

辛晓萍, 袁晓龙, 陈炫, 等. PI3K 信号通路关键基因在猪卵泡发育中的表达规律[J]. 华南农业大学学报, 2018, 39(2): 23-28.

PI3K 信号通路关键基因在猪卵泡发育中的表达规律

辛晓萍¹, 袁晓龙¹, 陈炫¹, 张爱玲^{1,2}, 陈赞谋¹, 张哲¹, 张豪¹, 李加琪¹

(1 华南农业大学 动物科学学院/广东省农业动物基因组学与分子育种重点实验室, 广东 广州 510642;

2 广东第二师范学院 生物与食品工程学院/广东高校应用生态工程技术开发中心, 广东 广州 510303)

摘要:【目的】研究不同时期猪卵巢卵泡发生的形态特征及磷脂酰肌醇 3-激酶 (Phosphoinositide 3-kinase, PI3K) 信号通路关键基因在卵泡发生发育中的作用。【方法】通过 HE 染色观察 12 日龄、30 日龄、70 日龄、20 月龄卵泡期及黄体期、48 月龄的长大二元母猪卵巢卵泡发育的形态变化, 应用实时荧光定量 PCR 检测 PI3K 通路关键基因在这些时期的表达规律, 并通过 Western blot 法检测 PI3K 通路重要的下游效应因子 p-rpS6 在不同时期猪卵巢的表达情况。【结果】12 日龄母猪卵巢皮质边缘有大量的原始卵泡, 皮质与髓质交界处可见少量初级卵泡及个别的次级卵泡; 30 日龄母猪卵巢次级卵泡数量增加; 70 日龄出现 3 级卵泡; 20 月龄卵泡期、黄体期分别有大量成熟卵泡、大体积的黄体; 48 月龄较难观察到原始卵泡。PI3K 通路抑制因子 *PTEN*、*TSC1*、*TSC2* 与激活因子 *PDK1*、*AKT1*、*mTOR* 的 mRNA 均在 12 日龄表达量最高, 70 日龄、48 月龄表达量次之, 30 日龄和 20 月龄表达量最低; 下游效应基因 *rpS6* 的 mRNA 30 日龄表达量最高, 20 和 48 月龄表达量最低, p-rpS6 蛋白在 12 日龄、20 月龄、48 月龄母猪卵巢高表达, 在 30 日龄、70 日龄中几乎不表达。【结论】PI3K 通路关键基因在不同时期母猪卵巢中的表达水平不同, 说明该通路参与了猪卵泡的早期发生及卵泡成熟的调控过程。

关键词: 猪; PI3K 通路; 卵泡发育; 抑制因子; 激活因子; 磷酸化 rpS6
中图分类号: S828 文献标识码: A 文章编号: 1001-411X(2018)02-0023-06

Expression patterns of PI3K signaling pathway key genes in porcine follicular development

XIN Xiaoping¹, YUAN Xiaolong¹, CHEN Xuan¹, ZHANG Ailing^{1,2}, CHEN Zanmou¹,
ZHANG Zhe¹, ZHANG Hao¹, LI Jiaqi¹

(1 College of Animal Science, South China Agricultural University/Guangdong Provincial Key Laboratory of Agro-animal Genomics and Molecular Breeding, Guangzhou 510642, China; 2 Biology and Food Engineering Institute, Guangdong University of Education/Guangdong Development Center of Applied Ecology and Ecological Engineering in Universities, Guangzhou 510303, China)

Abstract: 【Objective】To study the morphological characteristics of pig ovarian follicles at different developmental stages and possible roles of key genes of phosphoinositide 3-kinase (PI3K) signaling pathway in follicular development. 【Method】The morphological changes in follicles of 12-, 30-, 70-day postpartum, 20-month follicular phase, 20-month luteal phase and 48-month luteal phase of landrace×large white sows were observed using HE staining. The expressions of key genes of PI3K pathway in these periods were detected by

收稿日期: 2017-09-05 优先出版日期: 2018-01-17
优先出版网址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/44.1110.S.20180117.1613.034.html>
作者简介: 辛晓萍 (1991—), 女, 硕士, E-mail: xiaopingxin1991@163.com; 通信作者: 李加琪 (1965—), 男, 教授, 博士, E-mail: jqli@scau.edu.cn
基金项目: 科技部科技基础工作专项 (2014FY120800); 国家现代农业产业技术体系项目 (CARS-36); 广东省扬帆计划 (2014YT02H042); 广东省科技计划项目 (2017A020208043)

qRT-PCR. The expression of p-rpS6, a downstream effector, was detected by Western blot assay in porcine ovaries at different stages. 【Result】 A large number of primordial follicles were observed at the cortical edges of ovaries for 12-day-old pigs, and a small amount of primary follicles and a few secondary follicles were found at the junction of cortex and medulla. The number of secondary follicles increased in 30-day-old pigs. Tertiary follicles appeared in ovaries of 70-day-old pigs. At 20 months of age, a large number of mature follicles and bulked corpus luteum were found at follicular and luteal phases, respectively. It was difficult to observe primary follicles at 48 months of age. For PI3K pathway, the ovarian mRNA expression of inhibitors *PTEN*, *TSC1*, *TSC2* and activators *PDK1*, *AKT1*, *mTOR* showed the highest levels at 12 days of age, followed by 70 days and 48 months of ages, and the lowest levels at 30 days and 20 months of ages. The downstream effector gene *rpS6* of PI3K pathway exhibited the highest level of ovarian mRNA expression at 30 days of age, and the lowest level at 20 and 48 months of ages, while p-rpS6 protein had higher ovarian expression level at 12 days, 20 and 48 months of ages, and no expression at 30 and 70 days of ages. 【Conclusion】 The key genes of PI3K pathway have different expression levels at different developmental stages of porcine ovary, which indicates that the pathway is involved in the processes of porcine follicular generation and maturation.

Key words: pig; PI3K pathway; follicular development; inhibitor; activator; p-rpS6

磷脂酰肌醇 3-激酶 (Phosphoinositide 3-kinase, PI3K) 是一类特异性催化磷脂酰肌醇 (Phosphatidylinositol, PI) 磷酸化的激酶家族^[1], 具有丝氨酸-苏氨酸激酶的活性及磷脂酰肌醇激酶的活性^[2], 可以使肌醇环上的 3'-OH 磷酸化, 磷酸化的肌醇脂作为第 2 信使调节下游分子。PI3K 信号通路广泛存在细胞中, 是参与细胞生长、增殖与分化调节的典型信号转导通路^[3-4]。在卵巢卵泡发育过程中, PI3K 信号通路在调节原始卵泡库卵泡休眠、生存与激活中起着关键作用^[5]。在 PI3K 通路中, PTEN、TSC、FOXO3、P27 抑制原始卵泡的激活, 而 PI3K、PDK1、AKT、mTOR 和 rpS6 可以促进原始卵泡的激活。任何一个抑制因子的缺失都会导致整个原始卵泡库的过度激活和卵泡的快速耗竭, 从而引起卵巢早衰^[5]; 任何一个激活因子的缺失都会导致原始卵泡从休眠阶段直接凋亡^[5]。这些抑制因子与激活因子相互作用, 共同调节原始卵泡休眠与激活。同时, PI3K 信号通路在有腔卵泡的募集、选择、优势化、排卵^[6-8]及颗粒细胞的增殖和分化等生物学过程中起关键调控作用。

rpS6 基因编码的蛋白质称为核糖体蛋白 S6(rpS6), rpS6 是 PI3K 信号通路的一个重要的下游效应因子^[5,9], 该蛋白是核糖体 40S 小亚基的组成成分, 主要通过磷酸化和去磷酸化发挥作用, 广泛参与蛋白质合成、细胞增殖、控制某些类型细胞的大小等生命活动^[10]。目前, PI3K 信号通路关键基因及 *rpS6* 基因在猪卵巢卵泡中的表达规律尚不清楚。本研究观察了不同发育阶段的长大二元母猪卵巢卵

泡发育特点, 检测了 PI3K 信号通路关键基因和 *rpS6* 基因的 mRNA 表达水平及磷酸化的 rpS6 (p-rpS6) 在不同时期猪卵巢卵泡中的表达规律, 这些工作将对进一步了解 PI3K 信号通路在猪卵巢卵泡发生过程中的分子调控机制具有重要意义。

1 材料与方法

1.1 材料

试验动物: 选自广东省中山市某猪场的 12 日龄、30 日龄、70 日龄、20 月龄黄体期 (3 胎次)、20 月龄卵泡期 (3 胎次) 和 48 月龄 (4 年 8 胎) 的长大二元杂母猪各 3 头进行屠宰, 其中, 20 月龄母猪被鉴定开始发情后, 分别在黄体期 (从发情开始至第 13 天) 及卵泡期 (发情开始后的第 13 至第 19 天) 时屠宰。

组织采样: 猪屠宰后迅速采集卵巢组织, 一侧卵巢放于 w 为 4% 的多聚甲醛中固定, 以备进行组织学分析; 另一侧卵巢组织, 迅速放入 DEPC 处理过的 5.0 mL 离心管后投进液氮中冷冻, 然后保存于 -80 ℃, 用于 RT-qPCR、Western blot 试验。

主要试剂: HE 染色试剂盒购自广州市外显子生物技术有限公司; 总 RNA 提取试剂 Trizol、PrimeScript®1st Strand cDNA Synthesis Kit、定量用 SYBR®Premix Ex Taq™ 试剂盒、PrimeStar 高保真 DNA 聚合酶、DL2000、DL500 均购自 TaKaRa 公司; p-rpS6 购自上海优宁维生物科技有限公司。其他均为常规化学试剂。

1.2 组织学染色观察

制备每个时期卵巢的石蜡切片, 取 3 张有代表性切片进行梯度乙醇溶液 (φ 为 90%、70%) 脱色, 苏木素染色 1 min, 自来水浸泡 15 min, 梯度乙醇溶液 (φ 为 70%、90%) 漂洗, 伊红染色 20 min, 脱水, 透明, 封片。显微镜拍照观察。

1.3 反转录定量 PCR (RT-qPCR)

参照 Invitrogen TRIzol 操作说明书, 提取母猪

卵巢组织的总 RNA; 总 RNA 的 RT-qPCR 参照 TaKaRa 公司的试剂盒说明书进行操作。根据每个基因的 NCBI 的 GenBank 登录号设计定量 PCR 引物, 基因信息和引物序列见表 1。RT-qPCR 反应条件: 94 ℃ 预变性 5 min; 94 ℃ 变性 30 s, 57 ℃ 退火 30 s, 72 ℃ 延伸 15 s, 循环 40 次; 72 ℃ 延伸 40 s。在 PCR 反应过程中, 设置获得熔解曲线的程序。

表 1 RT-qPCR 引物序列
Tab. 1 Sequences of primers for RT-qPCR

基因	登录号	转录本	引物序列(5'→3')	长度/bp
<i>PTEN</i>	43991	NM_001143696.1	F: AAGCAGTTATTTTTCTTTTCCC R: CTGGTTTCAAGACAGGAGTTC	230
<i>TSC1</i>	10015472	XM_021070814.1	F: GACCCATATCTATGCGGACCC R: TGCTGGTACTGAAGCG GTTG	101
<i>TSC2</i>	100505408	XM_021086774.1	F: GCTGGGCACCATCAAAG R: ACCTGCGAGGCCATGTT	201
<i>PDK1</i>	100286871	NM_001159608.1	F: TTTGGATGCCGGAACAC R: TAGTAAAGCAGTGGGGAATG	189
<i>AKT1</i>	100126861	NM_001159776.1	F: AGGTACCTGTGGATCCTGTC R: TTCTGCCATTATCCTATGTCTAC	192
<i>mTOR</i>	100127359	XM_003127584.6	F: CGATGGCCAGGGATCTCTTC R: TCGGCCAAGTTTAAGAGCGT	151
<i>rpS6</i>	100038023	XM_021063193.1	F: CTGAGGTCTGCCAGAAGC R: AACAGAAGAAGGAAGGGAGT	150
<i>GAPDH</i>	396823	XM_021091114.1	F: TCCCGCCAACATCAAAT R: CACGCCCATCACAAACAT	163

1.4 Western blot 法检测卵巢组织中 p-rpS6 蛋白的表达水平

取约 100 mg 卵巢组织, 加入 1 mL 组织裂解液和 10 μ L 100 mmol·L⁻¹ 的苯甲基黄酰氟 (Phenylmethanesulfonyl fluoride, PMSF)。钵体研磨, 冰上静置 30 min, 移至 1.5 mL 离心管中。4 ℃ 高速离心机以 12 000 r·min⁻¹ 离心 30 min, 取上清, 用液氮保存。取已定量蛋白, 按 1:4 的体积比加入 5×电泳上样缓冲液, 沸水煮 5 min, 12 000 r·min⁻¹ 离心 3 min, 待用。上样 (考马斯亮蓝 G-250 法检测总蛋白定量, 每个样品的上样量为 80 μ g 总蛋白)。SDS-PAGE 胶电泳、蛋白转膜、室温封闭 1.5 h, 抗体孵育, ECL 显色, 样品膜放置暗箱中曝光定影。

1.5 软件 and 数据的统计分析

采用 Primer Premier 5.0 软件设计引物; 采用 DNASTAR、Vector NTI 8.0 软件分析基因序列; 用 NCBI、Ensemble 搜索相关基因序列信息; 数据分析采用 Excel 软件, 使用 SSR 法进行多重比较分析。

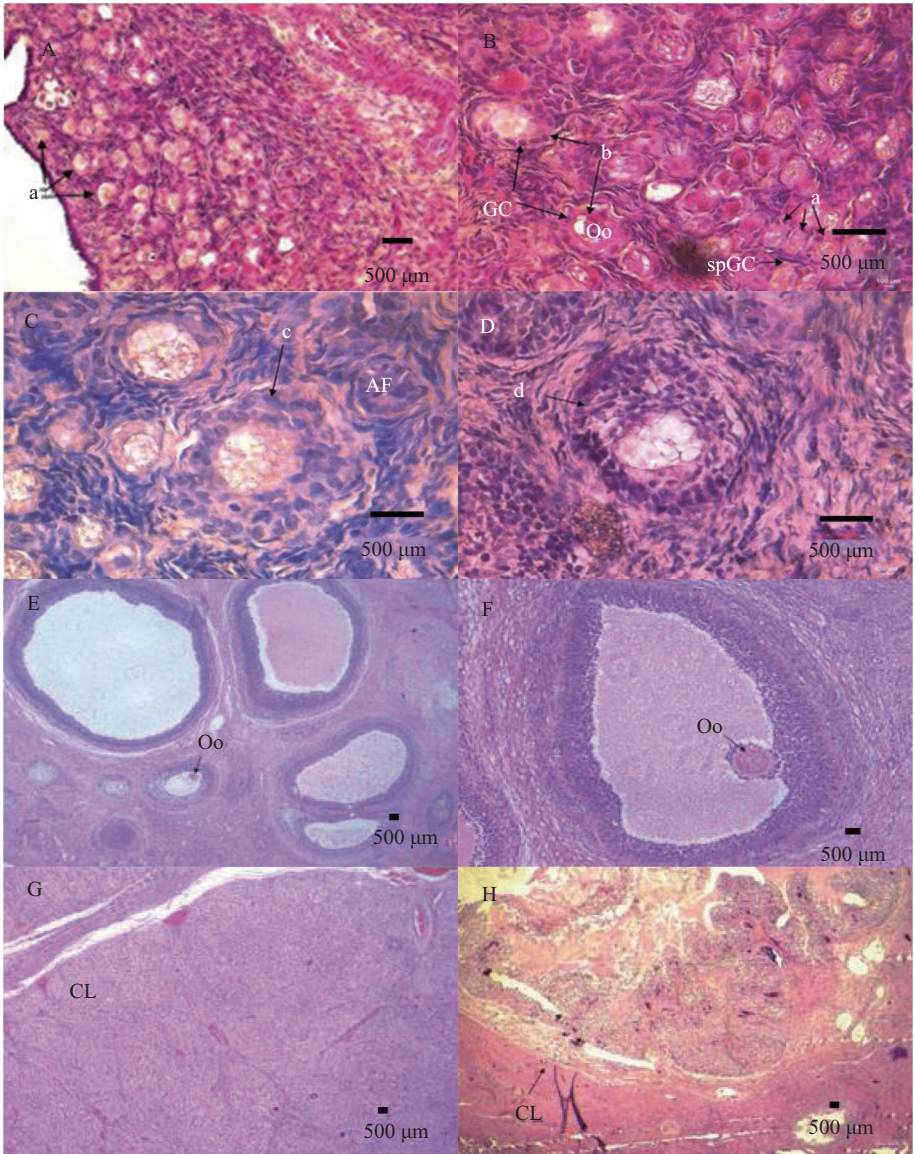
2 结果与分析

2.1 不同时期猪卵巢组织的形态学观察

12 日龄仔猪的卵巢体积很小, 呈新月形。HE 染色结果表明, 此时期卵巢皮质边缘有大量的原始卵泡 (图 1A), 皮质与髓质交界处可见少量初级卵泡, 颗粒细胞的层数在 2~3 层 (图 1B)。30 日龄仔猪卵巢皮质仍然以原始卵泡为主, 次级卵泡的数量增加, 但其颗粒细胞层数在 5 层左右 (图 1C)。70 日龄仔猪卵巢上则出现较多次级卵泡, 其颗粒细胞层数多在 5 层以上, 可观察到少量的 3 级卵泡 (图 1D)。20 月龄母猪卵泡期的卵巢上有大量的成熟卵泡 (图 1E、1F), 而 20 月龄黄体期与 48 月龄老年期母猪卵巢可见大体积的黄体, 并且 48 月龄母猪卵巢皮质边缘较难观察到原始卵泡 (图 1G、1H)。

2.2 不同时期猪卵巢组织中 PI3K 信号通路关键基因的表达

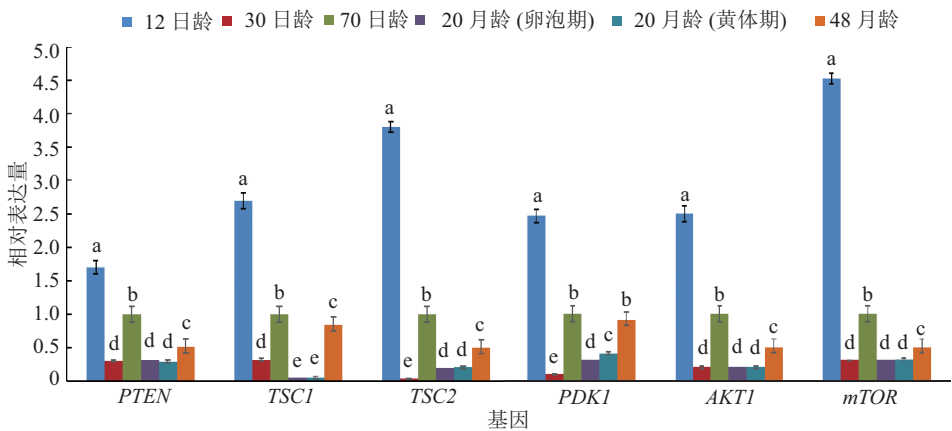
由图 2 所示, 不同时期猪卵巢 PI3K 信号通路中各关键基因包括 *PTEN*、*TSC1*、*TSC2*、*PDK1*、*mTOR* 和 *AKT1*, 表达规律均表现为: 在 12 日龄表



A: 12 日龄, B: 12 日龄, C: 30 日龄, D: 70 日龄, E: 20 月龄 (卵泡期), F: 20 月龄 (卵泡期), G: 20 月龄 (黄体期), H: 48 月龄; a: 原始卵泡, b: 初级卵泡, c: 次级卵泡, d: 3 级卵泡, Oo: 卵母细胞, GC: 颗粒细胞, spGC: 扁平颗粒细胞, AF: 闭锁卵泡, CL: 黄体

图 1 不同时期猪卵巢的卵泡组织学观察

Fig. 1 Representative microphotographs of porcine ovaries at different stages



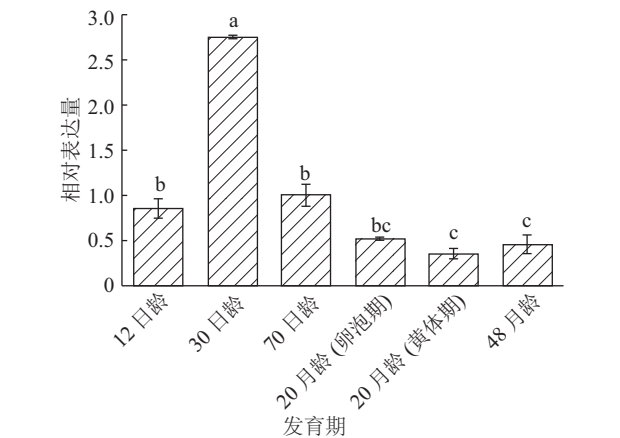
相同基因不同颜色的柱子上方凡具有一个相同小写字母者,表示差异不显著 ($P>0.05$, SSR 法)

图 2 不同时期猪卵巢 PI3K 信号通路关键基因的 mRNA 表达

Fig. 2 Ovarian mRNA expression levels of key genes of PI3K signaling pathway in pigs at different stages

达量最高, 显著高于其他时期 ($P<0.05$), 70 日龄、48 月龄的表达量次之, 30 日龄、20 月龄卵泡期及黄体期的表达量相对较低。

由图 3 所示, 下游基因中的 *rpS6* 在 30 日龄的表达量最高; 12 日龄表达量与 70 日龄表达量显著高于 20 月龄 (黄体期) 和 48 月龄的表达量。



柱子上方凡具有一个相同小写字母者, 表示差异不显著 ($P>0.05$, SSR 法)

图 3 不同时期猪卵巢 *rpS6* 基因的 mRNA 表达
Fig. 3 Ovarian mRNA expression levels of *rpS6* gene in pigs at different stages

2.3 不同时期猪卵巢组织中磷酸化 *rpS6* 蛋白的表达

采用 Western blot 法检测 p-*rpS6* 蛋白在不同时期猪卵巢组织中的表达水平, 结果显示, p-*rpS6* 在 12 日龄、20 月龄 (卵泡期)、20 月龄 (黄体期)、48 月龄表达丰度较高, 30 日龄与 70 日龄表达丰度在一个较低的水平 (图 4)。

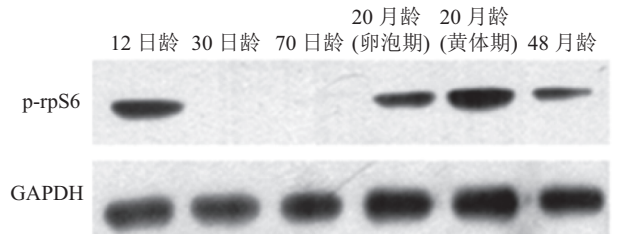


图 4 不同时期猪卵巢 p-*rpS6* 蛋白的表达
Fig. 4 Ovarian expressions of p-*rpS6* protein in pigs at different stages

3 讨论与结论

3.1 不同日龄猪卵巢卵泡的发育特点

哺乳动物卵巢卵泡由原始卵泡依次发育成初级卵泡、次级卵泡和有腔卵泡后, 经历募集、选择、优势化以及成熟排卵闭锁等一系列连续复杂的过程^[11-12]。本研究发现, 12 日龄的卵巢有着大量的原始卵泡, 少量的初级卵泡, 说明卵泡发生开始于

12 日龄之前。到 30 日龄, 原始卵泡中卵母细胞的体积大于 12 日龄, 但是其颗粒细胞层数仍在 5 层左右, 说明 30 日龄原始卵泡的卵母细胞在迅速增长。70 日龄的卵巢出现 3 级卵泡, 卵泡体积明显增大, 但 30 日龄与 70 日龄的卵母细胞体积大小相当, 说明这段时间颗粒细胞的增殖与增长是卵泡体积变大的主要原因, 早期的卵泡发育中颗粒细胞的增殖缓慢, 而卵母细胞经历了极快速的生长, 这些结果与前人的报道^[13-15]一致。而 20 月龄卵泡期的卵巢上观察到大量的成熟卵泡, 此时的母猪一般在第 3 胎次, 母猪繁殖性能较好。48 月龄老年期的卵巢皮质边缘较难观察到原始卵泡, 说明该时期的卵巢原始卵泡接近耗竭, 而此时期的母猪一般处于淘汰期, 繁殖性能较差。这些结果与母猪的繁殖生理状态一致。

3.2 PI3K 通路关键基因的表达与卵泡发生的关系

多个研究发现 PI3K 信号通路可以调节卵母细胞的生长、调控原始卵泡的休眠与激活、促进颗粒细胞的增殖和分化^[16-17], 而且卵巢卵泡内 PI3K 信号通路表达水平的微调是调节原始卵泡存活或者激活的关键^[9]。本研究发现 PI3K 信号通路关键基因 *PTEN*、*TSC1*、*TSC2*、*PDK1*、*mTOR*、*AKT1* 在每个时期都有一定水平的表达, 说明 PI3K 通路可能参与卵巢卵泡的生长发育, 这与 Fan 等^[7]和 Brown 等^[18]在 小鼠卵巢卵泡上研究 PI3K 信号通路的结果一致。6 个基因在 12 日龄高水平表达, 而 12 日龄的卵巢有着大量的原始卵泡和少量的初级卵泡, 说明了此时期 PI3K 通路的主要功能可能是维持原始卵泡休眠与存活, 这与 Reddy 等^[19]的研究结果一致。与 30 日龄的卵巢相比, 70 日龄的卵巢出现较多次级卵泡, 颗粒细胞增长迅速, 6 个基因表达量都显著的上调, 说明了此时期 PI3K 通路不仅参与卵泡的发生, 同时可能参与颗粒细胞的增殖与分化, 这与 Fan 等^[20]的研究结果一致。

3.3 *rpS6* 基因和磷酸化 *rpS6* 对卵泡发生的调控

大量研究表明, *rpS6* 基因编码核糖体蛋白 S6 主要通过磷酸化和去磷酸化发挥作用, 广泛参与蛋白质合成、细胞增殖、控制某些类型细胞的大小及其他生理过程^[10, 21-22]。在本研究中发现, *rpS6* 基因的表达趋势与 *PTEN*、*TSC1*、*TSC2*、*PDK1*、*Akt1*、*mTOR* 基因不一致, 说明 *rpS6* 基因在卵巢卵泡的发育过程中可能表现出与其他 6 个基因不一样的功能。与 12 日龄的卵巢相比, 30 和 70 日龄卵巢中 *rpS6* 基因的 mRNA 表达水平较高, 但是 p-*rpS6* 几乎不表达, 可能与该时期卵巢卵泡的特点有关。

30 日龄卵巢上出现大量的次级卵泡, 70 日龄卵巢上出现有 3 级卵泡, 这 2 个时期与 12 日龄相比, 卵母细胞的体积更大, 数目更多, RNA 合成相对比较旺盛^[23], 所以这 2 个时期的 *rpS6* 的 mRNA 表达水平相对较高。而 p-rpS6 需要去磷酸化, 并与 U3 组成核蛋白复合体, 参与 18S 前体 rRNA 的成熟加工^[24], 可能是导致在 30、70 日龄卵巢几乎检测不到 p-rpS6 的原因。此外, 大量研究表明 p-rpS6 可以提高细胞周期蛋白 *cdc2*、*cyclinB* 的翻译, 促进排卵^[25]。20 月龄卵泡期的 p-rpS6 表达量较高, 而此時期的卵巢上有大量的成熟卵泡, 说明 p-rpS6 可能参与卵巢卵泡的成熟与排卵。综上所述, PI3K 通路下游的 p-rpS6, 能够作为促进蛋白质翻译与核糖体生物合成的效应因子参与卵泡发生的调控, 但具体的作用机制还需要进一步研究。

参考文献:

- [1] 王笑, 王甄真, 陈雁. PI3K/AKT 信号通路在维持血糖平衡中的作用[J]. 生命科学, 2013(2): 133-139.
- [2] MABUCHI S, KURODA H, TAKAHASHI R, et al. The PI3K/AKT/mTOR pathway as a therapeutic target in ovarian cancer[J]. Gynecol Oncol, 2015, 137(1): 173-179.
- [3] CANTLEY L C. The phosphoinositide 3-kinase pathway[J]. Science, 2002, 296(5573): 1655-1657.
- [4] ENGELMAN J A, LUO J, CANTLEY L C. The evolution of phosphatidylinositol 3-kinases as regulators of growth and metabolism[J]. Nat Rev Genet, 2006, 7(8): 606-619.
- [5] REDDY P, ZHENG W, LIU K. Mechanisms maintaining the dormancy and survival of mammalian primordial follicles[J]. Trends Endocrin Met, 2010, 21(2): 96-103.
- [6] ZELEZNIK A J, SAXENA D, LITTLE-IHRIG L. Protein kinase B is obligatory for follicle-stimulating hormone-induced granulosa cell differentiation[J]. Endocrinology, 2003, 144(9): 3985-3994.
- [7] FAN H Y, RICHARDS J S. Minireview: Physiological and pathological actions of RAS in the ovary[J]. Mol Endocrinol, 2010, 24(2): 286-298.
- [8] GONZALEZ-ROBAYNA I J, FALENDER A E, OCHSNER S, et al. Follicle-stimulating hormone (FSH) stimulates phosphorylation and activation of protein kinase B (PKB/Akt) and serum and glucocorticoid-induced kinase (Sgk): Evidence for a kinase-independent signaling by FSH in granulosa cells[J]. Mol Endocrinol, 2000, 14(8): 1283-1300.
- [9] ZHENG W, NAGARAJU G, LIU Z, et al. Functional roles of the phosphatidylinositol 3-kinases (PI3Ks) signaling in the mammalian ovary[J]. Mol Cell Endocrinol, 2012, 356(1/2): 24-30.
- [10] RUVINSKY I, SHARON N, LERER T, et al. Ribosomal protein S6 phosphorylation is a determinant of cell size and glucose homeostasis[J]. Gene Dev, 2005, 19(18): 2199-2211.
- [11] BLACK J L, ERICKSON B H. Oogenesis and ovarian development in the prenatal pig[J]. Anat Rec, 1968, 161(1): 45-55.
- [12] GOSDEN R G, TELFER E. Numbers of follicles and oocytes in mammalian ovaries and their allometric relationships[J]. Proceedings of the Zoological Society of London, 1987, 211(1): 169-175.
- [13] BLAKE J A, EPPIG J T, RICHARDSON J E, et al. The mouse genome database (MGD): Integration nexus for the laboratory mouse[J]. Nucleic Acids Res, 2001, 29(1): 91-94.
- [14] RINGWALD M, DAVIS G L, SMITH A G, et al. The mouse gene expression database GXD[J]. Nucleic Acids Res, 1997, 25(1): 489-497.
- [15] EPPIG J J. Oocyte control of ovarian follicular development and function in mammals[J]. Reproduction, 2001, 122(6): 829-838.
- [16] 徐春琳, 路晓琳, 闫晓楠, 等. PI3K/Akt/NF- κ B 信号通路在 FSH 促进卵巢癌细胞增殖与侵袭中的作用[J]. 中华妇产科杂志, 2012, 47(2): 134-138.
- [17] JOHN G B, SHIDLER M J, BESMER P, et al. Kit signaling via PI3K promotes ovarian follicle maturation but is dispensable for primordial follicle activation[J]. Dev Biol, 2009, 331(2): 292-299.
- [18] BROWN C, LAROCCA J, PIETRUSKA J, et al. Subfertility caused by altered follicular development and oocyte growth in female mice lacking PKB α /Akt1[J]. Biol Reprod, 2010, 82(2): 246-256.
- [19] REDDY P, ADHIKARI D, ZHENG W, et al. PDK1 signaling in oocytes controls reproductive aging and lifespan by manipulating the survival of primordial follicles[J]. Mol Genet, 2009, 18(15): 2813-2824.
- [20] FAN H Y, LIU Z, CAHILL N, et al. Targeted disruption of Pten in ovarian granulosa cells enhances ovulation and extends the life span of luteal cells[J]. Mol Endocrinol, 2008, 22(9): 2128-2140.
- [21] FINGAR D C, BLENIS J. Target of rapamycin (TOR): An integrator of nutrient and growth factor signals and coordinator of cell growth and cell cycle progression[J]. Oncogene, 2004, 23(18): 3151-3171.
- [22] NYGARD O, NILSSON L. Translational dynamics. Interactions between the translational factors, tRNA and ribosomes during eukaryotic protein synthesis[J]. Eur J Biochem, 1990, 191(1): 1-17.
- [23] 朱士恩. 动物生殖生理学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2006: 359.
- [24] FOURNIER M J, MAXWELL E S. The nucleolar snRNAs: Catching up with the spliceosomal snRNAs[J]. Trends Biochem Sci, 1993, 18(4): 131-135.
- [25] 张春林, 李科瑛, 刘明兰, 等. 卵母细胞生发泡破裂 (GVBD) 发生前后脱卵丘细胞对猪卵母细胞体外成熟的影响[J]. 农业生物技术学报, 2014, 22(9): 1090-1096.

【责任编辑 庄 延】

<http://xuebao.scau.edu.cn>