

# 斑马鱼中囊胚过渡调控机制

郑福军<sup>1</sup>, 贾方钧, 李逸平\*

(中国科学院生物化学与细胞生物学研究所, 上海 200031)

**摘要:** 斑马鱼中囊胚过渡(MBT)始于受精卵的第10次卵裂, 此时亦伴有细胞周期延长, 分裂同步性丧失, 合子型基因开始转录活化, 胚胎细胞开始具备运动迁移能力等现象。斑马鱼MBT的发生依赖于胚胎细胞的核质比, 胚胎细胞周期中的G<sub>1</sub>时相则只有在合子型基因组开始被转录活化后才能出现。细胞周期检验点的激活可能也是受转录调控的, 但中期检验点对DNA复制抑制状态的响应不仅在MBT前后、甚至在MBT前的不同阶段也可能有具体作用途径的差异。活化的P38蛋白在胚胎中的不对称分布是维持卵裂阶段细胞分裂同步性的关键因素。尽管大规模的合子型基因的表达发生在MBT开始后, 也有少数与胚层分化有关的合子型基因是在MBT前表达的, 还有一些既有母型表达也有合子型表达的基因在MBT前后分别参与不同的信号途径来调控胚胎的发育与分化。

**关键词:** 斑马鱼; 中囊胚过渡; 合子型基因组激活; 细胞周期

**中图分类号:** Q25   **文献标识码:** A   **文章编号:** 0253-9977(2004)03-266-05

有性生殖的生物个体在受精卵形成后, 首先进入快速的、同步化的卵裂阶段, 这一期间的细胞行为受母型因子的调控, 而合子型基因组在此期间基本保持沉默。进一步的发育需要合子型基因的适时表达, 因此合子型基因组渐被激活, 最终完全过渡到合子型调控。合子型基因组激活(zygotic genome activation, ZGA)的过程与中囊胚过渡(mid-blastula transition, MBT)在时间上吻合, 并且两者具有内在的联系。发生中囊胚过渡则意味着大批合子型基因得以转录活化, 细胞周期延长, G<sub>1</sub>相显现, 胚胎细胞开始具备运动迁移的能力。对于早胚发育的这个重要阶段, 目前的知识还十分有限。

由于斑马鱼世代周期短、产卵频次高、胚胎体外发育易于观察, 且与高等动物的基因序列具有较强的同源性。所以斑马鱼作为模式生物被用于研究高等动物的发育调控具有重要价值。目前对斑马鱼胚胎发育的研究主要集中在胚胎发育的中晚期, 即胚层分化以及各组织器官的发育形成过程, 而对于更早期的胚胎发育阶段的研究也愈来愈引起人们的重视, 并不断取得有价值的进展。下面就近年来斑马鱼中囊胚过渡(MBT)研究进展作一简要概述。

斑马鱼的卵子自受精到完成第一次卵裂历时约45分钟。随后经历了同步而快速的细胞增殖, 每一个细胞周期只有15min仅包含M期和S期时相。直到第9次分裂时, 少数细胞分裂的同步水平略有降低; 到第10次卵裂时, 多数细胞的分裂丧失了同步化特征, 细胞的周期延长, 到第13次卵裂时细胞周期的平均时间已经比同步阶段延长了3倍以上。而从第2次卵裂直到胚盘下包开始, 细胞的有丝分裂期(M期)本身的长度稳定在6~7min, 显然周期的延长源于间期的变化<sup>[1]</sup>。Kane等分析认为, 第10次卵裂同前期相比细胞周期的延长达到了统计学意义上的显著差异, 因此确定第10次卵裂是斑马鱼中囊胚过渡的起始<sup>[1]</sup>。

从MBT开始, 细胞周期的延长并非同时发生在所有细胞, 不同细胞的周期长度逐步呈现差异。第9次卵裂时, 各个细胞的周期仅有微小差异; 到第12次卵裂时, 胚胎某些细胞的周期已经延长了2倍以上。

转录和细胞迁移也是在MBT阶段开始发生的, 这也是MBT阶段的关键特征。在卵裂阶段把经过标

收稿日期: 2003-09-09; 修回日期: 2003-11-06

<sup>1</sup> 华东师范大学研究生

\* 通讯作者, E-mail: oocyte@sunm.shnc.ac.cn

## 1 中囊胚过渡的启动

记的 UTP 注射到卵黄, 检测标记物掺入总核酸的比例, 结果显示, 在受精后 3 小时, 这个比值首次高于背景值。这个时间恰好相当于第 10 次卵裂, 说明转录的活化也是开始于第 10 次卵裂。检测结果还表明转录行为在随后的几个周期中持续增加。细胞获得迁移能力的标记是形成伪足。伪足仅发生在间期, 使用标记染色对细胞谱系追踪观察, 发现少数细胞在第 11 次分裂的间期形成伪足, 多数细胞在第 12 次分裂的间期形成典型的伪足, 说明细胞迁移行为恰好出现于 MBT 刚开始之后。

哺乳动物(如小鼠)ZGA 的发生可能受合子钟的调控<sup>[2]</sup>, 较为低等的动物(如斑马鱼、爪蟾、果蝇等)ZGA 的发生都与 MBT 相吻合, 这些低等动物的 MBT 期依赖于一定的核质比。人工诱导产生的斑马鱼四倍体和单倍体胚胎首次出现细胞周期延长的时间分别第 8 次卵裂和第 11 次卵裂, 证实了斑马鱼 MBT 发生同胚胎细胞核质比的依赖性。MBT 阶段胚胎细胞的周期发生了不同程度的延长, 此刻细胞周期的时长与细胞体积直接相关, 表现出谱系传承的特点, 同一谱系的细胞具有相近的体积和周期时长, 较小体积的细胞的周期比较大体积细胞的周期缓慢。由于此一阶段胚胎细胞的周期中不含有生长阶段, 因此细胞的体积是由其亲代细胞决定的, 尽管如此, 在 MBT 阶段, 检测到同一个细胞产生的两个子细胞的周期时长就存在差异, Kane 等认为这种现象说明胚胎细胞在 MBT 阶段发生了不对称分裂。

## 2 转录活化与细胞周期时相的关系

斑马鱼大量转录活动的起始与细胞周期延长的发生时间是一致的, 两者之间的联系仅仅是时间上的巧合吗? Zamir 等(1997)首先分析了斑马鱼胚胎发育早期细胞中的 DNA 含量, 发现在受精后 0~3h, 约 1/3 的细胞的 DNA 含量比静止状态的正常二倍体细胞高, 2/3 的细胞的 DNA 含量相当于四倍体, 几乎没有与静止状态的正常二倍体细胞 DNA 含量相当的细胞, 这说明在 MBT 之前的细胞基本不存在 G<sub>1</sub> 相; 在受精后 3.25h, 即 MBT 开始后, 已经可以检测到 DNA 含量为 2N 的细胞群, 说明这时的胚胎中已经存在具有 G<sub>1</sub> 相的细胞。MBT 期细胞 DNA 含量的分析还显示出, DNA 含量为 2N 的细胞群的比例随进一步的发育逐步增大。另外, 伴随 G<sub>1</sub> 相的出现, S 相的绝对时长显著增加, 而 G<sub>2</sub>+M 相的时

长下降。Zamir 等将转录抑制剂 actinomycin D 注射到 2 细胞期等早期胚胎细胞, 发现 MBT 阶段的胚胎中不再出现含 G<sub>1</sub> 相的细胞, 但 actinomycin D 并不影响 MBT 前卵裂阶段的细胞周期, 也不影响 MBT 阶段细胞 S 相的延长, 因此得出结论: MBT 阶段细胞 G<sub>1</sub> 相的出现依赖于合子型转录的活化<sup>[3]</sup>。

斑马鱼 MBT 发生与核质比的依赖关系暗示着卵母细胞中积累了某些抑制因子, 卵裂导致核质比增大而降低了这些抑制因子的细胞内滴度, 为 MBT 的发生创造了条件。早期卵裂过程细胞转录活性的抑制状态可能就是由于抑制因子的作用。Zamir 等向早期卵裂细胞中注射过量的非特异性质粒 DNA, 结果检测到在 MBT 前的胚胎细胞中出现了 G<sub>1</sub> 相, 如果把非特异性质粒 DNA 与 actinomycin D 一同注射则不会有提前出现 G<sub>1</sub> 相的情况, 也就是说 G<sub>1</sub> 相的提前出现是由于合子型转录活化引起的。另一方面, 非特异性质粒 DNA 的注射不影响 S 相的时长变化, 也说明 G<sub>1</sub> 相的提前出现只是特异性的受到合子型转录活化诱导的结果。

细胞周期蛋白的表达通常与细胞周期的特定时相密切相关, 周期蛋白(cyclin)作为调节亚基(regulatory subunit)与其特异的执行催化功能的依赖性激酶(cyclin-dependent kinase, CDK)结合, 对驱动细胞在 G<sub>1</sub>→S 期或 G<sub>2</sub>→M 期时相间准确过渡起关键性的调节作用。但 C 型周期蛋白(主要包括 cyclin C, cyclin H 和 cyclin T)更令人瞩目的作用是 RNA 聚合酶 II 相作用的负调控性转录因子。尽管斑马鱼 cyclin C 既有母型表达又有合子型表达(本实验室待发表资料)与其依赖性激酶 cdk8 表达格局相一致<sup>[4]</sup>, 尚不能确定它在中囊胚过渡中的角色, 但 cyclin H 的依赖性激酶 cdk7 对果蝇胚胎合子型基因的转录激活的调控作用确已得以证实<sup>[5]</sup>。C 型周期蛋白对于中囊胚过渡的调控意义需要进行更全面的考察。

需要说明的是, 转录活化起始时间与细胞周期时相构成的关系在不同物种间有很大差异, 某些物种(小鼠、美西螈、海胆等)的早期细胞周期包括 S, G<sub>2</sub> 和 M 相, 它们在早期卵裂阶段就有相当规模的转录, 这些物种细胞周期的延长似乎不是转录活动起始的依赖性因素。斑马鱼同果蝇、爪蟾类似, 在较晚发育阶段才开始大批转录活动, 而它们的胚胎细胞在早期仅包含 S 和 M 相, 果蝇的 G<sub>2</sub> 相是在 MBT 起始(第 14 次分裂)时出现的, 其 G<sub>1</sub> 相则在第 16 次分裂时才出现; 爪蟾的 G<sub>1</sub> 和 G<sub>2</sub> 相则是在 MBT

后1小时才开始出现,这说明不同物种间合子型基因组激活的机制可能有所不同。

### 3 中囊胚过渡与细胞周期检验点的激活

在通常的有丝分裂细胞周期中,分别存在着 $G_1/S$ 、 $G_2/M$ 时相转换检验点以及有丝分裂中期检验点(metaphase checkpoint,即纺锤体装配检验点),这些检验点严格地监视着细胞周期时间的发生、发展过程。如DNA损伤未修复前不能进入S期,S期DNA合成未完成不能进入M期,如果M期纺锤体与染色体连接不良则不能进入后期。Ikegami等研究了斑马鱼胚胎发育早期细胞周期检验点的激活机制。他们在MBT前后分别抑制细胞中DNA聚合酶 $\alpha$ 亚基、拓扑异构酶I和II的活性来阻断DNA合成,发现(1)在MBT前抑制DNA合成不会阻止细胞进入下一次有丝分裂,说明在MBT前的胚胎细胞中的检验点机制尚未建立;(2)在MBT后抑制DNA合成引发了不同的效应,一些细胞的分裂被迅速完全地阻止,另外还有一些细胞表现出对药物的耐受效应,他们继续分裂,似乎没有受到损伤;(3)直到MBT发生几个小时后,细胞的耐药力才明显下降,这说明检验点激活可能是受转录调控的,因而表现出了滞后效应<sup>[6]</sup>。

中期检验点在MBT前尚未激活还表现在用破坏微管聚合的nocodazole处理MBT前胚胎将导致胚胎深层细胞的核完全崩解,但在MBT之后处理则使这些细胞阻滞在中期,这证明中期检验点是在MBT阶段活化的。但是用阻止微管解聚的paclitaxel处理MBT后胚胎不会引起中期阻滞,说明只有纺锤体微管遭到破坏时中期检验点才会发挥阻滞效应。但是,钙离子通道蛋白A23187能驱动已经被阻滞在中期的细胞进入下一细胞周期,说明钙离子信号途径在中期检验点的下游或与之平行。直到胚胎发育到原肠中期以后,nocodazole引起胚胎表层细胞DNA碎片化,深层细胞的核发生高度凝缩,但caspase-1,4,5的抑制剂可以阻止深层细胞的核发生凝缩,这说明nocodazole在MBT后处理确实引发了胚胎进入凋亡状态<sup>[7]</sup>。

Ikegami等进一步检验了3种DNA合成阻断剂在MBT前后对胚胎发育的影响<sup>[8]</sup>。Camptothecin是DNA拓扑异构酶I的抑制剂,aphidicolin竞争性抑制DNA聚合酶 $\alpha$ 亚基的功能,hydroxyurea阻止核糖核酸还原酶为DNA聚合酶供应底物。在MBT前

分别用这3种药物处理胚胎,结果都使胚胎在原肠阶段突然死亡,但是胚胎对药物的反应形式存在差别。MBT前camptothecin的短暂处理就迅速对细胞核产生了致死性的损伤,死亡的细胞核或者高度凝缩、或者完全崩解,无核及死核的细胞仍然存有继续分裂的生理活性,所以胚胎整体的死亡到原肠阶段才发生;MBT后的囊胚阶段,camptothecin处理也使胚胎在原肠阶段死亡,但是胚胎受到的影响不如在MBT前那样剧烈,因为可以观察到死亡前的胚胎有部分细胞中还有正常的核结构,Ikegami认为camptothecin诱发细胞凋亡的作用是不可逆的。Aphidicolin及hydroxyurea处理的效果也取决于胚胎发育的阶段,在4~8细胞期处理,两者与camptothecin一样,都引起细胞发生严重的凋亡反应,胚胎在原肠阶段死亡;但是在8细胞期以后直到MBT前的时期处理,尽管有一些胚胎细胞发生了凋亡反应,但是多数胚胎能继续存活下去。Aphidicolin在MBT之后处理,不会抑制细胞增殖或引起细胞凋亡,hydroxyurea在MBT之后处理,虽然也会引起部分细胞凋亡,但多数胚胎能够继续发育、存活下去,Ikegami认为aphidicolin及hydroxyurea的作用具有可逆性。这三种DNA合成阻断剂通过不同的作用途径抑制DNA复制进程,它们对于胚胎发育的影响效果也不尽一致,这提醒人们注意中期检验点对DNA复制抑制状态的响应不仅在MBT前后、甚至在MBT前的不同阶段也可能有具体作用途径的差异。

### 4 中囊胚过渡前细胞分裂同步性的调控

从受精直至中囊胚过渡阶段,胚胎经历了一连串同步化的有丝分裂,这期间的胚胎细胞显现出整齐划一的表象。但这仅仅是表面的现象。目前的技术已经基本上能够确定16细胞期胚胎各个细胞不同的发育命运<sup>[9]</sup>,说明胚胎细胞的分化实际上在受精后不久就已经开始了。那么,卵裂阶段细胞分裂的同步性意义何在?同步化的细胞分裂又是怎样调控的呢?Ritsuko等<sup>[10]</sup>发现有丝分裂原激活蛋白激酶p38在MBT前的表达与细胞分裂同步性的维持有关。P38蛋白的活性受磷酸化状态控制,积累在卵母细胞中的p38处于没有磷酸化的非活性状态,而发育到二细胞期的胚胎中已经可以检测到磷酸化了的活性p38,尤为重要是虽然磷酸化的p38仅分布于将来会发育为胚胎背部一侧的细胞中却又是保证卵裂期胚

胎细胞分裂同步化的关键因子。如果 p38 的磷酸化过程受到抑制则导致半侧胚胎细胞停止分裂。Ritsuko 等认为, 不对称的胚胎细胞分裂是无脊椎动物的常规状态, 而同步化的胚胎细胞分裂是脊椎动物胚胎发育特有的, 是在进化过程中获得了以不对称表达的活性功能蛋白阻遏卵裂期胚胎细胞的不对称分裂倾向的能力。按照 Ritsuko 等的观点, 早期胚胎中不均一分布的活性 p38 蛋白维持细胞分裂同步化的能力随着细胞的持续分裂而减弱, 到中囊胚阶段的胚胎重又进入了不对称分裂的状态。有证据表明, 活性的 p38 蛋白是从卵植物极进入到动物极的, 但是还没有找到激活 p38 的关键因子<sup>[10, 11]</sup>。

## 5 中囊胚过渡前的基因表达对后期发育的影响

虽然胚胎在 MBT 前不存在普遍的转录活动, 但对于具体物种而言, 是否每个物种在受精后都存在一个转录完全休止的发育阶段尚无更多证据。已经知道, 小鼠受精后第一次卵裂前就存在一次前期转录活动期<sup>[1]</sup>, 海胆和线虫在受精后不久就开始以高速率进行转录活动<sup>[1]</sup>。对于在较晚发育阶段才开始大批转录活动的物种而言, MBT 前转录确实存在, 如水蛭的 *htr-wnt-1* 基因、蛔虫的 *actin* 基因、果蝇的 *histone* 和 *engrailed* 基因等<sup>[12]</sup>。通常, 卵母细胞阶段积累的 RNA 和蛋白质的作用止于中囊胚过渡完成前的早期发育, 由母型调控向合子型调控的过渡伴随着母型 mRNA 的降解及合子型基因转录的活化, 可 MBT 前卵裂阶段的基因表达对胚胎进一步发育的指导作用实验证据不多。

斑马鱼 *znr2* 基因的转录本最早在 16 细胞期可以检出, *znr2* 基因产物是指导神经节发育的因子, 影响中胚层和神经元的分布, 形成左右不对称的空间格局。*Znr2* 基因表达的格局随发育进程而改变, MBT 阶段 *znr2* 基因产物位于胚盘背部, MBT 后则出现在外胚的卵黄囊合胞层。Erter 等认为 MBT 前表达的 *znr2* 可能是在早期诱导中胚层形成或者指导 *gsc* 及 *noggin* 基因在胚盘背部特定部位表达的关键因子<sup>[13]</sup>。

中囊胚过渡也是胚胎分化的关键阶段, 胚层分化和体轴形成在 MBT 阶段确定了基本轮廓。Wnt 信号途径在中囊胚过渡之前和之后分两个阶段分别依据不同的机制控制早期背腹轴的形成, 实质上构成两个不同的信号途径。前期的信号途径(pre-MBT

Wnt signaling)不需要 Wnt 配体与其受体 Frizzled (Fz) 的相互作用, 被认为是调控早期背部结构发生的信号途径, 在该信号途径下游表达的基因如 *dsh*、*gsk3*、 $\beta$ -catenin、*siamios* 等负责生成次级体轴包括前脑的发生; 而 MBT 之后的信号途径(post-MBT Wnt signaling)依赖于 Wnt 配体与其受体 Frizzled 的相互作用。MBT 前的 Wnt 信号途径涉及的因子来自卵子发生过程, 在 MBT 前的卵裂阶段发挥作用, 到 MBT 后这一信号途径被抑制, 错误表达的 Wnt 信号途径可能产生出具有双头或四个体轴的胚胎。Shinya 等<sup>[14]</sup>克隆了斑马鱼的 *dkk1* 基因, 在 Wnt 信号途径的调控中扮演重要角色。*Dkk1* 在卵巢和 MBT 前胚胎中不表达, 在 MBT 开始后才在胚盘边缘的一侧, 将来会发育为背部的部位表达。 $\beta$ -catenin 是 MBT 前的 Wnt 信号途径的因子, 能够引起 *dkk1* 的异位表达, 而且  $\beta$ -catenin 引起 *dkk1* 的异位表达时间与内源 *dkk1* 开始表达的时间一致, 说明 *dkk1* 是被 MBT 前的 Wnt 信号途径的所激活。向 MBT 后的胚胎中注射 *wnt8* 及 *fz* mRNA 不会引起胚胎发育的异常, 但如果同时注射 *dkk1* mRNA 就会完全抑制次级体轴的形成, 说明 MBT 后的 Wnt 信号途径受到 *dkk1* 抑制。哺乳动物 *Siah* 基因产物能促使  $\beta$ -catenin 降解, 它也是 Wnt 信号途径的成员之一, 而斑马鱼 *Siah* 同源基因也被证实分别具有母型表达和合子型表达的不同来源<sup>[15]</sup>, 这可能也与 Wnt 的不同信号途径有关。

分析中囊胚过渡研究的现有结果可知, 中囊胚过渡是胚胎由母型调控全面进入到合子型调控的重要阶段, 大规模转录活动的发生、细胞周期形态的改变以及细胞运动能力的出现都标志着胚胎进入了自主调控的发育状态, 而这种状态理应是中囊胚过渡前的卵裂阶段的不同来源的诸因子相互协调作用的结果, 因此要深入研究中囊胚过渡发生的机制, 下一步的焦点应着重在卵裂阶段胚胎细胞信号途径的分析上。

## 参 考 文 献

- [1] KANE D A, KIMMEL C B. The zebrafish midblastula transition. *Development*, 1993, 119(2): 447 - 456.
- [2] 刘明瑜, 李逸平. 小鼠合子型基因激活(ZGA)的调控. *生命科学*, 1998, 10(2): 98 - 102.
- [3] ZAMIR E, KAM Z, YARDEN A. Transcription-dependent induction of G1 phase during the zebra fish midblastula transition. *Mol Cell Biol*, 1997, 17(2): 529 - 536.
- [4] BRABAZON ED, BREERT T, CARTON MW, et al. Cyclin-

- dependent kinase 8 is expressed both maternally and zygotically during zebrafish embryo development. *Biochim Biophys Acta*, 2002, **1576**(1-2): 203 – 208.
- [5] LECLERC V, RAISIN S, LEOPOLD P. Dominant-negative mutants reveal a role for the Cdk7 kinase at the mid-blastula transition in *Drosophila* embryos. *EMBO J*, 2000, **19**(7): 1567 – 1575.
- [6] IKEGAMI R, HUNTER P, YAGER T D. Developmental activation of the capability to undergo checkpoint-induced apoptosis in the early zebrafish embryo. *Dev Biol*, 1999, **209**(2): 409 – 433.
- [7] IKEGAMI R, ZHANG J, RIVERA-BENNETTS A K, *et al.* Activation of the metaphase checkpoint and an apoptosis programme in the early zebrafish embryo, by treatment with the spindle-destabilising agent nocodazole. *Zygote*, 1997, **5**(4): 329 – 350.
- [8] IKEGAMI R, RIVERA-BENNETTS A K, BROOKER D L, *et al.* Effect of inhibitors of DNA replication on early zebrafish embryos: evidence for coordinate activation of multiple intrinsic cell-cycle checkpoints at the mid-blastula transition. *Zygote*, 1997, **5**(2): 153-175.
- [9] STREHLOW D, HEINRICH G, GILBERT W. The fate of the blastomeres of the 16-cell zebrafish embryo. *Development*, 1994, **120**(7): 1791 – 1798.
- [10] Ritsuko Fujii, Susumu Yamashita, Masahiko Hibi, and Toshio Hirano. Asymmetric p38 activation in zebrafish: its possible role in symmetric and synchronous cleavage. *J Cell Biol*, 2000, **150**(6): 1335 – 1347.
- [11] 张武文, 邱佳菁, 吴芝莉, 等. p38 在小鼠着床前胚胎中的表达. *实验生物学报*, 2003, **36**: 482 – 485.
- [12] DE SOUSA P A, CAVENEY A, WESTHUSIN M E, *et al.* Temporal patterns of embryonic gene expression and their dependence on oogenetic factors. *Theriogenology*, 1998, **49**(1): 115 – 128.
- [13] ERTER C E, SOLNICA-KREZEL L, WRIGHT C V. Zebrafish nodal-related 2 encodes an early mesendodermal inducer signaling from the extraembryonic yolk syncytial layer. *Dev Biol*, 1998, **204**(2): 361 – 372.
- [14] SHINYA M, ESCHBACH C, CLARK M, LEHRACH H, *et al.* Zebrafish Dkk1, induced by the pre-MBT Wnt signaling, is secreted from the prechordal plate and patterns the anterior neural plate. *Mech Dev*, 2000, **98**(1-2): 3 – 17.
- [15] RO H, KIM K E, HUH T L, LEE S K, RHEE M. Expression pattern of Siaz gene during the zebrafish embryonic development. *Gene Expr Patterns*, 2003, **3**(4): 483 – 488.

## The Mechanism Regulating Zebrafish Midblastula Transition

ZHENG Fu Jun<sup>1</sup>, JIA Fang Jun, LI Yi Ping\*

(Institute of Biochemistry and Cell Biology, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200031, China)

**Abstract:** The zebrafish midblastula transition (MBT) begins at cycle 10, in association with cell cycle lengthening, loss of cell synchrony, zygotic genome activation of transcription and appearance of cell motility. The zebrafish MBT takes place dependently on the nucleocytoplasmic ratio of embryonic cell, whereas G<sub>1</sub> phase emerges only at the onset of ZGA. The establishment of cell cycle checkpoint may also be controlled by transcription activation, while metaphase checkpoint responds to the inhibitory elements of DNA replication in various manners at pre-MBT and post-MBT stage, even distinct to individual stages pre-MBT. The asymmetric pattern of activated P38 plays an indispensable role to maintain the synchrony of cell division at cleavage stage. Despite that the large scale of zygotic gene expression breaks out at the onset of MBT, a few of zygotic genes involving to the differentiation of germ layers are expressed pre-MBT, in addition that some genes expressed both maternally and zygotically participate in distinct signal pathways pre-MBT and post-MBT to control the development and differentiation of embryos.

**Key words:** zebrafish; midblastula transition (MBT); zygotic genome activation (ZGA); cell cycle

<sup>1</sup> Graduate student from East-China Normal University

\*Corresponding author, E-mail: oocyte@sunm.shcnc.ac.cn