

# 利用 HuC:RFP 标记技术研究 *Nde1* 基因敲除斑马鱼的神经发育异常

刘婷<sup>1,2,3,4</sup> 张琦<sup>1,2,3,4</sup> 林佳<sup>1,2,3,4</sup> 张颖蓝<sup>1,2,3,4</sup> 李强<sup>1,2,3,4△</sup>

<sup>1</sup>国家儿童医学中心/复旦大学附属儿科医院儿科研究所 上海 201102; <sup>2</sup>复旦大学儿童发育与疾病转化医学中心 上海 201102; <sup>3</sup>上海市出生缺陷防治重点实验室 上海 201102; <sup>4</sup>国家卫生健康委员会新生儿疾病重点实验室(复旦大学) 上海 201102)

**【摘要】** 目的 通过可视化斑马鱼神经网络发育过程,探索 *Nde1* 基因敲除对斑马鱼早期神经发育的影响。方法 利用 *Nde1*<sup>-/-</sup> 与 *Tg(HuC:RFP*<sup>+/-</sup>) 构建 *Tg(Nde1*<sup>-/-</sup>; *HuC:RFP*<sup>+/-</sup>) 转基因斑马鱼, HuC 启动子驱动神经元表达红色荧光蛋白,直观观察斑马鱼神经网络,追踪斑马鱼神经发育情况,并通过 Image J 及 Prism 比较 *Nde1* 基因敲除斑马鱼与野生型斑马鱼神经元核团的平均荧光强度及荧光报告蛋白表达量,分析 *Nde1* 基因敲除对斑马鱼早期神经发育的影响。结果 从斑马鱼胚胎受精后 48 h 观察到受精后 7 天,发现 *Nde1* 基因敲除斑马鱼的三叉感觉神经元核团以及脊髓神经元核团的平均荧光强度均低于野生型斑马鱼, RT-qPCR 结果也显示红色荧光报告蛋白的 mRNA 表达量显著低于野生型斑马鱼。结论 *Nde1* 基因缺失可能通过影响神经前体细胞分化和增加凋亡,导致三叉感觉神经元及脊髓神经元发育异常。

**【关键词】** *Nde1*; *HuC:RFP*; 神经发育; 斑马鱼

**【中图分类号】** R725 **【文献标志码】** A **doi:** 10.3969/j.issn.1672-8467.2025.06.003

## Investigation of neural developmental abnormalities in *Nde1* knockout zebrafish using HuC: RFP labeling technology

LIU Ting<sup>1,2,3,4</sup>, ZHANG Qi<sup>1,2,3,4</sup>, LIN Jia<sup>1,2,3,4</sup>, ZHANG Ying-lan<sup>1,2,3,4</sup>, LI Qiang<sup>1,2,3,4△</sup>

<sup>1</sup>Institute of Pediatrics, National Children's Medical Center/Children's Hospital, Fudan University, Shanghai 201102, China; <sup>2</sup>Translational Medical Center for Child Development and Disease, Fudan University, Shanghai 201102, China; <sup>3</sup>Shanghai Key Laboratory of Birth Defect Prevention and Control, Shanghai 201102, China; <sup>4</sup>National Health Commission Key Laboratory of Neonatal Diseases (Fudan University), Shanghai 201102, China)

**【Abstract】 Objective** To investigate the effect of *Nde1* gene knockout on early neural development of zebrafish by visualizing the development of neural networks in zebrafish. **Methods** Transgenic zebrafish *Tg(Nde1*<sup>-/-</sup>; *HuC:RFP*<sup>+/-</sup>) was constructed by crossing *Nde1*<sup>-/-</sup> with *Tg(HuC:RFP*<sup>+/-</sup>). The HuC promoter was employed to drive the expression of red fluorescent protein in neurons, which allowing the visualization of zebrafish neural networks and tracking of neural development. Furthermore, by using Image J and Prism to compare the average fluorescence intensity of neurons and the expression level of fluorescent reporter proteins between *Nde1* deficiency zebrafish and wild type zebrafish, the effect of *Nde1* gene knockout on zebrafish neural development was analyzed. **Results** From 48 hours post-fertilization (hpf) to 7 days dpf, the average fluorescence intensity of red fluorescence expressed by trigeminal sensory

国家自然科学基金(82201310, 81771632);上海市自然科学基金(21ZR1410100)

<sup>△</sup>Corresponding author E-mail: liq@fudan.edu.cn

网络首发时间:2025-10-28 10:45:20 网络首发地址: <https://link.cnki.net/urlid/31.1885.R.20251027.1757.002>

neurons and spinal cord neurons in *Nde1* deficiency zebrafish was lower than that in wild type zebrafish. RT-qPCR results also showed that the mRNA expression level of red fluorescent reporter protein in *Nde1* deficiency zebrafish was significantly lower than that in the wild type zebrafish. **Conclusion** *Nde1* gene deletion may lead to abnormal development of trigeminal sensory neurons and spinal cord neurons by affecting neural progenitor cell differentiation and increasing apoptosis.

**【Key words】** *Nde1*; *HuC:RFP*; neurodevelopment; zebrafish

\* This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (82201310, 81771632) and the Natural Science Foundation of Shanghai (21ZR1410100).

*Nde1* 基因位于 16p13.11 内,参与微管组织形成及中枢神经系统发育的关键过程<sup>[1-2]</sup>。*Nde1* 的磷酸化在脊椎动物大脑发育中,尤其在神经祖细胞核迁移和神经元层次结构的调控中起着重要作用<sup>[3]</sup>。敲除小鼠体内的 *Nde1* 基因会导致正在增殖中的神经祖细胞在 3 个不同的阶段发生细胞周期停滞,包括在顶端相互作用的核迁移期间、G2 期到 M 期以及 G1 期到 S 期的过渡期间<sup>[4]</sup>。临床研究表明,携带纯合 *NDE1* 基因移码突变的个体表现出显著的小头畸形和皮层脑回结构的严重简化,且突变导致的 *NDE1* 蛋白质不稳定,无法有效与细胞质动力蛋白结合,也不能正确定位到中心体<sup>[5-7]</sup>。在前期研究中,本团队利用 CRISPR/Cas9 系统成功构建了 *Nde1* 基因敲除斑马鱼模型<sup>[8]</sup>,并通过神经系统凋亡分析,发现 *Nde1* 基因敲除斑马鱼相较于野生型斑马鱼表现出显著增加的神经系统凋亡。

斑马鱼作为神经科学研究的重要模型,目前被广泛地应用于基因筛选<sup>[9-10]</sup>,其胚胎在发育过程中的光学可见性使得研究者能够在不干扰其正常生理状态的前提下,对体内整个中枢神经系统进行高分辨率成像<sup>[11-12]</sup>,并动态观察基因在神经发育过程中的作用。精准标记和追踪特定神经细胞及其轴突投射对神经科学研究至关重要。*HuC* 是特异性地驱动神经元表达的启动子,已被广泛应用于斑马鱼神经元早期发育研究<sup>[13-14]</sup>。该启动子具有高度的神经元特异性,能够有效驱动基因在神经元细胞表达。*Tg (HuC:RFP<sup>+/+</sup>)* 转基因斑马鱼模型可在神经元中表达红色荧光蛋白,为直观观察神经元分布与形态提供了有力工具。

尽管已有研究探讨了 *Nde1* 基因在神经发育中的作用,但缺乏对基因缺失在神经网络形态发

育过程中动态影响的研究。本研究创新性地构建了 *Tg (Nde1<sup>-/-</sup>;HuC:RFP<sup>+/+</sup>)* 斑马鱼模型,利用 *HuC* 启动子特异性表达红色荧光蛋白,成功实现了对 *Nde1* 基因敲除斑马鱼大脑和脊髓神经元的可视化。该模型能够动态观察 *Nde1* 基因缺失对神经系统早期发育的影响,并可通过共聚焦激光显微镜技术,追踪神经发育过程中的形态变化,比较 *Nde1* 基因敲除与野生型斑马鱼的神经发育差异。这种动态、实时的观察方法为研究基因缺陷对神经系统发育的影响提供了新的视角,也为进一步了解 *Nde1* 基因在神经发育中的作用提供了重要依据。

## 材 料 和 方 法

**实验动物** 本研究于 2023 年 9 月至 2024 年 6 月开展,所使用的 *Nde1* 基因纯合敲除斑马鱼 *Nde1<sup>-/-</sup>* 由复旦大学附属儿科研究所转化中心实验室李强教授课题组利用 CRISPR/Cas9 系统构建, *Tg (HuC:RFP<sup>+/+</sup>)* 斑马鱼由复旦大学附属肿瘤医院王旭教授馈赠。本研究中所使用的斑马鱼饲养于复旦大学附属儿科医院斑马鱼平台内,饲养水温恒定 28.5 °C,光照条件为每天 14 h 的光亮环境和 10 h 的黑暗环境交替(8:00 AM—22:00 PM,光亮环境)。斑马鱼卵在自然交配的条件下获得,刚产的斑马鱼卵前 7 天在胚胎培养液中孵育,间隔 1 天换 1 次胚胎培养液,第 8 天将斑马鱼卵转入缸中喂食草履虫到第 14 天,14 天后的斑马鱼幼鱼喂丰年虫,1 天 2 顿(10:00 AM, 15:00 PM),斑马鱼饲养到 3 个月性成熟后即可交配。后续使用共聚焦激光显微镜成像观察斑马鱼神经系统发育情况时,可在受精卵受精 10 h 后给予浓度为 1.5% 的 1-苯基-2-硫脲(1-

phenyl-2-thiourea, PTU)处理,以抑制斑马鱼胚胎发育过程中黑色素的形成。

**Tg(Nde1<sup>-/-</sup>; HuC:RFP<sup>+/+</sup>)斑马鱼的获得** 首先将受精后3月龄(3 months post-fertilization, 3 mpf)(已达到性成熟)的Nde1<sup>-/-</sup>与Tg(HuC:RFP<sup>+/+</sup>)的斑马鱼进行侧交,获得的受精卵置于胚胎培养液中孵育,并在受精后10 h(10 hours post-fertilization, 10 hpf)给予浓度为1.5%的PTU处理;在受精后48 h,在荧光显微镜观察下挑选出脑部和脊髓表达红色荧光的鱼卵继续养到直至性成熟。F1代斑马鱼基因型为Tg(Nde1<sup>+/+</sup>; HuC:RFP<sup>+/+</sup>)。将性成熟(3 mpf) Tg(Nde1<sup>+/+</sup>; HuC:RFP<sup>+/+</sup>)个体与Nde1<sup>-/-</sup>个体进行侧交,所得受精卵置于胚胎培养液中孵育,并于48 hpf时,通过荧光显微镜观察,筛选出脑部和脊髓表达红色荧光蛋白的胚胎,继续培养至3 mpf,剪尾提取组织基因组DNA进行PCR基因型鉴定,并使用Snapgene软件对测序结果进行分析对比,挑选出Tg(Nde1<sup>-/-</sup>; HuC:RFP<sup>+/+</sup>)斑马鱼用于后续实验。随后,将性成熟的Tg(Nde1<sup>-/-</sup>; HuC:RFP<sup>+/+</sup>)个体再次与Nde1<sup>-/-</sup>个体侧交,所得受精卵在含有浓度为1.5% PTU的胚胎培养液中孵育,并于48 hpf时,利用荧光显微镜筛选出脑部和脊髓中表达红色荧光蛋白的胚胎继续孵育,通过共聚焦显微镜对红色荧光蛋白标记的神经元进行动态追踪观察,记录其形态变化及发育情况。

**仪器和耗材** 使用Leica 205C显微镜和Confocal TCS SP8显微镜(均购自德国Leica公司)。

**荧光强度定量** 使用Image J确定神经元荧光蛋白的平均灰度级。选择感兴趣区域(area of interest, AOI),以确保神经元保持在AOI的边界内,并测量每个AOI的平均灰度级。

**RT-qPCR** 使用TRIzol试剂(Ambion,美国赛默飞公司)提取总RNA。使用PrimeScript™ RT试剂盒(RR047A, TaKaRa,美国赛默飞公司)和miRNA第一链cDNA合成试剂盒(MR101-01, Vazyme,南京诺唯赞生物科技股份有限公司)合成互补脱氧核糖核酸(cDNA),并储存于-20℃。在96孔PCR板(BioLabs,艾美捷科技有限公司)中,每个样品一式三份进行分析。不含cDNA的反应混合物用作阴性对照。引物β-actin-qPCR-F:5'-CGAGCTGTCTTCCCATCCA-3', β-actin-qPCR-R:5'-

TCACCAACGTAGCTGTCTTTCTG-3'; Nde1-qPCR-F:5'-GCAATCGGGAACCTTACA-3', Nde1-qPCR-R:5'-TCTCTGCCAGGTCTCTTTCTA-3', RFP-qPCR-F:5'-CATGAAGCTGTACATGGAGGGCAC-3', RFP-qPCR-R:5'-GACTGCTTAAAGAAGTCGGGGATG-3'。实验在CFX96仪器(美国BioRad公司)上进行。使用ΔCt方法计算和分析RNA水平。

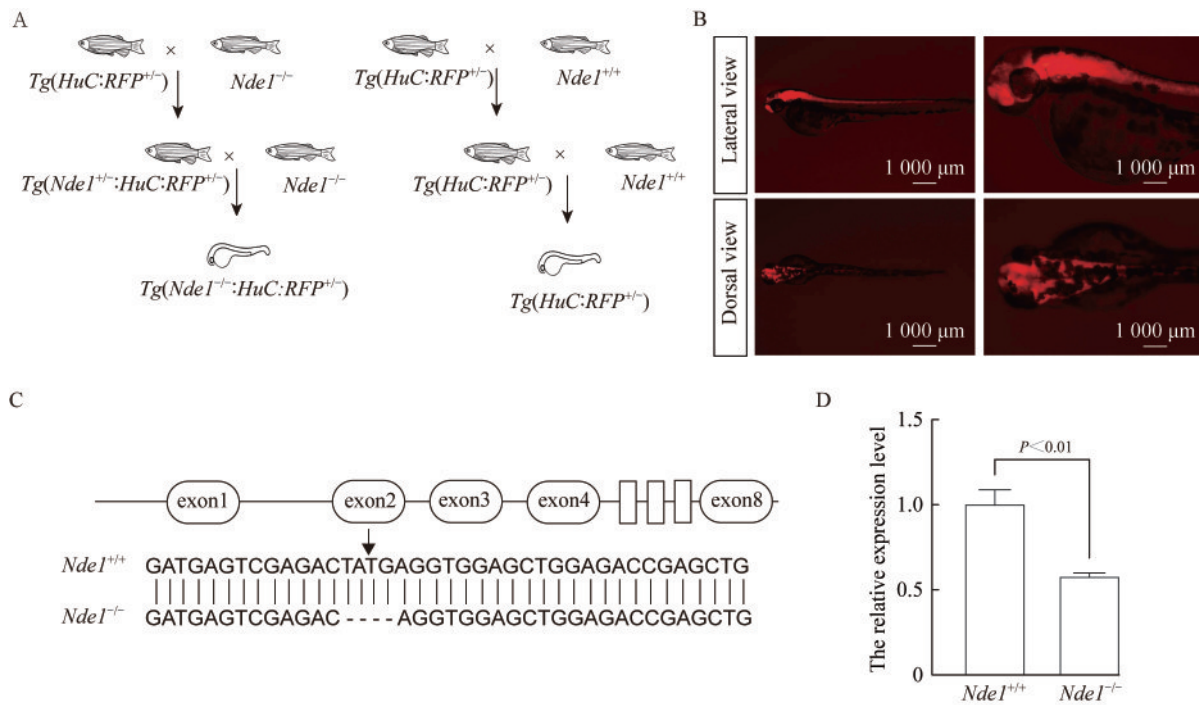
**统计学分析** 所有数据使用GraphPad Prism 9.0分析处理,两组数据之间相比较采用非配对t检验(双侧),P<0.05为差异有统计学意义。

## 结 果

**构建转基因斑马鱼系,在Nde1缺陷斑马鱼中通过HuC:RFP标记神经元** 本研究构建了Tg(Nde1<sup>-/-</sup>; HuC:RFP<sup>+/+</sup>)斑马鱼系(图1A),以探究Nde1基因对斑马鱼早期神经系统发育的影响。在该模型中,Nde1缺陷斑马鱼神经系统中特异表达红色荧光蛋白(图1B),使得神经发育过程中三叉感觉神经元以及脊髓运动神经元可视化。此外通过测序筛选出TATG 4个碱基缺失的Nde1纯合敲除的斑马鱼Tg(Nde1<sup>-/-</sup>; HuC:RFP<sup>+/+</sup>)(图1C)。经RT-qPCR分析发现,与对照组Tg(HuC:RFP<sup>+/+</sup>)相比,Tg(Nde1<sup>-/-</sup>; HuC:RFP<sup>+/+</sup>)中Nde1的mRNA表达量显著减少(图1D)。上述结果表明,本研究成功构建了Tg(Nde1<sup>-/-</sup>; HuC:RFP<sup>+/+</sup>)转基因斑马鱼,为进一步研究Nde1基因在神经系统发育中的作用奠定了基础。

**体内可视化Nde1缺陷斑马鱼神经元核团** 在共聚焦激光显微镜下,我们获得了Nde1基因缺陷斑马鱼胚胎大脑和脊髓中表达红色荧光蛋白的神经元的高分辨率图像。在48 hpf时,表达红色荧光蛋白的神经元可通过其明亮的荧光和在大脑与脊髓中的位置(特别是三叉感觉神经元核团和脊髓神经元核团)进行清晰的识别(图2)。根据这些结果,可以评估被红色荧光蛋白标记的神经元的发育情况,分析Tg(Nde1<sup>-/-</sup>; HuC:RFP<sup>+/+</sup>)在HuC启动子下表达神经元特异性的红色荧光蛋白,来探索Nde1基因缺陷是否会导致斑马鱼神经元发育不良。

在Nde1基因缺陷斑马鱼中三叉感觉神经元核



A: Schematic diagram of the procedure used for generating transgenic zebrafish *Tg(Nde1<sup>-/-</sup>; HuC:RFP<sup>+/+</sup>)* and obtaining control group *Tg(HuC:RFP<sup>+/+</sup>)*. B: The fluorescent images of F2 *Tg(Nde1<sup>-/-</sup>; HuC:RFP<sup>+/+</sup>)* embryo at 48 hpf under the fluorescence microscopy. Lateral view on the upper side, dorsal view on the lower side, *n*=5. C: Diagram of target site on the second exon of zebrafish *Nde1* genomic DNA, genetic sequencing results revealed a deletion of 4 bp (TATG). D: The mRNA levels of *Nde1* were significantly reduced in the *Nde1<sup>-/-</sup>* zebrafish of 7 dpf, as determined by RT-qPCR, *n*=5.

**图 1 *Tg(Nde1<sup>-/-</sup>; HuC:RFP<sup>+/+</sup>)* 转基因斑马鱼的构建**

**Fig 1 Generation of transgenic zebrafish *Tg(Nde1<sup>-/-</sup>; HuC:RFP<sup>+/+</sup>)***

团及脊髓神经元核团发育不良 *Tg(Nde1<sup>-/-</sup>;HuC:RFP<sup>+/+</sup>)* 是一个简单而有效的工具,可体现 *Nde1* 基因缺失导致斑马鱼神经发育过程中发生突变。总体来看, *Nde1* 基因缺陷斑马鱼神经元发育不良在 *Tg(Nde1<sup>-/-</sup>;HuC:RFP<sup>+/+</sup>)* 胚胎红色荧光标记的神经元中十分明显,与野生型胚胎相比, *Nde1* 基因缺陷胚胎的神经元表现出较弱的红色荧光。三叉感觉神经元核团以及脊髓神经元核团表达较强烈的红色荧光蛋白,使得三叉感觉神经元核团和脊髓神经元核团在斑马鱼脑部和脊髓的神经元中比较容易识别,因此本研究重点关注这些神经元,并进行了荧光强度分析。

从 48 hpf 到受精后 7 天(7 days post-fertilization 7dpf), *Nde1* 基因缺陷斑马鱼相比野生型斑马鱼,三叉感觉神经元核团平均荧光强度显著减少(图 3,图 4),脊髓神经元核团平均荧光强度也显著减少(图 5,图 6)。可见,在斑马鱼早期神经发育过程中, *Nde1* 基因缺陷会导致三叉感觉神经元核团以及脊

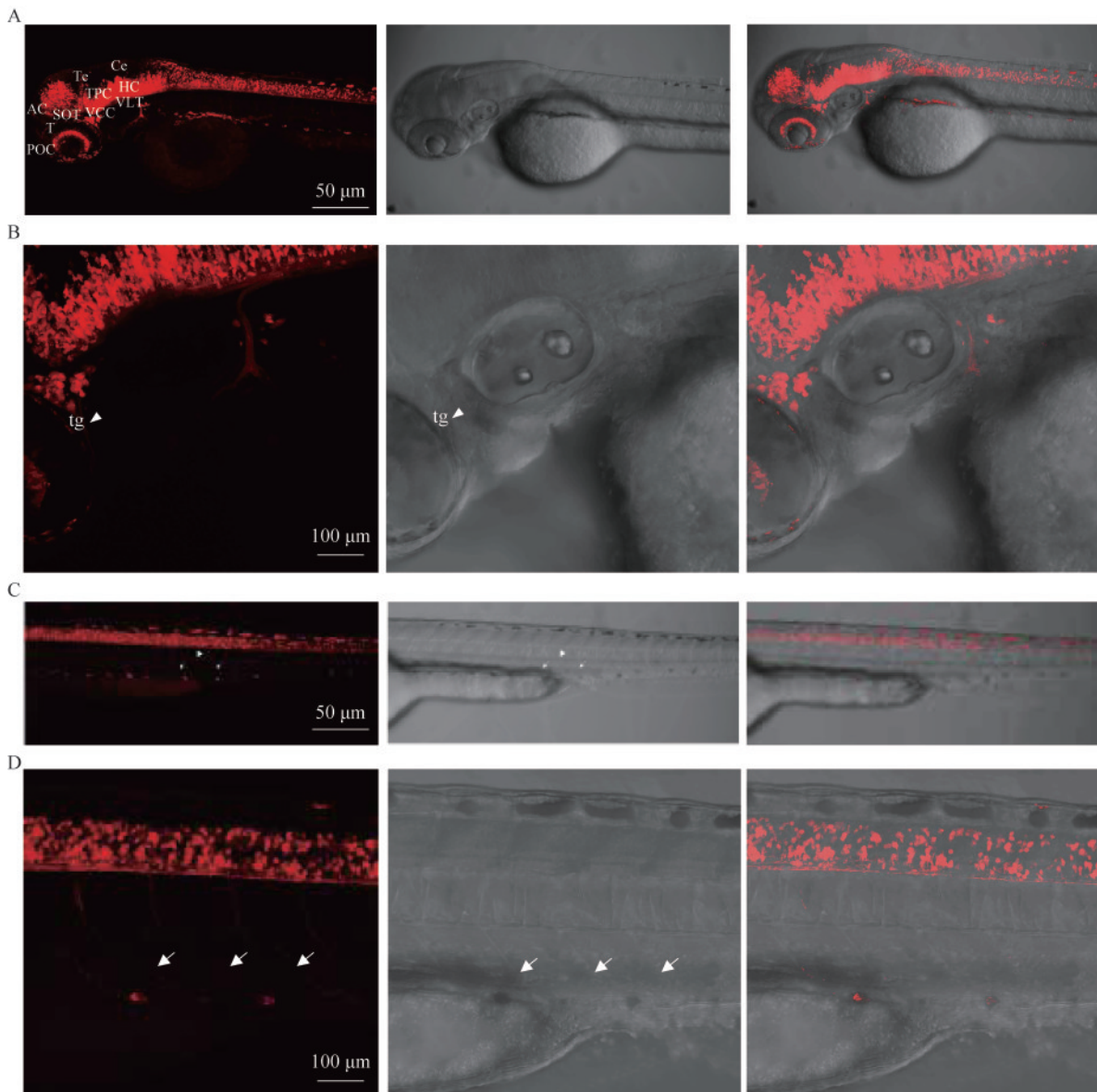
髓神经元核团发育不良。

与野生型胚胎相比, *Nde1* 基因缺陷胚胎中的红色荧光蛋白报告基因的表达从 48 hpf 到 7 dpf 都显著降低(图 7),这表明 *Nde1* 基因缺陷斑马鱼的神经发育发生了改变。

**讨 论**

本研究通过构建具有红色荧光标记神经元的 *Nde1* 基因纯合敲除斑马鱼模型 *Tg(Nde1<sup>-/-</sup>;HuC:RFP<sup>+/+</sup>)*,观察并分析了 *Nde1* 基因缺陷对神经发育过程的影响。研究表明, *Nde1* 基因缺陷斑马鱼表现出明显的发育异常,尤其在大脑和脊髓中,三叉感觉神经元核团及脊髓神经元核团的红色荧光强度显著降低。这一现象与 *Nde1* 基因缺失突变体中观察到的神经发育障碍一致<sup>[8]</sup>,提示 *Nde1* 基因在早起神经发育中扮演着至关重要的角色。

*Nde1* 基因的突变导致神经前体细胞在 DNA 复制过程中产生与 DNA 复制相关的双链断裂,而



A-D: *Tg* (*Nde1*<sup>-/-</sup>; *HuC*: *RFP*<sup>+/+</sup>) embryo at 48 hpf in a lateral view with anterior to the left and dorsal up under confocal microscopy. RFP is expressed in the brain (A, B) and spinal cord (C, D), *n*=5. A: Red fluorescence is expressed in the brain. POC: Postoptic commissure; AC: Anterior commissure; T: Telencephalon; SOT: Supraoptic tract; Te: Tectum; TPC: Tract of posterior commissure; VCC: Ventrocaudal cluster; Ce: Cerebellum; HC: Hindbrain cluster; VLT: Ventral longitudinal tract. B: Magnify (A) by two times, RFP was clearly observed in trigeminal sensory neurons (tg), and the arrowhead indicates peripheral axons of trigeminal sensory neurons. C: Red fluorescence is expressed in the spinal cord. Spinal motor nerves and posterior lateral lines are indicated by the arrows and arrowhead, respectively. D: Magnify (C) by two times, RFP was expressed in motor neurons were observed more clearly.

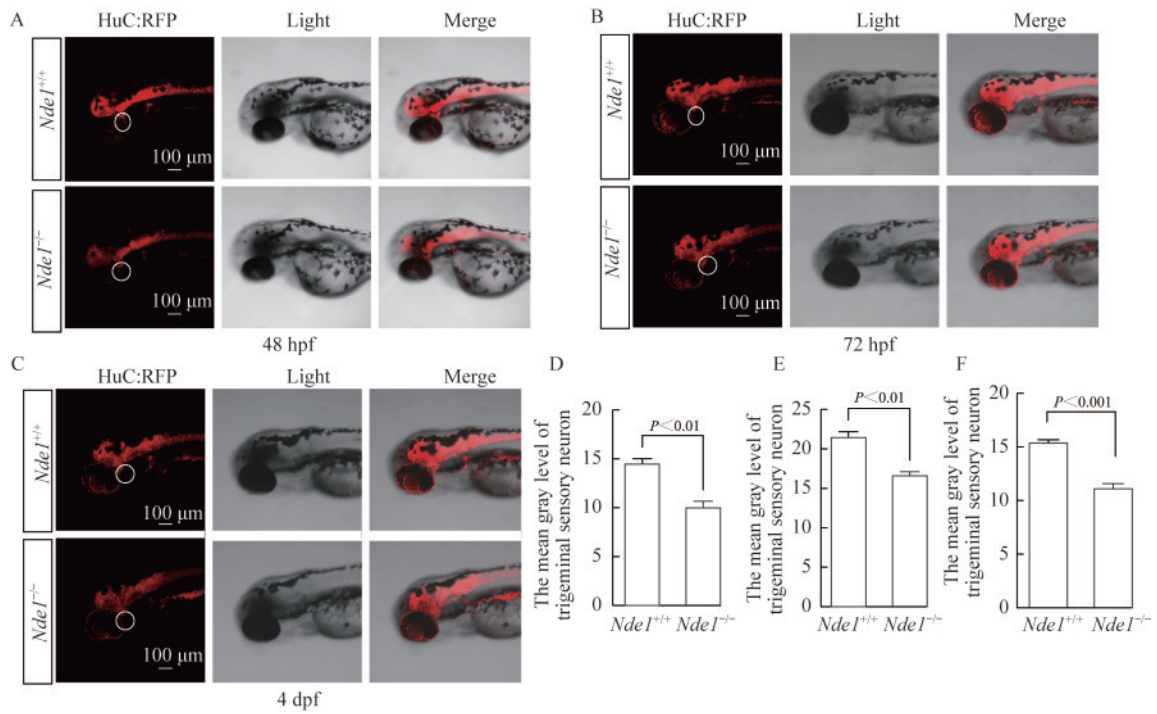
图2 共聚焦显微镜下 *Nde1* 基因缺陷斑马鱼神经元核团成像

Fig 2 Imaging of neurons of *Nde1* deficiency zebrafish under confocal microscopy

*Nde1* 基因介导的异染色质复制是神经元分化不可缺少的组成部分<sup>[15-16]</sup>。研究表明, *Nde1* 基因功能的缺失可能与基因组水平的神经系统疾病发生相关<sup>[17]</sup>。在小鼠模型中, *Nde1* 突变已被证实会引发 DNA 损伤, 从而激活 p53 依赖的凋亡信号通路, 并影响神经祖细胞的分化, 导致大脑皮层畸形, 表现

为神经元数量减少及皮层结构变薄<sup>[18]</sup>。人类 *NDE1* 基因的突变同样与显著的大脑皮层体积减少相关<sup>[19]</sup>。此外, 在 *Nde1* 基因缺陷斑马鱼中, 包括大脑、中脑、菱形区和脊柱在内的神经系统显示出明显的凋亡增加<sup>[8]</sup>。

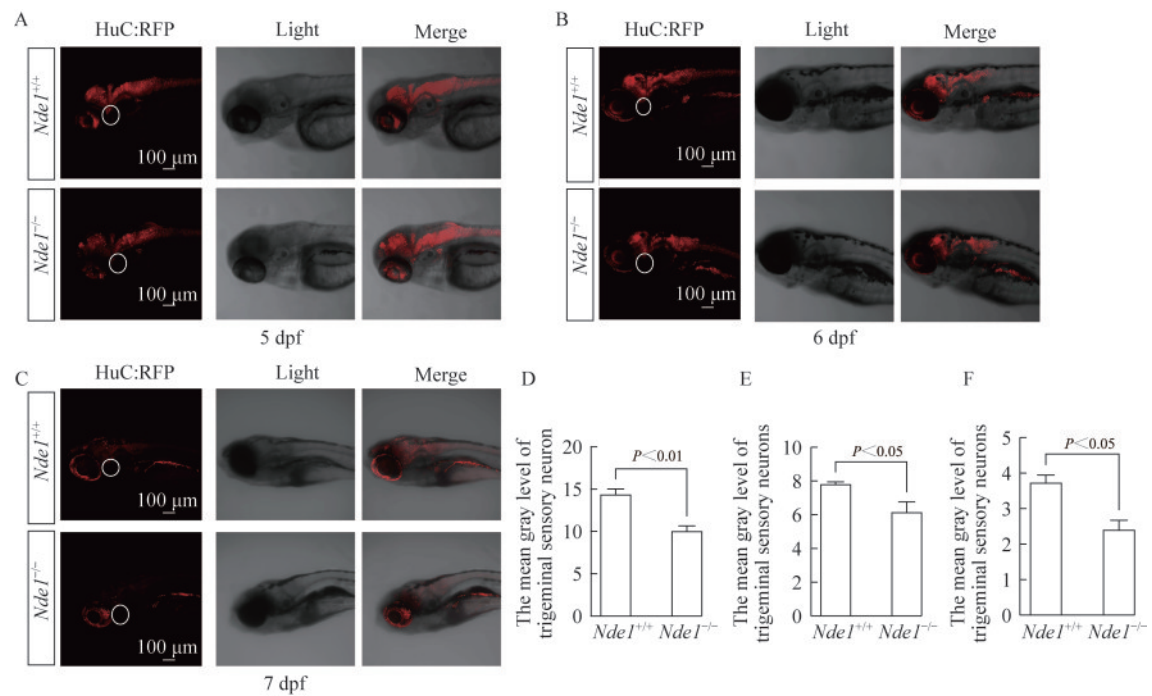
通过高分辨率的共聚焦显微镜技术, 本研究成



A-C: White circle marked trigeminal sensory neurons. Reduced RFP staining in *Nde1*<sup>-/-</sup> zebrafish compared to *Nde1*<sup>+/+</sup>, n=5. D-F: Quantification of fluorescence intensity was done using Image J software and statistical analysis was analyzed using GraphPrism, n=5.

图 3 48 hpf~4 dpf 共聚焦显微镜下斑马鱼三叉感觉神经元核团成像及平均荧光强度分析

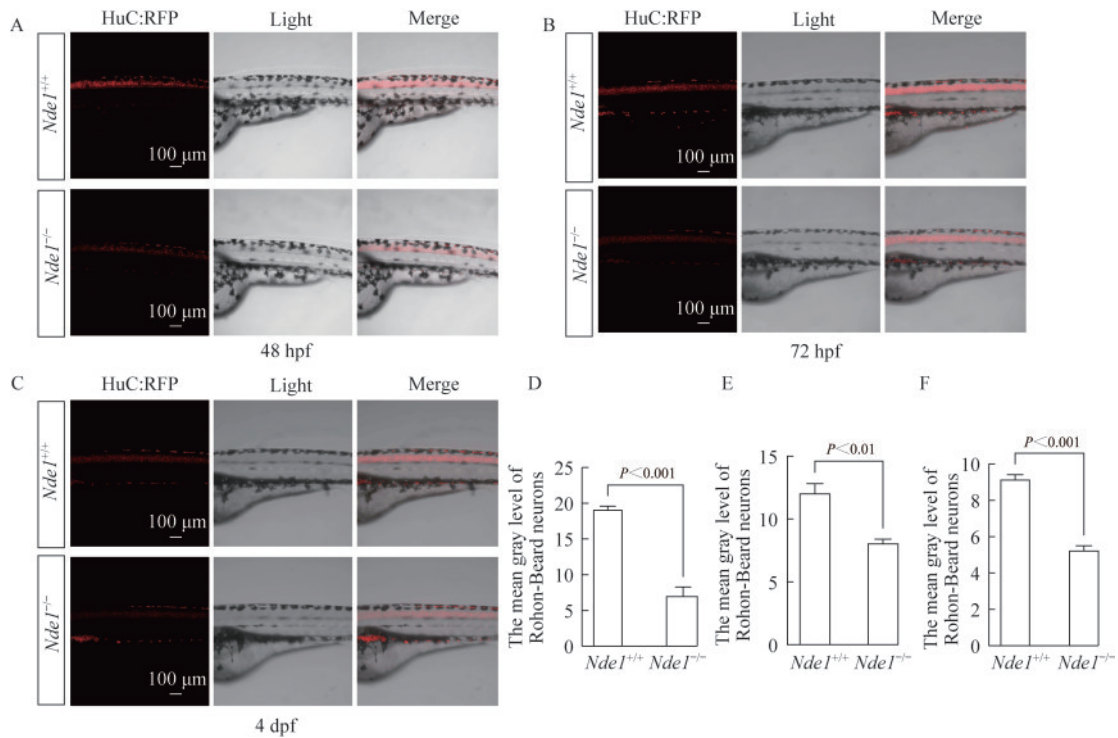
Fig 3 Imaging of zebrafish trigeminal sensory neurons under microscopy and the analysis of mean fluorescence intensity from 48 hpf to 4 dpf



A-C: White circle marked trigeminal sensory neurons. Reduced RFP staining in *Nde1*<sup>-/-</sup> zebrafish compared to *Nde1*<sup>+/+</sup> zebrafish, n=5. D-F: Quantification of fluorescence intensity was done using ImageJ software and statistical analysis was analyzed using GraphPrism, n=5.

图 4 5 dpf~7 dpf 共聚焦显微镜下斑马鱼三叉感觉神经元核团成像及平均荧光强度分析

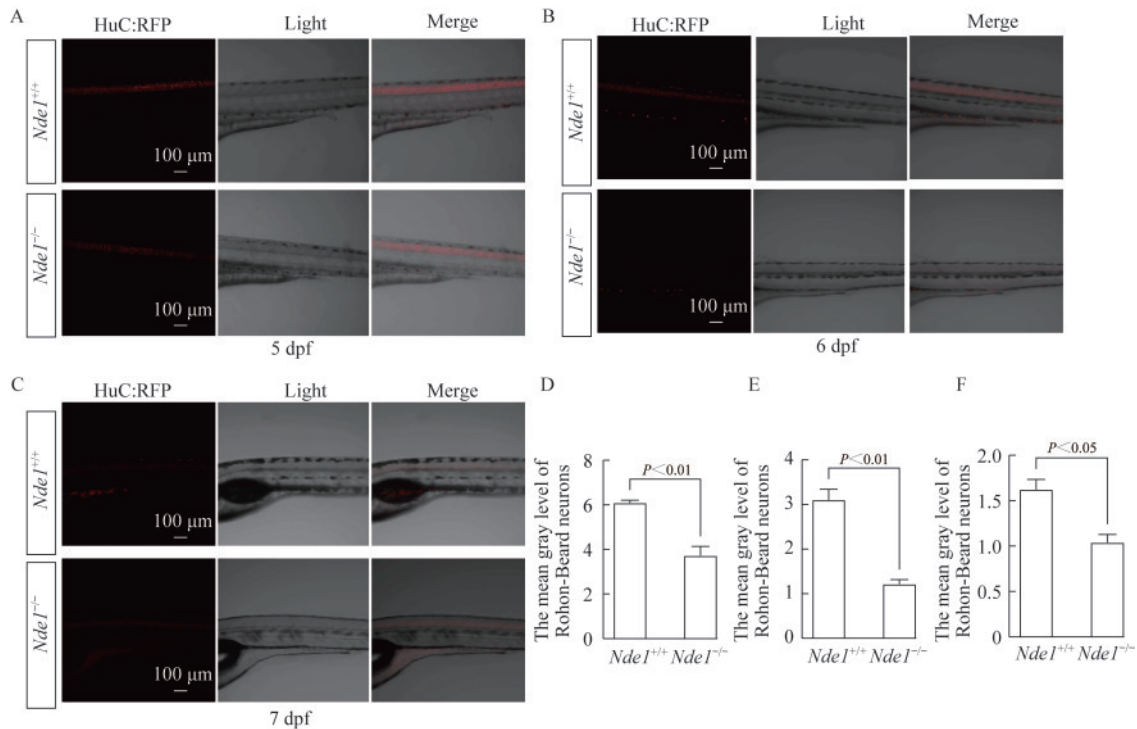
Fig 4 Imaging of zebrafish trigeminal sensory neurons under microscopy and the analysis of mean fluorescence intensity from 5 dpf to 7 dpf



A-C: Spinal cord neurons. Reduced RFP staining in *Nde1<sup>-/-</sup>* compared to *Nde1<sup>+/+</sup>*,  $n=5$ . D-F: Quantification of fluorescence intensity was done using Image J software and statistical analysis was analyzed using GraphPrism,  $n=5$ .

图5 48 hpf-4 dpf共聚焦显微镜下斑马鱼脊髓神经元核团成像及平均荧光强度分析

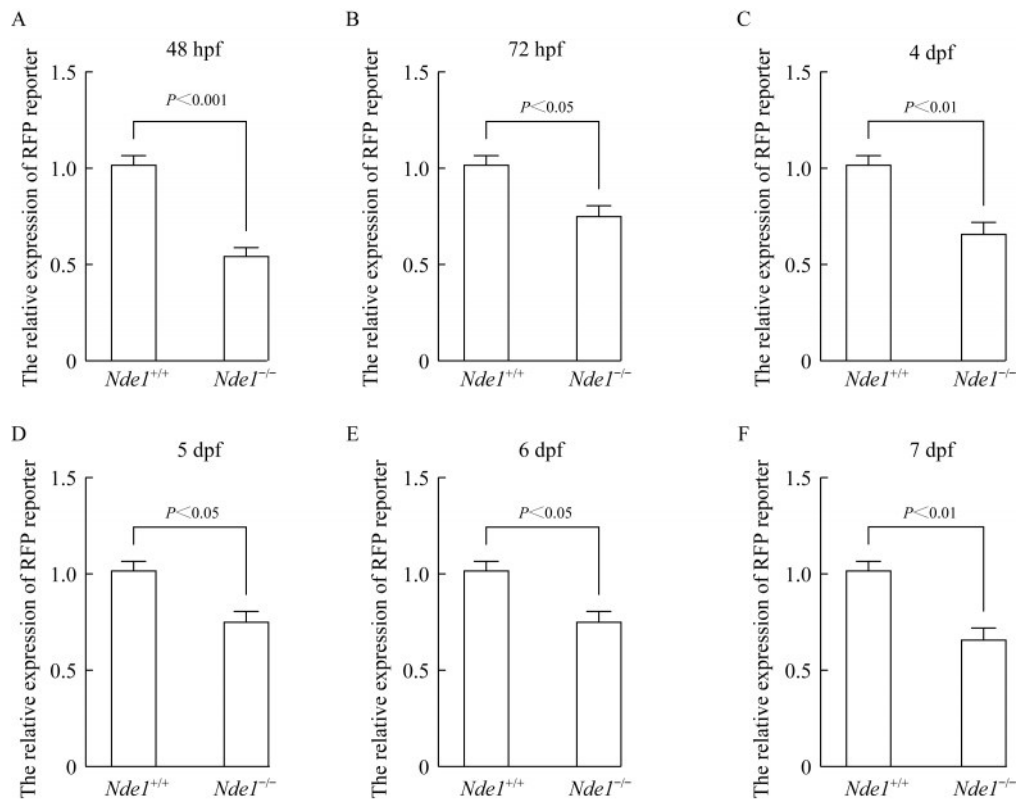
Fig 5 Imaging of zebrafish spinal cord neurons under microscopy and the analysis of mean fluorescence intensity from 48 hpf to 4 dpf



A-C: Spinal cord neurons. Reduced RFP staining in *Nde1<sup>-/-</sup>* compared to *Nde1<sup>+/+</sup>*,  $n=5$ . D-F: Quantification of fluorescence intensity was done using ImageJ software and statistical analysis was analyzed using GraphPrism,  $n=5$ .

图6 5 dpf-7 dpf共聚焦显微镜下斑马鱼脊髓神经元核团成像及平均荧光强度分析

Fig 6 Imaging of zebrafish spinal cord neurons under microscopy and the analysis of mean fluorescence intensity from 5 dpf to 7 dpf



A-F: RT-qPCR results of RFP reporter expressions from larvae in Fig 3, 4 and Fig 5, 6,  $n=5$ .

图7 48 hpf-7 dpf斑马鱼红色荧光蛋白报告基因 mRNA 表达量

Fig 7 mRNA expression level of zebrafish red fluorescent protein reporter gene from 48 hpf to 7 dpf

功监测了从胚胎 48 hpf 到 7 dpf 期间, *Nde1* 基因缺陷斑马鱼的神经形态发育, 并与野生型斑马鱼进行了动态比较。与传统侵入性实验方法相比, HuC 启动子是斑马鱼神经元的有效早期标记物<sup>[20-21]</sup>, 利用 HuC 启动子特异性标记神经元的红色荧光表达, 不仅能够清晰地观察和分析神经网络的形态变化, 还能在动态发育过程中快速获取数据。

本研究还发现, *Nde1* 基因缺陷的斑马鱼在神经元发育过程中表现出三叉神经元和脊髓神经元的发育异常, 红色荧光强度的降低与其神经发育障碍的表现一致。

综上所述, 本研究证实了 *Nde1* 基因在神经发育过程中扮演着关键角色, 其缺失可能通过影响神经前体细胞的分化和增强凋亡过程, 导致神经系统的发育异常。此外, HuC 启动子标记的 *Tg* (*Nde1*<sup>-/-</sup>; *HuC*:*RFP*<sup>+/+</sup>) 转基因斑马鱼模型为进一步研究 *Nde1* 基因缺陷对神经系统发育和神经网络形态的动态影响提供了有效工具。

作者贡献声明 刘婷 实验设计, 数据采集和

分析, 论文构思、撰写和修订。张琦 论文构思, 实验设计。林佳, 张颖蓝 实验设计, 数据采集。李强 研究指导, 论文构思和修订。

利益冲突声明 所有作者均声明不存在利益冲突。

## 参 考 文 献

- [1] MOSCA S, RAPONI M, MENEGHELLO A, *et al.* Human NDE1 splicing and mammalian brain development [J]. *Sci Rep*, 2017, 7: 43504.
- [2] CHOMIAK AA, GUO Y, KOPSIDAS CA, *et al.* Nde1 is required for heterochromatin compaction and stability in neocortical neurons [J]. *iScience*, 2022, 25(6): 104354.
- [3] DOOBIN DJ, HELMER P, CARABALONA A, *et al.* The role of Nde1 phosphorylation in interkinetic nuclear migration and neural migration during cortical development [J]. *Mol Biol Cell*, 2024, 35(10): ar129.
- [4] DOOBIN DJ, KEMAL S, DANTAS TJ, *et al.* Severe NDE1-mediated microcephaly results from neural progenitor cell cycle arrests at multiple specific stages [J]. *Nat Commun*, 2016, 7: 12551.

- [ 5 ] ALKURAYA FS, CAI X, EMERY C, *et al.* Human mutations in NDE1 cause extreme microcephaly with lissencephaly [corrected] [J]. *Am J Hum Genet*, 2011, 88(5):536-547.
- [ 6 ] OKADA K, IYER BR, LAMMERS LG, *et al.* Conserved roles for the dynein intermediate chain and Ndel1 in assembly and activation of dynein [J]. *Nat Commun*, 2023, 14(1):5833.
- [ 7 ] ZHAO Y, OTEN S, YILDIZ A. Nde1 promotes Lis1-mediated activation of dynein [J]. *Nat Commun*, 2023, 14(1):7221.
- [ 8 ] ZHANG Q, LI T, LIN J, *et al.* Deficiency of nde1 in zebrafish induces brain inflammatory responses and autism-like behavior [J]. *iScience*, 2022, 25(3):103876.
- [ 9 ] CHIA K, KLINGSEISEN A, SIEGER D, *et al.* Zebrafish as a model organism for neurodegenerative disease [J]. *Front Mol Neurosci*, 2022, 15:940484.
- [10] PAQUET D, SCHMID B, HAASS C. Transgenic zebrafish as a novel animal model to study tauopathies and other neurodegenerative disorders *in vivo* [J]. *Neurodegener Dis*, 2010, 7(1-3):99-102.
- [11] GODINHO L. Live imaging of zebrafish development [J]. *Cold Spring Harb Protoc*, 2011, 2011(7):770-777.
- [12] CONG L, WANG Z, CHAI Y, *et al.* Rapid whole brain imaging of neural activity in freely behaving larval zebrafish (*Danio rerio*) [J]. *Elife*, 2017, 6:e28158.
- [13] KIM CH, UESHIMA E, MURAOKA O, *et al.* Zebrafish elav/HuC homologue as a very early neuronal marker [J]. *Neurosci Lett*, 1996, 216(2):109-112.
- [14] PARK HC, KIM CH, BAE YK, *et al.* Analysis of upstream elements in the HuC promoter leads to the establishment of transgenic zebrafish with fluorescent neurons [J]. *Dev Biol*, 2000, 227(2):279-293.
- [15] HOULIHAN SL, FENG Y. The scaffold protein Nde1 safeguards the brain genome during S phase of early neural progenitor differentiation [J]. *Elife*, 2014, 3:e03297.
- [16] FENG Y, OLSON EC, STUKENBERG PT, *et al.* LIS1 regulates CNS lamination by interacting with mNudE, a central component of the centrosome [J]. *Neuron*, 2000, 28(3):665-679.
- [17] BURDICK KE, KAMIYA A, HODGKINSON CA, *et al.* Elucidating the relationship between DISC1, NDEL1 and NDE1 and the risk for schizophrenia: evidence of epistasis and competitive binding [J]. *Hum Mol Genet*, 2008, 17(16):2462-2473.
- [18] FENG Y, WALSH CA. Mitotic spindle regulation by Nde1 controls cerebral cortical size [J]. *Neuron*, 2004, 44(2):279-293.
- [19] BAKIRCIOGLU M, CARVALHO OP, KHURSHID M, *et al.* The essential role of centrosomal NDE1 in human cerebral cortex neurogenesis [J]. *Am J Hum Genet*, 2011, 88(5):523-535.
- [20] JOHN JAST, KEY B. HuC-eGFP mosaic labelling of neurons in zebrafish enables *in vivo* live cell imaging of growth cones [J]. *J Mol Histol*, 2012, 43(6):615-623.
- [21] SCHMIDT R, STRÄHLE U, SCHOLPP S. Neurogenesis in zebrafish—from embryo to adult [J]. *Neural Dev*, 2013, 8:3.

(收稿日期:2024-09-07; 编辑:岳頔)