

www.pibb.ac.cn

# 胚胎早期发育过程中核仁前体的研究进展\*

## 付博刘娣\*\*

(黑龙江省农业科学院畜牧研究所,黑龙江省作物与家畜分子育种重点实验室,哈尔滨150086)

**摘要** 核仁前体存在于卵母细胞及早期胚胎中,由于核仁前体在卵母细胞中的含量较少且结构致密,目前,只有少数核仁前体组分得到了鉴定.核仁前体结构的完整组成尚未被详细解析,明确核仁前体在胚胎早期发育过程中发挥的作用及其机制尚存挑战.早期的观点认为:核仁前体虽不具备加工 rRNA 及生成核糖体的功能,但该结构为纤维颗粒状核仁的生成提供了物质基础,从而使发育后期胚胎重获核糖体生成能力.近期,这一观点逐步得到了修正.基于显微操作技术的核仁前体转移实验证实:母源核仁前体在胚胎早期发育过程中发挥关键作用,且发挥作用的时间窗口限定在受精至原核期之间.核仁前体可参与染色质重塑过程并维持着丝粒稳定,进而影响胚胎早期发育.本文主要综述了核仁前体的结构功能特点及发挥作用的潜在机制,从核仁前体的角度为拯救早期胚胎的发育潜能提供新思路.

关键词 核仁前体,胚胎早期发育,染色质重塑,着丝粒 学科分类号 Q819, S828.9

核仁为间期细胞核内最明显的结构,体细胞中 的核仁呈纤维颗粒状,主要参与 rDNA 转录、 rRNA 前体(pre-rRNA)加工及核糖体的生成<sup>III</sup>;在卵 母细胞和早期胚胎中也存在类似结构,称之为核仁 前体(nucleolus precursor bodies, NPBs), 但该结构 并不具有 rDNA 转录及 pre-rRNA 加工作用. 传统 的观点认为: NPBs 虽不具备加工 rRNA 及生成核 糖体的功能,但该结构为纤维颗粒状核仁的生成提 供了物质储备,随着胚胎的逐步发育,利用 NPBs 储存的蛋白装配纤维颗粒状核仁,从而使发育后期 胚胎重获核糖体生成能力[2-3]. 然而,新近的研究 却对这一观点提出了修正. 新观点认为: 卵母细胞 中的 NPBs 与纤维颗粒状核仁的发生及核糖体的生 成无关,母源 NPBs 组分在胚胎早期发育过程中发 挥着关键作用,该结构与染色质特定区域的重塑有 关[4-5]. 早在 1999 年, 研究者已把合子原核期 NPBs 的数量和分布特征作为衡量胚胎发育潜能的 指标6,但该方法的科学性一直存在争议,直至通 过显微操作技术成功去除 NPBs 后,与之相关的研 究结果证实了 NPBs 在早期胚胎发育过程中的重要 作用,又给该指标的应用提供了新的理论支撑[7-8].

目前,体外生产胚胎的发育能力低下,卵母细 胞中哪种成分对父、母本基因组重编程起到了关键 DOI: 10.16476/j.pibb.2016.0305

作用仍未得到详细阐明,这严重制约了人类辅助生 殖技术、克隆及转基因克隆动物生产等技术的广泛 应用.基于人们对 NPBs 功能的传统认识,母源 NPBs 在胚胎早期发育过程中发挥的真正作用长期 被忽视.因此,阐明卵母细胞中的母源因子对父、 母本基因组进行表观遗传修饰重编程的机制,尤其 是揭示母源 NPBs 在此过程中发挥作用的机制,将 有助于从 NPBs 的角度阐明卵母细胞重编程作用的 机理.本文重点综述了 NPBs 的结构组成特点以及 该结构在胚胎早期发育过程中的功能作用及其潜在 机制.

#### 1 NPBs 的结构组成

典型的体细胞核仁呈纤维颗粒状,由纤维中心 (fibrillar centers, FCs)、致密纤维组分(dense fibrillar component, DFC)及颗粒组分(granular

<sup>\*</sup> 黑龙江省博士后科研启动金项目(LBH-Q15130),黑龙江省农业科学院引进博士研究项目(201507-32),黑龙江省自然科学基金 (QC2013C021)和国家自然科学基金(31201804)资助. \*\*通讯联系人.

Tel: 0451-86657928, E-mail: liudi1963616@163.com 收稿日期: 2016-12-20, 接受日期: 2017-02-20

compartment, GC)组成, rDNA 的转录发生在 FCs 与 DFC 的边界处,之后在 DFC 中对转录产物进行 初步加工[9-10],随后转录产物在 GC 中得到进一步 加工并与核糖体蛋白结合形成核糖体大小亚基,最 后被转运至细胞质[11-12]. 然而,不同于体细胞的核 仁结构,完全生长卵母细胞和早期胚胎只拥有 DFC 组成的 NPBs 结构. 随着卵母细胞及早期胚胎 发育的进行,NPBs 结构的组装也体现出相应的动 态变化. 卵母细胞在生长过程中需生成大量的 RNA 和蛋白质以备胚胎发育使用,此时要求核仁 仍具备 rDNA 转录及 pre-rRNA 加工功能. 在卵母 细胞生长的早期阶段,卵母细胞体积较小,内部的 核仁结构仍由 FCs、DFC 及 GC 组成,在形态上与 体细胞的纤维颗粒状核仁并无区别,因此,该核仁 结构仍具有典型纤维颗粒状核仁的完全功能[13]. 随 着卵母细胞完成生长过程, rRNA 合成逐渐终止, 典型纤维颗粒状核仁结构逐步退化[14-15],此时的卵 母细胞核仁结构在电镜下显示为致密的高电子密度 球体, RNA 聚合酶 I 依赖的 rDNA 转录水平的下 降伴随核仁结构的致密化同时出现,纤维颗粒状核 仁上参与早期 rRNA 加工的蛋白组分转移至该致密

球体内部,致使这种核仁结构逐渐丧失了 rDNA 转 录及 pre-rRNA 加工的功能,最终形成了 NPBs 结 构<sup>[16]</sup>.恢复减数分裂后,在生发泡破裂(GVBD)之 前,NPBs 出现空泡化,伴随着生发泡的破裂变为 光滑内质网, NPBs 结构最终降解[17-18], 并将其组 分溶解在卵母细胞质中,但由于浓度较低,除了附 着在浓缩的染色体上的核仁磷酸蛋白 (nucleophosmin)可以检测到外,其他绝大多数 NPBs 组分都很难通过免疫荧光技术追踪到<sup>10</sup>. 受 精后,包括纤维蛋白(fibrillarin),上游结合因子 (upstream binding factor)及 nucleophosmin 1 在内的 核仁蛋白重新出现在解聚的精子头部,随即进入 雄原核,其出现的时间要早于在雌原核内出现的时 间<sup>[19]</sup>; 与之相对应的是雄原核内 NPBs 的尺寸大于 雌原核,雄原核的去甲基化也早于雌原核[20].随着 胚胎发育的继续进行, RNA 聚合酶 I 重新激活, rDNA 与核仁蛋白组分之间重新建立联系,进入由 母源调控转换为合子调控的过渡期,此时的 NPBs 又逐渐转化成有 rDNA 转录及 pre-rRNA 加工能力 的纤维颗粒状核仁(图 1)[21-23].





处于生长期的卵母细胞拥有纤维颗粒状核仁;当卵母细胞完成生长过程时,卵母细胞体积增大,且纤维颗粒状核仁转化为核仁前体结构;随着 卵母细胞恢复减数分裂,陆续完成生发泡破裂及核成熟后进入 MII 期,核仁前体结构消失,其组分溶解在卵母细胞质中,此时,卵母细胞可受精 激活;受精合子发育至原核期,核仁前体结构重新出现在雌、雄原核内;胚胎继续发育至 2-细胞期后,核仁前体转换为纤维颗粒状核仁,胚胎 重获 rDNA 转录及 rRNA 前体加工能力,胚胎完成了由母源调控向合子调控的过渡;最后,早期胚胎发育至囊胚阶段.

纤维颗粒状核仁与 NPBs 在结构上的差异预示 着这两种核仁的组成也存在差异,由于用于分析纤 维颗粒状核仁的组织来源相对充足,对纤维颗粒状 核仁的蛋白质组成分析取得了一定进展,目前,有 超过 700 种核仁蛋白得到了鉴定[24]. 然而,我们对 NPBs 的蛋白质组成仍了解甚少,只有少数 NPBs 组分得到了鉴定[2]. 可获得的卵母细胞数量有限, 这限制了运用质谱分析技术对 NPBs 蛋白组成的挖 掘<sup>[26]</sup>;另外,NPBs结构由高度压缩的DFC组成, 抗体不易透过该结构并与目标抗原结合,这也制约 了运用免疫荧光技术对 NPBs 蛋白的检测四. 尽管 对 NPBs 蛋白组成的分析仍面临诸多障碍,但部分 NPBs 蛋白仍可通过改良的免疫荧光技术得到鉴 定. Shishova 等[28]在对 NPBs 进行免疫荧光检测之 前使用蛋白酶 K 对卵母细胞进行温和预处理,检 测到 upstream binding factor, fibrillarin 及核仁蛋白 (nucleolin)等与核糖体发生相关的蛋白定位于 NPBs. 将潜在的 NPBs 组分用 EGFP 标记也可鉴定 NPBs 上的蛋白组成. Azusa 等将核质蛋白 (nucleoplasmin) 2 的编码区融合至 EGFP 的 C 端并 在体外转录,之后将 EGFP-nucleoplasmin 2 融合 mRNA 注射至 GV 期卵母细胞的胞质内,经过 20 h 的体外培养,发现 EGFP-nucleoplasmin 2 融合蛋白 主要定位在生发泡内的 NPBs 上<sup>[29]</sup>. 另外,现有的 研究也显示: 与细胞的多能性维持相关的转录因子 POU5F1(Oct4)也定位于 NPBs<sup>[30-31]</sup>, 而且, POU5F1 的积累对胚胎的早期发育至关重要[32-33],如缺失 POU5F1 将造成早期胚胎发育阻滞<sup>[34]</sup>. 这似乎暗 示: NPBs 可作为多能因子的储存场所,从而影响 了胚胎的早期发育. 然而, 近期的研究显示, 删除 卵母细胞的 POU5F1 未对胚胎多能性的建立产生影 响,随后的胚胎也可发育至囊胚阶段<sup>[35]</sup>;此外, Ogushi 等<sup>[8]</sup>进行的克隆胚胎核仁替换实验也证实, 胚胎干细胞核中富集多能性维持因子的纤维颗粒状 核仁并不能够替代卵母细胞 NPBs. 以上事实都表 明,NPBs并不是通过积累细胞多能性维持相关因 子来影响胚胎早期发育的. NPBs 上可能包含有卵 母细胞特有的发育调控因子,而且,NPBs 可能参 与胚胎发育过程中特有的生物过程.

# 2 卵母细胞 NPBs 为胚胎早期发育所必需

NPBs 的完整组成尚未被解析,且针对目前已鉴定的有限 NPBs 蛋白进行的功能验证仍不能提供

NPBs 功能的全面信息,然而,针对 NPBs 的显微 操作技术的发展为 NPBs 功能研究提供了新契机. Fulka 等<sup>[7]</sup>率先建立了去除卵母细胞 NPBs 的操作技 术. 首先, 该方法通过高速离心步骤使卵母细胞质 层化,进而使生发泡内的 NPBs 清晰可见,随后, 使用直径为 3 µm 的显微注射针穿越透明带并吸取 生发泡内的 NPBs,缓慢退针后完成去除 NPBs 操 作. 该实验证实, 删除卵母细胞 NPBs 并不影响生 发泡的破裂及卵母细胞的核成熟. 但是, 卵母细胞 NPBs 的存在却对胚胎早期发育具有深远的影响. Ogushi 等<sup>18</sup>使用去除 NPBs 的卵母细胞进行体外受 精或单精子注射后,合子虽能形成雌、雄原核,但 在原核内却没有观察到核仁结构,且形成的早期胚 胎阻滞于 2-细胞阶段;对去除 NPBs 的卵母细胞 进行体细胞核移植操作后,在重构胚胎的类原核内 也观察不到核仁结构,同时,重构克隆胚胎发育失 败; 体细胞甚至是胚胎干细胞的纤维颗粒状核仁, 都不能够替代卵母细胞 NPBs 的重要作用: 但将母 源 NPBs 回注至缺失 NPBs 的核成熟卵母细胞中却 能修复早期胚胎的发育潜能并获得存活后代.以上 事实说明:母源 NPBs 组分的储备有限,且在原核 形成之前不可再生,母源 NPBs 组分为原核期 NPBs 结构的重建及早期胚胎的正常发育提供了必 要的物质储备.在新近的研究中, Kyogoku 等<sup>[4]</sup>使 用显微操作技术去除晚期合子的 NPBs 后,在后期 发育胚胎中观察到了重新组装的纤维颗粒状核仁, 并且, 合子仍能发育至囊胚阶段, 并在植入受体子 宫后获得了存活的后代. 这表明:晚期合子内的 NPBs 并不是胚胎发育所必需的,发育后期胚胎内 的纤维颗粒状核仁的组装并不以晚期合子内的 NPBs 为物质基础. 但以上事实并没有否定原核期 NPBs 的母源继承性及 NPBs 在胚胎早期发育过程 中的关键作用.相反,综合 Ogushi 及 Kyogoku 的 实验结果<sup>[4,8]</sup>,说明:晚期合子内 NPBs 的功能是冗 余的,母源 NPBs 发挥关键作用的时间窗口限定在 (受精后 - 原核形成之前)狭窄时间段. Ogushi 等<sup>16</sup> 的实验也证实了这一推测, Ogushi 等先将生发泡 (GV)期的卵母细胞 NPBs 去除,之后在卵母细胞成 熟至原核期合子形成的不同时间点将母源 NPBs 回 注至卵母细胞或受精合子中,结果,在 GV 期及 M Ⅱ期回注母源 NPBs 并不影响早期胚胎的发育, 但在受精后 15 h 的原核期回注母源 NPBs 后, 胚胎 出现明显的发育阻滞现象且囊胚形成率显著下降.

储存于卵母细胞生发泡内及原核期胚胎原核内 的核因子物质对供体核的重塑及克隆胚胎的发育至 关重要[37-38],核因子被隔离在生发泡或原核内,细 胞退出间期后,核因子物质随即被释放至细胞质 中. 在体细胞核移植过程中, 通常将去除染色体 -纺锤体复合物的 MⅡ期卵母细胞用作核移植的受 体. 然而,也许正是去除染色体-纺锤体复合物的 操作对卵母细胞核因子物质的破坏或删除作用才造 成了核移植效率的低下. Yang 等<sup>[39]</sup>将体细胞直接 导入未去核的 M Ⅱ 期卵母细胞构建核移植四倍体 胚胎,从而完整保留了卵母细胞的核因子物质,并 首次证实了核移植四倍体胚胎的囊胚形成率显著高 于常规克隆胚胎,但并未明确指出是哪种核因子物 质在核移植四倍体胚胎发育过程中发挥了关键作 用. 另有研究也显示: 这种未去除卵母细胞核物质 的核移植四倍体胚胎的囊胚形成能力及囊胚质量显 著高于常规克隆胚胎; 与这种核移植四倍体胚胎相 比较,常规克隆胚胎出现卵裂滞后现象[49].在核移 植四倍体胚胎中得以完整保留的卵母细胞核因子物 质促进了重构四倍体胚胎的卵裂;同时,考虑到母 源 NPBs 对早期胚胎卵裂的影响<sup>[8, 36, 41]</sup>, 目前,有 理由认为:卵母细胞 NPBs 组分可能是促进核移植 四倍体胚胎发育的一类重要卵母细胞核因子物质.

## 3 NPBs 发挥作用的潜在机制

早期胚胎染色体尚未出现大范围的异染色质 化,且异染色质主要集中出现在臂间区域,该区域 紧邻着丝粒<sup>[42-43]</sup>, 主要由 major satellites 和 minor satellites 构成<sup>[44]</sup>. NPBs 与着丝粒存在着紧密的空 间位置联系[45-46],这提示:NPBs及其组分在着丝 粒区域异染色质建立过程中可能发挥关键作用. 在 原核期,着丝粒聚集至 NPBs 外周<sup>[44]</sup>,雌、雄原核 的 NPBs 外周均出现异染色质环.此时,如果缺失 NPBs, 异染色质环消失, 取而代之的是散布在雌、 雄原核核浆中的异染色质点,着丝粒也散布在核浆 中. 在雌原核中, 异染色质点与着丝粒共定位并出 现 H3K9me2/3、H3K27me1/2/3 标志性异染色质特 征; 在雄原核中, 异染色质点聚集成簇而不是分散 在核浆中,虽然仍可观察到H3K27me1/2/3信号, 但 H3K9me2/3 信号却未出现在雄原核中<sup>[36]</sup>. NPBs 在雌、雄原核着丝粒区域异染色质化的过程中不可 或缺;着丝粒卫星序列占据 NPBs 外周, NPBs 即 成为了着丝粒区域染色质发生重塑过程的锚位啊.

受精后,着丝粒区域染色质正确重塑才能确保随后 细胞分裂过程中的染色体正确分离. 受精后数小时 内,原核内的着丝粒区域染色质(包含分别由 major satellites 和 minor satellites 所 组 成 的 pericentromeric 区域染色质和 centromeric 区域染色 质)需经历高度压缩的染色质重塑过程以便完成动 粒的组装和第一次有丝分裂,而 NPBs 是动粒装配 和异染色质形成的枢纽.着丝粒区域染色质包围 NPBs 形成环状结构之后,组蛋白 H3.3 促进 major satellites 序列的转录, major satellites 转录促使 pericentromeric 区域染色质出现 H3K27me3 及 HP1β 等标志性异染色质特征,即着丝粒区域染色 质定位至 NPBs 外周是 pericentromeric 区域异染 色质形成的先决条件<sup>[5,48]</sup>. DAXX 作为 H3.3 的伴 侣, 协同 ATRX 将 H3.3 沉积至着丝粒区域染色 质; 以 NPBs 外周为锚位, H3.3 参与对着丝粒区域 染色质的重塑过程;暨H3.3在NPBs外周区域参 与对着丝粒区域染色质的重塑.如果合子原核内 缺失 NPBs, H3.3 对着丝粒区域染色质重塑的锚位 也将丢失,进而可能导致着丝粒区域染色质重塑 失败[41].

忠实的 DNA 复制依赖于组蛋白的及时供给, 供给失败会产生复制压力.缺失 NPBs 导致着丝粒 区域无 H3.3 沉积,进而造成该区域复制叉异常, 且易产生复制压力,同时出现复制压力的标志性特 征 phospho-H2A.X<sup>[49]</sup>.复制压力的出现往往诱发姐 妹染色单体桥在有丝分裂期形成<sup>[50]</sup>,染色单体桥又 可导致 DNA 损伤<sup>[51]</sup>,进而可能造成着丝粒卫星 DNA 重复序列的损失及着丝粒卫星 DNA 重复序列 的转录本丰度下降.考虑到着丝粒卫星 DNA 重复 序列的转录本在着丝粒组装<sup>[52]</sup>、着丝粒区域异染 色质形成<sup>[5.53]</sup>及着丝粒执行功能上所发挥的关键作 用<sup>[54]</sup>,着丝粒卫星 DNA 重复序列转录本丰度下降 会严重影响有丝分裂过程中染色体的分离,进而造 成卵裂滞后或停滞.

Nucleoplasmin 蛋 白 家 族 成 员 中 的 nucleoplasmin 2 为 卵 母 细 胞 所 特 有 . 小 鼠 nucleoplasmin 2 的 cDNA 全长为 1.0 kb,其蛋白质 由 207 个氨基酸组成,是组蛋白 H2A/H2B 的伴侣 分子,定位至 NPBs,为 NPBs 的重要组分之一; nucleoplasmin 2 定位至 NPBs 的过程由富含赖氨酸 的 16-aa C-terminal 元件控制,删除该元件可导致 完全生长卵母细胞中的 NPBs 形成受阻<sup>[55]</sup>.生发泡

破裂后, nucleoplasmin 2 被释放至卵母细胞质中, 受精后,又重新在雌、雄原核内出现,一直持续存 在至 8- 细胞胚胎阶段, 至囊胚期完全消失. 传统 观点认为: nucleoplasmin 2 参与精子染色质的去浓 缩过程<sup>56</sup>,但 Burns 等<sup>67</sup>的研究显示: nucleoplasmin 2与 NPBs 结构的形成有直接关系,且在染色质的 浓缩、组蛋白去乙酰化及异染色质的形成中也发挥 关键作用. 在野生型的卵母细胞(Npm 2+++)中,异 染色质包绕 NPBs 形成 SN(surrounded nucleolus)构 型的 NPBs 结构,浓缩的异染色质与转录沉默、减 数分裂恢复及受精后胚胎的发育潜能密切相关,该 种构型的 NPBs 结构表明卵母细胞处于完全生长阶 段. 在敲除 nucleoplasmin 2 的卵母细胞(Npm 2-/-) 中,染色质没有发生浓缩,呈扩散状分布于核浆 中,无 SN 构型的 NPBs 结构形成,且 NPBs 组分 散布在核浆中,受精后,精子染色质的去浓缩及原 核的形成等过程虽可正常进行,但由于缺失 nucleoplasmin 2,在原核内仍无法形成 NPBs 结构; 同时,正常原核 NPBs 外周浓缩染色质环的标志性 特征(组蛋白H3低乙酰化)也未出现在这种缺陷原 核内, 合子表现出异染色质形成缺陷并阻滞在合 子期.

在体细胞中,将部分核内蛋白隔离在核仁中可防止它们在不适当的时间点参与转录过程,从而避免对转录因子和染色质的不利影响<sup>[38-61]</sup>,同理,卵母细胞及早期胚胎中的 NPBs 结构也可能有隔离蛋白质的作用,进而保证转录顺利进行.此外,体细胞的纤维颗粒状核仁组分中包含了部分参与细胞周期调控的蛋白,因此,由缺失 NPBs 的卵母细胞发育而来的胚胎也有可能因为缺少细胞周期调控相关的因子而出现发育阻滞<sup>[62]</sup>.目前,由于 NPBs 结构的完整组成尚未被详细解析,明确 NPBs 在胚胎早期发育过程中发挥作用的确切机制仍面临挑战.

## 4 小结与展望

对 NPBs 组分进行客观、详细地分析,需要生物质谱等高通量蛋白质组学分析技术的不断进步,从而有助于从 NPBs 上挖掘未知关键因子,进而促进人们对 NPBs 功能的全面认识.另外,在核移植过程中,去核操作会删除或损伤部分散布在 M II 期卵母细胞染色体周围的 NPBs 组分,进而影响类原核期 NPBs 组装及克隆胚胎发育,因此,常规克隆胚胎的发育潜能也可通过回注 NPBs 组分来拯救,即在完成 M II 期卵母细胞去核操作后,注射

供体细胞核,同时注射前期收集的完全生长卵母细胞 NPBs 物质至卵胞质内.未来,采用母源 NPBs 补偿措施有望拯救克隆胚胎的发育潜能,进而为提高生产克隆动物的效率提供新契机.

#### 参考文献

- Hadjiolov A A. The nucleolus and ribosome biogenesis. Cell Biology Monographs, 1985, 12. New York: Springer-Verlag
- [2] Chouinard L A. A light-and electron-microscope study of the nucleolus during growth of the oocyte in the prepubertal mouse. J Cell Sci, 1971, 9(3): 637–663
- [3] Chouinard L A. A light- and electron-microscope study of the oocyte nucleus during development of the antral follicle in the prepubertal mouse. J Cell Sci, 1975, 17(3): 589–615
- [4] Kyogoku H, Fulka J Jr, Wakayama T, et al. De novo formation of nucleoli in developing mouse embryos originating from enucleolated zygotes. Development, 2014, 141(11): 2255–2259
- [5] Jachowicz J W, Santenard A, Bender A, *et al.* Heterochromatin establishment at pericentromeres depends on nuclear position. Genes Dev, 2013, 27(22): 2427–2432
- [6] Tesarik J, Greco E. The probability of abnormal preimplantation development can be predicted by a single static observation on pronuclear stage morphology. Hum Reprod, 1999, 14 (5): 1318– 1323
- [7] Fulka J Jr1, Moor R M, Loi P, et al. Enucleolation of porcine oocytes. Theriogenology, 2003, 59(8): 1879–1885
- [8] Ogushi S, Palmieri C, Fulka H, et al. The maternal nucleolus is essential for early embryonic development in mammals. Science, 2008, 319(5863): 613–616
- [9] Cheutin T, O'Donohue M F, Beorchia A, et al. Three-dimensional organization of active rRNA genes within the nucleolus. J Cell Sci, 2002, 115(Pt 16): 3297–3307
- [10] Huang S. Building an efficient factory: where is pre-rRNA synthesized in the nucleolus? J Cell Biol, 2002, 157(5): 739–741
- [11] Fatica A, Tollervey D. Making ribosomes. Curr Opin Cell Biol, 2002, 14(3): 313–318
- [12] Tschochner H, Hurt E. Pre-ribosomes on the road from the nucleolus to the cytoplasm. Trends Cell Biol, 2003, 13(5): 255–263
- [13] Jordan E G. Nucleolar nomenclature. J Cell Sci, 1984, 67: 217-220
- [14] Fair T, Hyttel P, Greve T, *et al.* Nucleus structure and transcriptional activity in relation to oocyte diameter in cattle. Mol Reprod Dev, 1996, 43(4): 503–512
- [15] Bjerregaard B, Wrenzycki C, Philimonenko V V, et al. Regulation of ribosomal RNA synthesis during the final phases of porcine oocyte growth. Biol Reprod, 2004, 70(4): 925–935
- [16] Kaplan G, Abreu S L, Bachvarova R. rRNA accumulation and protein synthetic patterns in growing mouse oocytes. J Exp Zool, 1982, 220(3): 361–370
- [17] Hyttel P, Xu K P, Smith S, et al. Ultrastructure of the final nuclear

maturation of bovine oocytes *in vitro*. Anat Embryol (Berl), 1987, **176**(1): 35-40

- [18] Assey R J, Hyttel P, Greve T, et al. Oocyte morphology in dominant and subordinate follicles. Mol Reprod Dev, 1994, 37(3): 335–344
- [19] Fair T, Hyttel P, Lonergan P, et al. Immunolocalization of nucleolar proteins during bovine oocyte growth, meiotic maturation, andfertilization. Biol Reprod, 2001, 64(5): 1516–1525
- [20] Dean W, Santos F, Stojkovic M, et al. Conservation of methylation reprogramming in mammalian development: aberrant reprogramming in cloned embryos. Proc Natl Acad Sci USA, 2001, 98(24): 13734–13738
- [21] Tesarík J, Kopecny V, Plachot M, et al. High-resolution autoradiographic localization of DNA-containing sites and RNA synthesis in developing nucleoli of human preimplantation embryos: a new concept of embryonic nucleologenesis. Development, 1987, **101**(4): 777–791
- [22] Hyttel P, Laurincik J, Rosenkranz Ch, et al. Nucleolar proteins and ultrastructure in preimplantation porcine embryos developed in vivo. Biol Reprod, 2000, 63(6): 1848–1856
- [23] Geuskens M, Alexandre H. Ultrastructural and autoradiographic studies of nucleolar development and rDNA transcription in preimplantation mouse embryos. Cell Differ, 1984, 14(2): 125–134
- [24] Andersen J S, Lam Y W, Leung A K, et al. Nucleolar proteome dynamics. Nature, 2005, 433(7021): 77–83
- [25] Fulka H, Aoki F. Nucleolus precursor bodies and ribosome biogenesis in early mammalian embryos: old theories and new discoveries. Biol Reprod, 2016, 94(6): 143, 1–8
- [26] Pfeiffer M J, Taher L, Drexler H, et al. Differences in embryo quality are associated with differences in oocyte composition: a proteomic study in inbred mice. Proteomics, 2015, 15(4): 675–687
- [27] Fulka H, Kyogoku H, Zatsepina O, et al. Can nucleoli be markers of developmental potential in human zygotes? Trends Mol Med, 2015, 21(11): 663–672
- [28] Shishova K V, Lavrentyeva E A, Dobrucki J W, *et al.* Nucleoluslike bodies of fully-grown mouse oocytes contain key nucleolar proteins but are impoverished for rRNA. Dev Biol, 2015, **397**(2): 267–281
- [29] Inoue A, Aoki F. Role of the nucleoplasmin 2 C-terminal domain in the formation of nucleolus-like bodies in mouse oocytes. FASEB J, 2010, 24(2): 485–494
- [30] Niwa H, Miyazaki J, Smith A G. Quantitative expression of Oct-3/4 defines differentiation, dedifferentiation or self-renewal of ES cells. Nat Genet, 2000, 24(4): 372–376
- [31] Parfenov V N, Pochukalina G N, Davis D S, et al. Nuclear distribution of Oct-4 transcription factor in transcriptionally active and inactive mouse oocytes and its relation to RNA polymerase II and splicing factors. J Cell Biochem, 2003, 89(4): 720–732
- [32] Zuccotti M, Merico V, Sacchi L, et al. Maternal Oct-4 is a potential key regulator of the developmental competence of mouse oocytes. BMC Dev Biol, 2008, 8(1): 129–132

[33] Zuccotti M, Merico V, Redi C A, et al. Role of Oct-4 during acquisition of developmental competence in mouse oocyte. Reprod Biomed Online, 2009, 19 Suppl 3(6): 57–62

Prog. Biochem. Biophys.

- [34] Monti M, Zanoni M, Calligaro A, *et al.* Developmental arrest and mouse antral not-surrounded nucleolus oocytes. Biol Reprod, 2013, 88(1): 2, 1–7
- [35] Wu G, Schöler H R. Role of Oct4 in the early embryo development. Cell Regen (Lond), 2014, 3(1): 1–10
- [36] Ogushi S, Saitou M. The nucleolus in the mouse oocyte is required for the early step of both female and male pronucleus organization. J Reprod Dev, 2010, 56(5): 495–501
- [37] Gao S, Gasparrini B, McGarry M, et al. Germinal vesicle material is essential for nucleus remodeling after nuclear transfer. Biol Reprod, 2002, 67(3): 928–934
- [38] Egli D, Rosains J, Birkhoff G, *et al.* Developmental reprogramming after chromosome transfer into mitotic mouse zygotes. Nature, 2007, 447(7145): 679–685
- [39] Yang H, Shi L, Zhang S, et al. High-efficiency somatic reprogramming induced by intact M II oocytes. Cell Res, 2010, 20(9): 1034–1042
- [40] Fu B, Liu D, Ma H, et al. Development of porcine tetraploid somatic cell nuclear transfer embryos is influenced by oocyte nuclei. Cell Biol Int, 2016, 40(2): 214–222
- [41] Fulka H, Langerova A. The maternal nucleolus plays a key role in centromere satellite maintenance during the oocyte to embryotransition. Development, 2014, 141(8): 1694–1704
- [42] Dang-Nguyen T Q, Torres-Padilla M E. How cells build totipotency and pluripotency: nuclear, chromatin and transcriptional architecture. Curr Opin Cell Biol, 2015, 34(3): 9–15
- [43] Fadloun A, Eid A, Torres-Padilla M E. Mechanisms and dynamics of heterochromatin formation during mammalian development: closed paths and open questions. Curr Top Dev Biol, 2013, 104(104): 1-45
- [44] Probst A V, Santos F, Reik W, *et al.* Structural differences in centromeric heterochromatin are spatially reconciled on fertilisation in the mouse zygote. Chromosoma, 2007, **116**(4): 403–415
- [45] Bonnet-Garnier A, Feuerstein P, Chebrout M, et al. Genome organization and epigenetic marks in mouse germinal vesicle oocytes. Int J Dev Biol, 2012, 56(10–12): 877–887
- [46] Romanova L, Korobova F, Noniashvilli E, et al. High resolution mapping of ribosomal DNA in early mouse embryos by fluorescence in situ hybridization. Biol Reprod, 2006, 74 (5): 807–815
- [47] Fulka H, Fulka J Jr. Nucleolar transplantation in oocytes and zygotes: challenges for further research. Mol Hum Reprod, 2010, 16(2): 63–67
- [48] Santenard A, Ziegler-Birling C, Koch M, *et al.* Heterochromatin formation in the mouse embryo requires critical residues of the histone variant H3.3. Nat Cell Biol, 2010, **12**(9): 853–862
- [49] Khurana S, Oberdoerffer P. Replication stress: a lifetime of

epigenetic change. Genes (Basel), 2015, 6(3): 858-877

- [50] Chan K L, Palmai-Pallag T, Ying S, et al. Replication stress induces sister-chromatid bridging at fragile site loci in mitosis. Nat Cell Biol, 2009, 11(6): 753–760
- [51] Hayashi M T, Karlseder J. DNA damage associated with mitosis and cytokinesis failure. Oncogene, 2013, 32(39): 4593–4601
- [52] Quénet D, Dalal Y. A long non-coding RNA is required for targeting centromeric protein A to the human centromere. Elife, 2014, 3: e03254
- [53] Bierhoff H, Postepska-Igielska A, Grummt I. Noisy silence: non-coding RNA and heterochromatin formation at repetitive elements. Epigenetics, 2014, 9(1): 53–61
- [54] Probst AV, Okamoto I, Casanova M, et al. A strand-specific burst in transcription of pericentric satellites is required for chromocenter formation and early mouse development. Dev Cell, 2010, 19 (4): 625-638
- [55] Inoue A, Aoki F. Role of the nucleoplasmin 2 C-terminal domain in the formation of nucleolus-like bodies in mouse oocytes. FASEB J, 2010, 24(2): 485–494
- [56] Philpott A, Leno G H, Laskey R A. Sperm decondensation in *Xenopus* egg cytoplasm is mediated by nucleoplasmin. Cell, 1991,

**65**(4): 569–578

- [57] Burns K H, Viveiros M M, Ren Y, et al. Roles of NPM2 in chromatin and nucleolar organization in oocytes and embryos. Science, 2003, 300(5619): 633–636
- [58] Lohrum M A, Ashcroft M, Kubbutat M H, et al. Identification of a cryptic nucleolar-localization signal in MDM2. Nat Cell Biol, 2000, 2(3): 179–181
- [59] Cho H P, Liu Y, Gomez M, et al. The dual-specificity phosphatase CDC14B bundles and stabilizes microtubules. Mol Cell Biol, 2005, 25(11): 4541–4551
- [60] Takagi M, Matsuoka Y, Kurihara T, et al. Chmadrin: a novel Ki-67 antigen-related perichromosomal protein possibly implicated in higher order chromatin structure. J Cell Sci, 1999, 112(15): 2463– 2472
- [61] Visintin R, Hwang E S, Amon A. Cfi1 prevents premature exit from mitosis by anchoring Cdc14 phosphatase in the nucleolus. Nature, 1999, **398**(6730): 818–823
- [62] Fulka J Jr, Langerova A, Loi P, et al. Transplantation of nucleoli into human zygotes: not as simple as expected? J Assist Reprod Genet, 2011, 28(5): 385–389

# Progress in The Study of Nucleolus Precursor Bodies During The Early Embryonic Development<sup>\*</sup>

#### FU Bo, LIU Di\*\*

(Institute of Animal Husbandry Research, HeilongJiang Academy of Agricultural Sciences, Key Laboratory of Crop and Livestock Molecular Breeding in Heilongjiang Province, Harbin 150086, China)

**Abstract** Nucleolus precursor bodies exist in the oocytes and early embryos, and at present, the few components of nucleolus precursor bodies have been identified because of their less content and compact structures in the oocytes. The complete components of the structure of nucleolus precursor bodies have not been elaborated, thereby clarifying the role of the nucleolus precursor bodies in the early embryonic development remains a challenge. The early view is that the nucleolus precursor bodies do not have the ability to process rRNA and generate ribosomes, but this structure provides the material basis for the formation of fibrillo-granular nucleoli, and therefore enabling the late development of embryos to regain the ability of ribosome generation. Recently, this view has been gradually modified. The transfer experiments based on the micromanipulation of nucleolus precursor bodies have confirmed that the maternal nucleolus precursor bodies play a key role in the early embryonic development and the time window of their actions is between fertilization and pronucleus stage. The nucleolus precursor bodies may participate in the process of chromatin remodeling and maintain centromere stability, furthermore affecting the development of early embryos. This article reviews the structure and function of nucleolus precursor bodies as well as the possible mechanism providing a new idea to profound understanding of the developmental potential of early embryos.

**Key words** nucleolus precursor bodies, early embryonic development, chromatin remodeling, centromere **DOI**: 10.16476/j.pibb.2016.0305

\*\*Corresponding author.

<sup>\*</sup> This work was supported by grants from The Postdoctoral Scientific Research Project of Heilongjiang Province (LBH-Q15130), Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences Doctoral Scientific Research Projects (201507-32), Natural Science Foundation of HLJ Province (QC2013C021) and The National Natural Science Foundation of China (31201804).

Tel: 86-451-8665-7928, E-mail: liudi1963616@163.com

Received: December 20, 2016 Accepted: February 20, 2017