

THE ROLE OF LEPTIN TOWARD THE ACTIVITY OF MATURATION-PROMOTING FACTOR (MPF) AT OOCYTE MATURATION

PERAN LEPTIN TERHADAP AKTIVITAS MATURATION-PROMOTING FACTOR (MPF) PADA MATURASI OOSIT

Pieter Kakisina*, Rasyad Indra**

* Jurusan Biologi, Fakultas MIPA Universitas Pattimura Ambon

** Laboratorium Ilmu Faal Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang

ABSTRACT

Oocyte maturation is mediated by active Maturation Promoting Factor (MPF) in ooplasm. Maturation Promoting Factor (MPF) is heterodimer protein consists of sub catalytic unit p34cdc2 and sub regulator unit of cyclin-B. The regulation of maturation promoting factor (MPF) occurs through phosphorylation and dephosphorylation Cdc2 while its activities are controlled by the accumulation and periodical degradation from Cyclin-B during cell cycles development. Leptin is known has role on oocyte maturation that works at mitogen activated protein kinase (MAPK). MAPK belongs to protein kinase family Ser/Thr that interact with MPF in arranging the progressiveness of oocyte meiosis through the help of c-mos. This interaction is initiated phosphorylation of Ser-369 and Thr-577 in p90rsk.

Key words: leptin, MPF, and oocyte maturation.

PENDAHULUAN

Pertumbuhan oosit mamalia tidak terjadi pada saat yang sama. Hanya sebagian kecil populasi oosit pada folikel primordial yang masuk kedalam fase pertumbuhan dan mencapai ukuran final sebelum pubertas. Pada perkembangan selanjutnya sebelum diovasikan, folikel primordial mampu merespons hormon gonadotropin dan hanya oosit yang kompeten akan berkembang memasuki meiosis mulai dari profase atau fase *germinal vesicle* (GV) hingga metaphase II (MII) (1).

Oosit mamalia yang berhenti perkembangannya di dalam folikel ovarium pada fase diplotene profase meiosis pertama, memulai kembali meiosis setelah stimulasi *Luteinizing Hormon* (LH) surge pituitary di setiap siklus estrus. Reinisiasi maturasi meiosis bermanifestasi dalam *germinal vesicle breakdown* (GVB), diikuti dengan kondensasi kromatin dan reorganisasi mikrotubulus (2). Peristiwa ini menyebabkan pembentukan spindle metafase dan penyelesaian pembelahan meiosis pertama, setelah oosit tersebut memasuki meiosis II akan tertahan pada stadium metaphase II (MII) dan stadium selanjutnya (anafase) akan berlangsung setelah terjadi fertilisasi atau aktivasi partenogenetik (3). Oosit yang bebas dari MII arrest, menyelesaikan pembelahan meiosis kedua, mengalami pembentukan pronukleus, dan selanjutnya memasuki siklus sel mitosis (4).

Mitogen-activated Protein Kinase (MAPK) cascade adalah sistem regulasi utama yang fungsinya paralel dan berinteraksi dengan *Maturation-Promoting Factor* (MPF) dalam menjalankan progresi siklus sel meiosis oosit (5). Pada spesies mamalia, dibutuhkan aktivasi MAPK pada sel-sel cumulus untuk memulai kembali (*reinisiasi*) meiosis oosit. MAPK terlibat dalam regulasi organisasi mikrotubulus dan pembentukan spindle meiosis (6,7). Aktivasi kinase ini merupakan hal yang esensial untuk mempertahankan *metaphase II arrest*, sedangkan inaktivasinya merupakan prasyarat pembentukan pronukleus setelah fertilisasi atau aktivasi partenogenetik (5,8).

Peningkatan ekspresi reseptor leptin (Ob-Ra) pada folikel oosit dan GVB, mampu melakukan transduksi sinyal melalui jalur MAPK sehingga berpengaruh pada oosit. Maturasi oosit yang diaktivasi oleh Ob-Ra melalui jalur transduksi sinyal MAPK ternyata dapat mengaktivasi MPF yang terdiri dari cyclin-B dan Cdc2 kinase (7).

Mekanisme molekuler MPF dan bagaimana leptin berperan dalam aktivasi MPF pada maturasi oosit, menjadi bahasan dalam penulisan ini.

DISKUSI

Maturation Promoting Factor (MPF)

Mekanisme molekuler yang mengendalikan meiosis dan regulasi siklus sel secara umum, mulai dipahami tahun 1971 dengan karakterisasi MPF pada oosit *Xenopus* dewasa (1). MPF pada mulanya dianggap sebagai aktivitas yang berlangsung pada oosit katak dewasa yang dapat dengan cepat menginduksi maturasi inti bila diinjeksikan dalam jumlah kecil sekalipun ke dalam oosit imatur. MPF

Jurnal Kedokteran Brawijaya, Vol. XXIV, No. 1, April 2008
Korespondensi: Pieter Kakisina; Jurusan Biologi, Fakultas MIPA Universitas Pattimura Ambon; Telp. 081343024270

merupakan heterodimer yang tersusun dari subunit katalitik p34cdc2 (CDK1) dan subunit regulator *cyclin-B*.

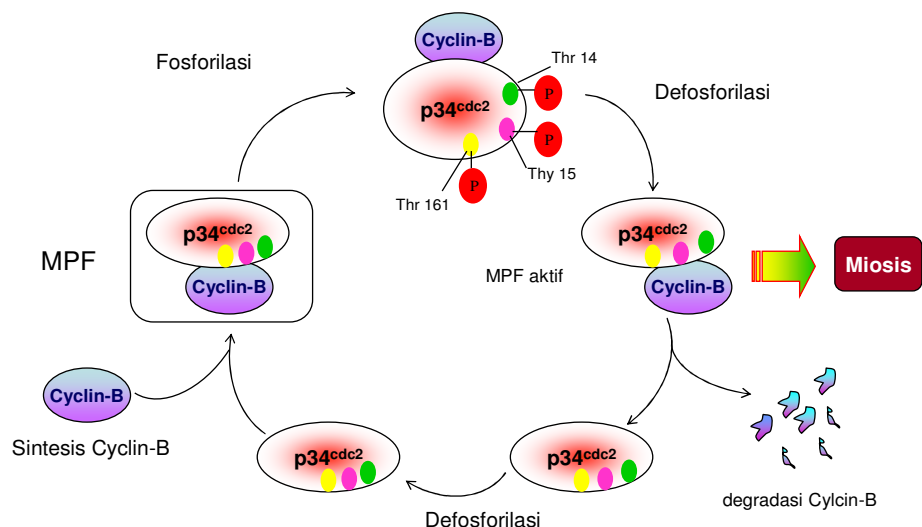
Setidaknya terdapat tiga tipe *cyclin-B* (B1, B2, dan B3). Pada mamalia tampak bahwa *cyclin-B1* bertanggung jawab terhadap aktivitas MPF (9). Meskipun ikatan p34cdc2 pada *cyclin-B1* diperlukan, namun hal tersebut tidaklah cukup bagi aktivitas kinase. Aktivasi MPF dalam sel diatur oleh keseimbangan aktivitas regulator Wee1/Myt1 kinase, melalui inhibisi fosforilasi dari p34cdc2 pada Thr14 dan Tyr15 (mempertahankan heterodimer pada keadaan aktif yang disebut pre-dimer) dan CDC25 yang menyebabkan aktivasi defosforilasi p34cdc2 pada tempat yang sama. Aktivitas CDC25 yang tinggi dan Wee1/Myt1 yang rendah diperlukan untuk mengaktifkan komponen p34cdc2 pada MPF. Sebelum memasuki miosis, *cyclin-B1* dan juga MPF secara spasial dibatasi jumlahnya dalam sitoplasma. Saat sel mengalami miosis, *cyclin-B1* harus terfosforilasi dalam sekuens retensi sitoplasmik, yang membawa pada akumulasi cepat dari *cyclin-B* dan MPF dalam nukleus dan menginduksi *nuclear envelope breakdown* (NEB)/GVB (10).

Karakterisasi molekuler MPF menunjukkan bahwa regulator siklus sel terdiri dari dua sub-unit kunci: Cdc2 dan cyclin-B. Cyclin-B merupakan sebuah sub-unit regulator yang dibutuhkan untuk aktifitas katalitis dari protein kinase Cdc2, sedangkan aktifitas MPF dikontrol oleh akumulasi dan degradasi periodik cyclin-B selama perkembangan siklus sel (3). Regulasi MPF terjadi melalui fosforilasi dan defosforilasi Cdc2

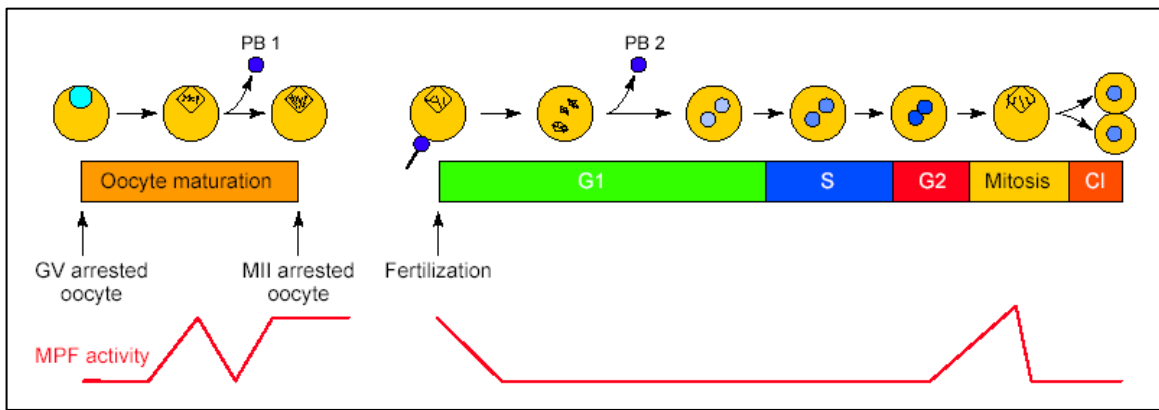
(Gambar 1). Dalam sel-sel mamalia, sintesis cyclin-B dimulai pada fase S (3). Cyclin-B kemudian terakumulasi dan membentuk senyawa dengan Cdc2 pada fase S dan G₂. Ketika senyawa-senyawa ini terbentuk, Cdc2 mengalami fosforilasi pada dua posisi regulatoris penting. Salah satu dari fosforilasi ini terjadi dalam treonin-161 yang dibutuhkan untuk aktifitas kinase Cdc2 dan kedua adalah fosforilasi tirosin-15, dan treonin-14. Fosforilasi tirosin-15, yang dikatalisasi oleh sebuah protein kinase disebut sebagai Wee1, berfungsi menghambat aktivitas Cdc2 dan mendorong pada akumulasi Cdc2 tidak aktif/senyawa cyclin-B pada S dan G₂. Transisi dari G₂ menuju M kemudian terjadi melalui aktivasi Cdc2/senyawa cyclin-B sebagai hasil dari defosforilasi treonin-14 dan tirosin-15 oleh fosfat protein yang disebut sebagai Cdc25C (3).

Ketika diaktifkan, protein kinase Cdc2 mendorong fosforilasi berbagai protein target yang mendorong peristiwa fase M. Selain itu, aktifitas Cdc2 juga mendorong penurunan cyclin-B, yang terjadi sebagai hasil dari proteolysis yang dibantu oleh ubiquitin. Degradasi cyclin-B oleh proteolytic ini kemudian menghentikan Cdc2 sehingga mendorong sel tersebut keluar dari miosis (3,11,12).

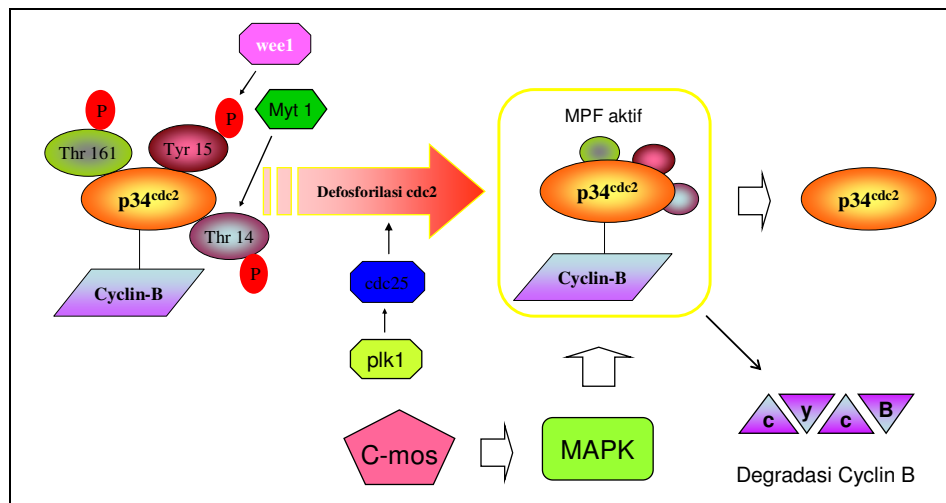
Maturation oosit ditandai dengan dua puncak aktivitas MPF tinggi. Pertama terjadi pada waktu kelanjutan pembelahan meiosis dan kedua, terjadi selama penghentian meiosis pada tahap MII (13,14). Selama selang waktu antara kedua puncak ini, aktivitas MPF dipertahankan pada tingkat yang cukup tinggi (Gambar 2).



Gambar 1. Regulasi MPF terjadi melalui proses defosforilasi dan fosforilasi (3).



Gambar 2. Peningkatan dan penurunan aktivitas MPF pada maturasi oosit (15).



Gambar 3. Aktivasi MPF melalui fosforilasi Treonin-161. Fosforilasi Tirosin-15 dan Treonin-14 oleh wee1/myt1 menyebabkan MPF inaktif. MPF diaktifkan kembali melalui defosforilasi cdc2 (3, 5, 14, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27).

Target Aktivitas MPF

Aktivitas MPF menginduksi proses mitosis pada sel somatik dan miosis pada oosit (5,28). Pada awalnya MPF menginduksi pemecahan membran nukleus (*nuclear envelope breakdown/NEB*) pada oosit katak karena MPF dapat memfosforilasi: (i) *condensin*, kompleks protein besar yang diperlukan untuk memilin DNA selama mitosis; dan (ii) beberapa komponen protein membran nukleus, termasuk nukleoporin, sebuah komponen kompleks pori nukleus dimana fosforilasinya merupakan salah satu dari langkah pertama dalam NEB (2, 4, 29, 30).

Meskipun arti penting MPF pada oosit didukung banyak data, ternyata masih sedikit yang diketahui tentang target molekuler spesifiknya. Namun MPF dianggap terlibat pada beberapa tahap penting pembelahan sel, misalnya pemisahan inti, kondensasi kromosom, penyusunan kembali sitoskeleton dan penghentian aktivitas transkripsi (16). Histone H1

adalah substrat klasik aktivitas MPF. Sebab itu MPF sering juga disebut histon kinase (31). Histone H1 berperan penting dalam pengepakan DNA ke dalam nukleosom, unit struktural penting yang terdiri atas serabut kromatin. Fosforilasi histone H1 diyakini berperan dalam kondensasi kromosom selama pembelahan sel (32). Lamina inti juga diketahui difosforilasi oleh p34cdc2 kinase (33).

Aktivitas periodik merupakan gambaran khas MPF sebab pada sel somatik, tiap pembelahan sel memerlukan MPF yang baru menyatu, sedangkan degradasi MPF diperlukan pada akhir mitosis agar sel dapat melengkapi mitosisnya (34, 35). Sebelum pembentukan cyclin-B dan degradasinya sesudah pembelahan sel menjelaskan periodisitas aktivitas MPF (36). Cyclin-B merupakan satu-satunya spesies mRNA yang diperlukan pada transisi G2-M. Penambahan mRNA cyclin-B dapat menginduksi pembelahan sel pada sel oosit *Xenopus* yang kurang

mRNA endogen (37). Jadi, sintesis mRNA cyclin-B juga terlihat mengendalikan pembelahan meiosis.

Aktivasi MPF pada Pematuran Oosit

Setelah penggabungan cyclin-B-p34cdc2 kinase, MPF yang dihasilkan dipertahankan pada tahap inaktif melalui fosforilasi residu asam amino spesifik dari p34cdc2 kinase (37). Dua fosforilasi inhibitor yang penting dihasilkan melalui kerja protein kinase khusus, yaitu Wee1 dan Myt1 kinases (17, 18).

Pada oosit *Xenopus*, terdapat stok kompleks Cdc2-cyclin-B inaktif yang disebut pre-MPF, yang diaktifkan oleh defosforilasi Cdc2 pada Tyr-15 dan Thr-14 (Gambar 3). Fosfatase yang bertanggung jawab atas defosforilasi ini adalah Cdc25, yang dapat diregulasi baik oleh fosforilasi maupun lokalisasi subseluler. *Polo-like kinase* (Plk1) adalah kemungkinan aktivator Cdc25, namun tidak jelas cara alur signaling ini pertama kali distimulasi. Pada oosit imatur ikan dan amfibi lain, kecuali *Xenopus*, hanya ada Cdc2 monomer, tapi tidak terdapat pre-MPF, sehingga siklin B perlu disintesis dari mRNA maternal untuk GVB (38).

Sub-unit katalitik (P34cdc2) dan *cyclin B1* berperan dalam perkembangan oosit. Saat kadar p34cdc2 lebih tinggi pada oosit yang kompeten dibandingkan pada oosit yang inkompeten (19), hal ini menunjukkan bahwa kompetensi meiosis oosit terkait dengan pencapaian kadar ambang dari p34cdc2. Namun, ekspresi dari p34cdc2 eksogen pada oosit yang inkompeten gagal membuatnya kompeten (11).

Pembatasan spontan dari meiosis yang terjadi saat oosit kompeten dipisahkan dari lingkungan folikelnya yang menghambat, dipercaya dipicu oleh penurunan kadar *cyclic AMP* dalam oosit (cAMP) (39, 40). Berhentinya meiosis *in vivo* disebabkan oleh aktivitas stimulasi protein G (Gs) terhadap adenil siklase, dan aktivitas ini tidak dapat dipertahankan jika oosit dipisahkan dari lingkungan intrafolikuler (41). Penurunan cAMP intrafolikuler selama rilis profase I seharusnya mengaktifkan MPF secara langsung maupun tidak langsung. Mekanisme yang paling mungkin dimana cAMP tetap inaktif telah dipelajari pada oosit katak dan melalui aktivasi protein kinase A yang selanjutnya memfosforilasi CDC25 (20). Kemudian CDC25 yang terfosforilasi disekuestrasi ke dalam sitoplasma oleh 14-3-3, keluarga dari protein kecil yang bersifat asam, yang mencegah akumulasi dalam nukleus, sebuah proses yang dipercaya diperlukan untuk mengaktifkan aksi MPF (21).

Meski perubahan keseimbangan fosfatase dan kinase yang terlibat dalam rilis dari profase I dapat juga terjadi pada mitosis, namun mungkin terdapat perbedaan diantaranya. Sebagai contoh, CDC25b (terdapat tiga anggota keluarga CDC25 pada mamalia: a, b, dan c) baik semata-mata maupun secara absolut diperlukan untuk aktivasi MPF saat GVB pada oosit, namun tidak diperlukan pada meiosis

jantan dan mitosis somatik (21). Alasan untuk hal ini hingga saat ini belum jelas.

Pada tingkat GV, mRNA *cyclin-B1* ditekan translasinya. Hal ini disebabkan karena mRNA *cyclin-B1* mengandung beberapa elemen poliadenilasi sitoplasmik (*cytoplasmic polyadenylation elements/CPE*) yang mengikat CPEB, sebuah *RNA binding protein* yang menimbulkan dormansi translasi. CPEB menjadi terfosforilasi selama pematuran oosit oleh IAK1/Eg2 kinase yang secara efektif mengaktifkan sintesis *cyclin-B1* dan aktivitas kinase semacam ini mencapai puncak pada metafase I (12, 42).

cdc25-phosphatase mengendalikan defosforilasi dan aktivasi MPF pada beberapa sistem model, termasuk sel manusia (22, 43). cdc25 phosphatase merupakan target MPF yang melalui fosforilasi meningkatkan aktivitas cdc25 phosphatase (23, 44). Pembentukan loop katalitik merupakan syarat cepatnya aktivasi MPF pada waktu dimulainya pematuran oosit. Hal ini juga menjelaskan hasil pertama dari karakterisasi MPF, yaitu bahwa injeksi 10–20 µl sitoplasma dari oosit dewasa ke dalam oosit imatur dengan volume ~2 ml dengan cepat mengaktifkan MPF pada oosit penerima (1).

C-mos kinase diperkirakan mendorong aktivitas MPF melalui beberapa mekanisme. Telah diungkap pula adanya aktivasi tak langsung MPF melalui MAP kinase (24, 45). Pada oosit tikus, c-mos menghambat degradasi proteolitik cyclin-B, yang selanjutnya mengarah pada akumulasi cyclin-B antara meiosis I and II, dan mempertahankan aktivitas MPF tetap tinggi selama berhentinya metafase (25, 45).

Oleh karena itu keberadaan c-mos kinase diperlukan untuk perkembangan pembelahan meiosis yang benar. Bloking aktivitas c-mos pada oosit mencit, baik melalui injeksi antibodi ke protein c-mos maupun melalui oligonukleotida antisens, dapat mencegah meiosis II (45, 46, 47). Pada *Xenopus*, hasil bersih aktivitas MPF tinggi yang dipertahankan c-mos adalah penghambatan replikasi DNA antara meiosis I dan II, yang biasanya memungkinkan pembelahan sel dan menghambat aktivasi partenogenik oosit (14). Oleh karena kemampuannya mempertahankan oosit pada metaphase II arrest, c-mos juga disebut *cytostatic factor* (CSF). Pada mencit yang c-mos knockout, metaphase II arrest gagal, menyebabkan tingginya derajat aktivasi partenogenik oosit (48, 49).

Salah satu mekanisme yang secara normal memastikan perubahan metafase dan anafase adalah degradasi cyclin-B setelah *ubiquitination* dengan *anafase-promoting complex* (APC), suatu ligase E3 ubiquitin. Tetapi pada oosit vertebrata, hanya terjadi sebagian degradasi cyclin selama anafase I. Aktivitas residu MPF merupakan hal yang esensial untuk progresi oosit *Xenopus* menuju meiosis II tanpa interfase karena inhibisi sintesis cyclin-B pada transisi MI-MII menyebabkan degradasi sepenuhnya cyclin-B

dan memasuki fase S. Pada oosit tikus, ketika reaktivasi MPF pada penyelesaian telofase I dicegah, siklus sel meiosis gagal untuk berproses menuju meiosis II. Meski demikian, oosit menunjukkan suatu nukleus interfase dengan kromosom terkondensasi. Pada *Xenopus*, kemampuan APC untuk mendegradasi cyclin-B dikurangi dengan aktivasi MAPK-dependen dari p90rsk. Studi lebih lanjut menunjukkan bahwa p90rsk tidak hanya secara parsial menghambat aktivitas APC tetapi juga untuk menstimulasi sintesis cyclin-B pada meiosis II. Apakah hal ini berlaku pada oosit mamalia, masih diperlukan studi yang lebih lanjut.

Mitogen-Activation Protein Kinase (MAPK)

Penelitian selama dekade terakhir mengungkap bahwa *mitogen-activated protein kinase* (MAPK) cascade adalah sistem regulasi utama yang fungsinya paralel dan berinteraksi dengan MPF dalam menjalankan progresi meiosis oosit (9). MAPK disebut juga *extracellular-regulated kinase* (ERK), merupakan famili protein kinase Ser/Thr yang membutuhkan fosforilasi ganda pada residu threonin dan tyrosine untuk teraktivasi sepenuhnya (50). Dua isoform MAPK, yaitu ERK1 (p44) dan ERK2 (p42), diekspresikan secara luas pada oosit mamalia dan berperan penting pada meiosis (51). MAPK kinase (atau dikenal juga sebagai MAPK-ERK kinase 1, MEK1), merupakan protein kinase dengan spesifitas ganda yang mengaktivasi MAPK melalui fosforilasi threonin-183 dan tyrosine-185 di dalam loop aktivasinya (8). MEK juga diaktivasi oleh fosforilasi, dan aktivator hulunya (upstream) pada oosit vertebrata adalah MOS, produk proto-oncogene c-mos. MOS adalah 39-kDa *germ cell-specific* Ser/Thr protein kinase yang pertama kali diidentifikasi pada sel-sel yang ditransformasikan oleh virus leukemia *Maloney murine*. mRNA c-mos disimpan sebagai informasi maternal pada oosit yang tumbuh dan ditranslasikan menjadi protein, yang akan menginisiasi fosforilasi MAPK cascade selama maturasi oosit (52). Substrat MAPK oosit fisiologis yang pertama kali ditemukan dan yang paling dikenal adalah 90-kDa protein kinase/p90rsk (ribosome S6 kinase), suatu famili Ser/Thr kinase yang secara original dikloning berdasarkan kemampuan mereka untuk memfosforilasi protein S6 dari subunit ribosom 40S dalam pematangan oosit *Xenopus* (9). p90rsk diaktivasi oleh ERK1/2 in vitro dan in vivo melalui fosforilasi pada Ser-369 dan Thr-577 (53). Bukti yang didapatkan dari oosit *Xenopus* menunjukkan bahwa p90rsk menjadi mediator sebagian besar fungsi MAPK dalam regulasi progresi siklus sel meiosis (50).

Secara universal peran MAP kinase pada maturasi oosit adalah mengendalikan kadar siklin-B (54). Pemeliharaan kadar cyclin-B-Cdc2 kinase penting dalam mencegah replikasi DNA antara pembelahan meiosis pertama dan kedua. Kondisi ini

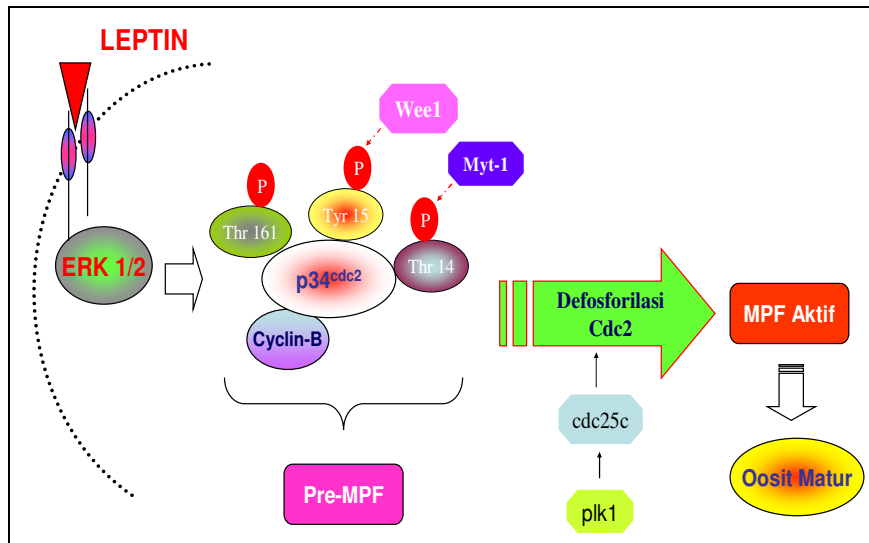
perlu untuk mempertahankan jumlah diploid kromosom meskipun terjadi fertilisasi. Pada oosit *Xenopus*, dan kemungkinan oosit lain, MAP kinase berkontribusi pada regulasi tersebut dengan menstimulasi translasi siklin B dan pembentukan kompleks cyclin-B-Cdc2 kinase aktif pada meiosis I dan secara potensial juga dengan menghambat degradasi berperantara APC-cyclosome pada meiosis II. Baik MAP kinase maupun cyclin-B-Cdc2 kinase dapat berkontribusi pada pairing kromosom meiosis I, namun inaktivasinya tidak diperlukan untuk metafase-anafase pada transisi meiosis I atau untuk transisi ke meiosis II. MAP kinase diperlukan untuk induksi metaphase arrest dan CSF, yang keduanya memerlukan transien Ca^{2+} besar untuk rilis.

Jalur Aktivasi Leptin pada Maturasi Oosit

Leptin adalah hormon protein yang dikode oleh gen obesitas (*ob gene*) dan telah ditemukan dalam cumulus dan sel granulosa. Penambahan leptin pada oosit babi in vitro dapat meningkatkan awal pemecahan vesikel germinal (*germinal vesicle breakdown*/GVB) dan mengurangi *coupling* sel cumulus (50,51). Leptin juga diketahui dapat mengaktivasi fosfodiesterase 3B (PDE3B) sehingga akan menurunkan kadar cAMP pada sel pankreas tikus dan sel hepar (46). PDE3B juga terdapat dalam oosit dan penurunan kadar cAMP dalam oosit memberi tanda dimulainya GVB yang membawa pada maturasi oosit (26). Oleh karena itu, aktivasi PDE3B oosit yang diinduksi oleh leptin dapat memulai proses maturasi melalui penurunan kadar cAMP oosit.

Jalur MAPK teraktivasi diyakini berperan penting selama maturasi oosit vertebrata. Pada oosit babi, MAPK diaktivasi pada GVB dan mempertahankan kadar aktivitas yang tinggi hingga oosit mencapai MII (55). Maturasi oosit melibatkan aktivasi berbagai jalur transduksi signal yang mengaktivasi MPF yang terdiri dari cyclin-B dan Cdc2 kinase (56). Mikroinjeksi antisense c-mos RNA, *upstream kinase* MAPK dan supresi aktivitas MPF pada oosit babi menunjukkan peran MAPK dalam meningkatkan aktivitas MPF (27). Selain itu kadar ekspresi Ob-R tertinggi pada GVB dan peningkatan MAPK fosforilasi ketika oosit diberi dengan leptin (57). Hal ini menandakan bahwa leptin berpengaruh pada maturasi oosit melalui jalur MAPK yang dapat mengaktivasi MPF (Gambar 4).

Meskipun peran fisiologis MAPK yang tepat pada maturasi oosit masih belum sepenuhnya diketahui, namun MAPK dapat memfosforilasi cyclin-B1 pada oosit *Xenopus* (58). Ketika aktivitas c-mos, upstream kinase MAPK diinhibisi, aktivitas MPF juga tersupresi dan oosit *Xenopus* tidak mampu mencapai meiosis II (59). Selain itu, MAPK berperan dalam regulasi ekspresi cyclin-B1, karena mikroinjeksi antisense c-mos RNA ke dalam oosit mencit mengakibatkan supresi translasi cyclin-B (45).



Gambar 4. Leptin melalui reseptor pendek (Ob-Rs) mengaktifkan jalur MAPK (ERK1/2). MAPK yang teraktivasi akan mengaktifkan MPF sehingga proses maturasi oosit dapat berlangsung.

KESIMPULAN

Oosit yang memasuki meiosis disebut sebagai kematangan oosit dan faktor cytoplasmic pendorong kematangan / *Maturation Promoting Factor* (MPF) dianggap sebagai faktor pemicu. MPF merupakan serine-treonin protein heterodimer yang terdiri atas sub-unit regulator (cyclin-B) dan sub-unit katalitik (p34^{cdc2}). Maturasi oosit (nucleus) dimediasi oleh produksi MPF aktif dalam ooplasma. Pada fase pre-MPF, MPF difosforilasi dalam threonin 161, sedangkan phosphorylation tyrosine-15 dan treonin-14, yang dikatalisasi oleh protein kinase Wee1/Myt1, berfungsi menghambat aktivitas Cdc2 dan mendorong pada akumulasi Cdc2 dan senyawa cyclin-B tidak aktif pada phase S dan G₂. Transisi dari phase G₂ menuju phase M terjadi melalui aktivasi Cdc2 dan senyawa Cyclin-B sebagai hasil dari defosforilasi treonin-14 dan tyrosine-15 oleh protein phosphat Cdc25C atas bantuan Plx1.

Mitogen-activated Protein Kinase (MAPK) adalah famili protein kinase Ser/Thr berperan penting dalam mengatur progresi siklus sel meiosis oosit. Setelah GVB, MAPK terlibat dalam regulasi organisasi mikrotubulus dan pembentukan spindle meiosis. Aktivasi kinase ini merupakan hal yang esensial untuk mempertahankan *metafase II arrest*, sedangkan inaktivasinya merupakan prasyarat pembentukan pronukleus setelah fertilisasi atau aktivasi partenogenetik. MAPK diaktivasi melalui bantuan c-mos menginisiasi fosforilasi Ser-369 dan Thr-577 pada p90rsk (substrat MAPK).

Leptin adalah hormon protein yang dikode oleh gen ob, mempunyai reseptor (Ob-Ra) mampu melakukan transduksi signal melalui jalur MAPK sehingga berpengaruh pada maturasi oosit melalui aktivasi MPF. Perlu dilakukan penelitian secara molekuler apakah leptin mengaktifkan p34^{cdc2} atau cyclin-B dan aktivasi ini secara langsung atau tidak.

DAFTAR KEPUSTAKAAN

1. Masui Y, and Markert C. *Cytoplasmic Control of Nuclear Behaviour During Meiotic Maturation of Frog Oocytes*. Exp Zoology 1971; 177:129-146.
2. LeÂnaÂrt P, and Ellenberg J. *Nuclear Envelope Dynamics in Oocytes: from Germinal Vesicle Breakdown to Mitosis*. Curr Opin Cell Biol 2003; 15:88-95.
3. Cooper GM, and Hausman RE. *The Cell a Molecular Aproach*, Third Edition. USA, Washington DC: ASM Press: 2004.
4. Swedlow JR, and Hirano T. *The Making of the Mitotic Chromosome: Modern Insights Into Classical Questions*. Mollecular Cell 2003; 11:557-569.
5. Masui Y. *From Oocyte Maturation to the in Vitro Cell Cycle: the History of Discoveries of Maturation-Promoting Factor (MPF) and Cytostatic Factor (CSF)*. Differentiation 2001; 69:1-17.
6. Gebauer F, and Richter JD. *Synthesis and Function of Mos: the Control Switch of Vertebrate Oocyte Meiosis*. BioEssays 1996; 19:23-28.
7. Dalby KN, Morrice N, Caudwell FB, Avruch J, and Cohen P. *Identification of Regulatory Phosphorylation Sites in Mitogen-Activated Protein Kinase (MAPK)-Activated Protein Kinase-1a/p90rsk that are Inducible by MAPK*. Biol Chem 1998; 273:1496-1505.

8. Hashimoto N, Watanabe N, and Furuta Y. *Parthenogenetic Activation of Oocytes in c-mos Deficient Mouse*. Nature 1994; 370: 68–71.
9. Jones SW, Erikson E, Blenis J, Maller LM and Erikson RL. *A Xenopus Ribosomal Protein S6 Kinase has Two Apparent Kinase Domains that are Each Similar to Distinct Protein Kinases*. Proc Natl Acad Sci USA 1988; 85:3377–3381.
10. Hagting A, Jackman M, Simpson K, and Pines J. *Translocation of Cyclin-B1 to the Nucleus at Prophase Requires a Phosphorylation-Dependent Nuclear Import Signal*. Curr Biology 1999; 9:680-689.
11. Schmitt A, and Nebreda AR. *Signaling Pathways in Oocyte Meiotic Maturation*. Cell Science 2002; 155:2457-2459.
12. Lincoln AJ, Wickramasinghe D, Stein P, Schultz RM, Palko ME, De Miguel MP, Tessarollo L, and Donovan PJ. *Cdc25b Phosphatase is Required for Resumption of Meiosis During Oocyte Maturation*. Nature Genet 2002; 30:446-449.
13. Mattioli M, Galeati G, Bacci ML, and Seren E. *Follicular Factors Influence Oocyte Fertilizability by Modulating the Intercellular Co-Operation between Cumulus Cells and Oocytes*. Gamete Research 1988; 21: 223–232.
14. Furuno N, Nishizawa M, and Okazaki, K. *Suppression of DNA Replication Via Mos Function During Meiotic Division in Xenopus Oocytes*. EMBO 1994; 13:2399–2410.
15. Campbell KHS, P.Loi, P.J. Otagui and Wilmut. *Cell Cycle Coordination in Embryo Cloning by Nuclear Transfer*. J. Reprod Development 1996; 1:40-46
16. Moreno S, and Nurse P. *Substrates for p34cdc2: in Vivo Veritas?*. Cell 1990; 61: 549–551.
17. Gu Y, Rosenblatt J, and Morgan D. *Cell Cycle Regulation of CDK2 Activity by Phosphorylation of Thr160 and Tyr15*. EMBO 1992; 11:3995–4005.
18. Lundgren K, Walworth N, and Booher R. *mik1 and wee1 cooperate in the inhibitory tyrosine phosphorylation of cdc2*. Cell 1991; 64:1111–1122.
19. Janes KT. *Turning It On of: M-Phase Promoting Factor during Meiotic Maturation and Fertilization*. Molecular Human Reproduction 2004; 1: 1-5.
20. Duckworth BC, Weaver JS, and Ruderman JV. *G2 Arrest in Xenopus Oocytes Depends on Phosphorylation of cdc25 by Protein Kinase A*. Proc Natl Acad Sci USA 2002; 99:16794-16799.
21. Mehlmann LM, Jones TLZ and Jaffe LA. *Meiotic Arrest in the Mouse Follicle Maintained by a Gs Protein in the Oocyte*. Science 2002; 297:1343-1345.
22. Tay J, Hodgman R and Richter JD. *The Control of Cyclin B1 mRNA Translation during Mouse Oocyte Maturation*. Developmental Biology 2000; 221 1–9.
23. Millar J, and Russell P. *The cdc25 M-phase Inducer: an Unconventional Protein Phosphatase*. Cell 1992; 68: 407–410.
24. Galaktionov K, and Beach D. *Specific Activation of cdc25 Tyrosine Phosphatases by B-type Cyclins: Evidence for Multiple Roles of Mitotic Cyclins*. Cell 1991; 67:1181–1194.
25. Nebreda AR and Ferby I. *Regulation of the Meiotic Cell Cycle in Oocytes*. Curr Opin Cell Biol 2000; 12:666-675.
26. Abrieuw A, Doree M, and Daniel F. *The Interplay between Cyclin B-Cdc2 Kinase (MPF) and MAP Kinase during Maturation of Oocytes*. Cell Science 2002; 114: 257-267.
27. Ohashi S, Naito K, Sugiura K, Iwamori N, Goto S, Naruoka H, and Tojo H. *Analyses of Mitogen-Activated Protein Kinase Function in the Maturation of Porcine Oocytes*. Biol Reprod 2003; 68:604–609.
28. Doree M, and Hunt T. *From Cdc2 to Cdk1: When Did the cell Cycle Kinase Join its Cyclin Partner*. Cell Science 2002; 115: 2461-2464.
29. Burke B, and Ellenberg J. *Remodelling the Walls of the Nucleus*. Nature Rev Mol Cell Biol 2002; 3:487-497.
30. LeAnaArt P, Rabut G, Daigle N, Hand AR, Terasaki M, and Ellenberg J. *Nuclear Envelope Breakdown in Starsh Oocytes Proceeds by Partial NPC Disassembly Followed by a Rapidly Spreading Fenestration of Nuclear Membranes*. Cell Biology 2003; 160:1055-1068.
31. Langan TA, Gautier J, and Lohka M. *Mammalian Growthassociated H1 Histone Kinase: a Homolog of cdc21/CDC28 Protein Kinases Controlling Mitotic Entry in Yeast and Frog Cells*. Mollecular Cell Biology 1989; 9:3860–3868.
32. Bradbury EM, Inglis RJ, and Matthews HR. *Control of Cell Division by Very Lysine Rich Histone (F1) Phosphorylation*. Nature 1974; 247:257–261.
33. Peter M, Nakagawa J, and Dore'e M. *In Vitro Disassembly of the Nuclear Lamina and M Phase-Specific Phosphorylation of Lamins by cdc2 Kinase*. Cell 1990; 61: 591–602.
34. Minshull J, Blow J, and Hunt T. *Translation of Cyclin mRNA is Necessary for Extracts of Activated Xenopus Eggs to Enter Mitosis*. Cell 1989; 56:947–956.

35. Glotzer M, Murray A and Kirschner M. *Cyclin is Degraded by the Ubiquitin Pathway*. Nature 1991; 349:132–138.
36. Pines J, and Hunter T. *Isolation of Human Cyclin cDNA: Evidence for Cyclin mRNA and Protein Regulation in the Cell Cycle and for Interaction With p34cdc2*. Cell 1989; 58:833–846.
37. Murray A, and Kirschner M. *Cyclin Synthesis Drives the Early Embryonic Cell Cycle*. Nature 1989; 339:275–280.
38. McGowan, C, and Russell P. *Human Wee1 Kinase Inhibits Cell Division by Phosphorylating p34cdc2 Exclusively on Tyr17*. EMBO 1993; 12: 75–85
39. deVantery C, Stutz A, Vassalli JD, and Schorderet-Slatkine S. *Acquisition of Meiotic Competence in growing Mouse Oocytes is Controlled at Both Translational and Posttranslational Levels*. Development Biology 1997; 187:43-54.
40. Eppig JJ. *The Participation of Cyclic Adenosine Monophosphate (cAMP) in the Regulation of Meiotic Maturation of Oocytes in the Laboratory Mouse*. Reproduction Fertil 1989; 38:3-8.
41. Conti M, Andersen CB, Richard FJ, Shitsukawa K, and Tsafirri A. *Role of Cyclic Nucleotide Phosphodiesterases in Resumption Of Meiosis*. Molecular Cell Endocrinol 1998; 145:9-14.
42. Yang J, Winkler K, Yoshida M, and Kornbluth S. *Maintenance of G2 arrest in the Xenopus oocyte: a role for 14-3-3-Mediated Inhibition of Cdc25 Nuclear Import*. EMBO 1999; 18:2174-2183.
43. Hodgman R, Tay J, Mendez R and Richter JD. *CPEB Phosphorylation and Cytoplasmic Polyadenylation are Catalyzed by the Kinase IAK1/Eg2 in Maturing Mouse Oocytes*. Development 2001; 128:2815-2822.
44. Gautier J, and Maller J. *Cyclin-B in Xenopus Oocytes: Implications for the Mechanism of pre-MPF Activation*. EMBO 1991; 10:177–182.
45. Hoffmann I, Clarke PR, and Marcote M.J. *Phosphorylation and Activation of Human cdc25-C by cdc2-cyclin-B and its Involvement in the Self-Amplification of MPF at Mitosis*. EMBO 1993; 12: 53–63.
46. Roy L, Haccard O, and Izumi T. *Mos Proto-Oncogene Function during Oocyte Maturation in Xenopus*. Oncogene 1996; 12:2203–2211.
47. Kubiak J, Weber M, and de Pennart H. *The Metaphase II Arrest In Mouse oocytes is Controlled Through Microtubule-Dependent Destruction of Cyclin-B in the Presence of CSF*. EMBO 1993; 12: 3773–3778.
48. Zhao X, Batten B, and Singh B. *Requirement of the c-mos Protein Kinase for Murine Meiotic Maturation*. Oncogene 1990; 5:1727–1730.
49. O'Keefe S, Kiessling A, and Cooper G. *The c-mos Gene Product is Required for cyclin-B Accumulation during Meiosis of Mouse Eggs*. Proc Natl Acad Sci USA 1991; 88: 7869–7872.
50. Paules R, Buccione R, and Moshel R. *Mouse Mos Proto-Oncogene Product is Present and Functions during Oogenesis*. Proc Natl Acad Sci USA 1989; 86:5395–5399.
51. Colledge W, Carlton M, Udy G. and Evans M. *Disruption of c-mos causes Parthenogenetic Development of Unfertilized Mouse Eggs*. Nature 1994; 370:65–67.
52. Fan H-Y and Sun Q-Y. *Involvement of Mitogen-Activated Protein Kinase Cascade during Oocyte Maturation and Fertilization in Mammals*. Biology reproduction 2004; 70: 535-547.
53. Sun Q-Y, Breitbart H, and Schatten H. *Role of the MAPK Cascade in Mammalian Germ Cells*. Reprod Fertil Development 1999; 11:443–450.
54. Crews CM, and Erikson RL. *Purification of a Murine Protein-Tyrosine/Threonine Kinase that Phosphorylates and Activates the Erk-1 Gene Product: Relationship to the Fission Yeast byr1 Gene Product*. Proc Natl Acad Sci USA 1992; 89:8205–8209.
55. Nebreda A, and Hunt T. *The c-mos Proto-Oncogene Protein Kinase Turns on and Maintains the Activity of MAP Kinase, but not MPF, in Cellfree Extracts of Xenopus Oocytes and Eggs*. EMBO 1993; 12:1979–1983.
56. Labbe JC, Capony JP, Caput D, Cavadore JC, Derancourt J, Kaghad M, Lelias JM, Picard A, and 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 1989; 8:3053–3058.
57. Craig J, Zhu H, Dyce PW, Petrik J and Li J. *Leptin Enhance Oocyte Nuclear and Cytoplasmic Maturation Via Mitogen-Activated Protein Kinase Pathway*. Endocrinology 2004; 145:5355-5363.
58. Izumi T, and Maller JL. *Phosphorylation of Xenopus cyclins B1 and B2 is not required for Cell Cycle Transitions*. Mol Cell Biol 1991; 11:3860–386.
59. Kanki JP, and Donoghue DJ. *Progression from Meiosis I to Meiosis II in Xenopus Oocytes Requires De Novo Translation of the Mosxe Protooncogene*. Proc Natl Acad Sci USA 1991; 88:5794–579.