

鸡卵泡颗粒层组蛋白 H3K4me3 和 H3K27me3 的表达研究

李春苗^{1,2}, 贾雪波¹, 王钱保^{1,2}, 黄正洋^{1,2}, 黄华云^{1,2}, 赵振华^{1,2*}

(1. 江苏省家禽科学研究所, 扬州 225125; 2. 江苏省家禽遗传育种重点实验室, 扬州 225125)

摘要: 卵母细胞成熟过程受组蛋白 H3K4me3(trimethylation of lysine 4 on histone 3)和 H3K27me3(trimethylation of lysine 27 on histone 3)及其相关的甲基化和去甲基化酶的调控, 因此考虑对鸡的卵泡发育也存在一定的影响。选取“苏禽3号”配套系第一母本为研究对象, 采用 Western blot 法探究组蛋白 H3K4me3 和 H3K27me3 在鸡卵泡不同发育阶段颗粒层中蛋白的表达模式。结果表明: 在苏禽3号卵泡颗粒层中, 组蛋白 H3K4me3 在卵泡发育不同阶段表达模式呈降低→升高→降低→升高的波浪形趋势, 波浪变化较为平缓, 在 F5、F2 和 F1 3 个表达高点的表达量与 SWF(small white follicle)、LWF(large white follicle)、SYF(small yellow follicle)和 F3 4 个表达低点的表达差异显著 ($P<0.05$)。组蛋白 H3K27me3 在不同发育阶段表达模式亦呈波浪形表达趋势, 波浪变化起伏较明显, 在 SWF、SYF 和 F3 3 个表达高点的表达量与 F5、F4、F1 和 F2 4 个表达低点的表达差异显著 ($P<0.05$)。相关性分析显示, 组蛋白 H3K4me3 与 H3K27me3 在不同发育阶段卵泡颗粒细胞中的表达呈较强的负线性相关($R=-0.808$, $P=0.000$)。结果提示: 组蛋白 H3K4me3 和 H3K27me3 在不同发育阶段卵泡颗粒层中的表达具有组织差异性, 呈负相关的动态修饰性, 可能共同协调卵泡生长过程中各基因的表达与功能, 研究结果为鸡繁殖性状调控机理提供了理论依据。

关键词: 鸡; 卵泡; 颗粒细胞; 组蛋白; H3K4me3; H3K27me3

中图分类号: S831.2

文献标识码: A

文章编号: 1672-352X (2023)04-0621-06

Expression of H3k4me3 and H3K27me3 in the granular layer of chicken follicles

LI Chunmiao^{1,2}, JIA Xuebo¹, Wang Qianbao^{1,2}, HUANG Zhengyang^{1,2}, HUANG Huayun^{1,2}, ZHAO Zhenhua^{1,2}

(1. Jiangsu Institute of Poultry Sciences, Yangzhou 225125;

2. Key Laboratory for Poultry Genetics and Breeding of Jiangsu Province, Yangzhou 225125)

Abstract: Oocyte maturation is regulated by trimethylation of Lysine 4 on histone 3 and trimethylation of Lysine 27 on histone3. Oocyte maturation is also regulated by H3k4me3 and H3K27me3's methylation and demethylase. So it is considered that there is also a certain impact on the development of chicken's follicles. For the object of exploring the expression pattern of H3K4me3 and H3K27me3 in different developmental stages of chicken's follicular granular layer, the female line of Suqin 3 was used as experimental animal. The result showed that, in the follicular granular layer of Suqin 3, the expression pattern of H3k4me3 at different stages of follicle development showed a wavy trend of decreasing → increasing → decreasing → increasing, and the wave changes were relatively gentle. The expression level of the three high expression points of F5, F2 and F1 was significantly different from that of the four low expression points of SWF (small white follicle), LWF (large white follicle), SYF (small yellow follicle) and F3 ($P<0.05$). The expression pattern of histone H3K27me3 at different developmental stages of follicular granular layer also shows a wavy expression trend, bur with obvious fluctuations. The expression of SWF, SYF and F3 was significantly higher than the expression of d F5, F4, F1 and F2 ($P<0.05$). Correlation analysis showed that the expression of H3k4me3 and H3K27me3 in follicular granulosa cells at different developmental stages showed a strong negative linear correlation ($R=-0.808$, $P=0.000$). Result prompt: The expression of H3k4me3 and H3K27me3 in the follicular granulosa layer at different stages is tissue-specific and negatively correlated with dynamic modification,

收稿日期: 2022-07-10

基金项目: 现代农业产业技术体系建设专项(CARS-41-Z21), 江苏省种业振兴揭榜挂帅项目(JBGS (2021) 109), 江苏省农业科技自主创新项目(CX(20)2012), 江苏省科技成果转化项目(BA2019049), 江苏省家禽遗传育种重点实验室项目(JQLAB-ZZ-202008)和富民强存科技帮促项目(GY-BC202202)共同资助。

共同第一作者: 李春苗, 副研究员。E-mail: cherrybcm@163.com 贾雪波, 副研究员。E-mail: 312215753@qq.com

* 通信作者: 赵振华, 博士, 研究员。E-mail: zzh0514@163.com

which may jointly coordinate the expression and function of various genes during follicular growth. The results of this study provide a theoretical basis for the regulation mechanism of chicken reproductive traits.

Key words: chicken; follicular; granulosa cells; histone; H3K4me3; H3K27me3

母鸡卵泡的发育受到内分泌、旁分泌及自分泌等复杂的调节,其过程非常繁杂,却有其自身的规律可循。母鸡卵泡发育可以分为原始卵泡形成及初级卵泡生长早期、初级卵泡生长期和卵泡选择进入等级卵泡直至排卵期3个阶段。母鸡性成熟后,卵泡发育即进入第3阶段,此阶段存在各不同发育阶段的卵泡,根据大小分为等级前卵泡和等级卵泡^[1-2],等级前卵泡按直径大小分为小白卵泡(small white follicle, SWF, <4 mm)、大白卵泡(large white follicle, LWF, 4~≤6 mm)、小黄卵泡(small yellow follicle, SYF, 6~≤8 mm);等级卵泡为直径大于8mm的大黄卵泡(large yellow follicle, LYF, >8 mm)按体积从大到小命名为 F1, F2...F_n(n≥5)^[3]。卵泡颗粒细胞先于卵母细胞的生长,来源于内胚层,在卵泡发育过程中可以合成多种激素及生长因子调控卵泡细胞和膜细胞的生长、分化和成熟,鸡的成熟卵泡的颗粒细胞位于膜层和胚胎透明带层之间,经常作为卵泡发育的经典模型来研究。

组蛋白甲基化修饰在染色体上的分布差异将引起基因表达调控的差异, H3K4me3(trimethylation of lysine 4 on histone 3)即组蛋白 H3 上的第4位赖氨酸三甲基化,富集在转录起始位点(TSS)附近,能够激活基因的转录^[4]; H3K27me3(trimethylation of lysine 27 on histone 3)即组蛋白 H3 上的第27位赖氨酸三甲基化,在 TSS 附近及基因启动子区域均有富集,能够抑制基因的转录^[5]。组蛋白修饰对细胞维持、细胞分化、肿瘤形成及 DNA 损失和修复均有影响,可以控制多种细胞功能基因的表达程序。Asp 等发现成肌细胞系 C2C12 分化前基因组中总体的 H3K27me3 修饰水平显著高于分化后,特异性抑制 MyoG 基因的表达,维持成肌细胞增殖状态^[6]。Karl 等在小鼠胚胎细胞中抑制 H3K27 去甲基化酶 UTX 和 JMJD3 的表达后,发现 Hox 基因启动子区 H3K27me3 的表达水平升高^[7]。早期胚胎发育和卵母细胞成熟过程中受组蛋白 H3K4me3 和 H3K27me3 及其相关的甲基化和去甲基化酶的调控。参与人类胚胎干细胞早期分化阶段的多功能基因 OCT4、NANOG 和 SOX 的表达均受到 H3K4me3 和 H3K27me3 的调控^[8]。在哺乳动物卵母细胞生长阶段, H3 组蛋白修饰对卵母细胞老化、染色体缺陷及成熟进度均有影响^[9]。细胞周期蛋白依赖激酶抑制剂

P16、P21 与 P27 的启动子与 RBP2 结合后去除 H3K4 三甲基化,可以促进胃癌和宫颈癌细胞的衰老^[10]。H3K4me3 在哺乳动物成熟卵母细胞核染色质区域逐渐堆积,在卵母细胞成熟过程中表达量显著增加^[11-12],是卵母细胞成熟情况的可靠标记之一^[13]。目前为止,表观遗传修饰 H3K4me3 和 H3K27me3 在鸡各级卵泡颗粒细胞中的整体表达情况尚不清楚,研究表观遗传分子表达情况对进一步研究其生物学功能具有一定参考意义。本研究以江苏省家禽科学研究所培育的苏禽 3 号为试验素材,分别检测了组蛋白 H3K4me3 和 H3K27me3 在等级前卵泡和各等级卵泡颗粒细胞层的表达情况,分析了其表达模式,为后续探索其生物学功能提供新思路。

1 材料与方法

1.1 试验材料

以江苏省家禽科学研究所培育的苏禽 3 号配套系第一母本 100 只为试验素材,按照正常免疫程序在江苏省家禽科学研究所邵伯试验基地进行饲养管理,选取 200 日龄连续 7 d 产蛋的母鸡 10 只产蛋后进行屠宰,将母鸡卵巢取出,将所有卵泡按照大小从卵巢上分离下来,并放置于灭菌的生理盐水中。用灭菌的弯头镊子将卵泡表面的卵泡外膜、结缔组织和血管网剥离干净,再用灭菌的尖头剪刀将卵泡剪开一个 1~2 cm 长的小口,将卵黄轻轻释放出来,之后用两个弯头镊子把卵泡内膜撕开,剩下的即为卵泡颗粒细胞层。用生理盐水将颗粒层上的卵黄漂洗干净,置于 2 mL 冻存管中, -80℃低温冰箱保存。按照此方法分别采集小白卵泡(SWF)、大白卵泡(LWF)、小黄卵泡(SYF)和等级卵泡 F1, F2, F3, F4 和 F5 的颗粒层。

1.2 试剂及仪器

RIPA 强裂解液(含 1 mmol·L⁻¹ PMSF)、BCA 蛋白浓度测定试剂盒均购自碧云天生物技术有限公司, BSA 购自 sigma 公司, 蛋白电泳预制胶(12%, 10 孔)购自南京生兴公司, PVDF 膜购自密理博中国有限公司, ECL 法检测试剂盒 Super Signal West Pico chemiluminescent substrate 购自 Pierce 公司、See Blue Plus2 预染蛋白 Marker (产品货号 LC5925) 购自 Thermo Fisher Scientific(美国), Anti-H3K4me3 antibody (Tri-Methyl-Histone H3(Lys4)#9751)、

Anti-H3K27me3 antibody (Tri-Methyl-Histone H3 (Lys27)#9377)、Anti-H3 antibody (Histone H3 Antibody#9715)、GAPDH antibody (GAPDH (D16H11) XP® Rabbit mAb#5174)、Goat anti-Rabbit IgG(H+L) secondary Antibody, HRP conjugate (Anti-rabbit IgG(H+L),F(ab')₂ Fragment (Alexa Fluor® 647 Conjugate) 4414)均购自 Cell Signaling Technology 公司。

高压灭菌锅 (Thermo), 恒温水浴锅 (北京医疗设备厂), 微量分光光度计 (Thermo), 蛋白印迹垂直电泳槽 (Bio-Rad), 蛋白印迹转印仪 (湿转) (Bio-Rod), LAS-4000 凝胶成像系统 (Fujifilm)。

1.3 试验方法

1.3.1 样品处理及蛋白浓度测定 -80℃取出样品, 解冻后, 加入预冷的 PBS 缓冲液漂洗 2~3 次, 3 000 g 离心 5 min, 加入 400 μL 含 1 mmol·L⁻¹ PMSF 的 RIPA 强裂解液, 将颗粒细胞层裂解物转移至 1.5 mL 的 EP 管中于冰上持续裂解 30 min, 每隔 3 min 漩涡震荡 10 s 以上便于颗粒层细胞充分裂解。之后放入低温离心机 (4℃), 12 000 r·min⁻¹ 离心 10 min, 收集上清液的即为提取的蛋白。按照 BCA 蛋白浓度检测试剂盒说明书进行操作, 微量分光光度计测定 A562 值, 即蛋白浓度。并将蛋白浓度调至大于 1 μg·μL⁻¹ 统一浓度。

1.3.2 电泳及转膜 将预制胶(12% SDS-PAGE Gel 胶)安装于电泳槽内, 加入 5×Loading buffer 电泳缓冲液后低电压 15 V 预电泳 25 min, 按照每个泳道 15 μg 的上样量依次将三色彩虹预染蛋白 Marker(加于两端)和蛋白样加入上样孔中, 60 V 稳定电压进行预电泳 30 min, 蛋白 Marker 在浓缩胶与分离胶分界线跑出彩色条带后, 更换电压至 120 V, 恒压继续电泳 1.5 h, 至电泳缓冲液中的溴酚蓝到达胶底部, 即可停止电泳。拆板, 按照正极-海绵-三层滤纸-PVDF 膜-凝胶-三层滤纸-海绵-负极的顺序封紧后放入电转槽进行湿转转膜。电泳槽内加电转液(48 mmol·L⁻¹ Tris, 39 mmol·L⁻¹ Glycine) 没过最上面一根金属丝, 将电泳槽置于冰水混合物中, 100 V, 恒压转印 1.5 h。

1.3.3 结合一抗和二抗 转印完成后, 将 PVDF 膜取出, 按照 Marker 大小将所需条带剪下, TBST 洗涤 3×5 min, 加入 5% BSA 封闭液, 室温封闭 1 h。将封闭后的 PVDF 膜放入孵育管中, 分别加入一抗 (H3K4me3、H3K27me3、H3) 约 2 mL, 一抗按相应抗体效价, 稀释浓度为 1:1 000, 在摇床水平放置, 4℃孵育过夜。一抗孵育结束后, TBST 洗涤 3×5 min。加入二抗约 2 mL, 摇床室温孵育 1 h。二

抗为 HRP 标记的羊抗兔抗体, 稀释浓度为 1:2 000。二抗孵育结束, TBST 洗涤 3×5 min。

1.3.4 显影拍照 按照 ECL 法检测试剂盒说明在避光条件下配置显影液。在洗过的 PVDF 膜上滴加显影液, 避光反应 5 min 后, 曝光, 在 LAS-4000 凝胶成像系统中观察、拍照。

1.4 统计分析

以上试验至少重复 3 次, 用 ImageJ 软件分析条带灰度, 进行半定量比较分析, 采用自身灰度值校正, 由图 1 和图 3 可知, 内参蛋白 H3 和 GAPDH 在各卵泡颗粒层中的表达趋势基本一致, 而组蛋白核内蛋白均以 H3 作为内参, 因此分别以组蛋白 H3K4me3 和 H3K27me3 的条带灰度与 H3 的灰度比值表示蛋白的表达水平。应用 Excel 和 IBM SPSS Statistics 20 (One way Anova) 进行单因素方差分析和多重比较分析不同发育阶段卵泡颗粒层中 H3K4me3 和 H3K27me3 的表达水平, 应用 IBM SPSS Statistics 20 (Bivariate Correlation) 分析 H3K4me3 和 H3K27me3 表达的相关性。试验结果用平均数±标准差表示(mean±SD), $P<0.05$ 表示差异显著, $P<0.01$, 表示差异极显著。

2 结果与分析

2.1 组蛋白 H3K4me3 在不同发育阶段卵泡颗粒层中的表达规律

Western blot 法检测组蛋白 H3K4me3 在“苏禽 3 号”母系的卵泡不同发育阶段颗粒层中蛋白的表达规律见图 1、表 1 和图 2。结果表现为, 该蛋白在所检测的卵泡不同发育阶段颗粒层中均有表达, 且在 F5 和 F1 发育阶段呈现 2 个表达峰值, 在 LWF 和 F3 发育阶段出现 2 个表达低点, 在卵泡发育过程中, 组蛋白 H3K4me3 在颗粒层中的表达先降低, LWF 时期降到第 1 个波谷, 之后表达量开始上升, F5 时期达到第 1 个表达高峰, 随后表达量又开始降低, F3 时期降至第 2 个波谷后表达量上升, F1 时期达到最高点。期间, 组蛋白 H3K4me3 在 F5、F2 和 F13 个表达高点的表达量与 SWF、LWF、SYF 和 F34 个表达低点的表达差异显著 ($P<0.05$)。

2.2 组蛋白 H3K27me3 在不同发育阶段卵泡颗粒层中的表达规律

组蛋白 H3K27me3 在“苏禽 3 号”母系不同发育阶段卵泡颗粒层中蛋白的表达规律见图 3、表 2 和图 4。该蛋白在所检测的不同发育阶段的卵泡颗粒层中均有表达, 且出现 2 次表达高峰和 2 次表达低谷。组蛋白 H3K27me3 的表达量从 SWF 时期至 LWF

时期有个缓慢下降,从LWF时期到SYF时期有个缓慢上升,差异均不显著。之后出现转折,从SYF时期至F5时期有个1.5倍的骤降,出现第1个表达波谷,而后表达量显著上升,较F5时期,F3时期的表达量有个两倍的急剧上升期,组蛋白

H3K27me3的表达在F3时期达到最高点,之后,表达量第2次骤降,F1时期表达量达到最低点,出现第2个波谷。期间,组蛋白H3K27me3在SWF、SYF和F3 3个表达高点的表达量与F5、F4、F1和F2 4个表达低点的表达差异显著($P<0.05$)。

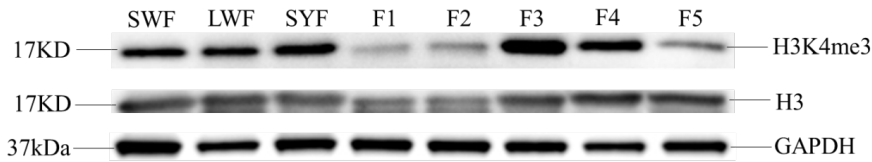


图1 不同发育阶段卵泡颗粒层中H3K4me3蛋白的Western blot检测结果

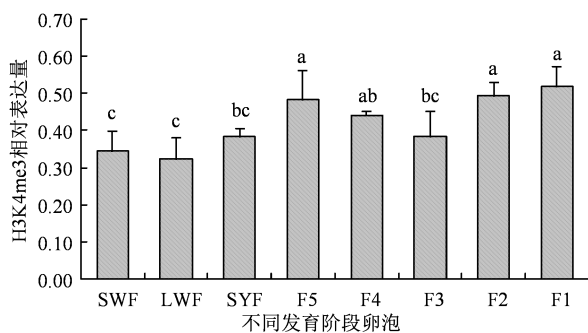
Figure 1 H3K4me3 expression in granulosa layer of different stages of different of development

表1 灰度比值表示组蛋白H3K4me3在不同发育阶段卵泡中的蛋白表达水平

Table 1 Gray ratio indicates the protein expression level of histone H3K4me3 in follicles at different developmental stages

组蛋白	SWF	LWF	SYF	F5	F4	F3	F2	F1
H3K4me3	0.34±0.05	0.32±0.06	0.38±0.02	0.48±0.08	0.44±0.01	0.39±0.07	0.50±0.03	0.52±0.05

注:数值为平均数±标准差。下同。



相同字母表示不同发育阶段卵泡颗粒层组蛋白H3K4me3表达差异不显著($P>0.05$);不同字母表示不同发育阶段卵泡颗粒层组蛋白H3K4me3表达差异显著($P<0.05$)。

图2 H3K4me3在不同发育阶段卵泡颗粒层中的表达模式图
Figure 2 The expression of H3K4me3 in granulosa layer of different developmental stages

2.3 不同发育阶段卵泡颗粒层中组蛋白H3K4me3和H3K27me3的表达趋势及相关性

本试验对苏禽3号母系不同发育阶段卵泡颗粒层中组蛋白H3K4me3和H3K27me3的表达规律进行分析,发现这两个蛋白从卵泡发育的LWF时期至F1时期均呈波浪形变化,不同的是H3K4me3的表达变化,波浪较平缓,且表达量较低,H3K27me3的表达变化波浪起伏较为明显,且表达量较高。不同发育阶段颗粒层中组蛋白H3K4me3和H3K27me3的表达相关性分析显示,H3K4me3的蛋白表达与H3K27me3的蛋白表达呈较强的负线性相关($R=-0.808$, $P=0.000$)。

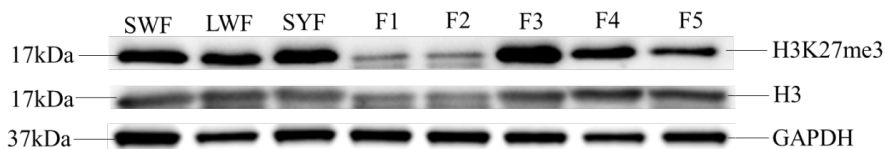


图3 不同发育阶段卵泡颗粒层中H3K27me3蛋白的Western blot检测结果

Figure 3 H3K27me3 expression in granulosa layer of different stages of different of development

表2 灰度比值表示组蛋白H3K27me3在不同发育阶段卵泡中的蛋白表达水平

Table 2 Gray ratio indicates the protein expression level of histone H3K27me3 in follicles at different developmental stages

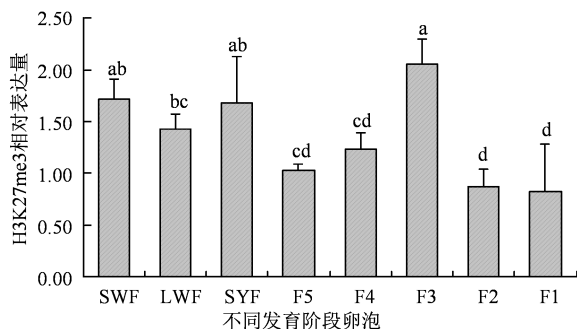
组蛋白	SWF	LWF	SYF	F5	F4	F3	F2	F1
H3K27me3	1.72±0.19	1.42±0.15	1.68±0.45	1.03±0.06	1.23±0.16	2.05±0.24	0.87±0.17	0.83±0.46

3 讨论和结论

为了适应不断变化的环境,基因组与染色体结

构发生动态改变以维持细胞活性的正常功能^[14]。真核生物中,DNA作为承载遗传信息的核心载体,并非单独存在,而是缠绕在组蛋白上以核小体的形式

存在, 每个核小体是由约 200 bp 的 DNA 缠绕组蛋白八聚体近两圈形成, 200 bp 的 DNA 中有 146 bp 是直接缠到组蛋白八聚体上的, 剩下 60 bp 左右用来连接下一个核小体, 形成串珠状结构的纤丝状染色质^[15], 染色质压缩的程度决定着基因的表达情况, DNA 的解螺旋复制、转录要求染色质处于一定的疏松状态, 因此, 组蛋白作为染色质重要组成部分, 对基因的表达具有不可忽视的调节作用^[16]。组蛋白各亚基柔性尾巴 N 末端富含碱性的精氨酸 (Arg) 和赖氨酸 (Lys), 易受到多种翻译后共价修饰, 包括乙酰化、磷酸化、泛素化以及甲基化等^[17]。以组蛋白 H3 为例, 当 H3 在 9 或 14 位 Lys 处发生乙酰化 (H3K9ac 或 H3K14ac), 在第 4 位 Lys 处发生二甲基化 (H3K4me2) 或三甲基化 (H3K4me3) 时, 基因具有转录活性; 相反, 组蛋白 H3 在赖氨酸 9 或 27 处发生二甲基化 (H3K9me2 或 H3K27me2) 或三甲基化 (H3K27me3) 时, 染色质处于非活性状态, 基因表达被抑制^[18]。卵泡中的组蛋白修饰研究较多集中在黄体化过程中, 在黄体化的大鼠体内 H4ac 和 H3K4me3 修饰对 LH 的应答使 STAR 和 CYP19A1 转录水平发生变化^[19]。刘勇等利用滴中孔技术体外跟踪培养小鼠不同形态未成熟卵母细胞的成熟能力, 发现卵母细胞的形态与 H3K27 三甲基化水平相关^[20]。徐嘉君等用免疫荧光方法检测牛卵丘细胞中 K3K4me3 和 H3K27me3 的甲基化程度, 发现在牛卵丘细胞中存在 H3K27me3 的甲基化修饰, 却没有检测到 H3K4me3 的甲基化修饰^[21]。Zhong 等采用 ChIp-PCR 方法检测到猪 3~8 mm 的卵泡颗粒细胞中均有 H3K27me3 的表达^[22]。



相同字母表示不同发育阶段卵泡颗粒层组蛋白 H3K27me3 表达差异不显著 ($P>0.05$); 不同字母表示不同发育阶段卵泡颗粒层组蛋白 H3K27me3 表达差异显著 ($P>0.05$)。

图 4 H3K27me3 在不同发育阶段卵泡颗粒层中的表达模式图

Figure 4 The expression of H3K27me3 in granulosa layer of different developmental stages

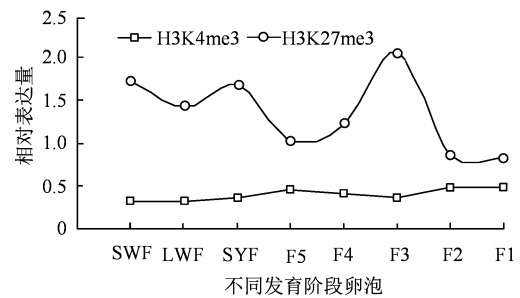


图 5 H3K4me3 和 H3K27me3 在不同发育阶段卵泡颗粒层中的动态表达变化

Figure 5 Dynamic expression of H3K4me3 and H3K27me3 in granulosa layer of follicles at different developmental stages

本试验采用 Western blot 法检测了苏禽 3 号母系不同发育阶段卵泡颗粒层组蛋白 H3K4me3 和 H3K27me3 的表达, 结果表明: 不同发育阶段 H3K4me3 和 H3K27me3 在不同发育阶段卵泡中均有表达, 且成波浪形变化, 具有组织差异性, 表现出动态修饰性, 可能与鸡卵泡颗粒层从小白卵泡发育到等级卵泡, 颗粒层由单层分化为双层至多层, 随着卵泡体积的不断增长, 颗粒细胞层由多层细胞发育到单层细胞^[23]有关。H3K4me3 和 H3K27me3 表达的波峰和波谷恰好是鸡卵泡颗粒细胞层发生变化的关键时期, 进一步揭示 H3K4me3 和 H3K27me3 的表达水平与卵泡颗粒层发育有关。不同发育阶段卵泡颗粒层组蛋白 H3K4me3 和 H3K27me3 的表达呈较强的负相关, 可能与 H3K27me3 修饰位于基因启动子和转录起始点附近是基因表达和细胞分化的抑制性蛋白修饰^[24], 而 H3K4me3 甲基化修饰与基因转录激活^[25]有关。提示, H3K4me3 和 H3K27me3 可能共同协同参与鸡颗粒细胞层基因的表达。综上所述, 在鸡卵泡发育过程中, H3K4me3 和 H3K27me3 的表达动态修饰性可能共同协调调控卵泡生长过程中各基因的表达, 本研究为进一步深入研究 H3K4me3 和 H3K27me3 对鸡卵泡发育的分子机理提供了理论依据。

参考文献:

- [1] ONAGBESAN O, BRUGGEMAN V, DECUYPERE E. Intra-ovarian growth factors regulating ovarian function in avian species: a review[J]. Anim Reprod Sci, 2009, 111(2/3/4): 121-140.
- [2] LOVELL T M, GLADWELL R T, GROOME N P, et al. Ovarian follicle development in the laying hen is accompanied by divergent changes in inhibin A, inhibin B, activin A and follistatin production in granulosa and theca layers[J]. J Endocrinol, 2003, 177(1): 45-55.

- [3] WOODS D C, HAUGEN M J, JOHNSON A L. Opposing actions of TGF β and MAP kinase signaling in undifferentiated hen granulosa cells[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2005, 336(2): 450-457.
- [4] CLOUAIRE T, WEBB S, BIRD A. Cfp1 is required for gene expression-dependent H3K4 trimethylation and H3K9 acetylation in embryonic stem cells[J]. *Genome Biol*, 2014, 15(9): 451.
- [5] SWIGUT T, WYSOCKA J. H3K27 demethylases, at long last[J]. *Cell*, 2007, 131(1): 29-32.
- [6] ASP P, BLUM R, VETHANTHAM V, et al. Genome-wide remodeling of the epigenetic landscape during myogenic differentiation[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108(22): E149-E158.
- [7] SHPARGEL K B, STARMER J, YEE D, et al. KDM6 demethylase independent loss of histone H3 lysine 27 trimethylation during early embryonic development[J]. *PLoS Genet*, 2014, 10(8): e1004507.
- [8] PAN G J, TIAN S L, NIE J, et al. Whole-genome analysis of histone H3 lysine 4 and lysine 27 methylation in human embryonic stem cells[J]. *Cell Stem Cell*, 2007, 1(3): 299-312.
- [9] XU D Z, BAI J X, DUAN Q, et al. Covalent modifications of histones during mitosis and meiosis[J]. *Cell Cycle*, 2009, 8(22): 3688-3694.
- [10] ZENG J, GE Z, WANG L, et al. The histone demethylase RBP2 is overexpressed in gastric cancer and its inhibition triggers senescence of cancer cells[J]. *Gastroenterology*, 2010, 138(3): 981-992.
- [11] LAUBERTH S M, NAKAYAMA T, WU X, et al. H3K4me3 interactions with TAF $_3$ regulate preinitiation complex assembly and selective gene activation[J]. *Cell*, 2013, 152(5): 1021-1036.
- [12] ZHANG B J, ZHENG H, HUANG B, et al. Allelic reprogramming of the histone modification H3K4me3 in early mammalian development[J]. *Nature*, 2016, 537(7621): 553-557.
- [13] SHA Q Q, DAI X X, JIANG J C, et al. CFP 1 coordinates histone H3 lysine-4 trimethylation and meiotic cell cycle progression in mouse oocytes[J]. *Nat Commun*, 2018, 9(1):3477.
- [14] MÖLLER M, SCHOTANUS K, SOYER J L, et al. Destabilization of chromosome structure by histone H3 lysine 27 methylation[J]. *PLoS Genet*, 2019, 15(4): e1008093.
- [15] HAMMOND C M, STRØMME C B, HUANG H D, et al. Histone chaperone networks shaping chromatin function[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2017, 18(3): 141-158.
- [16] FEINBERG A P. Phenotypic plasticity and the epigenetics of human disease[J]. *Nature*, 2007, 447(7143): 433-440.
- [17] KOUZARIDES T. Chromatin modifications and their function[J]. *Cell*, 2007, 128(4): 693-705.
- [18] BARSKI A, CUDDAPAH S, CUI K R, et al. High-resolution profiling of histone methylations in the human genome[J]. *Cell*, 2007, 129(4): 823-837.
- [19] LEE L F, ASADA H, KIZUKA F, et al. Changes in histone modification and DNA methylation of the StAR and Cyp19a1 promoter regions in granulosa cells undergoing luteinization during ovulation in rats[J]. *Endocrinology*, 2013, 154(1): 458-470.
- [20] 刘勇, 张领, 贾二腾, 等. 未成熟卵母细胞的形态与成熟能力、染色质构型和 H3K27 三甲基化水平的相关性研究[J]. *中国细胞生物学学报*, 2014, 36(11): 1484-1490.
- [21] 徐嘉君, 岳媛, 李红波, 等. JARID2 对牛卵丘细胞 H3K9me3、H3K27me3 的甲基化修饰作用[J]. *中国兽医学报*, 2016, 36(5): 880-884.
- [22] ZHONG Y Y, LI L Y, CHEN Z T, et al. MIR143 inhibits steroidogenesis and induces apoptosis repressed by H3K27me3 in granulosa cells[J]. *Front Cell Dev Biol*, 2020, 8: 565261.
- [23] HUANG Y, LUO W, LUO X L, et al. Comparative analysis among different species reveals that the androgen receptor regulates chicken follicle selection through species-specific genes related to follicle development[J]. *Front Genet*, 2022, 12: 752976.
- [24] CHAN N T, HUANG J F, MA G, et al. The transcriptional elongation factor CTR9 demarcates PRC2-mediated H3K27me3 domains by altering PRC2 subtype equilibrium[J]. *Nucleic Acids Res*, 2022, 50(4): 1969-1992.
- [25] CHI H W, LI C H, TONG J, et al. The establishment of CDK9/RNA PolII/H3K4me3/DNA methylation feedback promotes HOTAIR expression by RNA elongation enhancement in cancer[J]. *Mol Ther*, 2022, 30(4): 1597-1609.