卵母细胞和早期胚胎特异的皮质下母源效应复合体

王晓晴^{1,2}, 秦丹丹^{1,3}, 卢绪坤^{1,3}, 李磊^{1,3*}

1. 中国科学院动物研究所, 干细胞与生殖生物学国家重点实验室, 北京 100101;

2. 中国科学技术大学生命科学学院, 合肥 230026;

3. 中国科学院大学医学院, 北京 100049

* 联系人, E-mail: lil@ioz.ac.cn

收稿日期: 2018-02-09; 接受日期: 2018-04-13; 网络版发表日期: 2018-05-31

摘要 从卵母细胞成熟后到胚胎合子基因组激活之前, 基因转录处于沉默状态. 在此期间, 胚胎的生命活动主要受母源效应基因调控. 受到研究材料和技术的限制, 哺乳动物母源效应基因研究长期进展缓慢. 近期研究发现, 在 小鼠(*Mus musculus*)卵母细胞和早期胚胎中特异存在皮质下母源效应复合体(SCMC). SCMC是由多种母源效应蛋白组成的巨型蛋白复合体, 它是小鼠早期胚胎发育必需的. 后续研究证明, SCMC不仅可以用于鉴定小鼠中新的母源效应基因, 同时有助于其他母源效应基因作用机制的阐明, 还可用于其他哺乳动物早期胚胎发育调控机制研究. 此外, SCMC可能存在于人类中, 其组分基因的突变与临床上一些未明原因的不孕症或出生后疾病相关. 以上研究表明, SCMC可能是哺乳动物母源调控过程中的重要调节枢纽. 目前SCMC已经成为哺乳动物母源调控研究的重要内容, 相关研究明显推动了哺乳动物母源调控领域的发展.

关键词 SCMC, OOEP/FLOPED, NLRP5/MATER, TLE6, KHDC3L/KHDC3/FILIA, 母源效应基因, 卵母细胞, 早期胚胎

从卵母细胞成熟后到合子基因组激活(zygotic genome activation, ZGA)之前, 基因转录处于沉默状态. 生命起始的主要活动, 如表观组重编程、母源RNA降解、合子基因组激活等, 主要受预先储存在卵母细胞中的RNA和蛋白质调控^[1], 这些功能因子主要由母源效应/影响/调控基因(maternal effect genes, MEGs)转录和编码^[1]. 尽管很早就意识到MEGs在早期胚胎发育过程中的重要性, 但是由于研究材料和技术的限制, 有关哺乳动物母源调控的研究长期进展缓慢. 从2000年

首次报道哺乳动物MEGs至今^[2,3], 仅报道了几十种哺乳动物MEGs^[4-10]. 这些MEGs分别参与调控很多早期胚胎重要发育过程, 如Mater (maternal antigen that embryos require; 官方名Nlrp5)可能与合子基因组激活相关^[2], Tet3 (Tet methylcytosine dioxygenase 3)参与早期胚胎表观遗传调控^[11,12], Btg4 (B cell translocation gene 4)参与母源RNA的降解^[5,13]等. 除了报道的单个母源效应基因外, 2008年第一次发现在小鼠(*Mus musculus*)的卵母细胞和早期胚胎中特异存在皮质下母源效

引用格式: 王晓晴, 秦丹丹, 卢绪坤, 等. 卵母细胞和早期胚胎特异的皮质下母源效应复合体. 中国科学: 生命科学, 2018, 48: 609–617
Wang X Q, Qin D D, Lu X K, et al. The oocyte-early embryo-specific subcortical maternal complex in mammals (in Chinese). Sci Sin Vitae, 2018, 48: 609–617, doi: 10.1360/N052018-00036

图1 哺乳动物中母源效应基因的发现

2000年, 首次在哺乳动物中发现母源效应基因*Mater*和*Hsf1*^[2,3]; 2006年, 在人类中鉴定首个母源效应基因*NLRP7*^[14]; 2008年, 发现了由母源蛋白MATER与FILIA相互作用^[15], 随后又发现包括MATER和FILIA在内的由多种母源效应基因编码的蛋白形成复合体SCMC^[16]; 2011年, 发现*Tet3*参与受精卵DNA的去甲基化^[12]; 2014年报道母源效应复合体在合子均等分裂过程中发挥重要作用^[17]; 2016年, 发现母源效应基因*Btg4*调控母源RNA降解^[5,13]

应复合体(subcortical maternal complex, SCMC) (图1)^[16]. 本文简要介绍了SCMC的发现, 重点阐述SCMC的组分和功能、该复合体在哺乳动物母源调控研究中的应用, 以及SCMC与女性生殖疾病的关系, 以期对哺乳动物早期胚胎发育母源调控研究提供思路, 同时为探究女性不孕不育等生殖相关疾病的发生机制和非酯类避孕药物的研发靶点提供参考.

1 蛋白复合体SCMC的发现

SCMC的发现源于对卵母细胞特异性转录因子FIGLA (factor in the germ line, alpha, FIG alpha)调控的下游功能基因的研究^[16]. FIGLA是在研究透明带基因表达调控时被发现^[18,19]. 基于基因敲除小鼠的研究表明, 该转录因子不仅调控透明带基因的表达, 还调控小鼠原始卵泡的形成^[18,19].

在研究FIGLA作用机制的过程中, 通过比较新生正常和*Figla*敲除小鼠卵巢的SAGE数据库, 发现FIGLA调控的下游基因中除了透明带基因外, 还包含多个母源效应基因; 这些结果提示, FIGLA除了调控透明带基因表达和原始卵泡形成外, 还可能调控母源效应基

因的表达^[16]. 根据FIGLA及母源效应基因的表达模式, 功能性候选基因的筛选被集中在卵母细胞特异性表达这一关键特性上. 其中2410146L05Rik引起了特别的关注, 它编码的蛋白质为164个氨基酸, 不包含特殊功能蛋白结构域, 但是该基因表达模式与已经发表的母源效应基因非常相似, 而且可以在加拿大多伦多大学人类疾病模型中心(Centre for Modeling Human Disease)找到该基因捕获(gene trapped)的ES细胞系(139A2-3); 通过该细胞系最终建立了基因敲除小鼠. 表型分析发现, 该基因的缺失不影响排卵和受精, 但是早期胚胎发育终止, 因此该基因为一个新的母源效应基因^[16]; 根据敲除小鼠的表型, 该基因被命名为*Floped* (factor located in oocytes permitting embryonic development, *Ooep*)^[16].

为了研究胞浆蛋白FLOPED的作用机制, 通过相应的抗体对小鼠卵巢裂解液进行免疫共沉淀结合蛋白质质谱分析, 发现了几百个可能的相互作用蛋白^[16]. 其中包括MATER (第一个哺乳动物母源效应蛋白), FILIA (拉丁文“女儿”的意思, MATER的相互作用蛋白)和TLE6 (transducin-like enhancer of split 6; 另一个FIGLA下游调控的基因)^[16]. 进一步通过体内外实验,

证明这4种组分(FLOPED, MATER, FILIA, TLE6)在小鼠卵母细胞和早期胚胎中可能形成稳定的复合体^[16]. 根据其定位以及其关键组分缺失的小鼠表型, 该复合体被命名为皮质下母源效应复合体(subcortical maternal complex, SCMC)^[16].

2 SCMC促进哺乳动物早期胚胎发育母源调控研究

SCMC发现以后的首要问题是, 其中的FILIA和TLE6在复合体中和早期胚胎发育中的功能是什么. 为了研究这两种组分的功能, 建立了*Tle6*和*Filia*基因敲除的小鼠模型, 它们的缺失不影响排卵和受精^[17,20]. 但是TLE6的缺失导致SCMC不能形成, 胚胎发育停滞, 雌性小鼠不育, 进一步支持了上述蛋白质形成稳定的SCMC复合体^[17]. 而FILIA的缺失不影响SCMC复合体形成, 但导致胚胎发育延迟, 雌性小鼠生育力下降^[20]. 这些结果表明*Tle6*和*Filia*也是小鼠的母源效应基因^[17,20]. 有趣的是, TLE6磷酸化受到PKA调控, 但目前TLE6磷酸化的生理学意义还不清楚^[21].

快速蛋白液相色谱(fast protein liquid chromatography, FPLC)结果显示, 在小鼠的卵母细胞中, SCMC的分子大小为669~2000 kD, 但是上述鉴定到的组分的分子量总共只有250 kD左右(MATER ~125 kD; FILIA ~38 kD; FLOPED ~18 kD; TLE6 ~65 kD)^[16]. 基于蛋白质谱数据分析, 在FLOPED抗体的免疫共沉淀卵巢裂解液的产物中可以鉴定到PADI6 (peptidyl arginine deiminase, type VI)^[16], 而且该基因的表达模式、定位及敲除小鼠表型等方面均与SCMC组分中的MATER, TLE6或FLOPED相似, 因此推测该蛋白可能也包含在SCMC中^[16,22,23]. 即使包含PADI6 (~72 kD), 这些组分蛋白的总分子量依然明显小于预测的SCMC分子量大小, 因此SCMC中可能还存在其他未知成分.

除了上面提到的PADI6以外, 与MATER同家族的蛋白NLRP7和NLRP2也可能是SCMC组分^[24,25]. *NLRP7*是在人类中鉴定出的第一个母源效应基因^[14], 而该基因的同源基因不存在于小鼠中^[26], 但是NLRP7与人的FILIA/KHDC3L结合, 提示NLRP7可能是人的SCMC组分^[24,27]. 最近两个实验室分别证明*Nlrp2*是小鼠的母源效应基因: 其中一个实验室的数据表明该基因缺失仅导致年老的雌性小鼠生育力下降^[28], 而另一

个实验室则报道*Nlrp2*敲除的成年雌性小鼠就表现为生育力明显下降^[25], 目前还不清楚造成两种不同表型的原因. 另外, 第二个实验室提供的数据还表明体外表达的NLRP2与SCMC已知组分结合, 提示NLRP2可能通过SCMC行使功能^[25]. 因此SCMC可以帮助阐明哺乳动物其他母源效应基因的作用机制.

最近, 通过SCMC筛选到了一个新的哺乳动物母源效应基因*Zbed3* (zinc finger BED type containing 3)^[10]. *Zbed3*的mRNA和蛋白质特异在卵母细胞和早期胚胎中表达, 其蛋白可能仅与SCMC核心组分(见下文)MATER结合^[10]. ZBED3的缺失基本不影响SCMC其他组分的稳定和定位^[10]; 但它的缺失却导致SCMC核心组分缺失产生的大多数表型: 受精卵不对称分裂、分裂中期纺锤体分布异常、微丝微管异常、细胞质晶格结构(CPL)的缺失等, 并最终导致雌性小鼠生育能力下降^[10]. 此外, SCMC核心组分缺失导致ZBED3明显降解, 所以SCMC可能通过ZBED3调控上述重要生物学过程^[10]. 因此SCMC是小鼠中新的母源效应基因鉴定的工具.

此外, SCMC还有助于其他哺乳动物卵母细胞和早期胚胎重要调控因子的研究. 通过与NCBI公共数据库中其他哺乳动物的蛋白序列比对, 发现包括猴(*Primates*)、猪(*Sus domesticus*)、羊(*Caprinae*)、牛(*Bovine*)和大鼠(*Rattus norvegicus*)等动物中也存在大多数的SCMC组分蛋白^[29-33], 这些蛋白质在主要结构域上具有较强的保守性. 而且一些SCMC组分基因的表达在猪、羊、牛和猴等物种的卵巢组织和早期胚胎中也得到相关实验证据支持, 如MATER, FLOPED, TLE6和FILIA等^[29-33]. 还有报道称siRNA敲降母源Mater可以导致恒河猴(*Macaca mulatta*)和猪(*Sus domesticus*)的胚胎发育分别停滞在8~16-细胞时期和2~8-细胞时期^[29,30]. 这些结果提示, SCMC及其组分在其他哺乳动物卵母细胞和早期胚胎中具有重要作用.

3 SCMC的组成和功能

如前所述, 目前已知SCMC包括6种组分FLOPED, MATER, TLE6, FILIA, ZBED3和NLRP2, 可能包括PADI6和NLRP7, 这些组分都是由哺乳动物特异表达的母源效应基因编码, 它们主要存在于卵母细胞和早期胚胎中^[34-36]. 其中FLOPED, MATER和TLE6 3种蛋

白之间存在直接相互作用, 而且它们是维持复合体稳定必需的, 因此这3种蛋白可能是SCMC复合体的核心组分, 它们形成核心复合体^[16,17]; 而其他蛋白可能为非核心组分^[10,16,17,36].

蛋白一级序列分析结果表明, SCMC组分包括一些蛋白质结构域(protein domains)^[36]. 这些结构域或许有助于SCMC组分蛋白功能和机制的研究, 但是该复合体中组分蛋白的很多结构域的功能并不清楚. 例如, 同属NLRP家族蛋白的MATER, NLRP2和NLRP7都包括NACHT (NTPase domain), LRR (Leucine-rich repeats)和PYDs (Pyrin domains)等结构域, 但是除了LRR作为蛋白与蛋白相互作用结构域外, 其他结构域的功能仍不清楚^[36]. 这给SCMC组分功能的预测带来一定的不确定性. 另外, 与同一家族的其他蛋白相比, SCMC组分中的蛋白质结构域的保守性相对较低. 例如, 有研究者通过FILIA氨基酸序列预测该蛋白质结构域包含一个非典型的KH结构域, 但明显与其他典型KH结构域不同, 因此得出结论该分子可能不与RNA结合^[37]; 但是通过解析该蛋白质的晶体结构发现其中非典型KH结构域在三级结构上与NOVA3的KH结构非常相似, 而且体外结合RNA^[38,39], 提示SCMC及其组分可能参与RNA调控, 但是具体调控的RNA还不清楚.

有关SCMC及其组分的功能主要来自对其各种组分基因敲除小鼠的表型分析. SCMC核心组分缺失导致早期胚胎主要停滞在2-细胞阶段, 雌性敲除小鼠生育能力完全丧失^[2,16,17,40]. 而非核心组分FILIA, ZBED3和NLRP2的缺失导致卵裂期胚胎发育延迟, 雌性敲除小鼠生育力明显下降^[10,20,25]. PADI6的缺失基本不影响SCMC其他组分的稳定, 但是也产生2-细胞阻滞和雌性敲除小鼠生育力完全丧失^[34], 因此PADI6可能通过其他途径影响早期胚胎发育.

4 SCMC在鼠卵母细胞和早期胚胎中的作用机制

哺乳动物早期胚胎发育过程中, 细胞的分裂方式从不均等的减数分裂向均等的有丝分裂转变(图2)^[36,41], SCMC可能参与调控该过程中特定的生物学事件. 研究表明, 在SCMC核心组分(FLOPED, MATER和TLE6)缺失小鼠的受精卵中, 皮质下F-actin变薄, 中心部位的F-actin云状结构不能形成, 而且纺锤体发生偏

图2 SCMC调控小鼠早期胚胎发育的机制(网络版彩图)

SCMC可能通过调控细胞器重排, 合子基因组激活, RNA代谢和CPLs的形成等途径调控哺乳动物受精卵的均等分裂以及卵母细胞向早期胚胎发育的转变过程

移, 并最终产生大量不均等的2-细胞胚胎^[17]. 进一步研究发现, SCMC可能通过Cofilin调控F-actin动态变化^[17]. 因此, SCMC可能通过F-actin控制纺锤体的位置调控受精卵的均等分裂. 在非核心组分ZBED3缺失的受精卵中, 也同样出现上述表型, 但是不均等2-细胞胚胎的比例没有核心组分缺失严重, 而且没有出现Cofilin位置和活性的变化^[10], 提示SCMC在受精卵中可能通过多种途径调控F-actin和纺锤体的位置进而控制受精卵均等分裂. 另外, 在卵裂期胚胎中, Filia通过调控MAD2到着丝粒上保证SAC (spindle assembly checkpoint)的功能, 并通过RhoA/ROCK信号调控AURKA (assembly regulators aurora kinase A), PLK1和γ-tubulin影响染色体的组装, 从而维持基因组的稳定性^[20]. SCMC同样存在于小鼠卵母细胞中, 但是该复合体是否参与调控卵母细胞减数分裂中的不均等分裂还不清楚^[36].

在哺乳动物早期胚胎母源向合子调控转变过程中, 线粒体和内质网等细胞器发生重新分布^[36,41]. Mater, Tle6, Zbed3及Padi6等基因敲除的卵母细胞中, 线粒体和内质网的重新分布明显异常^[10,23,42,43]. 在Mater缺失的卵母细胞中, 这些细胞器重排的异常可能减少卵母细胞中Ca²⁺浓度并影响Ca²⁺震荡发生^[43], 也可能导致线粒体膜电位增加并影响线粒体呼吸作用^[42]. 因此SCMC可能通过控制卵母细胞和早期胚胎中细胞器

的重新排布, 调控小鼠早期胚胎母源向合子调控转变.

胞质晶格(cytoplasmic lattices, CPLs)是存在于哺乳动物卵母细胞和早期胚胎中的一种特殊骨架结构, 被认为具有储存母源核糖体和mRNA的功能^[44]. 自从发现该结构到现在经历了半个多世纪, 有关CPLs的组成和具体功能仍不清楚. 最近有研究表明, SCMC与CPLs密切相关, 电子显微镜结果显示FLOPED, MATER和PADI6定位于CPL上^[40,45-47], 而且在这些基因敲除小鼠的卵母细胞中CPLs消失或减少^[34,40,47], 因此有些研究者认为SCMC就是CPLs^[40,48]. 但是在SCMC非核心组分ZBED3缺失的卵母细胞中CPLs不能形成, 而SCMC核心复合体依然存在^[10], 提示SCMC在功能上可能位于CPLs上游并调控该结构的形成^[36].

MATER和PADI6缺失的早期胚胎中合子基因组启动受到影响^[2,34], 提示SCMC可能参与合子基因组启动(图2); FILIA和FLOPED都包含RNA结合的KH结构域, 提示SCMC及其组分可能调控RNA定位、稳定和降解等^[37,38]. 上述结果表明, SCMC参与卵母细胞向胚胎转变过程中的多种发育事件. 与此相一致的是, SCMC复合体的形成在卵母细胞向早期胚胎发育过程中呈现动态变化^[17]. 综上所述, SCMC可能通过控制细胞骨架和细胞器的分布、CPLs的形成和母源RNA调控等多种途径, 调控哺乳动物卵母细胞向早期胚胎发育这一转变过程(图2).

5 SCMC组分基因突变与女性生殖疾病相关

复发性早期胚胎丢失可能是造成女性不孕的重要原因, 其发病机制一直是生殖医学研究领域的难点. 考虑到SCMC组分基因在小鼠早期胚胎发育中的重要作用, 这些基因的突变可能是造成女性不明原因的复发性早期胚胎丢失的重要原因. 目前已知的SCMC组分蛋白都可以在人类数据库中找到同源蛋白, 人类与小鼠的SCMC组分蛋白相比同源率为36%~68%, 而且这些蛋白质中的主要结构域相对保守^[36,49]. 利用实时定量RT-PCR和免疫荧光等实验证明人的MATER/NLRP5, FILIA/KHDC3L, FLOPED/OOEP和TLE6等基因的mRNA和蛋白质在胎儿卵巢卵母细胞中特异性表达^[49], 这几个蛋白在人类卵母细胞和早期胚胎的皮层下共定位, 细胞系中表达的相关蛋白之间具有相互作用^[49], 这些结果表明SCMC在人类卵母细胞和早期胚

胎中保守存在.

最近研究发现, SCMC多种组分基因突变出现于多种女性生殖疾病(表1)^[14,22,24,27,50-60]. 人类TLE6和PADI6基因的突变被发现存在于女性复发性流产病例中, 这些患者的表型与基因敲除小鼠表型相似, 包括排卵不受影响, 但是卵裂期胚胎发育终止, 不能生育后代^[22,54,56]. TLE6突变的受精卵第一次卵裂严重延迟或发生破碎, 胚胎不能发育^[54]; 而PADI6的缺失会导致胚胎发育停滞在2-细胞至5-细胞期^[22]. 进一步研究表明, PADI6的缺失导致磷酸化RNA聚合酶II大量减少, 一些合子基因表达水平严重降低, 表明合子基因组激活受损^[22,56]; 而TLE6的突变会造成TLE6蛋白与蛋白激酶A相关位点不能被磷酸化, 并影响其与其他SCMC组分蛋白相互作用, 最终导致胚胎在卵裂时期发生严重延迟^[54]. 因此, SCMC在哺乳动物卵母细胞和早期胚胎中的功能可能具有保守性.

人类第一个母源效应基因NLRP7于2006年发现, 该基因是通过定位家族双亲源性复发性葡萄胎(familial recurrent hydatidiform moles, FRHMs)隐性遗传突变时被鉴定^[14]. 2011年, 人类第二个母源效应基因SCMC组分基因KHDC3L也是在FRHMs病历中被发现^[51]. 在FRHMs病人中, 约有48%~60%是与NLRP7的突变相关, 5%~10%是由于KHDC3L的突变导致的^[14]. NLRP7纯合突变胚胎偶尔可以存活^[35], 但是到目前为止, 还没有报道KHDC3L纯合突变胚胎的出生^[24,52]. 来自NLRP7和KHDC3L突变妇女的葡萄胎组织中, 母源印记基因的DNA甲基化状态明显发生改变^[51,57]. SCMC的另一个组分基因NLRP2的纯合突变女性也有报道, 该女性有两个孩子患有贝克威斯韦德曼氏症(Beckwith-Wiedemann Syndrome, 一种过度生长的机能紊乱病症), 一个孩子患有多位点印记异常疾病(multiloci imprinting disorders, MLID)^[55]. 此外, SCMC组分基因NLRP5的突变也可能导致女性患有不同生殖疾病, 例如, 反复性流产、葡萄胎、或导致新生儿多处印记位点发生不正常的DNA甲基化等^[50]. 这些人类SCMC组分基因的突变表型与小鼠不是很相似, 可能由于这些基因的突变仅仅造成SCMC功能部分丧失.

6 总结与展望

SCMC由多种哺乳动物母源效应基因编码的蛋白

表 1 SCMC组分基因突变与女性生殖疾病

基因名称	突变时临床表型	参考文献
<i>NLRP5</i>	反复性流产; 葡萄胎; 导致新生儿多处印记位点发生不正常的DNA甲基化等	[50]
<i>KHDC3L</i>	家族双亲源性复发性葡萄胎	[24,27,51~53]
<i>TLE6</i>	PKA磷酸化异常; 胚胎发育延迟	[54]
<i>NLRP2</i>	贝克威斯韦德曼氏症; 多位点印记异常疾病	[55,59]
<i>PADI6</i>	胚胎发育停滞在2~5细胞; 合子基因组激活受损	[22,56,59,60]
<i>NLRP7</i>	家族双亲源性复发性葡萄胎	[14,27,53,57~59]

组成的巨型复合体, 它可能在哺乳动物中保守存在并发挥相似功能。该复合体可能直接或间接参与调控哺乳动物早期胚胎发育过程中的多种重要事件, 如分裂方式、细胞骨架和细胞器重排、母源RNA调控、合子基因组启动等。SCMC可能是哺乳动物母源调控向合子调控转变的关键枢纽之一。尽管目前有关SCMC的认识非常有限, 但是SCMC的发现明显促进了哺乳动物早期胚胎母源调控研究的发展, 特别是对人类母源效应基因的认识。近年发现的人类SCMC组分基因突变或复合体功能异常与女性生殖疾病的关联, 进一步提示对SCMC复合体分子机制解析的必要性和迫切性。

目前有关SCMC亟需解决的关键科学问题包括: SCMC组分的分子功能及组分之间的详细作用关系; SCMC其他待鉴定的组分; SCMC的动态变化是如何被调控的; SCMC在其他哺乳动物, 特别是在灵长类中的功能机制; SCMC功能异常与女性生殖疾病发病率的关系; SCMC与CPLs之间的关系。最近发展起来的冷冻电子显微镜、微量蛋白质和基因检测, 以及高效精准的基因编辑等技术为解决这些关键问题提供了机遇。解决SCMC上述关键问题, 不仅有助于提高人类对哺乳动物生命起始的认识, 还可以促进生殖相关疾病机制的解析和治疗, 同时还可为非酯类避孕药物的研发提供靶点。

参考文献

1 Li L, Zheng P, Dean J. Maternal control of early mouse development. *Development*, 2010, 137: 859–870

2 Tong Z B, Gold L, Pfeifer K E, et al. Mater, a maternal effect gene required for early embryonic development in mice. *Nat Genet*, 2000, 26: 267–268

3 Christians E, Davis A A, Thomas S D, et al. Maternal effect of Hsf1 on reproductive success. *Nature*, 2000, 407: 693–694

4 Condic M L. The role of maternal-effect genes in mammalian development: are mammalian embryos really an exception? *Stem Cell Rev*, 2016, 12: 276–284

5 Yu C, Ji S Y, Sha Q Q, et al. BTG4 is a meiotic cell cycle-coupled maternal-zygotic-transition licensing factor in oocytes. *Nat Struct Mol Biol*, 2016, 23: 387–394

6 Yu C, Fan X, Sha Q Q, et al. CFP1 regulates histone H3K4 trimethylation and developmental potential in mouse oocytes. *Cell Rep*, 2017, 20: 1161–1172

7 Xu K, Chen X, Yang H, et al. Maternal *Sall4* is indispensable for epigenetic maturation of mouse oocytes. *J Biol Chem*, 2017, 292: 1798–1807

8 Yu C, Ji S Y, Dang Y J, et al. Oocyte-expressed yes-associated protein is a key activator of the early zygotic genome in mouse. *Cell Res*, 2016, 26: 275–287

9 Wojtas M N, Pandey R R, Mendel M, et al. Regulation of m⁶A transcripts by the 3'→5' RNA helicase YTHDC2 is essential for a successful meiotic program in the mammalian germline. *Mol Cell*, 2017, 68: 374–387.e12

10 Gao Z, Zhang X, Yu X, et al. Zbed3 participates in the subcortical maternal complex and regulates the distribution of organelles. *J Mol Cell Biol*, 2018, 10: 74–88

11 Shen L, Inoue A, He J, et al. Tet3 and DNA replication mediate demethylation of both the maternal and paternal genomes in mouse zygotes. *Cell*

- Stem Cell*, 2014, 15: 459–471
- 12 Gu T P, Guo F, Yang H, et al. The role of Tet3 DNA dioxygenase in epigenetic reprogramming by oocytes. *Nature*, 2011, 477: 606–610
 - 13 Liu Y, Lu X, Shi J, et al. BTG4 is a key regulator for maternal mRNA clearance during mouse early embryogenesis. *J Mol Cell Biol*, 2016, 8: 366–368
 - 14 Murdoch S, Djuric U, Mazhar B, et al. Mutations in NALP7 cause recurrent hydatidiform moles and reproductive wastage in humans. *Nat Genet*, 2006, 38: 300–302
 - 15 Ohsugi M, Zheng P, Baibakov B, et al. Maternally derived FILIA-MATER complex localizes asymmetrically in cleavage-stage mouse embryos. *Development*, 2008, 135: 259–269
 - 16 Li L, Baibakov B, Dean J. A subcortical maternal complex essential for preimplantation mouse embryogenesis. *Dev Cell*, 2008, 15: 416–425
 - 17 Yu X J, Yi Z, Gao Z, et al. The subcortical maternal complex controls symmetric division of mouse zygotes by regulating F-actin dynamics. *Nat Commun*, 2014, 5: 4887
 - 18 Liang L, Soyal S M, Dean J. FIGalpha, a germ cell specific transcription factor involved in the coordinate expression of the zona pellucida genes. *Development*, 1997, 124: 4939–4947
 - 19 Soyal S M, Amleh A, Dean J. FIGalpha, a germ cell-specific transcription factor required for ovarian follicle formation. *Development*, 2000, 127: 4645–4654
 - 20 Zheng P, Dean J. Role of Filia, a maternal effect gene, in maintaining euploidy during cleavage-stage mouse embryogenesis. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106: 7473–7478
 - 21 Duncan F E, Padilla-Banks E, Bernhardt M L, et al. Transducin-like enhancer of Split-6 (TLE6) is a substrate of protein kinase A activity during mouse oocyte maturation. *Biol Reprod*, 2014, 90: 63
 - 22 Xu Y, Shi Y, Fu J, et al. Mutations in *PADI6* cause female infertility characterized by early embryonic arrest. *Am J Hum Genet*, 2016, 99: 744–752
 - 23 Kan R, Yurttas P, Kim B, et al. Regulation of mouse oocyte microtubule and organelle dynamics by PADI6 and the cytoplasmic lattices. *Dev Biol*, 2011, 350: 311–322
 - 24 Reddy R, Akoury E, Phuong Nguyen N M, et al. Report of four new patients with protein-truncating mutations in C6orf221/KHDC3L and colocalization with NLRP7. *Eur J Hum Genet*, 2013, 21: 957–964
 - 25 Mahadevan S, Sathappan V, Utama B, et al. Maternally expressed NLRP2 links the subcortical maternal complex (SCMC) to fertility, embryogenesis and epigenetic reprogramming. *Sci Rep*, 2017, 7: 44667
 - 26 Duéñez-Guzmán E A, Haig D. The evolution of reproduction-related NLRP genes. *J Mol Evol*, 2014, 78: 194–201
 - 27 Akoury E, Zhang L, Ao A, et al. NLRP7 and KHDC3L, the two maternal-effect proteins responsible for recurrent hydatidiform moles, co-localize to the oocyte cytoskeleton. *Hum Reprod*, 2015, 30: 159–169
 - 28 Kuchmiy A A, D'Hont J, Hochepied T, et al. NLRP2 controls age-associated maternal fertility. *J Exp Med*, 2016, 213: 2851–2860
 - 29 Peng H, Liu F, Li W, et al. Knockdown of NLRP5 arrests early embryogenesis in sows. *Animal Reprod Sci*, 2015, 163: 151–156
 - 30 Wu X. Maternal depletion of NLRP5 blocks early embryogenesis in rhesus macaque monkeys (*Macaca mulatta*). *Hum Reprod*, 2009, 24: 415–424
 - 31 Bebbere D, Ariu F, Bogliolo L, et al. Expression of maternally derived KHDC3, NLRP5, OOEP and TLE6 is associated with oocyte developmental competence in the ovine species. *BMC Dev Biol*, 2014, 14: 40
 - 32 Pennetier S, Perreau C, Uzbekova S, et al. MATER protein expression and intracellular localization throughout folliculogenesis and preimplantation embryo development in the bovine. *BMC Dev Biol*, 2006, 6: 26
 - 33 Pennetier S, Uzbekova S, Perreau C, et al. Spatio-temporal expression of the germ cell marker genes *MATER*, *ZARI*, *GDF9*, *BMP15*, and *VASA* in adult bovine tissues, oocytes, and preimplantation embryos. *Biol Reprod*, 2004, 71: 1359–1366
 - 34 Yurttas P, Vitale A M, Fitzhenry R J, et al. Role for PADI6 and the cytoplasmic lattices in ribosomal storage in oocytes and translational control in the early mouse embryo. *Development*, 2008, 135: 2627–2636
 - 35 Akoury E, Gupta N, Bagga R, et al. Live births in women with recurrent hydatidiform mole and two NLRP7 mutations. *Reproduct Biomed Online*, 2015, 31: 120–124
 - 36 Lu X, Gao Z, Qin D, et al. A maternal functional module in the mammalian oocyte-to-embryo transition. *Trends Mol Med*, 2017, 23: 1014–1023
 - 37 Pierre A, Gautier M, Callebaut I, et al. Atypical structure and phylogenomic evolution of the new eutherian oocyte- and embryo-expressed

- KHDC1/DPPA5/ECAT1/OOEP gene family. *Genomics*, 2007, 90: 583–594
- 38 Wang J, Xu M, Zhu K, et al. The N-terminus of FILIA forms an atypical KH domain with a unique extension involved in interaction with RNA. *PLoS ONE*, 2012, 7: e30209
- 39 Lewis H A, Musunuru K, Jensen K B, et al. Sequence-specific RNA binding by a nova KH domain. *Cell*, 2000, 100: 323–332
- 40 Tashiro F, Kanai-Azuma M, Miyazaki S, et al. Maternal-effect gene *Ces5/Ooep/Moep19/Floped* is essential for oocyte cytoplasmic lattice formation and embryonic development at the maternal-zygotic stage transition. *Genes Cells*, 2010, 15: 813–828
- 41 Stitzel M L, Seydoux G. Regulation of the oocyte-to-zygote transition. *Science*, 2007, 316: 407–408
- 42 Fernandes R, Tsuda C, Perumalsamy A L, et al. NLRP5 mediates mitochondrial function in mouse oocytes and embryos. *Biol Reprod*, 2012, 86: 138, 131–110
- 43 Kim B, Zhang X, Kan R, et al. The role of MATER in endoplasmic reticulum distribution and calcium homeostasis in mouse oocytes. *Dev Biol*, 2014, 386: 331–339
- 44 McGaughey R W, Capco D G. Specialized cytoskeletal elements in mammalian eggs: structural and biochemical evidence for their composition. *Cell Motil Cytoskeleton*, 1989, 13: 104–111
- 45 Wright P W, Bolling L C, Calvert M E, et al. ePAD, an oocyte and early embryo-abundant peptidylarginine deiminase-like protein that localizes to egg cytoplasmic sheets. *Dev Biol*, 2003, 256: 74–89
- 46 Esposito G, Vitale A M, Leijten F P J, et al. Peptidylarginine deiminase (PAD) 6 is essential for oocyte cytoskeletal sheet formation and female fertility. *Mol Cell Endocrinol*, 2007, 273: 25–31
- 47 Kim B, Kan R, Anguish L, et al. Potential role for MATER in cytoplasmic lattice formation in murine oocytes. *PLoS ONE*, 2010, 5: e12587
- 48 Morency E, Anguish L, Coonrod S. Subcellular localization of cytoplasmic lattice-associated proteins is dependent upon fixation and processing procedures. *PLoS ONE*, 2011, 6: e17226
- 49 Zhu K, Yan L, Zhang X, et al. Identification of a human subcortical maternal complex. *Mol Hum Reproduct*, 2015, 21: 320–329
- 50 Docherty L E, Rezwan F I, Poole R L, et al. Mutations in NLRP5 are associated with reproductive wastage and multilocus imprinting disorders in humans. *Nat Commun*, 2015, 6: 8086
- 51 Parry D A, Logan C V, Hayward B E, et al. Mutations causing familial biparental hydatidiform mole implicate C6orf221 as a possible regulator of genomic imprinting in the human oocyte. *Am J Hum Genet*, 2011, 89: 451–458
- 52 Rezaei M, Nguyen N M P, Foroughinia L, et al. Two novel mutations in the *KHDC3L* gene in Asian patients with recurrent hydatidiform mole. *Hum Genome Var*, 2016, 3: 16027
- 53 Andreasen L, Christiansen O B, Niemann I, et al. NLRP7 or KHDC3L genes and the etiology of molar pregnancies and recurrent miscarriage. *MHR-Basic Sci Reproduct Med*, 2013, 19: 773–781
- 54 Alazami A M, Awad S M, Coskun S, et al. *TLE6* mutation causes the earliest known human embryonic lethality. *Genome Biol*, 2015, 16: 240
- 55 Meyer E, Lim D, Pasha S, et al. Germline mutation in NLRP2 (NALP2) in a familial imprinting disorder (Beckwith-Wiedemann Syndrome). *PLoS Genet*, 2009, 5: e1000423
- 56 Maddirevula S, Coskun S, Awartani K, et al. The human knockout phenotype of *PADI6* is female sterility caused by cleavage failure of their fertilized eggs. *Clin Genet*, 2017, 91: 344–345
- 57 Hayward B E, De Vos M, Talati N, et al. Genetic and epigenetic analysis of recurrent hydatidiform mole. *Hum Mutat*, 2009, 30: E629–E639
- 58 Nguyen N M P, Khawajkie Y, Mechtouf N, et al. The genetics of recurrent hydatidiform moles: new insights and lessons from a comprehensive analysis of 113 patients. *Mod Pathol*, 2018, in press, doi: 10.1038/s41379-018-0031-9
- 59 Begemann M, Rezwan F I, Beygo J, et al. Maternal variants in NLRP and other maternal effect proteins are associated with multilocus imprinting disturbance in offspring. *J Med Genet*, 2018, in press, doi: 10.1136/jmedgenet-2017-105190
- 60 Qian J, Nguyen N M P, Rezaei M, et al. Biallelic *PADI6* variants linking infertility, miscarriages, and hydatidiform moles. *Eur J Hum Genet*, 2018, in press, doi: 10.1038/s41431-018-0141-3

The oocyte-early embryo-specific subcortical maternal complex in mammals

WANG XiaoQing^{1,2}, QIN DanDan^{1,3}, LU XuKun^{1,3} & LI Lei^{1,3}

1 State Key Laboratory of Stem Cell and Reproductive Biology, Institute of Zoology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China;

2 School of Life Sciences, China University of Science and Technology, Hefei 230026, China;

3 Medical School, University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China

Prior to zygotic genome activation, gene transcription is quiescent. The programs of the early embryonic development are mainly regulated by maternal-effect genes. The research of mammalian maternal-effect genes has long been hindered due to the limitation of research materials and techniques. Recently, a subcortical maternal complex (SCMC) was identified specifically in mammalian oocytes and preimplantation embryos. The SCMC is a protein complex consisting of numerous maternal effect proteins, and is required for mouse preimplantation development. Accumulating evidence suggests that SCMC can be used to identify new maternal-effect genes, to clarify the molecular mechanism of other maternal-effect genes, and to explore the regulation of early embryonic development in mammals. Additionally, the SCMC may be conserved in human oocytes and early embryos. Importantly, the mutations of human SCMC genes are associated with several human reproductive disorders. Collectively, these findings indicate that the SCMC may be an important module orchestrating the maternal-to-zygotic transition in mammalian early development. Further investigations of the SCMC will greatly promote the understanding of molecular regulation in mammalian early development, significantly contributing to human reproductive medicine.

SCMC, OOEP/FLOPED, NLRP5/MATER, TLE6, KHDC3L/KHDC3/FILIA, maternal-effect gene, oocyte, early embryo

doi: [10.1360/N052018-00036](https://doi.org/10.1360/N052018-00036)