

青科沙龙第57期 | 绘制小鼠神经系统的单细胞时空谱系图谱

市场部 华安生物 2023-07-27 15:58 发表于浙江

收录于合集

#青科沙龙系列直播

29个



绘制小鼠神经系统的 单细胞时空谱系图谱



本期青科沙龙关键词

小鼠中脑发育 条形码技术
单细胞谱系示踪 CREST技术



相关介绍

哺乳动物的发育伴随高度复杂的细胞命运特化过程——从多潜能干细胞逐步分化成熟为各种类型的细胞，进而形成高度异质性的组织器官。解析每个细胞在这一过程中的完整发育历程（即“谱

系”)是发育生物学领域的重要目标之一。谱系的研究有助于人们理解生命个体的发育,解析发育相关疾病的发病机制,并为基于细胞治疗的再生医学研究中不同类型细胞药物的体外分化和制备,提供关键依据和线索。

近年来,人们为解析哺乳动物神经系统的谱系做出了巨大努力。然而,传统基于重组酶技术的谱系示踪通量有限,一般只能示踪1-2个谱系。最近的一些研究通过在侧脑室注射条形码标记的病毒,对脑室区(Ventricular Zone, VZ)的神经干细胞进行标记,并结合单细胞测序对这些细胞的子代细胞进行高通量谱系示踪。然而,这种方法只能标记VZ区的神经干细胞,无法实现对全脑任意脑区神经干细胞的标记,而且用病毒注射的方法标记早期胚胎中的细胞还存在技术障碍。因此,急需开发一种能够对脑内任意细胞群体进行高通量条形码标记和谱系示踪的新方法。

nature methods

[Explore content](#) ▾ [About the journal](#) ▾ [Publish with us](#) ▾ [Subscribe](#)

[nature](#) > [nature methods](#) > [articles](#) > [article](#)

Article | [Published: 17 July 2023](#)

Comprehensive spatiotemporal mapping of single-cell lineages in developing mouse brain by CRISPR-based barcoding

[Lianshun Xie](#), [Hengxin Liu](#), [Zhiwen You](#), [Luyue Wang](#), [Yiwen Li](#), [Xinyue Zhang](#), [Xiaoshan Ji](#), [Hui He](#), [Tingli Yuan](#), [Wenping Zheng](#), [Ziyan Wu](#), [Man Xiong](#), [Wu Wei](#) [✉](#) & [Yuejun Chen](#) [✉](#)

[Nature Methods](#) (2023) | [Cite this article](#)

2587 Accesses | 32 Altmetric | [Metrics](#)

2023年7月17日,中国科学院脑科学与智能技术卓越创新中心(神经科学研究所)陈跃军研究组在Nature Methods上发表了题为Comprehensive spatiotemporal mapping of single-cell lineages in developing mouse brain by CRISPR-based barcoding的文章。该研究通过建立能够应用于小鼠体内任意组织器官的谱系示踪新技术——CREST,解析了小鼠中脑在胚胎发育过程中的单细胞时空谱系图谱,揭示了小鼠中脑发育过程中新的谱系分化路径和分子调控机制。CREST技术为高通量解析小鼠组织器官发育的单细胞谱系提供了全新的工具,为从谱系视角研究各种发育疾病的发病机制提供了新的研究工具。

1 研究过程

方法:

团队成员利用CRISPR介导的条形码标记技术,并进一步结合重组酶系统和单细胞测序技术,开发了一种在体高通量谱系示踪的方法——CREST,并构建了相应的谱系示踪工具小鼠品系。利用CREST技术,研究团队绘制了全面的中脑发育谱系图谱,从而深入探究中脑神经系统的发育过程和体内中脑多巴胺能神经细胞的发育谱系。

发现①

研究团队首先利用基于CREST的“快照”策略（snapCREST），解析了特定发育时间点中脑不同细胞类型之间的谱系关系，发现了许多先前未被报导的亚区特异性的谱系关系：在翼板中，谷氨酸能神经元与GABA能神经元具有共同的谱系起源；而在基板中，这两类神经元具有相对独立的起源；在底板中，谷氨酸能神经元则与多巴胺能神经元具有共同的起源。

发现②

研究团队进一步在克隆水平对祖细胞的分化命运进行了无偏好的分类，发现单个中脑祖细胞的分化命运可以被分为六种主要类型。基于这一结果，**研究团队提出了“祖细胞原型”的概念，这六种中脑祖细胞原型囊括了中脑发育过程中单个中脑祖细胞的不同分化命运。**

发现③

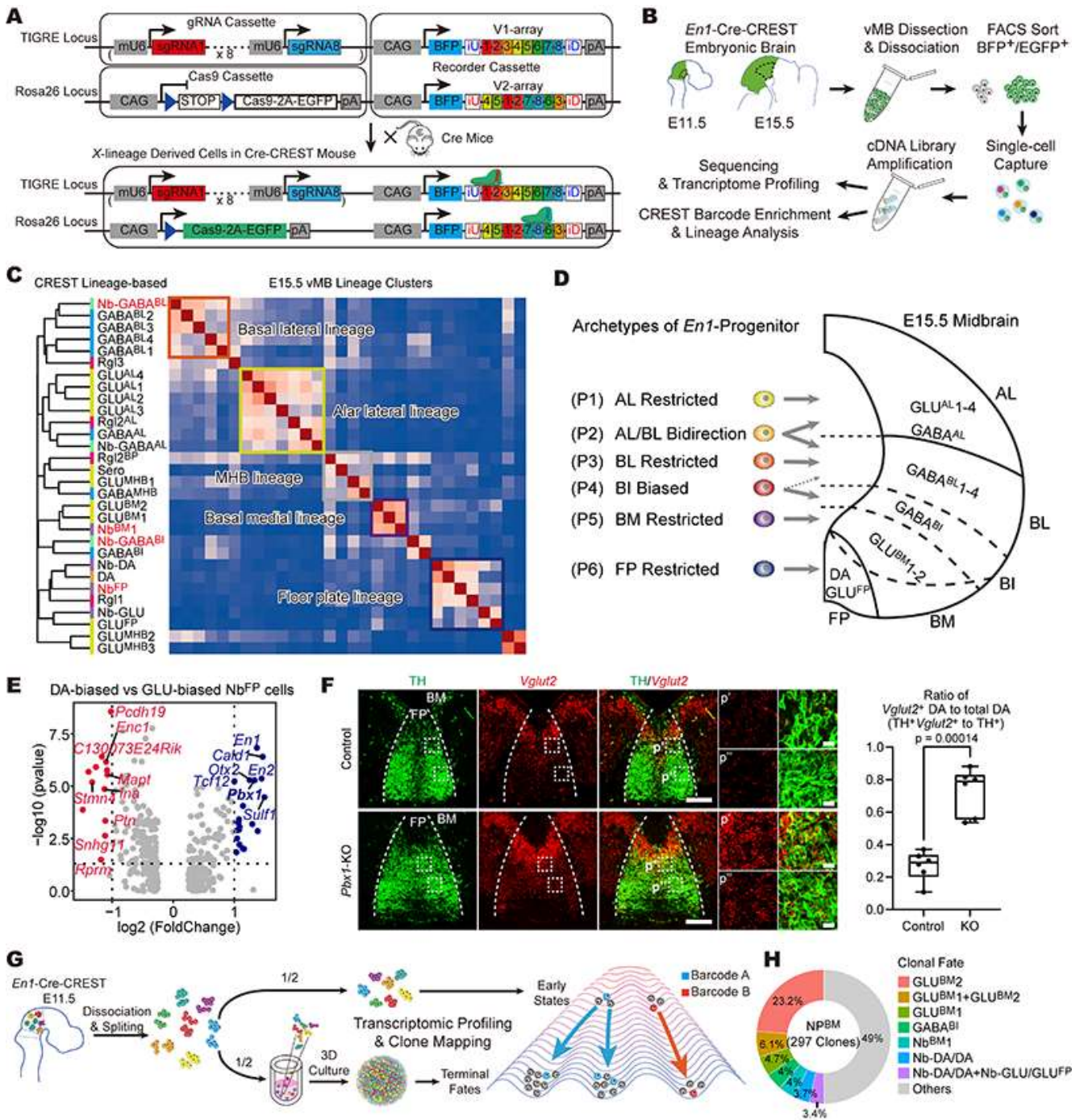
研究团队进一步在克隆水平对中脑底板神经祖细胞的分化命运进行了分析，发现单个中脑底板神经祖细胞存在三种不同的分化命运：中脑底板神经祖细胞经由中脑底板神经母细胞，有的偏好分化成多巴胺能神经元，有的偏好分化成谷氨酸能神经元、有的则能同时分化成多巴胺能和谷氨酸能神经元。

发现④

通过对不同分化命运的底板神经母细胞差异表达基因的分析，研究人员发现，Pbx1转录因子在偏好产生多巴胺能神经元的底板神经母细胞内显著高表达。当Pbx1被敲除后，共释放谷氨酸的中脑多巴胺能神经元的比例显著增加，这证明了**Pbx1在决定中脑底板来源神经元的谷氨酸能表型和多巴胺能表型中的关键作用。**

发现⑤

研究人员结合克隆分离策略、类器官培养技术与CREST技术，进一步开发了基于CREST的“连拍”策略（pandaCREST），实现了发育过程中单个祖细胞转录组信息及其分化潜能的同时获得。研究人员发现，**在同一转录组定义的祖细胞群内，单个祖细胞具有不同的分化命运，且存在微小的转录组差异，提示同一祖细胞类群内单个细胞的不同分化命运是预先确定的。**



图注：

- (A) CREST小鼠示意图。
- (B) “快照式”谱系示踪实验流程。
- (C) E15.5天胚胎腹侧中脑的细胞类群间的谱系关系。
- (D) 腹侧中脑的六种祖细胞原型的分化命运示意图。
- (E) 偏好产生多巴胺或谷氨酸能神经元的神经母细胞中的差异表达基因。
- (F) *Pbx1* 敲除造成 *Vglut2* 阳性的多巴胺能神经元比例显著增加。
- (G) “连拍式”谱系示踪实验流程。
- (H) 单个中脑基板内侧神经祖细胞的分化命运统计。

2 研究结论

CREST技术是一种高通量谱系示踪的新方法，它不仅可以在单细胞水平解析体内的发育谱系，而且可以在克隆水平解析发育过程中命运决定的分子机制，是目前已知的唯一可以对脑内任意细胞群体进行高通量谱系示踪的方法，为解析全脑发育谱系图谱提供了关键技术。

通过将CREST小鼠与任意组织器官或特定类型细胞的Cre/CreER小鼠交配，CREST技术可以被广泛地应用于其他组织器官的发育谱系研究，并可以用于疾病、损伤或再生条件下的谱系研究。

这为在单细胞和单克隆水平研究不同组织器官的发育和疾病发生提供了通用技术方法。

同时这一研究也证明，我们在体外分化得到的中脑多巴胺能神经元不仅在基因表达，电生理特征和环路整合特异性等方面和内源多巴胺能神经元相似，其分化谱系也和内源多巴胺能神经元一致。**这为帕金森病细胞治疗中中脑多巴胺能神经细胞体外分化的准确性提供了理论依据。**

原文链接

Comprehensive spatiotemporal mapping of single-cell lineages in developing mouse brain by CRISPR-based barcoding | Nature Methods

预 约 直 播

该研究由中科院脑智卓越中心博士研究生谢连顺与中科院营养健康所博士研究生刘恒心，在脑智卓越中心陈跃军研究员和临港实验室魏武研究员的指导下完成。中科院脑智卓越中心游致文博士、王露悦博士、李依纹博士、博士研究生章馨月、何慧博士、职工袁停立、郑文平博士，复旦大学儿科医院研究生计筱珊，上海跃赛生物科技有限公司吴子彦博士，复旦大学脑科学研究院熊曼研究员，复旦大学周文浩教授，中科院脑智卓越中心蒲慕明院士为本研究提供了重要帮助。

神经系统的谱系研究一直是科研的热门方向，在调研了一线科研工作者的需求后，华安生物联系并邀请到了本文的第一作者：中国科学院脑科学与智能技术研究中心在读博士研究生谢连顺对本项研究进行分享。



华安生物

已结束直播，可观看回放

观看回放

青科沙龙第57期 | 绘制小鼠神经系统的单细胞时空谱系图谱

视频号

青科沙龙 | 第57期

绘制小鼠神经系统的 单细胞时空谱系图谱

主讲嘉宾：谢连顺

在读博士研究生



主讲嘉宾

谢连顺，中国科学院脑科学与智能技术研究中心（神经所）在读博士研究生。2018年加入神经分化和再生课题组，在陈跃军研究员的指导下主要致力于哺乳动物神经系统发育的谱系和分子机制研究。近期，在利用条形码技术绘制小鼠脑内的单细胞时空谱系研究中取得了重要进展，相关研究工作发表于Nature Methods期刊。

主办平台：
华安生物、深究科学、生物世界

直播时间：
2023.08.01 20:00-21:00



扫描二维码观看直播

嘉 宾 ✨ 介 绍

谢连顺，中国科学院脑科学与智能技术研究中心(神经所)在读博士研究生。2018年加入神经分化和再生课题组，在陈跃军研究员的指导下主要致力于哺乳动物神经系统发育的谱系和分子机制研究。近期，在利用条形码技术绘制小鼠脑内的单细胞时空谱系研究中取得了重要进展，相关研究工作发表于Nature Methods期刊

1 嘉宾信息

中国科学院脑科学与智能技术研究中心在读博士研究生——谢连顺

2 主办平台

华安生物、深究科学、生物世界

3 直播时间

2023年08月01日 20:00-21:00

END

杭州华安生物技术有限公司(HUABIO) 成立于2007年，是抗体、蛋白质和ELISA试剂盒的优秀制造商。公司总部位于浙江杭州，致力于为全球科学研究的科学家、体外诊断公司以及药物发现的工业客户提供最高品质的产品和技术服务。

公司的目录产品包括重组兔单抗、小鼠单抗、兔多抗、羊驼抗体、荧光直标抗体、二抗、细胞因子/蛋白、ADC药品小分子检测抗体、Elisa Kit等，产品质量得到了全球顶尖科学家的高度认可。多名博士组成的科学家团队专攻抗体结构改造及深加工，拥有一系列有自主专利保护的技术和流程。公司通过了ISO9001和ISO13485质量体系认证，既保证了科学的严谨性，又有效地控制了项目周期和成本。

更多信息请访问HUABIO中文官网: www.huabio.cn。

收录于合集 #青科沙龙系列直播 29

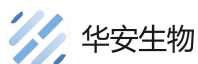
上一篇

青科沙龙第56期 | Science: 激酶RIPK1与细胞命运决定

下一篇

青科沙龙第59期 | SMS2斑点决定迁移体的生长位点

阅读 170



华安生物

分享 收藏 1 1

写下你的留言