

郭聪慧, 李清华, 丁林舒, 等. 全氟辛酸对小鼠卵母细胞的毒性影响 [J]. 华南农业大学学报, 2022, 43(1): 53-58.
 GUO Conghui, LI Qinghua, DING Linshu, et al. Toxic effects of perfluorooctanoic acid on mouse oocytes[J]. Journal of South China Agricultural University, 2022, 43(1): 53-58.

全氟辛酸对小鼠卵母细胞的毒性影响

郭聪慧, 李清华, 丁林舒, 黄建豪, 黄晓刚, 卫恒习, 张守全
 (华南农业大学 动物科学学院, 广东广州 510642)

摘要:【目的】研究全氟辛酸 (Perfluorooctanoic acid, PFOA) 对小鼠卵母细胞的毒性影响。【方法】选用 6 周龄体质量相近的昆明雌性小鼠 160 只, 分为 4 组, 每组 5 个重复, 每个重复 8 只小鼠。在适应环境 7 d 后开始对小鼠灌服不同剂量的 PFOA, 其中, 对照组、低剂量组、中剂量组和高剂量组的每日剂量分别为 0、5、10 和 20 mg/kg, 连续灌服 14 d, 然后利用孕马血清促性腺激素 (Pregnant mare serum gonadotropin, PMSG) 和人绒毛促性腺激素 (Human chorionic gonadotropin, hCG) 对各组小鼠进行超数排卵, 获取卵母细胞进行检测。【结果】与对照组相比, PFOA 中、高剂量组小鼠的卵母细胞成熟率分别下降了 14.28%、28.17%; 卵母细胞内活性氧含量分别升高了 135%、177%; 而且卵母细胞 β -tubulin 形态异常, 染色体非整齐排列的比例分别升高了 65.06%、75.60%。此外, 低、中、高剂量组 PFOA 处理后小鼠的卵母细胞内磷酸化组蛋白 H2AX(Phospho-histone H2A.X, P-H2A.X) 比例分别比对照组升高了 47%、133% 和 171%。【结论】灌服 PFOA 可诱导小鼠卵母细胞内活性氧升高, DNA 双链断裂和细胞骨架损伤, 降低卵母细胞成熟率。

关键词: 全氟辛酸; 卵母细胞; 活性氧; DNA 损伤; 细胞骨架
中图分类号: S511; S502 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-411X(2022)01-0053-06

Toxic effects of perfluorooctanoic acid on mouse oocytes

GUO Conghui, LI Qinghua, DING Linshu, HUANG Jianhao, HUANG Xiaogang, WEI Hengxi, ZHANG Shouquan
 (College of Animal Science, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

Abstract: 【Objective】The purpose of this study was to investigate the toxic effect of perfluorooctanoic aid(PFOA) on mouse oocytes. 【Method】One hundred and sixty 6-week-old Kunming female mice with similar body weight were divided randomly into four groups, with five replicates in each group and eight mice in each replicate. After 7 days of adaptation, the mice were fed with different doses of PFOA for 14 days. The daily doses for control, low, medium, and high dose groups were 0, 5, 10 and 20 mg/kg respectively. Then the mice were superovulated with injection of pregnant mare serum gonadotropin (PMSG) and human chorionic gonadotropin (hCG), and the oocytes were obtained for detection. 【Result】Compared to the control group, the oocyte maturation rates of mice in the middle and high dose groups decreased by 14.28% and 28.17% respectively, while the contents of reactive oxygen species in oocytes increased by 135% and 177% respectively. The proportions of β -tubulin with abnormal morphology and irregular chromosomes in oocytes increased by

65.06% and 75.60% respectively. In addition, the proportions of (Phospho-histone H2A.X, P-H2A.X) in oocytes of low, medium and high dose groups increased by 47%, 133% and 1.71% respectively compared with the control. 【Conclusion】 Mice fed with PFOA may decrease their oocyte maturation rate by inducing the increase of reactive oxygen species, DNA double strand break and cytoskeleton damage in oocytes.

Key words: Perfluorooctanoic acid; Oocyte; Reactive oxygen species; DNA damage; Cytoskeleton

全氟辛酸 (Perfluorooctanoic acid, PFOA) 是一种耐光解、水解和生物降解的人工合成的全氟类化合物, 因含有诸多碳氟键而具有极其稳定的性质, 常被用作防油脂或防水剂以及衣服、家具和其他产品的保护性涂层, 此外还可用作地板抛光剂、黏合剂、消防泡沫和电线绝缘等^[1-3]。随着 PFOA 的广泛应用, 在大气、河流、土壤等环境介质中均检测出 PFOA 残留: 上海市 41 个室内灰尘样本中 PFOA 平均质量分数为 279.4 ng/g, 长江流域重庆段地表水中 PFOA 的检出率为 100%, 质量浓度在 1.16~49.87 ng/L 之间, 全国 31 个省 (自治区、直辖市) 土壤中 PFOA 的平均质量分数为 0.35 ng/g^[4-6], 人类和动物可通过饮食饮水等方式暴露于 PFOA, 且由于 PFOA 半衰期长, 有生物累积效应, 故能在体内累积, 进而引发毒性, 但不同物种、不同暴露年龄, 引发毒性的浓度不同且差异较大^[7]。研究发现, PFOA 具有免疫毒性、发育毒性和内分泌干扰毒性^[8]。在雌性生殖系统中, PFOA 暴露会抑制卵巢激素分泌, 损害卵泡发育, 导致卵巢功能丧失^[9]。并且 PFOA 还可通过氧化应激和凋亡显著抑制孕鼠黄体功能^[10]。此外, 新生大鼠注射 PFOA 可以减少生长卵泡和次级卵泡的数量^[11]。虽然已有研究报道了 PFOA 暴露对生殖系统的影响, 但关于 PFOA 对卵母细胞影响的研究依然很少。已知 PFOA 可以通过血卵屏障进入卵泡液^[12], 本试验通过给小鼠灌服 PFOA 模拟体内暴露来探讨其对小鼠卵母细胞成熟率及成熟质量的影响。通过检测活性氧 (Reactive oxygen species, ROS) 水平、纺锤体形态、细胞骨架来评估卵母细胞暴露于 PFOA 后的细胞变化。本研究将有助于揭示 PFOA 影响卵母细胞发育过程的毒理学机制, 并引起人们对 PFOA 安全性的关注。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 试验动物 6 周龄体质量相近的昆明雌性小鼠, 购买于广东省实验动物中心。

1.1.2 试剂 PFOA(171468, Sigma), ROS 检测试剂盒 (S0033, Beyotime), β -tubulin (T5293, Sigma),

内磷酸化组蛋白 H2A.X(Phospho-histone H2A.X, P-H2A.X, sc-51748, Santa Cruz), FITC 偶联山羊抗鼠 IgG (A11029, LIFe), Hoechst 33342 (H3570, LIFe), 孕马血清促性腺激素 (PMSG, 宁波第二激素厂), 人绒毛膜促性腺激素 (hCG, 宁波第二激素厂), 透明质酸酶 (H3506, Sigma)

1.1.3 试剂配制 PFOA: 超纯水溶解, 配制不同浓度的 PFOA 以使得最终基于小鼠体质量的质量分数为 0、5、10 和 20 mg/kg。

1.1.4 仪器 CO₂ 培养箱, 体视显微镜, 荧光倒置显微镜。

1.2 方法

1.2.1 试验动物分组 将 160 只 6 周龄的昆明小鼠随机分为对照组、低剂量组、中剂量组和高剂量组, 每个剂量组 5 个重复, 每个重复 8 只小鼠。分笼后, 先适应环境 7 d, 再进行药物灌服试验。饲养环境为 12 h 光照、12 h 黑暗交替, 饮食饮水自由。

1.2.2 药物灌服处理 适应环境 1 周后, 以每天 0、5、10、20 mg/kg 的剂量分别给对照组、低剂量组、中剂量组和高剂量组小鼠灌服 PFOA, 每次灌服 0.2 mL, 连续灌服 14 d。剂量及时间的选定参照 PFOA 相关的体内试验^[13]。

1.2.3 卵母细胞的收集 小鼠连续灌服 PFOA 2 周后进行超排处理, 每只小鼠注射 10 IU PMSG, 间隔 48 h 后注射 10 IU hCG, 再间隔 13.5 h 后颈部脱臼处死, 用体积分数为 75% 的乙醇溶液浸泡 30 s 消毒, 随后解剖取出输卵管, 找到膨大部, 在含有 PBS 缓冲液的培养皿中用尖头镊撕开膨大部, 用口吸管移出卵母细胞, 放入预热好的 1 g/L 的透明质酸酶溶液中, 处理 2 min, 待颗粒细胞脱掉以后将卵母细胞转移至 PBS 缓冲液中洗 3 遍。收集同一剂量处理组的小鼠卵母细胞至少 100 个。

1.2.4 统计卵母细胞成熟率 卵母细胞排出第一极体视为成熟, 取出卵母细胞后统计第一极体的排出率。

1.2.5 卵母细胞活性氧含量的检测 每个剂量组随机取 25~30 个卵母细胞放入含有 1 μ mol/L DCFH-DA 的成熟培养液液滴中洗涤 2~3 遍, 再放入 37 $^{\circ}$ C、

CO₂ 体积分数为 5% 的培养箱孵育 20 min。而后用 DPBS-PVA 缓冲液洗 3 次, 每次 1 min。在荧光显微镜下用同一曝光参数观察并拍照, 应用 ImageJ 软件分析平均荧光强度^[14]。

1.2.6 卵母细胞免疫荧光染色分析 四孔板每个孔加入 200 μL 固定液, 然后置于 37 ℃、CO₂ 体积分数为 5% 的培养箱预热 30 min, 每个剂量组随机取 25~30 个卵母细胞置入四孔板中, 于培养箱中固定 30 min。然后将卵母细胞放入加有洗脱缓冲液的四孔板中于培养箱内封闭 2 h。再用 β-tubulin(按照 1:1 000 的体积比稀释) 或 P-H2A.X(按照 1:200 的体积比稀释) 4 ℃ 条件下孵育过夜。次日用洗脱缓冲液洗涤 3 次, 每次 10 min。然后与 FITC 偶联山羊抗鼠 IgG(按照 1:100 的体积比稀释) 在 37 ℃ 条件下孵育 1 h。之后, 避光环境下用洗脱缓冲液洗涤 3 次, 每次 10 min。用 Hoechst 33342 室温下进行 DNA 染色 5 min。最后, 将卵母细胞固定在载玻片上, 并在荧光显微镜下观察和拍照。

1.3 统计分析

每组试验重复 5 次, 用 SPSS 23.0 进行单因素方差分析, 采用 LSD 法进行多重比较分析, 数据结果以平均值±标准误表示, 作图软件为 GraphPad 8。

2 结果与分析

2.1 灌服 PFOA 抑制小鼠卵母细胞体外成熟

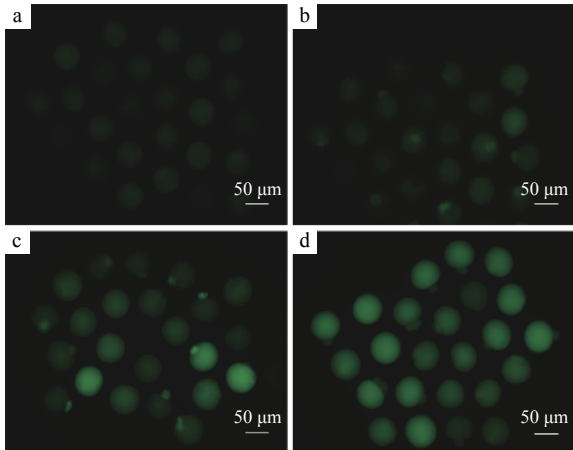
与对照组相比, 每日灌服不同剂量 (5、10 和 20 mg/kg)PFOA 小鼠的卵母细胞成熟率有明显下降 (表 1)。10 和 20 mg/kg 剂量组小鼠的卵母细胞成熟率分别下降了 14.28% 和 28.17%; 5 mg/kg 剂量组和对照组差异不显著 ($P>0.05$), 10 mg/kg 组和对照组差异显著 ($P<0.05$), 20 mg/kg 组和对照组差异极显著 ($P<0.01$)。5、10 和 20 mg/kg 组别之间两两相比差异显著 ($P<0.05$)。

表 1 PFOA 对小鼠卵母细胞成熟率的影响		
Table 1 Effect of PFOA on maturation of mouse oocytes		
每日剂量/(mg·kg ⁻¹)	细胞总数	第一极体排出率 ¹⁾ /%
Daily dose	Total cell count	Discharge rate of first polar body
0(CK)	108	91.23±0.010a
5	111	85.50±0.123a
10	104	78.20±0.015b
20	101	65.53±0.372c

1) 同列数据后的不同小写字母表示差异显著($P<0.05$, LSD法)
1) Different lowercase letters in the same column indicate significant differences($P<0.05$, LSD method)

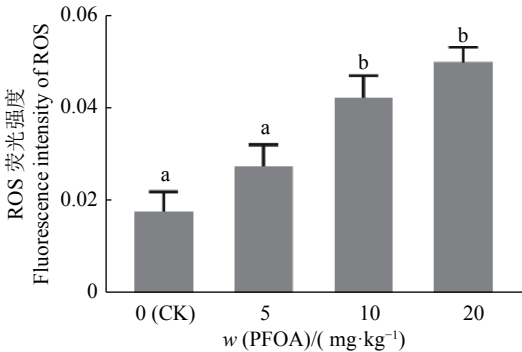
2.2 灌服 PFOA 诱发卵母细胞氧化应激

与对照组相比, 每日灌服不同剂量 PFOA 小鼠的卵母细胞内 ROS 含量有明显升高 (图 1)。10 和 20 mg/kg 组中卵母细胞内 ROS 含量分别升高了 135% 和 177%; 5 mg/kg 组和对照组差异不显著 ($P>0.05$), 10 和 20 mg/kg 组与对照组相比差异显著 ($P<0.05$), 10 与 20 mg/kg 组之间差异不显著 ($P>0.05$)(图 2)。



a: 0 (CK); b: 5 mg/kg; c: 10 mg/kg; d: 20 mg/kg
图 1 不同剂量 PFOA 暴露的卵母细胞内活性氧 (ROS) 荧光图像

Fig. 1 Fluorescence images of reactive oxygen species (ROS) in oocytes exposed to different doses of PFOA



柱子上的不同小写字母表示差异显著 ($P<0.05$, LSD 法)
Different lowercase letters on bars indicate significant differences ($P<0.05$, LSD method)

图 2 不同剂量 PFOA 暴露的卵母细胞内活性氧 (ROS) 荧光强度

Fig. 2 The fluorescence intensities of reactive oxygen species (ROS) in oocytes exposed to different doses of PFOA

2.3 灌服 PFOA 诱发卵母细胞 DNA 损伤

每日灌服不同剂量 PFOA 的小鼠卵母细胞 P-H2A.X 免疫荧光结果显示, 细胞内 DNA 损伤情况有明显升高 (图 3)。其中, 5、10 和 20 mg/kg 组 P-H2A.X 比例分别比对照组升高了 47%、133% 和

171%。5 mg/kg 组与对照组差异显著 ($P<0.05$), 10、20 mg/kg 组与对照组相比差异极显著 ($P<0.01$), 10 和 20 mg/kg 组之间差异不显著 ($P>0.05$)(图 4)。

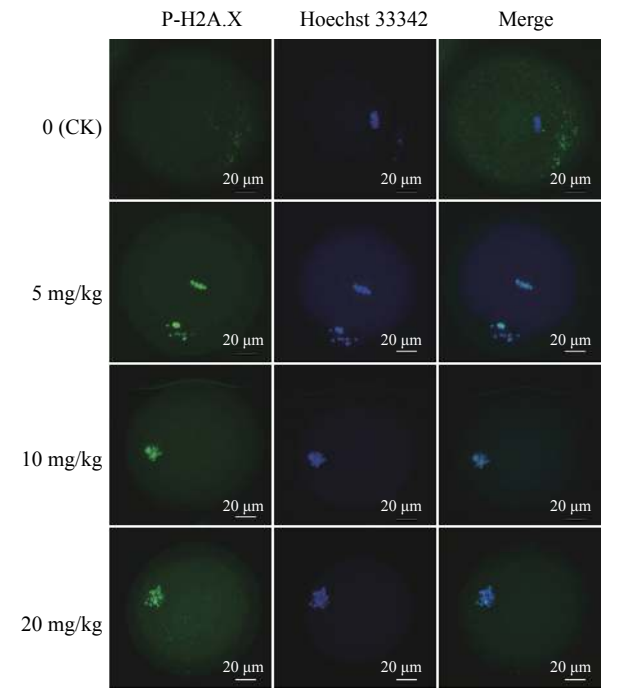


图 3 不同剂量 PFOA 暴露的卵母细胞内 P-H2A.X 荧光图像

Fig. 3 Fluorescence images of P-H2A.X in oocytes exposed to different doses of PFOA

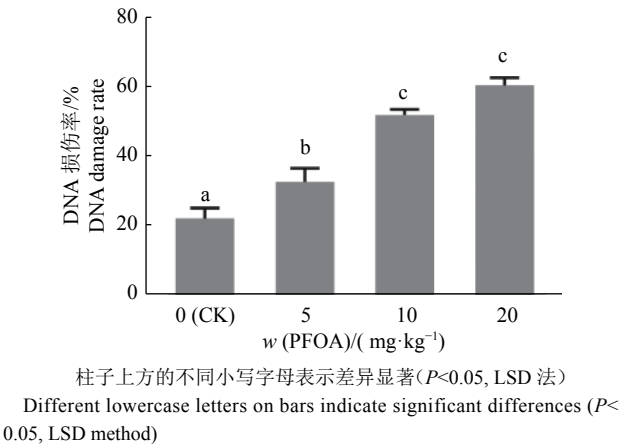


图 4 不同剂量 PFOA 暴露的卵母细胞 DNA 损伤比例

Fig. 4 DNA damage rates of oocytes exposed to different doses of PFOA

2.4 灌服 PFOA 诱发卵母细胞骨架受损

每日灌服不同剂量 PFOA 的小鼠卵母细胞 β -tubulin、Hoechst 33342 免疫荧光结果显示, 细胞内纺锤体形态和染色体排列有明显异常 (图 5), 且与 PFOA 剂量呈正相关。与对照组相比, 10 和 20 mg/kg 组中卵母细胞 β -tubulin 形态异常, 染色体非整齐排列的比例分别升高了 65.06% 和 75.60%。

5 mg/kg 组与对照组差异不显著 ($P>0.05$), 10、20 mg/kg 组与对照组相比均差异显著 ($P<0.05$), 10 和 20 mg/kg 组之间差异不显著 ($P>0.05$)(图 6)。

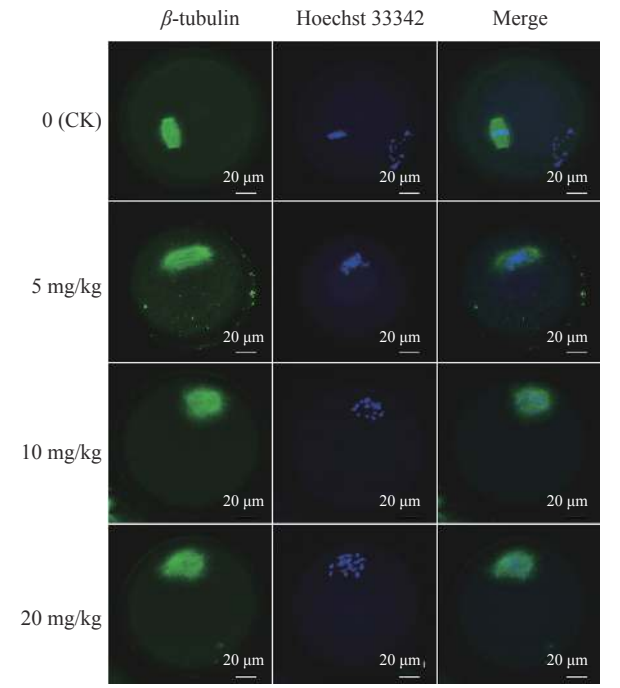


图 5 不同剂量 PFOA 暴露的卵母细胞骨架荧光图像

Fig. 5 Fluorescence images of cytoskeleton of oocytes exposed to different doses of PFOA

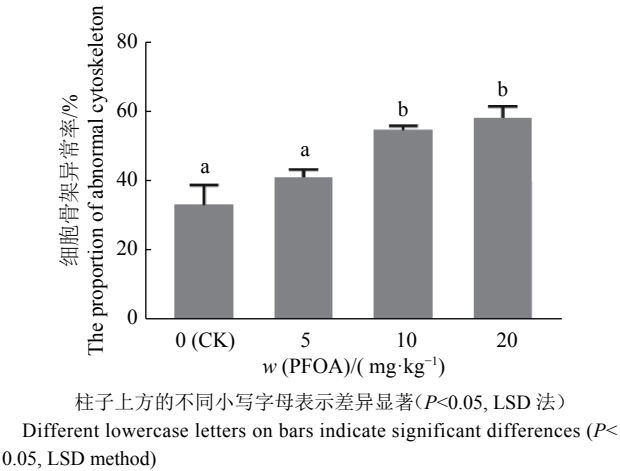


图 6 不同剂量 PFOA 暴露的卵母细胞骨架异常比例

Fig. 6 The proportions of abnormal cytoskeleton in oocytes exposed to different doses of PFOA

3 讨论与结论

近年来, 人们对环境污染物的关注度越来越高。PFOA 作为一种稳定的有机化合物给工业和制造业带来便利的同时也带来了诸多“副作用”。PFOA 在环境中持久存在, 使得人类或动物很容易受到污染。饮食、饮水是人类暴露 PFOA 的主要途径。本试验通过给小鼠灌服 PFOA 模拟人类的暴露

途径, 观察 PFOA 对雌性哺乳动物的生殖毒性。结果证实了 PFOA 可通过氧化应激、DNA 损伤和细胞骨架受损降低卵母细胞成熟率以及成熟质量。

ROS 是细胞代谢的天然副产物, 对细胞信号转导、稳态调节有着重要作用。当 ROS 的产生和中和不平衡时就会引起氧化应激。过量的 ROS 会导致脂质过氧化、蛋白降解、DNA 损伤等^[15]。研究发现, 环境污染物和毒素往往会增加细胞内 ROS 的产生, 最终诱导细胞内氧化应激并发挥毒性^[16]。已有研究表明 PFOA 可引起小鼠卵巢内 ROS 升高, 且呈剂量依赖性^[15]。为了研究 PFOA 对卵母细胞发育能力的影响, 我们检测了细胞内 ROS 水平, 发现 PFOA 可显著增加细胞内 ROS 含量, 诱导氧化应激, 进而抑制卵母细胞发育, 且剂量越高, 氧化应激越强。

据报道, ROS 相关氧化应激可诱导 DNA 损伤^[17]。P-H2A.X 被用作鉴定 DNA 损伤, 在细胞发生 DNA 双链断裂的数分钟内, H2AX 的 139 位丝氨酸残基被 *ATM*、*ATR*、*PRKC* 基因磷酸化形成 P-H2A.X。因此, P-H2A.X 的出现与 DNA 双链断裂紧密关联, 故其可作为 DNA 双链断裂的标志物^[18]。已有研究报道毒性化学制剂可诱导细胞 DNA 损伤, 如双酚 A (Bisphenol A) 通过增加氧化应激和 DNA 损伤对小鼠卵母细胞体外成熟产生负面影响, 对羟基苯甲酸丁酯 (Butylparaben) 通过 DNA 损伤抑制猪卵母细胞的体外成熟^[19-20]。于是我们猜测, PFOA 暴露会诱导卵母细胞 DNA 双链断裂。试验结果也证实了我们的猜想, PFOA 处理组的 P-H2A.X 阳性卵母细胞比例显著高于对照组, 提示 PFOA 暴露可通过诱导 DNA 双链断裂来抑制卵母细胞的成熟。

在减数分裂进程中, 染色体的正确分离主要取决于染色体-微管的稳定连接。纺锤体微管的形态异常引起染色体的错误分离, 导致卵母细胞和进一步胚胎发育过程中产生异倍体和基因组的不稳定现象。研究发现越来越多的环境毒素与纺锤体形态异常、染色体分裂错误有关。研究报道双酚 A 替代物双酚 B 可引起卵母细胞骨架受损^[21]; 邻苯二甲酸单酯能够干扰减数分裂过程中染色体分离和配子形成^[22]。本研究中, PFOA 处理后的卵母细胞有很大比例出现纺锤体异常和染色体错位。微管、肌动蛋白丝和染色质相互作用完成染色体分离, 建立细胞不对称^[23-24]。 β -tubulin 在 PFOA 处理的卵母细胞中的异常定位是纺锤体缺陷的原因之一。纺锤体缺陷导致异常的染色体排列。因此, 本文结果表明,

PFOA 暴露可通过诱导纺锤体缺陷和染色体排列异常进而抑制卵母细胞的成熟。这些发现有助于提高人们对 PFOA 生殖毒性的认识, 为今后的研究提供参考依据。未来可以对 PFOA 损伤哺乳动物卵母细胞的分子机制做进一步研究。

综上所述, 本研究评估了 PFOA 体内暴露对小鼠卵母细胞的影响, 结果表明 PFOA 暴露会通过诱导 ROS 生成、DNA 损伤、纺锤体形态发育缺陷、染色体排列异常等途径影响卵母细胞成熟率及成熟质量。

参考文献:

- [1] GIESY J P, KANNAN K, JONES P D. Global biomonitoring of perfluorinated organics[J]. *Scientific World Journal*, 2001, 1: 627-629.
- [2] KOSKELA A, FINNILA M A, KORKALAINEN M, et al. Effects of developmental exposure to perfluorooctanoic acid (PFOA) on long bone morphology and bone cell differentiation[J]. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 2016, 301: 14-21.
- [3] FROMME H, TITTELMIER S A, VOLKEL W, et al. Perfluorinated compounds: Exposure assessment for the general population in Western countries[J]. *International Journal of Hygiene & Environmental Health*, 2009, 212(3): 239-270.
- [4] 夏慧, 敖俊杰, 袁涛. 室内灰尘中全氟化合物的污染状况与人体暴露水平评估[J]. *生态毒理学报*, 2016, 11(2): 223-230.
- [5] 杜国勇, 蒋小萍, 卓丽, 等. 长江流域重庆段水体中全氟化合物的污染特征及风险评价[J]. *生态环境学报*, 2019, 28(11): 2266-2272.
- [6] 陈诗艳, 仇雁翎, 朱志良, 等. 土壤中全氟和多氟烷基化合物的污染现状及环境行为[J]. *环境科学研究*, 2021, 34(2): 468-478.
- [7] JOGSTEN I E, PERELLO G, LLEBARIA X, et al. Exposure to perfluorinated compounds in Catalonia, Spain, through consumption of various raw and cooked foodstuffs, including packaged food[J]. *Food and chemical toxicology*, 2009, 47(7): 1577-1583.
- [8] BACH C C, VESTED A, JORGENSEN K T, et al. Perfluoroalkyl and polyfluoroalkyl substances and measures of human fertility: A systematic review[J]. *CRC Critical Reviews in Toxicology*, 2016, 46(9): 735-755.
- [9] ZHANG S, TAN R, PAN R, et al. Association of perfluoroalkyl and polyfluoroalkyl substances with premature ovarian insufficiency in Chinese women[J]. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 2018, 103(7): 2543-2551.
- [10] CHEN Y, ZHOU L, XU J, et al. Maternal exposure to perfluorooctanoic acid inhibits luteal function via oxidative stress and apoptosis in pregnant mice[J]. *Reproductive Toxicology*, 2017, 69: 159-166.

- [11] DU G, HU J, HUANG Z, et al. Neonatal and juvenile exposure to perfluorooctanoate (PFOA) and perfluorooctane sulfonate (PFOS): Advance puberty onset and kisspeptin system disturbance in female rats[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2019, 167: 412-421.
- [12] KANG Q, GAO F, ZHANG X, et al. Nontargeted identification of per- and polyfluoroalkyl substances in human follicular fluid and their blood-follicle transfer[J]. *Environment International*, 2020, 139: 105686.
- [13] RASHID F, RAMAKRISHNAN A, FIELDS C, et al. Acute PFOA exposure promotes epigenomic alterations in mouse kidney tissues[J]. *Toxicology Reports*, 2020, 7: 125-132.
- [14] XU W, LI L, SUN J, et al. Putrescine delays postovulatory aging of mouse oocytes by upregulating PDK4 expression and improving mitochondrial activity[J]. *Aging (Albany NY)*, 2018, 10(12): 4093-4106.
- [15] LOPEZ-ARELLANO P, LOPEZ-ARELLANO K, LUNA J, et al. Perfluorooctanoic acid disrupts gap junction intercellular communication and induces reactive oxygen species formation and apoptosis in mouse ovaries[J]. *Environmental Toxicology*, 2019, 34(1): 92-98.
- [16] YANG L L, ZHAO Y, LUO S M, et al. Toxic effects and possible mechanisms of hydrogen sulfide and/or ammonia on porcine oocyte maturation in vitro[J]. *Toxicology Letters*, 2018, 285: 20-26.
- [17] YU Y, CUI Y, NIEDERNHOFER L J, et al. Occurrence, biological consequences, and human health relevance of oxidative stress-induced DNA damage[J]. *Chemical Research in Toxicology*, 2016, 29(12): 2008-2039.
- [18] DING Z M, ZHANG S X, JIAO X F, et al. Doxorubicin exposure affects oocyte meiotic maturation through DNA damage induced meiotic arrest[J]. *Toxicological Sciences*, 2019, 171(2): 359-368.
- [19] DING Z M, JIAO X F, WU D, et al. Bisphenol AF negatively affects oocyte maturation of mouse in vitro through increasing oxidative stress and DNA damage[J]. *Chemico-Biological Interactions*, 2017, 278: 222-229.
- [20] JEONG P S, LEE S, PARK S H, et al. Butylparaben is toxic to porcine oocyte maturation and subsequent embryonic development following in vitro fertilization[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2020, 21(10): 3692.
- [21] JIAO X, DING Z, MENG F, et al. The toxic effects of Fluorene-9-bisphenol on porcine oocyte in vitro maturation[J]. *Environmental Toxicology*, 2020, 35(2): 152-158.
- [22] TRANFO G, CAPOROSSI L, PACI E, et al. Urinary phthalate monoesters concentration in couples with infertility problems[J]. *Toxicology Letters*, 2012, 213(1): 15-20.
- [23] BENNABI I, TERRET M E, VERLHAC M H. Meiotic spindle assembly and chromosome segregation in oocytes[J]. *Journal of Cell Biology*, 2016, 215(5): 611-619.
- [24] AZOURY J, VERLHAC M H, DUMONT J. Actin filaments: Key players in the control of asymmetric divisions in mouse oocytes[J]. *Biology of the Cell*, 2009, 101(2): 69-76.

【责任编辑 庄 延】