

· 综述 ·

单细胞转录组测序技术在人精原干细胞研究中的应用

刘士玮¹, 罗嘉强², 朱子珏², 赵亮宇², 姚晨成², 田汝辉², 李 铮^{1,2*}¹南京医科大学附属上海一院临床医学院, 上海 201066; ²上海交通大学医学院附属第一人民医院泌尿外科中心男科/上海交通大学泌尿外科研究所男性健康评估中心, 上海 200080

[摘要] 精原干细胞的自我更新、增殖与分化对于维持精子发生至关重要。然而, 调控这一过程的分子机制尚未完全阐明。精原干细胞具有不同细胞亚型, 其在精子发生过程中扮演不同角色。单细胞转录组测序技术提供有效的手段, 揭示各精原细胞亚型及其转录组水平和生物学功能变化, 为精原干细胞的分子机制研究提供新思路。

[关键词] 精子发生; 单细胞转录组测序; 精原干细胞

[中图分类号] R392.69

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-4368(2023)05-732-06

doi: 10.7655/NYDXBNS20230521

Application of single-cell RNA sequencing in the research of human spermatogonia

LIU Shiwei¹, LUO Jiaqiang², ZHU Zijue², ZHAO Liangyu², YAO Chencheng², TIAN Ruhui², LI Zheng^{1,2*}¹Clinical Medical School, Shanghai General Hospital of Nanjing Medical University, Shanghai 201066; ²Department of Andrology, Center for Men's Health, Institute of Urology, Urologic Medical Center, Shanghai General Hospital, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200080, China

[Abstract] The self-renewal, proliferation and differentiation of spermatogonial stem cells are critical for maintaining spermatogenesis. However, the molecular mechanism mediating this process remains largely unclear. Spermatogonial stem cells include different cell subtypes which play different roles in spermatogenesis. Single-cell RNA sequencing technology provides an effective method to reveal different subtypes of spermatogonia and their changes in transcriptome levels and biological functions, which could provide new perspectives for investigating further molecular mechanisms of spermatogonial stem cells.

[Key words] spermatogenesis; single-cell RNA sequencing; spermatogonial stem cell

[J Nanjing Med Univ, 2023, 43(05): 732-737]

精子发生包括精原干细胞(spermatogonial stem cells, SSCs)的自我更新、增殖与分化, 精母细胞的减数分裂, 以及精子细胞变形为成熟精子的过程^[1]。SSCs的自我更新、增殖与分化调节过程高度有序, 维持精子发生源源不断进行。阐明SSCs的分子调控机制是构建人SSCs体外诱导分化体系的理论基

础, 对于精子发生研究至关重要^[2]。然而, 由于样本来源以及技术限制等因素, 人SSCs亚型种类及其功能研究甚少, 相关体外培养及诱导分化研究工作迄今效率不高。因此, 迫切需要新方法探索不同SSCs亚型及其转录组水平与功能变化。

单细胞转录组测序(single-cell RNA sequencing, scRNA-seq)技术是在单细胞水平对全转录组进行扩增与测序的新技术, 可以有效捕获睾丸内单个细胞, 进行高通量测序分析获取其转录组水平信息。传统的转录组测序研究仅能分析组织中细胞群基因表达平均水平, 无法鉴别个体细胞的特异基因表达, 因此往往会忽略细胞间的差异。2009年, Tang等^[3]首次提出单细胞测序技术, 在此基础上逐渐演

[基金项目] 国家自然科学基金(81871215, 82171597, 82171586, 82171590); 上海申康医院发展中心临床三年行动计划(SHDC2020CR3077B); 宁夏回族自治区重点研发计划项目(2020BFH02002)

*通信作者(Corresponding author), E-mail: lizhengboshi@sjtu.edu.cn

变发展形成多种单细胞测序方案。其主要过程包括细胞悬液样本制备、单细胞捕获、逆转录、cDNA扩增、文库构建、测序及后续分析^[4]。scRNA-seq能够精细描述细胞类型、揭示细胞异质性并推测其发育轨迹^[5]。因此, scRNA-seq独特而强大, 可分析睾丸个体细胞转录组特征, 在检测数千个甚至更多细

胞时, 不会忽略细胞间差异, 更能代表整个睾丸的细胞组成(图1)。近年来, scRNA-seq技术在人睾丸细胞的研究应用不断被报道^[6-8], 本文旨在综述单细胞转录组测序技术在人SSCs研究中的应用, 以期揭示SSCs亚型种类及其转录组水平和生物学功能变化, 为SSCs的机制研究提供理论基础。

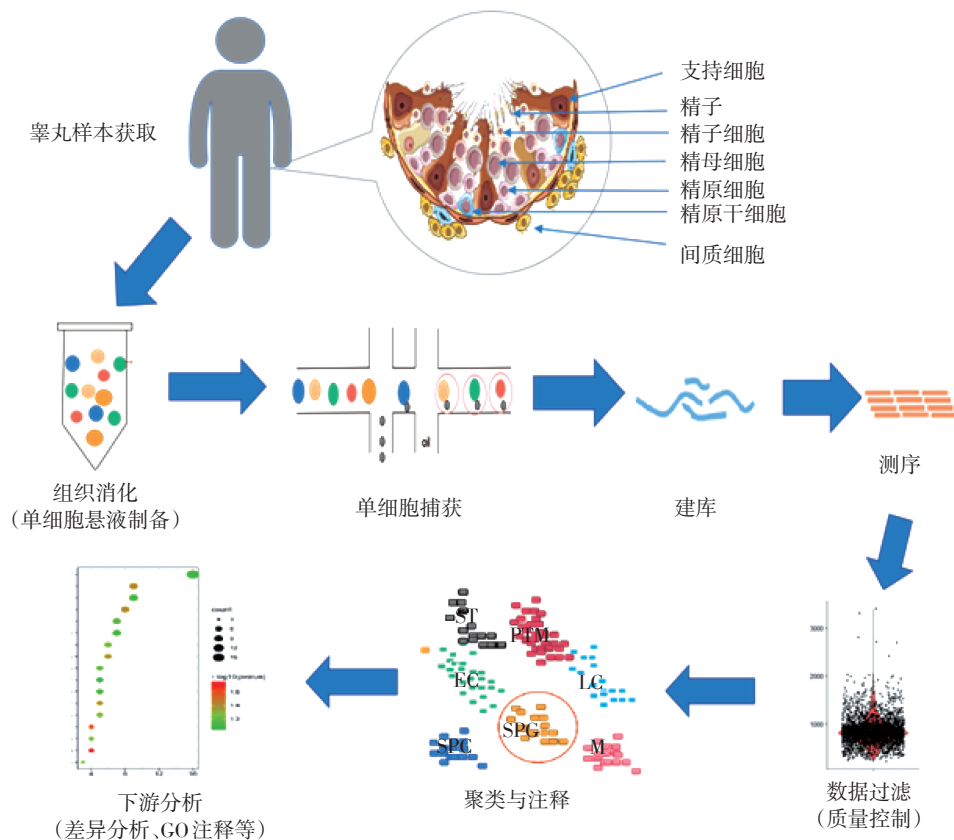


图1 人睾丸scRNA-seq分析流程图

Figure 1 Flow chart of human testis scRNA-seq analysis

1 基于scRNA-seq技术揭示SSCs起源

SSCs起源于原始生殖细胞(primordial germ cells, PGCs), 作为精子发生源头维持产生成熟配子。然而, 人PGCs向SSCs分化这一过程涉及的转录组水平及功能变化仍未完全阐明, scRNA-seq技术有助于认识这一变化过程。

Guo等^[8]将scRNA-seq鉴定出的成人原始SSCs(stage 0阶段)与婴儿(12~13个月)生殖细胞数据进行降维处理及拟时序分析。结果表明, 大部分stage 0阶段的基因标志物(PIWIL4、TSPAN33等)在婴儿生殖细胞中表达上调, 发育轨迹上两者位置毗邻, 提示该婴儿生殖细胞可能是PGCs演变成SSCs的过渡阶段。后期, 该团队进一步对胚胎期(6~8周)、胎

儿期(12、15、16周)和婴儿期(5个月)睾丸进行scRNA-seq分析, 并与前期成人睾丸scRNA-seq数据进行比较。在SSCs形成前期过程, 共鉴定出2种细胞阶段, 包括: ①PGCs阶段(存在于胚胎、胎儿期): 特异表达TFAP2C、KIT、NANOG、POUF51、SOX17等基因; ②stage f0阶段(存在于胎儿、婴儿期): 特异表达PIWIL4、EGR4、MSL3、TSPAN33等基因^[9]。该发现与前期Sohni等^[6]在婴儿期睾丸scRNA-seq分析工作中鉴定的PGCs及前SSCs阶段相吻合。进一步, 该团队对两阶段的特异表达基因进行GO注释, 发现PGCs阶段与信号转导、性腺和干细胞发育等生物学功能有关, 在进入胎儿期时, 这些功能通路受到明显抑制; stage f0阶段中涉及转录、同源异形的相关基因表达上调, 同时, 发现SSCs基因标志物

开始表达。该团队观察到 stage f0 至原始 SSCs 的转变是 SSCs 基因标志物表达的持续升高,而不是大量新基因的出现,这提示该转变过程可能是 PGCs 分化至 SSCs 的过渡阶段。进一步,通过免疫染色实验证明,在胚胎至胎儿阶段,NANOG(PGCs 基因标志物)和 MKI67(增殖基因标志物)表达降低;在早期胎儿期,PIWIL4(SSCs 基因标志物)被检测出。

以上表明,PGCs 至原始 SSCs 的转变可能发生于早期胎儿阶段,涉及类多能性、增殖活性等生物学功能的抑制,以及 SSCs 基因标志物的表达上调,提示在婴儿乃至胎儿阶段,原始 SSCs 雏形逐步形成。同时,鉴定发现特异表达于 PGCs 阶段基因标志物,包括 ETV4、PIM2、POU5F1、PHLDA3、PDPN、ITM2C、RNPEP 和 THY1, stage f0(SSCs 前阶段)基因标志物,包括 RHOXF1、STK31、CSRP2、ASZ1、SIX1 和 THRA。该组基因可能在人 PGCs 向原始 SSCs 转化过程中,如 SSCs 基因标志物的表达调控、多能性抑制等方面起到重要作用,需进一步实验探讨其作用机制。

2 基于 scRNA-seq 揭示人 SSCs 亚型及其基因标志物

基于形态学分析,传统观点认为人精原细胞包括 A pale(Ap)、A dark(Ad)、B 型精原细胞^[10]。Ap 和 Ad 型精原细胞代表人 SSCs 的不同阶段,Ad 型 SSCs 相对静止,Ap 型 SSCs 相对活跃,Ad 型精原细胞可进行自我更新或分化为 Ap 型精原细胞,后者可分化产生 B 型精原细胞^[11-12]。然而,仅依赖形态学方法描述人 SSCs 是不准确的,有研究使用 PAS 染色法(periodic acid-Schiff stain, PAS)、苏木精伊红染色(hematoxylin-eosin staining, HE)及免疫组织化学(immunohistochemistry, IHC)染色结合 scRNA-seq 数据,发现部分 Ap 与 Ad 型精原细胞转录组水平结果相似,提示两者可能为同一细胞类型^[13]。因此,需要更精细、准确的方法鉴定、描述人 SSCs 亚型。

目前基于 scRNA-seq 技术,结合已报道精原细胞基因标志物,鉴定出 4 种精原细胞亚型,包括早期未分化精原细胞(相对静止、SSC-1)、晚期未分化精原细胞(相对活跃、SSC-2)、分化中精原细胞(早期分化精原细胞)、分化精原细胞^[6,8,13-15]。

Wang 等^[16]对 scRNA-seq 分析获得的 SSCs 亚群进行研究时,发现 NANOS2、ZBTB16、SALL4、POU3F1、UTF1、NANOS3 高表达于该亚群。进一步分析该 SSCs 亚群,发现内部存在异质性,对该亚群进行降维处理,鉴定出 2 种不同的 SSCs 表达模式,

包括 SSC-1: GFRA1^{low} UTF1^{high}(基因标志物: PIWIL4); SSC-2: GFRA1^{high} UTF1^{low}(基因标志物: ASB9、LITD1),后期 Guo 等^[8]单细胞测序工作中鉴定发现的 SSCs 亚群 stage 0、1 阶段,与其表达模式类似。

Guo 等^[8]通过 scRNA-seq 对未分化精原细胞簇进行聚类分析,发现一种更早期阶段细胞亚群,将其与婴儿生殖细胞转录组进行比较,发现有很大共性。同时,拟时序分析结果表明该亚群与婴儿生殖细胞位置相邻,均位于发育轨迹的起始,提示该精原细胞亚群可能是最原始 SSCs(stage 0 阶段)。其中, stage 0 阶段特异表达 PIWIL4、EGR4、TSPAN33、PHGDH、PPP1R36、ICA1L 等,早期已鉴定 SSCs 基因标志物 ID4、FGFR3、TCF3 和 UTF1 在 stage 0、1 阶段均表达。通过免疫荧光染色,发现 PIWIL4、PHGDH、SLC25A22、ICA1L、PPP1R36、MAGEB1、EGR4、MSL3、TSPAN33 特异表达于 stage 0 阶段,GFRA1、ETV5、LITD1 特异表达于 stage 1 阶段, KIT、MKI67 特异表达于 stage 2 阶段及分化精原细胞,而 UTF1、FGFR3 和 TCF3 在三阶段均表达。

Sohni 等^[6]通过 scRNA-seq 分析发现 2 种 SSCs 亚群,包括早期 SSCs(SSC-1)及晚期 SSCs(SSC-2)。分析过程中发现 SSC-1 亚群内部存在异质性,对其进行进一步聚类分析,鉴定发现出 3 个子亚群,将其命名为 SSC-1A、SSC-1B 和 SSC-1C。拟时序分析揭示其发育轨迹: SSC-1B→SSC-1A、SSC-1C→SSC-2,这提示 SSC-1B 可能是原始 SSCs。对各阶段基因标志物进行鉴定,SSC-1A 中包括 A2M、ENO3; SSC-1B 中包括 C19orf84、EGR4、FSD1; SSC-1C 中包括 NANOS2; SSC-2 中包括 ID4、GFRA1、NANOS3。进一步通过免疫染色验证 EGR4、FSD1、LPPR3、PIWIL4 和 TSPAN33 可作为原始 SSCs(SSC-1B)的新型基因标志物,与已知 SSCs 基因标志物 UTF1、GFRA1 共染,比较发现 LPPR3、PIWIL4 较 UTF1 可作为原始 SSCs 更特异的基因标志物。同时,利用荧光激活细胞分离技术(fluorescence-activated cell sorting, FACS),发现膜蛋白编码基因 LPPR3 和 TSPAN33 标记更局限的睾丸细胞群,表明其作为原始 SSCs 基因标志物的可行性。在 Persio 等^[17]单细胞测序工作中鉴定类似的 SSCs 亚群,包括 stage 0 阶段(PIWIL4、PHGDH、EGR4); stage 0A 阶段(UTF1、SERPINE2、FGFR3); stage 0B(NANOS2); stage 1 阶段(GFRA1、GFRA2、NANOS3、ID4),其发育轨迹为 stage 0→stage 0A、stage 0B→stage 1。

综上所述,目前 scRNA-seq 研究中鉴定出 4 种

SSCs亚型,包括原始精原干细胞阶段SSC-0,基因标志物包含C19orf84、EGR4、FSD1、PHDGH、LPPR3、PIWIL4和TSPAN33;中间阶段SSC-1A与SSC-1B,基因标志物包含A2M、ENO3、UTF1、SERPINE2、FGFR3和NANOS2;晚期精原干细胞SSC-2,基因标志物包含GFRA1、GFRA2、NANOS3、ID4。这些基因标志物的发现,有助于鉴定不同SSCs亚型,并推测各亚型可能的生物学功能。然而,鉴于个体之间遗传差异,不同研究结果有所偏差。同时,各基因标志物的表达定位及作用功能需进一步验证、阐明。

3 基于scRNA-seq探索人SSCs自我更新、增殖与分化调控机制

SSCs通过自我更新保持自身细胞群数量的恒定,对于生育力维持至关重要。Hermann等^[14]聚焦于人、小鼠SSCs亚群,scRNA-seq分析发现神经营养因子GDNF均表达上调,并促进EIF2、mTOR和p70S6K的翻译,这可能是一种驱动SSCs自我更新转录本选择性翻译的机制。小鼠研究中,GDNF通过作用于未分化精原细胞上的RET酪氨酸激酶,对SSCs的自我更新起到重要作用^[18]。在Wang等^[16]研究中,GO注释发现SSCs亚群富集于“基因表达的负调控”和“细胞生物合成过程的负调控”等生物学功能过程,表明该亚群细胞状态相对静止。基于scRNA-seq数据,发现成纤维细胞生长因子(fibroblast growth factor,FGF)相关受体FGFR1、FGFR2、FGFR3高表达于未分化精原细胞中,FGF在维持SSCs自我更新上起到重要作用。其中,FGF8-FGFR1信号可能通过激活ERK1/2信号通路来维持SSCs自我更新^[19];FGF可通过激活MAPK2K1、ERK和Akt通路信号,维持SSCs自我更新^[20]。同时,研究发现FGF在人SSCs体外长期培养中起重要作用,是SSCs体外培养基的关键组分^[21]。研究发现骨形态发生蛋白(bone morphogenetic protein,BMP)信号相关成员特异表达于SSCs,包括:BMPR1B、BMP7、BMPR2、SMAD1、SMAD5、SMAD9,其中BMPR1B特异表达于SSCs,对BMPR1B⁺SSCs细胞亚群染色发现,磷酸化的SMAD1/5/9、ID1和ID4蛋白表达阳性,表明在SSCs中BMP通路激活^[22]。小鼠研究中,BMP通路在调节小鼠精原细胞未分化状态中起到重要的作用。BMP4、BMP7和BMP8B已被证明可诱导人类胚胎干细胞产生早期生殖细胞^[23]。以上结果表明,GDNF、FGF和BMP通路在参与维持人SSCs的自我更新上可能起到重要作用。然而迄今为止,人SSCs的体

外培养研究仍进展缓慢,睾丸单细胞测序鉴定出的基因标志物有望推动这一进展,但仍需进一步的体内实验去证实。

SSCs的增殖与分化作为精子发生起始步骤,细胞状态由相对静止向增殖活跃转化,产生定向分化的精原细胞,使精子发生源源不断进行。Hermann等^[14]利用scRNA-seq技术平行比较、研究人和小鼠睾丸转录组特征,发现参与肝星状细胞活化通路的基因包括BCL2、EDNRA、KLF6、PDGFRA和TGF在SSCs亚群中表达逐渐上调。该通路的激活使靶细胞对相关诱导性细胞因子信号产生反应^[24],表明从静止的SSCs到分化精原细胞的转变涉及对细胞因子信号的反应。Sohni等^[6]发现未分化精原细胞至分化精原细胞阶段,促细胞增殖的相关基因CCND2、SPRY1等表达上调,GO注释发现分化精原细胞特异表达基因富集于细胞增殖相关通路,与其增殖功能活跃相一致^[25]。Guo等^[26]对青春期前睾丸组织进行scRNA-seq分析,发现增殖调控基因Cyclins、CDKs、TOP2A、MKI67、KIT在精原细胞中表达上调;同时发现激活素受体ACVR1B、BMPR1B、ACVR2B表达于精原细胞,而在未分化精原细胞中表达激活素信号的相关抑制剂,这提示Activin信号在精原细胞增殖与分化过程中起到重要作用。利用GO注释与KEGG分析发现,相关转录因子SOHLH2、NR6A1和CTNNA1可能参与SSCs的增殖与分化过程。比较未分化精原细胞与分化精原细胞亚群转录组水平,发现主要是增殖相关基因的表达,如MKI67等基因的上调。以上结果表明,增殖相关基因及转录因子在SSCs增殖与分化过程中起重要作用,这在维持产生足够数量的精子中起到重要作用。当前,已鉴定出的增殖调控关键因子的作用及其机制需进一步验证。

4 小结与展望

目前,scRNA-seq技术研究人精原干细胞的技术瓶颈主要在于两点。其一,scRNA-seq技术的目标样本来源于经过酶消化获取的睾丸细胞,这种条件下,酶消化破坏了各细胞在睾丸生精小管中的空间结构,仅能获取单个细胞转录组水平信息,无法判断SSCs在空间位置上的转录组水平变化。另外,在使用两步酶消化方法获取睾丸细胞过程中,可能存在生精小管中的SSCs消化不全的问题,导致获取的细胞不足以代表SSCs的实际组成。空间转录组学可以有效解决当前问题,空间转录组测序技术

可以结合显微成像和测序技术在获得基因表达数据的同时最大程度地保留样本的空间位置信息^[27],结合 scRNA-seq 技术鉴定的不同 SSCs 亚群及转录组水平信息,可以有效描述不同 SSCs 亚群的空间组成及转录组水平变化。其二,scRNA-seq 技术是在转录组水平上描述精原干细胞,仅能比较不同 SSCs 亚群的转录组水平变化。然而,精子发生这一复杂过程受到多方面调控,由于技术限制,scRNA-seq 技术无法描述不同 SSCs 亚群在代谢组学、蛋白质水平、转录后调控如 microRNA 等水平上的变化。基于 scRNA-seq 技术,联合多组学分析能有效描述精原干细胞在精子发生中的生物过程。

综上所述,scRNA-seq 技术可高效捕获睾丸内单个细胞,进行高通量测序分析,获取其转录组水平信息,精细描述细胞类型,揭示细胞异质性,推测其发育轨迹。近年,诸多研究鉴定不同 SSCs 亚群,揭示其转录谱水平及功能变化,提供用于鉴定、分选 SSCs 亚群的基因标志物,为 SSCs 自我更新、增殖与分化研究提供理论基础。然而,scRNA-seq 技术是基于已消化的睾丸细胞,从而难以揭示睾丸空间异质性。另外,个体之间存在遗传差异,因而不同研究分析结果存在偏差。未来,对人睾丸 scRNA-seq 数据集,进行大样本联合分析具有重要价值,有助于区分样本及细胞类型差异;进一步联合多组学(空间转录组学、DNA 甲基化组、组蛋白修饰等)分析,更有助于阐释睾丸 SSCs 空间构成及其转录组水平,在揭示 SSCs 增殖与分化调控机制并深入研究精子发生生物学过程中具有重要价值,可能为男性不育诊疗提供新策略。

[参考文献]

- [1] ZHU F, YAN P, ZHANG J, et al. Deficiency of TPPP2, a factor linked to oligoasthenozoospermia, causes subfertility in male mice[J]. *J Cell Mol Med*, 2019, 23(4):2583-2594
- [2] MAKELA J A, HOBBS R M. Molecular regulation of spermatogonial stem cell renewal and differentiation [J]. *Reproduction*, 2019, 158(5):R169-R187
- [3] TANG F, BARBACIORU C, WANG Y, et al. mRNA-Seq whole - transcriptome analysis of a single cell [J]. *Nat Methods*, 2009, 6(5):377-382
- [4] LUECKEN M D, THEIS F J. Current best practices in single-cell RNA-seq analysis: a tutorial [J]. *Mol Syst Biol*, 2019, 15(6):e8746
- [5] WU A R, WANG J, STREETS A M, et al. Single-cell transcriptional analysis [J]. *Annu Rev Anal Chem (Palo Alto Calif)*, 2017, 10(1):439-462
- [6] SOHNI A, TAN K, SONG H W, et al. The neonatal and adult human testis defined at the single - cell level [J]. *Cell Rep*, 2019, 26(6):1501-1517
- [7] BIRNBAUM K D. Power in numbers: single - cell RNA - Seq strategies to dissect complex tissues [J]. *Annu Rev Genet*, 2018, 52:203-221
- [8] GUO J, GROW E J, MLCOCHOVA H, et al. The adult human testis transcriptional cell atlas [J]. *Cell Res*, 2018, 28(12):1141-1157
- [9] GUO J, SOSA E, CHITIASHVILI T, et al. Single-cell analysis of the developing human testis reveals somatic niche cell specification and fetal germline stem cell establishment [J]. *Cell Stem Cell*, 2021, 28(4):764-778
- [10] CLERMONT Y. Renewal of spermatogonia in man [J]. *Am J Anat*, 1966, 118(2):509-524
- [11] HERMANN B P, SUKHWANI M, HANSEL M C, et al. Spermatogonial stem cells in higher primates: are there differences from those in rodents? [J]. *Reproduction*, 2010, 139(3):479-493
- [12] EHMCKE J, WISTUBA J, SCHLATT S. Spermatogonial stem cells: questions, models and perspectives [J]. *Hum Reprod Update*, 2006, 12(3):275-282
- [13] SHAMI A N, ZHENG X, MUNYOKI S K, et al. Single-cell RNA sequencing of human, macaque, and mouse testes uncovers conserved and divergent features of mammalian spermatogenesis [J]. *Dev Cell*, 2020, 54(4):529-547
- [14] HERMANN B P, CHENG K, SINGH A, et al. The mammalian spermatogenesis single - cell transcriptome, from spermatogonial stem cells to spermatids [J]. *Cell Rep*, 2018, 25(6):1650-1667
- [15] GUO J, GROW E J, YI C, et al. Chromatin and single-cell RNA-Seq profiling reveal dynamic signaling and metabolic transitions during human spermatogonial stem cell development [J]. *Cell Stem Cell*, 2017, 21(4):533-546
- [16] WANG M, LIU X, CHANG G, et al. Single-cell RNA sequencing analysis reveals sequential cell fate transition during human spermatogenesis [J]. *Cell Stem Cell*, 2018, 23(4):599-614
- [17] DI PERSIO S, TEKATH T, SIEBERT-KUSS L M, et al. Single - cell RNA - seq unravels alterations of the human spermatogonial stem cell compartment in patients with impaired spermatogenesis [J]. *Cell Rep Med*, 2021, 2(9):100395
- [18] POTTER S J, DEFALCO T. Role of the testis interstitial compartment in spermatogonial stem cell function [J]. *Reproduction*, 2017, 153(4):R151-R162
- [19] HASEGAWA K, SAGA Y. FGF8-FGFR1 signaling acts as a niche factor for maintaining undifferentiated spermatogonia [J]. *Cell Stem Cell*, 2017, 19(4):647-658

- gonia in the mouse[J]. Biol Reprod,2014,91(6):145
- [20] WEI B H,HAO S L,YANG W X. Regulation of spermatogonial stem cell self-renewal and proliferation in mammals [J]. Histol Histopathol,2022:18461
- [21] MARTIN-INARAJA M,FERREIRA M,TAELMAN J, et al. Improving *in vitro* culture of human male fetal germ cells[J]. Cells,2021,10(8):2033
- [22] HELSEL A R,YANG Q E,OATLEY M J, et al. ID4 levels dictate the stem cell state in mouse spermatogonia[J]. Development,2017,144(4):624-634
- [23] KEE K,GONSALVES J M,CLARK A T, et al. Bone morphogenetic proteins induce germ cell differentiation from human embryonic stem cells[J]. Stem Cells Dev,2006,15(6):831-837
- [24] TSUCHIDA T,FRIEDMAN S L. Mechanisms of hepatic stellate cell activation[J]. Nat Rev Gastroenterol Hepatol,2017,14(7):397-411
- [25] DI PERSIO S,SARACINO R,FERA S, et al. Spermatogonial kinetics in humans [J]. Development,2017,144(19):3430-3439
- [26] GUO J,NIE X,GIEBLER M, et al. The dynamic transcriptional cell atlas of testis development during human puberty[J]. Cell Stem Cell,2020,26(2):262-276
- [27] RAO A,BARKLEY D,FRANCA G S, et al. Exploring tissue architecture using spatial transcriptomics[J]. Nature,2021,596(7871):211-220
- [收稿日期] 2022-09-29
(本文编辑:唐 震)



欢迎关注本刊微博、微信公众号!