DOI：10.13718/j.cnki.xdzk.2022.03.008

H3K9me3 对猪卵母细胞体外成熟和早期胚胎发育的影响

田钗，　张彩玉，　杨婷，　王婷，
黄时海，　石德顺，　李湘萍

广西大学 亚热带农业生物资源保护与利用国家重点实验室，南宁 530004

摘要： H3K9 的异常甲基化被认为是影响胚胎发育障碍的主要表观遗传修饰之一. 毛壳素是 H3K9me3 的特异性抑制剂，能抑制其甲基转移酶 *SUV*39*H*1/2 和 *G*9*A* 的活性，下调 H3K9me3 水平. 本实验通过在猪卵母细胞体外成熟过程中添加毛壳素，探究调控 H3K9me3 对猪卵母细胞体外成熟和早期胚胎发育的影响. 在 0～22 h 用不同浓度毛壳素(0 nmol/L,2 nmol/L,5 nmol/L,10 nmol/L)处理猪卵母细胞，与未处理组相比，发现 2 nmol/L 毛壳素可显著提高卵母细胞的第一极体排出率(81.5% VS 72.62%)，孤雌胚胎 4-细胞率(74.43% VS 68.69%)和囊胚率(40.43% VS 27.48%)($p<0.05$). qRT-PCR 结果表明，与未处理组相比，2 nmol/L 毛壳素显著降低卵母细胞中 *SUV*39*H*1/2 和 *G*9*A* 的表达，显著提高囊胚中 *Nanog*,*Oct*4,*CDX*2 的表达($p<0.05$). 免疫荧光分析发现，与未处理组相比，2 nmol/L 毛壳素显著降低囊胚中 H3K9me3 的表达($p<0.05$)，H3K9me3 在 GV 期卵母细胞中有表达，在 MI,MII 期未检测到表达. 在 0～44 h 用不同浓度毛壳素(0 nmol/L,2 nmol/L,5 nmol/L,10 nmol/L)处理猪卵母细胞，未处理组与各处理组的卵裂率、4-细胞率、囊胚率及囊胚细胞总数均无差异不具有统计学意义($p>0.05$). 5 nmol/L 处理组的第一极体排出率显著提高(87.39% VS 71.95%，$p<0.05$). 以上结果表明，毛壳素可通过降低卵母细胞中 *SUV*39*H*1/2 和 *G*9*A* 的表达，上调囊胚中多能性基因 *Nanog*,*Oct*4,*CDX*2 的表达，调控 H3K9me3 的水平，从而促进猪卵母细胞体外成熟和早期胚胎发育.

关　键　词： *SUV*39*H*1/2；H3K9me3；胚胎发育；卵母细胞成熟
中图分类号：S814.8　　**文献标志码：A**
文 章 编 号： 1673-9868(2022)03-0068-07
开放科学(资源服务)标识码(OSID)：

Effects of H3K9me3 *in vitro* on Maturation of Porcine Oocytes and Early Embryo Development

TIAN Chai，　ZHANG Caiyu，　YANG Ting，　WANG Ting，
HUANG Shihai，　SHI Deshun，　LI Xiangping

State Key Laboratory for Conservation and Utilization of Subtropical Agro-Bioresources, Guangxi University, Nanning 530004, China

Abstract: Abnormal methylation of H3K9 is considered to be one of the main epigenetic modifications

收稿日期：2021-07-17
基金项目：国家自然科学基金项目(31560632，32060754)；广西自然科学基金项目(2020GXNSFAA238039).
作者简介：田钗，硕士研究生，主要从事动物胚胎工程研究.

affecting embryonic developmental disorders. Chaetocin is a specific inhibitor of H3K9me3 that suppresses the activity of its methyltransferases, *SUV*39*H*1/2 and *G*9*A*, and down-regulate thelevel of H3K9me3. This experiment explored the effects of regulating H3K9me3 on *in vitro* maturation and early embryonic development by adding chaetocin during the *in vitro* maturation of porcine oocytes. Firstly, porcine oocytes were treated with different concentrations of chaetocin(0 nmol/L, 2 nmol/L, 5 nmol/L, 10 nmol/L) from 0－22 h. 2 nmol/L of chaetocin was found to significantly increase the discharge rate of first polar (81.5% VS 72.62%), 4-cell rate (74.43% VS 68.69%) and blastocyst rate(40.43% VS 27.48%) ($p<0.05$) compared to untreated group. qRT-PCR results showed that 2 nmol/L chaetocin significantly reduced expressionof *SUV*39*H*1/2 and *G*9*A* in oocytes and significantly improvedexpressionof *Nanog*, *Oct*4, *CDX*2 compared to the blastocyst ($p<0.05$). Immunofluorescence assays found that 2 nmol/L chaetocin significantly reduced the expression of H3K9me3 in the blastocyst compared to the untreated group ($p<0.05$). H3K9me3 was expressed in GV oocytes with no significant differences ($p>0.05$) that of control, but it was not detected in MI and MII phases. Porcine oocytes were treated with different concentrations of chaetocin (0 nmol/L, 2 nmol/L, 5 nmol/L, 10 nmol/L) from 0－44 h, but no significant differences were found in cleavage rate, 4-cell rate, blastocyst rate and total cystocytescompared to the untreated group ($p>0.05$). The first pole discharge rate increased significantly in the 5 nmol/L treatment group (87.39% VS 71.95%, $p<0.05$). The above results show that chaetocin can regulate the level of H3K9me3 by reducing the expression of *SUV*39*H*1/2 and *G*9*A* in oocytes, upregulating the expression of the multipotent gene *Nanog*, *Oct*4, *CDX*2 in blastocyst to regulate the level of H3K9me3, thereby promoting *in vitro* maturation and early embryo development of porcine.

Key words: *SUV*39*H*1/2; H3K9me3; embryonic development; oocyte maturation

组蛋白修饰是最重要的表观遗传修饰标记之一，在控制基因表达和细胞谱系规范中起到关键作用[1-3]. 已有研究表明，组蛋白甲基化对早期胚胎发育和胚胎干细胞多能性的维持具有重要作用[4]. 组蛋白甲基化发生在组蛋白的赖氨酸和精氨酸残基上，作用位点在其侧链.

在 N 原子上，常见位点有 H3K4me3，H3K9me3 和 H3K27me3[5-6]. 其中，组蛋白 H3 第 9 位赖氨酸三甲基化(Histone H3K9 trimethylation，H3K9me3)与维持异染色质稳定和沉默、X 染色体失活、印记相关基因抑制及细胞特异性的鉴定有关[7]，也被认为是胚胎发育的关键障碍[8].

H3K9me3 被证明是小鼠[9-10]、人类[11]和牛[12]重新编程中关键的一个表观遗传调节因子. 在小鼠 GV 卵母细胞中，H3K9me3 的表达与组蛋白甲基转移酶的活性密切相关. BHPF(Bateosi High Pass Filter)处理通过影响细胞骨架结构、线粒体功能、氧化应激、细胞凋亡提高了 H3K9me3 的表达，从而降低了小鼠卵母细胞的成熟效率和卵母细胞的质量[13]. 大剂量真菌毒素导致小鼠卵母细胞 H3K9me3 水平升高，这可能是导致卵母细胞发育能力下降的原因之一[14]. 以上研究表明，适当降低 H3K9me3 的表达有利于卵母细胞体外成熟和早期胚胎发育.

H3K9me3 在基因表达调控和卵母细胞生长中起重要作用[15]，目前其在体外成熟猪卵母细胞和孤雌胚胎中的表达模式还鲜有报道. 毛壳素作为 *SUV*39 亚家族甲基转移酶的抑制剂，能够特异性抑制组蛋白甲基转移酶 *SUV*39*H*1/2 和 *G*9*A* 的活性，通过竞争性结合 *SUV*39*H*1/2[16]，与关键残基发生反应，从而调控 H3K9me3 水平，以此增强表观遗传重编程效率[17]. 因此，本实验通过在猪卵母细胞体外成熟过程中添加毛壳素，调控卵母细胞 H3K9me3 及其相关基因的表达. 研究结果有助于了解体外成熟卵母细胞和胚胎

中 H3K9me3 表达的动态变化，并为改善猪卵母细胞成熟质量，提高胚胎发育效率奠定基础.

1 材料与方法

1.1 材料和试剂

本实验所用卵巢均来源于广西南宁市屠宰场，实验所用胚胎为孤雌激活胚胎.

1.2 猪卵巢的采集及体外成熟培养

将从屠宰场取得的卵巢置于 37 ℃生理盐水中，用生理盐水清洗 3 遍，并用注射器采集卵巢表面直径约 3～10 mm 的卵泡，挑选形态完好、胞质均匀，周围带有 3 层以上致密卵丘细胞的卵丘-卵母胞复合体(cumulus-oocyte complexes，COCs)，用洗卵液清净后将 30～50 个卵母细胞放入用矿物油覆盖的一个胚胎培养液(PM)微滴中，每滴为 150 μL 培养液，[0～22) h 将卵母细胞放入含有激素的培养液中进行培养，之后将卵母细胞移入另一个不含激素的培养液中继续培养[22～44] h. 实验组在对照组的基础上添加了不同浓度的毛壳素.

1.3 猪卵母细胞的孤雌激活

实验前先打开热台、融合仪，并安装激活盘. 用提前平衡的电激活液清洗 3 遍融合槽，然后把新的电激活液放置于融合槽中. 将卵母细胞在融合液中清洗 3 遍后放于激活槽中进行激活. 将激活过的卵母细胞移入平衡好的胚胎培养液培养 15 min，然后移入 35 μL 的胚胎培养液微滴中进行培养. 24 h 统计卵裂率，48 h 统计 4-细胞率，7 d 统计囊胚率.

1.4 囊胚细胞总数的鉴定

将收集的猪孤雌囊胚放入 4%的多聚甲醛固定液中固定 24 h，然后放入 10 μg/mL 细胞核染料(Hoechst)中，避光染色 10 min，然后用磷酸盐缓冲液(PBS)清洗 3 遍，每次 5 min，染好的囊胚移入载玻片的抗淬灭剂中，用凡士林封片，在荧光显微镜下观察并做好统计.

1.5 细胞免疫荧光

收集不同时期的卵母细胞和孤雌囊胚放入 4%多聚甲醛中 4 ℃固定 24 h. 固定之后，室温条件下放入阻断液中阻断 3 次，每次 5 min，然后放入 1% Triton X-100 中，透化 30 min，再用阻断液阻断 2 次，每次 5 min，然后用 1%牛血清蛋白溶液(BSA)进行非特异性位点封闭 1～2 h，封闭之后用 T-BSA-PBS 清洗 3 次，每次 5 min，把处理好的样品放入 H3K9me3 的一抗 4 ℃过夜. 第 2 d 把样品放入培养箱孵育 30 min，然后用 T-BSA-PBS 清洗 3 遍，每次 5 min，清洗好之后把样品放入装有二抗的 EP 管中，避光室温孵育 1.5 h，然后用清洗液清洗 3 遍，每次 5 min，最后用 10 μg/mL Hoechst 33342 复染 10 min，用清洗液清洗两遍放入滴有抗淬灭剂的玻片上，用凡士林封片镜检，记录实验数据.

1.6 反转录和 qRT-PCR

收集不同时期的猪卵母细胞和孤雌囊胚，用 PBS+PVA 清洗 3 遍，洗去样品所带的培养液和血清等物质后将样品放入装有细胞裂解液的管中. 微量反转录所有步骤均在冰上操作：裂解，将样品放入聚合酶链式反应(PCR)仪中 4 ℃裂解 15 min；消化，裂解后每管加入 1 μL DNase Ⅰ和 1.3 μL 10×DNA buffer，瞬时离心后放入 PCR 仪中 37 ℃消化 40 min；终止，消化完每管加入 1 μL EDTA，2 μM Random Primer，1 μL mixture deoxynucleotides (dNTPs)，瞬时离心后放入 PCR 仪中 65 ℃10 min；反转，终止后依次加入 2 μL DTT，4 μL 5×First-Strand Buffer，0.5 μL RNase Inhibitor(RRI)，0.25 μL SuperScriptTMⅡ Reverse Transcriptase (SSⅡ)，瞬时离心，进行反转录，其条件是 25 ℃ 10 min，42 ℃ 90 min，95 ℃ 10 min，4 ℃停止. 将反转录得到的样品存放于－20 ℃备用.

将微量反转录得到的产物作为模板，进行 qRT-PCR 检测，观察目的基因的表达情况．反应体系按说明书进行．

1.7　结果统计与分析

本实验结果均使用 SPSS 22.0 软件进行分析，早期胚胎发育率先通过反正弦变化后再进行分析．每个实验重复至少 3 次，每次重复实验中至少随机挑选 10 个以上卵母细胞进行实验．$p<0.05$ 表示差异具有统计学意义．

2　结果与分析

2.1　[0～22) h 毛壳素处理对猪卵母细胞体外成熟和早期胚胎发育的影响

[0～22) h 采用不同浓度毛壳素处理，发现 2 nmol/L 处理组的卵母细胞第一极体排出率显著高于未处理组、5 nmol/L 组和 10 nmol/L 组；4-细胞率显著高于未处理组、5 nmol/L 组和 10 nmol/L 组；2 nmol/L 处理组的囊胚率显著高于未处理组和 10 nmol/L 组($p<0.05$)；2 nmol/L 处理组的囊胚细胞总数显著高于 5 nmol/L 组和 10 nmol/L 组($p<0.05$)，与未处理组之间差异不具有统计学意义($p>0.05$)(表 1)．

表 1　毛壳素处理对猪卵母细胞体外成熟和早期胚胎发育的影响

处理组/(nmol·L^{-1})	卵母细胞总数 $n=4$	第一极体排出率/%	卵裂率/%(≥2-cell)	4-细胞率/%(≥4-cell)	囊胚率/%	囊胚细胞总数
0	132(4)	96(72.73±1.81)a	70(72.92±7.78)a	65(67.71±3.40)a	26(27.08±1.47)a	45.31ab±4.67
2	136(4)	110(80.88±2.22)b	87(79.09±8.24)a	81(73.64±3.46)b	44(40.00±2.72)b	50.66b±2.16
5	140(4)	98(70.00±3.76)a	75(76.53±1.42)a	69(70.41±5.40)a	33(33.67±4.78)ab	39.00a±1.47
10	139(4)	101(72.66±2.18)a	73(72.28±5.57)a	69(68.32±2.40)a	25(24.75±3.57)a	39.59a±1.79

注：表 1 中不同字母代表同列数据差异具有统计学意义($p<0.05$)．

2.2　[22～44] h 毛壳素处理对猪卵母细胞体外成熟和早期胚胎发育的影响

[22～44] h 采用不同浓度毛壳素处理时发现，与未处理组相比，5 nmol/L 毛壳素处理组的第一极体排出率显著提高(87.37% VS 71.91%，$p<0.05$)，各处理组之间的卵裂率、4-细胞率、囊胚率和囊胚细胞总数差异不具有统计学意义($p>0.05$)(表 2)．

表 2　[22～44] h 毛壳素处理对猪卵母细胞体外成熟和早期胚胎发育的影响

处理组/(nmol·L^{-1})	卵母细胞总数 $n=3$	第一极体排出数/%	卵裂率/%(≥2-cell)	4-细胞率/%(≥4-cell)	囊胚率/%	囊胚细胞总数
0	89(3)	64(71.91±2.74)Aa	48(75.00±6.25)a	46(71.88±4.73)a	21(32.81±5.26)a	46.68a±3.65
2	96(3)	75(78.13±3.56)ab	57(76.00±1.09)a	53(70.67±3.40)a	26(34.66±8.45)a	42.80a±4.94
5	95(3)	83(87.37±3.07)Bb	58(69.88±4.84)a	52(62.65±1.39)a	30(36.14±8.59)a	45.17a±6.78
10	99(3)	77(77.78±1.15)a	54(70.13±3.08)a	54(70.13±4.98)a	17(22.08±6.73)a	41.72a±3.18

注：表 2 中不同字母代表同列数据差异具有统计学意义($p<0.05$)．

基于以上实验结果，后续实验均采用体外成熟[0～22) h 添加 2 nmol/L 毛壳素处理方法．

2.3　毛壳素处理对猪卵母细胞和早期胚胎中 H3K9me3 表达的影响

与未处理组相比，H3K9me3 在 GV 期 2 nmol/L 处理组有明显的表达，差异不具有统计学意义($p>0.05$)．随着卵母细胞的成熟进程，H3K9me3 表达逐渐减弱，在 MI 和 MⅡ期卵母细胞中未检测到 H3K9me3 表达．与未处理组相比，2 nmol/L 处理组的囊胚中 H3K9me3 表达显著降低($p<0.05$)(图 1、图 2)．

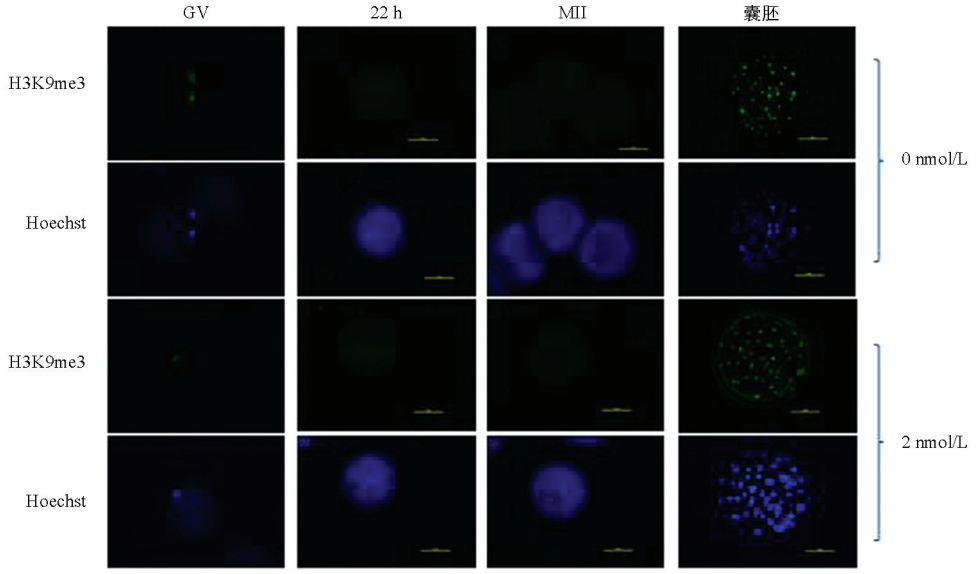
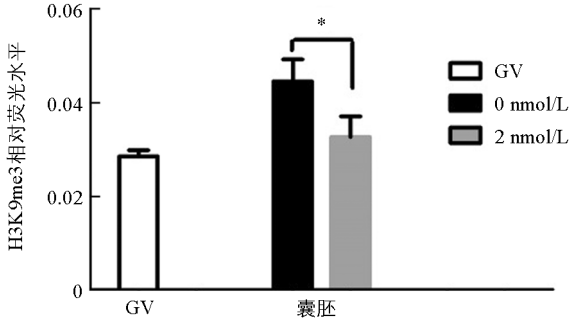


图 1　毛壳素处理对猪卵母细胞和囊胚中 H3K9me3 表达的影响

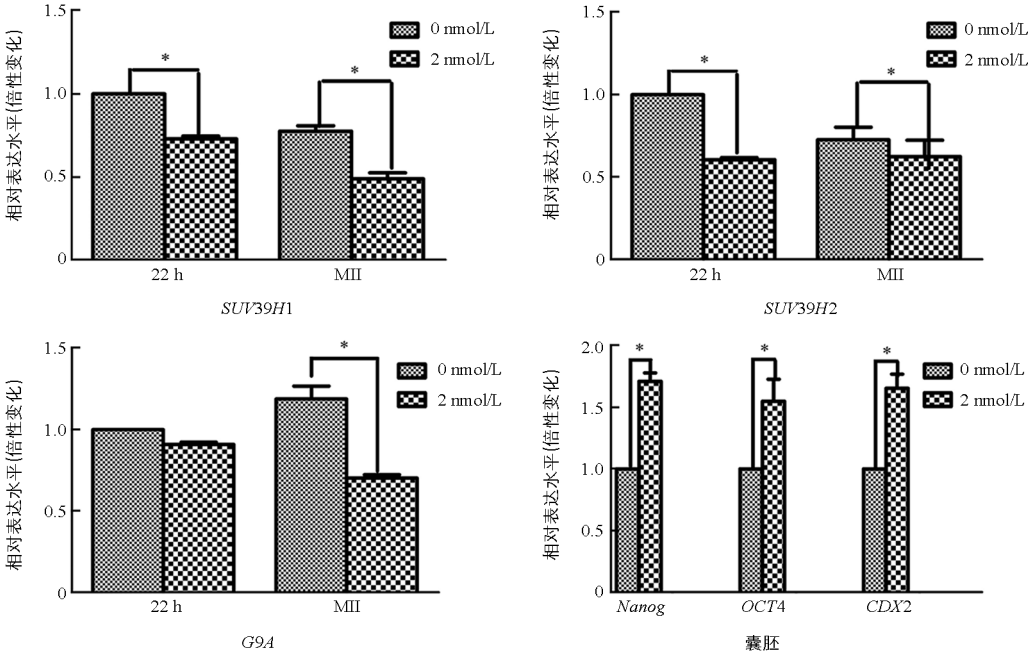
2.4　毛壳素处理对猪卵母细胞和早期胚胎中重要基因表达的影响

与未处理组相比，2 nmol/L 处理组的 MI 期卵母细胞中的 *SUV39H1* 和 *SUV39H2* 表达显著降低($p<0.05$)，两组之间 *G9A* 的表达差异不具有统计学意义($p>0.05$). 与未处理组相比，2 nmol/L 处理组的 MII 期卵母细胞中 *SUV39H1*，*SUV39H2*，*G9A* 表达均显著降低($p<0.05$)；囊胚中 *Nanog*，*Oct4*，*CDX2* 的表达显著提高($p<0.05$)(图 3).



在相同时期各组之间 * 表示差异具有统计学意义($p<0.05$).

图 2　GV 期猪卵母细胞和囊胚中 H3K9me3 的荧光强度分析



在相同时期各组之间 * 表示差异具有统计学意义($p<0.05$).

图 3　不同处理猪卵母细胞和早期胚胎中相关基因的表达

3　讨论与结论

近年来的研究表明，胚胎中高表达的 H3K9me3 是阻碍胚胎发育的关键因素，特别是在合子基因激活(ZGA)过程中[18]. 在 ZGA 期间，卵母细胞中 H3K9me3 的异常变化会阻碍转录激活[19]，且在核移植胚胎重编程抗性区域(RRR)中检测到高水平的 H3K9me3，而体外受精胚胎的 RRR 基因表达正常. 这些 RRRs 区域的特征是富含 *SUV*39*H*1/2 并且缺乏 *DNasr*1，这两点都是异染色质的一般特征[20]. 由于 H3K9 的甲基化与基因的表达抑制密切相关，去除这些表观遗传标记有利于基因的重新激活和胚胎发育. 以往的研究也表明，降低人和小鼠胚胎中 H3K9me3 水平能提高胚胎的发育能力[10]. 因此，适当降低 H3K9me3 的表达有利于卵母细胞体外成熟和早期胚胎的发育.

在本研究中，免疫荧光数据显示 GV 期卵母细胞中 H3K9me3 的表达水平较高，但 MI 期和 MⅡ期卵母细胞中未检测到该蛋白的表达，发育到囊胚阶段又表现出较高的表达水平，这意味着 MII 期卵母细胞中 H3K9me3 的缺失可能正在为通过其他修饰的细胞表观遗传重新编程做准备[21]. H3K9me3 的动态表达说明了其在卵母细胞体外成熟和早期胚胎发育过程中具有重要的调控作用.

本实验通过在猪卵母细胞体外成熟过程中添加毛壳素，观察其是否对猪卵母细胞体外成熟和早期胚胎发育产生影响. 结果发现，与未处理组相比，2 nmol/L 处理组显著提高了卵母细胞的第一极体排出率、4-细胞率和囊胚率. 在本研究中 2 nmol/L 处理组囊胚率增加 12.92%，表明抑制剂只部分纠正了异常的表观遗传修饰. 通过 qRT-PCR 和免疫荧光检测发现，毛壳素处理之后显著降低了卵母细胞中 *SUV*39*H*1/2 和 *G*9*A* 的表达，以及囊胚中 H3K9me3 的表达. 这与 Zhang 等[22]在羊核移植胚胎中的研究一致. 2 nmol/L 毛壳素处理后显著提高囊胚中多能性基因 *Nanog*，*Oct*4 和 *CDX*2 的表达，该结果与李海艳[23]对猪孤雌胚胎的研究结果一致. 本实验结果证明适量毛壳素处理有利于猪卵母细胞体外成熟和早期胚胎的发育.

猪卵母细胞中 H3K9me3 的去除对于正常的 ZGA 和表观遗传重编程至关重要[18]，用毛壳素作为组蛋白甲基转移酶 SUV39H1/2 和 G9A 特异性抑制剂，能有效降低 H3K9me3 的表达水平，最终提高猪体外成熟和胚胎发育效率.

参考文献：

[1] GOPALAKRISHNAN S, VAN EMBURGH B O, ROBERTSON K D. DNA Methylation in Development and Human Disease [J]. Mutation Research, 2008, 647(1/2): 30-38.

[2] SANTOS F, PETERS A H, OTTE A P, et al. Dynamic Chromatin Modifications Characterise the First Cell Cycle in Mouse Embryos [J]. Developmental Biology, 2005, 280(1): 225-236.

[3] 贺小英，荆乾鸽，姜欣颖，等. 端粒酶与体细胞重编程的最新研究进展 [J]. 南方农业学报，2019，50(5)：1133-1140.

[4] TORRES-PADILLA M E, PARFITT D E, KOUZARIDES T, et al. Histone Arginine Methylation Regulates Pluripotency in the Early Mouse Embryo [J]. Nature, 2007, 445(7124): 214-218.

[5] IGOLKINA A A, ZINKEVICH A, KARANDASHEVA K O, et al. H3K4me3, H3K9ac, H3K27ac, H3K27me3 and H3K9me3 Histone Tags Suggest Distinct Regulatory Evolution of Open and Condensed Chromatin Landmarks [J]. Cells, 2019, 8(9): 1034.

[6] KUSHWAHA A, THAKUR M K. Increase in Hippocampal Histone H3K9me3 is Negatively Correlated with Memory in Old Male Mice [J]. Biogerontology, 2020, 21(2): 175-189.

[7] BENVENISTE D, SONNTAG H J, SANGUINETTI G, et al. Transcription Factor Binding Predicts Histone Modifications in Human Cell Lines [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2014, 111(37): 13367-13372.

[8] RUAN D G, PENG J Y, WANG X S, et al. XIST Derepression in Active X Chromosome Hinders Pig Somatic Cell Nuclear Transfer [J]. Stem Cell Reports, 2018, 10(2): 494-508.

[9] MATOBA S, LIU Y T, LU F L, et al. Embryonic Development Following Somatic Cell Nuclear Transfer Impeded by Persisting Histone Methylation [J]. Cell, 2014, 159(4): 884-895.

[10] LIU W, LIU X, WANG C, et al. Identification of Key Factors Conquering Developmental Arrest of Somatic Cell Cloned Embryos by Combining Embryo Biopsy and Single-Cell Sequencing [J]. Cell Discovery, 2016, 2: 16010.

[11] CHUNG Y G, MATOBA S, LIU Y T, et al. Histone Demethylase Expression Enhances Human Somatic Cell Nuclear Transfer Efficiency and Promotes Derivation of Pluripotent Stem Cells [J]. Cell Stem Cell, 2015, 17(6): 758-766.

[12] 马盼盼. PsA 对牛克隆胚胎早期发育的影响作用研究 [D]. 长春: 吉林农业大学, 2019.

[13] JIAO X F, LIANG Q M, WU D, et al. Effects of Acute Fluorene-9-Bisphenol Exposure on Mouse Oocyte in Vitro Maturation and Its Possible Mechanisms [J]. Environmental and Molecular Mutagenesis, 2019, 60(3): 243-253.

[14] ZHU C C, HOU Y J, HAN J, et al. Effect of Mycotoxin-Containing Diets on Epigenetic Modifications of Mouse Oocytes by Fluorescence Microscopy Analysis [J]. Microscopy and Microanalysis, 2014, 20(4): 1158-1166.

[15] QIAO J, CHEN Y, YAN L Y, et al. Changes in Histone Methylation during Human Oocyte Maturation and IVF-or ICSI-Derived Embryo Development [J]. Fertility and Sterility, 2010, 93(5): 1628-1636.

[16] GREINER D, BONALDI T, ESKELAND R, et al. Identification of a Specific Inhibitor of the Histone Methyltransferase $SU(VAR)_3$-9 [J]. Nature Chemical Biology, 2005, 1(3): 143-145.

[17] JEONG P S, SIM B W, PARK S H, et al. Chaetocin Improves Pig Cloning Efficiency by Enhancing Epigenetic Reprogramming and Autophagic Activity [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2020, 21(14): 4836.

[18] MATOBA S, ZHANG Y. Somatic Cell Nuclear Transfer Reprogramming: Mechanisms and Applications [J]. Cell Stem Cell, 2018, 23(4): 471-485.

[19] SANKAR A, LERDRUP M, MANAF A, et al. KDM4A Regulates the Maternal-to-Zygotic Transition by Protecting Broad H3K4me3 Domains from H3K9me3 Invasion in Oocytes [J]. Nature Cell Biology, 2020, 22(4): 380-388.

[20] WENG X G, CAI M M, ZHANG Y T, et al. Improvement in the in Vitro Development of Cloned Pig Embryos after Kdm4a Overexpression and an H3K9me3 Methyltransferase Inhibitor Treatment [J]. Theriogenology, 2020, 146: 162-170.

[21] 沈开元. MG132 对猪卵母细胞体外成熟及德保黑猪核移植胚胎发育的影响初步研究 [D]. 南宁: 广西大学, 2016.

[22] ZHANG Y M, GAO E N, WANG Q Q, et al. Effects of Histone Methyltransferase Inhibitor Chaetocin on Histone H3K9 Methylation of Cultured Ovine Somatic Cells and Development of Preimplantation Cloned Embryos [J]. Reproductive Toxicology, 2018, 79: 124-131.

[23] 李海艳. 毛壳素对德保黑猪核移植胚胎体外发育潜能影响的初步研究 [D]. 南宁: 广西大学, 2017.

责任编辑 夏娟