

A-S3-15

旋毛虫副肌球蛋白与补体 C9 结合位点的研究

王子霞¹, 潘 炜², 孙 然³; 指导教师: 杨 静, 诸欣平

1. 首都医科大学 2009 级基础医学
2. 首都医科大学 2009 级病原生物学
3. 首都医科大学 2013 级病原生物学硕士生

【目的】 旋毛虫病是呈全球性广泛分布的食源性人兽共患寄生虫病。旋毛虫副肌球蛋白(trichinella spiralis paramyosin, Ts-Pmy)是本课题组首次发现的抗原蛋白。前期研究结果表明,该蛋白通过与补体膜攻击复合物(MAC)组分 C9 结合,阻碍 MAC 组装,使虫体逃避补体系统的杀伤。本课题将精确定位 Ts-Pmy 与补体 C9 的结合位点,为深入研究 Ts-Pmy 免疫调节功能奠定基础。

【方法】 将 Ts-Pmy 分段表达为多个重组截短片段以及合成短肽,利用蛋白质印迹(Western-blot)和斑点印迹(Dot-blot)方法检测截短片段以及短肽与补体 C9 的结合能力,以定位 Ts-Pmy 与补体 C9 的结合位点。通过对 Zn²⁺ 诱导的补体 C9 聚合反应以及红细胞裂解实验,研究结合位点多肽的功能。进一步制备了抗结合位点多肽的单克隆抗体(monoclonal antibody, mAb)。在鉴定单抗的亚型、亲和力和特异性的基础上,通过单抗体外结合抑制实验和体内被动免疫保护实验鉴定单抗的功能。

【结果】 精确定位 Ts-Pmy 与补体 C9 的结合位点位于 Ts-Pmy 羧基端 14 个氨基酸残基的区域,即第 866 位缬氨酸至第 879 位甲硫氨酸(VSMGKSLSSKVYVM)。结合位点多肽可抑制 Zn²⁺ 诱导的补体 C9 聚合反应以及红细胞的细胞溶解反应,具有与全长 Ts-Pmy 相似的功能。制备的 mAb 9G3 可与旋毛虫不同发育阶段的天然 Pmy 和重组 Ts-Pmy 特异识别,且能够抑制 Ts-Pmy 与补体 C9 的结合。通过小鼠尾静脉被动回输 mAb 9G3,肌幼虫减虫率可达 42.6%。

【结论】 精确定位了 Ts-Pmy 与补体 C9 的结合位点,获得的抗结合位点多肽的 mAb 9G3 是一株具有免疫保护性的抗体。上述研究为抗旋毛虫病疫苗及基因工程抗体的研制提供了精确的分子靶标。

关键词: 旋毛虫;副肌球蛋白;免疫逃避;补体 C9;结合位点;单克隆抗体

A-S3-16

空气中葡萄球菌的监测及不同源 MRSA 的溯源分析

曹连宝¹, 李丽伟¹, 周芬芬², 王海峰³; 指导教师: 李晓霞

1. 泰山医学院 2009 级临床医学与英语
2. 泰山医学院 2011 级临床医学
3. 泰山医学院 2013 级临床医学专升本

【目的】 探讨公共场所空气中葡萄球菌的多样性,并追踪气载 MRSA 的来源,为预防和控制传染病的传播提供依据。

【方法】 用 LWC-1 型离心式空气微生物采样器采集医院、教室、车站等公共场所室内空气并分离鉴定其中的葡萄球菌;计算每个采样点的葡萄球菌的浓度;采用 K-B 纸片扩散法检测金黄色葡萄球菌及凝固酶阴性葡萄球菌(CNS)对 15 种抗菌药物的敏感性;进一步用头孢西丁纸片法检测其中的 MRSA,采用 REP-PCR 扩增气载 MRSA 及其它医院源及动物源的 MRSA 的基因组 DNA,用 NTsys2.10e 软件,非加权配对法(UPGMA 法)做遗传分析的树状图,进行聚类分析,探讨不同源 MRSA 分离株的遗传相似性,对 MRSA 进行追踪溯源分析。

【结果】 公共场所空气金黄色葡萄球菌浓度为 35~97 CFU/m³,凝固酶阴性葡萄球菌 49~102 CFU/m³;葡

萄球菌气溶胶总浓度在车站中最高,为 132 CFU/m³,其次为医院、教室和公园($P < 0.05$)。从空气中共分离纯化得到金黄色葡萄球菌 52 株,其中 MRSA 共 12 株,凝固酶阴性葡萄球菌 65 株;药物敏感试验结果显示气载葡萄球菌对氨基糖苷类、四环素类和大环内酯类抗生素的耐药率较高($> 85\%$);但均对万古霉素及替拉考宁敏感。46% 的金黄色葡萄球菌和 54% 的凝固酶阴性葡萄球菌对三类或三类以上抗生素同时耐药,为泛耐药株;12 株气载 MRSA 图谱显示菌株之间密切相关,相似性在 50%~100% 之间。气载 MRSA 与医院临床 MRSA 分离株之间的相似性在 60%~100% 之间;与动物源 MRSA 之间的相似性在 40%~100% 之间。

【结论】 公共场所的空气中存在着多种葡萄球菌的污染,并呈现多重耐药性;空气中的 MRSA 菌株与医院临床分离株及动物源的 MRSA 有着非常近的亲缘关系,个别菌株属完全相同的菌株繁殖而来,应加强空气中葡萄球菌尤其是多重耐药葡萄球菌的监测及防控。

关键词: 空气;金黄色葡萄球菌;凝固酶阴性葡萄球菌;多样性;基因外重复回文序列 PCR;溯源

A-S3-17

肠菌移植对溃疡性结肠炎的治疗效果研究

廖梦宇¹, 吕佳昱², 张 昊¹; 指导教师: 李海东

1. 天津医科大学 2012 级基础医学七年制
2. 天津医科大学 2010 级基础医学七年制

【目的】 研究肠菌移植对小鼠溃疡性结肠炎(UC)的治疗效果及相关指标的变化情况。

【方法】 以 3% 的葡聚糖硫酸钠(DSS)溶液喂养 BALB/c 小鼠 7 d 进行 UC 造模,肛门出现明显的血迹后,以正常小鼠肠菌清液进行灌肠,7 d 后停止;造模期间,每天定时对小鼠进行称重,做出体重变化曲线;常规 PCR 与实时定量 PCR 技术检测肠道菌群变化,做出柱状图;隐血实验:每天定时取小鼠粪便,以四甲基联苯胺法测隐血,做出折线图;病理组织诊断:取小鼠结肠组织做病理组织切片,H-E 染色,观察病理组织变化并分析。

【结果】 造模期间观察体重发现,UC 可致体重急剧下降,而行肠菌移植 7 d,体重明显回升至正常水平;实时荧光定量 PCR 表明,造模期间益生菌(如:乳酸杆菌、双歧杆菌)减少,大肠杆菌增多,而行肠菌移植 7 d,益生菌数量回升,大肠杆菌下落,说明肠菌移植能够调整肠道菌群分布平衡;造模期间可看到肛周明显血迹,即出现肉眼可见血便,而行肠菌移植 7 d,肉眼血便消失,隐血试验结果也表明结肠不再出血;从病理组织切片来看,在造模期间,结肠的黏膜与黏膜下层受损,出现淋巴细胞、单核-巨噬细胞大量浸润,形成隐窝脓肿,隐窝脓肿融合破溃形成浅小溃疡,经过治疗后,再观察结肠组织切片,可发现黏膜已恢复,已达治愈标准。

【结论】 肠菌移植对于溃疡性结肠炎的治疗是有效的。

关键词: 肠菌移植;溃疡性结肠炎;肠道菌群

A-S3-18

表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG)抗流感病毒分子机制的研究

吴婉蓉, 汪 媛, 王笑臣; 指导教师: 杨占秋

武汉大学 2010 级临床医学八年制

【目的】 流感病毒感染是严重威胁人类健康的传染性疾病,抗病毒药物的研究已成为人们关注的焦点。前期研究发现 EGCG 可显著降低流感病毒感染后细胞氧化应激水平及流感病毒感染后细胞自噬水平。因此,我们推