

论文编号 S10-163

## 基底硬度调控胚胎干细胞内胚层向分化的机理研究

郑璐<sup>1,2</sup>, 张帆<sup>1,2</sup>, 武亿<sup>1,2</sup>, 吕东媛<sup>1,2</sup>, 龙勉<sup>1,2\*</sup>

(1. 中国科学院力学研究所, 北京 100190; 2. 中国科学院大学 工程科学学院, 北京 100049)

\* E-mail: mlong@imech. ac. cn

**目的** 基底硬度可调控干细胞的形态、增殖及分化。硬基底能够维持克隆生长的人胚胎干细胞(hESC)干性并利于定形内胚层(DE)向分化。认识ESC克隆对其与基底间黏附力的感知、力学信号的胞内传递、以及转导为生物学信号进而调控DE向分化的过程,并探索该过程的关键力敏感蛋白。**方法** 使用聚丙烯酰胺水凝胶制备3种硬度(0.14、6.1、46.7 kPa)基底,包被胶原。将hESC(H1)接种到基底上,3 d培养后DE向分化。在分化起始(DE 0 d)、初期(DE 1 d)和末期(DE 3 d)检测克隆/细胞的牵引力分布、DE向分化及integrin、黏着斑蛋白、F-actin和YAP的表达变化。采用抑制剂阻断 $\beta 1$ -integrin或YAP功能后检测基底硬度对hESC/DE分化的影响。**结果** hESC的干性和DE分化标志物表达与基底硬度正相关。细胞产生的牵引力随硬度增加而增大; $\beta 1$ -integrin、黏着斑蛋白和YAP的表达量增加。抑制 $\beta 1$ -integrin后hESC的DE向分化标志物降低,硬度间差异消失。抑制YAP入核抑制hESCs的DE向分化,抑制出核则相反。**结论** 硬基底能够通过 $\beta 1$ -integrin-黏着斑蛋白-YAP通路感知细胞-基质黏附,促进hESC。(国家自然科学基金项目,31661143044,31627804,31870931)

论文编号 S10-164

## IKCa与TRPC1的钙信号互动在血管平滑肌细胞增殖中的作用

陈心兰<sup>1</sup>, 王子钰<sup>1</sup>, 王海琨<sup>1</sup>, 贾潇凌<sup>1,2\*</sup>

(1. 北京航空航天大学 生物与医学工程学院, 北京 100083; 2. 北京航空航天大学 生物与医学工程高精尖创新中心, 北京 102402)

\* E-mail: jiaxiaoling@buaa. edu. cn

**目的** 血管平滑肌细胞(vascular smooth muscle cells, VSMCs)的过度增殖与许多血管疾病的发生发展密切相关。研究表明,中电导钙激活钾离子通道(Intermediate-conductance  $Ca^{2+}$ -activated  $K^+$  channels, IKCa)与VSMCs的增殖,但其机制尚未明确。探索IKCa通道与经典瞬时受体电位通道1(transient receptor potential channel classic subfamily members1, TRPC1)在调节细胞内钙离子浓度上的协同作用,及其与VSMCs增殖的关系。**方法** 通过血清刺激细胞增殖,利用Western Blot及MTT检测IKCa及TRPC1与细胞增殖的相关性;使用IKCa及TRPC1特异性siRNA分别转染细胞,利用Fluo-4进行钙离子染色,激活IKCa通道检测细胞内钙离子浓度变化;分别使用钙离子螯合剂、IKCa、TRPC1阻断剂处理细胞,使用Western Blot检测ERK1/2磷酸化水平的变化。**结果** Western Blot及MTT结果表明,IKCa通道的表达与活性与VSMCs增殖呈正相关,TRPC1通道的阻断可明显抑制细胞增殖,但血清刺激下其蛋白表达水平未见明显变化。钙染色结果表明,IKCa激活引起细胞外钙离子通过TRPC1通道流入细胞,二者共同调节细胞内钙浓度。Western Blot结果表明,抑制IKCa及TRPC1通道的活性及细胞内钙离子螯合剂均会明显抑制ERK信号通路的激活,从而抑制细胞增殖。**结论** IKCa通过与TRPC1通道协同调节细胞内钙离子浓度升高,从而引起下游ERK信号通路的激活,进一步刺激VSMCs的增殖。该发现对理解VSMCs的增殖和血管疾病的发生发展及治疗提供了新的依据。(国家自然科学基金项目,11872010)