

文章编号: 1004-0374(2009)02-0307-05

## 卵母细胞成熟发生机制的研究进展

陈涛, 曹鸿国, 张卫琴, 赵桂香, 薛奕杰, 张育军, 章孝荣\*

(安徽农业大学动物科技学院, 合肥 230036)

**摘要:** 卵母细胞体外成熟培养已成为现代胚胎生物技术的重要内容之一, 是体外受精、核移植等生物技术的重要环节。卵母细胞体外成熟受到众多因素的调控, 其调控机制十分复杂。本文主要针对卵母细胞成熟过程中卵母细胞胞质成熟、核成熟及其主要调控因子等方面的发展机制进行总结。

**关键词:** 卵母细胞; 成熟; 发生机制

**中图分类号:** Q492.5; Q954.43 **文献标识码:** A

## Research progresses on the genesis mechanism of mammalian oocyte maturation

CHEN Tao, CAO Hong-guo, ZHANG Wei-qin, ZHAO Gui-xiang,

XUE Yi-jie, ZHANG Yu-jun, ZHANG Xiao-rong\*

(College of Animal Science and Technology, Anhui Agricultural University, Hefei 230036, China)

**Abstract:** *In vitro* maturation (IVM) of oocytes has become one of important aspects of modern embryo biotechnology. It is also a significant component for fertilization *in vitro*, nuclear transfer, and other biotechnology. *In vitro* maturation of oocytes is controlled by many factors and the regulatory mechanism is very complex. This article mainly summarizes the development of mechanisms for mature oocytes in the process of oocyte cytoplasm mature, nucleus mature and its main regulators in areas.

**Key words:** oocyte; maturation; genesis mechanism

卵母细胞体外成熟 (*in vitro* maturation, IVM) 是指从卵巢中获取未成熟卵, 经过适宜的体外培养条件, 卵母细胞发育成熟并具有受精和胚胎发育能力<sup>[1]</sup>。哺乳动物卵母细胞体外成熟质量对卵母细胞的激活、受精及其后继的胚胎发育均有重要影响。因此, 对于卵母细胞成熟过程发生机理的深入了解和掌握, 对提高卵母细胞成熟质量将发挥关键作用。卵母细胞的成熟包括胞质成熟和胞核成熟, 在卵母细胞成熟过程中卵母细胞内经历了一系列形态和生化变化, 并逐步发育成熟。

### 1 卵母细胞胞质成熟

目前, 通常以第一极体排出作为卵母细胞核成熟的标志。在卵母细胞核成熟的过程中卵母细胞质也在经历着成熟的变化<sup>[2]</sup>。卵母细胞的胞质成熟质量对受精和胚胎发育起着决定性的作用<sup>[3]</sup>, 卵母细

胞质中线粒体和皮质颗粒的变化是目前卵母细胞质成熟的研究重点和重要反映指标。

**1.1 线粒体的变化** 卵母细胞中含有丰富的线粒体<sup>[4]</sup>, 线粒体的活化与重组影响着卵母细胞的胞质成熟<sup>[5]</sup>, 线粒体的成熟状况决定着卵母细胞发育成熟质量、受精成功等关键环节<sup>[6]</sup>。线粒体在大部分未成熟卵子的细胞质中呈现周边分布, 线粒体簇较小, 在卵母细胞成熟过程中, 线粒体数量增加, 并且从胞质皮质部向胞质内部发生迁移<sup>[7]</sup>。IVM 后, 线粒体簇变大, 着色变深, 发育潜能较高的卵子的线粒体在细胞质中多呈均匀分布, 发育潜能较低的卵子中,

收稿日期: 2008-10-09; 修回日期: 2008-12-16

基金项目: 安徽省2008年度科技攻关计划重大科技专项(08010301066)

\*通讯作者 Tel: 0551-5786309; E-mail: zxr7652@163.com

线粒体仍维持周边分布<sup>[8]</sup>。线粒体缺乏在胞质中的重新分布是胞质未成熟的标志,与卵子较低的发育潜能密切相关<sup>[9]</sup>。卵母细胞发育过程中线粒体外迁和增殖,为卵母细胞和卵丘细胞的物质交换提供能量物质,定量研究发现在发育充分的卵母细胞中线粒体 DNA 复制在生殖泡期已经完成<sup>[10]</sup>。另外,Combelles和Albertini<sup>[11]</sup>研究发现,线粒体的分布是胞质区室化一个较容易观察的指标,胞质区室化在卵母细胞细胞核和胞质同步成熟方面发挥重要作用。

**1.2 皮质颗粒(cortical granules, CGs)的变化** CGs在胞质中的分布随卵母细胞的生长发育呈现明显的变化,合成初期散布于胞质中,之后逐渐向皮质层迁移,排卵前呈单层排列于细胞膜下,卵母细胞活化后皮质颗粒明显减少<sup>[12]</sup>。在即将排卵的成熟卵母细胞中,皮质颗粒分布于皮质区,邻近质膜处最多。当 CGs 位于卵母细胞皮质下则为胞质成熟,位于中部或由中部向边缘迁移则为胞质未成熟<sup>[13]</sup>。CGs 的合成和迁移因物种不同而异,小鼠卵泡生长之初 CGs 开始合成,而人的则开始于已有数层卵丘细胞包绕的卵母细胞。随着卵母细胞的成熟,CGs 逐渐向细胞的皮质区迁移,当卵母细胞成熟时,CGs 沿质膜呈线状排列<sup>[14]</sup>。微丝驱动着 CGs 的迁移,但当 CGs 定位于皮质层时不再受微丝的作用<sup>[15]</sup>。由于皮质颗粒的分布特性,目前,卵母细胞成熟过程中 CGs 的分布被作为衡量胞质成熟的指标<sup>[16]</sup>。CGs 是卵母细胞特有的一个细胞器,它对保证单精受精和胚胎正常发育有着重要作用<sup>[17]</sup>。侯绍英等<sup>[18]</sup>研究发现,巯基乙酸能够抑制 CGs 的迁移,影响小鼠卵母细胞胞质成熟,从而导致受精时无法实现正常 CGs 胞吐,造成受精后胚胎发育异常。

## 2 卵母细胞核成熟

卵母细胞核成熟早于胞质成熟,研究核成熟对于提高卵母细胞质量意义重大。卵母细胞在进行减数分裂时,细胞核膜破裂,rRNA 合成停止,核仁发生致密化,核内物质与胞质混合,形成生发泡破裂(germinal vesicle breakdown, GVBD)。GVBD 发生后,染色体凝聚并排列在赤道板上,排出第一极体,直接进入第二次减数分裂并停滞在 M II 期<sup>[19]</sup>,显示卵母细胞核已经成熟。目前,生发泡破裂和第一极体排出是卵母细胞核成熟的标志。Watson<sup>[20]</sup>研究发现体内成熟的卵母细胞发育形成的胚胎比体外成熟的卵母细胞具有更强的发育能力,主要原因是

体外培养的卵母细胞核成熟与胞质成熟不同步,在卵胞质积累发育必要的因子达到完全成熟之前卵母细胞核已经成熟。因此,通过抑制 GVBD 来阻滞卵母细胞减数分裂进程是促进胞质成熟和核质发育同步化的一条有效途径<sup>[21]</sup>。腺苷酸环化酶 cAMP 及其类似物双丁酰基腺苷酸环化酶 dbcAMP、磷酸二酯酶的抑制物等,均能抑制 GVBD 的发生,dbcAMP 在卵母细胞体外成熟研究中常代替 cAMP<sup>[22]</sup>。目前,卵母细胞核成熟的抑制剂主要有异丁基甲基黄嘌呤(isobutylmethylxanthine, IBMX)、次黄嘌呤(hypoxanthine, HX)和二丁基环一磷酸腺苷(dibutyryl cyclic AMP, dbcAMP)。除了直接提高 cAMP 的浓度外,在培养基中联合添加 IBMX 或次黄嘌呤间接达到提高 cAMP 浓度的目的<sup>[21]</sup>。IBMX 是一种磷酸二酯酶抑制剂,它通过减少 cAMP 的降解提高 cAMP 浓度, HX 则通过防止卵母细胞内 cAMP 水平降至抑制阈值以下来完成。周红林等<sup>[23]</sup>用 Hx+dbcAMP 或 IBMX+dbcAMP 联合抑制,可使 60% 以上的绵羊卵母细胞抑制在 GV 期,并在去除抑制剂后卵母细胞恢复减数分裂,加快由 GVBD 到 M II 的成熟过程<sup>[23]</sup>。

磷酸二酯酶3(phosphodiesterase, PDE3)特异性抑制剂米力农(milrinone)能阻止 cAMP 的降解,用其处理牛、羊、小鼠、短尾猿及人的卵母细胞,结果均导致胞质 cAMP 的积聚,卵母细胞减数分裂的自发恢复受阻,延迟了卵母细胞的核成熟,从而有利于核质成熟的同步化,其机理可能在于 cAMP 是细胞周期蛋白激酶 p34cdc2 激酶的翻译后调控因子,抑制了 p34cdc2 的磷酸化。当卵母细胞内 cAMP 水平下降时, cAMP 依赖蛋白激酶活性下降,细胞内磷酸化与去磷酸化水平发生相应的改变,激活酪氨酸磷酸酶,催化 p34cdc2 发生去磷酸化,成为有活性的激酶,进而使多种蛋白质发生磷酸化。这些物质分别在转录和翻译水平上控制减数分裂周期,影响微丝的排列与重组、中间丝的组合、核的重排等,进而使卵母细胞恢复减数分裂<sup>[24]</sup>。马利兵等<sup>[25]</sup>在成熟培养液中添加适当剂量的米力农能显著提高体外成熟的山羊卵母细胞的质量及孤雌激活后的卵裂率和囊胚率。Kim 等<sup>[26]</sup>用 dbcAMP 处理猪未成熟的卵母细胞,经过 22h 成熟后,成熟率达 91.3%,并在 IVF 后显著减少了多精入卵,囊胚发育率增高。另外,蛋白激酶 A 能够激活外源性 dbcAMP,使大多数卵母细胞处于 GV 期,促使卵母细胞减数分裂同步开始,增强线粒体膜潜力和降低胚胎细胞

凋亡,提高卵母细胞质量和发育潜力。Jensen等<sup>[27]</sup>给恒河猴规律性饲喂掺有磷酸二脂酶抑制剂ORG9935的食物,发现ORG9935对恒河猴优势卵泡的成熟具有抑制作用。Shu等<sup>[28]</sup>在体外培养时用PDE3选择性抑制剂西洛酰胺和佛司可林联合处理人未成熟卵母细胞,两者对卵母细胞的核成熟具有很好的抑制作用。

### 3 G蛋白及其偶联受体介导的信号通路

在卵母细胞成熟过程中G蛋白偶联受体介导的信号通路起着重要作用。在研究信号传递时特指与细胞表面受体偶联的异三聚体G蛋白(heterotrimeric GTP binding protein),存在于卵母细胞膜上,具有GTP酶的活性,即可以把GTP水解成GDP和无机磷酸。G蛋白由 $\alpha$ 、 $\beta$ 、 $\gamma$ 三种亚基组成。卵母细胞减数分裂过程中,信使与G蛋白偶联受体3(Gs-protein-coupling receptor 3, GPR3)结合后导致受体构象改变,受体与Gs在膜上扩散形成受体-Gs复合体后,Gs $\alpha$ 亚基构象改变,结合了GTP而活化, $\alpha$ 亚基从而与 $\beta\gamma$ 亚基解离,同时暴露出与环化酶结合位点; $\alpha$ 亚基与环化酶结合而使后者活化,利用ATP生成cAMP,维持减数分裂阻滞<sup>[29]</sup>。cAMP产生后,G蛋白受体与依赖cAMP的蛋白激酶(PKA)的调节亚基结合,通过磷酸化GPR3下调其活性,使cAMP钝化或下降,促进卵母细胞成熟。Komatsu等<sup>[30]</sup>认为卵丘细胞膜上存在一种Gi/o蛋白偶联的溶血磷脂酸受体,溶血磷脂酸与该受体结合后,通过Gi/o蛋白活化磷脂酶C,经磷脂酰肌醇信号通路激活蛋白激酶C,并进一步作用于细胞外信号调节激酶(ERK)和p38丝裂原活化蛋白激酶,导致卵母细胞内cAMP水平下降,促进卵母细胞成熟。

### 4 细胞因子与卵母细胞成熟

卵母细胞成熟过程是一个多种因素相互协调作用的过程,研究发现细胞因子在卵母细胞的成熟过程中发挥着重要的调节作用<sup>[31]</sup>,其中,卵母细胞成熟促进因子(maturation promoting factor, MPF)、细胞静止因子(cytostatic factor, CSF)和卵母细胞成熟抑制因子(oocyte maturation inhibitor, OMI)等是目前在卵母细胞成熟过程中发挥关键作用的细胞因子。

**4.1 成熟促进因子** 1971年,在非洲爪蟾卵细胞质中发现有一种物质可以诱导卵母细胞成熟,这种活性物质被称为MPF,又称作细胞促分裂因子(mitosis-promoting factor)或M期促进因子(M phase-promoting factor)<sup>[32]</sup>。MPF的活性对于启动减数分

裂,维持减数分裂中期的休止以及促使MI向MII的转变均具有重要作用。MPF由催化亚单位P34cdc2和调节亚单位cyclin组成,由M期Cyclin-Cdk(Cyclin-dependent protein kinase)周期蛋白依赖性激酶和周期蛋白形成的复合物,MPF=p34cdc2+cyclinB/A。在真核生物中,MPF是细胞周期进程中调节减数分裂的重要细胞因子<sup>[33]</sup>。p34cdc2具有蛋白激酶活性,能使多种蛋白质底物丝氨酸/苏氨酸磷酸化。cyclin B是MPF的调节单位,其表达因细胞周期而变化,从而调节MPF的活性<sup>[34]</sup>。从卵泡中获得的卵母细胞,卵母细胞内的MPF水平很低,大部分处于G<sub>2</sub>期向M期转变的生发泡期,在卵母细胞成熟过程中,两次减数分裂转变过程会伴随MPF活性的下降<sup>[35]</sup>。MPF的催化亚单位为p34cdc2,其活性受丝裂原活化蛋白激酶(mitogen activated protein kinase, MAPK)的调控,MAPK是cAMP的下游因子,对磷酸酯酶Cdc25和蛋白激酶WEE1/MYT1起调节作用<sup>[26]</sup>。另外,MAPK也可能通过磷酸化cyclin B使其向卵母细胞核内转移,促进MPF活化和G<sub>2</sub>/M转化<sup>[36]</sup>。目前MAPK的激活物除了蛋白激酶外,人们对原癌基因的研究较深入。原癌基因是细胞基因组的正常成分,其编码的产物多为细胞因子受体、核内蛋白质等一类同细胞信号传递有关的蛋白,与细胞的增殖分化和信息传递等有密切关系。Zheng等<sup>[37]</sup>探讨了原癌基因c-erbB2和c-myb对小鼠卵母细胞成熟的影响,及其在调控卵母细胞成熟中与MAPK和MPF的上下游关系,推测了c-erbB2和c-myb可能均为MAPK和MPF的上游激活因子。因此,MPF在卵母细胞成熟过程中调节活性的发挥受MAPK和一些原癌基因的调控<sup>[38]</sup>。

**4.2 细胞静止因子** CSF最初是在未受精青蛙的卵母细胞中发现,CSF在卵母细胞质中维持周期素(cyclin)的磷酸化,使它不被降解,保持M期蛋白激酶活性,使卵母细胞停滞于M期<sup>[39]</sup>。CSF的组成成分内源性减数分裂抑制因子2(endogenous meiotic inhibitor 2,Emi2)是卵母细胞减数分裂过程中高水平MPF的一种促有丝分裂后期复合体(anaphase-promoting complex/cyclosome,APC/C)抑制因子,Emi2在第一次减数分裂期末开始合成,通过抑制APC/C活性使cyclin B发生不完全降解,促进MI/MII转变<sup>[40]</sup>。大多数哺乳动物的卵母细胞成熟至第二次减数分裂中期时就处于停止状态,主要是由于CSF在发挥关键作用,从而使卵母细胞停止于第二

次减数分裂中期而不发生退化。另外, CSF 对  $\text{Ca}^{2+}$  反应敏感, 当精子发生顶体反应后, CSF 的活性随着卵母细胞的受精而消失, MPF 恢复其活性, 卵母细胞继续发育<sup>[41]</sup>。

**4.3 成熟抑制因子** 卵母细胞成熟抑制因子是由卵细胞周围的颗粒细胞所分泌, 参与卵母细胞成熟过程的调节<sup>[42]</sup>。国内外学者先后在猪、牛和鼠卵泡液中分离获得了卵母细胞减数分裂抑制因子, 推测其可能是一种相对分子质量为 35 000 的糖蛋白, 化学特性尚未明了。体外试验证明, OMI 能抑制卵子成熟, 体外成熟培养初期, 颗粒细胞分泌的 OMI 浓度相对较低, 尚不能抑制成熟分裂。在 OMI 未达到阈值浓度时, 卵母细胞的成熟分裂已启动<sup>[24]</sup>。在体内, OMI 通过卵丘细胞介导抑制垂体释放卵泡生成激素。颗粒细胞分泌 OMI 通过卵丘细胞与卵母细胞的间隙连接(Gap-function)对卵母细胞发挥作用, 卵丘细胞存在时, 激活环腺苷酸环化酶, 阻止卵母细胞成熟分裂。另外, 激活素促进卵母细胞的成熟可能是通过使 OMI 失活而发挥作用。

卵母细胞的成熟是一个复杂的动态过程, 通过对卵母细胞成熟机制的深入了解和掌握, 才能更好地利用卵母细胞成熟的规律为现代胚胎生物工程的发展服务。目前, 众多的实验室在体外成熟-体外受精-体外培养及体细胞核移植等方面取得了成功, 但与体内成熟卵母细胞相比, 体外成熟的卵母细胞存在着受精率、卵裂率、囊胚发育率较低, 囊胚细胞数较少, 细胞质量差等问题。所以, 通过对卵母细胞成熟机理的深入了解, 卵母细胞的体外成熟体系将会更加完善, 它必将推动核移植、转基因、人类辅助生殖等的迅速发展。

### [参 考 文 献]

- [1] 邓晓惠. 生殖医学技术及彩色图谱[M]. 山东: 山东科学技术出版社, 2004: 93-4
- [2] 李永海, 刘瑞华, 焦丽红, 等. 哺乳动物卵母细胞核质成熟的差异及其影响因素. 农业生物技术学报, 2003, 11(1): 94-100
- [3] 张晓华, 王克钦. 体外培养牛卵母细胞的核成熟与质成熟. 黑龙江动物繁殖, 2007, 15(3): 15-7
- [4] Cummins J. The role of mitochondria in the establishment of oocytes: function competence. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol, 2004, 115(1): S23-9
- [5] Dumollard R, Hammar K, Porterfield M, et al. Mitochondrial respiration and  $\text{Ca}^{2+}$  waves are linked during fertilization and meiosis completion. Development, 2003, 130(4): 683-92
- [6] Thompson JG, McGowan LT, Tervit HR. Effect of inhibitors and uncouplers of oxidative phosphorylation during compaction and blastulation of bovine embryos culture *in vitro*. J Reprod Fertil, 2000, 118: 47-55
- [7] Poulton J, Marchington DR. Segregation of mitochondrial DNA(mt DNA) in human oocytes and in animal models of mtDNA disease: clinical implications. Reproduction, 2002, 123(6): 751-5
- [8] 陈颖, 何方方, 王增艳, 等. 激活素-抑制素-卵泡抑素系统对小鼠卵母细胞体外成熟及早期胚胎发育潜能的影响机制. 生殖与避孕, 2008, 28(3): 134-9
- [9] Bavister BD, Squirrell JM. Mitochondrial distribution and function in oocytes and early embryos. Hum Reprod, 2000, 15(2): 189-98
- [10] Salamone DF, Damiani P, Fissore RA, et al. Biochemical and developmental evidence that ooplasmic maturation of prepubertal bovine oocytes is compromised. Biol Reprod, 2001, 64(6): 1761
- [11] Combelles CMH, Albertini DF. Microtubule patterning during meiotic maturation in mouse oocytes is determined by cell cycle-specific sorting and redistribution of gamma-tubulin. Dev Biol, 2001, 239(2): 281-94
- [12] Carneiro GF, Iiu IKM, Hyde D, et al. Quantification and distribution of equine oocyte cortical granules during meiotic maturation and after activation. Mol Reprod Dev, 2002, 63(4): 451-8
- [13] Cao X, Zhou P, Luo HL, et al. The effect of VEGF on the temporal-spatial change of alpha-tubulin and cortical granules of ovine oocytes matured *in vitro*. Anim Reprod Sci, 2008, 12. [Epub ahead of print]
- [14] Liu M, Sims D, Calarco P, et al. Biochemical heterogeneity, migration, and pre-fertilization release of mouse oocyte cortical granules. Reprod Biol Endocrinol, 2003, 7(1): 77-87
- [15] Sun QY, Lai LX, Park KW, et al. Dynamic events are differently mediated by microfilaments, microtubules, and mitogen-activated protein kinase during porcine oocyte maturation and fertilization *in vitro*. Biol Reprod, 2001, 64(3): 879-89
- [16] Miao YL, Shi LH, Lei ZL, et al. Effects of caffeine on *in vivo* and *in vitro* oocyte maturation in mice. Theriogenology, 2007, 68(4): 640-65
- [17] Wassarman PM, Jovine L, Litscher ES. A profile of fertilization in mammals. Nat Cell Biol, 2001, 3(2): 59-64
- [18] 侯绍英, 张岭, 吴坤, 等. 巯基乙酸对小鼠成熟卵母细胞皮质颗粒分布和 MAPK 活性的影响. 疾病控制杂志, 2008, 20(2): 107-9
- [19] Thompson JG. Oocyte maturation: emerging concepts and technologies to improve developmental potential *in vitro*. Theriogenology, 2007, 67(1): 6-15
- [20] Watson AJ. Oocyte cytoplasmic maturation: a key mediator of oocyte and embryo developmental competence. J Anim Sci, 2007, 85(13): E1-3
- [21] Thomas RE, Thompson JG, Armstrong DT, et al. Effect of specific phosphodiesterase isoenzyme inhibitors during *in vitro* maturation of bovine oocytes on meiotic and developmental capacity. Biol Reprod, 2004, 71(4): 1142-9
- [22] Tremoleda JJ, Tharanit T, Van Tol HT, et al. Effects of follicular cells and FSH on the resumption of meiosis in equine oocytes matured *in vitro*. Reproduction, 2003, 125(4): 565-70

- [23] 周红林, 马峻, 季维智. 绵羊卵母细胞体外核成熟抑制及其对胚胎发育潜力的影响. 动物学报, 2002, 48(6): 741-8
- [24] 陈大元. 受精生物学-受精机制与生殖工程[M]. 北京: 科学出版社, 2000
- [25] 马利兵, 华松, 曹俊伟, 等. 磷酸二酯酶(PDE3)抑制剂米力农对山羊卵母细胞体外成熟及孤雌胚发育的影响. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2007, 35(2): 6-9
- [26] Kim J, Cho Y, Song B, et al. Exogenous dibutyryl cAMP affects meiotic maturation via protein kinase A activation; it stimulates further embryonic development including blastocyst quality in pigs. Theriogenology, 2008, 69(3): 290-301
- [27] Jensen JT, Zelinski MB, Stanley JE, et al. The phosphodiesterase 3 inhibitor ORG 9935 inhibits oocyte maturation in the naturally selected dominant follicle in rhesus macaques. Contraception, 2008, 77(4): 303-7
- [28] Shu YM, Zeng HT, Ren Z, et al. Effects of cilostamide and forskolin on the meiotic resumption and embryonic development of immature human oocytes. Hum Reprod, 2008, 23(3): 504-6
- [29] Mehlmann LM. Oocyte-specific expression of *Gpr3* is required for the maintenance of meiotic arrest in mouse oocytes. Dev Biol, 2005, 288(2): 397-404
- [30] Komatsu J, Yamano S, Kuwahara A, et al. The signaling pathways linking to lysophosphatidic acid-promoted meiotic maturation in mice. Life Sci, 2006, 79(5): 506-11
- [31] Richard FJ. Regulation of meiotic maturation. J Anim Sci, 2007, 85(13): 4-6
- [32] 翟中和, 王喜忠, 丁明孝主编. 细胞生物学[M]. 北京: 高等教育出版社, 2001
- [33] 韩树标, 王爱萍, 张力, 等. MPF和MAPK在卵母细胞成熟过程中的作用. 吉林畜牧兽医, 2007, 28(5): 14-6
- [34] Kuroda T, Naito K, Sugiura K, et al. Analysis of the roles of cyclin B1 and cyclin B2 in porcine oocyte maturation by inhibiting synthesis with antisense RNA injection. Biol Reprod, 2004, 70(1): 154-9
- [35] Brunet S, Maro B. Cytoskeleton and cell cycle control during meiotic maturation of the mouse oocyte: integrating time and space. Reproduction, 2005, 130(6): 801-11
- [36] Mondadori RG, Neves JP, Gonçalves PB. Protein kinase C (PKC) role in bovine oocyte maturation and early embryo development. Anim Reprod Sci, 2008, 107(1-2): 20-9
- [37] Zheng YH, Zheng LP, Li F, et al. c-erbB2 and c-myc induce oocyte maturation via activation of mitogen-activated protein kinase and maturation promoting factor. Acta Physiol Sin, 2008, 60(1): 97-104
- [38] Liang CG, Huo LJ, Zhong ZS, et al. Cyclic adenosine 3',5'-monophosphate-dependent activation of mitogen-activated protein kinase in cumulus cells is essential for germinal vesicle breakdown of porcine cumulus enclosed oocytes. Endocrinology, 2005, 146(10): 4437-44
- [39] Hansen DV, Pomerening JR, Summers MK, et al. Emi2 at the crossroads: where CSF meets MPF. Cell Cycle, 2007, 6(6): 732-78
- [40] Ohe M, Inoue D, Kanemori Y, et al. Erp1/Emi2 is essential for the meiosis I to meiosis II transition in *Xenopus* oocytes. Dev Biol, 2007, 303(1): 157-64
- [41] Ito J, Kato M, Hochi S, et al. Effect of enucleation on inactivation of cytosolic factor activity in matured rat oocytes. Cloning Stem Cells, 2007, 9(2): 257-66
- [42] Götze M, Kauffold P, Schuffenhauer A, et al. The inhibition of meiosis of bovine oocytes using biologic of synthetic inhibitors. Arch Exp Veterinarmed, 1990: 44(1): 19-27