

B-S3-7

旋毛虫感染致宿主行为学损失及与激素水平相关性的研究

骆 冉, 宁若琦; 指导教师: 刘文琪

华中科技大学 2010 级临床医学八年制

【立论依据】 旋毛虫是一种在多种哺乳动物中广泛传播的寄生虫。其成虫和幼虫分别寄生在同一宿主的小肠和肌肉内。旋毛虫的唯一传播方式是食入含有活幼虫的肌肉组织。基于寄生虫操纵(Parasite manipulation)理论, 寄生虫在生存压力下, 会进化出某种机制, 改变宿主的某些行为, 增加宿主被捕食者捕食的几率, 从而有利于寄生虫的传播。有研究表明, 旋毛虫感染小鼠会出现胃肠道炎症、食欲减退、活动减少等临床表现以及某些社会行为的减退等, 以上种种改变, 可能使得宿主身体素质变差, 易于脱离群体, 从而增加被捕食者捕食的机会。

【设计思路】 旋毛虫的感染方式只能是食入含有活幼虫的肌肉组织, 因而我们设想感染了旋毛虫的小鼠会出现行为学上的损失, 从而使得旋毛虫更易完成生活史。为了验证这一假设, 本研究拟用行为学分析仪观察、记录并分析小鼠感染旋毛虫后行为学上的一系列变化, 并进而检测旋毛虫感染后相关激素水平的变化, 试图阐述行为学改变的可能机制。

【实验内容】 旷场实验观察小鼠自发活动和探索行为水平; 用猫尿等刺激物观察小鼠对天敌的规避反应; 观察旋毛虫感染对小鼠的配偶选择及个体社会等级的建立、维持、逆转的影响; 检测小鼠体内 17β 雌二醇和睾酮水平的变化。

【材料】 雌性及雄性昆明鼠, RIA 激素测量试剂盒, 动物行为学分析系统。

【可行性】 本项目基于寄生虫操纵理论设计了感染旋毛虫小鼠行为学的完整观察体系并检测小鼠的激素水平变化, 相关实验设计既有理论指导, 也有成熟的技术路线, 可行性强。小组成员已基本掌握小鼠建模、行为学观察和激素检测等相关技术。

【创新性】 本项目首次观察了感染后的小鼠对捕食者的反应等一系列行为学, 以期阐明感染除了使宿主变得虚弱外, 也会通过使宿主对捕食者不敏感, 增加宿主被捕食的机会从而利于寄生虫延续种族。

关键词: 旋毛虫; 行为学; 激素

B-S3-8

致婴幼儿腹泻星状病毒非结构蛋白诱导宿主细胞凋亡的分子机制

赵 健¹, 金一鸣², 隋婷婷²; 指导教师: 赵 微

1. 辽宁医学院 2010 级临床医学

2. 辽宁医学院 2010 级医学影像

星状病毒(human astrovirus, HAstV)是导致婴幼儿腹泻的重要病原体, 发病率高, 易造成群体感染, 威胁公共卫生安全。目前 HAstV 导致腹泻的致病机制尚不明确。本研究前期工作基础表明 HAstV 非结构蛋白 nsP1a 能够诱导细胞凋亡, 是病毒诱发腹泻的主要原因。基于前期研究结果, 本研究以 nsP1a 蛋白为研究对象, 深入探讨 nsP1a 诱导细胞凋亡的能力及信号通路, 并筛选鉴定 nsP1a 蛋白诱导细胞凋亡的关键结构域。

【立论依据】 文献表明, 病毒诱导的腹泻大多与小肠上皮细胞凋亡密切相关。前期研究表明 HAstV 野毒株能诱导 Caco-2 细胞凋亡, 非结构蛋白 nsP1a 起到主要作用。基于前期实验结果, 本研究深入开展 nsP1a 诱导 Caco-2 凋亡的分子机制研究。

【设计思路】 以 nsP1a 蛋白为研究对象, 探讨 nsP1a 蛋白诱导细胞凋亡的分子机制, 明确 nsP1a 蛋白诱导的

凋亡是通过何种途径发挥作用;筛选鉴定 nsP1a 蛋白促凋亡作用的关键结构域。

【实验内容】 构建 nsP1a 蛋白真核表达载体转染宿主细胞,建立稳定表达细胞株。采用流式细胞技术检测蛋白诱导细胞凋亡的能力。实时定量及蛋白质印迹法检测细胞 caspase3、caspase8、caspase9、FADD 蛋白、Bcl-2、Bax 的表达变化。综合分析受体途径和线粒体途径参与诱导细胞凋亡的机制。构建 nsP1a 蛋白不同位点的删除突变体,流式细胞仪分析筛选 nsP1a 蛋白中诱导细胞凋亡的主要结构域。

【材料】 载体 pEGFP-N3, Caco-2 细胞, Lipofectamine 2000, caspase3、6、8、9, 细胞色素 C、FADD、PARP、LaminA/C, EGFP 抗体等。

【可行性】 本研究由国家自然科学基金青年基金项目(81201285)及辽宁省大学生创新创业训练计划项目(201210160005)支持。

【创新性】 本研究内容国内外未见报道。本研究为探明 nsP1a 蛋白参与的星状病毒致腹泻机制提供理论依据,同时也为星状病毒抗腹泻药物的筛选提供有效靶点。

关键词: 星状病毒; Caco-2 细胞; 细胞凋亡; 致病机制; 信号通路

B-S3-9

血吸虫源性 Treg 细胞诱导分子的筛选及机制研究

陈梦星, 俞敏; 指导教师: 周莎
南京医科大学 2011 年级临床

【立论依据及设计思路】 血吸虫病是我国及世界最重要寄生虫病之一, 主要因虫卵引起肝脏肉芽肿、纤维化并继发门脉高压症等严重后果, 使患者丧失劳动能力、生活自理能力甚至死亡。然而, 血吸虫感染后会诱导宿主产生显著的免疫负调控来抑制肝脏病理免疫损害进展, 使宿主能存活较长时间, 感染呈慢性化。此时, 抗体和细胞因子等应答被显著抑制; 白喉毒素、BCG 等多种疫苗的接种效果被显著削弱; 还抑制了由 Th1 类(如 I 型糖尿病、克隆性结肠炎等)和 Th2 类(过敏性哮喘等)应答介导的诸多免疫疾病。迄今, 公认血吸虫感染后引起免疫负调控的最重要机制是虫卵抗原诱导了具有免疫抑制力的 CD4⁺CD25⁺ Treg 细胞, 但诱导机制未明。

【实验内容】 为从血吸虫卵中找到可诱导 Treg 细胞的分子并阐明诱导机制, 拟: (1) 以两套方案同时初筛: 第一方案参照已知可诱导 Treg 细胞的表位(Treg 细胞表位, Tregitope), 在虫卵基因库中筛选含有表位最多的分子用于 Treg 细胞体外诱导实验, 选择诱导能力最强者。第二方案参照已知可诱导 Treg 细胞的分子特点, 在虫卵基因库中选择最相似分子用于 Treg 细胞体外诱导实验, 选择诱导能力最强者。(2) 将上述两方案中初筛到的分子免疫小鼠, 以体内实验复核其对 Treg 细胞的诱导能力。(3) 最终选取一个诱导作用最强的分子, 以哮喘或免疫性关节炎小鼠疾病模型进行免疫抑制功能验证(治疗性)实验。(4) 初步探索该分子诱导 Treg 细胞的机制。

【可行性】 (1) 已通过生物信息学分析在虫卵基因库中筛选到数个含 Tregitope 最多的虫卵蛋白分子; (2) 已通过生物信息学分析结合体外诱导和小鼠免疫实验筛选到数个可诱导 Treg 细胞的虫卵蛋白分子。

【创新性】 不仅有助于揭示慢性感染时宿主控制病理免疫损害的机制, 还期待从血吸虫卵中找到可用于新型免疫抑制剂研发的具有自主知识产权的分子。

关键词: 血吸虫; Treg 细胞; 诱导