论著

文章编号:1000-5404(2013)10-0938-05

DISC1基因过表达对星形胶质细胞质膜伸展的影响

刘淑宝,田衍平,陈显军,吴锡艳,肖 岚 (400038 重庆,第三军医大学基础医学部组织学与胚胎学教研室)

[摘要] **目的** 构建精神分裂症断裂基因1(Disrupted-In-Schizophrenia 1,DISC1)蛋白表达质粒,检测其过表达后对星形胶质细胞(Astrocytes,ASTs)质膜伸展的影响。**方法** 针对小鼠DISC1基因mRNA编码序列,设计合成可扩增全长引物;以小鼠脑白质cDNA为模板进行PCR扩增,构建全长表达质粒,命名为pEGFP-n1-DISC1。分别将过表达组pEGFP-n1-DISC1和空载体对照组pEGFP-n1电转染原代培养ASTs,以Western blot及免疫荧光染色检测DISC1-GFP融合蛋白的表达,利用Image-Pro Plus 5.0软件分析对照组与DISC1过表达组星形胶质细胞质膜伸展面积的大小。**结果** 成功从cDNA中扩增出DISC1编码序列并插入pEGFP-n1载体,双酶切和测序结果证实,DISC1蛋白编码序列插入载体,并能正确读码翻译。构建质粒转染ASTs 60 h后,可见DISC1-GFP融合蛋白表达;与对照组相比,DISC1过表达组ASTs的质膜伸展面积明显增加($P<0.05$)。**结论** 成功构建小鼠DISC1全长基因表达载体,DISC1基因过表达后可促使ASTs质膜伸展面积增加。

[关键词] 精神分裂症断裂基因1;真核表达质粒;星形胶质细胞;质膜伸展
[中图法分类号] R329.24;R394-33;R394.2 [文献标志码] A

Effect of DISC1 overexpression on membrane expansion of astrocytes

Liu Shubao, Tian Yanping, Chen Xianjun, Wu Xiyan, Xiao Lan (Department of Histology and Embryology, College of Basic Medical Sciences, Third Military Medical University, Chongqing, 400038, China)

[**Abstract**] **Objective** To construct an expression plasmid vector carrying disrupted-in-schizophrenia 1 (DISC1) gene, and to determine the effect of DISC1 overexpression on membrane expansion of astrocytes. **Methods** Primers for the full-length of mouse DISC1 gene was designed and synthesized. The coding sequence of DISC1 gene was amplified by PCR from cDNA reversed from mouse white matter RNA, and then was inserted into a vector pEGFP-n1 using recombinant DNA technique. After verified by enzyme digestion and DNA sequencing, the recombinant plasmid named pEGFP-n1-DISC1 (DISC1 overexpression group) and the empty control pEGFP-n1 vector (control group) were transferred into astrocytes by electroporation, respectively. The expression of DISC1-GFP fusion protein in astrocytes was detected by Western blotting and immunofluorescent staining. The membrane expansion of astrocytes in the DISC1 overexpression group and control group were determined by analyzing the extended area of astrocytes with software Image-Pro Plus 5.0. **Results** The enzyme digestion and DNA sequencing confirmed that the coding sequence of mouse DISC1 was consistent with that in GenBank. The DISC1 was cloned into pEGFP-n1 vector in a right direction and named as pEGFP-n1-DISC1. The recombinant and control plasmids were effectively transferred into astrocytes with 40% of cells emitting green fluorescence after 60 h of transfection. The expression of DISC1 was only observed in cells transfected with pEGFP-n1-DISC1, and the membrane extended area of the DISC1 overexpression group significantly increased as compared with that of the control group ($P<0.05$). **Conclusion** An exogenous expression plasmid vector carrying mouse DISC1 is successfully constructed, and DISC1 overexpression may induce the membrane expansion of astrocytes.

[**Key words**] disrupted-in-schizophrenia 1; eukaryotic expression plasmid; astrocytes; membrane expansion

Supported by the National Natural Science Foundation of China (81071084) and the Natural Science Foundation of Chongqing (CSTC2011BA5006).
Corresponding author: Xiao Lan, E-mail: xiaolan35@hotmail.com

[基金项目] 国家自然科学基金(81071084);重庆市自然科学基金(CSTC2011BA5006)
[通信作者] 肖 岚,E-mail:xiaolan35@hotmail.com
[优先出版] http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20130325.0917.008.html (2013-03-25)

精神分裂症断裂基因1(disrupted-In-Schizophrenia 1, DISC1)因在患精神疾病的苏格兰人家系中发现染色体易位(1,11)(q42;q14.3)导致该基因断裂而得名[1],被认为是精神分裂症的主要的易感基因。DISC1全长蛋白有多个功能结构域[2],与多个信号通路的200多个蛋白分子有直接或间接的结合[3-5],参与调节细胞的增殖、分化、迁移等生理活动。目前DISC1在中枢神经系统作用的研究主要集中在对神经元发生(neural genesis)和神经元突触发育[6-7],以及该蛋白在神经元和细胞系内的亚细胞定位方面[8]。近期研究[9]发现精神分裂症患者存在脑室扩大和胼胝体发育不全,这说明患者的脑白质发育异常。我们前期预实验发现了新生及成年大鼠脑白质中DISC1 mRNA的表达差异,提示DISC1在脑白质的发生发育中有重要的调节作用。而基因过表达或基因表达抑制不失为研究DISC1作用的有效途径之一。为此,本研究拟从新生C57小鼠胼胝体提取mRNA,构建DISC1外源表达质粒,通过转染原代培养的ASTs,初步检测分析过表达DISC1蛋白对ASTs质膜伸展面积的影响,同时也为后续研究DISC1基因在脑白质中的作用提供有力的工具和一定的理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

细胞培养基(DMEM/F12、胎牛血清)购自Hyclone公司;小鼠抗GFP抗体购自碧云天公司,鼠抗DISC1抗体、鼠抗β-actin抗体及HRP标记抗小鼠二抗体购自Santa Cruz公司;Alexa568-标记驴抗小鼠荧光二抗和ECL显影试剂盒购购自Invitrogen公司;电转仪及电转杯购自Lonza公司;RNA提取试剂购自OMEGA公司,反转录试剂、T_4 DNA连接酶及高保真DNA聚合酶购购自TaKaRa公司,PCR引物由上海英俊公司合成;pEGFP-n1购自碧云天生物公司;限制性内切酶*Eco*RⅠ、*Xho*Ⅰ为Fermentas公司产品。

1.2 方法

1.2.1 小鼠大脑胼胝体区RNA提取,逆转录cDNA 取新生P1清洁级C57小鼠3只(第三军医大学实验动物中心),37 ℃温育的生理盐水心脏灌注,取出胼胝体区脑组织,根据OMEGA RNA提取试剂盒方法步骤提取RNA,测浓度后电泳鉴定RNA完整性。逆转录RNA成cDNA,逆转体系:RNA 1 μg,Oligo(dT) 2 μL,ddH_2O补充体积至13.5 μL,混匀,离心,70 ℃ 10 min,立即冰水浴,2 min,5×M-MLV Buffer 4 μL,dNTP 10 mmol/L 2 μL,M-MLV 0.5 μL,总体积20 μL,混匀,离心;反应条件:30 ℃ 10 min→42 ℃ 60 min→75 ℃ 15 min→4 ℃ End。-20 ℃保存cDNA。用β-actin引物PCR反应检测反转录cDNA质量,反应体系:ddH_2O 12.2 μL,PCR Buffer 2 μL,$MgCl_2$ 1.2 μL,dNTPs 0.8 μL,上、下引物各0.8 μL,*Taq*酶0.2 μL,cDNA 2 μL,总体积20 μL。反应条件:94 ℃ 4 min→94 ℃ 30 s→58 ℃ 30s→72 ℃ 30 s×36循环→72 ℃ 10 min,4 ℃保存。1.5%琼脂糖凝胶电泳鉴定。

1.2.2 PCR扩增DISC1全长基因、双酶切鉴定、纯化 DISC1全长基因扩增引物为:含有*Eco*RⅠ酶切位点的上游引物:5′-CCGCTCGAGATGCAGGGCGGGGGTCC-3′,含有*Xho*Ⅰ酶切位点的下游引物:5′-GGAATTCGGGCCTCGGTTTCCTGAGCAC-3′。反应体系:Pyrobest DNA Polymerase(5 U/μL)0.25 μL,10×Pyrobest BufferⅡ 5 μL,dNTP Mixture 4 μL,模板cDNA 200 ng,上游引物2 μL,下游引物2 μL,灭菌蒸馏水34.75 μL。总体积50 μL。反应条件:94 ℃ 4 min,94 ℃ 30 s→72 ℃ 3 min ×5循环,94 ℃ 30 s→70 ℃ 30 s→72 ℃ 2 min 50 s×5循环,94 ℃ 30 s→68 ℃ 30 s→72 ℃ 2 min 50 s×5循环,94 ℃ 30 s→65 ℃ 30 s→72 ℃ 2 min 50 s×20循环,72 ℃ 10 min,4 ℃保存。PCR产物纯化后,*Eco*RⅠ、*Xho*Ⅰ双酶切,DISC1 PCR产物酶切体系:DISC1 30 μL,H_2O 4 μL,*Eco*RⅠ 3 μL,*Xho*Ⅰ 3 μL,Buffer Tango 10 μL,总体积50 μL。载体pEGFP-n1 Vector双酶切体系:pEGFP-n1 30 μL,H_2O 4 μL,*Eco*RⅠ 3 μL,*Xho*Ⅰ 3 μL,Buffer Tango 10 μL,总体积50 μL。37 ℃孵育过夜。胶回收纯化试剂盒OMEGA Gel Extraction纯化DISC1及pEGFP-n1 Vector。

1.2.3 纯化后酶切产物连接、转化、鉴定 用T_4 DNA Ligase连接DISC1和pEGFP-n1 vector酶切产物,连接体系:DISC1 5 μL,pEGFP-n1 1 μL,10×T_4 Ligation Buffer 1 μL,T_4 DNA Ligase 1 μL,H_2O 2 μL,总体积10 μL,16 ℃孵育16 h。转化细菌具体方法:将10 μL连接产物加入100 μL感受态细菌JM109中,冰上放置30 min,42 ℃热击90 s,立即置于冰上5 min,加入1 mL LB液体培养基,37 ℃培养1 h,离心后的细菌涂于Kan^+ LB固体培养基上,37 ℃孵育12~16 h,挑取单克隆菌落接种于5 mL Kan^+ LB液体培养基中,37 ℃培养12~14 h。采用OMEGA质粒提取试剂盒EZNA Plasmind Mini *Kit*Ⅰ提取质粒,经*Eco*RⅠ、*Xho*Ⅰ双酶切,1%琼脂糖凝胶电泳鉴定,阳性克隆测序并采用ClustalX2软件比对分析。取测序结果正确的菌液接种于50 mL Kan^+ LB液体培养基37 ℃培养12~14 h,Qiagen去内毒素质粒提取试剂盒QIAGEN Plasmid Plus Midi Kit提取质粒。

1.2.4 星形胶质细胞培养和细胞转染 原代星形胶质细胞(Astrocytes,ASTs)培养和电转均依照本教研室方法[10]进行,从新生大鼠(P0~3)脑组织中分离纯化出的ASTs用10%胎牛血清DMEM/F12培养基,5% CO_2、37 ℃培养箱孵育培养。待细胞铺满近90%瓶底时胰酶消化,传代并将pEGFP-n1-DISC1质粒(过表达组)以及对照空质粒pEGFP-n1(空质粒对照组)分别电转染ASTs细胞(应用Lonza公司Nucleofector® I Device A-33程序),每10^5细胞使用1 μg质粒,同时加未转染野生型(Wild ASTs)组,并根据实验需要将细胞按密度为10^5/mL接种于60 mm培养皿和24板玻片。

1.2.5 Western blot和免疫荧光染色检测DISC1表达 细胞

转染60 h后,用RIPA裂解液裂解,提取总蛋白。取35 μg总蛋白进行SDS-Page电泳,湿转法转至PVDF膜,分别加入小鼠抗GFP(1∶1 000)、小鼠抗DISC1(1∶1 000)和小鼠抗β-actin(1∶1 000),4 ℃过夜,PBST漂洗后入HRP标记山羊抗小鼠IgG二抗(1∶1 000)室温3 h,ECL试剂盒显色。

转染60 h后取出玻片,4%多聚甲醛固定15 min,0.01 mol/L PBS漂洗后用1% BSA封闭1 h,加入一抗DISC1(1∶200)4 ℃过夜,PBS漂洗后入加Alexa568-标记二抗(1∶1 000),37 ℃ 2 h,细胞核用DAPI(0.5 μg/mL)染色10 min,漂洗封片,荧光显微镜(NIKON90i,日本Nikon公司)200×采集图像。

1.2.6 DISC1过表达对ASTs形态变化的观察 荧光显微镜下(400×)分别对转染空质粒对照和DISC1过表达质粒的ASTs观察照相,同时相差显微镜下(400×)对野生型ASTs照相($n=9$),利用Image-Pro Plus 5.0软件,分别对各种ASTs的质膜伸展面积进行量化分析。

1.3 统计学分析

采用SPSS 13.0统计软件进行单因素方差分析和t检验。数据以$\bar{x}\pm s$表示。

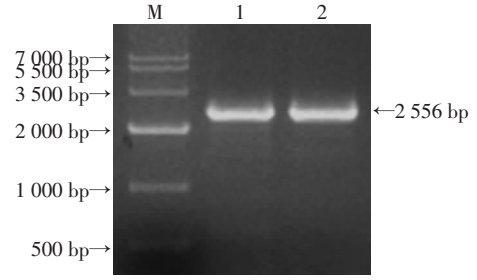
2 结果

2.1 小鼠大脑胼胝体区提取RNA的鉴定

水溶RNA液体超微量核酸蛋白测定仪(NanoDrop® ND-1000 Spectrophotometer)测得提取RNA浓度为1 200 ng/μL,260/280=1.96;琼脂糖凝胶电泳显示所提取的RNA含有有完整的5.8S、18S、28S 3个条带。用β-actin引物PCR反应检测反转录cDNA,检测显示β-actin条带单一明亮。说明胼胝体RNA提取以及cDNA反转录成功。

2.2 DISC1基因目的片段的扩增及其与pEGFP-n1 Vector双酶切鉴定

PCR扩增DISC1,PCR产物电泳结果见图1,条带单一明亮,大小约为2 500 bp。纯化后的PCR产物与pEGFP-n1载体同时经*Eco*RⅠ和*Xho*Ⅰ双酶切12 h后,检测显示DISC1基因目的片段,大小为2 556 bp,pEGFP-n1质粒线性化条带,大小为4 700 bp。胶回收后超微量核酸蛋白测定仪定量测浓度,DISC1基因目的片段浓度120 ng/μL,pEGFP-n1载体浓度136 ng/μL,准备连接。

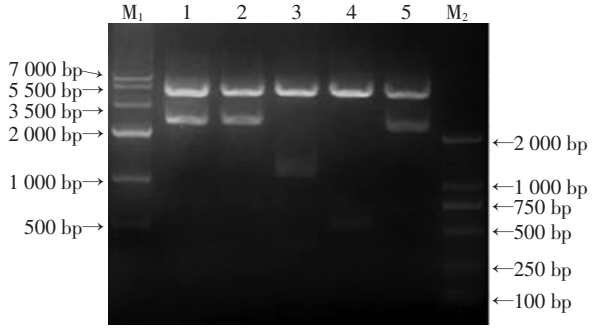


M:DNA标准(500~7 000 bp);1、2:2组DISC1 PCR相同处理作重复

图1 DISC1全长PCR扩增及载体酶切图

2.3 DISC1全长表达载体的构建及鉴定

随机挑取5个转化的菌落提取质粒,用*Eco*RⅠ、*Xho*Ⅰ双酶切12 h,电泳鉴定结果见图2。5个单克隆菌落中有3个切出DISC1目的条带大小为2 500 bp左右,同时在4 700 bp左右有载体条带,与线性化的pEGFP-n1载体大小一致。说明DISC1目的条带与载体连接正确。测序结果显示1号单克隆目的片段与NCBI数据库DISC1基因序列完全相同,将所得质粒命名为pEGFP-n1-DISC1。

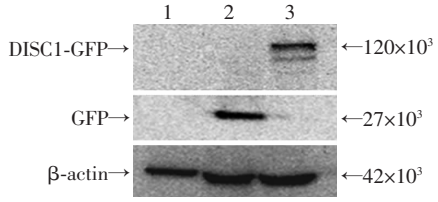


M1:DNA标准(500~7 000 bp);1~5:单克隆菌落提取质粒;M2:DNA标准(100~2 000 bp)

图2 *Eco*RⅠ、*Xho*Ⅰ双酶切鉴定单克隆质粒

2.4 DISC1-GFP融合蛋白在ASTs中的表达

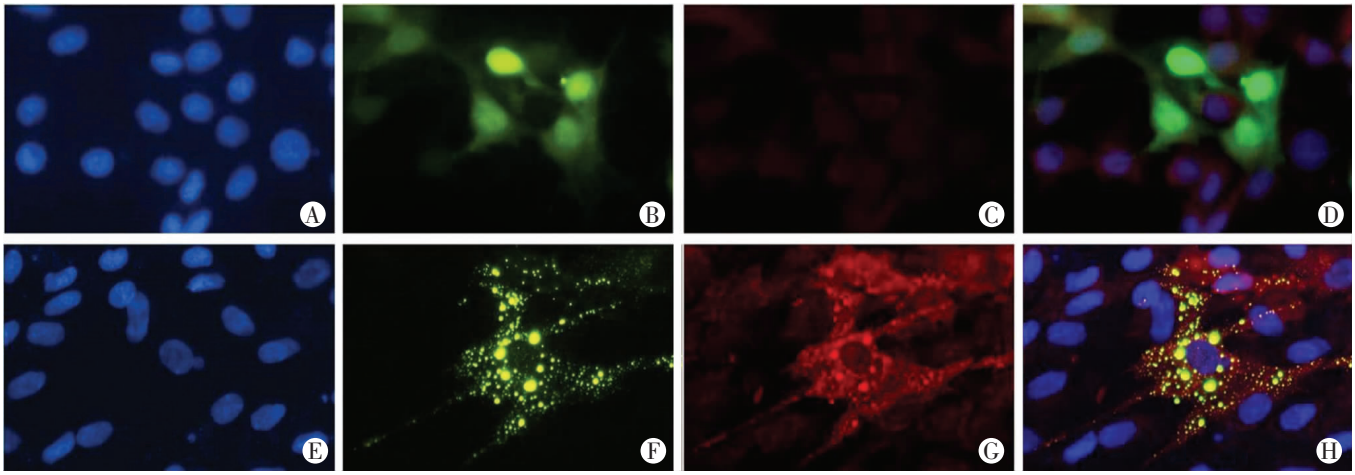
采用转染pEGFP-n1空质粒的ASTs细胞和未转染质粒的野生型ASTs细胞作为对照。结果显示pEGFP-n1 DISC1和空载体转染ASTs 60 h后均能见绿色荧光,荧光细胞约占总细胞数的40%,即转染效率约为40%。Western blot结果显示,仅pEGFP-n1-DISC1转染细胞有DISC1的表达,相对分子质量为120×10^3,是DISC1(92.5×10^3)与GFP(27×10^3)融合蛋白的大小;而在27×10^3处只有空质粒对照组有GFP蛋白表达,野生型组和pEGFP-n1-DISC1融合蛋白组没有条带;同时内参β-actin都有表达。结果说明我们构建的质粒成功表达出小鼠DISC1与GFP融合蛋白,见图3。



1:野生型组;2:空质粒对照组;3:DISC1-GFP融合蛋白组

图3 Western blot检测ASTs中外源DISC1-GFP蛋白的表达

同时DISC1免疫荧光染色显示仅转染pEGFP-n1-DISC1质粒的细胞标有DISC1阳性荧光,并且与绿色荧光共标,见图4。进一步证明发有绿色荧光的蛋白就是DISC1-GFP融合蛋白DISC1过表达组。

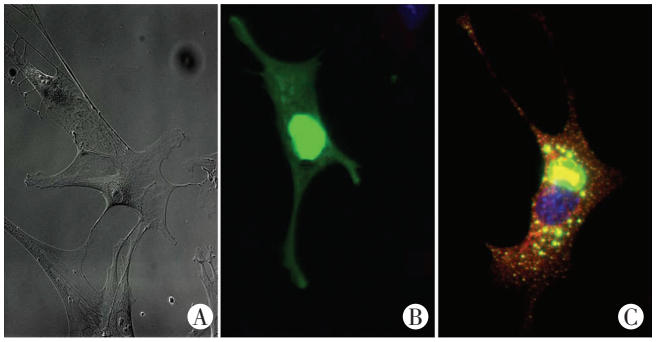


A～D:空质粒对照组;E～H:DISC1-GFP融合蛋白组;A、E:DAPI;B、F:GFP;C、G:DISC1;D、H:合成图

图4 免疫荧光染色检测ASTs中表达的外源DISC1-GFP蛋白 (×200)

2.5 DISC1蛋白对星形胶质细胞质膜伸展面积的影响

转染DISC1表达质粒60 h后,显微镜下观察显示:DISC1过表达组的星形胶质细胞质膜伸展面积较对照组偏大,见图5。进一步对ASTs质膜面积测量分析,结果显示:野生型组[(1 104.9±278.6) μm^2]和转染对照质粒组[(1 242.6±239.4) μm^2]星形胶质细胞质膜伸展面积明显低于DISC1蛋白过表达组[(1 853.1±322.5) μm^2, $P<0.05$],而野生型组与空质粒对照组之间无统计学差异($P>0.05$)。说明DISC1蛋白过表达可导致星形胶质细胞质膜伸展面积增大。



A:野生型组(相差显微镜);B:空质粒对照组(荧光显微镜);C:DISC1蛋白过表达组(荧光显微镜)

图5 各组星形胶质细胞质膜伸展面积的差异 (×400)

3 讨论

DISC1基因作为精神分裂症主要易感因素之一,研究其在神经系统中的作用有重要意义。早期研究[11]显示大脑内DISC1在海马齿状回、皮层和纹状体等区域都有表达。中枢神经系统中,对DISC1蛋白分子功能的认识大多集中在对神经元及其前体细胞作用的研究;Mao等[12]发现DISC1蛋白在神经前体细胞中通过调节GSK-3β的活性,参与Wnt信号通路,维持神经前体细胞的增殖;同时也有研究[13-14]表明DISC1蛋白可以与磷酸化的DIXDC1结合,经过磷酸化的DIXDC1不但可以与DISC1相互作用,也可以与NDEL1蛋白结合,进而形成DISC1/Dixdc1/Ndel1三蛋白分子复合体,参与调控神经元的迁移。最近Lepagnol-Bestel等[15]发现在DISC1基因第7个外显子内加入终止密码的转基因小鼠,所表达的变异蛋白主要定位于与高尔基体相关的囊泡,并且能够影响神经元轴突、树突和树突棘的生长。这说明DISC1蛋白在神经元的发生与发育中的作用至关重要。近年来发现精神分裂症患者脑白质或少突胶质细胞发育异常[16-17],探讨DISC1对脑白质(主要包括少突胶质细胞和星形胶质细胞)的作用逐渐引起人们的关注,而DISC1体外表达系统的建立对于探讨DISC1的功能有重要的辅助作用。

在本研究中,小鼠来源的DISC1开放阅读框长度有2 556 bp,由于DISC1起始密码子和终止密码子位置GC含量特别高,尤其是起始密码子位置正义链引物GC含量高达76.5%,高GC含量的引物导致从cDNA中PCR扩增2 500多的目的片段非常困难,因此,本研究采用多步循环梯度降低退火温度的方式,先在较高退火温度的条件下非常特异的使DISC1开放阅读框片段富集到一定的量,然后再在合适的退火温度条件下大量扩增目的片段,这样提高DISC1目的片段的产量,减少了其他的杂带产物。在电转染ASTs时,我们结合本实验室前期工作,对Lonza公司的Nucleofector Ⅰ Device T-20等程序进行比较,发现A-33程序更有利于转染ASTs,转染效率在40%左右,基本达到预期。

人类 DISC1 基因由 13 个外显子组成,编码 854 氨基酸残基[1],相对分子质量为 93.6×10^3。本研究通过 NCBI 数据库发现,小鼠的 DISC1 基因同样含有 13 个外显子,编码 852 氨基酸残基,相对分子质量为 92.5×10^3。通过序列比对发现小鼠的与人类的 DISC1 基因同源性达 83%,多个功能结构域的氨基酸序列高度保守。因此本研究自行设计引物,克隆出小鼠 DISC1 全长片段,并通过 *Bam*HⅠ和 *Hind*Ⅲ双酶切电泳鉴定该片段大约 2 500 bp,测序结果显示图 2 中 1 号单克隆目的片段没有出现点突变及移码突变。通过转染星形胶质细胞,证明 DISC1-GFP 融合蛋白表达质粒构建成功,进一步研究结果显示 DISC1 蛋白过表达后,促使星形胶质细胞质膜伸展面积增大,可能是激活了星形胶质细胞的应激反应,引起细胞过度伸展;这跟 Enomoto 等[18]发现的 DISC1 与肌动蛋白结合蛋白(Girdin)相互作用促进神经元轴突形成的效应相类似;而 DISC1 在星形胶质细胞中是否是也参与了该分子通路,以及 DISC1 蛋白表达是不是引起星形胶质细胞应激反应的因素之一,还有待于进一步研究。

总之,本研究从 C57 小鼠脑组织胼胝体区提取出完整的 DISC1 mRNA,完成 pEGFP-n1-DISC1 外源表达质粒的构建,成功表达出 DISC1-GFP 融合蛋白,并发现 DISC1 蛋白过表达后星形胶质细胞的伸展面积增大,由此引起的细胞生理效应还需要后续研究进一步探讨。

参考文献:

[1] Millar J K, Wilson-Annan J C, Anderson S, *et al*. Disruption of two novel genes by a translocation co-segregating with schizophrenia[J]. Hum Mol Genet, 2000, 9(9): 1415-1423.

[2] Namba T, Kaibuchi K. Switching DISC1 function in neurogenesis: Dixdc1 selects DISC1 binding partners[J]. Dev Cell, 2010, 19(1): 7-8.

[3] Karam C S, Ballon J S, Bivens N M, *et al*. Signaling pathways in schizophrenia: emerging targets and therapeutic strategies[J]. Trends Pharmacol Sci, 2010, 31(8): 381-390.

[4] Wexler E M, Geschwind D H. DISC1: a schizophrenia gene with multiple personalities[J]. Neuron, 2011, 72(4): 501-503.

[5] Wu Q, Li Y, Xiao B. DISC1-related signaling pathways in adult neurogenesis of the hippocampus[J]. Gene, 2013, 518(2): 223-230.

[6] Bradshaw N J, Porteous D J. DISC1-binding proteins in neural development, signalling and schizophrenia[J]. Neuropharmacology, 2012, 62(3): 1230-1241.

[7] Jaaro-Peled H, Hayashi-Takagi A, Seshadri S, *et al*. Neurodevelopmental mechanisms of schizophrenia: understanding disturbed postnatal brain maturation through neuregulin-1-ErbB4 and DISC1[J]. Trends Neurosci, 2009, 32(9): 485-495.

[8] Malavasi E L, Ogawa F, Porteous D J, *et al*. DISC1 variants 37W and 607F disrupt its nuclear targeting and regulatory role in ATF4-mediated transcription[J]. Hum Mol Genet, 2012, 21(12): 2779-2792.

[9] Osbun N, Li J, O'Driscoll M C, *et al*. Genetic and functional analyses identify DISC1 as a novel callosal agenesis candidate gene[J]. Am J Med Genet A, 2011, 155A(8): 1865-1876.

[10] 王凌云, 田衍平, 牛建钦, 等. Cx43 基因干扰对大鼠星形胶质细胞谷氨酸基础释放的影响[J]. 第三军医大学学报, 2012, 34(8): 701-704.

[11] Lipska B K, Peters T, Hyde T M, *et al*. Expression of DISC1 binding partners is reduced in schizophrenia and associated with DISC1 SNPs[J]. Hum Mol Genet, 2006, 15(8): 1245-1258.

[12] Mao Y, Ge X, Frank C L, *et al*. Disrupted in schizophrenia 1 regulates neuronal progenitor proliferation *via* modulation of GSK3beta/beta-catenin signaling[J]. Cell, 2009, 136(6): 1017-1031.

[13] Singh K K, Ge X, Mao Y, *et al*. Dixdc1 is a critical regulator of DISC1 and embryonic cortical development[J]. Neuron, 2010, 67(1): 33-48.

[14] Koike H, Arguello P A, Kvajo M, *et al*. Disc1 is mutated in the 129S6/SvEv strain and modulates working memory in mice[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2006, 103(10): 3693-3697.

[15] Lepagnol-Bestel A M, Kvajo M, Karayiorgou M, *et al*. A Disc1 mutation differentially affects neurites and spines in hippocampal and cortical neurons[J]. Mol Cell Neurosci, 2013, 54: 84-92.

[16] Wood J D, Bonath F, Kumar S, *et al*. Disrupted-in-schizophrenia 1 and neuregulin 1 are required for the specification of oligodendrocytes and neurones in the zebrafish brain[J]. Hum Mol Genet, 2009, 18(3): 391-404.

[17] Flynn S W, Lang D J, Mackay A L, *et al*. Abnormalities of myelination in schizophrenia detected *in vivo* with MRI, and post-mortem with analysis of oligodendrocyte proteins[J]. Mol Psychiatry, 2003, 8(9): 811-820.

[18] Enomoto A, Asai N, Namba T, *et al*. Roles of disrupted-in-schizophrenia 1-interacting protein girdin in postnatal development of the dentate gyrus[J]. Neuron, 2009, 63(6): 774-787.

(**收稿**:2013-01-19;**修回**:2013-02-25)

(编辑 吴培红)