

- 九-果蝇体轴发育
- 十-两栖动物
- 十一-鸟类和哺乳类
- 十三-神经发育
 - 关键步骤
 - 机制
- 十七-中胚层发育
 - 体节特化
 - 肢体发生
 - QUIZ
- 二十-内胚层
- 五-干细胞
- 二十二-再生
- 十三-神经发育-补
- 十四-大脑皮层
 - 径向胶质细胞
 - 中间前体细胞
 - 逐步命运限制（Progressive fate restriction）
 - NPC异质性（NPC heterogeneity）
 - 顶端前体细胞（Apical Progenitors）
 - 中间前体细胞（Intermediate Progenitors）
 - 问题：移植和体外培养实验的挑战
 - 解决方案：逆转录病毒感染
 - 谱系示踪3S：特异性、稳定性和安全性
 - QUIZ

阅览建议，先一轮复习整个动发内容，配合PPT。然后看我这个二轮，最后看2018英文复习资料。我知道你很痛苦，我也很痛苦555555.

九-果蝇体轴发育

母体的卵细胞将要成为胚胎时还在卵室中，前后轴的建立是由母体建立的。**ventral**命运是卵细胞的默认状态，而**Gurken-Torpedo**信号抑制了**ventral**，使那一部分变成**dorsal**。**dorsal**蛋白使**ventral**变成**ventral**，而在**dorsal**侧，**dorsal**蛋白被抑制无法进入细胞核，没法启动**ventral**化 **bicoid**和**nanos**则启动了**AP**轴的建立。它们是母体mRNA，**bicoid**在**Anterior**高，而**posterior**低，**nanos**反之，建立了分节梯度。

十-两栖动物

组织者可以做什么？

1. 自我分化为咽内胚层、索前板、脊索中胚层（脊索）和背唇；
2. 背侧化周围的中胚层，使其成为轴旁中胚层(形成体节)，而不是腹侧中胚层；
3. 使外胚层背侧化，并诱导神经管的形成；
4. 启动原肠形成。外胚层默认状态为神经组织，结合BMP后变成表皮。而组织者分泌一些分子给外胚层，抑制了BMP的作用，从而使外胚层变成神经。DV轴建立在BMP浓度上，而AP轴建立在Wnt信号上。没有Wnt信号Anterior则会发育成脑，有Wnt无BMP则是脊索，都有则是表皮。BMP梯度自V至D，Wnt梯度自P至A。

十一-鸟类和哺乳类

原条首先开始形成，顶端叫hensen结类似于组织者，然后再回退，过程中形成神经管，脊索。原条越短，脊索越长。

十三-神经发育

外胚层发育成神经是因为BMP被抑制。从神经管的D至V有TGF-beta梯度，而从V至D有Shh梯度，决定了神经管的各部分发育。Shh信号来自脊索。

关键步骤

1. 神经前体细胞的产生：
 - 。神经前体细胞是中枢神经系统的基础，它们来源于神经管，这是胚胎早期由神经板细胞折叠形成的结构。在这个阶段，神经管内的细胞尚未分化，具有形成多种神经细胞类型的潜力。这些细胞的命运将由随后的信号和环境因素决定。
2. 神经管内的区域差异产生：
 - 。神经管沿着背腹轴（上下方向）和前后轴（头尾方向）的不同区域，会产生不同的细胞类型，这为构建复杂的神经系统提供了基础。例如，脑部结构源于前端的神经管，而脊髓则发展自更靠后的部分。区域差异的产生是通过细胞接收不同的信号分子组合，如梯度形成的Shh和BMPs，来实现的。
3. 不同神经元亚型的规格化：
 - 。在神经管发育的后期，不同区域的神经前体细胞开始分化为具体的神经元亚型，如运动神经元或感觉神经元。这一过程涉及到对特定基因的表达进行精确

调控，以及响应特定的微环境信号，从而确定每个细胞的特定身份和功能。

机制

1. 诱导信号：

- **Shh (索尼奇刺猬蛋白)**：Shh是从脊索和后脑室底板分泌的，它在脊髓腹侧形成浓度梯度，决定了细胞的背腹轴位置和相应的细胞类型。
- **FGFs (成纤维细胞生长因子)**：FGFs在神经发育中起多种作用，包括推动细胞增殖、迁移和分化。
- **Wnt信号**：在调控细胞命运、增殖和后续的细胞极性建立中起重要作用。
- **BMPs (骨形态发生蛋白)**：尤其在背侧神经管的发育中起关键作用，它们与Shh相反，形成背侧的信号中心。
- **RA (视黄酸)**：作为一种强有力的形态生成因子，在前后轴的形成和脊髓早期细胞类型的决定中发挥作用。

2. 转录因子的精确表达：

- 细胞命运的决定往往取决于转录因子的表达模式。不同的转录因子在神经发育中响应上述诱导信号，激活或抑制特定基因的表达。例如，不同区域的细胞可能会表达特有的组合Hox基因，这些基因是一组重要的转录因子，负责调控神经管沿前后轴的分区。

3. 神经元输入的影响：

- 除了内部分子信号外，细胞也会响应来自周围环境的信息，包括相邻细胞的直接接触（通过黏附蛋白）和远程信号（通过释放的生长因子）。这些输入帮助细胞获取关于其位置、邻近细胞的类型以及整体发育进程的信息，从而做出相应的调整。

十七-中胚层发育

在脊椎动物的胚胎发育中，体节（**somite**）是早期胚胎中形成的对称结构，它们是未来骨骼、肌肉和皮肤等结构的前体。体节会进一步分化为几个部分，包括皮肤胚层（**dermatome**）、肌肉胚层（**myotome**）和骨骼胚层（**sclerotome**）。

1. **皮肤胚层（Dermatome）**：皮肤胚层主要发展成为皮肤的某些部分，特别是皮肤的真皮层。它负责形成与相应体节相对应的皮肤区域，每个区域的皮肤感觉都由特定的脊神经支配。
2. **肌肉胚层（Myotome）**：肌肉胚层是体节分化出来的部分，它发展成为骨骼肌肉。每个肌肉胚层会形成一组肌肉，这组肌肉负责体的某个特定部分的运动，例如肢体和躯干的运动。

3. 骨骼胚层（**Sclerotome**）：骨骼胚层主要发展成为脊椎动物的骨骼，包括椎骨和肋骨。它在发育过程中会分化并包围脊髓，形成脊柱的保护结构。

胚前体节中胚层（**Presomitic mesoderm, PSM**）是脊椎动物胚胎中的一种组织，位于后肠附近，是体节形成之前的一种未分化的中胚层组织。在发育过程中，胚前体节中胚层会逐渐分化，形成一系列规则排列的体节（**somites**），这些体节最终将分化成皮肤、肌肉和骨骼等多种组织。

神经管向两侧的不同的体节发育命运是由**BMP**浓度梯度决定，中低，侧高。*Noggin*信号则是**BMP**的抑制物，它建立起**BMP**浓度梯度，由presomitic mesoderm分泌，抑制**BMP**

神经中胚层祖细胞**NMP**有双潜能，既可以形成神经管，又可以变为**PSM**。

体轴延伸主要是指在胚胎发育过程中体轴的后部（尾部）不断向后（或向下）延伸（由于**NMP**的迁移和转变），形成新的组织和结构。这一过程主要涉及原条和胚前体节中胚层（**PSM**）的细胞增殖、分化和迁移，是形成脊椎动物复杂身体结构的关键步骤。

波阵面，由**fgf**和**RA**浓度梯度建立。**RA**在胚胎中部高，而**fgf**在胚胎尾部高。**fgf**低浓度区域的细胞都有能力变成体节，但还需要其它条件。**fgf**梯度的建立来自于体轴的延伸，它只在尾部转录，而尾部一直又在向后延伸，所有这一时刻的尾部是下一时刻的中部，中部的被降解，自然形成梯度。总的来说**fgf**足够低的地方就是决定前沿，波阵面，在此前沿之前的细胞都有变成体节的能力（即应答分子钟的能力）

考虑这样一个模型，在胚胎的尾部有一个信号，它的产物会导致**PSM**变成体节，但是需要在**fgf**足够低的区域。这个信号还会传递给周围的细胞，使得周围的信号也获得相同的信号，然后原本的产生信号的细胞又反过来被抑制，它被抑制后就不再向周围发送信号，周围也就停止产生信号。有这样的功能后，尾部产生的一个信号就会像波一样在胚胎中从后向前传递，传到前面后，后面的又因为被抑制而消失了，因此是周期性的发出信号，停止信号，发出信号，这样子。这就是**Notch**信号。

Notch信号在某一个细胞中高表达，引起周围细胞的**Delta**配体上调，周围细胞的**Delta**配体则又通过与周围细胞的周围的**notch**受体作用，使二阶周围细胞的**notch**上调。一层一层的如此传播。然而，**Notch**信号又被自身促进表达的蛋白质（**Notch**信号的靶基因，如**Hairy1**使得**PSM**变成体节）所抑制。

（当**Notch**在一个细胞中被上调和呈递到细胞表面时，它可以与相邻细胞表面的**Delta**蛋白结合。这种结合不仅激活了**Notch**受体所在细胞的信号途径，也会通过一些分子机制增强相邻细胞中**Delta**蛋白的表达和活性。这种增强了的**Delta**又能与更多的**Notch**结合，进一步加强信号，形成一个正反馈循环。）

GPT4的一些补充：
波阵面 (Wavefront)：

你正确地描述了FGF和RA (Retinoic Acid) 梯度在建立波阵面中的作用。RA在胚胎中部有较高的浓度，而FGF在尾部有较高的浓度。这种梯度共同作用形成了一个决定前沿，即波阵面，在这个区域前的细胞具有形成体节的潜力。

FGF梯度和体轴延伸：

FGF梯度的建立与体轴的延伸紧密相关，这一点描述得很好。随着胚胎尾部的延伸，新的细胞会产生并表达FGF，而原有区域中的FGF会逐渐降解，从而形成从尾部到前部递减的梯度。

时钟机制：

时钟机制通常涉及周期性基因的表达，比如Hes/Her家族基因的振荡表达。这种振荡与Notch信号通路密切相关，帮助同步PSM中细胞的行为，并且与波阵面的位置相互作用，确定细胞的体节命运。

Notch信号的作用与传播：

Notch信号在细胞间传播和细胞命运决策中起着关键作用。在侧向抑制中，一个细胞的Notch信号高表达可以导致周围细胞的Delta上调，进而影响更远细胞的Notch信号。这种细胞间的信号传递帮助形成不同的细胞命运，并在体节的形成中产生清晰的边界。

你提到的Notch信号被其靶基因抑制的过程，确实反映了Notch信号通路中存在的负反馈机制。这种负反馈有助于维持信号的动态平衡，确保细胞命运的正确分配和体节的有序形成。

实际上传递的是时钟，即Notch信号的靶基因，由于振荡的表达和被抑制，导致了传播。

分节可总结为：既依赖于接收 Notch 介导的一个基因表达波 (作为“分节许可”)，也需要在fgf 的一个浓度阈值下变得有应答能力，这意味着体节的大小和数目是基于两个因素：分节振荡的速度和体轴延伸的速度

体节特化

体节的特征是由几种不同的组织共同作用完成的。 \n\n• 体节区的位置使它们靠近不同的信号中心，如脊索（Shh和Noggin的来源）、神经管（Wnts和BMPs的来源）以及表皮（也是Wnts和BMPs的来源）。

肢体发生

wnt和fgf10还可以诱导肢芽的发生，fgf10在lateral plate mesoderm里。fgf8在ectoderm里，两个一起启动肢体生成以及apical ectodermal ridge（顶端外胚层嵴）

AER会与底下的间充质相互作用发展成整个肢体。（无论底下的间充质是谁）

肢体的proximal和distal是由flank和AER控制。AER的FGF和wnt使肢体distalize，flank的RA使肢体proximalize。例如尺骨和挠骨是proximal端，而手掌是distal端。

肢体的AP轴就是指躯干的AP轴。例如，在人类的手上，大拇指是位于前侧（anterior）的，而小指是位于后侧（posterior）的。

AP轴由zone of polarizing activity(ZPA)确定，而ZPA由Shh诱导。指的特化也依赖于shh表达时间，3（一部分），4，5指表达shh DV轴则由Wnt7a信号建立，Wnt在dorsal侧表达使其变为dorsal。蹼的消失由BMP介导。

1. 前肢与后肢生长的不同之处：通常这些差异与Tbx基因表达有关，特别是Tbx5主要在前肢表达，而Tbx4则在后肢表达，这影响了肢体的区域特定性发育。
2. **AER（顶端外胚层嵴）及其在肢体发育中的作用：** AER是一条位于肢芽远端边缘的外胚层突起，对肢体的生长至关重要。AER维持下方间质细胞处于可塑性增殖状态，使肢体得以沿近远轴（proximal-distal axis，即肩到手指）方向生长。它还维持了产生前后轴（thumb-pinkie axis）的分子的表达，并与指定前后轴和背腹轴（knuckle-palm axis）的蛋白质互动，以指导每个细胞的分化。
3. **ZPA（极化活性区）及其在肢体发育中的作用：** ZPA是位于年轻肢芽与身体后部交界处的一小块间质组织。ZPA通过Sonic hedgehog (Shh)基因的表达，对肢体的前后轴（Anterior-posterior Axis，即大拇指到小指方向）有决定性影响。ZPA的移植可以导致镜像对称的指数增加，显示其在肢体特定结构形成中的关键作用。
4. 为什么手指只在肢体的一端形成：这与肢体的近远轴（proximal-distal axis）的发育有关。在肢芽的远端，AER维持一个称为进展区（progress zone）的下方间质细胞处于不断分裂的状态，手指的形成是由这些区域的间质细胞特化成骨骼和其他组织来实现的。
5. 小指与拇指为何在肢体的两侧发育：这是由肢体的前后轴（Anterior-posterior axis）决定的，主要由ZPA和Shh基因的表达控制。Shh的表达在确定手指身份，尤其是在肢体的前后轴方向上起着关键作用。
6. 确定肢体背腹轴（Dorsal-Ventral axis）的分子机制：肢体的背腹轴由Wnt7a基因在背侧的表达来确定。Wnt7a的缺失会导致背侧特征的丧失，并影响到Shh的表达，显示出它在确定肢体背腹轴方向上的重要性。
7. 四足动物肢体的三个轴如何协调生长：AER和ZPA在肢体发育中通过各种信号途径（如Fgf, Wnt, Shh等）相互作用和调节，以协调三个轴的生长。例如，Fgf从间质中产生的Fgf10激活外胚层中的Wnt信号，进而诱导Fgf8的合成，形成正反馈循环。同时，Shh在后部间质中形成一个新的信号中心，诱导后前极性，并激活Gremlin（Grem1），防止间质中的BMP阻断AER中FGF的合成。在肢体发育的后期，BMP信号负责关闭AER，间接关闭ZPA，以及抑制沿着背腹轴的Wnt7a信号，从而终止肢体的生长和模式形成。

防止间质中的**BMP**（骨形态发生蛋白）阻断**AER**（顶端外胚层嵴）中的**FGF**（成纤维细胞生长因子）的合成对于肢体的正常发育至关重要。这里是具体的原因：

1. **保持肢体生长：** **FGF**是从**AER**分泌的关键生长因子，对肢体的近远轴（**proximal-distal axis**）生长至关重要。**FGF**的持续分泌维持了肢芽下方的进展区（**progress zone, PZ**）的细胞处于快速分裂的状态，从而促进肢体沿着远端方向的生长。如果**BMP**信号抑制了**FGF**的产生，进展区的细胞将停止分裂，导致肢体生长停止。
2. **模式形成：** **AER**和下方进展区的相互作用不仅影响肢体的长度生长，还决定了手指等细节结构的形成。**FGF**信号影响着手指间隔和身份的形成。如果**BMP**阻断了**FGF**的合成，这将破坏正常的模式形成过程，导致手指发育异常或其他结构缺陷。
3. **平衡信号调节：** 在肢体发育过程中，**BMP**、**FGF**、**Shh**等多种信号相互作用，形成复杂的调控网络。**BMP**通常在进展区的分化中起作用，而**FGF**则促进其增殖。阻断**BMP**对**FGF**的抑制可以保持这一平衡，确保肢体各部分的协调生长和结构的正确形成。

QUIZ

1. 前肢是如何与后肢不同地生长的？
 - 视黄酸(**RA**)引导转录因子**Tbx5**和**Tbx4**的诱导。**Tbx5**导致前肢发展，而**Tbx4**导致后肢形成。
2. 什么是**AER**，以及**AER**在肢体发展中扮演什么角色？
 - **AER**是位于每个肢芽远端的外胚层细胞形成的结构，它是一个主要的信号中心，确保肢体的正常发育。**AER**在肢体发展中扮演3个角色：
 1. 维持它下方的间充质处于一种可塑性、增殖状态，以实现肢体的近端—远端生长。
 2. 维持那些产生前后（大拇指—小指）轴的分子的表达。
 3. 与指定前后轴和背腹轴（指节—掌）的蛋白质互动，以便给每个细胞提供分化指令。
3. 什么是**ZPA**，以及**ZPA**在肢体发展中扮演什么角色？
 - 极化活动区（**ZPA**）是位于幼年肢芽和身体的后部交界处的一小块中胚层组织，它包含信号（**Shh**），指导肢芽沿前后轴形成。
4. 为什么手指只在肢体的一端形成，而不在其他地方？（近远轴）
 - 视黄酸（**RA**）使来自间充质的骨骼近端化，而**FGFs**和**Wnts**使其远端化。由**RA**从侧翼对骨骼的近端化和**AER**的**FGFs**和**Wnts**对骨骼的远端化之间存在平衡。相反的梯度可能通过在间充质中形成不同转录因子的分段模式来实现这一平衡。
5. 小指（小拇指）是如何在肢体的一边发展，而大拇指在另一边的？（前后轴）
 - 刺猬信号蛋白（**Shh**）定义了极化活动区（**ZPA**），因此指定了前后轴。指的规格主要取决于**Shh**基因表达的时间长度，以及其他细胞接收到的**Shh**蛋白的

浓度。**Shh**至少以两种方式指定手指。它通过抑制间趾间充质中的**BMP**，在手指软骨的增殖中也起到调控作用。

6. 确定肢体背腹轴的分子机制是什么？

- 肢体背腹轴的形成部分是通过**Wnt7a**在肢体外胚层背部的表达形成的。

7. 四足动物肢体的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**Fgf10**激活外胚层中的**Wnt**信号，这反过来又诱导**AER**附近区域合成**Fgf8**。**Fgf8**激活**Fgf10**，形成正反馈循环。
2. 随着肢芽的生长，后间充质中的**Shh**创建一个新的信号中心，诱导后前极性，并且还激活**Gremlin (Grem1)**以防止间充质**BMPs**阻断**AER**中**FGF**的合成。
3. 在肢体图案化的最后，**BMPs**负责同时关闭**AER**，间接关闭**ZPA**，并抑制沿背腹轴的**Wnt7a**信号（**BMP**信号消除沿所有轴的生长和图案化）。

QUIZ

1. 中胚层的主要衍生物有哪些？

1. 脊索中胚层形成脊索。
2. 周轴/体侧中胚层形成体节（背部的肌肉和结缔组织）和头部中胚层（面部和头骨的骨骼、肌肉、结缔组织）。
3. 中间中胚层形成泌尿生殖系统（肾脏、性腺以及肾上腺皮质）。
4. 侧板中胚层包括内脏中胚层（心脏、血管、血细胞）、体侧中胚层（体腔的衬里、骨盆、四肢骨骼）以及胚外中胚层。

2. 体节形成中周期性钟的分子基础是什么？ 体节形成的周期性钟驱动前体节中胚层（**PSM**）中所谓的钟基因的动态和周期性**mRNA**表达，以一种后向前的方式进行，其周期性与体节形成相匹配。表达的波动不是由于细胞移动，而是由于个体细胞以同步和周期性的方式开启和关闭基因表达。一旦波动达到**PSM**的前端限制，一对体节会凸出，后**PSM**中则会启动新的表达波动。**PSM**沿线的振荡的产生和维持已显示依赖于由钟基因编码的不稳定的负调节因子驱动的负反馈循环。

3. 体节内部同步性的分子基础。

1. 相邻细胞之间的互惠信号。
2. 正反馈循环。
3. 一小的偏差可以被放大——细胞命运稳定化。

4. 如何将周期性信号转换为体节的重复段？

1. **FGF/Wnt**信号和视黄酸信号的拮抗梯度定位决定前沿。
2. 当胚胎向后延伸时，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钟信号，启动分割程序并同时激活如**Mesp2**等基因在预示未来段落的条带领域的表达。这建立了预体节的段落模式。

5. 请总结肌肉发展的过程。

1. 脊椎动物体内的所有骨骼肌（头肌除外）来源于体节的皮肤胚层。
2. 肌源性调节因子（MRF）是bHLH转录因子，包括MyoD、Myf5、肌球蛋白和Mrf4。
3. MRF家族的每个成员都可以激活其他成员的基因，导致如此强大的正反馈调节，以至于在体内几乎任何细胞的MRF激活都可以将该细胞转变为肌肉。
4. 肌母细胞彼此排列并融合它们的细胞膜形成一个含有多个核的大细胞，称为肌纤维，它构成了肌肉的基本单位。
5. 位于成年肌肉纤维旁的卫星细胞负责肌肉的生长和再生。
6. 肌源性转录因子的关键特征是什么？ MRF家族的每个成员都可以激活其他成员的基因，导致如此强大的正反馈调节，以至于在体内几乎任何细胞的MRF激活都可以将该细胞转变为肌肉。

二十-内胚层

A-P轴由Wnts、FGFs和BMPs梯度决定，每个都在后端达到最高浓度。取决于位置，间充质细胞诱导内胚层细胞成为肠上皮或胃上皮。

呼吸管和前肠分别使用Wnt和Wnt阻断剂诱导生成呼吸道上皮和肠上皮

1. 肠管的三个区域划分：肠管沿前后轴分为三个区域，这一划分是由Wnts、BMPs和FGFs的梯度决定的。这些信号分子的不同浓度和相互作用决定了肠管的不同部分的特化。
2. 肠管前后轴（A-P axis）的不同区域：肠管后部形成中肠-后肠前体细胞，进而形成肠道；前肠的前部细胞产生肺和甲状腺的前体细胞；前肠的后部细胞则形成胰腺、胆囊和肝脏。
3. 四对咽囊发展成为：耳咽管、扁桃体、胸腺和副甲状腺。甲状腺也在这一区域的内胚层中形成。
4. 肠组织的形成：肠组织的形成是通过内胚层和中胚层之间的相互作用实现的。来自中胚层的Wnt信号和来自内胚层的Sonic hedgehog似乎在诱导周围中胚层中Hox基因嵌套表达模式中起作用。然后，区域化的中胚层指导内胚层管成为消化道的不同器官。
5. 内胚层与脏中胚层的相互指定：内胚层有助于指定脏中胚层；脏中胚层，特别是心脏和血管，有助于指定内胚层。
6. 胰腺的形成：胰腺在一个不表达Shh的内胚层区域中形成。Pdx1和Ptf1a转录因子在这个区域中表达。胰腺的内分泌和外分泌细胞有共同的起源。Ngn3转录因子可能决定内分泌的命运。
7. 呼吸管的来源：呼吸管是作为消化管的一个外凸而形成的。它遇到的特定区域的间质决定了管道是保持直的（如气管）还是分支的（如支气管和肺泡）。

8. 呼吸芽的分支发育：呼吸芽的分支发展受到由平滑肌收缩（在小鼠中）或顶端收缩（在鸡中）产生的生物力学力的控制。

肝胰同源。失去shh的发育成胰腺，而有shh变成肝。

五-干细胞

干细胞：一种相对未分化的细胞，其分裂产生的（1）至少一个子代细胞保留了其未分化的特性（自我更新）；以及（2）可以进一步分化的子代细胞。

pluripotent标准

- 具有长期自我更新的能力。
- 表现出稳定、完整的染色体（核型）。
- 多能性的，能够产生胚胎的三个主要胚层的所有细胞（内胚层、中胚层和外胚层）。
(• 表达转录因子Oct-4。
- 克隆性
- 缺乏细胞周期G1检查点。)

四倍体补偿实验（**Tetraploid complementation assay**）是一种用于测试干细胞全能性的实验方法，特别是在胚胎干细胞（**ES**细胞）和诱导多能干细胞（**iPS**细胞）的研究中。全能性是指干细胞分化成任何类型细胞的能力，包括形成一个完整生物体的所有组织和器官。

在四倍体补偿实验中，首先会创建四倍体胚胎，即含有两倍正常染色体数的胚胎。这通常通过将两个二倍体胚胎的细胞融合，或者抑制正常的细胞分裂来实现。四倍体胚胎本身不能发育成完整的动物，但它们可以形成胚胎的一部分结构，如胚胎外层的羊膜等。

接着，研究人员将待测的干细胞（如**ES**细胞或**iPS**细胞）注入到这个四倍体胚胎中。如果注入的干细胞具有真正的全能性，它们将整合进入胚胎，参与形成各种组织和器官。最终，如果实验成功，这些干细胞将补偿四倍体胚胎不能形成的部分，导致一个活体的、主要由注入的干细胞构成的动物出生。

四倍体补偿实验是评价干细胞全能性的金标准之一，因为它不仅展示了干细胞能够分化为各种细胞类型，而且证明了它们在正常发育过程中正确地整合和功能，足以支持生命的形成。

在四倍体补偿实验中，四倍体胚胎的重要性在于它们能够形成早期胚胎的一些组织，特别是对于形成胚胎外层结构（如胚胎外胚层和胚盘）是可行的，但它们无法进一步发展成完整的个体。当将具有正常染色体数目的多能干细胞注入这些四倍体胚胎时，这些注入的干细胞可以接受来自四倍体胚胎的某些发育信号和空间结构，从而在四倍体胚胎的支持下，这些干细胞有潜力整合进入并参与形成正常发育的胚胎组织。

通过特定的基因工程技术来追踪干细胞及其后代细胞的命运。这个策略通常包括以下几个关键组成部分：

1. **Stem-cell-specific promoter:** 这是一种只在特定的干细胞中活跃的启动子。它用来确保后面连接的基因只在目标干细胞中表达，而不在其他类型的细胞中表达。
2. **GFP (Green Fluorescent Protein):** 这是一种常用的荧光标记蛋白，可以让科学家通过荧光显微镜观察到基因是否被表达。在这里，GFP被用来标记干细胞，让研究人员能够实时追踪这些细胞及其后代。
3. **CreERT2:** 这是一种重组酶，能够在特定的DNA序列之间切割并重组DNA。"ERT2"表示这种酶可以被药物tamoxifen激活。在没有tamoxifen的情况下，CreERT2是不活跃的。
4. **Tamoxifen added, activated recombinase:** 当加入tamoxifen后，CreERT2被激活，它能够移除阻断序列（blocking sequence），这通常被设计为阻止某个报告基因（比如lacZ）的表达。
5. **Ubiquitous promoter, blocking sequence, lacZ:** 这里的ubiquitous promoter是一种在所有细胞类型中都能驱动基因表达的启动子。它驱动lacZ基因的表达，但在没有去除阻断序列之前，lacZ是不会被表达的。一旦CreERT2移除了这个阻断序列，lacZ就会在这个干细胞及其所有后代中表达。

所以，整个过程是这样的：在没有tamoxifen的情况下，干细胞通过GFP被标记，但是lacZ不被表达。当研究者加入tamoxifen后，CreERT2被激活，移除阻断序列，使得lacZ在这个干细胞及其所有后代中被表达。这样，研究者就可以通过追踪lacZ的表达来研究干细胞的行为，包括它们的分化路径和产生的细胞类型。这种方法为研究干细胞提供了一种强有力的工具，可以在活体内实时追踪干细胞的命运。

二十二-再生

再生与发育

再生是在胚胎后生命中再激活发育机制，以恢复缺失或损伤的组织。

动物的再生通常从一个未分化的原基开始，其生长和分化替代了受损的组织。

原基可以由多能干细胞创造，如在涡虫中，或者由部分由去分化得到的系谱限制的祖细胞创造，如在蝾螈肢体中。

再生的概念化步骤

1. “形态记忆图”：细胞在生物体中的自身身份、它们的形状，甚至它们相对于身体其他细胞的位置。
2. 认识到某些事情发生了变化，需要做出精确的替代。
3. 通过封闭伤口迅速响应。
4. 真正的再生响应开始：细胞增殖，组织生长，以及细胞重新排列。
5. 再生必须结束。

再生的四种方式总结如下：

1. 干细胞介导的再生：涉及干细胞的活动，它们可以分化成多种类型的细胞以替换损伤或丢失的组织。例如，在涡虫（平形虫）或人类的皮肤、毛发、血液中的再生。
2. 表变态（**Epimorphosis**）：通常发生在两栖类动物的肢体再生中，涉及去分化和重新分化的过程。在这种方式中，组织首先退化成一个较少分化的状态（原基），然后重新分化形成所需的特定组织。
3. 变形再生（**Morphallaxis**）：涉及现有组织的重新排列，而新生组织的生长很少。这种方式在水螅等较简单生物中常见，它们通过重新分配和重新组织现有的细胞来恢复结构。
4. 代偿性再生：这种方式涉及分化的细胞分裂以替代丢失的组织，而不涉及去分化。这是哺乳动物肝脏等器官的典型再生方式，损伤后，剩余的肝细胞会分裂以补充丢失的组织，但整体结构和功能维持不变。

扁形虫的neoblast再生问题

1. 这个群体是否是异质的，还是源自一个单一的多能细胞群体，正如上述克隆研究所暗示的可能？
 - 这个问题在询问新生细胞是否是一个混合群体，包含不同类型和分化潜能的细胞，还是所有新生细胞都来自一个单一的、具有广泛多能性的细胞源。克隆研究表明，可能存在一个单一的多能新生细胞能够产生所有类型的细胞，但这是否是唯一的来源还有待进一步验证。
2. 新生细胞如何生成平形虫成体的**30**种左右的细胞类型？
 - 这个问题探讨的是细胞分化的机制，即新生细胞如何通过分裂和分化生成平形虫体内多种不同类型的细胞。
3. 细胞特化是何时发生的？

- 细胞特化或分化指的是细胞从较为未分化的状态转变为具有特定功能和形态的过程。这个问题在询问在再生过程中，新生细胞何时开始走向不同的细胞命运，即它们是在受伤后立即决定，还是在一个预设的时间点或发育阶段。
4. 是否可能是由来自克隆性新生细胞的、系谱受限的多能干细胞分布在整个平形虫体内，而这些细胞是在任何伤害发生之前就已存在的？或者是在伤害发生时，分化后的有丝分裂后细胞直接由多能新生细胞产生？
- 最后一个问题在探讨新生细胞分化的两种可能模式。一种是多能新生细胞产生出分化程度较低的中间细胞，这些中间细胞在伤害发生前就已经分布在平形虫体内，并在需要时进一步分化；另一种是在伤害发生时，新生细胞直接分化成最终的细胞类型。这个问题涉及到细胞命运的决定机制以及再生过程中细胞如何被组织和调控。

这段信息提供了一些关于平形虫（Planarian）新生细胞（Neoblasts）的具体分类及其特性，部分回答了之前提出的问题，具体来说：

- 新生细胞是平形虫再生细胞，包括大量不同的细胞类群。这说明新生细胞群体是异质的，即它们构成了多种不同类型的细胞，这些细胞具有不同的特性和功能。这直接回答了关于新生细胞是否为异质群体的问题。
 - ζ -类新生细胞是系谱指定的前体细胞，能够产生表皮。这表明平形虫的新生细胞中至少有一部分是系谱指定的，它们已经被预定了特定的细胞命运，这种情况下是生成表皮细胞。这提供了关于新生细胞如何分化成特定细胞类型的具体例子，同时暗示了新生细胞群体中可能存在专门化的、分化能力有限的细胞。
 - σ -类新生细胞集体拥有许多干细胞样特征。这可能意味着 σ -类新生细胞具有较为广泛的分化潜能，可能接近于多能性，但具体还需进一步的分析来确定它们的确切能力和作用。
1. 细胞命运地图的存在：最近的研究结果暗示，在扁形虫中可能确实存在一张细胞命运的地图，这张地图与胚胎模式化基因的表达有关，这些基因根据细胞的位置赋予它们特定的命运。这些被称为位置控制基因（PCGs）的基因在平形虫的一生中都有表达。
2. PCGs的表达和肌肉纤维的组织：PCGs的表达与肌肉纤维的组织结构相关联。肌肉纤维在平形虫体内组织成三层——圆周层、斜角层和纵向层，这些层次占据了越来越内侧的位置。这表明肌肉纤维的结构和布局可能是细胞命运地图的重要组成部分，通过肌肉纤维的不同排列和分布影响细胞的行为和再生能力。
3. 肌肉纤维缺失对再生的影响：不同层次的肌肉纤维缺失会导致不同的再生缺陷。例如，当myoD被敲低时，纵向纤维的数量减少，并且再生能力丧失；而当nkx1-1缺失时，圆周纤维的数量减少，并且在前端截断后会出现分叉的中线和重复的头部。这表明肌肉纤维的具体类型和数量对于扁形虫的正常再生至关重要。

关键定义：

- **干细胞(Stem Cell)**：保留分裂并再生自身能力的同时，也能产生能够分化为更专门化细胞类型的后代。
- **全能性(Totipotency)**：能形成整个有机体。在受精卵和某些植物的分生组织细胞中观察到，但没有任何脊椎动物干细胞表现出全能性。
- **多能性(Pluripotency)**：能形成身体的所有细胞谱系，包括生殖细胞和某些或全部的胚外细胞类型。例子：胚胎干细胞。
- **多潜能性(Multipotency)**：能形成构成整个组织或多种组织的多个谱系。例子：造血干细胞。
- **可塑性(Plasticity)**：描述细胞能够成为不同组织的特定细胞类型的现象。
- **生态位(Niche)**：围绕干细胞的微环境，提供支持和调节自我更新和分化的信号

多能干细胞的实验性表征：

- 具有长期自我更新的能力。
- 表现出稳定、完整的染色体（核型）。
- 多能性的，能够产生胚胎的三个主要胚层的所有细胞（内胚层、中胚层和外胚层）。
 - （• 表达转录因子Oct-4。
- 克隆性
- 缺乏细胞周期G1检查点。）

金标准：四倍体补偿实验

胚胎干细胞和诱导多能干细胞(iPSCs)的能力与优势：

- 胚胎干细胞和iPSCs都可以分化为体内所有类型的细胞，显示出极高的多能性。
iPSCs的优点包括避免使用胚胎，减少伦理问题；患者特定的iPSCs可以减少移植后的排异反应；以及它们提供了研究遗传疾病和药物测试的模型。

成体干细胞的实验性表征：

成体干细胞的实验表征通常涉及几个关键步骤和技术，结合了从文档中提取的信息和通常的干细胞学知识：

1. **细胞标记物鉴定**：成体干细胞通常通过一组特定的表面标记物来识别，这些标记物可以是蛋白、糖类或其他分子。流式细胞仪和免疫荧光染色是常用的技术来检测这些标记物。

2. **分离和纯化**：一旦识别了成体干细胞，通常需要将它们从所在的组织中分离出来，并通过机械分离或基于特定表面标记物的细胞分选技术，如磁珠分选或流式细胞分选，进行纯化。
3. **功能性测试**：确认一个细胞是否为干细胞的关键是证明其自我更新能力和多潜能性。这通常通过在体外条件下观察细胞是否能够经过多代细胞分裂而保持其未分化状态，并能够分化成多个细胞谱系来实现。例如，造血干细胞可以分化成各种血细胞类型。
4. **体外培养和分化诱导**：成体干细胞在体外培养时需要特定的生长条件和培养基。研究者通常通过添加特定的生长因子或化学物质来诱导细胞分化，并观察它们是否能够分化成特定的细胞类型。
5. **体内研究和移植实验**：为了进一步验证成体干细胞的功能和治疗潜力，研究者可能会将其移植回动物模型中，并观察它们在体内的行为，包括是否能够整合进现有的组织，促进组织修复或再生。

再生与发育：

- 再生和发育都是复杂的生物学过程，涉及细胞增殖、分化和组织重塑。它们的主要区别在于再生是对损伤后或失去的组织的响应，而发育是生物体从受精卵到成熟个体的自然过程。再生可以通过四种模式进行，
- 1.**干细胞介导的再生**：涉及干细胞的活动，它们可以分化成多种类型的细胞以替换损伤或丢失的组织。例如，在涡虫（平形虫）或人类的皮肤、毛发、血液中的再生。
 - 2.**表变态（Epimorphosis）**：通常发生在两栖类动物的肢体再生中，涉及去分化和重新分化的过程。在这种方式中，组织首先退化成一个较少分化的状态（原基），然后重新分化形成所需的特定组织。
 - 3.**变形再生（Morphallaxis）**：涉及现有组织的重新排列，而新生组织的生长很少。这种方式在水螅等较简单生物中常见，它们通过重新分配和重新组织现有的细胞来恢复结构。
 - 4.**代偿性再生**：这种方式涉及分化的细胞分裂以替代丢失的组织，而不涉及去分化。这是哺乳动物肝脏等器官的典型再生方式，损伤后，剩余的肝细胞会分裂以补充损失的组织，但整体结构和功能维持不变。

使用iPSCs或转分化细胞的优缺点：

	从ES/iPS分化	直接重编程
优点	1) 已知iPS重编程的因素 2) 可以无病毒 3) 体外培养 - 可控 4) 可以产生大量细胞 5) 可能产生	1) 单步骤 2) 可以在体内实现 3) 更不易发生突变 4) 可以无

从ES/iPS分化	直接重编程
所有类型的细胞	病毒
缺点 1) 多个步骤 2) 突变累积 - 癌症	1) 特定组合（未知）对每种细胞类型 2) 低效率，非常有限的细胞数量

如何再生特定的细胞/组织：

1. 关键转录因子的过表达：通过引入特定的转录因子来改变细胞命运。这些转录因子在细胞类型特化中起关键作用，其过表达可以促进细胞朝着所需方向分化。
 2. 三维聚集体，即拟胚体(**Embryoid Bodies, EBs**)：拟胚体是干细胞在悬浮培养中形成的多细胞结构，可以模拟早期胚胎发育过程中的细胞分化。
 3. 与支持性基质细胞共培养或使用条件培养基：这涉及将目标细胞与提供特定信号和支持的细胞共同培养，或使用这些细胞产生的条件培养基，以模拟自然微环境并促进分化。
 4. 单层培养在细胞外基质蛋白上：细胞外基质蛋白如胶原蛋白或纤维连接蛋白提供了一个物理和化学信号的支架，帮助细胞附着和分化。
 5. 阶段性分化，基于发展线索：这涉及模拟自然发育过程中的环境和信号，通过逐步改变培养条件来引导细胞经历类似于自然发育的分化路径。
 6. 工程方法：可能包括使用生物材料、微流控设备、基因编辑技术等，为细胞提供特定的物理和化学环境，精确控制其分化方向和过程。
- 谱系重编程(**Lineage reprogramming**)：这指的是直接将一种成熟细胞类型转化为另一种成熟细胞类型，通常通过改变特定的基因表达或使用转录因子实现。
 - 部分重编程+分化(**Partial reprogramming + differentiation**)：在这种策略中，细胞首先被部分地重编程回到一个更原始的状态，然后再通过定向分化步骤诱导为特定的细胞类型

在提供的PDF文件中，针对使用干细胞技术治疗1型糖尿病的相关讨论，涉及以下几个主要问题：

1. 什么类型的(干)细胞可以用来治疗1型糖尿病？：
 - 干细胞技术的一个关键应用是生成胰岛 β 细胞，这些细胞能够产生、储存和释放胰岛素。这对于1型糖尿病治疗至关重要，因为该疾病是由于免疫系统错误地攻击并破坏了能产生胰岛素的 β 细胞。常用的干细胞包括诱导多能干细胞(iPSCs)和胚胎干细胞(ESCs)，因为它们可以被诱导分化成胰岛 β 细胞。
1. 你如何使用这些(干)细胞？：

- 干细胞可以通过一系列的实验室过程被诱导分化成胰岛 β 细胞。这通常包括使用特定的生长因子和化学物质在体外环境中诱导干细胞分化成内胚层细胞，然后进一步分化成胰腺前体细胞，最后成熟为功能性的胰岛 β 细胞。生成的胰岛 β 细胞随后可以被移植到患者体内，以恢复胰岛素生产和调节血糖水平。

1. 是否有办法使这种治疗具有患者特异性？：

- 通过使用患者自身的细胞（例如通过诱导成为iPSCs然后分化）进行再编程和分化，可以实现患者特异性治疗。这样做的优点是减少了移植后免疫排斥反应的可能性，因为产生的细胞在遗传上与患者相匹配。此外，利用基因编辑技术，如CRISPR/Cas9，可以对这些细胞进行修饰，以提高它们的生存率、功能性或免疫耐受性。

十三-神经发育-补

在发育过程中，**A-P**模式由几种形态发生素调控。**WNT**梯度决定了前脑、中后脑和前脊髓的区域化，而**RA**和**FGF**梯度则控制了脊髓的分节。前脑和脊髓中的 **D-V** 模式由来自背侧的形态发生素**WNTs**和**BMPs**以及来自腹侧的**SHH**设定。

因子分两类。第一类：由**Shh**抑制第二类：表达需要**Shh**。**Class I** 和 **Class II** 之间存在抑制性相互作用，这种相互作用可能会影响它们之间的关系和功能。形成明确的边界。

沿背腹轴建立形态发生梯度（**Shh**, **BMP**, **Wnt**）。转录因子（**bHLHs** 和 **HDs**）通过形态发生素被激活或抑制。转录因子之间的相互抑制确立了领域边界。这些**TF**中的大多数都是转录抑制因子。

十四-大脑皮层

1. **多层结构：** 大脑皮层是一个由多层细胞组成的复杂结构。这些层次结构对于其执行的复杂认知功能至关重要。
2. **每层皮层的投射神经元展现出不同的形态：** 投射神经元是指那些其轴突延伸到大脑皮层之外区域的神经元。在大脑皮层的不同层次中，这些神经元的形态（即它们的形状和大小）会有所不同，这种差异与它们的功能和工作方式密切相关。
3. **标记表达：** 每层的神经元表达不同的生物标记，这些标记是特定蛋白质或分子，可用于识别和区分不同类型的神经元。不同层次的神经元由于表达不同的标记物而具有不同的身份和功能。
4. **连通性：** 每层的神经元具有不同的连通性，即它们与大脑中其他部分或其他神经元的连接方式不同。这种特定的连接模式决定了信息在大脑中如何流动和处理。

5. **电生理特性：** 不同层的神经元在电生理特性上也有所不同。电生理特性包括神经元的激活阈值、反应速度、信号传递方式等，这影响了它们如何相互作用以及如何响应外界刺激。

在大脑皮层发生神经生成的过程中，主要有两种类型的神经前体细胞：径向胶质细胞（**Radial glial cells**）和中间前体细胞（**Intermediate progenitor cells**）。这两种细胞在皮层神经发生中起着不同但互补的作用。以下是对这两种细胞及其分裂方式的解读：

径向胶质细胞

- **定义与位置：** 径向胶质细胞位于脑室区（**Ventricular Zone, VZ**），这是大脑发育早期的一个关键区域，位于神经管内腔的边缘。这些细胞是大脑皮层中最初的神经前体细胞，对于神经发育至关重要。
- **不对称分裂：** 径向胶质细胞通过不对称分裂来产生新的细胞。在不对称分裂中，一个母细胞分裂成两个具有不同命运的子细胞：一侧保持为径向胶质细胞，而另一侧成为新的细胞类型，通常是中间前体细胞或神经元。这种分裂方式使得一部分细胞可以保持其前体细胞的身份，而另一部分则分化，促进了大脑的层次化和复杂化。

中间前体细胞

- **定义与位置：** 中间前体细胞位于次脑室区（**Subventricular Zone, SVZ**），这是紧邻脑室区的另一个区域。它们主要来源于径向胶质细胞的分裂，并继续分裂产生新的神经元或其他类型的神经前体细胞。
- **对称分裂：** 中间前体细胞通过对称分裂来扩增细胞数量。在对称分裂中，一个母细胞分裂成两个具有相同命运的子细胞。这种分裂方式有助于快速增加特定类型细胞的数量，对于大脑皮层体积的增加和复杂结构的形成尤为重要。

径向胶质细胞（一种胶质细胞）的典型行为。在大脑发育中，径向胶质细胞不仅自身分裂产生新细胞，还提供了一种支撑结构，即径向纤维，沿着这些纤维，新生成的神经元能够迁移至它们在皮层中的最终位置。

中间前体细胞（**Intermediate Progenitor Cells, IP**）通常是由径向胶质细胞（**Radial Glial Cells, RGC**）产生的。在大脑皮层发育的过程中，径向胶质细胞作为一种神经前体细胞，通过不对称分裂可以产生两种细胞：一种保持为径向胶质细胞，继续在神经发育过程中扮演其角色；另一种则分化成中间前体细胞。

中间前体细胞随后在次脑室区（**Subventricular Zone, SVZ**）或其他区域进行进一步的分裂，通常是对称分裂，从而增加神经元的产量。这些中间前体细胞最终分化成各种类型的神经元或其他神经胶质细胞。因此，径向胶质细胞对于中间前体细胞的产生具有至关重要的作用，是神经发育过程中的一个重要环节。

1. **NSPCs - 神经干细胞（Neural Stem/Progenitor Cells）：**

- 这是一个泛称，包括所有能够分化成神经细胞（如神经元和胶质细胞）的前体细胞，包括RGCs和IPCs。

2. **imPN (immature Projection Neurons) - 未成熟的投射神经元：**

- 这些是由IPCs分化而来的，处于成熟过程中的神经元。它们从SVZ或VZ开始沿着径向胶质细胞的纤维向外迁移，移动到它们在大脑皮层中的目标位置。

3. **mPN (mature Projection Neurons) - 成熟的投射神经元：**

- 一旦到达最终位置，未成熟的投射神经元继续发育成为成熟的投射神经元。成熟的投射神经元具有特定的形态和连接，并开始在神经网络中发挥其功能作用。

逐步命运限制（**Progressive fate restriction**）

在逐步命运限制模型中，NPCs最初是多能的，意味着它们可以分化成大脑皮层中的任何类型的神经细胞。随着时间的推移和发育的进行，这些细胞逐渐失去分化成某些类型细胞的潜能，它们的命运变得更加专一和限制。具体到大脑皮层，这意味着：

- **多能神经前体细胞（Multipotent NPCs）：**最初可以生成大脑皮层中不同层次的各种类型的皮层投射神经元。
- **逐步限制：**随着时间的推移，特定NPCs的后代细胞逐渐专化为生成特定层次（如下层或上层）的皮层神经元。

NPC异质性（**NPC heterogeneity**）

NPC异质性概念强调即使在同一时间点，不同的NPCs也可能具有不同的特性和分化潜能。这种异质性可能是由于遗传差异、细胞微环境或早期发育事件的影响。在大脑皮层发育中，这意味着：

- **不同类型的神经前体细胞：**NPCs可能本身就是不同的类型，每种类型专门生成大脑皮层中特定层次的神经元。
- **层次特异性：**特定类型的NPC可能仅生成下层神经元，而其他类型的NPC则生成上层神经元。

- **细胞内异质性**：即使在相同类别的NPCs中，也可能存在功能、表达模式或行为上的微妙差异。

1. 逐步命运限制：

- 在神经发育的早期，NPCs具有产生多种不同神经细胞类型的潜能。随着时间的推进和细胞的连续分裂，这些细胞逐渐失去分化成某些类型细胞的能力，它们的分化潜能变得更加专一和有限。这种逐步的限制过程使得细胞分化变得有序，确保正确类型的神经细胞在正确的时间和位置被产生。

2. 进化上的保守性：

- 这种逐步命运限制的机制在不同物种中都有观察到，表明它是在进化过程中保守下来的一种重要机制。无论是在简单的模型生物（如果蝇）还是在复杂的哺乳动物（包括人类）中，相似的分化模式和调控机制都在神经系统的发育中起作用。

3. 果蝇神经母细胞的例子：

- 在果蝇中，神经母细胞（neuroblast）通过连续的不对称分裂产生一系列不同的神经细胞。这些分裂过程是精确控制的，并涉及时间上受限的细胞命运决定因子。这些因子在特定的时间点表达，指导细胞分化成特定的神经细胞类型。随着每次分裂，神经母细胞表达不同的命运决定因子组合，导致不同的分化结果。

4. 协同作用：

- 这一过程的关键在于时间上受限的细胞命运决定因子和不对称细胞分裂的协同作用。不对称分裂确保了神经母细胞的一个后代保持为前体状态，而另一个后代则继续分化。而命运决定因子的动态变化则保证了不同时间点产生的后代细胞具有不同的身份和功能。

顶端前体细胞（Apical Progenitors）

- **时间可塑性**：顶端前体细胞被描述为具有时间可塑性，意味着它们在分化过程中有一定的灵活性。具体来说，这些细胞在暴露于类似早期阶段的环境时，可以重新进入它们过去的分子、电生理和神经生成状态。这种可塑性使得顶端前体细胞能够根据外界环境的变化调整自己的发育路径。
- **对Wnt信号的响应**：特别地，这些细胞能感应到细胞外Wnt信号的动态变化。Wnt信号通路是一种重要的细胞信号通路，它在多种生物过程中起作用，包括细胞命运决定、组织形成和发育。顶端前体细胞通过调整对Wnt信号的响应，能够在一定程度上“倒带”它们的发育状态，回到更为原始或未分化的状态。

中间前体细胞（Intermediate Progenitors）

- **固定的命运：** 相比之下，中间前体细胞被认为是固定的或专一的前体细胞。一旦它们从顶端前体细胞分化而来，它们就承担了更为确定的命运，分化成特定类型的神经细胞。这意味着中间前体细胞缺乏顶端前体细胞那样的逆行命运可塑性。
- **缺乏逆行命运可塑性：** 这些细胞不具备回到更早发育状态的能力，它们的分化路径相对固定，不再对外部信号（如Wnt）作出灵活的反应，以改变它们的分化方向。

问题：移植和体外培养实验的挑战

1. **细胞类型多样性：** 不同类型的神经前体细胞具有不同的特性和分化潜能。正确识别和分离这些细胞，然后将它们移植到新的宿主或体外环境中，是一项挑战。移植后，维持它们的存活、增殖和正确分化也需要精确的条件控制。
2. **跟踪细胞命运：** 科学家们需要有效的方法来跟踪这些移植细胞的命运，包括它们在新环境中的位置、分化状态和功能。这对于理解移植细胞如何整合入宿主组织，以及它们是否能够恢复或增强受损功能至关重要。

解决方案：逆转录病毒感染

1. **逆转录病毒（Retroviral）感染：** 逆转录病毒是一种可以将其遗传物质整合入宿主细胞基因组的病毒。在科学研究中，逆转录病毒被用作一种工具来标记和追踪细胞，特别是那些正在分裂的细胞。
2. **针对分裂细胞的特异性：** 逆转录病毒特别适合用于标记神经前体细胞，因为它们只感染正在分裂的细胞。当逆转录病毒感染这些细胞时，它的遗传物质会整合入细胞的基因组中，提供一个长期和稳定的标记。
3. **标记整合：** 通过整合特定的标记或报告基因（例如荧光蛋白），科学家可以长期跟踪和观察这些神经前体细胞及其后代在移植后的行为。这种方法允许对细胞的命运、迁移路径和分化潜能进行详细的分析。

跟踪单个细胞，看看这些细胞变成了什么。在追踪系谱的实验中，感兴趣的细胞在某一时间点被标记，而从这些被标记的细胞衍生出来的后代会在稍后的时点被揭示。

谱系示踪3S：特异性、稳定性和安全性

- **特异性（Specificity）：** 标记需要特异性地附着于选定的细胞及其后代，没有标记的细胞不应显示任何标记。

- **稳定性（Stability）**：标记需要在整个实验过程中保持稳定，即使在细胞分裂后，标记也应保持在所有后代细胞中。
- **安全性（Safety）**：标记对细胞的正常功能和生存不应产生负面影响，确保细胞的生理状态和分化能力不受干扰。

Cre-loxP系统是一种常用于遗传学研究的工具，特别是在谱系示踪和基因敲除实验中。它由两个主要组成部分构成：**Cre**重组酶和**loxP**位点。**Cre**是一种来源于噬菌体P1的DNA重组酶，它能识别小片段的DNA序列（称为**loxP**位点）并催化这些位点之间的DNA片段的切割和重联。在谱系示踪中，**Cre-loxP**系统可以用来特异性激活或删除细胞中的基因，从而追踪特定细胞系的发展和分化过程。

1. 组成和运作：

- **Cre酶**：能够识别特定的DNA序列，称为**loxP**位点，并在这些位点处切割和重联DNA。
- **loxP位点**：一个特定的34个碱基对的序列，**Cre**酶的作用目标。
- **启动子和增强子**：用于控制**Cre**酶的表达。例如，一个特定的干细胞特异性增强子可以控制**Cre**只在干细胞中表达，从而只在这些细胞及其后代中激活或删除目标基因。

2. 在谱系示踪中的应用：

- **基因标记**：在干细胞中，研究者可以通过**Cre-loxP**系统特异性地激活一个报告基因（如**LacZ**，**GFP**，**YFP**等）。这些报告基因通常编码容易观察和检测的蛋白质，如绿色荧光蛋白(**GFP**)。
- **ROSA26位点**：**ROSA26**是一个在小鼠中用于持续、普遍基因表达的位点。将报告基因插入**ROSA26**位点，可以确保被标记的细胞及其所有后代都将表达这个基因，即使在细胞分化或增殖时也是如此。
- **示踪细胞谱系**：通过观察报告基因（如**GFP**）的表达，研究者可以追踪特定干细胞及其后代的命运。这对于了解组织发育、细胞命运决策和疾病过程中的细胞动态等方面至关重要。

3. 大脑皮层投射神经元的生成是一种“由内而外”的方式。

4. 大脑皮层的神经前体细胞主要是逐步限定命运的。

5. 到目前为止还没有足够的证据支持层特异性大脑皮层神经前体细胞。这说明当前研究尚未提供充分证据来支持存在特定的神经前体细胞，这些细胞预先设定了生成大脑皮层中特定层次神经元的命运。尽管有一些研究指出特定的神经前体细胞倾向于产生特定层次的神经元，但这一领域还缺乏确凿的、普遍接受的证据。

6. 逐步的命运限制和祖细胞的异质性可能在不同的发展情况下被选择性使用。
7. 如何实现逐步的命运限制仍然是难以捉摸的。
8. 没有完美的技术！

在解读遗传谱系追踪的局限性时，两个主要的挑战被提出。这些挑战关系到谱系追踪在准确预测创始细胞潜力以及细胞类型识别方面的有效性。以下是对这些挑战的具体解读：

1. 为了准确预测创始细胞的潜力，谱系追踪需要准确的细胞类型识别。
 - 这意味着，为了理解一个细胞及其后代的具体发展路径和潜力，研究人员需要能够准确地确定每个细胞的具体类型。这不仅仅是将细胞分类为神经元、胶质细胞或其他细胞类型，而是要准确识别其更细致的分类，比如哪种类型的神经元。如果初始细胞的类型识别不准确，那么对其后代细胞谱系的追踪和预测也可能不准确。
2. 细胞类型识别通常基于有限数量的标记物，因此可能掩盖了表达选定标记基因的细胞亚群内的变异性。
 - 细胞类型通常是通过一组特定的分子标记来识别的，例如蛋白质、转录因子或其他生物分子。然而，因为这些标记物的数量有限，它们可能无法捕捉到细胞亚群内部的全部复杂性和多样性。特别是在细胞亚群内部，可能存在显著的异质性，这些异质性如果被忽视，可能导致对细胞命运的误解。例如，两个表达某个神经元标记物的细胞可能在功能上有很大的差异，但如果仅仅依靠这个标记物来分类，这种差异就可能被忽视了。

人脑相比啮齿类动物（如老鼠）有更大的体积和皮层表面积，这一差异是由多种因素共同作用的结果。以下是对于这些因素的解读：

1. 创始干细胞群体的增加：
 - 创始干细胞是指在大脑发育早期参与初次形成大脑结构的干细胞。人类大脑的创始干细胞数量较多，意味着有更多的原始细胞可以分化成各种类型的大脑细胞，包括神经元和胶质细胞等。更多的创始干细胞提供了构建更大脑体积和更广泛皮层表面积的基础。
2. 过渡扩增（**transit amplification**）的增加轮次：
 - 过渡扩增是指干细胞在成熟为功能性细胞之前的一系列快速分裂过程。在人类大脑发育中，这些干细胞可能经历更多轮次的过渡扩增，从而产生更多的细胞。这意味着最终生成的神经元和其他细胞数量更多，为更大的大脑体积和更复杂的结构提供了材料。

3. 神经发生的更长周期：

- 神经发生是指神经元的生成过程，这一过程在人类发育过程中持续的时间更长。这意味着有更长的时间生成新的神经元和其他细胞，允许大脑逐渐增长并发展出更复杂的结构和功能。长时间的神经发生也支持了更多层次的细胞分化和组织建构，这是形成广泛皮层表面积和复杂连接的基础。

大脑皮层发育的关键事实

1. 皮层投射神经元的来源：皮层投射神经元（直接或间接）来源于靠近脑室的祖细胞。
2. 新生神经元的迁移：新生神经元沿着径向胶质细胞（RGCs）的径向纤维向外迁移。
3. 后生神经元的位置：后生神经元被放置在早生神经元之上，形成了一种由内而外的模式：I → VI → V → IV → III/II。
4. 胶质生成跟随神经生成：神经元形成之后，胶质细胞开始形成。
5. 精确的神经元迁移确保正确的皮层层次形成：确保神经元迁移到正确的位置是形成正确皮层层次结构的关键。
6. 间神经元的生成和迁移：间神经元在前脑的腹部生成，并沿切线方向迁移到皮层。

QUIZ

1. 神经诱导需要抑制表皮诱导的、抗神经的**BMP4**信号。实验证据有哪些？
 - 实验证据显示**BMP**信号的抑制对于神经诱导是必要的。通过在早期脊椎动物胚胎实验中添加**BMP**拮抗剂（如**Noggin**、**Chordin**、**Follistatin**）可以诱导神经组织的形成。此外，**BMP4**的过度表达导致神经组织减少，表皮组织增多。这些实验强调了**BMP**信号在神经与表皮命运决策中的重要性。
2. 脊髓的腹侧前体细胞域如何建立？
 - 脊髓的腹侧前体细胞域的建立是通过腹侧信号分子，特别是**Shh**（**Sonic hedgehog**）信号的梯度效应实现的。**Shh**主要由脊索产生，它在脊髓腹侧建立高浓度梯度，导致邻近细胞表达不同的基因，分化成不同类型的神经元。
3. 神经管的成型和区域划分的关键步骤和机制？
 - 神经管成型和区域划分涉及到多个步骤：首先是神经板的形成和神经管的闭合。接着是不同信号（如**BMPs**, **Shh**, **Wnt**）在神经管沿着背腹和前后轴的梯度分布，指导细胞命运的决定。细胞开始区域化，形成不同的神经区域，如前脑、中脑、后脑和脊髓。最后，这些区域内部进一步细分成特定的细胞类型和结构。

4. 主要类型的神经前体细胞在大脑皮层发育中的特征？

- 大脑皮层发育中的主要神经前体细胞类型包括径向胶质细胞和中间前体细胞。径向胶质细胞是多能的，能够分化成多种类型的皮层神经元，它们的纤维提供了新生神经元迁移的路径。中间前体细胞主要产生后来的神经元，并参与大脑皮层的层次结构建立。

5. 证明层特异性神经元主要是细胞自主生成的实验证据是什么？

- 实验证据包括基因敲除或敲入实验，其中特定基因的改变影响神经元的层次位置。例如，通过修改与神经元迁移和分化相关的基因（如**Reelin**），可以观察到神经元分布在皮层中的层次发生改变。这些实验表明，层特异性神经元的生成在很大程度上是由细胞内部的基因调控网络控制的。

6. 什么是系谱追踪/命运绘图？常用的系谱追踪方法是什么？如何进行遗传系谱追踪？

- 系谱追踪/命运绘图是一种确定细胞及其后代的技术，用于研究细胞命运和分化过程。常用的方法包括使用可追踪的标记，如荧光蛋白或抗生素抗性基因。遗传系谱追踪通常涉及到在特定细胞类型或个体细胞中引入可遗传的报告基因，然后追踪这些细胞及其子代的行为和命运。

7. 支配人类大脑皮层扩张的背后细胞机制是什么？

- 人类大脑皮层扩张的背后细胞机制主要包括神经前体细胞的增殖、延长的细胞周期、增加的神经前体细胞种类和数量、以及增加的神经元产出。特别是外侧腹侧前体细胞（**oSVZ**）的发现，它在人类和其他灵长类动物中非常发达，被认为是大脑皮层扩张的关键驱动力。

8. 如何证明成年大脑中存在神经干细胞？

- 成年大脑中神经干细胞的存在可以通过多种方法证明，包括利用特定的细胞标记物（如**Nestin**, **Sox2**等）标记这些细胞，以及观察这些细胞在体外和体内的自我更新和分化能力。特别是在成年哺乳动物大脑的特定区域（如海马区的齿状回和脑室周围区域），研究人员已经鉴定并追踪了神经干细胞及其后代，证明了它们可以生成新的神经元和胶质细胞。