

论文编号 S12-101

E-选择素调控白细胞跨内皮迁移 转运中内皮细胞骨架重组动力学

黄丹丹, 龚一心, 章燕*, 龙勉*

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

目的 以血管稳态及重建为切入点, 研究 E-选择素 (E-selectin) 通过调节微丝骨架网络的动态重组来调控内皮细胞低阻抗区的形成, 揭示导致白细胞形成更快、更多、行程更短的跨膜迁移的信号调控网络 and 关键分子。**方法** 采用 Lifeact_GFP 转染人脐静脉内皮细胞 (Human Umbilical Vein Endothelial Cells, HUVEC) 使得内皮细胞纤维状微丝蛋白 (F-actin) 可视化, 实时动态观察白细胞跨内皮迁移过程中内皮细胞骨架重组情况。采用荧光漂白后恢复技术 (Fluorescence Recovery After Photobleaching, FRAP) 量化 E-选择素及其配体交联下, 内皮细胞不同区域的细胞骨架重组能力。采用 RNA 干扰技术降低 HUVEC 上 E-selectin 表达, 并结合小分子抑制剂考察 E-选择素调控细胞骨架重组从而介导白细胞跨内皮迁移的分子机制。**结果** 白细胞跨内皮迁移过程中, 内皮细胞上形成孔洞, 且白细胞倾向于旁细胞迁移。FRAP 结果表明内皮细胞胞体上微丝蛋白恢复速度更快, E-selectin 与其配体交联会改变微丝蛋白骨架重组能力。干扰 HUVEC 内 E-selectin 表达能促进白细胞迁移, 此种情况下, 采用细胞松弛素 D 破坏微丝骨架、CK666 抑制微丝结合蛋白 Arp2/3 活性、或 PP1 抑制 Src 活性均不改变白细胞跨膜迁移比例。**结论** E-选择素通过 Arp2/3 调节内皮细胞骨架重组、进而促进白细胞跨膜迁移。(国家自然科学基金资助项目, Nos. 31230027, 91539119, 11772345)

论文编号 S12-102

硅酸钙浸出液对人胚胎干细胞肝向分化的影响

郑璐, 吕东媛, 张帆, 武亿, 龙勉*

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

目的 考察硅酸钙 (calcium-silicate, CS) 浸出液是否有利于人胚胎干细胞 (human embryonic stem cell, hESCs) 的肝向分化、从而提高肝样细胞 (hepatocyte-like cells, HLCs) 的成熟度和分化效率。**方法** 将人胚胎干细胞 H9 细胞系接种于包被有 Matrigel TM 的玻片上, 培养 1 d 后, 经干性维持 (STEM)、确定内胚层分化 (DE)、肝前体细胞 (Pre-H)、成熟肝样细胞 (M-H) 4 个阶段的分化顺序分阶段和浓度加入 CS 浸出液。CS 浸出液按照 STEM 阶段与 DE 阶段、添加或不添加 CS 浸出液、添加浓度 1/64 或 1/256, 共分为 6 种添加方式。选择其中 DE 细胞分化状态最好的一组 (STEM +, DE-, 浓度 1/256, 记为 STEM +), 继续诱导分化到成熟类肝细胞阶段, 并按照不同浓度添加 CS 浸出液 (STEM + CS1/64, STEM + CS1/256, STEM + CS0)。检测手段: 通过免疫荧光、实时定量 PCR、肝细胞功能检测 (包括糖原染色, ICG 吞噬, 白蛋白分泌等) 及药物代谢研究 CS 浸出液对 hESCs 肝向分化的影响。**结果** (1) hESCs H9 细胞系对高浓度 CS 浸出液反应更快, 但低浓度 CS 浸出液能更持久地利于 DE 方向的分化。(2) 在前两个分化阶段, 只在其中一个阶段添加 CS 浸出液更利于 DE 向分化。(3) 选取最佳添加方式 STEM + 分化到 DE 后继续诱导, 则无论在肝前体细胞和成熟类肝细胞阶段是否添加 CS 浸出液, 均能得到更成熟的肝样细胞。(4) Pre-H 和 M-H 添加高浓度 CS 浸出液, 比低浓度时更利于肝向分化。**结论** 低浓度硅酸钙 (calcium-silicate CS) 浸出液可促进 hESCs H9 细胞系向确定内胚层分化, 并进一步利于肝向分化, 得到更高成熟度的肝样细胞。(国家自然科学基金资助项目, Nos. 31110103918, 31470907)