

- Biochem.*, 55: 631-661.
- [127] De Roberts, E. M. et al., 1989, *Cell*, 57: 189-191.
- [128] Mohun, T. J. et al., 1989, *Development*, 107: 835-846.
- [129] McMahon, A. P. and R. T. Moon., 1989, *Cell*, 58: 1075-1084.
- [130] Berleth, T. et al., 1988, *EMBO J.*, 7: 1749-1756.
- [131] Manseau, L. J. and T. Schupbach. 1989, *Trends in Genetics*, 5: 400-405.

哺乳动物早期胚胎细胞的极性与分化

韩贻仁

(山东大学生物系)

极性是动物细胞较普遍存在的属性。哺乳动物早期胚胎在发育过程中,细胞亦发生明显的极性变化,这种变化称为极化(polarization)。分裂球极化一词最早是在1977年由Ducibella^[1]提出来的,系指细胞在原位产生极性。后来逐渐演变成指细胞持续接触出现的变化,分散成单个细胞后仍保持着的极性。哺乳动物早期胚胎细胞的极性主要表现为细胞表面不同部位的形态和成分的差异,细胞器和细胞质物质的定向不均匀分布,以及代谢强度的轴性差异等^[2]。本文拟就高等哺乳动物特别是小鼠的早期胚胎细胞的极性变化与分化的研究进展做初步讨论。

一、8-细胞阶段以前细胞出现不稳定的极性

实验证明,许多种动物的受精卵通过有丝分裂产生的细胞后代,由于彼此继承了不同性质的细胞质而向着不同方向分化,表现出了细胞质对细胞分化的决定作用和对分化程序的调节作用。哺乳动物胚胎细胞的分化是否亦如此?近十几年来发育生物学家做了大量研究。

哺乳动物的卵子为均黄卵,物质分布比较均匀,在猪卵中虽有差异,也只是显示出少量滋养物(deutoplasm)分散在细胞质外质中,故哺乳动物卵内的物质在形态上未表现出轴性分

布,卵无明显的极性。然而,通常大家把产生极体的部位定为动物极,对面定为植物极。二者之间构成了假想的动植物极卵轴^[3]。尽管如此,根据对一些指标的测定表明,卵子质膜和细胞质成分还是存在着一定的区域差异。

迄今被作为早期胚胎细胞极化的主要指标有细胞表面微绒毛、Con A 结合部位、溶酶体、笼形蛋白(clathrin)和细胞骨架分布,以及用活体染色显示出的线粒体动态定位^[4]。在电镜下可以看出,刚排出的卵母细胞,在减数分裂纺锤体邻近的质膜上有一无 Con A 结合部位区,此区无微绒毛,质膜下方无皮质颗粒^[5],其面积约占细胞表面的20%,精子不在此区内入卵。受精时在受精锥处形成了第二个无 Con A 结合部位区。在无 Con A 结合部位区的质膜下方集中有丰富的肌动蛋白^[6]。随着雌、雄原核向卵中央汇合,肌动蛋白丝的分布逐渐均匀,无 Con A 结合部位区也逐渐消失。

第一次卵裂时装配成的纺锤体与“假想的”动植物极卵轴垂直,故第一次卵裂面与卵轴方向一致。根据许多学者和我们的观察,小鼠受精卵的第一次卵裂面总是发生在邻近极体排出的部位^[7](图1)。由此可见,第一次卵裂面的方

文中示意图系由朱和平同志协助绘制,特致衷心谢意。



图 1 正在进行第一次卵裂时的小鼠受精卵，在极体部位质膜凹陷，形成分裂沟。箭头所指为极体。

向可能与“假想的”动植物极卵轴有关。

胚胎进入 2-细胞阶段，细胞发生了极化变化，两个分裂球的相向面与外向面的膜分子成分有差异，初次表现出辐射极性现象^[8]。至 4-细胞阶段，膜上不同部位的碱性磷酸酶活性亦有所不同，向着胚胎中央的部分高于外周部分^[9]。

在 4-细胞阶段以前，由细胞成分的极性分布所形成的辐射轴尚不稳定。如果把这些阶段的胚胎分裂球分散开，然后再重新聚集成胚胎，那么分裂球的辐射轴会重新定向^[10]。甚至在 8-细胞阶段早期分散开的 1/8 细胞(8-细胞阶段的单个分裂球)并不独立发生极化^[11]。这说明分裂球极性的确立与细胞间的相互接触作用有关。一个胚胎细胞的膜性质具有诱导另一个相接触细胞发生极化的能力。这种能力是逐渐产生的，未受精的和受精的 1-细胞卵粘附到 1/8 细胞上，并不能诱发后者产生极性。到 2-细胞阶段，在细胞膜中初次出现了诱导极性的能力，到 4-细胞阶段这种能力发育充分。因此，从 2-细胞阶段到 8-细胞阶段是细胞膜性质的发育变化时期，逐渐产生了专一的诱导能力。在 2-、4-和 8-细胞阶段早期的胚胎，分裂球间尚未建立间隙连接(gap junction)，其诱导能力的形成是来自细胞自身的变化，与细胞间接触和间隙连接无关^[11]。可是由 2-细

胞至 8-细胞阶段，极化的产生和细胞质成分分布变化却与细胞的接触有关，在此期间信息交流的机制尚不清楚。在 2-细胞人胚中发现，细胞接触面出现了质膜区域化的超微变化，产生了连接型(junction type)结构。在此部位微绒毛和内吞活动消失^[12]。因此，自 2-细胞阶段开始，分裂球间不是简单的并列接触，而是产生了相互作用关系。

二、8-细胞阶段的细胞逐步形成了稳定的极性

小鼠受精卵通过 3 次卵裂进入了 8-细胞阶段。在此阶段中胚胎发生了一种重要变化，即挤紧作用(compaction)^[13]，细胞由圆变扁，细胞间由点状接触变为紧密相嵌；扩大了接触面^[14]。大鼠和家兔在 8-细胞阶段亦发生挤紧作用，而猴、狒狒和人则发生在 16-细胞阶段。挤紧作用使分裂球间的相互关系变得紧密，产生了紧密连接和间隙连接。紧密连接的形成封闭了胚胎内部与外环境间的直接通路，为后来囊胚腔的产生创造了结构条件。

进入 8-细胞阶段不久，分裂球表面的

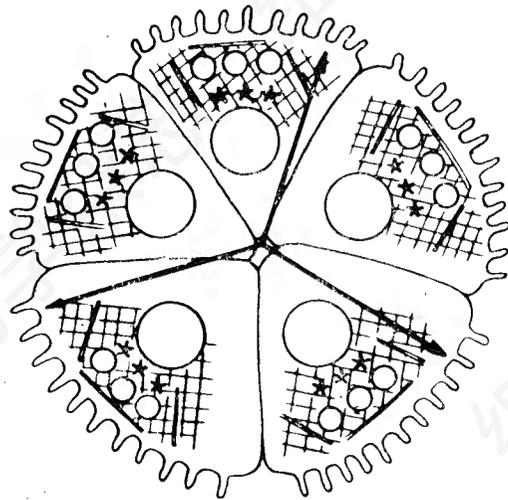


图 2 8-细胞阶段挤紧作用之后，分裂球极化，形成了胚胎辐射轴。

表面突起示微绒毛；细管和斜线示细胞骨架；小圆圈示内吞体；星示微管组织中心；大圈示核。

Con A 受体分布出现极化现象, 随后逐渐发展。至发生挤紧作用, 细胞极化现象便稳定下来, 并一直维持下去。在发生挤紧作用的 8-细胞阶段胚胎中, 沿由胚胎中央至四周的方向各分裂球中的细胞器和细胞骨架均呈秩序层次分布, 从而构成了胚胎的辐射轴(图 2)。如果把发生极化的 8-细胞阶段分裂球分散开, 再重聚成胚胎, 结果分裂球在原胚胎中所形成的辐射轴极性方向不再发生改变^[11]。挤紧作用与细胞的极化彼此无因果关系。在正常发育中细胞极化在前, 细胞挤紧变扁变化在后, 如果抑制细胞变扁, 并不损伤极性的发育。

细胞的极化现象表现在许多方面, 如表面形态、细胞质结构、细胞器分布、核的位置、分子成分的分布变化和生理活动等。胚胎细胞发生最早的分化即与这些变化有关。

1. 细胞表面的极化现象

8-细胞阶段的极化在表面形态上表现为微绒毛分布的变化。此阶段初期, 微绒毛在细胞表面上分布均匀。进入此阶段后 9 小时, 胚胎发生挤紧作用, 同时微绒毛分布发生极化, 向着顶部集中, 形成了顶极(apical pole)。

表面配体结合部位在 8-细胞阶段亦逐渐发生极化变化, 向着顶极集中^[8]。Ziomek 和 Johnson 用 FITC-ConA 研究了小鼠早期胚胎细胞的表面极性变化, 把培养不同时间的 8-细胞阶段的单个分裂球和 1/4 细胞分裂成的子细胞(相当于 8-细胞阶段的分裂球)分别同 8-细胞阶段分散的单个分裂球重聚成细胞对, 结果发现表面极性的发育高度依赖于细胞间的接触, 而与前一次的分裂面无关^[15]。

2. 细胞质成分的极性分布

小鼠 8-细胞阶段分裂球经过 8—10 小时的重组织, 转变成了高度极化的细胞^[15]。在此过程中细胞质成分逐渐表现出了极性分布。Maro 等(1985)曾利用免疫细胞化学法对一些膜性细胞器在细胞质中的位置变化进行了研究, 如内质网、溶酶体、高尔基器和衣被小泡(coated vesicle)等。他们发现, 与衣被小泡形成有关的

笼形蛋白在 8-细胞阶段中期集中到顶区, 随后此区的表面膜极化, 形成微绒毛极(表 1)。从表 1 中可以看出, 笼形蛋白分布的极化早于表面极化。肌动蛋白、内吞体和笼形蛋白的重新分布发生在 8-细胞阶段早期, 而表面极性则出现在中期以后^[16]。

表 1 8-细胞阶段的 2/8 细胞对中笼形蛋白的分布与表面极性的关系
(自 Maro 等, 1985)

时间* (小时)	细胞数	细胞出现 表面极(%)	顶区细胞质中 形成笼形蛋白(%)
0—1	12	0	0
2—3	40	0	35
3—4	56	9	75
5—6	36	36	66
7—8	58	48	80
9—10	41	51	75
11—12	24	75	79

*8-细胞阶段开始时计时

线粒体和酸性细胞器在未挤紧的 8-细胞阶段的分裂球中是随机分布, 挤紧作用之后形成了顶-基轴(apical-basal axis), 细胞大体上可分为顶半球和基半球。在发生挤紧作用过程中, 细胞器重新排列, 沿顶-基轴分层分布。脂滴、线粒体和次级溶酶体主要分布于基半球, 而细胞核和内吞体(endosome)则位于顶半球。

3. 细胞骨架在形成细胞极性中的作用

在 8-细胞阶段发生的挤紧作用对 16-细胞阶段细胞分化为滋养层和内细胞团的过程起着重要作用。细胞骨架成分和挤紧作用变化相关, 微丝在细胞中的分布发生变动, 积极参与了细胞变扁过程^[17]。Johnson 和 Maro 曾对细胞骨架成分在细胞极性的发生和稳定中的作用进行过研究^[16]。细胞的极性可分为表面极性和细胞质极性。他们发现, 无论是细胞松弛素 D, 还是 nocodazole(微管抑制剂), 单独使用时都不能抑制表面极性的产生和稳定, 只有在二者并用时才影响表面极性的发生。细胞质极性则不同, 无论是微管抑制剂还是微丝抑制剂都能抑制其发生。肌动蛋白、笼形蛋白和溶酶体等

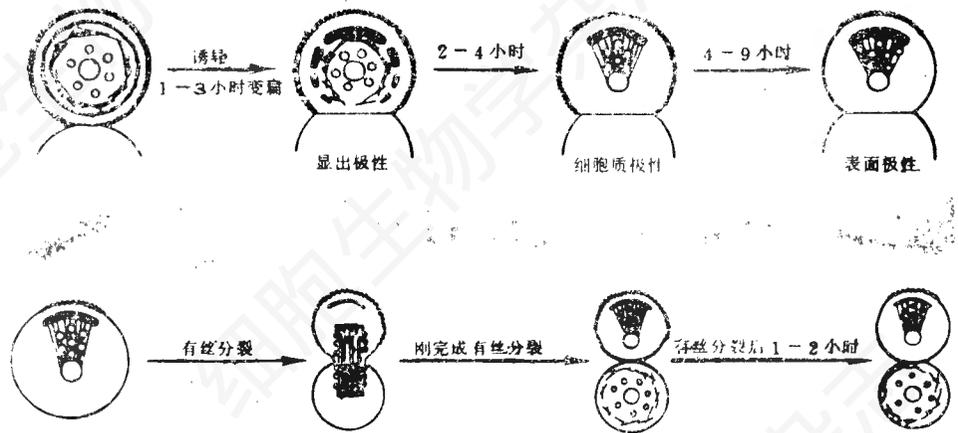


图3 推想的8-细胞阶段极化变化顺序和在向16-细胞分裂时的变化

在8-细胞阶段,新形成的细胞中表面微绒毛(锯齿表面所示)、微管(细线)、笼形蛋白(小圆圈)和假定细胞外质组织者都均匀分布。由于细胞接触,假定外质组织者向细胞顶区集中,产生了潜在极性。引起重新分布的信号可能来自细胞接触面的细胞质中。潜在组织中心一旦建立,即可成为8-细胞和16-细胞阶段的细胞质和细胞表面的重新组织中心。(自 Johnson & Maro, 1985)

的分布表现了细胞质极性。笼形蛋白向极区集中有赖于细胞骨架的作用。在8-细胞阶段,细胞质极性比表面极性早几小时发生。分裂球由1/8向2/16分裂的过程中,继续保持着表面极性,而细胞质极性丧失。分裂完成之后,只在极子细胞中的笼形蛋白恢复了细胞质极性,笼形蛋白以表面极为中心,在表面极的下方逐渐集中成群。非极子细胞中没有这些变化。据此,Johnson和Maro^[18]提出一假说,认为在细胞质出现可检测出的极性之前,细胞顶部外质中即发生了潜在变化。在8-细胞阶段晚期,分裂球内一旦建立了极性,其顶部外质中即形成了极性“记忆”中心。此中心对极轴具有记忆能力,而且起着表面极性和细胞质极性组织中心(organizing focus)的作用(图3)。这一主张可称为外质组织中心假说,其合理性尚有待分析。

4. 质膜在形成细胞极性中的作用

外质组织中心假说主张,在8-细胞阶段极化分裂球的细胞外质(cytcortex)中形成了极性记忆部位,组织表面和细胞质极性。但是,表面极性与细胞质极性之间究竟是什么关系?从一些实验结果来看,分裂球质膜极性的建立是形成细胞质极性的起因。Wiley和Obasajin^[19]

在这方面做过研究,他们采用了细胞融合法,把8-细胞阶段和16-细胞阶段的极分裂球和非极分裂球作为受试分裂球(test blastomere),与4-细胞阶段的“载体”分裂球(carrier blastomere)融合,形成载体-受试分裂球对。极受试分裂球的顶面用Con A-荧光素做了标记。细胞融合后经4小时培养,然后观察了脂滴和核距受试分裂球质膜顶区的距离。8-细胞阶段和16-细胞阶段的受试分裂球分别有51%和61%形成了极异核体。在所有极异核体中,两个核都靠近具有荧光标记的极质膜顶区,而大多数脂滴则位于与荧光标记相对的半球中。然而在非极异核细胞中,两个核均位于细胞中央,脂滴则随机分布。这说明,细胞质的极性是由极分裂球的质膜引起的。在极分裂球中,顶区质膜上具有特定的离子通道,对极化分裂球极性的产生和稳定起着关键的作用。Nucitelli和Wiley提出了“离子流极化”假说(“ion current polarization” hypothesis)来解释穿胞离子流(transcellular ion current)在8-、16-细胞阶段和桑椹胚外层细胞发生极化中的作用^[20]。他们发现,这些阶段的细胞存在阳离子流,由分裂球顶端进入胞内,再由基端穿出胞外,从而形成

穿胞离子流。顶-基离子流是由 Na^+ 离子携入, 但与 Na^+ , K^+ -ATP 酶无关, 而且这种离子通道的分布与质膜表面的 ConA 受体分布无关。也有学者发现, 在极化分裂球中, 顶-基轴极性是由于 Na^+ 和其他离子在顶区的运输活动造成的^[21]。顶区的运输性质决定了小鼠极分裂球产生了顶-基细胞质极性^[20]。

三、极性与滋养层细胞分化

哺乳动物早期胚胎最早的细胞分化是产生了滋养外胚层和内细胞团两个细胞系。学者们比较一致地用内外学说(inside-outside concept)来解释这两种细胞系的分化机制, 它主张包在桑椹胚外表的外周细胞分化为滋养外胚层, 处于胚胎内部的细胞成为内细胞团^[22]。因此, 这两种细胞系的分化是由于分裂球在胚胎中所处的部位不同产生的。关于细胞因位置不同而引起分化命运不同的原因问题存在着两种不同的观点。一种是微环境观点^[23], 主张胚胎外表细胞与内部细胞因所处环境不同而分化成了不同的细胞系。另一种是极化观点, 主张在16-细胞桑椹胚中, 外表的大的极性细胞产生滋养外胚层, 内部小的非极性细胞产生内细胞团^[24]。一些实验结果支持了后一种观点。在8-细胞阶段分裂球发生挤紧作用之后, 经过3—6小时, 细胞的极性在形态和机能上逐渐稳定下来, 分裂球以顶-基方向形成了顶-基轴(apical-basal axis)。此时, 甚至把分裂球分散培养, 其极性亦保持不变。在8-细胞阶段, 细胞分裂时以垂直于顶-基轴横裂为两个子细胞。顶半球形成了16-细胞阶段的外分裂球, 发育为滋养层细胞。基半球形成的子细胞则发育为内细胞团^[25]。在16-细胞阶段, 外分裂球获得了顶-基轴极性, 细胞器沿顶-基轴分层分布, 脂滴、线粒体和初级溶酶体主要分布于基半球, 而细胞核和次级溶酶体则主要位于顶半球^[26]。在8-和16-细胞阶段, 分裂球的极性还表现在顶端表面微绒毛的集中和细胞质内吞体的集聚。表面极性的产生与细胞骨架无关, 而内吞体的分布则依

赖于微管和微丝^[27]。

啮齿类在8-细胞阶段结束时, 1/8细胞分裂成了2/16细胞对, 其中一个子细胞是大的极分裂球, 另一个是小的非极分裂球, 二者组成了极-非极细胞对。但也有的2/16细胞对是极-极细胞对, 都处于胚胎的外周。因此, 处于16-细胞阶段的桑椹胚中有9个细胞位于外周, 而只有7个细胞被包在胚胎内部^[10]。被包在内部的细胞无极性, 细胞器没有不对称的分布现象。极性外分裂球中细胞器沿顶-基轴分层分布, 这种极性分布与质膜的性质有关, 如果用乌本苷处理分裂球, 改变质膜的机能, 特别是干扰了 Na/K -ATP酶的活性和膜电位, 结果细胞器的极性分布即被打乱, 同时影响了囊胚腔的形成^[27]。

在8-细胞阶段挤紧过程中, 某些细胞器的极性分布是暂时性的, 不是滋养层细胞产生顶-基轴的可靠指标, 而紧密连接和微绒毛的分布是稳定的, 为滋养层发育的稳定指标^[4](图4)。

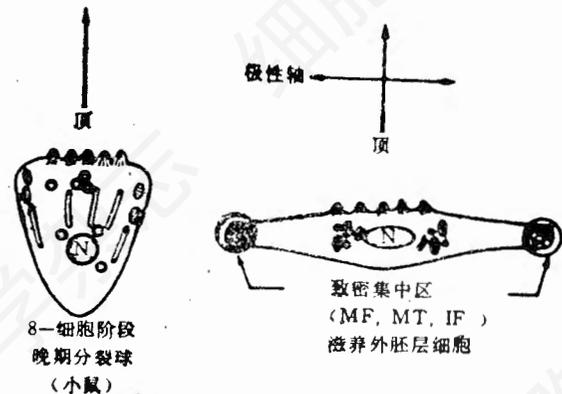


图4 由微绒毛、细胞器和细胞骨架的分布显示出的细胞极轴图解

在8-细胞阶段晚期, 分裂球的三种结构都具有顶-基极性, 桑椹胚滋养层细胞的微绒毛保持顶端分布, 而细胞器则由细胞核至细胞边缘呈辐射形分布。图中的圆圈为酸性小泡, 椭圆为线粒体, 小管为微管。

(自 Batten, B. E. et al., 1987) MF-肌动蛋白; MT-微管蛋白; IF-角蛋白; N-核。

四、胚-对胚极轴建立的机制

囊胚的开始,首先表现为极与非极细胞之间产生裂缝,裂缝逐渐扩大,形成腔,即囊胚腔。随着腔的扩大,非极细胞偏向胚泡的一侧,形成了内细胞团,所处部位成为胚极,与此部位相对的一侧为对胚极,因而在胚泡中形成了胚-对胚轴(embryonic-abembryonia axis, EA axis)。EA轴形成的机制如何?囊胚腔首先在哪里出现?对这一问题有两种解释,这两种解释都基于同一现象,即胚胎由16-细胞阶段发育到32-细胞阶段的过程中,各细胞分裂速率不同步,有一部分细胞比其他细胞快了一个细胞周期^[28]。有的学者认为,胚胎由16-细胞发育到32-细胞时,外周细胞分裂得慢,内部细胞分裂得快。外周细胞受到胀压而展伸成扁平形,不能再进行胞质分裂,变为多核体。因此,对胚极细胞为多倍体,它们为终末分化的滋养层细胞,具有分泌囊胚液的能力^[29]。由此可见,这些学者主张后分裂的细胞确定了对胚极的位置。另一些学者则持不同的见解^[28],他们认为进入第6个细胞周期(相当于32-细胞阶段)的细胞首先获得了形成囊胚腔的能力,从而定位出胚胎的对胚极。那么,细胞分裂顺序与囊胚腔的形成究竟是什么关系?Garbutt等^[30]对此做了进一步研究,他们利用胚胎聚集法验证了初生囊胚腔(即开始形成的囊胚腔)与EA轴方向的关系。他们把用荧光 latex 微粒标记的胚胎细胞和未标记的早或晚一个细胞周期(或同步的)胚胎细胞重聚成桑椹胚,经培养成腔,观察在囊胚腔刚出现时和扩张后标记细胞存在的部位。结果表明,细胞分裂顺序的确影响EA轴的建立,早分裂的细胞往往和初生囊胚腔相关,初生囊胚腔的出现即标志出了对胚极的位置。此外,囊胚腔的产生还需要细胞间的相互配合,细胞分裂顺序不是决定囊胚腔位置的唯一因素。初生囊胚腔总是在桑椹胚内部一侧产生,从而使囊胚形成了胚极和对胚极。位于囊胚不同部位的滋养层细胞不仅形态不同,

而且分化命运亦不同。壁滋养层细胞形成初级巨细胞,在胚泡着床过程中与子宫上皮作用,进而侵入子宫壁,而极滋养层细胞则分化成次级巨细胞、外胎盘锥和胚外外胚层等胚外组织。滋养层分化为壁滋养层和极滋养层的变化是发生在囊胚腔出现之前还是之后,至今尚未查清。在桑椹胚末期是否已为EA轴的形成发生定向变化,亦是有待解决的重要问题。

8-细胞阶段的极化过程(形成顶-基轴)产生了不对称的膜系统和细胞器分布,从而使随后出现的滋养层具有上皮功能^[31]。滋养层细胞的主要形态标志是具有顶端微绒毛和侧部紧密连接。紧密连接的建立封闭了胚胎内部与外界之间的细胞间直接通路,有助于囊胚液的积累。滋养层具有运输囊胚液的功能,细胞的结构和细胞器的分布与这一功能相适应^[4]。于是,Wiley提出了代谢成腔模型(metabolic cavitation model),主张线粒体、脂质和液体运输泵与细胞外质关系密切,促使了囊胚液的运输和积累,线粒体的集中分布表明液体运输部位对ATP的需求。因此囊胚腔的出现起始于滋养层开始运输液体。

滋养层细胞是早期胚胎最早分化出的细胞系,失去了全能性。内细胞团细胞则不同,利用微注射法,将一个胚胎的内细胞团细胞注入到另一完整胚泡的囊胚腔中,可参加各种组织的分化,证明其具有全能性^[32,33]。

早期实验胚胎学家通过许多实验证明,细胞质在胚胎细胞分化中起决定作用。例如E. B. Wilson证明了角贝(*Dentalium*)的极叶细胞质决定了中胚层的发生。进而有的学者主张细胞质中有决定细胞分化的决定子(determinant),例如生殖质可决定生殖细胞的发生。可是从上面介绍的近代实验说明,细胞分化的原因不能简单地归结为某种决定物质的存在,而应是一系列变化的综合效应。因而细胞质对细胞分化的决定作用应当表现为调节体系或决定连锁(determinant linkage)的决定作用,其决定过程既涉及到细胞质成分不均匀分布的作用,又要

受细胞外周微环境的影响。不均匀的细胞质定域,造成细胞质局部间的代谢差异,细胞分裂后,子细胞间获得的细胞质在性质上有所不同,从而引起基因差别表达(gene differential expressions),合成了专一蛋白质。然而细胞对其细胞质成分的分布有一定的调整能力,随条件改变而有所变化,决不是静止不变的。所谓的细胞质“镶嵌”也不是绝对的。在有丝分裂过程中,细胞质成分的分布往往要重安排(reorganization)。此外,在胚胎正常发育中,细胞间的相互作用对细胞分化发生着重要影响。对胚胎细胞分化问题,今后我们的注意力应集中到探查决定连锁的变化机制上,不能把思路困囿在“决定子”的概念之中。

摘 要

哺乳动物早期胚胎细胞具有极性,在桑椹胚以前细胞极性由不稳定变为稳定。细胞极性包括表面极性和细胞质极性。细胞极性与滋养层和内细胞团两种细胞系的建立密切相关。细胞的极化使细胞形成顶-基轴,细胞分裂后,顶半球产生的极性子细胞分化为滋养层,基半球产生的非极性子细胞建立了内细胞团。内细胞团偏向胚泡一侧,使胚胎形成了胚-对胚轴(EA轴)。细胞分化是许多因素的综合效应,不能简单地归结为决定子的单独作用。

参 考 文 献

- [1] Ducibella, T., et al., 1977, *J. Cell Biol.*, 74: 153-167.
- [2] Evans, W. H., 1980, *Biochim. Biophys. Acta*, 604: 27-64.
- [3] Streeter, G. L., 1931, *Science, Monthly*, 32: 495-506.
- [4] Batten, B. E., et al., 1987, *Amer. J. Anat.*, 178: 204-213.
- [5] Nicosia, S. V., et al., 1977, *Dev. Biol.*, 57: 56-74.
- [6] Maro, B., et al., 1984, *J. Embryol. Exp. Morphol.*, 81: 211-237.
- [7] 韩贻仁、蓝厚珍, 1979, 山东大学学报(自然科学版), 107-114页。
- [8] Handyside, A. H., 1980, *J. Embryol. Exp. Morphol.*, 69: 99-116.
- [9] Mulnard, J. & Huygens, R., 1978, *J. Embryol. Exp. Morphol.*, 44: 121-132.
- [10] Izquierdo, L., et al., 1980, *J. Embryol. Exp. Morphol.*, 59: 89-102.
- [11] Johnson, M. H., 1981, *Biol. Rev. Cam. Philos. Soc.*, 56: 463-498.
- [12] Tesari'k, J. 1989, *Dev.*, 105: 317-322.
- [13] Ducibella, T., 1977, in "Development in mammals", Johnson, M. H. Ed., pp. 5-30, North-Holland Publishing Co., Amsterdam.
- [14] Lehtonen, E., 1980, *J. Embryol. Exp. Morphol.*, 58: 231-249.
- [15] Ziomek, C. A. & Johnson, M. H., 1980, *Cell*, 21: 935-942.
- [16] Maro, B., et al., 1985, *J. Embryol. Exp. Morphol.*, 90: 287-309.
- [17] Johnson, M. H. & Maro, B., 1984, *J. Embryol. Exp. Morphol.*, 82: 97-117.
- [18] Johnson, M. H. & Maro, B., 1985, *J. Embryol. Exp. Morphol.*, 90: 311-334.
- [19] Wiley, L. M. & Obasajn, M. F., 1988, *Dev. Biol.*, 130: 276-284.
- [20] Nucitelli, R. & Wiley, L. M., 1985, *Dev. Biol.* 109: 452-463.
- [21] Scott, D. M., 1987, *Bioassays*, 7: 71-78.
- [22] Ducibella, T. & Anderson, E., 1975, *Dev. Biol.*, 47: 45-58.
- [23] Hilman, N., et al., 1972, *J. Embryol. Exp. Morphol.*, 28: 263-278.
- [24] Handyside, A. H. & Johnson, M. H., 1978, *J. Embryol. Exp. Morphol.*, 44: 191-199.
- [25] Johnson, M. H., et al., 1986, *J. Embryol. Exp. Morphol.*, 93: 239-255.
- [26] Fleming, T. P., et al., 1986, *Dev. Biol.*, 113: 406-419.
- [27] Wiley, L. M., 1987 a, in "The Mammalian Preimplantation Embryo", Bavister, B. D. Ed., pp. 65-93, Plenum, New York.
- [28] Chisholm, J. C., et al., 1985, *J. Embryol. Exp. Morphol.*, 86: 311-336.
- [29] Sotynska, M. S., et al., 1985, *Wilhelm Roux' Arch. Dev. Biol.*, 194: 173-177.
- [30] Garbutt, C. L., et al., 1987, *Dev.*, 100: 125-134.
- [31] Simons, K. & Fuller, S. D., 1985, *Ann. Rev. Cell Biol.*, 1: 243-288.
- [32] Winkel, G. K. & Pederson, R. A., 1988, *Dev. Biol.*, 127: 143-156.
- [33] 沈三兵等, 1988, 实验生物学报, 21(2): 189-200页。