

# 哺乳动物卵母细胞老化的研究进展

王建英 万发春 孟小倩 张秀美\*

( 山东省农业科学院畜牧兽医研究所 畜禽疫病防治和繁育重点实验室 济南 250100;  
山东师范大学生命科学学院动物抗性重点实验室 济南 250014)

**摘要:** 卵母细胞的老化能够导致妊娠率降低、流产率增加和出生缺陷。研究排卵后卵母细胞在老化过程中发生的变化及卵母细胞老化的机制,探讨延缓卵母细胞老化的有效措施,对于改进卵母细胞体外成熟和受精系统,完善辅助生殖技术并减少出生缺陷具有重要的理论和现实意义。本文将从卵母细胞老化研究所用的方法,老化过程中纺锤体相关蛋白、线粒体、泛素、组蛋白修饰和 DNA 甲基化修饰的变化,卵母细胞老化与皮质反应、多精受精及凋亡的关系,老化的影响因素和分子机制等几个方面对哺乳动物卵母细胞老化的研究进展做一综述。

**关键词:** 哺乳动物; 卵母细胞; 老化

**中图分类号:** Q492 **文献标识码:** A **文章编号:** 0250-3263(2009)02-147-06

## Mammalian Oocyte Aging : a Review

WANG Jian-Ying WAN Fa-Chun MENG Xiao-Qian ZHANG Xiu-Mei\*

( Key Laboratory of Animal Disease Control and Breeding, Animal Husbandry/Vet Institute,  
Shandong Academy of Agricultural Science, Jinan 250100;

Key Laboratory of Animal Resistance Research, College of Life Science, Shandong Normal University, Jinan 250014, China)

**Abstract:** Oocyte aging induces low pregnancy, increases abortion and causes more birth defects. In order to optimize the system for *in vitro* maturation and fertilization of oocytes, improve assisted reproductive technology (ART) and lower birth defects, it is theoretically and practically important to study the changes and mechanism of oocyte aging, and to explore the effective method for retarding this process. Thereby we make a brief review of the methods for oocyte aging studies, changes of spindle-associated proteins, mitochondria, ubiquitin, histone modification and DNA methylation modification during this process as well as its relations with cortical reaction, polyspermy and apoptosis. Factors affecting oocyte aging and molecular mechanisms of oocyte aging are also discussed.

**Key words:** Mammalian; Oocyte; Aging

卵母细胞的老化能够导致妊娠率降低、流产率增加和出生缺陷增加。在体外培养体系中,卵母细胞的老化也是引起异常受精、异常卵裂、受精后胚胎非整倍体率增高的主要原因。根据卵母细胞是在卵泡还是输卵管停留相对较长的时间,哺乳动物卵母细胞的老化可以分为排卵前老化和排卵后老化。根据卵母细胞所处的时期,哺乳动物卵母细胞的老化又可以分为生发泡(germinal vesicle, G<sub>1</sub>)期老化和 M 期

老化。G<sub>2</sub> 期老化主要与年龄所引起的老化有

基金项目 山东省农业科学院创新基金项目 (No. 2006 YCX021), 山东省农业良种工程项目 (No. 2006 LZ10-01), 山东省中青年科学家科研奖励基金项目 (No. 2008BS02016), 山东省博士后创新项目专项资金 (No. 200803017);

\* 通讯作者, E-mail: zxm820410@163.com;

第一作者介绍 王建英,女,博士;研究方向:动物繁育;  
E-mail: wjyorchid@yahoo.com.cn.

收稿日期:2008-08-13,修回日期:2008-12-30

关,而 M 期老化则是由排卵和受精时间的不同造成的。这两种分类不只是称谓不一样。排卵前老化不等同于生发期老化,排卵后老化也不等同于 M 期老化。如排卵前的卵母细胞老化也可能造成老化的 M 期卵母细胞排出。

在现代社会,很多女性不断推迟怀孕的时间,同时由于人类的性生活可以在月经周期的任何时间进行,这就容易导致排卵和受精时间的不同步,造成老化的卵母细胞受精。了解卵母细胞老化的影响因素并从分子水平了解调节卵母细胞老化的分子机制,不仅可阐明卵母细胞成熟和受精的机制,而且可对卵母细胞体外成熟以及受精系统的改进、辅助生殖技术的完善和出生缺陷的减少提供指导。本文将从卵母细胞老化所用的研究方法,老化过程中发生的变化,老化与皮质反应,多精受精及凋亡的关系,老化的影响因素和分子机制等几个方面对哺乳动物卵母细胞老化的研究进展做一综述。

## 1 研究卵母细胞老化常用的方法

研究卵母细胞老化常用的方法有激光共聚焦显微术、免疫蛋白印迹、实时荧光定量 PCR、原位末端标记法、核移植和单精注射等技术。

激光共聚焦显微(confocal laser scanning microscopy)术:激光共聚焦显微术可用于检测卵母细胞老化过程中细胞骨架系统的变化和线粒体、组蛋白修饰蛋白等的分布变化,但是针对哺乳动物卵母细胞的特点需要做许多调整以得到理想结果。

免疫蛋白印迹技术(western):是研究哺乳动物卵母细胞的老化过程中重要的丝裂原活化蛋白激酶、成熟促进因子、纺锤体检验点蛋白和泛素等表达差异的一项常规技术。

实时荧光定量 PCR(real-time PCR)技术:可以快速、准确定量某种基因在细胞内的表达水平,从而可以用于研究卵母细胞老化前后 DNA 甲基转移酶(DNMT1<sub>o</sub> 和 DNMT1<sub>s</sub>)、DNMT 相关蛋白 1(dnmt-associated protein-1, DMAP1)以及 DNMT3L、纺锤体检验点蛋白和线粒体的基因转录水平的差异。

原位末端标记法(tunnel):在卵母细胞老化过程中,会出现一些与凋亡相关的变化,因此可以借助于简单可靠的研究细胞凋亡的方法来研究卵母细胞老化。老化后卵的成分到底发生了何种变化,这种变化是如何引起发育能力的下降及凋亡的发生,尚需深入研究。

核移植(nuclear transfer, NT):是指将供体的细胞核移入去核的成熟卵母细胞中,采用一定的方法激活卵母细胞,构建重构胚,经移植后发育成新个体的技术。这项技术可用于研究老化卵母细胞的发育潜力以及如何控制卵母细胞老化,还可用于研究老化最初是发生在细胞核还是细胞质中<sup>[1]</sup>。

单精注射(intracytoplasmic sperm injection, ICSI)是在显微镜下将单个精子注射到卵母细胞细胞质中的方法。它是研究老化卵母细胞的发育潜力最直接有效的方法。

## 2 卵母细胞老化过程中发生的变化

2.1 纺锤体相关蛋白 卵母细胞老化会导致纺锤体组装异常、染色体的错误排列和姐妹染色单体的过早分离,从而导致非整倍性。在卵母细胞排卵后的老化过程中,细胞可能发生了一系列的理化特性改变,纺锤体相关蛋白发生了变化<sup>[2]</sup>。因为染色体的排列和分离都依赖于微管构成的纺锤体,如果纺锤体异常,附着于纺锤体上的染色体构象可能也会出现异常。

2.1.1 细胞骨架系统的变化 细胞骨架由微管、微丝和中等纤维构成。微管构成在分裂细胞中牵引染色体到达分裂极的纺锤体。微丝的作用是控制遗传物质的迁移。随着猪卵母细胞体外培养时间延长,纺锤体和染色体异常率增高,大部分纺锤体表现为极性完全消失,部分细胞甚至缺如纺锤体结构<sup>[3]</sup>。但是老化引起纺锤体异常的机制还不清楚<sup>[4]</sup>。猪卵母细胞老化过程中,纺锤体结构发生了退行性变化,但是细胞内  $\alpha$ -tubulin 的表达量没有显著变化<sup>[3]</sup>。培养 50 h 和 60 h 老化的 M 期猪卵母细胞中间板上的微丝区域明显比培养 40 h 的卵母细胞厚<sup>[5]</sup>。

2.1.2 丝裂原活化蛋白激酶和成熟促进因子

丝裂原激活的蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase, MAPK) 与成熟促进因子 (maturation-promoting factor, MPF) 在减数分裂过程中发生复杂的相互作用,两者的激活和/或失活导致了减数分裂的进入、阻滞和退出<sup>[6,7]</sup>。MPF 与 MAPK 失活被认为是克服中期阻滞和受精后原核核膜组装的重要前提,MPF 的活化和失活均早于 MAPK。在老化的牛卵母细胞中,卵母细胞的活化及核的进程比幼龄的卵母细胞快。MPF 失活的时间比幼龄的卵母细胞早 2.5 h; MAPK 失活的时间比幼龄的卵母细胞早 2 h<sup>[8]</sup>。免疫蛋白印迹技术的结果表明,排卵后老化的小鼠 M 期卵母细胞的 MPF 活性会逐渐降低<sup>[9,10]</sup>。而在体外培养的猪卵母细胞中,随着培养时间的延长,MAPK<sup>[41]</sup> 和 MPF 活性也逐渐降低。

**2.1.3 纺锤体检验点蛋白** 虽然卵母细胞老化的分子机制还不清楚,但是卵母细胞中纺锤体检验点复合物功能的下降和有丝分裂阻滞缺陷蛋白 2 (mitotic arrest deficient 2, MAD2) 下调能够导致卵母细胞的老化和凋亡<sup>[11]</sup>,同样,老化的卵母细胞中纺锤体检验点蛋白的表达水平也明显降低。猪卵培养 40 ~ 72 h,着丝粒蛋白 B (centromere protein B, CENP B) 没有变化, MAD2 蛋白表达水平逐步下降<sup>[41]</sup>。老龄妇女老化的 G 期卵母细胞中, MAD2 和苯丙咪唑非抑制性出芽蛋白 1 (budding uninhibited by benzimidazole 1, BUB1) 的基因表达水平下降<sup>[12]</sup>。排卵后老化的小鼠卵母细胞中, MAD2 的基因表达水平也相应下降<sup>[13]</sup>。纺锤体检验点蛋白表达的下调会引起染色体的错误排列和异常分离,是导致卵子老化后出现非整倍性染色体的主要原因。

**2.2 线粒体** 卵母细胞的老化表现为细胞核和细胞质的成熟过度。线粒体作为细胞内的动力工厂和惟一具有遗传功能的细胞器,它的功能状态是细胞质成熟的一个重要指标。线粒体在卵母细胞发育成熟过程中的分布变化和线粒体的基因表达水平以及产生 ATP 能力的大小将直接影响着卵母细胞的质量、受精过程和随后的胚胎发育<sup>[14]</sup>。老化的卵母细胞中参与线

粒体电子传递链的 *asm1-Nd3*、*mt-Atp6* 和 *mt-Co1-3* 基因表达水平有很大提高,与核苷和 ATP 代谢有关的基因以及与 ATP 结合有关的基因的表达水平下降,调节线粒体基因的转录因子 NF-kappa B 的抑制因子 I kappa B alpha 表达水平上调,产生 ATP 的能力下降,线粒体内膜的膜电位降低<sup>[15]</sup>。正常猪卵母细胞内线粒体分布均匀,随着猪卵母细胞体外培养时间的延长,出现线粒体聚集的细胞数目明显增加,线粒体聚集程度加剧<sup>[41]</sup>。

**2.3 泛素** 泛素能够与各种连接酶以及蛋白水解酶复合体组成泛素-蛋白水解酶复合体系统。在卵母细胞减数分裂成熟过程中,泛素-蛋白水解酶复合体通路 (ubiquitin-proteasome pathway, UPP) 可以高度选择性地降解细胞内特异性蛋白,从而使细胞通过特定的检验点<sup>[16]</sup>。但是伴随着卵母细胞的老化,游离泛素的减少和更多的泛素蛋白复合体的形成,导致泛素化失败以及一些有害蛋白质的积累,从而抑制了蛋白水解酶的活性<sup>[15]</sup>。

**2.4 组蛋白修饰** 到目前为止,至少已经发现了 8 种类型的组蛋白修饰:乙酰化、甲基化、磷酸化、泛素化、小泛素相关修饰物 (small ubiquitin-related modifier, SUMO) 化、ADP-核糖基化、去亚胺化和脯氨酸异构化。其中,乙酰化、甲基化、磷酸化和泛素化与激活相关,而甲基化、泛素化、SUMO 化、去亚胺化和脯氨酸异构化则与抑制相关。激光共聚焦显微术的结果表明,在小鼠卵母细胞老化过程中,小鼠卵母细胞组蛋白 H3 上的 14 赖氨酸以及组蛋白 H4 上的赖氨酸 8 和 12 位点乙酰化水平逐步提高<sup>[17]</sup>。Akiyama 等则认为年轻鼠同老龄鼠 M 期老化的卵母细胞发生乙酰化的位点并不相同,前者发生乙酰化的是 H3K14 与 H4K16,而后者是 H4K12。年轻鼠 M 期卵母细胞 H4K12 是去乙酰化的,老龄鼠的 H4K12 则发生乙酰化<sup>[18]</sup>。与常染色质的基因沉默有关的 H3K9 的甲基化降低也可能参与卵母细胞的老化,它可能与老化引起的小鼠繁殖性能降低和寿命缩短有关<sup>[19]</sup>。此外,在老化的卵母细胞中,参与组蛋白修饰的

一些酶的表达水平下降,如能够与 DNA 甲基转移酶 1 (DNA methyltransferase 1, DNMT1) 互相作用抑制转录的组蛋白去乙酰酶 2 (histone deacetylase 2, HDAC2) 及参与细胞衰老的组蛋白乙酰基转移酶 *Myst1* 和 *Mrgx*<sup>[15]</sup>。

**2.5 DNA 甲基化修饰** 基因组的甲基修饰是影响基因表达的一种主要表观遗传修饰方式,在胚胎发育、细胞老化和癌症发生中充当着重要的角色。DNA 甲基化 (DNA methylation) 通常能关闭某些基因的活性,去甲基化或低甲基化则诱导了基因的重新活化和表达。另外,甲基修饰和组蛋白修饰还可相互影响。雌性原生殖细胞进入减数分裂阻滞期时发生 DNA 去甲基化,出生后开始发生重甲基化。重甲基化导致成熟的卵子有较高的甲基化程度,因而不发生基因转录<sup>[20]</sup>。

在老化的小鼠卵母细胞中, DNA 甲基转移酶 (*DNMT1 $\alpha$*  和 *DNMT1 $\beta$* )、DNMT 相关蛋白 1 以及 *DNMT3L* 转录水平下降,而 DNA 重新甲基转移酶 3b (*DNMT3 $\beta$* ) 的转录水平提高<sup>[15]</sup>。随小鼠卵母细胞培养时间的延长,甲基化的形式和甲基修饰都会发生变化。非 CpG 岛的甲基化能转变为 CpG 岛的甲基化。*Peg1/Mest* 在刚排出的 M 期卵母细胞是甲基化的,经过短时间培养后,变为高度甲基化,随着培养时间的延长,部分卵母细胞会发生去甲基化<sup>[21]</sup>。

### 3 卵母细胞老化与皮质反应及多精受精

卵母细胞老化与多精受精强烈正相关。多精受精通常会导致胚胎发育障碍或异常、早期胚胎死亡和多倍体的产生,皮质反应是防止多精受精的主要机制,皮质颗粒 (cortical granule, CG) 在此过程中发挥主要作用。受精后,皮质颗粒的内容物很快释放到卵周隙中,使透明带硬化,同时卵质膜发生相应的变化,从而达到阻止多精受精的目的<sup>[22]</sup>。老化的卵子转移到皮质区的皮质颗粒又退回到细胞内,皮质颗粒释放不足,会导致皮质反应不全。猪卵母细胞约在排卵后 12 h 开始变得老化——CG 由于外

倾、内移、完整外排和原位破裂而数目发生明显减少<sup>[23]</sup>。小鼠体内和体外卵的老化都会影响 CG 的释放<sup>[10]</sup>。由于皮质颗粒的减少,体内和体外老化卵子的透明带硬化,注射 HCG 后 55 h,小鼠卵子将失去受精能力<sup>[24]</sup>。

### 4 卵母细胞老化与凋亡的关系

凋亡是细胞坏死的前奏,卵母细胞老化又是凋亡的前奏,因此可以借助于现在比较成熟的研究细胞凋亡的方法来研究卵母细胞老化。猪卵培养 40 ~ 72 h,抗凋亡蛋白 *Bcl2* 表达水平逐步下降。60 ~ 72 h 卵母细胞出现明显的凋亡特征,即片断化和线粒体凝集<sup>[4]</sup>。

### 5 卵母细胞老化的影响因素和分子机制

了解卵母细胞老化的影响因素及卵母细胞老化的分子机制,才能找到延缓卵母细胞老化的方法,以及为卵母细胞体外成熟和受精系统的改进、辅助生殖技术的完善和出生缺陷的减少提供指导。

动物年龄和体外培养时间是影响卵母细胞老化的主要因素,体外培养时间延长一般引起 M 期卵母细胞老化,而由于卵巢机能的退化和神经内分泌因子的变化,老龄可引起卵母细胞 G 期老化和 M 期老化。除此之外,卵丘细胞也可促进小鼠卵母细胞老化<sup>[10,25]</sup>。营养、激素、温度<sup>[26]</sup>等也可能与卵母细胞的老化有关。老化影响卵母细胞随后的发育。体外培养时间延长的牛老化卵的受精率低,同时染色体异常发生率增加,受精卵的发育速度减慢。在小鼠、兔等实验动物的研究中,老化卵子受精后的囊胚发育率降低。

尽管研究者们做了一定的工作,但是卵母细胞老化确切的分子机制仍未阐明。老龄引起的老化除与卵巢机能的退化和神经内分泌因子的变化有关外,还与检验点功能的缺失、线粒体 DNA 缺失有关,老龄鼠老化的卵母细胞中纺锤体完整性受到破坏,染色体列队出现错误<sup>[27]</sup>。线粒体 DNA 缺失也可能是卵母细胞老化的重

要标志。Keefe 等<sup>[28]</sup>首先发现高龄女性的卵巢组织、卵子及颗粒细胞出现高的线粒体 DNA 4 977 bp 缺失。线粒体 DNA 突变被认为是老龄妇女胚胎着床率低的主要原因。染色体的过早分离造成的非整倍性,可能是由于干扰了黏合素(cohesin)把姐妹染色单体粘连造成的<sup>[29]</sup>。Cui 等利用生发泡移植技术将老龄小鼠的生发泡移植到幼龄鼠卵母细胞的细胞质中,发现老化引起的损伤不能修复,所以可能中期纺锤体中染色体的列队是由生发泡内的物质决定的<sup>[30]</sup>。还有人认为,环磷酸鸟苷(cGMP)信号通路在卵母细胞老化过程中发挥重要作用,cGMP 信号通路的活化可延缓糖尿病人的卵母细胞老化,一氧化氮有助于维持卵母细胞的活力和防止老化<sup>[31]</sup>。

MPF 和 MAPK 活性的改变在调节卵母细胞老化方面起到重要作用。MPF 与 MAPK 活性的降低导致纺锤体的缺失、定位异常和染色质解体<sup>[9]</sup>。MPF 与 MAPK 的不适时有序失活是造成牛卵母细胞老化的主要原因<sup>[8]</sup>。Kikuchi 等人认为猪卵母细胞的老化是由于磷酸化无活性 MPF 的水平提高,导致 MPF 活性的逐步降低造成的<sup>[32]</sup>。钒酸盐(vanadate)能降低 MPF 活性,咖啡因(caffeine)能提高 MPF 活性,二者可能通过控制 MPF 的磷酸化状态对控制卵母细胞老化发挥作用<sup>[33]</sup>。

应该指出的是,随着年龄的增长和体外培养时间的延长,卵母细胞老化是客观存在的、不可避免的,但是如何延缓卵母细胞的老化也就自然而然成为一个迫切需要解决的问题,科学家们为解决这一问题正在不懈的努力。虽然到目前为止,仍未发现很有效的方法,但我们相信,随着研究的深入,这一问题一定会得到理想的解决。

## 参 考 文 献

- [ 1 ] Liu L , Keefe D L . Nuclear transfer methods to study aging . *Methods Mol Biol* ,2007 ,**371** :191 ~ 207 .
- [ 2 ] Baird D T , Collins J , Egozcue J , et al . Fertility and ageing . *Hum Reprod Update* ,2005 ,**11** (3) :261 ~ 276 .
- [ 3 ] Ma W , Zhang D , Hou Y , et al . Reduced expression of MAD2 , BCL2 , and MAP kinase activity in pig oocytes after *in vitro* aging are associated with defects in sister chromatid segregation during meiosis II and embryo fragmentation after activation . *Biol Reprod* ,2005 ,**72** (2) :373 ~ 383 .
- [ 4 ] Keefe D , Liu L , Wang W , et al . Imaging meiotic spindles by polarization light microscopy : principles and applications to IVF . *Reprod Biomed Online* ,2003 ,**7** (1) :24 ~ 29 .
- [ 5 ] Kim N H , Moon S J , Prather R S , et al . Cytoskeletal alteration in aged porcine oocytes and parthenogenesis . *Mol Reprod Dev* , 1996 ,**43** (4) :513 ~ 518 .
- [ 6 ] 孙青原 , 陈大元 , 佟超等 . MAPK 信号通路在卵母细胞减数分裂中的作用 . *科学通报* ,2002 ,**47** (9) :650 ~ 656 .
- [ 7 ] 霍立军 , 范衡宇 , 陈大元等 . 卵母细胞减数分裂和受精过程中 MPF 和 MAPK 的作用和相互调节 . *自然科学进展* ,2004 ,**14** (3) :256 ~ 261 .
- [ 8 ] Tian X C , Lonergan P , Jeong B S , et al . Association of MPF , MAPK , and nuclear progression dynamics during activation of young and aged bovine oocytes . *Mol Reprod Dev* ,2002 ,**62** (1) :132 ~ 138 .
- [ 9 ] Xu Z , Abbott A , Kopf G S , et al . Spontaneous activation of ovulated mouse eggs : time-dependent effects on M-phase exit , cortical granule exocytosis , maternal messenger ribonucleic acid recruitment , and inositol 1 , 4 , 5-trisphosphate sensitivity . *Biol Reprod* ,1997 ,**57** (4) :743 ~ 750 .
- [ 10 ] Qiao T W , Liu N , Miao D Q , et al . Cumulus cells accelerate aging of mouse oocytes by secreting a soluble factor (s) . *Mol Reprod Dev* ,2008 ,**75** (3) :521 ~ 528 .
- [ 11 ] Wang J Y , Lei Z L , Nan C L , et al . RNA Interference as a tool to study the function of MAD2 in mouse oocyte meiotic maturation . *Mol Reprod Dev* ,2007 ,**74** (1) :116 ~ 124 .
- [ 12 ] Steuerwald N , Cohen J , Herrera R J , et al . Association between spindle assembly checkpoint expression and maternal age in human oocytes . *Mol Hum Reprod* ,2001 ,**7** (1) :49 ~ 55 .
- [ 13 ] Steuerwald N M , Steuerwald M D , Mailhes J B . Post-ovulatory aging of mouse oocytes leads to decreased MAD2 transcripts and increased frequencies of premature centromere separation and anaphase . *Mol Hum Reprod* ,2005 ,**11** (9) :623 ~ 630 .
- [ 14 ] Deng W P , Ren Z R . Mitochondrial and oocyte development . *Hereditas* (Beijing) ,2007 ,**29** (12) :1 429 ~ 1 433 .
- [ 15 ] Hamatani T , Falco G , Carter M G , et al . Age-associated alteration of gene expression patterns in mouse oocytes . *Hum Mol Genet* ,2004 ,**13** (19) :2 263 ~ 2 278 .
- [ 16 ] 霍立军 , 范衡宇 , 陈大元等 . 泛素-蛋白酶复合体通路在卵母细胞减数分裂和受精中的作用 . *细胞生物学杂志* ,2003 ,**25** (2) :73 ~ 77 .
- [ 17 ] Huang J C , Yan L Y , Lei Z L , et al . Changes in histone acetylation during postovulatory aging of mouse oocyte . *Biol*

- Reprod, 2007, **77** (4) : 666 ~ 670.
- [18] Akiyama T, Nagata M, Aoki F. Inadequate histone deacetylation during oocyte meiosis causes aneuploidy and embryo death in mice. *Proc Natl Acad Sci*, 2006, **103** (19) : 7 339 ~ 7 344.
- [19] 于建宁, 王蒙, 王丹秋等. 排卵后老化卵母细胞的染色体形态变化. *遗传*, 2007, **29** (2) : 225 ~ 229.
- [20] Liu J H, Zhu J Q, Liang X W, *et al.* Diploid parthenogenetic embryos adopt a maternal-type methylation pattern on both sets of maternal chromosomes. *Genomics*, 2008, **91** (2) : 121 ~ 128.
- [21] Imamura T, Kerjean A, Heams T, *et al.* Dynamic CpG and non-CpG methylation of the *Peg1/Mest* gene in the mouse oocyte and preimplantation embryo. *J Biol Chem*, 2005, **280** (20) : 20 171 ~ 20 175.
- [22] 杨增明, 孙青原, 夏国良. 生殖生物学. 北京: 科学出版社, 2005, 171 ~ 177.
- [23] 谭景和. 猪排卵后卵母细胞老化过程的超微结构研究. *畜牧兽医学报*, 1985, **16** (1) : 1 ~ 5.
- [24] Dodson M G, Minhas B S, Curtis S K, *et al.* Spontaneous zona reaction in the mouse as a limiting factor for the time in which an oocyte may be fertilized. *J In Vitro Fert Embryo Transf*, 1989, **6** (2) : 101 ~ 106.
- [25] Miao Y L, Liu X Y, Qiao T W, *et al.* Cumulus cells accelerate aging of mouse oocytes. *Biol Reprod*, 2005, **73** (5) : 1 025 ~ 1 031.
- [26] Ye J, Coleman J, Hunter M G, *et al.* Physiological temperature variants and culture media modify meiotic progression and developmental potential of pig oocytes *in vitro*. *Reproduction*, 2007, **133** (5) : 877 ~ 886.
- [27] Liu L, Keefe D L. Ageing-associated aberration in meiosis of oocytes from senescence-accelerated mice. *Hum Reprod*, 2002, **17** (10) : 2 678 ~ 2 685.
- [28] Keefe D L, Niveir-Fairchild T, Powell S, *et al.* Mitochondrial deoxyribonucleic acid deletions in oocytes and reproductive aging in women. *Fertil Steril*, 1995, **64** (3) : 577 ~ 583.
- [29] Pellestor F. Maternal age and chromosomal abnormalities in human oocytes. *Med Sci (Paris)*, 2004, **20** (6-7) : 691 ~ 696.
- [30] Cui L B, Huang X Y, Sun F Z. Transfer of germinal vesicle to ooplasm of young mice could not rescue ageing-associated chromosome misalignment in meiosis of oocytes from aged mice. *Hum Reprod*, 2005, **20** (6) : 1 624 ~ 1 631.
- [31] Goud A P, Goud P T, Diamond M P, *et al.* Activation of the cGMP signaling pathway is essential in delaying oocyte aging in diabetes mellitus. *Biochemistry*, 2006, **45** (38) : 11 366 ~ 11 378.
- [32] Kikuchi K, Naito K, Noguchi J, *et al.* Inactivation of p34cdc2 kinase by the accumulation of its phosphorylated forms in porcine oocytes matured and aged *in vitro*. *Zygote*, 1999, **7** (2) : 173 ~ 179.
- [33] Kikuchi K, Naito K, Noguchi J, *et al.* Maturation/M-phase promoting factor: a regulator of aging in porcine oocytes. *Biol Reprod*, 2000, **63** (3) : 715 ~ 722.

## 欢迎订阅《动物学杂志》

《动物学杂志》是中国科学院动物研究所、中国动物学会主办的科技期刊,亦是中國自然科学核心期刊。主要报道动物学领域的最新研究成果,介绍有创见的新思想、新学说、新技术、新方法。报道范围既有宏观生态研究,又有微观实验技术。报道层次既有科学前沿性、资料性的,也有技术性、知识性的。稿件内容涉及范围广,实用性强,主要栏目有:研究报告、珍稀濒危动物、技术与方法、研究简报和快讯、科技动态等等。读者对象为动物科学领域的研究、教学、技术、管理人员及广大业余爱好者。

近年,《动物学杂志》各项统计指标有了很大的提高,是国内各大数据库及国外著名数据库英国《动物学记录》、美国《化学文摘》、俄罗斯《文摘杂志》收录的源期刊。

《动物学杂志》双月刊,16开,112页,2009年每册定价35元,全年210元,国内外公开发行。国内邮发代号:2-422;国外发行代号(Code No.):BM58。全国各地邮局均可订阅。如未能在当地邮局订到,可与编辑部直接联系。本刊对在校大学生及个人订户7折优惠(直接与编辑部联系订阅)。

地址:北京市朝阳区北辰西路1号院5号,中国科学院动物研究所内《动物学杂志》编辑部

邮编:100101;电话:(010)64807162;

E-mail: journal@ioz.ac.cn。网址:bird.chinajournal.net.cn; dwxzz.ioz.ac.cn。

欢迎投稿、欢迎订阅、欢迎刊登广告。