

# 发育生物学评论 (2018)

## 大脑皮层

两种主要类型的神经前体细胞：

1. Radial glial cells (RGCs, 极性, 不对称分裂, 室管区)
2. 基底祖细胞 (BPCs, 非极性, 对称分裂, SVZ)

两种假设模型用于皮层神经发生过程中的层形成

皮肤般的 (向外推) 和砌砖 (由内向外✓)

皮层神经前体细胞的细胞命运决定

1. 渐进性命运限制：常见的多能性NPC依次产生皮层投射神经元。
2. NPC的异质性：下层和上层神经元的不同类型的NPC。

研究皮层神经前体细胞命运决定的分析

1. 移植实验 (使用H-胸腺嘧啶标记的皮层神经前体细胞, 可以测试多种类型的细胞)
2. 离体分化 (使用特定层标记, 可以测试多种类型的细胞)
3. 逆转录病毒标记和谱系追踪 (追踪到的克隆数量太少)
4. 遗传谱系追踪 (□精确控制)

细胞谱系追踪

1. 对最初时间点标记的细胞进行仔细评估, 以便清晰定义起始群体。
2. 标记用于标记细胞的标记物仅停留在原始细胞及其后代中, 不会扩散到相邻的细胞。
3. 这些标记物在整个追踪期间都足够稳定, 并且不对细胞产生毒性。
4. 观察方法: 直接观察, 染色标记, 遗传标记 (嵌合胚胎, 转基因DNA嵌合体, Cre-LoxP系统, 双标记镶嵌分析 (MADM) )

为什么人类的大脑比啮齿动物的大脑体积和皮层表面积要大得多?

1. 创始人干细胞数量增加。
2. 增加了中转扩增的轮次。
3. 更长的神经发生期。

小头畸形

1. 创始干细胞群体的耗竭。
2. 减少了中转扩增的轮次。
3. 神经发生期缩短。

成年神经发生新的神经元

发生在侧脑室下区和海马回的颗粒回。

大脑皮层发育的关键事实

1. 皮层投射神经元起源于紧邻脑室的祖细胞 (直接或间接)。
2. 新生神经元沿着放射胶质细胞 (RGCs) 的放射纤维径向迁移。
3. 晚产生的神经元被放置在新生的神经元之上 (由内而外) : I → VI → V → IV → III/II。
4. 神经胶质细胞生成随后是神经元生成。

5. 精确的神经元迁移确保了正确的皮层层形成。
6. 间神经元是从前脑的腹侧部生成并沿着皮层进行横向迁移。

### 通往功能性器官的道路

1. 神经系统和大脑。
2. 神经诱导和神经管形成。
3. 神经系统的图案——背侧—腹侧；前—后。
4. 皮层发育：神经发生和胶质细胞发生。
5. 神经元成熟：极性、轴突生长和路径发现。
6. 使神经连接正确且功能正常，突触生成，髓鞘化。

### QUIZ

1. 大脑皮层发育中主要类型的神经前体细胞的特征。

两种主要类型的神经前体细胞是放射状胶质细胞 (RGCs) 和基底前体细胞 (BPCs)。

放射状胶质细胞是双极形态的细胞，它们跨越发育中的脊椎动物中枢神经系统皮层的宽度，并作为能够产生神经元的主要祖细胞。大多数神经祖细胞都是从放射状胶质细胞中衍生出来的。基底祖细胞是发育中大脑皮层中的一种次级祖细胞。放射状胶质细胞在脑室区进行不对称分裂，而祖细胞在亚脑室区进行对称分裂。

2. 实验证据显示，特定层神经元的产生主要是细胞自主的吗？

层特性的确定（即细胞迁移至哪一层）是在最后的细胞分裂过程中完成的。在这最后一次分裂后移植到年轻大脑（在那里它们将形成第6层）的新生神经前体细胞，移植到正在形成第2层的老年大脑后，它们已经决定了自己的命运，并且只会迁移到第6层。然而，如果这些细胞在最后一次分裂之前被移植，它们是没有决定的，可以迁移到第2层。

3. 什么是控制人类皮层扩张的基本细胞机制？

- 1) 皮层投射神经元起源于紧邻脑室的祖细胞（直接或间接）。
- 2) 新生神经元沿着放射状胶质细胞 (RGCs) 的放射纤维径向迁移。
- 3) 晚产生的神经元被放置在新生的神经元之上（由内向外）： $I \rightarrow VI \rightarrow V \rightarrow IV \rightarrow III/II$ 。
- 4) 神经发生后是胶质细胞发生。
- 5) 精确的神经元迁移确保了正确的皮层层形成。
- 6) 间神经元是从前脑的腹侧部生成并沿着皮层进行横向迁移。

4. 如何证明成年大脑中存在神经干细胞？

胸腺嘧啶类似物，如溴脱氧尿苷 (BrdU)，被合并到新生细胞的最后一次DNA复制中。使用BrdU和其中一种神经元标记物（例如NeuN、钙结合蛋白、神经元特异性烯醇化酶 (NSE)）的免疫荧光标记来确定成年海马齿状回中是否有从分化祖细胞中产生的新神经元。

5. 什么是谱系追踪/命运映射？进行谱系追踪的常见方法有哪些？

谱系追踪是一种方法，它描绘了由单个细胞或一组细胞产生的所有后代。在谱系追踪实验中，感兴趣的细胞在一个时间点被标记，而这些标记细胞产生的后代在稍后的时间点被揭示。常见的方法包括直接观察、染料标记、遗传标记（嵌合胚胎、转基因DNA嵌合体、Cre-LoxP系统、双标记的镶嵌分析 (MADM)）。

6. 如何进行遗传谱系追踪？

嵌合胚胎，转基因DNA嵌合体，Cre-LoxP系统，双标记镶嵌分析 (MADM)

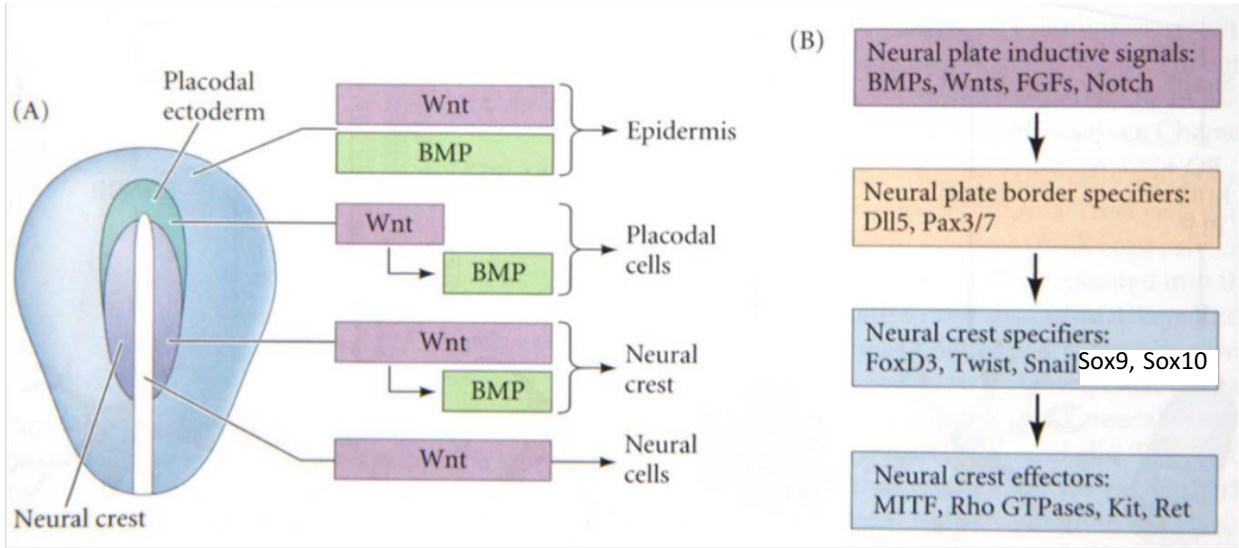
神经嵴细胞

神经嵴细胞 (NCCs) 的特征

- 1. 源自外胚层 (神经褶)
- 2. 一个短暂的结构
- 3. 经历上皮-间质转化 (EMT) 并从背侧神经管脱层
- 4. 神经嵴细胞产生各种组织 (包括中胚层和外胚层)

神经嵴细胞的规格

- 1. 神经嵴细胞首次出现在假定表皮和神经板之间的边界处。
- 2. 前缘组织变成斑块, 产生眼睛、耳朵、鼻子和其他感觉器官。
- 3. BMP和Wnt表达的时机对于区分神经板、表皮、斑块和神经嵴组织至关重要。
- 4. 诱导机制 (FGF、BMP、Notch 和 Wnt 信号通路) —— 间叶层, 神经和非神经外胚层之间的相互作用。



Sox10介导神经嵴细胞分化

- 1. 神经嵴细胞从神经管中剥离。
- 2. 不同神经嵴谱系的分化。
- 3. Sox10结合到靶基因的增强子, 这些基因编码着神经嵴效应子。

神经嵴的区域化

- 1. 颅神经嵴细胞: 颅神经胚胎间充质分化为面部软骨、骨骼、颅神经元、胶质细胞、色素细胞和结缔组织。这些细胞还进入咽弓并产生胸腺细胞、牙原基的牙本质细胞以及中耳和下颌骨。
- 2. 心脏神经嵴细胞: 颅神经嵴细胞的一个亚区。产生大动脉的整个肌肉结缔组织壁和心脏的隔板。
- 3. 躯干NCCs: 一组细胞通过每个体节硬骨的前半部向腹外侧迁移, 并形成含有感觉神经元的脊神经节。继续向腹部迁移的细胞形成交感神经节、肾上腺髓质和环绕主动脉的神经团。另一组细胞向背外侧迁移, 使得黑色素细胞的前体从背部经皮肤向腹部移动。
- 4. 迷走神经和骶神经嵴: 这些神经嵴产生副交感 (肠道) 神经节。



## 神经嵟迁移机制

1. 什么信号启动迁移? (EMT - 通过BMPs激活Wnt基因)
2. 迁移代理 (细胞) 何时能够对这些信号做出反应? (当体节停止产生noggin时)
3. 迁移动物是如何知道旅行的路线的? (引诱和驱逐物质)
4. 什么信号表明已经到达目的地? (完全差异化, MET? ? ?)

## 摘要: 躯干神经嵟的分化

1. 自主因素——Hox基因区分躯干和头部神经嵟细胞, MITF使细胞承诺成为黑色素细胞谱系。
2. 环境的特定条件 (迷走神经和胸部神经嵟)。
3. 一个组合。
4. 一个个体神经嵟细胞的命运既取决于其起始位置 (沿神经管的前后位置), 也取决于其迁移路径。

## 摘要: 颅神经嵟

1. 头部, 包括面部和颅骨, 主要是颅神经嵟的产物。
2. 与躯干神经嵟一样, 颅神经嵟可以形成色素细胞、胶质细胞和外周神经元。
3. 它可以生成骨骼、软骨和结缔组织。
4. 在小鼠和人类中, 颅神经嵟细胞从神经褶皱中迁移, 甚至在它们融合之前。
5. NCC的后续迁移受到脑干后段的基础分段 (菱形节段) 的指导。
6. 颅神经嵟细胞向腹侧迁移至咽弓和形成面部的前鼻过程。
7. 颅神经嵟细胞的最终去向将决定它们最终的命运。

## I'm happy to help! Please provide the text you'd like me to translate into Simplified Chinese

1. 神经嵟是一个瞬时结构。神经嵟细胞迁移形成许多不同的细胞类型。
2. 神经嵟的形成取决于潜在表皮和神经板之间的相互作用。这些区域的旁分泌因子诱导转录因子的形成, 使神经嵟细胞得以迁移。
3. 一些神经嵟细胞能够形成大量的细胞类型。其他神经嵟细胞可能在迁移之前就受到限制。神经嵟细胞的最终目的地有时可以改变其特性。
4. 神经嵟细胞的路径取决于其遇到的细胞外环境。
5. 躯干神经嵟细胞可以向背外侧迁移至外胚层, 成为黑色素细胞。它们也可以向腹侧迁移, 成为脊神经节细胞、交感神经元和副交感神经元以及肾上腺髓质细胞。
6. 躯干神经嵟细胞将迁移穿过每个硬骨节的前部, 但不会穿过硬骨节的后部。在每个硬骨节的后部表达的Semaphorin和 ephrin蛋白会阻止神经嵟细胞的迁移。
7. 颅神经嵟细胞进入咽弓, 成为下颌的软骨和中耳的骨头。它们还形成前鼻过程的骨头, 牙齿的乳头和颅神经。

## QUIZ

1. 为什么神经嵟细胞谱系被称为“第四种胚层”? 请举几个神经嵟细胞可以产生哪些细胞类型的例子。

由于其多能性、在胚胎中的长距离迁移以及产生巨大的能力

从外胚层分化出来的细胞类型数量，神经嵴被称为第四种生殖层。NCCs 可以产生的细胞类型包括但不限于结缔组织、外周神经元、胶质细胞、色素细胞，以及（在头部）骨骼和软骨。

## 2. 主要的区别是躯干神经嵴细胞和头神经嵴细胞有什么？以及其中的分子机制是什么？

颅神经嵴细胞可以形成软骨、肌肉和骨骼，而躯干神经嵴细胞则不能。躯干神经嵴细胞无法形成骨骼的原因很可能是由于躯干神经嵴细胞中Hox基因的表达。

## 3. 躯干神经嵴细胞将会穿过每个硬骨节的前部，但不会穿过硬骨节的后部。这其中的分子机制是什么？

Semaphorin和eprhin蛋白在每个硬骨板的后部表达，可以通过Eph和Neuropilin-2受体阻止神经嵴细胞的迁移。

## 4. 神经嵴迁移的机制是什么？

- 1) 什么信号启动迁移？(EMT - 通过BMPs激活Wnt基因)
- 2) 迁移代理（细胞）何时能够对这些信号做出反应？（当体节停止产生noggin时）
- 3) 迁移动物是如何知道旅行的路线的？（引诱和驱逐物质）
- 4) 什么信号表明已经到达目的地？（完全差异化，MET？？？）

## 5. 神经嵴分化的机制是什么？

- 1) Sox10通过结合靶基因的增强子介导神经嵴细胞的分化，这些基因编码了神经嵴效应子。
- 2) 自主因素决定了神经嵴的命运，例如Hox基因区分躯干和颅神经嵴细胞，MITF使细胞承诺成为黑色素细胞等。
- 3) 环境的特定条件（迷走神经和胸部神经嵴）。
- 4) 最终命运通常取决于以上两者的结合。
- 5) 一个个体神经嵴细胞的命运既取决于其起始位置（沿神经管的前后位置），也取决于其迁移路径。

## 干细胞生物学

多能干细胞的特征：

分子性质

1. 干细胞标记物的表达：OCT4、NANOG、SOX2等。

表观遗传状态：染色质松弛，DNA 低甲基化，X 染色体激活。表型特征：

1. 离体分化，产生属于三个胚层的后代[在体外形成胚胎体]。
2. 在体内形成畸胎瘤，胚胎嵌合体。
3. 重建胚胎（妊娠补充、生殖细胞系传递、四倍体补充和单细胞嵌合体）。

## 用于揭示多能干细胞发育潜力的分析方法

1. 离体分化；
2. 畸胎瘤形成；
3. 嵌合体形成；
4. 生殖细胞传递；
5. 四倍体补体；
6. 单细胞嵌合体形成。

## 如何获得多能干细胞？

1. ES细胞：来源于内细胞团（ICM）的细胞；这些细胞发育成胚胎；
2. 体细胞核移植（SCNT，需要未受精卵）；
3. 重编程（使用重编程因子进行病毒转导）诱导多能干细胞（iPSCs）；
4. 细胞融合（与ESCs融合）。

## 多能干细胞能做什么？

1. 在培养皿中研究人类发展
2. 疾病建模；
3. 药物筛查；
4. 产生功能正常的细胞以补充受损/丢失的细胞和组织。

## 为什么要发展诱导多能干细胞？

1. 道德问题：
  - ES细胞——破坏人类胚胎
  - 体细胞核移植——需要未受精卵
2. 宿主-移植排斥问题

## 成体干细胞：能够再生组织的细胞

传统观点	当前的添加
稀有 神经干细胞，造血干细胞	可以丰富 消化道，睾丸
静止的 肌肉干细胞，毛囊干细胞	可以活跃 肠道干细胞，表皮干细胞
层次结构 造血干细胞	可塑性：+4肠道隐窝细胞，肝 共存的干细胞类型：皮肤、乳腺、前列腺

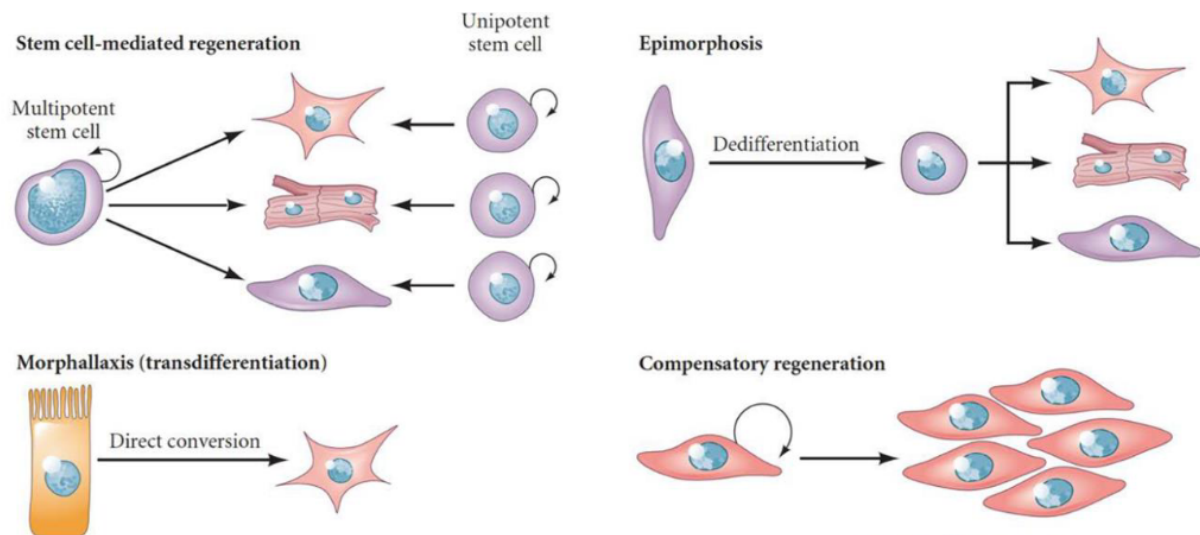
## iPSC衍生的后代与转分化（QUIZ）的比较

	ES/iPS细胞的区分	转分化
<b>Pros</b>	iPSC重编程的已知因素 2) 可以无病毒 3) 离体培养——可控 4) 可以产生大量的细胞 5) 可能产生所有细胞类型	1) 单步 2) 可以在体内实现 3) 不太容易发生突变 4) 可以无病毒
<b>Cons</b>	多个步骤 2) 突变的顶点——癌症	1) 特定的组合（未知）适用于每种细胞类型 2) 效率低，细胞数量非常有限

## 四种不同的再生模式（测验）

	过程	例子
干细胞介导的再生 干细胞介导的再生	平板虫/扁虫，皮肤，毛发，血液	
<b>Epimorphosis</b> 新建再生、割处再生、表变态	Dedifferentiation and re- 微分化	两栖动物的肢体
形态调整 变形再生、形态重组	重塑现有 组织，一点新生长	Hydra 九头蛇
补偿性再生	分化的细胞分裂	哺乳动物的肝脏





## QUIZ

### 1. 什么是多能和成体干细胞?

多能干细胞是能够自我更新的细胞，具有形成发育胚胎的三个胚层——外胚层、中胚层和内胚层的代表性组织的能力，以及生殖系的能力，但通常对胎盘滋养层的贡献很少或没有。成体干细胞存在于成熟器官的组织中，通常参与替换和修复该特定组织的组织。多能干细胞能够形成动物，而成体干细胞参与组织再生。

### 2. 多能性、多潜能性和多潜能性之间有什么相似之处和不同之处?

全能性描述了某些干细胞形成生物体所有结构的潜力，这些干细胞可以形成滋养层细胞和胚胎前体细胞。多能干细胞可以产生身体中的任何细胞类型，但不能形成滋养层。多潜干细胞是成体干细胞，其分化仅限于身体所有可能细胞的一个相对较小的子集。

### 3. 如何实验性地表征多能干细胞? 清单，黄金标准?

多能性的功能定义：体外分化，畸胎瘤形成，嵌合体形成，生殖细胞系传递，四倍体补体，单细胞嵌合体形成。

多能状态的分子定义：核心标记（核心转录因子：Oct4、Sox2和Nanog；表面标记和AP活性）；状态标记（全局DNA甲基化水平、标记转录因子的激活、Oct4增强子的使用、X染色体状态）。

### 4. 请描述四倍体补体实验的过程。

正常的哺乳动物体细胞是二倍体。四倍体补体实验从在两细胞阶段取一个胚胎并通过施加电流融合两个细胞开始制造一个四倍体细胞。结果的四倍体细胞将继续分裂，所有子细胞也将是四倍体。这样的四倍体胚胎可以发育形成胚外组织（胎盘等），然而一个正常的胎儿很少会发育。在四倍体补体实验中，现在将这样的四倍体胚胎与正常的二倍体胚胎干细胞结合。然后胚胎将正常发育。胎儿完全来源于ES细胞，而胚外组织完全来源于四倍体细胞。

### 5. 胚胎干细胞和iPSCs能做什么?

- 1) 在培养皿中研究人类发展
- 2) 疾病建模;
- 3) 药物筛查;
- 4) 生产功能正常的终端细胞，以补充受损/丢失的细胞和组织，如神经细胞、胰岛细胞、肌肉细胞、免疫细胞等。

## 6. iPSC的优势是什么?

- 1) 不要破坏人类胚胎, 因为iPSCs直接来源于成人组织, 无需胚胎
- 2) 不要求未受精卵;
- 3) 没有宿主 - 移植排斥问题, 因为每个个体都可以拥有自己的多能干细胞系。

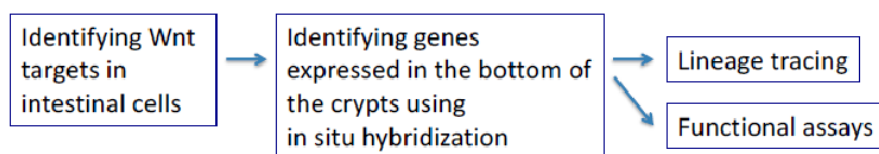
## 7. 干细胞的生长环境是什么?

干细胞定位是特定的位置(环境), 允许干细胞在定位内受控的自我更新和存活, 并允许离开定位的干细胞后代受控的分化。

## 8. 如何实验性地表征成体干细胞?

大多数声称已经鉴定出成体干细胞的研究人员依赖于这两个特征——适当的细胞形态和证明所产生的分化细胞类型显示出表面标记, 表明它们属于该组织; 单个成体干细胞可以产生一系列遗传相同的细胞, 然后产生其所在组织的所有分化细胞类型。

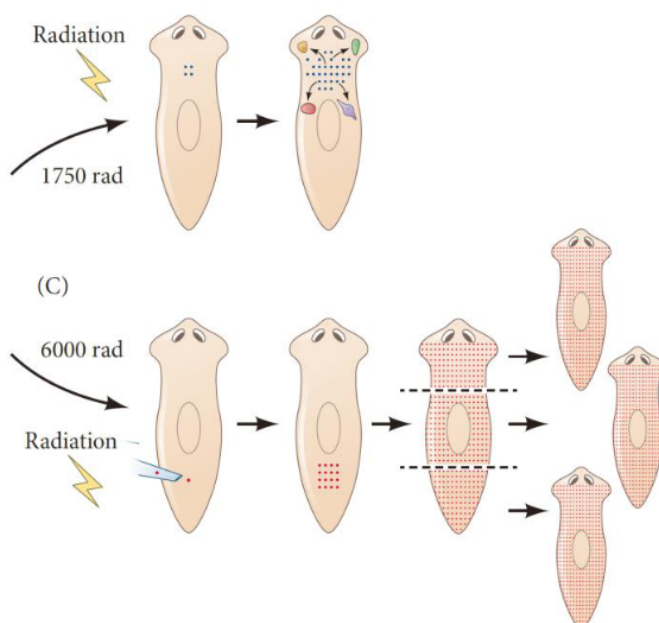
通常有三种方法用于确定候选成体干细胞是否产生专门的细胞。成体干细胞可以在体内标记, 然后可以被追踪。候选成体干细胞也可以被分离和标记, 然后再移植回生物体中以确定它们的去向。最后, 候选成体干细胞可以被分离, 在体外培养和操纵, 通过添加生长因子或引入有助于确定它们将产生哪种分化细胞类型的基因。



寻找候选成体干细胞和标记基因的逻辑流程示例

## 9. 请描述实验证据, 证明了扁虫再生是由克隆性新生细胞(干细胞介导的再生)介导, 而不是再生芽。

用1750 rad的辐照几乎可以杀死所有的新生细胞。即使只有一个幸存下来, 一个克隆性新生细胞就可以分裂产生一群分裂细胞, 最终产生器官的分化细胞。用6000 rad的辐照可以消除所有分裂细胞。从供体品系移植一个克隆性新生细胞不仅可以产生生物体中的所有细胞类型, 还可以恢复生物体的再生能力。





## 体态生成

### 羊膜动物中胚层的主要谱系：

这些细分据认为是沿着中侧（中心到侧面）轴线由增加的BMPs指定的。

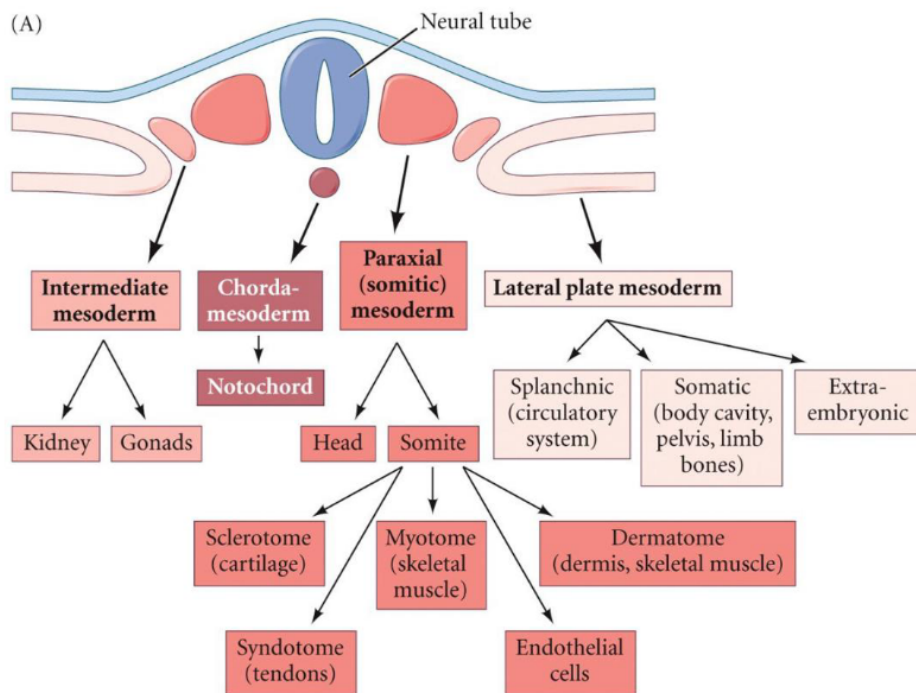
1. 脊索中胚层形成脊索。
2. 轴旁/体节（paraxial/somitic）中胚层形成体节和头部中胚层。

Somites are blocks of mesodermal cells on either side of the neural tube, which produce muscle and many of the connective tissues of the back (dermis, muscle, vertebrae and ribs).

头中胚层（前部）与颅神经嵴一起形成了面部和颅骨的骨骼、肌肉和结缔组织。

□ The paraxial mesoderm is specified by the antagonism (Noggin) of BMP signaling.

3. Intermediate mesoderm forms the urogenital system, including the kidneys, the gonads, and their associated ducts, as well as the adrenal cortex.
4. 侧板中胚层
  - 腹壁（脏壁）中胚层：心脏、血管、血细胞。
  - 体壁：身体腔、骨盆、四肢骨骼的内壁。
  - 胚外间叶。



### 形成脊节体（脊节体形成）

1. 前分节中胚层（PSM）的产生

第一个体节出现在躯干的前部，新的体节定期从前体节中的头端分离出来。

2. 周期性：somitogenesis的时钟和波前模型

分割时钟以后向前的方式驱动周期性动态mRNA表达一些所谓的时钟基因，其周期性 with 体节形成相匹配。

表达的波动不是由细胞运动引起的，而是由个别细胞以同步和周期的方式打开和关闭基因表达。这是PSM组织的固有特性。一旦波动到达PSM的前限，一个新的表达波动就会在后PSM中启动，然后分离出一个新的体节对。

3. **Synchronicity**
4. 裂隙形成 (体节的分离)
5. 上皮化
6. 前-后轴上的体节规格
7. **Differentiation**

### 分割时钟起搏器是什么 (实验逻辑流程)?

Notch配体的周期性表达可能触发Notch信号的分子振荡。至少在Notch通路的情况下, PSM沿线振荡的产生和维持已被证明依赖于由时钟基因编码的通路的不稳定负调节因子驱动负反馈回路。

1. Hes7蛋白质和mRNA的表达领域重叠但彼此不同。
2. 在所有阶段, Hes7内含子信号 (初级mRNA转录本) 和Hes7蛋白阳性区域是相互排斥的, 表明Hes7转录只发生在Hes7蛋白阴性区域 (内含子探针只识别细胞核中的初级转录本)。
3. Hes7转录在缺乏功能性Hes7蛋白的情况下在PSM中持续激活。
4. Hes7蛋白的稳定化持续抑制Hes7转录。

### 分子基础的同步性

1. 邻近细胞之间的相互信号传递。
2. 正向反馈循环。
3. 一个小小的偏见可以被放大——细胞命运得到稳定。

### 时钟振荡的加速通过Her1/7的下调

1. her-MO (用于抑制基因表达的吗啉基反义寡核苷酸) 细胞预计会持续激活周围细胞中的Notch信号, 因为由于缺乏Her1/7依赖性抑制, deltaC的表达上调。
2. 这种对her-MO细胞的分段转移活性也被发现依赖于DeltaC的功能, 因为在供体细胞中对其进行耗竭会消除her-MO细胞的分段转移活性。

### 将周期信号转换为重复的片段 (推定体节的分段模式的建立, 裂缝形成)

1. FGF/Wnt信号和视黄酸信号的对立梯度定位了决定前沿。
2. 随着胚胎向后延伸, 决定前沿向尾部移动。
3. 达到决定前沿的细胞暴露于周期性的时钟信号, 启动分割程序, 并同时激活Mesp2等基因的表达, 形成预示未来节段的条纹区域。这建立了假定的体节段的分段模式。

### 命运规定的体节衍生物

1. 一个体节的特定结构是由多种组织相互作用完成的。
2. Somitic区域的位置使它们靠近不同的信号中心, 比如脊索 (Shh和Noggin的来源)、神经管 (Wnts和BMPs的来源) 和表面上皮 (同样是Wnts和BMPs的来源)。

### 肌肉发育:

1. 脊椎动物体内的所有骨骼肌 (头部肌肉除外) 均来自体节的皮肤胚板。
2. 肌源性调控因子 (MRF) 是bHLH转录因子, 包括MyoD、Myf5、肌原蛋白和Mrf4。

3. 这个家庭的每个成员都可以激活其他家庭成员的基因，导致强大的正反馈调节，以至于在身体的几乎任何细胞中激活MRF都会将该细胞转化为肌肉。

## QUIZ

### 1. 中胚层的主要衍生物是什么？

- 1) 脊索中胚层形成脊索。
- 2) 轴向/体细胞中胚层形成了躯干肌肉和结缔组织以及头部中胚层（面部和颅骨的骨骼、肌肉和结缔组织）。
- 3) Intermediate mesoderm forms the urogenital system (kidneys, gonads, as well as the adrenal cortex).
- 4) 侧板中胚层包括内胚层（心脏、血管、血细胞）、体壁中胚层（体腔内衬、骨盆、四肢骨骼）和胚外中胚层。

### 2. 周期性时钟在体节发生中的分子基础是什么？

分割时钟以后向前的方式驱动周期性的mRNA表达，跨越前体分节中胚层（PSM）中所谓的时钟基因的数量。表达的波动不是由于细胞运动，而是由于单个细胞以同步和周期性的方式打开和关闭基因表达。一旦波动到达PSM的前限，一个分节对脱落，新的表达波动在后PSM中启动。已经显示，沿着PSM的振荡的产生和维持依赖于由时钟基因编码的通路的不稳定的负调节因子驱动的负反馈环路。

### 3. 脊椎动物体节内部的同步性的分子基础。

- 1) 邻近细胞之间的相互信号传递。
- 2) 正向反馈循环。
- 3) 一个小小的偏见可以被放大——细胞命运得到稳定。

### 4. 如何将周期信号翻译成重复的体节段？

- 1) FGF/Wnt信号和视黄酸信号的对立梯度定位了决定前沿。
- 2) 随着胚胎向后延伸，决定前沿向尾部移动。
- 3) 到达决定前沿的细胞暴露于周期性的时钟信号，启动分割程序，并同时激活Mesp2等基因的表达，形成预示未来节段的条纹区域。这建立了假定的体节段的分段模式。

### 5. 请总结肌肉发育的过程。

- 1) 脊椎动物体内的所有骨骼肌（头部肌肉除外）均来自体节的皮肤胚板。
- 2) 肌源性调控因子（MRF）是bHLH转录因子，包括MyoD、Myf5、肌原蛋白和Mrf4。
- 3) MRF家族的每个成员都可以激活其他成员的基因，导致强大的正反馈调节，以至于在体内几乎任何细胞中激活MRF都会将该细胞转化为肌肉。
- 4) 肌母细胞排列在一起，融合它们的细胞膜形成一个带有多个细胞核的单个大细胞，称为肌纤维，它构成了肌肉的基本单位。
- 5) 成年肌肉纤维上的卫星细胞负责肌肉的生长和再生。

### 6. 肌源性转录因子的主要特征是什么？

MRF家族的每个成员都可以激活其他成员的基因，导致强大的正反馈调节，以至于在体内几乎任何细胞中激活MRF都会将该细胞转化为肌肉。

## 肢体发育

### 如何识别肢体区域？

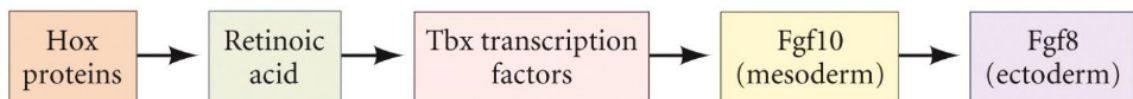
1. 移除某些细胞群，并观察到在它们缺席的情况下肢体未能发育。
2. 将一组细胞移植到新的位置，并观察它们在这个新地方形成一条肢体。
3. 用染料或放射性前体标记细胞群，并观察它们的后代参与肢体发育（谱系追踪）。

### 肢芽的出现

1. 肢体发育始于侧板中胚层的肢体区域的间充质细胞迁移（形成肢体骨骼前体细胞），以及在同一水平从体节中迁移（形成肢体肌肉前体细胞）。
2. 这些间充质细胞在皮肤（外胚层）组织下积聚，形成一个圆形隆起，称为肢芽。
3. 脊椎动物的胚胎中最多有四个肢芽，肢芽总是成对出现在中线的对侧。

### 早期肢芽的诱导：Wnt蛋白和成纤维细胞生长因子（Fgfs）

1. Hox蛋白在侧板中胚层中建立了维甲酸（RA）合成的条件。
2. RA引起转录因子Tbx5（前肢）和Tbx4（后肢）的诱导。
3. Tbx转录因子（TFs）在侧板中胚层诱导Fgf10。
4. Fgf10通过Wnt信号诱导外胚层中的Fgf8表达。
5. Fgf10在中胚层和Fgf8在外胚层之间的正反馈循环启动了肢体的生长，并形成了顶端表皮嵴（AER）。



### 轴形成

近端—远端	成纤维细胞生长因子（FGF），RA
前—后	Sonic hedgehog（Shh）基因
Dorsal—Ventral dorsal—ventral	Wnt7a

### 生成肢体近端-远端轴

1. 顶端外胚层脊（AER）
2. 确定肢体骨骼的近端-远端极性：特定的肢体中胚层
3. 四肢成型的双梯度模型

### AER的角色

1. 保持其下的间叶组织处于可塑的、增殖状态，从而促进肢体的近端-远端生长。
2. 维持产生前后（拇指-小指）轴的分子表达。
3. 与指定前后和背腹（指关节-手掌）轴的蛋白质相互作用，使每个细胞得到分化指令。

### 远端（进展区）间充质对近端-远端规格的控制

1. 当早期翼芽进展区移植到已经形成尺桡骨的晚期翼芽时，会形成额外的尺桡骨。

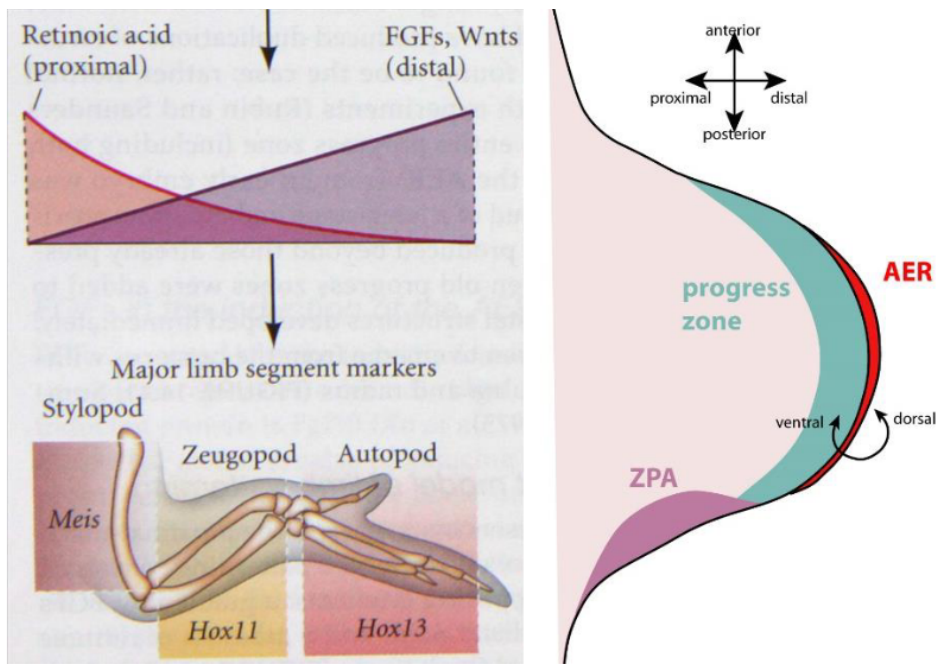
2. 晚期翅芽进展区移植到早期翅芽时，缺乏中间结构。

肢体图案的双梯度模型

- 1. 维甲酸 (RA) 使移植的间充质形成的骨骼向近端化。
- 2. FGFs和Wnts使移植的间充质形成的骨骼远离身体。

间充质是如何确定近端-远端轴的？

RA通过侧坡近端化骨骼，而AER的FGFs和Wnts通过远端化骨骼，两者之间形成平衡。对立的梯度可能通过在间充质中沉积不同转录因子的分段模式来实现这种平衡。



指定肢体的前后轴

Sonic hedgehog (Shh) 定义极化活性区 (ZPA) ，因此确定前后轴。

数字的规格

- 1. 数字的规定主要取决于 Shh 基因的表达时间，而与其他细胞接收到的 Shh 蛋白质浓度关系不大。
- 2. BMP浓度在指间中胚层后部调控数字身份。
- 3. BMP浓度在数字前间隙和Gli3中调控数字身份。

Wnt7a确定了背腹轴

背腹轴部分是由Wnt7a在肢体外胚层的背部表达形成的。

- 1. Wnt7a是一种激活信号还是抑制信号？
- 2. Wnt7a 会在哪一侧表达，背侧还是腹侧？
- 3. 如果Wnt7a在肢体的腹侧过度表达会怎么样？

细胞死亡与数字和关节的形成

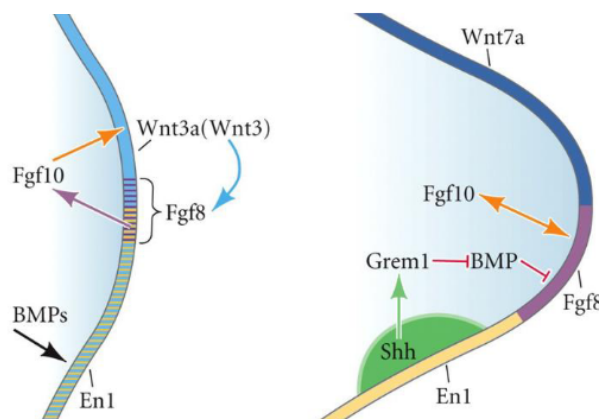
在自足部位，凋亡的信号是由BMP蛋白 (BMP2/4/7) 提供的。





## 协调三轴

1. 在肢芽中，由侧板中胚层产生的间充质细胞生成的Fgf10激活外胚层中的Wnt信号，进而诱导AER附近区域合成Fgf8。Fgf8激活Fgf10，形成正反馈环路。
2. 随着肢芽的生长，后部间充质中的Shh产生了一个新的信号中心，诱导后前极性，并激活Gremlin (Grem1) 以防止间充质BMP阻碍在外胚层的FGF合成。
3. 在肢体形态建立的最后阶段，BMPs负责同时关闭AER，间接关闭ZPA，并抑制沿着背腹轴的Wnt7a信号（BMP信号消除了所有轴向的生长和形态建立）。



**I'm happy to help! Please provide the text you'd like me to translate into Simplified Chinese**

1. 四肢从身体轴上生长出来的位置取决于Hox基因的表达。
2. Fgf10在中胚层和Fgf8在外胚层之间的正反馈循环启动了肢体的生长，并形成了顶端表皮嵴（AER）。
3. 两个相对的梯度，一个来自AER的Fgfs和Wnts，另一个来自侧面的视黄酸（RA），对肢体进行编排。
4. 前后轴由刺猬蛋白（Shh）在极化活性区（ZPA）的表达所定义，该区域位于肢芽的后部中胚层。
5. Shh 以至少两种方式指定数字。它通过在指间间质中的BMP抑制来发挥作用，同时也调节数字软骨的增殖。
6. Shh的长程增强子的突变可能通过在肢芽的前缘形成第二个ZPA来引起多指趾畸形。
7. 背腹轴部分是由Wnt7a在肢体外胚层的背部表达形成的。

## QUIZ

1. 前肢和后肢的生长方式有何不同？  
维甲酸（RA）导致转录因子Tbx5和Tbx4的诱导。Tbx5导致前肢发育，而Tbx4导致后肢形成。
2. AER是什么，AER在肢体发育中扮演什么角色？  
AER是由每个肢芽远端的外胚层细胞形成的结构，作为一个重要的信号中心，确保肢体的正常发育。AER在肢体发育中发挥三个作用：
  - 1) 保持其下的间叶组织处于可塑的、增殖状态，从而促进肢体的近端-远端生长。
  - 2) 维持产生前后（拇指-小指）轴的分子表达。
  - 3) 与指定前后和背腹（指关节和手掌）轴的蛋白质相互作用，使每个细胞得到分化指令。

### 3. ZPA是什么, ZPA在肢体发育中扮演什么角色?

极化活动区 (ZPA) 是位于幼小肢芽和身体后部连接处附近的一小块中胚层组织, 其中含有信号 (Shh), 指导发育中的肢芽沿前后轴形成。

### 4. 为什么手指只在肢体的一端形成, 而其他地方却没有呢? (近端-远端轴)

维甲酸 (RA) 使由间充质形成的骨骼近端化, 而FGFs和Wnts使其远端化。RA从侧腹部近端化骨骼, 而AER的FGFs和Wnts远端化骨骼之间存在平衡。对立的梯度可能通过在间充质中沉积不同转录因子的分段模式来实现这种平衡。

### 5. 小指 (小指) 是如何在肢体的一边发育, 而拇指在另一边发育的呢? (前后轴)

Sonic hedgehog (Shh)定义了极化活性区 (ZPA), 因此确定了前后轴。数字的确定主要取决于Shh基因表达的时间长短, 对其他细胞接收到的Shh蛋白浓度的影响很小。Shh至少以两种方式确定数字。它通过在指间间质中抑制BMP的作用, 并且还调节数字软骨的增殖。

### 6. 四肢的背腹轴的分子机制是什么?

背腹轴部分是由Wnt7a在肢体外胚层的背部表达形成的。

### 7. 四足动物四肢三个轴的生长是如何协调的?

- 1) 在肢芽中, 由侧板中胚层产生的间充质细胞生成的Fgf10激活了外胚层中的Wnt信号, 进而诱导了AER附近区域的Fgf8的合成。Fgf8激活了Fgf10, 形成了正反馈环路。
- 2) 随着肢芽的生长, 后部间充质中的Shh产生了一个新的信号中心, 诱导后-前极性, 并激活Gremlin (Grem1) 以防止间充质BMP阻碍在胚外区域的FGF合成。
- 3) 在肢体形态建立的末期, BMPs负责同时关闭AER, 间接关闭ZPA, 并抑制沿着背腹轴的Wnt7a信号 (BMP信号消除了所有轴向的生长和形态建立)。

## 生殖细胞系

### 生殖细胞系的特征

1. 生殖细胞为下一代的身体提供材料和启动指令。
2. 生殖细胞系可以通过自主方式 (Nanos、Vasa、Tudor、Piwi) 或诱导方式获得其特异性。
3. 生殖细胞通常不会在生殖腺内产生。相反, 配子祖细胞——原始生殖细胞 (PGCs) ——会在其他地方产生并迁移到发育中的生殖腺内。
4. 转录沉默对于防止生殖细胞系分化为体细胞至关重要, 而生殖细胞的分化直到后期胚胎阶段 PIE-1 消失后才能开始。

### 大纲

1. 生殖细胞特异性——生殖质形成和原始生殖细胞的确定。
2. PGC的迁移进入发育中的生殖腺。
3. Meiosis.
4. 精子和卵细胞的分化。
5. 生殖细胞成熟和排卵的激素控制。

## 哺乳动物的生殖细胞决定

1. 在哺乳动物中，生殖细胞是在胚胎中诱导的。
2. 在小鼠中，生殖细胞在外胚层的后部区域形成，即后部近端外胚层，在胚外外胚层、外胚层、原始纹和尿囊的交界处。
3. 在小鼠中成为PGCs的细胞与外胚层的其他细胞在本质上并无不同，并且不含生殖质。相反，后部外胚层细胞是被胚外组织诱导的。

## 果蝇的生殖细胞迁移

1. 果蝇的生殖细胞迁移分为几个步骤，涉及经上皮迁移、排斥内胚层和对生殖腺的吸引。
2. Hub细胞分泌Unpaired以激活相邻的生殖干细胞中的JAK-STAT通路，以指定它们的自我更新。（干细胞微环境）

## 哺乳动物的生殖细胞迁移

PGCs穿过肠道，背部进入生殖嵴。

## 减数分裂

1. 减数分裂是由生殖腺发出的信号启动和调节的。
2. 减数细胞在没有DNA复制的干预期间进行两次细胞分裂。
3. 同源染色体在着丝粒处结合在一起，并重新组合遗传物质。

## 卵母细胞发育

构建蛋涉及

1. 使细胞核成为单倍体；
2. 参与受精的细胞器的构建；
3. 合成和定位在早期发育中使用的mRNA和蛋白质；
4. 在细胞质中积累能量来源和能量产生的细胞器（核糖体、卵黄和线粒体）。

## 果蝇的减数分裂卵母细胞形成

细胞质连接保持在由卵母细胞产生的细胞之间。只有一个细胞成为卵母细胞。

其余的15个护士细胞将核糖体、mRNA和蛋白质传递到卵母细胞的细胞质中。

## 哺乳动物的配子发生

1. 迁移到生殖腺的PGC并不自行决定成为精子或卵子，而是它们所驻留的生殖腺做出决定。
2. 最基本的一组信号之一调节减数分裂的时机，其中包括Wnt4和视黄酸（RA）。

## 维甲酸（RA）决定了哺乳动物生殖细胞的减数分裂和性别分化的时机

1. 女性：减数分裂始于胚胎性生殖腺。
2. 男性：减数分裂直到青春期才开始。
3. 在青春期，视黄醇酸在精原细胞中合成，并诱导精子干细胞中的Stra8，然后精子干细胞就会承诺进行减数分裂。

## 精子形成 - 三个主要阶段

在青春期开始，并发生在Sertoli细胞之间的隐窝。

1. 精原细胞的增殖——精子干细胞。

2. 一个减数分裂阶段——产生单倍体状态。
3. 一个精子形成后的“成型”阶段——精子发生：圆形细胞（精子细胞）排出大部分细胞质，变成流线型精子。

### 成熟的精子

1. 高尔基体中的顶体囊的构建。
2. 细胞核的旋转。细胞核变扁并凝结，剩余的细胞质被丢弃，线粒体围绕着鞭毛的基部形成一个环。
3. 核小体的重塑——单倍体细胞核中的组蛋白被精蛋白所取代。

### 哺乳动物的卵子发育

卵子通过激素、旁分泌因子和组织解剖的复杂协调而成熟。

### Quiz

1. PGCs是什么？  
原始生殖细胞是配子的祖细胞，通常在其他地方形成并迁移到发育中的生殖腺。
2. 什么是生殖细胞质？生殖细胞质的作用是什么？  
生殖质是细胞质区域，含有生殖细胞决定因子（mRNA和蛋白质），可以自主地指定原始生殖细胞。
3. 构成功能卵母细胞的关键组成部分是什么？
  - 1) 使细胞核成为单倍体；
  - 2) 参与受精的细胞器的构建；
  - 3) 合成和定位在早期发育中使用的mRNA和蛋白质；
  - 4) 在细胞质中积累能源和能量产生的细胞器（核糖体、卵黄和线粒体）。
4. 哺乳动物雄性和雌性配子发生的共同特征和差异是什么？  
共享特征：
  - ☐ 雄性和雌性的配子形成都涉及减数分裂。
  - ☐ 减数分裂和性别分化的时机由视黄酸决定。差异：☐ 每次在雄性中产生四个精子细胞，而在雌性中产生一个卵细胞和三个极体。

减数分裂在雌性胚胎性生殖腺中开始，而在雄性中直到青春期才开始。

精子形成涉及一个后减数分裂的“成形”阶段，以产生成熟的精子，而卵子形成则不涉及。

5. 精子形成的主要步骤。
  - 1) 精原细胞的增殖——精子干细胞。
  - 2) 一个减数分裂阶段——产生单倍体状态。
  - 3) 一个精子形成后的“成型”阶段——精子发生：圆形细胞（精子细胞）排出大部分细胞质，变成流线型的精子。
6. 正常卵母细胞发育所需的因素。  
卵子通过激素、旁分泌因子和组织解剖的复杂协调而成熟。

