期胚胎和原始生殖细胞发育过程则经历了整体去甲基化并重新建立甲基化图谱的过程, 但胚胎发育过程中基因的印迹区未发生 DNA 去甲基化, 而生殖细胞发育过程中印迹区的甲基化修饰被消除.

关键词 胚胎发育, 生殖细胞发育, DNA 甲基化, 重编程, 遗传

学科分类号 Q71

DOI: 10.16476/j.pibb.2015.0218

表观遗传修饰是指基因的碱基序列不发生改变, 但基因的表达发生改变的调控方式^[1]. 其主要形式包括 DNA 甲基化、组蛋白修饰、非编码 RNA 调控和染色体空间结构的调控等. 其中, DNA 甲基化是最早发现、也是最重要的基因表观修饰方式之一, 动物中的 DNA 甲基化主要发生在 CpG 位点上, 因此本文主要介绍 CpG 位点的甲基化修饰. CpG 甲基化是通过 DNA 甲基转移酶 (DNA methyltransferases, Dnmts) 将甲基基团转移到 DNA 胞嘧啶残基上的过程^[2-4], DNA 甲基化在调控基因表达、染色体结构维持、X 染色体失活和基因组印迹中起着重要的作用^[5-7].

在脊椎动物早期胚胎发育和原始生殖细胞发育的过程中, 会发生全基因组范围内的 DNA 甲基化模式重编程, 发育过程中甲基化模式的适时消除和重建对于个体的生存和健康是至关重要的^[3, 8]. 相对于上述两轮全基因组范围内的大规模 DNA 甲基化重编程, 在体细胞中仅会发生局部区域范围内、高度位点特异性的甲基化重编程^[9-10].

1 早期胚胎发育过程中的 DNA 甲基化动态

精子和卵细胞是高度分化的、独特的细胞类

型, 它们在受精作用后可以发育成具有全能性的早期胚胎^[11]. 对于早期胚胎而言, 精子和卵细胞对其基因组序列上的贡献是等量的, 但二者的表观修饰信息存在着差异, 这种差异信息需要在早期胚胎发育过程中经过重编程, 整合成为一套完整的全能性的表观遗传图谱. 揭示这种重编程过程的规律, 对于研究个体发育、遗传过程具有重要意义.

1.1 斑马鱼早期胚胎遗传精子的甲基化图谱

DNA 甲基化测序技术的不断发展, 为研究早期胚胎基因组甲基化动态提供了最有力的研究手段. 利用全基因组范围单碱基精度的 DNA 甲基化测序方法, 我们实验室及美国 Cairns 实验室分别揭示了斑马鱼早期胚胎的基因组甲基化动态^[12-13]. 我们发现, 斑马鱼 2~16 细胞胚胎的甲基化水平与精子和卵细胞甲基化水平的均值一致, 而随着胚胎发育的进程, 基因组 DNA 甲基化水平逐渐上升, 到囊胚期阶段接近精子的甲基化图谱. 在 DNA 甲基化重编程过程中, 早期胚胎中父源 DNA 拷贝完

* 通讯联系人.

Tel: 010-84097498, E-mail: liuj@big.ac.cn

收稿日期: 2015-07-13, 接受日期: 2015-08-13

全保留了精子的甲基化图谱，而母源 DNA 拷贝则抛弃了卵子的甲基化图谱，并逐渐地重编程为精子的甲基化图谱，这一过程最终导致早期胚胎遗传了

精子的甲基化图谱^[12](图 1a)。这项工作证实，DNA 甲基化信息是可以遗传的，并且斑马鱼的早期胚胎遗传了精子的甲基化图谱^[14]。

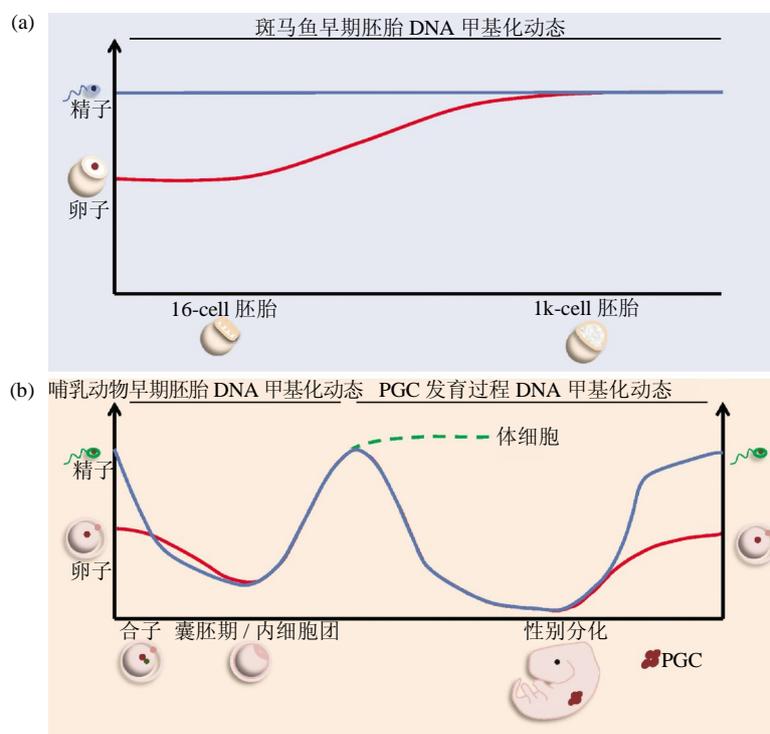


Fig. 1 The programming of parental DNA methylomes during embryogenesis and gametogenesis

图 1 DNA 甲基化在胚胎发育和配子发育过程的重编程

(a)和(b)分别为斑马鱼和哺乳动物的 DNA 甲基化动态示意图。横轴表示胚胎发育的不同时期，纵轴表示相应时期的平均甲基化水平。其中蓝色曲线为子代中父源 DNA 的甲基化水平，红色曲线为母源 DNA 的甲基化水平。PGC：原始生殖细胞。

对于配子中差异甲基化的启动子，进一步结合 mRNA 表达谱以及基因功能的分析发现，卵细胞的 DNA 甲基化图谱倾向于表达极早期的胚胎发育所需的基因(如细胞组分的形态发生、细胞运动等过程的相关基因)，而精子的 DNA 甲基化图谱倾向于表达的基因则富集在转录后调控、转录因子等稍晚期胚胎发育过程中，这种现象表明斑马鱼胚胎重编程为精子甲基化图谱的生物学意义在于实现胚胎发育基因的时序调控^[12-13]。

对于发育过程中数量更多的位于基因间区的差异甲基化区域，研究发现这些区域大部分为增强子区，并且这些增强子的靶向基因多为相应时期的器官分化和组织发育相关基因，如脑的发育、中枢神经系统发育等。此外，结合 mRNA 表达谱的分析，证实了这些增强子的甲基化状态与靶向基因表达之间的关系非常密切。这些结果进一步表明 DNA 甲基化动态调控了胚胎发育过程基因的时序表达^[15]。

1.2 哺乳动物早期胚胎 DNA 甲基化动态

斑马鱼与小鼠的早期胚胎基因组甲基化动态上存在着巨大差异，小鼠的早期胚胎发育过程中经历了整体范围的去甲基化和重新甲基化过程(图 1b)。小鼠精子的平均甲基化水平约为 80%，卵细胞约为 50%，在胚胎发育到 3.5 天左右的 ICM 时期，甲基化水平降至最低，约为 20%。胚胎从 ICM 发育到 7.5 天左右，发生了整体范围的重新甲基化，平均甲基化水平达到 73%^[16]。近期在人早期胚胎发育的研究中发现，人类与小鼠及其他哺乳动物的早期胚胎 DNA 甲基化动态非常相似^[17-18]，大体遵循着配子高甲基化、胚胎低甲基化、合子中亲本的甲基化信息被大规模消除并重建的过程。

在早期胚胎大规模去甲基化的过程中，部分区域仍然维持了配子中的甲基化水平，这些区域主要是印迹调控区(imprinting control regions, ICR)。ICR 可以被划分为生殖细胞印迹调控区(germ-line

ICRs, gICRs)和体细胞印迹调控区(somatic ICRs, sICRs)^[19-20]. gICR 指在精子和卵子中就建立的等位基因组序列的差异甲基化区域, 并且 gICR 在早期发育过程中不发生 DNA 的去甲基化; 而 sICR 是指只在体细胞中才建立起的等位基因组序列的差异甲基化区域^[21-25].

斑马鱼和小鼠胚胎发育过程中 DNA 甲基化重编程截然不同, 甲基化动态差异可能与斑马鱼和哺乳动物胚胎发育的差异相关. 哺乳动物早期胚胎的去甲基化过程是区域特异性的, 在此过程中许多区域被保护并不去甲基化, 从而使一些父源和母源差异的甲基化区域(印迹区域)能够维持下来, 因此我们推测选择性地甲基化方式可能是导致印迹基因形成的一个重要因素. 印迹基因的重要功能在于控制胚胎体积, 对于胎盘内发育的哺乳动物起着至关重要的作用, 而胚胎体外发育的鱼类则无需通过这种形式来控制胚胎体积^[16].

2 哺乳动物生殖细胞发育过程中的 DNA 甲基化动态

生殖细胞承担着在亲代与子代间传递遗传信息的功能^[26]. 原始生殖细胞(primordial germ cells, PGCs)是能够产生雄性和雌性生殖细胞的早期细胞. 在大部分脊椎动物胚胎发育的原胚期, 原始生殖细胞位于内胚层, 随着发育的进行, 逐渐迁移到达生殖嵴处, 并和生殖嵴的中胚层细胞共同形成睾丸或卵巢^[27].

对于哺乳动物, 在绝大多数情况下, 细胞分化产生各种组织器官过程中 DNA 的甲基化修饰图谱在整体上基本保持不变, DNA 甲基化往往只在细胞类型和组织类型特异的区域才发生改变. 然而在生殖细胞发育过程中经历了全基因组的去甲基化及重新建立 DNA 甲基化图谱的过程(图 1b).

2.1 哺乳动物 PGC 发育过程经历去甲基化和重新甲基化

在小鼠的 PGC 发育过程中, 发生了大规模的去甲基化过程. PGC 在 6.5 天时起始分化, 在 13.5 天时, 平均甲基化水平降至最低点, 此时全基因组 DNA 的甲基化水平大约在 5% 左右^[16, 28-29], 雄性的 PGC 细胞在 13.5 天后开始重新建立甲基化图谱, 而雌性 PGC 重新甲基化的时间晚于雄性. 经过重新甲基化后, 雄性生殖细胞的甲基化水平高于雌性生殖细胞, 从而形成精子和卵子(图 1b).

人与小鼠的 PGC 发育过程 DNA 甲基化动态非常相似, 也同样经历了整体范围的去甲基化和重新甲基化^[30]. 由于发育周期不同, 在人的妊娠后 10~11 周, PGC 的甲基化水平降至最低点, 随后进入重新甲基化过程^[31-33]. 研究发现一部分与代谢和神经性疾病相关的位点也在整体去甲基化的过程中保留了甲基化修饰^[33].

人与小鼠的 PGC 甲基化重编程过程也存在着一些差异. 首先从基因调控网络的角度: 小鼠的 PGC 分化过程中, BLIMP1、PRDM14 和 TFAP2C 基因参与调控细胞的分化方向, 调控表观修饰重编程的起始, 而人的 PGC 分化过程中, SOX 家族基因 SOX17 指导 BLIMP1 的表达, 进一步调控 PGC 的分化^[32-33]. 此外, 人的雌性生殖细胞中 X 染色体的重新激活在发育第 4 周就已经完成, 而小鼠中这一事件发生在 8.5~12.5 天, 人的 PGC 发育过程中 X 染色体激活事件的发生早于小鼠中该事件的发生时期^[32].

2.2 哺乳动物 PGC 去甲基化过程中基因表达水平稳定

在哺乳动物 PGC 发育过程中, 发生了大规模的 DNA 去甲基化, 按照通常认为的 DNA 甲基化水平与基因表达水平间负相关的关系, 这种整体范围的 DNA 去甲基化势必造成大量基因的表达水平升高. 但有趣的是, 通过对 RNA-seq 数据分析, PGC 发育过程中大规模的 DNA 去甲基化并未对转录水平产生影响, 包括对于甲基化调控非常敏感的转座子区域. 例如重复元件 LINE1, 在 13.5 天的 PGC 中被抹去甲基化修饰, 但在这一时期并未表达^[31-33].

PGC 中基因表达在整体上呈现较为稳定的状态: 早期 PGC 中细胞多能性的表达网络活跃(如 OCT4、NANOG 和 REX1 等), 随后减数分裂和生殖细胞发育的表达网络较活跃(如 KIT、TNAP、AP2 γ 和 NANOS3 等)^[32]. 综上所述, 在 PGC 发育过程中, DNA 甲基化水平发生了大幅度的降低, 但基因表达水平并未受到显著影响, 同时其他研究发现, 在这一发育时期基因组上不存在常见的抑制性组蛋白修饰形式 H3K9me2 和 H3K27me3^[34], 暗示着可能存在其他的转录抑制机制对 PGC 发育过程中的基因表达进行调控, 这一问题有待进一步的研究.

3 哺乳动物发育过程经历两轮 DNA 甲基化重编程

3.1 哺乳动物两轮甲基化重编程过程的区别和意义

哺乳动物的发育过程中经历了两轮大规模 DNA 甲基化重编程过程。即整体范围的去甲基化和重新甲基化，大部分区域的甲基化修饰被抹去并重新建立。这两轮重编程过程的去甲基化过程都存在主动去甲基化的方式。

两轮重编程过程也存在着许多差异。首先，PGC 发育过程相比早期胚胎发育过程的 DNA 去甲基化发生的更为彻底^[18]。此外，两轮 DNA 甲基化重编程过程的差异主要体现在对印迹调控区的甲基化控制方面，gICRs 的等位基因特异甲基化的状态在 PGC 发育过程随着去甲基化过程被消除，在随后的重新甲基化过程中建立，但在早期胚胎发育的去甲基化过程中，gICRs 甲基化的状态得到维持^[35]。

许多研究从不同的角度阐述了 DNA 甲基化重编程对于个体发育的意义：a. 从遗传持续性的角度，在早期胚胎发育和原始生殖细胞发育过程中发生的两轮大规模 DNA 甲基化重编程过程，其目的是为了消除亲代在生存过程中产生的异常甲基化修饰，从而避免这些异常对于子代的影响^[36]。b. 从细胞分化能力的角度，DNA 甲基化对于细胞命运决定具有重要意义，是一种限制细胞发育潜能的表现遗传屏障。在生命循环的关键时期，如早期胚胎发育和原始生殖细胞发育时期，消除这种 DNA 甲基化的屏障，有助于重新建立发育的潜能^[37]。c. 从胚胎发育特点的角度，哺乳动物发育过程中两轮 DNA 去甲基化有助于基因组印迹的形成，基因组印迹是有胎盘的哺乳动物所特有的，有助于调控胚胎在母亲子宫内的体积。我们推测两轮的全基因组去甲基化是哺乳动物进化中的重要一步^[16, 38]。

3.2 哺乳动物甲基化重编程的机制

哺乳动物的甲基化过程是由甲基化转移酶 DNMTs 将甲基转移到胞嘧啶上实现的，在早期胚胎发育和 PGC 发育过程中，具有从头甲基化酶活性的 DNMT3 发挥了重要作用^[29, 31, 39]。

对于哺乳动物的去甲基化过程，存在两种可能的机制：主动去甲基化和被动去甲基化(图 2)。主动去甲基化是通过生物酶改变胞嘧啶上的甲基化修饰，可能是直接地去除胞嘧啶上的甲基化，也可能是对甲基化的修饰而导致的胞嘧啶的改变。Tet (ten eleventranslocation) 蛋白可以将 mC 氧化为

hmC、fC、caC 等一系列修饰形式^[40]，随后可以通过碱基修复而消除甲基化，因为 DNMT 不能识别 DNA 甲基化位点，所以氧化的产物可能在 DNA 复制过程中逐渐地被抛弃^[41-45]；被动去甲基化是指在 DNA 复制过程中新产生的链不再保留甲基化修饰，因此整体的甲基化水平伴随着 DNA 复制而逐渐减半。

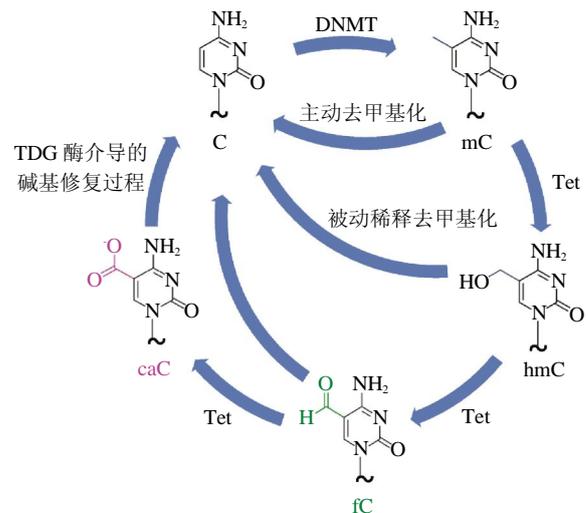


Fig. 2 Pathway for dynamic modifications of cytosine

图 2 DNA 胞嘧啶修饰的循环途径

甲基化过程是由甲基化转移酶 DNMTs 将甲基转移到 C 上实现的，去甲基化过程存在多种可能的途径：a. 甲基基团可能被直接去除，成为未修饰的 C；b. 甲基基团可以被 Tet 催化成为不同的氧化形式，并进一步结合糖基化、碱基修复、DNA 复制等方式转化为未修饰的 C。

长久以来，认为在哺乳动物受精后，父源 DNA 的甲基化是通过主动去甲基化实现的，而母源 DNA 的去甲基化则是通过被动去甲基化实现的，这种理论主要是根据细胞 DNA 甲基化染色的结果而推导出来的^[46]。近期我们课题组通过可以区分父源和母源 DNA 序列的方法揭示：在哺乳动物早期胚胎发育过程中，父源和母源 DNA 中的多数 CpG 位点都是通过主动去甲基化的方式实现了 DNA 的去甲基化^[16]。相关结论被后续研究不断地证实^[39]。然而目前对于哺乳动物 DNA 甲基化重编程过程中去甲基化的机制仍存在很多争议，例如主动去甲基化在全基因组中去甲基化的比例是多少？存在不同的解释。

在 PGC 发育的过程中，Tet 氧化参与了 DNA 去甲基化^[47]。在雌性生殖细胞和卵细胞的甲基化重

编程过程中, 发现 CRL4(cullin-ring finger ligase-4) 复合体和其底物受体 VPRBP 参与 Tet 的调控^[48]。

但另外一些研究通过构建 Tet3 敲除的小鼠模型, 发现依赖于 DNA 复制的被动去甲基化在早期胚胎去甲基化的过程中发挥了主要作用, Tet3 仅参与了部分位点的去甲基化, 并且也参与了母源 DNA 的去甲基化过程^[39]。

除了上述几种观点外, 还有一些研究将 PGC 重编程过程划分为两部分, 从小鼠 7.5~9.5 天的第一阶段的 PGC 重编程过程不会受到 Tet1 和 Tet2 缺失的影响, 去甲基化过程不依赖于 5hmC^[49]。从 10.5~12.5 天的较短时间窗口被划分为第二阶段的 PGC 重编程过程^[50], 这一阶段的去甲基化是由 Tet 介导的主动去甲基化过程, 5mC 迅速被氧化为 5hmC, 甲基化水平降低的速率快于第一阶段^[47,51]。

4 展 望

从上述研究结果可以发现, 早期胚胎和原始生殖细胞发育过程中的 DNA 甲基化动态具有物种的特异性: 斑马鱼的早期胚胎遗传了精子的甲基化图谱, 而哺乳动物的早期胚胎和原始生殖细胞发育过程则经历了整体去甲基化并重新甲基化的过程。脊椎动物中较为低等的斑马鱼的甲基化重编程过程, 与较为高等的哺乳动物重编程过程具有非常大的差异, 而同为哺乳动物的人和小鼠的甲基化动态非常相似。这种现象暗示着 DNA 甲基化动态可能与进化程度、发育模式相关, 追踪不同进化阶段物种的早期胚胎 DNA 甲基化动态可能会得到非常有趣的结果, 这些数据或许能够揭示出进化过程与甲基化重编程过程存在的关联, 以及 DNA 甲基化动态具体是如何影响遗传、发育过程的。

随着近年来对早期胚胎表观基因组动态的不断探索, 我们得以更清楚地了解表观修饰信息在亲代与子代间的遗传过程, 但同时也面临着更多的未知问题, 比如表观修饰信息 DNA 甲基化的遗传是否还有其他的形式? DNA 甲基化图谱如何建立的? 等等一些问题。这些问题的解释将会使我们更清楚地了解生物的遗传与发育两大奥秘。

参 考 文 献

- [1] Reik W, Kelsey G. EPIGENETICS Cellular memory erased in human embryos. *Nature*, 2014, **511**(7511): 540-541
- [2] Bird A. The essentials of DNA methylation. *Cell*, 1992, **70**(1): 5-8
- [3] Okano M, Bell D W, Haber D A, *et al.* DNA methyltransferases Dnmt3a and Dnmt3b are essential for *de novo* methylation and mammalian development. *Cell*, 1999, **99**(3): 247-257
- [4] Bird A. DNA methylation patterns and epigenetic memory. *Genes & Development*, 2002, **16**(1): 6-21
- [5] Geuns E, De Rycke M, Van Steirteghem A, *et al.* Methylation imprints of the imprint control region of the SNRPN-gene in human gametes and preimplantation embryos. *Human Molecular Genetics*, 2003, **12**(22): 2873-2879
- [6] Jaenisch R, Bird A. Epigenetic regulation of gene expression: how the genome integrates intrinsic and environmental signals. *Nat Genet*, 2003, **33**(2): 245-254
- [7] Sasaki H, Matsui Y. Epigenetic events in mammalian germ-cell development: reprogramming and beyond. *Nat Rev Genet*, 2008, **9**(2): 129-140
- [8] Li E, Bestor T H, Jaenisch R. Targeted mutation of the DNA methyltransferase gene results in embryonic lethality. *Cell*, 1992, **69**(6): 915-926
- [9] Doege C A, Inoue K, Yamashita T, *et al.* Early-stage epigenetic modification during somatic cell reprogramming by Parp1 and Tet2. *Nature*, 2012, **488**(7413): 652-655
- [10] Mattout A, Biran A, Meshorer E. Global epigenetic changes during somatic cell reprogramming to iPS cells. *Journal of Molecular Cell Biology*, 2011, **3**(6): 341-350
- [11] Hackett J A, Surani M A. Beyond DNA: programming and inheritance of parental methylomes. *Cell*, 2013, **153**(4): 737-739
- [12] Jiang L, Zhang J, Wang J J, *et al.* Sperm, but not oocyte, DNA methylome is inherited by zebrafish early embryos. *Cell*, 2013, **153**(4): 773-784
- [13] Potok M E, Nix D A, Parnell T J, *et al.* Reprogramming the maternal zebrafish genome after fertilization to match the paternal methylation pattern. *Cell*, 2013, **153**(4): 759-772
- [14] Hackett J A, Surani M A. Beyond DNA: programming and inheritance of parental methylomes. *Cell*, 2013, **153**(4): 737-739
- [15] Lee H J, Lowdon R F, Maricque B, *et al.* Developmental enhancers revealed by extensive DNA methylome maps of zebrafish early embryos. *Nat Commun*, 2015, **6**: 6315
- [16] Wang L, Zhang J, Duan J, *et al.* Programming and inheritance of parental DNA methylomes in mammals. *Cell*, 2014, **157**(4): 979-991
- [17] Smith Z D, Chan M M, Humm K C, *et al.* DNA methylation dynamics of the human preimplantation embryo. *Nature*, 2014, **511**(7511): 611-615
- [18] Guo H S, Zhu P, Yan L Y, *et al.* The DNA methylation landscape of human early embryos. *Nature*, 2014, **511**(7511): 606-612
- [19] Reik W, Walter J. Evolution of imprinting mechanisms: the battle of the sexes begins in the zygote. *Nat Genet*, 2001, **27**(3): 255-256
- [20] Reik W, Walter J. Genomic imprinting: Parental influence on the genome. *Nat Rev Genet*, 2001, **2**(1): 21-32
- [21] Hayashizaki Y, Shibata H, Hirotsune S, *et al.* Identification of an imprinted U2af binding-protein related sequence on mouse chromosome-11 using the rlgs method. *Nat Genet*, 1994, **6**(1): 33-40
- [22] Hiura H, Sugawara A, Ogawa H, *et al.* A tripartite paternally

- methylated region within the Gpr1-Zdbf2 imprinted domain on mouse chromosome 1 identified by meDIP-on-chip. *Nucleic Acids Research*, 2010, **38**(15): 4929–4945
- [23] Kelsey G, Bodle D, Miller H J, *et al.* Identification of imprinted loci by methylation-sensitive representational difference analysis: Application to mouse distal chromosome 2. *Genomics*, 1999, **62**(2): 129–138
- [24] Peters J, Wroe S F, Wells C A, *et al.* A cluster of oppositely imprinted transcripts at the Gnas locus in the distal imprinting region of mouse chromosome 2. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1999, **96**(7): 3830–3835
- [25] Xie W, Barr C L, Kim A, *et al.* Base-resolution analyses of sequence and parent-of-origin dependent DNA methylation in the mouse genome. *Cell*, 2012, **148**(4): 816–831
- [26] Leitch H G, Tang W W C, Surani M A. Primordial germ-cell development and epigenetic reprogramming in mammals. *Epigenetics and Development*, 2013, **104**: 149–187
- [27] Saitou M, Yamaji M. Primordial germ cells in mice. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 2012, **4**(11): 843–853
- [28] Kobayashi H, Sakurai T, Miura F, *et al.* High-resolution DNA methylome analysis of primordial germ cells identifies gender-specific reprogramming in mice. *Genome Research*, 2013, **23**(4): 616–627
- [29] Seisenberger S, Andrews S, Krueger F, *et al.* The dynamics of genome-wide DNA methylation reprogramming in mouse primordial germ cells. *Molecular Cell*, 2012, **48**(6): 849–862
- [30] Santos F, Dean W. Epigenetic reprogramming during early development in mammals. *Reproduction*, 2004, **127**(6): 643–651
- [31] Gkoutela S, Zhang K X, Shafiq T A, *et al.* DNA demethylation dynamics in the human prenatal germline. *Cell*, 2015, **161**(6): 1425–1436
- [32] Guo F, Yan L, Guo H, *et al.* The transcriptome and DNA methylome landscapes of human primordial germ cells. *Cell*, 2015, **161**(6): 1437–1452
- [33] Tang W W, Dietmann S, Irie N, *et al.* A Unique gene regulatory network resets the human germline epigenome for development. *Cell*, 2015, **161**(6): 1453–1467
- [34] Gkoutela S, Li Z W, Vincent J J, *et al.* The ontogeny of cKIT(+) human primordial germ cells proves to be a resource for human germ line reprogramming, imprint erasure and *in vitro* differentiation. *Nature Cell Biology*, 2013, **15**(1): 113–U247
- [35] Reik W, Dean W. DNA methylation and mammalian epigenetics. *Electrophoresis*, 2001, **22**(14): 2838–2843.
- [36] Heard E, Martienssen R A. Transgenerational epigenetic inheritance: myths and mechanisms. *Cell*, 2014, **157**(1): 95–109
- [37] Seisenberger S, Peat J R, Hore T A, *et al.* Reprogramming DNA methylation in the mammalian life cycle: building and breaking epigenetic barriers. *Philos T R Soc B*, 2013, **368**(1609): 330–341
- [38] Ci W M, Liu J. Programming and inheritance of parental DNA methylomes in vertebrates. *Physiology*, 2015, **30**(1): 63–68
- [39] Shen L, Inoue A, He J, *et al.* Tet3 and DNA replication mediate demethylation of both the maternal and paternal genomes in mouse zygotes. *Cell Stem Cell*, 2014, **15**(4): 459–470
- [40] Ito S, Shen L, Dai Q, *et al.* Tet proteins can convert 5-methylcytosine to 5-formylcytosine and 5-carboxylcytosine. *Science*, 2011, **333**(6047): 1300–1303
- [41] Gu T P, Guo F, Yang H, *et al.* The role of Tet3 DNA dioxygenase in epigenetic reprogramming by oocytes. *Nature*, 2011, **477**(7366): 606–U136
- [42] Inoue A, Matoba S, Zhang Y. Transcriptional activation of transposable elements in mouse zygotes is independent of Tet3-mediated 5-methylcytosine oxidation. *Cell Res*, 2012, **22**(12): 1640–1649
- [43] Wossidlo M, Nakamura T, Lepikhov K, *et al.* 5-hydroxymethylcytosine in the mammalian zygote is linked with epigenetic reprogramming. *Nat Commun*, 2011, **2**(3): 803–814
- [44] Inoue A, Zhang Y. Replication-dependent loss of 5-hydroxymethylcytosine in mouse preimplantation embryos. *Science*, 2011, **334**(6053): 194–194
- [45] Inoue A, Shen L, Dai Q, *et al.* Generation and replication-dependent dilution of 5fC and 5caC during mouse preimplantation development. *Cell Res*, 2011, **21**(12): 1670–1676
- [46] Kohli R M, Zhang Y. TET enzymes, TDG and the dynamics of DNA demethylation. *Nature*, 2013, **502**(7472): 472–479
- [47] Yamaguchi S, Hong K, Liu R, *et al.* Dynamics of 5-methylcytosine and 5-hydroxymethylcytosine during germ cell reprogramming. *Cell Res*, 2013, **23**(3): 329–339
- [48] Yu C. CRL4 complex regulates mammalian oocyte survival and reprogramming by activation of TET proteins (vol 342, pg 1518, 2013). *Science*, 2014, **344**(6183): 469–469
- [49] Vincent J J, Huang Y, Chen P Y, *et al.* Stage-Specific roles for Tet1 and Tet2 in DNA demethylation in primordial germ cells. *Cell Stem Cell*, 2013, **12**(4): 470–478
- [50] Lee H J, Hore T A, Reik W. Reprogramming the methylome: erasing memory and creating diversity. *Cell Stem Cell*, 2014, **14**(6): 710–719
- [51] Hackett J A, Sengupta R, Zyllicz J J, *et al.* Germline DNA demethylation dynamics and imprint erasure through 5-hydroxymethylcytosine. *Science*, 2013, **339**(6118): 448–452

The Programming of DNA Methylation During Vertebrate Embryogenesis and Gametogenesis

WANG Jing-Jing¹⁾, LIU Jiang^{2)*}

¹⁾*Institute of Basic Medical Sciences, Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing 100005, China;*

²⁾*Beijing Institute of Genomics, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China)*

Abstract 5-Methylcytosine is one major epigenetic modification which plays critical roles during development, cell differentiation and organogenesis. Recently, remarkable progress has been achieved in understanding the programming and inheritance of DNA methylation during early embryogenesis and gametogenesis in vertebrates. Studies have revealed that sperm DNA methylome can be stably inherited by early embryos in zebrafish. However, both paternal and maternal methylomes undergo dramatic demethylation and reprogramming during mammalian embryogenesis and germ cell development. Most germ-line imprinting control regions escape from demethylation during mammalian embryogenesis, but these regions are demethylated during primordial germ cell development.

Key words embryonic development, germ cell development, DNA methylation, reprogramming, inheritance

DOI: 10.16476/j.pibb.2015.0218

*Corresponding author.

Tel: 86-10-84097498, E-mail: liuj@big.ac.cn

Received: July 13, 2015 Accepted: August 13, 2015