

## 特约综述

## 斑马鱼中囊胚过渡与背腹轴特化的调控

胡胜男 严缘昌 李逸平\*

(中国科学院生化细胞所分子男科学与分子细胞生物学重点实验室, 上海 200031)

**摘要** 斑马鱼中囊胚过渡是由母型基因调控转向合子型基因调控的重要发育阶段,也是背腹轴特化的重要时间节点。受精卵中的母型因子决定了胚胎背腹轴区域的早期划分,并作为上游因子活化合子型背腹轴决定基因。中囊胚过渡后伴随着母型因子的降解和合子型基因的表达,参与背腹轴特化的信号分子也发生了有序更迭。此外,Wnt/ $\beta$ -catenin及Wnt/IP3-Ca<sup>2+</sup>信号通路都参与了背腹轴特化,其中Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路中的组分在中囊胚过渡前后均有存在,但在中囊胚过渡前或中囊胚过渡后将其过表达造成的背腹方化效应却绝然相反,更提升了中囊胚过渡在背腹轴特化进程中的特殊性。本文将围绕近年有关斑马鱼中囊胚过渡前后的母型及合子型调控因子、信号转导机制及生物学功能等研究进展作一综述。

**关键词** 斑马鱼;背腹轴特化;中囊胚过渡

多细胞动物个体由单一的受精卵细胞发育而来,受精后的首要发育问题就是如何打破卵细胞的对称性,建立受精卵细胞及卵裂球的前后背腹轴极性。胚胎发育早期,从果蝇到哺乳动物轴向划分的调控方式相对保守。在爪蟾卵中,精子从卵细胞动物极卵孔进入,引起皮质层相对精子进入方向扭转30°,导致与背方特化有关的母型因子在囊胚期的植物极一侧聚集即Nieuwkoop中心(Nieuwkoop center),这个信号中心将发展成背侧中胚层组织,并向上方的神经板分泌神经诱导及分区信号<sup>[1]</sup>。斑马鱼的个体发育史中,受精过程亦被认为是打破卵细胞对称性的重要信号事件。受精后,鱼卵中通过微管组织搭建起动植物极间活跃的细胞质流,将卵黄中的物质输送到将来的胚胎组织——动物极侧。此后的3小时内,动物极经历近十次左右的快速同步分裂,形成座落在卵黄上的囊胚球。此时的囊胚球的细胞数量在1 000左右,发育学上把这个时期定义为中囊胚过渡(Mid blastula transition)<sup>[2,3]</sup>。中囊胚过渡前的卵裂为满足快速增殖的需要,细胞周期中只有DNA复制期和分裂期<sup>[4]</sup>,导致细胞胞质体积缩减而核质比却显著增加,这被很多学者认为是推动合子型基因转录的重要信号<sup>[2]</sup>。中囊胚过渡后贮存在卵细胞中的mRNA逐渐降解,胚胎发育转向合子型调控。胚盘细胞开始沿卵黄表面进行外包运动,同时腹旁侧的细胞向背侧的迁移导致背侧胚盘边缘处出现一块增厚区域——胚盾组织,至受

精后6小时,胚胎前后背腹轴向的分化在形态学上已经非常明显<sup>[5]</sup>。沿植物极往动物极方向胚胎细胞依次分化为内胚层、中内胚层和外胚层,而各胚层不同的组织类型细胞也在背腹轴向上占据了各自的区域,内胚层从背侧到腹侧依次为咽、胃、肠和肝脏,中胚层依次为脊索、体节、心脏、前肾和血液,外胚层依次为神经组织和表皮组织。

各胚层不同组织的细胞在背腹轴向上的区域划分即背腹轴决定的过程。在此过程中,胚胎背方特化因子和腹方特化因子相互拮抗,建立起背腹侧决定因子的浓度梯度,并引发下游信号事件,使得空间分布差异的细胞感知位置信息,走向各自不同的分化命运。背侧基因的异位表达将抑制腹侧基因,造成背方组织区域扩张而腹侧组织区域缩减,反之亦然,我们将这两种干涉表型分别称之为胚胎的背方化和腹方化。爪蟾中母型BMP是一重要的腹侧决定分子,但斑马鱼早期胚胎中则不存在这一“默认的”由母型决定的腹方化状态,而是依赖于合子型转录的BMP,随着研究的深入,越来越多的母型及合子型调控因子的上下游关系被揭示。此外,一些参与背腹轴特化的分子在中囊胚转换前后都有表达,但可能通

国家科学技术“973”项目(No.2007CB947100)和上海中国科学院分子细胞生物学重点实验室、重点实验室基金委项(No.30623003)

\* 通讯作者。Tel:021-54921395, Fax:021-54921415, Email:yipingli@sibs.ac.cn

过不同的信号机制造成相异的背腹方化效应。本文将围绕背腹轴分化与中囊胚过渡相关的时序调控展开归纳。

## 1 背腹轴特化的母型调控

在卵子发生的过程中,大量的 mRNA 和蛋白质贮存在成熟卵细胞中。这些母型因子推动胚胎的早期发育、调控快速的同步化细胞分裂并决定细胞命运。中囊胚过渡期前后,母型因子逐步降解并被合子型自身基因组转录的产物取代,这是所有多细胞动物中普遍存在的发育事件。在斑马鱼第一次卵裂前,通过胚胎学操作去除植物极或通过秋水仙素抑制微管的组装,会导致胚胎的腹方化,但如果操作发生在第一次卵裂后,背方缺陷的个体出现的概率则显著下降,说明早期胚胎中决定背方特化的母型因子贮存在植物极中,于第一次卵裂前通过微管组织的运输定位到受精卵细胞的一侧<sup>[6]</sup>。第一次卵裂前母型决定因子在细胞质中的不均一分布打破了受精卵细胞的对称性,致使在斑马鱼胚胎发育的 2 细胞阶段,细胞命运及分化方向已有区别。

在爪蟾和斑马鱼中,β-catenin 是最为熟知的母型背方决定因子,128 细胞卵裂期开始聚集在卵裂球的背侧,是背方特化的重要分子标志<sup>[6]</sup>。β-catenin 位于经典 Wnt 信号通路中,当信号通路未被激活时,它被 APC/GSK3/Axin 复合体磷酸化并通过泛素化途径降解,在细胞内保持很低的水平;Wnt 信号与受体结合后,活化下游蛋白 Dsh,通过未知的途径阻碍了 β-catenin 的磷酸化而免被降解,β-catenin 从复合体中游离出来,入核调控下游合子型基因的表达<sup>[7]</sup>。β-catenin 的过表达会导致第二体轴的发生,这更明确了它在背方特化中的功能。

斑马鱼的 BMP2b/BMP4/BMP7 是重要腹方决定因子,位于 TGF 受体丝苏氨酸激酶信号通路中,通过受体磷酸化 Smad1/5/8 调控下游基因的表达<sup>[8]</sup>。爪蟾中腹方决定因子 BMPs 由母源基因表达,并在整个卵裂球中均一分布,所以受精卵中的腹方化状态在中囊胚过渡前就已经存在,而不需要依赖于合子型转录的腹方决定因子。斑马鱼中则不存在这种“默认”的腹方化状态,其合子型 BMP 占据了绝大多数比重<sup>[9]</sup>。目前已鉴定出若干个影响合子型 BMP 表达的上游母型因子。如: TGF 一类受体的 Alk8,其母型突变体 *lost-a-fin* 呈明显的背方化表型,过表达 DN-Alk8 导致 BMP2b 表达受抑<sup>[10]</sup>;还有 Smad5,其母型突变体中

BMP2b 及 BMP7 的表达受抑制; Radar 是另一个位于 BMP 上游的母型腹方化因子, Radar 过表达将导致较 BMPs 过表达更剧烈的腹方化效应<sup>[11]</sup>。补救实验中, Alk8 mRNA 能抑制 Radar morpholino 的背方化效应,证明 Radar 位于受体 Alk8 的上游,并与 Alk8 具有协同效应。在 Radar 的翻译抑制型 morpholino 注射个体中, BMP2b/4 的表达被抑制,但只有近半数的个体表型异常,提示可能有母型存在的 Radar 蛋白质或者其它的 BMPs 调控因子,而合子转录产物剪接抑制型的 morpholino 不能导致腹方缺陷,强化了时序调控的观点——母型而非合子型 Radar 调控了 BMPs 的表达。08 年另一重要的母型腹方决定子 Runx2b<sup>[12]</sup> 也被鉴定出来。Vent 家族成员 Vox/Vent/Ved 是除 BMP 外的另一组重要的腹方调控因子, Runx2b 能直接调控早期的 Vox/Vent/Ved 的合子型表达,鼠源的 Runx2b 能取代斑马鱼中同源蛋白的功能,证实 Runx2b 在轴向决定的功能方面具有进化保守性。随着研究的深入,母源的腹方调控机制将更加明朗。

## 2 背腹轴特化的的合子型调控

中囊胚过渡后,合子型腹方决定因子 BMPs、Vox/Vent/Ved 在囊胚中广泛表达;与此同时在胚胎的背侧,母型 β-catenin 激活背方调控基因 *dharma/boz*,并在卵黄合胞层的细胞核中聚集<sup>[13]</sup>,母型背腹方调控因子逐渐被下游的合子型调控因子取代。经过短暂的积累期, *dharma/boz* 在背侧区域行使转录抑制子的功能,通过抑制腹方基因 BMPs、Vox/Vent/Ved,以解除它们对背方基因的抑制<sup>[14]</sup>, *Chordin/gsc/dkk/flh* 开始表达在胚胎的背侧区域<sup>[15]</sup>, *Boz* 通过这种双抑制的调控方式促进背侧基因的表达。此外背方因子 *Ogon/Sizzled(SFRP)* 协助 *Chordin* 抑制 BMP 效应<sup>[16]</sup>,而 BMP 信号通路中的成员 *Tolloid* 可以剪切 *Chordin*<sup>[17]</sup>。背腹侧基因之间的关系就象是两方博弈,背腹侧有序的身体模式的形成及区域划分取决于两方基因在相互作用过程中取得的平衡。过表达背侧基因诱导出第二体轴,背方脊索、体节、神经板等组织向腹侧扩张,而腹侧前肾、表皮等结构被背方组织取代,相对区域缩减或消失。BMP/*Chordin* 双突变个体表现出背方化特性,有学者提出背侧命运“自发发生模型”,背侧基因的功能更多地体现在对腹侧基因的抑制,而并非激活特定的信号通路以特化背侧命运。

背腹基因的相互作用具有时序调控特性。合子型 BMPs 及 Vox/Vent/Ved 在中囊胚过渡后的胚胎中

广泛分布,在原肠运动开始前,背侧的BMP被清除,并局限表达在胚胎的腹旁侧区域。Chordin等结合BMPs配体,破坏了BMPs的自身正反馈环路,建立起BMPs沿背腹轴向的浓度梯度分布<sup>[18]</sup>。但最新的研究表明,Chordin对BMP的调控仅发生于原肠期,Chordin的过表达或功能缺失对囊胚期的BMP表达区域向腹侧的迁移并无影响。从中囊胚过渡到原肠期起始的时段内,FGF的表达区域从背侧逐渐向腹侧延伸,这与BMP的表达区域逐渐向腹方缩减的现象在时间上是一致的,Furthauer等最终证明FGF能在囊胚期抑制BMP的表达,建立起最初的BMP浓度梯度<sup>[19]</sup>。BMPs及Vox/Vent/Ved在合子型激活的初期受各自上游母型因子的调控,彼此间并无相互作用。从原肠中期开始,BMP正调控Vox/Vent/Ved,Vox/Vent/Ved也通过对背侧基因的转录抑制间接增加游离的BMP量,参与到BMP的自身正反馈环路中<sup>[20]</sup>,此外Wnt8也能正调控Vox/Vent/Ved<sup>[21]</sup>。中囊胚过渡后胚层划分仅是简单初步的,通过信号通路间精准有序的相互作用,原肠运动初期,胚胎各区域细胞命运的决定更为明确。

### 3 中囊胚过渡前后经典Wnt信号通路作用效应的讨论

如前所述,第一次卵裂前通过皮质层扭转或微管运输的方式,爪蟾和斑马鱼中的母型背方决定因子定位到胚胎一侧,致使胚胎的2细胞阶段背腹侧命运已有初步分化。这些背方决定因子可能是经典Wnt信号通路中的组分,活化Wnt信号通路,导致 $\beta$ -catenin在背侧囊胚球中聚集,并在细胞核中与Tcf/Lef结合形成转录复合体,调控下游基因的表达。爪蟾中, $\beta$ -catenin的过表达会导致异位体轴的出现,而 $\beta$ -catenin的功能缺失则导致背方结构的缩减,明确了早期Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路的激活对背方组织命运分化的决定性功能<sup>[22]</sup>。但是这条信号通路对背腹轴分化的指导效应不能一概而论,而是在不同的发育时相中有所差异。Tcf3是Wnt/ $\beta$ -catenin通路中的重要组分,其突变体的过表达导致囊胚期斑马鱼背侧基因gsc/chordin表达缩减,但在原肠期同样的Tcf3突变体导致胚胎腹旁侧背方基因的异位表达和第二体轴的出现,表明Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路的活化如发生在中囊胚过渡前,表现为促进背侧组织分化的效应;但其活化如发生在中囊胚过渡后,则表现促进腹侧组织分化的效应<sup>[23]</sup>,这与Christian和Moon等提出的观点是一

致的<sup>[24]</sup>。原肠运动期间,Wnt8/Wnt3分布在胚胎的腹侧,发挥腹侧促进和背侧抑制的功能, $\beta$ -catenin/Tcf/Lef可能在中囊胚过渡后介导了Wnt8/Wnt3的下游信号。

启动子分析表明,斑马鱼boz/dharma是 $\beta$ -catenin/Tcf/Lef的下游靶基因,受到 $\beta$ -catenin/Tcf/Lef的激活调控表达在背侧卵裂球和卵黄合胞层中,并通过抑制腹侧基因的表达从而间接促进了背侧基因的表达。Leung等<sup>[25]</sup>提出boz/dharma是合子型基因,虽然大规模的转录活动发生在中囊胚过渡后,但在中囊胚过渡前的512细胞时期已有少量的boz转录本存在。Boz突变体中,boz表达消减十分迅速,除无义mRNA降解的因素外,早期存在的boz还可能对其自身在中囊胚过渡后的大量表达具有重要意义。因为腹方因子在中囊胚转换后表达在整个囊胚球中,它和背方因子产生拮抗性作用,造成背方因子的起始表达存在一定的困难。boz作为重要的合子型背方因子提前表达在背侧区域,可能更有利于自身和其它下游背方因子的表达。爪蟾中囊胚过渡前, $\beta$ -catenin/Tcf/Lef介导的转录能部分恢复腹方化胚胎中的背方组织,中囊胚过渡后则是无效的;依赖 $\beta$ -catenin/Tcf/Lef背方基因Xnr5/6的转录亦发生在中囊胚过渡前。以中囊胚过渡为时间节点, $\beta$ -catenin/Tcf/Lef对背侧基因的提前活化,并拮抗合子型激活后普遍存在的腹方化因子,可能是脊椎动物起始背腹分化调控的共有模式。

### 4 钙离子相关的背腹分化调控

细胞通过对钙离子释放和回收的精准调控,使得细胞质中的钙离子浓度始终有序的动态平衡中,钙离子参与的信号通路也涉及到发育过程中细胞特化和形态建成的各方面。其中Wnt/ $IP_3$ - $Ca^{2+}$ 信号通路通过与Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路产生对抗性作用,影响背方组织中心的形成并参与胚胎背腹特化的过程。斑马鱼胚胎发育32细胞至中囊胚过渡1000细胞时期, $Ca^{2+}$ 在卵黄合胞层和卵裂球表面的外包层中均有活跃的释放<sup>[26]</sup>,药物功能抑制实验证明这一时期的 $Ca^{2+}$ 释放是由PLC/ $IP_3$ 介导的Wnt5a信号开启内质网上的钙离子通道引发的,小G蛋白也参与了信号传递过程<sup>[27]</sup>。CaMKII/NFAT是 $Ca^{2+}$ 信号通路的下游靶基因,爪蟾中NFAT正调控GSK3依赖性的 $\beta$ -catenin的降解。如抑制 $Ca^{2+}$ 的释放将导致 $\beta$ -catenin的异位表达和过量的背方组织生成,表明Wnt/ $IP_3$ - $Ca^{2+}$ 信号通路通过拮抗Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路,参与腹方组织的

特化<sup>[28]</sup>。氯化锂处理的胚胎表现出较强的背方化特征,其作用机制可能包括两个方面:其一通过抑制GSK3的功能从而导致了 $\beta$ -catenin的稳定和积累;另一方面通过抑制肌醇循环并阻断 $\text{Ca}^{2+}$ 的释放,影响了Wnt/ $\text{IP}_3$ - $\text{Ca}^{2+}$ 信号通路促进腹方组织分化的功能<sup>[29]</sup>。

Leung Hang Ma等<sup>[30]</sup>突破技术手段和处理方法的局限性,首次在斑马鱼中囊胚过渡后检测到 $\text{Ca}^{2+}$ 的活跃释放现象,并指出在中囊胚过渡后, $\text{Ca}^{2+}$ 释放活跃的部位由之前的在整个囊胚球中均一分布,逐渐转移到胚胎的背侧区域,并持续60分钟左右,研究者将其命名为背侧钙离子信号窗口期(DCW, dorsal-biased  $\text{Ca}^{2+}$  signaling window)。以往的研究认为, $\text{Ca}^{2+}$ 抑制背方组织特化的效应敏感期仅处于0~1.5小时的胚胎早期,DCW期间通过 $\text{IP}_3$ 受体抑制剂阻断钙离子的释放,同样导致背侧基因表达扩张,证明 $\text{Ca}^{2+}$ 敏感期一直持续到中囊胚过渡后的1小时内,并且DCW期间的 $\text{Ca}^{2+}$ 释放可能对中囊胚过渡前Wnt/ $\text{IP}_3$ - $\text{Ca}^{2+}$ 信号效应的维持和强化至关重要。

## 5 小结与展望

综上所述,脊椎动物的背腹轴特化是由母型因子和合子型基因协同调控的循序渐进的发育过程。斑马鱼中,贮存在卵细胞植物极的母型因子运输至胚胎背方,从而打破了受精卵细胞中无极性的对称状态,起始背腹分化的过程,但关于这些母型背方决定因子的鉴定一直没有定论。爪蟾中,Wnt11引发了 $\beta$ -catenin在早期胚胎的背侧聚集<sup>[31]</sup>,但在斑马鱼中,无论母型或合子型Wnt11的功能缺失对背腹轴分化都无影响,可能有其它基因取代了Wnt11功能,还有可能是Wnt信号通路的下游组分,而不是Wnt信号的某一配体活化了斑马鱼早期Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路。目前关于上游基因的鉴定方法主要有两种:一是通过母型突变体的筛查,研究一个或若干个相关的母型基因功能缺失对胚胎发育的影响;二是通过差别Morpholino干扰的方法,分别将干扰合子型转录本拼接的Morpholino和干扰翻译的Morpholino注射到鱼卵中,进行表型比较,对于母型和合子型均有表达的因子可以排除合子转录本的效应。在今后的研究中,伴随着技术手段的发展,将会有更多的母型及合子型背腹决定因子的上下游关系被揭示。

其次,关于Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路中在囊胚过渡前促进背方分化,而在中囊胚过渡后促进腹方分化的效应差异,则可能源于 $\beta$ -catenin/TCF激活了不同的

靶基因。转录过程除主要的转录复合体外,还需要其它辅助因子的参与,来决定不同时期基因的选择性表达。随着中囊胚过渡后合子型基因的开启,母型控制体系逐渐被合子型取代,此时细胞内的环境发生了较大的改变,包括这些辅助因子的消长。此外,中囊胚过渡前 $\beta$ -catenin/TCF对boz的转录活化也被检测到,推测此时少量转录的boz可能参与特化背侧区域,对抗中囊胚过渡后在胚胎的各区域都普遍存在的腹方基因**bmpr/voxl**,但这仅是推测,关于中囊胚前转录的boz功能的直接证据尚无,主要是由于具有时序特异性的功能缺失技术的限制,这一方面还有待完善。

## 参考文献(References)

- 1 Sive HL. The Frog Prince-Ss - a Molecular Formula for Dors-ventral Patterning in Xenopus. *Genes Dev* 1993; 7 (1): 1-12.
- 2 Tadros W, Lipshitz HD. The maternal-to-zygotic transition: a play in two acts. *Development* 2009; 136 (18): 3033-42.
- 3 李逸平 郑贾. 斑马鱼中囊胚过渡调控机制. *细胞生物学杂志* 2004; 26: 266-70.
- 4 Liu QY, Wu ZL, Lv WJ, Yan YC, Li YP. Developmental expression of Cyclin H and Cdk7 in zebrafish: the essential role of Cyclin H during early embryo development. *Cell Res* 2007; 17 (2): 163-73.
- 5 Kimmel CB, Ballard WW, Kimmel SR, Ullmann B, Schilling TF. Stages of embryonic-development of the Zebrafish. *Dev Dyn* 1995; 203 (3): 253-310.
- 6 Jesuthasan S, Strahle U. Dynamic microtubules and specification of the zebrafish embryonic axis. *Curr Biol* 1997; 7 (1): 31-42.
- 7 Seidensticker MJ, Behrens J. Biochemical interactions in the wnt pathway. *Biochim Biophys Acta* 2000; 1495 (2): 168-82.
- 8 Massague J, Chen YG. Controlling TGF-beta signaling. *Genes Dev* 2000; 14 (6): 627-44.
- 9 Sidi S, Goutel C, Peyrieras N, Rosa FM. Maternal induction of ventral fate by zebrafish radar. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; 100 (6): 3315-20.
- 10 Mintzer KA, Lee MA, Runke G, Trout J, Whitman M, Mullins MC. Lost-a-fin encodes a type IBMP receptor, Alk8, acting maternally and zygotically in dorsoventral pattern formation. *Development* 2001; 128 (6): 859-69.
- 11 Wilm TP, Solnica-Krezel L. Radar breaks the fog: Insights into dorsoventral patterning in zebrafish. *Proc Nat Acad Sci USA* 2003; 100 (8): 4363-65.
- 12 Flores MVC, Lam EYN, Crosier KE, Crosier PS. Osteogenic transcription factor Runx2 is a maternal determinant of dorso-ventral patterning in zebrafish. *Nat Cell Biol* 2008; 10 (3): 346-U80.
- 13 Yamanaka Y, Mizuno T, Sasai Y, Kishi M, Takeda H, Kim CH, et al. A novel homeobox gene, dharma, can induce the organizer in a non-cell-autonomous manner. *Genes Dev* 1998; 12 (15): 2345-53.

- 14 Kawahara A, Wilm T, Solnica-Krezel L, Dawid IB. Antagonistic role of *vegal* and *bozorok/dharma* homeobox genes in organizer formation. *Proc Nat Acad Sci USA* 2000; 97 (22): 12121-26.
- 15 Imai Y, Gates MA, Melby AE, Kimelman D, Schier AF, Talbot WS. The homeobox genes *vox* and *vent* are redundant repressors of dorsal fates in zebrafish. *Development* 2001; 128 (12): 2407-20.
- 16 Yabe T, Shimizu T, Muraoka O, Bae YK, Hirata T, Nojima H, *et al.* *Ogon/Secreted Frizzled* functions as a negative feedback regulator of *Bmp* signaling. *Development* 2003; 130 (12): 2705-16.
- 17 Piccolo S, Agius E, Lu B, Goodman S, Dale L, DeRobertis EM. Cleavage of *chordin* by Xolloid metalloprotease suggests a role for proteolytic processing in the regulation of Spemann organizer activity. *Cell* 1997; 91 (3): 407-16.
- 18 Zimmerman LB, DeJesusEscobar JM, Harland RM. The Spemann organizer signal *noggin* binds and inactivates bone morphogenetic protein 4. *Cell* 1996; 86 (4): 599-606.
- 19 Furthauer M, Van Celst J, Thisse C, Thisse B. *Fgf* signalling controls the dorsoventral patterning of the zebrafish embryo. *Development* 2004; 131 (12): 2853-64.
- 20 Hammerschmidt M, Serbedzija GN, McMahon AP. Genetic analysis of dorsoventral pattern formation in the zebrafish: Requirement of a BMP-like ventralizing activity and its dorsal repressor. *Genes Dev* 1996; 10 (19): 2452-61.
- 21 Ramel MC, Lekven AC. Repression of the vertebrate organizer by *Wnt8* is mediated by *Vent* and *Vox*. *Development* 2004; 131 (16): 3991-4000.
- 22 Kelly GM, Erezylmaz DF, Moon RT. Induction of a secondary embryonic axis in zebrafish occurs following the overexpression of *beta-Catenin*. *Mech Dev* 1995; 53 (2): 261-73.
- 23 Pelegri F, Maischein HM. Function of zebrafish *beta-catenin* and *TCF-3* in dorsoventral patterning. *Mech Dev* 1998; 77 (1): 63-74.
- 24 Christian JL, Moon RT. Interactions between *Xwnt-8* and spemann organizer signaling pathways generate dorsoventral pattern in the embryonic mesoderm of *Xenopus*. *Genes Dev* 1993; 7 (1): 13-28.
- 25 Leung TC, Soll I, Arnold SJ, Kemler R, Driever W. Direct binding of *Lef1* to sites in the *boz* promoter may mediate pre-midblastula-transition activation of *boz* expression. *Dev Dyn* 2003; 228 (3): 424-32.
- 26 Reinhard E, Yokoe H, Niebling KR, Allbritton NL, Kuhn MA, Meyer T. Localized calcium signals in early Zebrafish development. *Dev Biol* 1995; 170 (1): 50-61.
- 27 Slusarski DC, YangSnyder J, Busa WB, Moon RT. Modulation of embryonic intracellular  $Ca^{2+}$  signaling by *Wnt-5A*. *Dev Biol* 1997; 182 (1): 114-20.
- 28 Westfall TA, Hjertos B, Slusarski DC. Requirement for intracellular calcium modulation in zebrafish dorsal-ventral patterning. *Dev Biol* 2003; 259 (2): 380-91.
- 29 Berridge MJ, Downes CP, Hanley MR. Neural and developmental actions of lithium - a unifying hypothesis. *Cell* 1989; 59 (3): 411-19.
- 30 Ma LH, Webb SE, Chan CM, Zhang J, Miller AL. Establishment of a transitory dorsal-biased window of localized  $Ca^{2+}$  signaling in the superficial epithelium following the mid-blastula transition in zebrafish embryos. *Dev Biol* 2009; 327 (1): 143-57.
- 31 Tao QH, Yokota C, Puck H, Kofron M, Birsoy B, Yan D, *et al.* Maternal *Wnt11* activates the canonical *wnt* signaling pathway required for axis formation in *Xenopus* embryos. *Cell* 2005; 120 (6): 857-71.

## Relevance Study Between Zebrafish Mid-blastula Transition and Dorsal-ventral Axis Specification

Sheng-Nan Hu, Yuan-Chang Yan, Yi-Ping Li\*

*(Shanghai Key Laboratory for Molecular Andrology and Laboratory of Molecular Cell Biology, Insitution of biochemistry and cell biology, Shanghai institutuion for biology science, Shanghai 200031, China)*

**Abstract** Zebrafish mid-blastula transition(MBT) is an important development stage during which the embryo proceeds from the maternal transcripts control to zygotic's, either a significant time point for dorsal-ventral axis specification. The DV region of embryo has been determined by maternal factors deposited in oocyte immediately after fertilization, sequentially these maternal factors activate downstream zygotic DV genes. Factors involved in DV specification take turns together with maternal degradation and zygotic activation. Additionally, Wnt/ $\beta$ -catenin and Wnt/ $IP_3$ - $Ca^{2+}$  signal pathway both take part in the DV specification process. Wnt/ $\beta$ -catenin pathway exists pre- and post- MBT, but its effects to DV specification differ dependent of the stage when it's overexpressed, Which rasies the particular role of MBT in DV specification. We reviewed recent year study about the maternal and zygotic factors involved in zebrafish DV specification, and give an outline of the pre-MBT/post-MBT signaling pathway mechanism and function of them.

**Key words** Zebrafish; Dorsal-Ventral specification; Mid-blastula transition

---

"973" program supported by the Ministry of National Science and Technology (No.2007CB947100) and Funding from Shanhai Municipal Commission for Science and Technology (No.30623003)

\*Corresponding author. Tel: 86-21-54921395, Fax:86-21-54921415, Email:yipingli@sibs.ac.cn