

科研进展

水生所建立鱼类生精细胞13个亚型鉴定的新标准

发表日期: 2023-04-07 叶鼎 来源: 水生生物研究所 浏览量: 42 [【放大 缩小】](#)

配子发生机制研究不仅是鱼类生殖生物学研究的重要命题，而且是突破鱼类借腹生殖等精准育种技术的科学需求。在鱼类雄性性腺中，精子发生过程包含有生殖细胞的有丝分裂和减数分裂，产生从精原细胞到精母细胞再到精子细胞的众多生精细胞

(spermatogenic cells) 亚型。对这些不同亚型的生精细胞进行精确鉴定，是鱼类精子发生研究的基础。目前对鱼类生精细胞亚型的鉴定通常基于细胞及细胞核的形态学特征，其准确性和可靠性强烈依赖于研究者的经验，很大程度上缺乏细胞生物学证据。理论上，利用生精细胞发育和分化过程中特征性蛋白的表达谱式，将能够更加客观和准确地鉴定不同亚型的生精细胞。然而，目前可用于鱼类生精细胞鉴定的工具抗体十分缺乏，加之现有的免疫荧光技术无法适应大数据驱动的高通量研究新范式，严重阻碍了这一研究领域的发展。

中科院水生生物研究所孙永华团队针对上述难题，系统开发了特异性识别鱼类配子发生相关的Ddx4 (Vasa) 和Piwil1蛋白，以及减数分裂和有丝分裂相关的Sycp3和Pcna蛋白的一套多克隆抗体，并在此基础上建立了一个适应于高通量操作的免疫荧光技术流程(图1)。利用这些抗体和建立的高通量免疫荧光技术，该团队精细鉴定了斑马鱼、稀有鮡鲫、鲤鱼、团头鲂、草鱼、黄鳝等多种鱼类的生精细胞亚型。

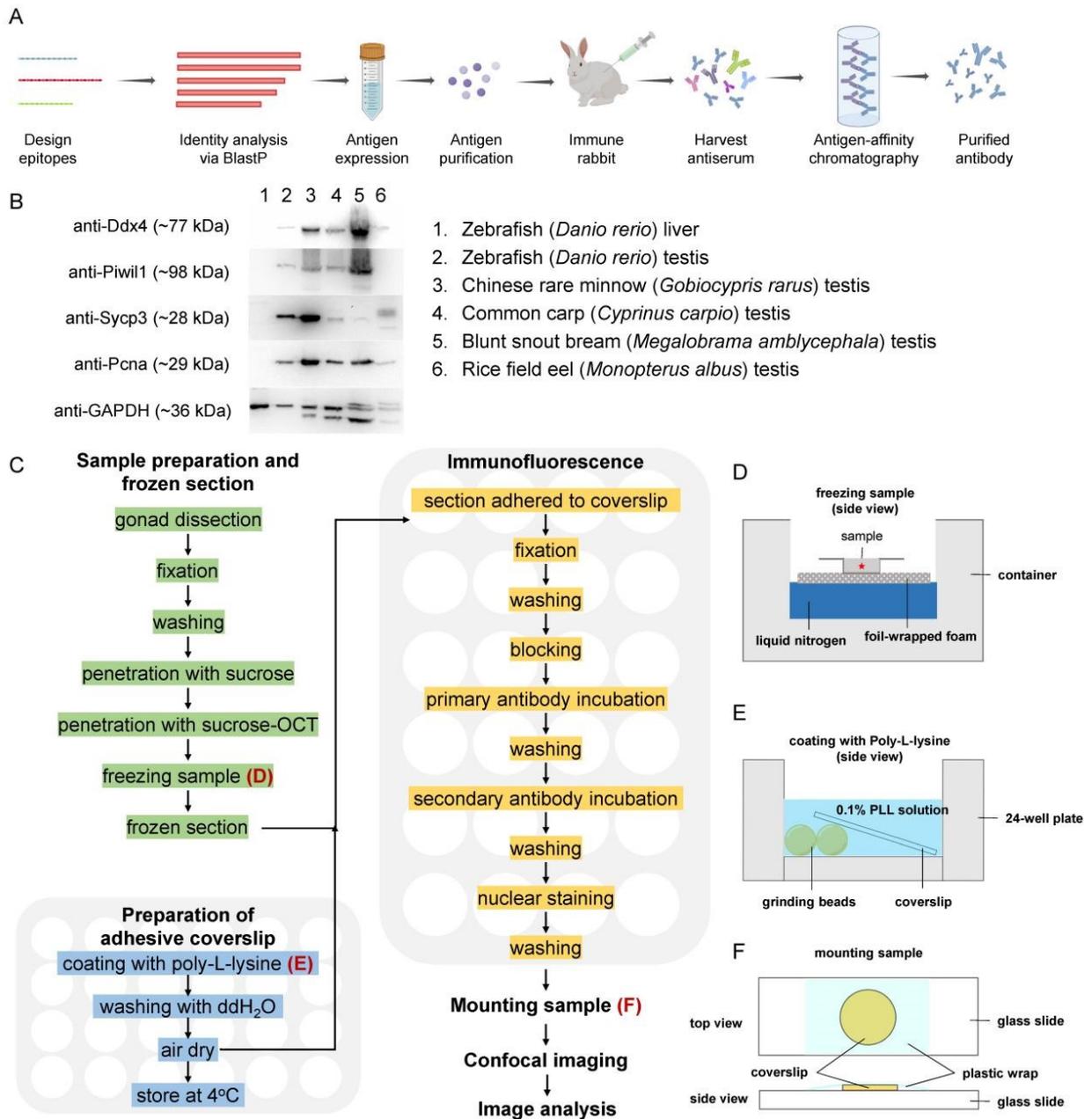


图1 抗体制备和优化的免疫荧光技术流程，及抗体的蛋白质免疫印迹检测

该团队以斑马鱼精巢为研究对象，通过Ddx4、Pcna、Sycp3及细胞核的四色免疫荧光共染实验，实现一次性精细鉴定了13种不同亚型的生精细胞。它们分别是静息态单细胞A型精原细胞quiescent SPG-A(1-cell)、有丝分裂态单细胞A型精原细胞mitotic SPG-A(1-cell)、精小囊中含有2、4或8个细胞的A型精原细胞SPG-A(2, 4, 8-cell)、精小囊中含有16或32个细胞的B型精原细胞SPG-B(16, 32-cell)、精小囊中含有64、128或256个细胞的B型精原细胞SPG-B(64, 128, 256-cell)、细线期初级精母细胞SPC-I(L)、偶线早期初级精母细胞SPC-I(EZ)，偶线中晚期初级精母细胞SPC-I(MZ/LZ)、粗线期初级精母细胞SPC-I(P)、次级精母细胞SPC-II、精子细胞SPD和精子SPZ（图2A-J）。最后，他们提出了基于细胞形态学和特征蛋白表达谱式来鉴定鱼类生精细胞13个亚型的新标准（图2K）。

值得一提的是，在斑马鱼精子发生领域，前人学者仅根据形态特征，就武断地将SPG-A(1-cell)称作未分化的A型精原细胞（SPG-Aund），而将SPG-A(2, 4, 8-cell)统称为分化的A型精原细胞（SPG-Adiff），导致这一概念在领域内被广为传播。孙永华团队通过上述生精细胞亚型鉴定的新标准，更正了这一领域长久以来的错误定义，提出了更为客观的命名标准，为深入开展鱼类精原干细胞自我更新和分化研究提供了更加科学的定义和更为强大的工具。

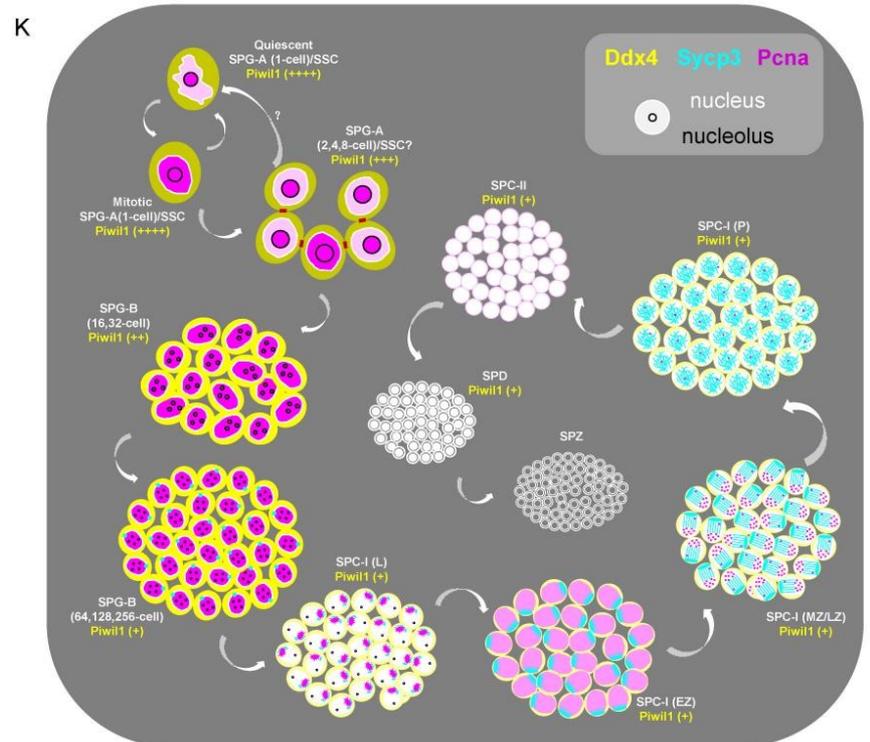
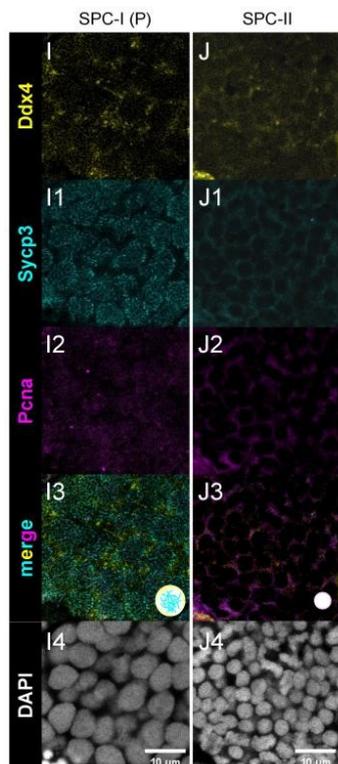
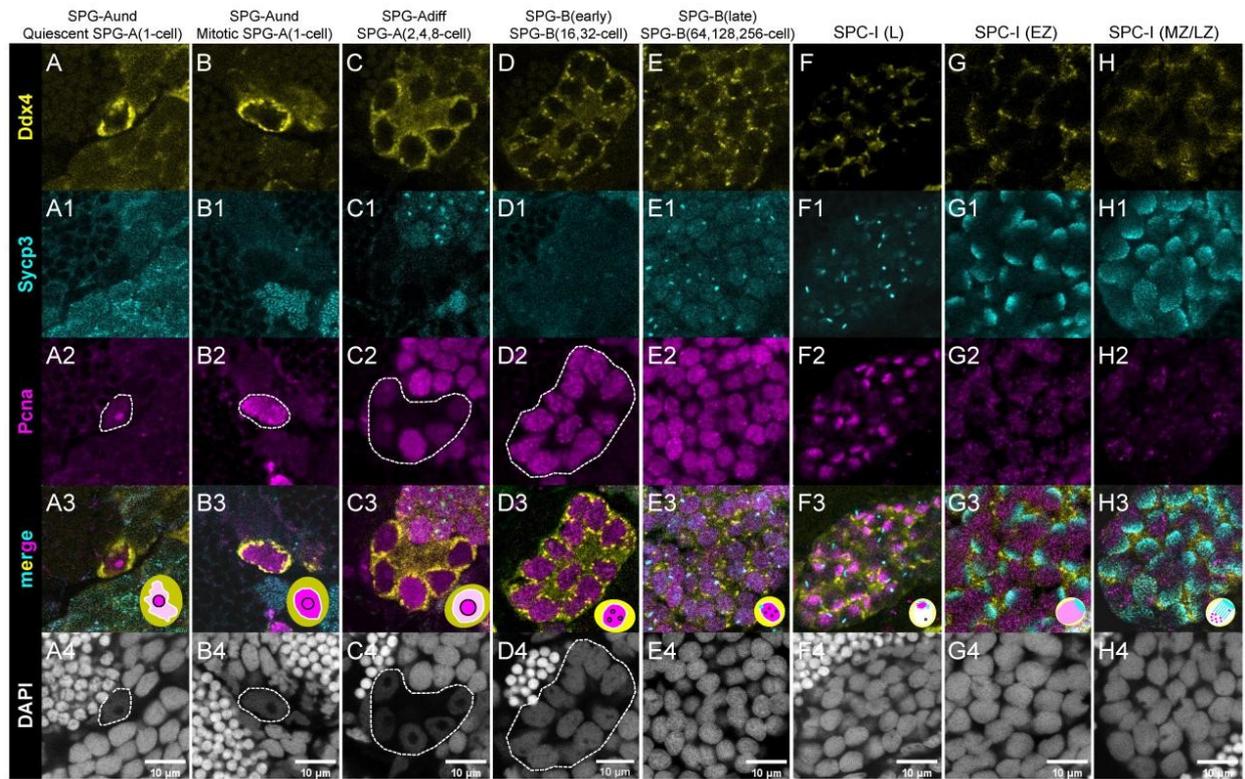


图2 利用Ddx4、Pcna、Sycp3及细胞核的四色免疫荧光技术对不同亚型生精细胞进行精确鉴定（A-J）），提出鱼类生精细胞亚型鉴定的新标准

近日，相关研究成果在线发表于国际学术期刊Frontiers in Endocrinology (<https://doi.org/10.3389/fendo.2023.1044318> (<https://doi.org/10.3389/fendo.2023.1044318>))。水生所孙永华研究员为通讯作者，青年研究员叶鼎和硕士研究生刘涛为共同第一作者，水生所朱作言院士、胡炜研究员、汪亚平研究员等参与合作研究。该项研究获得国家自然科学基金等资助，文中产生的各类抗体资源已保藏至国家水生生物种质资源库国家斑马鱼资源中心。



版权所有：中国科学院武汉分院 Copyright.2009-2020

备案信息：鄂ICP备16021722号-1 (<https://beian.miit.gov.cn>) 鄂公网安备42010602004361号 网站标识码:bm48000018

通讯地址：中国 湖北省 武汉市 武昌区小洪山1号 邮编：430071 电话：027-87199191



([http://bszs.conac.cn/siteName?](http://bszs.conac.cn/siteName?method=show&id=09C305A2EEC250A4E053012819ACE3E5)

[method=show&id=09C305A2EEC250A4E053012819ACE3E5](http://bszs.conac.cn/siteName?method=show&id=09C305A2EEC250A4E053012819ACE3E5))