

神经干细胞/前体细胞分化的功能学鉴定研究进展*

朱 奇 李小永 蒋星红**

(苏州大学医学部神经生物学教研室, 衰老与神经疾病实验室, 苏州 215123)

摘要 神经干细胞/前体细胞分化是神经生物学研究的热点, 以往对神经干细胞/前体细胞分化水平的鉴定主要依赖于形态学指标, 而随着膜片钳技术的应用, 神经干细胞/前体细胞分化过程中膜电特性的改变、离子通道活动等功能学指标越来越受到重视。综述了利用膜片钳技术研究神经干细胞/前体细胞功能分化的最新进展, 并对存在的问题做出思考和展望。

关键词 神经干细胞/前体细胞, 细胞分化, 膜片钳, 电生理

学科分类号 R338.8, Q254

神经干细胞分化是当前基础研究的热点问题, 且有着广泛的应用前景。细胞分化是环境因素作用下基因差异性表达的结果, 是一具有高度时空特异性的程序性过程。不同的作用因素只有在特定的时间窗口才能发挥作用, 引起的变化又为下一步的作用及变化打下基础。这些特定的变化就可以作为检测指标来鉴定细胞分化, 这些指标包括形态学指标、生物化学指标和功能学指标。以往对神经干细胞分化的鉴定主要依赖于形态学指标, 包括活细胞光镜下观察及标志物的免疫细胞化学染色。但在很多情况下, 形态上的成熟表现或标志物的表达并不能真实反映细胞的分化水平。功能成熟才是鉴定细胞分化水平的最有效指标。随着目前膜片钳技术的广泛应用, 神经干细胞/前体细胞分化过程中膜电特性、离子通道活动等功能改变越来越受到重视。膜片钳技术结合分子生物学技术更可以从基因到蛋白质的多个水平来检测细胞分化进程中的特异性变化, 并通过功能学指标与生物化学、形态学指标相结合来更好地解释这些变化。神经干细胞/前体细胞分化的功能学鉴定还存在很多问题, 目前大多数研究还停留在对单个细胞的检测上, 而神经细胞功能的实现有赖于细胞与细胞间构建有效的联系。本文主要综述利用膜片钳技术研究神经干细胞/前体细胞分化的最新进展, 并对目前神经干细胞/前体细胞分化的功能学研究中存在的问题做出思考和展望。

1 神经干细胞/前体细胞膜电学特征

1.1 被动膜电学特性

利用膜片钳技术可以测量钳制细胞的静息膜电位 (resting membrane potential, RMP)、膜电容 (membrane capacitance, C_m)、膜输入阻抗 (membrane input impedance, R_{in}) 及细胞膜的时间常数 (τ) 等被动膜电学特征参数。神经干细胞/前体细胞等未成熟细胞的这些参数与成熟的神经元相比有显著差异, 因此可作为细胞未成熟的一个参考指标。Liu 等^[1]报道根据电流电压曲线 (I-V curve) 可将大鼠脑室下区 (subventricular zone, SVZ) 或脊髓来源的表皮生长因子/碱性成纤维细胞生长因子 (epidermal growth factor/basic fibroblast growth factor, EGF/bFGF) 反应性神经前体细胞分为三种类型: I 型表现为延迟外向整流; II 型无整流, I-V 曲线呈线性; III 型既有外向又有内向整流。由于离子通道在一定的膜电位时开放或关闭, 使膜电导随电压变化而改变, I-V 曲线不呈线性而呈向上或向下弯曲的曲线, 称为整流。曲线向上弯曲为外向整流, 指膜对离子的通透性随去极化而增加。反之, 曲线向

* 苏州大学校青年基金资助项目(Q3134618)。

** 通讯联系人。

Tel: 0512-65880126, E-mail: jiangxinghong@suda.edu.cn

收稿日期: 2008-02-20, 接受日期: 2008-03-06

下弯曲为内向整流, 指膜对离子的通透性随去极化而降低. 三种类型细胞的膜电参数也有显著差别: I 型细胞与其他两型细胞相比, R_{in} 高、 τ 长而 RMP 低. Liu 分析 I 型细胞可能代表未成熟的神经元, II 型细胞可能为胶质细胞, III 型细胞可能是未分化的干细胞, 有双向分化的潜能. 此分类可与 Doetsch 等^[2]发现的在大鼠 SVZ 存在形态和标志物都有明显差异的三种细胞的结果相对应: 一种表达幼稚神经元标志 III 型 β -微管蛋白(β -tubulin III), 是向神经元方向分化的前体细胞; 另一种表达胶质原纤维酸性蛋白(glia fibrillary acidic protein, GFAP), 是胶质细胞; 还有一类表达原始神经上皮特有的中间丝蛋白——巢蛋白(nestin), 而 β -tubulin III 和 GFAP 皆为阴性, 进一步用 ^3H -胸腺嘧啶标记, 证明可活跃分裂增殖, 可能是多潜能干细胞. 胶质细胞跨膜通道主要是密集的被动性钾离子通道, 因而表现为较高的 RMP 和较低的 R_{in} . 而向神经元方向分化的前体细胞随着分化时间, RMP 也逐渐升高, 而 R_{in} 和 τ 降低, 这可能是由于随着细胞分化, 膜上被动的钾通道密度的增加而引起的, 但这些参数与成熟神经元相比仍有明显差距, 体现了分化的不成熟. Fukuda 等^[3]利用巢蛋白启动子-绿色荧光蛋白转基因小鼠(nestin promoter-GFP transgenic mice)的海马脑片, 直接在荧光显微镜下寻找荧光细胞记录(GFP 阳性代表 nestin 阳性, 即神经干细胞/前体细胞). 根据 R_{in} 和 RMP 水平, 可将记录细胞分为两型: I 型 R_{in} 低而 RMP 高, II 型 R_{in} 高而 RMP 低. 同时做形态学鉴定, I 型细胞 GFAP 阳性而聚唾液酸神经细胞黏附分子(polysialic acid-neural cell adhesion molecule, PSA-NCAM)阴性, II 型细胞 GFAP 阴性而 PSA-NCAM 阳性. 5-溴-2-脱氧尿苷(5-bromo-2'-deoxyuridine, BrdU)标记细胞阳性百分比的变化提示 I 型细胞向 II 型细胞分化. 此研究直接在同一细胞上, 把功能学分化指标和形态学指标结合起来, 证明了不同分化水平的神经前体细胞的被动膜电学特征明显不同.

1.2 生成动作电位的能力

动作电位是神经细胞传递兴奋的方式. 成熟的神经元都有生成动作电位的能力, 而处于分化不同阶段的神经前体细胞, 其动作电位的生成能力有明显差异. 是否有自发的动作电位、通过微电极施以脉冲刺激能否诱导出动作电位及动作电位时程(包括 APD50、APD90, 即 50%、90%复极化时的动

作电位时程)和动作电位幅度(包括超射值)都可以作为神经干细胞/前体细胞功能分化的指标. 未分化的神经干细胞由于缺乏钠通道, 不能诱导出动作电位. 在不同的分化条件下, 向神经元方向分化的细胞随着离子通道表达的增加, I-V 曲线出现整流, 当跨膜离子流促发更多的通道开放引起再生性循环则爆发动作电位. 和成熟神经元相比, 大部分研究提示无论是体外培养的还是脑片上记录的前体细胞都没有自发的动作电位, 而去极化刺激可诱导出的动作电位在幅度和时程上距成熟神经元有明显差异. Liu 等^[4]报道分化细胞随分化时程延长, 可以诱发动作电位的细胞百分比增高, 动作电位的时程缩短但仍比成熟神经元的长, 动作电位的幅度也仍低于成熟神经元标准. 前体细胞生成动作电位的能力较成熟神经元弱, 与膜上缺乏电压依赖性的钠通道相关, 特别是河豚毒素(tetrodotoxin, TTX)敏感的钠通道. 这类细胞随分化时程延长, 钠通道蛋白表达增加, TTX 敏感的内向电流逐渐增大, 先出现幅度较低而没有超射的动作电位, 而后出现有超射的动作电位, 动作电位幅度逐渐增高, 超射值逐渐加大. 动作电位时程同样与钠通道的发育密切相关, 随分化时程延长, 同样的去极化刺激能激活更多的钠通道, 钠电流密度增加, 动作电位时程缩短. 动作电位幅度和动作电位时程随分化时程的改变都反映了向神经元方向分化的前体细胞生成动作电位能力的增强, 功能的逐渐成熟. 而另一类细胞 I-V 曲线呈线性且不能诱发动作电位, 被认为是向胶质方向分化的细胞^[5-9]. I-V 曲线有整流, 能诱导出动作电位是前体细胞向神经元方向分化的重要标志. APD50、APD90、超射值均是反映生成动作电位能力的指标, 越接近成熟神经元的标准提示其成熟程度越高.

2 神经干细胞/前体细胞膜离子通道

离子通道活动是细胞膜电学特征的基础, 参与细胞间信号传递及跨膜信号转导, 是细胞实现其生理功能的前提. 神经干细胞/前体细胞分化过程中, 离子通道的表达及活动情况不断发生变化, 以适应不同阶段微环境的改变. 因此离子通道活动是神经干细胞/前体细胞功能分化的主要指标.

2.1 钠通道

成熟神经元膜上的电压门控钠离子通道对细胞动作电位除极时初始内向电流负责. 急性分离的大鼠海马 CA1 区锥体细胞除符合形态学指标外, 其

被动膜电学特征也符合成熟神经元标准,并记录到 TTX 敏感的钠通道活动。而幼稚细胞膜上钠通道的发育情况还很不清楚,不同实验室可能因条件方法不同结果存在差异。Cai 等^[5]报道 cDNA 微阵列检测提示大鼠胚胎(E10.5)神经干细胞上大部分钠通道基因的表达尚未检测到,但少数细胞仍可检出低水平的 TTX 敏感或不敏感的钠电流。Feldman 等^[6]取材自新生大鼠前脑,增殖的神经球经机械分离的细胞大部分未检出钠电流,无功能性钠通道,将神经球种植于多聚赖氨酸(poly-L-Lysine, PLL)包被的盖玻片上并给予 EGF,1~2 天即可检出钠电流,而此时尚未出现可鉴别的形态改变,用 bFGF 替代 EGF 则钠电流的检出率明显下降且电流减小。Hogg 等^[7]取材自成年大鼠海马的神经干细胞,在未分化条件下是非兴奋性的,无钠电流,而经胎牛血清分化的细胞可检出 TTX 敏感的钠电流。Toda 等^[8]取自成年大鼠海马的神经干细胞与胶质细胞共培养,可检出 TTX 敏感的钠电流,并随分化时间延长而逐渐增大,而无胶质细胞的条件下早期不能诱导出动作电位。Piper 等^[9]取材自人胚胎(12~18 周)的神经干细胞体外培养,在未分化条件下无内向电流,在分化条件下可检出 TTX 敏感的及 TTX 不敏感的钠电流。Cho 等^[10]在培养的人永生神经干细胞系 HBLF3 膜上未检出钠电流,转染了 NeuroD 基因(编码神经源性分化因子 1)后则可检出 TTX 敏感的钠电流。以上研究结果提示,神经干细胞在分化前尚未表达功能性钠通道,而分化后钠通道的发育与培养条件有很大关系,和细胞来源也有关系。钠电流的出现可以早于任何可观察到的形态学改变^[11],因此可作为神经前体细胞进入分化进程的重要指标。钠通道的动力学特征可作为神经前体细胞分化水平鉴定的重要指标^[12]。在分化条件下,向神经元方向分化的前体细胞随着分化时程的延长,钠通道蛋白表达增加,钠电流密度增大,动作电位时 TTX 敏感的内向电流增大,动作电位幅度加大。稳态激活曲线向膜电位更负的水平位移,显示激活同样数量的钠通道所需的去极化刺激减小。稳态失活曲线向更正的水平位移,显示同样的电位水平下可激活的钠通道数目增多。这些变化都说明随着分化进程,向神经元方向分化的前体细胞的可兴奋性增强^[13]。这些研究都提示钠通道的发育(特别是 TTX 敏感的钠通道)是神经干细胞/前体细胞向神经元方向分化的关键,它是生成动作电位、传递兴奋的必要条件。

2.2 钾通道

钾通道是目前发现的亚型最多、作用最复杂的一类离子通道。神经干细胞/前体细胞膜上的钾通道在调节细胞的膜电位和兴奋性上起重要作用。钾通道基因在分化前就已表达,包括电压依赖的和钙依赖的^[14]。钾电流在细胞分化前后都可检出,分化后的检出率高^[12]。神经干细胞/前体细胞钾电流包括外向钾电流和内向钾电流:外向钾电流包括快激活快失活的瞬时成分,对 4-氨基吡啶(4-aminopyridine, 4-AP)敏感,以及慢的几乎不失活的延迟整流成分,对四乙胺(tetraethylammonium, TEA)敏感;内向钾电流为内向整流钾通道(inwardly rectifying potassium channel, Kir)电流。Kir 主要设定细胞膜静息电位,随细胞分化 Kir 的表达增多而使细胞的静息电位水平逐渐接近成熟水平。延迟整流钾电流主要参与动作电位的复极化,在分化前的细胞未检出^[12]而分化后细胞可检出^[7,8]。部分研究在干细胞检出延迟整流钾电流^[5,9,13]。Benninger 在细胞移植研究中将胚胎干细胞来源的分化细胞整合入宿主大鼠脑片后可诱发动作电位,并检出 TTX 敏感的钠电流及延迟整流钾电流^[14]。Wang 等^[15]在包含 SVZ 和吻侧迁移流的小鼠脑片(出生后 15~25 天)的神经前体细胞上,检出了延迟整流钾电流及钙依赖的钾电流。Liebau 等^[16]报道在未分化的神经干细胞上高表达一类小电导的钙激活钾通道 SK3,且与板足、丝足的运动有关。钾通道活动很可能在神经干细胞/前体细胞分化早期起重要作用,将其功能变化和相应环境因素结合起来进行分析,对于提示细胞分化的水平或方向有重要意义。

2.3 钙通道

钙通道不仅调节钙离子跨膜运动的速度和量,而且参与一系列依赖钙的生理活动。对神经干细胞/前体细胞膜上钙通道发育的研究较钠、钾通道都少,但其在发育中的意义正日益受到重视。Cai 等^[5]报道大鼠胚胎(E10.5)神经干细胞上大部分钙通道基因的表达都尚未检测到,但在部分细胞上可记录到电压依赖的钙电流,此电流需要较高的激活电压而幅值很小。D'Ascenzo 研究了新生小鼠来源的神经干细胞/前体细胞分化,提示未分化细胞无钙电流,分化细胞检出内向钙电流且随时间递增,该电流可被 L 型钙通道阻断剂明显减弱。在分化环境中加入 L 型钙通道的激动剂分化成熟的细胞比例增高,而加入 L 型钙通道的阻断剂则可抑制细胞功能成熟,说明 L 型钙通道在细胞功能分化上发

挥重要功能^[17]。钙通道活动引起细胞内钙浓度的升高可能与细胞增殖、迁移、分化等均有密切关系^[18~20], 但具体的机制还不很清楚。钙介导的胞内信号转导的级联反应及促进相关基因的表达对细胞命运的影响都是需要深入研究的。

2.4 配体门控离子通道

神经干细胞/前体细胞在分化过程中表达多种递质受体, 是接受环境信号调控、完成细胞分化所必需的, 也是构建功能性突触与局部神经回路的基础。Cai 等^[5]报道大鼠胚胎神经干细胞对大多数递质无反应, 但可检出 I_{ACh} , 且对 N 型或 M 型受体激动剂均有反应。Hogg 等^[7]取材自成年大鼠海马的神经干细胞在未分化条件下只表达 ATP 受体, 分化后可检出 I_{NA} 、 I_{Glu} 、 I_{GABA} 、 I_{Gly} 。Bain 等^[21]报道小鼠胚胎干细胞系 D3 加维甲酸分化后可检出 $I_{Kainate}$ 、 I_{NMDA} 、 I_{GABA} 、 I_{Gly} 。Stewart 等^[22]取材自新生大鼠 SVZ 的神经前体细胞可检出 I_{GABA} , 但未检出 $I_{Kainate}$ 、 I_{NMDA} 、 I_{Gly} 、 I_{Glu} 、 I_{ACh} 、 I_{ATP} 。Tozuka 等^[20]在成年大鼠海马脑片上记录两类神经前体细胞, 输入阻抗小的放射胶质样细胞未检出配体电流, 而输入阻抗高的神经元样前体细胞可检出 I_{GABA} , 但未检出 I_{AMPA} 、 I_{NMDA} 、 I_{Gly} 。 I_{GABA} 通过 $GABA_A$ 受体介导胞内钙离子浓度升高, 促进 Neuro D 表达, 有利于细胞向神经元方向分化^[20]。 $GABA_A$ 受体介导胞内钙离子浓度升高同样是细胞增殖调节的关键环节^[19, 23], $GABA$ 能传入活动对胚胎及成年小鼠齿状回颗粒细胞的增殖均有重要意义^[23]。Joo 等^[18]提出胞内钙离子水平的差异造成细胞增殖或分化的命运不同, 刺激分化所需的胞内钙浓度更高, 谷氨酸可通过 NMDA 受体介导胞内钙离子浓度升高。Toda^[6]和 Benninger^[14]的研究提示, $GABA_A$ 受体和非 NMDA 受体参与细胞分化过程中功能性突触的构建。神经干细胞/前体细胞膜上配体门控离子通道活动的研究结果还有很多不一致的情况, 可能与不同研究者选用不同来源的细胞及使用不同的诱导方案有关。但现有的资料都提示 $GABA$ 通过 $GABA_A$ 受体、谷氨酸通过 NMDA 及非 NMDA 受体在神经干细胞/前体细胞的分化过程中发挥关键作用。

3 问题与展望

目前, 利用膜片钳技术积累了大量神经干细胞/前体细胞分化过程中功能改变的资料, 但仍然没找到一个区分分化水平的确切的功能学指标。在目前的研究中, 研究者仅仅将分化水平划分为未分

化和分化, 而尚未划分出明确的不同分化阶段。不过, I-V 曲线等被动膜电特征及是否能诱导出动作电位等指标能提示细胞分化的方向, 电压及配体离子通道的发育也为分析细胞分化的方向提供线索。向神经元方向分化的前体细胞在分化成熟的过程中, 其功能学指标多是量变而非质变, 很难据此划分不同的分化阶段, 但与成熟神经元的相关指标做比较, 还是可以提示分化的成熟程度。此外, 有许多研究结果互不一致。这与许多因素有关: 不同种属来源细胞、不同组织来源细胞、不同取材部位细胞分化特点不一致; 急性分离细胞与培养传代细胞不一致; 单个细胞记录与脑片记录不一致。但总的来说, 目前比较确认的细胞分化的功能学指标包括: 未分化的神经干细胞输入阻抗低而膜电位较高, 无内向钠电流, 有内向整流钾电流, 无明显的配体电流; 分化条件下的神经前体细胞输入阻抗高而膜电位较低, 出现 TTX 敏感的内向电流, 有延迟整流外向钾电流, 可检出配体电流, 如 I_{GABA} 。在细胞形态发生改变或特异性标志物表达之前, 功能改变就已出现并提示细胞分化的不同方向, 因此功能学指标对于细胞分化的鉴定意义重大。但功能学指标需要和形态学、生物化学指标相参照, 并结合遗传因素、环境因素加以分析, 才能有效地作出判断。

现有的资料还主要来自离体实验, 关注的是单个细胞在分化进程中的功能改变。而在生理情况下, 细胞是在体分化的, 研究在体分化是当前的发展方向。在体分化关注的重点是细胞间功能联系的建立, 已有研究者在这方面做出了有益的尝试。Benninger 等^[14]将胚胎来源的细胞置于体外培养脑片的海马齿状回, 在整合入宿主的供体细胞上记录到兴奋性突触后电流及抑制性突触后电流。Wernig 和 Benninger^[24]将胚胎来源的供体细胞注射到胚胎大鼠的侧脑室, 待出生后 10~21 天后, 切取脑片做膜片钳记录, 在供体细胞上可以诱导出动作电位, 并检测到供体细胞接受宿主细胞的谷氨酸能及 $GABA$ 能的突触传入。Wu 等^[25]将人胚胎干细胞系来源的神经元(HSF1 和 HSF6)与胶质细胞共培养, 可记录到谷氨酸能及 $GABA$ 能的突触活动。以上研究还都是在离体的条件下记录细胞间的功能联系, 而随着在体膜片钳记录技术的成熟, 结合转基因技术, 在体追踪并记录特定的细胞将成为可能, 这将为细胞分化的研究带来革命。

最后, 膜片钳技术需要与其他技术联合应用,

如: 结合芯片技术检测基因表达, 结合分子生物学技术检测核酸及蛋白质的变化. 从基因到蛋白质、从形态到功能, 综合分析不同水平的信号变化将有助于揭示神经干细胞分化的程序性过程, 为利用神经干细胞治疗疾病奠定基础.

参 考 文 献

- Liu R H, Morassutti D J, Whittemore S R, *et al.* Electrophysiological properties of mitogen-expanded adult rat spinal cord and subventricular zone neural precursor cells. *Exp Neurol*, 1999, **158** (1): 143~154
- Doetsch F, Garcia-Verdugo J M, Alvarez-Buylla A. Cellular composition and three-dimensional organization of the subventricular germinal zone in the adult mammalian brain. *J Neurosci*, 1997, **17** (13): 5046~5061
- Fukuda S, Kato F, Tozuka Y, *et al.* Two distinct subpopulations of nestin-positive cells in adult mouse dentate gyrus. *J Neurosci*, 2003, **23** (28): 9357~9366
- Toda H, Takahashi J, Mizoguchi A, *et al.* Neurons generated from adult rat hippocampal stem cells form functional glutamatergic and GABAergic synapses *in vitro*. *Exp Neurol*, 2000, **165** (1): 66~76
- Cai J, Cheng A, Luo Y, *et al.* Membrane properties of rat embryonic multipotent neural stem cells. *J Neurochem*, 2004, **88** (1): 212~226
- Feldman D H, Thinschmidt J S, Peel A L, *et al.* Differentiation of ionic currents in CNS progenitor cells: dependence upon substrate attachment and epidermal growth factor. *Exp Neurol*, 1996, **140** (2): 206~217
- Hogg R C, Chipperfield H, Whyte K A, *et al.* Functional maturation of isolated neural progenitor cells from the adult rat hippocampus. *Eur J Neurosci*, 2004, **19** (9): 2410~2420
- Piper D R, Mujtaba T, Rao M S, *et al.* Immunocytochemical and physiological characterization of a population of cultured human neural precursors. *J Neurophysiol*, 2000, **84** (1): 534~548
- Cho T, Bae J H, Choi H B, *et al.* Human neural stem cells: electrophysiological properties of voltage-gated ion channels. *Neuroreport*, 2002, **13** (11): 1447~1452
- Jelitali M, Anderová M, Chvátal A, *et al.* Electrophysiological characterization of neural stem/progenitor cells during *in vitro* differentiation: study with an immortalized neuroectodermal cell line. *J Neurosci Res*, 2007, **85** (8): 1606~1617
- Biella G, Di Febo F, Goffredo D, *et al.* Differentiating embryonic stem-derived neural stem cells show a maturation-dependent pattern of voltage-gated sodium current expression and graded action potentials. *Neuroscience*, 2007, **149** (1): 38~52
- Sun W, Buzanska L, Domanska-Janik K, *et al.* Voltage-sensitive and ligand-gated channels in differentiating neural stem-like cells derived from the nonhematopoietic fraction of human umbilical cord blood. *Stem Cells*, 2005, **23** (7): 931~945
- Padovan C S, Jahn K, Birnbaum T, *et al.* Expression of neuronal markers in differentiated marrow stromal cells and CD133⁺ stem-like cells. *Cell Transplant*, 2003, **12** (8): 839~848
- Benninger F, Beck H, Wernig M, *et al.* Functional integration of embryonic stem cell-derived neurons in hippocampal slice cultures. *J Neurosci*, 2003, **23** (18): 7075~7083
- Wang D D, Krueger D D, Bordey A. Biophysical properties and ionic signature of neuronal progenitors of the postnatal subventricular zone *in situ*. *J Neurophysiol*, 2003, **90** (4): 2291~2302
- Liebau S, Vaida B, Proepper C, *et al.* Formation of cellular projections in neural progenitor cells depends on SK3 channel activity. *J Neurochem*, 2007, **101** (5): 1338~1350
- D'Ascenzo M, Piacentini R, Casalbore P, *et al.* Role of L-type Ca²⁺ channels in neural stem/progenitor cell differentiation. *Eur J Neurosci*, 2006, **23** (4): 935~944
- Joo J Y, Kim B W, Lee J S, *et al.* Activation of NMDA receptors increases proliferation and differentiation of hippocampal neural progenitor cells. *J Cell Sci*, 2007, **120** (Pt 8): 1358~1370
- Wang D D, Krueger D D, Bordey A. GABA depolarizes neuronal progenitors of the postnatal subventricular zone via GABA_A receptor activation. *J Physiol*, 2003, **550** (3): 785~800
- Tozuka Y, Fukuda S, Namba T, *et al.* GABAergic excitation promotes neuronal differentiation in adult hippocampal progenitor cells. *Neuron*, 2005, **47** (6): 803~815
- Bain G, Kitchens D, Yao M, *et al.* Embryonic stem cells express neuronal properties *in vitro*. *Dev Biol*, 1995, **168** (2): 342~357
- Stewart R R, Hoge G J, Zigova T, *et al.* Neural progenitor cells of the neonatal rat anterior subventricular zone express functional GABA_A receptors. *J Neurobiol*, 2002, **50** (4): 305~322
- Laplagne D A, Kamienkowski J E, Espósito M S, *et al.* Similar GABAergic inputs in dentate granule cells born during embryonic and adult neurogenesis. *Eur J Neurosci*, 2007, **25** (10): 2973~2981
- Wernig M, Benninger F, Schmandt T, *et al.* Functional integration of embryonic stem cell-derived neurons *in vivo*. *J Neurosci*, 2004, **24** (22): 5258~5268
- Wu H, Xu J, Pang Z P, *et al.* Integrative genomic and functional analyses reveal neuronal subtype differentiation bias in human embryonic stem cell lines. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, **104** (34): 13821~13826

Progress in The Functional Identification of Neural Stem Cell/Neural Precursor Differentiation*

ZHU Qi, LI Xiao-Yong, JIANG Xing-Hong**

(Department of Neurobiology, Laboratory of Aging and Nervous Disease, Medical College of Soochow University, Suzhou 215123, China)

Abstract The differentiation of neural stem cells/neural precursors (NSCs/NPs) is a hot spot in neurobiological research. It used to identify their differentiation degree only by morphologic appearances. The functional characteristics, such as electrical properties of cellular membrane and ion channel activities, are drawing more and more attention with the development of patch clamp technique. It was summarized the recent progress in the study of NSCs/NPs' functional differentiation using patch clamp, some existing problems and research perspectives were suggested.

Key words neural stem cells/ neural precursors, cellular differentiation, patch clamp, electrophysiology

*This work was supported by a grant from The foundation for Young Investigators of Soochow University (Q3134618).

**Corresponding author.

Tel: 86-512-65880126, E-mail: jiangxinghong@suda.edu.cn

Received: February 20, 2008 Accepted: March 6, 2008