

这些调控因素是否会收敛于单个力学敏感的细胞结构或分子,对其力学应答的整体规律也不清楚。基于此前提出的“力学组学”思想,尽可能在体外重现细胞受到的生理力学刺激,从系统角度重点回答 ESC 对力学刺激应答机制的科学问题。方法:采用平板流动腔和 Flexcell 细胞张应变加载系统对人胚胎干细胞 H1 施加力学刺激(流体剪切振幅为 0.1、1.1 Pa,频率为 0、1 Hz,时间为 1、24 h,拉伸振幅为 20%,模态为连续拉伸和间歇拉伸,时间为 1、12 h),iTRAQ 蛋白质组学技术检测不同刺激下的蛋白质组变化。Western 及生物信息学方法对 iTRAQ 数据进行验证和分析。形态学观察法确定细胞表型变化。结果:iTRAQ 实验具有很好的技术重复性和生物学重复性,与 Western 结果一致性为 70%;在分子水平上,16 种刺激条件下共同鉴定到了 1 178 种蛋白质,其中有 60 种可同时对流体剪切和力学拉伸做出应答,且在基因组上分布均匀,刺激类型的影响最大;在细胞水平上 H1 集落在各种流体剪切下均呈现出面向来流的极性。结论:在分子水平上,ESC 细胞可以对不同拉伸刺激和流体剪切刺激做出共同应答,在细胞水平上可对不同模态流体剪切刺激做出应答,提示 ESC 中可能存在保守的力学信号转导通路、收敛于某些蛋白质分子,并表现出相应的表型。(国家自然科学基金资助项目, Nos. 31110103918, 31230027, 31470907;国家重点基础研究发展计划, No. 2011CB710904;中国科学院先导专项, No. XDA01030604;国家高技术研究发展计划, No. 2011AA020109)

白细胞表面 L-选择素实时水解动力学理论与实验研究

彭爽, 吕守芹, 龙勉*

中国科学院微重力重点实验室,中国科学院力学研究所生物力学与生物工程中心,
中国科学院力学研究所工程化构建与力学生物学北京市重点实验室,北京 100190

* E-mail: mlong@imech. ac. cn; Tel: 010-82544131

炎症反应过程中,血流下白细胞的跨内皮细胞转移过程主要由选择素、整合素与其配体之间的相互作用协同介导。其中,选择素-配体相互作用主要介导白细胞的捕获和滚动。作为选择素家族成员之一,表达在白细胞表面的 L-选择素一方面介导白细胞滚动,同时由于炎症因子导致的白细胞激活而引发其水解,进而调控其生物学功能。虽然已有研究考察了完全水解后 L-选择素-配体的相互作用,然而 L-选择素水解动力学过程如何,其在水解过程中如何调控与配体相互作用的反应动力学等尚不明确;另外,由于水解作用,生理环境中存在膜表达与可溶性两种 L-选择素,两者之间存在竞争,但内在竞争机制研究较少。

基于此,采用实验与理论相结合,对 L-selectin 实时水解对其与配体相互作用反应动力学特征进行研究。在实验方面,分别基于 Jurkat 细胞系与实时分离人源 PMN 两种细胞体系,针对 PMA 与 FMLP 两种不同水解刺激剂,首先采用流式细胞仪技术定量测量了不同刺激剂条件下,L-选择素水解的时间和浓度依赖性。然后采用微管吸吮技术(MAT),测量了在三维可溶性 L-选择素竞争条件下,Jurkat 或 PMN 膜表面表达的 L-选择素与配体 PSGL-1 的相互作用反应动力学,并考察了不同接触时间的调控规律。在理论方面,基于已有二维三维竞争理论模型,耦合实时水解作用对 L-选择素表达的影响,对 MAT 的实验结果进行数值拟合计算,获得 L-选择素与其配体随水解作用时间变化的反应动力学参数。结果显示,L-选择素-PSGL-1 相互作用的零力负反应率最初随水解时间而升高,然后达到平台,初步验证了二三维竞争理论模型的正确性和适用性。本文工作一方面为深入理解 L-选择素水解的机制及生物学功能提供基础数据,另一方面为认识其他细胞黏附分子的水解机制提供参考。(国家自然科学基金资助项目, No. 31230027;国家重点基础研究发展计划项目, No. 2011CB710904;中国科学院科研装备项目, No. Y2010030)