

一种细胞迁移方法的建立与应用

吴航军¹, 戎叶², 娄绘芳¹, 肖桂凤¹, 林赵肖楠¹

(1. 浙江大学医学院, 浙江 杭州 310058;

2. 杭州师范大学基础医学院, 浙江 杭州 311121)

摘要: 为了探索细胞的迁移机制, 发展并优化了体外培养的细胞迁移的研究方法。该方法通过微电极压力给药, 在短时间内形成稳定的化学趋化物浓度梯度, 可以有效的诱导细胞的迁移。结合光学显微成像等技术, 该方法可以实时观测细胞迁移的整个过程, 并可以对细胞迁移过程中的亚细胞结构进行定位和追踪。该方法简单易操作、实验花费少, 不仅可以用于研究细胞的细胞迁移, 同样可以用于多种其它细胞(如肿瘤细胞)及其它细胞迁移相关化学信号的研究。

关键词: 细胞迁移; 细胞器标记; 活细胞成像; 给药系统

中图分类号: N33 **文献标识码:** A

Establishment and Application of A Solution for cell migration

WU Hangjun¹, RONG Ye², LOU Huifang¹, XIAO Guifeng¹, LIN Zhaoxianan¹

(1. Zhejiang University School of Medicine, Hangzhou 310058, China;

2. Hangzhou Normal University School of Basic Medical Sciences, Hangzhou 311121, China)

Abstract: To explore the mechanism of cell migration, we developed and optimized an assay for studying cell migration *in vitro*. In this assay, chemoattractants released from the micropipette tip produce a chemotactic gradient that induces robust cell migration. In combination with microscopic imaging, this assay allows simultaneous recording of cell movement and subcellular compartment trafficking, along with quantitative analysis. The assay is simple, inexpensive and convenient to set up and can be adopted to examine cell migration in multiple cell types including cancer cells with a wide range of chemical signals.

Key words: cell migration; organelle labeling; live cell imaging; drug delivery system

小胶质细胞被认为是中枢神经系统中主要的免疫细胞。当大脑出现受损或病变时, 周围的小胶质细胞会迅速活化, 并快速向该区域聚集, 分泌相应的细胞因子或营养因子, 清除坏死组织或病原体^[1]。迁移是小胶质细胞行使其功能的重要

过程,细胞迁移是一个非常复杂的过程,涉及对趋化因子的感知、细胞极性的建立及向趋化因子迁移等过程。因而,一套简单有效的方法是研究小胶质细胞功能的重要手段。目前,用于培养细胞体系的最常用的细胞迁移方法是 Boyden chamber (Transwell) 实验^[2-5],该方法的实验设备由上下两个小室(chamber)构成,中间由一层多孔膜隔开,细胞种植在上面的小室,下面的小室含有特定的趋化因子,通过计量穿过多孔膜的细胞数来定量分析细胞的迁移特性,虽然该方法方便简单,但其缺点是能检测的迁移特性太少,无法记录整个细胞迁移过程,因而,不能用来分析细胞迁移过程中的各项特征。另一种常用的方法是 Dunn chamber,这种方法从 Zigmond chamber 发展而来,由两个同心圆的凹槽组成,外周凹槽的趋化因子向内周不含趋化因子的凹槽扩散,从而形成趋化因子的浓度梯度,诱导细胞逆着浓度梯度迁移。这种方法可以形成一个稳定的浓度梯度,并结合时间序列成像来记录细胞迁移的过程,但这种方法形成稳定的浓度梯度较慢,而且不能精确控制细胞迁移,因而,不适合快速迁移的细胞^[4, 6]。微流控平台方法(Microfluidic chemotaxis platform)也可以用于细胞的迁移实验,该方法可以在时间和空间上形成一个非常稳定的浓度梯度^[7],因而可以用于长时间的细胞迁移观察,不过,该方法中用到的实验平台的加工工艺比较复杂,费用也非常昂贵,因此难以推广应用^[8]。以上的这些研究细胞迁移的方法都存在不少缺点。因此,我们需要建立一套简单实用的设备和方法来开展细胞迁移的研究。

我们通过探索,搭建了一套简单易操作的细胞迁移体系,并对该体系做了升级拓展,不仅能用于细胞迁移实验,结合特定的活细胞荧光染料,也能将该系统用于活细胞的高效标记,用于亚细胞结构及动态变化的研究,如胞饮泡(macropinosome)、吞饮泡(phagosome)、溶酶体(lysosome)等囊泡;也适用于细胞内离子信号、细胞膜等多种信号和结构的标记观察。利用两套刺激系统,可在细胞迁移过程中同步观察亚细胞结构、胞内钙离子等的动态变化,实时记录细胞迁移过程的各项指标变化。

1 实验材料与amp;方法

1.1 实验材料

实验动物: 新生 Sprague-Dawley (SD)大鼠(出生后 0~2 天),所有涉及动物的实验都遵从浙江大学实验动物管理相关制度。