

齐婉婧,孙奇,李媛,等. 小鼠生殖细胞特异性转录因子 SOHLH1 调控 *Sox30* 基因表达的机制 [J]. 中国比较医学杂志, 2019, 29(7): 36-41.

Qi WJ, Sun Q, Li Y, et al. SOHLH1 is necessary for regulation of *Sox30* expression during mouse spermatogenesis [J]. Chin J Comp Med, 2019, 29(7): 36-41.

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856. 2019.07.006

# 小鼠生殖细胞特异性转录因子 SOHLH1 调控 *Sox30* 基因表达的机制

齐婉婧, 孙 奇, 李 媛, 张 雪, 金美玉, 何 岩, 郑志红\*

(中国医科大学实验动物部, 沈阳 110001)

**【摘要】** 目的 SOHLH1 (Spermatogenesis- and oogenesis-specific bHLH transcription factor-1) 和 SOX30 (SRY box) 是与精子发生相关的转录因子, *Sohlh1* 与 *Sox30* 的基因敲除雄鼠均丧失生育能力。出生后 7 天 *Sohlh1* 基因敲除雄鼠 DNA 芯片显示 *Sox30* 表达显著下调, 本文探究了早期发育相关转录因子 SOHLH1 对精子发生后期的关键基因 *Sox30* 基因的转录调控作用。方法 构建 *Sox30* 启动子荧光素酶表达质粒, 瞬时共同转染 *Sox30* 荧光素酶表达质粒和 *Sohlh1* 真核表达质粒并利用荧光素酶活性测定实验检测荧光值。通过染色质免疫共沉淀实验检测 SOHLH1 与 *Sox30* 启动子 DNA 序列特异序列的结合情况筛选主要激活位点。结果 共转染 *Sohlh1* 真核表达质粒和 *Sox30* 启动子区域荧光素酶质粒的实验组荧光素酶活性高于对照组。SOHLH1 与 *Sox30* 启动子上的特异性位点结合, 在 -489 bp 位点的结合作用最强。结论 精子发生早期重要转录因子 SOHLH1 可以直接激活顶体形成相关基因 *Sox30* 转录, -489 bp (CAGGTG) 为主要特异性结合位点, 丰富了精子发生中延时时翻译表达调控的现象并进行了调控机制的初步探索。

**【关键词】** 精子发生; *Sox30*; ChIP; SOHLH1; 小鼠

**【中图分类号】** R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2019) 07-0036-06

## SOHLH1 is necessary for regulation of *Sox30* expression during mouse spermatogenesis

QI Wanjing, SUN Qi, LI Yuan, ZHANG Xue, JIN Meiyu, HE Yan, ZHENG Zhihong\*

(Department of Laboratory Animal Science, China Medical University, Shenyang 110001, China)

**【Abstract】 Objective** The spermatogenesis- and oogenesis-specific bHLH transcription factor-1 (SOHLH1) and SRY box (SOX30) are transcription factors related to spermatogenesis. *Sohlh1* and *Sox30* knockout male mice lose fertility. At 7 days after birth, the *Sohlh1* knockout male mouse DNA chip exhibits significant down-regulation of *Sox30* expression. This study explored the role of the early development-related transcription factor SOHLH1 in the transcriptional regulation of the key gene *Sox30* during late spermatogenesis. **Methods** The *Sox30* promoter luciferase expression plasmid was constructed, and then together with the *Sohlh1* eukaryotic expression plasmid was transiently co-transfected. The fluorescence value was then detected by a luciferase activity assay. The primary activation site was screened using a chromatin immunoprecipitation assay to detect the binding of SOHLH1 to the *Sox30* promoter DNA sequence. **Results** The

[基金项目] 国家自然科学基金(2015408002)。

[作者简介] 齐婉婧(1993—), 女, 硕士研究生, 专业: 小鼠生殖遗传学。E-mail: shirlyqi1007@163.com

[通信作者] 郑志红(1969—), 女, 教授, 研究方向: 实验动物转基因及基因敲除动物。E-mail: zhihongzheng@163.com

luciferase activity was higher in the experimental group co-transfected with the *Sohlh1* eukaryotic expression plasmid and the *Sox30* promoter region luciferase plasmid than in the control group. SOHLH1 binding to specific sites was strongest on the *Sox30* promoter binding sites at -489 bp. **Conclusions** The early important transcription factor SOHLH1 can directly activate acrosome-forming gene *Sox30* transcription, with -489 bp (CAGGTG) as the main specific binding site. This action enriches the regulation of delayed translation expression during spermatogenesis. The study thus provides a preliminary exploration of the regulatory mechanism.

**【Keywords】** spermatogenesis; *Sox30*; ChIP; SOHLH1; mouse

雄性生殖细胞经历一系列特定基因程序性表达,使具有有丝分裂活性的原始生殖细胞发育为成熟精子的过程被称为精子发生。精子发生起源于精原干细胞,经历精原细胞的有丝分裂期和精母细胞的减数分裂期<sup>[1]</sup>,在精子形成期圆形精子细胞经历复杂的结构重塑最终成为成熟精子<sup>[2]</sup>。精卵发生特异表达螺旋-环螺旋转录因子 1 (Spermatogenesis- and oogenesis-specific bHLH transcription factor-1, *Sohlh1*) 编码 357 个氨基酸含有一个 bHLH 结构域,SOHLH1 可以形成异源二聚体或同型二聚体并与 DNA 上的 E-box 序列 (CANNTG) 结合<sup>[3]</sup>调控下游基因表达。SOHLH1 在雄性生殖细胞中特异表达,主要表达于 A<sub>1</sub>-A<sub>4</sub> 型精原细胞,在 Int 型及 B 型精原细胞中该蛋白逐渐消失<sup>[4]</sup>。SOHLH1 是涉及精原细胞分化的重要转录因子<sup>[4]</sup>,调控 *c-Kit* 表达<sup>[5]</sup>、与 SOHLH2 形成异源二聚体下调 *Stra8* 表达<sup>[6-8]</sup> 并参与精子发生相关的重要信号通路<sup>[9]</sup> 从而影响精原细胞发育和减数分裂。本课题组前期研究发现 *Sohlh1* 基因敲除纯合子雄性小鼠不育,精原细胞发育及分化异常导致进入减数分裂的精母细胞减少,精母细胞大量凋亡,无成熟精子产生。基因芯片检测结果显示出生后 7 天野生型雄鼠与 *Sohlh1* 基因敲除雄鼠睾丸组织中 *Sox30*、*Rnf17* 等精子发生中关键基因均出现表达差异<sup>[10]</sup>,推测 SOHLH1 可能直接或间接调控 *Sox30* 基因转录。

*Sox30* 是睾丸生殖细胞特异表达基因 *Sox* (Sry-related High Motility Group (HMG) box) 家族 H 亚族唯一的成员,含有 3 个外显子,编码蛋白具有一个 HMG box 结构域<sup>[11]</sup>,参与性腺发生、精子发生<sup>[12]</sup> 并且与顶体形成相关<sup>[13]</sup>。*Sox30* 基因敲除雄性小鼠无生育能力,精子发生阻滞于精子形成期,圆形精子细胞核表面没有参与顶体形成的顶体颗粒<sup>[14]</sup>。目前,关于转录因子调控 *Sox30* 表达未见文献报道。我们利用生物信息学预测 *Sox30* 基因上游启动子区域,发现存在 SOHLH1 转录因子结合的 E-box 序列,

本研究旨在探究精原细胞早期发育相关的重要转录因子 SOHLH1 参与精子发生后相关基因 *Sox30* 的转录调控机制,并进一步筛选 *Sox30* 基因启动子序列上 SOHLH1 特异性结合位点的 DNA 序列。

## 1 材料和方法

### 1.1 实验动物

本实验中共使用 7 周龄的 SPF 级 C57BL/6J 雄性小鼠 9 只(三次重复实验),体重约 22~24 g(误差不大于 10%),来源于中国医科大学实验动物部 [SCXK(辽) 2018-0004]。取材在中国医科大学实验动物科学部屏障动物实验设施进行 [SYXK(辽) 2018-0008],并按实验动物使用的 3R 原则给予人道的关怀。本实验经中国医科大学实验动物福利与伦理委员会 (Institutional Animal Care and Use Committee, IACUC) 审查通过,审批编号: No. 2017018。

### 1.2 主要试剂与仪器

Tris 平衡酚 (鼎国生物技术有限公司,北京), PCR 引物 (Genescript, 南京), Q<sub>5</sub><sup>®</sup> High-Fidelity DNA Polymerase (Cat. #M0491S, NEB, 美国), Axygen mini-prepare 质粒提取试剂盒 (Cat. AP-MN-P-50)、AxyPrep DNA 凝胶回收试剂盒 (Cat. AP-GX-50)、AxyPrep PCR 清洁试剂盒 (Cat. AP-PCR-50) (Axygen, 美国), pMD18-T Vector、*E. coli* DH5 $\alpha$  感受态大肠杆菌、限制性内切酶 *Hind* III 和 *Kpn* I (宝生物公司, 大连), pGL3-Basic 质粒、pRL-TK 质粒 (Promega, 美国), T<sub>4</sub> DNA 连接酶 (NEB, 美国), pcDNA3.0-*Sohlh1* 真核表达质粒 (本课题组构建)<sup>[15]</sup>, 转染试剂 Lipofectamine<sup>™</sup> 3000 (Invitrogen, 美国), Dual-Luciferase<sup>®</sup> Report Assay System 试剂盒 (Cat. # E1980, Promega, 美国), EZ-ChIP<sup>™</sup>-Chromatin Immunoprecipitation Kit 试剂盒 (Cat #17-371RF, Millipore, 美国), SOHLH1 抗体 (3 : 50, ab41520, Abcam, 美国), PCR 仪 (Bio-Rad, 美国), Galaxy R 二氧化碳培养箱 (RS Biotech, 德国), 多功

能酶标仪 (M200 PRO, Tecan, 瑞士)。

### 1.3 实验方法

#### 1.3.1 基因组 DNA 提取

剪取成年 C57BL/6J 雄鼠 0.5 cm 鼠尾组织,放入 1.5 mL 离心管中并分别加入 500  $\mu$ L 鼠尾消化液和 5  $\mu$ L 蛋白酶 K, 55 $^{\circ}$ C 水浴锅中消化过夜。鼠尾消化液配置方法如下:取 NaCl 2.93 g, SDS 2.5 g, 1 mol/L Tris-HCl (pH 8.0) 5 mL, 0.5 M EDTA (pH 8.0) 10 mL 混匀后定容至 500 mL。酚氯仿法提取基因组 DNA, 产物 4 $^{\circ}$ C 保存。

#### 1.3.2 Sox30 基因启动子区域 SOHLH1 结合位点分析及引物设计

针对 Sox30 转录起始位点上游 2000 bp 范围内启动子 DNA 序列使用 Jasper 软件预测 SOHLH1 特异性结合位点 E-box (CANNTG), 根据评分及位点分布设计合成引物, 构建三个启动子荧光表达质粒 1784 bp-Sox30-promoter、984 bp-Sox30-promoter、876 bp-Sox30-promoter, 启动子区域 PCR 引物序列为 Sox30-JD1784-F: 5'-TCTGCTTGATATCCTTCCTTTCA-3', Sox30-JD1784-R: 5'-GTGCGAGAACCCTGG AATCA-3', Sox30-JD984-F: 5'-TTACTCAACAGTCG GCAC-3', Sox30-JD984-R: 5'-CGAGAACCCTGGAA TCAT-3', Sox30-JD876-F: 5'-AAGCACTTCAAAGGA CAT-3', Sox30-JD876-R: 5'-CGAGAACCCTGGAA TCAT-3'。

#### 1.3.3 PCR 扩增 Sox30 基因启动子片段

以 C57BL/6J 雄鼠鼠尾 DNA 为模板进行 PCR 扩增, 在 50  $\mu$ L PCR 反应总体系内使用 Q<sub>5</sub><sup>®</sup> High-Fidelity DNA Polymerase 扩增所需 DNA 片段, 反应条件: 98 $^{\circ}$ C 8 s, 54 $^{\circ}$ C 30 s, 72 $^{\circ}$ C 1 min, 30 个循环, 72 $^{\circ}$ C 延伸 10 min。1.5% 琼脂糖凝胶电泳进行 PCR 扩增产物检测, 切胶回收目的片段。

#### 1.3.4 构建 Sox30 启动子全长和截短序列的 pGL3-Sox30 荧光素酶报告质粒

纯化回收的 DNA 片段与 pMD18-T Vector 16 $^{\circ}$ C 连接过夜。连接产物转化 *E. coli* DH5 $\alpha$  感受态大肠杆菌, 提取质粒 DNA 进行测序, 筛选正确连接的菌种提取质粒。限制性内切酶 *Hind* III 和 *Kpn* I 双酶切所提取的 Sox30 质粒 DNA 和 pGL3-Basic 质粒载体骨架, 使用 TaKaRa 公司说明书提供的双酶切体系。T<sub>4</sub> DNA 连接酶反应体系 16 $^{\circ}$ C 连接过夜, 连接产物转化感受态大肠杆菌, 挑菌落克隆提取质粒 DNA, 测序鉴定。

#### 1.3.5 转染 293T 细胞并检测双荧光素酶报告基因系统荧光素酶活性

于 37 $^{\circ}$ C、5% CO<sub>2</sub> 的培养箱中培养 HEK293T 细胞, 当细胞处于对数生长期时, 将细胞接种于 96 孔板中培养 16 h, 汇合度达到 80% 时进行转染。将构建好的 pGL3-Sox30 启动子荧光素酶报告质粒 (0.4  $\mu$ g/孔)、pcDNA3.0-Sox30 真核表达质粒 (0.4  $\mu$ g/孔) 和内参 pRL-TK 质粒 (0.008  $\mu$ g/孔) 按照 Lipofectamine<sup>™</sup> 3000 实验手册共转染 293T 细胞。

37 $^{\circ}$ C、5% CO<sub>2</sub> 在培养箱中培养 48 h 后, 将共转染的 HEK293T 细胞取出, 弃掉 96 孔板中培养基, 每孔加入 100  $\mu$ L 1 $\times$ PBS 清洗细胞, 弃掉 PBS。根据 Dual-Luciferase<sup>®</sup> Report Assay System 操作手册指导, 样品放入 M200 PRO 多功能酶标仪检测萤火虫荧光素酶活性及海肾荧光素酶活性, 保存数据进行计算及统计分析。

#### 1.3.6 染色质免疫共沉淀 (ChIP) 实验筛选 SOHLH1 结合位点

颈椎脱位法处死成年 C57BL/6J 雄鼠取双侧睾丸组织剥离出曲细精管, 实验方法参照文献所述<sup>[10]</sup>, 甲醛处理新鲜睾丸组织 DNA 与蛋白交联, 按照 EZ-ChIP<sup>™</sup>-Chromatin Immunoprecipitation Kit 试剂盒说明书提取 SOHLH1 抗体结合的 DNA 片段。根据双荧光素酶报告基因实验筛选出的 Sox30 核心启动子片段及 SOHLH1 结合位点设计 ChIP 实验所需 qRT-PCR 引物 (引物序列分别为 ChIP-892 bp-105F: 5'-ATTACTCAACAGTCGGCACTGG-3', ChIP-892 bp-105R: 5'-TGTGTGATTATTCTGCGCCTC-3', ChIP-837 bp-177F: 5'-GAGCGCAGAATAATCAC-3', ChIP-837 bp-177R: 5'-AGGACGCTTTAGCAAGTC-3', ChIP-449 bp-101F: 5'-GGAGCTAGTGGACATAG-3', ChIP-449 bp-101R: 5'-CCACCATTATCCTGCTTA-3', ChIP-514 bp-151F: 5'-GGTTTATCAGGCTCTGC-3', ChIP-514 bp-151R: 5'-TTGCTCTCACCTATGT-3')。

### 1.4 统计学方法

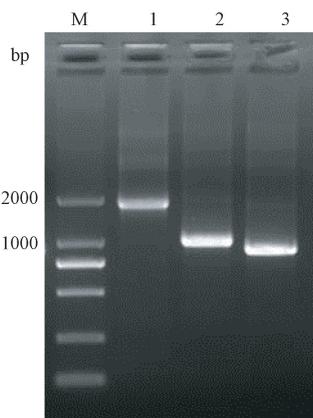
双荧光素酶实验测定荧光素酶活性并通过海肾荧光素酶进行标准化, 将共转染了空载体 pcDNA3.0 的荧光素酶活性比值标准化为“1”作为对照, 重复三次实验, 结果显示为相对荧光活性。ChIP 实验设置 IgG 组为对照组, 富集倍数表示与对照组免疫沉淀的区域相比使用 SOHLH1 抗体进行免疫沉淀的相对含量, 重复三次实验。实验数据均

使用 SPSS 软件进行数据处理,以平均数±标准误差 ( $\bar{x} \pm s\bar{x}$ ) 表示,采用独立样本 *t* 检验,以  $P < 0.05$  为差异有显著性。

## 2 结果

### 2.1 构建 pGL3-Sox30 启动子区域荧光素酶报告质粒

以 C57BL6/J 小鼠基因组 DNA 为模板,PCR 扩增得到长度分别为 1784 bp、984 bp 和 876 bp 的启动子区域 DNA 片段,双酶切后使用  $T_4$  DNA 连接酶与 pGL3-Basic 载体连接。质粒 DNA 经测序并进行序列比对,证实连入载体中的启动子片段与预期一致,获得目标序列正确连接的 pGL3-Sox30-876 bp、pGL3-Sox30-984 bp 和 pGL3-Sox30-1784 bp 质粒。如图 1 所示。



注:M;TaKaRa DL2000 Maker;孔道 1;Sox30 启动子 1784 bp 目的片段;孔道 2;Sox30 启动子 984 bp 目的片段;孔道 3;Sox30 启动子 876 bp 目的片段。

图 1 Sox30 启动子 DNA 序列 PCR 扩增产物电泳

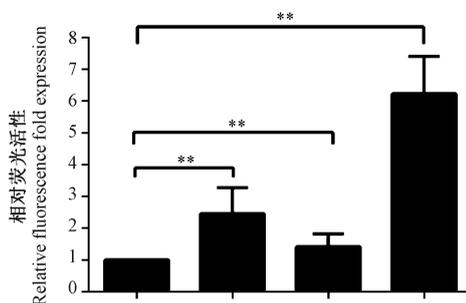
Note. M, TaKaRa DL2000 Maker. Lane 1, Sox30 promoter 1784 bp target fragment. Lane 2, Sox30 promoter 984 bp target fragment. Lane 3, Sox30 promoter 876 bp target fragment.

Figure 1 Sox30 promoter DNA sequence via PCR amplification of the electrophoresis products

### 2.2 双荧光素酶实验验证转录因子 SOHLH1 对 Sox30 基因启动子区的转录调节作用

将构建好的 pGL3-Sox30 启动子区域萤光素酶报告质粒、pcDNA3.0-Sox30 真核表达质粒和内参 TK 共同转染 293T 细胞,检测不同启动子片段的萤光素酶活性,进行统计分析比较(图 2)实验结果显示,共同转染 Sox30 启动子萤光表达载体和 pcDNA3.0-Sox30 真核表达质粒的实验组与转染 pGL3-Basic 空载载体的对照组相比,实验组的萤光强度有不同程度增强,SOHLH1 可以激活 Sox30 基

因转录,证明该基因存在延时翻译现象。共转染了 pGL-Sox30-876 bp 质粒的实验组萤光活性最强,推测 Sox30 核心启动子片段位于区域内。



pcDNA3.0-Sox30	+	+	+	+
pGL3-Basic	+	-	-	-
pGL3-Sox30-876 bp	-	-	-	+
pGL3-Sox30-984 bp	-	-	+	-
pGL3-Sox30-1784 bp	-	+	-	-

注:误差线代表重复实验的平均数±标准误差;\*\*  $P < 0.01$ 。

图 2 转录因子 SOHLH1 对 Sox30 基因启动子序列转录调控作用

Note. Error bars represent the mean ± standard error of repeated experiments. \*\*  $P < 0.01$ .

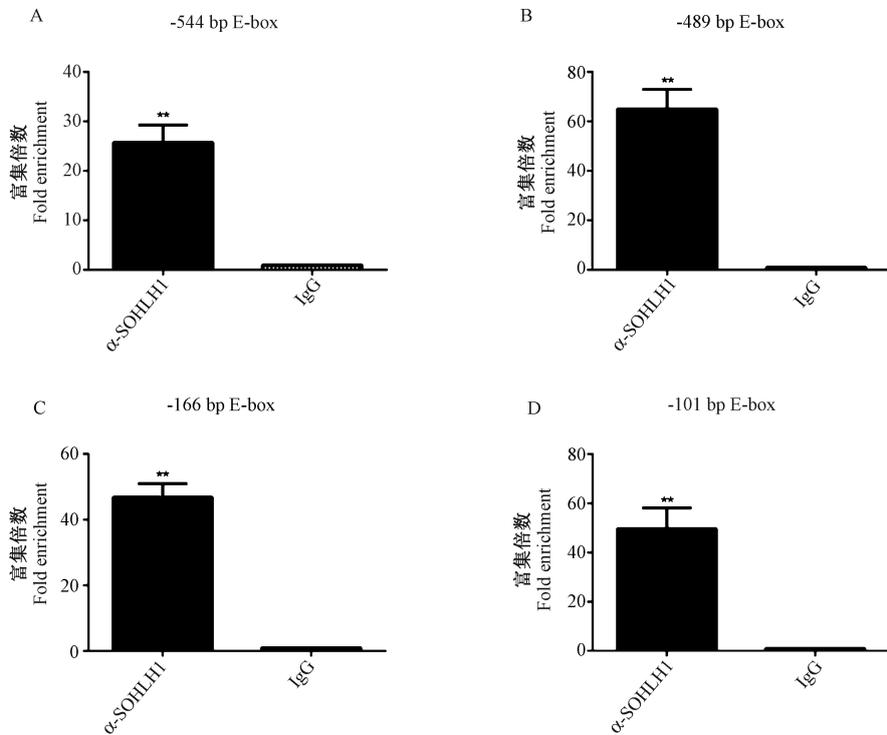
Figure 2 Transcriptional regulation of the Sox30 gene promoter sequence by the transcription factor SOHLH1

### 2.3 ChIP 实验筛选转录因子 SOHLH1 与 Sox30 基因启动子区的主要结合位点

ChIP 实验中与 SOHLH1 抗体结合的 DNA 片段洗脱纯化后 qRT-PCR 进行检测。ChIP 结果(见图 3)显示 SOHLH1 可以结合于 Sox30 启动子片段-876 bp 中-544 bp E-box (CAACTG)、-489 bp E-box (CAGGTG)、-166 bp E-box (CAACTG)、-101 bp E-box (CATATG),这四个 E-box 位点起直接转录激活作用。SOHLH1 与-489 bp (CAGGTG)位置 E-box 位点的结合作用较强,预示此位点为 Sox30 基因启动子上的主要转录激活位点。

## 3 讨论

在雄性小鼠中 SOHLH1 蛋白特异表达于精原干细胞和 A<sub>1</sub>-A<sub>4</sub> 型精原细胞中,是精子发生过程中关键的转录因子<sup>[4]</sup>。Sox30 基因编码的 SOX30 蛋白具有一个 HMG box 结构域,是性腺发生和精子发生中顶体形成相关的转录因子<sup>[11-14]</sup>。本研究构建了 Sox30 启动子萤光素酶质粒,利用 Sox30 真核表达质粒进行共转染实验,通过萤光素酶活性检测实验证明 SOHLH1 对 Sox30 基因存在直接转录激活作



注:A; Sox30 -544 bp E-box (CAACTG) ChIP 实验结果; B; Sox30 -489 bp E-box (CAGGTG) ChIP 实验结果; C; Sox30-166 bp E-box (CAACTG) ChIP 实验结果; D; Sox30 -101 bp E-box (CATATG) ChIP 实验结果。IgG: 阴性对照; 误差线代表三次重复实验的平均数±标准误差; 与 IgG 相比, \*\*  $P < 0.01$ 。

**图 3** 转录因子 SOHLH1 与 Sox30 基因启动子序列上 E-box 位点的结合作用

Note. A, Sox30 -544 bp E-box (CAACTG) ChIP test result. B, Sox 30-489 bp E-box (CAGGTG) ChIP test result. C, Sox30 -166 bp E-box (CAACTG) ChIP test result. D, Sox30 -101 bp E-box (CATATG) ChIP test results. IgG was the negative control. Error bars represent the mean ± standard error of three replicate experiments. Compared with IgG, \*\*  $P < 0.01$ .

**Figure 3** Binding of the transcription factor SOHLH1 to the E-box site on the Sox30 gene promoter sequence

用。并且通过 ChIP 实验证明 SOHLH1 结合于 Sox30 基因转录起始位点上游-544 bp、-489 bp、-166 bp 和-101 bp 处的 E-box 序列对 Sox30 产生直接转录激活作用,并发现位于-489 bp (CAGGTG) 位置的 E-box 位点与转录因子 SOHLH1 的结合作用较强,预示着此 E-box 位点为 Sox30 基因启动子上的主要转录激活位点,表明精原细胞早期发育相关转录因子 SOHLH1 可以直接激活精子发生相关基因 Sox30 的转录。

SOHLH1 在精原细胞中表达, Sox30 mRNA 在出生后 4-7 天雄鼠睾丸组织中可通过 RT-PCR 检测到,此阶段的睾丸组织中只存在精原干细胞和精原细胞,说明此时 Sox30 mRNA 的转录发生于这两种细胞内,与本研究中所证实的 SOHLH1 在精子发生早期直接激活 Sox30 基因转录的调控机制相符。而 SOX30 蛋白存在于精子发生后期的圆形精子细胞中,对顶体形成的过程起关键作用<sup>[14]</sup>,结合本研究的结论,说明在精子发生的早期 Sox30 基因就被激

活转录, mRNA 处于翻译抑制状态直至圆形精子阶段才启动翻译。由于这两种转录因子表达及翻译的时空特异性,推测本文所证实的 SOHLH1 直接调控 Sox30 基因转录的机制涉及了精子发生中存在的延时翻译现象。在精子发生过程中,参与精子形成相关的基因甚至在雄性生殖细胞发育的早期如精原细胞中已经开始转录, mRNA 在细胞发育至后期时才被翻译为蛋白质并发挥功能<sup>[16-21]</sup>。虽然目前关于延迟翻译现象的推论较多,但延迟翻译基因的具体表达调控机制尚不清楚。本研究通过证明精子发生早期精原细胞中重要转录因子 SOHLH1 对圆形精子细胞顶体形成相关基因 Sox30 的直接转录调控机制,丰富了精子发生中延时翻译表达调控的现象,并为精原细胞延迟翻译调控机制的研究提供了线索。

#### 参考文献:

[1] De Rooij DG, Griswold MD. Questions about spermatogonia

- posed and answered since 2000[J]. *J Androl*, 2012, 33(6): 1085–1095.
- [ 2 ] Kierszenbaum AL, Tres LL. Structural and transcriptional features of the mouse spermatid genome[J]. *J Cell Biol*, 1975, 65(2): 258–270.
- [ 3 ] Tuck AR, Robker RL, Norman RJ, et al. Expression and localisation of c-kit and KITL in the adult human ovary[J]. *J Ovarian Res*, 2015, 8(1): 31.
- [ 4 ] Ballow D, Meistrich ML, Matzuk M, et al. *Sohlh1* is essential for spermatogonial differentiation[J]. *Dev Biol*, 2006, 294(1):161–167.
- [ 5 ] Barrios F, Filipponi D, Campolo F, et al. *SOHLH1* and *SOHLH2* control Kit expression during postnatal male germ cell development[J]. *J Cell Sci*, 2012, 125(6):1455–1464.
- [ 6 ] Suzuki H, Ahn HW, Chu T, et al. *SOHLH1* and *SOHLH2* coordinate spermatogonial differentiation[J]. *Dev Biol*, 2012, 361(2):301–312.
- [ 7 ] Anderson EL, Baltus AE, Roepersgajadien HL, et al. *Stra8* and its inducer, retinoic acid, regulate meiotic initiation in both spermatogenesis and oogenesis in mice[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2008, 105(39):14976–14980.
- [ 8 ] 米美玲, 杨蓓, 徐斯凡, 等. *Stra8*:生殖细胞有丝分裂转变为减数分裂前特异表达的基因 [J]. *中华男科学杂志*, 2009, 15(1): 51–55.
- [ 9 ] Liu X, Gao Q, Zhao N, et al. *Sohlh1* suppresses glioblastoma cell proliferation, migration, and invasion by inhibition of Wnt/ $\beta$ -catenin signaling[J]. *Mol Carcinog*, 2018, 57(4): 494–502.
- [ 10 ] Li Y, Qi W, Liu G, et al. *Sohlh1* is required for synaptonemal complex formation by transcriptionally regulating meiotic genes during spermatogenesis in mice[J]. *Mol Reprod Dev*, 2019, 86(3):252–264
- [ 11 ] Han F, Wang Z, Wu F, et al. Characterization, phylogeny, alternative splicing and expression of *Sox30* gene[J]. *BMC Mol Biol*, 2010, 11: 98.
- [ 12 ] Zhang D, Xie D, Lin X, et al. The transcription factor *SOX30* is a key regulator of mouse spermiogenesis [J]. *Development*, 2018, 145(11): dev164723.
- [ 13 ] Bai S, Fu K, Yin H, et al. *Sox30* initiates transcription of haploid genes during late meiosis and spermiogenesis in mouse testes[J]. *Development*, 2018, 145(13): dev164855.
- [ 14 ] Feng CWA, Spiller C, Merriner DJ, et al. *SOX30* is required for male fertility in mice[J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 17619.
- [ 15 ] Li S, Du B, Luo G, et al. Application of the dual-luciferase reporter assay to the analysis of mouse *kit* and *Yy1* promoter activation regulation by *Sohlh1*[J]. *J Anim Vet Adv*, 2012, 11(14): 2523–2528.
- [ 16 ] Soumillon M, Necsulea A, Weier M, et al. Cellular source and mechanisms of high transcriptome complexity in the mammalian testis[J]. *Cell Rep*, 2013, 3(6): 2179–2190.
- [ 17 ] Kwon JT, Jin S, Choi H, et al. *TEX13* is a novel male germ cell-specific nuclear protein potentially involved in transcriptional repression[J]. *FEBS Lett*, 2016, 590(20):3526.
- [ 18 ] Wang H, Zhao R, Guo C, et al. Knockout of *BRD7* results in impaired spermatogenesis and male infertility [J]. *Sci Rep*, 2016, 6:21776.
- [ 19 ] Wasik KA, Tam OH, Knott SR, et al. *RNF17* blocks promiscuous activity of *PIWI* proteins in mouse testes[J]. *Genes Dev*, 2015, 29(13):1403–1415.
- [ 20 ] Pan J, Goodheart M, Chuma S, et al. *RNF17*, a component of the mammalian germ cell nuage, is essential for spermiogenesis [J]. *Development*, 2005, 132(18): 4029–4039.
- [ 21 ] Zhou Z, Shirakawa T, Ohbo K, et al. RNA binding protein *Nanos2* organizes post-transcriptional buffering system to retain primitive state of mouse spermatogonial stem cells[J]. *Dev Cell*, 2015, 34(1):96–107.

[ 收稿日期 ] 2019-03-27