

的混合细胞悬液通过池,依据 SDF-1 和 PTH 在半透膜区域形成的趋化动力,使具有干细胞特性又高表达 CaSR 的 OPCs 逐步靠近半透膜流动,通过独立出样口收集细胞。(3)细胞活性与纯度鉴定。通过 Transwell 细胞迁移分析细胞活性功能;将分选细胞、以及分选细胞加入 OPCs 分化液培养 0、1、3 d 后细胞进行免疫染色鉴定类型。

【材料】 实验动物、微流控芯片板、SDF-1、PTH、神经细胞各表型鉴定用抗体。

【可行性】 微流控芯片初样已设计成型,细胞培养预实验已有效可行。

【创新性】 利用高表达 CaSR 的 OPCs 对 SDF-1 和 PTH 具有趋化性特征,设计独特的微流控芯片集合板,在微压力驱动下实现对 OPCs 有效快速的招募富集与分选。理论上保持了分选细胞活性与功能属性。本研究为微流控芯片在生物医学中应用即高效快速纯化 OPCs 开拓了新思路,为 OPCs 功能的深入研究提供实验依据。

关键词: 微流控芯片;少突胶质前体细胞(OPCs);钙感受受体(CaSR);干细胞趋化特性;富集分选

B-S2-6

PPAR γ 通过结合脂肪因子 Vaspin 基因启动子促进其表达

汪星朦,伍秋宁,彭孟圆;指导教师:李 希

复旦大学上海医学院 2009 级临床医学八年制

【立论依据】 内脏脂肪组织丝氨酸蛋白酶抑制剂 Vaspin 是 2005 年首次从自发性 T2DM 肥胖大鼠脂肪组织中分离得到的一种 cDNA 片段,人体内脏脂肪组织中也有表达,在代谢性疾病中起代偿作用。PPAR γ 与脂肪细胞分化和胰岛素抵抗关系密切,PPAR γ 激动剂罗格列酮能使体外培养的 3T3-L1 前体脂肪细胞 Vaspin mRNA 的表达上调。因此提出假设,PPAR γ 与 Vaspin 基因启动子上的某一基因片段结合从而发挥促进 Vaspin 表达的作用。

【设计思路】 首先测定 3T3-L1 前体脂肪细胞诱导分化过程中 PPAR γ 与 Vaspin 的蛋白表达谱,比较两者是否有相同变化趋势。然后构建 Vaspin 启动子-PGL3(含荧光报告基因)质粒和 PPAR γ -pcDNA3.1(+)质粒,转入 293 细胞,检测 PPAR γ 是否使报告基因表达。再用启动子截短试验、结合位点的核苷酸点突变结合 Gel mobility shift 和荧光报告试验确定与 Vaspin 启动子结合的位点。

【实验内容】 首先在 3T3-L1 细胞诱导分化过程的第 0、2、4、6、8 天,用蛋白质印迹法测定 PPAR γ 与 Vaspin 的蛋白表达谱。再 PCR 扩增小鼠 Vaspin 启动子-1200bp 的 DNA 序列,用 Cloning 方法构建 Vaspin 启动子-PGL3 质粒和 PPAR γ -pcDNA3.1(+)真核载体,转染入 293 细胞中,检测 PPAR γ 能否使报告基因表达,再分别加入 PPAR γ 激动剂和抑制剂,检测报告基因表达是否增加和减少。再用启动子截短试验,确定 PPAR γ 与 Vaspin 启动子结合的位置区间。最后利用结合位点的核苷酸点突变结合 Gel mobility shift 和荧光报告试验确定 PPAR γ 与 Vaspin 启动子结合的位点。

【材料】 3T3-L1 细胞,293 细胞,小鼠全基因,PGL3 质粒,pcDNA3.1(+)质粒,PPAR γ 激动剂,PPAR γ 抑制剂。

【可行性】 文献提示 PPAR γ 可能对 Vaspin 的表达起促进作用。实验平台为复旦大学分子医学教育部重点实验室,设备优良齐全。所需的各项实验技术和材料均已得到成熟广泛的应用。指导教师在脂肪细胞分化中的基因转录调控方面研究经验丰富,课题组成员具备优良的基础医学知识水平和实验操作水平。

【创新性】 目前国内外无任何研究证实 PPAR γ 对 Vaspin 的表达有直接促进作用,也无相关机制的报道。本实验成果不仅是 Vaspin 表达机制的新发现,还是对 PPAR γ 功能的新补充,能够为 2 型糖尿病和肥胖等代谢性疾病的预测和治疗提供新靶点。

关键词: Vaspin; PPAR γ ; 2 型糖尿病;肥胖;代谢性疾病