基础研究 DOI：10.13406/j.cnki.cyxb.003833

转录因子SP1靶向发育基因调控小鼠胚胎发育

文禹婷，申喜鹏，李文思，向云龙
（重庆医科大学基础医学院医学表观遗传学研究中心，重庆 400016）

【摘 要】目的：探究转录因子特异性蛋白1（specificity protein 1，SP1）对小鼠植入后胚胎发育的转录调控机制。**方法：**收集受精后第7.5天的小鼠植入后早期胚胎，利用胚层分离技术获取外胚层（ectoderm，Ect）、中胚层（mesoderm，Mes）、内胚层（endoderm，End）、原条（primitive streak，PS）与胚外外胚层（extraembryonic ectoderm，ExE）组织；采用染色质免疫共沉淀测序（chromatin immunoprecipitation-sequencing，ChIP-seq）检测SP1在基因组的分布情况；利用CRISPR/Cas9基因编辑结合受精卵电转核酸酶（zygote electroporation of nucleases，ZEN）技术制备*Sp1*敲除的胚胎；采用Smart-seq2检测胚胎的mRNA表达水平并分析对照组与*Sp1*敲除的胚胎中各胚层的差异表达基因（differentially expressed genes，DEGs）；采用基因本体（gene ontology，GO）富集分析对DEGs进行功能聚类；结合ChIP-seq和RNA-seq数据鉴定SP1调控各胚层发育的潜在下游基因。**结果：**SP1在各胚层中均有表达，其信号峰大量富集于基因启动子区，在基因主体与基因间区分布较少；敲除*Sp1*导致RNA表达变化的基因数目在Mes、ExE中较多，功能聚类显示其中表达下调的基因与器官发育、形态发生以及血管生成等生物学进程相关；进一步结合SP1的基因组分布，鉴定出SP1调节胚层发育的潜在关键靶基因，如*Gbx2*、*Vim*等。**结论：**SP1结合胚层特异性的发育基因启动子，可能通过调控其转录水平进而影响胚层分化。

【关键词】转录因子SP1；胚胎发育；细胞命运决定；转录组测序
【中图分类号】R394.1 **【文献标志码】**A

Transcription factor SP1 regulates mouse embryonic development by targeting developmental genes

Wen Yuting, *Shen Xipeng*, *Li Wensi*, *Xiang Yunlong*
(*Center for Medical Epigenetics*, *School of Basic Medical Sciences*, *Chongqing Medical University*)

【Abstract】*Objective*: To investigate transcriptional regulatory mechanisms by which the transcription factor specificity protein 1 (SP1) regulates post-implantation embryonic development in mice. ***Methods*:** Early-stage post-implantation mouse embryos 7.5 days after fertilization were collected. Embryonic germ layer separation techniques were employed to isolate the ectoderm (Ect), mesoderm (Mes), endoderm (End), primitive streak (PS), and extra-embryonic ectoderm (ExE). Chromatin immunoprecipitation sequencing (ChIP-seq) was performed to map the genome-wide binding profile of SP1. *Sp1*-deficient embryos were prepared through CRISPR/Cas9-mediated gene editing coupled with zygote electroporation of nucleases. Smart-seq2 was applied for embryonic mRNA profiling and identification of differentially expressed genes (DEGs) across the embryonic layers between control and *Sp1*-deficient embryos. Gene Ontology enrichment analysis was conducted to cluster DEGs by function. Finally, ChIP-seq and RNA-seq datasets were combined to identify potential downstream targets regulated by SP1 during embryonic layer development. ***Results*:** SP1 was expressed across all the embryonic layers, with its binding sites predominantly enriched in promoter regions while less abundant in gene bodies and intergenic regions. *Sp1* knockout led to a greater number of genes with altered RNA expression in the Mes and ExE. The GO analysis revealed that the downregulated genes were involved in organ development, morphogenesis, and angiogenesis. With the genome-wide SP1 binding profile, potential key targets regulated by SP1 in embryonic layer development were identified, which included *Gbx2* and *Vim*. ***Conclusion*:** SP1 binds to the promoters of germ layer-specific developmental genes, potentially modulating their transcriptional activity and thereby influencing embryonic layer specification.

【Key words】transcription factor SP1; embryonic development; cell fate determination; transcriptome sequencing

作者介绍：文禹婷，Email：wenyuting678@163.com，研究方向：胚胎发育。
通信作者：向云龙，Email：xiangyunlong1987@163.com。
基金项目：重庆市教育委员会重大资助项目（编号：KJZD-M202300402）。
优先出版：https://link.cnki.net/urlid/50.1046.R.20250417.1707.006（2025-04-18）

胚胎发育是哺乳动物种群繁衍的关键环节。在植入后胚胎发育的原肠运动期间，上胚层细胞发生迁移和重排，形成具有不同发育潜能的外、中、内三胚层，为胚胎轴建立和器官发育奠定细胞基础[1]。临床研究表明，孕期流产高发于胚胎发育第5~12周，而5周前由于胚胎较小缺乏临床数据，但预估流产率可达50%[2]。胚胎发育异常是导致孕期流产的重要因素之一。小鼠三胚层分化缺陷引起胚胎发育阻滞，最终导致发育致死[3]。探究三胚层分化的调控机制对阐明孕期流产风险具有重要意义。

转录因子在胚胎发育和胚层分化中扮演着关键角色。其通过识别并结合特定的脱氧核糖核酸（deoxyribonucleic acid，DNA）序列，调节下游靶基因的转录活性，进而指导细胞分化和组织形成调控胚胎发育进程。例如，转录因子配对盒基因6（paired box 6，PAX6）是神经系统发育的关键调控因子，其缺失导致神经系统发育异常，影响神经前体细胞的生成和分化[4]。Brachyury（T）是中胚层形成必不可少的转录因子，它的表达下降导致中胚层结构缺失，如脊索、尿囊和原条缺失[5]。SRY相关HMG盒基因17（SRY-related HMG-box gene 17，SOX17）敲除导致内胚层发育严重异常，无法形成前肠和中肠结构，胚胎在受精后第8.5天至第9.5天发育致死[6]。由此可见，转录因子通过参与胚层分化，对维持胚胎发育至关重要。

转录因子SP/KLF家族在果蝇、大鼠、家兔、人和斑马鱼等物种中广泛表达，参与细胞增殖、凋亡、分化等生物学过程[7-8]。SP/KLF家族的特异性蛋白1（specificity protein 1，SP1）是第1个被鉴定和纯化的转录因子[9]，与复发性流产、胎儿生长受限等疾病密切相关[10-11]。果蝇中SP1/EGR样锌指蛋白HUCKEBEIN缺失，导致内胚层原基发育受损，外胚层和中胚层原基异常扩增[12]。小鼠胚胎中*Sp1*缺失导致胚胎发育严重迟缓，引起体轴不对称、翻转不完全以及卵黄囊异常生长等多种发育异常，最终致死于胚胎发育第11天[13]。尽管SP1高表达于第8.5天胚胎的滋养巨细胞、神经与心脏组织[14]。但其是否在三胚层分化时期表达，以及如何调控三胚层分化尚不明确。

由于细胞谱系复杂、细胞数量稀少，以及缺乏相应的小量化染色质免疫共沉淀测序（chromatin immunoprecipitation-sequencing，ChIP-seq）技术，小鼠早期胚胎发育研究一直是领域内的重点与难点。为此，本研究优化了ChIP-seq技术，并利用其检测转录因子SP1在三胚层中的基因组分布状态，结合*Sp1*敲除的小鼠胚胎模型，探究了SP1在三胚层分化过程中所发挥的作用。

1 材料与方法

1.1 实验动物

C57BL/6N雌鼠（4~6周龄）购自北京维通利华实验动物技术有限公司。假孕雌鼠与结扎雄鼠均为昆明鼠（6~10周龄），购自重庆医科大学实验动物中心。小鼠均饲养于本校实验动物中心独立通风笼盒（individual ventilated cage，IVC）环境，自由饮食取水。动物饲养和实验程序严格遵守重庆医科大学实验动物福利伦理相关规定。

1.2 主要试剂及仪器

本研究涉及的试剂与仪器信息如下：小鼠胚胎M2操作液（M7167，Sigma-Aldrich）、KSOM培养液（MR-101-D，Millipore）、SP1抗体（21962-1-AP，Proteintech）、ChIP-seq文库制备试剂盒（E7645S，NEB）、Smart-seq2文库制备试剂盒（TD502，Vazyme）、荧光定量仪Qubit4（Invitrogen）、电穿孔仪（Bio-Rad）、37 ℃加热台（Jeio Tech）。

1.3 *Sp1*单向导RNA（single guide RNA，sgRNA）及验证引物

根据小鼠*Sp1*基因序列，利用IDT网站的CRISPR靶点在线设计工具设计4条sgRNA：5′-CCTAGAACTGGTGAACCACC-3′、5′-AGCTTAATGGTGCCCAAGAC-3′、5′-GTTTGTGGTACCAAGACACT-3′、5′-CTGACCCCTTGGTTTGCAAT-3′。sgRNA交由金斯瑞生物科技有限公司合成。为验证*Sp1*基因是否成功敲除，通过NCBI Primer designing tool网站设计两对引物，用于聚合酶链式反应（polymerase chain reaction，PCR）扩增。外侧引物（上游：5′-CCAAACCTGGGTTCTAATCCCT-3′、下游：5′-TTTCTCATATGGTGCTGAACATGG-3′），内侧引物（上游：5′-CCAAACCTGGGTTCTAATCCCT-3′、下游：5′-CGCTACCCCCATTATTGCCA-3′）。引物交由北京擎科生物科技股份有限公司合成。

1.4 *Sp1*敲除胚胎构建及基因型鉴定

对C57BL/6N雌鼠进行超促排卵。腹腔注射10 IU孕马血清促性腺激素（pregnant mare serum gonadotropin，PMSG）以促进卵泡发育，46~48 h后注射10 IU人绒毛膜促性腺激素（human chorionic gonadotropin，HCG）诱发排卵。与C57BL/6N雄鼠合笼，次日检查阴道栓确认交配成功。对孕鼠进行颈椎脱臼处死，并取出受精卵。通过CRISPR-Cas9结合受精卵电转核酸酶（zygote electroporation of nucleases，ZEN）[15]技术导入sgRNA，敲除*Sp1*的第2和第3号外显子。将受精卵体外培养至2-细胞期后，移植至第0.5天假孕雌鼠输卵管中。在胚胎发育至第7.5天处死代孕雌鼠，分离胚外脏内胚层，加入10 μL DNA模板制备溶液（H_2O 39.47 μL、5×Lysis buffer 10 μL、蛋白酶K 0.53 μL）提取DNA。在55 ℃孵育60 min后，95 ℃孵育15 min灭活蛋白酶K。

接着进行目的片段扩增，反应体系为：2×Phanta Flash Master Mix 5 μL、H_2O 3 μL、DNA模板1 μL、上游引物0.5 μL、

下游引物0.5 μL。反应条件：98 ℃ 30 s；（98 ℃ 15 s，62 ℃ 15 s，72 ℃ 45 s）×32 个循环；72 ℃ 5 min。取 10 μL PCR 扩增产物加入琼脂糖凝胶（1.5%）上样孔中，经 150 V 电泳 30 min 后，使用凝胶成像系统成像。

1.5　第 7.5 天胚胎胚层分离

取孕 7.5 d 雌鼠，颈椎脱臼处死，从子宫剥离胚胎。按照《小鼠胚胎操作实验手册》第 3 版所述的胚层分离方法，分离第 7.5 天胚胎[16]。首先去除胚胎周围的 Reichert's 膜，接着切除外胎盘锥，用酶消化胚区和胚外区，使用口吸管分离胚外外胚层（extraembryonic ectoderm，ExE）、胚外脏内胚层（extraembryonic visceral endoderm，ExVE）、内胚层（endoderm，End），再持玻璃针剥离中胚层（mesoderm，Mes），切下原条（primitive streak，PS），胚胎剩余部分为外胚层（ectoderm，Ect）。

1.6　ChIP-seq 文库构建和测序

实验方法参照 2016 年 STAR ChIP-seq 并做修改[17]。首先，收集胚胎样本，加入细胞裂解液于冰上孵育 30 min 以破碎细胞释放染色质，经微球菌核酸酶处理 5 min。终止酶解后，用 SP1 抗体进行孵育，免疫沉淀 DNA。之后按照 NEB 试剂盒 E7645S 说明书进行文库构建，使用 Qubit 4 荧光定量仪测定 DNA 浓度。将构建好的 DNA 文库送至北京诺禾致源公司测序。

1.7　RNA-seq 文库构建和测序

实验方法参考 Smart-seq2[18]。首先，收集样本并加入 0.2%Triton X-100 提取反转录信使 RNA（messenger RNA，mRNA），通过 oligo（dT）反转录 mRNA 成补脱氧核糖核酸（complementary deoxyribonucleic acid，cDNA）。之后按照 Vazyme 试剂盒 TD502 说明书进行文库构建；使用 Qubit 4 荧光定量仪测定 DNA 浓度。将构建好的 DNA 文库送至北京诺禾致源公司进行测序。

1.8　ChIP-seq 数据处理

首先将测序所得读段（Reads）通过 Bowtie2 v2.2.2 映射到小鼠 mm9 基因组上，参数设置为 -t -q -N1 -L25。去掉不能映射至基因组的读段、映射到多个位置的读段以及 PCR 导致的重复读段。在验证生物学重复之间的可重复性后，将不同重复的数据整合分析。之后将全基因组分为 100 bp 长度序列框，统计每 100 bp 区域内的信号富集，并使用每千碱基每百万测序读数的读段数（reads per kilobase per million of sequenced reads，RPKM）均一化信号。数据可视化采用加利福尼亚大学圣克鲁斯分校（University of California，Santa Cruz，UCSC）提供的在线软件（http://genome.ucsc.edu/）。

1.9　RNA-seq 数据处理

首先将测序所得读段通过 TopHat v2.0.11 映射到小鼠 mm9 基因组上。去掉不能映射到基因组的读段。之后基于 refFlat 提供的基因组注释信息，使用 cufflinks v2.0.2 计算每千碱基每百万测序片段的片段数（fragments per kilobase per million of sequenced reads，FPKM）。数据的可视化采用 UCSC 大学提供的在线软件（http://genome.ucsc.edu/）。

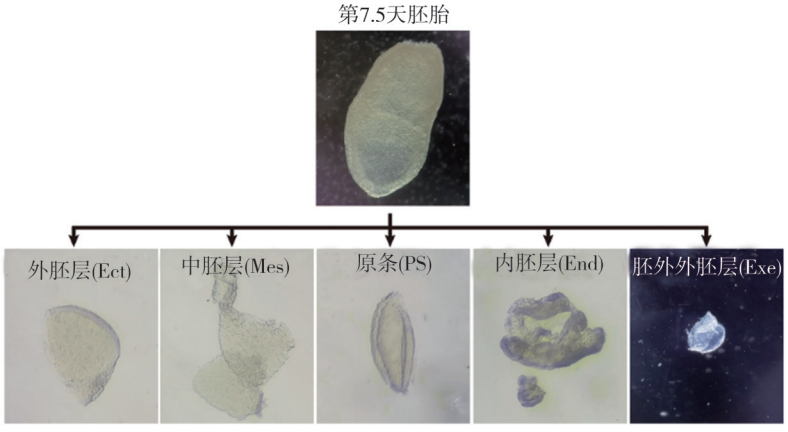
2　结　果

2.1　SP1 在小鼠第 7.5 天胚胎三胚层中的分布特征

首先，建立小鼠胚胎胚层分离技术并验证分离纯度。采用酶消化联合机械分离的方式获取小鼠胚胎第 7.5 天的胚层组织（图 1A），各设置两个生物学重复。利用 RNA-seq 检测各胚层基因表达水平。结果显示各胚层均特异性表达该组织的标记基因[16,19]，表明胚层分离获取的纯度较高（图 1B）。

之后，利用 STAR ChIP-seq 检测 SP1 在各胚层中的分布情况。SP1 的信号富集模式在 2 个生物学样品之间高度一致，且信噪比良好（图 2A）。两生物学重复的相关系数约为 0.7~0.8（图 2B），证明样本之间重复性较好。在后续分析中，本研究将不同生物学重复得到的测序数据进行合并，以提高 SP1 在基因组上的检测效率。

结果显示，SP1 大量富集在基因启动子区域，在基因主体与基因间区分布较少。在 Ect、Mes、End、PS 与 ExE 中启动子上的分布比例分别为 57.29%（4 596/8 022）、47.48%（3 574/7 527）、44.21%（1 699/3 843）、66.24%（2 943/4 443）与 42.49%（7 677/18 067）。尽管 ExE 中 SP1 在启动子上的分布比例较低，但其信号峰数量相对其他胚层更多（图 3）。



A. 小鼠胚胎各胚层组织分离



B. 胚层特异性基因表达

图 1　第 7.5 天胚胎的胚层分离及纯度验证

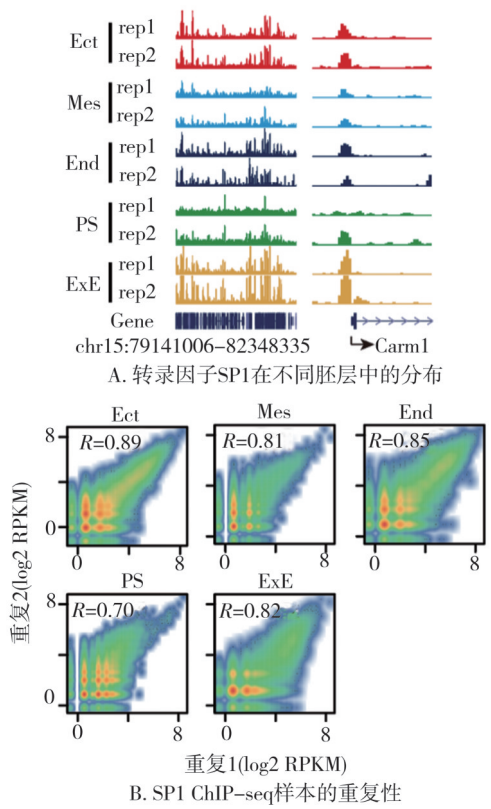


图2　第7.5天胚胎各胚层中的SP1 ChIP–seq

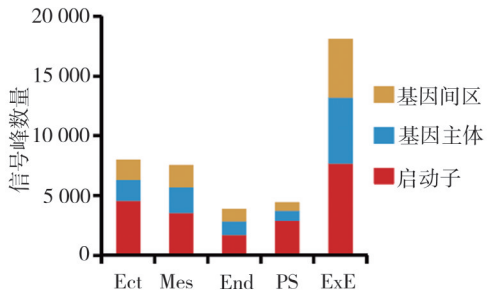
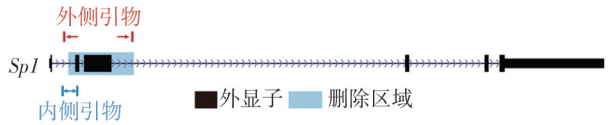


图3　第7.5天胚胎各胚层的SP1信号峰分布

2.2　*Sp1*敲除导致发育基因表达下降

为探究SP1在胚层发育中的功能，利用CRISPR–Cas9结合ZEN技术在受精卵时期敲除*Sp1*（图4），转移至代孕小鼠输卵管中，并于第7.5天收获对照组与基因组胚胎。



注：蓝色标注区域为*Sp1*敲除设计的第2、3号外显子；箭头标注区域为用于基因型鉴定的PCR引物设计位置

图4　第7.5天*Sp1*$^{-/-}$胚胎的构建和基因型鉴定

将胚胎分别进行基因分型后，首先在Ect中验证了*Sp1*敲除后其信号富集变化。结果显示SP1信号峰的富集强度大量下降（图5）。之后，采用RNA–seq检测*Sp1*缺失后的基因表达变化。结果表明，相较于其他胚层，在Mes与ExE中*Sp1*缺失对基因表达的影响最为明显，差异表达基因数量更多（图6）。

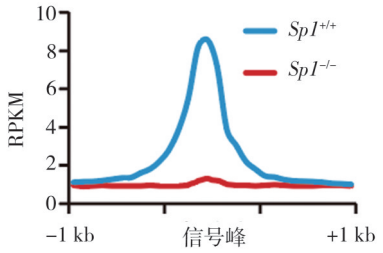


图5　SP1在*Sp1*$^{+/+}$和*Sp1*$^{-/-}$胚胎Ect中的分布

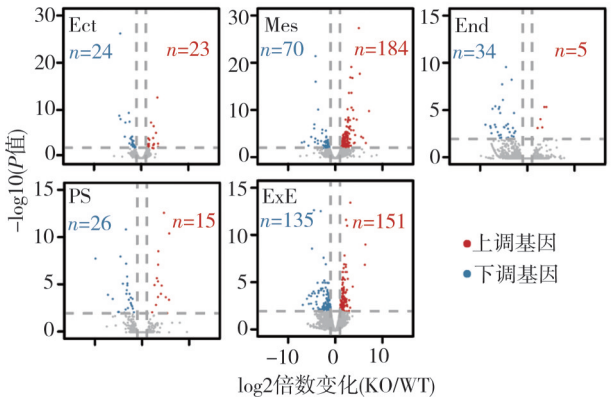


图6　第7.5天*Sp1*$^{+/+}$和*Sp1*$^{-/-}$胚胎各胚层的基因表达差异

由于SP1是转录激活因子，本研究着重关注RNA表达水平受其影响而下降的基因。基因本体（gene ontology，GO）分析结果显示，在不同胚层组织中，*Sp1*敲除引起表达下调的基因通常参与细胞分化、器官发育或组织形态发生等生物学进程。例如，Ect中表达下调的基因与神经分化、细胞发育相关；Mes中下调基因参与心脏发育、细胞命运决定；End中下调基因调节多细胞器官发育、肺形态发育；PS中下调基因参与与前后轴形态决定、体节发生；ExE中下调基因与细胞迁移、血管生成等生物学进程相关（图7）。

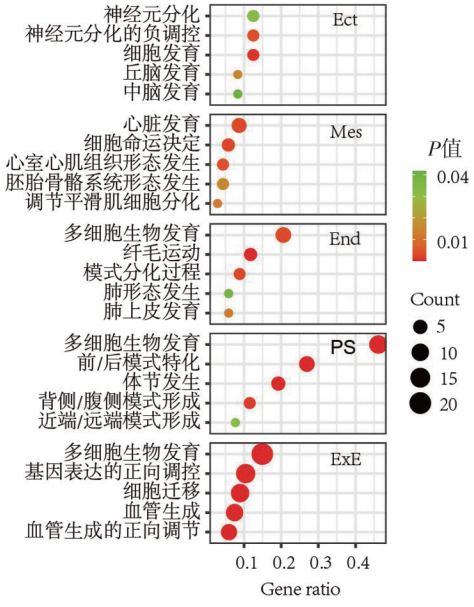
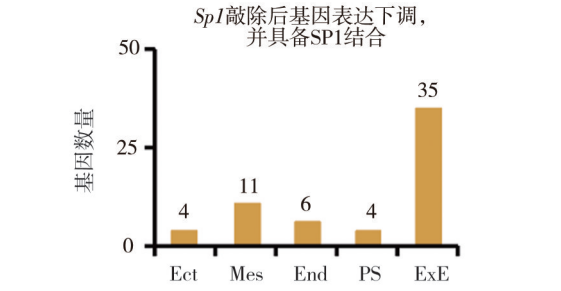


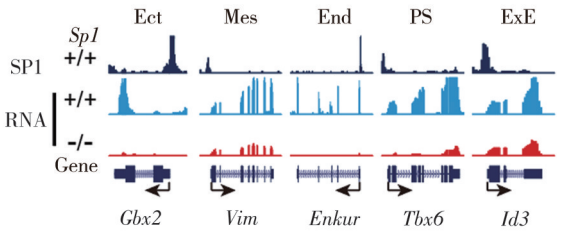
图7　*Sp1*敲除后各胚层下调基因的功能聚类分析

2.3　SP1 调控胚胎发育的潜在靶基因

结合 ChIP-seq 与 RNA-seq 数据，本研究进一步探究了 SP1 调控胚层分化的下游靶基因。将符合以下条件的基因鉴定为靶基因：①*Sp1* 敲除后基因表达下降；②基因启动子区域具有 SP1 结合位点。结果显示，SP1 在 ExE 中的靶基因数目较多（图 8A）。*Gbx2* 可能是 Ect 中受 SP1 直接调控的下游基因，而 *Vim*、*Enkur*、*Tbx6*、*Id3* 等基因则分别是 Mes、End、PS 与 ExE 的潜在靶基因（表 1）。UCSC 截图的结果验证了这些基因启动子区域存在 SP1 结合信号，同时基因表达在敲除后下降（图 8B）。



A. SP1在各胚层中的潜在靶基因数目



B. 潜在的SP1下游靶基因

图 8　转录因子 SP1 调控第 7.5 天胚胎发育的潜在靶基因

表 1　转录因子 SP1 调控第 7.5 天胚胎发育的潜在靶基因

胚层	基因
Ect	*Gbx2*、*Uhrf2*、*Jag1*、*Fam162a*
Mes	*Bnip3*、*Vim*、*Jag1*、*Rbm15*、*Lyrm4*、*Pdcd4*、*Znrf3*、*Csrp2*、*Alcam*、*St3gal5*、*Twf1*
End	*T*、*Mak*、*Enkur*、*Plat*、*Hesx1*、*Foxj1*
PS	*Tbx6*、*Alcam*、*T*、*Gbx2*
ExE	*Tbx20*、*Impact*、*Eif4g2*、*Iars2*、*Azin1*、*Impad1*、*Degs1*、*Strn3*、*Marcks*、*Xpo1*、*Mex3c*、*Kif20b*、*Hnrnph1*、*Oat*、*Canx*、*Crk*、*Rnd2*、*Twf1*、*Id3*、*Paics*、*Ddx5*、*Ccni*、*Rock1*、*Cd59a*、*Serinc3*、*Syncrip*、*Hnrnpa3*、*Prkcd*、*Yy1*、*Larp4*、*Nptn*、*Gopc*、*Far1*、*Ddx3x*、*Gsta4*

3　讨　论

转录因子对维持哺乳动物胚胎发育与指导细胞命运决定至关重要。SP1 作为广泛表达的转录因子，在细胞周期、DNA 修复、组织发育及多种肿瘤进程中均发挥重要功能。然而，现有研究大多集中于成体组织或特定细胞系，SP1 在早期胚胎及胚层分化中的作用尚未明确。本研究基于小量化 ChIP-seq 技术与胚层分离策略，率先解析了 SP1 在小鼠第 7.5 天胚胎基因组中的结合模式。通过对基因组信号分布特征的分析，发现 SP1 在不同胚层中均富集于基因启动子区域。敲除 *Sp1* 基因后，参与器官发育、形态发生等生物学过程的发育基因，其 RNA 表达水平明显下降，提示 SP1 作为启动子特异性转录激活因子，可能在胚层分化过程中发挥关键作用。进一步整合 ChIP-seq 和 RNA-seq 数据，鉴定了多个潜在受 SP1 直接调控的靶基因，如 *Gbx2*、*Tbx6* 和 *Vim* 等，为解析 SP1 在早期胚胎发育中的转录调控功能提供了新的证据。

在 Ect 中 SP1 结合并调控 *Gbx2* 的表达。*Gbx2* 作为神经外胚层标志物，在中枢神经系统发育中扮演关键角色，其缺失可导致神经嵴细胞的迁移障碍及分化异常。斑马鱼中 Sp5l 是类似 SP1 的转录因子，*Sp5l* 敲低同样导致 GBX2 的表达活性降低[20]。在 PS 中，SP1 靶向调控 *Tbx6* 基因，该基因在左右轴建立及体节发育过程中发挥核心作用，其突变小鼠表现为体节消失及异位神经管形成。

SP1 在 ExE 中结合峰的数量最多，且 *Sp1* 缺失后该组织中 RNA 表达下调的基因数目高于其他胚层。ExE 是母体与胚胎相互作用的关键组织，其功能异常可能导致胎盘发育受损及妊娠失败。先前研究报道胎盘中 SP1 表达下调与人类复发性流产相关[21]，本研究进一步鉴定了 SP1 在 ExE 中的潜在靶基因，如 *Id3* 和 *Ddx3x* 等。在胎盘发育过程中，ID3 介导表皮生长因子受体（epidermal growth factor receptor，EGFR）信号途径调控细胞增殖、血管生成和细胞因子产生[22]，而 *Ddx3x* 缺陷胚胎呈现胎盘发育异常，导致胚胎死亡[23]，提示 SP1 可能通过调控血管生成、细胞迁移相关靶基因，影响胚胎着床及胎盘发育。综上所述，这些结果为明确 SP1 在三胚层分化及胚胎发育中的调控作用提供了新的支撑。

然而，SP1 的转录调控网络可能涉及多个协同调控因子，其相互作用关系尚不清楚。已有研究表明，SP1 可通过与 Wnt/β-catenin 信号通路协同调控发育相关基因，同时其活性可能受到蛋白激酶 C 及组蛋白修饰（如 H3K27me3）的影响[24-26]。因此，需进一步解析 SP1 如何与其他转录因子或表观遗传因子

协同作用，从而调控胚层特异性基因的表达。此外，虽然本研究鉴定出多个潜在受SP1调控的发育基因，但其表达水平是否直接受SP1调控，以及其在胚胎发育中的生物学功能仍需进一步验证。

利益冲突 所有作者声明不存在利益冲突

作者贡献声明 文禹婷：研究方案设计、实施研究、分析数据、论文撰写；申喜鹏：实验技术指导、分析数据；李文思：实施研究；向云龙：研究方案设计、论文修改

参 考 文 献

[1] Shahbazi MN, Zernicka-Goetz M. Deconstructing and reconstructing the mouse and human early embryo[J]. Nat Cell Biol, 2018, 20(8): 878-887.

[2] Dimitriadis E, Menkhorst E, Saito S, et al. Recurrent pregnancy loss[J]. Nat Rev Dis Primers, 2020, 6: 98.

[3] Omelchenko T. Cellular protrusions in 3D: orchestrating early mouse embryogenesis[J]. Semin Cell Dev Biol, 2022, 129: 63-74.

[4] 胡文静，贺婷丽，张 哲，等. 孤独症谱系障碍社交障碍理论假说研究进展[J]. 中国神经精神疾病杂志，2023，49(8)：509-512，I0001.

Hu WJ, He TL, Zhang Z, et al. Research progress in the theories and hypothesis of autistic social impairment[J]. Chin J Nerv Ment Dis, 2023, 49(8): 509-512, I0001.

[5] 潘子建，周雪儿，曹志炜，等. RUNX1在骨发育及骨相关疾病中的作用研究进展[J]. 四川大学学报(医学版)，2024，55(2)：256-262.

Pan ZJ, Zhou XE, Cao ZW, et al. Latest findings on the role of RUNX1 in bone development and disorders[J]. J Sichuan Univ Med Sci, 2024, 55(2): 256-262.

[6] Kanai-Azuma M, Kanai Y, Gad JM, et al. Depletion of definitive gut endoderm in Sox17-null mutant mice[J]. Development, 2002, 129(10): 2367-2379.

[7] Blom-Dahl D, Córdoba S, Gabilondo H, et al. *In vivo* analysis of the evolutionary conserved BTD-box domain of Sp1 and Btd during *Drosophila* development[J]. Dev Biol, 2020, 466(1/2): 77-89.

[8] Ivanenko KA, Prassolov VS, Khabusheva ER. Transcription factor Sp1 in the expression of genes encoding components of MAPK JAK/STAT and PI3K/Akt signaling pathways[J]. Mol Biol (Mosk), 2022, 56(5): 832-847.

[9] Dynan WS, Tjian R. The promoter-specific transcription factor Sp1 binds to upstream sequences in the SV40 early promoter[J]. Cell, 1983, 35(1): 79-87.

[10] Li JN, Ge YC, Yang Z, et al. The Sp1 transcription factor is crucial for the expression of 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 2 in human placental trophoblasts[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2011, 96(6): 899-907.

[11] 胡奕芳，杨宇欣，王 灿，等. 反复种植失败与复发性流产的病因比较[J]. 新医学，2024，55(9)：693-700.

Hu YF, Yang YX, Wang C, et al. Comparison of the etiological composition between recurrent implantation failure and recurrent pregnancy loss[J]. New Med, 2024, 55(9): 693-700.

[12] Brönner G, Chu-LaGraff Q, Doe CQ, et al. Sp1/egr-like zinc-finger protein required for endoderm specification and germ-layer formation in *Drosophila*[J]. Nature, 1994, 369(6482): 664-668.

[13] Marin M, Karis A, Visser P, et al. Transcription factor Sp1 is essential for early embryonic development but dispensable for cell growth and differentiation[J]. Cell, 1997, 89(4): 619-628.

[14] Saffer JD, Jackson SP, Annarella MB. Developmental expression of Sp1 in the mouse[J]. Mol Cell Biol, 1991, 11(4): 2189-2199.

[15] Wang WB, Zhang YF, Wang HY. Generating mouse models using zygote electroporation of nucleases (ZEN) technology with high efficiency and throughput[J]. Methods Mol Biol, 2017, 1605: 219-230.

[16] Zhang Y, Xiang YL, Yin QZ, et al. Dynamic epigenomic landscapes during early lineage specification in mouse embryos[J]. Nat Genet, 2018, 50(1): 96-105.

[17] Zhang BJ, Zheng H, Huang B, et al. Allelic reprogramming of the histone modification H3K4me3 in early mammalian development[J]. Nature, 2016, 537(7621): 553-557.

[18] Picelli S, Faridani OR, Björklund AK, et al. Full-length RNA-seq from single cells using Smart-seq2[J]. Nat Protoc, 2014, 9(1): 171-181.

[19] Wen J, Zeng YW, Fang ZQ, et al. Single-cell analysis reveals lineage segregation in early post-implantation mouse embryos[J]. J Biol Chem, 2017, 292(23): 9840-9854.

[20] Sun ZH, Zhao J, Zhang Y, et al. Sp5l is a mediator of Fgf signals in anteroposterior patterning of the neuroectoderm in zebrafish embryo[J]. Dev Dyn, 2006, 235(11): 2999-3006.

[21] Tang HY, Pan LQ, Xiong Y, et al. Down-regulation of the Sp1 transcription factor by an increase of microRNA-4497 in human placenta is associated with early recurrent miscarriage[J]. Reprod Biol Endocrinol, 2021, 19(1): 21.

[22] Fang LL, Wang SJ, Han XY, et al. Amphiregulin stimulates human chorionic gonadotropin expression by inducing ERK1/2-mediated ID3 expression in trophoblast cells[J]. Placenta, 2021, 112: 73-80.

[23] 汪灵婵，刘星宇，陈雪丽，等. 不同粒径聚苯乙烯颗粒暴露对孕鼠胎盘生长发育的影响[J]. 现代预防医学，2024，51(19)：3501-3506.

Wang LC, Liu XY, Chen XL, et al. Effects of exposure to polystyrene particles of different sizes on placental growth and development in pregnant mice[J]. Mod Prev Med, 2024, 51(19): 3501-3506.

[24] Leung YK, Lee SG, Wang J, et al. The loss of an orphan nuclear receptor NR2E3 augments Wnt/β-catenin signaling *via* epigenetic dysregulation that enhances Sp1-β catenin-p300 interactions in hepatocellular carcinoma[J]. Adv Sci (Weinh), 2024, 11(29): e2308539.

[25] Junjappa RP, Kim HK, Park SY, et al. Expression of TMBIM6 in cancers: the involvement of Sp1 and PKC[J]. Cancers (Basel), 2019, 11(7): 974.

[26] Ciabrelli F, Atinbayeva N, Pane A, et al. Epigenetic inheritance and gene expression regulation in early *Drosophila* embryos[J]. EMBO Rep, 2024, 25(10): 4131-4152.

（**收稿**：2025-01-14；**修回**：2025-03-11；**录用**：2025-03-17）

（责任编辑：曾 玲）

本文引用格式：

文禹婷，申喜鹏，李文思，等. 转录因子SP1靶向发育基因调控小鼠胚胎发育[J]. 重庆医科大学学报，2026，51(6)：844-849.