

外源中心体在哺乳动物胚胎发育中的遗传机制

孔庆然 刘忠华*

(东北农业大学生命科学学院, 哈尔滨 150030)

摘要 中心体是一个非膜包被的半保留细胞器, 由一对相互垂直的圆柱形中心粒及其周围大量的高电子密度的蛋白质——中心体基质(pericentriolar material, PCM)组成。在所有哺乳动物细胞中, 中心体(centrosome)作为主要的微管组织中心(microtubule organizing centers, MTOCs), 起到组装和稳定微管的关键功能。在大多数哺乳动物精子形成过程中, 精子保留了近端中心粒, 失去了大部分的中心体旁蛋白和远端中心粒, 而在卵母细胞形成过程中两个中心粒被逐渐降解, 主要的中心体旁蛋白被保留了下来, 弥散于卵胞质中。受精后, 在卵母细胞中精子中心粒被进一步降解, 来源于卵母细胞和精子的中心体旁蛋白形成受精卵的MTOCs在胚胎分裂过程中行使功能。但在小鼠等啮齿类动物精子形成过程中, 两个中心粒全部被降解, 因此受精卵中的MTOCs主要由来源于卵母细胞中心体旁蛋白组成。在大多数哺乳动物核移植胚胎中, 外源中心粒在胚胎1-细胞期即被降解, 而是来源于供体细胞和受体卵母细胞的中心体旁蛋白形成重构胚的MTOCs指导纺锤体形成, 中心粒是在囊胚期才从头合成的。在灵长类中, 来源于精子的中心粒能与PCM一起组成典型的中心体在胚胎分裂过程中行使功能, 但在其核移植胚胎中, 体细胞中心体和去核卵母细胞中剩余的中心体旁蛋白不能有效的组装形成功能性中心体, 这可能是灵长类哺乳动物体细胞克隆失败的一个关键原因。

关键词 中心体; 受精; 核移植; 胚胎发育

中心体作为细胞的主要微管组织中心, 充当着细胞骨架总设计师的作用, 保证了细胞的形态和功能。在配子形成过程中, 为了满足受精作用的需要, 中心体的结构被特化, 受精后, 精子和卵子中特化的“中心体”在合子中形成了无中心粒的微管组织中心(microtubule organizing centers, MTOCs)指导胚胎分裂, 这种遗传机制因物种的不同而复杂多样。但在核移植胚胎中, 当体细胞中心体进入去核的卵母细胞中并行行使功能时, 问题就更加复杂了。迄今为止, 还没有明确供体细胞中心体和受体卵母细胞中中心体基质(pericentriolar material, PCM)相互作用的关系及外源中心体在受体中的行为与功能。为了更好地了解胚胎发育, 揭示中心体在胚胎发育过程中的行为与功能是十分重要的, 本文就目前的研究状况对中心体在受精胚胎和核移植胚胎中的命运作一个较详尽的阐述。

1 中心体简介

1.1 中心体的结构

中心体是一个直径大约为 1 μm , 非膜包被的半保留细胞器, 具有高度复杂的分子组成和动态结构。

典型的中心体由一对相互垂直的圆柱形中心粒和其周围大量的高电子密度的蛋白质(PCM)组成。目前明确的中心体组成蛋白有 100 多种, 其中主要的功能蛋白有 γ 微管蛋白(γ -tubulin)、中心体蛋白(centrin)和核有丝分裂器蛋白(nuclear mitotic apparatus protein, NuMA)等。 γ 微管蛋白与胞质中的 Dgrip91 和 Dgrip84 等 8 种蛋白质形成管状复合物, 称为 γ 微管蛋白环形复合物(γ -tubulin ring complex, γ -TuRC), 是微管成核的必需因子。中心体蛋白是一种钙离子结合蛋白, 特异性的定位于中心粒腔内, 与中心粒的复制相关, 是中心粒的识别标志。NuMA 在细胞分裂间期位于核内, 对 DNA 复制、重组和转录都有重要的作用, 在分裂期位于纺锤体两极, 它保证了微管的负极与中心体的相连, 对纺锤体两极的组织 and 稳定是十分重要的。大部分中心体旁蛋白(80%~90%)分散于胞质中, 只有在分裂期形成纺锤体时才浓缩于中心粒处形成 PCM, 但像 γ 微管蛋白和中心体蛋白等蛋白质在细胞周期进行中始终与中心体结构相连, 因此它们一般

收稿日期: 2008-05-20 接受日期: 2008-06-16

* 通讯作者。Tel: 0451-55171747, Fax: 0451-55190413, E-mail:

liu086@126.com

被认为是中心体特定组成成分^[1]。

1.2 中心体的功能

一般认为中心体是细胞的主要微管组织中心,每个哺乳动物的细胞一般都具有一个中心体,在分裂间期的S期伴随着DNA的复制而精确复制,并经过复杂的成熟过程使其具有微管组织功能,随后,两个中心体移到细胞核两极,形成有丝分裂纺锤体的两极。中心体通过对细胞骨架的作用操纵着细胞形态、极性和运动以及胞质内物质的运输,在细胞分裂过程中起到组织和稳定纺锤体的关键功能,协助染色体严格向两极分离^[2]。

1.3 中心体的复制

中心体的复制与细胞周期事件相偶联,属于半保留复制,即每一个中心体都具有一个原有的中心粒和一个新合成的中心粒,到目前为止,仍然不明确是否存在一个模板,指导中心体的复制,但更多的研究者认为中心体是从头合成的。实际上,当中心粒被完全降解后,是无法重新合成的。许多细胞周期调节蛋白和中心体蛋白调节着中心体的复制,中心体复制还受癌基因和抑癌基因的调节,但具体的调节机制尚不清楚。在细胞分裂过程中,仅有两个中心体的存在是确保姐妹染色单体均等分裂到两个子细胞的关键。如果中心体的复制异常出现多个中心体,就会形成多极纺锤体,导致染色体分离异常和非整倍体的出现;如果中心体的复制缺陷形成单极纺锤体,染色体就不能分离,形成多倍体。无论纺锤体是多极还是单极,都会导致细胞的异常分裂,从而造成基因组缺陷^[3]。

虽然绝大多数动物细胞需要中心体指导形成两极纺锤体和决定胞质分裂过程中收缩环的位置,但现在已有研究证明,在缺少中心体情况下,体细胞可以不依赖中心体组装纺锤体,而且一些高等植物细胞和特化的动物细胞(例如卵细胞)在缺少中心体情况下也能形成纺锤体^[4]。

2 中心体与配子发生

哺乳动物精原细胞和初级卵母细胞都具有典型的中心体,但在配子形成过程中逐渐退化,并发生形变,以适应配子的功能和受精作用的需要^[5]。研究表明,在大多数哺乳动物(除啮齿类)精子形成过程中,精子保留近端中心粒,但失去了大部分中心体旁蛋白和远端中心粒,而在卵母细胞形成过程中两个中心粒被逐渐降解,主要的中心体旁蛋白被保留了下来,弥散

于卵胞质中^[6]。

2.1 中心体与精子发生

在精子发生过程中,中心体首先失去微管聚合功能,然后失去中心体旁蛋白,最后中心粒被降解。在啮齿类动物中,精原细胞具有正常的中心体,精子形成后,中心粒则被完全降解,只有部分 γ 微管蛋白和中心体旁蛋白聚集于精子头部和鞭毛结合处。在小鼠精子发生过程中,远端中心粒在睾丸处退化而近端中心粒在附睾处退化^[7,8]。在其他哺乳动物包括人类的精子发生过程中,所有的 γ 微管蛋白和大约一半中心体旁蛋白被丢弃,远端中心粒也经历了不同程度的降解,只有近端中心粒被完整地保存下来^[9]。但是哺乳动物中中心体不同程度的降解并不影响微管组装和行使正常功能。

2.2 中心体与卵子发生

在卵子发生过程中,中心粒被降解,一些功能性中心体旁蛋白(如 γ 微管蛋白和NuMA)分散在卵胞质中,分裂期聚集起来指导纺锤体形成。在小鼠中,卵原细胞和初级卵母细胞具有正常的中心粒,但在卵母细胞阻滞在减数分裂第一次分裂前期的双线期时,中心粒就被彻底降解,对小鼠孤雌胚胎的研究发现,中心粒在胚胎发育到囊胚期时才被再次检测到,在这个过程中是结构复杂的MTOCs行使组织纺锤体的功能^[10]。MTOCs由各种功能性中心体旁蛋白构成,包括 γ 微管蛋白和NuMA等蛋白质,在免疫学上与PCM相似,其中主要是 γ 微管蛋白起到微管成核作用^[11]。研究表明,在卵母细胞成熟的起始阶段 γ 微管蛋白以聚集的点状形态分布于卵母细胞的皮质区,这些点状结构既不聚集形成MTOCs,也起不到组织微管作用,在生发泡(GV)形成后, γ 微管蛋白向核移动,并且有部分 γ 微管蛋白能组织微管与核膜相连,在生发泡破裂(GVBD)后,各种功能性中心体旁蛋白相互结合形成MTOCs分布在核周围和卵胞质中^[12]。在小鼠卵母细胞第一次和第二次减数分裂过程中,MTOCs组织形成无中心粒的纺锤体两极,而在猪、牛、羊和灵长类中,中心粒是在第二次减数分裂时才被彻底降解的,也就是说,只是在第二次减数分裂纺锤体两极处没有检测到中心粒。对于大多数哺乳动物来说,MTOCs主要在分裂期集中于纺锤体两极,卵胞质中较少,而且在灵长类卵母细胞纺锤体两极处还没有检测到明显聚集的MTOCs,但在小鼠成熟卵母细胞胞质中分布有广泛的聚集明显的MTOCs^[13,14]。

由此可见,哺乳动物精原细胞和初级卵母细胞

都具有和体细胞一样结构和功能的中心体,但在配子发生过程中,这种典型的中心体结构被部分或全部降解,形成无中心体的微管组织中心,以适应受精作用的需要。

3 中心体在受精胚胎中的遗传机制

在受精卵中,父源和母源中心体组分共同形成一个功能性的中心体,这种中心体虽然具有组织纺锤体的功能,但没有自我复制功能,这种机制保证受精卵中不会含有两个或两个以上的中心体,从而防止了多中心体导致的多极纺锤体的形成,确保了在胚胎分裂过程中染色体能均等分裂到两个卵裂球中,使胚胎具有正确的倍性,其实这与只有单倍体的精子和卵子参与受精作用保证形成二倍体受精卵的道理是一样的^[15]。

在不同的物种中,受精卵中心体的遗传机制也不尽相同。现已明确,在小鼠等啮齿类中,精子不具有功能性中心体,母源的MTOCs在胚胎分裂过程中起主要作用,直到囊胚期才有典型的中心体重新形成,因此啮齿类中心体是母性遗传的^[16];在人类和其他灵长类中,精子近端中心粒进入卵胞质后,与卵母细胞中PCM重新形成具有自我复制能力的功能性中心体,因此灵长类中心体是父性遗传的^[17];而在其他哺乳动物(如猪、马、牛和羊)中,父源中心粒(精子近端中心粒)进入卵胞质后被降解,来源于卵母细胞和精子的中心体旁蛋白形成受精卵的MTOCs,直到囊胚期才重新合成中心粒,形成典型的中心体,这种遗传机制被认为是双亲遗传性的^[18-21]。

在小鼠成熟卵中,点状形态的MTOCs以串珠样聚集在纺锤体两极,而且卵胞质中也分布有大量的聚集明显的MTOCs。受精后,随着原核的形成又有大量的MTOCs形成,并且有部分MTOCs位于核周,组织微管与核膜相连,指导雌雄原核的定位和融合。在有丝分裂过程中,聚集的MTOCs位于纺锤体两极,组织微管,协助姐妹染色单体分离,直到囊胚期中心粒才重新出现,与胞质中PCM形成典型的中心体。在啮齿类中,由于中心粒和大部分中心体旁蛋白在精子形成过程中就被丢弃,所以其胚胎、胎儿和体细胞中的中心体是来自于卵母细胞的,也就是说,啮齿类中心体是母性遗传的^[16]。

在人类和其他灵长类受精过程中,精子近端中心粒同精子头部一起进入卵胞质中,在原核的形成过程中,组织微管与雌雄原核相连,使原核向受精卵中间移动并融合,与此同时,中心粒进行复制,形成的两

个中心粒与卵胞质中PCM组成功能性中心体,在胚胎分裂过程中,组织微管形成两级纺锤体。研究表明,在人类胚胎发育的各个时期都能检测到中心粒的存在,因此可以认为其胚胎、胎儿和体细胞中的中心粒都是由精子近端中心粒复制而来的,由此可见,父源中心粒对人类胚胎发育起到至关重要的作用,而且有病例表明,中心粒功能异常的精子会导致胚胎发育的失败^[17]。

之前的研究一直认为,大多数哺乳动物(除了啮齿类)在受精后,精子中心粒与卵胞质中PCM重新组成功能性中心体在胚胎分裂过程中起作用。但Manandhar等^[22]通过荧光标记中心体旁蛋白对猪体外受精过程中中心粒的遗传机制时发现,精子中心粒在受精后即被进一步降解,直到中心体旁蛋白囊胚期才重新出现,是来源于卵母细胞和精子的中心体旁蛋白(主要是 γ 微管蛋白)形成MTOCs在早期胚胎分裂过程中组织纺锤体形成。在这种的遗传机制中中心体的组成成分来源于父母双方,所以属于双亲遗传。由此可见,大多数哺乳动物(除了灵长类)早期胚胎分裂过程中纺锤体的形成是不需要中心粒参与的,可能是MTOCs中具有微管成核功能的 γ 微管蛋白起到主要作用。

在大多数哺乳动物(除了灵长类)中,中心粒是在囊胚期才从头合成的,但由于中心粒被完全降解后,是无法重新合成的,所以这种“从头合成”实际上不是中心粒各组成蛋白的从头合成,而是中心粒重新组装形成,因此可以认为,中心粒在卵胞质中被降解成许多小的结构单元,在囊胚期中心粒各组成蛋白从头合成,并以这些单元为模板合成更多的单元,然后聚集形成中心粒,并以此中心粒为模板合成新的中心粒,从而形成与体细胞相同的典型中心体。

4 中心体在核移植胚胎中的遗传机制

哺乳动物克隆的一般方法是将供体细胞核移入去核卵母细胞中,然后将重构胚激活。在去核过程中,卵母细胞中主要的MTOCs随着染色体-纺锤体复合物的去除而丢失,同时外源中心体随着供体细胞核一起进入卵胞质中,这样卵胞质中剩余的中心体旁蛋白与供体细胞中心体就共同存在于重构胚中,在胚胎分裂过程中组成MTOCs指导纺锤体形成。

4.1 中心体与核移植胚胎的发育

由于体细胞和胚胎细胞分裂过程中中心体的功能存在差异,所以重构胚必须通过自身的调节机制,重

构外源中心体,使其同化,以满足胚胎发育的需要。Dai等^[23]对牛核移植胚胎研究发现50%重构胚的中心体在分布和数量上都有异常,这可能是导致胚胎不正常卵裂的一个重要因素,因此明确卵胞质对外源中心体的调节机制对克隆效率的提高是十分重要的。这种调节机制在很大程度上与核的重编程相关,如许多与中心体功能相关的蛋白质都是核来源的(如NuMA、geminin),因此必须通过充分的核质互动后才能使其发挥功能。许多与细胞周期相关的因子都对外源中心体的重构起重要作用,其中细胞周期蛋白B(cyclin B)在这个过程中作用尤为重要。在体细胞中,细胞周期蛋白B是在G₂/M期开始合成,但在核移植后,通过卵母细胞对体细胞核的重编程,使细胞周期蛋白B在胚胎细胞周期中持续合成,从而帮助外源中心体组织卵胞质和体细胞核中PCM,促进其成熟^[24]。另外有研究表明,核移植胚胎中多极纺锤体的产生可能与核来源的geminin表达异常有关。在正常体细胞中,geminin具有抑制中心体重复复制的功能,其失活会导致中心体的重复复制和多极纺锤体的产生,从而使细胞不能正常分裂,在核移植胚胎中,供体细胞中geminin的表达受到抑制,这可能是核移植胚胎染色体分裂异常的一个重要原因^[25]。外源中心体的同化是调节系统中各种因子共同作用的结果,所以说调节系统中任何一点轻微的异常都会导致克隆胚胎发育的失败。

4.2 中心体在核移植胚胎中的行为和功能

目前,主要采用荧光标记中心体特定组成蛋白的方法,对克隆胚胎中中心体的行为和功能进行研究,其中 γ 微管蛋白、中心体旁蛋白和NuMA等是主要的候选蛋白,下面就目前的研究状况对这三种蛋白质在核移植胚胎中的命运和功能作较详尽的阐述。

4.2.1 γ 微管蛋白在核移植胚胎中的行为和功能 γ 微管蛋白是微管组装的平台,作为微管成核的必需因子,分裂期位于纺锤体两极组织微管形成。Shin等^[26]对牛核移植胚胎研究发现,核移植后,大多数重构胚供体细胞核附近都能观察到一个或两个 γ 微管蛋白聚集的点状结构,组织微管与核相连,并且在早熟染色体凝聚(PCC)和类原核形成时分布在染色体周围,这说明,染色体凝聚和原核形成都可能与供体细胞来源的 γ 微管蛋白的功能有关,而且对猪核移植胚胎的研究也得到同样的结果。这些结果表明,重构胚中来源于供体细胞的外源中心体对供体核的重构起到重要作用,其中具有微管成核功能的 γ 微管蛋白的作用尤

为重要。Morito等^[27]对牛孤雌胚胎研究表明母源 γ 微管蛋白也具有组织微管形成纺锤体的能力,可以指导孤雌胚胎正常分裂,因此他认为母源 γ 微管蛋白在重构胚的发育中起重要作用。但Thuan等^[28]用细口注射针(2~5 μm)去掉供体细胞中的中心体,然后只把供体核注射到卵胞质中,得到的重构胚虽然能发育到囊胚,但与正常核移植胚胎比较,囊胚率极低(48% vs 6%),并且没有获得克隆小鼠。Zhong等^[29]分别用猪和小鼠的物种特异性单克隆抗体对猪颗粒细胞——小鼠卵母细胞异种重构胚中MTOCs的 γ 微管蛋白的来源进行研究发现,在PCC和类原核形成时主要是来源于猪的 γ 微管蛋白分布在染色体周围起作用,而胚胎分裂过程中在纺锤体两极处能同时检测到来源于猪和小鼠的 γ 微管蛋白,并且似乎两种来源的 γ 微管蛋白的分配是平均的,这说明在核移植胚胎核重构阶段,主要是外源的 γ 微管蛋白起作用,而在胚胎分裂过程中供体细胞和受体卵中的 γ 微管蛋白共同指导纺锤体的形成。但Zhong等^[30]用同样的方法对小鼠成纤维细胞——猪卵母细胞异种重构胚中 γ 微管蛋白的来源进行研究却发现,虽然来源于猪和小鼠的 γ 微管蛋白都聚集形成重构胚的MTOCs,但外源的 γ 微管蛋白(来源于小鼠)的聚集更明显,这可能预示着外源的 γ 微管蛋白起主要作用。这些结果表明,外源的 γ 微管蛋白(来源于供体细胞)在重构胚供体核的重构过程中起主要作用,而在胚胎分裂过程中来源于供体和受体的 γ 微管蛋白都起到组织纺锤体的功能,但可能是由于只有在啮齿类卵胞质中才聚集有明显的 γ 微管蛋白,其他哺乳动物卵胞质中 γ 微管蛋白较少,所以在啮齿类中,卵胞质中的 γ 微管蛋白可能对重构胚的分裂起到主要作用。

4.2.2 中心体旁蛋白在核移植胚胎中的行为和功能 另一种在核移植胚胎中被泛用研究的蛋白质是中心体旁蛋白,它位于中心粒腔内,与中心粒的复制有关,是中心粒特异性标记蛋白。Zhong等^[29]以小鼠成纤维细胞、大鼠成纤维细胞和猪颗粒细胞作为供体细胞,移入去核的小鼠卵母细胞中,发现供体细胞中心体的中心体旁蛋白在胚胎1-细胞期就被降解,并且在减数分裂第二次分裂和第一次有丝分裂的纺锤体两极处都没有出现。Zhong等^[30]将GFP-中心体旁蛋白转染的小鼠成纤维细胞移入去核猪卵母细胞中,对供体细胞中心粒在猪重构胚中的命运进行研究,得到相同的结论。Manandhar等^[22]也对猪核移植胚胎中外源中心体旁蛋白的功能进行研究,也发现来源

于供体细胞的中心体旁蛋白在重构胚中被降解,在整个胚胎早期发育过程中都没有出现,直到囊胚期才在某些处于间期的卵裂球细胞核周围再次出现。由于中心体旁蛋白是中心粒复制所必需的,始终与中心粒结构相连,所以这些结果可以说明,当外源中心体进入卵母细胞后中心粒即被降解,也就是说,哺乳动物早期胚胎的卵裂并不需要中心粒的参与,这与大多数哺乳动物(除灵长类)受精胚胎中中心粒的遗传机制是类似的,即外源中心体进入卵胞质后,中心粒即被降解,是外源的中心体旁蛋白和来源于卵母细胞的中心体旁蛋白共同形成胚胎的MTOCs行使功能,直到囊胚期才重新合成中心粒,形成典型的中心体,而中心粒的重新合成可能是在囊胚期细胞分化后中心粒各组成蛋白从头合成,然后在特定机制的调节下重新组装形成新的中心粒。

4.2.3 NuMA 在核移植胚胎中的行为和功能 在成熟卵母细胞中 NuMA 聚集在减数分裂纺锤体两极,在核移植过程中随着染色体-纺锤体复合物的去除而丢失,因此重构胚中的 NuMA 可能主要来源于供体细胞。NuMA 抗体的显微注射实验表明,如果重构胚中 NuMA 被抗体干扰,会导致纺锤体的形态异常形成多极或单极纺锤体,说明 NuMA 对维持纺锤体的形态起至关重要的作用。Zhong 等^[29]以小鼠成纤维细胞和猪颗粒细胞作为供体细胞,移入去核的小鼠成熟卵母细胞中组成种内/种间重构胚,用物种特异性的单克隆抗体对 NuMA 的来源进行分析,结果表明,卵胞质中的 NuMA 在核移植过程中被大部分去除,是来源于供体细胞核中的 NuMA 在重构胚形成纺锤体时聚集在两极行使功能。Liu 等^[31]在猪重构胚中对 NuMA 的来源进行研究,也得到了相同的结论。这些研究结果说明,核移植胚胎中 NuMA 主要来源于供体细胞,因此供体细胞来源的 NuMA 是重构胚正常发育所必需的。对灵长类核移植胚胎的研究发现,卵母细胞中的 NuMA 随着染色体-纺锤体复合物的去除而丢失,而供体细胞核中的 NuMA 并没有在胚胎分裂时有效地定位到纺锤体两极,而是在卵胞质中与 γ 微管蛋白形成多个异常的 MTOCs,从而导致胚胎不正常分裂^[32]。由于灵长类哺乳动物卵胞质中 MTOCs 较少,使其不能有效的聚集供体细胞核中的 NuMA,形成稳定的纺锤体两极,从而导致纺锤体形态异常,胚胎发育失败,这可能是灵长类哺乳动物体细胞克隆失败的一个关键原因^[33]。NuMA 不仅能稳定纺锤体的形态,而且对核移植胚胎中体细胞核的重编程起重要作用,

有研究表明,体细胞分化程度越高,其细胞核中 NuMA 的含量就越低,这可能是采用分化程度高的体细胞生产克隆胚胎时效率较低的一个重要原因^[31]。因此有效的同化外源 NuMA(可能还有其他关键蛋白),使其在克隆胚胎中行使功能,可能是体细胞核移植成功的关键。

由于中心体在胚胎分裂、建立胚胎极性和细胞分化等方面起着至关重要的作用,因此精确的调节机制同化外源中心体使其在胚胎发育过程中行使功能是克隆胚胎正常发育所必需的,但遗憾的是,我们目前对供体细胞中心体和卵母细胞剩余中心体旁蛋白在重构胚中的相互作用和其在体细胞核重编程过程中作用机制、了解的还很少。

5 小结

在大多数哺乳动物配子形成过程中,精子保留了一个中心粒但失去了大部分中心体旁蛋白,反之,卵母细胞失去中心粒,但保留了大部分中心体旁蛋白。受精后,两个配子的中心体组分彼此互补,形成一个中心体在胚胎发育过程中行使功能。虽然中心粒和中心体旁蛋白都对中心体组装起重要作用,但对其相关的分子机制了解的还很少。大多数哺乳动物胚胎的早期发育是不需要中心粒的,中心粒是在囊胚期“从头合成”的,但其形成机制还不清楚。

类似于受精作用中精子中心体的介入,核移植后,供体细胞中的一个(G_0/G_1 期)或一对(G_2/M 期)中心体随着细胞核进入卵胞质中,经过卵母细胞调节系统的同化,与卵胞质中剩余的中心体旁蛋白形成重构胚的功能性中心体,以满足发育需要。然而,可能由于不同物种存在不同的调节系统,所以外源中心体在不同哺乳动物核移植胚胎中的遗传机制不尽相同。在灵长类中,体细胞中心体和去核卵母细胞中剩余的中心体旁蛋白不能有效的组装形成功能性中心体,而在其他哺乳动物中,供体细胞中心粒被降解,来源于供体细胞和受体卵母细胞的中心体旁蛋白共同形成重构胚的中心体在胚胎发育过程中行使功能。目前大多采用免疫荧光技术对胚胎中中心体的行为和功能进行研究,但由于抗体来源局限对小鼠以外的哺乳动物特异性不强并且无法做到活体示踪,因此还不能对外源中心体在哺乳动物胚胎发育中的遗传机制进行准确的描述。Higginbotham 等^[34]获得了表达 GFP-中心体旁蛋白的转基因小鼠,如果还能获得表达荧光标记的 γ 微管蛋白或 NuMA 等中心体旁蛋白的动物模型,

就可以在活体中对受精胚胎和核移植胚胎中中心体的行为和功能进行研究,这必将会为透彻详细的阐明中心体在哺乳动物胚胎发育中的遗传机制提供帮助。

参考文献(References)

- [1] Meraldi P *et al.* *FEBS Lett*, 2002, **521**: 9
- [2] Kramer A *et al.* *Cell Cycle*, 2004, **3**: 1390
- [3] Varmark H. *J Cell Biochem*, 2004, **91**: 904
- [4] Wang Q *et al.* *DNA Cell Biol*, 2004, **23**: 475
- [5] Manandhar G *et al.* *Biol Reprod*, 2005, **72**: 2
- [6] Schatten G.. *Dev Biol*, 1994, **165**: 299
- [7] Manandhar G *et al.* *Dev Biol*, 1998, **203**: 424
- [8] Manandhar G *et al.* *Cell Motil Cytoskeleton*, 1999, **43**: 137
- [9] Manandhar G *et al.* *Curr Top Dev Biol*, 2000, **49**: 343
- [10] Calarco PG. *Microsc Res Tech*, 2000, **49**: 428
- [11] Tang CJ *et al.* *J Biomed Sci*, 2004, **11**: 370
- [12] Meng XQ *et al.* *J Reprod Dev*, 2004, **50**: 97
- [13] Manandhar G *et al.* *Mol Reprod Dev*, 2000, **56**: 502
- [14] Lee J *et al.* *Biol Reprod*, 2000, **62**: 1184
- [15] Sutovsky P *et al.* *Int Rev Cytol*, 2000, **195**: 1
- [16] Schatten G *et al.* *Proc Natl Acad Sci USA*, 1991, **88**: 6785
- [17] Sathananthan AH *et al.* *Hum Reprod*, 1996, **11**: 345
- [18] Shin MR *et al.* *Mol Reprod Dev*, 2003, **64**: 438
- [19] Sathananthan AH *et al.* *Arch Androl*, 1997, **38**: 37
- [20] Kim NH *et al.* *Biol Rreprod*, 1996, **54**: 1397
- [21] Crozer N *et al.* *Microsc Res Tech*, 2000, **49**: 445
- [22] Manandhar G *et al.* *Reproduction*, 2006, **132**: 423
- [23] Dai Y *et al.* *Reproduction*, 2006, **131**: 1051
- [24] Gehmlich K *et al.* *EMBO Rep*, 2004, **5**: 97
- [25] Boos A *et al.* *Biol Cell*, 2006, **98**: 363
- [26] Shin MR *et al.* *Mol Reprod Dev*, 2002, **62**: 74
- [27] Morito Y *et al.* *Biol Reprod*, 2005, **73**: 935
- [28] Van Thuan N *et al.* *Biol Reprod*, 2006, **74**: 777
- [29] Zhong ZS *et al.* *Exp Cell Res*, 2005, **306**: 35
- [30] Zhong Z *et al.* *Cell Cycle*, 2007, **6**: 1510
- [31] Liu ZH *et al.* *Front Biosci*, 2006, **11**: 1945
- [32] Simerly C *et al.* *Dev Biol*, 2004, **276**: 237
- [33] Simerly C *et al.* *Science*, 2003, **300**: 297
- [34] Higginbotham H *et al.* *Transgenic Res*, 2004, **13**: 155

The Mechanism of Exogenous Centrosome Inheritance in Mammalian Embryos Development

Qing-Ran Kong, Zhong-Hua Liu*

(College of Life Sciences, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China)

Abstract In all mammalian cells, centrosomes, as the main microtubule organizing centers (MTOCs), are nonmembrane-bound, semi-conservative organelles consisting of numerous centrosome proteins referred to as pericentriolar material (PCM) that typically surround a pair of oriented cylindrical centrioles. Centrosomes possess microtubule organizing functions, and are crucial for normal function. In most mammals, the spermatozoon retains its proximal centriole while losing most of the PCM and distal centriole, whereas the oocyte degenerates centrioles while retaining centrosomal proteins during gametogenesis. During fertilization, in most mammals except primates, the sperm's proximal centrioles are degenerated further, biparental pericentriolar materials contribute to the zygote. But in rodents, during spermatogenesis both centrioles are degenerated, centrosomes are maternally inherited in zygotes. After nuclear transfer in reconstructed embryos, the donor cell centrosomes are degenerated, MTOCs formed by biparental PCM are responsible for carrying out functions, including spindle organization, cell cycle progression and development. In most mammals, donor cell centrioles are degraded in 1-cell embryos, and centrosomal proteins from both donor cell or sperms and recipient oocytes contribute to mitotic spindle assembly, typical centrosomes are likely assembled *de novo* during the blastocyst stage. In primates, centriole from sperm contributes to form typical centrosomes in zygotes, however, in reconstructed embryos, the centriole from donor cell can not carry out functions, and this can be a main reason of leading to failure in primate nuclear transfer.

Key words centrosome; fertilization; nuclear transfer; embryo development

Received: May 20, 2008 Accepted: June 16, 2008

*Corresponding author. Tel: 86-451-55171747, Fax: 86-451-55190413, E-mail: liu086@126.com