

- [2] Annie Viallat. Tank-treading and unbinding of deformable vesicles in shear flow: determination of the lift force[J]. Physical Review Letters, 2002, 88, 6.

应用 LongSAGE 技术构建成骨细胞力信号 转导基因调控网络

易茜¹, 廖意², 刘欢³, 唐丽灵^{*}

重庆大学 生物工程学院

E-mail: lilingtang@ yahoo. com. cn

生物有机体受应力调节的生长一直是人们关心的问题。已有研究表明应力/应变可以引起力效应细胞在基因水平或表达水平的调控。由于细胞内的力信号转导是一个异常复杂的过程,一系列的基因、受体和通路都参与其中,因此需要通过基因组水平的检测手段全面分析力信号的生物学功能和作用机制。我们以大鼠的成骨细胞为研究对象,对细胞进行以形变量 15%, 频率 30 次/min 基底膜周期性拉伸 24h 后,利用基因表达串联分析(serial analysis of gene expression, SAGE)的方法检测了周期性拉伸前后成骨细胞内的差异表达基因,并对这些基因进行了生物信息学分析,包括功能分析、基因分类数据库 Gene Ontology(GO)分析和信号通路分析,根据生物信息学的研究结果构建成骨细胞力信号转导的调控网络。

我们的研究发现,周期性拉伸引起的差异表达基因主要调节细胞的蛋白质生物合成,信号转导,代谢,离子结合,发育,凋亡,细胞粘附,细胞骨架,细胞增殖和细胞运动等功能。同时,我们的结果发现了一些研究很少或者从来没有在成骨细胞中研究过的基因。差异表达基因的 KEGG 信号通路分析结果显示,差异表达基因参与的三条最主要的通路,分别是核糖体通路,细胞粘附通路和细胞外基质-受体相互作用通路。

综上所述,我们的研究构建了一个较完整的系统的力信号转导网络,这有助于更深入的理解成骨细胞内的力信号转导过程(国家自然科学基金资助项目(31170890))。

重力矢量导致的细胞骨架重组及相关机制

张晨, 孙树津, 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;

中国科学院力学研究所生物力学与生物工程中心, 北京 100190

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

在太空飞行中,骨流失是威胁到宇航员健康的一个严重问题。已有的体内和体外实验表明,微重力环境会对成骨细胞的生物学行为有很大的影响,但其中的重力感受与传到机制还十分模糊。常用的旋转培养器和随机指向装置等生物反应器是利用培养过程中细胞所受的矢量力在一段时间内积分为零这一原理来模拟微重力环境(微重力效应),但不可避免的会引入诸如流体剪切或碰撞等其他力学因素,从而很难区分出细胞对于单一重力矢量的响应。为解决这一问题,另一种可能的

方法是改变细胞培养基底的取向来进一步研究重力矢量对细胞的静态影响。

本文选取 MC3T3-E1 这一力敏感的前成骨细胞系作为考察目标,将胶原包被并接种细胞的玻片放入自行研制的培养装置,使细胞在培养基底上分别处于正置、倒置与侧置(细胞所受的重力矢量分别与基底法线方向呈 180° 、 0° 和 90°) 状态。通过考察细胞在 1-7 天内的增殖和细胞周期,发现细胞的增殖曲线在三种基底上基本重合,细胞周期分布也无显著性差异;采用成骨诱导液诱导 MC3T3-E1 向成骨细胞分化,也发现细胞碱性磷酸酶表达没有显著性差异,表明基底取向对细胞增殖和分化等生物学行为没有显著影响。同时,细胞在三种基底上培养 24 小时和 72 小时后固定并对三种细胞骨架(actin, tubulin, vimentin) 染色、采用 Image J 测量细胞的圆度、粘附面积和核位移,发现在三种静态受力状态下形态学指标无显著性差异。然而,采用平均荧光强度来表征三种细胞骨架的表达量,发现不论是 24 还是 72 小时,倒置和侧置基底上的细胞骨架与正置基底上的相比有显著性差异;对 actin 进一步定量分析发现,在倒置和侧置基底上细胞的 actin 数量和强度都远高于正置基底上细胞中表达;更有意思的是,研究中还观测到在侧置基底上细胞骨架排列与重力矢量方向相关。上述结论说明,MC3T3-E1 在倒置和侧置基底上通过自身骨架重组、从而维持其正常的细胞形态和生物学行为。为探究其中的分子机制,进一步考察了细胞粘着斑蛋白(vinculin 和 paxillin) 和 $\beta 1$ 整合素的表达,发现在倒置基底上细胞粘着斑数量和平均面积以及 $\beta 1$ 整合素的表达与正置基底上有显著性差异;采用 siRNA 敲出 $\beta 1$ 整合素后,三种受力状态下细胞的粘着斑和细胞骨架之间的差异有大幅减小,证明 MC3T3-E1 是通过 $\beta 1$ 整合素/粘着斑/细胞骨架这一信号通路调控自身对重力矢量的响应。

上述研究不仅观测到 MC3T3-E1 在重力矢量与不同取向基底共同作用下典型生物学行为和形态学特征,同时发现细胞骨架重组并发现其中的力信号感受与传导通路,对细胞的重力感受和传导机制的进一步深入研究提供了一个新的视角(国家自然科学基金资助项目(31110103918, 11072251), 国家重点基础研究发展计划项目(2011CB710904))。

参考文献:

- [1] Li Hong, et al. Effects of oriented substrates on cell morphology, the cell cycle, and the cytoskeleton in Ros 17/2.8 cells, SCIENCE CHINA, 2010, 53(9): 1085-1091.

β_2 整合素变构动力学

毛德斌, 吕守芹, 李宁, 章燕, 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;

中国科学院力学研究所生物力学与生物工程中心, 北京 100190

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

整合素作为细胞表面糖蛋白受体,介导细胞-细胞、细胞-胞外基质以及细胞-病原体间的粘附,在炎症反应、肿瘤转移和创伤愈合等许多病理生理过程中起关键作用。其中 LFA-1 (Lymphocyte function-associated antigen 1)、Mac-1 (Macrophage-1 antigen) 是表达于白细胞表面的 β_2 整合素亚家族成员,二者与表达于血管内皮细胞表面的配体 ICAM-1 之间相互作用,共同介导炎症级联反应中白细胞在血管内皮细胞上的粘附^[1]。二者功能上分工明确,以中性粒细胞为例,LFA-1 主要介导前期中性粒细胞在血管内皮细胞上的慢速滚动与稳定粘附,而 Mac-1 则专注于后期的爬