

## 生物活性材料 CS 浸提液调控人胚胎干细胞的功能

张帆<sup>1</sup>, 吕东媛<sup>1</sup>, 李海燕<sup>2</sup>, 常江<sup>3\*</sup>, 龙勉<sup>1\*</sup>

1. 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;
2. 同济大学 生物医学工程学院, 上海 200030;
3. 中国科学院上海硅酸盐研究所, 生物材料与组织工程研究中心, 上海 200050

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

**目的:**人胚胎干细胞(hESCs)是再生医学和生物医药应用的重要的潜在细胞来源。目前在体外有多种因素可以诱导 hESC 定向分化, 包括生长因子、诱导剂、抑制剂等, 其中 calcium silicate (CS) 是一种具有生物活性的硅酸钙陶瓷材料, 可以促进细胞的活性、增殖、黏附、分化和基因表达, 其富含  $\text{Si}^{2+}$  的浸提液还可以促进细胞的成骨、成血管分化。目前已知 CS 浸提液对多种干细胞都具有促进分化的作用, 但是它对 ESC 的生物学表现的影响还不清楚。**方法:**首先提取 CS 浸提液并采用 ESC 培养基进行稀释, 然后用 1/64 和 1/256 两种稀释倍率的含 CS 浸提液的培养基培养 hESCs, 在处理 3 d 和 6 d 两个时间点检测细胞的各项指标, 以确定 CS 离子产物对 hESCs 的影响。**结果:**细胞和集落形态检测显示, CS 离子不会影响 hESCs 的正常生长。细胞凋亡流式检测显示, 两种浓度下 CS 离子造成的重度凋亡细胞比例高于对照组, 但是重度凋亡细胞比例相对于有活性的细胞比例很小。而在生长前期和后期采用免疫荧光和流式检测均提示细胞凋亡是具有时间依赖性的。对细胞圆度和长宽比等形态学数据的深入分析, 可以发现细胞集落随着时间增加圆度逐渐减小, 长宽比逐渐增大。采用免疫荧光方法进一步分析细胞干性标记基因 Oct-4、Sox-2 和 Nanog 的蛋白表达水平, 发现在短时间培养条件下, CS 离子处理组集落干性基因表达水平高于对照组, 而在长时间培养条件下, CS 离子处理组细胞干性基因表达水平低于对照组。利用 qPCR 检测细胞的基因表达水平, 进一步发现 CS 离子处理抑制内胚层标记基因 Bra 和 Foxa2 的表达, 促进中胚层标记基因 Runx2 和 ALP 的表达, 而且 1/256 浓度的促进作用更明显。**结论:**从分子和细胞层面揭示了 CS 离子对 hESC 的增殖和分化的影响, 提示 CS 可作为 ESC 功能的一种潜在调节因子。(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)

## 间充质干细胞微丝结构的定量分析

孙青, 霍波

北京理工大学 宇航学院, 北京 100081;

E-mail: 1120100212@bit.edu.cn

作为细胞的重要组成部分, 细胞骨架可直接参与调控细胞的迁移、增殖、黏附、分化等生理活动。微丝聚集形成的应力纤维是细胞骨架的主要力学支撑结构, 近年来已有一些研究发现微丝结构可以随着细胞铺展形状的变化而变化, 表明细胞-基底之间的黏附力学相互作用可以决定细胞骨架的力学结构, 但尚无研究定量分析微丝结构与其黏附形状之间的关系。激光共聚焦显微镜是实验观测细胞骨架结构的主要方法, 为了得到 3 维结构, 人们通常将纵轴上的逐层扫描照片加以简单叠合, 并通过观察荧光染料的灰度分布来判断细胞骨架的大致结构, 但利用这种方法去判断骨架单根纤维的取向、分布、尺寸以及多根纤维网络之间的交联等几何参数则较为困难。基于激光共聚焦显微镜的逐层扫描照片, 建立一种图像处理方法获得微丝结构的 3 维几何参数, 并分析不同黏附形状干细