

斑马鱼胚胎发育过程中*FGF3*基因的表达

贾聪聪¹ 张小晶¹ 黄陈平^{1*} 林林¹ 赵淑江¹ 靳大庆²⁽¹温州医学院环境与公共卫生学院, 温州 325035; ²温州医学院水域科学与环境生态研究所, 温州 325035)

摘要 为了解斑马鱼胚胎发育过程中*FGF3*基因的时空性表达情况, 并探讨其对胚胎发育的调控作用, 该研究分别提取2, 4, 8, 12, 24, 36, 48, 72 hpf斑马鱼胚胎的总RNA, 经逆转录成cDNA, 实时荧光定量PCR检测*FGF3*基因mRNA表达量; 扩增*FGF3*基因特异片段, 构建pGEM-T/*FGF3*基因片段重组质粒, 经克隆及测序验证后, 合成地高辛标记的反义RNA探针, 以整体原位杂交法检测斑马鱼胚胎*FGF3*基因的空间性表达。结果显示:*FGF3*基因在2 hpf胚胎就有表达, 并持续至胚胎孵化, 12 hpf胚胎*FGF3*表达量达到高峰($P < 0.01$); 胚胎发育过程中*FGF3*表达部位以头、尾、咽弓为主。由此得出结论,*FGF3*主要在胚胎发育早期表达, 其表达可能与胚胎脑、眼、耳、咽弓及尾部器官的发育调控有关。

关键词 斑马鱼; 胚胎发育; 成纤维细胞生长因子3; 实时荧光定量PCR; 整体原位杂交

成纤维细胞生长因子(fibroblast growth factors, FGFs)是由多个生物学结构相似的多肽生长因子组成的家族, 广泛分布于多细胞生物体中, 主要通过受体酪氨酸激酶(RTKs)介导的信号通路参与调控细胞增殖、迁移、分化、凋亡等过程^[1-2]。目前, 已鉴定出斑马鱼FGFs有27个成员(其中5个为旁系同源), 人和鼠FGFs各有22个, 脊椎动物FGFs之间有着高度的同源性, 按进化及功能可归类为7个亚族, FGF3/7/10/22属同一亚族^[1,3]。在脊椎动物胚胎发育过程中, 有研究显示FGF3参与多个器官的发育调控^[4-6], 但现有研究还仅局限于FGF3对胚胎某个发育阶段或器官的调控作用, 尚无关于其在胚胎发育全程中整胚时空性表达的研究报道。本文采用实时荧光定量PCR和整体原位杂交技术, 研究模式生物斑马鱼胚胎发育过程中*FGF3*基因mRNA时空性表达的情况, 旨在从整体的角度探讨其对胚胎发育的调控作用。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 野生型AB品系斑马鱼引自美国俄勒冈州立大学, 按斑马鱼工具书^[7]描述的方法进行养殖。取健康、性成熟的斑马鱼, 于饲养系统关灯前按雌雄1: 2的比例放入孵化器内, 次晨给光后完成交配和产卵, 收集、挑选正常发育的胚卵, 放入含胚胎培养液的培养皿中, 置于(28±1) °C光照培养箱内孵养, 保持光周期为明14 h: 暗10 h。

1.1.2 主要试剂 TRIzol试剂、PCR产物试剂盒、DNA纯化试剂盒、小量质粒抽提和胶回收试剂盒购于碧云天生物技术研究所; 荧光定量PCR试剂盒(DRR041A)及RT-PCR试剂购于宝生物工程公司; 限制性内切酶*Not I*购于NEB公司; pGEM-T载体、T4 DNA连接酶购于Promega公司; 地高辛探针标记试剂盒、SP6聚合酶、T7聚合酶购于Roche公司。

1.2 方法

1.2.1 总RNA提取及cDNA合成 分别收集发育至2, 4, 8, 12, 24, 36, 48, 72 hpf(hours post fertilization, 受精后小时)斑马鱼胚胎各35枚, 剥除卵膜后, 用TRIzol法提取各自总RNA, 核酸蛋白仪检测 D_{260}/D_{280} 值在1.8~2.2范围内。提取的总RNA经反转录合成cDNA, 反应条件为: 37 °C, 15 min; 85 °C, 5 s。cDNA置于-20 °C保存备用。

1.2.2 实时荧光定量PCR检测*FGF3*基因mRNA表达量 根据斑马鱼*FGF3*(Gene ID: 30549)的cDNA序列, 设计荧光定量PCR引物, 上游引物为: 5'-GTG GCA ATC AAG GGA CTG TT-3', 下游引物为: 5'-GCC GTG ATG CAT AAG TGT TG-3'。以 β -actin基因作为内参对照, 上游引物为: 5'-ATG GAT GAG GAA ATC GCT GCC-3', 下游引物为: 5'-CTC CCT GAT GTC TGG GTC GTC-3'。根据荧光定量PCR试剂盒操作步骤,

收稿日期: 2011-11-04 接受日期: 2012-01-18

国家自然科学基金(No.30972509)资助项目

*通讯作者。Tel: 0577-86689901, E-mail: wzhcp@263.net

用ABI 7500定量PCR仪对斑马鱼胚胎发育过程主要时间点*FGF3*基因mRNA表达量进行检测。反应条件: 预变性, 95 °C, 30 s; PCR反应, 95 °C, 3 s; 60 °C, 30 s; 循环40次。每个标本共进行3批次检测, 同批次检测设3个复孔, 分别计算同一样本3个复孔的 C_t 均值, 以同一样本中的 β -actin C_t 值作为内参, 以2 hpf胚胎标本为基准, 设其 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 为1, 按公式: $2^{-[(\text{检测组} FGF3 C_t - \text{检测组} \beta\text{-actin } C_t) - (\text{基准组} FGF3 C_t - \text{基准组} \beta\text{-actin } C_t)]}$ 分别计算各组 $2^{-\Delta\Delta C_t}$, 用以表示其*FGF3*基因mRNA相对表达量。

1.2.3 pGEM-T/*FGF3*基因片段重组质粒的构建

设计*FGF3*基因特异片段扩增引物, 上游引物为: 5'-AGC GGC GAG ATG CTG GTG GA-3', 下游引物为: 5'-TGG AGG AGG CTG GGT GGT TG-3', 扩增片段长度为353 bp。以cDNA为模板, 进行目的基因的扩增, PCR反应条件为: 94 °C, 预变性3 min; 94 °C, 变性30 s; 60 °C, 退火30 s; 72 °C, 延伸1 min; 循环30次。取10 μ L PCR产物, 1%琼脂糖凝胶电泳检测, 拍照记录。将扩增的*FGF3*片段连接pGEM-T载体, 转化DH5 α 感受态细胞, 用氨苄西林培养板培养, 经筛选、克隆及质粒抽提, 送公司(上海桑尼)测序。

1.2.4 *FGF3* RNA探针的制备 根据pGEM-T载体的多克隆位点和pGEM-T/*FGF3*重组质粒的测序结果, 选用限制性内切酶*Not I*酶切质粒, 经T7 RNA聚合酶体外转录合成地高辛标记的反义RNA探针, 经纯化回收, 保存于-20 °C备用。

1.2.5 整体原位杂交法检测胚胎*FGF3*基因mRNA的表达部位 挑取发育至8, 12, 24, 36, 48, 72 hpf的斑马鱼胚胎, 经脱膜、固定、脱水, 按照Thisse等^[8]报道的整胚原位杂交方法进行操作, 以不含探针的杂

交液处理胚胎作为空白对照, 显色后胚胎置于100%甘油中, 用体视显微镜(Nikon SMZ1500)观察并拍照记录。

1.2.6 统计分析方法 用统计软件SPSS 14.0进行数据分析, 计量资料多组间比较采用单因素方差分析, 进一步检验后多重比较用LSD法。

2 结果

2.1 斑马鱼胚胎发育过程中*FGF3*基因mRNA动态表达水平

实时荧光定量PCR检测斑马鱼胚胎发育各主要时点*FGF3*基因荧光信号 C_t 值, 以2 hpf胚胎测定值为基准, 得到其它各时点*FGF3*基因mRNA相对表达量。*FGF3*在2 hpf斑马鱼胚胎就有表达, 之后*FGF3*表达量逐渐增多, 在12 hpf时达到高峰($P < 0.01$), 24~72 hpf *FGF3*表达量略高于基准值, 除12 hpf外, 其余各时点*FGF3*表达量间差别均无统计学意义(表1和图1)。

2.2 *FGF3*基因片段PCR产物凝胶电泳结果

以斑马鱼胚胎cDNA为模板, 扩增*FGF3*基因片段, 凝胶电泳结果呈现单一的条带, 大小与预期结果(353 bp)相符(图2)。

2.3 pGEM-T/*FGF3*基因片段重组质粒的鉴定结果

pGEM-T/*FGF3*基因片段重组质粒测序结果经比对, 其31~384 bp的基因序列与基因库中斑马鱼*FGF3*基因的cDNA序列100%匹配(图3)。

2.4 *FGF3*基因mRNA空间表达情况

用地高辛标记的*FGF3*反义RNA探针分别对8, 12, 24, 36, 48, 72 hpf斑马鱼胚胎进行整体原位杂交,

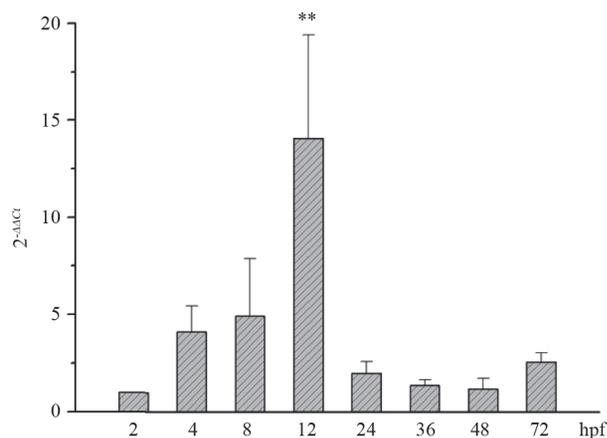
表1 斑马鱼胚胎不同发育阶段*FGF3*基因mRNA的表达水平

Table 1 *FGF3* mRNA levels at different stages of zebrafish embryonic development as quantified by Real-time Q-PCR

受精后小时数	<i>FGF3</i> C_t 值	β -actin C_t 值	$2^{-\Delta\Delta C_t}$
hpf	<i>FGF3</i> C_t value	β -actin C_t value	$2^{-\Delta\Delta C_t}$
2	29.21±0.95	20.00±0.38	1.00
4	27.74±0.85	20.39±0.30	4.13±1.32
8	27.70±0.25	20.22±0.17	4.94±2.96
12	26.21±0.66	20.58±0.34	14.08±5.33**
24	27.79±0.53	19.44±0.24	2.00±0.61
36	28.06±0.76	19.24±0.55	1.38±0.29
48	28.04±0.55	18.87±0.51	1.23±0.53
72	27.55±0.37	19.64±0.28	2.58±0.48

数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示, ** $P < 0.01$, 与其它组比较。

Values are means±SE. ** $P < 0.01$ vs other groups of $2^{-\Delta\Delta C_t}$.

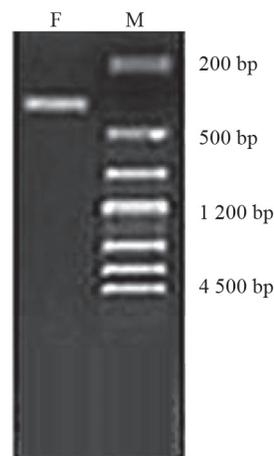


数据用 $\bar{x}\pm s_x$ 表示, ** $P<0.01$, 与其它组比较。

Values are means \pm SE. ** $P<0.01$ vs the other groups.

图1 斑马鱼胚胎不同发育阶段*FGF3*基因mRNA的表达水平

Fig.1 *FGF3* mRNA levels at different stages of zebrafish embryonic development as quantified by Real-time Q-PCR



F: *FGF3*基因片段; M: DNA分子量标准。

F: *FGF3* gene fragment; M: DL 2 000 DNA marker.

图2 *FGF3*基因PCR扩增片段电泳图

Fig.2 Electrophoretic analysis of *FGF3* gene fragment by PCR

```

31  AGCGGCGAGATGCTGGTGGACGCGGGGGTTTACGAGCACCTCGGAGGAGCTCCAAGAC  90
   |||
170 AGCGGCGAGATGCTGGTGGACGCGGGGGTTTACGAGCACCTCGGAGGAGCTCCAAGAC  229
   |||
91  GTAGGAAACTTTACTGCGCCACAAAATATCATTTGCAAATTCACCCGAACGGGAAAAATAG  150
   |||
230 GTAGGAAACTTTACTGCGCCACAAAATATCATTTGCAAATTCACCCGAACGGGAAAAATAG  289
   |||
151 ACGGATCTCTTGAAGAAAACAACCCTTTAAGTATACTCGAGATCACAGCCGTCGATGTTG  210
   |||
290 ACGGATCTCTTGAAGAAAACAACCCTTTAAGTATACTCGAGATCACAGCCGTCGATGTTG  349
   |||
211 GTGTGGTGGCAATCAAGGGACTGTTTTTCGGGAAGATACCTGGCTATGAATGAGAAAAGGAC  270
   |||
350 GTGTGGTGGCAATCAAGGGACTGTTTTTCGGGAAGATACCTGGCTATGAATGAGAAAAGGAC  409
   |||
271 GTCCTCTATGCTTCAGAAAGTCTTCAACCGAGAGTGTGAGTTTCTGGAGCGCATTCATGAGC  330
   |||
410 GTCCTCTATGCTTCAGAAAGTCTTCAACCGAGAGTGTGAGTTTCTGGAGCGCATTCATGAGC  469
   |||
331 TAGGCTACAACACTTATGCATCACGGCACCATGCAACCACCCAGCCTCCTCCAA  384
   |||
470 TAGGCTACAACACTTATGCATCACGGCACCATGCAACCACCCAGCCTCCTCCAA  523
    
```

31~384: pGEM-T/*FGF3*中*FGF3*基因片段序列; 170~523: 斑马鱼*FGF3*基因cDNA序列。

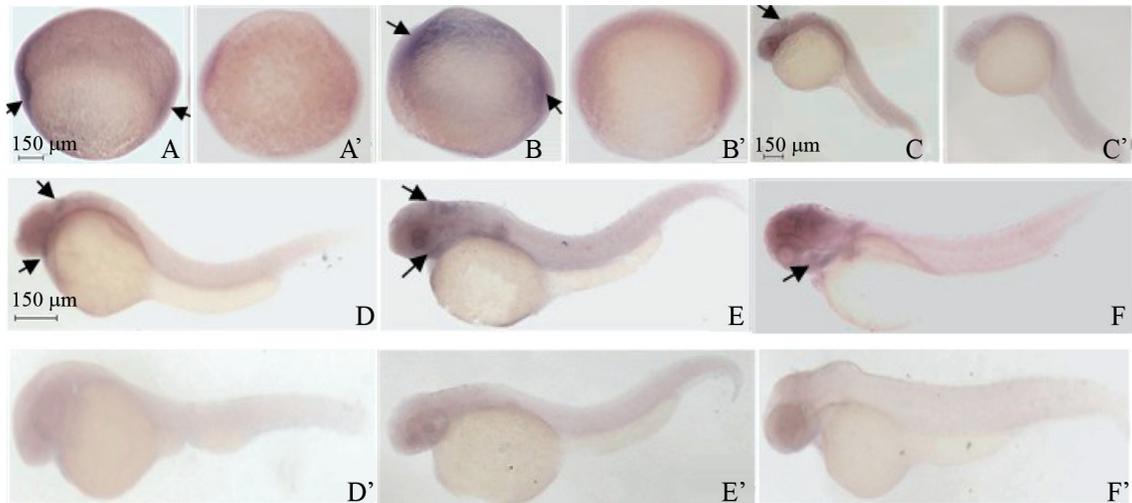
31~384: the sequence of *FGF3* gene fragment from pGEM-T/*FGF3*; 170~523: the sequence of zebrafish *FGF3* cDNA.

图3 重组质粒pGEM-T/*FGF3*中*FGF3*基因序列与斑马鱼*FGF3*基因cDNA比对结果

Fig.3 The blast result of *FGF3* gene fragment from pGEM-T/*FGF3* and zebrafish *FGF3* cDNA

在8 hpf和12 hpf斑马鱼胚胎背侧, 尤其在头、尾部显示出清晰的蓝紫色阳性杂交信号, 提示*FGF3*基因在此部位有明显表达(图4A和图4B); 在24 hpf时, 杂交信号见于中脑区域, 但较弱(图4C); 在36 hpf和48 hpf时, 中脑及咽弓处有较明显的杂交信号(图4D和图

4E); 至72 hpf时, 在咽弓处仍有较弱的杂交信号(图4F)。相比12 hpf时胚胎的杂交信号强度和区域大小, 其它各胚胎发育时间点要明显弱小。以不含探针杂交液在同样条件下进行杂交, 无阳性杂交信号(图4A'~图4F')。



A~F: *FGF3*反义RNA探针整体原位杂交图, 蓝紫色阳性杂交信号主要出现在不同发育阶段胚胎的头、尾及咽弓处(↑), 以12 hpf胚胎时最为明显; A'~F': 不含RNA探针整体原位杂交图, 作为对照, 胚胎上无杂交颜色反应。

A~F: representative images of whole-mount *in situ* hybridization with *FGF3* antisense RNA probe. Blue purple hybrid color was shown at the head, tail or pharyngeal arche regions (arrow indicating) in different embryo stages. The most positive hybrid reaction was detected at the time of 12 hpf; A'~F': representative images of whole-mount *in situ* hybridization from controls without RNA probes. No hybrid color was present in the embryos.

图4 整体原位杂交检测8, 12, 24, 36, 48, 72 hpf斑马鱼胚胎*FGF3*表达结果

Fig.4 Whole-mount *in situ* hybridization detecting *FGF3* in zebrafish embryos at 8, 12, 24, 36, 48, 72 hpf

3 讨论

胚胎发育受基因表达和细胞间信号等综合调控, 调控基因的表达具有时空性, 在胚胎发育不同阶段、部位适度表达是胚胎正常发育所必需的。在胚胎发育过程中, *FGFs*起着重要的调控作用, 已有研究报道提示*FGF3*参与神经系统、内耳等器官的发育调控^[2,4], 但目前关于*FGF3*在胚胎发育全程中时空性表达的研究还存在空白。

斑马鱼是近年来备受关注的模式生物, 广泛应用于遗传和胚胎发育学研究。斑马鱼胚胎发育迅速, 全程约72 h, 历经卵裂期(0.75~2.25 hpf)、囊胚期(2.25~5.25 hpf)、原肠胚期(5.25~10.33 hpf)、体节期(10.33~24 hpf)、咽胚期(24~48 hpf)和孵化期(48~72 hpf)^[9]。本研究实时荧光定量PCR检测结果显示: 斑马鱼*FGF3*基因在囊胚期就已有明显表达, 并在原肠胚后期及体节期初始阶段时基因mRNA表达水平达到高峰, 随后表达水平下降, 在24 hpf后基本上处于略高于2 hpf时的胚胎*FGF3*基因mRNA表达水平, 直至胚胎发育结束。从斑马鱼胚胎发育过程*FGF3*基因mRNA动态表达水平来看, 可以判断*FGF3*主要在胚胎发育早期发挥调控作用。迄今为止, 尚无其它关于*FGF3*在胚胎发育全程中动态表

达水平的研究报告, 但已有一些报道表明*FGF3*在胚胎发育过程中发挥着重要调控作用。Wilson等^[10]在用鸡胚进行研究时发现, 早在鸡胚原条形成之前已出现*FGF3*表达, 并与骨形成蛋白(BMP)共同调控早期外胚层细胞的诱导分化, 持续的*FGF*信号将下调*BMP*表达水平, 促使外胚层细胞向神经细胞分化, 反之则向表皮细胞转化。*FGF3*与同亚族的*FGF10*在胚胎发育调控过程中还存在冗余作用^[11]。目前, *FGF3*对胚胎调控的作用及机制尚未明了, 多数研究报道提示*FGF3*主要参与胚胎早期发育调控作用^[2,4], 这与本研究中*FGF3*表达高峰在胚胎发育早期的结果是一致的。

在胚胎发育过程中, 基因表达部位、水平以及与周边形态发生的关系, 能够较好地揭示其对发育的调控作用, 而原位杂交技术是实施这种研究的主要手段。近年来, 对胚胎实施整体原位杂交技术日趋成熟, 斑马鱼胚胎直径仅约1 mm, 适宜于实施该项技术以显示特定基因的空间表达情况^[8]。整胚原位杂交的效果与探针特异性、分子大小等因素有关, 在保证探针特异性的前提下, 探针分子小则易于透过胚胎组织表层而进入内部。斑马鱼*FGF3*基因cDNA序列为849 bp, 本研究设计扩增其中长度

为353 bp的特异片段,经重组质粒、克隆及测序验证后,合成反义RNA,并用地高辛标记制备RNA探针,用其检测*FGF3*表达可以获得清晰的杂交颜色信号。本文用整体原位杂交法检测斑马鱼胚胎*FGF3*基因的空间表达情况,结果显示:*FGF3*在8 hpf和12 hpf斑马鱼胚胎的背侧,尤其是头、尾部有明显的表达,此后,*FGF3*在中脑、咽弓处仍有表达,但强度及区域较小。*FGF3*空间表达水平与荧光定量PCR结果相符,即12 hpf为*FGF3*基因的表达高峰期。在胚胎发育早期,胚轴头、尾端明显膨大、延伸,头部外胚层向神经细胞诱导分化,是脊索前板、眼基和耳泡的形成阶段,尾部形成了尾芽,为躯干后部器官发育的原基。此时,*FGF3*在头、尾部高表达,提示*FGF3*参与胚胎早期脑、眼、耳及尾部器官的发育调控。Koshida等^[12]用原位杂交法检测斑马鱼早期胚胎*FGF3*表达,发现在其原肠胚期(约5 hpf)时,就已在胚胎背外侧缘有明显表达,认为其具有促进胚胎神经发育的作用。在胚胎发育的中、后期,*FGF3*持续在中脑、咽弓处表达,提示其参与该部位器官的发育调控。Vaccari等^[13]检测斑马鱼48 hpf胚胎*FGF3*表达时,发现其在胚胎咽弓处有明显表达,认为*FGF3*有助于咽部软骨的形成。此外,有报道显示*FGF3*还参与胚胎背部形成以及内耳、视网膜、尾部等的发育调控,*FGF3*基因敲除可引起有关器官发育不全^[4,14-15]。人类*FGF3*基因突变可致先天性耳聋、小耳和小牙畸形^[16]。因此,本研究显示*FGF3*基因在胚胎早期头、尾部有高表达以及中后期在中脑、咽弓处持续表达的结果,有助于解释*FGF3*基因参与胚胎脑、眼、耳、咽弓及尾部器官发育的调控作用。

总之,在胚胎发育过程中,*FGF3*表达高峰出现在胚胎发育早期,表达部位以头、尾及咽弓部为主,其表达可能与胚胎脑、眼、耳、咽弓及尾部器官的发育调控有关。

参考文献 (References)

- Itoh N, Ornitz DM. Fibroblast growth factors: From molecular evolution to roles in development, metabolism and disease. *J Biochem* 2011; 149(2): 121-30.
- Dorey K, Amaya E. FGF signalling: Diverse roles during early vertebrate embryogenesis. *Development* 2010; 137(22): 3731-42.
- Tulin S, Stathopoulos A. Extending the family table: Insights from beyond vertebrates into the regulation of embryonic development by FGFs. *Birth Defects Res C Embryo Today* 2010; 90(3): 214-27.
- Hatch EP, Noyes CA, Wang X, Wright TJ, Mansour SL. Fgf3 is required for dorsal patterning and morphogenesis of the inner ear epithelium. *Development* 2007; 134(20): 3615-25.
- Sela-Donenfeld D, Kayam G, Wilkinson DG. Boundary cells regulate a switch in the expression of FGF3 in hindbrain rhombomeres. *BMC Dev Biol* 2009; 9: 16.
- Tekin M, Hismi BO, Fitoz S, Ozdag H, Cengiz FB, Sirmaci A, *et al.* Homozygous mutations in fibroblast growth factor 3 are associated with a new form of syndromic deafness characterized by inner ear agenesis, microtia, and microdontia. *Am J Hum Genet* 2007; 80(2): 338-44.
- Westerfield M. *The zebrafish book: A guide for the laboratory use of zebrafish (Danio rerio)*, 4th ed. Eugene: University of Oregon Press, 2000.
- Thisse C, Thisse B. High-resolution *in situ* hybridization to whole-mount zebrafish embryos. *Nat Protoc* 2008; 3(1): 59-69.
- Kimmel CB, Ballard WW, Kimmel SR, Ullmann B, Schilling TF. Stages of embryonic development of the zebrafish. *Dev Dyn* 1995; 203(3): 253-310.
- Wilson SI, Graziano E, Harland R, Jessell TM, Edlund T. An early requirement for FGF signaling in the acquisition of neural cell fate in the chick embryo. *Curr Biol* 2000; 10(8): 421-9.
- Alvarez Y, Alonso MT, Vendrell V, Zelarayan LC, Chamero P, Theil T, *et al.* Requirements for FGF3 and FGF10 during inner ear formation. *Development* 2003; 130(25): 6329-38.
- Koshida S, Shinya M, Nikaido M, Ueno N, Schulte-Merker S, Kuroiwa A, *et al.* Inhibition of BMP activity by the FGF signal promotes posterior neural development in zebrafish. *Dev Biol* 2002; 244(1): 9-20.
- Vaccari E, Deflorian G, Bernardi E, Pauls S, Tiso N, Bortolussi M, *et al.* prep1.2 and aldh1a2 participate to a positive loop required for branchial arches development in zebrafish. *Dev Biol* 2010; 343(1/2): 94-103.
- Picker A, Cavodeassi F, Machate A, Bernauer S, Hans S, Abe G, *et al.* Dynamic coupling of pattern formation and morphogenesis in the developing vertebrate retina. *PLoS Biol* 2009; 7(10): e1000214.
- Shi W, Peyrot SM, Munro E, Levine M. FGF3 in the floor plate directs notochord convergent extension in the *Ciona tadpole*. *Development* 2009; 136(1): 23-8.
- Riazuddin S, Ahmed ZM, Hegde RS, Khan SN, Nasir I, Shaikat U, *et al.* Variable expressivity of FGF3 mutations associated with deafness and LAMM syndrome. *BMC Med Genet* 2011; 12: 21.

Dynamic Expression of *FGF3* Gene during Zebrafish Embryonic Development

Jia Congcong¹, Zhang Xiaojing¹, Huang Chenping^{1*}, Lin Lin¹, Zhao Shujiang¹, Jin Daqing²

¹School of Environmental Science and Public Health, Wenzhou Medical College, Wenzhou 325035, China;

²Institute of Watershed Science and Environmental Ecology, Wenzhou Medical College, Wenzhou 325035, China)

Abstract The current study aimed to study the temporal and spatial expression of *FGF3* gene during zebrafish embryonic development. Total RNA was extracted from zebrafish embryos at 2, 4, 8, 12, 24, 36, 48, 72 hours post fertilization (hpf), respectively, and was reversely transcribed to cDNA. *FGF3* mRNA levels were then determined by Real-time quantitative PCR. The results showed that *FGF3* gene expression started at as early as 2 hpf, and was present throughout the whole embryonic development. The expression level of *FGF3* reached the highest ($P < 0.01$) at 12 hpf. Whole-mount *in situ* hybridization was then used to determine the spatial expression of *FGF3* gene at the time points of 8, 12, 24, 36, 48, 72 hpf. Digoxigenin labeled antisense *FGF3* RNA probe was synthesized by T7 RNA polymerase from pGEM-T/*FGF3* gene fragment recombinant plasmid. Our results showed that *FGF3* was mainly expressed in the head, tail and pharyngeal arches of zebrafish embryos during embryonic development. In conclusion, *FGF3* gene was expressed in a temporal dynamic pattern during zebrafish embryonic development and reached the highest at about 12 hpf. The spatial expression was mainly in the head, tail and pharyngeal arches, indicating an association of *FGF3* with the regulation of embryonic brain, eyes, ears, pharyngeal arches and tail development.

Key words zebrafish; embryonic development; fibroblast growth factor 3; Real-time quantitative PCR; whole-mount *in situ* hybridization

Received: November 4, 2011 Accepted: January 18, 2012

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (No.30972509)

*Corresponding author. Tel: 86-577-86689901, E-mail: wzhcp@263.net