DOI:10.16016/j.1000-5404.2003.20.004

融合蛋白,借助于荧光蛋白间接地显示目的基因,从而研究目的基因对组织、细胞的生理作用[2,3]。但采用融合蛋白等技术研究基因功能时,将可能带入外来目的基因,这与细胞的正常生理状态存在差异,过多的外来基因可能干扰细胞的生理活动,因而不能很好地反映活细胞正常的生理活动,并可能导致研究结果的偏差[3]。由于基因 DNA 转录的启动需要蛋白与其启动子的特异性结合,因而启动子的活性能够反映基因蛋白的表达状况,利用这个原理,本研究将 Bmp4 的启动子与本身无启动子的红色荧光蛋白连接,用 Bmp4 的启动子来启动荧光蛋白的表达,间接地反映 Bmp4 蛋白在神经干细胞的表达情况,获得了较为满意的结果,出现了较多红色荧光蛋白阳性细胞,不仅实现了活体荧光标记,而且能较好地反映正常情况下内在蛋白的表达情况。

以 Bmp4 代表的骨形成蛋白家族是影响神经发育的重要基因组之一,从神经板的诱导到神经系统发育成熟的不同时期、不同脑区,Bmps 均起着相当重要的作用[4,5]。本实验结果表明,从 SVZ 和皮层分离的神经干细胞均有较高的 Bmp4 启动子活性,荧光蛋白阳性率分别达到 8.6%和 2.2%,如果再参照质粒转染效率(我们采用 GFP 作为阳性对照,转染效率约为 26%,结果未显示),即在转染成功的 SVZ 神经干细胞中有近 1/3 的细胞表达荧光蛋白,有接近 9%的皮层神经干细胞表达荧光蛋白,这显示在 SVZ 和皮层均有较高的 Bmp4 表达。SVZ 神经干细胞 Bmp4 启动子的活性明显高于皮层,表明 Bmp4 在 SVZ 神经干细胞发育过程中起着更为重要的作用。由于 SVZ 在出生后乃至成年依旧存在大量神经干细胞,因此本实验从新生小鼠 SVZ 分离的干细胞的纯度要高于皮层,也可能是 SVZ 神经干细胞分化过程中 Bmp4 启动子活性更高的原因之一。

目前 Bmp4 诱导神经干细胞分化的报道来看,大多倾向于使干细胞向星形胶质细胞分化,但在某些区域如神经嵴却是例外,Bmp4 促使干细胞向交感神经元分化[6~9]。本实验结果表明,在 SVZ 神经干细胞,Bmp4 启动子活性与干细胞向神经元分化高度相关,相关系数达到 0.805($P<0.05$),而在皮层却不明显,这显示 Bmp4 在 SVZ 神经干细胞分化为神经元过程中的独特作用。Bmp4 影响 SVZ 神经干细胞向神经元分化的原因尚不清楚,存在以下两种可能,一为 Bmp4 直接促进神经干细胞向神经元分化,另一可能为 Bmp4 促使干细胞退出细胞分裂周期,由于从 SVZ 分离的细胞中含有较多已定向神经元的祖细胞,因而退出细胞分裂周期可以增加成熟神经元的分化比例[3]。根据 Mckay 的观点,Bmp 可以调节干细胞增殖和分化之间的平衡,Bmp 与 1A 受体结合产生增殖作用,1A 受体激活的同时启动 1B 受体的表达,当 1B 受体超过 1A 受体时,促使神经前体细胞退出细胞周期分化为成熟神经细胞,而本实验结果亦似乎支持这种观点,在 SVZ 神经干细胞表达高浓度的 Bmp4,较早启动 1B 受体的激活,使之退出细胞周期分化为神经元[3]。

参考文献:

[1] 周德山,蔡文琴.干细胞基础与应用研究的一些进展[J].第三军医大学学报,2003,25(1):1-3.

[2] Horn C, Schmid B G, Pogoda F S, *et al*. Fluorescent transformation markers for insect transgenesis[J]. Insect Biochem Mol Biol, 2002, 32(10): 1221-1235.

[3] Spergel D J, Kruth U, Shimshek D R, *et al*. Using reporter genes to label selected neuronal populations in transgenic mice for gene promoter, anatomical, and physiological studies[J]. Prog Neurobiol, 2001, 63(6): 673-686.

[4] Panchision D M, McKay R D. The control of neural stem cells by morphogenic signals[J]. Curr Opin Genet Dev, 2002, 12(4): 478-487.

[5] Faure S, de Santa Barbara P, Roberts D J, *et al*. Endogenous patterns of BMP signaling during early chick development[J]. Dev Biol, 2002, 244(1): 44-65.

[6] Gomes W A, Mehler M F, Kessler J A. Transgenic overexpression of Bmp4 increases astroglial and decreases oligodendroglial lineage commitment[J]. Dev Biol, 2003, 255(1): 164-177.

[7] Bronner F M. Molecular analysis of neural crest formation[J]. J Physiol Paris, 2002, 96(1-2): 3-8.

[8] Ohnemus S, Kanzler B, Jerome M L A, *et al*. Aortic arch and pharyngeal phenotype in the absence of BMP-dependent neural crest in the mouse[J]. Mech Dev, 2002, 119(2): 127-135.

[9] Coskun V, Venkatraman G, Yang H, *et al*. Retroviral manipulation of the expression of bone morphogenetic protein receptor Ia by SVZa progenitor cells leads to changes in their p19(INK4d) expression but not in their neuronal commitment[J]. Int J Dev Neurosci, 2001, 19(2): 219-227.

(编辑　王　红)

离心机转速的写法及相对离心力的正确表示

有的作者将离心机转速用 rpm 表示,这已是非法定单位写法了。正确的写法是:当低速离心时用 r/min 表示;当高速或超速离心时用相对离心力"×g"表示,g 是斜体,前面是乘号。

本刊编辑部

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net