

DOI: 10.3724/SP.J.1005.2010.00726

# 基因表达谱分析牛早期胚胎发育过程的调控机理

何侃, 赵洪波, 白春艳, 王起山, 潘玉春

上海交通大学农业与生物学院, 上海 200240

**摘要:** 早期胚胎的死亡会给畜牧业的发展带来巨大的经济损失, 特别是对于母牛生产来说更是如此, 因此研究早期胚胎发育过程具有极为重要的价值。文章从公共数据库 GEO 中选取了关于牛早期胚胎发育过程的一套基因表达谱数据, 通过显著性分析及聚类分析来研究牛早期胚胎发育过程中不同时期的基因组表达模式。结果表明: 整个牛早期胚胎发育过程大致可划分为 3 组不同的基因组表达模式阶段; 同时, 差异基因在不同时期表达量的波动情况表明 8-细胞期和 16-细胞期在牛整个早期胚胎发育过程的重要性。另外, 通过进一步的功能注释和通路分析表明在牛胚胎早期发育不同阶段时期存在着一些重要因子及相关通路。

**关键词:** 早期胚胎; 牛; 基因表达谱; 调控机制

## Study on regulatory mechanism of bovine early embryos development based on the analysis of gene expression data

HE Kan, ZHAO Hong-Bo, BAI Chun-Yan, WANG Qi-Shan, PAN Yu-Chun

*School of Agriculture and Biology, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200240, China*

**Abstract:** The death of early embryo development will bring huge economic losses in animal husbandry, especially for dairy production of cattle. Thus, it has an extremely important value to study the process of early embryonic development. In our study, one dataset of gene expression was chosen from the public database of GEO, which was related to bovine preimplantation development. Significance and clustering analyses were used to study the genome expression patterns of each stage during bovine preimplantation development. The whole process was assigned to three main groups. The waves of significant gene expression in each stage indicated that both 8-cell and 16-cell stages played an important role during the process of bovine preimplantation development. Further functional analysis and pathway analysis revealed that some major factors and related pathways are required for distinctive developmental stages.

**Keywords:** early embryos; bovine; gene expression profiles; regulatory mechanism

哺乳动物早期胚胎发育指的是从受精到着床这一动态的过程, 是细胞生长、发育、分化最旺盛时期, 大多数基因都处于活化状态, 因此它是发现和分离有重要功能新基因的极好材料<sup>[1]</sup>。而在哺乳动物疾病的研究中, 早期胚胎死亡(Early Embryonic

Death, EED)作为一种常见现象已受到越来越多的关注, 由于它能导致单胎动物的不孕和多胎动物的窝产仔数降低, 从而给畜牧业的发展造成严重的经济损失。EED 对于奶牛生产来说更为严重, 并且受到遗传、营养、免疫和繁殖技术等方面因素的影响。

收稿日期: 2009-11-16; 修回日期: 2009-12-21

基金项目: 国家高技术研究发展计划项目(863 计划)(编号: 2006AA10Z1E3)和国家自然科学基金项目(编号: 30871782)资助

作者简介: 何侃(1985-), 男, 博士研究生, 研究方向: 统计基因组学与生物信息学。Tel: 021-34206147; E-mail: hekan@sjtu.edu.cn

通讯作者: 潘玉春(1964-), 男, 教授, 博士生导师, 研究方向: 动物遗传育种与繁殖。Tel: 021-34205836; E-mail: panyu@sjtu.edu.cn

在对牛的长期研究过程中发现,从受精卵开始到出生的任何时期均可发生胚胎死亡。正常情况下,输精后卵细胞的受精率为90%~100%,但实际上母牛第一发情期的受胎率只有65%~70%,这表明约有25%~35%的胚胎在配种后约21 d内死亡<sup>[2]</sup>。造成早期胚胎死亡的因素很多,有源于胚胎本身的,也有来源于母体的,这些因素从胚胎的生长、胚胎发出的妊娠信号、母体对这些信号的反应即妊娠识别等方面影响胚胎发育,决定妊娠建立和胚胎的死亡(即终止妊娠,或重新使母牛进入下一次发情周期)。大量研究表明,哺乳动物植入前胚胎表达多种生长因子及受体,通过自分泌、旁分泌或内分泌对胚胎本身的发育和着床进行调控,如集落刺激因子CSF-1(Colony-stimulating factor 1)、转化生长因子TGF- $\alpha$ (Transforming growth factor- $\alpha$ )等能通过增加囊胚的细胞数量或抑制细胞凋亡来促进胚胎发育<sup>[3,4]</sup>。而在胚胎发育的不同阶段,各个因子和其受体之间的相互协调作用使妊娠得以维持,某种因子的缺失或增加都会对胚胎的发育造成一定程度的影响。总之,牛早期胚胎的发育是各种生长因子和细胞因子相互协调作用的结果,然而目前各生长因子和细胞因子的协调作用机制还不完全清楚。

随着牛基因组测序工作的完成,相应的针对于牛基因组表达谱芯片平台相继建立起来,这些都为我们更好地研究牛的疾病抗性、肉奶产量、繁殖等生产性能提供了有利的条件<sup>[5]</sup>。尤其近些年来,基于基因芯片技术关于牛早期胚胎发育的研究越来越多,而对应的芯片数据也相继在公共数据库中公布出来。因此,本文利用公共数据库中关于牛早期胚胎发育过程的基因表达谱芯片数据,研究这一动态生理过程的分子调控机制,可使我们从基因组层面上更好的分析影响早期胚胎发育的作用因子及其调控规律,从而为揭示EED产生的机理提供更加有价值的分子生物学信息。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料的收集

我们从NCBI中的GEO(Gene Expression Omnibus)数据库搜索并获得与胚胎早期发育相关的基因芯片数据,系列号为GSE18290,从中选取关于牛

的早期胚胎发育的芯片样本数据16个(样本号为GSM456627~GSM456642),分别包含从卵母细胞期(Oocyte)、受精卵期(1 cell stage)、2-细胞期(2 cell stage)、4-细胞期(4 cell stage)、8-细胞期(8 cell stage)、16-细胞期(16 cell stage)、桑葚胚(Morula stage)、囊胚期(Blastocyst)这8个细胞发育时期的样本,重复数都为2,其芯片平台为Affymetrix公司的牛全基因组表达谱芯片Bovine Genome Array(总共包含24128个探针,以下为方便起见,将探针作为基因)。

### 1.2 方法

首先,运用Robust Multichip Averaging (RMA)算法结合软件包Bioconductor & R 2.10.0对所选取的16个样本数据进行背景校正和标准化操作<sup>[6,7]</sup>。显著性差异表达基因分析采用单因素方差分析法结合FDR(False Discovery Rate)值及Benjamini-Hochberg多重检验法进行统计分析<sup>[8]</sup>,选取FDR阈值为0.05。分别采用层级聚类法和K均值聚类法(K值设定为6)对样本和差异显著性基因进行聚类分析。利用DAVID网络数据库工具及KEGG对早期胚胎发育各个阶段所涉及的差异显著性基因进行功能注释和通路分析<sup>[9,10]</sup>,设定显著性水平P阈值为0.01。

## 2 结果与分析

### 2.1 显著性差异表达基因分析

结果显示,显著性差异表达基因总数为5 594个。为了进一步确定相邻两个发育阶段表达量改变显著的基因个数,我们又设定了倍数改变值FC(Fold change)阈值为2,得到在每个发育阶段显著上调和下调的基因个数,如表1所示。

### 2.2 聚类分析

为了研究早期发育各个阶段的基因表达模式,以上述显著性分析所得5 594个基因为基础,运用层级聚类法对样本进行聚类分析,结果如图1所示。

牛的早期胚胎发育过程的8个时期大致分为3大类:第一类包含卵母细胞期、受精卵期、2-细胞期、4-细胞期、8-细胞期;第二类仅有16-细胞期;第三类包含桑葚胚期、囊胚。相同类别中的发育时期基因表达模式相似,而不同类别间的基因表达模式差异较大。

表 1 每个发育阶段的显著性差异表达基因数

基因	发育阶段						
	卵母细胞 Vs	受精卵 Vs 2-	2-细胞 Vs 4-	4-细胞 Vs 8-	8-细胞 Vs	16-细胞 Vs	桑葚胚 Vs
	受精卵	细胞	细胞	细胞	16-细胞	桑葚胚	囊胚
上调基因	575	901	358	664	1 236	998	383
下调基因	675	393	543	652	1 525	1 538	697
总数	1 250	1 294	901	1 316	2 761	2 536	1 080

注: Vs 表示“相对于”,如“卵母细胞 Vs 受精卵”表示卵母细胞期相对于受精卵期的表达量发生显著性改变的基因,包括上调基因和下调基因。

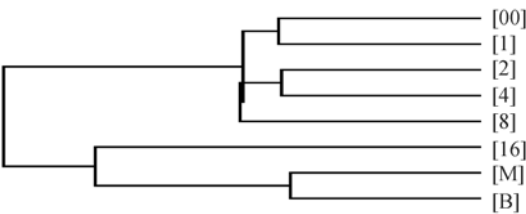


图 1 早期胚胎发育各个阶段的聚类分析  
[00]、[1]、[2]、[4]、[8]、[16]、[M]、[B]分别表示卵母细胞期、受精卵期、2-细胞期、4-细胞期、8-细胞期、16-细胞期、桑葚胚期、囊胚。

同时,为了研究鉴别出的差异显著性基因在各个时期的表达模式,我们运用 K 均值聚类法对上述显著性分析所得 5 594 个基因进行聚类分析,选取 K 值为 6,得到 6 类基因聚类,基因表达模式如图 2 所示。

其中,第一聚类表示从卵母细胞期到 2-细胞期基因表达量逐渐增加,在 2-细胞期、4-细胞期和 8-细胞期达到高峰,随后逐渐降低,该类别中所包含的基因数为 1 765 个;第二聚类则与第一聚类相反,从卵母细胞期到 2-细胞期基因表达量逐渐降低,在 2-细胞期、4-细胞期和 8-细胞期达到低峰,随后逐渐增加,该类别中所包含的基因数为 1 271 个;第三聚类表示基因在 8-细胞期被激活,而在 16-细胞期达到高峰值,随后逐渐降低,该类别中所包含的基因数为 765 个;第四聚类表示基因表达量从 8-细胞期开始降低,在 16-细胞期达到低峰值,随后保持低值不变,基因数为 615 个;第五聚类与第四类相反,表示基因表达量从 8-细胞期开始增加,在 16-细胞期达到高峰值,随后保持峰值不变,基因数为 603 个;第六聚类表示基因表达量从受精卵期开始降低,在 16-细胞期达到低峰值,随后保持低峰值不变,基因数为 575 个。每个聚类所包含的基因信息(包含探针号及其对应的基因名和全名)如附表 1 所示。

2.3 功能注释及通路分析

通过通路分析鉴定出了每个阶段显著性参与的

相关通路,结果如表 2 所示。在牛早期胚胎发育过程中一些重要的通路参与调节作用:从卵母细胞期到受精卵期以及从 2 细胞期到 4 细胞期阶段主要是核糖体(Ribosome)通路;从受精卵期到 2 细胞期阶段除了核糖体通路,还有氧化磷酸化(Oxidative phosphorylation)通路、蛋白酶体(Proteasome)通路以及脂肪酸代谢(Fatty acid metabolism)通路;从 4 细胞期到 16 细胞期阶段还是核糖体通路、氧化磷酸化通路以及蛋白酶体通路参与调节;而从 16-细胞期到桑葚胚期这个阶段则涉及到神经变性疾病(Neurodegenerative Diseases)相关通路;最后,从桑葚胚时期到囊胚阶段则无显著性参与的通路。通过功能注释则发现在整个早期胚胎发育过程中参与的生物学进程主要包括生物合成作用(Biosynthetic process)、细胞代谢作用(Cellular metabolic process)、细胞发育作用(Cellular developmental process)、翻译(Translation)等;而在发育后期则涉及到压力反应(Response to stress)、生物学刺激反应(Response to biotic stimulus)和死亡(Death)等生物学进程。

3 讨论

针对于整个胚胎早期发育过程的全基因组表达模式的分析,我们可以得到两个主要的转变阶段,即从 8-细胞期到 16-细胞期以及从 16-细胞期到桑葚胚期,它们将牛早期胚胎发育过程划分为 3 个主要的阶段:卵母细胞期、受精卵期、2-细胞期、4-细胞期、8-细胞期为第一阶段;16-细胞期为第二阶段;桑葚胚期和囊胚为第三阶段。接下来通过两两时期的比较,同样可以发现 8-细胞期相对于 16-细胞期的表达量发生显著性改变的基因数为 2761,16-细胞期相对于桑葚胚期的表达量发生显著性改变的基因数为 2 536,显著性差异表达基因数的增多也从一定程度

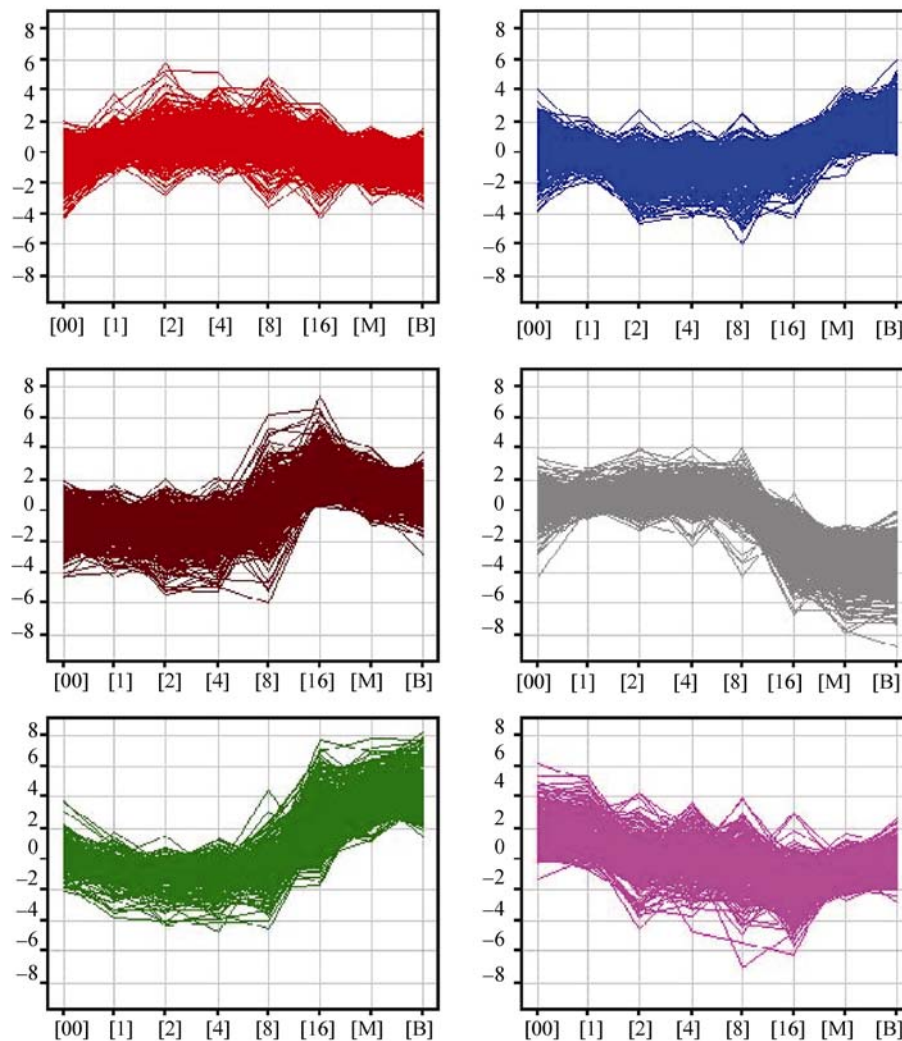


图 2 差异显著性基因在各个时期表达模式的聚类分析

不同颜色的表达量曲线分别表示 6 种不同的聚类模式, 其中红色表示第 1 聚类, 蓝色表示第 2 聚类, 棕色表示第 3 聚类, 灰色表示第 4 聚类, 绿色表示第 5 聚类, 粉色表示第 6 聚类。横坐标表示各个发育时期, [00]、[1]、[2]、[4]、[8]、[16]、[M]、[B] 分别表示卵母细胞期、受精卵期、2-细胞期、4-细胞期、8-细胞期、16-细胞期、桑葚胚期、囊胚, 纵坐标表示基因表达量的 log 值。

上证明了这两个转变阶段的重要性。这一结果与 Hamatani 等<sup>[11]</sup>研究小鼠早起胚胎发育过程时发现的 3 个主要阶段具有一定的相似性, 但在具体的划分阶段上却存在着差异, 其主要的转变阶段包括从受精卵期到 2-细胞期和从 4-细胞期到 8-细胞期, 以及由此得到的合子基因组激活 ZGA(Zygotic genome activation)和着床前基因组激活 MGA(Mid-preimplantation gene activation)。

而通过功能注释和通路分析表明, 在整个早期胚胎发育过程中, 一些主要的生物学进程包括生物合成作用、细胞代谢作用、细胞发育作用、翻译以及核糖体通路等都显著参与, 这些都被证实是细

胞形成和分化以及组织形成所必须的, 也是胚胎的形成和发育过程涉及到的重要的分子调控作用<sup>[12~14]</sup>。特别要指出的是, 在发育后期(桑葚胚期和囊胚), 压力反应、生物学刺激反应和死亡等生物学进程作用以及神经变性疾病通路的参与, 表明这一阶段与早期胚胎死亡存在着显著的相关; 而所涉及的基因 *BAD*(BCL2-associated agonist of cell death)、*MAPT*(Microtubule-associated protein tau)、*PSEN1*(Presenilin 1)等可作为早期胚胎死亡药物治疗的靶基因。

通过 K 均值聚类法对 5 594 个差显基因进行聚类分析, 我们可以得到 6 种不同的单个基因时间序列表达模式。概括起来, 大致可以分为一下三种模式:

表 2 每个发育阶段的显著参与的通路

发育阶段	通路名称	P 值
Oo Vs 1	bta03010:Ribosome	7.11E-06
1 Vs 2	bta03010:Ribosome	6.03E-06
	bta00190:Oxidative phosphorylation	1.74E-03
	bta00071:Fatty acid metabolism	5.50E-03
	bta03050:Proteasome	6.96E-03
2 Vs 4	bta03010:Ribosome	8.81E-05
4 Vs 8	bta00190:Oxidative phosphorylation	1.53E-06
	bta03050:Proteasome	8.29E-04
	bta03010:Ribosome	2.11E-03
8 Vs 16	bta03010:Ribosome	2.10E-13
	bta00190:Oxidative phosphorylation	1.87E-07
	bta03050:Proteasome	7.43E-04
16 Vs M	bta00190:Oxidative phosphorylation	2.61E-07
	bta01510:Neurodegenerative Diseases	6.23E-04
M Vs B	None	None

注: Oo Vs 1 表示从卵母细胞期到受精卵期阶段, 1 Vs 2 表示从受精卵期到 2-细胞期阶段, 2 Vs 4 表示从 2-细胞期到 4-细胞期阶段, 4 Vs 8 表示从 4-细胞期到 8-细胞期阶段, 8 Vs 16 表示从 8-细胞期到 16-细胞期阶段, 16 Vs M 表示从 16-细胞期到桑葚胚期阶段, M Vs B 表示从桑葚胚期到囊胚阶段。P 值表示参与通路的显著性水平。

其中第一和第四类别主要是由于母体效应(Maternal effect)的影响, 基因从卵母细胞期到受精卵期表达量显著增加, 而在 8-细胞期后表达量逐渐降低; 第二, 第五和第六类别主要是由于 MGA 作用, 相关基因在 8-细胞期或 16-细胞期被激活, 表达量逐渐上升; 而第三类别仅仅在 8-细胞期被激活, 表达量在 16-细胞期达到峰值后逐渐降低。后两种模式也在一定程度上说明了 8-细胞期和 16-细胞期在牛的整个早期胚胎发育过程的重要性。并且, 前两种模式在小鼠和人的研究中都有相关的报道<sup>[11, 13]</sup>, 而第三种模式则是在牛早期胚胎发育过程的调节机制中所特有的。

有研究表明, 小鼠正常早期胚胎在着床前有着特殊的基因组甲基化变化模式, 即在小鼠合子中, 父本基因组在受精不久就发生快速的主动去甲基化过程, 而母本基因组则在随后的卵裂过程中经历逐渐依赖于 DNA 复制的被动去甲基化<sup>[15~17]</sup>。这种 DNA 去甲基化变化可能是造成早期胚胎发育过程波动型基因组表达模式以至于导致早期胚胎不正常发育的主要原因之一<sup>[18, 19]</sup>。同样, 针对上述分析所

得到的牛早期胚胎发育过程中 3 种不同的基因组表达模式, 我们可以认为 DNA 甲基化等表观遗传修饰在其中发挥着重要的作用, 当然这还需要得到进一步的实验验证; 另外, 我们也可以从基因组 DNA 甲基化模式角度来研究影响牛早期胚胎死亡的真正成因。

## 附录:

附表 1 见文章电子版([www.chinagene.cn](http://www.chinagene.cn))。

## 参考文献(References):

- [1] Edwards RG. Aspects of the molecular regulation of early mammalian development. *Reprod Biomed Online*, 2003, 6(1): 97-113.
- [2] 田允波. 母牛胚胎死亡及预防. *黄牛杂志*, 1995, 21(4): 202-204.
- [3] Brison DR, Schultz RM. Apoptosis during mouse blastocyst formation: evidence for a role for survival factors including transforming growth factor alpha. *Biol Reprod*, 1997, 56(5): 1088-1096.
- [4] Cecchini MG, Hofstetter W, Halasy J, Wetterwald A, Felix R. Role of CSF-1 in bone and bone marrow development. *Mol Reprod Dev*, 1997, 46(1): 75-83.
- [5] Elsik CG, Tellam RL, Worley KC, Gibbs RA, Muzny DM, Weinstock GM, Adelson DL, Eichler EE, Elnitski L, Guigo R, Hamernik DL, Kappes SM, Lewin HA, Lynn DJ, Nicholas FW, Reymond A, Rijnkels M, Skow LC, Zdobnov EM, Schook L, Womack J, Alioto T, Antonarakis SE, Astashyn A, Chapple CE, Chen HC, Chrast J, Camara F, Ermolaeva O, Henrichsen CN, Hlavina W, Kapustin Y, Kiryutin B, Kitts P, Kokocinski F, Landrum M, Maglott D, Pruitt K, Sapozhnikov V, Searle SM, Solovyev V, Souvorov A, Ucla C, Wyss C, Anzola JM, Gerlach D, Elhaik E, Graur D, Reese JT, Edgar RC, McEwan JC, Payne GM, Raison JM, Junier T, Kriventseva EV, Eyraas E, Plass M, Donthu R, Larkin DM, Reecy J, Yang MQ, Chen L, Cheng Z, Chitko-McKown CG, Liu GE, Matukumalli LK, Song J, Zhu B, Bradley DG, Brinkman FS, Lau LP, Whiteside MD, Walker A, Wheeler TT, Casey T, German JB, Lemay DG, Maqbool NJ, Molenaar AJ, Seo S, Stothard P, Baldwin CL, Baxter R, Brinkmeyer-Langford CL, Brown WC, Childers CP, Connelley T, Ellis SA, Fritz K, Glass EJ, Herzig CT, Iivanainen A, Lahmers KK, Bennett AK, Dickens CM, Gilbert JG, Hagen DE, Salih H, Aerts J, Caetano AR, Dalrymple B, Garcia JF, Gill CA, Hiendleder SG, Memili E, Spurlock D, Williams JL, Alexander L, Brownstein MJ, Guan L, Holt RA, Jones SJ, Marra MA, Moore R, Moore SS, Roberts A, Taniguchi M, Waterman RC, Chacko J,

- Chandrabose MM, Cree A, Dao MD, Dinh HH, Gabisi RA, Hines S, Hume J, Jhangiani SN, Joshi V, Kovar CL, Lewis LR, Liu YS, Lopez J, Morgan MB, Nguyen NB, Okwuonu GO, Ruiz SJ, Santibanez J, Wright RA, Buhay C, Ding Y, Dugan-Rocha S, Hernandez J, Holder M, Sabo A, Egan A, Goodell J, Wilczek-Boney K, Fowler GR, Hitchens ME, Lozado RJ, Moen C, Steffen D, Warren JT, Zhang J, Chiu R, Schein JE, Durbin KJ, Havlak P, Jiang H, Liu Y, Qin X, Ren Y, Shen Y, Song H, Bell SN, Davis C, Johnson AJ, Lee S, Nazareth LV, Patel BM, Pu LL, Vattathil S, Williams RL Jr, Curry S, Hamilton C, Sodergren E, Wheeler DA, Barris W, Bennett GL, Eggen A, Green RD, Harhay GP, Hobbs M, Jann O, Keele JW, Kent MP, Lien S, McKay SD, McWilliam S, Ratnakumar A, Schnabel RD, Smith T, Snelling WM, Sonstegard TS, Stone RT, Sugimoto Y, Takasuga A, Taylor JF, Van Tassell CP, Macneil MD, Abatepaulo AR, Abbey CA, Ahola V, Almeida IG, Amadio AF, Anatriello E, Bahadue SM, Biase FH, Boldt CR, Carroll JA, Carvalho WA, Cervellati EP, Chacko E, Chapin JE, Cheng Y, Choi J, Colley AJ, De Campos TA, De Donato M, Santos IK, De Oliveira CJ, Deobald H, Devinoy E, Donohue KE, Dovc P, Eberlein A, Fitzsimmons CJ, Franzin AM, Garcia GR, Genini S, Gladney CJ, Grant JR, Greaser ML, Green JA, Hadsell DL, Hakimov HA, Hargren R, Harrow JL, Hart EA, Hastings N, Hernandez M, Hu ZL, Ingham A, Iso-Touru T, Jamis C, Jensen K, Kapeitis D, Kerr T, Khalil SS, Khatib H, Kolbehdari D, Kumar CG, Kumar D, Leach R, Lee JC, Li C, Logan KM, Malinverni R, Marques E, Martin WF, Martins NF, Maruyama SR, Mazza R, McLean KL, Medrano JF, Moreno BT, More DD, Muntean CT, Nandakumar HP, Nogueira MF, Olsaker I, Pant SD, Panzitta F, Pastor RC, Poli MA, Poslusny N, Rachagani S, Ranganathan S, Razpet A, Riggs PK, Rincon G, Rodriguez-Ororio N, Rodriguez-Zas SL, Romero NE, Rosenwald A, Sando L, Schmutz SM, Shen L, Sherman L, Southey BR, Lutzow YS, Sweedler JV, Tammen I, Telugu BP, Urbanski JM, Utsunomiya YT, Verschoor CP, Waardenberg AJ, Wang Z, Ward R, Weikard R, Welsh TH Jr, White SN, Wilming LG, Wunderlich KR, Yang J, Zhao FQ. The genome sequence of taurine cattle: a window to ruminant biology and evolution. *Science*, 2009, 324(5926): 522–528.
- [6] Gautier L, Cope L, Bolstad BM, Irizarry RA. Affy-analysis of Affymetrix GeneChip data at the probe level. *Bioinformatics*, 2004, 20(3): 307–315.
- [7] Team RDC. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, 2009, ISBN 3-900051-07-0.
- [8] Park T, Yi SG, Lee S, Lee SY, Yoo DH, Ahn JI, Lee YS. Statistical tests for identifying differentially expressed genes in time-course microarray experiments. *Bioinformatics*, 2003, 19(6): 694–703.
- [9] Huang da W, Sherman BT, Lempicki RA. Systematic and integrative analysis of large gene lists using DAVID bioinformatics resources. *Nat Protoc*, 2009, 4(1): 44–57.
- [10] Dennis G Jr, Sherman BT, Hosack DA, Yang J, Gao W, Lane HC, Lempicki RA. DAVID: Database for annotation, visualization, and integrated discovery. *Genome Biol*, 2003, 4(5): P3.
- [11] Hamatani T, Carter MG, Sharov AA, Ko MS. Dynamics of global gene expression changes during mouse preimplantation development. *Dev Cell*, 2004, 6(1): 117–131.
- [12] Sharov AA, Piao Y, Matoba R, Dudekula DB, Qian Y, VanBuren V, Falco G, Martin PR, Stagg CA, Bassey UC, Wang Y, Carter MG, Hamatani T, Aiba K, Akutsu H, Sharova L, Tanaka TS, Kimber WL, Yoshikawa T, Jaradat SA, Pantano S, Nagaraja R, Boheler KR, Taub D, Hodes RJ, Longo DL, Schlessinger D, Keller J, Klotz E, Kelsoe G, Umezawa A, Vescovi AL, Rossant J, Kunath T, Hogan BL, Curci A, D'Urso M, Kelso J, Hide W, Ko MS. Transcriptome analysis of mouse stem cells and early embryos. *PLoS Biol*, 2003, 1(3): E74.
- [13] Su AI, Wiltshire T, Batalov S, Lapp H, Ching KA, Block D, Zhang J, Soden R, Hayakawa M, Kreiman G, Cooke MP, Walker JR, Hogenesch JB. A gene atlas of the mouse and human protein-encoding transcriptomes. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101(16): 6062–6067.
- [14] Wang QT, Piotrowska K, Ciemerych MA, Milenkovic L, Scott MP, Davis RW, Zernicka-Goetz M. A genome-wide study of gene activity reveals developmental signaling pathways in the preimplantation mouse embryo. *Dev Cell*, 2004, 6(1): 133–144.
- [15] Mayer W, Niveleau A, Walter J, Fundele R, Haaf T. Demethylation of the zygotic paternal genome. *Nature*, 2000, 403(6769): 501–502.
- [16] Oswald J, Engemann S, Lane N, Mayer W, Olek A, Fundele R, Dean W, Reik W, Walter J. Active demethylation of the paternal genome in the mouse zygote. *Curr Biol*, 2000, 10(8): 475–478.
- [17] Rougier N, Bourc'his D, Gomes DM, Niveleau A, Plachot M, Paldi A, Viegas-Pequignot E. Chromosome methylation patterns during mammalian preimplantation development. *Genes Dev*, 1998, 12(14): 2108–2113.
- [18] Li E, Bestor TH, Jaenisch R. Targeted mutation of the DNA methyltransferase gene results in embryonic lethality. *Cell*, 1992, 69(6): 915–926.
- [19] Okano M, Bell DW, Haber DA, Li E. DNA methyltransferases Dnmt3a and Dnmt3b are essential for de novo methylation and mammalian development. *Cell*, 1999, 99(3): 247–257.