



HAL
open science

La différenciation ovarienne précoce et son contrôle génétique

Adrienne Baillet, Béatrice Mandon-Pepin, Reiner Veitia, Corinne Cotinot

► **To cite this version:**

Adrienne Baillet, Béatrice Mandon-Pepin, Reiner Veitia, Corinne Cotinot. La différenciation ovarienne précoce et son contrôle génétique. Différenciation et régulation des fonctions ovariennes : nouveaux concepts, Jun 2011, Paris, France. pp.201-221, 10.1051/jbio/2011021 . hal-01019059

HAL Id: hal-01019059

<https://hal.science/hal-01019059>

Submitted on 29 May 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

La différenciation ovarienne précoce et son contrôle génétique

Adrienne Baillet¹, Béatrice Mandon-Pépin², Reiner Veitia^{3,4} et Corinne Cotinot²

¹ Laboratoire de Génétique et Biologie Cellulaire, EA 4589 Université de Versailles Saint-Quentin-en-Yvelines, École Pratique des Hautes Études, 78035 Versailles Cedex, France

² INRA, UMR1198, Biologie du Développement et Reproduction, 78352 Jouy-en-Josas, France

³ CNRS UMR 7592, Institut Jacques Monod, Équipe Génétique et Génomique du Développement Gonadique, 75205 Paris Cedex 13, France

⁴ Université Paris Diderot-Paris VII, 75205 Paris Cedex 13, France

Auteur correspondant : Corinne Cotinot, corinne.cotinot@jouy.inra.fr

Reçu le 30 juin 2011

Résumé – La différenciation de l'ovaire a été considérée pendant plusieurs décennies comme un processus passif, se mettant en place par défaut. Le développement d'outils génétiques permettant l'inactivation de gènes chez la souris, d'approches transcriptomiques haut-débit ainsi que l'étude de modèles animaux pertinents a montré que la différenciation des gonades est un processus dynamique dans les deux sexes et a permis d'identifier des acteurs clés de la différenciation ovarienne. La détermination des cellules somatiques de l'ovaire est sous le contrôle de deux voies majeures, l'une régulée par le facteur de transcription FOXL2 avec ou sans les œstrogènes selon les espèces, et celle de la voie β -caténine (Rspo1, Wnt4, β -caténine). Ces deux cascades géniques agissent simultanément sur l'activation de la voie femelle et l'inactivation de la voie mâle. À l'inverse, la différenciation sexuelle des cellules germinales ne résulte pas uniquement du contenu chromosomique de la cellule (XX femelle et XY mâle). Elle est le résultat de l'environnement des gonocytes dans l'ébauche gonadique. Très tôt, les gonocytes femelles vont se multiplier par mitose puis s'engager dans la méiose (prophase I). Suivra la formation des follicules primordiaux, étape cruciale de la vie reproductive femelle car elle constitue la réserve ovarienne. Les connaissances sur les facteurs qui participent à ces processus moléculaires ont beaucoup progressé au cours des dix dernières années et seront présentées dans cette revue.

Mots clés : Détermination du sexe / ovaire / méiose / folliculogénèse

Abstract – Genetics of early ovarian differentiation: recent data.

Early ovarian development has long been thought of as a default pathway switched on passively by the absence of *SRY* gene. Recent genetic and transcriptomic studies challenge this view and show that two master pathways simultaneously repress male-specific genes and activate female-specific genetic cascades. This antagonistic action is maintained from embryonic stages to adulthood. The differentiation of the ovarian somatic component is regulated by both the forkhead transcription factor FOXL2 (alone or in combination with oestrogens according to the species) and β -catenin pathway activated by Wnt4 and Rspo1. The sex-specific change in the fate of primordial germ cells depends on the gonad environment. Female gonocytes actively proliferate by mitosis then enter meiosis I until the diplotene stage. Primordial follicle formation occurs when oocytes are individually surrounded with pre-granulosa cells. In mammals, the population of primordial follicles serves as a resting and finite pool of oocytes available during the female reproductive life span. Recent data on factors controlling these molecular processes will be presented in this review.

Key words: Sex determination / ovary / meiosis / prophase I / ovarian folliculogenesis

Abréviations

AMH: *Anti-Müllerian Hormone*

AR: Acide Rétinoïque

BPES: *Blepharophimosis, Ptosis, Epicantus inversus Syndrome*

Dax1: *Dosage-sensitive sex reversal, adrenal hypoplasia critical region, on chromosome X, gene 1*

Dhh: *Desert hedgehog*

ESR: *Estrogen Receptor*

Fst: Follistatine

Inhbb: Inhibine beta B

jpc: jour post-conception

jpp: jour post-partum

OGCT: *Ovarian Granulosa Cell Tumour*

RSPO: *member of the R-SPONDIN family*

SOHLH: *Spermatogenesis and Oogenesis basic Helix-Loop-Helix transcription factor*

SRY: *Sex determining Region of Y chromosome*

SOX9: *SRY-box 9*

TES: *Testis-specific Enhancer of SOX9*

Introduction

À la suite des expériences menées par Alfred Jost (Jost *et al.*, 1947 ; Jost, 1972), montrant que la castration de fœtus de lapin femelles permettait le développement d'organes génitaux internes et externes de type femelle, il a été conclu que le développement de l'appareil génital femelle ne nécessitait pas la présence d'hormones. Ceci est à l'inverse de ce qui se passe chez le mâle, pour lequel le testicule et les hormones qu'il produit sont indispensables au développement de l'appareil génital interne et externe mâle. De cette expérimentation, un concept a été déduit, selon lequel le sexe femelle se différencie par défaut, alors qu'il ne s'agissait ici que du sexe phénotypique des organes génitaux externes. Cette sur-interprétation de l'expérience princeps, qui ne portait pas sur la différenciation des gonades, amène encore aujourd'hui à lire ou entendre que la différenciation ovarienne et plus largement femelle s'établit par défaut.

Depuis les années 60, un dimorphisme sexuel a été démontré au niveau des chromosomes chez les mammifères, le caryotype étant XX chez les femelles et XY chez les mâles. Le chromosome Y a un rôle dominant sur la différenciation des gonades, les individus XY et XXY développent des testicules et ont un phénotype mâle, tandis que ceux dont le caryotype est XX ou XXX développent des ovaires et un phénotype femelle (Jacobs & Strong, 1959 ; Barr, 1966). Il a fallu attendre les années 1990 pour que le gène porté par le chromosome Y, déterminant pour la différenciation du testicule, appelé *SRY*, soit identifié

(Berta *et al.*, 1990; Sinclair *et al.*, 1990). Beaucoup de travaux ont ensuite été menés pour comprendre son rôle et identifier les mécanismes de sa régulation ainsi que les réseaux de gènes qu'il contrôle (Koopman *et al.*, 1991 ; Sekido *et al.*, 2004 ; Sekido & Lovell-Badge, 2008). Par contre, très peu d'études ont cherché à identifier un gène de déterminisme ovarien.

L'hypothèse d'un gène clé pour la détermination du sexe femelle a été formulée en 1993 par McElreavey *et al.* et par Goodfellow & Lovell-Badge. Elle repose sur l'étude de patients atteints d'inversion sexuelle, hommes XX et femmes XY dont la survenue ne peut être expliquée par une simple absence/présence du gène *SRY*. Ces auteurs ont proposé l'existence d'un facteur « Z », produit par la gonade femelle XX, qui activerait la différenciation ovarienne et inhiberait celle du testicule. Le facteur mâle *SRY* et certaines de ses cibles inhiberait cette cascade femelle initiée par Z. On aurait donc dans les deux sexes des facteurs inducteurs qui contrôlèrent la différenciation de la gonade dans l'un et des facteurs inhibiteurs qui la réprimeraient dans l'autre. Certains facteurs pouvant agir simultanément sur les deux voies mâle et femelle, la notion de « balance des sexes » ou « bataille des sexes » est apparue (Kim & Capel, 2006 ; Sinclair & Smith, 2009 ; Veitia, 2010). La gonade indifférenciée du fœtus de mammifères est donc capable de se différencier en ovaire ou testicule en fonction de l'expression de quelques gènes majeurs spécifiques de chaque sexe. Une altération dans l'expression de ces gènes va entraîner des pathologies d'inversion sexuelle ou aboutir à des cas d'infertilité ou encore être responsable de cancers ovariens.

Les progrès récents de la génétique chez la souris ainsi que l'utilisation des outils de transcriptomique et d'immunoprécipitation de chromatine appliqués à plusieurs modèles animaux ont permis de montrer que la différenciation de l'ovaire est activement contrôlée par plusieurs réseaux de gènes et n'a rien d'un phénomène passif. Ceux-ci contrôlent toutes les étapes de la différenciation ovarienne, à savoir la formation de la gonade bipotentielle, la différenciation des cellules somatiques (folliculaires ou de granulosa, ainsi que les cellules stéroïdogènes), l'initiation de la méiose des ovogonies et la formation des follicules primordiaux, véritable réserve ovarienne qui se forme pendant la vie fœtale chez la plupart des mammifères et perdurera durant toute la vie reproductive.

De la formation des crêtes génitales vers la gonade indifférenciée

Chez les mammifères, les crêtes génitales se forment très précocement pendant la vie fœtale (dès 4 semaines

Tableau 1. Effet de l'invalidation de gènes intervenant dans la mise en place de la gonade chez la souris.

Nom du gène	Type de protéine	Effet de l'invalidation chez la souris	Références
<i>Lhx9</i>	Facteur de transcription	Absence de formation des crêtes génitales	Birk <i>et al.</i> (2000)
<i>Lim1</i>	Facteur de transcription	Absence de formation des crêtes génitales	Shawlot <i>et al.</i> (1995)
<i>Emx2</i>	Facteur de transcription	Absence de formation des gonades indifférenciées	Miyamoto <i>et al.</i> (1997)
<i>Wt1</i>	Facteur de transcription	Dégénérescence des crêtes génitales néoformées	Kreidberg <i>et al.</i> (1993)
<i>Sf1</i>	Récepteur nucléaire	Dégénérescence des crêtes génitales néoformées	Luo <i>et al.</i> (1994) Sadovsky <i>et al.</i> (1995)
<i>M33</i>	Facteur de transcription	Retard de la formation des gonades indifférenciées	Katoh-Fukui <i>et al.</i> (1998)
<i>Pod1</i>	Facteur de transcription	Hypoplasie des gonades indifférenciées	Cui <i>et al.</i> (2004)
<i>Smoc1</i>	Protéine de la matrice extracellulaire	Défaut de différenciation et absence du maintien des gonades indifférenciées	Pazin <i>et al.</i> (2009)

chez l'humain, 9 jours post-conception (jpc) chez la souris et vers 23–24 jpc chez l'ovine). Les crêtes génitales constituent l'ébauche gonadique primitive. Sur la face ventro-médiane du mésonéphros, la prolifération des cellules de l'épithélium coelomique et l'épaississement du mésenchyme sous-jacent conduisent à la formation des crêtes génitales. Les signaux contrôlant cet épaississement restent inconnus ; en revanche, de nombreux gènes ont été décrits comme ayant un rôle dans le maintien et la croissance des crêtes génitales (Brennan & Capel, 2004). L'invalidation de ces gènes conduit soit à une agénésie (absence de formation) soit à une dégénérescence des gonades. Après la colonisation des crêtes génitales par les cellules germinales primordiales, on parle de gonades indifférenciées ou bipotentiels. Chez les mammifères, les gonades sont composées de deux types cellulaires somatiques en plus des cellules germinales : les cellules de soutien (qui seront à l'origine des cellules de Sertoli chez le mâle et des cellules folliculaires (ou de granulosa) chez la femelle et les cellules stéroïdogènes (qui donneront les cellules de Leydig chez le mâle et les cellules de la thèque chez la femelle (Swain & Lovell-Badge, 1999 ; Capel, 2000). L'effet de l'invalidation des gènes (décrits ci-dessous) sur le développement gonadique est récapitulé dans le tableau 1.

• Les gènes à homéoboîte (*Lhx9*, *Lim1* et *Emx2*)

Le gène *Lhx9* (*Lim Homeobox9*) code pour un facteur de transcription qui est exprimé très précocement dans les crêtes génitales : à 9,5 jpc chez la souris (Birk *et al.*, 2000). Son invalidation chez la souris entraîne un défaut de prolifération de l'épithélium coelomique, ce qui conduit à l'absence de formation des gonades indifférenciées

(Birk *et al.*, 2000). De même que l'invalidation de *Lim1*, un autre facteur de transcription (appelé aussi *Lhx1*) conduit également à l'absence de formation des gonades indifférenciées (Shawlot *et al.*, 1995).

Chez la souris, l'invalidation de *Emx2* (*Empty spiracles homeobox gene 2*) empêche la formation des gonades (Miyamoto *et al.*, 1997). Cette étude montre qu'*Emx2* intervient dans la prolifération et dans le maintien des cellules de la gonade indifférenciée. *Emx2* est le seul gène impliqué dans la formation des gonades qui ne soit pas relié à *Sf1*.

• Le facteur *Wt1*

Le gène *Wt1* (*Wilms' tumor suppressor*) code pour un facteur de transcription à doigts de zinc. Il se fixe à l'ADN pour contrôler la transcription de gènes impliqués dans différents processus : la prolifération, la différenciation et l'apoptose (Menke *et al.*, 1998). Cette protéine possède 24 isoformes qui peuvent être regroupées en deux familles : les isoformes qui ont les acides aminés lysine-thréonine-sérine entre les doigts de zinc 3 et 4 (+KTS) et celles qui ne les ont pas (-KTS). La présence ou l'absence de cette séquence KTS définit la capacité de *Wt1* à se fixer à l'ADN (-KTS) ou à l'ARN (+KTS) (Larsson *et al.*, 1995). Chez la souris et l'homme, *Wt1* est exprimé dès les premiers stades de formation des crêtes génitales et son expression est maintenue après la différenciation sexuelle des gonades dans les cellules de Sertoli chez le mâle et dans les cellules de la granulosa chez la femelle. Chez la souris, l'invalidation de *Wt1* comme celle de *Sf1* ne perturbe pas la formation des crêtes génitales, en revanche celles-ci dégèrent à 11,5 jpc par apoptose (Kreidberg *et al.*, 1993). L'isoforme *Wt1* (+KTS) est responsable de la

différenciation des crêtes génitales ; par contre, l'isoforme (-KTS) joue un rôle dans la différenciation testiculaire (Hammes *et al.*, 2001). *Wt1* (-KTS) coopère avec la protéine *Lhx9* pour activer l'expression de *Sf1* (Wilhelm *et al.*, 2002), ce qui expliquerait que l'invalidation de *Wt1* ou de *Sf1* aboutisse au même phénotype. Toutefois, les souris invalidées pour *Wt1* expriment toujours *Sf1* mais à des niveaux plus faibles que chez les souris sauvages, insuffisants pour le maintien des crêtes génitales (Hanley *et al.*, 1999).

● Le récepteur *Sf1* ou NR5A1

Sf1 ou NR5A1 (*Steroidogenic factor 1*) est un récepteur nucléaire dont le ligand n'a pas encore été identifié. *Sf1*, en plus de son rôle dans la formation des gonades, contrôle la synthèse de nombreuses hormones stéroïdiennes au cours du développement embryonnaire, d'où sa localisation dans de nombreux tissus ayant une activité endocrine : les gonades, les glandes surrénales, l'hypophyse et l'hypothalamus (Ingraham *et al.*, 1994 ; Ikeda *et al.*, 1995 ; Luo *et al.*, 1995). Chez la souris, *Sf1* est exprimé jusqu'à 12 jpc dans les gonades mâles et femelles. Puis, au delà de ce stade, ce gène possède une expression dimorphique mâle/femelle : dans le testicule, il est exprimé dans les cellules somatiques jusqu'à 18,5 jpc alors que dans l'ovaire, son expression ne réapparaît qu'à 18,5 jpc. *Sf1* ne semble pas requis pour la formation des crêtes génitales mais est indispensable pour le maintien et la différenciation de la gonade. En effet, chez la souris, l'invalidation de *Sf1* ne perturbe pas la formation des gonades mais celles-ci dégèrent par apoptose au delà de 11,5 jpc (Luo *et al.*, 1994 ; Sadovsky *et al.*, 1995). Chez la souris, *Sf1* est également impliqué dans la détermination sexuelle des gonades. De fait, *Sf1* joue un rôle dans la masculinisation de la gonade indifférenciée en agissant comme cofacteur pour induire l'expression de *Sox9* (Sekido *et al.*, 2008) et de l'*AMH* (Arango *et al.*, 1999). Une nouvelle étude vient de démontrer le rôle de *Sf1* dans la différenciation de l'ovaire en activant l'expression de *Wnt4* et *Foxl2* (Combes *et al.*, 2010).

● Le facteur M33 ou CBX2

Le gène *M33* (appelé aussi *CBX2 Chromobox homolog 2*) est un orthologue d'un gène *polycomb* de la drosophile. Ces gènes *polycomb* sont connus pour réprimer l'expression des gènes *Hox* au cours du développement (en induisant la condensation de la chromatine) et pour réguler la prolifération cellulaire, comme *M33* (Coré *et al.*, 2004). L'invalidation de *M33*

chez la souris ne perturbe pas la formation des crêtes génitales mais induit un retard dans la formation des gonades (Katoh-Fukui *et al.*, 1998).

● Le facteur Pod1

Pod1 est un facteur de transcription appartenant à la famille des bHLH (*basic helix-loop-helix*). L'invalidation de *Pod1* chez les souris conduit à des défauts au niveau des reins, des muscles, de la rate et ces souris mutantes meurent à la naissance à cause de problèmes respiratoires (Quaggin *et al.*, 1999 ; Lu *et al.*, 2000, 2002). Une étude plus récente montre que *Pod1* est exprimé dans les crêtes génitales à partir de 11 jpc (Cui *et al.*, 2004). L'invalidation de *Pod1* chez la souris provoque une hypoplasie des gonades (Cui *et al.*, 2004). En effet, les gonades indifférenciées ont une morphologie anormale, elles sont petites et ont une surface irrégulière, comparées aux gonades de souris *Pod1*^{+/+}. Les défauts de développement des gonades pourraient provenir du fait que l'invalidation de *Pod1* perturbe l'expression de *Sf1*. En effet, dans les gonades *Pod1*^{-/-}, l'expression de *Sf1* est augmentée (Cui *et al.*, 2004). *Pod1* semble donc être nécessaire à l'expression correcte de *Sf1* afin de permettre le maintien et un développement normal des gonades indifférenciées.

● Les protéines Smoc

Récemment deux nouvelles protéines de la matrice extracellulaire ont été identifiées, il s'agit de *Smoc1* (*SPARC related modular calcium binding 1*) et *Smoc2* (*SPARC related modular calcium binding 2*). Ces protéines appartiennent à la famille des protéines SPARC (*Secreted acidic cysteine rich glycoprotein*). Les protéines *Smoc1* et *Smoc2* ont un rôle dans la croissance, la prolifération et la migration. *Smoc2* est uniquement exprimé dans les testicules (Pazin *et al.*, 2009). En revanche, *Smoc1* est exprimé dans les gonades indifférenciées dès 10,5 jpc (Pazin *et al.*, 2009). À partir de 12,5 jpc, *Smoc1* est exprimé de manière dimorphique mâle/femelle : l'expression de *Smoc1* persiste dans les cellules de Sertoli alors qu'elle n'est plus visible dans l'ovaire (Pazin *et al.*, 2009). Les souris invalidées soit pour *Wt1* soit pour *Sf1* ont une expression réduite de *Smoc1*, ce qui indique que *Smoc1* est en aval de ces gènes mais à l'heure actuelle aucune donnée ne permet de savoir si *Wt1* et/ou *Sf1* contrôlent directement ou indirectement l'expression de *Smoc1*. Il semblerait que *Smoc1* soit impliqué dans la différenciation et le maintien des cellules des gonades indifférenciées.

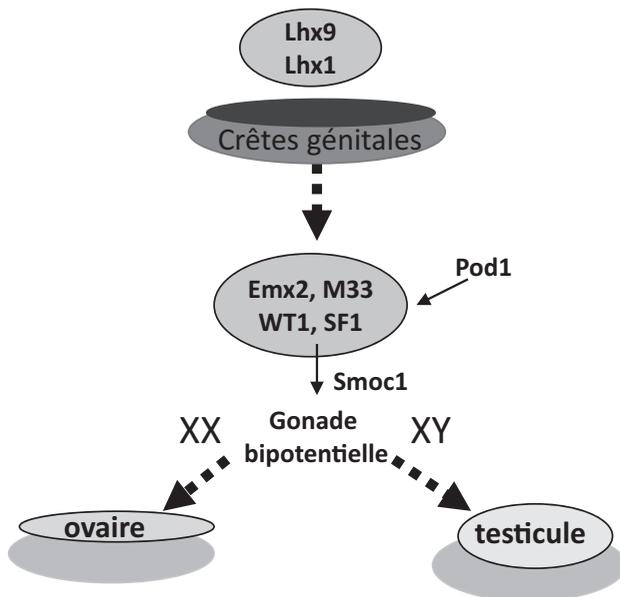


Fig. 1. Cascade des événements conduisant à la formation des gonades. Plusieurs gènes ont été identifiés, grâce à leur invalidation, comme nécessaires à la formation des crêtes génitales, puis des gonades indifférenciées. Sous l'action de quelques gènes à expression sexe-spécifique, la différenciation des cellules somatiques des gonades va être initiée et aboutir au développement de gonades femelles (ovaire) ou mâles (testicule).

Dès que les crêtes génitales sont formées, elles sont colonisées par les cellules germinales primordiales (vers 10,5 jpc chez la souris et 23–24 jpc chez l'ovin). Cette première étape est nécessaire à la formation de gonades bipotentiels ou indifférenciés. Dans une deuxième étape, la mise en route de plusieurs cascades géniques va induire la différenciation des gonades indifférenciées soit en ovaire soit en testicule. Un résumé de ces étapes est présenté dans la figure 1.

Différenciation des cellules somatiques ovariennes

Les individus XX atteints d'inversion sexuelle de type mâle XX sans SRY sont censés être porteurs d'une mutation inactivant le gène *Z*. Il existe des individus de ce type dans plusieurs espèces de mammifères dont le porc, le chien, la chèvre et l'Homme (Vaiman & Pailhoux, 2000 ; Vigier *et al.*, 2001 ; Kim *et al.*, 2010a ; Bigliardi *et al.*, 2011). La chèvre a été très étudiée et un locus appelé PIS, pour Polled Intersex Syndrome, a été identifié comme responsable de cette inversion sexuelle. La délétion de ce locus entraîne l'absence de

cornes dans les deux sexes à l'état hétérozygote, et une inversion sexuelle uniquement chez les femelles, à l'état homozygote (Vigier *et al.*, 2001). La mutation responsable du syndrome PIS est une délétion d'environ 12 kilobases localisée à 300 kilobases en amont d'un gène dénommé *FOXL2* (*Forkhead box family L number 2*). Des études génétiques de clonage positionnel ont montré que le gène *FOXL2*, situé sur le chromosome humain 3q23, est impliqué dans le syndrome de *Blepharophimosis-Ptoxis-Epicanthus inversus* (BPES) (Crisponi *et al.*, 2001). Le locus PIS (1q43 chez la chèvre) et le locus BPES (3q23 chez l'Homme) sont localisés dans une région homologue de 100 kb (Schibler *et al.*, 2000). Les mutations hétérozygotes du gène *FOXL2* dans l'espèce humaine conduisent à une insuffisance ovarienne et une infertilité chez les femmes atteintes de BPES de type I (De Baere *et al.*, 2002).

Le facteur de transcription FOXL2

Dans les gonades femelles de ruminants, la perte de fonction de *FOXL2* entraîne très précocement : (i) la déféminisation de la gonade XX avec perte de l'expression de l'aromatase et donc absence des œstrogènes et (ii) la masculinisation de celle-ci par surexpression du facteur mâle SOX9 entraînant la différenciation des cellules de Sertoli et l'expression de l'hormone anti-Müllerienne qui va faire régresser les canaux de Müller (Pannetier & Pailhoux, 2010). On aura donc, dans cette espèce, une masculinisation complète des gonades et du tractus génital externe et développement d'un phénotype mâle chez des individus XX porteurs d'une mutation régulatrice inactivant le gène *FOXL2*.

Chez l'Homme, le syndrome BPES (perte d'un allèle de *FOXL2*) conduit à un phénotype anormal au niveau des paupières associé à un dysfonctionnement ovarien (ménopause précoce) mais pas à une inversion sexuelle. De plus, il n'a pas été retrouvé de mutations dans le gène *FOXL2* de plusieurs patients atteints d'inversion sexuelle de type homme XX (De Baere *et al.*, 2002).

L'invalidation du gène *Foxl2* chez les souris XX n'entraîne pas d'inversion sexuelle, celles-ci ont un phénotype femelle mais sont stériles (Schmidt *et al.*, 2004 ; Uda *et al.*, 2004). Les ovaires des souris *Foxl2*^{-/-} sont petits, sévèrement désorganisés et les follicules primordiaux ne se forment pas. L'invalidation ciblée du gène *Foxl2* dans les cellules folliculaires adultes montre que chez ces animaux, les cellules somatiques de l'ovaire (cellules folliculaires) se mettent à exprimer le gène mâle *Sox9* et se transdifférencient en cellules de Sertoli

(Uhlenhaut *et al.*, 2009). La structure de la gonade ressemble alors, trois semaines après l'induction de la délétion de *Foxl2*, à un testicule avec l'apparition de structures ressemblant à des tubes séminifères. Une étude fine de la cinétique de transdifférenciation montre que les expressions des facteurs FOXL2 et SOX9 sont mutuellement exclusives. Il a été également montré que la sur-expression de *Foxl2* dans des cellules de Sertoli XY induisait une désorganisation des tubes séminifères et le développement d'une gonade de type *ovotestis* (Ottolenghi *et al.*, 2007). Ce phénomène d'exclusion mutuelle au sein des cellules somatiques des gonades renvoie au mécanisme de programmation initiale de la gonade où les deux déterminants clés (FOXL2 pour l'ovaire et SOX9 pour le testicule) s'inhibent l'un l'autre, directement ou indirectement, aboutissant à deux états alternatifs : mâle et femelle. Il reste à déterminer si l'expression de FOXL2 dans le testicule est réprimée par SRY ou SOX9 ou par les deux.

Les œstrogènes sont des acteurs majeurs de la différenciation ovarienne. Ils sont capables d'induire des inversions sexuelles de type mâle vers femelle chez de nombreux vertébrés (poissons, reptiles et oiseaux) et leur inhibition chez les femelles de ces différents phyla conduit à l'apparition de phénotypes mâles chez des individus génétiquement femelles (Smith *et al.*, 2008b ; Vizziano-Cantonnet *et al.*, 2008 ; Nakamura, 2010). Chez les mammifères, il existe des différences quant à la production d'œstrogènes par l'ovaire au cours de la période fœtale. La souris, par exemple, n'en produit pas pendant la phase de différenciation précoce à l'inverse des ruminants et de l'Homme (Mauléon *et al.*, 1977 ; George & Wilson, 1978 ; Payen *et al.*, 1996). Cette production d'œstrogènes par l'ovaire fœtal est positivement régulée par FOXL2 chez les ruminants (Pannetier *et al.*, 2006). On peut donc concevoir une boucle de régulation dans laquelle FOXL2 augmente l'expression de l'aromatase et la production des œstrogènes, lesquels contrôlent l'expression de FOXL2 *via* les récepteurs ESR.

Il a été montré par ailleurs que *Foxl2* et les récepteurs des œstrogènes (*Esr1/2*) étaient capables d'interagir pour réprimer l'expression du facteur mâle *Sox9* (*via* la séquence activatrice appelée TESCO) dans l'ovaire adulte (Uhlenhaut *et al.*, 2009).

Le phénotype d'inversion sexuelle par inactivation de *FOXL2* apparaît plus précocement chez la chèvre (PIS syndrome) que chez la souris XX (KO *Foxl2*). Cette différence de phénotype entre les espèces est probablement en relation avec le décalage de production des œstrogènes entre les ruminants et les rongeurs. Sans les œstrogènes, *Foxl2* perd une boucle de régulation positive et n'est plus le facteur clé pour réprimer

efficacement l'expression de gènes mâles dans la gonade femelle des rongeurs. On peut alors imaginer qu'une autre voie de signalisation (*Rpo1*, *Wnt4* et voie de la β -caténine) devienne prépondérante pour inhiber l'expression de *Sox9* au cours du développement précoce chez la souris. Par ailleurs, *FOXL2* chez les mammifères non rongeurs semble avoir un rôle inhibiteur sur un autre gène mâle que *SOX9*, à savoir *DMRT1* qui, lui, active *SOX9*. L'analyse transcriptomique haut débit de gonades femelles inactivées ou non pour le gène *FOXL2* chez la chèvre devrait permettre d'apporter des réponses à ces questions.

Plusieurs gènes cibles de FOXL2 ont été identifiés par des analyses transcriptomiques entre lignées cellulaires surexprimant ou non *Foxl2* ainsi qu'entre des souris inactivées ou non pour *Foxl2* (Batista *et al.*, 2007 ; Garcia-Ortiz *et al.*, 2009). Comme attendu, il a été montré que FOXL2 régule positivement des gènes ovariens (*Fst*, *Dax1*) et négativement des gènes testiculaires (*Sox9*, *Dhh*, *Inhbb*, *Amh*). FOXL2 intervient dans de nombreuses fonctions cellulaires telles que celles contrôlant les interactions cellulaires, le métabolisme du glucose et du cholestérol, la synthèse des protéines. Une étude récente a également montré que FOXL2 module les régulateurs du cycle cellulaire et tend à induire un arrêt en phase G1, protégeant ainsi les cellules de granulosa du stress oxydatif (Benayoun *et al.*, 2011). Ces données étayent l'idée que FOXL2 joue un rôle majeur dans l'homéostasie des cellules de granulosa, contrôlant de ce fait le vieillissement ovarien ou la tumorigénèse de ces cellules. Par ailleurs, il a été montré que les niveaux d'expression de FOXL2 dans une série de tumeurs de l'ovaire de la granulosa de type juvénile (OGCTs) sont fortement réduits. Plus récemment, le séquençage du transcriptome de plusieurs OGCTs de type adulte a permis l'identification de la mutation somatique récurrente au sein du gène *FOXL2* p.Cys134Trp (C134W). La présence de cette mutation a été confirmée dans 95 % des OGCTs adultes, 21 % des tumeurs à cellules thécales et dans 10 % des OGCTs juvéniles (ce qui est probablement dû à une mauvaise classification). Nous avons suggéré que *FOXL2* pourrait agir comme un gène suppresseur de tumeur. Ceci est en accord avec le fait que d'autres facteurs de transcription *Forkhead* ont déjà été impliqués dans l'étiologie du cancer (Benayoun *et al.*, 2010). Dans une étude récente, il a été montré que la protéine FOXL2 normale induit la mort par apoptose des cellules de la granulosa alors que le mutant C134W a une activité pro-apoptotique très faible. La réponse apoptotique induite par FOXL2 semble dépendante de la caspase 8, BID et BAK (Benayoun *et al.*, 2010 ; Jamieson *et al.*, 2010 ; Kim *et al.*, 2010b, 2011 ; Al-Agha *et al.*, 2011 ;

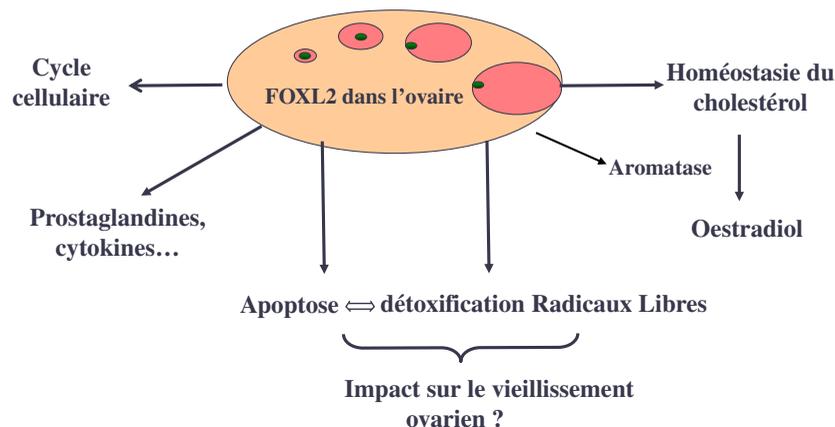


Fig. 2. FOXL2, chef d'orchestre de la différenciation ovarienne. Le facteur FOXL2 intervient dans de multiples processus impliqués dans la différenciation et la fonction ovarienne. Il contribue à l'identité femelle des cellules de granulosa, contrôle leur prolifération, leur fonctionnement et leur vieillissement. Il semble également impliqué dans leur cancérisation.

Hes *et al.*, 2011). Les différents rôles de la protéine FOXL2 au cours de la différenciation et de la fonction ovarienne sont schématisés dans la figure 2.

• Rspo1, Wnt4 et la voie de la β -caténine

La voie de signalisation intracellulaire Wnt/ β -caténine est très conservée depuis le nématode jusqu'à l'Homme et contrôle un très grand nombre de processus développementaux. Chez la souris, *Wnt4* (*wingless-type MMTV integration site family, member 4*) est un gène exprimé dans les gonades mâle et femelle avant 11,5 jpc. À partir de 11,5 jpc, *Wnt4* est exprimé uniquement chez la femelle par les cellules somatiques de l'ovaire. L'invalidation de ce gène chez la souris entraîne une masculinisation partielle des gonades XX et du tractus génital (Vainio *et al.*, 1999). Les souris XX *Wnt4*^{-/-} ont une vascularisation typiquement mâle et des cellules de Leydig se différencient. Cependant, bien que l'expression de *Sox9* soit initiée, celle-ci n'est pas maintenue et il n'y a pas de différenciation de cellules de Sertoli. De plus, une absence d'expression de la follistatine et une apoptose massive des ovocytes sont observées quelques jours avant la naissance (Yao *et al.*, 2004). Le gène de la follistatine est donc une cible de WNT4. Dans des conditions normales, la follistatine inhibe la formation du vaisseau coelomique dans la gonade XX murine. Ce vaisseau apparaît spécifiquement lors de la formation du testicule dès 12,5 jpc chez la souris (Jeays-Ward *et al.*, 2003 ; Yao *et al.*, 2004). Par ailleurs, il a été montré que WNT4 a un effet antagoniste sur la voie FGF9/FGFR2 et donc indirectement peut interférer avec le maintien de l'expression de SOX9 (Kim & Capel, 2006). Une mutation perte de fonction

de WNT4 a été rapportée chez un patient XX atteint d'inversion sexuelle femelle vers mâle (Bernard & Harley, 2007). Cela suggère qu'il existerait un antagonisme entre deux voies de signalisation sexe-spécifiques, celle de FGF9 orientant vers le développement testiculaire et celle de WNT4 vers le développement ovarien (DiNapoli & Capel, 2008). En 2006, un nouvel acteur clé de la différenciation ovarienne a été découvert par une équipe italienne, il s'agit du gène *R-spondin1* (*RSPO1*) (Parma *et al.*, 2006). L'analyse génétique de cas familiaux d'inversion sexuelle de type XX femelle vers mâle a montré qu'une mutation homozygote perte de fonction de *RSPO1*, gène impliqué dans la voie de signalisation WNT, engendrait une masculinisation de la gonade des patients XX. Or la signalisation initiée par WNT4 et R-spondine 1 conduit à la stabilisation de la forme canonique de la β -caténine (Chassot *et al.*, 2008). Chez la souris, *Rspo1* est exprimé dans toute la gonade XX à 11,5 jpc. Les souris invalidées pour *Rspo1* présentent une inversion sexuelle partielle de type femelle vers mâle XX, similaire au phénotype des souris invalidées pour le gène *Wnt4*. Le phénotype mutant *Rspo1*^{-/-} peut être sauvé par la surexpression de β -caténine (Chassot *et al.*, 2008). *Rspo1* et *Wnt4* joueraient donc un rôle important dans la détermination du sexe femelle et la différenciation des gonades en ovaires en assurant un niveau suffisant de β -caténine dans les cellules somatiques ovariennes. *WNT4* et *RSPO1* sont localisés sur la même région chromosomique et une duplication de celle-ci a été retrouvée chez un patient XY atteint d'inversion sexuelle mâle vers femelle (Jordan *et al.*, 2001). Récemment, il a été montré que l'expression conditionnelle de β -caténine conduit au développement d'un ovaire chez un fœtus XY (Maatouk *et al.*, 2008). De plus, dans les gonades de souris XX

Wnt4^{-/-}, *Rspo1* est toujours exprimé, alors que dans les gonades XX *Rspo1*^{-/-}, *Wnt4* n'est plus exprimé (Chassot *et al.*, 2008). L'expression de *Wnt4* est donc sous le contrôle de *Rspo1*. De plus, les protéines RSPO1 et WNT4 activent toutes les deux la voie de signalisation de la β -caténine dans l'ovaire et l'invalidation de leur gène respectif induit une masculinisation de la gonade XX. Au cours de la différenciation ovarienne, l'activation de la voie de signalisation β -caténine cano- nique entraîne la dégradation de SOX9, empêchant qu'elle s'auto-active ou active d'autres gènes impliqués dans la différenciation testiculaire, tels que *Fgf9*. La β -caténine est donc un facteur pro-ovarien et anti-testiculaire, qui intervient également dans l'engagement des cellules germinales vers l'entrée en méiose.

Différenciation des cellules germinales femelles

• La méiose

À leur arrivée dans les gonades, les cellules germinales continuent de proliférer activement. Dans l'ovaire (13,5 jpc chez la souris et à partir de 50–55 jpc chez la brebis), les cellules germinales stoppent leur multiplication mitotique pour entrer en méiose, plus exactement en prophase I de méiose. La méiose est initiée de façon synchrone (chez les rongeurs) ou asynchrone (humain : Skrzypczak *et al.*, 1981, ovin : Sawyer *et al.*, 2002) dans les ovogonies et s'arrête avant la naissance (sauf chez le lapin où la prophase I de méiose s'arrête quelques jours après la naissance). La prophase I est divisée en cinq étapes (leptotène, zygotène, pachytène, diplotène, diacinèse) caractérisées par des modifications au niveau des chromosomes. Les quatre premières étapes ont lieu pendant la vie fœtale, puis les cellules germinales se bloquent au stade diplotène. La dernière étape (diacinèse) reprendra à la puberté. La méiose sera finalement achevée lors de la fécondation de l'ovule. Après l'entrée en méiose, les ovogonies sont renommées sous le terme d'ovocytes I. Le blocage des ovocytes en fin de prophase I est spécifique de la femelle.

Chez le mâle, la méiose ne débute qu'après la naissance (de 5–8 jours *post-partum* chez la souris à environ 8 mois chez le bélier).

• Initiation de la prophase I de méiose

Différentes études utilisant la technologie des micro-réseaux ont cherché à isoler des gènes intervenant dans

la méiose en comparant, par exemple, l'activité transcriptionnelle d'ovaires avec ou sans cellules germinales (Nef *et al.*, 2005) ou d'ovaires fœtaux à différents stades de développement (Baillet *et al.*, 2008). Un des premiers facteurs nécessaires pour engager les cellules germinales vers le processus de méiose est DazL (*Deleted in azoospermia-like*). DAZL est une *RNA-binding protein* exprimée à partir de 11,5 jpc par les cellules germinales (post-migration) de souris mâles et femelles. L'inactivation de *Dazl* conduit à une infertilité des mâles et des femelles, à une absence d'expression des gènes impliqués en début de prophase I, dont *Stra8* (*Stimulated by retinoic acid gene 8*), le gène qui initie la prophase I (Lin *et al.*, 2008). L'expression précoce de *Dazl* (en amont de celle de *Stra8*) permettrait aux cellules germinales d'être « compétentes » pour entrer en méiose. L'invalidation du gène *Dazl* chez la souris a aussi montré un rôle de celui-ci plus en aval dans le contrôle de la stabilité du transcrit *Sycp3* (*Synaptonemal complex protein3*) et sa traduction (Reynolds *et al.*, 2007).

Une fois les cellules germinales devenues « compétentes » grâce à l'action de Dazl, plusieurs études ont montré que l'entrée en méiose des cellules germinales femelles de souris est un processus dépendant de l'acide rétinoïque (AR), métabolite actif de la vitamine A, par l'action successive de la rétinol-déshydrogénase puis de la rétinol-déshydrogénase. (Bowles *et al.*, 2006 ; Koubova *et al.*, 2006). L'induction de la méiose par AR a également été démontrée chez d'autres espèces comme le rat (Li & Clagett-Dame, 2009), l'Homme (Le Bouffant *et al.*, 2010), le poulet et les amphibiens (Smith *et al.*, 2008a ; Wallacides *et al.*, 2009). Chez la souris, l'AR est synthétisé dans le mésonephros et, selon l'hypothèse actuelle, il diffuserait depuis le mésonephros vers la gonade adjacente (Bowles *et al.*, 2006). Des concentrations élevées d'AR sont responsables de l'induction de la méiose dans l'ovaire fœtal en développement (Menke & Page, 2002 ; Bowles *et al.*, 2006 ; Koubova *et al.*, 2006) et l'inhibition chimique des récepteurs de l'AR (RAR, de type α , β ou γ) entraîne une inhibition de *Stra8* dans des cultures *ex vivo* de gonades fœtales femelles de souris (Koubova *et al.*, 2006). Dans un modèle de rat déficient en vitamine A (*late VAD rat*), la plupart des cellules germinales n'entrent pas en méiose (Li & Clagett-Dame, 2009). L'ensemble de ces résultats montre le rôle indispensable de l'acide rétinoïque au moment de l'initiation de méiose. L'acide rétinoïque se fixe sur RAR et cet ensemble récepteur-ligand active un de ses gènes cibles, *Stra8*, en se fixant sur les éléments régulateurs RARE (Oulad-Abdelgnami *et al.*, 1996). La fonction moléculaire de la protéine STRA8 n'est pas connue et cette

protéine ne possède aucune homologie avec d'autres protéines connues. *Stra8* est requis pour la synthèse pré-méiotique d'ADN (réplication de l'ADN des cellules germinales au stade pré-leptotène), l'initiation de la méiose et la progression de la méiose dans les cellules germinales. Chez la souris, son invalidation empêche les cellules germinales d'entrer en méiose (Baltus *et al.*, 2006). Dans l'ovaire foetal, l'expression de *Stra8* est suivie par l'expression de gènes clés intervenant dans la méiose comme *Sycp3* et *Dmc1* (Menke *et al.*, 2003).

A priori, on peut supposer que l'environnement de la gonade en AR est le même dans les deux sexes, bien que la méiose soit initiée uniquement chez la femelle pendant la vie foetale. Chez la souris mâle, il a été démontré que l'AR est dégradé *via* l'enzyme CYP26B1, produite par les cellules de Sertoli. C'est pourquoi il n'y aurait pas induction de *Stra8* et donc pas d'entrée en méiose avant la puberté chez le mâle. De plus, dans la gonade foetale mâle, d'autres facteurs viennent empêcher les cellules germinales d'entrer en méiose comme FGF9 et Nanos2 (Suzuki *et al.*, 2008 ; Bowles *et al.*, 2010).

La régulation de l'initiation de la méiose, *via* l'AR, pourrait être différente selon les espèces. Dans l'ovaire foetal humain, l'expression d'ALDH1 (enzyme permettant la synthèse d'AR) est augmentée lorsque la méiose débute, tandis que celle de Cyp26B1 n'est pas modifiée. Le niveau d'expression de Cyp26B1 est, chez cette espèce, légèrement supérieur dans l'ovaire par rapport au testicule (Le Bouffant *et al.*, 2010 ; Childs *et al.*, 2011). Dans l'ovaire foetal murin, au moment de la méiose, l'expression d'ALDH1 est inchangée tandis que celle de Cyp26B1 diminue, empêchant la dégradation de l'AR. Plusieurs équipes émettent l'hypothèse selon laquelle l'ALDH1 contrôlerait le niveau d'AR dans l'ovaire foetal humain (Le Bouffant *et al.*, 2010) et que l'ovaire foetal humain aurait la capacité intrinsèque de synthétiser l'AR (Childs *et al.*, 2011).

Une étude récente vient cependant atténuer le rôle de l'AR provenant du mésonéphros comme inducteur de la méiose dans l'ovaire foetal murin (Kumar *et al.*, 2011). L'expression de *Stra8* dans des ovaires foetaux de souris ALDH2^{-/-} (souris dépourvues d'AR mais supplémentées *via* l'alimentation) n'est pas modifiée par l'absence de synthèse d'AR endogène. L'ovaire foetal de souris pourrait produire de l'acide rétinolique en quantité suffisante pour induire *Stra8*. Ces auteurs suggèrent que l'AR synthétisé par le mésonéphros d'un embryon normal ne diffuse pas en quantité suffisante pour stimuler l'expression de *Stra8* dans l'ovaire foetal (Kumar *et al.*, 2011).

Reste à découvrir quel facteur contrôle l'expression sexe-spécifique des enzymes produisant l'acide rétinolique dans les cellules somatiques de l'ovaire.

Une fois la méiose initiée par le gène *Stra8*, les cellules germinales femelles vont poursuivre la méiose avant d'être bloquées au stade diplotène de prophase I. Ces différentes étapes font intervenir des protéines spécifiques dont l'invalidation, chez la souris, n'a pas le même effet sur la progression de la méiose entre mâle et femelle (tableau 2). Chez le mâle, les invalidations de certains gènes (*Sycp*, *Msh*, *Dmc1*...) entraînent des blocages à différentes étapes de la prophase I (zygotène ou pachytène), et provoquent alors l'entrée en apoptose des cellules germinales, ce qui aboutit à une infertilité des souris. Chez la femelle, les phénotypes des souris mutantes peuvent être différents, de parfaitement fertiles à subfertiles ou totalement stériles. Il existe donc des mécanismes sexe-spécifiques du déroulement de la méiose.

La formation des follicules

La formation des follicules et la folliculogénèse basale (indépendante des hormones) ont lieu dans un ovaire organisé d'un point de vue morphologique (cortex et médulla). Les follicules se forment lorsque les ovocytes sont bloqués au stade diplotène de prophase I et cette formation de follicules a lieu pendant la période foetale (à partir de 14–15 semaines chez l'Homme et 75 jpc chez la brebis) ou quelques jours après la naissance (2–5 jpp chez la souris, 7–10 jpp chez le lapin). La folliculogénèse est le processus par lequel plusieurs cellules somatiques (les précurseurs des cellules de la granulosa) vont entourer l'ovocyte formant alors un follicule, entité fonctionnelle de l'ovaire. Les follicules ainsi formés vont passer par plusieurs stades de différenciation: primordial, primaire, secondaire, tertiaire. La formation des follicules primordiaux résulte de la fragmentation des cordons ovigères, qui se déroule à l'interface médulla/cortex de l'ovaire, puis s'étend vers l'épithélium de surface de l'ovaire. Ces follicules primordiaux sont constitués d'un ovocyte entouré par quelques cellules somatiques aplaties, les futures cellules de la granulosa. Des expériences d'invalidation de gènes chez la souris ont permis de mieux comprendre le rôle de certains gènes contrôlant la formation des follicules (tableau 3).

Les différentes étapes de maturation des follicules sont contrôlées par de nombreux facteurs et nécessitent un dialogue très précis entre l'ovocyte et les cellules somatiques qui l'entourent (références dans Edson *et al.*, 2009). Deux types de régulation s'exercent sur la folliculogénèse: une régulation intra-folliculaire et une régulation inter-folliculaire. Les régulations intra-folliculaires se font *via* des facteurs de type paracrine (KL, FOXO3a, SOHLH1 et 2, BMP15, GDF9...) et coordonnent la croissance de l'ovocyte et des cellules

Tableau 2. Principaux gènes intervenant en prophase I de méiose et effets de leurs invalidations chez les souris mâles et femelles.

Catégorie de protéines	Nom du gène	Fonction lors de la méiose	Effet de l'invalidation chez le mâle	Effet de l'invalidation chez la femelle	Références
Protéines du complexe synaptonémal	<i>Sycp1</i>	Rôle dans l'appariement des chromosomes homologues	Stérile (blocage en pachytène)	Stérile	de Vries <i>et al.</i> (2005)
	<i>Sycp3</i>	Rôle dans l'appariement des chromosomes homologues	Stérile (blocage en zygotène)	Fertile (aneuploïdie)	Yuan <i>et al.</i> (2002)
	<i>Syce2</i>	Rôle dans la mise en place du complexe synaptonémal	Stérile	Subfertile	Bolcun-Filas <i>et al.</i> (2007)
Protéines TEX	<i>Tex11</i>	Rôle dans l'appariement des chromosomes homologues	Stérile	Subfertile	Adelman <i>et al.</i> (2008)
	<i>Tex14</i>	Rôle dans la formation des ponts qui relient les cellules germinales	Stérile	Fertile	Greenbaum <i>et al.</i> (2006)
	<i>Tex15</i>	Rôle dans l'appariement des chromosomes homologues	Stérile	Fertile	Yang <i>et al.</i> (2008)
Protéine de cassures doubles brins et réparations	<i>Spo11</i>	Rôle dans la cassure doubles brins	Stérile	Stérile Perte des cellules germinales	Romanienko <i>et al.</i> (2000)
	<i>Mei1</i>	Rôle dans la cassure doubles brins	Stérile	Stérile	Libby <i>et al.</i> (2002)
	<i>Dmc1</i>	Rôle dans la fixation des cassures doubles brins et de leur réparation	Stérile	Stérile (blocage en pachytène)	Pittman <i>et al.</i> (1998) Yoshida <i>et al.</i> (1998)
	<i>Rad51</i>	Rôle dans la fixation des cassures doubles brins et de leur réparation (gonades)	Létal	Létal	Tsusuki <i>et al.</i> (1996)
Protéines MSH-MLH	<i>Msh4</i>	Rôle dans la synapse entre les chromosomes homologues	Stérile	Stérile Perte des cellules germinales	Kneitz <i>et al.</i> (2000)
	<i>Msh5</i>	Rôle dans la synapse entre les chromosomes homologues	Stérile Perte des cellules germinales	Stérile Perte des cellules germinales	de Vries <i>et al.</i> (1999)
	<i>Mlh1</i>	Rôle dans la réalisation des crossing-over	Stérile Perte des cellules germinales	Stérile Perte des cellules germinales	Edelmann <i>et al.</i> (1996)
	<i>Mlh3</i>	Rôle dans la réalisation des crossing-over	Stérile Perte des cellules germinales	Stérile Perte des cellules germinales	Lipkin <i>et al.</i> (2002)
	<i>Pms2</i>	Rôle dans la synapse entre les chromosomes homologues	Stérile	Fertile	Baker <i>et al.</i> (1995)

de la granulosa. Les régulations inter-folliculaires permettent aux follicules qui se développent de moduler l'entrée en croissance des follicules primordiaux (*via* l'AMH par exemple).

- **La formation des follicules primordiaux**

Le facteur FIGLA

Le premier facteur de transcription découvert pour son rôle dans la formation des follicules est FIGLA (*Factor*

in the germline alpha). Il comporte un domaine HLH (*helix loop helix*). Il a été mis en évidence lors de l'identification des facteurs impliqués dans la transcription des gènes de la zone pellucide (Zp) (Liang *et al.*, 1997). L'invalidation de ce gène conduit à une stérilité des souris femelles mais est sans conséquence sur la fertilité des souris mâles (Soyal *et al.*, 2000). Les souris invalidées pour *Figla* possèdent des ovaires dépourvus de follicules primordiaux et quelques jours après la naissance, les cellules germinales ont toutes disparu. Le facteur

Tableau 3. Récapitulatif des gènes intervenant au cours de la folliculogénèse.

Nom du gène	Localisation cellulaire dans l'ovaire	Effet de l'inactivation chez la souris femelle	Rôle	Références
<i>Figla</i>	Ovocytes en nids	Infertile : absence de primordiaux	Formation du stock de follicules primordiaux	Soyal <i>et al.</i> (2000)
<i>Foxo3a</i>	Ovocytes (primordiaux et 1 ^{aires})	Infertile : activation de tous les follicules primordiaux	Maintien du stock de follicules primordiaux	Castrillon <i>et al.</i> (2003) Liu <i>et al.</i> (2007)
<i>Amh</i>	Cellules de la granulosa (follicule 1 ^{aire} jusqu'au stade antral)	Infertile à 4 mois : activation de tous les primordiaux	Maintien du stock de follicules primordiaux	Durlinger <i>et al.</i> (1999)
<i>Kit/KL</i>	Kit: sur les ovocytes (à tous les stades) KL: cellules pré-granulosa et granulosa	Absence croissance follicules primordiaux	Transition follicules primordiaux/1 ^{aires} et maturation des follicules 2 ^{aires}	Horie <i>et al.</i> (1991) Yoshida <i>et al.</i> (1997)
<i>Sohlh1</i>	Ovocyte (follicules primordiaux)	Infertile : blocage au stade follicule primordial	Transition follicules primordiaux-1 ^{aires}	Pangas <i>et al.</i> (2006) Choi <i>et al.</i> (2008)
<i>Sohlh2</i>	Ovocytes (primordiaux et 1 ^{aires})	Infertile : blocage au stade follicule primordial	Transition follicules primordiaux-1 ^{aires}	Pangas <i>et al.</i> (2006) Choi <i>et al.</i> (2008)
<i>Lhx8</i>	Ovocytes (à tous les stades)	Infertile : blocage au stade follicule primordial	Transition follicules primordiaux-1 ^{aires}	Pangas <i>et al.</i> (2006)
<i>Nobox</i>	Ovocytes (à tous les stades)	Infertile : blocage au stade follicule primordial	Transition follicules primordiaux-1 ^{aires}	Rajkovic <i>et al.</i> (2004)
<i>Foxl2</i>	Cellules de la granulosa	Infertile : blocage au stade follicule primordial	Transition follicule primordiaux-1 ^{aires}	Schmidt <i>et al.</i> (2004) Uda <i>et al.</i> (2004)
<i>Gdf9</i>	Ovocytes de follicules 1 ^{aires} et ovocytes ovulatoires	Infertile : blocage au stade follicule 1 ^{aire}	Transition follicule 1 ^{aire} -2 ^{aire}	Elvin <i>et al.</i> (1999) Dong <i>et al.</i> (1999)
<i>Bmp15</i>	Ovocytes de follicules 1 ^{aires} et pré-ovulatoires	<i>Bmp15</i> ^{-/-} : baisse de la fertilité <i>Bmp15</i> ^{+/-} : aucun effet	Transition follicule 1 ^{aire} -2 ^{aire}	Yoshino <i>et al.</i> (2006)

FIGLA, présent dans les ovocytes, intervient dans la formation du stock de follicules primordiaux mais contrôlerait également l'expression de plusieurs gènes, ceux nécessaires à la formation de la Zp, ainsi que ceux impliqués dans la formation des follicules primordiaux, la fécondation ou le développement préimplantatoire comme *Pou5f1* (*POU-type homeodomain-containing DNA-binding protein*, aussi nommé *Oct4*), *Nlrp14* (*NLR family, pyrin domain containing 14* ou *NACHT*), *Dppa3* (Stella) (Soyal *et al.*, 2000 ; Joshi *et al.*, 2007). La cascade moléculaire en aval de FIGLA n'est pas encore clairement établie. Chez la femme, le transcrit FIGLA est exprimé fortement à 19 semaines, période pendant laquelle les follicules primordiaux se forment (Bayne *et al.*, 2004).

Les facteurs SOHLH

D'autres facteurs de transcription spécifiques des cellules germinales et à domaine LHL ont été identifiés

pour avoir également un rôle essentiel dans la formation des follicules, il s'agit de *SOHLH1* et *SOHLH2* (*spermatogenesis and oogenesis specific basic helix-loop-helix 1 et 2*). L'inactivation de ces gènes conduit à une absence de follicules primordiaux (Pangas *et al.*, 2006 ; Choi *et al.*, 2008) et les ovaires de ces souris mutantes (*Sohlh1*^{-/-} et *Sohlh2*^{-/-}) présentent une altération de l'expression d'autres facteurs de transcription ayant un rôle dans la folliculogénèse basale comme *Lhx8* (*lim homeobox protein 8*), *Pou5f1*, *Nobox* (*newborn ovary homeobox*), et *Figla* (Rajkovic *et al.*, 2004 ; Choi *et al.*, 2008). Il existe des boucles de régulation entre ces facteurs de transcription SOHLH : les ovaires des souris *Sohlh1*^{-/-} présentent une baisse d'expression de *Sohlh2* et inversement.

Les neutrophines

Quatre des cinq neutrophines connues à ce jour sont exprimées dans l'ovaire (NGF, *nerve growth factor*;

BDNF, *brain-derived neurotrophic factor*; NFT3 et NFT5, neurotrophines 3 et 5) ainsi que leurs récepteurs (Disson *et al.*, 1995). NGF est exprimé dans les cellules germinales et les cellules de granulosa juste avant la formation des follicules. Son invalidation réduit de façon drastique le nombre de follicules primaires dans les ovaires de ces souris mutantes ainsi que la prolifération des cellules somatiques (Disson *et al.*, 2001) suggérant un rôle important du signal NGF pour la différenciation des cellules de pré-granulosa en cellules de granulosa cuboïdales.

La voie Notch

Chez la souris, les différents composants de la voie Notch à savoir, le récepteur Notch2, un ligand de Notch2 (Jagged1) et les cibles de la voie Notch (Hes1 et Hey2) sont exprimés dans les cellules de pré-granulosa et/ou l'ovocyte de follicules primordiaux (Trombly *et al.*, 2009). L'inhibition chimique de la voie Notch (inhibiteur de sécrétase) dans des cultures d'ovaires de souris nouveaux-nés entraîne une diminution drastique du nombre de follicules primordiaux et une augmentation du nombre de cellules germinales restant incluses dans les cordons ovigères (Trombly *et al.*, 2009). L'ensemble de ces résultats montre un rôle de la voie Notch dans la formation des follicules primordiaux des mammifères.

Le facteur FOXL2

Dans les ovaires de souris *Foxl2*^{-/-} les ovocytes en croissance sont (et restent) entourés par une seule couche de cellules de la granulosa. Ces cellules épithéliales sont pléiomorphes et souvent aplaties, rappelant celles des follicules primordiaux. Cela indique que le programme de différenciation de la granulosa a été sévèrement altéré dès les premiers stades de la folliculogénèse. En dépit de ces anomalies des cellules somatiques, la morphologie des ovaires et des ovocytes *Foxl2*^{-/-} à la naissance est apparemment normale.

À 8 semaines, l'ovaire de type sauvage montre un éventail de tailles et de stades de l'ovocyte et du follicule (follicules primordiaux principalement avec des diamètres ovocytaires < 20 µm), tandis que les ovocytes chez le mutant ont en général des diamètres > 20 µm et nombre d'entre eux sont en apoptose. Les anomalies morphologiques et les altérations de la croissance de l'ovocyte suggèrent un défaut de formation du follicule primaire. Chez le mutant, les ovocytes restent groupés (jusqu'à 10 ovocytes) et sont entourés par une couche de cellules de soutien. Ces structures persistent jusqu'à 8 semaines après la naissance et correspondent à des amas d'ovocytes et

de cordons ovigères non fragmentés. Ces données montrent que FOXL2 est nécessaire pour la formation de follicules primordiaux (Uda *et al.*, 2004).

Le maintien du stock de follicules primordiaux

L'hormone anti-Müllerienne

En plus de son rôle dans la régression des canaux de Müller chez le mâle, l'AMH (*Anti-Müllerian Hormone*) est un facteur de croissance impliqué dans le maintien du stock de follicules primordiaux par inhibition de la croissance folliculaire. Le transcrite de l'*Amh* est détecté à 3 jours *post-partum* dans les cellules de la granulosa des follicules primaires et jusqu'au stade antral chez la souris (Durlinger *et al.*, 1999). Les ovaires des souris invalidées pour ce gène sont fertiles mais les femelles *Amh*^{-/-} ont un nombre de follicules primordiaux beaucoup plus faible que des souris sauvages et un nombre de follicules en croissance plus élevé; ces ovaires mutants perdent rapidement leurs follicules primordiaux (Durlinger *et al.*, 1999). Chez la brebis, l'AMH est exprimée par les cellules de la granulosa des follicules en croissance (Bézard *et al.*, 1988) et n'est détectable qu'à partir des stades follicules pré-antraux à 120 jours de gestation (Bézard *et al.*, 1987; Payen *et al.*, 1996).

Les facteurs FOXO3A (*Forkhead box 3a*) et PTEN (*phosphatase and tensin homolog*)

FOXO3A est un autre facteur qui intervient dans le maintien du stock de follicules primordiaux (Liu *et al.*, 2006). Chez la souris, *Foxo3a* est exprimé par les ovocytes des follicules primordiaux et des follicules primaires. En revanche, il est absent dans les autres follicules en croissance. La délétion du gène *Foxo3a* montre que les ovaires des femelles *Foxo3a*^{-/-} dès 14 jpp ne contiennent pas de follicules primordiaux mais un nombre anormalement élevé de follicules primaires et secondaires conduisant à une stérilité des femelles (Castrillon *et al.*, 2003). L'activation constitutive de *Foxo3a* chez la souris provoque un défaut de croissance des follicules primordiaux et une diminution de l'expression de *Bmp15* et des connexines 37 et 43 (protéines de structure des jonctions qui relient l'ovocyte aux cellules de la granulosa), ces trois gènes étant impliqués dans la croissance folliculaire (Liu *et al.*, 2007). L'activité de FOXO3A est régulée par la voie PI3K/AKT, elle-même activée par le facteur Kit/Kit Ligand. Au sein des ovocytes des follicules primordiaux, l'activation d'AKT inhibe FOXO3A en la phosphorylant. Cette voie aboutit à la prolifération des cellules pré-granulosa et à la formation des follicules

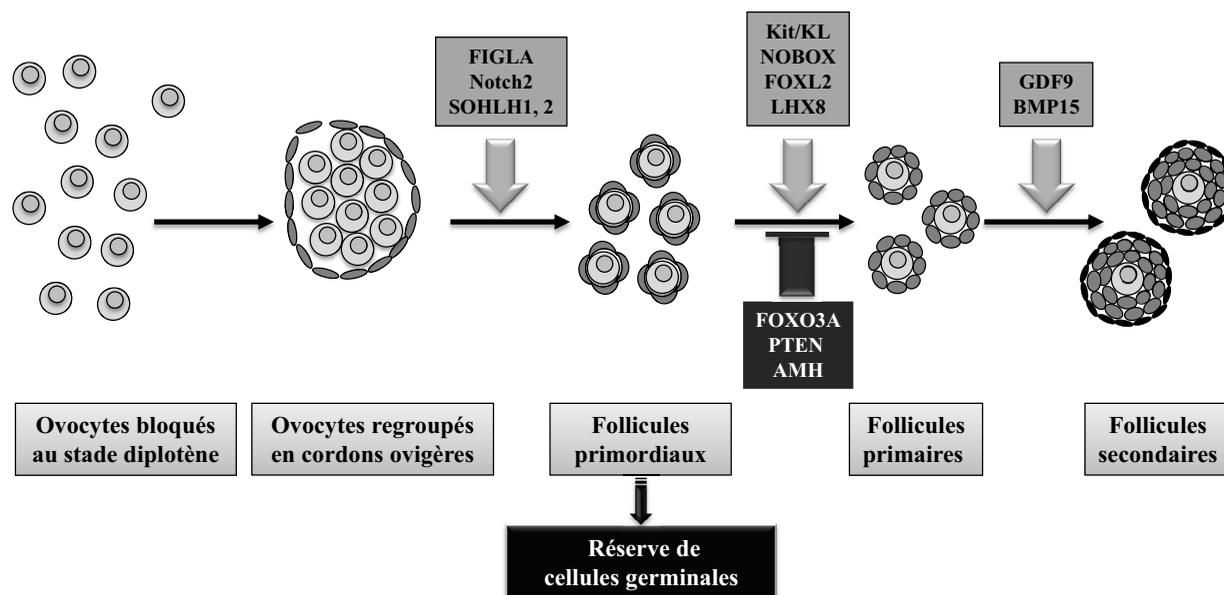


Fig. 3. Principaux facteurs impliqués dans la formation des follicules et le maintien de la réserve ovarienne. Plusieurs facteurs sont impliqués dans la formation des follicules primordiaux (FIGLA, NOTCH2, SOHLH1 et 2, FOXL2), primaires (NOBOX, LHX8, cKIT/KL) ou secondaires (GDF9, BMP15) tandis que d'autres maintiennent le stock de follicules primordiaux en évitant leur différenciation (AMH, PTEN, FOXO3A).

primaires. Inversement, lorsqu'AKT est inactive, FOXO3A maintient le stock de follicules primordiaux : (i) en inhibant la transcription de *Bmp15*, *Cx37* et *Cx43* et (ii) en activant *p27* dont le rôle est d'inhiber la croissance folliculaire (Liu *et al.*, 2007).

PTEN est un autre facteur présent dans l'ovocyte qui empêche l'activation des follicules en inhibant le signal issu de la voie PI3K. Une perte de PTEN dans les ovocytes de souris entraîne une croissance prématurée de tout le stock de follicules primordiaux suggérant que l'inhibition de la voie PI3K *via* PTEN permet de maintenir la réserve ovarienne de follicules primordiaux (John *et al.*, 2008 ; Reddy *et al.*, 2008).

Une fois les follicules primordiaux formés, ils constituent la réserve des gamètes femelles, ces follicules sortent ensuite de ce stock à chaque cycle pour subir des étapes de maturation folliculaire. Une grande partie des follicules ovariens disparaîtra par atresie tout au long de la vie. Les différentes étapes de formation des follicules et les gènes qui les contrôlent sont présentées dans la figure 3.

Petits ARNs et développement ovarien

Les petits ARN non codants régulent l'expression et la fonction des gènes dans de multiples tissus, dont l'ovaire (Torley *et al.*, 2011 ; Tripurani *et al.*, 2011) et

l'ovocyte (Watanabe *et al.*, 2008). Chez les mammifères, il existe 3 groupes de petits ARNs : les microARNs (miARNs), les *piwi-interacting* ARNs (piARNs) et les petits ARN interférents (siARNs) à la structure et aux caractéristiques différentes (tableau 4).

Les miARNs, incorporés en complexe ribonucléoprotéique (complexe RISC, composé en partie par des protéines de la famille Argonaute), répriment l'expression de gènes cibles en bloquant la traduction des ARN messagers et/ou en déstabilisant les transcrits *via* la région 3'UTR (voir références dans Ghildiyal & Zamore, 2009 ; Katahira & Yoneda, 2011). Une étude récente a montré l'expression de plusieurs miARNs dans les gonades fœtales ovines. Plusieurs gènes ont été identifiés comme cibles de ces miARNs, il s'agit de ceux du récepteur des oestrogènes ESR1 (miARN : miR-22), de l'aromatase CYP19A1 (Let 7a, c, d, e, g), de la follistatine FST (miR-410), et de la protéine WNT4 (miR-211) (Torley *et al.*, 2011).

Les siARNs répriment les gènes hôtes, les éléments transposables (ETs) et les virus (Bartel, 2004).

Les piARNs sont exprimés spécifiquement dans la lignée germinale mâle du testicule, suggérant un rôle essentiel au cours de la spermatogenèse (Aravin *et al.*, 2006 ; Girard *et al.*, 2006 ; Grivna *et al.*, 2006 ; Watanabe *et al.*, 2006). Ils interagissent avec une

Tableau 4. Caractéristiques des petits ARNs non codants de mammifères.

	siARN	miARN	piARN
Longueur (nt)	≈ 21	≈ 22	≈ 24-32
Biosynthèse	Dépendante de l'endonucléase DICER		Indépendante de DICER
Fonctionnement	Association en complexe multi-protéines (ribonucléoprotéines) → Famille des protéines Argonaute		
Protéines Argonaute du complexe	Complexe RISC		Protéines PIWI
Rôle fonctionnel	Clivage des ARNm cibles	Déstabilisation des ARNm Blocage de traduction	Suppression des éléments transposables Maintenance de l'intégrité du génome

Tableau 5. Principaux gènes intervenant dans la voie des piARNs de la lignée germinale mâle de souris.

Nom des gènes	Domaine protéique	Effets de l'invalidation chez la souris	Références
<i>Maelstrom</i>	HMG box	Mâle stérile	Costa <i>et al.</i> (2006) Soper <i>et al.</i> (2008)
<i>Miwi/Piwil1, Mili/Piwil2</i>	Paz et PIWI	Mâle stérile	Grivna <i>et al.</i> (2006) Kuramochi-Miyagawa <i>et al.</i> (2004)
<i>Mvh</i>	ARN hélicase	Mâle stérile	Kuramochi-Miyagawa <i>et al.</i> (2010)
<i>Mov10L1</i>	DExD-box hélicase	Mâle stérile	Frost <i>et al.</i> (2010) Zheng <i>et al.</i> (2010)
<i>Tdrd1/MTR-1, Tdrd6, Tdrd7</i>	Domaine Tudor répété	Mâle stérile (Tdrd1)	Chuma <i>et al.</i> (2003, 2006) Hosokawa <i>et al.</i> (2007)

sous-famille de protéines Argonaute, les PIWI protéines (chez la souris : MIWI, MILI, et MIWI2); chez l'Homme et les bovins (PIWIL1, PIWIL2 et PIWIL4 respectivement), une quatrième protéine de la famille PIWI a été décrite, PIWIL3, qui n'est pas retrouvée chez les rongeurs (Sasaki *et al.*, 2003). Actuellement, une seule de ces protéines (MILI) a été observée dans la lignée germinale femelle chez la souris (Watanabe *et al.*, 2008). Dans cette espèce, l'invalidation de chacune des protéines PIWI ou des protéines qui leur sont associées (MOV10L1, MVH, TDRD1) conduit à une activation des éléments transposables (ETs), un arrêt de spermatogenèse et une stérilité des mâles (Deng & Lin, 2002 ; Kuramochi-Miyagawa *et al.*, 2004 ; Carmell *et al.*, 2007) suggérant la répression des ETs par les piARNs. Le tableau 5 présente les différentes protéines associées à la machinerie des piARNs de la lignée germinale mâle de souris. Le rôle des piARNs dans la lignée germinale femelle n'a pas été étudié chez les mammifères.

Ces recherches sur les petits ARNs montrent de nouvelles voies de régulation de l'expression des gènes au cours de la différenciation ovarienne, qui font appel au

blocage de la traduction, à la déstabilisation des ARNm, au clivage des ARNm cibles, à la répression des éléments transposables, et à la méthylation de l'ADN. L'identification de nouveaux petits ARNs non codants au sein des gonades fœtales femelles (miRNome, piARNs) va croître dans les prochaines années, et apporter des connaissances nouvelles sur le contrôle du développement de la lignée germinale femelle et de l'ovaire.

Conclusion

Des analyses sur les modèles animaux mutants ont montré que les cellules de la granulosa issues de souris doubles mutantes *FoxL2/Wnt4* acquièrent des caractéristiques de cellules de Sertoli avant la naissance, à savoir une forte expression de *Sox9*, *Dmrt1* ainsi que d'autres gènes spécifiques de la voie de différenciation testiculaire, ce que ne fait pas la simple inactivation de *FoxL2* (Ottolenghi *et al.*, 2007). Par ailleurs, il a été montré que dans les gonades XX des chèvres PIS^{-/-} n'exprimant pas *FOXL2*, *Rspo1* était

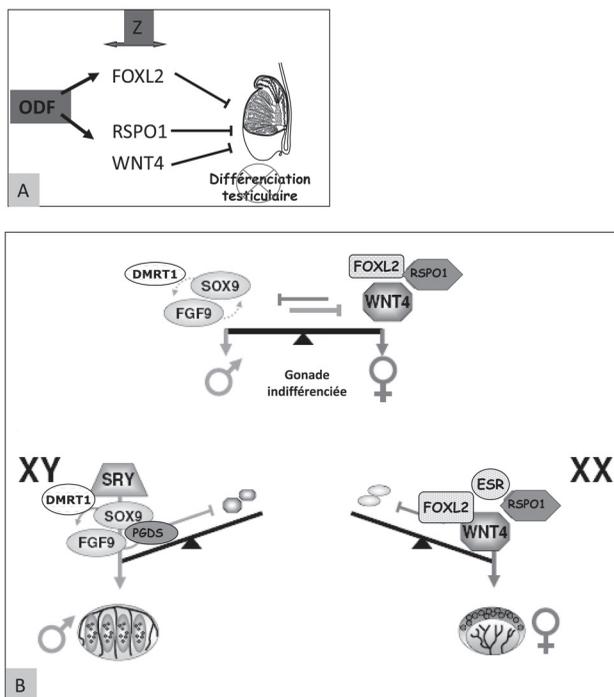


Fig. 4. Résumé des mécanismes génétiques contrôlant la différenciation ovarienne. A - Plusieurs gènes Z ont été identifiés : *FoxL2*, *Rspo1*, *Wnt4*, β -caténine. Deux questions restent posées : existe-t-il un facteur déterminant l'ovaire (*Ovarian Determining Factor*) à la tête de ces cascades géniques et existe-t-il d'autres gènes Z non encore identifiés ? B - En fonction du sexe chromosomique (XX ou XY), des cascades géniques vont être initiées au sein des cellules somatiques des gonades indifférenciées. Chez le mâle, *SRY* déclenche l'allumage du gène *SOX9* qui va entraîner la différenciation des cellules de soutien en cellules de Sertoli et bloquer celle aboutissant aux cellules de granulosa. À l'inverse, chez la femelle, plusieurs cascades vont être initiées induisant le compartiment somatique à s'engager dans la voie femelle. Cette balance des sexes présente une certaine plasticité tout au long de la vie.

exprimé dans les stades précoces (Kocer *et al.*, 2008). Il semble donc que *FOXL2* et *RSP01*/*WNT4*/ β -caténine agissent par deux voies indépendantes. L'importance relative de l'une ou l'autre voie à des moments clés du développement ovarien pouvant être différente en fonction des espèces. C'est ce que nous montrent les différences de phénotypes observées dans l'inactivation de *FOXL2* entre la chèvre et la souris. La question du rôle de *Foxl2* dans l'ovaire murin dès 12,5 jpc reste posée.

Il est également intéressant de noter que, bien après la différenciation de l'ovaire au cours de la vie embryonnaire, il est encore possible de transdifférencier

les cellules de granulosa en cellules de Sertoli chez l'adulte par inactivation conditionnelle de *Foxl2* et d'obtenir *in vivo* une reprogrammation du lignage cellulaire de soutien de la gonade (Uhlenhaut *et al.*, 2009). Cette reprogrammation est spécifique de ce type cellulaire.

Pour assurer un développement coordonné de l'ovaire, on peut imaginer que des boucles de régulation existent entre les deux voies dirigées par *FOXL2* et *RSP01*, bien que celles-ci n'aient pas encore été complètement démontrées. Des ARNs non codants ainsi que des miARNs contrôlent probablement l'expression des gènes de ces deux voies. Il reste à les identifier et comprendre comment ils agissent.

On peut aussi supposer que chacune de ces voies contrôle un lignage cellulaire distinct au sein des cellules somatiques de l'ébauche gonadique XX, bien que ces lignages cellulaires restent assez mal caractérisés chez la femelle (épithélium coelomique ou mésonéphros), leur proportion au sein de l'ébauche gonadique XX pouvant varier entre les différentes espèces.

Cependant la question majeure qui reste posée concerne l'existence et la caractérisation d'un gène de détermination ovarienne chez les mammifères (équivalent au gène *SRY* chez le mâle) qui initierait et contrôlerait l'expression de *FOXL2* et *RSP01* dans l'ébauche gonadique XX (figure 4). Découvrir ce gène et le mécanisme par lequel il active *FOXL2* et *RSP01* reste le challenge des années à venir. L'étude de patients ou de modèles animaux atteints d'inversion sexuelle devrait être déterminante pour la découverte de ces mécanismes.

En ce qui concerne la différenciation des cellules germinales femelles, l'action de l'acide rétinolique pour déclencher la méiose semble moins prépondérante qu'on aurait pu le penser il ya quelques années et là aussi des différences entre espèces existent et sont sources de controverses. Deux acteurs clés dans l'initiation méiotique sont *Dazl* et *Stra8* et pour le moment, on ne connaît pas leur mécanisme d'action. Enfin, il reste à élucider le rôle des petits ARNs (miARN, siARN et piARN) dans la différenciation germinale femelle.

Références

- Adelman C., Petrini J., ZIP4H (TEX11) deficiency in the mouse impairs meiotic double strand break repair and the regulation of crossing over. *PLoS Genet*, 2008, 4, e1000042.
- Al-Agha O., Huwait H., Chow C., Yang W., Senz J., Kalloger S., Huntsman D., Young R., Gilks C., *FOXL2* is a

- sensitive and specific marker for sex cord-stromal tumors of the ovary. *Am J Surg Pathol*, 2011, 35, 484–494.
- Arango N., Lovell-Badge R., Behringer R., Targeted mutagenesis of the endogenous mouse *Mis* gene promoter, *in vivo* definition of genetic pathways of vertebrate sexual development. *Cell*, 1999, 99, 409–419.
- Aravin A., Gaidatzis D., Pfeffer S., Lagos-Quintana M., Landgraf P., Iovino N., Morris P., Brownstein M., Kuramochi-Miyagawa S., Nakano T., Chien M., Russo J., Ju J., Sheridan R., Sander C., Zavolan M., Tuschl T., A novel class of small RNAs bind to MILI protein in mouse testes. *Nature*, 2006, 442, 203–207.
- Baillet A., Mandon-Pépin B., Cabau C., Pomerol E., Pailhoux E., Cotinot C., Identification of transcripts involved in meiosis and follicle formation during ovine ovary development. *BMC Genomics*, 2008, 9, 436.
- Baker S., Bronner C., Zhang L., Plug A., Robatzek M., Warren G., Elliott E., Yu J., Ashley T., Arnheim N., Flavell R., Liskay R., Male mice defective in the DNA mismatch repair gene *PMS2* exhibit abnormal chromosome synapsis in meiosis. *Cell*, 1995, 82, 309–319.
- Baltus A., Menke D., Hu Y., Goodheart M., Carpenter A., de Rooij D., Page D., In germ cells of mouse embryonic ovaries, the decision to enter meiosis precedes premeiotic DNA replication. *Nat Genet*, 2006, 38, 1430–1434.
- Barr M., The sex chromosomes in evolution and in medicine. *Can Med Assoc J*, 1966, 95, 1137–1148.
- Bartel D., MicroRNAs, genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell*, 2004, 116, 281–297.
- Batista F., Vaiman D., Dausset J., Fellous M., Veitia R., Potential targets of *FOXL2*, a transcription factor involved in craniofacial and follicular development, identified by transcriptomics. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104, 3330–3335.
- Bayne R.A., Martins da Silva S.J., Anderson R.A., Increased expression of the *FIGLA* transcription factor is associated with primordial follicle formation in the human fetal ovary. *Mol Hum Reprod*, 2004, 10, 373–381.
- Benayoun B.A., Kalfa N., Sultan C., Veitia R.A., The forkhead factor *FOXL2*: a novel tumor suppressor? *Biochim Biophys Acta*, 2010, 1805, 1–5.
- Benayoun B.A., Georges A.B., L'Hôte D., Andersson N., Dipietromaria A., Todeschini A.L., Caburet S., Bazin C., Anttonen M., Veitia R.A., Transcription factor *FOXL2* protects granulosa cells from stress and delays cell cycle, role of its regulation by the *SIRT1* deacetylase. *Hum Mol Genet*, 2011, 20, 1673–1686.
- Bernard P., Harley V.R., *Wnt4* action in gonadal development and sex determination. *Int J Biochem Cell Biol*, 2007, 39, 31–43.
- Berta P., Hawkins J.R., Sinclair A.H., Taylor A., Griffiths B.L., Goodfellow P.N., Fellous M., Genetic evidence equating *SRY* and the testis-determining factor. *Nature*, 1990, 348, 448–450.
- Bézar J., Vigier B., Tran D., Mauléon P., Josso N., Immunocytochemical study of anti-Müllerian hormone in sheep ovarian follicles during fetal and post-natal development. *J Reprod Fertil*, 1987, 80, 509–516.
- Bézar J., Vigier B., Tran D., Mauléon P., Josso N., Anti-müllerian hormone in sheep follicles. *Reprod Nutr Dev*, 1988, 28, 1105–1112.
- Bigliardi E., Parma P., Peressotti P., De Lorenzi L., Wohlsein P., Passeri B., Jottini S., Cantoni A.M., Clinical, genetic, and pathological features of male pseudohermaphroditism in dog. *Reprod Biol Endocrinol*, 2011, 9, 12.
- Birk O.S., Casiano D.E., Wassif C.A., Cogliati T., Zhao L., Zhao Y., Grinberg A., Huang S., Kreidberg J.A., Parker K.L., Porter F.D., Westphal H., The *LIM* homeobox gene *Lhx9* is essential for mouse gonad formation. *Nature*, 2000, 403, 909–913.
- Bolcun-Filas E., Costa Y., Speed R., Taggart M., Benavente R., De Rooij D.G., Cooke H.J., *SYCE2* is required for synaptonemal complex assembly, double strand break repair, and homologous recombination. *J Cell Biol*, 2007, 176, 741–747.
- Bowles J., Knight D., Smith C., Wilhelm D., Richman J., Mamiya S., Yashiro K., Chawengsaksophak K., Wilson M.J., Rossant J., Hamada H., Koopman P., Retinoid signaling determines germ cell fate in mice. *Science*, 2006, 312, 596–600.
- Bowles J., Feng C.W., Spiller C., Davidson T.L., Jackson A., Koopman P., *FGF9* suppresses meiosis and promotes male germ cell fate in mice. *Dev Cell*, 2010, 19, 440–449.
- Brennan J., Capel B., One tissue, two fates, molecular genetic events that underlie testis versus ovary development. *Nat Rev Genet*, 2004, 5, 509–521.
- Capel B., The battle of the sexes. *Mech Dev*, 2000, 92, 89–103.
- Carmell M.A., Girard A., van de Kant H.J., Bourc'his D., Bestor T.H., de Rooij D.G., Hannon G.J., *MIWI2* is essential for spermatogenesis and repression of transposons in the mouse male germline. *Dev Cell*, 2007, 12, 503–514.
- Castrillon D.H., Miao L., Kollipara R., Horner J.W., DePinho R.A., Suppression of ovarian follicle activation in mice by the transcription factor *Foxo3a*. *Science*, 2003, 301, 215–218.
- Chassot A.A., Ranc F., Grégoire E.P., Roepers-Gajadien H.L., Taketo M.M., Camerino G., de Rooij D.G., Schedl A., Chaboissier M.C., Activation of beta-catenin signaling by *Rspo1* controls differentiation of the mammalian ovary. *Hum Mol Genet*, 2008, 17, 1264–1277.
- Childs A.J., Cowan G., Kinnell H.L., Anderson R.A., Saunders P.T., Retinoic Acid signalling and the control of meiotic entry in the human fetal gonad. *PLoS One*, 2011, 6, e20249.
- Choi Y., Yuan D., Rajkovic A., Germ cell-specific transcriptional regulator *sohlh2* is essential for early mouse folliculogenesis and oocyte-specific gene expression. *Biol Reprod*, 2008, 79, 1176–1182.

- Chuma S., Hiyoshi M., Yamamoto A., Hosokawa M., Takamune K., Nakatsuji N., Mouse Tudor Repeat-1 (MTR-1) is a novel component of chromatoid bodies/nuages in male germ cells and forms a complex with snRNPs. *Mech Dev*, 2003, 120, 979–990.
- Chuma S., Hosokawa M., Kitamura K., Kasai S., Fujioka M., Hiyoshi M., Takamune K., Noce T., Nakatsuji N., Tdrd1/Mtr-1, a tudor-related gene, is essential for male germ-cell differentiation and nuage/germinal granule formation in mice. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103, 15894–15899.
- Combes A.N., Spiller C.M., Harley V.R., Sinclair A.H., Dunwoodie S.L., Wilhelm D., Koopman P., Gonadal defects in Cited2-mutant mice indicate a role for SF1 in both testis and ovary differentiation. *Int J Dev Biol*, 2010, 54, 683–689.
- Coré N., Joly F., Boned A., Djabali M., Disruption of E2F signaling suppresses the INK4a-induced proliferative defect in M33-deficient mice. *Oncogene*, 2004, 23, 7660–7668.
- Costa Y., Speed R.M., Gautier P., Semple C.A., Maratou K., Turner J.M., Cooke H.J., Mouse MAELSTROM, the link between meiotic silencing of unsynapsed chromatin and microRNA pathway? *Hum Mol Genet*, 2006, 15, 2324–2334.
- Crisponi L., Deiana M., Loi A., Chiappe F., Uda M., Amati P., Biscaglia L., Zelante L., Nagaraja R., Porcu S., Ristaldi M.S., Marzella R., Rocchi M., Nicolino M., Lienhardt-Roussie A., Nivelon A., Verloes A., Schlessinger D., Gasparini P., Bonneau D., Cao A., Pilia G., The putative forkhead transcription factor FOXL2 is mutated in blepharophimosis/ptosis/epicanthus inversus syndrome. *Nat Genet*, 2001, 27, 159–166.
- Cui S., Ross A., Stallings N., Parker K.L., Capel B., Quaggin S.E., Disrupted gonadogenesis and male-to-female sex reversal in Pod1 knockout mice. *Development*, 2004, 131, 4095–4105.
- De Baere E., Lemerrier B., Christin-Maitre S., Durval D., Messiaen L., Fellous M., Veitia R., FOXL2 mutation screening in a large panel of POF patients and XX males. *J Med Genet*, 2002, 39, e43.
- de Vries S.S., Baart E.B., Dekker M., Siezen A., de Rooij D.G., de Boer P., te Riele H., Mouse MutS-like protein Msh5 is required for proper chromosome synapsis in male and female meiosis. *Genes Dev*, 1999, 13, 523–531.
- de Vries F.A., de Boer E., van den Bosch M., Baarends W.M., Ooms M., Yuan L., Liu J.G., van Zeeland A.A., Heyting C., Pastink A., Mouse Sycp1 functions in synaptonemal complex assembly, meiotic recombination, and XY body formation. *Genes Dev*, 2005, 19, 1376–1389.
- Deng W., Lin H., miwi, a murine homolog of piwi, encodes a cytoplasmic protein essential for spermatogenesis. *Dev Cell*, 2002, 2, 819–830.
- DiNapoli L., Capel B., SRY and the standoff in sex determination. *Mol Endocrinol*, 2008, 22, 1–9.
- Dissen G.A., Hirshfield A.N., Malamed S., Ojeda S.R., Expression of neurotrophins and their receptors in the mammalian ovary is developmentally regulated, changes at the time of folliculogenesis. *Endocrinology*, 1995, 136, 4681–4692.
- Dissen G.A., Romero C., Hirshfield A.N., Ojeda S.R., Nerve growth factor is required for early follicular development in the mammalian ovary. *Endocrinology*, 2001, 142, 2078–2086.
- Dong J., Albertini D.F., Nishimori K., Kumar T.R., Lu N., Matzuk M.M., Growth differentiation factor-9 is required during early ovarian folliculogenesis. *Nature*, 1996, 383, 531–535.
- Durlinger A.L., Kramer P., Karels B., de Jong F.H., Uilenbroek J.T., Grootegoed J.A., Themmen A.P., Control of primordial follicle recruitment by anti-Mullerian hormone in the mouse ovary. *Endocrinology*, 1999, 140, 5789–5796.
- Edelmann W., Cohen P.E., Kane M., Lau K., Morrow B., Bennett S., Umar A., Kunkel T., Cattoretti G., Chaganti R., Pollard J.W., Kolodner R.D., Kucherlapati R., Meiotic pachytene arrest in MLH1-deficient mice. *Cell*, 1996, 85, 1125–1134.
- Edson M.A., Nagaraja A.K., Matzuk M.M., The mammalian ovary from genesis to revelation. *Endocr Rev*, 2009, 30, 624–712.
- Elvin J.A., Clark A.T., Wang P., Wolfman N.M., Matzuk M.M., Paracrine actions of growth differentiation factor-9 in the mammalian ovary. *Mol Endocrinol*, 1999, 6, 1035–1048.
- Frost R.J., Hamra F.K., Richardson J.A., Qi X., Bassel-Duby R., Olson E.N., MOV10L1 is necessary for protection of spermatocytes against retrotransposons by Piwi-interacting RNAs. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107, 11847–11852.
- Garcia-Ortiz J.E., Pelosi E., Omari S., Nedorezov T., Piao Y., Karmazin J., Uda M., Cao A., Cole S.W., Forabosco A., Schlessinger D., Ottolenghi C., Foxl2 functions in sex determination and histogenesis throughout mouse ovary development. *BMC Dev Biol*, 2009, 9, 36.
- George F.W., Wilson J.D., Conversion of androgen to estrogen by the human fetal ovary. *J Clin Endocrinol Metab*, 1978, 47, 550–555.
- Ghildiyal M., Zamore P.D., Small silencing RNAs, an expanding universe. *Nat Rev Genet*, 2009, 10, 94–108.
- Girard A., Sachidanandam R., Hannon G.J., Carmell M.A., A germline-specific class of small RNAs binds mammalian Piwi proteins. *Nature*, 2006, 442, 199–202.
- Goodfellow P.N., Lovell-Badge R., SRY and sex determination in mammals. *Annu Rev Genet*, 1993, 27, 71–92.
- Greenbaum M.P., Yan W., Wu M.H., Lin Y.N., Agno J.E., Sharma M., Braun R.E., Rajkovic A., Matzuk M.M., TEX14 is essential for intercellular bridges and fertility in male mice. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103, 4982–4987.

- Grivna S.T., Beyret E., Wang Z., Lin H., A novel class of small RNAs in mouse spermatogenic cells. *Genes Dev*, 2006, 20, 1709–1714.
- Hammes A., Guo J.K., Lutsch G., Leheste J.R., Landrock D., Ziegler U., Gubler M.C., Schedl A., Two splice variants of the Wilms' tumor 1 gene have distinct functions during sex determination and nephron formation. *Cell*, 2001, 106, 319–329.
- Hanley N.A., Ball S.G., Clement-Jones M., Hagan D.M., Strachan T., Lindsay S., Robson S., Ostrer H., Parker K.L., Wilson D.I., Expression of steroidogenic factor 1 and Wilms' tumour 1 during early human gonadal development and sex determination. *Mech Dev*, 1999, 87, 175–180.
- Hes O., Vanecek T., Petersson F., Grossmann P., Hora M., Perez Montiel D.M., Steiner P., Dvorak M., Michal M., Mutational analysis (c.402C>G) of the FOXL2 gene and immunohistochemical expression of the FOXL2 protein in testicular adult type granulosa cell tumors and incompletely differentiated sex cord stromal tumors. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*, 2011, 19, 347–351.
- Horie K., Takakura K., Taii S., Narimoto K., Noda Y., Nishikawa S., Nakayama H., Fujita J., Mori T., The expression of c-kit protein during oogenesis and early embryonic development. *Biol Reprod*, 1991, 4, 547–552.
- Hosokawa M., Shoji M., Kitamura K., Tanaka T., Noce T., Chuma S., Nakatsuji N., Tudor-related proteins TDRD1/MTR-1, TDRD6 and TDRD7/TRAP, domain composition, intracellular localization, and function in male germ cells in mice. *Dev Biol*, 2007, 301, 38–52.
- Ikeda Y., Luo X., Abbud R., Nilson J.H., Parker K.L., The nuclear receptor steroidogenic factor 1 is essential for the formation of the ventromedial hypothalamic nucleus. *Mol Endocrinol*, 1995, 9, 478–486.
- Ingraham H.A., Lala D.S., Ikeda Y., Luo X., Shen W.H., Nachtigal M.W., Abbud R., Nilson J.H., Parker K.L., The nuclear receptor steroidogenic factor 1 acts at multiple levels of the reproductive axis. *Genes Dev*, 1994, 8, 2302–2312.
- Jacobs P.A., Strong J.A., A case of human intersexuality having a possible XXY sex-determining mechanism. *Nature*, 1959, 183, 302–303.
- Jamieson S., Butzow R., Andersson N., Alexiadis M., Unkila-Kallio L., Heikinheimo M., Fuller P.J., Anttonen M., The FOXL2 C134W mutation is characteristic of adult granulosa cell tumors of the ovary. *Mod Pathol*, 2010, 23, 1477–1485.
- Jeays-Ward K., Hoyle C., Brennan J., Dandonneau M., Alldus G., Capel B., Swain A., Endothelial and steroidogenic cell migration are regulated by WNT4 in the developing mammalian gonad. *Development*, 2003, 130, 3663–3670.
- John G.B., Gallardo T.D., Shirley L.J., Castrillon D.H., Foxo3 is a PI3K-dependent molecular switch controlling the initiation of oocyte growth. *Dev Biol*, 2008, 321, 197–204.
- Jordan B.K., Mohammed M., Ching S.T., Delot E., Chen X.N., Dewing P., Swain A., Rao P.N., Elejalde B.R., Vilain E., Up-regulation of WNT-4 signaling and dosage-sensitive sex reversal in humans. *Am J Hum Genet*, 2001, 68, 1102–1109.
- Joshi S., Davies H., Sims L.P., Levy S.E., Dean J., Ovarian gene expression in the absence of FIGLA, an oocyte-specific transcription factor. *BMC Dev Biol*, 2007, 7, 67.
- Jost A., Recherches sur la différenciation sexuelle de l'embryon de lapin. III Rôle des gonades fœtales dans la différenciation sexuelle somatique. *Arch Anat Micr Morph Expériment*, 1947, 36, 271–318.
- Jost A., A new look at the mechanisms controlling sex differentiation in mammals. *Johns Hopkins Med J*, 1972, 130, 38–53.
- Katahira J., Yoneda Y., Nucleocytoplasmic Transport of MicroRNAs and Related Small RNAs. *Traffic*, 2011, DOI: 10.1111/j.1600-0854.
- Katoh-Fukui Y., Tsuchiya R., Shiroishi T., Nakahara Y., Hashimoto N., Noguchi K., Higashinakagawa T., Male-to-female sex reversal in M33 mutant mice. *Nature*, 1998, 393, 688–692.
- Kim Y., Capel B., Balancing the bipotential gonad between alternative organ fates, a new perspective on an old problem. *Dev Dyn*, 2006, 235, 2292–2300.
- Kim J.W., Bak C.W., Chin M.U., Cha D.H., Yoon T.K., Shim S.H., SRY-negative 46, XX infertile male with Leydig cell hyperplasia, clinical, cytogenetic, and molecular analysis and review of the literature. *Fertil Steril*, 2010a, 94, 753 e755–759.
- Kim T., Sung C.O., Song S.Y., Bae D.S., Choi Y.L., FOXL2 mutation in granulosa-cell tumours of the ovary. *Histopathology*, 2010b, 56, 408–410.
- Kim J.H., Yoon S., Park M., Park H.O., Ko J.J., Lee K., Bae J., Differential apoptotic activities of wild-type FOXL2 and the adult-type granulosa cell tumor-associated mutant FOXL2 (C134W). *Oncogene*, 2011, 30, 1653–1663.
- Kneitz B., Cohen P.E., Avdievich E., Zhu L., Kane M.F., Hou H., Jr., Kolodner R.D., Kucherlapati R., Pollard J.W., Edelman W., MutS homolog 4 localization to meiotic chromosomes is required for chromosome pairing during meiosis in male and female mice. *Genes Dev*, 2000, 14, 1085–1097.
- Kocer A., Pinheiro I., Pannetier M., Renault L., Parma P., Radi O., Kim K.A., Camerino G., Pailhoux E., R-spondin1 and FOXL2 act into two distinct cellular types during goat ovarian differentiation. *BMC Dev Biol*, 2008, 8, 36.
- Koopman P., Gubbay J., Vivian N., Goodfellow P., Lovell-Badge R., Male development of chromosomally female mice transgenic for Sry. *Nature*, 1991, 351, 117–121.
- Koubova J., Menke D.B., Zhou Q., Capel B., Griswold M.D., Page D.C., Retinoic acid regulates sex-specific timing of

- meiotic initiation in mice. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103, 2474–2479.
- Kreidberg J.A., Sariola H., Loring J.M., Maeda M., Pelletier J., Housman D., Jaenisch R., WT-1 is required for early kidney development. *Cell*, 1993, 74, 679–691.
- Kumar S., Chatzi C., Brade T., Cunningham T.J., Zhao X., Duester G., Sex-specific timing of meiotic initiation is regulated by Cyp26b1 independent of retinoic acid signalling. *Nat Commun*, 2011, 2, 151.
- Kuramochi-Miyagawa S., Kimura T., Ijiri T.W., Isobe T., Asada N., Fujita Y., Ikawa M., Iwai N., Okabe M., Deng W., Lin H., Matsuda Y., Nakano T., Mili, a mammalian member of piwi family gene, is essential for spermatogenesis. *Development*, 2004, 131, 839–849.
- Kuramochi-Miyagawa S., Watanabe T., Gotoh K., Takamatsu K., Chuma S., Kojima-Kita K., Shiromoto Y., Asada N., Toyoda A., Fujiyama A., Totoki Y., Shibata T., Kimura T., Nakatsuji N., Noce T., Sasaki H., Nakano T., MVH in piRNA processing and gene silencing of retrotransposons. *Genes Dev*, 2010, 24, 887–892.
- Larsson S.H., Charlier J.P., Miyagawa K., Engelkamp D., Rassoulzadegan M., Ross A., Cuzin F., van Heyningen V., Hastie N.D., Subnuclear localization of WT1 in splicing or transcription factor domains is regulated by alternative splicing. *Cell*, 1995, 81, 391–401.
- Le Bouffant R., Guerquin M.J., Duquenne C., Frydman N., Coffigny H., Rouiller-Fabre V., Frydman R., Habert R., Livera G., Meiosis initiation in the human ovary requires intrinsic retinoic acid synthesis. *Hum Reprod*, 2010, 25, 2579–2590.
- Li H., Clagett-Dame M., Vitamin A deficiency blocks the initiation of meiosis of germ cells in the developing rat ovary *in vivo*. *Biol Reprod*, 2009, 81, 996–1001.
- Liang L., Soyal S.M., Dean J., FIGalpha, a germ cell specific transcription factor involved in the coordinate expression of the zona pellucida genes. *Development*, 1997, 124, 4939–4947.
- Libby B.J., De La Fuente R., O'Brien M.J., Wigglesworth K., Cobb J., Inselman A., Eaker S., Handel M.A., Eppig J.J., Schimenti J.C., The mouse meiotic mutation *meil* disrupts chromosome synapsis with sexually dimorphic consequences for meiotic progression. *Dev Biol*, 2002, 242, 174–187.
- Lin Y., Gill M.E., Koubova J., Page D.C., Germ cell-intrinsic and -extrinsic factors govern meiotic initiation in mouse embryos. *Science*, 2008, 322, 1685–1687.
- Lipkin S.M., Moens P.B., Wang V., Lenzi M., Shanmugarajah D., Gilgeous A., Thomas J., Cheng J., Touchman J.W., Green E.D., Schwartzberg P., Collins F.S., Cohen P.E., Meiotic arrest and aneuploidy in MLH3-deficient mice. *Nat Genet*, 2002, 31, 385–390.
- Liu K., Rajareddy S., Liu L., Jagarlamudi K., Boman K., Selstam G., Reddy P., Control of mammalian oocyte growth and early follicular development by the oocyte PI3 kinase pathway, new roles for an old timer. *Dev Biol*, 2006, 299, 1–11.
- Liu L., Rajareddy S., Reddy P., Du C., Jagarlamudi K., Shen Y., Gunnarsson D., Selstam G., Boman K., Liu K. Infertility caused by retardation of follicular development in mice with oocyte-specific expression of Foxo3a. *Development*, 2007, 134, 199–209.
- Lu J., Chang P., Richardson J.A., Gan L., Weiler H., Olson E.N., The basic helix-loop-helix transcription factor capsulin controls spleen organogenesis. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, 97, 9525–9530.
- Lu J.R., Bassel-Duby R., Hawkins A., Chang P., Valdez R., Wu H., Gan L., Shelton J.M., Richardson J.A., Olson E.N., Control of facial muscle development by MyoR and capsulin. *Science*, 2002, 298, 2378–2381.
- Luo X., Ikeda Y., Parker K.L., A cell-specific nuclear receptor is essential for adrenal and gonadal development and sexual differentiation. *Cell*, 1994, 77, 481–490.
- Luo X., Ikeda Y., Lala D.S., Baity L.A., Meade J.C., Parker K.L., A cell-specific nuclear receptor plays essential roles in adrenal and gonadal development. *Endocr Res*, 1995, 21, 517–524.
- Maatouk D.M., DiNapoli L., Alvers A., Parker K.L., Taketo M.M., Capel B., Stabilization of beta-catenin in XY gonads causes male-to-female sex-reversal. *Hum Mol Genet*, 2008, 17, 2949–2955.
- Mauléon P., Bézard J., Terqui M., Very early and transient 17 B-oestradiol secretion by fetal sheep ovary. *In vitro study*. *Ann Biol Anim Bioch Biophys*, 1977, 17, 399–401.
- McElreavey K., Vilain E., Abbas N., Herskowitz I., Fellous M., A regulatory cascade hypothesis for mammalian sex determination: SRY represses a negative regulator of male development. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1993, 90, 3368–3372.
- Menke D.B., Page D.C., Sexually dimorphic gene expression in the developing mouse gonad. *Gene Expr Patterns*, 2002, 2, 359–367.
- Menke A.L., van der Eb A.J., Jochemsen A.G., The Wilms' tumor 1 gene, oncogene or tumor suppressor gene? *Int Rev Cytol*, 1998, 181, 151–212.
- Menke D.B., Koubova J., Page D.C., Sexual differentiation of germ cells in XX mouse gonads occurs in an anterior-to-posterior wave. *Dev Biol*, 2003, 262, 303–312.
- Miyamoto N., Yoshida M., Kuratani S., Matsuo I., Aizawa S., Defects of urogenital development in mice lacking *Emx2*. *Development*, 1997, 124, 1653–1664.
- Nakamura M., The mechanism of sex determination in vertebrates-are sex steroids the key-factor? *J Exp Zool A Ecol Genet Physiol*, 2010, 313, 381–398.
- Nef S., Schaad O., Stallings N.R., Cederroth C.R., Pitetti J.L., Schaer G., Malki S., Dubois-Dauphin M., Boizet-Bonhoure B., Descombes P., Parker K.L., Vassalli J.D., Gene expression during sex determination reveals a robust female genetic program at the onset of ovarian development. *Dev Biol*, 2005, 287, 361–377.
- Ottolenghi C., Pelosi E., Tran J., Colombino M., Douglass E., Nedorezov T., Cao A., Forabosco A., Schlessinger D.,

- Loss of Wnt4 and Foxl2 leads to female-to-male sex reversal extending to germ cells. *Hum Mol Genet*, 2007, 16, 2795–2804.
- Oulad-Abdelghani M., Bouillet P., Decimo D., Gansmuller A., Heyberger S., Dolle P., Bronner S., Lutz Y., Chambon P., Characterization of a premeiotic germ cell-specific cytoplasmic protein encoded by Stra8, a novel retinoic acid-responsive gene. *J Cell Biol*, 1996, 135, 469–477.
- Pailhoux E., Parma P., Sundstrom J., Vigier B., Serval N., Kuopio T., Locatelli A., Pelliniemi L.J., Cotinot C., Time course of female-to-male sex reversal in 38 XX fetal and postnatal pigs. *Dev Dyn*, 2001, 222, 328–340.
- Pangas S.A., Choi Y., Ballow D.J., Zhao Y., Westphal H., Matzuk M.M., Rajkovic A., Oogenesis requires germ cell-specific transcriptional regulators Sohlh1 and Lhx8. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103, 8090–8095.
- Pannetier M., Fabre S., Batista F., Kocer A., Renault L., Jolivet G., Mandon-Pépin B., Cotinot C., Veitia R., Pailhoux E., FOXL2 activates P450 aromatase gene transcription, towards a better characterization of the early steps of mammalian ovarian development. *J Mol Endocrinol*, 2006, 36, 399–413.
- Pannetier M., Pailhoux E., FOXL2, the gatekeeper of ovarian identity. *Med Sci (Paris)*, 2010, 26, 470–473.
- Parma P., Radi O., Vidal V., Chaboissier M.C., Dellambra E., Valentini S., Guerra L., Schedl A., Camerino G., R-spondin1 is essential in sex determination, skin differentiation and malignancy. *Nat Genet*, 2006, 38, 1304–1309.
- Payen E., Pailhoux E., Abou Merhi R., Gianquinto L., Kirszenbaum M., Locatelli A., Cotinot C., Characterization of ovine SRY transcript and developmental expression of genes involved in sexual differentiation. *Int J Dev Biol*, 1996, 40, 567–575.
- Pazin D.E., Albrecht K.H., Developmental expression of Smoc1 and Smoc2 suggests potential roles in fetal gonad and reproductive tract differentiation. *Dev Dyn*, 2009, 238, 2877–2890.
- Pittman D.L., Cobb J., Schimenti K.J., Wilson L.A., Cooper D.M., Brignull E., Handel M.A., Schimenti J.C., Meiotic prophase arrest with failure of chromosome synapsis in mice deficient for Dmc1, a germline-specific RecA homolog. *Mol Cell*, 1998, 1, 697–705.
- Quaggin S.E., Schwartz L., Cui S., Igarashi P., Deimling J., Post M., Rossant J., The basic-helix-loop-helix protein pod1 is critically important for kidney and lung organogenesis. *Development*, 1999, 126, 5771–5783.
- Rajkovic A., Pangas S.A., Ballow D., Suzumori N., Matzuk M.M., NOBOX deficiency disrupts early folliculogenesis and oocyte-specific gene expression. *Science*, 2004, 305, 1157–1159.
- Reddy P., Liu L., Adhikari D., Jagarlamudi K., Rajareddy S., Shen Y., Du C., Tang W., Hamalainen T., Peng S.L., Lan Z.J., Cooney A.J., Huhtaniemi I., Liu K., Oocyte-specific deletion of Pten causes premature activation of the primordial follicle pool. *Science*, 2008, 319, 611–613.
- Reynolds N., Collier B., Bingham V., Gray N.K., Cooke H.J., Translation of the synaptonemal complex component Sycp3 is enhanced *in vivo* by the germ cell specific regulator Dazl. *RNA*, 2007, 13, 974–981.
- Romanienko P.J., Camerini-Otero R.D., The mouse Spo11 gene is required for meiotic chromosome synapsis. *Mol Cell*, 2000, 6, 975–987.
- Sadovsky Y., Crawford P.A., Woodson K.G., Polish J.A., Clements M.A., Tourtellotte L.M., Simburger K., Milbrandt J., Mice deficient in the orphan receptor steroidogenic factor 1 lack adrenal glands and gonads but express P450 side-chain-cleavage enzyme in the placenta and have normal embryonic serum levels of corticosteroids. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1995, 92, 10939–10943.
- Sasaki T., Shiohama A., Minoshima S., Shimizu N., Identification of eight members of the Argonaute family in the human genome small star, filled. *Genomics*, 2003, 82, 323–330.
- Sawyer H.R., Smith P., Heath D.A., Juengel J.L., Wakefield S.J., McNatty K.P., Formation of ovarian follicles during fetal development in sheep. *Biol Reprod*, 2002, 66, 1134–1150.
- Schmidt D., Ovitt C.E., Anlag K., Fehsenfeld S., Gredsted L., Treier A.C., Treier M., The murine winged-helix transcription factor Foxl2 is required for granulosa cell differentiation and ovary maintenance. *Development*, 2004, 131, 933–942.
- Sekido R., Lovell-Badge R., Sex determination involves synergistic action of SRY and SF1 on a specific Sox9 enhancer. *Nature*, 2008, 453, 930–934.
- Sekido R., Bar I., Narvaez V., Penny G., Lovell-Badge R., SOX9 is up-regulated by the transient expression of SRY specifically in Sertoli cell precursors. *Dev Biol*, 2004, 274, 271–279.
- Shawlot W., Behringer R.R., Requirement for Lim1 in head-organizer function. *Nature*, 1995, 374, 425–430.
- Schibler L., Cribiu E.P., Oustry-Vaiman A., Furet J.P., Vaiman D., Fine mapping suggests that the goat Polled Intersex Syndrome and the human Blepharophimosis Ptosis Epicanthus Syndrome map to a 100-kb homologous region. *Genome Res*, 2000, 10, 311–318.
- Sinclair A., Smith C., Females battle to suppress their inner male. *Cell*, 2009, 139, 1051–1053.
- Sinclair A.H., Berta P., Palmer M.S., Hawkins J.R., Griffiths B.L., Smith M.J., Foster J.W., Frischauf A.M., Lovell-Badge R., Goodfellow P.N., A gene from the human sex-determining region encodes a protein with homology to a conserved DNA-binding motif. *Nature*, 1990, 346, 240–244.
- Skrzypczak J., Pisarski T., Biczysko W., Kedzia H., Evaluation of germ cells development in gonads of human fetuses and newborns. *Folia Histochem Cytochem (Krakow)*, 1981, 19, 17–24.
- Smith C.A., Roeszler K.N., Bowles J., Koopman P., Sinclair A.H., Onset of meiosis in the chicken embryo, evidence of a role for retinoic acid. *BMC Dev Biol*, 2008a, 8, 85.

- Smith C.A., Shoemaker C.M., Roeszler K.N., Queen J., Crews D., Sinclair A.H., Cloning and expression of R-Spondin1 in different vertebrates suggests a conserved role in ovarian development. *BMC Dev Biol*, 2008b, 8, 72.
- Soper S.F., van der Heijden G.W., Hardiman T.C., Goodheart M., Martin S.L., de Boer P., Bortvin A., Mouse maelstrom, a component of nuage, is essential for spermatogenesis and transposon repression in meiosis. *Dev Cell*, 2008, 15, 285–297.
- Soyal S.M., Amleh A., Dean J., FIGalpha, a germ cell-specific transcription factor required for ovarian follicle formation. *Development*, 2000, 127, 4645–4654.
- Suzuki A., Saga Y., Nanos2 suppresses meiosis and promotes male germ cell differentiation. *Genes Dev*, 2008, 22, 430–435.
- Swain A, Lovell-Badge R., Mammalian sex determination, a molecular drama. *Genes Dev*, 1999, 13, 755–767.
- Torley K.J., da Silveira J.C., Smith P., Anthony R.V., Veeramachaneni D.N., Winger Q.A., Bouma G.J. Expression of miRNAs in ovine fetal gonads, potential role in gonadal differentiation. *Reprod Biol Endocrinol*, 2011, 9, 2.
- Tripurani S.K., Lee K.B., Wee G., Smith G.W., Yao J. MicroRNA-196a regulates bovine newborn ovary homeobox gene (NOBOX) expression during early embryogenesis. *BMC Dev Biol*, 11, 25.
- Trombly D.J., Woodruff T.K., Mayo K.E. Suppression of Notch signaling in the neonatal mouse ovary decreases primordial follicle formation. *Endocrinology*, 2009, 150, 1014–1024.
- Tsuzuki T., Fujii Y., Sakumi K., Tominaga Y., Nakao K., Sekiguchi M., Matsushiro A., Yoshimura Y., Morita T. Targeted disruption of the Rad51 gene leads to lethality in embryonic mice. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1996, 93, 6236–6240.
- Uda M., Ottolenghi C., Crisponi L., Garcia J.E., Deiana M., Kimber W., Forabosco A., Cao A., Schlessinger D., Pilia G., Foxl2 disruption causes mouse ovarian failure by pervasive blockage of follicle development. *Hum Mol Genet*, 2004, 13, 1171–1181.
- Uhlenhaut N.H., Jakob S., Anlag K., Eisenberger T., Sekido R., Kress J., Treier A.C., Klugmann C., Klasen C., Holter N.I., Riethmacher D., Schutz G., Cooney A.J., Lovell-Badge R., Treier M., Somatic sex reprogramming of adult ovaries to testes by FOXL2 ablation. *Cell*, 2009, 139, 1130–1142.
- Vaiman D., Pailhoux E., Mammalian sex reversal and intersexuality, deciphering the sex-determination cascade. *Trends Genet*, 2000, 16, 488–494.
- Vainio S., Heikkila M., Kispert A., Chin N., McMahon A.P., Female development in mammals is regulated by Wnt-4 signalling. *Nature*, 1999, 397, 405–409.
- Veitia R.A., FOXL2 versus SOX9, a lifelong “battle of the sexes”. *Bioessays*, 2010, 32, 375–380.
- Vizziano-Cantonnet D., Baron D., Mahé S., Cauty C., Fostier A., Guiguen Y., Estrogen treatment up-regulates female genes but does not suppress all early testicular markers during rainbow trout male-to-female gonadal transdifferentiation. *J Mol Endocrinol*, 2008, 41, 277–288.
- Wallacides A., Chesnel A., Chardard D., Flament S., Dumond H., Evidence for a conserved role of retinoic acid in urodele amphibian meiosis onset. *Dev Dyn*, 2009, 238, 1389–1398.
- Watanabe T., Takeda A., Tsukiyama T., Mise K., Okuno T., Sasaki H., Minami N., Imai H., Identification and characterization of two novel classes of small RNAs in the mouse germline, retrotransposon-derived siRNAs in oocytes and germline small RNAs in testes. *Genes Dev*, 2006, 20, 1732–1743.
- Watanabe T., Totoki Y., Toyoda A., Kaneda M., Kuramochi-Miyagawa S., Obata Y., Chiba H., Kohara Y., Kono T., Nakano T., Surani M.A., Sakaki Y., Sasaki H., Endogenous siRNAs from naturally formed dsRNAs regulate transcripts in mouse oocytes. *Nature*, 2008, 453, 539–543.
- Wilhelm D., Englert C., The Wilms tumor suppressor WT1 regulates early gonad development by activation of Sfl. *Genes Dev*, 2002, 16, 1839–1851.
- Yang F., Eckardt S., Leu N.A., McLaughlin K.J., Wang P.J., Mouse TEX15 is essential for DNA double-strand break repair and chromosomal synapsis during male meiosis. *J Cell Biol*, 2008, 180, 673–679.
- Yao H.H., Matzuk M.M., Jorgez C.J., Menke D.B., Page D.C., Swain A., Capel B., Follistatin operates downstream of Wnt4 in mammalian ovary organogenesis. *Dev Dyn*, 2004, 230, 210–215.
- Yoshida H., Takakura N., Kataoka H., Kunisada T., Okamura H., Nishikawa S.I., Stepwise requirement of c-kit tyrosine kinase in mouse ovarian follicle development. *Dev Biol*, 1997, 184, 122–137.
- Yoshida K., Kondoh G., Matsuda Y., Habu T., Nishimune Y., Morita T., The mouse RecA-like gene Dmc1 is required for homologous chromosome synapsis during meiosis. *Mol Cell*, 1998, 1, 707–718.
- Yoshino O., McMahon H.E., Sharma S., Shimasaki S., A unique preovulatory expression pattern plays a key role in the physiological functions of BMP-15 in the mouse. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103, 10678–10683.
- Yuan L., Liu J.G., Hoja M.R., Wilbertz J., Nordqvist K., Hoog C., Female germ cell aneuploidy and embryo death in mice lacking the meiosis-specific protein SCP3. *Science*, 2002, 296, 1115–1118.
- Zheng K., Xiol J., Reuter M., Eckardt S., Leu N.A., McLaughlin K.J., Stark A., Sachidanandam R., Pillai R.S., Wang P.J., Mouse MOV10L1 associates with Piwi proteins and is an essential component of the Piwi-interacting RNA (piRNA) pathway. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107, 11841–11846.