研究建立神经中胚层祖细胞的谱系示踪与功能研究技术

作者：writer 来源：中国科学院

本文原地址：https://www.iikx.com/news/progress/32609.html

本文仅供学习交流之用，版权归原作者所有，请勿用于商业用途！

研究建立神经中胚层祖细胞的谱系示踪与功能研究技术。
中国科学院分子细胞科学卓越创新中心周斌研究组与香港中文大学吕爱兰研究组合作，构建了双同源重组酶系统，建立了体内神经中胚层祖细胞（NMPs）的谱系示踪与功能研究技术，并结合单细胞转录组测序技术，揭示了NMPs在胚胎发育中的细胞命运和分子特征。这一研究揭示了NMPs在胚胎发育中的分布、分化潜能和功能，为脊髓损伤的细胞治疗提供了新的研究方向。

脊髓作为中枢神经系统的重要组成部分，承担着神经信号传导和肌肉运动协调等关键功能。目前，针对脊索退行性病变和外源性脊髓损伤的治疗手段存在局限性。体外细胞实验表明，NMPs能够分化为脊髓中的神经细胞，并可以产生周围的中胚层组织，在脊髓损伤的细胞治疗中具有应用前景。尽管既往研究证实NMPs具有双向分化潜能，但缺乏在体内直接示踪和功能评估的遗传工具。因此，开发精准靶向体内NMPs的技术对揭示其细胞命运和功能至关重要。

该研究设计和构建了多种双同源重组酶系统，建立了哺乳动物体内特异性标记NMPs的遗传谱系示踪新技术。研究发现，NMPs具有双向分化潜能，能够同时生成

神经细胞和中胚层细胞。同时，研究
通过特异性清除NMPs实验，发现NMPs
减少导致胚胎躯干和尾部发育异常，证实了NMPs在胚胎发育中的关键作用。

研究对小鼠胚胎期8.5
天的尾端组织进行单细胞测序。研究通过分析将细胞主要分为14个不同的簇，如NMPs、Neural tube、Somite和Presomitic
mesoderm等。进一步，分析发现，NMPs特异性表达Brachyury（T）和Sox2
，并高表达Nkx1-2、Epha5、Fgf17和Fgf8
等分子标志基因。研究还揭示NMPs的分化受到Wnt、FGF和BMP
等信号通路的调控：Wnt和FGF信号通路促进NMPs
向中胚层分化，而BMP信号通路则通过抑制Sox2的表达推动NMPs
向中胚层命运转变；相反地，视黄酸信号通路通过抑制Wnt信号促进NMPs向神经命运分化。

为精准示踪NMPs，研究利用Dre-*rox*和Cre-*loxP*
两套同源重组系统，分别构建*T-DreER*和*Sox2-CreER*
基因敲入遗传工具小鼠，来分别标记T来源和Sox2
来源的细胞。研究设计了两
套遗传策略来特异性标记示踪体内NMPs。在第一套策略中，研究使用Rosa26-traffic light reporter系统。研究显示，通过Tamoxifen诱导，可在*T-DreER*、*Sox2-CreER*、*R26-TLR*小鼠体内同时分别标记T+细胞、Sox2+细胞和T+Sox2+
双阳性细胞
。这一方法实现了在单个胚胎中同时追踪T+、Sox2+和T+Sox2+
三群细胞。为更清晰直观地标记NMPs，探究NMPs
的细胞定
位、细胞运动和分
化的细胞类型，研究开发设计了第二
套策略即R26-RL-GFP系统。在*T-DreER*、*Sox2-CreER*、*R26-RL-GFP*三基因小鼠中，只有Dre-*rox*和Cre-*loxP*
双重重组的情况下才可以激活GFP
表达，从而特异性地标记T+Sox2+的NMPs
。通过这两套双重组酶介导的遗
传标记系统，研究追踪了NMPs
在胚胎发育过程中的时空分布，发现了这些细胞主要定位于胚胎的尾部区域并参与神经管、轴旁中胚层和部分内胚层组织的形成。

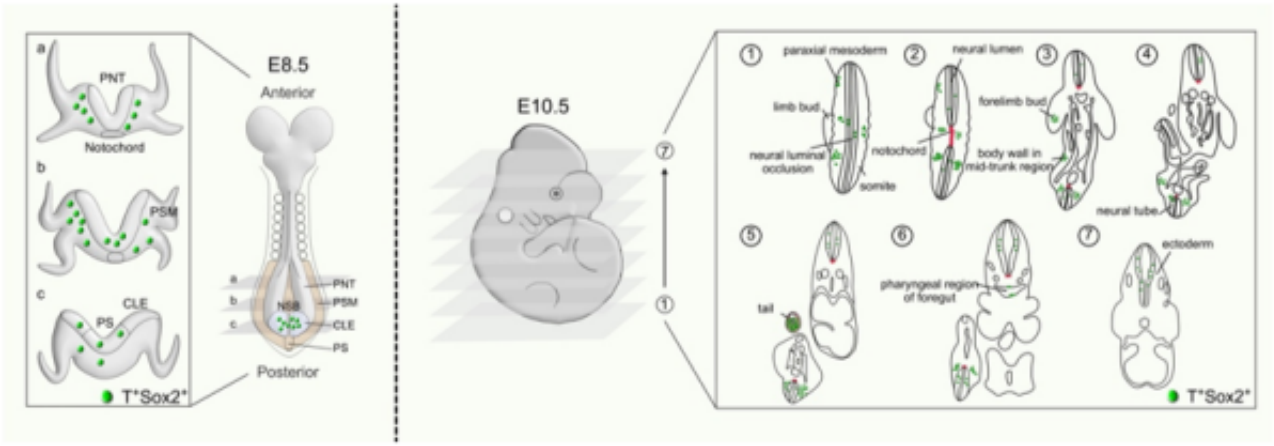
为探讨单个NMP
是否具有双向分化潜能，研究利用R26-confetti2
报告系统进行单细胞克隆分析。通过低剂
量Tamoxifen诱导，研究在E8.5标记了单个NMP
。进一步，结果显示，单个NMP
能够分化为神经细胞克隆、中胚层细胞克隆或同时生成两种细胞类型的混合克隆，这证实了NMPs
在体内的双向分化潜能。研究还发现，少数N
MPs能够分化为内胚层细胞，这扩展了NMPs
在胚胎发育中的已知贡献，揭示了其在多胚层组织形成中的潜在作用。

进一步，为阐明NMPs在胚胎发育中的功能，研究开发了*T-DreER*、*Sox2-CreER*、*R26-LR-DTR*小鼠模型，通过双重组酶介导白喉毒素受体的表达，特异性清除NMPs。实验结果显示，NMPs清除导致胚胎躯干和尾部发育异常，表现为尾部缩短和躯干结构畸形，这证明了NMPs在胚胎发育中的关键作用。研究还发现，NMPs的清除时间点对其功能影响显著。E8.5清除NMPs仅导致轻微的尾部发育缺陷，而E10.5清除则引发严重的躯干和尾部发育异常，这或与胚胎发育过程中其他细胞群体的代偿作用有关。

上述研究通过开发新型遗传工具，在体内实现了对NMPs的特异性遗传标记、示踪和功能评估。这一研究深化了科研人员对NMPs在胚胎发育中作用机制的认知，为疾病建模、药物研发与细胞治疗等的发展奠定了基础。

4月3日，相关研究成果以*Dual genetic tracing demonstrates the heterogeneous differentiation and function of neuromesodermal progenitors in vivo*为题，在线发表在《美国国家科学院院刊》（*PNAS*）上。研究工作得到国家自然科学基金委员会、科学技术部、中国科学院、上海市科学技术委员会、香港研究资助局等的支持。

论文链接



示踪的NMPs在胚胎E8.5和E10.5的时空分布

研究团队单位：分子细胞科学卓越创新中心

更多 科学进展 请访问 https://www.iikx.com/news/progress/

本文版权归原作者所有，请勿用于商业用途，爱科学iikx.com转发