

# **CONTROLE CITOPLASMÁTICO DA MATURAÇÃO NUCLEAR DO OÓCITO: HISTÓRICO E IMPORTÂNCIA DO MPF<sup>1</sup>**

**Sheyla Farhayldes Souza DOMINGUES<sup>2</sup>**

**Julianne Silva de LIMA<sup>3</sup>**

**Maria Clara Caldas BUSSIERE<sup>4</sup>**

**RESUMO:** Os mecanismos celulares que tornam um oócito competente para ser fertilizado são de fundamental importância para a compreensão da reprodução animal. Dentro deste contexto, a presente revisão tem como objetivo abordar os avanços sobre o estudo do controle da maturação nuclear oocitária, com ênfase para o MPF.

**TERMOS PARA INDEXAÇÃO:** Oócito, Maturação Oocitária, MPF

## **CYTOPLASMATIC CONTROL OF THE OOCYTE NUCLEAR MATURATION: THE MPF HISTORY AND IMPORTANCE**

**ABSTRACT:** The cellular mechanisms that make an oocyte able to be fertilized are fundamentally important to understand animal reproduction. Therefore, the aim of the current review to discuss improvements on the study of the nuclear oocyte maturation control, with emphasis on the MPF.

**INDEX TERMS:** Oocyte, Oocyte Maturation, MP

---

<sup>1</sup> Aprovado para publicação em 12.03.08

<sup>2</sup> Médica Veterinária, Laboratório de Biologia e Medicina de Animais Silvestres BIOMEDAN, Medicina Veterinária, Universidade Federal do Pará.

<sup>3</sup> Academia de Ciências Biológicas, BIOMEDAM, Universidade Federal do Pará

<sup>4</sup> Médica Veterinária, Laboratório de Melhoramento Genético Animal LMGA, Medicina Veterinária, Universidade Estadual do Norte Fluminense

## 1 INTRODUÇÃO

Os oócitos da maioria dos animais permanecem na prófase I (diplóteno), o que corresponde à fase G2 do ciclo celular, até o seu completo crescimento. A retomada da meiose in vivo é induzida pelos picos pré-ovulatórios de gonadotrofinas e in vitro pela remoção das células que circundam os oócitos e a subsequente transferência destes para meios de cultivo apropriados (BUCCIONE; SCHROEDER; EPPIG, 1990; EPPIG, 1993; CASTRO et al., 2001; KOTANI; YAMASHITA, 2002; DEKEL, 2005; JIMENEZ-MACEDO et al., 2006). Após a retomada da meiose a partir da prófase I (PI), evento chamado de rompimento da vesícula germinativa (GVBD - germinal vesicle breakdown), ocorre a dissolução do envelope nuclear, o oócito progride até a metáfase II (MII), onde ocorre a segunda parada na meiose (BUCCIONE; SCHROEDER; EPPIG, 1990; EPPIG, 1993; KOTANI; YAMASHITA, 2002; DEKEL, 2005).

Os eventos nucleares e citoplasmáticos que ocorrem durante estes processos são chamados de maturação oocitária nuclear e citoplasmática e são necessários para evitar a ocorrência de poliespermia e dar suporte ao desenvolvimento embrionário inicial (GOSDEN); KRAPEZ; BRIGGS, 1997; SU et al., 2003). A retomada da meiose a partir da PI até a segunda parada na MII é caracterizada pela condensação da cromatina, dissolução do envelope nuclear, formação do fuso mitótico e separação dos cromossomos. A GVBD é controlada por proteínas kinases e fosfatases, que modulam os processos celulares através de fosforilação e defosforilação (FERREL, 1999 a, b; KANATSU-SHINOHARA; SCHULTZ; KOPF, 2000; CASTRO et al., 2001; WEHREND; MEINECKE, 2001; KOTANI; YAMASHITA, 2002; MALLER et al., 2002; SU et al., 2003; VORONINA, MARZLUFF;

WESSEL, 2003; DEKEL, 2005). Dentre estas enzimas que controlam a maturação nuclear está o fator promotor de maturação, chamado de MPF (M-phase promoting factor) (MASUI e MARKET, 1971; MASUI; CLARKE, 1979; FERREL, 1999 a, b; TAY, HODEMAN; RICHTER, 2000; LEDAN et al., 2001), que mostra atividade oscilatória durante o processo de maturação nuclear (MASUI. MARKET, 1971; MASUI; CLARKE, 1979; WHITAKER, 1996; TAY; HODEMAN; RICHTER, 2000; WEHREND; MEINECKE, 2001; KRISCHEK; MEINECKE, 2002).

## 2 MPF: HISTÓRICO E PAPEL NO CONTROLE CITOPLASMÁTICO DA MATURAÇÃO NUCLEAR

Os oócitos de *Xenopus laevis* naturalmente parados na prófase I (final da G2) são facilmente induzidos a retomar a meiose, entrando na fase M sob estímulo da progesterona. Durante a maturação, o núcleo migra para a região cortical do oócito, quando ocorre a dissolução do envelope nuclear, concomitante com o aparecimento de uma mancha branca no pólo animal do oócito (BODART et al., 2002). O tamanho do oócito de *X. laevis*, visível a olho nu, e a facilidade de manuseio e de indução da GVBD, fizeram deste um modelo experimental para estudos sobre a maturação oocitária (FERREL, 1999 b).

Neste sentido, inicialmente Masui e Market (1971) e Smith e Ecker (1971) demonstraram funcionalmente a atividade do MPF quando o citoplasma de oócitos de *Xenopus* parados na MII (maduros) foi injetado em oócitos imaturos, parados em PI, o que resultou na condensação dos cromossomos, formação do fuso mitótico e retomada da meiose no oócito imaturo sem o estímulo hormonal ou síntese protéica. Os autores concluíram que oócitos em MII possuem um fator citoplasmático capaz de induzir a maturação oocitária, conhecido como MPF.

Por volta da década de 1980, a atividade do MPF foi demonstrada em extrato de células somáticas mitóticas incluindo desde fungo a mamíferos. Desta forma, o MPF foi renomeado como fator promotor de fase M, que implica no reconhecimento do MPF como um fator promotor de fase M comum a todas as células eucarióticas (KISHIMOTO et al., 1982; KISHIMOTO, 1988; NURSE, 1990; NURSE; MASUI; HARTWELL, 1998).

Os avanços nas pesquisas sobre o MPF originaram-se a partir de dois segmentos de pesquisas distintas e paralelas. Uma das linhas de pesquisa foi direcionada para o estudo do gene de *cdc2*, sendo identificado em leveduras de fissão como sendo um regulador fundamental para a entrada nas fases M e S (NURSE, 1990). Enquanto que a outra linha de pesquisa foi direcionada para a atividade de proteínas conhecidas como ciclinas, as quais inicialmente foram descobertas ao ser estudado o início dos ciclos de divisão celular em molusco e ouriço-do-mar. Foi demonstrado que as ciclinas são as proteínas mais sintetizadas e abundantes, com seus níveis flutuando durante todo o ciclo celular, atingindo seus valores máximos na fase M (HUNT, 1989; KOBAYASHI et al., 1991).

Devido à convergência destas pesquisas separadas com oócitos de *Xenopus*, molusco, ouriço-do-mar e fungo, ao término da década de oitenta, a atividade do MPF foi descrita como se tratando de uma Ser/Thr kinase, formada por um complexo protéico composto por ciclinas do tipo B e uma proteína kinase homóloga do produto do gene *cdc2* de fungo (HUNT, 1989; NURSE, 1990). Com a purificação do MPF, revelou-se em mais detalhes que se trata de uma proteína heterodimérica (LOHKA; HAYES; MALLER, 1988) composta de duas subunidades: uma catalítica, chamada de p34cdc2, derivada da família das cdk, que se trata de enzimas do tipo serina-tirosina kinase

(FULKA; FIRST; MOOR, 1998), e uma ciclina B (DUNPHY et al., 1988; GAUTIER et al., 1988; DRAETTA et al., 1989; LABBÉ et al., 1989; NURSE, 1990; DAI et al., 2000; WEHREND; MEINECKE, 2001).

A progressão da meiose requer tanto a síntese de ciclina B quanto o seu deslocamento do citoplasma para o núcleo, juntamente com a desfosforilação da subunidade catalítica. A desfosforilação da subunidade catalítica é catalisada por uma fosfatase codificada pelo gene *cdc25*, sendo esta reação a chave na conversão do pré-MPF inativo para MPF-kinase ativo. A ativação de Ser/Thr Kinase p34cdc2 requer a sua fosforilação no resíduo de treonina 161 pela CDK-kinase (LORCA et al., 1992; FESQUET et al., 1993; POON et al., 1993; SOLOMON, 1993) e a remoção dos fosfatos inibitórios dos resíduos de Thr 14 e Tyr 15 pela Cdc25 fosfatase (CYERT; KIRSCHNER, 1988; GAUTIER; MALLER, 1991; GAUTIER et al., 1991; KOBAYASHI et al., 1991; KUMAGAI e DUNPHY, 1991; STRAUSFELD et al., 1991; DAI et al., 2000). A desfosforilação destes resíduos, assim como a subsequente conversão de MPF-inativo para MPF-ativo, é a chave para a regulação da passagem de G2/M (MASUI; MARKET, 1971; SMITH; ECKER, 1971).

Na transição G2/M da maioria das células somáticas de eucariontes e dos oócitos de *X. laevis*, os principais componentes para indução da fase M estão presentes (COLEMAN; DUNPHY, 1994; LEW; KORNBLUTH, 1996), ou seja, a forma inativa de ciclina B/ Cdc2 na qual os resíduos Thr14, Tyr15, e de Thr161 de Cdc2 estão fosforilados (GAUTIER; MALLER, 1991; KOBAYASHI et al., 1991; KISHIMOTO, 1999; KOTANI e YAMASHITA, 2002); seu ativador direto Cdc25 fosfatase que desfosforila os resíduos de Thr14 e Tyr15 de Cdc2; e seus inativadores diretos Wee1 e Myt1 que fosforilam Tyr15 e Thr14 de Cdc2, respectivamente

(KISHIMOTO, 1999; KOTANI; YAMASHITA, 2002).

O equilíbrio entre esses ativadores e inativadores tende para a inativação de ciclina B/Cdc2 durante a fase G2. No início da fase M, o equilíbrio entre ativadores e inativadores muda para o lado oposto, iniciando a ativação de ciclina B/Cdc2 onde somente os resíduos de Thr161 de Cdc2 permanecem fosforilados (KISHIMOTO, 1999; KOTANI; YAMASHITA, 2002). Apesar de ainda não estar claro o mecanismo *in vivo* deste equilíbrio, *in vitro* a adição exclusiva de Cdc25C fosfatase pode converter a forma inativa de ciclina B/Cdc2 para a forma ativa (KOTANI; YAMASHITA, 2002). Em células mitóticas somáticas e em oócitos de *Xenopus*, os possíveis candidatos que poderiam inclinar o equilíbrio são o Cdc25B (GABRIELLI et al., 1997; LAMMER et al., 1998; KUMAGAI; DUNPHY, 1996; QIAN et al., 1998ab; GAVIN et al., 1999) e a polo-like kinase (Plk) (KUMAGAI; DUNPHY, 1996; GLOVER et al., 1998; QIAN et al., 1998ab; GAVIN et al., 1999). O aumento da quantidade da proteína Cdc25B ao término da fase G2, e da fosforilação da Plk-dependente, com a ativação de Cdc25C podem ativar a ciclina B/Cdc2 (KUMAGAI e DUNPHY, 1996; BALDIN et al., 1997; GABRIELLI et al., 1997; NISHIJIMA et al., 1997; LAMMER et al., 1998; QIAN et al., 1998 a,b; GAVIN et al., 1999).

É bem reconhecido que o MPF amplifica sua própria ação, por ser capaz de ativar Plk e Cdc25C, e diminuir a ativação de Wee1 e Myt1 (KUMAGAI e DUNPHY, 1992; COLEMAN; DUNPHY, 1994; GLOVER; HAGAN; TAVARES, 1998; QIAN et al., 1998a). Estes mecanismos de regulação dependem principalmente de fosforilação de Plk, Cdc25C e Myt 1, enquanto que com o Wee1 pode acontecer uma degradação parcial (MICHAEL, NEWPORT, 1998).

Adicionalmente a estes fatores, tem sido descrito em células somáticas que o complexo ciclina A/Cdc2, já ativo na transição da fase G2/M, pode estar envolvido na ativação de ciclina B/Cdc2 de oócitos que se encontram em transição da fase G2/M, devido à sua capacidade de inativar Wee1 de Myt1 (DEVAULT et al., 1992; PAGANO et al., 1992; OKANO-UCHIDA et al., 1998).

### 3 MPF EM OUTRAS ESPÉCIES DE VERTEBRADOS

Desde a purificação do MPF, a sua atividade durante a maturação oocitária ainda vem sendo estudada em oócitos de *X. laevis* (MOOD et al., 2004), mas também em outras espécies de anfíbios como *Xenopus tropicalis* (BODART et al., 2002) e *Rana* (YOSHIDA; MITA; YAMASHITA, 2000); suínos (CHRISTMANN; JUNG; MOOR, 1994; NAITO; TOYODA, 1991; DAI et al., 2000; WEHREND; MEINECKE, 2001), peixes (KISHIMOTO, 1999); bovinos (WEHREND; MEINECKE, 2001) e murinos (GAVIN; CACADORE; SCHORDERET; SLATKINE, 1994; LEDAN et al., 2001).

Em contraste com os oócitos de *Xenopus*, oócitos imaturos de peixes (goldfish) e outros anfíbios (*Rana*) não contêm pré-MPF na fase G2/M (TANAKA; YAMASHITA, 1995; KOTANI; YAMASHITA, 2002). Após a estimulação hormonal, a ciclina B é sintetizada a partir de estoques de mRNA e desta forma, após ser produzida no oócito sob estímulo hormonal, poderá então se ligar a Cdc2 para formar o pré-MPF, que estará apto a ser ativado através da fosforilação do pré-MPF pelo Cdk7 no resíduo T161, ativando o MPF sem a fosforilação e desfosforilação de T14/Y15 (YOSHIDA; MITA; YAMASHITA, 2000).

Em mamíferos, tem sido descrito que o MPF é ativado durante a GVBD, atingindo sua atividade máxima no fim da primeira divisão

meiótica (MI) (VERLHAC et al., 1994; HAMPL; EPPIG, 1995). Um declínio transitório no MPF ocorre na transição entre a MI e MII. Então, o MPF será reativado para entrar na MII e terá seus níveis mantidos altos durante a segunda parada da meiose (LEDAN et al., 2001). Entretanto, ainda não está elucidado qual das subunidades heterodiméricas do MPF de mamíferos possui papel determinante no controle da atividade do MPF. Tay, Hodgman e Richter (2000) demonstraram que, embora a síntese de novas proteínas não seja requerida para os oócitos de camundongos atingirem a GVBD, é essencial para a progressão até a MII. Entretanto, neste trabalho não ficou claro se é a modulação da concentração de cdc2 ou a de ciclina que representa maior importância no controle da atividade do MPF.

Para elucidar tais questões, Naito et al (1995) compararam as concentrações de p34cdc2 e ciclina B1 em oócitos suínos, demonstrando uma maior concentração de p34cdc2 livres do que o complexo p34cdc2 - Ciclina B1. Sendo provável que a síntese de ciclina B1 não seja pré-requisito para a progressão na transição G2/M. Mais tarde, Kanatsu-Shinohara, Schultz e Kopf (2000) compararam as concentrações de p34cdc2 e ciclina B1 em oócitos de camundongo incompetentes e competentes para retomar a meiose e observaram que as concentrações de ambos p34cdc2 e ciclina B1 são aproximadamente 3 vezes maior em oócitos competentes, quando comparados com oócitos incapazes de retomar a meiose. Entretanto, a concentração de ciclina B1 é até sete vezes maior do que a do p34cdc2 em ambos os estágios. Para estes autores, como a ciclina B1 está em excesso tanto em oócitos imaturos quanto oócitos maduros, o p34cdc2 é que teria um papel mais central na regulação da ativação do MPF.

Enquanto a identidade destas proteínas que devem ser sintetizadas ainda não está clara, outros trabalhos buscam avaliar o envolvimento de ciclina B1 na GVBD (TAY; HODGMAN; RICHTER, 2000, LEDAN et al., 2001). As principais evidências sugerindo que o aumento da síntese de ciclinas pode ser responsável pela regulação do MPF têm sido demonstradas com o tratamento de oócitos de camundongo com um inibidor de síntese proteica, a ciclohexamida, que resultou na diminuição da ativação de MPF e da retomada da meiose (HAMPL; EPPIG, 1995). Em outra abordagem, foi descrito que a injeção de mRNA de ciclina B1 em oócitos acelera as taxas de maturação de oócitos de camundongo (POLANSKI et al., 1998; TAY, HODGMAN; RICHTER, 2000), e que mesmo quando estes são cultivados na presença de dbcAMP, a injeção de mRNA de ciclina B1 com cadeia poli (A) longa (150-300 resíduos de adenosina) foi capaz de induzir a GVBD (LEDAN et al., 2001).

Desta forma, apesar de o MPF ser atualmente aceito como um regulador universal da fase M em células eucarióticas, a sua ativação e interação com os eventos envolvidos tanto na meiose quanto na mitose de células germinativas e somáticas ainda apresentam vários pontos a serem elucidados.

#### 4 CONCLUSÃO

Apesar do grande avanço que se tem conseguido nos últimos 35 anos acerca dos processos envolvidos na maturação oocitária, muitos aspectos ainda necessitam ser esclarecidos, mesmo em modelos clássicos como oócitos de *Xenopus laevis*. Especificamente em mamíferos, um dos fatores limitantes ao avanço de técnicas de reprodução é justamente a obtenção de oócitos viáveis para a fertilização in vitro (FIV) e produção de embriões in vitro (PIV). Desta

forma é muito importante a compreensão dos diversos eventos nucleares e citoplasmáticos que ocorrem durante a maturação oocitária e que dão suporte aos processos de fertilização e desenvolvimento embrionário inicial. Caso estes parâmetros de qualidade possam ser estabelecidos em estudo de maturação *in vitro*, poderemos ter grandes avanços no uso de técnicas de reprodução que visam a aumentar o potencial reprodutivo de fêmeas.

## REFERÊNCIAS

- BALDIN, V.; CANS, C.; KNIBIEHLER, M.; DUCOMMUN, B. Phosphorylation of human CDC25B phosphatase by CDK1-cyclin A triggers its proteasome-dependent degradation. *J. Biol. Chem.*, v.272, p.32731-32734, 1997.
- BODART, J- L.; GUTIERREZ, D. V.; NEBRED A. R.; BUCKNER B. D.; RESAU J. R.; DUESBERY, N. S. Characterization of MPF and MAPK activities during meiotic maturation of *Xenopus tropicalis* oocytes. *Dev. Biol.*, v.245, p.348-361, 2002.
- BUCCIONE, R.; SCHROEDER, A.C.; EPPIG, J. J. Interactions between somatic cells and germ cells throughout mammalian oogenesis. *Biol. Reprod.*, v.43, p.543-547, 1990.
- CASTRO, A.; PETER, M.; LORCA, T.; MANDART, E. c-Mos and cyclin B/cdc2 connections during *Xenopus* oocyte maturation. *Biology of the Cell.*, v.93, p.15-25, 2001.
- CHRISTMANN, L.; JUNG, T.; MOOR, R. M. MPF components and meiotic competence in growing pig oocytes. *Mol. Reprod. Dev.*, v.38, p.85-90, 1994.
- COLEMAN, T. R.; DUNPHY, W. G. Cdc2 regulatory factors. *Curr. Opin. Cell. Biol.*, v.6, p.877-882, 1994.
- CYERT, M.S.; KIRSCHNER, M.W. Regulation of MPF activity *in vitro*. *Cell*, v.53, p.185-195, 1988.
- DAI, Y.; LEE, C.; HUTCHINGS, A.; SUN, Y.; MOOR, R. Selective requirement for Cdc25C protein synthesis during meiotic progression in porcine oocytes. *Biol. Reprod.*, v.62, p.519-532, 2000.
- DEKEL, N. Cellular, biochemical and molecular mechanisms regulating oocyte maturation. *Mol. Cell. Endo.*, v.234, p.19-25, 2005.
- DEVAULT, A.; FESQUET, D.; CAVADORE, J. C.; GARRIGUES, A. M.; LABBE, J. C.; LORCA, T.; PICARD, A.; PHILIPPE, M.; DORRE, M. Cyclin A potentiates maturation-promoting factor activation in the early *Xenopus* embryo via inhibition of the tyrosine kinase that phosphorylates cdc2. *J. Cell. Biol.*, v.118, p.1109-1120, 1992.
- DRAETTA, G.; LUCA, F.; WESTENDORF, J.; BRIZUELA, L.; RUDERMAN, J.; BEACH, D. Cdc2 protein kinase is complexed with both cyclin A and B: Evidence for proteolytic inactivation of MPF. *Cell*, v.56, p.829-838, 1989.
- DUNPHY, W. G.; BRIZUELA, L.; BEACH, D.; NEWPORT, J. The *Xenopus* cdc2 protein is a component of MPF, a cytoplasmic regulator of mitosis. *Cell*, v.54, p.423-431, 1988.
- EPPIG, J.J. Regulation of mammalian oocyte maturation. In: ADASHI, E.Y ; LEUNG, P.C.K. (Eds.). *The ovary*. New York: Raven Press, 1993. p.185-208.
- FERRELL JR, J. E. Building a cellular switch: more lessons from a good egg. *Bioessays*, v.21, p.866-870, 1999a.

- FERREL JR, J.E. *Xenopus* oocyte maturation: new lessons from a good egg. *Bioessays*, v.21, p.833-842, 1999b.
- FESQUET, D.; LABBE, J. C.; DERANCOURT, J.; CAPONY, J. P.; GALAS, S.; GIRARD, F.; LORCA, T.; SHUTTLEWORTH, J.; DOREE, M.; CAVADORE, J. C. The MO15 gene encodes the catalytic subunit of a protein kinase that activates cdc2 and other cyclin-dependent kinases (CDKs) through phosphorylation of Thr161 and its homologues. *EMBO. J.*, v.12, p.3111-3121, 1993.
- FULKA, JR.; FIRST, N.; L.; MOOR, R. M. Nuclear and cytoplasmic determinants involved in the regulation of mammalian oocyte maturation. *Mol. Hum. Reprod.*, v.58, p.1177-1187, 1998.
- GABRIELLI, B. G.; CLARK, J. M.; McCORMACK, A. K.; ELLEM, K. A. O. Hyperphosphorylation of the N-terminal domain of cdc25 regulates activity toward cyclin B1/cdc2 but not cyclin A/cdc2. *J. Biol. Chem.*, v.272, p.28607-28614, 1997.
- GAUTIER, J; MALLER, J. L. Cyclin B in *Xenopus* oocytes: implications for the mechanism of preMPF activation. *EMBO. J.*, v.10, p.177-182, 1991.
- \_\_\_\_\_; NORBURY, C., LOCA, M.; NURSE, P.; MALLER, J. Purified maturation-promoting factor contains the product of a *Xenopus* homolog of the fission yeast cell cycle control gene cdc2+. *Cell*, v.54, p.433-439, 1988.
- \_\_\_\_\_; SOLOMON, M. J.; BOOHER, R. N.; BAZAN, J. F.; KIRSCHNER, M.W. cdc25 is a specific tyrosine phosphatase that directly activates p34cdc2. *Cell*, v.67, p.197-211, 1991.
- GAVIN, A. C.; CAVADORE, J. C.; SCHORDERET-SLATKINE, S. Histone H1 kinase activity, germinal vesicle breakdown and M-phase entry in mouse oocytes. *J.Cell Sci.*, v.107, p.275-283, 1994.
- \_\_\_\_\_; AINLE, A. N.; CHIERICI, E.; JONES, M. B.; NEBREDA, A. R. A p90rsk Mutant Constitutively Interacting with MAP Kinase Uncouples MAP Kinase from p34cdc2/Cyclin B Activation in *Xenopus* oocytes. *Mol. Biol. of the Cell.*, v.10, p.2971-2986, 1999.
- GLOVER, D. M.; HAGAN, I. M.; TAVARES, A. A. M. Polo-like kinases: A team that plays throughout mitosis. *Gen. Dev.*, v.12, p.3777-3787, 1998.
- GOSDEN, R.; KRAPEZ, J.; BRIGGS, D. Growth and development of the mammalian oocyte. *BioEssays*, v.19, p.875-82, 1997.
- HAMPL, A.; EPPIG, J.J. Analysis of the mechanism of metaphase I arrest in maturing mouse oocytes. *Development*, v.121, p.925-933, 1995.
- HUNT, T. Maturation-promoting factor, cyclin and the control of M-phase. *Curr. Opin. Cell. Biol.*, v.1, p.268-274, 1989.
- JIMENEZ-MACEDO, A. R.; IZQUIERDO, D.; URDANETA, A.; ANGUIA, B.; PARAMIO, M. T. Effect of roscovitine on nuclear maturation, MPF and MAP kinase activity and embryo development of prepubertal goat oocytes. *Theriogenology*, v.65, p.1769-1782, 2006
- KANATSU-SHINOHARA, M.; SCHULTZ, R. M.; KOPF, G. S. Acquisition of meiotic competence in mouse oocytes: Absolute amounts of p34cdc2, cyclin B1, cdc25c, and wee1 in meiotically incompetent and competent oocytes. *Biol. Reprod.*, v.63, p.1610-1616, 2000.

- KISHIMOTO, T. Activation of MPF at meiosis reinitiating in starfish oocytes. *Dev. Biol.*, v.214, p.1-8, 1999.
- \_\_\_\_\_. Regulation of metaphase by a maturation promoting factor. *Dev. Growth Differ.*, v.30, p.105-115, 1988.
- \_\_\_\_\_; KURIYAMA, R.; KONDO, H.; KANATANI, H. Generality of the action of various maturation-promoting factors. *Exp. Cell Res.*, v.137, p.121-126, 1982.
- KOBAYASHI, H.; MINSHULL, J.; FORD, C.; GOSTEYN, R.; POON, R.; HUNT, T. On the synthesis and destruction of A- and B-type cyclins during oogenesis and meiotic maturation in *Xenopus laevis*. *J. Cell Biol.*, v.114, p.755-765, 1991.
- KOTANI, T.; YAMASHITA, M. Discrimination of the roles of MPF and MAP Kinase in morphological changes that occur during oocyte maturation. *Dev. Biol.*, v.252, p.271-286, 2002.
- KRISCHEK, C; MEINECKE, B. In vitro maturation of bovine oocytes requires polyadenylation of mRNAs coding proteins for chromatin condensation, spindle assembly, MPF and MAP Kinase activation. *Anim. Reprod. Sci.*, v.73, p.129-140, 2002.
- KUMAGAI, A.; DUNPHY, W. G. The cdc25 protein controls tyrosine dephosphorylation of the cdc2 protein in a cell-free system. *Cell*, v.64, p.903-914, 1991.
- KUMAGAI, A.; DUNPHY, W. G. Purification and molecular cloning of plx1, a Cdc25-regulatory kinase from *Xenopus* egg extracts. *Science*, v.273, p.1377-1380, 1996.
- KUMAGAI, A.; DUNPHY, W.G. Regulation of the cdc25 protein during the cell cycle of *Xenopus* extracts. *Cell.*, v.10, p.139-151, 1992.
- LABBÉ, J. C.; CAPONY, J. P.; CAPUT, D.; CAVADORE, J. C.; DERANCOURT, J.; KAGHAD, M.; LELIAS, J. M.; PICARD, A.; DOREE, M. MPF from starfish oocytes at first meiotic metaphase is a heterodimer containing one molecule of cdc2 and one molecule of cyclin B. *EMBO J.*, v.8, p.3053-3058, 1989.
- LAMMER, C.; WAGERER, S.; SAFFRICH, R.; MERTENS, D.; ANSORGE, W.; HOFFMANN, I. The cdc25B phosphatase is essential for the G2/M phase transition in human cells. *J. Cell. Sci.*, v.111, p.2445-2453, 1998.
- LEDAN, E.; POLANSKI, Z.; TERRET, M-E.; MARO, B. Meiotic maturation of the mouse oocyte requires an equilibrium between cyclin B synthesis and degradation. *Dev. Biol.*, v.232, p.400-413, 2001.
- LEW, D. J.; KORNBLUTH, S. Regulatory roles of cyclin dependent kinase phosphorylation in cell cycle control. *Curr. Opin. Cell. Biol.*, v.8, p.795-804, 1996.
- LOHKA, M. J.; HAYES, M. K.; MALLER, J. L. Purification of maturation-promoting factor, an intracellular regulator of early mitotic events. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, v.85, p.3009-3013, 1988.
- LORCA, T.; LABBÉ, J.-C.; DEVAULT, A.; FESQUET, D.; CAPONY, J.-P.; CAVADORE, J.-C.; LE BOUFFANT, F.; DORÉE, M. Dephosphorylation of cdc2 on threonine 161 is required for cdc2 kinase inactivation and normal anaphase. *EMBO J.*, v.11, p.2381-2390, 1992.



- MALLER, J. L.; SCHWAB, M. S.; GROSS, S. D.; TAIEB, F. E.; ROBERTS, B. T.; TUNQUIST, B. J. The mechanism of CSF arrest in vertebrate oocytes. *Mol. Cell. Endo.*, v.187, p.173-178, 2002.
- MASUI, Y.; CLARKE, H. J. Oocyte maturation. *Int. Rev. Cytol.*, v. 57, p.185-282, 1979.
- \_\_\_\_\_ ; MARKET, C.L.; Cytoplasmic control of nuclear behavior during meiotic maturation of frog oocytes. *J. Exp. Zool.*, v.177, p.129-146, 1971.
- MICHAEL, W. M; NEWPORT J. Coupling of mitosis to the completion of S phase through Cdc34-mediated degradation of Wee1. *Science*, v.282, p.1886-1889, 1998.
- MOOD, K.; BONG, Y-S.; LEE, H-S.; ISHIMURA, A.; DAAR, I. O. Contribution of JNK, Mek, Mos and PI-3K signaling to GVBD in *Xenopus* oocytes. *Cell. Sign.*, v. 16, p. 631-642, 2004.
- NAITO, K.; TOYODA, Y. Fluctuation of histone H1 kinase activity during meiotic maturation in porcine oocytes. *J. Reprod. Fertil.*, v.93, p.467-473, 1991.
- \_\_\_\_\_ ; HAWKINS, C.; YAMASHITA, M.; NAGAHAMA, Y.; AOKI, F.; KOHMOTO, K.; TOYODA, Y.; MOOR, R.M. Association of p34cdc2 and Cyclin B1 during meiotic maturation in porcine oocytes. *Dev. Biol.*, v.168, p.627-634, 1995.
- NISHIJIMA, H.; NISHITANI, H.; SEKI, T.; NISHIMOTO, T. A dual-specificity phosphatase cdc25B is an unstable protein and triggers p34cdc2/cyclin B activation in hamster BHK21 cells arrested with hydroxyurea. *J. Cell Biol.*, v.138, p.1105-1116, 1997.
- NURSE, P. Universal control mechanism regulating onset of M-phase. *Nature*, v.344, p.503-508, 1990.
- NURSE, P.; MASUI, Y.; HARTWELL, L. Understanding the cell cycle. *Nat. Med.*, v.4, p.1103-1106, 1998.
- OKANO-UCHIDA, T.; SEKIAI, T.; LEE, K.; OKUMURA, E.; TACHIBANA, K.; KISHIMOTO, T. In vivo regulation of cyclin A/Cdc2 and cyclin B/Cdc2 through meiotic and early cleavage cycles in starfish. *Dev. Biol.*, v.197, p.39-53, 1998
- PAGANO, M.; PEPPERKOK, R.; VERDE, F.; ANSORGE, W.; DRAETTA, G. Cyclin A is required at two points in the human cell cycle. *Embo. J.*, v.11, p.961-971, 1992.
- POLANSKI, Z.; LEDAN, E.; BRUNET, S.; LOUVET, S.; KUBIAK, J. Z.; VERLHAC, M.-H.; MARO, B. Cyclin sintesis controls the progression of meiotic maturation in mouse oocytes. *Development*, v.125, p.4989-4997, 1998.
- POON, R. Y.; YAMASHITA, K.; ADAMCZEWSKI, J. P.; HUNT, T.; SHUTTLEWORTH, J. The cdc2-related protein p40mo15 is the catalytic subunit of a protein kinase that can activate p33cdk2 and p34cdc2. *EMBO J.*, v.12, p.3123-3132, 1993.
- QIAN, Y. W.; ERIKSON, E.; LI, C.; MALLER, J. L. Activated polo-like kinase plx1 is required at multiple points during mitosis in *Xenopus laevis*. *Mol. Cell. Biol.*, v.18, p.4262-4271, 1998a.
- \_\_\_\_\_ ; \_\_\_\_\_ ; \_\_\_\_\_ . Purification and cloning of a protein kinase that phosphorylates and activates the polo-like kinase plx1. *Science*, v.282, p.1701-1704, 1998b.
- SMITH, L. D.; ECKER, R. E. The interaction of steroids with *Rana pipiens* oocytes in the induction of maturation. *Dev. Biol.*, v.25, p.232-247, 1971.

- SOLOMON, M. J. Activation of the various cyclin/cdc2 protein kinases. *Curr. Opin. Cell Biol.*, v.5, p.180-186, 1993.
- STRAUSFELD, U. P.; LABBÉ, J. C.; FESQUET, D.; CAVADORE, J. C.; PICARD, A.; SADHU, K.; RUSSELL, P.; DORÉE, M. Dephosphorylation and activation of a p34cdc2/cyclin B complex in vitro by human CDC25 protein. *Nature*, v.351, p.242-245, 1991.
- SU, Q. Y.; DENEGRÉ, M. J.; WIGGLESWORTH, K.; PÉNDOLA, L. F.; O'BRIEN, J. M.; EPPIG, J. J. Oocyte-dependent activation of mitogen-activated protein kinase (ERK1/2) in cumulus cells is required for the maturation of the mouse oocyte-cumulus cell complex. *Dev. Bio.*, v.263, p.126-138, 2003.
- TANAKA, T.; YAMASHITA, M. Pre-MPF is absent in immature oocytes of fishes and amphibians except *Xenopus*. *Dev. Growth Differ.*, v.37, p.387-393, 1995.
- TAY, J.; HODGMAN, R.; RICHTER, D. The control of cyclin B1 mRNA translation during mouse oocyte maturation. *Dev. Biol.*, v.221, p.1-9, 2000.
- VERLHAC, M. H.; KUBIAK, J. Z.; CLARKE, H. J.; MARO, B. Microtubule and chromatin behavior follow MAP kinase activity but not MPF activity during meiosis in mouse oocytes. *Development*, v.120, p.1017-1025, 1994.
- VORONINA, E.; MARZLUFF, W. F.; WESSEL, G. M. Cyclin B synthesis is required for sea urchin oocyte maturation. *Dev. Biol.*, v.256, p.258-275, 2003.
- WEHREND, A.; MEINECKE, B. Kinetics of meiotic progression, M-phase promoting factor (MPF) and mitogen-activated protein kinase (MAP Kinase) activities during in vitro maturation of porcine and bovine oocytes: species specific differences in the length of the meiotic stages. *Anim. Reprod. Sci.*, v.66, p.175-184, 2001.
- WHITAKER, M. Control of meiotic arrest. *Rev. Reprod.*, v.1, p.253-259, 1996.
- YOSHIDA, N.; MITA, K.; YAMASHITA, M. Comparative study of the molecular mechanisms of oocyte maturation in amphibians. *Comp. Bioch. Physiol. Part B.*, v.126, p.189-197, 2000.