

基因编辑可实现性别逆转？YES！

2018年8月份Science期刊上的文章“Sex reversal following deletion of a single distal enhancer of Sox9”，利用基因编辑的方法构建基因敲除小鼠发现，雄性小鼠Enh13基因缺失后会长出卵巢，并且利用基因组学的数据直接证明了Enh13是Sox9基因的增强子，揭示了改变基因的非编码调控区域能够实现性别逆转。

2016年，德国联邦最高法院驳回了一起要求国家在法律上允许第三性别被登记的诉状。事情的经过大致是：1989年出生的一名女士在出生时由于呈现女婴特征，因此在登记性别时，被登记为女性。但是在成年以后，这位女士发现，自己既不完全具有女性特征，也不完全具有男性特征，是一个双性人或者无性人。于是她到医院检查才发现她只有一条X染色体，而第二条染色体缺失，因此事实上她既不属于男性，也不属于女性。**那么具有XX染色体的人一定是女性吗？具有XX染色体的人一定能发育形成卵巢吗？**

相关研究2009年12月份在《细胞》杂志上正式公开发表，论文的作者利用基因编辑的手段使雌鼠的FOXL2丧失功能，结果发现卵巢中的卵子皆死亡，最后将成长为卵子的滤泡慢慢地转变成史托利细胞，史托利细胞在睾丸中制造精子。最后发现，实验中的雌鼠对照组与雄鼠实验组的大小、皮毛等外观几无差异，并且除生殖器官产生变化外，没有任何异常^[1]。

无独有偶，相似的情况再次发生了。一姑娘今年26岁，前段时间去郑州大学第一附属医院咨询，医生建议抽血查染色体，结果出来她自己大吃一惊：她具有XY，是个男人。那么问题来了，**具有XY染色体的人一定是男性吗？具有XY染色体的人一定不能发育形成卵巢吗？**

今天小编就给大家解读一篇发表在2018年8月份Science期刊上的文章“Sex reversal following deletion of a single distal enhancer of Sox9”，这篇文章利用基因编辑的方法构建基因敲除小鼠发现，雄性小鼠Enh13基因缺失后会长出卵巢，并且利用基因组学的数据直接证明了Enh13是Sox9基因的增强子，揭示了改变基因的非编码调控区域能够实现性别逆转^[2]。

发表杂志：Science

影响因子：41.058（2018年）



正常的XX雌性小鼠（右）和发生性别逆转的XY雄性小鼠（左）。图片来源于Francis Crick研究所。

SOX9蛋白在哺乳动物早期性别决定和分化过程中发挥着重要的作用，SOX9功能失常会导致睾丸不能正常发育。正常的情况下，*Sox9*基因的表达量受Y染色体上*Sry*基因编码的SRY蛋白调控，因此含有X染色体和Y染色体的雄性才能发育形成出睾丸，而含有2条X染色体的雌性则发育形成卵巢。科研工作者分析大量病例发现，*Sox9*基因杂合突变会导致丘脑发育不良（Campomelic Dysplasia），70%的男性（XY）患者都会表现出女性性状[3, 4]。在小鼠的睾丸中，位于*Sox9*基因上游的TES或者TESCO敲除后*Sox9*基因的表达量降低了55%，但是没有影响XY雄性的性别。那么在*Sox9*基因的上游是不是存在其他的增强子来系统性调控小鼠*Sox9*基因的表达呢？

本文的作者做了大量的工作，一步步解开了Enh13增强子如何影响*Sox9*基因的表达来影响性别逆转的。

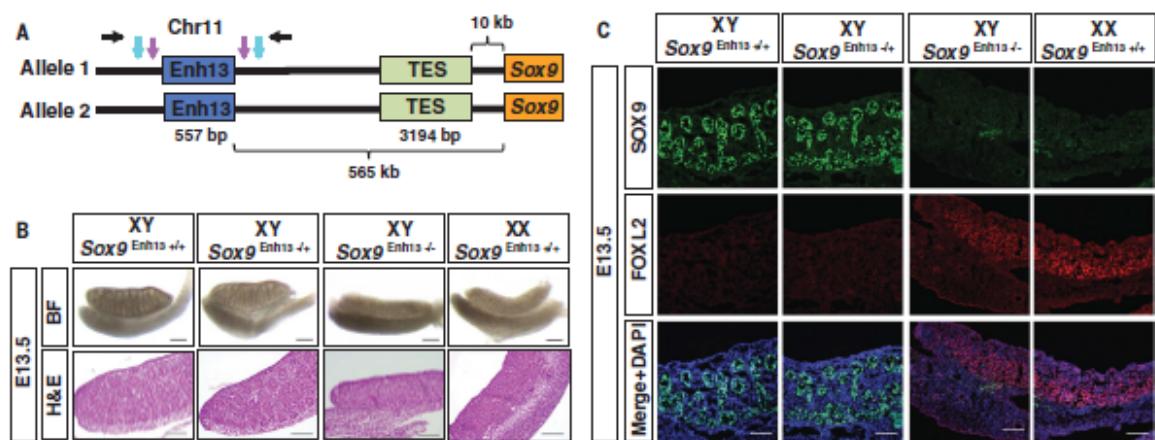


图1. Enh13是位于XY染色体SR区域内的*Sox9*基因的促睾丸形成增强子。

作者首先利用DNase I -seq和ATAC-seq等技术在胚胎发育13.5至15.5天的塞尔托利氏细胞(Sertoli cell)中筛选出了Sox9基因上游33个假设的启动子，接着通过转基因实验发现有14个启动子在发育的各个阶段都能促进Sox9基因的表达。应用报告基因小鼠模型进行逐一排除，作者发现在哺乳动物高度保守的Enh13是Sox9基因的增强子，并通过转基因品系验证了Enh13的生理功能。

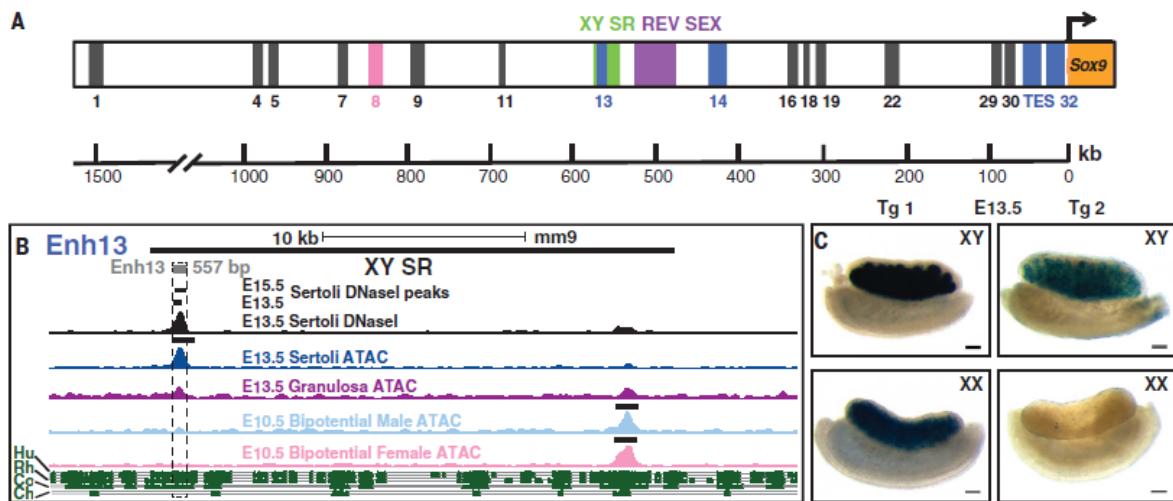


图2. 敲除Enh13基因后，拥有XY染色体的雄性转变成雌性。

作者然后利用基因编辑技术，构建了Enh13基因缺失的纯合突变体。作者取胚胎发育13.5天突变体和对照组的性腺，通过HE染色发现Enh13基因缺失的杂合突变体胚胎能够正常形成睾丸，而纯合突变体则产生了异常发育形成了卵巢。(备注：FOXL2在卵巢中表达)

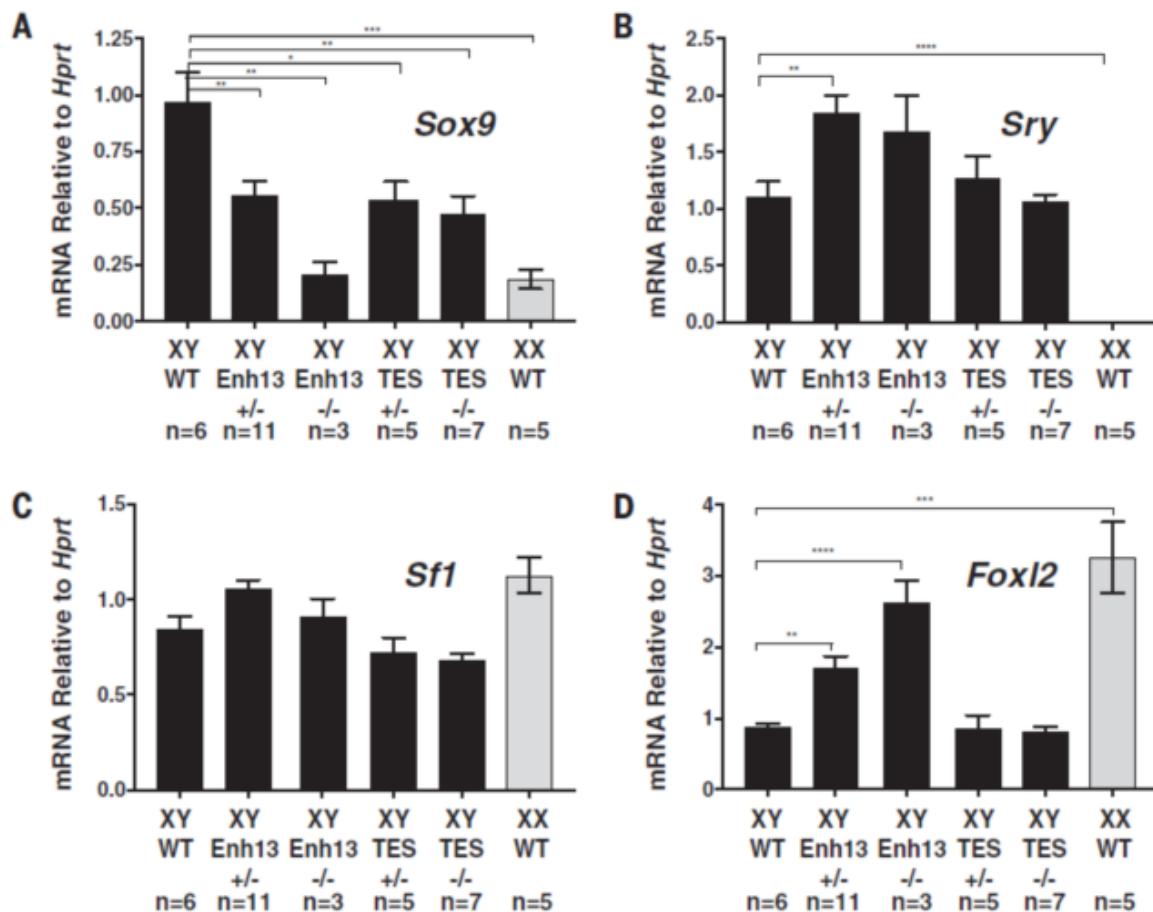


图3. 体内Enh13调控Sox9基因的表达。

作者进而研究分子机制，即Enh13是怎么调控雄性在胚胎发育的早期阶段发育形成睾丸的。我们用突变体和对照组来研究Enh13对雄性决定因子（Sox9, Sry）和雌性决定因子(Foxl2和Sf1)表达的影响，结果我们发现单独敲除Enh13就会降低Sox9基因的表达。

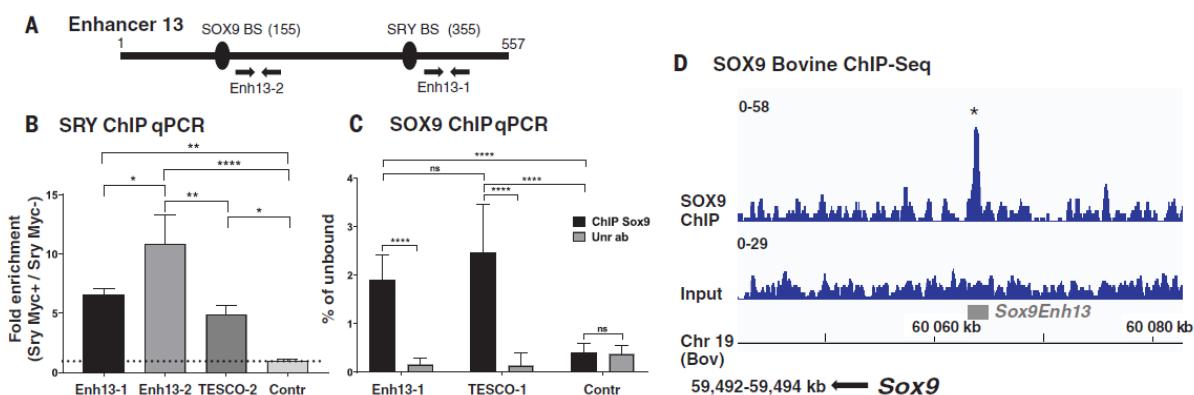


图4. 体内SRY、SOX9蛋白和Enh13基因直接结合。

上面作者证明了Enh13调控Sox9基因的表达，那么调控是否直接的呢？作者进而做了CHIP-seq（染色质免

疫共沉淀）。我们知道SRY能够和TESCO具有很强的结合作用，实验结果表明，SRY与Enh13的结合能力比与TESCO的结合能力还强；同时证明SOX9与Enh13具有很强的结合能力。用牛胚胎睾丸也证明了相同的结论。因此，Enh13在哺乳动物中高度保守能够与SOX9直接结合。

最后作者得出结论：Enh13是Sox9基因的增强子。

关于性别发生形成的机制科学家们一直在不断关注和探索，经过不懈努力已经找到了雄性发育形成的关键因子（SOX9）和雌性发育形成的关键因子（FOXL2），并且发现Foxl2基因显然与Enh13调控的基因Sox9基因保持着排斥关系，即当一种基因启动，另一种则自动关闭。这就解释了为什么具有XY染色体的雄性只能形成睾丸，具有XX染色体的雌性只能形成卵巢。

南模生物专业从事基因编辑小鼠模型的研发，可提供的基因修饰类型包括基因敲除、基因敲入和人源化等，目前成品小鼠资源库已达1000种，累计构建小鼠模型逾4500例，想了解更多与小鼠模型相关的服务,可点击[这里查看](#)。

相关文章连接：

1. Henriette Uhlenhaut, Susanne Jakob, et al. Somatic Sex Reprogramming of Adult Ovaries to Testes by FOXL2 Ablation. *Cell*, 2009, 139, (6):1130-1142.
2. Nitzan Gonen, Chris Futtner, et al. Sex reversal following deletion of a single distal enhancer of Sox9. *Science*, 2018, 360, 1469-1473.
3. J. W. Foster, M. A. Dominguez Steglich, S. Guioli, et al. Campomelic dysplasia and autosomal sex reversal caused by mutations in an SRY-related gene. *Nature*, 1994, 372, 525-530.
4. T. Wagner, J. Wirth, J. Meyer, et al. Autosomal sex reversal and campomelic dysplasia are caused by mutations in and around the SRY-related gene SOX9. *Cell*, 1994, 79(6):1111-20.