

히스톤 메틸화 변형을 통한 배아줄기세포의 후성 유전학적 조절

하양화 · 김영은 · 박정아 · 박상규 · 이영희[†]

충북대학교 자연과학대학 생화학과

Epigenetic Regulation by Modification of Histone Methylation in Embryonic Stem Cells

Yang-Hwa Ha, Young-Eun Kim, Jeong-A Park, Sang-Kyu Park and Younghee Lee[†]

Dept. of Biochemistry, College of Natural Sciences, Chungbuk National University, Cheongju 361-763, Korea

ABSTRACT : Epigenetic regulation is a phenomenon that changes the gene function without changing the underlying DNA sequences. Epigenetic status of chromosome is regulated by mechanisms such as histone modification, DNA modification, and RNAi silencing. In this review, we focused on histone methylation for epigenetic regulation in ES cells. Two antagonizing multiprotein complexes regulate methylation of histones to guide expression of genes in ES cells. The Polycomb repressive complex 2 (PRC2), including EED, EZH2, and SUZ12 as core factors, contributes to gene repression by increasing trimethylation of H3K27 (H3K27me3). In contrast, the Trithorax group (TrxG) complex including MLL is related to gene activation by making H3K4me3. PRC2 and TrxG accompany a variety of accessory proteins. Most prominent feature of epigenetic regulation in ES cells is a bivalent state in which H3K27me3 and H3K4me3 appear simultaneously. Concerted regulation of PRC2, TrxG complex, and H3K4- or H3K27-specific demethylases activate expression of pluripotency-related genes and suppress development-related genes in ES cells. Modified balance of the regulators also enables ES cells to efficiently differentiate to a variety of cells upon differentiating signals. More detailed insights on the epigenetic regulators and their action will lead us to better understanding and use of ES cells for future application.

Key words : Epigenetics, Histone methylation, Embryonic stem cells, Activation, Suppression, Bivalency

요약 : 후성유전학적 조절은 DNA 서열상의 변화 없이도 유전자의 기능을 변화시킬 수 있는 현상을 뜻한다. 염색체의 후성유전학적 상태는 히스톤 변형, DNA 변형 그리고 RNAi에 의한 유전자 침묵 등에 의해 조절된다. 본 총설에서는 배아 줄기세포에서의 후성 유전학적 조절에 영향을 주는 요인으로서 히스톤(histone)의 메틸화에 초점을 맞추었다. 배아줄기세포에서 발현되는 유전자의 조절에는 두 가지 단백질 복합체가 관여한다. Polycomb repressive complex 2(PRC2)는 EED, EZH2, SUZ12를 주요인자로 포함하며, H3K27의 trimethylation(H3K27me3)을 증가시킴으로써 유전자의 발현을 억제한다. 이와는 대조적으로 Trithorax group(TrxG) 복합체는 주요인자로 MLL family를 포함하며, H3K4의 trimethylation(H3K4me3) 시킴으로써 유전자의 발현을 활성화한다. PRC2 및 TrxG는 다양한 보조 단백질을 포함한다. 배아줄기세포에서 후성유전학적 조절의 두드러진 특징은 H3K27me3과 H3K4me3이 동시에 나타나는 이가 상태(bivalent state)이다. PRC2와 TrxG 복합체 그리고 H3K4나 H3K27의 메틸화에 특이적으로 작용하는 탈메틸효소(demethylase)가 한데 어우러져 배아줄기세포에서 만능성 관련 유전자와 발달 관련 유전자의 발현을 조절함으로써 줄기세포의 유지 및 분화에 기여한다. 따라서 후성 유전학적 조절인자들에 대한 보다 자세한 연구는 배아줄기세포를 보다 잘 이해하고 활용하는데 도움을 줄 것이다.

서론

“후성 유전학적 조절(epigenetic regulation)”이란 반세기 전에 Waddington에 의해 처음으로 명명된 용어로서, DNA 서열의 변화는 없으나 유전자의 기능을 변화시킬 수 있으며,

[†] 교신저자: 이영희, 충청북도 청주시 흥덕구 내수동로 52 충북대학교 자연과학대학 생화학과. (우) 361-763, (전) 043-261-3387, (팩) 043-261-2306, E-mail: YHL4177@cbnu.ac.kr

유전자의 발현 양상이 다음 세대로 유전되는 현상을 뜻한다 (Goldberg et al., 2008). 후성 유전학적 조절은 DNA의 메틸화, 히스톤 변형, non-coding RNA의 작용 등에 의해 이루어진다. 히스톤 변형은 뉴클레오솜(nucleosome)을 형성하여 DNA와 결합하고 있는 단백질인 히스톤에 메틸기, 아세틸기, 인산기, 유비퀴틴 등을 붙이거나 제거함으로써, 히스톤이 응축하고 있는 euchromatin을 형성하여 유전자의 발현을 억제하거나 히스톤이 분리된 heterochromatin을 형성하여 유전자의 발현을 활성화한다(Grewal et al., 2003).

배아줄기세포가 다양한 형태로 분화할 수 있는 능력(pluripotency, 만능성)은 분화가 진행됨에 따라 점차 축소하며, 이는 후성 유전학적 조절에 의한 유전자 침묵에 의해 이루어진다. 배아줄기세포에서 후성 유전학적 특성은 줄기세포의 자가 재생 능력과 특정 세포로의 분화 과정에 모두 관여하며, 미분화를 유지하는 전사인자(OCT4, SOX2, NANOG)나 줄기세포의 분화를 조절하는 전사 인자(CDX2, GATA4)들이 서로 상호작용하여 하나의 네트워크를 형성함으로써 유전자의 발현을 정교하게 조절하는 것으로 보인다(Chen et al., 2008).

본 총설에서는 배아줄기세포에서 이루어지는 후성유전학적 조절의 기전 중 히스톤 메틸화를 중점적으로 다루고자 한다. 특히, H3K4과 H3K27의 메틸화에 의한 후성 유전학적 조절이 미분화된 상태의 배아줄기세포 및 분화과정의 세포에서 유전자의 발현을 어떻게 조절하는가에 대한 최근 연구 결과를 정리하여 제시하고자 한다.

히스톤 메틸화 조절 인자의 구성

히스톤 메틸화는 Polycomb repressive complex 2(PCR2)와 Trithorax group complex(TrxG 복합체)에 의해 조절된다. Fig. 1은 PCR2와 TrxG 복합체의 구성인자 및 기능을 도식화하여 보여주고 있다. PCR2와 TrxG 복합체는 각각 H3K27 (histone H3 Lys27)과 H3K4(histone H3 Lys4)를 메틸화함으로써 히스톤 활성화에 상반된 영향을 주어 후성 유전적 특성을 결정하는데 중요한 역할을 수행한다(Ringrose1 et al., 2007). H3K27과 H3K4의 탈메틸화(demethylation)에는 각각에 특이적인 효소인 JMJD3, UTX 및 RBP2가 관여한다.

Polycomb Repressive Complex 2(PCR2)

PCR2는 EED, EZH2, SUZ12를 주요 인자로 포함하고 있는 복합체로서 H3K27의 메틸화를 조절하며(Fig. 1), EED, EZH2, SUZ12 등의 PCR2 구성인자들은 배아줄기세포에서 높게 발현된다(Schuettengruber et al., 2008).

EED(Embryonic ectoderm development)는 EZH2와 SUZ12의 안정성을 주기 위해 필요하다(Chamberlain et al., 2008). EZH2(Enhancer of zeste 2)는 EZH1(Enhancer of zeste 1)과 함께 H3K27me3(H3K27 trimethylation)을 증가시키는 histone methyltransferase(HMTase)의 활성을 가지고 있으며, 배아줄기세포에서는 EZH2가 H3K27me3을 증가시키는데 주요 역할을 하므로 EZH1보다 더 많이 발현된다. EZH1은 부분적으로 EZH2의 기능을 보충하며 배아줄기세포의 만능성을 유지하고 H3K27의 methylation을 조절한다(Shen et al., 2008).

SUZ12는 적절한 신호에 반응하여 배아줄기세포가 정상적으로 분화하는데 필요한 인자이다. 줄기세포가 분화하는 동안에 SUZ12는 *Nanog*와 *Oct4*와 같이 배아줄기세포의 미분화 유지를 위해 필요한 유전자를 억제한다. 만약 *Suz12*가 결핍된 배아줄기세포는 분화 조건에서도 미분화 유지에 관련된 유전자를 제대로 억제하지 못하며 분화에 관련된 유전자의 발현도 줄어들어 확인되었다(Pasini et al., 2007).

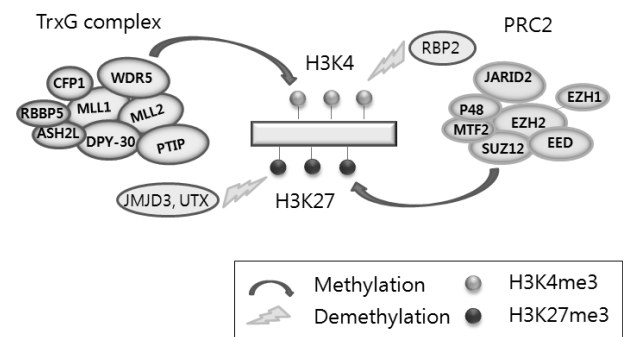


Fig. 1. Machinery of epigenetic regulation in ES cells. PCR2 include EED, SUZ12, and EZH2 as essential factors and several accessory proteins. PCR2 methylates H3K27 residues resulting in increase of H3K27me3. TrxG complex comprises of MLL1, ASH2L, and many other accessory proteins. TrxG complex methylates H3K4 residues to increase the level of H3K4me3. H3K4me3 lose methylation because of K4 specific histone demethylase RBP2. JMJD3 and UTX are K27 specific histone demethylase.

EED, EZH2, SUZ12 외에도 배아줄기세포에서 PRC2의 활성을 조절하는 accessory 인자들이 다양하게 존재한다. 우선 JARID2(Jumonji and ARID(AT rich interactive domain 2)라는 인자는 Jumonji family로서 발달 조절에 필수적인 전사인자와 신호전달 단백질을 암호화하는 유전자의 promoter에 결합하여 배아줄기세포의 초기 배아 발생에 필수적임이 알려졌다. JARID2는 크로마틴 상에서 PRC2의 EZH2와 결합하며 PRC2의 활성을 조절하는 역할을 한다(Shen et al., 2009). 또한 JARID2는 특정유전자의 프로모터에 PcG(polycomb group) 단백질들을 모여들게 하며, 만일 *Jarid2*를 억제하면 유전자의 프로모터에 주요 PcG 단백질들의 결합이 손실된다. 따라서 JARID2는 배아줄기세포의 적절한 분화와 정상적인 발달을 위해서 특정 유전자에 PcG 단백질들이 결합하도록 하는데 필수적이라고 할 수 있다(Pasini et al., 2010).

최근 또 다른 연구에서는 PRC2가 mouse 배아줄기세포에서 JARID2뿐 아니라 MTF2(Metal response element binding transcription factor 2)와 esPRC2p48(ES cell-specific PRC2 subunit p48)과 함께 결합하고 있으며, JARID2, MTF2와 esPRC2p48은 H3K27me3을 증가시키고 분화와 관련된 유전자 발현의 억제를 촉진시킴으로써 PRC2의 중요한 조절자임을 보였다(Zhang et al., 2011).

MTF2는 PCL2(Polycomb-like 2)라고도 알려져 있으며, *Mtf2* 프로모터에는 만능성을 유지하기 위한 핵심 인자인 OCT4와 NANOG가 결합함으로써 MTF2의 발현을 조절한다(Walker et al., 2011). 따라서 MTF2는 배아줄기세포의 자가 재생과 분화 사이에 중요한 역할을 수행하며 PRC2 구성성분인 EZH2와 결합하고 있다. JARID2의 경우 인간 및 생쥐 배아줄기세포에서 공통적으로 발현되지만 MTF2는 생쥐 배아줄기세포에서만 과발현된다(Boulay et al., 2011).

JARID2, MTF2와 esPRC2p48의 발현 수준은 배아줄기세포가 분화하는 동안에 급격하게 줄어들음을 보임으로써 이 세 가지 인자가 만능성 유지와 관련한 유전자의 발현과 연관이 있을 것이라 추측한다. 그리고 PRC2와 세 가지 인자의 HMTase의 활성을 측정함으로써 JARID2와 esPRC2p48이 PRC2의 HMTase의 활성을 직접적으로 조절하여 적절하게 H3K27me3 시킨다는 것을 확인하였고, MTF2인자는 JARID2와 esRPC2p48의 HMTase의 활성을 더욱 더 촉진시킨다는 것을 확인하였다. 또한 JARID2는 JMJD3(Jumonji domain containing 3)의 demethylation으로부터 H3K27을 보호하는

것으로 보인다(Zhang et al., 2011).

Trithorax Group Complex (TrxG 복합체)

TrxG 복합체 또한 초기 배아 발달에 관련된 인자들과 결합하고 있으며, 주요 인자로 MLL(Mixed-lineage leukaemia) family를 가짐으로써 H3K4에 대한 HMTase의 활성을 가지고 있다. 유전자를 억제시키는 역할을 하는 PRC2와는 반대로 TrxG 복합체는 유전자의 활성을 유지하는 역할을 한다. MLL1은 출생 후 신경 줄기세포에서부터 신경발생이 이루어지기 위해 필수적인 인자로서 알려져 있다(Lim et al., 2009).

MLL family 중 하나인 MLL2는 배아 발달 과정에 필수적인 인자이며, 세포의 올바른 자기 사멸을 위해 필요한 인자임이 밝혀졌다. *Mill2*의 손실은 배아줄기세포의 증식에 결점을 보이며 자기사멸을 증가시켰고, 또한 중배엽과 외배엽의 분화를 지연시켰으며, 변형된 내배엽으로의 분화를 보였다. 따라서 배아줄기세포에서의 MLL2는 세 가지 배엽으로의 적절한 분화에 영향을 미친다(Lubitz et al., 2007).

TrxG 복합체 또한 여러 accessory 인자들이 존재하는데, MLL1 복합체의 HMTase의 활성에 직접적인 영향을 주는 ASH2L(Absent small homeotic 2-like)와 RBBP5(Retinoblastoma binding protein 5)가 있으며, 그 외에도 WDR5(WD repeat domain 5), CFP1(Cxxc finger protein 1), DPY-30(DumPY, dosage compensation protein), PTIP(Pax transactivation domain-interacting protein)가 있다.

ASH2L은 MLL2 HMTase의 일부분으로써 mouse 배아 발생에 필요하며, *Ash2l*이 결핍된 배아줄기세포에서는 분화와 관련된 유전자에서 H3K4me3이 줄어들었으며, 배아는 임신기간에 치사되었다. ASH2L은 배반포 단계까지 후성유전체조절을 위해 다량으로 존재하며, 배아줄기세포의 유지와 증식을 위해서도 필요하다(Stoller et al., 2010).

WDR5는 척추동물의 발달과 조골세포의 분화에 필요하다고 알려져 있으며, 배아줄기세포에서 TrxG 복합체의 구성원이며, H3K4me3에 영향을 주는 인자로서 자가 재생 유지에 기여한다고 알려져 있다. WDR5는 *Oct4/Nanog* 유전자의 프로모터에 위치하여 H3K4me3을 직접 조절한다. 즉, WDR5가 OCT4와 상호결합하며 *Oct4/Nanog* 유전자와 같은 줄기세포의 자가 재생에 관여하는 유전자 주변에 위치하여 H3K4me3시킴으로써 만능성 유지와 관련된 유전자의 발

현을 활성화시켜 배아줄기세포의 자가 재생에 관여하게 되는 것이다(Ang et al., 2011).

또한 배아발생에 필요한 인자인 CFP1은 Dnmt1(DNA methyltransferase 1)과 히스톤 H3K4 MTase 복합체에 상호 결합하는 후성유전학적 조절자이다. CFP1의 기능은 시토신 메틸화와 히스톤 변형 사이에 정상적인 후성유전학적 상태를 유지하도록 한다. 또한 CFP1은 조혈세포의 분화에 필요하며 낭배발달 후기에 중요한 인자로 밝혀졌다(Tate et al., 2009).

DPY-30은 ASH2L과 직접 결합하고 있으며, *in vitro*와 *in vivo* 상에서 MLL family 복합체에 의한 H3K4 methylation을 조절한다. *Dpy-30*의 결핍은 배아줄기세포의 자가 재생 능력에는 영향을 주지 않았으나 배아줄기세포의 분화의 잠재력을 변화시켰다(Jiang et al., 2011). 또한 RBBP5도 DPY-30과 유사하게 배아줄기세포가 분화하는 동안에 유전자에 유연성을 주며, 배아줄기세포에서 신경 계통으로의 분화에 중요한 인자로 밝혀졌다(Jiang et al., 2011).

PTIP는 MLL2 HMTase 복합체의 구성성분이며, 낭배형성 후의 배아발달에 필수적이다. PTIP는 발달을 조절하는 전사인자인 Pax와 상호결합하며, Pax2 DNA 결합 부위에 TrxG 복합체가 모여들을 촉진한다. PTIP는 분화하는 동안 특이적으로 DNA에 결합하는 전사인자에 MLL2 복합체가 결합하기 위해 중요하다. 또한 배아줄기세포에서 *Ptip*의 손실이 생기면 *Oct4*와 *Sox2* 프로모터에 H3K4의 methylation 수준이 줄어들며, OCT4 단백질과 mRNA 발현 수준도 줄어들었으며, 영양외배엽 계통으로의 자발적인 분화가 일어난다. 따라서 PTIP는 H3K4 메틸화를 유지함으로써 만능성을 가진 배아줄기세포의 지속적인 증식을 위해 필수적이다(Kim et al., 2009).

H3K4me3와 H3K27me3의 균형 조절에 따른 유전자 발현 조절

배아줄기세포에서 특징적인 유전자의 프로모터에는 H3K27me3이 H3K4me3과 함께 나타나서 유전자의 침묵을 야기하는 이가 부위(bivalent domain)가 존재한다(Fig. 2). 예를 들어 배아줄기세포의 만능성을 유지하는데 중요하다고 알려진 OCT4, NANOG, SOX2의 전사 인자는 미분화 단계에서 *Oct4*, *Nanog*, *Sox2* 프로모터의 H3K4me3이 강하게 표지되어 유전자의 발

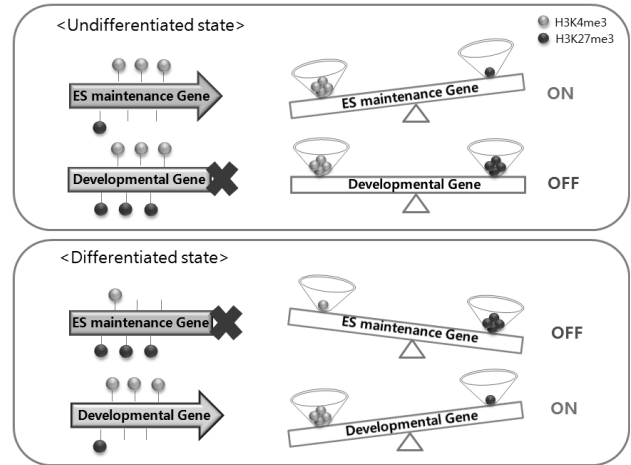


Fig. 2. Decision of gene expression by regulating the balance of H3K27me3 and H3K4me3 in ES cells. In undifferentiated ES cells, genes involved in pluripotency are expressed by maintaining higher level of H3K4me3. In contrast, genes regulating development are silenced by maintaining bivalent state (H3K27me3 and H3K4me3). Upon differentiation, expression of pluripotency maintenance genes are repressed by losing H3K4me3 and obtaining H3K27me3 while developmental regulatory genes are induced by losing H3K27me3 and gaining H3K4me3.

현이 활성화되다가 분화되는 동안에는 Oct4, Nanog, Sox2 프로모터에 H3K27me3이 강하게 나타나면서 유전자 침묵을 야기하게 되는 것이다(Christophersen et al., 2007). 또한 배아줄기세포에서의 분화 관련 유전자는 H3K4me3과 H3K27me3이 균형을 유지하여 분화 관련 유전자의 전사를 억제하다가 분화가 일어날 때는 H3K27me3의 손실이 일어나고, H3K4me3은 활성화되어 유전자의 발현이 나타난다. 이렇게 H3K27me3의 methylation 수준을 줄여주는 것은 PRC2에 의한 유전자 침묵을 방해하는 단백질로서 Jumonji C(JmjC) domain을 포함하는 H3K27 demethylase인 JMJD3(KDM6B)와 UTX(KDM6A)이다. 이 두 가지 효소는 생쥐 배아줄기세포에서 PcG 단백질들에 의해 특정 유전자에 모여드는 것으로 밝혀졌다. UTX와 JMJD3은 TrxG complex의 구성성분인 MLL2와 복합체를 형성하여 이가 상태의 H3K27me3을 제거하여 특정 유전자의 발현을 유도한다(Pasini et al., 2008). 또한 Jumonji C를 포함하는 JARID1의 한 family인 RBP2(RB binding protein 2)는 배아줄기세포의 H3K4me3/me2를 특이적으로 demethylation 시킴으로써 유전자의 발현을 조절한다(Christensen et al.,

2007). RBP2는 PRC2와 동시에 이가 부위에 나타난다. 이러한 결과는 lysine methyltransferase(KMT)와 lysine demethylase (KDM) 사이에 후성유전학적 조절을 위한 상호작용이 존재함을 의미하는 것이다.

생쥐 배아줄기세포에서 H3K4me3과 H3K27me3이 함께 위치하고 있는 이가 상태는 유전자의 활성화와 억제 사이에서 균형을 유지하는데 매우 중요하며(Fouse et al., 2008), 인간 배아줄기세포에서도 이러한 이가 상태가 배아줄기세포의 운명을 조절하고 있음이 알려졌다(Pan et al., 2007). 이러한 H3K4me3/H3K27me3의 이가 상태는 분화 신호에 따라 유전자 프로모터의 신속한 구조적 변화 및 유전자 발현을 가능하게 하므로 배아줄기세포의 운명 결정에 매우 효율적인 기전이라고 할 수 있다.

결론 및 전망

후성유전학적 조절은 유전자 주변 염색체의 구조적 변형을 통해 유전자의 발현을 정교하게 조절하는 과정으로서 DNA나 히스톤의 변형을 수반한다. 히스톤 변형은 아세틸화와 메틸화 등으로 조절되며, 본 논문에서는 배아줄기세포에서 히스톤 메틸화에 의한 후성유전학적 조절기전 및 관련 인자들을 살펴보았다. 히스톤 메틸화의 주된 조절인자는 H3K27me3 및 H3K4me3을 각각 증가시키는 PRC2와 TrxG 복합체이며, 여기에 H3K27me3 및 H3K4me3을 감소시키는 demethylase인 JMJD3/UTX 및 RBP2가 함께 작용하여 H3K4me3 및 H3K7me3의 수준을 결정하게 된다(Fig. 1). 현재 많은 연구를 통해서 PRC2와 TrxG 복합체를 구성하는 다양한 인자들이 밝혀졌다. 이러한 인자들은 다양한 상호작용을 통해, 자가재생 유지와 특정 세포로의 분화 능력이라는 두 가지 특성을 모두 가지고 있는 배아줄기세포의 후성 유전학적 조절에 관여하는 것으로 보인다. 또한 지금까지 밝혀진 인자들 외에도 광범위한 후성 유전학적 조절인자들이 상호 영향을 주고 있을 것으로 예상된다. 따라서 배아줄기세포의 다양성과 복잡성을 보다 잘 이해하기 위해서는 후성 유전학에 대한 연구가 보다 활발히 진행되어야 할 것이다.

배아줄기세포에서 나타나는 후성유전학적 특성은 H3K27me3과 H3K4me3이 동시에 나타나는 이가 상태로 존재하며, H3K27me3과 H3K4me3의 균형에 의해 유전자의 발현 여부가 정교하게 결정되고 있는 것이다(Fig. 2). 이러한 후성유전학적 특성

은 적절한 시기에 필요한 유전자가 신속하게 발현되거나 발현이 억제되는 것을 가능하게 하며, 따라서 배아줄기세포의 운명을 적절히 변화시킬 수 있을 것이다. 본 총설에서는 히스톤의 메틸화를 중점적으로 살펴보았으나, DNA 메틸화, 히스톤의 다른 유형의 변화, RNAi에 의한 조절 등의 다양한 인자가 함께 작용하여 배아줄기세포의 후성유전학적인 조절을 완성할 것이다. 그러나 후성유전학적 조절에 관여하는 다양한 인자들이 배아줄기세포 또는 배 발달 초기에 발현되거나 억제되어야 하는 유전자를 어떻게 인지하여 독특한 후성유전학적 표식을 가능하게 하는지는 여전히 불명확하다. 체세포에서 역분화를 이용해 만능줄기세포를 얻는 방법으로는 체세포의 핵을 제핵 난자에 이식하는 핵치환법과 최근에 제시된 유도만능줄기세포 생성법 등이 있다(Seo & Lee, 2010; Jung & Park, 2011). 이는 초기 미분화 상태의 후성유전학적 상태에 대한 정보가 분화된 세포에서 얻은 유전자에도 여전히 기억되어 있음을 의미한다. 또한 난자와 같은 만능성을 가능하게 하는 세포 조건이나 만능줄기세포의 필수 유전자를 체세포에서 발현시켜 얻은 세포의 변화가 후성유전학적 상태를 초기화할 수 있다는 것을 의미한다. 배아, 배아줄기세포, 또는 역분화에 의한 만능줄기세포에서 초기화된 유전자의 후성유전학적 상태가 어떻게 얻어지고, 기억되는지 또한 후성유전의 조절인자들이 어떻게 이를 인식하여 유전자 발현 양상을 재생산해 내는지에 대한 의문은 후성유전학에서 앞으로 계속 풀어야 할 중요한 과제라고 사료된다.

감사의 글

본 연구는 세포응용연구사업단 과제(SC-2260) 및 한국연구재단 기초연구사업 과제(2011-0011742)의 지원으로 수행되었습니다.

인용문헌

Ang YS, Tsai SY, Lee DF, Monk J, Su J, Ratnakumar K, Ding J, Ge Y, Darr H, Chang B, Wang J, Rendl M, Bernstein E, Schaniel C, Lemischka IR (2011) WDR5 mediates self-renewal and reprogramming via the embryonic stem cell core transcriptional network. *Cell* 145:183-197.

- Boulay G, Rosnoblet C, Guerardel C, Angrand PO, Leprince D (2011) Functional characterization of hPCL3 (human Polycomb-like 3) isoforms identifies them as components of distinct EZH2 protein complexes. *Biochem J* 434: 333-342.
- Chamberlain SJ, Yee D, Magnuson T (2008) Polycomb repressive complex 2 is dispensable for maintenance of embryonic stem cell pluripotency. *Stem Cells* 26:1496-1505.
- Chen X, Xu H, Yuan P, Fang F, Huss M, Vega VB, Wong E, Orlov YL, Zhang W, Jiang J, Loh YH, Yeo HC, Yeo ZX, Narang V, Govindarajan KR, Leong B, Shahab A, Ruan Y, Bourque G, Sung WK, Clarke ND, Wei CL, Ng HH (2008) Integration of external signaling pathways with the core transcriptional network in embryonic stem cells. *Cell* 133:1106-1117.
- Christensen J, Agger K, Cloos PA, Pasini D, Rose S, Sennels L, Rappsilber J, Hansen KH, Salcini AE, Helin K (2007) RBP2 belongs to a family of demethylases, specific for tri- and dimethylated lysine 4 on histone 3. *Cell* 128:1063-1076.
- Christophersen NS, Helin K (2007) Epigenetic control of embryonic stem cell fate. *J Exp Med* 207:2287-2295.
- Fouse SD, Shen Y, Pellegrini M, Cole S, Meissner A, Van Neste L, Jaenisch R, Fan G (2008) Promoter CpG methylation contributes to ES cell gene regulation in parallel with Oct4/Nanog, PcG complex, and histone H3 K4/K27 trimethylation. *Cell Stem Cell* 2:160-169.
- Goldberg AD, Allis CD, Bernstein E (2007) Epigenetics: A landscape takes shape. *Cell* 128:635-638.
- Grewal SI, Moazed D (2003) Heterochromatin and epigenetic control of gene expression. *Science* 301:798-802.
- Jiang H, Shukla A, Wang X, Chen WY, Bernstein BE, Roeder RG (2011) Role for DPY-30 in ES cell-fate specification by regulation of H3K4 methylation within bivalent domains. *Cell* 144:513-525.
- Jung YW, Park IH (2011) Change of X chromosome status during development and reprogramming. *Dev Reprod* 15:187-195.
- Kim D, Patel SR, Xiao H, Dressler GR (2009) The role of PTIP in maintaining embryonic stem cell pluripotency. *Stem Cells* 27:1516-1523.
- Lim DA, Huang YC, Swigut T, Mirick AL, Garcia-Verdugo JM, Wysocka J, Ernst P, Alvarez-Buylla A (2009) Chromatin remodelling factor MLL1 is essential for neurogenesis from postnatal neural stem cells. *Nature* 458:529-533.
- Lubitiz S, Glaser S, Schaft J, Stewart AF, Anastassiadis K (2007) Increased apoptosis and skewed differentiation in mouse embryonic stem cells lacking the histone methyltransferase MLL2. *Mol Biol Cell* 18:2356-2366.
- Pan G, Tian S, Nie J, Yang C, Ruotti V, Wei H, Jonsdottir GA, Stewart R, Thomson JA (2007) Whole-genome analysis of histone H3 lysine 4 and lysine 27 methylation in human embryonic stem cells. *Cell Stem Cell* 1:299-312.
- Pasini D, Bracken AP, Hansen JB, Capillo M, Helin K (2007) The polycomb group protein Suz12 is required for embryonic stem cell differentiation. *Mol Cell Biol* 27:3769-3779.
- Pasini D, Cloos PA, Walfridsson J, Olsson L, Bukowski JP, Johansen JV, Bak M, Tommerup N, Rappsilber J, Helin K (2010) JARID2 regulates binding of the polycomb repressive complex 2 to target genes in ES cells. *Nature* 464:306-310.
- Pasini D, Hansen KH, Christensen J, Agger K, Cloos PA, Helin K (2008) Coordinated regulation of transcriptional repression by the RBP2 H3K4 demethylase and polycomb repressive complex 2. *Genes Dev* 22:1345-1355.
- Ringrose L, Paro R (2007) Polycomb/Trithorax response elements and epigenetic memory of cell identity. *Development* 134:223-232.
- Schuettengruber B, Cavalli G (2009) Recruitment of polycomb group complexes and their role in the dynamic regulation of cell fate choice. *Development* 136:3531-3542.
- Seo Y-M, Lee K-A (2010) Current progress and prospects of reprogramming factors - stem cells vs germ cells.

- Dev Reprod 14:43-50.
- Shen X, Kim W, Fujiwara Y, Simon MD, Liu Y, Mysliwiec MR, Yuan GC, Lee Y, Orkin SH (2009) Jumonji modulates polycomb activity and self-renewal versus differentiation of stem cells. *Cell* 139:1303-1314.
- Shen X, Liu Y, Hsu YJ, Fujiwara Y, Kim J, Mao X, Yuan GC, Orkin SH (2008) EZH1 mediates methylation on histone H3 lysine 27 and complements EZH2 in maintaining stem cell identity and executing pluripotency. *Mol Cell* 32:491-502.
- Stoller JZ, Huang L, Tan CC, Huang F, Zhou DD, Yang J, Gelb BD, Epstein JA (2010) Ash2l interacts with Tbx1 and is required during early embryogenesis. *Exp Biol Med* 235:569-576.
- Tate CM, Lee JH, Skalnik DG (2009) Cxxc finger protein 1 contains redundant functional domains that support embryonic stem cell cytosine methylation, histone methylation, and differentiation. *Mol Cell Biol* 29:3817-3831.
- Walker E, Manias JL, Chang WY, Stanford WL (2011) PCL2 modulates gene regulatory networks controlling self-renewal and commitment in embryonic stem cells. *Cell Cycle* 10:45-51.
- Zhang Z, Jones A, Sun CW, Li C, Chang CW, Joo HY, Dai Q, Mysliwiec MR, Wu LC, Guo Y, Yang W, Liu K, Pawlik KM, Erdjument-Bromage H, Tempst P, Lee Y, Min J, Townes TM, Wang H (2011) PRC2 complexes with JARID2, MTF2, and esPRC2p48 in ES cells to modulate ES cell pluripotency and somatic cell reprogramming. *Stem Cells* 29:229-240.
-
- (Received 17 November 2011, Received in revised form 14 December 2011, Accepted 14 December 2011)