

# 哺乳动物同性生殖研究历程及应用前景

顾浩宇<sup>①</sup> 黄章龙<sup>②</sup> 罗海玻<sup>①</sup> 宋凤<sup>①\*</sup>

① 四川大学华西基础医学与法医学院法医物证学教研室 成都 610041; ② 四川省公安厅物证鉴定中心 成都 610041

**摘要:** 繁殖是所有生命形式的基础, 同性生殖作为一种特殊的繁殖方式存在于自然界中。同性生殖包含孤雌生殖和孤雄生殖, 在哺乳动物中尚未被发现。印记基因等表观遗传机制的存在阻碍了同性生殖胚胎发育。目前利用基因编辑已成功培育出双母系小鼠 (*Mus musculus domesticus*)、单母小鼠和双父系小鼠, 双母系小鼠和单母小鼠可正常发育并繁殖后代, 双父系小鼠可存活 48 h。本文综述了哺乳动物同性生殖相关技术以及探究历程, 总结了同性生殖技术的应用前景与发展方向。

**关键词:** 同性生殖; 孤雌生殖; 孤雄生殖

**中图分类号:** Q954 **文献标识码:** A **文章编号:** 0250-3263 (2023) 05-790-10

## Research History and Application Prospects of Same-Sex Reproduction in Mammals

GU Hao-Yu<sup>①</sup> HUANG Zhang-Long<sup>②</sup> LUO Hai-Bo<sup>①</sup> SONG Feng<sup>①\*</sup>

① *Department of Forensic Genetics, West China School of Basic Medical Sciences & Forensic Medicine, Sichuan University, Chengdu 610041;*

② *Forensic Science Center of Sichuan Provincial Public Security Department, Chengdu 610041, China*

**Abstract:** Reproduction is the basis of all forms of life, and same-sex reproduction exists in nature as a specific form of reproduction. Same-sex reproduction consists of both parthenogenesis and androgenesis and has not yet been discovered in mammals. The presence of epigenetic mechanisms such as imprinted genes hinders the development of same-sex reproductive embryos. The paternally expressed imprinted genes promote embryonic growth, while maternally expressed imprinted genes inhibit embryonic growth, and same-sex reproduction expresses only one side of the imprinted gene, resulting in overgrown or undeveloped embryos. The knockout of some of the imprinted genes using embryonic stem cell technology has been successful in producing bimaternal and bipaternal mice, and single maternal mice using methylation modifications. This paper reviews the technology and history of mammalian same-sex reproduction, summarizes its potential applications and directions, and analyses its possible advantages in animal husbandry research, genetics research, and disease model construction and treatment.

**Key words:** Same-sex reproduction; Parthenogenesis; Androgenesis

\* 通讯作者, E-mail: fengsong9@163.com;

**第一作者简介** 顾浩宇, 男, 本科生; 研究方向: 法医学; E-mail: 1596671947@qq.com。

收稿日期: 2023-02-16, 修回日期: 2023-05-15 DOI: 10.13859/j.cjz.202305013

同性生殖包含孤雌生殖和孤雄生殖。孤雌生殖是一种特殊的生殖形式，与传统有性生殖不同，孤雌生殖的胚胎发育发生在未受精卵中，即无雄配子参与，仅靠雌配子发育为胚胎（Ramachandran et al. 2018）。多种鱼类、两栖动物和爬行动物以孤雌生殖的形式繁殖后代，一些在通常情况下依靠有性繁殖的低等脊椎动物也可以在雌雄隔离时进行孤雌生殖（Neaves et al. 2011），而在哺乳动物中不存在孤雌生殖，还没有个体从未受精的卵母细胞发育而来（Wei et al. 2022）。这是因为在哺乳动物中，有些基因只在单一亲本基因组中表达，母亲和父亲基因组的平衡对调节胚胎或胎儿出生后的生长发育有重要作用（Haig et al. 2010），这种基因被称为印记基因。印记基因如 *Igf2*、*Peg1*、*Peg3*、*Rasgrf1*、*Dlk1* 等具有促进胚胎生长的作用，*Igf2r*、*Gna*、*CDKN1c*、*H19*、*Grb10* 等发挥生长抑制因子的作用（Barlow et al. 2014, Li et al. 2018）。在孤雌胚胎中，由于基因组母体特异性印记的二倍建立，导致了这种平衡被打破（Lampert et al. 2008）。与孤雌生殖类似，自然界中也存在孤雄生殖，但并不能从单独的雄配子发育为胚胎。孤雄生殖包含两种类型：一种是雌性产生无核的卵，受精后胚胎从雄配子发育；另一种则是雄性和雌性之间形成受精卵，但雌性基因组被消除（Schwander et al. 2016）。同样的，孤雄生殖在哺乳动物中并不存在。随着胚胎干细胞技术的发展（Kaufman et al. 1983, Testa et al. 2005, Segers et al. 2017），已有研究探索哺乳动物同性生殖的可能并成功培育出后代（Li et al. 2018, Wang et al. 2018）。本文综述了哺乳动物中同性生殖的研究历程、技术与发展，并对同性生殖的应用前景作了总结。

## 1 同性生殖的研究历程

### 1.1 印记基因的发现

印记基因是一种由于亲本基因在遗传时产生特异性加工修饰导致子代中仅单亲等位基因

表达的表观遗传机制。在 20 世纪 80 年代进行的一系列核移植实验（McGrath et al. 1983, 1984, Surani et al. 1984）确定了二倍体雌核胚胎或二倍体雄核胚胎小鼠（*Mus musculus domesticus*）并不能存活，这证明了来自父母的染色体在功能上并不相等，且母系和父系的染色体都是胚胎发育所必需的。Cattanach 等（1985）的研究进一步利用相互易位和着丝粒融合的核移植小鼠胚胎确定了导致这种亲本效应的并非父母全基因组，而是某些特定基因区域。紧接着父系表达的生长正调控基因 *Igf2*（DeChiara et al. 1991, Ferguson-Smith et al. 1991）和母系表达的生长负调控基因 *Igf2r*（Barlow et al. 1991）及 *H19*（Bartolomei et al. 1991）的发现印证了印记基因的存在和其对胚胎发育起到的重要作用。这种仅单亲来源的基因表达，说明印记基因是一种表观遗传（Tucci et al. 2019）。当前主流观点认为（Moore et al. 1991, Haig et al. 2004），印记基因的产生是由于母系和父系来源的基因组之间的功能冲突，是胚胎发育能量与资源控制所必需：父系表达的印记基因促进胚胎生长，而母系表达的印记基因抑制胚胎生长。随着高通量测序技术的飞速发展，测序深度增加，针对表观遗传的研究也得到了促进，大量新的印记基因发现且符合这一观点（Kaneko-Ishino et al. 2022）。

在最简单的印记基因座上，来自母本或父本的等位基因转录启动子被不同的表观遗传修饰所抑制，导致亲本等位基因是单等位表达的，例如 *H19* 基因启动子周围区域的雄性特异性 DNA 甲基化抑制了父系等位基因的转录（Bartolomei et al. 1993）。有研究表明，有一些印记基因如 *Gab1*、*Sfnbt2* 和 *Slc38a4* 的表达不依赖 DNA 甲基化的机制（Okoe et al. 2014, Kobayashi et al. 2022），张毅课题组研究（Inoue et al. 2017a, b）确定母源蛋白修饰 H3K27me3 是一种非 DNA 甲基化印记机制。由于这些机制的存在，同性生殖中胚胎发育的主要阻碍是由印记基因表达引起的（Bartolomei et al.

2020)。因此，想要突破哺乳动物同性生殖的难题需从印记基因表达入手。

### 1.2 胚胎干细胞技术应用于同性生殖

想要得到能够正常发育的同性生殖胚胎，需要对印记基因进行编辑。与使用二倍体细胞相比，如果使用单倍体细胞会更容易对印记基因进行编辑。哺乳动物的单倍体细胞仅限于配子，它们很难在体外长期培养以完成遗传操作 (Shuai et al. 2014)。因此，建立哺乳动物单倍体细胞系用于同性生殖研究具有重要价值。1981年，从体外培养小鼠囊胚中分离到的胚胎干细胞 (embryonic stem cell, ESCs) (Evans et al. 1981)，为建立单倍体胚胎干细胞 (haploid embryonic stem cells, haESCs) 奠定基础。在后续的研究中，通过对受精卵进行显微操作 (Tarkowski et al. 1976)，或通过对第二次减数分裂中期的卵母细胞 (metaphase II oocytes, MII) 孤雌激活 (Modliński et al. 1975)，产生的小鼠单倍体胚胎使小鼠单倍体胚胎干细胞 (haESCs) 更有希望成功建立。然而，如何维持小鼠单倍体胚胎干细胞 (haESCs) 的单倍体性一直是一个难题 (Kaufman et al. 1983)。直到 2011 年，通过荧光激活细胞分选的方法 (Elling et al. 2011, Leeb et al. 2011) 从第二次

减数分裂中期卵母细胞 (MII) 孤雌激活的小鼠单倍体胚胎中获得了小鼠孤雌单倍体胚胎干细胞 (parthenogenetic haploid embryonic stem cells, PG-haESCs)，且保持了完整的单倍体基因组，没有扩增或丢失。在 2012 年，通过核移植和去除受精卵母细胞中雌原核的办法，产生了小鼠雄核单倍体囊胚，获得了小鼠孤雄单倍体胚胎干细胞 (androgenetic haploid embryonic stem cells, AG-haESCs) (Yang et al. 2012)。和二倍体胚胎干细胞 (ESCs) 一样，小鼠单倍体胚胎干细胞 (haESCs) 可以在体外分化成所有细胞类型，并在注射入囊胚后分化成嵌合体胚胎 (Leeb et al. 2012)。通过 CRISPR 表观基因组编辑精准激活或沉默单倍体胚胎干细胞 (haESCs) 的印记基因组 (Syding et al. 2020)，可以有效地构建双母系或双父系胚胎模型，探索同性生殖的可能性。

## 2 同性生殖的研究现状

哺乳动物的同性生殖研究从 2004 年开始，截至目前，已产生双母系小鼠、单母小鼠和双父系小鼠 (图 1)。获得同性生殖小鼠的常用方法有两种：一种是通过非生长卵母细胞和完全生长卵母细胞构建；一种是通过孤雌/孤雄单倍

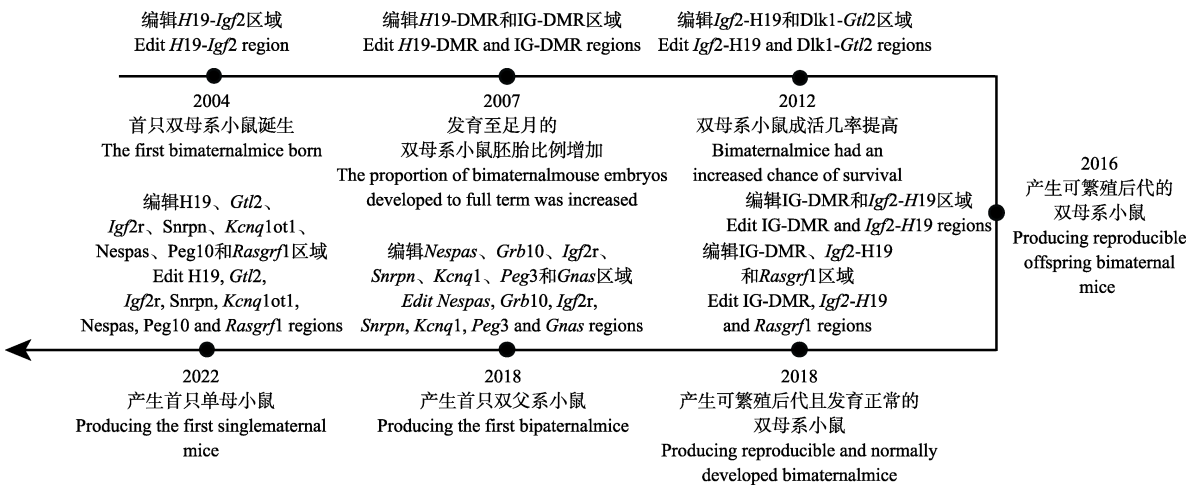


图 1 哺乳动物同性生殖研究进展

Fig. 1 Research history of same-sex reproduction in mammals

体胚胎干细胞基因编辑后构建。现有的同性生殖探索仅在小鼠中进行，可以产生能正常发育繁殖的双母系小鼠、单母小鼠和存活 48 h 的双父系小鼠。

### 2.1 孤雌生殖

一个卵母细胞在没有雄性成分激活的情况下启动发育过程，这种形式的繁殖被称为孤雌生殖。哺乳动物的卵母细胞可以在体外被激活，通过模拟在受精时由精子诱导引起的细胞内钙波启动卵裂分裂与胚胎发育（Brevini et al. 2012）。

Kono 等（2004）成功获得了全世界第一只双母系小鼠。因为印记基因通常导致父系等位基因表达的基因沉默（Surani et al. 2001），孤雌胚胎不能发育到足月（Brevini et al. 2008）。Kono 等（2004）的研究在一定程度上克服了孤雌胚胎不能发育至足月的问题。印记基因 *H19* 和 *Igf2* 分别存在于雄性和雌性配子中，*H19* 在卵母细胞中表达，*Igf2* 在精子中表达（Edwards et al. 2007）。因此，找到替代精子 *Igf2* 的来源以维持囊胚发育至关重要。他们将 *Igf2* 的遗传位点插入未生长的卵母细胞核中，将其与完全生长的卵母细胞核融合并重建卵母细胞（图 2a），之后人工激活了 598 个处理过的卵母细胞中的 457 个，其中，371 个活化卵母细胞产生囊胚。将这些囊胚转移到 26 个受体，共产生了 10 只活体和 9 只死亡的双母系后代，其中 1 只小鼠发育至成年并产下自己的后代。在这之后，Wu 等（2006）通过编辑 *H19*-DMR 和 IG-DMR 区域调节小鼠胚胎 *Igf2* 和 *H19* 的表达，发现发育至足月的胚胎比例大大增加，证明由这两个由父本甲基化印记控制区调控的印记基因是阻止双母系小鼠胚胎正常发育至足月的唯一屏障（Kawahara et al. 2007a, b）。Kawahara 等（2012）改进了培育双母系小鼠的技术，发现在 *Igf2*-*H19* 和 *Dlk1*-*Gtl2* 区域进行基因编辑，双母系小鼠成活几率得到了提高，寿命也得到延长。

Li 等（2016）通过编辑第二次减数分裂中

期卵母细胞（MII）衍生的低甲基化 PG-haESCs 上的两个印记区域 IG-DMR 和 *Igf2*-*H19* 后，将其注射到野生型 MII 卵母细胞中，产生可繁殖后代的双母系小鼠（图 2b），尽管此时的双母系小鼠存在发育迟缓、行为异常的问题，但是这项研究还是为哺乳动物同性生殖提供了新思路。在 2018 年，该项研究被进一步推进，他们比较了双母系小鼠和对照小鼠的脑转录组，认为 *Rasgrf1* 可能导致双母系小鼠的行为异常，于是使用 CRISPR-Cas9 编辑了 PG-haESCs 中的印记区域 IG-DMR、*Igf2*-*H19* 和 *Rasgrf1*，再进行细胞融合与培养，在 210 个小鼠胚胎中存活了 29 只小鼠（约 14%），且存活的小鼠具有与正常小鼠无异的生长发育功能（图 2c）。2022 年，Wei 等（2022）完成了只有一个生物学母亲的小鼠孤雌生殖。他们通过甲基化修饰而不是基因敲除，通过 dCas9-Dnmt3a 修饰两个父本甲基化印记控制区 *H19* 和 *Gtl2* 并通过 dCpf1-Tet1 修饰 5 个母本甲基化印记控制区 *Igf2r*、*Snrpn*、*Kcnq1ot1*、*Nespas* 和 *Peg10*，产生了单母小鼠，但发育较迟缓。他们接着联合编辑了 *Rasgrf1* 区域，得到了健康且能正常繁殖后代的单母小鼠。

### 2.2 孤雄生殖

研究表明，与具有两个雌性原核的胚胎相比，具有两个雄性原核的胚胎发育速度更加缓慢（Barton et al. 1984）。这说明想要实现哺乳动物的孤雄生殖需要克服更多障碍。Li 等（2012）通过将精子注入去核卵母细胞中，建立了小鼠 AG-haESCs 细胞系，且 AG-haESCs 能够稳定增长和保持单倍性 30 多代，在体外能够向三胚层分化，在体内注入囊胚后可以形成嵌合体的胚胎。这项研究揭示了孤雄单倍体的发育多能性，为接下来进行的孤雄生殖研究奠定了基础。

2018 年，第一批孤雄生殖的小鼠诞生（Li et al. 2018）。Li 等（2018）首先选择了 6 个严重影响胚胎、胎儿和胎盘生长的印记区域，分别是 *Nespas*、*Grb10*、*Igf2r*、*Snrpn*、*Kcnq1* 和

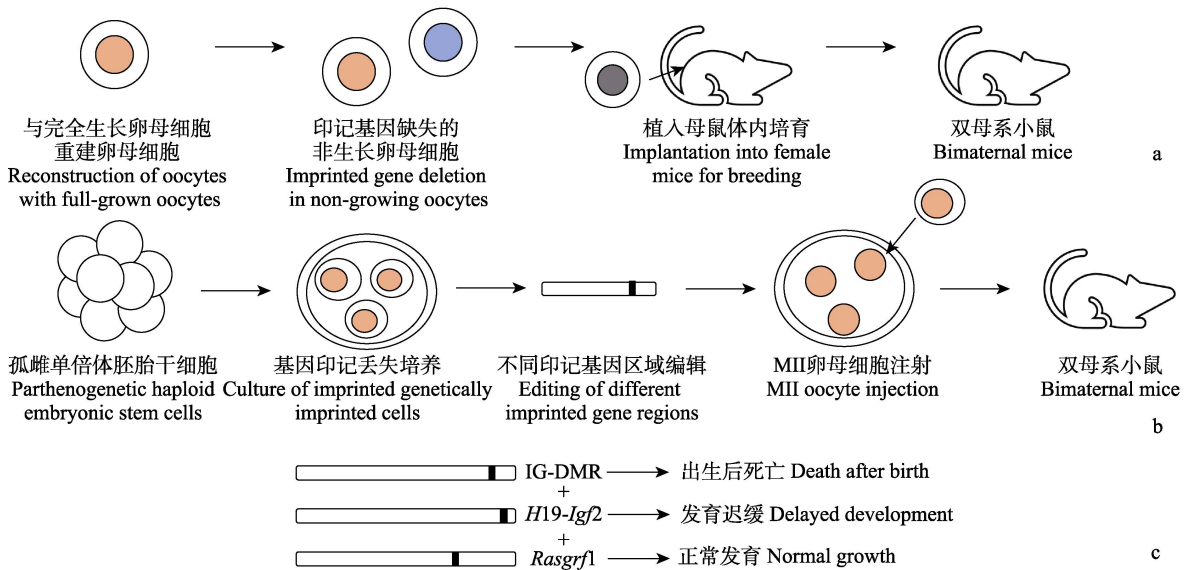


图 2 孤雌生殖小鼠常见研究方法及其基因编辑后生存状态

Fig. 2 Common research methods of parthenogenetic mice and survival status after gene editing

a. 未生长的卵母细胞与完全生长的卵母细胞融合培育双母系小鼠方法；b. 敲除印记基因培育双母系小鼠方法；c. 双母系小鼠敲除印记基因区域及产生小鼠状态。

a. Generation of bimaternally inherited mice by ungrown oocytes fusing with fully grown oocytes; b. Generation of bimaternally inherited mice by editing imprinted gene regions; c. Edit imprinted gene regions and bimaternally inherited mice status.

*Peg3* 并删除，将得到的 AG-haESCs 称为 6 KO-ahESCs，与另一个精子一同注入去核卵母细胞中，然而胚胎无法正常发育。作为替代策略，他们通过共注射 6 KO-ahESCs 和红色荧光蛋白标记的精子产生二倍体雄核胚胎，再从中获取二倍体雄核胚胎干细胞 (ESCs) (称为 6 KO-adESCs)，通过四倍体互补的方式产生双父系小鼠 (图 3a)。在 1 023 个胚胎中有 12 个胚胎发育至足月，然而存活的双父系小鼠表现出严重的过度生长、水肿和内压增高，均在出生不久后死亡。与野生型小鼠相比，这批 6 KO-双父系小鼠均表现出 *Gnas* 印记区域低甲基化。*Gnas* 与 *Nespas* 位于同一个基因座 (Weinstein et al. 2004)。他们又尝试删除了 6 KO-ahESCs 的 *Gnas* 印记区域中的外显子 1A，产生了 7 KO-adESCs。在 477 个 7 KO-胚胎中产生 12 只双父系小鼠，缺陷表型大幅改善，2 只没有水肿的 7 KO-双父系小鼠存活超过 48 h (图 3b)。尽管孤雄生殖的结果还不尽如人意，没能像孤

雌生殖一样，产生可以正常成年并生育后代的双父系小鼠，但现有研究结果证明，双父系生殖的障碍也是能够逐步跨越的。

### 2.3 同性生殖面临的挑战

在同性生殖领域，仅产生了同性生殖小鼠，尽管已制备出猴单倍体胚胎干细胞 (Yang et al. 2013)，但还没有相关研究利用其进行同性生殖探索。针对孤雌小鼠而言，由于样本量较少，无法确定基因编辑后孤雌小鼠可能会存在的发育、疾病等问题以及编辑其他印记区域是否会进一步提高存活率；双父系小鼠还不能存活，需要继续寻找印记基因解决过度生长的问题，同时能否找到严格意义上孤雄生殖的方法，仅依靠精子细胞来产生子代。在未来的同性生殖探索中，一方面需要对印记基因等表观遗传机制的进一步研究来减少同性生殖胚胎发育的障碍，另一方面则需要扩大研究的广度，对其他哺乳动物进行同性生殖的尝试。进一步寻找和编辑印记基因或甲基化印记控制区，可能会提

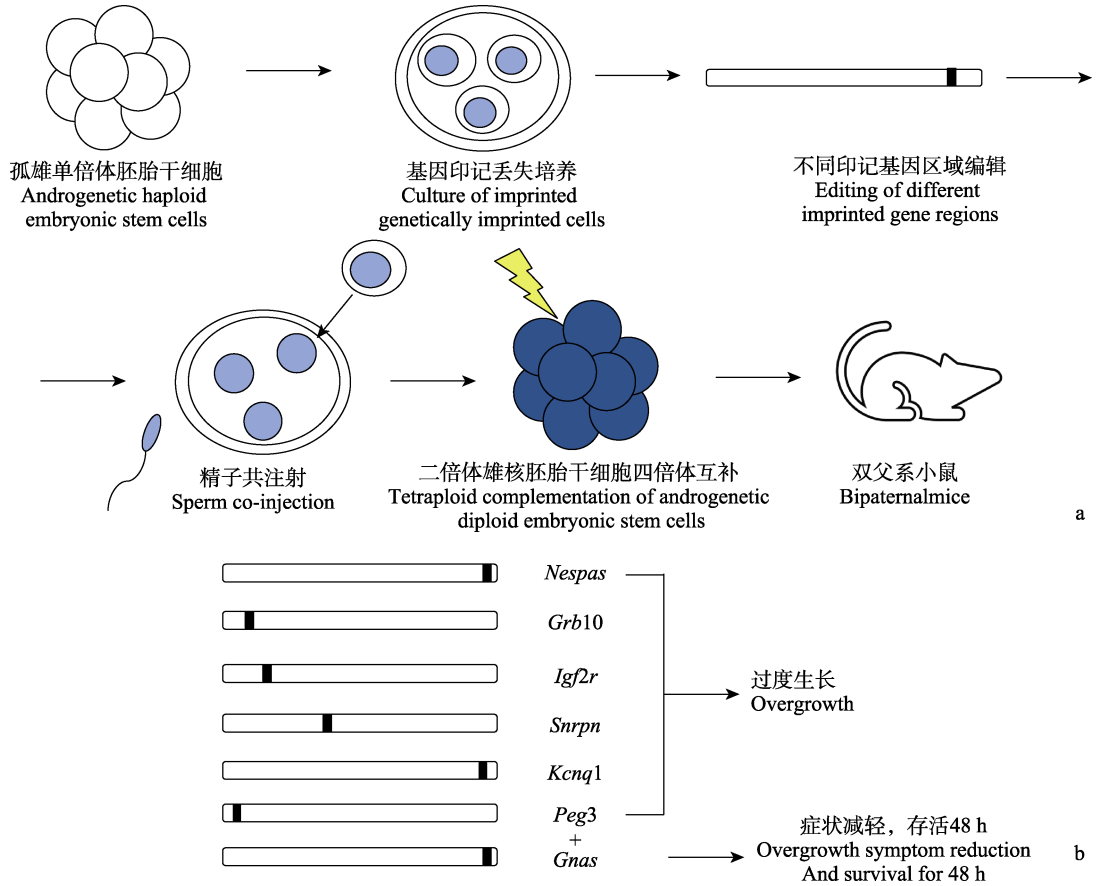


图3 孤雄生殖小鼠研究方法及基因编辑后生存状态

Fig. 3 Research methods of androgenesis mice and survival status after gene editing

a. 四倍体互补培育双父系小鼠方法；b. 双父系小鼠敲除印记基因区域及产生小鼠状态。

a. Generation of bipaternal mice by tetraploid complementation; b. Edit imprinted gene regions and bipaternal mice status.

高同性生殖的效率。对编辑技术的进一步优化，例如使用嵌合 *Dnmt3a/3l* (Stepper et al. 2017) 或通过 *dCas9-SunTag* 系统将多个 *DNMT3A* 催化结构域募集到目标位点以编辑 DNA 甲基化 (Pflueger et al. 2018)，可以增强编辑效率并提高同性生殖后代的存活率。

### 3 同性生殖的意义

#### 3.1 畜牧业研究

哺乳动物同性生殖运用了单倍体胚胎干细胞，与常规的二倍体胚胎干细胞相比，它们在转基因动物生产方面更具有价值。单倍体胚胎干细胞细胞非常容易产生纯合突变体，在进行

遗传筛选后，可以将突变的单倍体胚胎干细胞通过胞浆内单倍体胚胎干细胞注射将基因修饰传递到动物水平 (Shuai et al. 2014)，这为产生转基因动物模型提供了便利的途径。

同性生殖的研究为畜牧业优质牲畜个体的培育提供新方向。利用精液或卵子通过胚胎干细胞手段培育具备优良遗传基因的个体，不仅运输保存容易、技术上有望实现，且能够保证培育后代遗传基因完全来自优质家畜物种，为进一步培育优良品种提供了新思路。随着同性生殖的深入研究，使得同性生殖的后代能够正常发育繁殖，这能够解决优种牲畜的引进与培育难题。

### 3.2 遗传学研究、疾病模型构建与治疗

利用孤雌单倍体胚胎干细胞或孤雄单倍体胚胎干细胞能够快速建立隐性性状的疾病遗传模型用于相关研究,小鼠和猴单倍体胚胎干细胞均可用于基因功能研究和隐形表型分析,这对于如何衍生人类单倍体胚胎干细胞并进行相关研究是有帮助的。已有相关研究表明,单倍体胚胎干细胞在遗传筛选与疾病模型构建方面更便捷(Luo et al. 1998, Zou et al. 2009, Wang et al. 2013)。这对于药物的筛选治疗也具有帮助。

在研究同性生殖中对印记基因等表观遗传机制更深入的了解,为相关表观遗传疾病的治疗奠定基础。印记基因的异常与人类遗传性疾病息息相关,例如贝克威思-威德曼综合征(Brioude et al. 2018)、小胖威利综合征(Butler et al. 2019)、安格尔曼综合征(Bonello et al. 2017)等,均是印记基因缺陷导致。通过修复异常的基因印记片段,可能是治疗这些疾病的有效手段,孤雌小鼠和孤雄小鼠模型构建中敲除相关印记基因,使得小鼠成活率增加,说明敲除印记基因可能也是修复的一种手段。

此外,可以利用不能发育至足月的人类孤雌胚胎进行相关疾病的研究与治疗。根据我国2003年发布的《人胚胎干细胞研究伦理指导原则》第六条,利用体外受精、体细胞核移植、单性复制技术或遗传修饰获得的囊胚,其体外培养期限自受精或核移植开始不得超过14 d。在经过伦理委员会对伦理学及科学性进行综合审查、咨询与监督后,可以使用人类孤雌胚胎进行研究。人类孤雌胚胎与现有的实验动物模型相比,基因同源度高,且避免了动物研究的结果不能直接转化为对人类的研究的问题,如小鼠胚胎干细胞治疗可能会引起鼠疫。

## 4 同性生殖的未来展望

对哺乳动物的同性生殖研究,探索了一条全新的繁殖方式,并可能应用于育种、科学研究、疾病治疗等领域。现有的研究已经获得双母系小鼠、单母小鼠和双父系小鼠,但还没有

相关研究运用于其他哺乳动物。由于目前孤雌生殖小鼠成活率不足20%,双父系小鼠不能存活至成年并生育后代,距离应用于畜牧业育种及疾病模型构建与治疗仍有很长一段距离。常用的方法是通过单倍体胚胎干细胞来进行同性生殖的研究,而单倍体胚胎干细胞由全能细胞中培育得到,能否由体细胞培育得到将成为下一步研究的重点。

目前的研究围绕如何提高同性生殖小鼠的存活率、改善发育状况进行,相关应用实例较少。随着研究的逐渐深入以及对印记基因修饰研究的不断完善,在哺乳动物同性生殖研究方面,有望进一步提高现有同性生殖小鼠的成活率,并拓展至其他常见哺乳动物中。如前文所述,寻找更多印记基因提高同性生殖小鼠存活率及生存质量和改善现有基因编辑方法优化多基因联合编辑是同性生殖研究的发展方向。同性生殖的热门应用前景及胚胎干细胞技术的发展,相信可以推动哺乳动物同性生殖的研究,开发出更高效同性生殖胚胎培育方法,并延长同性生殖后代寿命,使其成为畜牧与医疗领域极具价值的研究方向。

## 参 考 文 献

- Barlow D P, Bartolomei M S. 2014. Genomic imprinting in mammals. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 6(2): a018382.
- Barlow D P, Stöger R, Herrmann B G, et al. 1991. The mouse insulin-like growth factor type-2 receptor is imprinted and closely linked to the Tme locus. *Nature*, 349(6304): 84–87.
- Bartolomei M S, Oakey R J, Wutz A. 2020. Genomic imprinting: An epigenetic regulatory system. *PLoS Genetics*, 16(8): e1008970.
- Bartolomei M S, Webber A L, Brunkow M E, et al. 1993. Epigenetic mechanisms underlying the imprinting of the mouse *H19* gene. *Genes & Development*, 7(9): 1663–1673.
- Bartolomei M S, Zemel S, Tilghman S M. 1991. Parental imprinting of the mouse *H19* gene. *Nature*, 351(6322): 153–155.
- Barton S C, Surani M A, Norris M L. 1984. Role of paternal and maternal genomes in mouse development. *Nature*, 311(5984): 374–376.



- Bonello D, Camilleri F, Calleja-Agius J. 2017. Angelman syndrome: Identification and management. *Neonatal Network: NN*, 36(3): 142–151.
- Brevini T A, Pennarossa G, Antonini S, et al. 2008. Parthenogenesis as an approach to pluripotency: advantages and limitations involved. *Stem Cell Reviews*, 4(3): 127–135.
- Brevini T A, Pennarossa G, Vanelli A, et al. 2012. Parthenogenesis in non-rodent species: developmental competence and differentiation plasticity. *Theriogenology*, 77(4): 766–772.
- Brioude F, Kalish J M, Mussa A, et al. 2018. Expert consensus document: Clinical and molecular diagnosis, screening and management of Beckwith-Wiedemann syndrome: an international consensus statement. *Nature Reviews. Endocrinology*, 14(4): 229–249.
- Butler M G, Miller J L, Forster J L. 2019. Prader-Willi syndrome - clinical genetics, diagnosis and treatment approaches: An update. *Current Pediatric Reviews*, 15(4): 207–244.
- Cattanach B M, Kirk M. 1985. Differential activity of maternally and paternally derived chromosome regions in mice. *Nature*, 315(6019): 496–498.
- DeChiara T M, Robertson E J, Efstratiadis A. 1991. Parental imprinting of the mouse insulin-like growth factor II gene. *Cell*, 64(4): 849–859.
- Edwards R G. 2007. The significance of parthenogenetic virgin mothers in bonnethead sharks and mice. *Reproductive Biomedicine Online*, 15(1): 12–15.
- Elling U, Taubenschmid J, Wirmsberger G, et al. 2011. Forward and reverse genetics through derivation of haploid mouse embryonic stem cells. *Cell Stem Cell*, 9(6): 563–574.
- Evans M J, Kaufman M H. 1981. Establishment in culture of pluripotential cells from mouse embryos. *Nature*, 292(5819): 154–156.
- Ferguson-Smith A C, Cattanach B M, Barton S C, et al. 1991. Embryological and molecular investigations of parental imprinting on mouse chromosome 7. *Nature*, 351(6328): 667–670.
- Haig D. 2004. Genomic imprinting and kinship: How good is the evidence? *Annual Review of Genetics*, 38: 553–585.
- Haig D. 2010. Colloquium papers: Transfers and transitions: parent-offspring conflict, genomic imprinting, and the evolution of human life history. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 107(Suppl 1): 1731–1735.
- Inoue A, Jiang L, Lu F, et al. 2017a. Maternal H3K27me3 controls DNA methylation-independent imprinting. *Nature*, 547(7664): 419–424.
- Inoue A, Jiang L, Lu F, et al. 2017b. Genomic imprinting of Xist by maternal H3K27me3. *Genes & Development*, 31(19): 1927–1932.
- Kaneko-Ishino T, Ishino F. 2022. The evolutionary advantage in mammals of the complementary monoallelic expression mechanism of genomic imprinting and its emergence from a defense against the insertion into the host genome. *Frontiers in Genetics*, 13: 832983.
- Kaufman M H, Robertson E J, Handyside A H, et al. 1983. Establishment of pluripotential cell lines from haploid mouse embryos. *Journal of Embryology and Experimental Morphology*, 73: 249–261.
- Kawahara M, Kono T. 2012. Roles of genes regulated by two paternally methylated imprinted regions on chromosomes 7 and 12 in mouse ontogeny. *The Journal of Reproduction and Development*, 58(2): 175–179.
- Kawahara M, Wu Q, Ferguson-Smith A C, et al. 2007a. Appropriate expression of imprinted genes on mouse chromosome 12 extends development of bi-maternal embryos to term. *FEBS Letters*, 581(27): 5178–5184.
- Kawahara M, Wu Q, Takahashi N, et al. 2007b. High-frequency generation of viable mice from engineered bi-maternal embryos. *Nature Biotechnology*, 25(9): 1045–1050.
- Kobayashi E H, Shibata S, Oike A, et al. 2022. Genomic imprinting in human placentation. *Reproductive Medicine and Biology*, 21(1): e12490.
- Kono T, Obata Y, Wu Q, et al. 2004. Birth of parthenogenetic mice that can develop to adulthood. *Nature*, 428(6985): 860–864.
- Lampert K P. 2008. Facultative parthenogenesis in vertebrates: reproductive error or chance? *Sexual Development: Genetics, Molecular Biology, Evolution, Endocrinology, Embryology, and Pathology of Sex Determination and Differentiation*, 2(6): 290–301.



- Leeb M, Walker R, Mansfield B, et al. 2012. Germline potential of parthenogenetic haploid mouse embryonic stem cells. *Development*, 139(18): 3301–3305.
- Leeb M, Wutz A. 2011. Derivation of haploid embryonic stem cells from mouse embryos. *Nature*, 479(7371): 131–134.
- Li W, Shuai L, Wan H, et al. 2012. Androgenetic haploid embryonic stem cells produce live transgenic mice. *Nature*, 490(7420): 407–411.
- Li Z K, Wang L Y, Wang L B, et al. 2018. Generation of bimaternal and bipaternal mice from hypomethylated haploid ESCs with imprinting region deletions. *Cell Stem Cell*, 23(5): 665–676.
- Li Z, Wan H, Feng G, et al. 2016. Birth of fertile bimaternal offspring following intracytoplasmic injection of parthenogenetic haploid embryonic stem cells. *Cell Research*, 26(1): 135–138.
- Luo G, Ivics Z, Izsvák Z, et al. 1998. Chromosomal transposition of a Tc1/mariner-like element in mouse embryonic stem cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 95(18): 10769–10773.
- McGrath J, Solter D. 1983. Nuclear transplantation in mouse embryos. *The Journal of Experimental Zoology*, 228(2): 355–362.
- McGrath J, Solter D. 1984. Completion of mouse embryogenesis requires both the maternal and paternal genomes. *Cell*, 37(1): 179–183.
- Modliński J A. 1975. Haploid mouse embryos obtained by microsurgical removal of one pronucleus. *Journal of Embryology and Experimental Morphology*, 33(4): 897–905.
- Moore T, Haig D. 1991. Genomic imprinting in mammalian development: a parental tug-of-war. *Trends in Genetics: TIG*, 7(2): 45–49.
- Neaves W B, Baumann P. 2011. Unisexual reproduction among vertebrates. *Trends in Genetics: TIG*, 27(3): 81–88.
- Okae H, Matoba S, Nagashima T, et al. 2014. RNA sequencing-based identification of aberrant imprinting in cloned mice. *Human Molecular Genetics*, 23(4): 992–1001.
- Pflueger C, Tan D, Swain T, et al. 2018. A modular dCas9-SunTag DNMT3A epigenome editing system overcomes pervasive off-target activity of direct fusion dCas9-DNMT3A constructs. *Genome Research*, 28(8): 1193–1206.
- Ramachandran R, McDaniel C D. 2018. Parthenogenesis in birds: a review. *Reproduction*, 155(6): R245–R257.
- Schwander T, Oldroyd B P. 2016. Androgenesis: where males hijack eggs to clone themselves. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 371(1706): 20150534.
- Segers S, Mertes H, Pennings G, et al. 2017. Using stem cell-derived gametes for same-sex reproduction: an alternative scenario. *Journal of Medical Ethics*, 43(10): 688–691.
- Shuai L, Zhou Q. 2014. Haploid embryonic stem cells serve as a new tool for mammalian genetic study. *Stem Cell Research & Therapy*, 5(1): 20.
- Stepper P, Kungulovski G, Jurkowska R Z, et al. 2017. Efficient targeted DNA methylation with chimeric dCas9-Dnmt3a-Dnmt3L methyltransferase. *Nucleic Acids Research*, 45(4): 1703–1713.
- Surani M A. 2001. Reprogramming of genome function through epigenetic inheritance. *Nature*, 414(6859): 122–128.
- Surani M A, Barton S C, Norris M L. 1984. Development of reconstituted mouse eggs suggests imprinting of the genome during gametogenesis. *Nature*, 308(5959): 548–550.
- Syding L A, Nickl P, Kasperek P, et al. 2020. CRISPR/Cas9 Epigenome Editing Potential for Rare Imprinting Diseases: A Review. *Cells*, 9(4): 993.
- Tarkowski A K, Rossant J. 1976. Haploid mouse blastocysts developed from bisected zygotes. *Nature*, 259(5545): 663–665.
- Testa G, Harris J. 2005. Ethics and synthetic gametes. *Bioethics*, 19(2): 146–166.
- Tucci V, Isles A R, Kelsey G, et al. 2019. Genomic imprinting and physiological processes in mammals. *Cell*, 176(5): 952–965.
- Wang H, Yang H, Shivalila C S, et al. 2013. One-step generation of mice carrying mutations in multiple genes by CRISPR/Cas-mediated genome engineering. *Cell*, 153(4): 910–918.
- Wang H, Zhang W, Yu J, et al. 2018. Genetic screening and multipotency in rhesus monkey haploid neural progenitor cells. *Development*, 145(11): dev160531.
- Wei Y, Yang C R, Zhao Z A. 2022. Viable offspring derived from single unfertilized mammalian oocytes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 119(12): e2115248119.

- Weinstein L S, Liu J, Sakamoto A, et al. 2004. Minireview: GNAS: normal and abnormal functions. *Endocrinology*, 145(12): 5459–5464.
- Wu Q, Kumagai T, Kawahara M, et al. 2006. Regulated expression of two sets of paternally imprinted genes is necessary for mouse parthenogenetic development to term. *Reproduction (Cambridge, England)*, 131(3): 481–488.
- Yang H, Liu Z, Ma Y, et al. 2013. Generation of haploid embryonic stem cells from *Macaca fascicularis* monkey parthenotes. *Cell Research*, 23(10): 1187–1200.
- Yang H, Shi L, Wang B, et al. 2012. Generation of genetically modified mice by oocyte injection of androgenetic haploid embryonic stem cells. *Cell*, 149(3): 605–617.
- Zou J, Maeder M L, Mali P, et al. 2009. Gene targeting of a disease-related gene in human induced pluripotent stem and embryonic stem cells. *Cell Stem Cell*, 5(1): 97–110.

（上接第 779 页）

本研究于 2020 年 5 月 10 日至 7 月 26 日在河北永年洼国家湿地公园（36°40' N, 114°41' E）调查棕头鸦雀巢，共计调查了 102 巢。其中，5 月 30 日发现一巢同时有 2 枚白色卵和 1 枚蓝色卵，卵大小相似（图 1），次日发现蓝色型卵已被巢主拒绝，且巢主产下另 1 枚白色卵，最终所有 3 枚白色卵于 6 月 13 日出雏。该巢离地高约 1.2 m，筑于离公路约 50~60 m 的芦苇（*Phragmites australis*）上，巢材为苇叶细丝。

由于棕头鸦雀不同雌性个体可产蓝色到白色的不同色型卵，而同一雌性个体只产一种色型卵（Kim et al. 1995, Yang et al. 2010），并且该巢蓝色型卵的大小与棕头鸦雀卵一致，明显小于杜鹃卵，这种现象极有可能是种内巢寄生。种内巢寄生很难被发现，因为同一种鸟类不同个体所产的卵往往很相似，而且对于种内寄生卵的识别和拒绝非常少见（Arnold 1987）。目前已发现有 200 多种鸟类具有种内巢寄生行为，其中 70% 为雀形目鸟类（Yom-Tov 2001）。

然而，棕头鸦雀分化出多态型卵色对抗大杜鹃寄生，同时也使得不同色型卵之间的种内巢寄生容易被宿主识别出来。建议通过分子遗传技术进一步确认和研究棕头鸦雀的种内巢寄生现象。



图 1 被蓝色型卵同种寄生的棕头鸦雀巢

Fig. 1 A *Sinosuthora webbiana* nest parasitized by a conspecific blue egg

蒋宇鑫 杨灿朝\*

热带岛屿生态学教育部重点实验室，海南省热带动植物生态学重点实验室，海南师范大学生命科学学院 海口 571158