

体细胞分化率为 75%, 较未进行基因转染的 MESPU13 的分化率 86% 明显降低。MES/EGFP 无血清培养基诱导 5 d 后的 NPCs 中只有约 20% 表达明显的绿色荧光, 其余神经前体细胞 nestin 免疫组织化学染色呈阳性而不发明显的绿色荧光。

通过无血清诱导的途径可将 ES 细胞定向分化为高纯度的神经前体细胞。NPCs 脑内移植后能发生广泛迁移^[2], 如何追踪移植的 NPCs 并观察其分化状态成为细胞移植中急需解决的问题。常规采用的方法是对移植细胞进行标记, 包括^[3,4]: 1. 细胞核标记, 如 BrdU 标记, 但 BrdU 随着细胞的分裂信号会减弱; 2. 胞浆标记, 其潜在问题可能是染色受体细胞被标记而造成假象, 随时间推移染色信号减弱; 3. 细胞膜相关标记, 其缺点是必须使用免疫抑制剂, 否则跨种系的移植不容易存活。

采用基因转染将 EGFP 整合入 ES 细胞系的染色体使其表达绿色荧光, 而后将其诱导为发绿色荧光的 NPCs 进行移植, 利用绿色荧光标记及神经元和胶质细胞特异性细胞标记 (如 α -tubulin 和 GFAP) 的免疫双荧光染色可以较为方便地追踪和分析移植细胞的迁移和分化^[5,6]。本实验发现, 表达绿色荧光蛋白的 ES 细胞诱导为神经前体细胞后, 虽然 75% 的细胞仍然为 nestin 阳性的神经前体细胞, 但

其中只有 20% 左右的神经前体细胞发出绿色荧光, 提示细胞的分化可能会导致绿色荧光蛋白的表达下降。如果进一步采用流式细胞仪或免疫磁珠筛选表达绿色荧光的 NPCs, 可望解决这一问题。

参 考 文 献

- [1] Teng L, Zhang C, You J, et al. The labeling of C57BL/6j derived embryonic stem cells with enhanced green fluorescent protein[J]. Chin Med J, 2003, 116(1): 151-153.
- [2] Herrlinger U, Woiciechowski C, Senar Esteves M, et al. Neural precursor cells for delivery of replication-conditional HSV-1 vectors to intracerebral gliomas[J]. Molecular Therapy, 2000; 1, (4): 347-357.
- [3] Lime DA, Flames N, Collado L, et al. Investigating the use of primary adult subventricular zone neural precursor cells for neural replacement therapies[J]. Brain Res Bul, 2002, 57(6): 759-764.
- [4] Peschanski M. Identifying Grafted Cells. In: Dunnett SB, Bjorklund A, eds. Neural Transplantation [M]. London: Oxford University Press, 1992: 177-201.
- [5] Hadjantonakis AK, Gertsenstein M, Ikawa M, et al. Generating green fluorescent mice by germline transmission of green fluorescent ES cells [J]. Mech Dev, 1998, 76(1-2): 79-90.
- [6] Lenka N, Lu Z, Sasse P, et al. Quantitation and functional characterization of neural cells derived from ES cells using nestin enhancer-mediated targeting *in vitro* [J]. J Cell Sci, 2002, 115(5): 1471-1485.

(编辑 安晓意)

研究通讯 ·

锯缘青蟹视神经节存在雄激素受体

叶海辉^{1,2*} 黄辉洋¹ 李少菁¹ 王桂忠¹ 李祺福²

(1. 厦门大学海洋系, 厦门 361005; 2. 厦门大学生命科学学院细胞生物学研究室, 厦门 361005)

[中图分类号] Q421 [文献标识码] D [文章编号] 0529-1356(2004)05-547

性类固醇激素在甲壳动物的分布已有报道, 迄今已从对虾、沼虾、龙虾、蟹类的卵巢、肝胰腺和血淋巴中检测出雌二醇、孕酮和睾酮, 但有关性类固醇激素的受体分布及其反馈调节尚未见诸报道。本研究对锯缘青蟹视神经节做石蜡切片, 微波抗原修复后进行免疫组织化学显色 (SABC 法, 一抗为鼠抗雄激素受体 1:100, 中山公司; 二抗、三抗均为 1:100,

博士德公司)。光镜下观察, 在视神经节发现雄激素受体阳性神经元, 棕色的阳性反应颗粒多数定位于胞质, 少数定位于胞核。阳性神经元在视外髓、视内髓的细胞体群和视端髓的 X 器官内均有发现, 视外髓的纤维网也呈强阳性反应。视神经节内的 X 器官合成甲壳动物高血糖素家族激素, 参与蜕皮、生殖、血糖浓度调节等生理过程, 是一个重要的神经分泌中心。本实验首次发现了视神经节存在雄激素受体, 这一结果提示, 视神经节是雄激素作用的靶器官, 为甲壳动物体内存在性类固醇激素受体和可能具备生殖内分泌反馈调节作用提供了形态学证据。至于雄激素对其视神经节内受体的介导机制还有待进一步研究。

(编辑 郭崇洁)

[收稿日期] 2004-08-27

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目 (30300269)

[作者简介] 叶海辉 (1970—), 男 (汉族), 浙江省洞头县人, 博士后。

* 通讯作者 (To whom correspondence should be addressed)

E-mail: haihuiye@163.com Tel: (0592) 2185539