

DOI: 10.3724/SP.J.1005.2008.00677

## 秀丽线虫精子发生和精子受精的研究进展

汪斌, 刘志宇, 苗龙

中国科学院生物物理研究所 生物大分子国家重点实验室, 北京 100101

**摘要:** 秀丽线虫精子发生过程包括减数分裂和精子活化两个阶段, 通过早期特异基因的表达和后期蛋白分子的翻译后修饰, 精原细胞发育成为具有运动能力的精子。其受精阶段包括精子运动、精子竞争、精卵信号通讯以及精卵融合等过程。通过突变体筛选目前已经获得了一些影响精子发生或受精的突变体, 并且对其中一些突变体进行了基因克隆和功能分析的研究。这些研究不仅对于阐明精子发生和受精的机理具有重大的理论意义, 而且对男性不育的治疗和男性无毒避孕药物的研发可能提供重要的依据。文章阐述了目前在线虫精子发生和精子受精两个方面的研究进展。

**关键词:** 精子发生; 受精; 精子竞争; 减数分裂

## Recent advances in the study of spermatogenesis and fertilization in *Caenorhabditis elegans*

WANG Bin, LIU Zhi-Yu, MIAO Long

National Laboratory of Biomacromolecules, Institute of Biophysics, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China

**Abstract:** Spermatogenesis in *Caenorhabditis elegans*, mainly consisting of meiosis and spermiogenesis (or sperm activation), is a complicated cell differentiation process. The germ cells develop into matured motile spermatozoa after the expression of specific genes during meiosis and protein posttranslational modification during spermiogenesis. The spermatozoa compete with each other, communicate with and finally fertilize the oocytes such that new individuals are generated. A group of mutants related to spermatogenesis, sperm motility and fertilization are obtained through the sterile screen. Some specific genes in spermatogenesis and fertilization have been cloned and their functions have been studied. *C. elegans* is an attractive model to dissect the complexities of spermatogenesis and fertilization. The advances in the study of *C. elegans* may give insights to important targets for the study of male infertility and contraceptives in humans.

**Keywords:** spermatogenesis; fertilization; sperm competition; meiosis

精子发生和精卵受精是生物体生殖和发育的基础, 对这一领域的研究不仅有助于增强人们对生物体生殖和发育本质的认识, 而且对人类一些重要疾病的防治也具有借鉴和指导意义<sup>[1]</sup>。秀丽线虫的生

收稿日期: 2007-12-13; 修回日期: 2008-02-25

基金项目: 中国科学院百人计划项目, 国家自然科学基金项目(编号: 30771056)和蛋白质研究计划项目(编号: 2006CB911002)资助[Supported by Hundred Talents Program of CAS, the National Natural Science Foundation of China (No. 30771056) and the Major State Basic Research Program of China (No. 2006CB911002)]

作者简介: 汪斌(1976-), 男, 博士, 助理研究员, 研究方向: 细胞生物学。E-mail: wangb@moon.ibp.ac.cn

刘志宇(1983-), 男, 研究生, 研究方向: 细胞生物学。E-mail: liuzhy@moon.ibp.ac.cn

通讯作者: 苗龙(1971-), 男, 博士, 研究员, 博士生导师, 研究方向: 细胞生物学。E-mail: lmiao@moon.ibp.ac.cn

殖依赖于两性配子的形成和结合,其精子与哺乳动物精子一样都经历了精子形成、精子活化、精子运动和受精等过程,进一步的研究表明,许多生殖相关基因在线虫和哺乳动物之间具有高度的保守性<sup>[2]</sup>。此外,秀丽线虫作为模式生物,具有很好的遗传背景和研究手段<sup>[3]</sup>。因此秀丽线虫成为研究精子发生和受精作用的理想实验材料。

线虫精子发生和受精过程受多种因素的调控,而精母细胞内特异基因的表达和蛋白分子的翻译后修饰在线虫精子发生过程中起着决定性的作用<sup>[4-7]</sup>。应用遗传学分析和基因功能分析的手段,在秀丽线虫中已经克隆分离和鉴定了 40 多个与精子发生或精子受精相关的基因,这些基因有些在精子发生中起着重要的作用,有些则与受精作用密切相关<sup>[6]</sup>。

线虫精子发生过程分为精母细胞减数分裂和精子细胞活化 2 个阶段,通过此阶段未分化的精原细胞分化成为具有运动能力的精子。受精过程包括精子运动、精子竞争、精卵信号通讯和精卵融合等阶段;精卵受精后形成受精卵,进而发育成个体。下面将分别对这两个方面的研究进展进行论述。

## 1 秀丽线虫的生殖特征

秀丽线虫(*Caenorhabditis elegans*)有雄性和雌雄同体两种性别特征,雄虫只有一个U型生殖腺,而雌雄同体线虫具有两个U型生殖腺(图 1)<sup>[8]</sup>。雌雄同体线虫发育到 4 龄(L4)后期时开始在U型生殖腺内生成精子,产生约 300 个精子后停止,精子储存在U型生殖腺近受精囊端;随后开始产生卵子,排出的第一个卵子将存储在生殖腺近端的精子推入受精囊并使之活化。雄虫在L4 后期开始持续产生精子,

精子储存在储精囊中,在与雌雄同体线虫交配时被排出并活化。雌雄同体线虫能够利用自身产生的精子在受精囊内完成受精,而在与雄虫交配后则优先利用雄虫的精子进行受精<sup>[6]</sup>。利用秀丽线虫具有雌雄同体这一特殊生殖特点,筛选雌雄同体线虫自身不育,而与野生型雄虫交配后能产生杂交后代的突变体,可以分离到与精子形成、活化或受精相关的基因。秀丽线虫的这一生殖特性使之成为研究精子发生和受精的理想模式生物。

线虫精子不同于其他生物体的精子:首先,线虫精子没有鞭毛,而是通过伪足进行爬行运动;其次,线虫精子细胞中没有微丝(F-Actin)和微管(Microtubule),而是以精子主要蛋白(Major sperm protein, MSP)形成细胞骨架,通过精子主要蛋白聚合/解聚的动态循环,实现精子细胞的定向迁移<sup>[9]</sup>。但秀丽线虫在精子形成、精子活化、精卵识别和受精作用等方面与其他生物体相似。秀丽线虫不仅具有良好的遗传背景和操作特性,而且其精子的形成和活化过程可以在体外完成,这为研究精子发生的分子机理提供了极大的便利<sup>[6,7]</sup>。

## 2 精子发生

### 2.1 精子发生过程

线虫精子发生(spermatogenesis)是一个复杂的细胞分化过程,主要分为两个阶段:减数分裂期和精子活化期。通过精子发生时空特异的基因转录、翻译和蛋白质修饰,生殖细胞经历减数分裂、Fibrous body-membranous organelle(FB-MO)转运和精子活化等一系列过程。

减数分裂期:轴细胞通过有丝分裂,以芽裂的方式产生初级精母细胞。初级精母细胞通过减数分

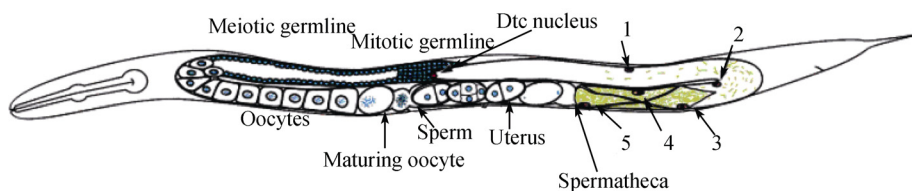


图 1 雌雄同体成虫的性腺<sup>[8]</sup>

左臂为性腺的生殖细胞系,右臂为性腺外壳肌肉细胞。性腺被外壳细胞所包被,一条臂上有 5 个外壳细胞,其中近端第 3~5 个细胞的收缩促进排卵。

Fig. 1 Schematic representation of the adult hermaphrodite gonad<sup>[8]</sup>

The left shows germ line and the right shows somatic cells of gonad arm. The gonad arm is covered by gonadal sheath cells. Number 1-5 suggested the position of one member of each pair. Ovulation is facilitated by the contraction of the proximal sheath cells (pairs 3-5). The picture was reproduced from WormBook by copyright permission of David Greenstein.

裂,以出芽的方式生成精子细胞。第一次减数分裂产生两个次级精母细胞;第二次减数分裂中,次级精母细胞以出芽的方式生成单倍体的圆形精子细胞,并留下一个残余体(图 2A)<sup>[7,10,11]</sup>。在两次减数分裂过程中伴随着FB-MO的形态变化,次级精母细胞出芽生成精子细胞时FB-MO复合体被转运至精子细胞中,其后FB的外膜收缩回MO,丝状MSP蛋白复合物解聚分散到精子细胞胞质中,MO富集在精子细胞的细胞膜附近(图 2B)<sup>[7,10,11]</sup>。

精子活化期(spermiogenesis):圆形精子细胞在胞外信号的诱导下活化,通过MO与细胞膜融合及

MSP蛋白聚合形成伪足,成为具有运动功能的精子(图 2B)。由于精子细胞中没有核糖体,不能进行蛋白质的合成,因此没有新合成的蛋白质分子参与精子的活化过程<sup>[12]</sup>。

## 2.2 精子发生相关基因

通过化学或UV诱变的方法已筛选到 80 多个精子发生或受精缺陷的突变体;通过传统的遗传学分析,已将相应的基因在染色体上定位<sup>[13-17]</sup>。从分子水平看,精子发生是一系列特定基因程序性表达的过程,包括特异基因的表达和蛋白质的翻译后修饰。这些基因的突变影响了正常的精子形成、活化和受精作用,造成突变体不育。下面概述了精子发生过程中关键基因及基因家族的研究进展。

### 2.2.1 减数分裂相关基因

初级精母细胞通过减数分裂形成 4 个单倍体精子细胞,是精子发生过程中非常关键的一个过程。两个与减数分裂相关的基因*wee-1.3* 和 *puf-8* 的突变引起精子发生缺陷。*wee-1.3* 基因编码一种蛋白激酶,其突变体的精母细胞可以进入减数分裂粗线期,但其核膜不能正常崩解,也不能起始胞质的移动,进而造成减数分裂停止;初级精母细胞中一侧为未分离的细胞核,另一侧为空泡状的FB-MO复合体<sup>[18]</sup>。*puf-8* 编码一个调节RNA稳定性和翻译的RNA结合蛋白,其在发育过程中对保持精原细胞的活性具有重要作用,*puf-8* 突变体的初级精母细胞进入减数分裂的前期后,随即退出减数分裂周期,重新进入有丝分裂周期,进一步分化为肿瘤细胞<sup>[19]</sup>。

### 2.2.2 FB-MO 复合体相关基因

在初级精母细胞形成精子细胞的过程中,FB-MO复合体发挥了重要作用。FB-MO复合体作为载体将精子细胞需要的物质(如MSP和膜蛋白)运送到精子细胞,而精子细胞不需要的物质(大部分微管蛋白、肌动蛋白和所有核糖体)则被留在残余体内。此过程对精子细胞的形成、精子运动和受精作用都具有重要的作用<sup>[10]</sup>。通过突变体筛选,目前已分离到一些影响FB-MO复合体形成和转运的基因,按照其导致的表型可以分为 3 类:

(1) 形成异常的精母细胞: *spe-4* 基因编码一种精子特异蛋白presenilin, 定位于FB-MO复合体,引导精子发生过程中胞质正确分离;在*spe-4* 突变体的精母细胞中,FB和MO相互分离并均匀分布在细胞质内,导致芽裂失败,形成具有 4 个细胞核的异常

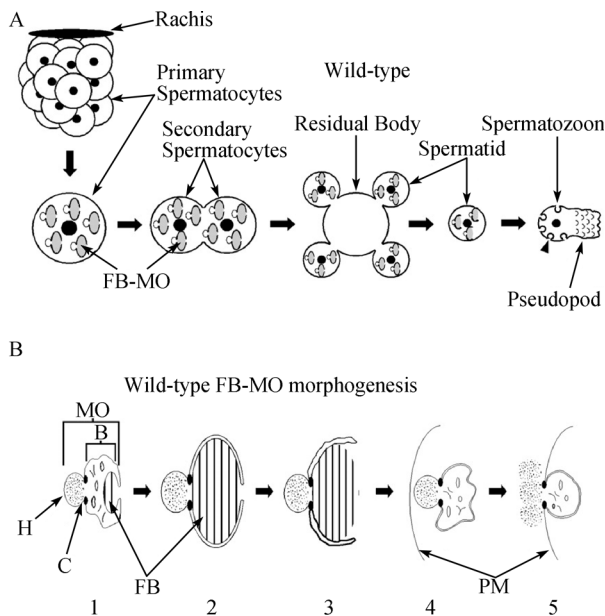


图 2 秀丽线虫精子发生(A)及FB-MO复合体的形态变化(B)过程<sup>[11]</sup>

A: 初级精母细胞在减数分裂起始时从轴上芽裂下来,通过两次分裂形成 4 个精子细胞; B: FB 的形成依赖于 MO(B1),在初级精母细胞中 FB 完全被 MO 的膜包被(B2)。当精子细胞芽裂时,MO 外膜从 FB 上收缩,FB 开始解聚(B3)。在未激活的精子细胞中 MO 位于细胞膜下(B4),而当精子激活时 MO 的头部与细胞膜融合并排出其内容物(B5)。

**Fig. 2 Summary of spermatogenesis (A) and morphogenesis of the FB-MO complexes (B) in wild-type sperm**<sup>[11]</sup>  
A: Primary spermatocytes develop and bud from rachis after initiating meiosis. After two rounds of meiosis, four haploids spermatids are generated from one spermatocytes. B: (B1) The FB is associated with MO during the development. (B2) The MO membrane almost encloses the FBs in the primary spermatocyte. (B3) In the course of the spermatid budding from the residual body, the membrane retracts away from FBs and FB fibers begin to depolymerize. (B4) The MOs move to the plasma membrane of spermatid before activation. (B5) Upon activation, the head of MO fuses with plasma membrane and releases its contents onto the cell surface. The pictures were reproduced from *Genetics* 2006, 172: 145-158 by copyright permission of the Genetics Society of America.



的精母细胞<sup>[20,21]</sup>。*spe-6* 基因编码一个酪蛋白 型丝氨酸苏氨酸蛋白激酶,其突变体的精母细胞中MSP不能聚合形成FB,而是在细胞内均匀分布,导致FB-MO无法组装,不能形成精子细胞,产生异常的精母细胞;在*spe-6* 突变体产生精子的情况下,精子细胞在没有活化信号的情况下也能够起始自身活化<sup>[22,23]</sup>。*spe-5* 基因编码的蛋白质分子定位在FB-MO复合体上,其突变体为低温敏感型;在精子发生过程中FB-MO扩张形成空泡,通常生成异常的精母细胞,少数情况下形成的精子细胞具有运动能力,但这些精子细胞内含有微管蛋白<sup>[24]</sup>。*spe-39* 基因编码一个亲水的胞质蛋白,与FB-MO非特异相关,在细胞大部分部位均有分布,其突变体中精母细胞不能形成MO,而在内膜形成许多囊泡,FB没有被MO包被,为异常的精母细胞<sup>[25]</sup>。

(2) 形成异常的精子细胞:*spe-17* 基因编码一个142 个氨基酸,富含丝氨酸和苏氨酸的可溶性蛋白分子。其突变体能够产生精子细胞,但大小只有正常精子细胞的三分之二,且在FB-MO复合体的膜上附着有核糖体;精子活化过程中MO不能和膜融合,只形成不正常的短小伪足<sup>[26]</sup>。*spe-10* 基因编码一个带有DHHC结构域的4 次跨膜蛋白,在内质网/高尔基体形态发生中发挥了重要作用,其突变体的精母细胞能够正常地起始FB-MO的形态发生,但是FB的外膜过早解聚导致FB留在残余体内,形成的精子细胞比正常的精子细胞小<sup>[11,27]</sup>。*fer-6* 突变体形成的精子细胞中FB和MO相互分离,FB保持完整,但不能解聚释放MSP,MO也不能和膜融合,精子活化时形成没有伪足的异形精子<sup>[7]</sup>。

(3) 形成无运动能力的精子细胞:*fer-1* 基因编码一个分子量为235 kDa,含2 034 个氨基酸的单次跨膜蛋白分子。其突变体的精母细胞中FB-MO的早期形态变化与野生型没有差别,能够形成正常的精子细胞,但在精子活化过程中MO不能和细胞膜融合,精子细胞只形成短的伪足,不能进行正常的运动<sup>[7,28,29]</sup>。进一步的研究表明FER-1 蛋白定位于MO膜上,具有感受钙离子浓度的C2 结构域,介导MO与细胞膜的融合<sup>[30]</sup>。在体外实验中,*fer-15* 突变体的精子细胞不能被活化,无法形成具有运动能力的精子<sup>[31]</sup>。

### 2.2.3 雌雄同体线虫精子活化特异性相关基因

在研究精子细胞活化机理时发现,*spe-8* 家族基因(*spe-8*, *spe-12*, *spe-19*, *spe-27* 和*spe-29*)是与雌雄

同体线虫精子活化相关的特异基因<sup>[32-35]</sup>。在该基因家族的雌雄同体线虫突变体中,精子细胞不能被自身诱导活化;但与野生型的雄性线虫交配后,自身精子可以被来自雄性的信号分子活化。而在相应的雄性突变体中精子细胞能够正常活化。SWM-1 能够抑制雄性线虫精子细胞的活化,而对雌雄同体线虫精子的活化没有影响,说明雄性线虫和雌雄同体线虫间可能存在着不同的精子活化信号转导途径<sup>[36]</sup>。

*spe-8* 基因编码一个具有SH2 结构域的蛋白分子<sup>[15]</sup>。*spe-12* 基因编码一个含255 个氨基酸的单次跨膜蛋白,位于精子细胞的细胞膜上<sup>[34]</sup>。*spe-27* 基因编码一个含131 个氨基酸,分子量为15 kDa的蛋白分子<sup>[33]</sup>。*spe-29* 基因编码一个含66 个氨基酸,分子量为7.5 kDa的单次跨膜蛋白<sup>[35]</sup>。*spe-19* 编码一个含300 个氨基酸的单次跨膜蛋白<sup>[32]</sup>。SPE-8 家族的蛋白分子组成一个蛋白复合体,作用于相同的精子活化信号通路(图3):SPE-19 作为精子活化信号受体参与信号转导,SPE-8 为胞内激酶,SPE-12 位于细胞表面,SPE-27 为胞内亲水蛋白,SPE-29 为跨膜蛋白<sup>[32-35]</sup>。在未活化的精子细胞中,通过SPE-6 激酶的磷酸化作用阻止了精子细胞的活化;而精子活化信号通过膜上SPE-12、SPE-29 和SPE-19 以及胞质SPE-8 和SPE-27 组成的信号转导复合体的传递,抑制SPE-6 激酶的活性,进而启动精子细胞的活化<sup>[32]</sup>。

目前体内诱导线虫精子细胞活化的机制还不清楚,而在体外一些物质可以诱导精子活化。Monensin和TEA可以通过提高胞内的pH值来诱导精子细胞的活化<sup>[12,37]</sup>,Pronase不改变胞内的pH值,而是通过其他途径诱导精子细胞的活化<sup>[12]</sup>;钙调蛋白抑制剂可以诱导精子活化,但活化的精子没有运动能力,而将抑制剂去除后活化的精子也可以进行运动<sup>[38]</sup>。TEA能正常活化*spe-8* 突变株的精子,但对于*spe-19* 突变株精子只能诱导其形成丝状伪足中间体<sup>[32]</sup>。

### 2.2.4 与精子细胞芽裂过程中物质运输相关的基因

在初期精母细胞减数分裂形成精子细胞的过程中,一些蛋白分子在将FB-MO复合体和线粒体等细胞器转运到精子细胞的过程中发挥了重要作用,目前已鉴定出两个相关基因 *spe-26* 和 *spe-15*。*spe-26* 基因编码一个含有570 个氨基酸的肌动蛋白结合蛋白 kelchs 和 scruin 类似蛋白,在形成单倍体精子细胞的胞质分离过程中具有重要作用。其突变体的精母细胞不能完成减数分裂,形成染色体错配,肌动蛋白、内质网和核糖体异常分布的精母细胞,因此阻断

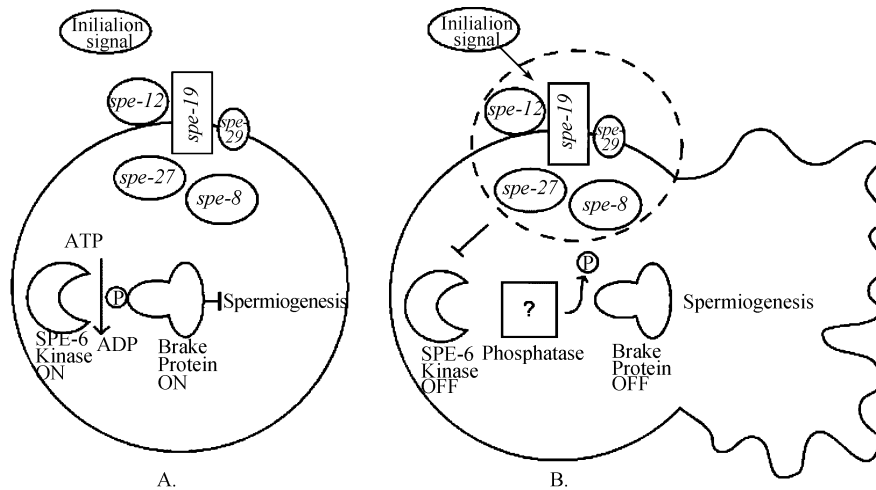


图3 秀丽线虫精子的活化模式<sup>[32]</sup>

A: 未活化的精子。在没有激活因子的条件下, SPE-6 激酶通过磷酸化活化阻断蛋白, 从而抑制精子的活化。B: 活化的精子。由膜蛋白 SPE-12, SPE-29 和 SPE-19 及胞质蛋白 SPE-8 和 SPE-27 组成的信号传导复合体, 将激活信号传导到精子细胞内抑制 SPE-6 激酶的活性, 解除活化阻断蛋白的抑制作用。

Fig. 3 Sperm activation model in *C. elegans*<sup>[32]</sup>

A: Unactivated spermatid. Without activator(s), a brake protein keeps sperm activation in check via its phosphorylation by the casein kinase-like protein SPE-6. B: Activated spermatozoa. The initial signal (postulated unidentified protease) caused signaling complex (SPE-12, SPE-29 and SPE-19 at the plasma membrane and SPE-8 and SPE-27 in the cytoplasm) to repress SPE-6 kinase activity and therefore release activation inhibition. The pictures were reproduced with permission from *Developmental Biology*, 2005, 283: 424–436 by Elsevier Ltd.

精子发生进而导致雄虫和雌雄同体线虫不育<sup>[39]</sup>。*spe-15* 基因编码肌球蛋白, 在精子细胞芽裂的物质运输中发挥了重要作用。*spe-15* 突变体的精母细胞不能将线粒体和FB-MO复合体运送到精子细胞, 也不能将肌动蛋白和微管蛋白排除在精子细胞外, 结果造成胞质组分在精子细胞和残余体中异常分布; 但是细胞核的转运不受影响, 表明突变体只是丧失了部分的物质运输功能<sup>[40]</sup>。

### 3 受精

活化的线虫精子利用伪足在子宫和受精囊内爬行, 竞争性地与卵子结合, 形成受精卵并发育成新个体; 此过程中精卵之间通过信号分子进行通讯和识别, 进而完成受精作用。

#### 3.1 线虫精子细胞的运动

线虫精子细胞没有鞭毛, 通过伪足进行爬行运动, 其运动方式与阿米巴运动相似。与高等动物的精子发生类似, 线虫精子细胞只有经过活化之后, 才能成为具有运动能力的精子。在线虫精子细胞活化过程中, MO与精子细胞膜融合, 圆球状的精子细胞在其表面向各个方向伸出许多线状伪足。线状伪足生长和收缩的速度极快, 最后形成一个具有运动功能的片状伪足, 介导精子的运动<sup>[9]</sup>。在精子细胞运动过程中, 伪足的膜组分持续地从前沿流向基部<sup>[29]</sup>。

线虫的精子细胞中没有actin, 而是以精子主要蛋白 (Major sperm protein, MSP)为基础组成细胞骨架来驱动精子的运动<sup>[9]</sup>。MSP分子量约为 14 kDa, 无极性, 以二聚体的形式存在, 主要分布于线虫纲动物的精子中, 是精子中最丰富的蛋白质, 约占精子总蛋白量的 15%, 所以被称为精子主要蛋白<sup>[41]</sup>。

猪蛔虫(*Ascaris suum*)的精子与秀丽线虫的精子具有相似的运动方式, 都是以MSP为细胞骨架介导精子的运动, 序列分析表明, 两者的MSP分子具有极高的同源性<sup>[42]</sup>。利用猪蛔虫精子的无细胞体系可以在体外重现了精子细胞前沿的运动: MSP丝在来源于细胞膜的囊泡后面聚合生长, 许多这样的丝形成网络状纤维; 每一根生长纤维的前端一定存在一个囊泡, 纤维的延长推动囊泡向前运动, 与活细胞前沿细胞骨架推动细胞膜的延展运动极为相似<sup>[43–44]</sup>。进一步研究发现, MPOP蛋白与MSP的聚合密切相关, 其活性被蛋白酪氨酸磷酸化作用所调控; 胞质蛋白MFP2加速了MSP纤维的聚合, 而MFP1则减缓了纤维的聚合; 蛋白激酶(MPAK)可能被MPOP招募至细胞膜处使MFP2磷酸化从而加速MSP纤维聚合<sup>[45–47]</sup>。此外, 纤维解聚收缩也可以在体外重现: 无细胞体系中加入外源酪氨酸磷酸酶, 可导致长成的纤维快速解聚收缩, 这一过程模拟了精子基部细胞骨架的解聚过程<sup>[48]</sup>。然而, 目前对以MSP为基础的

细胞骨架解聚收缩的详细分子机理还不清楚。

### 3.2 精子竞争

在未交配的雌雄同体线虫体内, 卵子与自身产生的精子进行结合并产生下一代。而当其与雄虫交配后, 则存在一种有利于杂交的生殖策略——精子竞争, 即雄虫的精子比雌雄同体线虫自身产生的精子更具竞争优势<sup>[49]</sup>。雌雄同体线虫没有与雄虫交配时, 自我受精产生自交后代; 而在与雄虫交配后, 若仅有少量雄虫精子进入雌雄同体子宫内, 雌雄同体可产下自交后代和杂交后代; 若有大量雄性精子进入体内时, 雌雄同体线虫会优先利用雄性精子产下杂交后代, 基本上不产生自交后代。

研究表明精子的大小是影响精子竞争的主要因素, 雄性线虫产生的精子体积大, 体积大的精子伪足较大, 也就具有更强的运动能力, 可以将体积小的雌雄同体线虫的精子从受精囊排挤出来, 优先与卵子结合<sup>[50]</sup>。*spe-9* 突变体雄虫的精子尽管不能完成受精作用, 但它相对于雌雄同体线虫的精子同样具有竞争优势, 这表明精子的受精作用与其竞争优势之间没有必然的联系<sup>[51]</sup>。

### 3.3 受精相关基因

在突变体分析中发现, 有一些基因突变后其初级精母细胞能够通过减数分裂形成精子细胞。精子细胞在活化信号的作用下也能活化, 形成伪足并进行运动, 但是无法完成受精过程。目前已分离鉴定了下述基因。

*spe-9* 基因家族(*spe-9*, *spe-41/trp-3*, *spe-38* 和 *spe-42*)对精子发生、运动和精子竞争没有影响, 只在精卵识别和受精作用中发挥重要作用。*spe-9* 基因编码一个具有 10 个胞外 EGF 区的单次跨膜蛋白分子, 行使胞外黏附和受体的功能。EGF 区的缺失对受精作用的影响显著, 表明 SPE-9 在精-卵信号识别中发挥重要作用<sup>[51~53]</sup>。*spe-41/trp-3* 基因编码一个 TRP 钙离子通道膜蛋白, 该基因突变后同时造成雄性和雌雄同体线虫精子发生缺陷导致不育。TRP-3 蛋白最初位于 MO 上, 在精子活化过程中 MO 与细胞膜融合, TRP-3 被转移到细胞膜上, 通过调控胞内钙离子浓度来调节精子和卵子之间的相互作用<sup>[54]</sup>。*spe-38* 基因编码一个四次跨膜的膜蛋白分子, 主要分布于精子的伪足。*spe-38* 突变体精子虽然在精子运动、促进排卵和精子竞争上与野生型无明显差别, 但不能进行受精。哺乳动物中与该蛋白结构相似的四次跨

膜蛋白参与受精过程中膜的附着与融合<sup>[55]</sup>。*spe-42* 基因编码一个七次跨膜的蛋白质分子, 其突变体精子在精子运动和精子竞争上与野生型无差别, 但不能完成受精过程, 其具体功能尚不清楚<sup>[56]</sup>。*spe-11* 突变体能够形成正常的精子细胞, 精子细胞也能被诱导活化并完成受精过程。但是, *spe-11* 精子形成的受精卵不能启动胚胎发生而导致胚胎死亡; *spe-11* 突变体的卵子与野生型线虫的精子能够完成受精并形成正常的受精卵。进一步的研究表明, *spe-11* 突变体的精子参与受精的受精卵不能促进卵子完成减数分裂, 也不能形成卵壳<sup>[57]</sup>。*spe-11* 基因只在精子发生过程中特异表达, 且只存在于线虫, 在其他生物体中尚未发现同源基因<sup>[58]</sup>。

### 3.4 精子与卵母细胞间的信号途径

秀丽线虫精卵细胞间的通讯涉及精子调控卵母细胞成熟和卵母细胞诱导精子定向运动两个方面。精子通过具有双重功能(细胞骨架组份、信号分子)的 MSP 蛋白与卵母细胞进行细胞通讯(图 4A)<sup>[59~61]</sup>: MSP 以出芽的方式从双层膜膜泡分泌出来, 作用于卵母细胞质膜受体直接促进卵母细胞成熟, 或者作用于鞘细胞质膜受体间接调控卵母细胞成熟(图 4B)<sup>[60, 62~64]</sup>。精子调控卵母细胞成熟是一种精子敏感性调控机制。在雌雄同体线虫生殖腺内, 指引精子向受精囊定向运动的胞外信号来源于卵母细胞, 卵母细胞内多不饱和脂肪酸(PUFAs)代谢产生的类二十烷酸很可能是精子定向运动的胞外信号<sup>[65]</sup>。

目前已鉴定的精卵细胞通讯信号通路可分为两类: VAB-1 依赖的信号通路<sup>[63, 66]</sup>和非 VAB-1 依赖的信号通路, 其中非 VAB-1 依赖的信号通路又包括鞘细胞(Sheath cell)CEH-18 依赖的信号通路<sup>[67, 68]</sup>和 G 蛋白信号通路<sup>[69]</sup>。精子或 MSP 不存在时, 卵母细胞质膜上的 MSP 受体 VAB-1 与配体 EFN-2 结合, 抑制卵母细胞成熟; 同时 IP<sub>3</sub> 受体 ITR-1 也参与了该负调控信号通路。而当有精子或 MSP 存在时, MSP 与 VAB-1 结合, 将结合 EFN-2 的负调控因子 VAB-1 转变为正调控因子, 促进卵母细胞成熟; 卵母细胞成熟的负调控因子 NMDA 的受体 NMR-1 和正调控因子 CaMKII (Ca<sup>2+</sup>/钙调蛋白依赖性蛋白激酶 II) UNC-43 也参与了该信号通路的正调控<sup>[70]</sup>。

鞘细胞通过鞘细胞-卵母细胞间隙连接抑制卵母细胞的成熟, MSP 通过 CEH-18 依赖性信号通路和 G 蛋白信号通路解除间隙连接对卵母细胞成熟的抑制。在 CEH-18 依赖的信号通路中, CEH-18 是鞘



细胞的核内转录因子, 对形成和维持鞘细胞/卵母细胞间隙连接是必需的, 而鞘卵间隙连接组成元件

INX-14、INX-22 也参与该信号通路。G 蛋白信号通路(图 5)在调控卵母细胞的成熟过程中起关键作用,

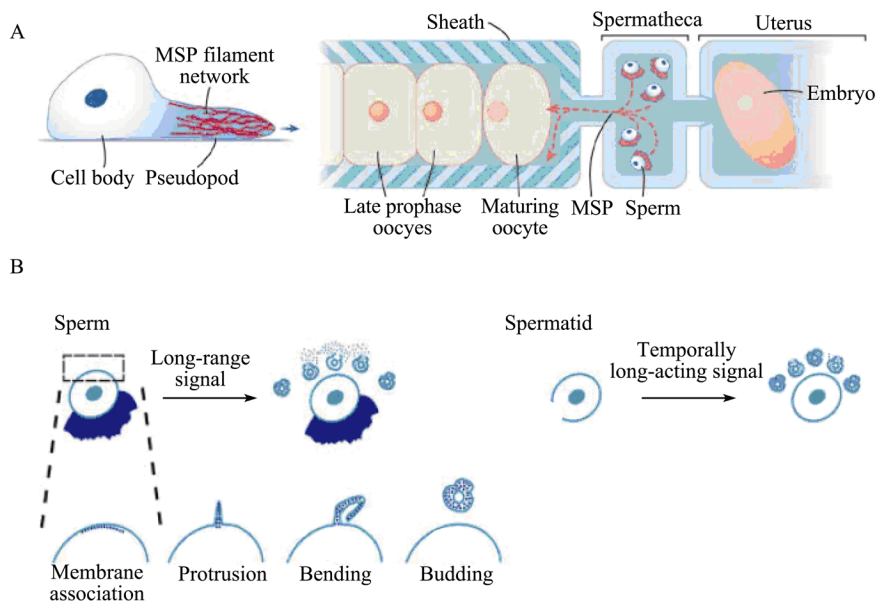


图 4 精子主要蛋白MSP的双重功能及释放方式<sup>[60,64]</sup>

A: MSP 不仅作为骨架蛋白参与精子的运动中, 而且分泌到胞外在精卵通讯中作为胞外信号分子发挥作用; B: 精子和精子细胞通过双层膜出芽的方式释放 MSP 蛋白。

Fig. 4 The dual functions of MSP and its releasing mechanism from sperm<sup>[60,64]</sup>

A: MSP, the major cytoskeletal protein essential for for *C. elegans* sperm migration, when secreted out of sperm, also plays an extracellular signal role during sperm-oocyte recognition. The picture was reproduced from *Science* 2001, 291, (5511): 2099–2101 by copyright permission of AAAS, www.sciencemag.org. B: The mechanism that MSP released from sperm via a double membrane vesicle-budding way. The picture was reproduced with permission from *Developmental Dynamics*, 2006, 235: 571–585 by John Wiley & Sons, Inc.

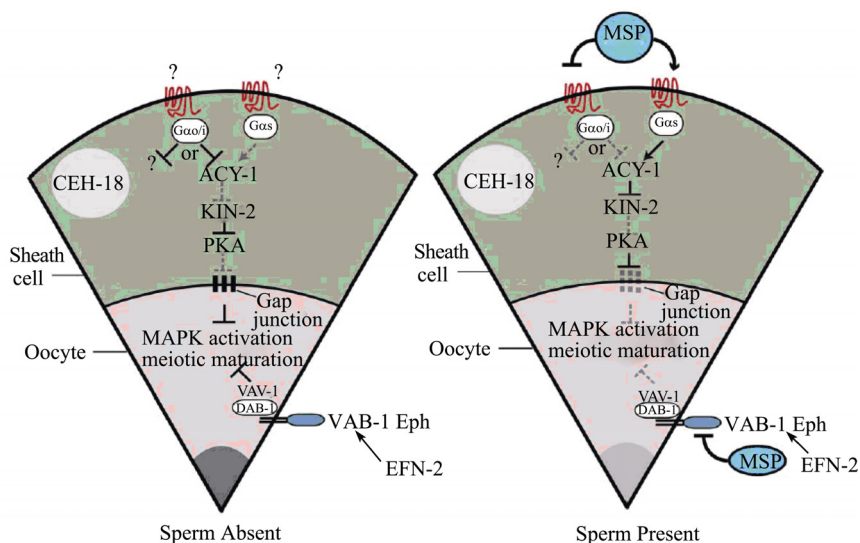


图 5 鞘细胞拮抗性G蛋白信号通路和卵细胞MSP/Eph-VAB-1 信号通路协同调节减数分裂成熟<sup>[69]</sup>

Gao/i 抑制卵细胞成熟, 与促进卵细胞成熟的 Gas 信号通路相拮抗。PKA(cAMP-dependent protein kinase A)的调节亚基 KIN-2 和腺苷酸环化酶 ACY 参与 Gas 信号通路。MSP 信号分子激活 Gas 偶联受体, 同时抑制 Gao/i 偶联受体。

Fig. 5 The antagonistic control mechanism of meiotic maturation in *C. elegans* by G protein signaling from the sheath cell and an oocyte MSP/Eph-VAB-1 pathway<sup>[69]</sup>

Gao/i inhibits oocyte maturation and antagonizes a Gas pathway that promotes maturation. The regulatory subunit (KIN-2) of cyclic-AMP-dependent protein kinase A (PKA) and adenylate cyclase (ACY) are involved in the Gas pathway. MSP stimulates Gas-coupled receptors while antagonizing Gao/i receptors. The picture was reproduced from *Current Biology*, 2006, 16:1257-1268 by copyright permission of Elsevier Ltd.

该通路由相互拮抗的正调控因子Gas和负调控因子Gao/i、ACY、KIN-2、PKA组成<sup>[69]</sup>。没有精子存在时，Gao/i信号通路抑制卵母细胞成熟；有精子存在时，MSP结合鞘细胞质膜上的G蛋白偶联受体，从而抑制Gao/i信号通路并激活Gas信号通路，Gas信号通路直接作用于鞘细胞/卵母细胞间隙连接，解除间隙连接对卵母细胞成熟的抑制。此外，MSP还可直接作用于鞘细胞的VAB-1 信号通路来提高鞘细胞收缩频率，进而促进排卵<sup>[69]</sup>(图 5)。

#### 4 展望

通过对秀丽线虫精子发生和受精缺陷相关突变体的筛选已经分离鉴定了许多精子发生和受精相关的基因，促进了人们对线虫精子发生和受精分子机理的认识。随着基因芯片技术的应用，在秀丽线虫中已经筛选出 1 343 个在精子发生过程中特异表达的基因<sup>[4,5]</sup>。秀丽线虫RNA干扰技术可以选择性地沉默特定靶基因或者同时沉默多个靶基因，为研究基因功能提供了快速有效的手段<sup>[71,72]</sup>。我们实验室将充分利用遗传学、生物化学、细胞生物学和生物物理学等学科的技术手段，分离鉴定在秀丽线虫精子的形成、活化、运动和受精过程中起关键作用的基因并阐明其功能。此外，我们还结合猪蛔虫精子体外无细胞体系的实验，深入系统地研究线虫精子细胞运动的调控机理。通过对线虫精子发生和受精机理的深入研究，不仅可以极大地补充和指导以actin为基础的细胞运动的研究，还将对动植物寄生线虫的防治、男性不育的治疗以及男性无毒避孕药物的设计提供丰富的基础知识和新的策略，因此，这项研究具有重要的理论意义和巨大的潜在市场价值。

#### 参考文献(References):

- [1] GE Shao-Qin, KANG Xian-Jiang, LIU Gui-Rong, MU Shu-Mei. Genes involved in spermatogenesis. *Hereditas (Beijing)*, 2008, 30(1): 3–12.  
葛少钦, 康现江, 刘桂荣, 穆淑梅. 精子发生过程中的相关基因. *遗传*, 2008, 30(1): 3–12.
- [2] Chu DS, Liu HB, Nix P, Wu TF, Ralston EJ, Yates III JR, Meyer BJ. Sperm chromatin proteomics identifies evolutionarily conserved fertility factors. *Nature*, 2006, 443(7107): 101–105. [\[DOI\]](#)
- [3] QIN Feng-Song, YANG Chong-Lin. Worm into discoveries: *Caenorhabditis elegans* as a model organism of life science research. *Chinese Bulletin of Life Sciences*, 2006, 18(5): 419–424.
- [4] Reinke V, Smith HE, Nance J, Wang J, Van Doren C, Begley R, Jones SJ, Davis EB, Scherer S, Ward S, Kim SK. A global profile of germline gene expression in *C. elegans*. *Mol Cell*, 2000, 6(3): 605–616. [\[DOI\]](#)
- [5] Reinke V, Gil IS, Ward S, Kazmer K. Genome-wide germline-enriched and sex-biased expression profiles in *Caenorhabditis elegans*. *Development*, 2004, 131(2): 311–323. [\[DOI\]](#)
- [6] Singson A. Every sperm is sacred: fertilization in *C. elegans*. *Dev Biol*, 2001, 230(2): 101–109. [\[DOI\]](#)
- [7] Ward S, Argon Y, Nelson GA. Sperm morphogenesis in wild-type and fertilization-defective mutants of *Caenorhabditis elegans*. *J Cell Biol*, 1981(1), 91: 26–44. [\[DOI\]](#)
- [8] Greenstein D. Control of oocyte meiotic maturation and fertilization (December 28, 2005), WormBook, ed. The *C. elegans* Research Community, WormBook, doi/10.1895/wormbook.1.53.1.
- [9] Nelson GA, Roberts TM, Ward S. *C. elegans* spermatozoan locomotion: Amoeboid movement with almost no actin. *J Cell Biol*, 1982, 92(1): 121–131. [\[DOI\]](#)
- [10] Roberts TM, Pavalko FM, Ward S. Membrane and cytoplasmic proteins are transported in the same organelle complex during nematode spermatogenesis. *J Cell Biol*, 1986, 102(5): 1787–1796. [\[DOI\]](#)
- [11] Gleason EJ, Lindsey WC, Kroft TL, Singson AW, L'Hernault SW. *spe-10* encodes a DHHC-CRD zinc-finger membrane protein required for endoplasmic reticulum/Golgi membrane morphogenesis during *Caenorhabditis elegans* spermatogenesis. *Genetics*, 2006, 172(1): 145–158. [\[DOI\]](#)
- [12] Ward S, Hogan E, Nelson GA. The initiation of spermiogenesis in the nematode *Caenorhabditis elegans*. *Dev Biol*, 1983, 98(1): 70–79. [\[DOI\]](#)
- [13] Argon Y, Ward S. *Caenorhabditis elegans* fertilization-defective mutants with abnormal sperm. *Genetics*, 1980, 96(2): 413–433.
- [14] Hirsh D, Vanderslice R. Temperature-sensitive developmental mutants of *Caenorhabditis elegans*. *Dev Biol*, 1976, 49(1): 220–235. [\[DOI\]](#)
- [15] L'Hernault SW, Shakes DC, Ward S. Developmental genetics of chromosome I spermatogenesis-defective mutants in the nematode *Caenorhabditis elegans*. *Genetics*, 1988, 120(2): 434–452.
- [16] Sigurdson DC, Spanier GJ, Herman RK. *Caenorhabditis elegans* deficiency mapping. *Genetics*, 1984, 108(2): 331–345.
- [17] Ward S, Miwa J. Characterization of a temperature-sensitive fertilization-defective mutant of the nematode *Caenorhabditis elegans*. *Genetics*, 1978, 88(2): 285–303.



- [18] Lamitina ST, L'Hernault SW. Dominant mutations in the *Caenorhabditis elegans* Myt1 ortholog *wee-1.3* reveal a novel domain that controls M-phase entry during spermatogenesis. *Development*, 2002, 129(21): 5009–5018.
- [19] Subramaniam K, Seydoux G. Dedifferentiation of primary spermatocytes into germ cell tumors in *C. elegans* lacking the pumilio-like protein PUF-8. *Curr Biol*, 2003, 13(2): 134–139. [\[DOI\]](#)
- [20] Arduengo PM, Appleberry OK, Chuang P, L'Hernault SW. The presenilin protein family member SPE-4 localizes to an ER/Golgi derived organelle and is required for proper cytoplasmic partitioning during *Caenorhabditis elegans* spermatogenesis. *J Cell Sci*, 1998, 110(24): 3645–3654.
- [21] L'Hernault SW, Arduengo PM. Mutation of a putative sperm membrane protein in *Caenorhabditis elegans* prevents sperm differentiation but not its associated meiotic divisions. *J Cell Biol*, 1992, 119(1): 55–68. [\[DOI\]](#)
- [22] Muhlrud PJ, Ward S. Spermiogenesis initiation in *Caenorhabditis elegans* involves a casein kinase 1 encoded by the *spe-6* gene. *Genetics*, 2002, 161(1): 143–155.
- [23] Varkey JP, Jansma PL, Minniti AN, Ward S. The *Caenorhabditis elegans spe-6* gene is required for major sperm protein assembly and shows second site non-complementation with an unlinked deficiency. *Genetics*, 1993, 133(1): 79–86.
- [24] Machaca K, L'Hernault SW. The *Caenorhabditis elegans spe-5* gene is required for morphogenesis of a sperm-specific organelle and is associated with an inherent cold-sensitive phenotype. *Genetics*, 1997, 146(2): 567–581.
- [25] Zhu GD, L'Hernault SW. The *Caenorhabditis elegans spe-39* gene is required for intracellular membrane reorganization during spermatogenesis. *Genetics*, 2003, 165(1): 145–157.
- [26] L'Hernault SW, Benian GM, Emmons RB. Genetic and molecular characterization of the *Caenorhabditis elegans* spermatogenesis-defective gene *spe-17*. *Genetics*, 1993, 134(3): 769–780.
- [27] Shakes DC, Ward S. Mutations that disrupt the morphogenesis and localization of a sperm-specific organelle in *Caenorhabditis elegans*. *Dev Biol*, 1989, 134(2): 307–316. [\[DOI\]](#)
- [28] Achanzar WE, Ward S. A nematode gene required for sperm vesicle fusion. *J Cell Sci*, 1997, 110(9): 1073–1081.
- [29] Roberts TM, Ward S. Centripetal flow of pseudopodial surface components could propel the amoeboid movement of *Caenorhabditis elegans* spermatozoa. *J Cell Biol*, 1982, 92(1): 132–138. [\[DOI\]](#)
- [30] Washington NL, Ward S. FER-1 regulates  $\text{Ca}^{2+}$ -mediated membrane fusion during *C. elegans* spermatogenesis. *J Cell Sci*, 2006, 119(12): 2552–2562. [\[DOI\]](#)
- [31] Brenner S. The genetics of *Caenorhabditis elegans*. *Genetics*, 1974, 77(1): 71–94.
- [32] Geldziler B, Chatterjee I, Singson AW. The genetic and molecular analysis of *spe-19*, a gene required for sperm activation in *Caenorhabditis elegans*. *Dev Biol*, 2005, 283(2): 424–436. [\[DOI\]](#)
- [33] Minniti AN, Sadler C, Ward S. Genetic and molecular analysis of *spe-27*, a gene required for spermiogenesis in *Caenorhabditis elegans* hermaphrodites. *Genetics*, 1996, 143(1): 213–223.
- [34] Nance J, Minniti AN, Sadler C, Ward S. *spe-12* encodes a sperm cell surface protein that promotes spermiogenesis in *Caenorhabditis elegans*. *Genetics*, 1999, 152(1): 209–220.
- [35] Nance J, Davis EB, Ward S. *spe-29* encodes a small predicted membrane protein required for the initiation of sperm activation in *Caenorhabditis elegans*. *Genetics*, 2000, 156(4): 1623–1633.
- [36] Stanfield GM, Villeneuve AM. Regulation of sperm activation by SWM-1 is required for reproductive success of *C. elegans* males. *Curr Biol*, 2006, 16(3): 252–263. [\[DOI\]](#)
- [37] Nelson GA, Ward S. Vesicle fusion, pseudopod extension and amoeboid motility are induced in nematode spermatids by the ionophore monensin. *Cell*, 1980, 19(2): 457–464. [\[DOI\]](#)
- [38] Shakes DC, Ward S. Initiation of spermiogenesis in *C. elegans*: A pharmacological and genetic analysis. *Dev Biol*, 1989, 134(1): 189–200. [\[DOI\]](#)
- [39] Varkey JP, Muhlrud PJ, Minniti AN, Do B, Ward S. The *Caenorhabditis elegans spe-26* gene is necessary to form spermatids and encodes a protein similar to the actin-associated proteins kelch and scruin. *Gene Dev*, 1995, 9(9): 1074–1086. [\[DOI\]](#)
- [40] Kelleher JF, Mandell MA, Moulder G, Hill KL, L'Hernault SW, Barstead R, Titus MA. Myosin VI is required for asymmetric segregation of cellular components during *C. elegans* spermatogenesis. *Curr Biol*, 2000, 10(24): 1489–1496. [\[DOI\]](#)
- [41] Klass MR, Hirsh D. Sperm isolation and biochemical analysis of the major sperm protein from *Caenorhabditis elegans*. *Dev Biol*, 1981, 84(5): 299–312. [\[DOI\]](#)
- [42] Roberts TM. Major sperm protein. *Curr Biol*, 2005, 15(5): R153. [\[DOI\]](#)
- [43] Italiano JE, Roberts TM, Stewart M, Fontana CA. Reconstitution *in vitro* of the motile apparatus from the amoeboid sperm of *Ascaris* shows that filament assembly and bundling move membranes. *Cell*, 1996, 84(1): 105–114. [\[DOI\]](#)
- [44] Theriot JA. Worm sperm and advances in cell locomotion. *Cell*, 1996, 84(1): 1–4. [\[DOI\]](#)
- [45] Buttery SM, Ekman GC, Seavy M, Stewart M, Roberts TM. Dissection of the *Ascaris* sperm motility machinery identifies key proteins involved in major sperm protein-based amoeboid locomotion. *Mol Biol Cell*, 2003, 14(12): 5082–5088. [\[DOI\]](#)

- [46] LeClaire LL, Stewart M, Roberts TM. A 48 kDa integral membrane phosphoprotein orchestrates the cytoskeletal dynamics that generate amoeboid cell motility in *Ascaris* sperm. *J Cell Sci*, 2003, 116(13): 2655–2663. [\[DOI\]](#)
- [47] Yi K, Buttery SM, Stewart M, Roberts TM. A Ser/Thr kinase required for membrane-associated assembly of the major sperm protein motility apparatus in the amoeboid sperm of *Ascaris*. *Mol Biol Cell*, 2007, 18(5): 1816–1825. [\[DOI\]](#)
- [48] Miao L, Vanderlinde O, Stewart M, Roberts TM. Retraction in amoeboid cell motility powered by cytoskeletal dynamics. *Science*, 2003, 302 (5649): 1405–1407. [\[DOI\]](#)
- [49] Ward S, Carrel JS. Fertilization and sperm competition in the nematode *Caenorhabditis elegans*. *Dev Biol*, 1979, 73(2): 304–321. [\[DOI\]](#)
- [50] LaMunyon CW, Ward S. Sperm precedence in a hermaphroditic nematode (*Caenorhabditis elegans*) is due to competitive superiority of male sperm. *Experientia*, 1995, 51(8): 817–823. [\[DOI\]](#)
- [51] Singson A, Hill KL, L'Hernault SW. Sperm competition in the absence of fertilization in *Caenorhabditis elegans*. *Genetics*, 1999, 152(1): 201–208.
- [52] Putiri E, Zannoni S, Kadandale P, Singson A. Functional domains and temperature-sensitive mutations in SPE-9, an EGF repeat-containing protein required for fertility in *Caenorhabditis elegans*. *Dev Biol*, 2004, 272(2): 448–459. [\[DOI\]](#)
- [53] Singson A, Mercer KB, L'Hernault SW. The *C. elegans spe-9* gene encodes a sperm transmembrane protein that contains EGF-like repeats and is required for fertilization. *Cell*, 1998, 93(1): 71–79. [\[DOI\]](#)
- [54] Xu XZ, Sternberg PW. A *C. elegans* sperm TRP protein required for sperm-egg interactions during fertilization. *Cell*, 2003, 114(3): 285–297. [\[DOI\]](#)
- [55] Chatterjee I, Richmond A, Putiri E, Shakes DC, Singson A. The *Caenorhabditis elegans spe-38* gene encodes a novel four-pass integral membrane protein required for sperm function at fertilization. *Development*, 2005, 132(12): 2795–2808. [\[DOI\]](#)
- [56] Kroft TL, Gleason EJ, L'Hernault SW. The *spe-42* gene is required for sperm-egg interactions during *C. elegans* fertilization and encodes a sperm-specific transmembrane protein. *Dev Biol*, 2005, 286(1): 169–181. [\[DOI\]](#)
- [57] Hill DP, Shakes DC, Ward S, Strome S. A sperm-supplied product essential for initiation of normal embryogenesis in *Caenorhabditis elegans* is encoded by the paternal-effect embryonic-lethal gene, *spe-11*. *Dev Biol*, 1989, 136(1): 154–166. [\[DOI\]](#)
- [58] Browning H, Strome S. A sperm-supplied factor required for embryogenesis in *C. elegans*. *Development*, 1996, 122(1): 391–404.
- [59] Harris JE, Govindan JA, Yamamoto I, Schwartz J, Kaverina I, Greenstein D. Major sperm protein signaling promotes oocyte microtubule reorganization prior to fertilization in *Caenorhabditis elegans*. *Dev Biol*, 2006, 299(1): 105–121. [\[DOI\]](#)
- [60] Miller MA, Nguyen VQ, Lee MH, Kosinski M, Schedl T, Caprioli RM, Greenstein D. A sperm cytoskeletal protein that signals oocyte meiotic maturation and ovulation. *Science*, 2001, 291(5517): 2144–2147.
- [61] Villeneuve AM. How to stimulate your partner. *Science*, 2001, 291(5511): 2099–2101. [\[DOI\]](#)
- [62] Kosinski M, McDonald K, Schwartz J, Yamamoto I, Greenstein D. *C. elegans* sperm bud vesicles to deliver a meiotic maturation signal to distant oocytes. *Development*, 2005, 132(15): 3357–3369. [\[DOI\]](#)
- [63] Miller MA, Ruest PJ, Kosinski M, Hanks SK, Greenstein D. An Eph receptor sperm-sensing control mechanism for oocyte meiotic maturation in *Caenorhabditis elegans*. *Genes Dev*, 2003, 17(2): 187–200. [\[DOI\]](#)
- [64] Yamamoto I, Kosinski ME, Greenstein D. Start me up: cell signaling and the journey. From oocyte to embryo in *C. elegans*. *Dev Dynam*, 2006, 235(3): 571–585. [\[DOI\]](#)
- [65] Kubagawa HM, Watts JL, Corrigan C, Edmonds JW, Sztul E, Browse J, Miller MA. Oocyte signals derived from polyunsaturated fatty acids control sperm recruitment *in vivo*. *Nat Cell Biol*, 2006, 8(10): 1143–1148. [\[DOI\]](#)
- [66] Kuwabara PE. The multifaced *C. elegans* major sperm protein: an ephrin signaling antagonist in oocyte maturation. *Genes Dev*, 2003, 17(2): 155–161. [\[DOI\]](#)
- [67] Greenstein D, Hird S, Plasterk RHA, Andachi Y, Kohara Y, Wang B, Finney M, Ruvkun G. Targeted mutations in the *Caenorhabditis elegans* POU homeobox gene *ceh-18* cause defects in oocyte cell cycle arrest, gonad migration, and epidermal differentiation. *Genetics*, 1994, 94(16): 1935–1948.
- [68] Whitten SJ, Miller MA. The role of gap junctions in *Caenorhabditis elegans* oocyte maturation and fertilization. *Dev Biol*, 2007, 301(2): 432–446. [\[DOI\]](#)
- [69] Govindan JA, Cheng H, Harris JE, Greenstein D. Gao/i and Gas signaling function in parallel with the MSP/Eph receptor to control meiotic diapause in *C. elegans*. *Curr Biol*, 2006, 16(13): 1257–1268. [\[DOI\]](#)
- [70] Corrigan C, Subramanian R, Miller MA. Eph and NMDA receptors control  $\text{Ca}^{2+}$ /calmodulin-dependent protein kinase II activation during *C. elegans* oocyte meiotic maturation. *Development*, 2005, 132(23): 5225–5237. [\[DOI\]](#)
- [71] Fire A, Xu SQ, Montgomery MK, Kostas SA, Driver SE, Mello CC. Potent and specific genetic interference by double-stranded RNA in *Caenorhabditis elegans*. *Nature*, 1998, 391(6669): 806–811. [\[DOI\]](#)
- [72] Piano F, Schetter AJ, Morton DG, Gunsalus KC, Reinke V, Kim SK, Kemphues KJ. Gene clustering based on RNAi phenotypes of ovary-enriched genes in *C. elegans*. *Curr Biol*, 2002, 12(22): 1959–1964. [\[DOI\]](#)