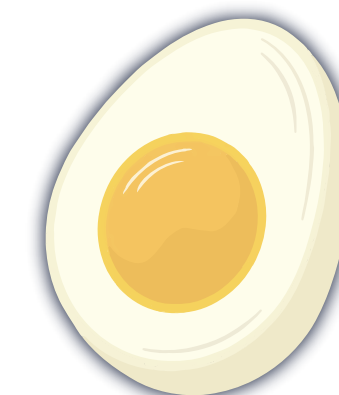




● RNAscope ●

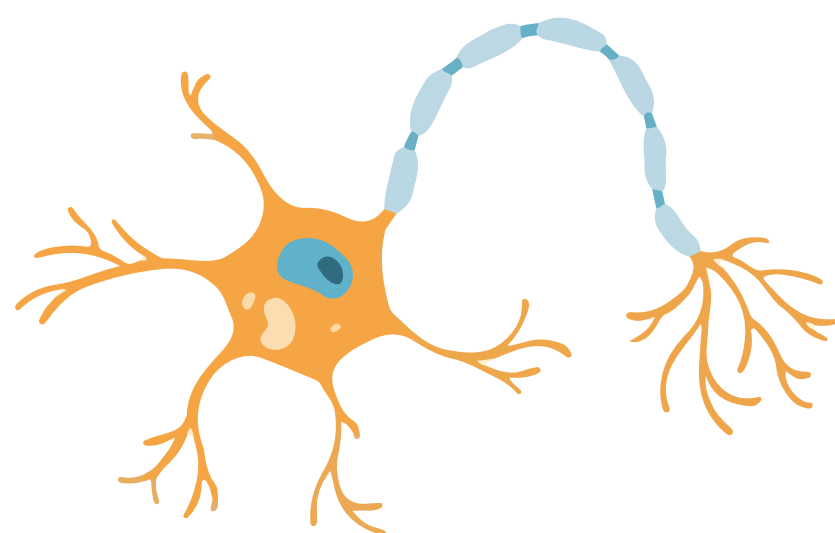
Hiplex多標性輔助研究 動物進食行爲



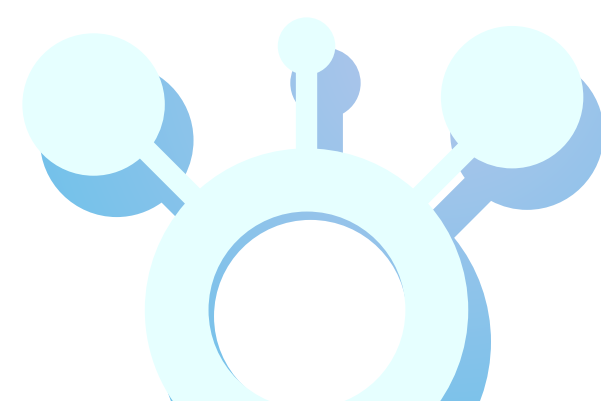
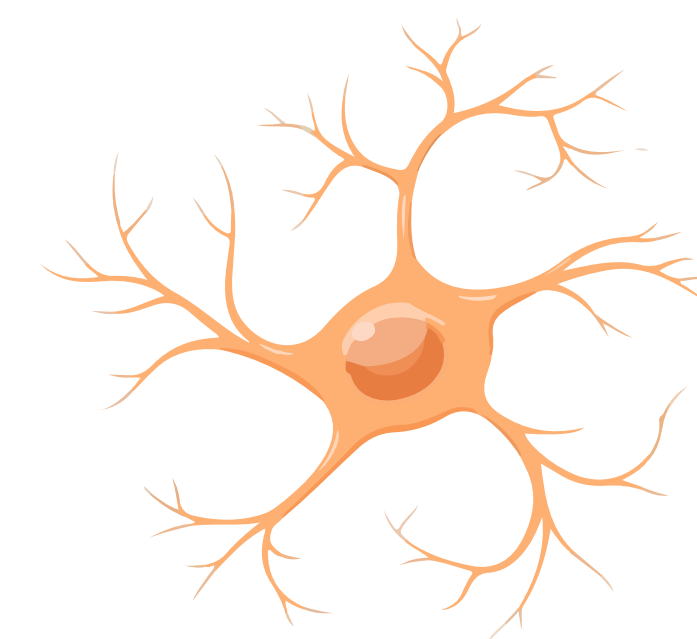
弘晉有限公司
Hong Jing Co., Ltd.



0800-008-678



腦幹中的孤束尾核(cNTS)是連接內臟器官和大腦的主要感覺中樞。它接收來自迷走神經傳入神經和上行脊髓路徑的會聚突觸輸入，這是連接內臟器官和大腦的主要感覺路徑。也是整合來自不同感覺路徑的感受內線索的樞紐。幾個基因定義的cNTS神經元群體已被確定為食物攝入的抑制劑，包括表達Cck、Th、Gcg、Lepr、Pomc和Adcy4的神經元。然而，cNTS神經元如何編碼感覺訊息並將這些訊號轉化為行為的機制仍不完全為人所知。



爲了探究孤束尾核不同神經元亞型在一系列與進食相關行爲中的作用，2024年12月，來自北京腦科學與類腦研究所白凌實驗室在Nature Neuroscience上發表了題爲“Parallel Gut-to-Brain Pathways Orchestrate Feeding Behaviors”的研究論文。該研究利用光遺傳學、形態學、行爲學等多種方法，進一步描述了清醒、行爲記錄動物中9個與進食相關的cNTS神經元群體的動態學，揭示了cNTS亞型之間感覺編碼的顯著差異，顯示了時間動力學、感覺方式、相關內臟器官和上行感覺路徑的差異，這些差異產生了與進食行爲相關的不同功能。

nature neuroscience

Article

<https://doi.org/10.1038/s41593-024-01828-8>

Parallel gut-to-brain pathways orchestrate feeding behaviors

Received: 23 April 2024

Accepted: 29 October 2024

Published online: 03 December 2024

Hongyun Wang^{1,2,5}, Runxiang Lou^{1,5}, Yunfeng Wang^{1,5}, Liufang Hao^{1,5},
Qiushi Wang¹, Rui Li^{1,3}, Jiayi Su¹, Shuhan Liu^{1,3}, Xiangyu Zhou¹, Xinwei Gao¹,
Qianxi Hao¹, Zihe Chen¹, Yibo Xu¹, Chongwei Wu¹, Yang Zheng¹, Qingchun Guo^{1,4} &
Ling Bai¹✉



研究人員利用已發表的單細胞核定序數據，構建了一套包含18個Cre小鼠品系的遺傳工具庫。通過RNAscope Hiplex技術，在小鼠腦片上同時進行22個基因轉錄表達的檢測，並與18個Cre小鼠品系的基因表達模式做了交叉驗證，確保兩種方法結果的一致性，及後續行為及生理實驗的準確性。

圖1. 使用RNAscope Hiplex在小鼠腦片中同時檢測cNTS中各類興奮性神經元。

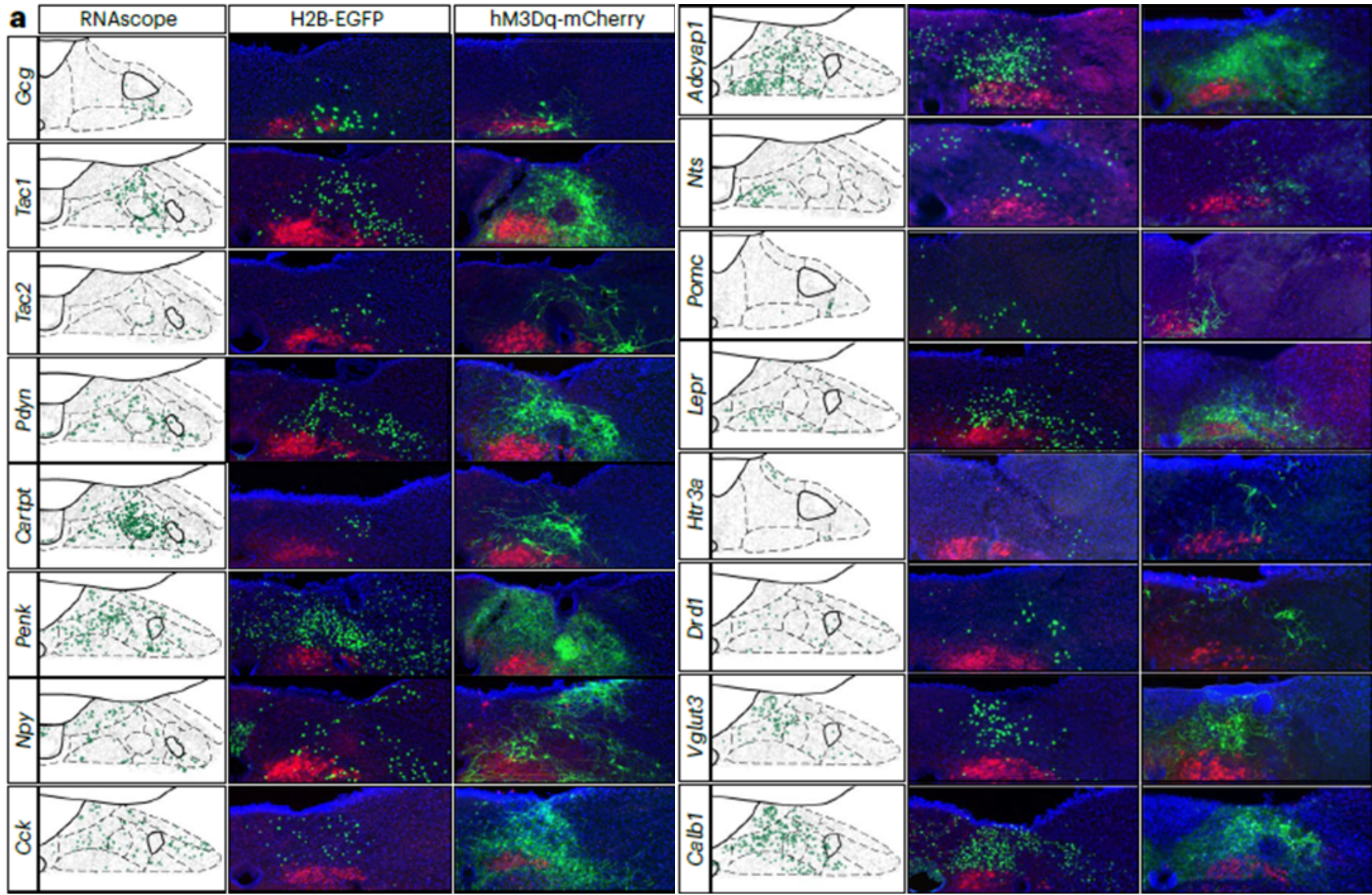
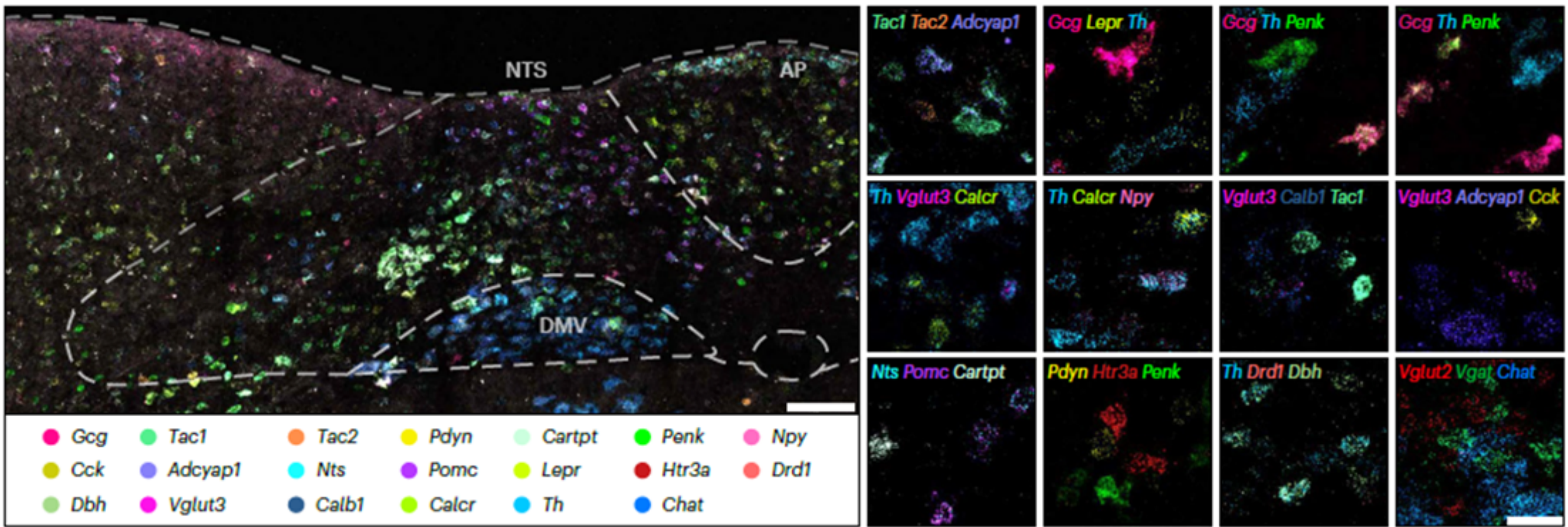
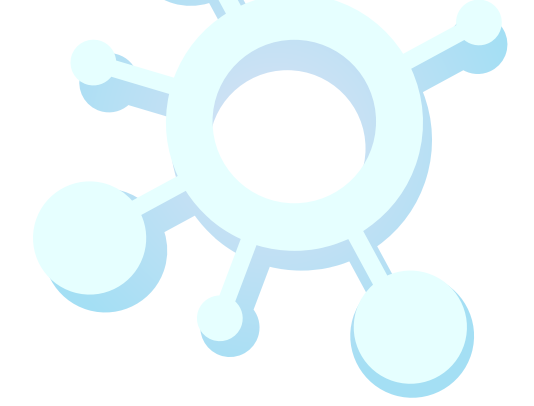
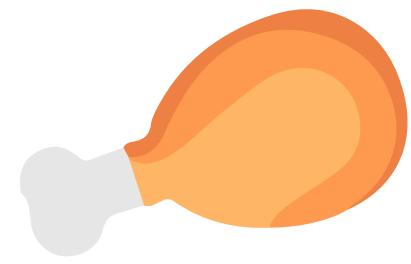
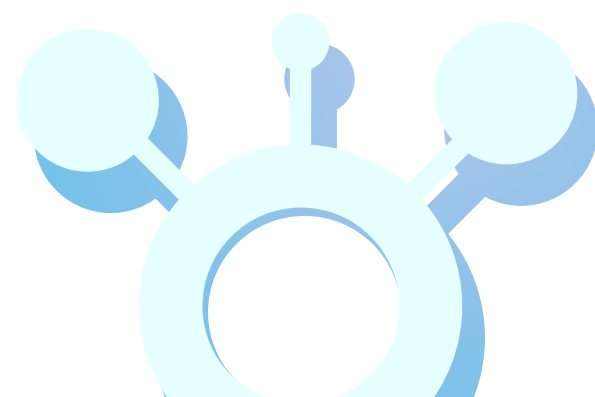
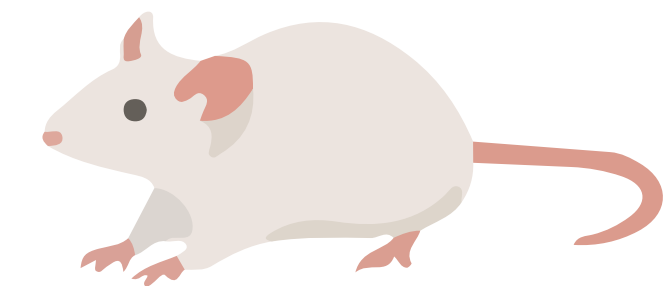


圖2. 使用RNAscope Hiplex原位檢測結果與不同Cre小鼠品系在cNTS原位表達模式結果表徵。



爲了深入研究不同類群cNTS神經元在進食行爲中的作用，研究人員採用光線記錄的方式，記錄了動物在進食過程中神經元的反應模式，發現cNTS不同神經元類群對於進食存在不同的響應模式。進一步針對不同熱量含量、不同體積、不同營養物質等的食物攝入活動中一些神經元活動的監測，重點關注了Th⁺及Gcg⁺的cNTS神經元在不同食物刺激下的反應模式。通過調節不同進食刺激模態，及相應神經環路上游傳入通路的控制，確認了Th⁺及Gcg⁺的cNTS神經元分別參與調控進食速率和食物偏好等不同的生理活動。

這項研究揭示了由內臟至孤束核存在的兩條平行的腸-腦軸神經路徑在精細進食行爲調節中的重要作用，爲我們進一步理解進食行爲提供了新的證據。



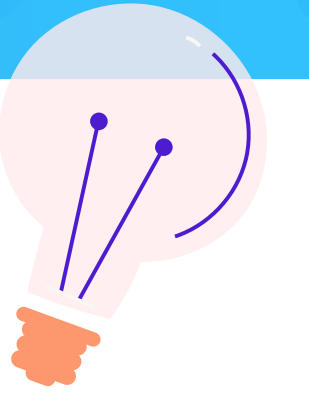
RNAscope技術是由Bio-Techne旗下Advanced Cell Diagnostics (ACD)公司研發的RNA原位雜交產品，在近年來的生物檢測領域發展迅速。與傳統的RNA原位雜交相比，RNAscope技術屬於新一代RNA原位雜交技術，其特異性的雙Z探針設計避免了傳統長鏈RNA探針的弊端，配以自身級聯放大檢測原理，可以高效敏感地檢測到目標RNA。該方法的具體優勢如下：

1. 應用廣泛

使用RNAscope技術，目標RNA為大於等於300個鹼基的特異序列，即可進行探針設計。因而RNAscope技術可以應用於幾乎所有物種，所有組織以及所有基因的檢測。

2. 特異性強

RNAscope獨特的雙Z (ZZ) 探針設計有效的防止了探針的非特異性結合，同時降低了背景干擾。由於結合在非特異性位點的單個的Z探針不會產生完整的訊號放大分子結合位點，並會在雜交過程中被洗脫掉，從而防止非特異性訊號的放大，使得探針的訊號具有高度特異性。探針設計合成需要3~4週時間即可完成。



3. 靈敏度高

RNAscope方法檢測每個RNA分子時，只需三對雙Z (ZZ) 探針即可完成雜交和訊號的檢測。

4. 單分子檢測和單細胞定量

使用RNAscope技術雜交上三對及以上雙Z探針即可在標準的顯微鏡下呈現可觀察到的點狀訊號。ACD公司提供的分析軟體更可以定量每一個單細胞內RNA的表達量。

5. 相容降解的RNA

RNAscope三對雙Z探針即可檢測到目標RNA，而通常針對靶點RNA設計的探針為20對雙Z探針，因而即使目標RNA發生部分降解，仍可以穩定有效地檢測到目標RNA。

6. 檢測結果穩定一致性

RNAscope技術用到的探針以及所有檢測試劑全部由工業化合成，且該技術針對不同樣本類型（冷凍切片、石蠟切片、懸浮細胞、貼附細胞等）已經有成熟的實驗操作流程，故使得RNAscope技術檢測結果具有穩定性和一致性。除了可以在實驗室進行手工操作外，該產品也可以在Leica以及羅氏Ventana自動平臺上運行，為結果的一致性和穩定性提供了可靠的依據。

7. 多通道多目標同時檢測

由於RNAscope技術可以同時進行多通道探針雜交以及訊號放大，故在可見光檢測中可以在同一張切片上同時檢測兩個目標；而在螢光檢測過程中，可以在同一張切片上檢測三個或三個以上目標RNA。

