

생쥐모델을 이용한 비대칭적 난자 분열의 이해 - Formin-2의 역할 -

건국대학교 의생명과학연구원 의생명과학과

임 현 정

**Studies on the Asymmetric Cell Division During Oocyte Maturation using Mouse Models
- Role of Formin-2 -**

Hyunjung Lim

*Department of Biomedical Science & Technology, Institute of Biomedical Science & Technology,
Konkuk University, Seoul, Korea*

[Korean. J. Reprod. Med. 2007; 34(2): 67-74.]

서 론

척추동물에서 생식세포의 생성은 매우 특별화된 과정이다. 포유류의 난자는 출생시까지 난소 내에서 미성숙 상태 (immature state)를 유지하고 있다. 이러한 난자들은 아직 감수분열을 진행하지 않은 4배체로 제1감수분열의 전기에 정지되어 있다. 사춘기가 되어 뇌하수체에서 생식호르몬이 분비되기 시작하면 미성숙 난자들은 감수분열을 재개하면서 난자성숙과 배란과정을 준비하게 된다.^{1,2} 이때 난자를 둘러싸고 있는 난포의 성숙이 동시에 일어나면서 난자와 난포 모두 급속하게 성장한다. 배란 시기의 난포를 antral follicle, 또는 Graafian follicle 이라 하며, 이는 여러 층의 granulosa cell (GC) layer 와 thecal cell layer로 구성되어 있고 그 내부는 antral fluid로 차 있다. 배란이 될 때, 난자는 난구 세포 (cumulus cell)라는 체세포들에 둘러싸여 있고 생쥐에서는 여러 개의 난자가 동시에 배란되기 때

문에 oocyte-cumulus-complex (OCC)들이 하나의 큰 덩어리로 뭉쳐서 나오게 된다. 배란된 난자는 제1 감수분열을 마치고 2배체의 상태로 제2감수분열의 중기에 정지되어 있다. 정자와 만나 수정이 성공적으로 이루어지면서 동시에 제2감수분열이 끝나면서 반수체의 모계 전핵 (maternal pronucleus)을 형성한다.

난포 (follicle)는 난소의 중요한 기능적 단위이다. 난포성숙은 이처럼 여러 층의 GC와 thecal cell을 만들기 위한 세포증식과 분화, 그리고 난자의 성장 과정으로 나누어 볼 수 있다. 난포의 성장과 함께 난자도 성장하며 이 동안 GC는 난포 내의 신호에 반응하여 여러 층을 형성한다. Secondary follicle이 형성된 후에, thecal cell 층이 난포 주변에 만들어진다. 난포자극호르몬 (follicle-stimulating hormone, FSH)은 GC의 증식, androgen 합성, 그리고 황체형성 호르몬 수용체의 발현을 자극하는 반면 황체형성 호르몬 (luteinizing hormone, LH)은 thecal cell에서 androgen 생산을 자극한다. 배란 후 GC들은 황체세포 (lutein cell)로 분화가 되는데 이를 황체화 (luteinization)라고 한다. 황체는 progesterone (P₄),

주관책임자: 임현정, 우) 143-701 서울특별시 광진구 화양동 1,
건국대학교 의생명과학연구원 의생명과학과
Tel: (02) 450-4087, Fax: (02) 446-9001
e-mail: hlim@konkuk.ac.kr

17 β -estradiol (E₂) 등의 스테로이드 호르몬을 생산하는 기능적인 내분비 단위로 작용한다.³⁻⁵

이처럼 다양한 요인들이 난자의 성숙과 난포의 발달, 그리고 배란과정을 조절하는 것으로 알려져 있다. 특히 지난 10여 년간 수많은 유전자결핍 생쥐모델들에 대한 연구를 통해 각 요인들의 기능과 역할에 대한 정보가 축적되었다.⁶ 본 종설에서는 난소 기능관련 주요 표현형을 보인 몇몇 유전자결핍 생쥐모델을 정리하고, 이들 중 특히 비대칭적 세포분열을 통해 성숙난을 만들어 가는 과정에서 중요한 역할을 담당하는 요소인 Formin-2 (Fmn2)의 기능과 역할에 대해 집중적으로 살펴보고자 한다. 난자 이외의 시스템에서 밝혀진 Formin 단백질들의 특성을 토대로 난자 내 Fmn2의 역할을 추론해보고, 여성의 불임 및 내분비 질환과의 연관성도 살펴볼 것이다.

난포발달과정과 배란을 조절하는 인자들

난포성장은 생식호르몬, 스테로이드 호르몬, 성장인자, 그리고 prostaglandins (PGs) 등의 여러 인자들이 관여한다.⁴ 이들은 시상하부-뇌하수체-생식소축이 조절하는 호르몬의 균형과 상호작용으로 난포와 난자의 발달을 세밀하게 조절한다. 즉 시상하부에서 분비되는 생식선자극호르몬 (GnRH)은 뇌하수체의 생식호르몬 (FSH와 LH)의 생산을 조절하고 난소가 분비하는 E₂는 FSH와 LH의 수위에 따라 억제 또는 활성화된다. TGF β family growth factor의 하나인 Inhibin은 FSH의 negative feedback에 관여한다.

난포성장에 있어 다양한 요소들의 역할은 우선적으로 유전자결핍 생쥐모델에서 심도 있게 연구되어 왔는데, 특히 이러한 연구는 단순하게 기능을 예측하여 묘사하는 단계를 벗어나 메카니즘을 직접적으로 이해하는 데 기여를 한다는 장점이 있다.⁷ FSH-receptor (FSH-R)나 LH-receptor (LH-R) 유전자가 결핍된 암컷 생쥐들은 서로 유사한 표현형을 갖는데, 난포발달이 preantral stage에 정지되어

있으며 황체가 형성되지 않는다.⁸⁻¹¹ E₂는 또한 배란에서 중요한데, androgen을 estrogen으로 바꾸는 aromatase가 없는 유전자결핍 생쥐에서 난포발달이 antral stage에 이르지만 배란이 되지 않고 황체 또한 형성이 되지 않는다.¹² 이 결과들은 종합적으로 FSH, LH, 그리고 E₂ 사이의 균형이 난포형성과 배란에 중요함을 시사한다.

내분비적 인자들 이외에도 초기 난포형성 중 growth differentiation factor 9 (GDF9)의 중요한 작용이 검증되어 있다. GDF9^{-/-} 암컷의 난소에서는 secondary follicle을 찾아볼 수 없고 특히 thecal cell layer의 각종 표지유전자들이 발현되지 않는다.¹³ 이는 GDF9이 thecal cell layer 형성을 조절하는 중요 인자임을 의미한다. 세포주기 조절인자의 하나인 cyclin D2는 FSH에 대한 반응을 매개하는 것으로 알려져 있는데, cyclin D2^{-/-} 난소에서는 GC layer의 증식이 일어나지 않고 배란에 실패한 난자들은 황체형성과정 중 난소 내부에 폐쇄된다.¹⁴ Cyclin에 의존적인 kinase 4 (CDK4)와 CDK inhibitor인 p27 또한 난포의 세포증식에 관여한다고 알려져 있다.^{15,16}

PG들과 몇몇 protease들도 난포형성 및 배란에 관여한다는 보고가 있다. 생쥐에서 PG를 생합성하는 효소인 cyclooxygenase-2 (COX-2)나 PGE₂ 수용체 중 하나인 EP₂가 없는 유전자결핍 생쥐에서도 배란장애가 일어난다.^{17,18} 이 생쥐모델들은 난포형성이나 난자성숙에서는 명백한 결함이 없이 배란 자체가 잘 되지 않는 표현형 (phenotype)을 보인다. Progesterone receptor (PR)과 전사부요소인 RIP140도 배란과 관련이 있다는 보고가 있다.^{19,20}

난자의 비대칭적 분열과 염색체 이상

대다수의 동물에서 여성생식세포는 감수분열을 거치면서 비대칭적인 분열을 하게 된다. 성숙해가는 난자와 작은 극체의 방출을 위해 감수분열 중기에 정렬된 염색체는 세포골격의 작용에 의해 egg cortex로 이동한다. 결국 중심에서 벗어나서 위치한

spindle과 cleavage furrow로 인해 비대칭적인 분획(partitioning)이 일어난다. 난자 내에서 spindle의 외곽으로의 이동은 비대칭적 세포분열을 위해 필수적인 요소로, 전반적으로 재정비되는 actin과 microtubule의 세포골격이 주요 역할을 담당한다.

여성의 자연적 유산의 여러 원인 중 큰 비중을 차지하는 것은 염색체 이상인데, 특히 aneuploidy나 multiploidy는 인간에서 가장 흔하게 볼 수 있는 염색체 이상이다. 실제로 수정된 난자의 감수분열 결함에 의해 생기는 aneuploidy는 생쥐에서보다 사람에서 많이 발견되는데 인간 수정란의 10~30%가 염색체 수의 이상이 있다는 보고가 있다.²¹ Aneuploidy는 또한 자연유산의 주요원인이며 발생학적 결함의 유전적 원인이기도 하다. Multiploidy는 두 세트 이상의 반수체 염색체가 존재하는 경우로 정의되는데, 이러한 경우 대부분 태아 시기에 유산되거나 태어난 직후에 사망하기도 한다. Kaufman은 생쥐를 이용해 multiploidy가 태아의 발생 및 생존에 미치는 영향을 전반적으로 조사한 바 있다.²² 이 연구에서는 LT/Sv라는 생쥐 strain을 이용하였는데 이 암컷들이 배란하는 난자들 중 반 이상이 primary oocyte, 즉 4배체의 염색체를 가진 미성숙 난자들이다. 이 난자들은 수정 후 digynic triploid embryo, 즉 두 세트의 염색체를 암컷에게서 받아 3배체가 된 배아들을 만들게 된다. Digynic triploidy, polyspermy에 의해 생기는 diandric triploidy, 또 이외의 multiploidy의 경우 다양한 발달 결함으로 인해 유산된다. 어떠한 mutation에 의해 이 strain에서 미성숙란의 배란이 일어나는지는 아직 밝혀져 있지 않다.

난자의 감수분열은 세포골격 및 각종 세포질 인자들의 작용으로 섬세하게 조절된다. 체세포분열(mitosis)과 감수분열(meiosis)의 마지막 과정인 세포질분열(cytokinesis)에는 Rho family, actin 및 non-muscle myosin II 등의 분자들이 관여하여 contractile ring을 형성한다. 다양한 종에서 Formin 단백질들이 세포질분열에 관여한다고 보고되었다.²³ Formin의 하나인 mDia3는 Cdc42라는 small GTPase의

effector로 체세포분열 중 kinetochore에 붙은 미세소관(microtubule) 안정화에 관여한다.²⁴ 세포골격의 주성분인 actin은 여러 요소들에 의해 핵상화(nucleation)를 거쳐 단위체(monomer)가 미세섬유(filament)를 형성하게 되는데 이에 다양한 단백질들이 관여한다. 이중 Rho나 CDC42 등의 small GTPase들은 actin과 microtubule의 활성화도(activity)를 조절하는 역할을 한다.

Formin 단백질과 Cellular Polarity

Formin-2 (Fmn2)는 진화적으로 잘 보존된 Formin family의 한 멤버로, 이들은 Formin subfamily와 Diaphanous (Dia) subfamily로 크게 나누어진다.²⁵ 이들 단백질은 yeast, *C. elegans*, *Drosophila*, chicken, mouse, 그리고 인간을 포함한 다수의 종에서 발견되며 formin homology domain (FH)을 공유한다. Formin family protein에 대한 연구는 역사가 그리 길지 않다. 최초로 밝혀진 Formin protein인 Fmn1은 우연한 기회에 발견되었는데, 1985년 특정 형질 전환 생쥐(transgenic mouse) line을 만드는 과정에서 일어난 insertional mutagenesis에 의해 한 locus의 기능이 파괴되고 이러한 생쥐 line들에서 사지의 발달이 저해가 되는 표현형(limb deformity phenotype)이 나타났다.²⁶ 이 locus는 limb deformity라 명명되고 이로부터 최초의 formin인 Formin-1이 클로닝되었다(후에 transgenic mice에서 나타난 limb defect는 Fmn1과 무관함이 밝혀짐).²⁷ 이후로 여러 종에서 homology를 갖는 protein들이 밝혀졌다. 1997년, *S. cerevisiae*가 가지고 있는 2개의 Dia subfamily 단백질(Bni1과 Bnr1)이 모두 없는 mutant yeast가 budding을 하지 못해 다핵의 거대구형세포(multinucleated large round cell)의 형태를 갖는다는 연구 결과가 발표되자, 이 family의 단백질에 대한 관심이 높아졌다.²⁸ 이후 Formin family member들이 속속 밝혀졌지만 기능적으로 세포골격(cytoskeleton)과 연관이 있다는 것 이외에 이 단백질들의 세포내 역할에 대한 정보는 전무했다. 현재에는 지난

수년간 yeast Bni1과 생쥐 Dia1에 국한된 연구를 통해 Formin 단백질들의 역할이 actin filament의 핵상화 유도라는 공통적인 견해에 도달했다.²³ Dia subfamily member들은 N-terminal 부분을 통해 small GTPase-binding protein인 Rho, Cdc42, Rac 등과 interaction하며 C-terminal 쪽으로 actin nucleation을 수행한다. Dia는 말굽모양으로 구부러져 actin nucleation center가 가려진 비활성화 형태 (inactive form)로 존재하다가 Rho 등과의 상호작용 (interaction)을 통해 intramolecular autoinhibition이 해제되어 actin nucleation activity가 나타난다.²³ 그러나 개개 Formin 단백질들의 활성도를 조절하는 기작은 상이할 것으로 짐작된다. 분자량이 큰 이들 단백질이 특이적으로 갖고 있는 intramolecular inhibitory mechanism은 역동적으로 변하는 세포골격들의 움직임과 연관되어 신속하게 활성도를 조절하는 고유한 수단으로 보인다.

Fmn2와 난자 성숙

Fmn2는 2000년에 클로닝이 된, 새로운 Formin family의 하나이다. 클로닝 당시 수행된 유전자 발현양상 조사에서는 Fmn2가 중추신경계에서 집중적으로 발현되고 있음을 보여주었다.²⁹ 이후 제작된 Fmn2 유전자결핍 생쥐모형은 해부학적이거나 형태적으로 중추신경계의 이상을 나타내지 않았다. 이 생쥐모형에서 특이적으로 나타난 표현형은 암컷의 생식능력 저하로, 수개월의 교배를 거쳐도 거의 산자를 생산하지 않거나 적은 수의 산자를 생산하였다.³⁰ 이러한 표현형을 세밀하게 조사한 결과, 임신 중기까지는 wildtype과 Fmn2^{-/-} 암컷이 갖고 있는 착상된 배아의 수가 유사하나, Fmn2^{-/-} 암컷의 배아는 발달이 매우 저하되어 있고 자궁 내에서 퇴화된 배아가 다수 발견되었다. Fmn2^{-/-} 암컷의 교배 후 수란관 내 2-세포기 배아를 조사해보면 형태적으로 정상이며 그 수도 wildtype 암컷과 비슷하다. 초파리의 Formin인 Cappuccino의 난소 내 기능을 고려해 볼 때 Fmn2도 유사한 모계

유래의 영향 (maternal effect)을 가지리라는 예상을 가능케 했다. 실제로 in situ hybridization을 통해 관찰된 바, Fmn2 mRNA는 다양한 발달 단계에 있는 난소 내 난자들에서 특이적으로 발현된다. Wildtype과 Fmn2^{-/-} 암컷의 난소에서 미성숙 난자들을 추출해 체외성숙 (in vitro maturation) 과정을 관찰해보니 이 과정에서 큰 차이가 발견되었다. 129Sv/J strain에서 wildtype 암컷의 난자는 20~22시간 경과 후 90% 이상의 난자가 제1감수분열을 거쳐 제1극체를 방출한다. 그러나 Fmn2^{-/-} 암컷의 난자들은 5% 미만의 난자들만 극체를 방출하고 나머지는 제1감수분열 중기에 정지하게 된다.³⁰ 즉 Fmn2가 없는 난자는 극체형성이라는 비대칭적 세포분열을 위한 외곽으로의 spindle 이동과 이어지는 세포질분열을 수행하지 못한다.

이 연구는 Fmn2가 난자의 성숙과정 중 chromosomal migration과 cytokinesis에 중요한 역할을 수행함을 시사한다.³⁰ 이후 수행된 연구에서는 live videomicroscopy를 이용해 Fmn2^{-/-} 난자의 표현형을 더 세밀하게 조사하였는데, Fmn2는 염색체의 congression이나 segregation에 관여하지 않고 first meiotic spindle migration에만 관여한다는 증거를 제시하였다.³¹ 또한 spindle 자체의 형성이나 난자의 cortical differentiation은 정상적이거나 극체방출을 위한 cytokinesis는 일어나지 못한다. 즉 Fmn2^{-/-} 난자의 표현형은 cytochalasin D, 즉 actin depolymerization agent를 처리한 난자와 매우 유사하다. 또한 cytokinesis를 위해 cleavage furrow에 형성되는 actinomyosin contractile ring의 component인 phosphomyosin II가 제대로 위치하지 못한다. 이러한 결과는 Fmn2가 난자 내에서 actin filament의 형성을 조절하고, actin filament가 필요한 두 가지 과정인 spindle 이동과 세포질분열이 제대로 이루어지는데 관여함을 보여준다.

위에서 언급한 바 Formin 단백질의 역할은 actin filament 형성의 nucleation이고 이러한 기능은 난자 내 Fmn2에 의해서도 유사하게 수행될 것으로 짐작된다. 즉 미성숙 난자가 성숙과정을 시작하면서

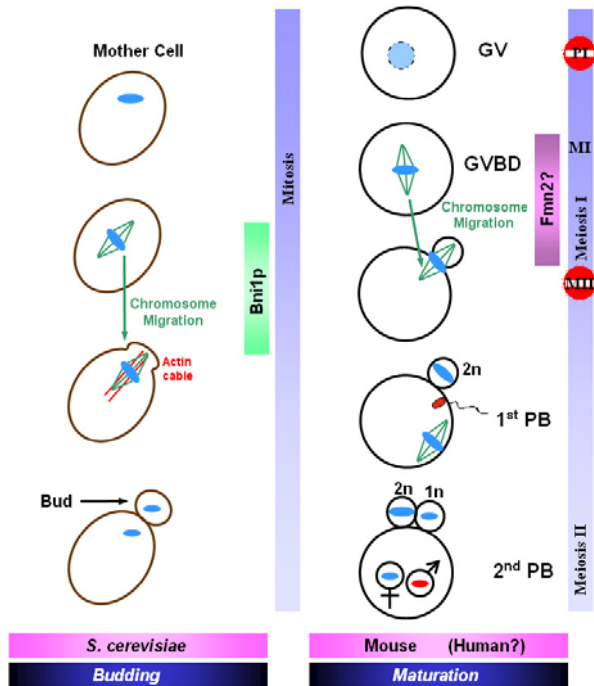


Figure 1. Formins: establishing cellular polarity. The figure shows asymmetric cell division in yeast vis-à-vis meiotic maturation of a mouse oocyte. Yeast Bnr1p nucleates actin cables required for establishing cellular polarity during budding via highly conserved FH domains. They interact with Rho family of GTPase as well as profilin via different domains. Fmn2 is also involved in chromosome migration during meiosis. Biochemical activity of Fmn2 in actin nucleation is yet to be investigated.

metaphase plate에 배열되어 있는 chromosome-spindle complex는 난자의 피질 (oocyte cortex)로 이동할 때 Fmn2에 의한 actin filament의 조절이 요구되는 것으로 보인다. 이 과정은 microtubule의 기능과 무관한, Formin 의존적인 과정이다. Spindle 이동과 세포질분열에 결함이 있는 Fmn2^{-/-} 난자는 수정 후 5n의 배아를 만들거나, 수정 시 세포분열을 하지만 3n의 배아를 형성하게 된다. 이렇듯 생쥐모델에서 관찰된 Fmn2의 기능, 즉 비대칭적 세포분열 시 spindle 이동을 주도하는 것은 yeast의 Formin인 BNI1과 BNR1의 기능과도 매우 유사하다 (Figure 1). 초파리의 Formin인 Cappuccino의 돌연변이를 유도하면 세포극격이 파괴되고 난자의 극성 (polarity)이 상실된다. 이로 인해 배아의 발생 축 형성까지

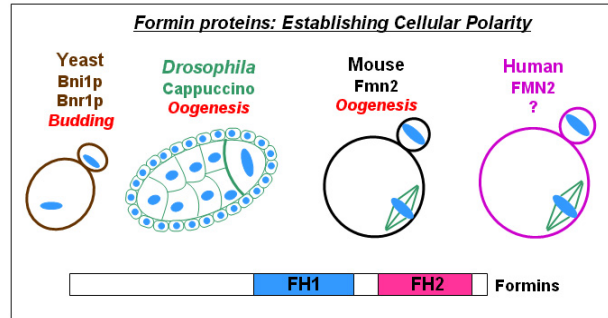


Figure 2. Formin proteins are important for establishing cellular polarity across evolution. They seem to serve conserved function as nucleators for actin filaments. A recent microarray analysis showed that FMN2 is expressed in human oocytes and that this gene is overexpressed in oocytes from PCOS patients. Further investigation is required to address the association of FMN2 in PCOS or infertility.

영향을 받게 된다.³² 그러므로 Formin 단백질들의 보존된 기능은 특정 세포들에서 세포극격의 조절로 비대칭적 또는 극성이 있는 형태형성이라는 결론에 도달할 수 있다 (Figure 2). CDC42는 난자에서 발현되는 small GTPase의 하나로, Formin 등의 다른 세포극격 조절인자들과의 상호작용을 통해 비대칭적 spindle 이동에 관여한다.³³

최근 본 연구진에 의해 관찰된 바에 따르면, 난자처럼 특이한 세포뿐 아니라 일반 세포에서 Fmn2를 발현시키면 세포분열 직후 쌍으로 존재하고 있는 세포에서 Fmn2가 과발현되고 이는 actin filament들의 위치와 대부분 동일하다 (Figure 3). 이는 Fmn2가 난자뿐 아니라 일반적인 세포에서 cytokinesis 등에 필요한 세포극격 조절의 주요인자임을 시사해 준다.

FMN2와 여성 불임

Fmn2^{-/-} 마우스 모델을 통해 밝혀진 Fmn2의 난자 감수분열 특이적 기능은 사람에서도 보존되어 있을 가능성을 시사해 준다. 생쥐 Fmn2와 인간 FMN2는 염기서열 상 높은 상동성을 보인다.²⁹ 사람 난자에서의 발현 여부는 아직까지 FMN2와 유사한 pseudogene의 존재로 인해 RT-PCR로 검증이

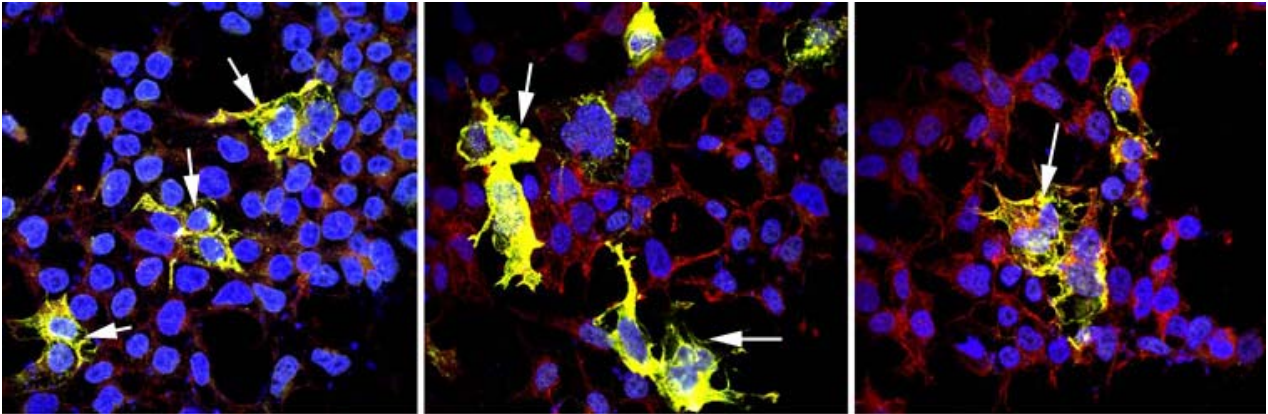


Figure 3. Cellular morphology of Fmn2-expressing 293T cells. Expression of Fmn2 is observed in 293T cells transfected with full-length Fmn2 by immunofluorescence staining. DNA was stained with TO-PRO-3 (blue), actin with Phalloidin-Alexa 546 (red), and Fmn2 with anti-Fmn2 polyclonal antibody followed by anti-rabbit Alexa 488 (green). Yellow color is observed whenever actin and Fmn2 are co-localized. In this figure, there is no cell with Fmn2 expression alone. Notably, Fmn2 is co-localized with actin filaments in paired cells undergoing or finishing cytokinesis.

어려운 점이 있으나 (unpublished observation, Lim et al.), 최근 한 마이크로어레이 데이터에서 난자 내 발현이 확인되었다.³⁴ 한 연구팀에 의해 수행된 임상관찰 연구에서 원인불명의 불임환자 7명과 62명의 가임여성들의 FMN2 유전자 염기서열을 비교하였다. 그러나 특정 염기서열의 차이와 불임의 상관관계에 대한 의미있는 결과는 도출되지 않았다.³⁵ Fmn2^{-/-} 마우스의 표현형을 미루어 보아 원인불명의 불임보다는 비정상적 난자성숙, 즉 극체 방출을 못하는 난자를 생산하는 여성들을 대상으로 한 FMN2 발현 조사 또는 sequence 분석을 통해 연관성을 점검할 필요가 있다.

FMN2와 여성생식과의 관계는 최근 다낭성난소 증후군 (polycystic ovary syndrome, PCOS) 환자들의 난자를 이용한 마이크로어레이 실험을 통해 그 중요성이 다시금 부각 되었다. PCOS는 무배란, 남성 호르몬 증가, insulin resistance 등 다양한 증상이 수반되는 흔한 내분비질환이다. PCOS 환자의 수는 점차 증가하고 있으며, 이들은 무배란 또는 유산 등의 이유로 인해 임신 및 출산이 어려운 경우가 많다. PCOS 환자들로부터 얻은 난자의 마이크로어레이 결과에서 Formin family에 속하는 두 개의 유전자, FMN2와 DIA2가 수 배 이상 과발현됨이

관찰되었다.³⁴ 이 실험에서는 정상과 PCOS 환자들로부터 형태적으로 정상인 양질의 난자만을 선별하여 유전자 발현양상을 비교하였는데 육안으로 구별이 되지 않는 정상적 형태를 가짐에도 불구하고 다양한 유전자 발현 이상이 보고되었다. 이는 누적된 내분비적 이상으로 인해 난자 내부의 미세 환경이 변화되었거나 또는 PCOS 난자 자체에 내재된 결함의 결과일 것으로 예상된다.

결 론

본 논문에서는 비대칭적 세포분열을 거치는 난자성숙과정에서 spindle 이동에 필요한 요소인 Fmn2의 역할에 대해 살펴보았다. 언급한 바, 비정상적인 난자성숙과정은 염색체 이상으로 이어질 수 있으며 실제로 빈번히 일어난다. 일반 세포나 난자에서 Fmn2의 역할과 활성도를 연구하고 그 조절기전을 이해하는 것은 습관성 유산의 원인이 되는 난자의 상태와 관련하여 더 나아가 세포주기 조절과 관련하여 응용가능성이 높은 분야로 사료 된다.

사사

This work was supported by the Korean Research Foundation Grant funded by the Korean Government (MOEHRD, Basic Research Promotion Fund) (KRF-2006-312-C00642).

참 고 문 헌

1. Buccione R, Schroeder AC, Eppig JJ. Interactions between somatic cells and germ cells throughout mammalian oogenesis. *Biol Reprod* 1990; 43: 543-7.
2. Wassarman PM, Albertini DF. The mammalian ovum. In: Knobil E, Neill JD, editors. *The Physiology of Reproduction*, 2nd Edition. New York, New York: Raven Press; 1994. p.79-122.
3. Eppig JJ. Intercommunication between mammalian oocytes and companion somatic cells. *Bioessays* 1991; 13: 569-74.
4. Matzuk MM. Revelations of ovarian follicle biology from gene knockout mice. *Mol Cell Endocrinol* 2000; 163: 61-6.
5. Johnson MH, Everitt BJ. *Ovarian function. Essential reproduction*. 4th ed. Cambridge: Blackwell Science; 1995; 60-78.
6. Jorgez CJ, Lin YN, Matzuk MM. Genetic manipulations to study reproduction. *Mol Cell Endocrinol* 2005; 234: 127-35.
7. Matzuk MM, Lamb DJ. Genetic dissection of mammalian fertility pathways. *Nat Cell Biol* 2002; 4 Suppl: s41-9.
8. Dierich A, Sairam MR, Monaco L, Fimia GM, Gansmuller A, LeMeur M, et al. Impairing follicle-stimulating hormone (FSH) signaling in vivo: targeted disruption of the FSH receptor leads to aberrant gametogenesis and hormonal imbalance. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998; 95: 13612-7.
9. Abel MH, Wootton AN, Wilkins V, Huhtaniemi I, Knight PG, Charlton HM. The effect of a null mutation in the follicle-stimulating hormone receptor gene on mouse reproduction. *Endocrinology* 2000; 141: 1795-803.
10. Lei ZM, Mishra S, Zou W, Xu B, Foltz M, Li X, et al. Targeted disruption of luteinizing hormone/human chorionic gonadotropin receptor gene. *Mol Endocrinol* 2001; 15: 184-200.
11. Zhang FP, Poutanen M, Wilbertz J, Huhtaniemi I. Normal prenatal but arrested postnatal sexual development of luteinizing hormone receptor knockout (LuRKO) mice. *Mol Endocrinol* 2001; 15: 172-83.
12. Fisher CR, Graves KH, Parlow AF, Simpson ER. Characterization of mice deficient in aromatase (ArKO) because of targeted disruption of the cyp19 gene. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998; 95: 6965-70.
13. Dong J, Albertini DF, Nishimori K, Kumar TR, Lu N, Matzuk MM. Growth differentiation factor-9 is required during early ovarian folliculogenesis. *Nature* 1996; 383: 531-5.
14. Sicinski P, Donaher JL, Geng Y, Parker SB, Gardner H, Park MY, et al. Cyclin D2 is an FSH-responsive gene involved in gonadal cell proliferation and oncogenesis. *Nature* 1996; 384: 470-4.
15. Tong W, Kiyokawa H, Soos TJ, Park MS, Soares VC, Manova K, et al. The absence of p27Kip1, an inhibitor of G1 cyclin-dependent kinases, uncouples differentiation and growth arrest during the granulosa->luteal transition. *Cell Growth Differ* 1998; 9: 787-94.
16. Moons DS, Jirawatnotai S, Tsutsui T, Franks R, Parlow AF, Hales DB, et al. Intact follicular maturation and defective luteal function in mice deficient for cyclin-dependent kinase-4. *Endocrinology* 2002; 143: 647-54.
17. Lim H, Paria BC, Das SK, Dinchuk JE, Langenbach R, Trzaskos JM, et al. Multiple female reproductive failures in cyclooxygenase 2-deficient mice. *Cell* 1997; 91: 197-208.
18. Matsumoto H, Ma W, Smalley W, Trzaskos J, Breyer RM, Dey SK. Diversification of cyclooxygenase-2-derived prostaglandins in ovulation and implantation. *Biol Reprod* 2001; 64: 1557-65.
19. Lydon JP, DeMayo FJ, Funk CR, Mani SK, Hughes AR, Montgomery CA, et al. Mice lacking progesterone receptor exhibit pleiotropic reproductive abnormalities. *Genes Dev* 1995; 9: 2266-78.
20. Leonardsson G, Jacobs MA, White R, Jeffery R, Poulsom R, Milligan S, et al. Embryo transfer experiments and ovarian transplantation identify the ovary as the only site in which nuclear receptor interacting protein 1/RIP140 action is crucial for female fertility. *Endocrinology* 2002; 143: 700-7.
21. Hassold T, Hunt P. To err (meiotically) is human: the genesis of human aneuploidy. *Nat Rev Genet* 2001; 2: 280-91.
22. Kaufman MH. New insights into triploidy and tetraploidy, from an analysis of model systems for these conditions. *Hum Reprod* 1991; 6: 8-16.
23. Faix J, Grosse R. Staying in shape with formins. *Dev Cell* 2006; 10: 693-706.

24. Yasuda S, Ocegüera-Yáñez F, Kato T, Okamoto M, Yonemura S, Terada Y, et al. Cdc42 and mDia3 regulate microtubule attachment to kinetochores. *Nature* 2004; 428: 767-71.
25. Higgs HN. Formin proteins: a domain-based approach. *Trends Biochem Sci* 2005; 30: 342-53.
26. Woychik RP, Stewart TA, Davis LG, D'Eustachio P, Leder P. An inherited limb deformity created by insertional mutagenesis in a transgenic mouse. *Nature* 1985; 318: 36-40.
27. Woychik RP, Maas RL, Zeller R, Vogt TF, Leder P. 'Formins': proteins deduced from the alternative transcripts of the limb deformity gene. *Nature* 1990; 346: 850-3.
28. Imamura H, Tanaka K, Hihara T, Umikawa M, Kamei T, Takahashi K, et al. Bni1p and Bnr1p: downstream targets of the Rho family small G-proteins which interact with profilin and regulate actin cytoskeleton in *Saccharomyces cerevisiae*. *EMBO J* 1997; 16: 2745-55.
29. Leader B, Leder P. 2000 Formin-2, a novel formin homology protein of the cappuccino subfamily, is highly expressed in the developing and adult central nervous system. *Mech Dev* 93: 221-31.
30. Leader B, Lim H, Carabatsos MJ, Harrington A, Ecsedy J, Pellman D, et al. Formin-2, polyploidy, hypofertility and positioning of the meiotic spindle in mouse oocytes. *Nat Cell Biol* 2002; 4: 921-8.
31. Dumont J, Million K, Sunderland K, Rassinier P, Lim H, Leader B, et al. Formin-2 is required for spindle migration and for the late steps of cytokinesis in mouse oocytes. *Dev Biol* 2007; 301: 254-65.
32. Emmons S, Phan H, Calley J, Chen W, James B, Manseau L. Cappuccino, a *Drosophila* maternal effect gene required for polarity of the egg and embryo, is related to the vertebrate limb deformity locus. *Genes Dev* 1995; 9: 2482-94.
33. Na J, Zernicka-Goetz M. Asymmetric positioning and organization of the meiotic spindle of mouse oocytes requires CDC42 function. *Curr Biol* 2006; 16: 1249-54.
34. Wood JR, Dumesic DA, Abbott DH, Strauss JF, III. Molecular abnormalities in oocytes from women with polycystic ovary syndrome revealed by microarray analysis. *J Clin Endocrinol Metab* 2007; 92: 705-13.
35. Ryley DA, Wu HH, Leader B, Zimon A, Reindollar RH, Gray MR. Characterization and mutation analysis of the human FORMIN-2 (FMN2) gene in women with unexplained infertility. *Fertil Steril* 2005; 83: 1363-71.