

# LA PÉRIODE PRÉIMPLANTATOIRE DU DÉVELOPPEMENT DES MAMMIFÈRES: LA SOURIS EST-ELLE UN BON MODÈLE ?

## PREIMPLANTATION DEVELOPMENT IN MAMMALS : HOW RELEVANT IS THE MOUSE MODEL?

Par Véronique DURANTHON<sup>(1)</sup>  
(Communication présentée le 20 Juin 2019,  
Manuscrit accepté le 19 Novembre 2019)

### RÉSUMÉ

La connaissance des événements moléculaires et cellulaires des premières étapes du développement de l'embryon des Mammifères est indispensable à la recherche biomédicale. Les mécanismes mis en jeu, parfois très spécifiques de cette période, font aussi l'objet de nombreuses recherches fondamentales. La souris a longtemps été utilisée comme modèle unique pour l'analyse de ces stades de développement. Les mécanismes qui les régissent et les outils disponibles pour les étudier font un modèle très intéressant mais insuffisant pour représenter les embryons de tous les mammifères et en particulier l'embryon humain.

**Mots-clés :** Embryon préimplantatoire, blastocyste, modèles animaux.

### ABSTRACT

*Knowledge of the molecular and cellular events of the early stages of mammalian embryo development is essential for biomedical research. The mechanisms involved, sometimes very specific to this period, are also the subject of much basic research. The mouse has long been used as a unique model for the analysis of these stages of development. Its features and the tools available to study it make it a very interesting model, but it is insufficient to represent all mammals and in particular the human embryo.*

**Keywords:** Preimplantation embryo, blastocyst, animal models.

### INTRODUCTION

La connaissance des mécanismes qui régissent les premiers stades de développement chez les mammifères revêt une importance scientifique considérable pour au moins trois domaines d'intérêt biomédical: - la compréhension de l'origine développementale de la santé et des maladies (DOHaD pour *developmental origins of health and disease*), puisque l'environnement de l'embryon peut affecter la santé de l'individu à naître, - l'amélioration de l'efficacité et de l'innocuité des techniques de procréation médicalement assistée dont résultent 3% des naissances dans les pays occidentaux et - la médecine régénérative puisque les cellules souches embryonnaires (cellules ES) dérivées à partir de la masse cellulaire interne du blastocyste constituent un modèle de cellules pluripotentes de référence auquel sont souvent compa-

rées les cellules souches pluripotentes induites. Pour des raisons éthiques, les possibilités d'expérimenter sur l'embryon humain, bien que variables selon les pays, sont très limitées. Il convient donc d'utiliser l'embryon animal comme modèle pour étudier la période préimplantatoire du développement.

### LA PÉRIODE PRÉIMPLANTATOIRE : DES DIFFÉRENCES CONSIDÉRABLES ENTRE ESPÈCES

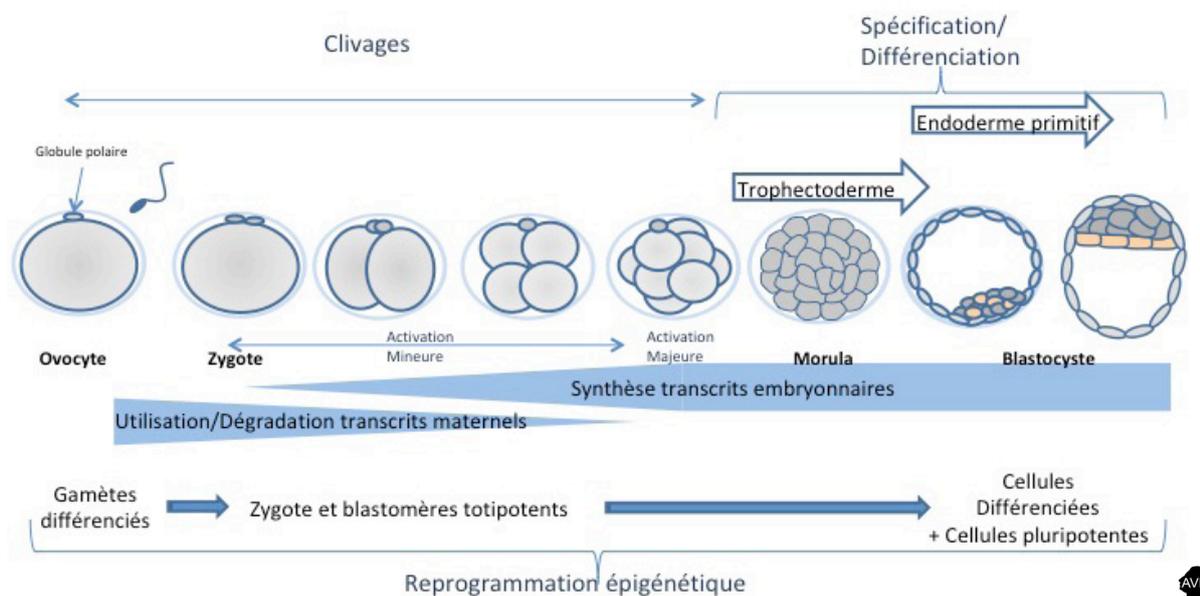
Chez les mammifères, la période préimplantatoire du développement, qui s'étend de la fécondation à l'établissement des premiers contacts avec l'endomètre maternel, est de durée très variable et non proportionnelle à la durée totale de la

(1) UMR BDR, INRA, ENVA, Université Paris Saclay, 78350, Jouy en Josas, France.  
Courriel : veronique.duranton@inra.fr

gestation. Les compartiments embryonnaire et extra-embryonnaire connaissent au cours de cette période des évolutions très différentes selon les espèces. Les embryons humains et murins s'implantent au stade blastocyste avant la gastrulation, alors que l'embryon équin s'implante en cours d'organogénèse (**tableau 1**). Le trophoblaste de l'embryon de lapin connaît une prolifération cellulaire exceptionnelle qui aboutit à la formation d'un blastocyste sphérique d'environ cinq millimètres de diamètre lors de l'implantation, alors que les tissus extra-embryonnaires des ongulés subissent une extraordinaire élongation aboutissant à des *conceptus* de plusieurs dizaines de centimètres de long lors de l'implantation. Face à une telle diversité, la pertinence de l'embryon de souris, modèle le plus couramment utilisé, qui s'implante dès 4,5 jours après la fécondation au stade blastocyste, ne peut être discutée que pour la phase de développement préimplantatoire commune à toutes les espèces de mammifères euthériens, à savoir la période s'étendant de la fécondation à la formation du blastocyste : embryon constitué de trois lignages cellulaires distincts, l'épiblaste, l'hypoblaste et le trophoblaste organisés autour d'une cavité remplie de fluide, le blastocoèle.

## LA PÉRIODE DE LA FÉCONDATION A LA FORMATION DU BLASTOCYSTE : DES CARACTÉRISTIQUES COMMUNES AUX DIFFÉRENTES ESPÈCES

Cette période restreinte de développement peut être décrite de façon simple d'un point de vue morphologique (**Figure 1**): une série de divisions cellulaires (appelées clivages) au sein d'un embryon dont le volume total reste constant précède les premiers événements morphogénétiques. Ceux-ci amorcés dès la compaction avec la mise en place des premières interactions entre cellules, sont caractérisés par la spécification, puis la différenciation des premiers lignages : que sont le trophoctoderme (ou trophoblaste) à partir duquel se développera le placenta, l'endoderme primitif (ou hypoblaste) précurseur du sac vitellin et l'épiblaste à partir duquel se développera le fœtus et certains composants des tissus extra-embryonnaires. Sur le plan moléculaire, la période est néanmoins très complexe. En effet, l'enjeu majeur de la période est la constitution, à partir des génomes hérités des gamètes, d'un nouveau génome fonctionnel et capable d'exprimer le programme d'expression génique de cellules d'abord totipotentes, puis pluripotentes ou



**Figure 1 :** La période de la fécondation à la formation du blastocyste. Schéma représentant les principaux événements cellulaires et moléculaires commentés dans cet article : reprogrammation épigénétique, activation transcriptionnelle du génome embryonnaire et premières différenciations, au cours du développement. Exemple proposé pour un embryon dont l'activation majeure du génome embryonnaire a lieu au stade 8 cellules. Sur le plan cellulaire, l'ovocyte est en métaphase II et a émis un premier globule polaire lorsqu'il est fécondé. La reprise de méiose provoquée par la fécondation entraîne l'émission du second globule polaire. Ces globules persistent pendant les premières divisions puis disparaissent : le plus souvent le premier globule émis disparaît avant le deuxième. La période fécondation – formation du blastocyste commence par une succession de divisions cellulaires dans un embryon dont le volume total reste constant : ce sont les clivages. À partir du stade 16 cellules (chez la souris), deux types de cellules au devenir distinct apparaissent : les cellules externes vont donner lieu au trophoctoderme (figuré en gris clair) alors que les cellules internes donneront la masse cellulaire interne du blastocyste (figurée en gris foncé et rose). La masse cellulaire interne est elle-même composée des cellules précurseurs de l'endoderme primitif ou hypoblaste (en rose) et de l'épiblaste (en gris foncé). Ces précurseurs sont d'abord mélangés dans une disposition dite « en poivre et sel » puis ségrègent pour former les deux lignages.

différenciées. Ceci suppose une reprogrammation épigénétique de grande ampleur, qui accompagne et contribue à l'activation transcriptionnelle progressive du génome nouvellement formé. Cette activation transcriptionnelle nécessite la gestion coordonnée de l'information maternelle stockée sous forme d'ARN et de protéines dans l'ovocyte, et dont le recrutement fonctionnel, puis l'élimination sont nécessaires à l'activation du génome embryonnaire. Une fois le génome du nouvel individu actif, sous l'influence des interactions entre cellules, différents programmes d'expression génique sont initiés qui signent la spécification, puis la différenciation des différents lignages. Ceci se fait en deux étapes : d'abord la spécification de la masse cellulaire interne et du trophoctoderme, puis celle de l'épiblaste et de l'endoderme primitif (ou hypoblaste). Cette période du développement se déroule naturellement principalement dans l'oviducte, puis dans l'utérus, mais l'on est capable de l'obtenir *in vitro*. Cette possibilité suggérait qu'elle était relativement insensible à son environnement. De façon inattendue on sait aujourd'hui qu'elle est en fait très sensible à l'environnement dans lequel elle se déroule et que celui-ci a des conséquences à long terme sur la santé et le phénotype ultérieurs de l'individu à naître. La période de la fécondation à la formation du blastocyste est donc très riche en événements moléculaires et cellulaires essentiels à la poursuite du développement et à la construction de l'individu (**Figure 1**). Elle soulève de nombreuses questions portant non seulement sur des aspects appliqués biomédicaux et agronomiques mais aussi sur des aspects très fondamentaux qui s'enrichissent mutuellement. Parmi les derniers citons la compréhension des mécanismes d'activation transcriptionnelle d'un nouveau génome, d'enregistrement de modification de l'environnement qui n'auront de conséquences que beaucoup plus tard au cours de la vie de l'individu, de spécification des premiers lignages ou au contraire de mise en place et de maintien de la pluripotence.

## LA SOURIS : UN MODÈLE QUI S'IMPOSE

La souris rassemble beaucoup des caractéristiques attendues d'une espèce modèle en biologie du développement. Elle s'élève facilement notamment à l'état de lignées *inbred* particulièrement favorables aux études de génétique et requiert peu de place en animalerie. Son coût reste très modéré par rapport aux autres animaux. Les conditions de sa reproduction sont très favorables : une gestation de 19 à 21 jours selon les lignées et une puberté observée vers l'âge de six semaines en font un mammifère à intervalle de génération particulièrement court. Les protocoles de stimulation ovarienne sont bien maîtrisés et pour la plupart des fonds génétiques permettent d'obtenir en moyenne 20 embryons par femelle. La cinétique du développement est suffisamment répétable pour obtenir, à intervalle fixe après super-ovulation et accouplement, des embryons au stade de développement préimplantatoire souhaité. Enfin, les embryons de la plupart des lignées se développent très bien *in vitro* jusqu'au stade blastocyste et peuvent être aisément transférés dans l'oviducte ou l'utérus (selon leur stade) de femelles receveuses pseudo-gestantes

pour poursuivre leur développement. Le modèle souris bénéficie également d'un génome pratiquement entièrement séquencé et très bien annoté, de la création de consortiums internationaux pour l'annotation fonctionnelle de ce génome notamment par la création systématique de cellules ES Knockout pour chaque gène du génome (*International Knock-out Mouse Consortium IKMC*) et pour le phénotypage des souris mutantes (*International Mouse Phenotyping Consortium IMPC*). De plus, l'utilisation de lignées de souris transgéniques permet de réaliser des knock-out conditionnels et de supprimer spécifiquement un ARN maternel du stock des transcrits hérités par l'embryon pour étudier le rôle du transcrit maternel ciblé dans les premières étapes du développement (Lewandoski *et al.* 1997). Au cours des trois dernières décennies, l'intérêt pour la biologie moléculaire du développement et la disponibilité des cellules ES (non disponibles chez les autres mammifères) ont installé pour longtemps la souris comme principal, voire comme unique modèle de biologie du développement, pour répondre aux questions fondamentales. Seules les questions liées aux biotechnologies de l'embryon humain et des espèces d'intérêt agronomique étaient traitées dans leurs espèces respectives. Bénéficiant également du développement des techniques de micromanipulation de l'embryon, d'imagerie et de biologie moléculaire sur faibles quantités de matériel, le modèle souris a permis l'acquisition d'une connaissance détaillée des mécanismes du développement préimplantatoire et il était implicitement admis, que ces mécanismes, mis en évidence chez la souris, étaient valables pour le développement de tous les mammifères.

## LA SOURIS : UN MODÈLE INSUFFISANT

La difficulté, chez les espèces non murines, à dériver des cellules embryonnaires souches de type ES en utilisant les protocoles établis chez la souris suggérait pourtant que des différences de mécanismes de maintien de la pluripotence pouvaient exister entre espèces. C'est seulement en 2011, que deux études s'intéressant respectivement à la différenciation du trophoctoderme chez le bovin (Berg *et al.* 2011) et à l'inactivation du chromosome X dans les embryons femelles chez le lapin et l'homme (Okamoto *et al.* 2011), ont ébranlé la conviction selon laquelle la souris pouvait à elle seule représenter l'ensemble des mammifères (euthériens). Nous détaillons dans la suite de cet article quelques exemples de mécanismes ou caractéristiques de l'embryon décrits chez la souris, et qui ne semblent pas s'appliquer aux autres mammifères.

### L'activation transcriptionnelle du génome embryonnaire et la transition materno-embryonnaire associée.

Le génome des gamètes est transcriptionnellement inactif depuis la fin des gamétogenèses mâle et femelle. Ces génomes restent inactifs dans les toutes premières heures qui suivent la fécondation. Ils évoluent d'abord séparément au sein des pronoyaux paternel et maternel et ne fusionnent que juste avant

la première division mitotique. L'activation transcriptionnelle du génome embryonnaire est un phénomène progressif pour lequel on distingue deux phases. La phase majeure, qui coïncide avec une forte augmentation de la synthèse de transcrits et du nombre de gènes transcrits, est caractérisée par le fait que son inhibition entraîne un arrêt du développement de l'embryon. Cet arrêt se produit de façon très répétable toujours au même stade de développement pour les embryons d'une espèce donnée (**Tableau 1**). Elle se produit exceptionnellement tôt, au stade deux cellules, chez la souris. Cette phase majeure est précédée par une phase dite d'activation mineure au cours de laquelle la transcription se fait à très faible niveau, sur l'ensemble du génome (régions géniques et intergéniques) et de façon non régulée par les séquences habituelles de début et de fin de transcription. Au cours de cette phase, la plupart des transcrits synthétisés pourraient ne pas être fonctionnels mais la transcription elle-même pourrait contribuer à la mise en place des structures chromatiniennes qui permettront ensuite une transcription régulée (Abe *et al*, 2015). Cette phase est de courte durée chez la souris, elle commence en phase S du stade une cellule et se termine au stade deux cellules précoce. Chez les autres espèces, cette phase est plus longue et couvre une grande partie des stades de clivage. Les perturbations de l'environnement embryonnaire pendant les clivages pourraient donc avoir des effets différents chez la souris, dont l'embryon dès le stade deux cellules est en capacité de répondre par une transcription finement régulée, et chez les autres mammifères qui sont plus longtemps privés de cette capacité de réponse. L'activation transcriptionnelle du génome embryonnaire nécessite la dégradation régulée de l'information maternelle stockée dans l'ovocyte au cours de l'ovogénèse. Une large part de cette dégradation est régulée par des facteurs eux aussi maternels. Ces facteurs induisent des modifications post-transcriptionnelles des transcrits maternels et/ou modifient leurs interactions avec les protéines maternelles qui assuraient leur stabilité depuis leur transcription en cours d'ovogénèse jusqu'à leur recrutement pour traduction en cours de maturation ovocytaire ou au tout début du développement. Toutefois, une autre part de cette dégradation est due à des facteurs transcrits à partir du génome embryonnaire tout nouvellement actif. En particulier, chez toutes les espèces modèles (Drosophile, Poisson Zèbre, Xénope), des petits ARN non codants de type miRNA,

transcrits à partir du génome embryonnaire, participent à cette dégradation nécessaire à la poursuite du développement. Curieusement, chez la souris, l'inactivation de la voie de synthèse des miRNA est sans effet sur le développement (Suh *et al.* 2010). Les miRNAs ne sont donc pas impliqués dans la régulation de cette dégradation. Cette particularité pourrait être propre à la souris et au rat. En effet elle se trouve corrélée à la présence chez ces deux espèces d'une forme ovocytaire de l'enzyme Dicer, liée à une insertion rétrovirale récente dans le génome, forme particulièrement efficace pour la production d'une autre classe de petits ARN non codants, les siRNA (*small interfering RNAs*), qui assumeraient la fonction attribuée aux miRNA dans les autres espèces (Flemer *et al.* 2013). Ainsi le modelage du génome par des insertions rétrovirales récentes peut entraîner des différences dans les modes de régulation d'étapes aussi essentielles au développement que l'élimination des transcrits maternels et l'activation du génome.

### L'inactivation du chromosome X : un exemple d'évènement épigénétique majeur

Parmi les processus épigénétiques mis en place très tôt au cours du développement, l'inactivation du chromosome X dans les embryons femelles n'a longtemps été étudiée que chez la souris. Dans cette espèce, ce phénomène est soumis à empreinte parentale et seul le chromosome X paternel est inactivé au cours des clivages. Cette inactivation qui assure très tôt une compensation de dosage génique entre embryons mâles et femelles, est maintenue dans les tissus extra-embryonnaires alors qu'elle est annulée dans l'embryon lui-même avant d'y être remplacée par une inactivation aléatoire. L'inactivation précoce du chromosome X paternel est due à l'accumulation d'un long ARN non codant *Xist* exprimé de façon monoallélique par ce chromosome. De façon tout à fait surprenante, chez les autres mammifères étudiés (homme, lapin, bovin) l'inactivation du chromosome X est plus tardive. Il a été montré chez l'homme et le lapin que la régulation de cette inactivation ne fait pas appel à l'empreinte parentale. Chez ces espèces, le gène *XIST* est exprimé de façon biallélique et cette expression n'entraîne pas, au cours des clivages, l'inactivation des chromosomes qui l'expriment (Okamoto *et al.* 2011). Chez l'homme spécifiquement un autre transcrit non codant, *XACT*, s'accumule sur les chromosomes X actifs et pourrait contrebalancer l'effet de *XIST* (Vallot *et al.* 2017). L'insertion récente d'une

Espèce	Durée phase préimplantatoire (en jours)	Stade de développement atteint à l'implantation	Stade de l'activation majeure du génome	Durée totale gestation (en jours)
Souris	4,5	blastocyste	2 cell.	19-21
Lapin	6,5	gastrulation	8 cell.	30
Homme	6,5	blastocyste	4-8 cell.	280
Porc	13-14	gastrulation	4 cell.	115
Mouton	15	neurulation	8-16 cell.	145
Bovin	20	neurulation	8 cell.	280
Cheval	30	organogénèse	4-8 cell.	330

**Tableau 1 :** Durée de la phase préimplantatoire, stade de développement atteint lors de l'implantation, stade de l'activation transcriptionnelle majeure du génome, et durée de gestation chez différentes espèces de mammifères euthériens.

séquence LTR (*Long Terminal Repeat*) d'origine rétrovirale dans la région 5' de *XACT* chez l'homme (et le chimpanzé) pourrait expliquer la transcription de ce gène et la mise en place d'un mécanisme de régulation de l'inactivation du X qui lui est propre. Là encore, le modèle souris s'avère non représentatif des autres mammifères euthériens.

### La différenciation du trophoctoderme

La différenciation du trophoctoderme à partir des cellules externes de la morula est très finement décrite chez la souris. Elle repose sur la restriction progressive de l'expression des gènes codant pour deux facteurs de transcription : les gènes *Oct4* et *Cdx2* dans les cellules de la masse cellulaire interne (ICM) et du trophoctoderme, respectivement. L'expression de chacun de ces gènes entraîne au sein des cellules, la mise en place de réseaux de régulation de gènes qui assurent l'identité des cellules engagées soit vers l'ICM soit vers le trophoctoderme. L'antagonisme entre ces deux gènes, primordial dans l'embryon de souris, ne semble pas conservé chez les autres mammifères. En effet, l'expression du gène *CDX2* chez l'homme et le lapin apparaît après la formation du trophoctoderme alors qu'elle est nécessaire à la formation du trophoctoderme chez la souris (Niakan & Eggan, 2013; Chen *et al.* 2012). L'expression du gène *OCT4*, absente du trophoctoderme de souris, y est maintenue chez la plupart des espèces non murines (Chen *et al.* 2012; Khan *et al.* 2012). Chez l'homme par exemple, l'expression des gènes *OCT4* et *CDX2* ne devient exclusive qu'à partir du jour 6, soit beaucoup plus tard que dans le blastocyste de souris. Les régions de fixation de ces facteurs de transcription en amont des gènes dont ils régulent l'expression sont peu conservées entre mammifères. Ainsi, la protéine *CDX2* interagit avec l'*enhancer* du gène *Oct4* chez la souris pour réprimer ce gène, mais pas chez le bovin (Berg *et al.* 2011). Par contre, dans l'embryon de primate, le gène *GATA3* est capable de réprimer le gène *OCT4* et d'induire la différenciation trophoctodermique. Il constitue donc un bon gène candidat pour la spécification du trophoctoderme et pourrait jouer le rôle joué par le gène *Cdx2* chez la souris (Krendl *et al.* 2017).

### Le métabolisme embryonnaire

Des différences importantes du métabolisme de l'embryon sont également relevées entre espèces. Les concentrations en réserves lipidiques sont six fois plus élevées dans l'ovocyte de porc que dans celui de souris (Leese, 2012). L'embryon de souris au cours des premiers clivages est incapable de métaboliser le glucose et

requiert du pyruvate notamment car il n'exprime pas d'activité hexokinase, ce qui n'est pas le cas des autres espèces. De plus, les acides aminés ne sont pas indispensables au développement *in vitro* de l'embryon de souris, alors qu'ils le sont pour le lapin et l'humain (Kane, 1987). Les activités enzymatiques mesurées dans l'ovocyte humain et de souris peuvent être différentes (Chi *et al.* 1988). Ces différences, peu explorées au cours des dernières décennies, gagneraient à être prises en considération pour aborder les questions relatives à l'influence de l'environnement de l'embryon sur la santé de l'individu à naître.

### CONCLUSIONS

La souris, du fait de ses capacités de reproduction et de la puissance des outils d'analyse dont elle bénéficie constitue un modèle incontournable pour étudier la période de la fécondation à la formation du blastocyste. Il apparaît néanmoins que les mécanismes mis en évidence peuvent guider la recherche chez les autres espèces mais ne sauraient en aucun cas être *a priori* généralisés à tous les mammifères. Une prise de conscience de ses particularités apparaît progressivement avec un regain d'intérêt pour les analyses comparatives. Les recherches fondamentales sur l'embryon des autres espèces bénéficient du séquençage d'un grand nombre de génomes et de leur annotation, de l'analyse par séquençage haut débit des transcriptomes et, plus récemment, des analyses moléculaires sur cellules uniques ; en outre, la mise en œuvre des techniques de réécriture du génome (*genome editing*) par utilisation de *CrispR/Cas9* ouvre la voie à la génomique fonctionnelle du développement chez les espèces non rongeurs pour lesquelles les cellules ES ne sont pas disponibles (Fogarty *et al.*, 2017). L'intérêt des études portant sur l'embryon d'autres espèces commence à être reconnu par la communauté scientifique, mais elles se heurtent aux problèmes de disponibilité et de coût des embryons et aux délais de développement qui les rendent beaucoup plus lentes que celles menées chez la souris. Le plus souvent elles sont menées par comparaison avec la souris, ce qui les rend hélas moins attrayantes pour leur valorisation en terme de publication et constitue un frein à leur développement. Au-delà de la question du choix du modèle en terme d'espèce, cette recherche pour l'instant ne peut se passer d'expérimentation animale, ce qui constitue un nouvel obstacle dans le contexte sociétal actuel. La possibilité de contourner à l'avenir cet obstacle par l'utilisation d'embryoïdes reste à étudier, mais cette étude ne peut être menée que chez la souris, tant que des cellules souches embryonnaires de qualité ne sont pas disponibles chez les autres espèces.

## BIBLIOGRAPHIE

- Abe KI, Yamamoto R, Franke V, Cao M, Suzuki Y, Suzuki MG *et al.* The first murine zygotic transcription is promiscuous and uncoupled from splicing and 3' processing. *EMBO J.* 2015; 34: 1523–37.
- Berg DK, Smith CS, Pearton DJ, Wells DN, Broadhurst R, Donnison M *et al.* Trophectoderm lineage determination in cattle. *Dev Cell* 2011; 20: 244–55.
- Chen C-H, Xu J, Chang W-F, Liu C-C, Su H-Y, Chen YE *et al.* Dynamic profiles of Oct-4, Cdx-2 and acetylated H4K5 in in-vivo-derived rabbit embryos. *Reprod Biomed Online* 2012; 25: 358–70.
- Chi MM, Manchester JK, Yang VC, Curato AD, Strickler RC, Lowry OH. Contrast in levels of metabolic enzymes in human and mouse ova. *Biol Reprod.* 1988; 39: 295–307.
- Flemr M, Malik R, Franke V, Nejepska J, Sedlacek R, Vlahovicek K *et al.* A retrotransposon-driven dicer isoform directs endogenous small interfering RNA production in mouse oocytes. *Cell* 2013;155: 807–16.
- Fogarty NME, McCarthy A, Snijders KE, Powell BE, Kubikova N, Blakeley P *et al.* Genome editing reveals a role for OCT4 in human embryogenesis. *Nature* 2017;550: 67–73.
- Kane MT. Minimal nutrient requirements for culture of one-cell rabbit embryos. *Biol Reprod.* 1987; 37: 775–8.
- Khan DR, Dubé D, Gall L, Peynot N, Ruffini S, Laffont L *et al.* Expression of pluripotency master regulators during two key developmental transitions: EGA and early lineage specification in the bovine embryo. *PLoS ONE* 2012; 7: e34110.
- Krendl C, Shaposhnikov D, Rishko V, Ori C, Ziegenhain C, Sass S *et al.* GATA2/3-TFAP2A/C transcription factor network couples human pluripotent stem cell differentiation to trophectoderm with repression of pluripotency. *Proc Natl Acad Sci. USA* 2017;114: E9579–88.
- Leese HJ. Metabolism of the preimplantation embryo: 40 years on. *Reproduction* 2012; 143: 417–27.
- Lewandoski M, Wassarman KM, Martin GR. Zp3-cre, a transgenic mouse line for the activation or inactivation of loxP-flanked target genes specifically in the female germ line. *Curr Biol.* 1997;7: 148–51.
- Niakan KK & Eggan K. Analysis of human embryos from zygote to blastocyst reveals distinct gene expression patterns relative to the mouse. *Dev Biol.* 2013;375: 54–64.
- Okamoto I, Patrat C, Thépot D, Peynot N, Fauque P, Daniel N *et al.* 2011. Eutherian mammals use diverse strategies to initiate X-chromosome inactivation during development. *Nature* 2011;472: 370–4.
- Suh N, Baehner L, Moltzahn F, Melton C, Shenoy A, Chen J *et al.* MicroRNA function is globally suppressed in mouse oocytes and early embryos. *Curr Biol.* 2010 ; 20(3):271-7
- Vallot C, Patrat C, Collier AJ, Huret C, Casanova M, Liyakat Ali TM *et al.* XACT Noncoding RNA Competes with XIST in the Control of X Chromosome Activity during Human Early Development. *Cell Stem Cell* 2017; 20: 102–11.