DOI: 10.14188/j.1671-8852.2023.0394 **文章编号** 1671-8852(2025)01-0124-06

单细胞测序技术在卵母细胞研究中的应用进展

万鹏程 周 璇 邹思漪 余 菲 全 松
南方医科大学南方医院妇产科生殖医学中心 广东 广州 510515

摘要 卵母细胞作为生殖配子之一，是几乎所有哺乳动物生育能力的基础，其发育过程和遗传变化至关重要。单细胞测序技术能够对单个细胞进行分离和检测，并提供更为准确的细胞遗传学信息。近年来，该技术在卵母细胞的相关研究中得到了广泛运用，使我们能更加深入地了解不同状态下卵母细胞的异质性特征。本文对单细胞测序技术的原理和其在卵母细胞发生及成熟过程中的研究应用进行了综述，并回顾了该技术在研究及评估卵母细胞质量方面的重要作用。

关键词 单细胞测序；卵母细胞；生殖；异质性
中图分类号 R321.1
文献标识码 A **开放科学（资源服务）标识码（OSID）：**

Application progress of single-cell sequencing technologies in oocytes research

WAN Pengcheng, ZHOU Xuan, ZOU Siyi, YU Fei, QUAN Song
Center for Reproductive Medicine, Dept. of Gynecology and Obstetrics, Nanfang Hospital, Southern Medical University, Guangzhou 510515, Guangdong, China

Abstract

As one of the reproductive gametes, oocytes form the basis of reproductive capacity in nearly all mammals, with their developmental processes and genetic variations being crucial. Single-cell sequencing enables the isolation and detection of individual cells, offering more precise genetic information at the cellular level. In recent years, it has been widely applied in oocyte-related research, facilitating a deeper understanding of oocyte heterogeneity under various conditions. This review outlines the principles of single-cell sequencing and its applications in oogenesis and oocyte maturation. Additionally, it also reviews the significant role of single-cell sequencing in the study and assessment of oocyte quality.

Key Words Single-Cell Sequencing; Oocytes; Reproduction; Heterogeneity

卵母细胞在女性生育能力中扮演着至关重要的角色。单细胞测序（single-cell sequencing，SCS）作为一项能够揭示单个细胞基因组、转录组或表观遗传组变化的技术[1]，于2009年首次被Tang等[2]成功应用于小鼠卵母细胞和卵裂球的测序。随后该技术在发育生物学、肿瘤学等研究领域得以广泛应用。通过单细胞测序，我们可以更精准地分析卵母细胞在不同发育阶段和状态下的特征，从分子层面深入理解其发生发育、功能调控和病理机制，同时也为相关疾病的预防、诊断和治疗提供了创新的方向。

课题来源：国家自然科学基金资助项目（编号：82171656）
作者简介：万鹏程，男，1993—，医学博士，主要从事生殖医学研究，E-mail：423670362@qq.com
通信作者：全松，男，1962—，主任医师，博士生导师，主要从事生殖医学研究，E-mail：quansong@smu.edu.cn

1　单细胞测序技术概述

SCS是一种高通量测序技术，旨在分析细胞间的遗传变异和基因表达差异[1]。与传统方法不同，SCS能够对单个细胞进行检测、区分稀有细胞并生成细胞图谱，从而揭示细胞间的异质性特征。SCS的主要流程包括单细胞分离、测序及数据分析。此外，SCS与多组学结合是目前的应用热点之一。

1.1　单细胞分离　单细胞分离的关键在于保持细胞结构的完整性和核酸质量。由于卵泡结构独特且体积较大，Tang等[2]采用手工方法分离卵母细胞，包括使用移卵针取出卵母细胞-颗粒细胞复合体，以及透明质酸酶去除卵丘细胞。这是当前人类卵母细胞最常用的分离方法[3]。在动物模型中则常采用细胞裂解法，即使用Ⅳ型胶原酶和胰蛋白酶消化整个卵巢组织，随后在细胞悬液中挑选卵母细胞[4]。针对高通量的单细胞分选技术，由于成熟卵母细胞直径较大可能堵塞分选平台管道，因此更适用于女性胎儿生殖细胞（fetal germ cells，FGCs）以及卵巢中体细胞的测序[5]。

1.2　单细胞测序　SCS可涵盖DNA和RNA的测序。单细胞水平DNA测序（single-cell DNA sequencing，scDNA-seq）最主要的应用方向是全基因组测序（whole genome sequencing，WGS），其过程主要包括DNA序列的扩增和高通量检测。2013年，Hou等[6]首次对单个人类卵母细胞进行了基因组分析。scDNA-seq另一个重要方向是表观遗传组测序，包括DNA甲基化测序、染色质结构测序、组蛋白修饰测序等。单细胞水平RNA测序（single-cell RNA sequencing，scRNA-seq）则一般用于检测基因的表达情况。基于不同的单细胞分离方式、扩增方法和检测偏好等，衍生出了多种scRNA-seq方法及测序平台，包括SMART-seq、MARS-seq、10×Genomics等[7]。

1.3　数据分析　单细胞测序数据分析过程主要包括原始数据的质控、预处理以及读段比对。在scDNA-seq中，WGS主要关注拷贝数变异（CNV）和单核苷酸变异（SNV），而表观遗传组测序则侧重于甲基化差异和组蛋白修饰分析。在scRNA-seq中，除了关注传统RNA测序中的基因表达和可变剪切，细胞聚类和拟时序分析是SCS中特有的分析内容，这对于研究卵母细胞的发生及成熟尤为重要。细胞聚类通过K-means等算法对具有相似表达模式的细胞归类，以了解细胞的异质性和类型分布。拟时序分析旨在揭示单细胞在发育或分化中表达模式的动态变化，从而推断细胞的发育轨迹或时间顺序。

1.4　单细胞测序与多组学结合　目前，SCS与多组学结合已成为卵母细胞研究的重要策略，其中单细胞蛋白质组学结合液相色谱-串联质谱（LC-MSMS）[8]以及单细胞脂质组学结合基质辅助激光解吸电离（MALDI）质谱成像[9]已应用于研究卵母细胞的蛋白质及脂质表达。新兴的SCS技术，如scCOOL-seq技术可以对卵母细胞进行多达5个层面（染色质状态、核小体定位、DNA甲基化、基因组拷贝数变异和染色体倍性）的分析[10]。这些技术的发展在单细胞层面拓展了对卵母细胞研究的广度和深度。

2　各阶段卵母细胞的单细胞测序研究

卵母细胞经历发生、发育以及成熟等多个关键阶段。SCS不仅能揭示卵母细胞的发生发育轨迹，并且能深入研究卵母细胞成熟过程中的关键分子和调控机制，进而识别潜在的生殖障碍。

2.1　卵母细胞的发生　卵母细胞起源于胎儿原始生殖细胞（primordial germ cells，PGCs）。PGCs在胎儿早期经过有丝分裂和增殖后形成卵原细胞，即最初的卵母细胞。女性PGCs和卵原细胞可以统称为FGCs，其对卵巢发育和卵泡生成至关重要。

2015年Guo等[11]首次应用SCS检测了人类女性4～19周胎儿的FGCs，结果显示，4～10周PGCs的DNA甲基化逐渐降至最低，但该期间整体转录水平相对稳定。相比之下，17周处于减数分裂的卵原细胞之间则表现出强烈的转录组异质性。随后，该团队的另一项SCS研究进一步将FGCs划分为4个连续的发育阶段，分别为有丝分裂期、RA信号响应期、减数分裂前期和卵母细胞发生期[12]。其中，有丝分裂期和RA信号响应期的FGCs多位于浅皮层，而减数分裂前期和卵母细胞发生期的FGCs多位于卵巢深层，说明FGCs的发育在空间上具有特定分布。该研究还发现，处于卵母细胞发生期的FGCs不仅富集了与细胞骨架、激素信号等相关的基因，还富集了与凋亡相关的基因，提示一部分FGCs可能正在经历凋亡。

在小鼠研究方面，Niu等[13]对小鼠从胚胎发育第11.5天到出生后第5天的FGCs进行了SCS研究，将其划分为减数分裂前期、细线前期、细线期、

偶线期、粗线期、双线期、静止期以及死亡期。其中早期细胞簇高表达多能性标记基因和有丝分裂相关基因,而晚期细胞簇高表达减数分裂相关基因。此外,每个检测时间点都包含了多个细胞簇,表明小鼠的FGCs是非同步发育的。随后的多项小鼠FGCs的SCS研究也得出了相似的结论,并发现Dpy30与减数分裂基因启动子的H3K4me3修饰相关,而Tcfl5能与减数分裂基因启动子区域结合并激活相关基因,说明Dpy30和Tcfl5在小鼠卵原细胞减数分裂的启动中可能存在关键作用[14-17]。

目前有证据表明,哺乳动物的卵巢皮层可能存在卵原干细胞(oogonial stem cells,OSCs),然而其是否存在仍有争议[18]。Wagner等[19]对成人卵巢皮层的SCS研究发现,使用OSCs特异性标记物DDX4抗体所捕获细胞,其多能性标记物、OSCs标记物以及卵母细胞标记物的表达均极低。作者认为这些细胞不是OSCs,而是血管周围细胞。相反,Alberico等[20]使用SCS在成人卵巢皮层中成功鉴定出与OSCs匹配的生殖细胞谱系,并指出Wagner等[19]的SCS工作流程存在问题。随后,Bhartiya等[21]指出,由于SCS通常在较低的离心速度下制备细胞,而制备OSCs需要较高的离心速度,因此OSCs未被纳入SCS分析。未来,综合运用SCS和其他技术将有助于深入探讨OSCs的存在和特性争议。

2.2 卵母细胞的成熟 成熟的卵母细胞指能够接受精子受精并形成正常发育胚胎的卵母细胞。卵母细胞在发育和成熟的过程中经历了由生发泡期(geminal vesicle, GV)到第二次减数分裂中期(metaphase Ⅱ, MⅡ)的转变。相应地,卵泡的发育阶段也由原始/初级/次级卵泡阶段进入格拉夫卵泡阶段。

Virant-Klun等[22]利用SCS绘制了人类卵母细胞成熟过程中的蛋白质组和分泌组图谱,结果显示TDRKH蛋白主要在未成熟卵母细胞中富集,而WEE2、PCNA等蛋白则在成熟卵母细胞中富集,其中WEE2主要与减数分裂调控相关。Zhang等[23]的scRNA-seq分析表明ZP1、GDF9等基因的表达在人类卵母细胞成熟过程中逐渐上调,这些发现在食蟹猴中也得到了验证[4]。此外,Hu等[24]使用了双组学方法对人类及小鼠卵母细胞的成熟过程进行了研究,发现从GV期到MⅡ期基因组整体的转录水平下降。在两者的差异表达基因(differentially expressed genes, DEGs)中,MⅡ的富集基因主要涉及减数分裂调控,但其仅在翻译水平而非转录水平上增加。该研究还证实了OOSP2蛋白是诱导人类卵母细胞成熟的关键分子之一。

另一些SCS研究则关注于卵母细胞成熟过程中甲基化的变化。这些研究表明,卵母细胞在发育和成熟的过程中甲基化水平总体上调,伴随着甲基化酶相关基因(如DNMT1和DNMT3B)的表达增加[10,24,25]。另外,Yao等[26]发现在卵母细胞成熟过程中m(6)A甲基化水平升高,而敲低m(6)A甲基转移酶复合物METTL3会对小鼠卵母细胞的成熟造成不良影响。以上结果提示甲基化在卵母细胞的成熟过程中扮演了重要的角色。

SCS还用于探明卵母细胞成熟缺陷的原因。Ntostis等[27]的研究表明人类卵母细胞从GV期向MⅡ期转变时,线粒体相关转录本的减少随着年龄的增长更为显著,进而影响了卵母细胞的成熟潜力。其他SCS研究则揭示了剪接体表达异常以及ENSA等基因与人类卵母细胞的成熟缺陷有关[28,29]。

3 卵母细胞质量的单细胞测序研究

卵母细胞的质量直接影响受精结局和胚胎质量,而衰老、疾病和环境暴露均能对其产生负面影响。此外,辅助生殖技术也在一定程度上影响卵母细胞的质量。SCS有助于深入了解卵母细胞的质量变化及相关机制,从而为改善生殖健康提供重要的理论基础。

3.1 衰老对卵母细胞质量的影响 随着女性年龄的增长,卵母细胞的质量逐渐下降。Zhang等[30]通过scRNA-seq发现,与年轻女性相比,年长女性的卵母细胞中与转录激活、氧化应激和免疫功能相关的基因显著上调,而与DNA损伤修复相关的基因显著下调。该研究随后通过小鼠敲除模型验证了TOP2B基因在影响卵母细胞质量方面的关键作用,该基因与氧化应激后DNA双链断裂的修复密切相关。其他人类SCS研究则表明,年轻和年长女性卵母细胞的DEGs主要涉及泛素化调节、减数分裂和细胞周期[3,31]。动物模型的SCS研究显示,年轻和年长小鼠卵母细胞的DEGs与线粒体功能、内质网应激和抗氧化作用相关[32],且年长的卵母细胞通常表现出较高的转录组异质性、较低的转录组复杂性以及较低的CpG甲基化水平[33]。Wang等[4]发现食蟹猴卵母细胞衰老的一个重要特征是抗氧化

基因GPX1和GSR下调。总的来说，这些结果表明年长卵母细胞的转录组在氧化应激、DNA修复以及能量代谢方面与年轻卵母细胞存在差异，提示这些功能在衰老的卵母细胞中存在一定程度的损害。

此外，研究人员正利用SCS探索衰老卵母细胞的挽救方法，结果显示通过应用烟酰胺单核苷酸、聚乙二醇化生长激素或者没食子酸可以恢复小鼠卵母细胞的线粒体功能、减少活性氧积累并抑制细胞凋亡[34-36]。间歇性禁食也能够恢复小鼠卵母细胞中NAD^+/Sirt1介导的抗氧化防御系统[37]。这些方法将有助于减少卵母细胞受高龄的不良影响，进而改善年长女性的生殖结局。

3.2　疾病对卵母细胞质量的影响　多囊卵巢综合征（polycystic ovarian syndrome，PCOS）是育龄期女性常见的生殖内分泌疾病，其卵母细胞的发育和排卵受到干扰。Liu等[38]对PCOS和健康供体的卵母细胞进行了scRNA-seq分析，发现两者的DEGs主要集中于GV期，涉及减数分裂、间隙连接、激素受体和DNA修复等方面。然而，经过辅助生殖治疗后，PCOS卵母细胞的受精率和分裂率显著提高，相关基因在MⅡ期的表达水平也恢复正常。该团队随后的研究发现，线粒体功能相关基因COX6B1等在PCOS卵母细胞的GV期被过早激活，而这些基因在健康供体的MⅡ期才被激活，提示PCOS卵母细胞质量的下降与GV期异常的线粒体功能相关[39]。此外，PCOS与肥胖密切相关，而肥胖本身也是一种慢性疾病。Ruebel等[40]通过scRNA-seq发现，在肥胖女性的卵母细胞中与促炎（CXCL2）和氧化应激（DUSP1）的相关基因表达上调，而与脂肪代谢（GAS7）和抗氧化（TXNIP）的相关基因表达下调。

子宫内膜异位症（endometriosis，EMT）是另一种育龄期女性常见的妇科疾病，其盆腔内环境的改变和氧化应激失衡可能导致卵母细胞发育异常。Ferrero等[41]的scRNA-seq研究显示，EMT和健康供体卵母细胞的DEGs主要与线粒体功能、类固醇代谢、氧化应激和细胞生长相关，表明这些功能与EMT卵母细胞质量下降存在密切关联。

3.3　环境暴露对卵母细胞质量的影响　环境暴露可能对卵母细胞质量产生负面影响。SCS研究显示，二丁基二氯化锡（DBTCl）可以损害小鼠卵母细胞的质量，涉及纺锤体、染色体、线粒体和氧化应激基因表达的改变[42]。同时，环磷酰胺（CTX）可引起人卵母细胞中抗凋亡基因表达下调，进而诱发其急性凋亡[43]。另一方面，SCS研究聚焦于环境暴露对子代卵母细胞的影响。小鼠的SCS研究显示，邻苯二甲酸二甲酯（DEHP）影响了子代卵巢生殖细胞的减数分裂，而玉米赤霉烯酮（ZEA）可导致子代卵泡组装受损，全氟辛酸（PFOA）则引发了小鼠子代卵母细胞的成熟障碍[44-46]。三者均涉及子代卵母细胞中与线粒体功能、DNA修复以及细胞凋亡相关基因的表达改变。此外，Li等[47]从宫内缺氧小鼠的卵母细胞中鉴定出11个可遗传至F2代的DEGs，主要与脂质和胰岛素代谢相关。综上，SCS研究揭示了环境暴露导致卵母细胞质量下降与线粒体功能障碍、氧化应激、凋亡等密切相关，并可引发跨代遗传效应。

3.4　辅助生殖技术对卵母细胞质量的影响　随着辅助生殖技术的发展，卵母细胞体外成熟（*in vitro* maturation，IVM）技术备受关注。然而，与体内成熟（*in vivo* maturation，IVO）的卵母细胞相比，IVM卵母细胞的发育能力较差。Zhao等[48]通过scRNA-seq发现，IVM卵母细胞中线粒体相关基因ACAT1和HADHA的表达显著下调，可能导致特定酶活性降低和Krebs循环功能障碍，进而引起卵母细胞发育异常和非整倍体胚胎的出现。在后续的SCS研究中，研究人员发现IVM和IVO卵母细胞的DEGs主要与线粒体呼吸相关，涉及GATA-1/CREB1/WNT以及Sirtuin信号通路，且IVM卵母细胞的非CpG甲基水平较低[35, 49-51]。Guo等[52]通过单细胞蛋白质组学分析发现，IVM卵母细胞中许多蛋白质保留了类似于GV卵母细胞的表达模式，说明IVM卵母细胞仍未成熟。这些研究揭示了IVM与IVO卵母细胞之间的转录组及蛋白组差异，并说明IVM卵母细胞在发育及能量代谢方面存在一定的异常。

SCS还被用于研究冻存对卵母细胞质量的影响。Huo等[53]的SCS研究发现，冻存卵母细胞与新鲜卵母细胞相比，其发育相关的基因表达显著变化，并伴随有RNA的降解及热休克蛋白基因（HSPA1A、HSPA1B）的表达下调。然而，不同冻存时间的卵母细胞间未发现DEGs，说明潜在的损害与冷冻过程本身而非冻存时间相关。

4　总结与展望

SCS的出现为卵母细胞研究带来了突破性进展。首先，SCS揭示了卵母细胞在发生及成熟过程

的关键分子事件和调控机制,为我们深入理解各阶段的卵母细胞提供了重要线索。其次,SCS揭示了衰老、疾病、环境暴露以及辅助生殖技术对卵母细胞质量和功能的影响及相关作用机制,为改善生殖健康以及优化辅助生殖技术提供了重要理论基础。最后,SCS还探索了保护和修复卵母细胞的方法,为改善卵母细胞质量及延缓卵母细胞衰老提供了新的思路。未来,随着新兴SCS技术的不断发展和SCS费用的逐渐降低,相信SCS将更广泛地应用于卵母细胞的研究和临床应用,进一步推动生殖生物学和生殖医学领域的发展。

参考文献

[1] Jovic D, Liang X, Zeng H, et al. Single-cell RNA sequencing technologies and applications: A brief overview[J]. Clin Transl Med, 2022, 12(3): e694.

[2] Tang FC, Barbacioru C, Wang YZ, et al. mRNA-Seq whole-transcriptome analysis of a single cell[J]. Nat Methods, 2009, 6(5): 377-382.

[3] Llonch S, Barragán M, Nieto P, et al. Single human oocyte transcriptome analysis reveals distinct maturation stage-dependent pathways impacted by age[J]. Aging Cell, 2021, 20(5): e13360.

[4] Wang S, Zheng YX, Li JY, et al. Single-cell transcriptomic atlas of primate ovarian aging[J]. Cell, 2020, 180(3): 585-600. e19.

[5] Machlin JH, Shikanov A. Single-cell RNA-sequencing of retrieved human oocytes and eggs in clinical practice and for human ovarian cell atlasing[J]. Mol Reprod Dev, 2022, 89(12): 597-607.

[6] Hou Y, Fan W, Yan LY, et al. Genome analyses of single human oocytes[J]. Cell, 2013, 155(7): 1492-1506.

[7] La H, Yoo H, Lee EJ, et al. Insights from the applications of single-cell transcriptomic analysis in germ cell development and reproductive medicine[J]. Int J Mol Sci, 2021, 22(2): 823.

[8] Conrad S, Azizi H, Skutella T. Single-cell expression profiling and proteomics of primordial germ cells, spermatogonial stem cells, adult germ stem cells, and oocytes[J]. Adv Exp Med Biol, 2018, 1083: 77-87.

[9] Bodzon-Kulakowska A, Młodawska W, Mielczarek P, et al. Mammalian oocyte analysis by MALDI MSI with wet-interface matrix deposition technique[J]. Materials, 2023, 16(4): 1479.

[10] Gu C, Liu SL, Wu QH, et al. Integrative single-cell analysis of transcriptome, DNA methylome and chromatin accessibility in mouse oocytes[J]. Cell Res, 2019, 29(2): 110-123.

[11] Guo F, Yan LY, Guo HS, et al. The transcriptome and DNA methylome landscapes of human primordial germ cells[J]. Cell, 2015, 161(6): 1437-1452.

[12] Li L, Dong J, Yan LY, et al. Single-cell RNA-seq analysis maps development of human germline cells and gonadal niche interactions[J]. Cell Stem Cell, 2017, 20(6): 891-892.

[13] Niu WB, Spradling AC. Two distinct pathways of pregranulosa cell differentiation support follicle formation in the mouse ovary[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2020, 117(33): 20015-20026.

[14] Zhao ZH, Ma JY, Meng TG, et al. Single-cell RNA sequencing reveals the landscape of early female germ cell development[J]. FASEB J, 2020, 34(9): 12634-12645.

[15] Ge W, Wang JJ, Zhang RQ, et al. Dissecting the initiation of female meiosis in the mouse at single-cell resolution[J]. Cell Mol Life Sci, 2021, 78(2): 695-713.

[16] Mayère C, Neirijnck Y, Sararols P, et al. Single-cell transcriptomics reveal temporal dynamics of critical regulators of germ cell fate during mouse sex determination[J]. FASEB J, 2021, 35(4): e21452.

[17] Zhang FL, Feng YQ, Wang JY, et al. Single cell epigenomic and transcriptomic analysis uncovers potential transcription factors regulating mitotic/meiotic switch[J]. Cell Death Dis, 2023, 14(2): 134.

[18] Martin JJ, Woods DC, Tilly JL. Implications and current limitations of oogenesis from female germline or oogonial stem cells in adult mammalian ovaries[J]. Cells, 2019, 8(2): 93.

[19] Wagner M, Yoshihara M, Douagi I, et al. Single-cell analysis of human ovarian cortex identifies distinct cell populations but no oogonial stem cells[J]. Nat Commun, 2020, 11(1): 1147.

[20] Alberico H, Fleischmann Z, Bobbitt T, et al. Workflow optimization for identification of female germline or oogonial stem cells in human ovarian cortex using single-cell RNA sequence analysis[J]. Stem Cells, 2022, 40(5): 523-536.

[21] Bhartiya D, Sharma D. VSELs and OSCs together sustain oogenesis in adult ovaries and their dysfunction results in age-related senescence, PCOS, POI and cancer[J]. J Ovarian Res, 2023, 16(1): 29.

[22] Virant-Klun I, Leicht S, Hughes C, et al. Identification of maturation-specific proteins by single-cell proteomics of human oocytes[J]. Mol Cell Proteomics, 2016, 15(8): 2616-2627.

[23] Zhang YY, Yan ZQ, Qin QY, et al. Transcriptome landscape of human folliculogenesis reveals oocyte and granulosa cell interactions[J]. Mol Cell, 2018, 72(6): 1021-1034. e4.

[24] Hu WQ, Zeng HT, Shi YN, et al. Single-cell tran-

scriptome and translatome dual-omics reveals potential mechanisms of human oocyte maturation[J]. Nat Commun, 2022, 13(1): 5114.

[25] Yu B, Doni Jayavelu N, Battle SL, et al. Single-cell analysis of transcriptome and DNA methylome in human oocyte maturation[J]. PLoS One, 2020, 15(11): e0241698.

[26] Yao H, Gao CC, Zhang DR, et al. Scm(6)A-seq reveals single-cell landscapes of the dynamic m(6)a during oocyte maturation and early embryonic development[J]. Nat Commun, 2023, 14(1): 315.

[27] Ntostis P, Iles D, Kokkali G, et al. The impact of maternal age on gene expression during the GV to MⅡ transition in euploid human oocytes[J]. Hum Reprod, 2021, 37(1): 80-92.

[28] Li JS, Lu MZ, Zhang PY, et al. Aberrant spliceosome expression and altered alternative splicing events correlate with maturation deficiency in human oocytes[J]. Cell Cycle, 2020, 19(17): 2182-2194.

[29] Capalbo A, Buonaiuto S, Figliuzzi M, et al. Maternal exome analysis for the diagnosis of oocyte maturation defects and early embryonic developmental arrest[J]. Reprod Biomed Online, 2022, 45(3): 508-518.

[30] Zhang JJ, Liu XY, Chen L, et al. Advanced maternal age alters expression of maternal effect genes that are essential for human oocyte quality[J]. Aging, 2020, 12(4): 3950-3961.

[31] Yuan LH, Yin P, Yan H, et al. Single-cell transcriptome analysis of human oocyte ageing[J]. J Cell Mol Med, 2021, 25(13): 6289-6303.

[32] Zhang T, Xi QS, Wang D, et al. Mitochondrial dysfunction and endoplasmic reticulum stress involved in oocyte aging: An analysis using single-cell RNA-sequencing of mouse oocytes[J]. J Ovarian Res, 2019, 12(1): 53.

[33] Castillo-Fernandez J, Herrera-Puerta E, Demond H, et al. Increased transcriptome variation and localised DNA methylation changes in oocytes from aged mice revealed by parallel single-cell analysis[J]. Aging Cell, 2020, 19(12): e13278.

[34] Miao YL, Cui ZK, Gao Q, et al. Nicotinamide mononucleotide supplementation reverses the declining quality of maternally aged oocytes[J]. Cell Rep, 2020, 32(5): 107987.

[35] Lee AWT, Ng JKW, Liao J, et al. Single-cell RNA sequencing identifies molecular targets associated with poor *in vitro* maturation performance of oocytes collected from ovarian stimulation[J]. Hum Reprod, 2021, 36(7): 1907-1921.

[36] Feng PH, Xie Q, Liu Z, et al. Study on the reparative effect of PEGylated growth hormone on ovarian parameters and mitochondrial function of oocytes from rats with premature ovarian insufficiency[J]. Front Cell Dev Biol, 2021, 9: 649005.

[37] Li C, Zhang H, Wu H, et al. Intermittent fasting reverses the declining quality of aged oocytes[J]. Free Radic Biol Med, 2023, 195: 74-88.

[38] Liu QW, Li YM, Feng Y, et al. Single-cell analysis of differences in transcriptomic profiles of oocytes and cumulus cells at GV, MⅠ, MⅡ stages from PCOS patients[J]. Sci Rep, 2016, 6: 39638.

[39] Qi LB, Liu BX, Chen X, et al. Single-cell transcriptomic analysis reveals mitochondrial dynamics in oocytes of patients with polycystic ovary syndrome[J]. Front Genet, 2020, 11: 396.

[40] Ruebel ML, Cotter M, Sims CR, et al. Obesity modulates inflammation and lipid metabolism oocyte gene expression: A single-cell transcriptome perspective[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2017, 102(6): 2029-2038.

[41] Ferrero H, Corachán A, Aguilar A, et al. Single-cell RNA sequencing of oocytes from ovarian endometriosis patients reveals a differential transcriptomic profile associated with lower quality[J]. Hum Reprod, 2019, 34(7): 1302-1312.

[42] Lu YJ, Tang HY, Wang X, et al. Dibutyltin dichloride exposure affects mouse oocyte quality by inducing spindle defects and mitochondria dysfunction[J]. Chemosphere, 2022, 295: 133959.

[43] Titus S, Szymanska KJ, Musul B, et al. Individual-oocyte transcriptomic analysis shows that genotoxic chemotherapy depletes human primordial follicle reserve *in vivo* by triggering proapoptotic pathways without growth activation[J]. Sci Rep, 2021, 11(1): 407.

[44] Tian Y, Zhang Y, Dong PY, et al. Single-cell transcriptomic profiling to evaluate the effects of Di(2-ethylhexyl)phthalate exposure on early meiosis of female mouse germ cells[J]. Chemosphere, 2022, 307(Pt 1): 135698.

[45] Tian Y, Zhang MY, Zhao AH, et al. Single-cell transcriptomic profiling provides insights into the toxic effects of Zearalenone exposure on primordial follicle assembly[J]. Theranostics, 2021, 11(11): 5197-5213.

[46] Zhou YT, Li R, Li SH, et al. Perfluorooctanoic acid (PFOA) exposure affects early embryonic development and offspring oocyte quality via inducing mitochondrial dysfunction[J]. Environ Int, 2022, 167: 107413.

[47] Li T, Liu Y, Yue SJ, et al. Analyzing the effects of intrauterine hypoxia on gene expression in oocytes of rat offspring by single cell transcriptome sequencing[J]. Front Genet, 2019, 10: 1102.

（下转第 134 页）