

哺乳动物胚胎发育极性的研究进展

时小艳, 陈杰, 刘红林

(南京农业大学动物科技学院, 南京 210095)

摘要: 哺乳动物胚胎的早期发育, 可依据环境变化进行自我调控。胚胎是何时具有自我调控能力的, 一直有两种说法: 其一, 胚胎刚形成时, 细胞质成分空间分布均衡, 胚胎具有发育全能性, 经几次卵裂后, 卵裂球间开始分化发育, 另外一种观点认为, 胚胎形成时就具有极性, 具备了分化发育的特异性, 随着不断卵裂、细胞质的分离, 这种发育差异表现得更加明显。近年的研究多倾向于第二种观点, 认为卵裂的顺序及方位, 对着床前胚胎的极性发育有影响。

关键词: 第二极体; 精子进入位点; 内细胞团; 滋养外胚层; 动植物轴; 胚胎-远胚轴

学科分类号: Q291

0 引言

很早人们就发现, 哺乳动物胚胎的早期发育具有自我调控能力, 胚胎没有极化之前, 改变卵裂球的空间位置, 或者移除一个卵裂球, 胚胎都能正常发育^[1-7]。胚胎发育至囊胚, 细胞发育具有特异性^[8], 这种分化发育可追溯到胚胎发育早期。受精卵卵裂得到的两卵裂球特异发育, 分别发育成囊胚的滋养外胚层 (TE) 和内细胞团 (ICM)^[9-11]。第二极体 (2pb)、精子进入位点 (SEP) 及卵裂球形态影响胚胎的卵裂方式^[12-14]。除此之外, 2-cell 两个卵裂球的卵裂方式也影响胚胎分化发育^[15,16]。由于哺乳动物胚胎的早期发育受众多因素交错影响, 故而发育极性不确定。近年对小鼠胚胎极性发育的研究取得了一定进展, 本文对这些研究做一综述。

1 1-cell 胚胎极性特征

卵母细胞第二次减数分裂中期, 转录停止, mRNA 翻译降低, 减数分裂受到抑制。受精后卵母细胞排出第二极体 (2pb), 第二次减数分裂完成, 形成含有一个雌原核和一个雄原核的 1-cell 胚胎。胚胎继续发育, 雌雄原核 DNA 分别复制, 为第一次有丝分裂做准备。此阶段的胚胎与卵母细胞相比, 表观大小相当, 无明显差异, 但具备了固有特征: 第二极体 (2pb) 和受精的细胞核。第二极体 (2pb) 通过胞浆粘附在受精卵上, 通常标志受精卵的动物极^[17,18]; 受精的细胞核是雌雄原核融合产物, 位于精子进入位点 (SEP) 附近^[19,20]。受精

卵的细胞质成分空间分布是否存在差异, 现今为止, 还没有相关报道。研究表明, 精子选择性进入卵细胞后^[12,21], 雌雄原核同时向细胞中央移动, 相遇后细胞膜融合形成受精卵, 继而胚胎开始卵裂。

哺乳动物胚胎不断卵裂最终极化。胚胎极化发育何时开始, 可通过组建各发育期胚胎进行研究。研究已经证实, 小鼠 2-cell 胚胎两个卵裂球都具发育全能性。早在 1959 年, Tarkowski^[1]研究发现, 破坏 2-cell 胚胎一个卵裂球后, 胚胎还能继续发育成正常个体。1983 年, Tsunoda 和 McLaren^[5]对 2-cell 卵裂球分离培养发现, 虽然成功率很低, 但可以培育出双胞胎。

重组受精卵的实验发现, 受精卵细胞质成分空间分布不均一。如果移除受精卵植物极 (V) 细胞质成分, 保留动物极 (A), 卵裂经过 2pb; 移除动物极细胞质成分, 保留植物极, 卵裂部位表现出随机性, 胚胎仍可继续发育^[6,7] (如图 1 左), 说明早期胚胎具有发育全能性, 动物极与受精卵的卵裂有关。移除受精卵部分植物极细胞质, 植入外源动物极细胞质, 电融合组建含两个动物极的胚胎, (如图 1 右)^[13], 培养发现大量胚胎发育受阻。说明在胚胎动物极存有未被发现的因子, 该因子可能通过纺锤体影响卵裂, 其含量对胚胎发育很重要, 含量过多会引起胚胎发育受阻。

收稿日期: 2007-04-02

通讯作者: 刘红林, 电话: (0252)84395278,

E-mail: liuhonglin@263.net

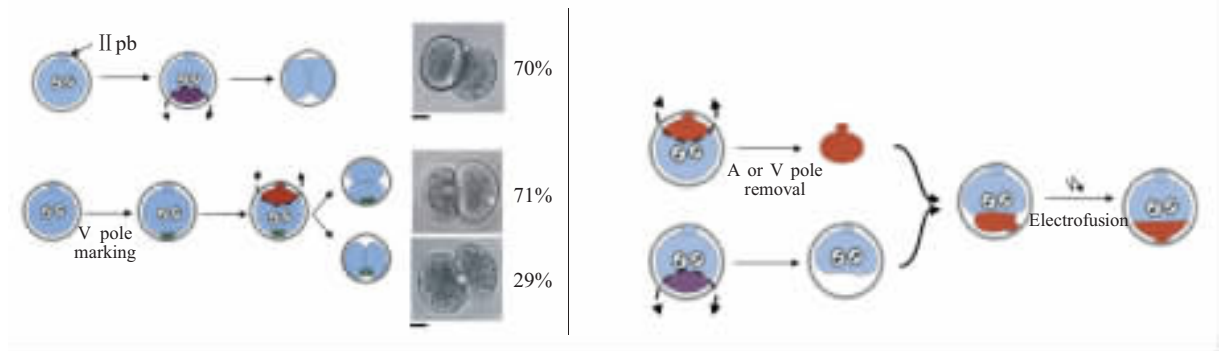


图1 受精卵部分植物极（左上）和动物极（左下）细胞质去除后胚胎卵裂；
组建含两个动物极的受精卵（右）

2 2-cell 胚胎卵裂特征

小鼠 2-cell 胚胎没有极化，单个卵裂球能继续发育。然而受精卵卵裂面如何确定，受哪些因素影响，以及这些因素影响卵裂的机制是什么，一直是研究热点，并且，相关研究结论存有争议。

2.1 受精卵卵裂方式的研究进展

通常小鼠受精卵卵裂为对称性卵裂，沿动物极向植物极（A→V）方向，称其为 M 分裂^[17,18,22-24]，如图 2 虚线所示^[18]。早在 2000 年，Mayer 和 Smith

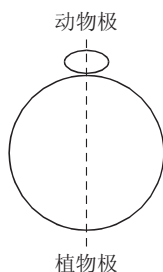


图2 小鼠受精卵截面^[18]

等^[25]实验发现，受精卵卵裂中期雌雄原核没有融合，卵裂沿 A→V 进行。然而，2004 年，Hiiragi 和 Solter^[26]研究发现，受精卵卵裂面与雌雄原核确定的直线相垂直。他们从实验结果出发推理认为，有丝分裂中期雌雄原核进行了融合。他们发现，与以前的实验结果相比较，共同点是受精卵卵裂后第二极体（2pb）移向卵裂凹槽；不同点是受精卵卵裂不为 M 裂，卵裂面与 A-V 轴也不一致。2005 年，Louvet Vallee 和 Plusa 分别对 Hiiragi 和 Solter 的结论进行了实验验证，Louvet Vallee 等^[27]通过对 1-cell 晚期或 2-cell 早期胚胎显微注射编译微管

蛋白 GFP 的 mRNA，研究印证了 Hiiragi 和 Solter 的受精卵卵裂面与雌雄原核确定的直线相垂直的结论。而 Plusa 等^[28]通过显微镜定时观察又一次印证了卵裂面与 A-V 轴一致的结论。剖析 Hiiragi 和 Solter 的实验，他们研究雌雄原核处于同一光学平面，沿长轴排列的受精卵，不在同一个光学视野内的受精卵被舍弃，采用的胚胎数量不到实验总胚胎数的 50%。对胚胎选择性操作，可能造成了实验结果产生偏差。

2.2 影响受精卵卵裂特征的因素

与其它生物不同，哺乳动物胚胎的卵裂特征主要受环境的影响，而不是遗传因子调控。研究表明，影响小鼠胚胎卵裂特征的因素主要有三个：第二极体（2pb）、精子进入位点（SPE）及细胞形态。

2.2.1 动物极

2pb 标志着受精卵的动物极。研究表明，小鼠受精卵在 2pb 附近卵裂^[12,13]，卵裂后的第二极体（2pb）位于卵裂凹槽。2pb 与卵裂有何关系？2005 年，Plusa 等^[28]分析显微镜录制的受精卵时序卵裂图像，研究 2pb 与卵裂面夹角，他发现 2pb 与卵裂面呈 $0^\circ\sim 30^\circ$ 夹角的胚胎数是 $60^\circ\sim 90^\circ$ 的 10 倍之多。并且，2pb 与卵裂面呈 $30^\circ\sim 60^\circ$ 夹角的胚胎，大部分胚胎卵裂后其 2pb 移向卵裂凹槽^[15,19,26]（如图 3）。这可能是由于卵裂凹槽具有一定空间，卵裂后 2pb 滑向凹槽，也可能是由于卵裂凹槽附近存有某种因子，将卵裂后的 2pb 拉向凹槽。

2.2.2 SEP 及细胞形态

研究受精卵的卵裂，无论是通过植物血球凝集素荧光滴标记 SEP，还是用显微镜定时观察卵裂图像（不标记精子进入位点（SEP）），都证实小鼠受精卵卵裂面大部分经过 SEP^[18,19]。由此推断，小鼠

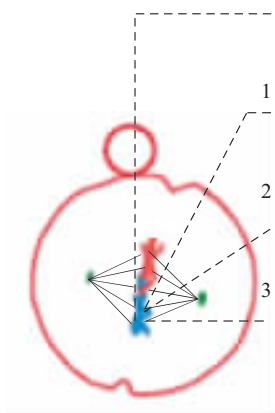


图 3 受精卵卵裂面与第二极体夹角剖面^[29]。
1=0°~30°; 2=30°~60°; 3=60°~90°

受精卵卵裂除与第二次减数分裂 (2pb 位置) 有关外, 还与 SEP 有联系。然而, 2002 年 Davies 和 Gardner^[28]研究精子成分对受精卵卵裂方位的影响时发现, 精子成分的空间分布与卵裂部位无关。相关研究证实, 细胞形态对卵裂的影响可屏蔽其他因素对卵裂的影响^[19,28]。综上结论分析认为, 精子进入卵母细胞, 雌雄原核间形成纺锤体, 受精卵形态微微变扁呈椭圆状; 受精卵的卵裂沿短轴进行, SEP 一般位于短轴上^[19]; 卵裂球的形态影响受精卵的卵裂部位, 其影响可屏蔽其它因素对卵裂的影

响。因此, 部分研究得出受精卵卵裂与动物极 / 2pb 或 SPB 无关的结论。由于卵裂球形态受多方面因素影响, 如挤压透明带、细胞间不对称卵裂等。因此, 胚胎的卵裂方位在很多研究中表现出不固定性。

3 4-cell 胚胎极性特征

迄今为止, 对于小鼠 4-cell 胚胎的研究, 已经证实细胞间具有发育特异性^[30-32], 也许是因为细胞质成分存在差异, 但可以肯定的是, 细胞卵裂方式和相互间作用对胚胎极化起着不可忽视的作用。

3.1 第二次卵裂方式

小鼠胚胎第二次卵裂与第一次不同, 表现出不对称发育, 即两卵裂球卵裂不同步, 一个先卵裂产生 3-cell 胚胎, 然后另一个再卵裂, 胚胎发育进入 4-cell 期。大量研究证实, 优先卵裂的是带 2pb 的卵裂球^[18]。以 2pb 为参照物, 研究第二次卵裂方式发现, 多数胚胎两卵裂球, 一个为纵裂 (meridional, M), 一个为横裂 (equatorially, E) 或偏分裂 (obliquely)^[24], 少量胚胎以同种方式卵裂, 如 MM 或 EE。其中, ME 卵裂方式最常见^[15,24] (如图 4)。

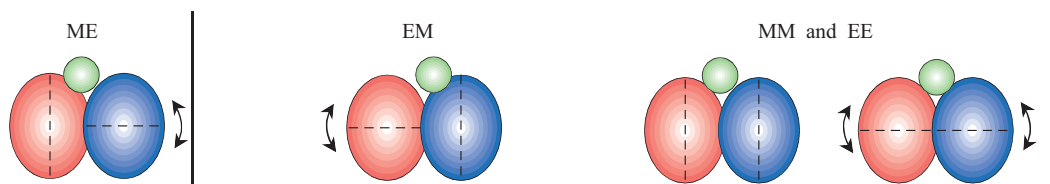


图 4 小鼠胚胎第二次卵裂的卵裂方式^[24]

2005 年, Piotrowska-Nitsche、Zernicka-Goetz^[15]对 460 个胚胎染色观察, 研究发现: 4-cell 胚胎卵裂球的空间排布, 81%呈四面体状 (2pb 与三个卵裂球相连); 11%的胚胎四个卵裂球都与 2pb 相连,

2pb 位于卵裂球中间; 8%的胚胎两个卵裂球与 2pb 相连, 另外两个与 2pb 远离, 卵裂球呈菱形排布 (如图 5)。同时, 他们对 374 个呈四面体排布的胚胎进行了研究, 结果发现, 52%是由 2-cell 胚胎经

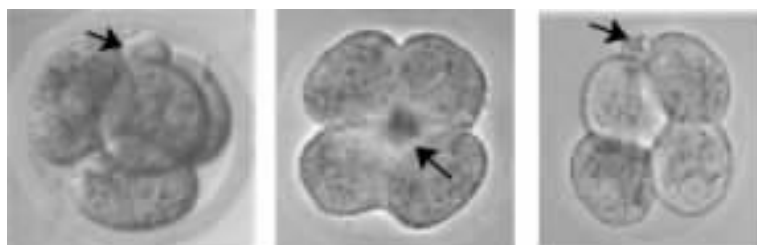


图 5 小鼠 4-cell 胚胎卵裂球空间排布^[15] (箭头所指为 2 pb)

ME 卵裂得到, 48% 经 EM 卵裂得到^[15]。说明 2-cell 卵裂球, 优先卵裂的是 M 裂还是 E 裂不固定。这与 2002 年 Gardner 得到的实验结果相符, Gardner^[18]还证实 2-cell 胚胎经 EM 或 ME 卵裂后, 卵裂球呈四面体排布; 经 MM 卵裂的卵裂球都与 2pb 相连; 经 EE 卵裂或偏分裂, 卵裂球呈菱形排布。

早期研究证实, 野兔 2-cell 胚胎两卵裂球都为 M 裂, 四个卵裂球中的一个发生 90° 旋转, 得到呈四面体状的 4-cell 胚胎^[17]。据此, Gulyas 1975 年提出小鼠胚胎卵裂也可能存在该模式。2002 年, Gardner^[18]对小鼠 2-cell 胚胎任意一个卵裂球进行植物血球凝集素荧光滴标记, 定时观察, 研究发现呈四面体状的 4-cell 胚胎, 大部分是 ME/EM 分裂。他的研究结果否定了 Gulyas 的假想。2005 年, Piotrowska-Nitsche 通过对胚胎植物极细胞膜染色, 研究发现胚胎发育到后期, 着色细胞都分布在 2pb 周围^[15]。因而, 以前的实验结论准确与否, 还需进一步研究印证。

3.2 小鼠 4-cell 胚胎的极化发育

研究证实, ME 卵裂的小鼠胚胎, M 裂的细胞主要发育囊胚 ICM, E 裂细胞发育 TE^[15,16]。由于发育方向明确, 以前对 4-cell 卵裂球发育极性的研究, 都以 ME 卵裂的胚胎为研究材料。研究中以 2pb 为参照物, 以卵裂球空间排列为依据, 分离组建单一细胞类型的 4-cell 胚胎, 培养发现, 如图 6 中, M 细胞 (M 裂得到) 卵裂胚能发育至囊胚,

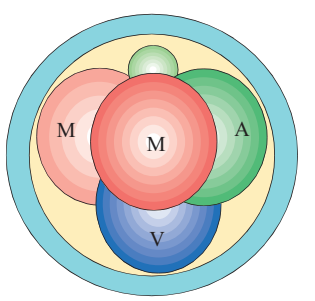


图 6 小鼠 ME 裂 4-cell 胚胎^[24]

与其相比, A 细胞 (E 裂得到) 组建胚发育成囊胚的数量少很多, 而 V 细胞组建胚不能发育成囊胚; E 裂得到微量 ICM 的细胞组建胚, 形成胚泡晚一些^[16]。V 细胞组建的 4-cell 胚胎发育受阻, 但如果 V 细胞与其它类型细胞电融合组建新 4-cell 胚胎, 研究发现胚胎可以发育到囊胚^[30-32]。该研究与 2005 年 Piotrowska-Nitsche^[16]的研究结论相符, 他发现 E

裂后植物极卵裂球组建胚, 4-cell 比 3-cell 更有发育成囊胚的潜力。研究说明胚胎发育至 4-cell 期时, 卵裂球间已经产生差异; M 细胞具有发育全能性; 细胞间的作用影响胚胎发育。然而, 至今为止, 成功培育 4-cell 卵裂球发育至着床后胚胎, 只有一个报道^[33]。而四胞胎培育还没有成功事例^[33,34]。

4 8~32-cell 期胚胎的发育极性

胚胎发育至 8-cell 期, 无论表观还是卵裂球空间排布都发生了巨大变化^[35-38]。卵裂球相互挤压, 胚胎略微变扁。卵裂球对称分布的布局被打破, 胚胎极化, 产生内外层细胞差异。8-cell 期后的胚胎卵裂方式主要有三种: 其一, 均裂 (对称卵裂), 产生含极化 (外层) 和没极化 (内层) 两种细胞质成分的两个卵裂球; 第二种是非均裂 (不对称卵裂), 得到一个含极化 (外层) 细胞质成分, 一个含非极化 (内层) 细胞质成分的两个卵裂球; 第三种是处于两种方式中间的一种卵裂方式, 得到含部分极化或非极化细胞质成分的两个卵裂球。不对称卵裂得到的两个卵裂球, 因所含细胞质成分不同, 他们的发育极性也不同, 含极化细胞质成分的外层卵裂球主要发育成囊胚的 TE, 内层则主要发育成 ICM。

尽管胚胎发育至此, 内外细胞的形态和细胞质成分都产生了差异, 但个别细胞发育还会表现出多能性。如 16-cell 期胚胎的内层细胞移植到外层, 研究发现该细胞发育囊胚 TE, 相反, 移植外层细胞到内部, 发育方向不定, 即可发育 TE, 也可发育 ICM^[39-41]。研究还发现, 32-cell 胚胎外层细胞发育成囊胚 TE^[42], 内部细胞的多能性发育将持续到囊胚后期^[43-46]。小鼠胚胎发育时是否存在这种细胞间位置的变化还不清楚。虽然, 一定发育阶段, 胚胎细胞位置互变不会引起发育异常, 但不能把两种细胞等同起来, 像 16~32-cell 胚胎发育中, 环境使内外细胞位置变化, 引起发育极性改变, 但此时两细胞的细胞质成分不同^[47-50]。

5 囊胚的极性特征

小鼠囊胚呈椭圆状, 形态结构不对称, ICM 位于长轴一端, 称为胚胎端, TE 包裹着的胚泡腔位于长轴另一端, 也称为远胚端 (如图 7)。大量

研究表明, 囊胚的胚泡与 ICM 之间的界面 (图 7 实线所示)、胚胎 - 远胚轴 (E-Ab 轴) (图 7 虚线所示) 与受精卵卵裂、4-cell 卵裂球空间排布存有紧密联系。

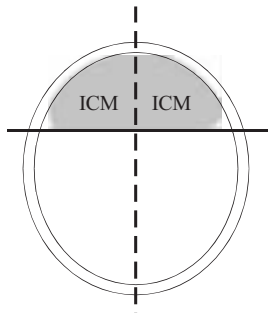


图7 小鼠囊胚剖面图

5.1 胚泡形成假说

连续五次卵裂, 受精卵发育成囊胚。囊胚上皮细胞功能性 Na^+/K^+ 通道开启, 细胞液向内流动增多, 积聚, 进而形成胚泡^[51]。

胚泡形成存在两种假说。卵裂驱动假说认为胚胎卵裂方式决定胚泡的形成。卵裂使胚胎产生内外层细胞的分化, 随着卵裂不断发生, 内层细胞来源不再单一。如第四次卵裂使胚胎内外细胞分化。第五次卵裂, 内层细胞除了由内部细胞卵裂得到, 还有一部分是表层细胞卵裂产生。表层细胞不对称卵裂产生的姊妹细胞相连, 然而这种连接并不紧密 (大约能维持两个分裂循环)^[52,53], 分开后积聚的细胞液流向细胞间隙, 液体流动中形成小泡, 大量小泡相互融合, 最终形成囊胚腔^[54]。此假说可对以前相关研究进行合理解释, 如: 4-cell 卵裂球主要发育成囊胚 TE, 很少发育成 ICM^[11,15,54]。

除此之外, Motosugi 的胚泡形成模式假说认为胚泡位置受透明带影响, 与胚胎卵裂无关。通过挤压 2-cell 胚胎发现, 发育至囊胚期胚泡位于长轴一端。研究分析认为由于透明带挤压, 胚胎形态改变, 细胞液沿长轴流动, 形成的小泡最终在胚胎长轴的一端积聚融合, 形成囊胚腔。然而, 该假说无法解释胚泡趋向位于发生不对称卵裂的两细胞间的现象。早期的挤压胚胎实验还证实, 2-cell 两卵裂球一个主要发育成胚胎部分, 另一个主要发育成胚泡所处的远胚胎部分, 并且两类细胞分别处于长轴一端^[19]。由于 Motosugi 没对挤压胚的囊胚极性发育进一步研究^[55]。不清楚挤压胚胎是否影响了正常发育, 因此, 也就无法与之前的研究相比较。

综上两种假说可知, 胚泡的形成不受特定因子

调控, 它由胚胎表层细胞发生不对称卵裂产生。

5.2 囊胚极化与受精卵卵裂轴的关系

1997 年, Gardner^[18]第一次报道了受精卵卵裂与囊胚极化存有联系, 他发现带有 2pb 的卵裂球不但优先分裂, 而且 2pb 处于囊胚的 E-Ab 轴上。他对实验结果推理认为, 小鼠胚胎发育至着床, A-V 轴一直存在, 与囊胚极化有关。2001 年, Piotrowska^[12]通过植物血球凝集素荧光滴标记 SEP, 发现 2pb 和 SEP 不仅处于 2-cell 两卵裂球间, 并且在囊胚的 E-Ab 轴上。这些研究表明, 胚胎发育方向不完全依赖环境, 有可预知性。

小鼠受精卵卵裂面与 E-Ab 界面很难定位。主要原因有两个: 1) 受精卵卵裂面在第二次卵裂过程中发生扭转, 如呈四面体形态的 4-cell 胚胎, 一个卵裂球与另三个远离, 第一卵裂轴“消失”; 2) E-Ab 界面, 2-cell 两卵裂球发育囊胚不同细胞, 囊胚内产生细胞界面, 从三维空间也无法准确划定 E-Ab 界面。由于这两因素的存在, 近年对两者位置关系的研究结果各异, 甚至得到相反的结论^[9-11,55-57]。最近, Piotrowska-Nitsche^[15,58]通过跟踪标记细胞核的绿色荧光蛋白, 使得确定囊胚光学平面内的细胞数量更加容易。该方法克服了以前对整个细胞染色, 卵裂球间隙无法辨别的缺点。他的研究进一步证实, 2-cell 两卵裂球分别主要发育成囊胚的胚胎部分和远胚胎部分。他还印证了 2-cell 卵裂球的特异发育与胚胎第二次卵裂方式有关^[15]。如何解释这种卵裂球的特异发育, 相关研究认为, 可能是由于优先卵裂的卵裂球产生了更多的细胞接触面, 细胞被拉长早于后卵裂的卵裂球^[38,59]。进而推之, 8-cell 胚胎发育得到的 ICM, 是由于卵裂球形态影响卵裂方位, 促进胚胎不对称卵裂产生。

5.3 囊胚极化与 4-cell、8-cell 胚胎卵裂方式的关系

不同卵裂方式得到的 4-cell 卵裂球个体, 发育极性不同^[15]。卵裂球的特异发育极化了囊胚, 从而确定了 E-Ab 轴。研究表明, ME 卵裂得到的胚胎, 经 M 分裂的两个卵裂球都主要发育成胚胎部分, E 分裂得到的与极体相连的卵裂球发育成囊胚的胚泡与 ICM 的界面细胞, 与极体不相连的卵裂球发育成壁 TE^[16]。EM 卵裂胚中 E 裂的两个卵裂球都可以发育为胚胎部分和远胚胎部分; EE 和 MM 卵裂胚, 卵裂球发育成囊胚的哪一部分不固定。

除此之外, 研究发现, 16~32-cell 胚胎发育产生的 ICM, 与极 TE (包裹 ICM 的 TE) 相连的数

量是与胚泡壁 TE (包裹囊胚腔的 TE) 相连的两倍之多^[60]。说明 16~32-cell 胚胎, TE 不对称卵裂得到的内部细胞主要发育极性 ICM, 而不是壁 ICM。因此, 8-cell 卵裂球卵裂方式影响胚泡方位和 E-Ab 轴的确立。

6 结论及展望

小鼠早期胚胎不断卵裂, 胚胎极化, 最终发育成动物个体。在卵裂过程中, 与环境因素对胚胎发育方向的影响相比, 遗传因素的调控作用显得不是那么重要。着床前胚胎的卵裂方式及卵裂球的相互作用, 使胚胎发育方向很灵活, 模式也不固定。

哺乳动物胚胎着床前的发育在立体空间上是动态变化的, 不能通过细胞染色方法有效研究, 尽管发育至 16-cell 期, 内外细胞也会由于细胞形态及周围其它细胞的影响, 位置发生变化, 进而改变发育特性。基于不稳定因素的存在, 探索胚胎发育规律时, 难免掺进主观因素, 得到不准确的试验结果。这也是为什么至今很多研究结果相矛盾, 小鼠胚胎着床前发育模式还不清楚的原因。现今对小鼠着床前胚胎发育的基因表达的研究, 大量都是研究其在时间上的动态变化^[61,62], 以后的研究应着力其空间表达差异, 同时, 还需要弄清楚发育方向不定的细胞是如何确定方向的, 以及细胞间传达发育方向的方式, 只有弄清这些, 才能阐述胚胎的自我调控机理。

参考文献:

- [1] Tarkowski AK. Experiments on the development of isolated blastomeres of mouse eggs. *Nature*, 1959,184:1286-1287
- [2] Tarkowski AK. Mouse chimeras developed from fused eggs. *Nature*, 1961,190:852
- [3] Mintz B. Experimental genetic mosaicism in the mouse. In: Wolstenholme GEW, O'Connor M (Ed). *Preimplantation Stages of Pregnancy*. Churchill, London: J & A, 1965. 194-207
- [4] McLaren A. *Mammalian Chimaeras*. Cambridge: Cambridge University Press, 1976
- [5] Tsunoda Y, McLaren A. Effect of various procedures on the viability of mouse embryos containing half the normal number of blastomeres. *J Reprod Fertil*, 1983,69:315-322
- [6] Zernicka-Goetz M. Fertile offspring derived from mammalian eggs lacking either animal or vegetal poles. *Development*, 1998,125:4803-4808
- [7] Ciemerych MA, Mesnard D, Zernicka-Goetz M. Animal and vegetal poles of the mouse egg predict the polarity of the embryonic axis, yet are nonessential for development. *Development*, 2000,127:3467-3474
- [8] Tam PP, Gad JM, Kinder SJ, Tsang TE, Behringer RR. Morphogenetic tissue movement and the establishment of body plan during development from blastocyst to gastrula in the mouse. *Bioessays*, 2001,23:508-517
- [9] Gardner RL. Specification of embryonic axes begins before cleavage in normal mouse development. *Development*, 2001, 128:839-847
- [10] Piotrowska K, Wianny F, Pedersen RA, Zernicka-Goetz M. Blastomeres arising from the first cleavage division have distinguishable fates in normal mouse development. *Development*, 2001,128:3739-3748
- [11] Fujimori T, Kurotaki Y, Miyazaki JI, Nabeshima YI. Analysis of cell lineage in 2- and 4-cell mouse embryos. *Development*, 2003,21:5113-5122
- [12] Piotrowska K, Zernicka-Goetz M. Role for sperm in spatial patterning of early mouse embryos. *Nature*, 2001,409: 517-521
- [13] Plusa B, Grabarek JB, Piotrowska K, Glover DM, Zernicka-Goetz M. Site of the previous meiotic division defines cleavage orientation in the mouse embryo. *Nature Cell Biol*, 2002,4:811-815
- [14] Plusa B, Piotrowska K, Zernicka-Goetz M. The first cleavage plane of the mouse zygote passes close by the sperm entry point defined by several labelling techniques. *Genesis*, 2002, 32:193-198
- [15] Piotrowska-Nitsche K, Zernicka-Goetz M. Spatial arrangement of individual 4-cell stage blastomeres and the order in which they are generated correlate with blastocyst pattern in the mouse embryo. *Mech Dev*, 2005,122:487-500
- [16] Piotrowska-Nitsche K, Perea-Gomez A, Haraguchi S, Zernicka-Goetz M. Four-cell stage mouse blastomeres have different developmental properties. *Development*, 2005,132: 479-490
- [17] Gulyas B. A re-examination of cleavage patterns in eutherian mammalian eggs: rotation of blastomere pairs during second cleavage in the rabbit. *J Exp Zool*, 1975,193:235-248
- [18] Gardner RL. The early blastocyst is bilaterally symmetrical and its axis of symmetry is aligned with the animal-vegetal axis of the zygote in the mouse. *Development*, 1997,124: 289-301
- [19] Gray D, Plusa B, Piotrowska-Nitsche K, Na J, Tom B, Glover DM, Zernicka-Goetz M. First cleavage of the mouse embryos responds to change in egg shape at fertilisation. *Curr Biol*, 2004,14: 397-405
- [20] Zernicka-Goetz M. Patterning of the embryo: the first spatial decisions in the life of a mouse. *Development*, 2002,129: 815-829
- [21] Evans JP, Foster JA, McAvey BA, Gerton GL, Kopf GS, Schultz RM. Effects of perturbation of cell polarity on molecular markers of sperm-egg binding sites on mouse

- eggs. *Biol Reprod*, 2000,62:76-84
- [22] Gilbert SF. Onset of paternal and maternal Gpi-1 expression in preimplantation mouse embryos. *Developmental Biology*, 1985,109:515-517
- [23] Gardner RL. Can developmentally significant spatial patterning of the egg be discounted in mammals? *Hum Reprod*, 1996, Update 2:3-27
- [24] Gardner RL. Experimental analysis of second cleavage in the mouse. *Hum Reprod*, 2002,12:3178-3189
- [25] Mayer W, Smith A, Fundele R, Haaf T. Spatial separation of parental genomes in preimplantation mouse embryos. *J Cell Biol*, 2000,148:629-634
- [26] Hirragi T, Solter D. First cleavage plane of the mouse egg is not predetermined but defined by the topology of the two apposing pronuclei. *Nature*, 2004,430:360-364
- [27] Louvet-Vallee S, Vinot S, Maro B. Mitotic spindles and cleavage planes are oriented randomly in the two-cell mouse embryo. *Curr Biol*, 2005,15:464-469
- [28] Plusa B, Hadjantonakis AK, Gray D, Piotrowska-Nitsche K, Jedrusik A, Papaioannou VE, Glover DM, Zernicka-Goetz M. The first cleavage of the mouse zygote predicts the blastocyst axis. *Nature*, 2005,434:391-395
- [29] Davies TJ, Gardner RL. The plane of first cleavage is not related to the distribution of sperm components in the mouse. *Hum Reprod*, 2002,17:2368-2379
- [30] Kelly SJ. Studies of the developmental potential of 4- and 8-cell stage mouse blastomeres. *J Exp Zool*, 1977,20:365-376
- [31] Hillman N, Sherman MI, Graham CF. The effect of spatial arrangement on cell determination during mouse development. *J Embryol Exp Morphol*, 1972,28:263-278
- [32] Kelly SJ, Mulnard JG, Graham CF. Cell division and cell allocation in early mouse development. *J Embryol Exp Morphol*, 1978,48:37-51
- [33] Rossant J. Postimplantation development of blastomeres isolated from 4- and 8-cell mouse eggs. *J Embryol Exp Morphol*, 1976,36:283-290
- [34] Tarkowski AK, Ozdzinski W, Czolowska R. Mouse singletons and twins developed from isolated diploid blastomeres supported with tetraploid blastomeres. *Int J Dev Biol*, 2001,45: 591-596
- [35] Fleming TP, Johnson MH. From egg to epithelium. *Annu Rev Cell Biol*, 1988,4:459-485
- [36] Fleming TP, Sheth B, Fesenko I. Cell adhesion in the preimplantation mammalian embryo and its role in trophoblast differentiation and blastocyst morphogenesis. *Front Biosci*, 2001,6:D1000-D1007
- [37] Johnson MH, Ziomek CA. The foundation of two distinct cell lineages within the mouse morula. *Cell*, 1981,24:71-80
- [38] Johnson MH, McConnell JM. Lineage allocation and cell polarity during mouse embryogenesis. *Semin Cell Dev Biol*, 2004,15:583-597
- [39] Ziomek CA, Johnson MH. The roles of phenotype and position in guiding the fate of 16-cell mouse blastomeres. *Dev Biol*, 1982,91:440-447
- [40] Randle BJ. Cosegregation of monoclonal antibody reactivity and cell behaviour in the mouse preimplantation embryo. *J Embryol Exp Morphol*, 1982,70:261-278
- [41] Surani MA, Handyside AH. Reassortment of cells according to position in mouse morulae. *J Exp Zool*, 1983,225:505-511
- [42] Rossant J. Development of the extraembryonic lineages. *Semin Cell Dev Biol*, 1995,6:237-247
- [43] Hogan B, Tilly R. *In vitro* development of inner cell masses isolated immunosurgically from mouse blastocysts. II. Inner cell masses from 3.5 to 4.0-day p. c. blastocysts. *J Embryol Exp Morphol*, 1978,45:107-121
- [44] Spindle AI. Trophoblast regeneration by inner cell masses isolated from cultured mouse embryos. *J Exp Zool*, 1978,203: 483-489
- [45] Nichols J, Gardner RL. Heterogeneous differentiation of external cells in individual isolated early mouse inner cell masses in culture. *J Embryol Exp Morphol*, 1984,80:225-240
- [46] Rossant J, Lis WT. Potential of isolated mouse inner cell masses to form trophoblast derivatives *in vivo*. *Dev Biol*, 1979,70:255-261
- [47] Scholer HR, Balling R, Hatzopoulos AK, Suzuki N, Gruss P. Octamer binding proteins confer transcriptional activity in early mouse embryogenesis. *EMBO J*, 1989,8:2551-2557
- [48] Palmieri SL, Peter W, Hess H, Scholer HR. Oct-4 transcription factor is differentially expressed in the mouse embryo during establishment of the first two extraembryonic cell lineages involved in implantation. *Dev Biol*, 1994,166: 259-267
- [49] Nichols J, Zevnik B, Anastassiadis K, Niwa H, Klewe-Nebenius D, Chambers I, Dholer H, Smith A. Formation of pluripotent stem cells in the mammalian embryo depends on the POU transcription factor Oct4. *Cell*, 1998,95:379-391
- [50] Beck F, Erler T, Russell A, James R. Expression of Cdx-2 in the mouse embryo and placenta: possible role in patterning of the extra-embryonic membranes. *Dev Dyn*, 1995,204: 219-227
- [51] Watson AJ, Barcroft LC. Regulation of blastocyst formation. *Front Biosci*, 2001,6:D708-D730
- [52] Goodall H, Johnson MH. The nature of intercellular coupling within the preimplantation mouse embryo. *J Embryol Exp Morphol*, 1984,79:53-76
- [53] Pedersen RA, Wu K, Balakier H. Origin of the inner cell mass in mouse embryos: cell lineage analysis by microinjection. *Dev Biol*, 1986,117:581-595
- [54] Plusa B, Frankenberg S, Chalmers A, Hadjantonakis AK, Moore CA, Papalopulu N, Papaioannou VE, Glover DM, Zernicka-Goetz M. Downregulation of Par3 and aPKC function directs cells towards the ICM in the preimplantation mouse embryo. *J Cell Science*, 2005,118:505-515
- [55] Motosugi N, Bauer T, Polanski Z, Solter D, Hirragi T.

- Polarity of the mouse embryo is established at blastocyst and is not prepatterned. *Genes Dev*, 2005,19:1~12
- [56] Alarcon VB, Marikawa Y. Deviation of the blastocyst axis from the first cleavage plane does not affect the quality of mouse postimplantation development. *Biol Reprod*, 2003,69: 1208~1212
- [57] Chroscicka A, Komorowski S, Maleszewski M. Both blastomeres of the mouse 2-cell embryo contribute to the embryonic portion of the blastocyst. *Mol Reprod Dev*, 2004,68: 308~312
- [58] Hadjantonakis AK, Papaioannou VE. Dynamic *in vivo* imaging and cell tracking using a histone fluorescent protein fusion in mice. *BMC Biotechnol*, 2004,4:33
- [59] Lehtonen E. Changes in cell dimensions and intercellular contacts during cleavage-stage cell cycles in mouse embryonic cells. *J Embryol Exp Morphol*, 1980,58: 231~249
- [60] Fleming TP. A quantitative analysis of cell allocation to trophectoderm and inner cell mass in the mouse blastocyst. *Dev Biol*, 1987,119:520~531
- [61] Wang QT, Piotrowska K, Ciemerych MA, Milenkovic L, Scott MP, Davis RW, Zernicka-Goetz M. A genome-wide study of gene activity reveals developmental signalling pathways in the preimplantation mouse embryo. *Dev Cell*, 2004, 6:133~144
- [62] Hamatani T, Carter MG, Sharov AA, Ko MS. Dynamics of global gene expression changes during mouse preimplantation development. *Dev Cell*, 2004,6:117~131

PROGRESS IN POLARITY OF THE MAMMALIAN EMBRYO DEVELOPMENT

SHI Xiao-yan, CHEN Jie, LIU Hong-lin

(College of Animal Science and Technology, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

Abstract: Mammalian embryo development is regulative — it is flexible and responsive to experimental intervention. This flexibility could be explained if embryogenesis were originally completely unbiased and disordered; order and determination of cells only arise later. Alternatively, regulative behaviour could be consistent with the embryo having some order or bias from the very beginning, with inflexibility and cell determination increasing steadily over time. Recent evidence supports the second view and indicates that the sequence and the orientations of cell divisions affect the polarity of Pre-implantation embryo development.

Key Words: Second poly body; Sperm entry position; Inner Cell Mass; Trophectoderm; Animal-Vegetal axis; Embryonic-Abembryonic axis

Received: Apr 2, 2007

Corresponding author: LIU Hong-lin, Tel: +86(252)84395278, E-mail: liuhonglin@263.net

