

DOI: 10.3724/SP.J.1005.2013.00441

## 斑马鱼原肠胚细胞运动

张霆, 莫显明

四川大学, 生物治疗国家重点实验室, 干细胞生物研究室, 成都 610041

**摘要:** 在斑马鱼原肠胚期, 细胞通过重排形成 3 个胚层: 内胚层, 中胚层和外胚层。细胞重排的过程包含了 3 种极为保守的运动形式, 即外包运动、内卷运动和集中延伸运动。其中, 脊索前板祖细胞的前部延伸对于中内胚层祖细胞的定位以及最终分化形成胚层尤为重要。脊索前板祖细胞也是目前研究体内细胞运动机制的良好模型。原肠胚期细胞运动受诸多信号通路调控, 如 Wnt/PCP 信号通路, 但细胞行为的分子机制尚不明确。目前细胞粘附和细胞骨架重排是研究斑马鱼原肠胚期细胞运动的热点之一。此外, 胚胎外组织(卵黄合胞体层)对于原肠胚细胞运动的影响也受到了更多的关注。文章主要探讨了在斑马鱼原肠胚期细胞运动过程中控制细胞行为的关键因素以及一些尚未理清的问题, 并为将来在细胞水平上构建完整的原肠运动调控分子的图谱提供参考。

**关键词:** 3 胚层; 外包运动; 内卷运动; 集中延伸运动; 前部延伸迁移; 细胞粘附; 细胞骨架重排

## Zebrafish cell movements during gastrulation

ZHANG Ting, MO Xian-Ming

Laboratory of Stem Cell Biology, State Key Laboratory of Biotherapy, Sichuan University, Chengdu 610041, China

**Abstract:** During zebrafish gastrulation, large cellular rearrangements create the formation of the three germ layers, ectoderm, mesoderm, and endoderm. This process includes three types of conserved morphogenetic movement: epiboly, involution, and convergent extension. Specially, the anterior movement of prechordal plate progenitors is essential for the location and differentiation of mesendoderm progenitors, and the prechordal plate progenitors' coherent migration is thought to be a good model to study the mechanism of cell movement *in vivo*. Gastrulation migration is known to be controlled by many signaling pathways such as Wnt/planar cell polarity signaling; however, the underlying molecular mechanism for cellular behavior remains unknown. At present, it is generally agreed that cell adhesion and cytoskeletal rearrangement are critical factors during zebrafish gastrulation cell migration. In addition, the role of extraembryonic tissue (yolk syncytial layer) during gastrulation is concerned increasingly. Here, we described the essential factors for controlling cellular behaviors and highlighted the major issues and questions that require further investigation during zebrafish gastrulation cell migration in order to provide a complete map containing all the factors for regulating gastrulation cell migration and their interactions on a cellular level.

收稿日期: 2012-12-18; 修回日期: 2012-12-31

基金项目: 国家自然科学基金项目(编号: 31171384)资助

作者简介: 张霆, 博士研究生, 专业方向: 细胞生物学。E-mail: sanjishi@126.com

通讯作者: 莫显明, 教授, 博士生导师, 研究方向: 斑马鱼胚胎发育的分子机制。E-mail: ycrzt@yahoo.com.cn

网络出版时间: 2013-1-21 15:03:01

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.1913.R.20130121.1503.001.html>

**Keywords:** three germ layers; epiboly; internalization; convergence and extension; anterior movement; cell adhesion; cytoskeletal rearrangement

脊椎动物胚胎的胚层形成期即原肠胚期, 伴随着大规模的细胞重排从而形成了 3 个胚层(Germ layers): 内胚层(Endoderm)、中胚层(Mesoderm)和外胚层(Ectoderm)。细胞重排的过程由 3 种极为保守的运动构成: 外包运动(Epiboly), 内卷运动(Involution)和集中延伸运动(Convergent extension)。此外, 组织与组织间的相互作用, 如胚胎内组织与胚胎外组织的相互联系, 也为这一时期细胞运动提供支持。两个关键的细胞行为: 细胞粘附(Cell adhesion)和细胞骨架重排(Cytoskeletal rearrangement), 以及这两个细胞行为相互间的联动与偶联, 为胚胎细胞间以及组织间提供了必要的张力与牵引力, 并在原肠胚细胞运动过程中发挥关键作用; 目前对于调控这两种细胞行为的信号有丰富的研究积累, 但是各信号通路对这两种细胞行为包括它们之间的联动与偶联的调控以及最终行使功能的效应分子尚不明确。因此, 借助于更为有效的实验技术和可操作的动物模型, 可对胚层形成时的 3 种细胞运动在细胞层面与分子层面的调控机制进行更加深入的研究。

斑马鱼(*Danio rerio*)作为模式动物在遗传及实验技术方面有着诸多优势, 是研究原肠胚期细胞运动的最佳模型。在斑马鱼发育过程中, 原肠胚期是最早出现大规模形态发生的阶段。在这一时期, 各前体细胞进行换位并在空间上形成了 3 种胚层: 内胚层, 中胚层和外胚层。实现这些形态发生过程需要细胞一系列的行为, 包括定向迁移、增殖及形态改变<sup>[1]</sup>。而在细胞重排过程中 3 种主要的运动形式分别是: 位于动物极的囊胚细胞向植物极扩散进行外包运动; 中内胚层祖细胞从表面内卷进入囊胚下方; 两侧细胞向背侧集中, 背侧细胞沿体轴延伸<sup>[2]</sup>, 这当中也包括最初内卷的脊索前板祖细胞通过细胞间粘附共同向前部延伸。脊索前板祖细胞由于其所处的位置是延伸的最前端, 它的正确定位对于最终确立 3 个胚层尤为重要。并且, 脊索前板祖细胞持续地向动物极迁移也为其后的细胞运动提供了相应的空间。对于这些运动形式, 已知有很多信号通路参

与调控, 如 Wnt/PCP、PDGF-PI3K、Eph-Ephrin、Sdf1/Cxcr4、Jak/Stat、Mtl/S1P 等信号通路<sup>[3~5]</sup>, 但这些信号通路下游靶蛋白的活动与分子作用机制仍不清楚。目前, 已有很多研究都表明细胞粘附与细胞骨架重排对于细胞的运动至关重要<sup>[6~8]</sup>, 是原肠运动细胞内调控的最终效应靶点之一。

## 1 外包运动

斑马鱼胚胎的外包运动开始于囊胚晚期, 这时的囊胚位于卵黄合胞体层(Yolk syncytial layer, YSL)之上, 由多层细胞组成。囊胚的外表面细胞形态与内部细胞有明显的差异(细胞更薄, 表面积更大), 并且细胞周期延长, 这些细胞被称为包被层(Enveloping layer, EVL)<sup>[9,10]</sup>。在这段时期, 胚胎可以分为: EVL, 内层细胞(将来形成上胚层(Epiblast)和下胚层(Hypoblast)), YSL 以及卵黄细胞(Yolk cell)。EVL 细胞的形态变化不仅使得囊胚外表面张力增加, 也促使外包运动的进行<sup>[11]</sup>。囊胚内层细胞相互穿插, 使得整个囊胚变薄, 这种大规模的细胞穿插被认为将起始整个外包运动<sup>[12]</sup>。在原肠胚早期(图 1A), EVL 的边缘细胞呈椭圆形, 排列还比较松散, 并且在 YSL 周围散在大量的肌动蛋白(Actin)。此时, EVL 与内层细胞的外包范围基本相同。当中内胚层祖细胞开始内卷的时候(图 1B), 位于 YSL 中散在的 actin 开始聚集于 EVL 的边缘形成带状, 这个 actin 环状带将进行收缩, 使得囊胚能够通过张力最大的 50%外包期(50%-epiboly)阶段<sup>[13,14]</sup>。与此同时, EVL 边缘细胞整齐排列于赤道板, 形态呈多边形。到原肠胚中后期(图 1C), YSL 中的 actin 沿 EVL 边缘形成致密的环带。这时, 大部分 EVL 细胞沿着外包运动方向被拉长, 并且 EVL 外包范围明显大于内层细胞。EVL 细胞形态的改变与 actin 的动态变化有关, 之前的研究也表明, 促使 EVL 细胞形态转变的是位于 YSL 中大量的肌球蛋白-2(Myosin-2)<sup>[13]</sup>。用 myosin2 的特异抑制剂 blebbistatin 处理斑马鱼胚胎, 会导致 actin 在 YSL 中的聚集受阻, EVL 边缘细胞形

态无法拉长, 整个外包运动阻滞。综上所述, 对于胚胎外包运动, 一个非常关键的影响因素就是 YSL, 它的形成及其功能的发挥将很大程度决定 EVL 的运动是否正常。我们的研究显示, YSL 内的细胞核分裂出现障碍, 会导致 YSL 细胞核的数量、运动与分布出现异常, 并可导致囊胚细胞的外包受阻, 严重时可使外包运动无法进行, 引起胚胎死亡<sup>[15]</sup>。之前的研究也证实, 伴随囊胚细胞的外包运动, YSL 中的细胞核也能够进行类似的外包运动<sup>[16]</sup>。由于 EVL 的边缘与 YSL 通过紧密连接的方式相互作用<sup>[13]</sup>, 因而 YSL 的外包运动又能够带动 EVL 进行运动。如果干扰 YSL 与 EVL 间的紧密连接, 也会使 EVL 因缺乏拉力而无法完成外包。具体表现为 EVL 细胞变圆, 相互之间出现空隙, 整个 EVL 的边缘呈现出规则锯齿状<sup>[17]</sup>。此外, 在 YSL 中还存在大量的微管蛋白 (Tubulin), 其定位主要有两种: 一是从 YSL 伸出, 沿动植物极方向贯穿整个卵黄胞体; 二是呈网格状与 YSL 紧密联系在一起<sup>[18]</sup>。当外包开始时, 沿动植物极方向的微管将会不断缩短<sup>[18]</sup>, 帮助 YSL 的细胞核向植物极运动。如果用药物处理原肠胚期斑马鱼胚胎破坏其 YSL 中的 tubulin 的动态变化, 将使胚胎的外包无法进行<sup>[14]</sup>。目前认为, 位于 EVL 下的内层细胞之间的相互穿插(靠近卵黄的内部细胞向靠近 EVL 的外部细胞穿插)是起始外包的条件, 因而, 介导细胞穿插的因子对于胚胎外包运动是另一个至关重要的因素。通过对 E-Cadherin 突变体 *hab* 的研究发现, 在缺乏 E-Cadherin 介导的细胞粘附的情况下, 内层细胞的穿插运动会变得紊乱无序, 由从内向外的单向有序运动变为内外双向的无序运动<sup>[19]</sup>, 并且, 由于细胞之间粘附降低, 细胞无法伸展, 也不利于细胞进行外包运动。根据这些结果, 可以充分的认定 E-Cadherin 介导的细胞粘附对于外包运动是必不可少的。虽然目前已知许多信号通道能够调控外包运动, 但对于直接介导调控这些张力纤维和粘附分子的信号通道的效应分子所知甚少。需要更进一步地研究, 以确定这些关键的调控因子。

## 2 内卷运动

当外包运动持续进行, 使得胚胎发育至 50%-epiboly 时期, 位于外包边缘的细胞向内卷入囊胚里侧, 从而使囊胚边缘增厚形成胚环(Germ ring)。随着

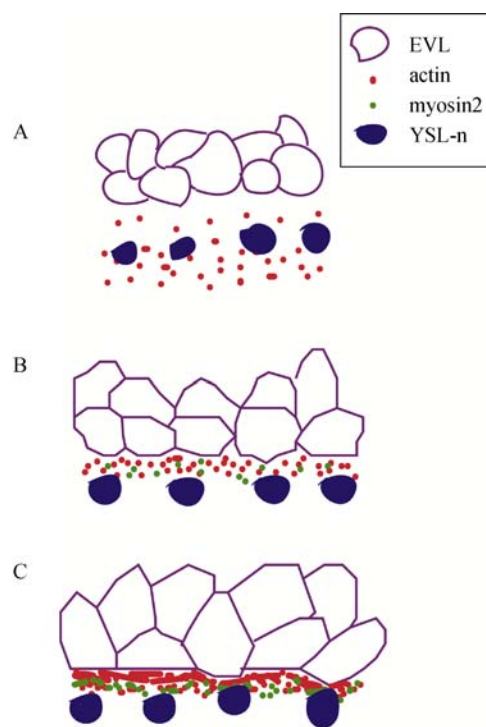


图1 斑马鱼原肠胚期外包运动过程中 EVL 与 YSL 之间的关系

A: 30%-epiboly 时期, EVL(Enveloping layer)细胞呈类似椭圆形态, YSL 四周存在大量 actin; B: 50%-epiboly 时期, EVL 细胞呈多边形, actin 与 myosin2 集中于 EVL 边缘呈环带装; C: 75%-epiboly 时期, EVL 细胞沿外包运动方向拉长并充分展开, actin 与 myosin2 呈高亮环带围绕于 EVL 边缘。

内卷运动的开始, 胚胎形成了两个相对独立的结构: epiblast(由神经外胚层和后部中胚层祖细胞构成)和 hypoblast(由前部中胚层和内胚层祖细胞组成)(图2:A~C)。根据以往的研究, 在原肠胚期阶段, epiblast 的细胞会持续进行外包运动, 而不断内卷进入其下的 hypoblast 细胞将向动物极运动<sup>[20]</sup>。通过将正常的单个细胞移植入 *oep* 突变体胚胎(体轴中内胚层形成障碍)中, 发现供体细胞仍然能够参与形成中内胚层, 其内卷运动并不会受所处 *oep* 突变体胚胎的环境影响。这表明细胞的内卷运动是相对独立的, 或者说大量的位于囊胚边缘的细胞自主进入囊胚下层形成 hypoblast<sup>[21]</sup>。然而, 细胞与细胞之间的相互作用是否会对内卷运动产生影响, 目前还需要更进一步的研究。另一个有待理清的争议是, 细胞内卷的过程是否伴随着上皮与间质相互转化(Epithelial-mesenchymal transition, EMT)的发生。在鸡胚的研究中, 背侧内卷的细胞通过 EMT 从上皮样转变为间质样特

性进而完成内卷和延伸<sup>[22]</sup>。在斑马鱼胚胎中, 有研究认为 Stat3/Liv1/Snail1a 信号通路可以调节 E-Cadherin 的表达而使背侧内卷的细胞从上皮样转化成间质样, 进而控制前部迁移(Anterior migration)<sup>[23,24]</sup>, 不过证据并不充分。另一方面, 更多的研究发现, 背侧内卷的细胞持续高表达 E-Cadherin (图 2: D, E),

暗示这些细胞并未进行 EMT 或者说 E-Cadherin 的表达不能作为判断是否进行 EMT 的标准<sup>[5,20]</sup>。

### 3 集中延伸运动

由于内卷和集中运动的协同作用, 胚胎背侧形成胚盾(shield)。在 shield 形成过程中, 最初内卷进

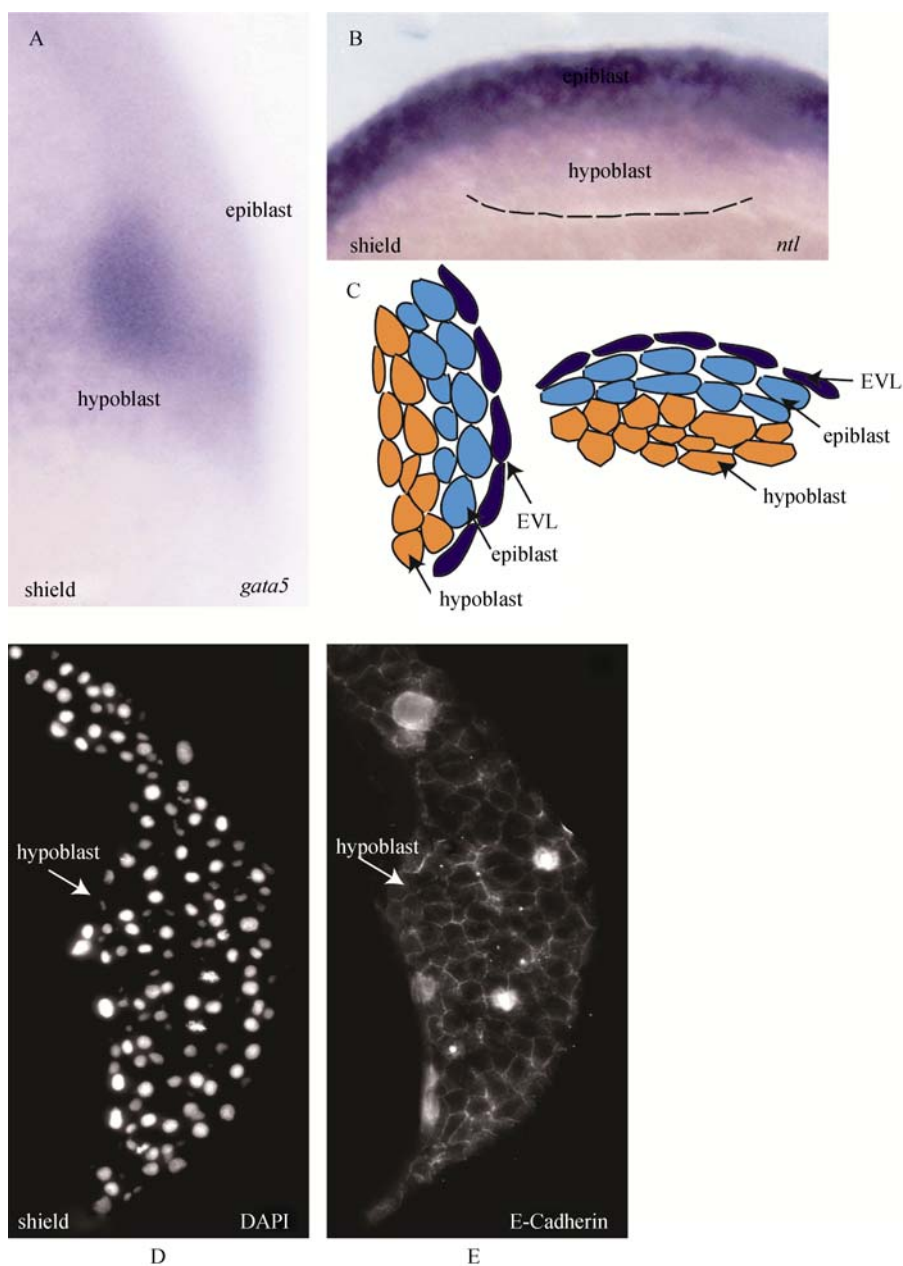


图 2 斑马鱼原肠胚期内卷运动

A: shield 时期, 细胞内卷形成 hypoblast 和 epiblast, *gata5* 表达于 hypoblast, 胚胎为侧面视角, 背侧在右边; B: shield 时期, *ntl* 表达于 epiblast, 黑色虚线勾勒出 hypoblast 范围, 胚胎为动物极视角, 背侧在顶部; C: 内卷运动形成 hypoblast 和 epiblast 的示意图。左图为侧面视角, 背侧在右边, 对应 A 图; 右图为动物极视角, 背侧在顶部, 对应 B 图; D, E: shield 期胚胎冰冻切片显示, hypoblast 高表达 E-Cadherin。



入囊胚内部的中内胚层祖细胞, 将会沿着胚胎前后轴持续向动物极迁移。位于向前延伸最前端的细胞, 将来形成脊索前板(Prechordal plate), 因而称为脊索前板祖细胞(Prechordal plate progenitor)。这群细胞通过高表达 E-Cadherin, 使相互之间连接起来形成一个整体, 向统一的方向前进<sup>[5,20]</sup>。这种整体的定向运动形式, 使细胞运动效率提高, 避免了单个细胞在运动过程中方向的偏移。脊索前板祖细胞作为延伸的最前端, 它们进行正确地运动, 才能保障紧随其后的中内胚层祖细胞进行延伸运动, 并最终正确定位形成正常的前后体轴。脊索前板祖细胞在运动过程中, 会采取 3 种不同的细胞定向的突起(Protrusion)形式, 即 lamellipodia、filopodia 和 bleb(图 3A), 这 3 种不同的细胞突起(Cellular protrusions)都与 actin 的动态变化紧密相关。如果脊索前板祖细胞相互之间的连接被破坏将导致体轴延伸出现障碍, 3 胚层无法正确形成(特别是中胚层)<sup>[25,26]</sup>。研究脊索前板祖细胞的运动, 主要分为 3 个方面: 细胞间粘附, 细胞运动能力和细胞运动方向性。目前的研究显示, Wnt11 通过 Rab5c 介导的内吞作用调节 E-Cadherin 在细胞内的动态定位, 从而控制细胞间的粘附<sup>[26]</sup>。由于脊索前板祖细胞之间通过 E-Cadherin 介导相互连接为一个整体, 并以整体形式朝统一的方向进行迁移, 因而破坏由 E-Cadherin 介导的细胞连接就会使脊索前板祖细胞的运动变得杂乱。PDGF/PI3K 信号通路能够活化细胞运动方向一侧的 GTPases 和 PH-domain proteins 使细胞产生定向的突起, 从而控制细胞的运动方向<sup>[27,28]</sup>。而 Mil/S1P 信号能够调控脊索前板祖细胞运动能力, 但它的下游效应分子仍不清楚, 有可能参与调控 PDGF/PI3K 信号通路的活性<sup>[5]</sup>。脊索前板祖细胞持续地向动物极迁移, 能够为之后的中内胚层细胞集中延伸提供足够的空间, 通过研究 *stat3* 在斑马鱼胚胎运动的作用可以证实这一点。*Stat3* 活化区域特异的位于胚胎前部, 下调 *stat3* 的表达, 导致脊索前板祖细胞前部迁移受阻, 整个胚胎前后轴缩短变宽<sup>[29]</sup>。同时, *stat3* 表达降低, 也能够引起明显的侧面中内胚层细胞(Lateral mesoderm)集中运动障碍, 并且这种作用是非细胞自主性的(Noncell-autonomous)<sup>[30]</sup>。因此, *stat3* 表达降低所导致的集中运动受阻是由于前部运动不充分未能提供足够的空间容纳大量的侧面中内胚层细胞向背侧

集中。由于脊索前板祖细胞的运动非常易于观察, 并且其前部迁移在整个原肠胚期集中延伸运动中发挥着极为重要的作用, 因此, 脊索前板祖细胞的迁移一直是研究热点。并且, 以其为模型, 可以研究体内细胞在运动过程中各信号通路、细胞骨架、细胞粘附以及细胞外环境的相互作用和相互联系。

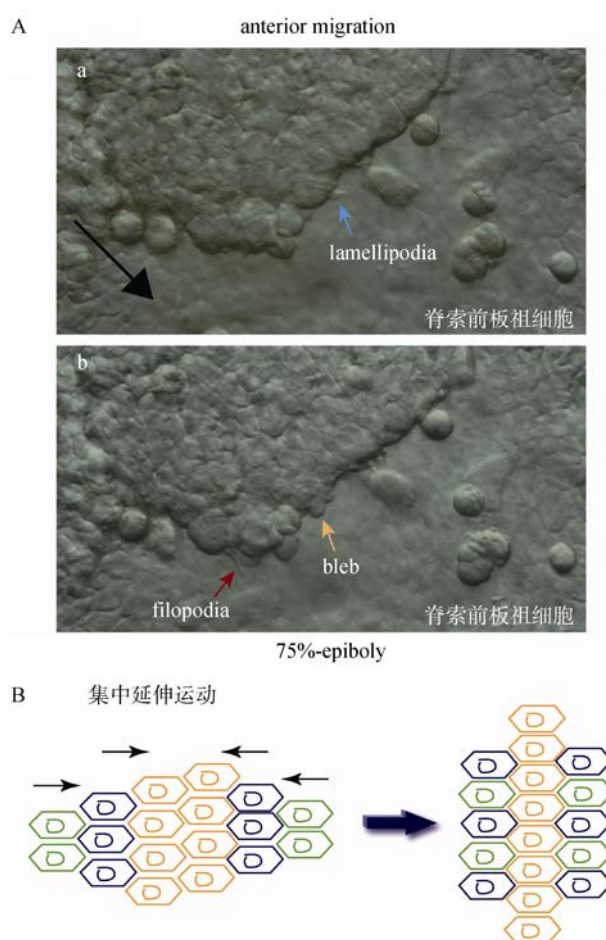


图3 斑马鱼原肠胚期集中延伸运动

A: 75%-epiboly 时期, 脊索前板祖细胞的前部迁移。在运动过程中, 细胞采取了 3 种运动形式(a 图中黑色箭头表示脊索前板祖细胞运动方向, 蓝色小箭头标示出 lamellipodia; b 图中红色小箭头标示出 filopodia 黄色小箭头标示出 bleb); B: 细胞集中延伸运动示意图。

在斑马鱼胚胎的原肠运动过程中, 伴随延伸运动的是细胞的集中运动。Epiblast 和 hypoblast 细胞均往背侧进行集中运动使体轴逐渐变窄, 而背侧细胞沿前后轴延伸使体轴延长(图 3B)。唯一不参与集中延伸运动的是 EVL, 这些细胞均匀的分布于胚胎外侧, 以后将发育成表皮<sup>[31]</sup>。在 shield 期, shield 远端的中胚层向背侧靠近形成之后的体节与侧板; 背

侧轴上的中胚层延伸形成脊索前板以及脊索<sup>[2]</sup>。一般认为腹侧的中胚层基本不会进行集中延伸运动而只是向植物极持续迁移直至原肠胚期结束<sup>[32]</sup>。细胞集中延伸运动是原肠胚期最为复杂, 时空变化最为频繁的运动形式, 诸多信号参与其中包括 Wnt/PCP、PDGF/PI3K、Sdf1/Cxcr4<sup>[4,28,33-37]</sup>。已有的研究表明, 非经典 Wnt 信号通路对于集中延伸运动是非常关键的, 非经典 Wnt 的突变体 *wnt5b/pipetail* 和 *wnt11/silberblick* 都呈现严重的细胞运动障碍<sup>[1,38]</sup>。其中 Wnt5b-Ryk 信号通路能够促进细胞定向伸出突起, 从而调控侧面细胞向背侧迁移<sup>[36]</sup>。在 PCP 信号通路中, 其核心组分 Flamingo 是一个 7 次跨膜蛋白, 当其在斑马鱼中功能缺失时会导致原肠胚集中延伸运动障碍<sup>[34,39]</sup>, 而在小鼠中敲除其同源基因也会引发神经管闭合时集中延伸样运动障碍<sup>[40]</sup>。此外, 中内胚层祖细胞在集中运动过程中也趋向通过 E-Cadherin 介导的细胞粘附以群体细胞迁移的方式共同协调地朝统一的方向运动<sup>[41]</sup>。我们的研究也显示, 除已知的信号通路外, 还存在未知的信号, 通过调控 Pnas4 蛋白的功能而调控集中延伸运动<sup>[42]</sup>; 而另一调控斑马鱼胚胎腹侧 *Wnt8* 表达的转录因子 *Kzp* 也能调控集中延伸运动, 但 *Kzp* 在这方面的调控作用与 Wnt 信号通路无关, 其靶基因还有待证实<sup>[43]</sup>。另外, 已有的文献和我们的研究也证明, YSL 与它周围的原肠胚细胞一样进行集中延伸运动, 它们之间是协调一致的<sup>[16,44]</sup>, YSL 在胚胎细胞集中延伸运动中可能提供给胚胎细胞一个运动的平面, 当这个平面的形态和大小发生变化, 可影响胚胎细胞集中延伸运动<sup>[15]</sup>, 尽管如此, YSL 在胚胎细胞集中延伸运动中的细致作用, 有待更深入的研究。此外, 细胞外基质在这一过程中也发挥着重要作用, 其正确的构筑对于中内胚层细胞定向的迁移也非常关键<sup>[45-47]</sup>, 当细胞外基质的构筑出现紊乱, 胚胎的原肠运动包括集中延伸运动会出现障碍。综合上述的结果, 可以发现原肠胚期细胞的集中延伸运动, 最大的特点是细胞之间通过 E-Cadherin 介导的粘附以细胞群体的方式进行迁移, 因而, E-Cadherin 的转录调控和细胞内定位对于细胞的集中延伸运动非常关键; 另一方面, 细胞群体的定向迁移也需要形成定向的细胞突起, 因此, actin 的动态变化也是细胞集中延伸运动的关键因素。

原肠胚期细胞运动虽然分为 3 种形式, 但是这

几种运动形式是相互协调的。任意一种运动受到阻碍, 其他的运动也会受到影响。研究体内的细胞运动, 将不仅仅是对现象的描述, 其分子机理是目前的研究热点, 而其中调控细胞粘附与细胞骨架以及胞外基质的各信号通道的最终效应分子有待探明。需要明确的是, 仅仅知道调控原肠运动的效应分子是不够的, 更为重要的是这些分子在细胞水平上特别是细胞群体水平上的效应, 才有可能提供一个完整的胚层形成时原肠运动的调控分子与细胞图谱。

#### 参考文献(References):

- [1] Solnica-Krezel L. Conserved patterns of cell movements during vertebrate gastrulation. *Curr Biol*, 2005, 15(6): R213-R228. DOI
- [2] Warga RM, Kimmel CB. Cell movements during epiboly and gastrulation in zebrafish. *Development*, 1990, 108(4): 569-580. DOI
- [3] Rohde LA, Heisenberg CP. Zebrafish gastrulation: cell movements, signals, and mechanisms. *Int Rev Cytol*, 2007, 261: 159-192. DOI
- [4] Mizoguchi T, Verkade H, Heath JK, Kuroiwa A, Kikuchi Y. Sdf1/Cxcr4 signaling controls the dorsal migration of endodermal cells during zebrafish gastrulation. *Development*, 2008, 135(15): 2521-2529. DOI
- [5] Kai M, Heisenberg CP, Tada M. Sphingosine-1-phosphate receptors regulate individual cell behaviours underlying the directed migration of prechordal plate progenitor cells during zebrafish gastrulation. *Development*, 2008, 135(18): 3043-3051. DOI
- [6] Sepich DS, Usmani M, Pawlicki S, Solnica-Krezel L. Wnt/PCP signaling controls intracellular position of MTOCs during gastrulation convergence and extension movements. *Development*, 2011, 138(3): 543-552. DOI
- [7] Barone V, Heisenberg CP. Cell adhesion in embryo morphogenesis. *Curr Opin Cell Biol*, 2012, 24(1): 148-153. DOI
- [8] Diz-Muñoz A, Krieg M, Bergert M, Ibarlucea-Benitez I, Muller DJ, Paluch E, Heisenberg CP. Control of directed cell migration in vivo by membrane-to-cortex attachment. *PLoS Biol*, 2010, 8(11): e1000544. DOI
- [9] Kimmel CB, Ballard WW, Kimmel SR, Ullmann B, Schilling TF. Stages of embryonic development of the zebrafish. *Dev Dynam*, 1995, 203(3): 253-310. DOI
- [10] Kane DA, Warga RM, Kimmel CB. Mitotic domains in the early embryo of the zebrafish. *Nature*, 1992, 360(6406): 735-737. DOI
- [11] Fink RD, Cooper MS. Apical membrane turnover is

- accelerated near cell-cell contacts in an embryonic epithelium. *Dev Biol*, 1996, 174(2): 180–189. [DOI](#)
- [12] Wilson ET, Cretekos CJ, Helde KA. Cell mixing during early epiboly in the zebrafish embryo. *Dev Genet*, 1995, 17(1): 6–15. [DOI](#)
- [13] Köppen M, Fernández BG, Carvalho L, Jacinto A, Heisenberg CP. Coordinated cell-shape changes control epithelial movement in zebrafish and *Drosophila*. *Development*, 2006, 133(14): 2671–2681. [DOI](#)
- [14] Cheng JC, Miller AL, Webb SE. Organization and function of microfilaments during late epiboly in zebrafish embryos. *Dev Dynam*, 2004, 231(2): 313–323. [DOI](#)
- [15] Zhang T, Yao SH, Wang P, Yin CR, Xiao C, Qian ML, Liu DH, Zheng LM, Meng WT, Zhu HY, Liu J, Xu H, Mo XM. ApoA-II directs morphogenetic movements of zebrafish embryo by preventing chromosome fusion during nuclear division in yolk syncytial layer. *J Biol Chem*, 2011, 286(11): 9514–9525. [DOI](#)
- [16] Carvalho L, Stühmer J, Bois JS, Kalaidzidis Y, Lecaudey V, Heisenberg CP. Control of convergent yolk syncytial layer nuclear movement in zebrafish. *Development*, 2009, 136(8): 1305–1315. [DOI](#)
- [17] Siddiqui M, Sheikh H, Tran C, Bruce AEE. The tight junction component Claudin E is required for zebrafish epiboly. *Dev Dynam*, 2010, 239(2): 715–722. [DOI](#)
- [18] Solnica-Krezel L, Driever W. Microtubule arrays of the zebrafish yolk cell: organization and function during epiboly. *Development*, 1994, 120(9): 2443–2455. [DOI](#)
- [19] Kane DA, McFarland KN, Warga RM. Mutations in *half baked*/E-cadherin block cell behaviors that are necessary for teleost epiboly. *Development*, 2005, 132(5): 1105–1116. [DOI](#)
- [20] Montero JA, Carvalho L, Wilsch-Bräuninger M, Kilian B, Mustafa C, Heisenberg CP. Shield formation at the onset of zebrafish gastrulation. *Development*, 2005, 132(6): 1187–1198. [DOI](#)
- [21] Carmany-Rampey A, Schier AF. Single-cell internalization during zebrafish gastrulation. *Curr Biol*, 2001, 11(16): 1261–1265. [DOI](#)
- [22] Nakaya Y, Sukowati EW, Wu YP, Sheng GJ. RhoA and microtubule dynamics control cell-basement membrane interaction in EMT during gastrulation. *Nat Cell Biol*, 2008, 10(7): 765–775. [DOI](#)
- [23] Yamashita S, Miyagi C, Fukada T, Kagara N, Che YS, Hirano T. Zinc transporter LIV1 controls epithelial-mesenchymal transition in zebrafish gastrula organizer. *Nature*, 2004, 429(6989): 298–302. [DOI](#)
- [24] Blanco MJ, Barrallo-Gimeno A, Acloque H, Reyes AE, Tada M, Allende ML, Mayor R, Nieto MA. Snail1a and Snail1b cooperate in the anterior migration of the axial mesendoderm in the zebrafish embryo. *Development*, 2007, 134(22): 4073–4081. [DOI](#)
- [25] Ulrich F, Concha ML, Heid PJ, Voss E, Witzel S, Roehl H, Tada M, Wilson SW, Adams RJ, Soll DR, Heisenberg CP. Slb/Wnt11 controls hypoblast cell migration and morphogenesis at the onset of zebrafish gastrulation. *Development*, 2003, 130(22): 5375–5384. [DOI](#)
- [26] Ulrich F, Krieg M, Schötz EM, Link V, Castanon I, Schnabel V, Taubenberger A, Mueller D, Puech PH, Heisenberg CP. Wnt11 functions in gastrulation by controlling cell cohesion through Rab5c and E-cadherin. *Dev Cell*, 2005, 9(4): 555–564. [DOI](#)
- [27] Merlot S, Firtel RA. Leading the way: Directional sensing through phosphatidylinositol 3-kinase and other signaling pathways. *J Cell Sci*, 2003, 116(Pt 17): 3471–3478. [DOI](#)
- [28] Montero JA, Kilian B, Chan J, Bayliss PE, Heisenberg CP. Phosphoinositide 3-kinase is required for process outgrowth and cell polarization of gastrulating mesodermal cells. *Curr Biol*, 2003, 13(15): 1279–1289. [DOI](#)
- [29] Yamashita S, Miyagi C, Carmany-Rampey A, Shimizu T, Fujii R, Schier AF, Hirano T. Stat3 controls cell movements during zebrafish gastrulation. *Dev Cell*, 2002, 2(3): 363–375. [DOI](#)
- [30] Miyagi C, Yamashita S, Ohba Y, Yoshizaki H, Matsuda M, Hirano T. STAT3 noncell-autonomously controls planar cell polarity during zebrafish convergence and extension. *J Cell Biol*, 2004, 166(7): 975–981. [DOI](#)
- [31] Kimmel CB, Warga RM, Schilling TF. Origin and organization of the zebrafish fate map. *Development*, 1990, 108(4): 581–594. [DOI](#)
- [32] Myers DC, Sepich DS, Solnica-Krezel L. Bmp activity gradient regulates convergent extension during zebrafish gastrulation. *Dev Biol*, 2002, 243(1): 81–98. [DOI](#)
- [33] Liu JX, Hu B, Wang Y, Gui JF, Xiao WH. Zebrafish *eaf1* and *eaf2/u19* mediate effective convergence and extension movements through the maintenance of *wnt11* and *wnt5* expression. *J Biol Chem*, 2009, 284(24): 16679–16692. [DOI](#)
- [34] Carreira-Barbosa F, Kajita M, Morel V, Wada H, Okamoto H, Martinez Arias A, Fujita Y, Wilson SW, Tada M. Flamingo regulates epiboly and convergence/extension movements through cell cohesive and signalling functions during zebrafish gastrulation. *Development*, 2009, 136(3): 383–392. [DOI](#)
- [35] Vervenne HBVK, Crombez KRMO, Lambaerts K, Carvalho L, Köppen M, Heisenberg CP, van de Ven WJM,

- Petit MMR. Lpp is involved in Wnt/PCP signaling and acts together with Scrib to mediate convergence and extension movements during zebrafish gastrulation. *Dev Biol*, 2008, 320(1): 267–277. [DOI](#)
- [36] Lin SD, Baye LM, Westfall TA, Slusarski DC. Wnt5b-Ryk pathway provides directional signals to regulate gastrulation movement. *J Cell Biol*, 2010, 190(2): 263–278. [DOI](#)
- [37] Nair S, Schilling TF. Chemokine signaling controls endodermal migration during zebrafish gastrulation. *Science*, 2008, 322(5898): 89–92. [DOI](#)
- [38] Rauch GJ, Hammerschmidt M, Blader P, Schauerte HE, Strahle U, Ingham PW, McMahon AP, Haffter P. Wnt5 is required for tail formation in the zebrafish embryo. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol*, 1997, 62: 227–234. [DOI](#)
- [39] Formstone CJ, Mason I. Combinatorial activity of Flamingo proteins directs convergence and extension within the early zebrafish embryo via the planar cell polarity pathway. *Dev Biol*, 2005, 282(2): 320–335. [DOI](#)
- [40] Curtin JA, Quint E, Tshipouri V, Arkell RM, Cattanach B, Copp AJ, Henderson DJ, Spurr N, Stanier P, Fisher EM, Nolan PM, Steel KP, Brown SD, Gray IC, Murdoch JN. Mutation of *Celsr1* disrupts planar polarity of inner ear hair cells and causes severe neural tube defects in the mouse. *Curr Biol*, 2003, 13(13): 1129–1133. [DOI](#)
- [41] Arboleda-Estudillo Y, Krieg M, Stühmer J, Licata NA, Muller DJ, Heisenberg CP. Movement directionality in collective migration of germ layer progenitors. *Curr Biol*, 2010, 20(2): 161–169. [DOI](#)
- [42] Yao SH, Xie LF, Qian ML, Yang HS, Zhou L, Zhou Q, Yan F, Gou LT, Wei YQ, Zhao X, Mo XM. *Pnas4* is a novel regulator for convergence and extension during vertebrate gastrulation. *FEBS Lett*, 2008, 582(15): 2325–2332. [DOI](#)
- [43] Yao SH, Qian ML, Deng SY, Xie LF, Yang HS, Xiao C, Zhang T, Xu H, Zhao X, Wei YQ, Mo XM. Kzp controls canonical *Wnt8* signaling to modulate dorsoventral patterning during zebrafish gastrulation. *J Biol Chem*, 2010, 285(53): 42086–42096. [DOI](#)
- [44] D'Amico LA, Cooper MS. Morphogenetic domains in the yolk syncytial layer of axiating zebrafish embryos. *Dev Dynam*, 2001, 222(4): 611–624. [DOI](#)
- [45] Davidson LA, Marsden M, Keller R, Desimone DW. Integrin  $\alpha_5\beta_1$  and fibronectin regulate polarized cell protrusions required for *Xenopus* convergence and extension. *Curr Biol*, 2006, 16(9): 833–844. [DOI](#)
- [46] Marsden M, DeSimone DW. Regulation of cell polarity, radial intercalation and epiboly in *Xenopus*: novel roles for integrin and fibronectin. *Development*, 2001, 128(18): 3635–3647. [DOI](#)
- [47] Marsden M, DeSimone DW. Integrin-ECM interactions regulate cadherin-dependent cell adhesion and are required for convergent extension in *Xenopus*. *Curr Biol*, 2003, 13(14): 1182–1191. [DOI](#)