

文章编号: 1674-5566(2015)05-0656-06

## GDF9 与 BMP15 受体基因在异育银鲫卵细胞中的表达

陈阿琴, 刘志伟, 吕为群, 杨志刚, 钟英斌

(上海海洋大学 水产与生命学院, 上海 201306)

**摘要:** 转化生长因子 9(GDF9)与骨形成蛋白 15(BMP15)通过受体介导途径, 在鱼类卵细胞发育与成熟过程中发挥着重要作用。在 GDF9 与 BMP15 信号通路中, GDF9 与 BMP15 的 I 型受体基因分别为 *TGF-βR1a*、*TGF-βR1b* 和 *BMPR1Ba*、*BMPR1Bb*, 两者的 II 型受体基因均为 *BMPR2a*、*BMPR2b*。本研究以异育银鲫为实验对象, 对 GDF9 和 BMP15 的各受体基因在卵细胞中的表达模式进行研究。结果显示, 在异育银鲫卵细胞发育过程中, *TGF-βR1a*、*BMPR1Ba* 与 *BMPR1Bb* 基因 mRNA 水平呈先降低后升高的变化趋势, *TGF-βR1b* 基因 mRNA 水平自 II 期卵细胞开始显著升高, 而 *BMPR2a* 与 *BMPR2b* mRNA 水平则随着卵细胞的发育逐渐降低。同时, *TGF-βR1b*、*BMPR1Bb*、*BMPR2a* 及 *BMPR2b* mRNA 主要在滤泡细胞中表达, *TGF-βR1a* 与 *BMPR1Ba* mRNA 则在卵母细胞与滤泡细胞中均有表达。以上研究提示, GDF9 与 BMP15 可通过与其受体结合, 以旁分泌或自分泌参与调控硬骨鱼类卵细胞的发生、发育与成熟。

**研究亮点:** 与哺乳动物相比, 目前关于 GDF9 与 BMP15 在鱼类卵细胞发育与成熟过程中的信号传导通路相对缺乏。对 GDF9 与 BMP15 的受体基因在异育银鲫卵细胞中的表达进行研究, 可为深入探讨两者在鱼类繁殖过程中的重要功能及揭示鱼类卵细胞发育与成熟的调控机制提供重要的理论资料。

**关键词:** 异育银鲫; 受体基因; 卵细胞

**中图分类号:** S 917

**文献标志码:** A

骨形态发生蛋白(BMPs)是一组二聚肽分子, 是转化生长因子-β(Transforming growth factor-β superfamily)超家族中最大的亚家族<sup>[1]</sup>。迄今, 已有 20 多种 BMPs 被确认, 其中 GDF9 和 BMP15 是 BMPs 家族中的重要成员, 两者具有很高的同源性。GDF9 和 BMP15 主要由卵母细胞分泌, 并主要通过结合 I 型和 II 型两种 Ser/Thr 激酶受体进行信号转导, 发挥调节卵巢发育等生物学功能<sup>[2]</sup>。GDF9 与 BMP15 的 II 型受体基因均为 *BMPR2*, 但 GDF9 的 I 型受体基因为 *TGF-βR1*(激活素受体样激酶 5, ALK5), BMP15 的 I 型受体基因则为 *BMPR1B*(ALK6)<sup>[3-4]</sup>。

近年来, 有关 GDF9 与 BMP15 在鱼类卵细胞发育与成熟过程中的表达研究已取得了一定的进展。在欧洲海鲈(*Dicentrarchus labrax*)<sup>[5-6]</sup>、鳗鲡(*Anguilla australis*)<sup>[7]</sup>、黄鳍(*Monopterus*

*albus*)<sup>[8]</sup>、虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)<sup>[9]</sup>、斑马鱼(*Danio rerio*)<sup>[10-11]</sup>和异育银鲫(*Carassius auratus gibelio*)<sup>[12-13]</sup>等鱼类中, GDF9 与 BMP15 mRNA 水平随卵细胞发育而降低, 但 BMP15 mRNA 水平在斑马鱼不同发育阶段卵细胞中无显著差异。在武昌鱼(*Megalobrama amblycephala*)中, GDF9 mRNA 在卵黄发生前期表达量降低, 但在成熟期表达量升高<sup>[14]</sup>。这些研究提示 GDF9 与 BMP15 在硬骨鱼类卵细胞发育过程中发挥重要调控作用。值得注意的是, BMPs 调控机体生物学功能不仅发生于配体水平, 在受体水平也存在一定的影响。在斑马鱼中证实, GDF9 与 BMP15 II 型受体基因(*bmpr2a* 与 *bmpr2b*) mRNA 水平随卵细胞发育而发生改变<sup>[15]</sup>。斑马鱼 BMPR1B(Alk6b)受体基因突变可损害生殖细胞分化并可造成生殖细胞瘤<sup>[16]</sup>。因此, 本实验拟利用实时荧光定量

收稿日期: 2015-03-07

修回日期: 2015-05-15

基金项目: 国家自然科学基金(31402272); 上海市自然科学基金(14ZR1419900); 上海市教委创新项目(12YZ130)

作者简介: 陈阿琴(1977—), 女, 副教授, 研究方向为鱼类生殖生理学。E-mail: aqchen@shou.edu.cn

通信作者: 钟英斌, E-mail: ybzongsd@suda.edu.cn

PCR 分析 GDF9 和 BMP15 受体基因在异育银鲫卵细胞发育过程中的表达和定位,旨在为阐明硬骨鱼类 GDF9 与 BMP15 信号转导途径以及其对下游目的基因的分子调控方式提供参考资料。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

性成熟的异育银鲫购自上海奉城水产批发市场。解剖异育银鲫后取出部分精巢、卵巢、脑、鳃、肾脏、肝胰脏和肌肉。将卵巢放于直径 10 cm 内含有金鱼任氏液的培养皿中,采用机械分离法获得不同发育时期的卵细胞。根据直径大小对异育银鲫的卵细胞进行分类,即 I 期(0.025~0.062 mm)、II 期(0.08~0.16 mm)、III 1 期(0.22~0.36 mm)、III 2 期(0.40~0.625 mm)和 IV 期(0.9~1.2 mm)<sup>[17]</sup>。采用冷刺激法分离卵母细胞和滤泡细胞,即将 IV 期卵细胞在 4 ℃ 放置 30 min,然后在不损伤卵母细胞的情况下,用解剖针将滤泡细胞与卵母细胞进行分离<sup>[10]</sup>。所获得各样品于液氮中速冻,−80 ℃ 保存用于总 RNA 的提取。

### 1.2 总 RNA 的提取及 cDNA 合成

将样品按 RNAiso (TaKaRa) 试剂说明书进行总 RNA 提取,DNase 去除 DNA 污染,加入适量 RNase-free Water 溶解 RNA 后加入 RNA Inhibitor,于 −80 ℃ 保存。琼脂糖凝胶电泳检测 RNA 完整性,紫外分光光度法分析 RNA 浓度与质量。在 PrimeScript Reverse Transcriptase (TaKaRa) 和 1 μL Oligo (dT)<sub>30</sub> 引物作用下合成 cDNA,将反转录产物于 −20 ℃ 保存。

### 1.3 Real-Time 实时荧光定量 PCR

根据本实验室获得的 GDF9 与 BMP15 各受体基因序列 (GenBank No. JX024254 – JX024259),应用 primer 5.0 软件设计 RT-PCR 及实时荧光定量 PCR 的引物,具体序列见表 1。以 β-actin 为内参基因,分析各受体基因的相对表达水平。

Real-Time 实时荧光定量 PCR 参照 LIU 等<sup>[10]</sup>的方法。PCR 反应体系 20 μL,包括 SYBR premix Ex Taq (TaKaRa) 10 μL,5 倍稀释的 cDNA 模板 2 μL,上下游引物各 0.4 μL,ddH<sub>2</sub>O 7.2 μL。PCR 反应条件为 95 ℃ 30 s;94 ℃ 5 s,60 ℃ 30 s,40 个循环。PCR 反应结束后,对扩增

产物进行熔解曲线分析,检测反应特异性,采用 2<sup>−ΔΔCt</sup> 法分析各受体基因的相对表达量。

**表 1 GDF9 与 BMP15 I 型与 II 型受体基因所用引物**  
**Tab. 1 The primers for expression of GDF9 and BMP15 Type I and Type II receptor genes**

引物名称 primer name	引物序列 primer sequences
TGF-βR1a-F	5'-GCCACAGACACCATTGATATTGC-3'
TGF-βR1a-R	5'-TCCAATTGAACACCGCGA-3'
TGF-βR1b-F	5'-GCAAGCTGCTATCGCTCAC-3'
TGF-βR1b-R	5'-GAATCGTCAAGCACTTCTGGG-3'
BMPR1Ba-F	5'-GGTATAAGCGTCACGAGTTAG-3'
BMPR1Ba-R	5'-CTACTTCTCTCCCTCCATC-3'
BMPR1Bb-F	5'-TCCGCTCAAGAGACCCGAT-3'
BMPR1Bb-R	5'-GAGCTCTGAGACTGTTCGATC-3'
BMPR2a-F	5'-TGCTGTCGTTGGCTCTGTCG-3'
BMPR2a-R	5'-CACCTCACTGATGGCACTGTTG-3'
BMPR2b-F	5'-TGATGGCCAGTGTAAACAGGGTC-3'
BMPR2b-R	5'-AGAGGGATTCCGTAGATGGAGCC-3'
β-actin-F	5'-TTCCAGCCATCCCTCCTA-3'
β-actin-R	5'-GTCAGCAAATGCCAGGGTA-3'

### 1.4 数据处理与分析

文中数据采用 SPSS 17.0 进行统计处理,利用 one-way 方差分析进行差异显著性检验,显著水平为  $P < 0.05$ ,实验结果  $\bar{X} \pm SE$  表示。用 GraphPad Prism 6.0 软件作图。

## 2 结果

### 2.1 异育银鲫 GDF9 与 BMP15 I 型与 II 型受体基因在卵巢中的表达

利用实时荧光定量 PCR 法,本实验研究了 6 个受体基因在卵巢不同时期卵细胞中表达水平的变化规律。结果表明,随着卵细胞的发育,TGF-βR1a mRNA 表达水平呈现出先降低再升高的趋势,其在 III 1 期时降到最低( $P < 0.05$ ),并在 III 1 期至 IV 期的发育过程中逐渐升高( $P < 0.05$ ) (图 1a)。TGF-βR1b 在 I、II 期卵细胞中表达较低,当卵细胞发育至 III 1 期时,其表达水平显著升高,并持续至卵细胞发育后期( $P < 0.05$ ,图 1a)。BMPR1Ba 与 BMPR1Bb 基因在卵细胞发育过程中的表达规律相似,为先降低后升高,其在 III 1 期卵细胞中表达量降至最低,并随后显著升高( $P < 0.05$ ,图 1b)。BMPR2a 与 BMPR2b 基因在 I 期卵细胞中表达最高,随着卵细胞的发育其表达逐渐降低,BMPR2b 变化趋势较缓,而 BMPR2a 则较强( $P < 0.05$ ,图 1c)。

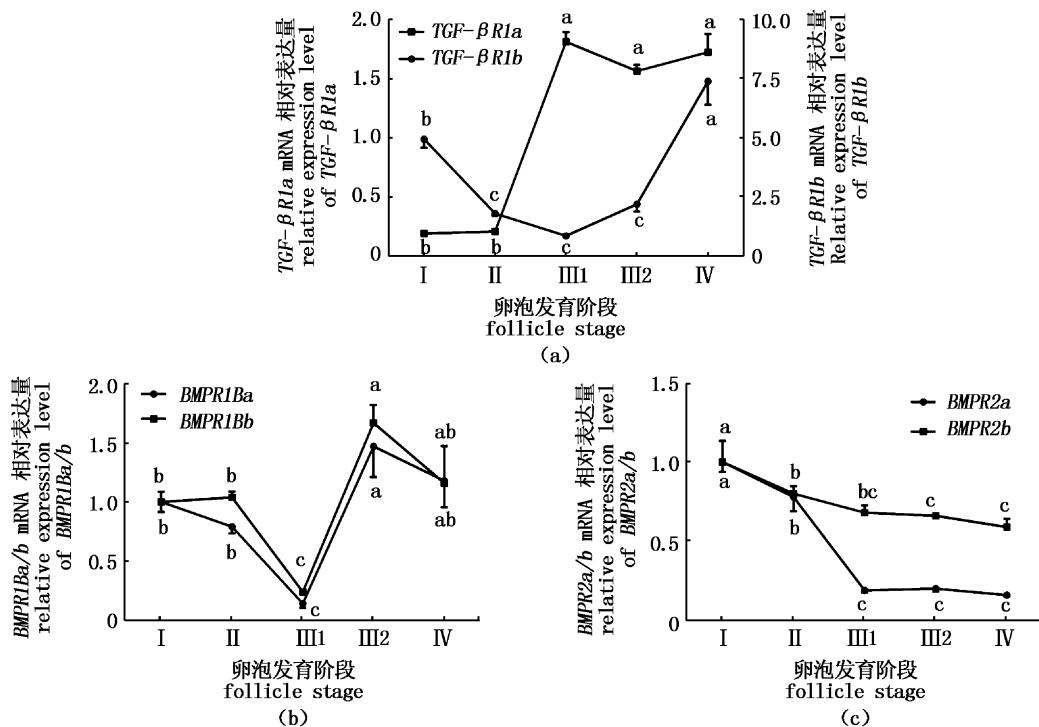


图1 异育银鲫 *TGF-βR1a*、*TGF-βR1b*、*BMPR1Ba*、*BMPR1Bb*、*BMPR2a* 及 *BMPR2b* 基因在各期卵细胞中的表达  
Fig.1 The expression level of *TGF-βR1a*, *TGF-βR1b*, *BMPR1Ba*, *BMPR1Bb*, *BMPR2a* and *BMPR2b* mRNA  
in different follicles developing stages of gibel carp

A. *TGF-βR1a* 和 *TGF-βR1b* 基因; B. *BMPR1Ba* 和 *BMPR1Bb* 基因; C. *BMPR2a* 和 *BMPR2b* 基因。不同字母表示相应组间差异达到显著水平 ( $P < 0.05$ )。样品结果用平均值 ± 标准误差表示。

A. *TGF-βR1a* and *TGF-βR1b* genes; B. *BMPR1Ba* and *BMPR1Bb* genes; C. *BMPR2a* and *BMPR2b* genes. Different letters indicate statistical significance ( $P < 0.05$ ). The results were shown as mean ± SE.

## 2.2 异育银鲫 GDF9 与 BMP15 I型与Ⅱ型受体基因在卵细胞中的表达

为了进一步明确 GDF9 与 BMP15 受体基因在卵细胞中的表达特性,本实验测定了 6 个受体基因在 IV 期卵细胞的卵母细胞与滤泡细胞中的表达情况。结果如图 2 所示, *TGF-βR1b*、*BMPR1Bb*、*BMPR2a* 及 *BMPR2b* mRNA 在滤泡细胞中表达水平显著高于各卵母细胞中的表达水平 ( $P < 0.05$ ),而 *TGF-βR1a* 与 *BMPR1Ba* 基因则在卵母细胞与滤泡细胞中均有表达。

## 3 讨论

在哺乳动物中已证实, GDF9 与 BMP15 可通过 BMPs-Receptor-Smads 途径调控卵细胞发育。如在人腔前卵泡发育过程中, ALK5 (*TGFβRI*) mRNA 随卵泡发育呈先上升后降低的变化趋势, ALK6 (*BMPR1B*) 在原始卵泡阶段表达水平较低, 随后无明显变化,但 BMPR2 mRNA 在原始卵泡发育阶段即高水平表达并随着卵泡的发育表达

水平逐渐增加<sup>[18]</sup>。本实验结果表明在异育银鲫卵细胞发育过程中, *TGF-βR1a*、*BMPR1Ba* 与 *BMPR1Bb* mRNA 呈现出先降低再升高的趋势, *TGF-βR1b* 表达水平在 II 期卵细胞后显著增高。*TGF-βR1a* 与 *TGF-βR1b* 在卵细胞发育过程中存在明显不同,这提示在卵细胞发育后期 GDF9 可能通过与 *TGF-βR1a* 结合发挥其生物学功能。GDF9 与 BMP15 I型受体基因的表达变化趋势不同,揭示两者在异育银鲫卵细胞发育不同阶段可能发挥不同功能。在异育银鲫卵细胞发育过程中,GDF9 与 BMP15 在 I 期卵细胞中表达量最高,并随着卵细胞的发育逐渐降低<sup>[12-13]</sup>。本研究表明,当卵细胞由 I 期发育至 II 期时, *BMPR2a/b* 的表达显著降低,随着卵细胞继续发育,两者表达进一步显著降低。这与 GDF9 与 BMP15 在异育银鲫不同发育阶段卵细胞中的表达变化趋势相似,这进一步提示 BMPs 通过受体介导在鱼类卵细胞发育初期发挥着重要作用。以上结果也进一步证实了在鱼类中 GDF9 与

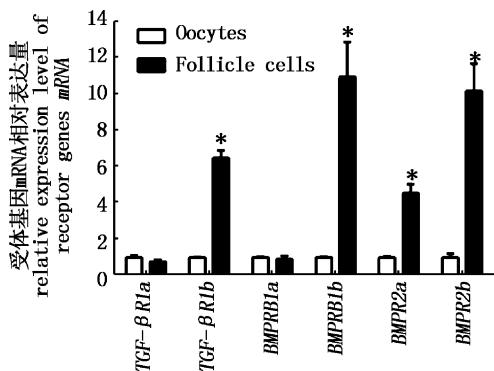


图2 异育银鲫 *TGF-βR1a*、*TGF-βR1b*、*BMPR1Ba*、*BMPR1Bb*、*BMPR2a* 及 *BMPR2b* 基因 mRNA 在卵母细胞与滤泡细胞中的表达

Fig. 2 The expression level of *TGF-βR1a*, *TGF-βR1b*, *BMPR1Ba*, *BMPR1Bb*, *BMPR2a* and *BMPR2b* mRNA in oocytes and follicle cells of gibel carp

“\*”代表两组之间差异达到显著水平( $P < 0.05$ )。样品结果以平均值±标准误表示。

The “\*” indicates statistical significance ( $P < 0.05$ ) between the two groups. The results were shown as mean ± SE.

BMP15 通过 BMPR2a/b 受体进行转导的信号通路, 在卵细胞发育过程中发挥着重要调控作用。在哺乳动物卵巢中, 促性腺激素与 BMP 亚家族之间存在相互作用。促性腺激素 FSH 能促进内源性 BMP 的信号转导, 增强人颗粒细胞中 BMP I 型及 II 型受体基因的表达<sup>[19]</sup>。研究已证实, hCG 诱发异育银鲫卵母细胞体外成熟过程中, GDF9 与 BMP15 mRNA 水平呈显著变化<sup>[12-13]</sup>。在异育银鲫卵细胞发育与成熟过程中, 促性腺激素与 BMPs 各受体基因之间是否存在联系还需进一步研究。

在硬骨鱼类的卵细胞发生、发育和成熟这一极其复杂的动态生理过程中, 来自下丘脑-垂体-性腺轴分泌的促性腺激素和卵细胞自身分泌的 BMPs、Kit 配体、激活素等因子, 通过内分泌、旁分泌和自分泌等多种途径的共同作用使其有序进行, 其中卵母细胞和周围滤泡细胞之间的双向通讯对卵细胞发育、成熟起着关键作用<sup>[20-22]</sup>。来源于由卵母细胞分泌的 GDF9 和 BMP15 可作用于邻近的颗粒细胞, 调控激活素/抑制素的表达和抑制素的分泌<sup>[21]</sup>。在绵羊中, BMPRIB 在卵母细胞和颗粒细胞中表达, 但 BMPR2 除了在卵母细胞和颗粒细胞中可检测到外, 在膜细胞中也可检测到其表达<sup>[23]</sup>。与绵羊 BMPR2 相似, 猪

BMPR1A、BMP1B 和 BMPR2 也在卵母细胞、颗粒细胞和膜细胞中均有表达<sup>[24]</sup>。在斑马鱼中证实, BMPR2A 和 BMPR2B 主要在滤泡细胞表达, 提示 BMPs 可以通过旁分泌方式调控滤泡细胞的功能<sup>[15]</sup>。因此, 研究 GDF9 与 BMP15 受体基因在卵母细胞与滤泡细胞中的表达是十分必要的。本实验结果表明, *TGF-βR1b*、*BMPR1Bb*、*BMPR2a* 及 *BMPR2b* 基因主要存在于滤泡细胞中, 该结果与斑马鱼中的结果较为一致<sup>[15]</sup>。多种激素与局部旁分泌因子可与滤泡细胞中的受体结合, 进而调节卵细胞发育与成熟。因此, 本实验的结果进一步证明 GDF9 和 BMP15 可与滤泡细胞中的受体基因 *TGF-βR1b*、*BMPR1Bb*、*BMPR2* 相结合, 形成卵细胞内的复杂调控网络, 调节卵细胞中卵母细胞与滤泡细胞间的信号传递。

## 参考文献:

- [1] HELDIN C H, MIYAZONO K, TEN Dijke P. TGF- $\beta$  signalling from cell membrane to nucleus through SMAD proteins [J]. Nature, 1997, 390(6659):465-471.
- [2] BONDESTAM J, KAIKO-OJA N, KALLIO J, et al. Engagement of activin and bone morphogenetic protein signaling pathway Smad proteins in the induction of inhibin B production in ovarian granulosa cells [J]. Molecular and Cellular Endocrinology, 2002, 195(1/2):79-88.
- [3] MAZERBOURG S, KLEIN C, ROH J, et al. Growth differentiation factor-9 signaling is mediated by the type I receptor, activin receptor-like kinase 5 [J]. Molecular Endocrinology, 2004, 18(3):653-665.
- [4] JUENGEL J L, MCNATTY K P. The role of proteins of the transforming growth factor- $\beta$  superfamily in the intraovarian regulation of follicular development [J]. Human Reproduction Update, 2005, 11(2):144-161.
- [5] HALM S, IBAÑEZA J, TYLERCR, et al. Molecular characterisation of growth differentiation factor 9 (GDF9) and bone morphogenetic protein 15 (bmp15) and their patterns of gene expression during the ovarian reproductive cycle in the European sea bass[J]. Molecular and Cellular Endocrinology, 2008, 291(1/2):95-103.
- [6] GARCÍA-ÓPEZ Á, SÁNCHEZ-AMAYA MI, HALM S, et al. Bone morphogenetic protein 15 and growth differentiation factor 9 expression in the ovary of European Sea bass (*Dicentrarchus labrax*): Cellular localization, developmental profiles, and response to unilateral ovariectomy[J]. General and Comparative Endocrinology, 2011, 174(3):326-334.
- [7] LOKMAN P M, KAZETO Y, OZAKI Y, et al. Effects of reproductive stage, GH, and 11-ketotestosterone on expression of growth differentiation factor-9 in the ovary of the

- eel, *Anguilla australis* [J]. Reproduction, 2010, 139 (1) : 71 – 83.
- [8] HE Z, WU Y S, XIE J, et al. Growth differentiation factor 9 (Gdf9) was localized in the female as well as male germ cells in a protogynous hermaphroditic teleost fish, ricefield eel *Monopterus albus* [J]. General and Comparative Endocrinology, 2012, 178 (2) : 355 – 362.
- [9] LANKFORD S E, WEBER G M. Temporal mRNA expression of transforming growth factor-beta superfamily members and inhibitors in the developing rainbow trout ovary [J]. General and Comparative Endocrinology, 2010, 166 (2) : 250 – 258.
- [10] LIU L, GE W. Growth differentiation factor 9 and its spatiotemporal expression and regulation in the zebrafish ovary [J]. Biology of Reproduction, 2007, 76 (2) : 294 – 302.
- [11] CLELLAND E, KOHLI G, CAMPBELL R K, et al. Bone morphogenetic protein-15 in the zebrafish ovary: complementary deoxyribonucleic acid cloning, genomic organization, tissue distribution, and role in oocyte maturation [J]. Endocrinology, 2006, 147 (1) : 201 – 209.
- [12] CHEN A Q, LIU Z W, YANG Z G, et al. Characterization of bmp15 and its regulation by human chorionic gonadotropin in the follicle of gibel carp (*Carassius auratus gibelio*) [J]. Comparative Biochemistry and Physiology, Part B: Biochemistry and Molecular Biology, 2012, 163 (1) : 121 – 128.
- [13] LIU Z W, CHEN A Q, YANG Z G, et al. Molecular characterization of growth differentiation factor 9 and its spatio-temporal expression pattern in gibel carp (*Carassius auratus gibelio*) [J]. Molecular Biology Reports, 2012, 39 (4) : 3863 – 3870.
- [14] HUANG C X, WEI X L, CHEN N, et al. Growth differentiation factor 9 of Megalobrama amblycephala: molecular characterization and expression analysis during the development of early embryos and growing ovaries [J]. Fish Physiology and Biochemistry, 2014, 40 (1) : 193 – 203.
- [15] LI C W, GE W. Spatiotemporal expression of bone morphogenetic protein family ligands and receptors in the zebrafish ovary: a potential paracrine-signaling mechanism for oocyte-follicle cell communication [J]. Biology of Reproduction, 2011, 85 (5) : 977 – 986.
- [16] NEUMANN J C, CHANDLER G L, DAMOULIS V A, et al. Mutation in the type IB bone morphogenetic protein receptor Alk6b impairs germ-cell differentiation and causes germ-cell tumors in zebrafish [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2011, 108 (32) : 13153 – 13158.
- [17] 侯亚义, 袁传宓. 异育银鲫的卵细胞发生 [J]. 南京师范大学学报: 自然科学版, 1989, 12(1) : 66 – 72.
- HOU Y Y, YUAN C F. Studies of the growing oocytes of *carassius auratus gibelio* (Bloch) [J]. Journal of Nanjing Normal University: Natural Science, 1989, 12(1) : 66 – 72.
- [18] KRISTENSEN S G, ANDERSEN K, CLEMENT C A, et al. Expression of TGF-beta superfamily growth factors, their receptors, the associated SMADs and antagonists in five isolated size-matched populations of pre-antral follicles from normal human ovaries [J]. Molecular Human Reproduction, 2014, 20 (4) : 293 – 308.
- [19] MIYOSHI T, OTSUKA F, SUZUKI J, et al. Mutual regulation of follicle-stimulating hormone signaling and bone morphogenetic protein system in human granulosa cells [J]. Biology of Reproduction, 2006, 74 (6) : 1073 – 1082.
- [20] 贾玉东, 雷霁霖. 硬骨鱼类卵子质量研究进展 [J]. 中国水产科学, 2012, 19 (3) : 545 – 555.
- JIA Y D, LEI J L. Advances in teleost egg quality research [J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2012, 19 (3) : 545 – 555.
- [21] LI G W, GE W. Regulation of the activin-inhibin-follistatin system by bone morphogenetic proteins in the zebrafish ovary [J]. Biology of Reproduction, 2013, 89 (3) : 55, 1 – 10.
- [22] YAO K, LAU S W, GE W. Differential regulation of Kit ligand A expression in the ovary by IGF-I via different pathways [J]. Molecular Endocrinology, 2014, 28 (1) : 138 – 150.
- [23] WILSON T, WU X Y, JUENGEL J L, et al. Highly prolific Booroola sheep have a mutation in the intracellular kinase domain of bone morphogenetic protein IB receptor (ALK-6) that is expressed in both oocytes and granulosa cells [J]. Biology of Reproduction, 2001, 64 (4) : 1225 – 1235.
- [24] PARADIS F, NOVAK S, MURDOCH G K, et al. Temporal regulation of BMP2, BMP6, BMP15, GDF9, BMPR1A, BMPR1B, BMPR2 and TGFBR1 mRNA expression in the oocyte, granulosa and theca cells of developing preovulatory follicles in the pig [J]. Reproduction, 2009, 138 (1) : 115 – 129.

## The expression pattern of GDF9 and BMP15 I and II receptor genes during follicle development in gibel carp

CHEN Aqin, LIU Zhiwei, LÜ Weiqun, YANG Zhigang, ZHONG Yingbin

(College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

**Abstract:** Growth differentiation factor 9 (GDF9) and bone morphogenetic protein 15 (BMP15) play important roles during follicular development and maturation in teleosts. In this study, we analyzed the expression pattern of type I and II receptors of GDF9 and BMP15 during follicle development of gibel carp. The results revealed that the expression levels of *TGF-βR1a*, *BMPR1Ba* and *BMPR1Bb* mRNA were first decreased and then increased during development of follicles. *TGF-βR1b* mRNA levels were significantly increased at the late stage of follicle development, but the expression levels of *BMPR2a* and *BMPR2b* were gradually decreased with the development of follicles. *TGF-βR1b*, *BMPR1Bb*, *BMPR2a* and *BMPR2b* mRNA were mostly expressed in follicle layer cells, but *TGF-βR1a* and *BMPR1Ba* mRNA were expressed in both oocytes and follicle layer cells. These results indicated GDF9 and BMP15 might be involved in the development of follicles by a potential paracrine/autocrine signal pathway.

**Key words:** gibel carp; receptor gene; follicle