



河南师范大学
HENAN NORMAL UNIVERSITY



读书报告

报告人：张文雅
时 间：2017-07-23





RESEARCH ARTICLE

miR-450a-5p within rat adipose tissue exosome-like vesicles promotes adipogenic differentiation by targeting WISP2

Yan Zhang^{1,2,3,*}, Mei Yu^{1,2,*,‡}, Minjia Dai^{1,2,3}, Chang Chen^{1,2,3}, Qi Tang^{1,2,3}, Wei Jing^{1,2,3}, Hang Wang^{1,2,3} and Weidong Tian^{1,2,3,‡}

大鼠脂肪组织外泌体样囊泡中的miR-450a-5p通过靶向WISP2促进脂肪形成分化

目录

Contents



研究背景



材料与amp;方法



实验结果



讨论与展望

目录

Contents

一、研究背景

二、材料与amp;方法

三、实验结果

四、讨论与展望



研究背景

目录

Contents

一、研究背景

二、材料与amp;方法

三、实验结果

四、讨论与展望

WISP2

WISP2也称为CCN5，是由脂肪组织分泌的新型脂肪因子，其在MSC和前脂肪细胞中高度表达，可以在肥大性肥胖和相关代谢并发症的发展中起重要作用。

目录

Contents

一、研究背景

二、材料与amp;方法

三、实验结果

四、讨论与展望



材料与amp;方法

目录

Contents

一、研究背景

二、材料与amp;方法

三、实验结果

四、讨论与展望

1. 脂肪组织干细胞的分离

- 从4周龄的SD大鼠中收集腹股沟垫，用PBS清除红细胞。
- 将样品切成小块（ $1-2\text{mm}^3$ ），并在 37°C 下用0.075%胶原酶（I型）处理30分钟。
- 将细胞在 CO_2 培养箱中保持在 37°C 。

目录

Contents

一、研究背景

二、材料与方法

三、实验结果

四、讨论与展望

3.透射电子显微镜

用1%戊二醛固定外泌体样囊泡，洗涤后，将囊泡装载到形成碳涂层的格栅上，用磷钨酸阴性染色60秒，用透射电子显微镜成像。

目录

Contents

一、研究背景

二、材料与方法

三、实验结果

四、讨论与展望

4.外泌体样囊泡标记 和细胞摄取

- 膜标记染料DiO进行标记，洗涤并重新悬浮于无血清的 α -MEM中。
- 将ADSC与DiO标记的囊泡共培养6小时，PBS洗涤三次，在4%多聚甲醛中固定，用肽类毒素染色，用PBS洗涤并通过共焦显微镜成像。

目录

Contents

一、研究背景

二、材料与amp;方法

三、实验结果

四、讨论与展望

5.诱导脂肪分化

将第3代的ADSCs以 10^5 个细胞的密度接种在6孔板中，培养24小时，然后用PBS漂洗，与2ml四种不同培养基的一起孵育长达10天。

(1) 作为阴性对照的基础培养基[补充有10%胎牛血清(FBS)的 α -MEM]；

(2) 有Exo-ADSC的基础培养基(Exo-ADSC的浓度为 $40\mu\text{g}/\text{ml}$)；

(3) 有Exo-AT的基础培养基(Exo-AT的浓度为 $40\mu\text{g}/\text{ml}$)；

(4) 作为阳性对照(PC)的成脂培养基(补充有10%FBS, 1mM DEX, 10mM胰岛素, 200mM吲哚美辛和0.5mM IBMX的 α -MEM)。

目录

Contents

一、研究背景

二、材料与amp;方法

三、实验结果

四、讨论与展望



实验结果

目录

Contents

一、研究背景

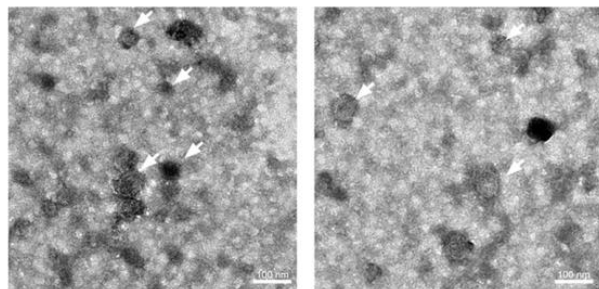
二、材料与amp;方法

三、实验结果

四、讨论与展望

ADSCs脂肪组织衍生的 外泌体样囊泡

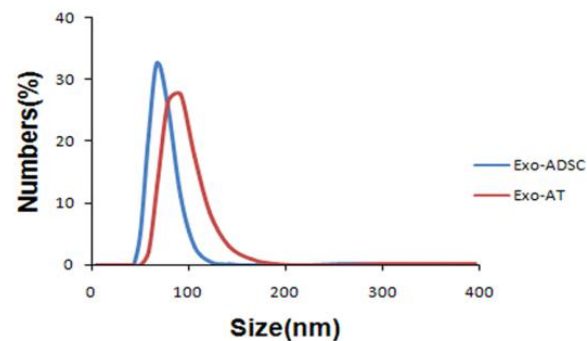
A



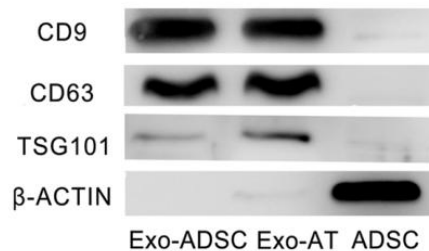
Exo-ADSC

Exo-AT

B



C



CD9

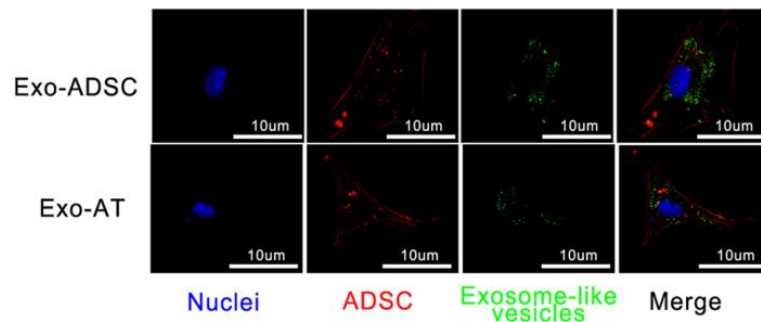
CD63

TSG101

β -ACTIN

Exo-ADSC Exo-AT ADSC

D



Exo-ADSC

Exo-AT

Nuclei

ADSC

Exosome-like vesicles

Merge

Exo-AT诱导脂肪形成

目录 Contents

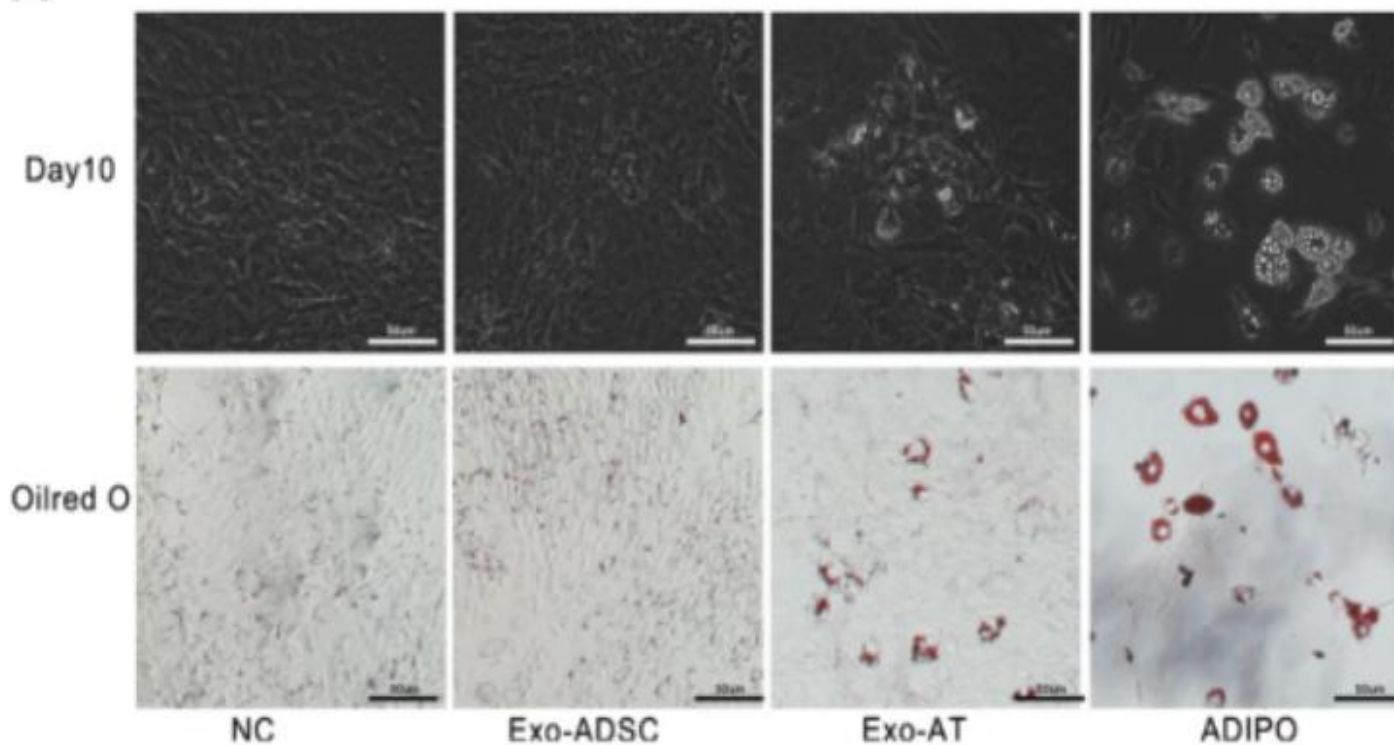
一、研究背景

二、材料与amp;方法

三、实验结果

四、讨论与展望

A



目录

Contents

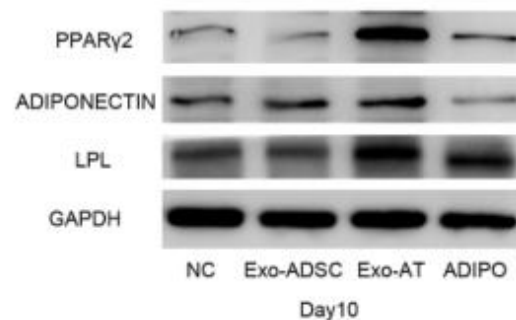
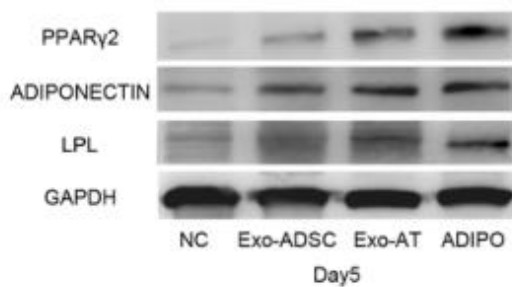
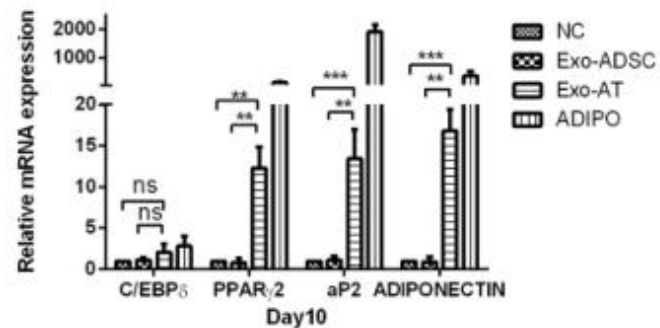
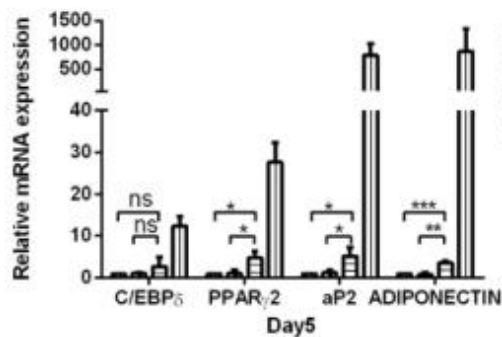
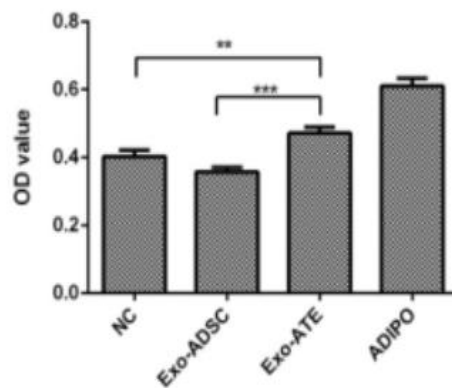
一、研究背景

二、材料与方法

三、实验结果

四、讨论与展望

B



目录

Contents

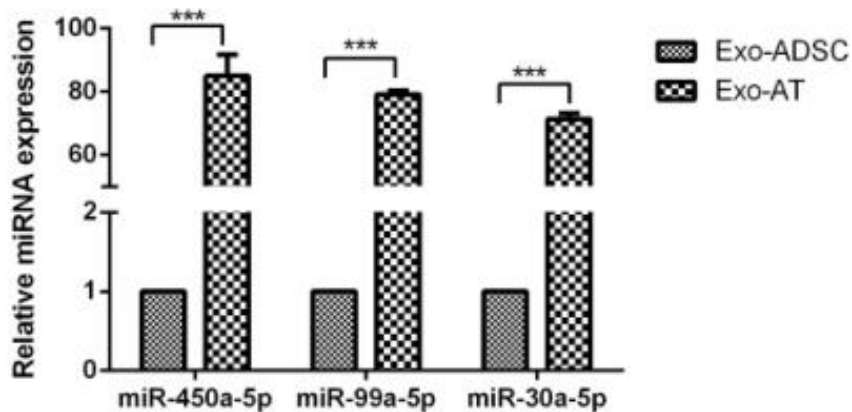
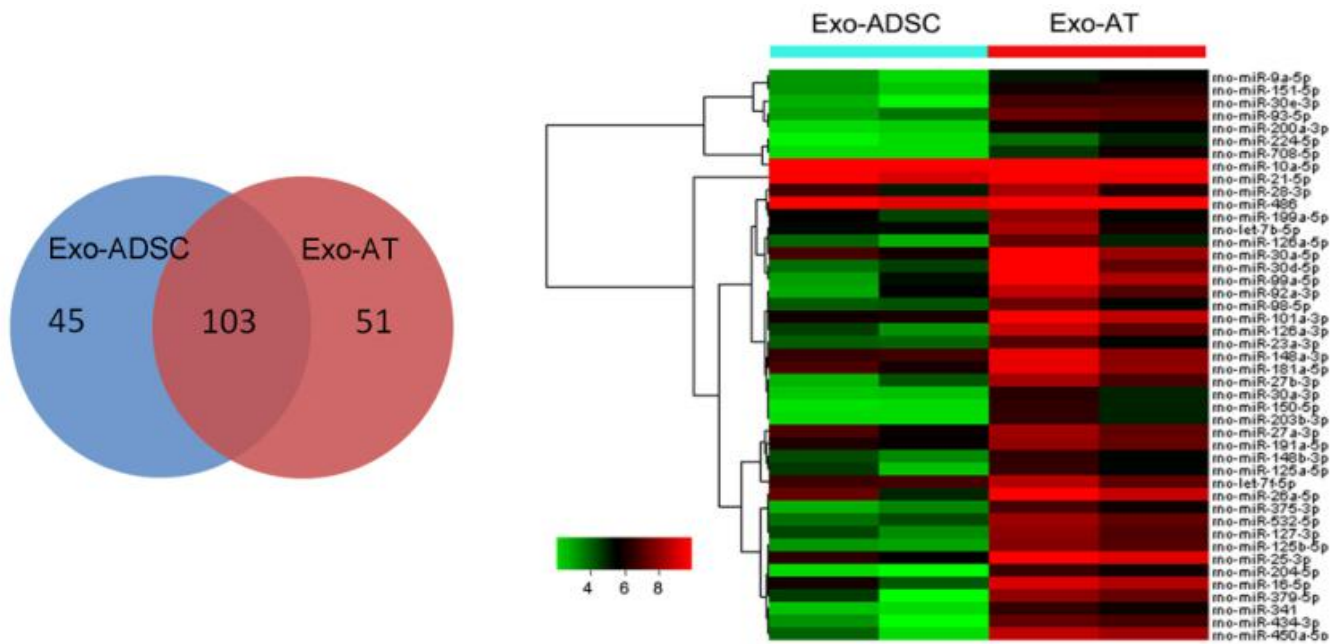
一、研究背景

二、材料与方法

三、实验结果

四、讨论与展望

脂肪源miRNA在Exo-AT中富集



目录

Contents

一、研究背景

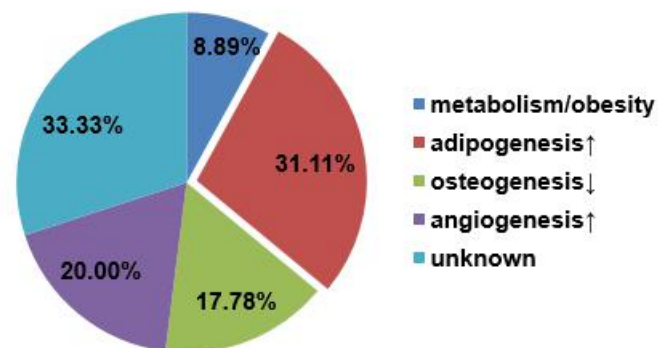
二、材料与方法

三、实验结果

四、讨论与展望

Name	Fold	Target gene/pathway	Model	miRNA	Fold	Target gene/pathway	Model	miRNA	Fold	Target gene/pathway	Model	miRNA	Fold	Target gene/pathway	Model	miRNA	Fold	Target gene/pathway	Model	
miR-450a-5p	56.69			miR-151-5p	10.05			miR-151-5p	10.05			miR-151-5p	10.05			miR-151-5p	10.05			unknown
miR-99a-5p	41.98			miR-9a-5p	7.75			miR-9a-5p	7.75			miR-9a-5p	7.75			miR-9a-5p	7.75			unknown
miR-126a-3p	27.98			miR-98-5p	7.55			miR-98-5p	7.55			miR-98-5p	7.55			miR-98-5p	7.55			unknown
miR-125b-5p	27.55			miR-181a-5p	7.31			miR-181a-5p	7.31	TGF- β	pig	miR-181a-5p	7.31	TGF- β	pig	miR-181a-5p	7.31			adipogenesis \uparrow / angiogenesis \uparrow (Li <i>et al.</i> , 2013a, Sun <i>et al.</i> , 2015)
miR-434-3p	24.80			miR-224-5p	7.00	Smad4	mouse	miR-224-5p	7.00			miR-224-5p	7.00			miR-224-5p	7.00			adipogenesis \downarrow / fatty acid metabolism \uparrow (Peng <i>et al.</i> , 2013, Li <i>et al.</i> , 2013b)
miR-101a-3p	24.71			miR-148a-3p	6.76			miR-148a-3p	6.76	Wnt	human	miR-148a-3p	6.76	Wnt	human	miR-148a-3p	6.76			adipogenesis \uparrow / angiogenesis \downarrow (Yu <i>et al.</i> , 2011, Shi <i>et al.</i> , 2015)
miR-30e-3p	24.08			miR-23a-3p	6.75	LRP6/wnt	mouse	miR-23a-3p	6.75	GJA1	Human	miR-23a-3p	6.75	GJA1	Human	miR-23a-3p	6.75			osteogenesis \downarrow (Gindin <i>et al.</i> , 2015)
miR-30a-5p	23.88			let-7b-5p		Runx2	Human	let-7b-5p				let-7b-5p				let-7b-5p				unknown
miR-25-3p	21.20			miR-10a-5p	5.29	KLF4 /C/EBP α	mouse	miR-10a-5p	5.29	Wnt		miR-10a-5p	5.29	Wnt		miR-10a-5p	5.29			osteogenesis \downarrow / angiogenesis \uparrow (Zhang <i>et al.</i> , 2012, Li <i>et al.</i> , 2015)
miR-204-5p	20.73			miR-199a-3p	5.06	wnt	human	miR-199a-3p	5.06	Smad1	mouse	miR-199a-3p	5.06	Smad1	mouse	miR-199a-3p	5.06			adipogenesis \uparrow (Son <i>et al.</i> , 2014)
miR-341	19.73			miR-486	4.96			miR-486	4.96			miR-486	4.96			miR-486	4.96			angiogenesis \uparrow (Shi <i>et al.</i> , 2016)
miR-93-5p	19.1			miR-92a-3p	4.73			miR-92a-3p	4.73		human	miR-92a-3p	4.73		human	miR-92a-3p	4.73			Expressed in adipose tissue(Holmes, 2016)
miR-379-5p	19.09			miR-125a-5p	4.59	Osterix/LATS2	mouse	miR-125a-5p	4.59			miR-125a-5p	4.59			miR-125a-5p	4.59			osteogenesis \downarrow (Zhang <i>et al.</i> , 2012)
miR-532-5p	18.42			miR-148b-3p	4.85			miR-148b-3p	4.85	Wnt		miR-148b-3p	4.85	Wnt		miR-148b-3p	4.85			adipogenesis \uparrow (John <i>et al.</i> , 2012)
miR-203-3p	17.96			miR-191a-5p	4.30			miR-191a-5p	4.30			miR-191a-5p	4.30			miR-191a-5p	4.30			unknown
miR-150-3p	17.89			let-7f-5p	3.55	Runx2	Human	let-7f-5p	3.55			let-7f-5p	3.55			let-7f-5p	3.55			unknown
miR-16-5p	17.53			miR-28-3p	3.27			miR-28-3p	3.27			miR-28-3p	3.27			miR-28-3p	3.27			unknown
miR-30d-5p	16.22			miR-27a-3p	3.19			miR-27a-3p	3.19			miR-27a-3p	3.19			miR-27a-3p	3.19			unknown
miR-127-3p	15.75			miR-21a-5p	2.58			miR-21a-5p	2.58			miR-21a-5p	2.58			miR-21a-5p	2.58			adipogenesis \uparrow (An <i>et al.</i> , 2016)
miR-27b-3p	12.35																			
miR-708-5p	12.23																			
miR-375-3p	11.62																			
miR-200a-3p	11.02																			
miR-26a-5p	10.75																			
miR-30a-3p	10.48																			
miR-126a-3p	10.18																			

\uparrow , promote; \downarrow , inhibit



目录

Contents

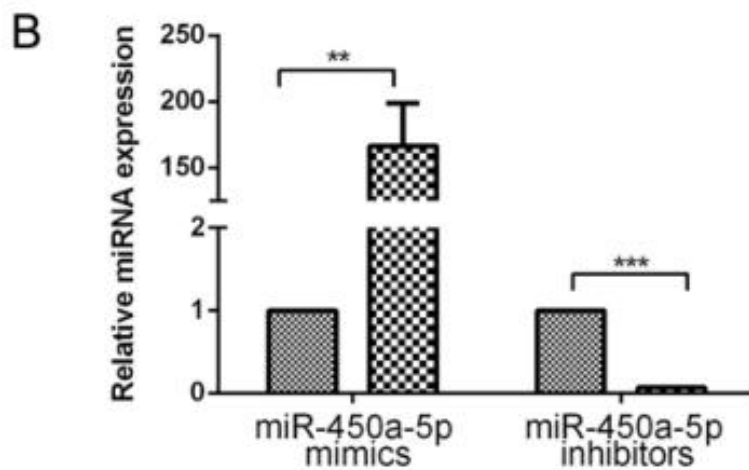
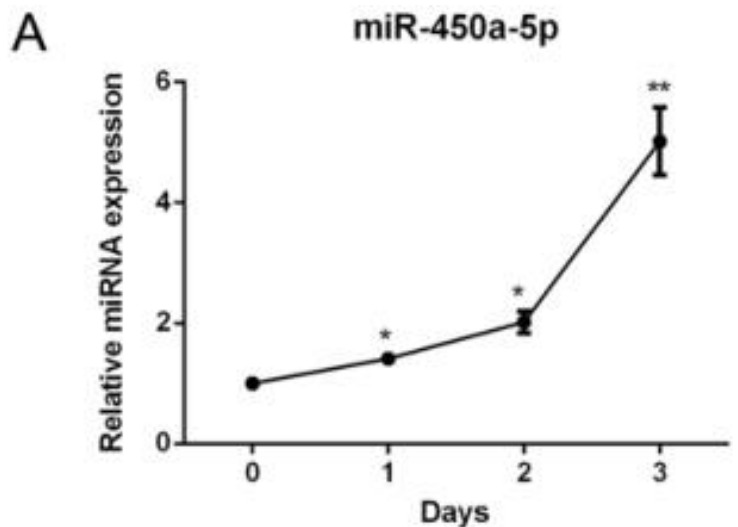
一、研究背景

二、材料与方法

三、实验结果

四、讨论与展望

miR-450a-5p促进ADSC的脂肪形成



目录

Contents

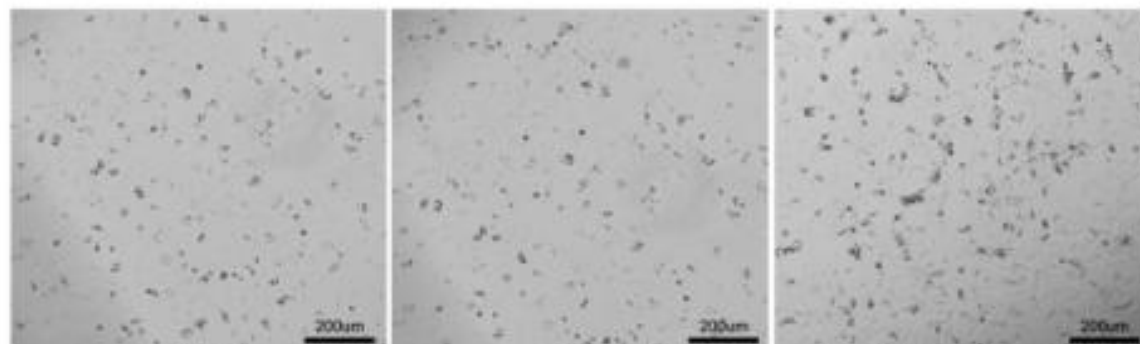
一、研究背景

二、材料与方法

三、实验结果

四、讨论与展望

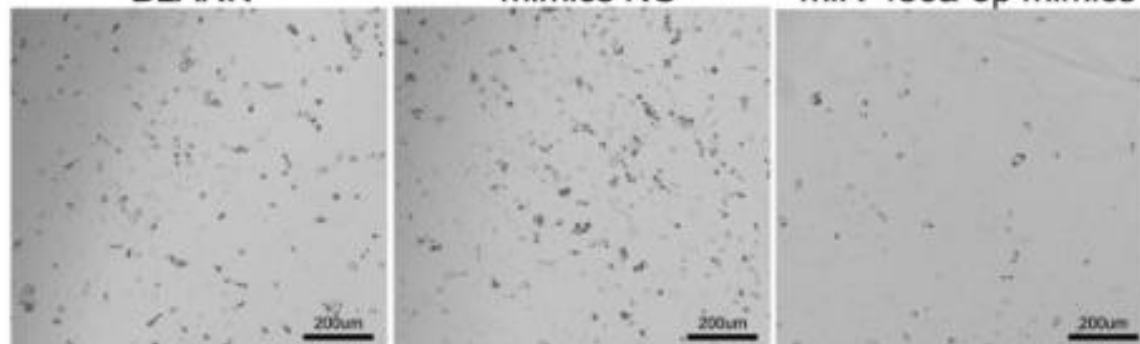
C



BLANK

mimics NC

miR-450a-5p mimics



BLANK

inhibitors NC

miR-450a-5p inhibitors

F

目录

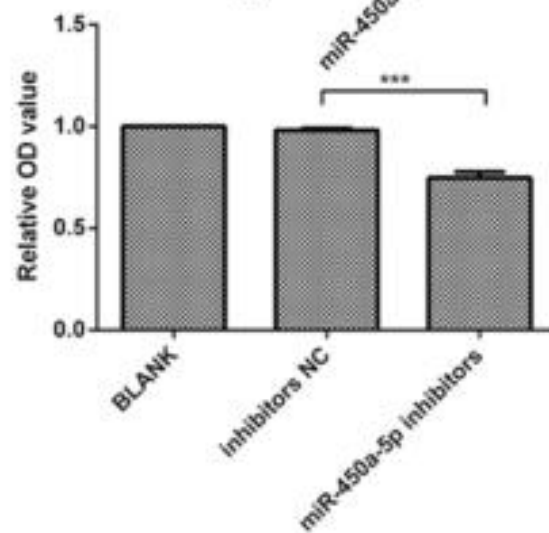
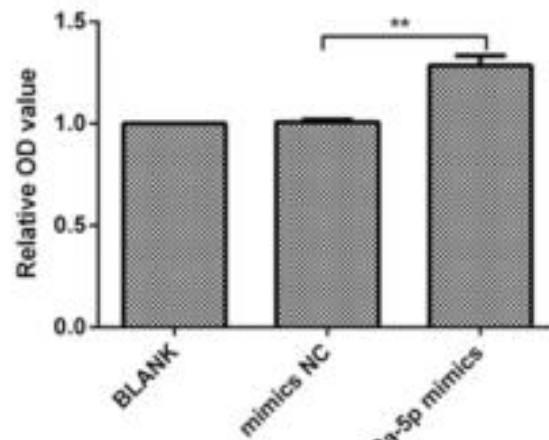
Contents

一、研究背景

二、材料与方法

三、实验结果

四、讨论与展望



目录

Contents

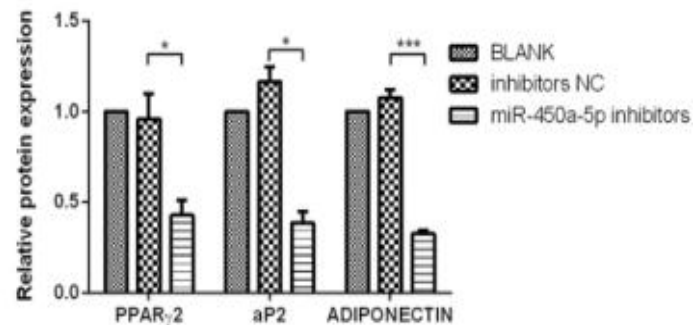
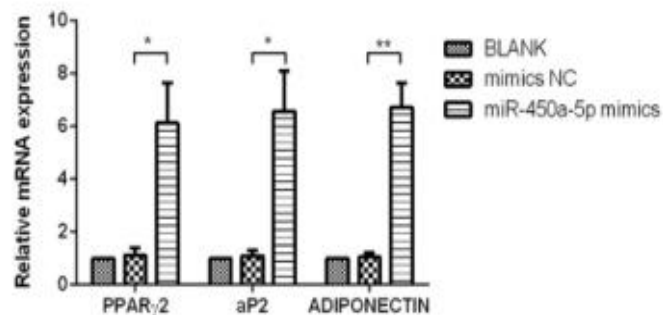
一、研究背景

二、材料与方法

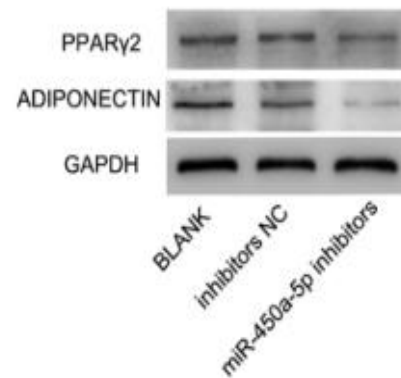
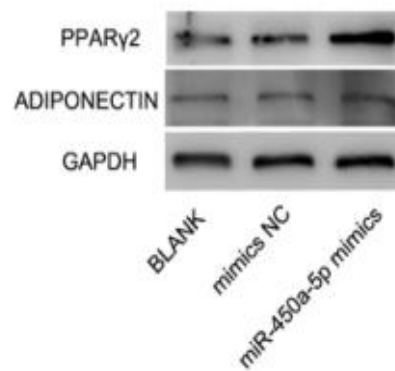
三、实验结果

四、讨论与展望

E



F



目录

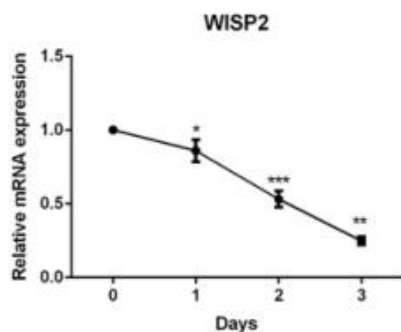
Contents

miR-450a-5p通过抑制WISP2刺激脂肪形成

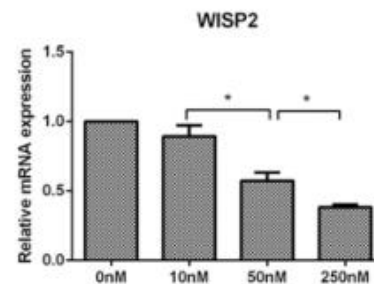
A



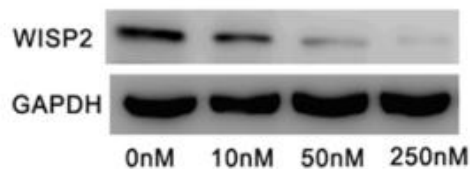
B



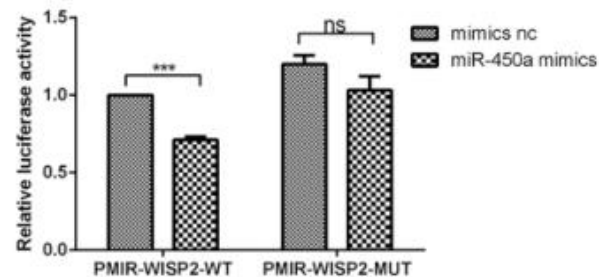
C



D



E



一、研究背景

二、材料与方法

三、实验结果

四、讨论与展望

目录

Contents

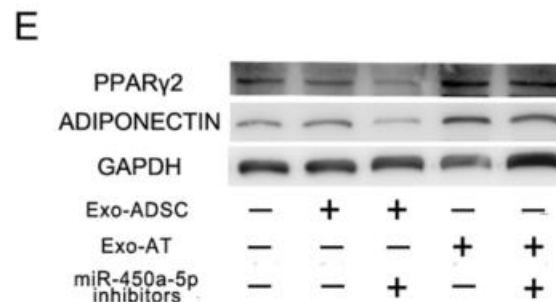
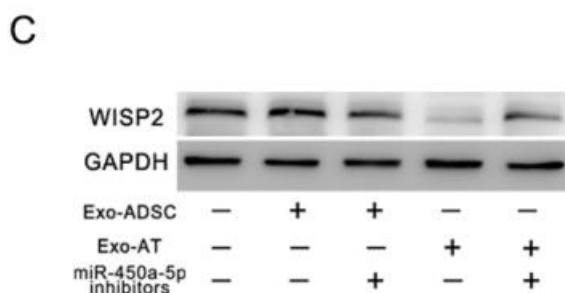
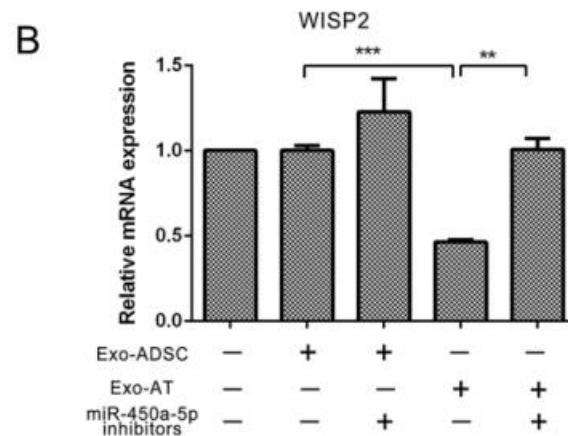
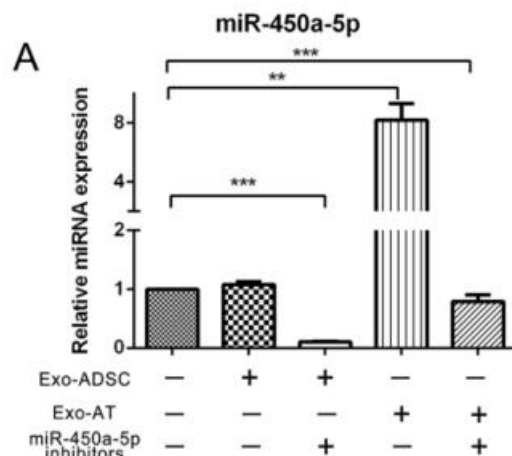
miR-450a-5p通过Exo-AT 转移的机制介导脂肪生成

一、研究背景

二、材料与方法

三、实验结果

四、讨论与展望



目录

Contents

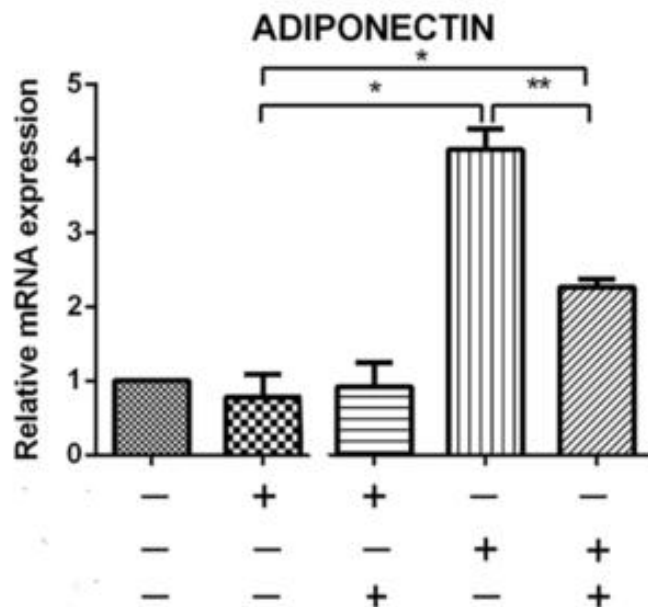
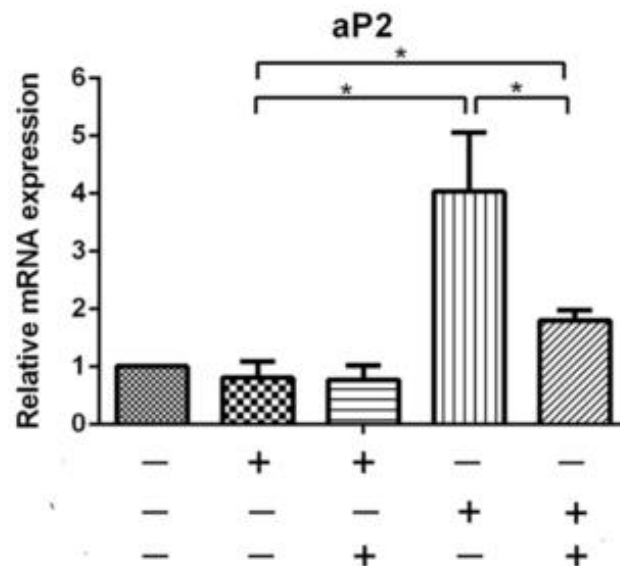
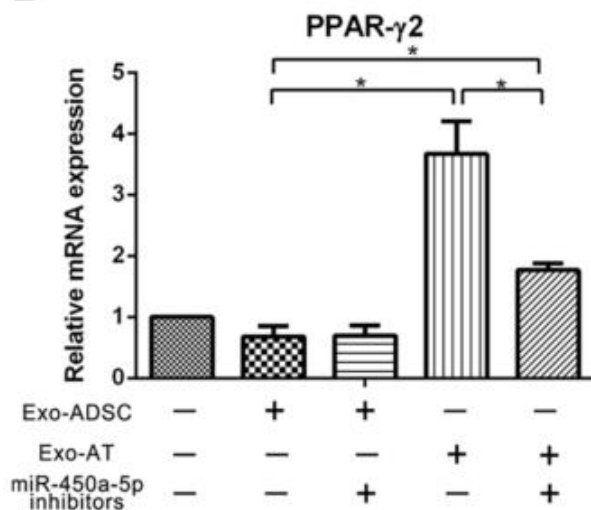
一、研究背景

二、材料与方法

三、实验结果

四、讨论与展望

D



目录

Contents

一、研究背景

二、材料与amp;方法

三、实验结果

四、讨论与展望



讨论与展望

目录

Contents

一、研究背景

二、材料与amp;方法

三、实验结果

四、讨论与展望

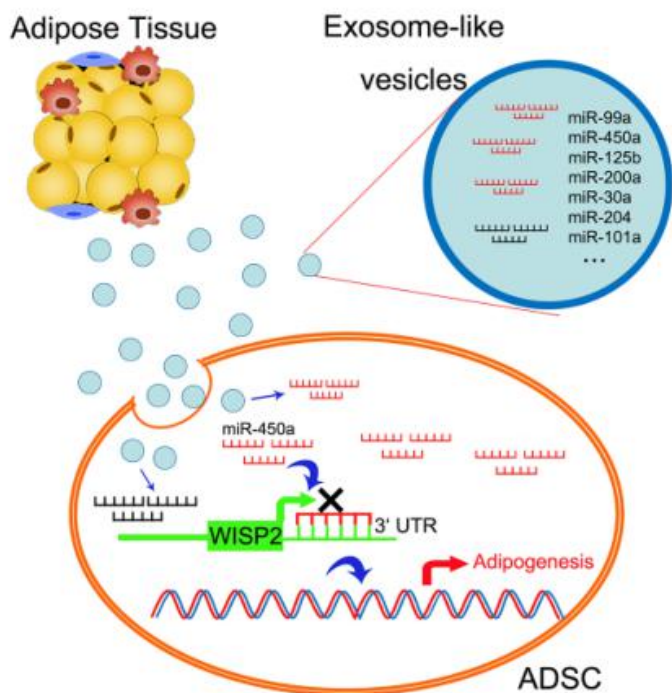


Fig. 7. Schematic of hypothesis for the action of miR-450a-5p in ADSCs. Adipose tissue secretes exosome-like vesicles, which are taken up by ADSCs. miR-450a-5p contained in the exosome-like vesicles promotes adipogenesis by downregulating WISP2 in ADSCs.

ADSC可以同时吸收Exo-AT和Exo-ADSC，然而，只有Exo-AT能够诱导脂肪形成，而Exo-ADSC没有相应的作用。这些结果表明，Exo-AT含有可能在ADSC中引发脂肪形成信号传导的脂肪生成因子，导致脂肪形成分化。因此，我们得出结论，外泌体可以作为干细胞和成熟组织细胞之间的交流的介质。

目录

Contents

一、研究背景

二、材料与amp;方法

三、实验结果

四、讨论与展望

展望

外泌体样囊泡是完全无细胞的，免疫原性不高，外胚层样囊泡可能是脂肪组织工程中使用的工具。因此，需要进一步的研究外泌体样囊泡作为促脂肪生成因子在脂肪组织工程中使用的可能性。



请各位批评指正！

