

# 哺乳动物早期胚胎发育过程中X染色体失活的研究进展

刘雨辰 杨芷珊 张宇霆 刘忠华 翁晓刚\*

(东北农业大学生命科学学院, 哈尔滨 150030)

**摘要** 虽然哺乳动物雄性和雌性的性染色体存在显著差异, 但是哺乳动物两性间大多数X染色体连锁基因的表达水平相似。这种X染色体剂量补偿是通过X染色体失活(X chromosome inactivation, XCI)实现的, XCI有印记失活和随机失活两种类型。在X染色体失活过程中, 长链非编码RNA *Xist*表达水平的升高驱动了将要失活的那条X染色体沉默的起始, 随后一些与*Xist*结合的RNA结合蛋白会促进*Xist*在X染色体上的定位并招募各种表观修饰酶复合物, 最后完成抑制性修饰的建立和染色体的重塑。目前, 关于XCI的认知大部分来源于小鼠上的研究, 然而越来越多的证据显示不同物种XCI的调控存在较大差异。该文重点综述了小鼠胚胎发育过程中XCI的建立时期与具体机制、XCI过程中重要的长链非编码RNA以及*Xist* RNA结合蛋白, 并进一步比较了人、小鼠以及食蟹猴XCI的异同。

**关键词** 早期胚胎发育; X染色体失活; *Xist*; *Xist* RNA结合蛋白

## Progress in the Study of X Chromosome Inactivation in Early Mammalian Embryonic Development

LIU Yuchen, YANG Zhishan, ZHANG Yuting, LIU Zhonghua, WENG Xiaogang\*

(College of Life Sciences, Northeastern Agricultural University, Harbin 150030, China)

**Abstract** In mammals, although there are significant differences between chromosome X and chromosome Y, most X chromosome linked genes are expressed at similar levels between males and females. This X chromosome dosage compensation is achieved by XCI (X chromosome inactivation). There are two types XCI, imprinted inactivation and random inactivation. The elevated levels of long non-coding RNA *Xist* expression drive the initiation of silencing the X chromosome. Subsequently, some RNA-binding proteins that bind to *Xist* play a role in the establishment of inhibitory modifications and chromosome remodeling. So far, most of knowledge of XCI is based on the studies in mice. However, the regulation of XCI varies greatly among different species. This review focuses on an overview of the specific mechanisms of XCI establishment in mouse, the important long non-coding RNAs and *Xist* RNA-binding proteins involving in the XCI process, and further compares the similarities and differences among human, mouse and cynomolgus monkey XCI.

**Keywords** early embryonic development; X chromosome inactivation; *Xist*; *Xist* RNA-binding proteins

通常在雄性哺乳动物的细胞中有两种性染色体的单个拷贝, 即一条X染色体和一条Y染色体, 而雌性动物则有两条X染色体<sup>[1]</sup>。在哺乳动物中,

Y染色体携带的基因数量很少且大部分呈现异染色质状态<sup>[2]</sup>, Y染色体仅表达一些雄性发育所必需的基因<sup>[3-4]</sup>。而X染色体携带大量基因, 且大部分基

收稿日期: 2022-04-18 接受日期: 2022-07-13

国家自然科学基金(批准号: 32072733)资助的课题

\*通讯作者。Tel: 0451-55191747, E-mail: wengxg@neau.edu.cn

Received: April 18, 2022 Accepted: July 13, 2022

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.32072733)

\*Corresponding author. Tel: +86-451-55191747, E-mail: wengxg@neau.edu.cn

因均与代谢相关<sup>[4-6]</sup>。如果任由两条X染色体正常转录,那么染色体数量上的差异将使不同性别间近千种基因产物出现表达量的双倍差异<sup>[7]</sup>。在进化过程中,各物种呈现出了不同的剂量补偿模式,哺乳动物通过沉默两条X染色体中的一条使雌性仅有一条激活的X染色体(Xa),这种剂量补偿模式被称为X染色体失活(X chromosome inactivation, XCI)<sup>[7-8]</sup>。但失活的X染色体(Xi)上也有少数基因未被沉默,可以继续转录,它们被称为逃逸基因(XCI-escaping gene)<sup>[9]</sup>。XCI是由LYON<sup>[10]</sup>于1961年提出的,最开始被用来解释小鼠毛色嵌合现象。在此后几十年里,大量的研究都致力于深入解析XCI复杂的分子调控机制。1991年,BROWN等<sup>[11]</sup>发现了*XIST*基因;1996年,LATHAM等<sup>[12]</sup>发现了印记失活的现象;1996年,BROWN等<sup>[13]</sup>发现了*XIST*的RNA结合蛋白hnRNPC1;1999年,LEE等<sup>[14]</sup>发现了*Tsix*基因;2013年,VALLOT等<sup>[15]</sup>发现了*XACT*基因。这些发现极大地加深了我们对XCI现象及其背后机制的认知。同时,大量的研究也显示在不同物种中,XCI的具体机制存在差异<sup>[7-20]</sup>。

目前,对于小鼠和人的XCI的研究较为深入,在其余物种中还缺乏系统的研究,如XCI建立时间、失活方式还不清楚,调控XCI的一些关键基因或蛋白尚未得到验证。同时,不同物种及个体中不同细胞类型的Xi失活的维持机制、Xi染色体重激活(X chromosome reactivation, XCR)机制还不清楚。另外,缺乏XCI的胚胎干细胞研究模型也限制了对其他物种中XCI机制的解析。本综述以小鼠为例对XCI的发生机制进行讨论,介绍早期胚胎发育过程中X染色体活性的动态变化、调控XCI过程的顺式作用元件和RNA结合蛋白。另外,我们也讨论了人、小鼠与食蟹猴等物种中XCI过程的共同特征和差异之处。希望本综述能为除小鼠以外的其他物种的XCI研究提供思路与参考。

## 1 XCI发生的关键时期

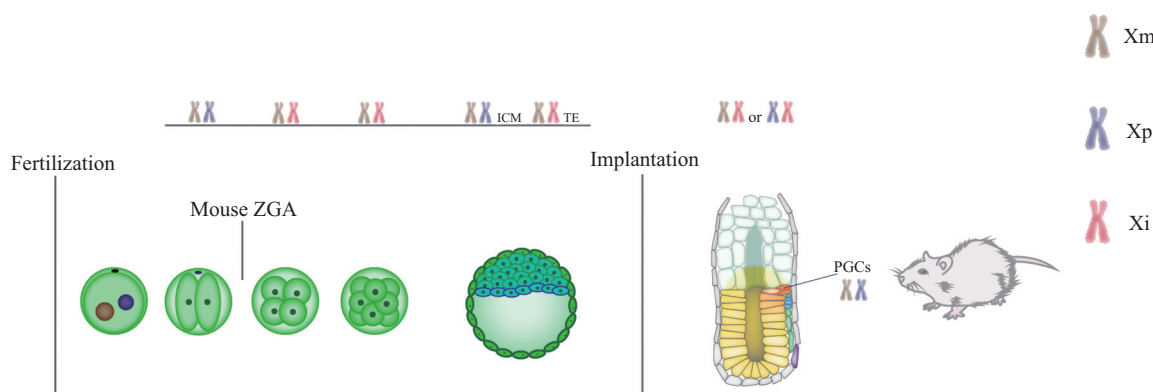
在着床前发育过程中,小鼠胚胎先是进行印记XCI(imprinted XCI, iXCI)<sup>[16]</sup>,随后部分细胞中的X染色体会发生重新激活<sup>[17-18]</sup>,再进行随机失活(random XCI, rXCI)<sup>[19-20]</sup>。印记失活是指在小鼠胚胎发育的早期,失活的那条染色体始终是父源的X染色体(paternal X chromosome, Xp),小鼠的滋养层(trophecto-

derm, TE)和原始内胚层(primitive endoderm, PrE)细胞会维持这种印记失活。而随着发育的进行,小鼠的内细胞团(inner cell mass, ICM)中的细胞会发生失活X染色体的重新激活,然后在父源或母源X染色体(maternal X chromosome, Xm)中随机选择一条进行失活。

小鼠早期胚胎发育中的X染色体活性的动态变化情况如图1所示。雌性小鼠合子阶段的Xm,处于活跃状态(Xa),而Xp是否处于活跃状态,目前还不完全确定<sup>[21-22]</sup>,因为在雄性小鼠的生殖细胞系中,同样存在X染色体的失活现象<sup>[23]</sup>,只是这种在雄性生殖细胞中存在的XCI现象与雌性的XCI并非一种机制。在精母细胞中,在减数分裂的第一个阶段,染色体经历了“减数分裂性染色体失活”,表现为两条性染色体高度浓缩。在减数分裂结束时,性染色体重新被不完全激活,在减数分裂后的细胞中,X染色体上约85%基因的转录仍然受到抑制<sup>[24]</sup>。Xp的连锁基因在合子阶段被重新激活,但一些重复序列除外<sup>[25-26]</sup>。印记性XCI发生在2细胞到4细胞时期,即在合子基因组激活(zygotic genome activation, ZGA)之后。在着床前的发育过程中,失活的Xp被维持到桑葚期的胚胎,囊胚(blastocyst)形成后,在胚外滋养层中Xp始终维持失活状态,而内细胞团中的失活Xp被重新激活。在着床后24小时内,小鼠上胚层(epiblast)细胞会经历第二次XCI——rXCI(X chromosome random inactivation)。在受精后6.5天(E6.5)时,几乎所有的Epi细胞都已经完成XCI<sup>[21]</sup>。随着胚胎发育到第10.5天,原始生殖细胞(primordial germ cells, PGCs)特化,失活的X染色体会进行表观遗传重编程而再一次出现X染色体重新激活的现象<sup>[27-28]</sup>。

## 2 XCI过程的分子机制

*XIST*基因是哺乳动物XCI的主要调控因子<sup>[31]</sup>。人类的*XIST*拥有6个外显子(exon)以及7个重复元件(依次是A、F、H、B、C、D、E),小鼠的*Xist*则拥有7个外显子以及6个重复元件(依次是A、F、B、C、D、E)<sup>[32]</sup>,重复元件RNA的表达可能有助于染色体重塑<sup>[33-34]</sup>。以小鼠为例,*Xist*只在拟失活的那条X染色体上表达,并顺式沉默X染色体连锁基因。XCI建立后的特征包括DNA甲基化、RNA聚合酶II的排除、组蛋白的去乙酰化,以及抑制性组蛋白修饰的大量富集、异染色质化和染色体高度凝集<sup>[19,35-37]</sup>。此外,Xi也富含特定的组蛋白变体,如macroH2A<sup>[38]</sup>。在小



Xm为母源未失活X染色体; Xp为父源未失活X染色体; Xi为失活的X染色体; Mouse ZGA为小鼠合子基因组激活; ICM为内细胞团细胞; TE为滋养层细胞; PGCs为原始生殖细胞。

Xm is active maternal X chromosome; Xp is active paternal X chromosome; Xi is inactive X chromosome; Mouse ZGA is zygotic genome activation of mouse; ICM is inner cell mass cells; TE is trophoblast cells; PGCs is primordial germ cells.

图1 小鼠胚胎发育早期X染色体活性的变化(根据参考文献[21,29-30]修改)

Fig.1 Changes in X chromosome activity in mouse during early embryonic development (modified from the references [21,29-30])

鼠中存在的印记失活现象,是由于小鼠母源*Xist*等位基因上存在大量的H3K27me3修饰,在母源*Xist*等位基因上建立的非典型印记修饰,使母源*Xist*不能表达,导致在囊胚期前所有父源的基因组均失活。而在人类等哺乳动物中,并不会建立这种母源H3K27me3修饰介导的非典型印记修饰。这可能是高等哺乳动物早期胚胎发育过程中不会发生印记性XCI的关键原因<sup>[39]</sup>。*Xist* RNA的转录以及功能发挥依赖于X染色体失活中心(X-inactivation center, *Xic*)的顺式作用元件和大量RNA结合蛋白<sup>[40-42]</sup>。我们将在下文中对XCI发挥作用的顺式作用元件以及RNA结合蛋白进行探讨。

### 3 *Xist*的表达受*Xic*调控

*Xic*是指含有调控XCI过程的关键基因的基因座。*Xist*便位于*Xic*中心(图2)<sup>[40-41]</sup>,*Xist* RNA的表达取决于反式作用因子与位于*Xist*基因附近的顺式作用元件的相互作用<sup>[43]</sup>,这些顺式元件中有一些同样是非编码RNA<sup>[38]</sup>,而这些机制目前还有待进一步探索<sup>[44]</sup>。以小鼠为例,*Xic*在空间上存在两个拓扑结构域(topologically associated domain, TAD),一个主要包含有利于XCI的元件,包括*Xist*、*Jpx*、*Ftx*等,被称为*Xist* TAD,另一个主要包含*Xist*和XCI的抑制元件,包括*Tsix*、*Chic1*等,被称为*Tsix* TAD。在*Xic*中,除*Xist*外,研究较为清晰的基因还有以下几种。

#### 3.1 *Tsix*

在*Xist*同源区域,存在一条与*Xist*转录方向相反

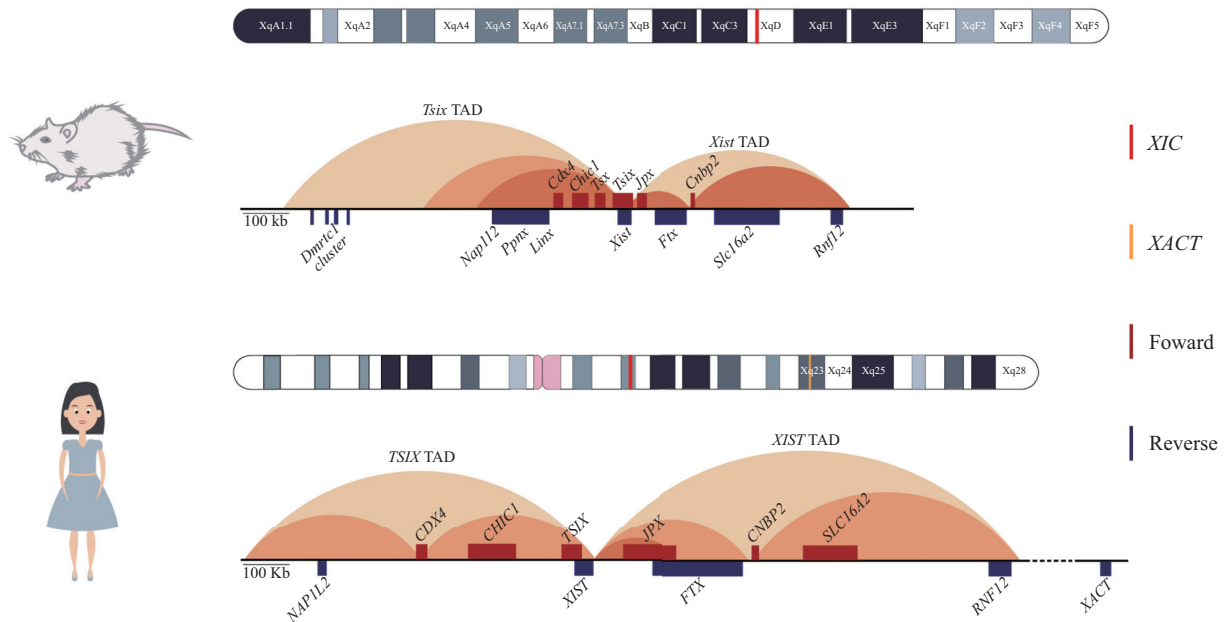
的转录本,故将这条转录本命名为*Tsix*<sup>[14,46]</sup>。*Tsix*的产物同样是一条非编码RNA。因*Tsix*序列与*Xist*序列呈反义,所以它们的产物RNA也因此具有互补性,这使*Tsix*可以通过Dicer酶介导的RNAi机制干扰*Xist*的转录本<sup>[47]</sup>。此外,*Tsix*能够促进DNA甲基转移酶在*Xist*的启动子区域的募集,从而稳定沉默Xa上的*Xist*。另外,*Tsix*还可以通过在*Xist*的启动子区域募集H3K27me3,从而抑制*Xist*转录,并且,*Tsix* RNA在XCI期间介导两条X染色体配对<sup>[48]</sup>,它通过将CTCF招募到配对中心来介导配对<sup>[49]</sup>,是顺利完成X染色体配对的必要条件。在人类中存在*Tsix*的同源物,但其序列长度与小鼠的*Tsix*有很大差别,现阶段普遍认为,人类*TSIX*并不参与对*XIST*的调节。

#### 3.2 *Ftx*

*Ftx*基因是一个对于XCI非常重要的顺式作用元件。*Ftx*通过顺式作用控制*Xist*的转录。它的RNA转录过程对于*Xist*的正常表达和XCI的顺利进行是必要的<sup>[50]</sup>。在这种情况下,*Ftx*可以被视为是*Xist*转录的增强子。然而,它的RNA产物并不具有增强子RNA的特征<sup>[51]</sup>。*Ftx*在所有胎盘哺乳动物中是保守的,具有polyA。*Ftx*启动子区域的特征是在几个CpG岛,并以H3K4me3为标志;转录的*Ftx*区域也富含H3K36me3,这是转录增强子所没有的延伸标记。

#### 3.3 *Jpx*

*Jpx*是一个*Xist*的反式激活因子,敲除*Jpx*会阻断XCI并使雌性死亡<sup>[52]</sup>。在未发生XCI的细胞中,CTCF蛋白会抑制*Xist*的转录<sup>[49]</sup>,在XCI开始后,



图中红线为XIC在X染色体上的位置;黄线为XACT在X染色体上的位置;Forward为正义链转录本;Reverse为反义链转录本;上面两个图片为小鼠的X染色体和Xic,下面两个图片为人类的X染色体和XIC,而XACT不存在于人类的XIC中。

The red line in the figure is the position of XIC in X chromosome; the yellow line is the position of XACT in X chromosome; Forward is the sense strand transcript; Reverse is the antisense strand transcript; the two pictures above are X chromosome and Xic in mouse, and the two pictures below are X chromosome and XIC in human; XACT is not in XIC in human.

图2 X染色体失活中心(根据参考文献[38,43,45]修改)

Fig.2 X chromosome inactivation center (modified from the references [38,43,45])

*Jpx* RNA表达上调, *Jpx* RNA与CTCF结合,并抑制CTCF与*Xist*基因组上P2启动子的结合,使得P2启动子的位置暴露,从而激活*Xist*的表达,起到促进XCI的作用。此外,过表达CTCF会阻断*Xist*转录,但这种阻断可以通过增加*Jpx* RNA水平来克服。同时,过表达CTCF会减弱*Jpx*过表达引起的异位*Xist*激活<sup>[53]</sup>。

### 3.4 Rnf12

*Rnf12*是一个蛋白编码基因,它对XCI的促进作用最早于2009年被发现<sup>[54]</sup>,并且过量的RNF12会导致*Xist*异位表达<sup>[55]</sup>。在rXCI中,REX1通过反式和顺式作用激活*Tsix*从而抑制*Xist*转录,REX1的剂量依赖性降解,可以促进分化的ESCs中rXCI的启动,而RNF12可以通过泛素化降解REX1来调控rXCI<sup>[56-57]</sup>。

### 3.5 RepA

在*Xist* 1号外显子的5'端发现了一个1.6 Kb的ncRNA(*RepA*),它可以单独转录并招募多梳抑制复合物2(polycomb repressive complex 2, PRC2)。PRC2通过EZH2亚基与*RepA*结合并被招募到*Xist* 5'端,敲除*RepA*会抑制全长*Xist*表达并阻碍X染色体的H3K-27me3富集。同时,PRC2缺乏会阻碍*Xist*的上调。因

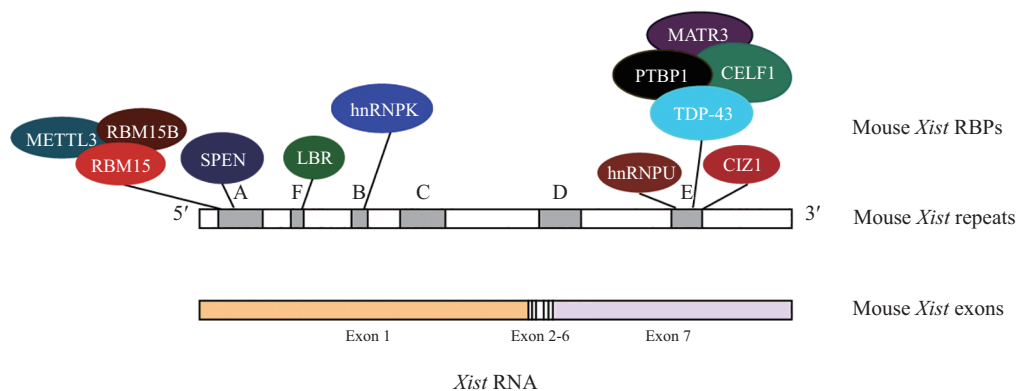
此,*RepA*/PRC2是XCI的启动和传播所必需的。2022年,LEE等<sup>[58-59]</sup>发现小分子X1可以特异性靶向*RepA*,从而间接抑制*Xist*转录以及XCI。

## 4 RNA结合蛋白在失活过程中起重要作用

*Xist*作为一种长非编码RNA,可以招募多种蛋白质复合物<sup>[42,60]</sup>,*Xist*通过不同的Repeats募集大量的蛋白质和复合物到X染色体上<sup>[61-62]</sup>,RNA-蛋白质复合物折叠成一个进化上保守的结构<sup>[32]</sup>,从表观修饰、染色体构象、染色体核定位等方面影响着X染色体的基因表达从而建立XCI。2015年,3个团队进行了*Xist*结合蛋白鉴定的工作<sup>[63-65]</sup>。MINAJIGI等<sup>[63]</sup>鉴定到超过700种候选蛋白与*Xist*结合。2021年底,PLATH等<sup>[42]</sup>基于胚胎干细胞模型发现,100条*Xist* RNA足以实现整条X染色体失活。具体来看,*Xist*与RNA结合蛋白形成50个动态超分子复合物(supramolecular complexes, SMCs),SMCs在X染色体相对固定的位置发挥功能。目前已经被证实直接参与XCI过程的RNA结合蛋白(复合物)有以下几种(图3)。

### 4.1 SPEN/SHARP

SPEN/SHARP是一种非常大的蛋白质(400 kDa),



Mosue *Xist* RBPs为小鼠*Xist*的RNA结合蛋白; Mouse *Xist* repeats为小鼠*Xist*的重复序列; Mouse *Xist* exons为小鼠*Xist*的外显子。  
Mosue *Xist* RBPs are RNA binding proteins of mouse *Xist*; Mouse *Xist* repeats are repetitive sequences of mouse *Xist*; Mouse *Xist* exons are exons of mouse *Xist*.

图3 *Xist*与RNA结合蛋白(根据参考文献[64-73]修改)

Fig.3 *Xist* and RNA binding protein (modified from the references [64-73])

它的RRM2-4结构域直接结合*XIST*的A-repeat区域<sup>[69,74]</sup>, 这个结构域对于XCI的基因沉默是必要的,但并不参与*XIST*的定位<sup>[64]</sup>。参与印记和随机XCI的早期基因沉默机制均依赖于SPEN。在XCI的早期阶段,SPEN通过SPOC结构域招募SMRT与NuRD, SMRT和NCoR激活预置在X染色体上的HDAC3,使X染色体上发生大范围去乙酰化,使X染色体结构更加紧密,并排除以RNA聚合酶II(Pol II)为代表的转录相关因子,从而促进基因沉默。SPEN主要在XCI的早期阶段促进基因沉默,而在稳定失活的X染色体的转录抑制状态以及维持X染色体的构象等方面不起作用<sup>[75-77]</sup>。此外,SPEN对于XCI初始阶段*Xist*表达的上调是必要的<sup>[78]</sup>。

#### 4.2 hnRNPK

异质核糖核蛋白K(heterogeneous nuclear ribonucleoprotein K, hnRNPK),是异质核糖核蛋白(heterogeneous nuclear ribonucleoprotein, hnRNP)家族中的一种调控蛋白<sup>[79]</sup>。小鼠*hnRNPK*基因敲除导致胚胎死亡,提示hnRNPK在新生儿发育和生存中的关键作用<sup>[80]</sup>。hnRNPK可与*Xist*的B-repeat结合,并招募多梳抑制复合物1(polycomb repressive complex 1, PRC1)和PRC2对即将失活的X染色体分别进行H2AK119u1和H3K27me3修饰。敲除*B-repeat*会影响PRC1/2的招募,而PRC1/2的丢失会阻碍*Xist*的传播,表明了RNA-蛋白质相互作用是一种正反馈机制<sup>[68]</sup>。

#### 4.3 hnRNPU

异质核糖核蛋白U(heterogeneous nuclear ribonucleoprotein U, hnRNPU)是*Xist*在Xi上积累所

必需的。hnRNPU通过 RGG RNA结合域直接与*Xist* RNA的E-repeat(位于7号外显子)相互作用,当*hnRNPU*缺失时,*Xist* RNA从Xi分离并扩散到核质中。缺乏*hnRNPU*表达的ES细胞不能形成Xi<sup>[81]</sup>。此外,在*Xist* RNA 7号外显子突变体细胞实验中,突变体*Xist* RNA和hnRNPU之间的相互作用被破坏,使*Xist* RNA无法定位到本应失活的X染色体上。*Xist* RNA的第7外显子在*Xist* RNA的定位和Xi上X连锁基因的沉默中发挥了重要作用<sup>[73]</sup>。

#### 4.4 PTBP1、MATR3、TDP-43、CELF1蛋白复合体

当XCI进行到中后期,*Xist*会扩散并停止转录,此时的基因沉默仍然稳定,逐渐过渡到XCI的维持阶段<sup>[82]</sup>。*Xist* RNA结合蛋白PTBP1、MATR3、TDP-43和CELF1会聚集在*Xist*的E-repeat上,并通过自我聚集和异型蛋白-蛋白相互作用,以“液-液相分离”的方式与*Xist*在Xi中形成一个凝聚体。这种凝聚体是基因沉默和*Xist*锚定在Xi区域所必需的,并且可以在没有*Xist* RNA的情况下维持X染色体的失活状态。值得注意的是,这些E-repeat结合蛋白在Xi过渡到不依赖*Xist*的XCI阶段至关重要,是XCI由依赖*Xist*过渡到不依赖*Xist*的基础<sup>[70]</sup>。

#### 4.5 CIZ1

核基质蛋白Cip1相互作用锌指蛋白1(nuclear matrix protein Cip1-interacting zinc finger protein 1, CIZ1)的功能与细胞周期蛋白相关的DNA复制有关。*CIZ1*基因缺失的小鼠,虽然能存活,但会表现出雌性特异性淋巴增生性疾病。在小鼠和人类雌性细胞

中, *CIZ1* 高度富集在不活跃的 X 染色体 (Xi) 上, 并通过与 RNA 依赖的核基质的相互作用而被保留下来。*CIZ1* 与 *Xist* RNA 在单分子水平上紧密关联, 且 *CIZ1* 可与 *Xist* 7 号外显子中的 E-repeat 相互作用。雌性细胞中 *CIZ1* 的缺失或 E-repeat 的缺失会导致 *Xist* RNA 分散到核质中。有趣的是, 在来自 *CIZ1* 敲除胚胎的小鼠胚胎成纤维细胞中, *Xist* RNA 的定位被破坏, 其在细胞核中高度分散, 而恢复 *CIZ1* 的表达可使 *Xist* 重新定位于 X 染色体上<sup>[71-72]</sup>。

#### 4.6 METTL3、RBM15、RBM15B 蛋白复合体

甲基转移酶 3 (methyltransferase like 3, METTL3), 是一种 m<sup>6</sup>A 的甲基转移酶, 它可与 *XIST* 的 A-repeat 相互作用。在人类细胞中, *XIST* 中至少有 78 个 N<sup>6</sup>-甲基腺苷 (m<sup>6</sup>A) 高度甲基化, 这是 RNA 上一种重要的可逆碱基修饰。研究人员发现, 在 *XIST* 和其他 mRNA 中, m<sup>6</sup>A 的形成是由 RNA 结合基序蛋白 15 (RNA-binding motif protein 15, RBM15) 及 RBM15B 介导的, RBM15B 结合 m<sup>6</sup>A 甲基化酶复合物, 并将该复合物募集到 RNA 中的特定位点。对 m<sup>6</sup>A 结合蛋白的系统比较表明, YTHDC1 优先识别 *XIST* 上的 m<sup>6</sup>A 残基, 是 *XIST* 发挥功能所必需的。此外, 敲低 *RBM15*、*RBM15B* 或 *METTL3*, 也会破坏 *XIST* 介导的基因沉默<sup>[66]</sup>。

#### 4.7 LBR

核纤层蛋白 B 受体 (lamin B receptor, LBR), 是一种核纤层的重要组分。有研究报道, *Xist* 通过 F-repeat 直接与 LBR 相互作用, 而这种相互作用是 *Xist* 介导的沉默所必需的, LBR 通过将失活的 X 染色体招募到核纤层, 通过 Xi 向核纤层的招募, 改变了 X 染色体在细胞核中的定位, 逐渐将 X 染色体移动到转录不活跃的区域, 致使 X 染色体的转录水平降低<sup>[67]</sup>。

### 5 人、小鼠以及食蟹猴 XCI 的异同

在雌性小鼠发育过程中, *Xist* 的表达始于早期胚胎 ZGA 时期的 Xp, 转录出的 *Xist* 会逐渐包裹 Xp, 诱导抑制性修饰, 使 Xp 在 4 至 8 细胞期沉默。Xp 随着胚胎发育在滋养层细胞中保持沉默, 而在内细胞团细胞中随着 *Xist* 的下调和抑制性修饰的擦除而被重新激活, 胚胎着床后在外胚层中出现 rXCI。在雄性小鼠中, Xm 上的 *Xist* 被高水平的 H3K9me3 和 H3K27me3 修饰所抑制, 并且 Xm 在整个发育过程中是活跃的<sup>[39,83]</sup>。

在人类胚胎发育过程中, *XIST* 没有印记修饰,

*XIST* 在合子基因组激活 (8 细胞期) 时从 Xp 和 Xm 开始表达, 并且顺式包裹两条 X 染色体, *XIST* 呈弥散状分布, 且不会介导 H3K27me3 的积累, 这种状态被称为 X 染色体抑制 (X chromosome dampening, XCD), XCD 会一直持续到囊胚期<sup>[84]</sup>。*XACT* (X active coating transcript) 是一种人类特有的 lncRNA, 它在人类着床前胚胎、原始生殖细胞和多能干细胞中活跃的 X 染色体上表达, 能够拮抗 *XIST* 的功能<sup>[15,85-86]</sup>。在人类早期着床前胚胎和 Naïve 状态的人类胚胎干细胞中, *XACT* 和 *XIST* 在活性 X 染色体上均能被激活和积累。在有 *XACT* 存在的情况下, *XIST* 在人类胚胎干细胞内的分布会处于高度弥散状态, 而非像小鼠那样集中定位于失活的 X 染色体上, 这可能解释了为什么它在这个阶段没有触发 XCI。在转基因小鼠细胞中的功能研究表明, *XACT* 会影响 *XIST* 的顺式积累。因此, 在人类早期胚胎中, *XACT* 对 *XIST* 的这种拮抗机制暗示了 lncRNA 对物种特定的发育机制快速演变的贡献<sup>[86]</sup>。关于 *XIST* 是否会抑制人类 X 染色体的活性, 目前的研究并无明确结论<sup>[85-88]</sup>。人胚胎中 XCI 发生在着床后<sup>[30,89]</sup>, 但其具体机制和细节目前仍不清楚。体外胚胎是否能很好地模拟体内发育也需要更多的研究。此外, 雌性人类胚胎干细胞 (human embryonic stem cells, hESCs) 和诱导多能干细胞的 XCI 特性与雌性小鼠胚胎干细胞 (mouse embryonic stem cells, mESCs) 明显不同<sup>[38,90-91]</sup>。

最近, 食蟹猴 XCI 的研究取得了一定进展<sup>[92]</sup>。我们借此比较了人、小鼠以及食蟹猴 XCI 的异同 (表 1)。食蟹猴的雌性胚胎在父源和母源的两条 X 染色体中均表达 *XIST*。*XIST* RNA 以顺式方式包裹两条 X 染色体, 并诱导抑制性修饰 H2AK119u1 和 H3K27me3。然而, 直到第 9 天的囊胚阶段, 大多数 X 染色体仍然是活跃的。随后, 在维持活跃状态的 X 染色体上, *XIST* 被抑制, 抑制性修饰被擦除。而在拟失活的 X 染色体上, *XIST* 的上调和抑制性修饰的富集会继续进行, 使整个染色体浓缩为 Xi。这些事件发生在胚胎和胚胎外组织中, TE 衍生的细胞滋养层 (cytotrophoblast) (约 E11) 较早完成了 XCI, 在胚胎着床后 ICM 衍生的羊膜、Epi 和 Hypo (约 E15) 较晚建立 XCI。雄性胚胎的 X 染色体在早期胚胎发育时期发生了同样的事件, *XIST* RNA 包裹 X 染色体并导致 H3K27me3 和 H2AK119u1 两种修饰富集, 到着床前后 *XIST* 又停止表达, 同时抑制性修饰也被擦除。

表1 人、小鼠以及食蟹猴XCI的异同<sup>[38,92]</sup>Table 1 Similarities and differences of XCI in human, mouse and cynomolgus monkey<sup>[38,92]</sup>

物种 Species	<i>XIST</i> 首次表达时期 <i>XIST</i> first expression period	<i>XIST</i> 在着床前是否双等位表达 Is <i>XIST</i> biallelic expression before implantation	是否存在印记失活 Presence or absence of iXCI	<i>XIST</i> 与抑制性修饰是否同步 Is <i>XIST</i> synchronized with inhibitory modifications
Human	4-8 cell*	Yes	No	No
Mouse	2-4 cell*	No	Yes	Yes
Cynomolgus monkey	Blastocyst	Yes	No	Yes

\*表示该物种的合子基因组激活时期。

\* indicates the period of ZGA of the specie.

## 6 其他哺乳动物

其他哺乳动物的XCI模式及机制研究较少。有文献报道兔不存在印记失活现象, *XIST*在合子基因组激活时期(8细胞时期)开始在两条X染色体同时表达, 并促进两条X染色体上H3K27me3的募集, 但这并不会引起两条X染色体的失活。研究者提出了两种猜测, 一是随着胚胎发育胚胎细胞会逆转其中一条X染色体上的XCI; 二是这种双Xi胚胎细胞增殖得更慢, 最终被只具有一条活性X染色体的细胞所取代, 这种情况可能性较高, 因为兔胚胎在100~120细胞这一时期会发生大量细胞增殖<sup>[84]</sup>。目前, 在猪中也未发现印记失活现象, 并且可以在猪囊胚中检测到*XIST*基因呈双等位基因表达, 现有文献提示XCI建立发生在胚胎发育的第10到11天, 在第10天可以检测到明显的H3K27me3凝集信号<sup>[93-94]</sup>。

## 7 展望

对哺乳动物早期发育中XCI的研究, 可以加深我们对基因表达调控的认知。在XCI期间X染色体发生的剧烈结构变化, 染色质状态的改变与Xi上大多数基因的稳定抑制有关。然而, 并不是所有的X染色体连锁基因都以相同的方式受到影响, 一些基因被沉默的速度比其他基因快得多, 而另一些却保留完整的转录活性。造成基因失活过程多样性的原因尚不清楚。通过研究XCI并了解这一现象, 我们可以认识到更多的基因调控机制, 从而开发出更多的基因调控技术。

在早期胚胎发育中存在的XCI现象, 不仅可以平衡两性间X染色体的基因表达水平, 而且还与细胞多能性相关。Naïve多能性状态的雌性小鼠胚胎干细胞有两条活跃X染色体, 而着床后上胚层来源的小鼠Primed状态胚胎干细胞有一条X染色体发生失活。此外, 在体细胞核移植(somatic cell nuclear

transfer, SCNT)胚胎中存在X染色体异常失活的问题, 研究XCI现象, 有助于提升SCNT胚胎出生率。最后, 现有研究表明XCI在不同哺乳动物中存在较大物种差异, 这就要求我们对小鼠、灵长类以外的哺乳动物, 尤其是家畜的XCI机制进行深入研究。

## 参考文献 (References)

- [1] WATERS P D, WALLIS M C, MARSHALL GRAVES J A. Mammalian sex: origin and evolution of the Y chromosome and SRY [J]. *Semin Cell Dev Biol*, 2007, 18(3): 389-400.
- [2] BACHTROG D. Y-chromosome evolution: emerging insights into processes of Y-chromosome degeneration [J]. *Nat Rev Genet*, 2013, 14(2): 113-24.
- [3] COLACO S, MODI D. Genetics of the human Y chromosome and its association with male infertility [J]. *Reprod Biol Endocrinol*, 2018, 16(1): 14.
- [4] LINK J C, WIESE C B, CHEN X, et al. X chromosome dosage of histone demethylase KDM5C determines sex differences in adiposity [J]. *J Clin Invest*, 2020, 130(11): 5688-702.
- [5] ZORE T, PALAFOX M, REUE K. Sex differences in obesity, lipid metabolism, and inflammation: a role for the sex chromosomes [J]? *Mol Metab*, 2018, 15: 35-44.
- [6] JUCHNIEWICZ P, PIOTROWSKA E, KLOSKA A, et al. Dosage compensation in females with X-linked metabolic disorders [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(9): 4514.
- [7] BACHER C P, GUGGIARI M, BRORS B, et al. Transient colocalization of X-inactivation centres accompanies the initiation of X inactivation [J]. *Nat Cell Biol*, 2006, 8(3): 293-9.
- [8] HORE T A, KOINA E, WAKEFIELD M J, et al. The region homologous to the X-chromosome inactivation centre has been disrupted in marsupial and monotreme mammals [J]. *Chromosome Res*, 2007, 15(2): 147-61.
- [9] BALATON B P, FORNES O, WASSERMAN W W, et al. Cross-species examination of X-chromosome inactivation highlights domains of escape from silencing [J]. *Epigenetics Chromatin*, 2021, 14(1): 12.
- [10] LYON M F. Gene action in the X-chromosome of the mouse (*Mus musculus* L.) [J]. *Nature*, 1961, 190: 372-3.
- [11] BROWN C J, BALLABIO A, RUPERT J L, et al. A gene from the region of the human X inactivation centre is expressed exclusively from the inactive X chromosome [J]. *Nature*, 1991, 349(6304): 38-44.

- [12] LATHAM K E. X chromosome imprinting and inactivation in the early mammalian embryo [J]. *Trends Genet*, 1996, 12(4): 134-8.
- [13] BROWN C J, BALDRY S E. Evidence that heteronuclear proteins interact with XIST RNA *in vitro* [J]. *Somat Cell Mol Genet*, 1996, 22(5): 403-17.
- [14] LEE J, DAVIDOW L S, WARSHAWSKY D J N G. Tsix, a gene antisense to Xist at the X-inactivation centre [J]. *Nat Genet*, 1999, 21(4): 400-4.
- [15] VALLOT C, HURET C, LESECQUE Y, et al. XACT, a long noncoding transcript coating the active X chromosome in human pluripotent cells [J]. *Nat Genet*, 2013, 45(3): 239-41.
- [16] OKAMOTO I, OTTE A P, ALLIS C D, et al. Epigenetic dynamics of imprinted X inactivation during early mouse development [J]. *Science*, 2004, 303(5658): 644-9.
- [17] MAK W, NESTEROVA T B, DE NAPOLES M, et al. Reactivation of the paternal X chromosome in early mouse embryos [J]. *Science*, 2004, 303(5658): 666-9.
- [18] KOBAYASHI S. Live imaging of X chromosome inactivation and reactivation dynamics [J]. *Dev Growth Differ*, 2017, 59(6): 493-500.
- [19] CHENG S, PEI Y, HE L, et al. Single-cell RNA-seq reveals cellular heterogeneity of pluripotency transition and X chromosome dynamics during early mouse development [J]. *Cell Rep*, 2019, 26(10): 2593-607.e3.
- [20] VAN DEN BERG I M, GALJAARD R J, LAVEN J S, et al. XCI in preimplantation mouse and human embryos: first there is remodelling [J]. *Hum Genet*, 2011, 130(2): 203-15.
- [21] REBUZZINI P, ZUCCOTTI M, GARAGNA S. X-chromosome inactivation during preimplantation development and in pluripotent stem cells [J]. *Cytogenet Genome Res*, 2020, 160(6): 283-94.
- [22] TALON I, JANISZEWSKI A, CHAPPELL J, et al. Recent advances in understanding the reversal of gene silencing during X chromosome reactivation [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2019, 7: 169.
- [23] LIFSCHYTZ E, LINDSLEY D L. The role of X-chromosome inactivation during spermatogenesis [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1972, 69(1): 182-6.
- [24] NAMEKAWA S H, PARK P J, ZHANG L F, et al. Postmeiotic sex chromatin in the male germline of mice [J]. *Curr Biol*, 2006, 16(7): 660-7.
- [25] LEE J T, BARTOLOMEI M S. X-inactivation, imprinting, and long noncoding RNAs in health and disease [J]. *Cell*, 2013, 152(6): 1308-23.
- [26] HUYNH K D, LEE J T J N. Inheritance of a pre-inactivated paternal X chromosome in early mouse embryos [J]. 2003, 426(6968): 857-62.
- [27] HARAMOTO Y, SAKATA M, KOBAYASHI S. Visualization of X chromosome reactivation in mouse primordial germ cells *in vivo* [J]. *Biol Open*, 2021, 10(4): bio058602.
- [28] OHHATA T, WUTZ A. Reactivation of the inactive X chromosome in development and reprogramming [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2013, 70(14): 2443-61.
- [29] KOBAYASHI T, SURANI M A. On the origin of the human germline [J]. *Development*, 2018, 145(16): 489-99.
- [30] CHITIASHVILI T, DROR I, KIM R, et al. Female human primordial germ cells display X-chromosome dosage compensation despite the absence of X-inactivation [J]. *Nat Cell Biol*, 2020, 22(12): 1436-46.
- [31] PACINI G, DUNKEL I, MAGES N, et al. Integrated analysis of Xist upregulation and X-chromosome inactivation with single-cell and single-allele resolution [J]. *Nat Commun*, 2021, 12(1): 3638.
- [32] LU Z, GUO J K, WEI Y, et al. Structural modularity of the XIST ribonucleoprotein complex [J]. *Nat Commun*, 2020, 11(1): 6163.
- [33] HALL L L, LAWRENCE J B. XIST RNA and architecture of the inactive X chromosome implications for the repeat genome; proceedings of the Cold Spring Harbor symposia on quantitative biology, F, 2010 [C]. Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2010, 75: 345-56.
- [34] DIXON-MCDOUGALL T, BROWN C J. Multiple distinct domains of human XIST are required to coordinate gene silencing and subsequent heterochromatin formation [J]. *Epigenetics Chromatin*, 2022, 15(1): 6.
- [35] LODA A, COLLOMBET S, HEARD E. Gene regulation in time and space during X-chromosome inactivation [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2022, 23(4): 231-49.
- [36] TJALSMA S J D, HORI M, SATO Y, et al. H4K20me1 and H3K27me3 are concurrently loaded onto the inactive X chromosome but dispensable for inducing gene silencing [J]. *EMBO Rep*, 2021, 22(3): e51989.
- [37] BROCKDORFF N, BOWNESS J S, WEI G J G, et al. Progress toward understanding chromosome silencing by Xist RNA [J]. 2020, 34(11/12): 733-44.
- [38] PATRAT C, OUIMETTE J F, ROUGEULLE C. X chromosome inactivation in human development [J]. *Development*, 2020, 147(1): dev183095.
- [39] INOUE A, JIANG L, LU F, et al. Genomic imprinting of Xist by maternal H3K27me3 [J]. *Genes Dev*, 2017, 31(19): 1927-32.
- [40] NORA E P, LAJOIE B R, SCHULZ E G, et al. Spatial partitioning of the regulatory landscape of the X-inactivation centre [J]. *Nature*, 2012, 485(7398): 381-5.
- [41] HWANG J Y, CHOI K H, LEE C K. Data for identification of porcine X-chromosome inactivation center, XIC, by genomic comparison with human and mouse XIC [J]. *Data Brief*, 2015, 5: 1072-7.
- [42] MARKAKI Y, GAN CHONG J, WANG Y, et al. Xist nucleates local protein gradients to propagate silencing across the X chromosome [J]. *Cell*, 2021, 184(25): 6174-92.e32.
- [43] VAN BEMMEL J G, MIRA-BONTENBAL H, GRIBNAU J. Cis- and trans-regulation in X inactivation [J]. *Chromosoma*, 2016, 125(1): 41-50.
- [44] FURLAN G, ROUGEULLE C. Function and evolution of the long noncoding RNA circuitry orchestrating X-chromosome inactivation in mammals [J]. *Wiley Interdiscip Rev RNA*, 2016, 7(5): 702-22.
- [45] SAHAKYAN A, YANG Y, PLATH K. The role of Xist in X-chromosome dosage compensation [J]. *Trends Cell Biol*, 2018, 28(12): 999-1013.
- [46] MIGEON B R, CHOWDHURY A K, DUNSTON J A, et al. Identification of TSIX, encoding an RNA antisense to human XIST, reveals differences from its murine counterpart: implications for X inactivation [J]. *Am J Hum Genet*, 2001, 69(5): 951-60.
- [47] MLYNARCZYK S K, PANNING B J C B. X inactivation: Tsix and Xist as yin and yang [J]. *Curr Biol*, 2000, 10(24): R899-



- R903.
- [48] ERWIN J A, LEE J T. New twists in X-chromosome inactivation [J]. *Curr Opin Cell Biol*, 2008, 20(3): 349-55.
- [49] KUNG J T, KESNER B, AN J Y, et al. Locus-specific targeting to the X chromosome revealed by the RNA interactome of CTCF [J]. *Mol Cell*, 2015, 57(2): 361-75.
- [50] FURLAN G, GUTIERREZ HERNANDEZ N, HURET C, et al. The Ftx noncoding locus controls X chromosome inactivation independently of its RNA products [J]. *Mol Cell*, 2018, 70(3): 462-72.e8.
- [51] LI W, NOTANI D, ROSENFELD M G. Enhancers as non-coding RNA transcription units: recent insights and future perspectives [J]. *Nat Rev Genet*, 2016, 17(4): 207-23.
- [52] TIAN D, SUN S, LEE J T. The long noncoding RNA, Jpx, is a molecular switch for X chromosome inactivation [J]. *Cell*, 2010, 143(3): 390-403.
- [53] KARNER H, WEBB C H, CARMONA S, et al. Functional conservation of lncRNA JPX despite sequence and structural divergence [J]. *J Mol Biol*, 2020, 432(2): 283-300.
- [54] JONKERS I, BARAKAT T S, ACHAME E M, et al. RNF12 is an X-Encoded dose-dependent activator of X chromosome inactivation [J]. *Cell*, 2009, 139(5): 999-1011.
- [55] WANG F, BACH I. Rlim/Rnf12, Rex1, and X chromosome inactivation [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2019, 7: 258.
- [56] SHIN J, BOSSENZ M, CHUNG Y, et al. Maternal Rnf12/RLIM is required for imprinted X-chromosome inactivation in mice [J]. *Nature*, 2010, 467(7318): 977-81.
- [57] GONTAN C, MIRA-BONTENBAL H, MAGARAKI A, et al. REX1 is the critical target of RNF12 in imprinted X chromosome inactivation in mice [J]. *Nat Commun*, 2018, 9(1): 4752.
- [58] ZHAO J, SUN B K, ERWIN J A, et al. Polycomb proteins targeted by a short repeat RNA to the mouse X chromosome [J]. *Science*, 2008, 322(5902): 750-6.
- [59] AGUILAR R, SPENCER K B, KESNER B, et al. Targeting Xist with compounds that disrupt RNA structure and X inactivation [J]. *Nature*, 2022, 604(7904): 160-6.
- [60] TONG C, YIN Y. Localization of RNAs in the nucleus: cis- and trans- regulation [J]. *RNA Biol*, 2021, 18(12): 2073-86.
- [61] RAPOSO A C, CASANOVA M, GENDREL A V, et al. The tandem repeat modules of Xist lncRNA: a swiss army knife for the control of X-chromosome inactivation [J]. *Biochem Soc Trans*, 2021, 49(6): 2549-60.
- [62] BOEREN J, GRIBNAU J. Xist-mediated chromatin changes that establish silencing of an entire X chromosome in mammals [J]. *Curr Opin Cell Biol*, 2021, 70: 44-50.
- [63] MINAJIGI A, FROBERG J, WEI C, et al. Chromosomes. A comprehensive Xist interactome reveals cohesin repulsion and an RNA-directed chromosome conformation [J]. *Science*, 2015, doi: 10.1126/science.aab2276.
- [64] MCHUGH C A, CHEN C K, CHOW A, et al. The Xist lncRNA interacts directly with SHARP to silence transcription through HDAC3 [J]. *Nature*, 2015, 521(7551): 232-6.
- [65] CHU C, ZHANG Q C, DA ROCHA S T, et al. Systematic discovery of Xist RNA binding proteins [J]. *Cell*, 2015, 161(2): 404-16.
- [66] PATIL D P, CHEN C K, PICKERING B F, et al. m(6)A RNA methylation promotes XIST-mediated transcriptional repression [J]. *Nature*, 2016, 537(7620): 369-73.
- [67] CHEN C K, BLANCO M, JACKSON C, et al. Xist recruits the X chromosome to the nuclear lamina to enable chromosome-wide silencing [J]. *Science*, 2016, 354(6311): 468-72.
- [68] COLOGNORI D, SUNWOO H, KRIZ A J, et al. Xist deletional analysis reveals an interdependency between Xist RNA and polycomb complexes for spreading along the inactive X [J]. *Mol Cell*, 2019, 74(1): 101-17.e10.
- [69] MONFORT A, DI MININ G, POSTLMAYR A, et al. Identification of Spen as a crucial factor for Xist function through forward genetic screening in haploid embryonic stem cells [J]. *Cell Rep*, 2015, 12(4): 554-61.
- [70] PANDYA-JONES A, MARKAKI Y, SERIZAY J, et al. A protein assembly mediates Xist localization and gene silencing [J]. *Nature*, 2020, 587(7832): 145-51.
- [71] RIDINGS-FIGUEROA R, STEWART E R, NESTEROVA T B, et al. The nuclear matrix protein CIZ1 facilitates localization of Xist RNA to the inactive X-chromosome territory [J]. *Genes Dev*, 2017, 31(9): 876-88.
- [72] SUNWOO H, COLOGNORI D, FROBERG J E, et al. Repeat E anchors Xist RNA to the inactive X chromosomal compartment through CDKN1A-interacting protein (CIZ1) [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2017, 114(40): 10654-9.
- [73] YAMADA N, HASEGAWA Y, YUE M, et al. Xist exon 7 contributes to the stable localization of Xist RNA on the inactive X-chromosome [J]. *PLoS Genet*, 2015, 11(8): e1005430.
- [74] WUTZ A, RASMUSSEN T P, JAENISCH R. Chromosomal silencing and localization are mediated by different domains of Xist RNA [J]. *Nat Genet*, 2002, 30(2): 167-74.
- [75] SARKAR R, BANERJEE S, AMIN S A, et al. Histone deacetylase 3 (HDAC3) inhibitors as anticancer agents: a review [J]. *Eur J Med Chem*, 2020, 192: 112171.
- [76] COLOGNORI D, SUNWOO H, WANG D, et al. Xist repeats A and B account for two distinct phases of X inactivation establishment [J]. *Dev Cell*, 2020, 54(1): 21-32.e5.
- [77] COLOGNORI D, SUNWOO H, WANG D, et al. Xist repeat A contributes to early recruitment of Polycomb complexes during X-chromosome inactivation [J]. *Dev Cell*, 2021, 56(9): 1236-7.
- [78] ROBERT-FINESTRA T, TAN B F, MIRA-BONTENBAL H, et al. SPEN is required for Xist upregulation during initiation of X chromosome inactivation [J]. *Nat Commun*, 2021, 12(1): 7000.
- [79] WANG Z, QIU H, HE J, et al. The emerging roles of hnRNPK [J]. *J Cell Physiol*, 2020, 235(3): 1995-2008.
- [80] GALLARDO M, LEE H J, ZHANG X, et al. hnRNP K is a haploinsufficient tumor suppressor that regulates proliferation and differentiation programs in hematologic malignancies [J]. *Cancer Cell*, 2015, 28(4): 486-99.
- [81] HASEGAWA Y, BROCKDORFF N, KAWANO S, et al. The matrix protein hnRNP U is required for chromosomal localization of Xist RNA [J]. *Dev Cell*, 2010, 19(3): 469-76.
- [82] WUTZ A, JAENISCH R J M C. A shift from reversible to irreversible X inactivation is triggered during ES cell differentiation [J]. *Mol Cell*, 2000, 5(4): 695-705.
- [83] FUKUDA A, TOMIKAWA J, MIURA T, et al. The role of maternal-specific H3K9me3 modification in establishing imprinted X-chromosome inactivation and embryogenesis in mice [J]. *Nat Commun*, 2014, 5: 5464.

- [84] OKAMOTO I, PATRAT C, THEPOT D, et al. Eutherian mammals use diverse strategies to initiate X-chromosome inactivation during development [J]. *Nature*, 2011, 472(7343): 370-4.
- [85] PETROPOULOS S, EDSGARD D, REINIUS B, et al. Single-cell RNA-Seq reveals lineage and X chromosome dynamics in human preimplantation embryos [J]. *Cell*, 2016, 165(4): 1012-26.
- [86] VALLOT C, PATRAT C, COLLIER A J, et al. XACT noncoding RNA competes with XIST in the control of X chromosome activity during human early development [J]. *Cell Stem Cell*, 2017, 20(1): 102-11.
- [87] MOREIRA DE MELLO J C, FERNANDES G R, VIBRANOVSKI M D, et al. Early X chromosome inactivation during human preimplantation development revealed by single-cell RNA-sequencing [J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 10794.
- [88] ZHOU Q, WANG T, LENG L, et al. Single-cell RNA-seq reveals distinct dynamic behavior of sex chromosomes during early human embryogenesis [J]. *Mol Reprod Dev*, 2019, 86(7): 871-82.
- [89] ZHOU F, WANG R, YUAN P, et al. Reconstituting the transcriptome and DNA methylome landscapes of human implantation [J]. *Nature*, 2019, 572(7771): 660-4.
- [90] MEKHOUBAD S, BOCK C, DE BOER A S, et al. Erosion of dosage compensation impacts human iPSC disease modeling [J]. *Cell Stem Cell*, 2012, 10(5): 595-609.
- [91] NAZOR K L, ALTUN G, LYNCH C, et al. Recurrent variations in DNA methylation in human pluripotent stem cells and their differentiated derivatives [J]. *Cell Stem Cell*, 2012, 10(5): 620-34.
- [92] OKAMOTO I, NAKAMURA T, SASAKI K, et al. The X chromosome dosage compensation program during the development of cynomolgus monkeys [J]. *Science*, 2021, 374(6570): eabd8887.
- [93] ZOU H, YU D, DU X, et al. No imprinted XIST expression in pigs: biallelic XIST expression in early embryos and random X inactivation in placentas [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2019, 76(22): 4525-38.
- [94] RAMOS-IBEAS P, SANG F, ZHU Q, et al. Pluripotency and X chromosome dynamics revealed in pig pre-gastrulating embryos by single cell analysis [J]. *Nat Commun*, 2019, 10(1): 500.