

B-S2-7

基于 NF- κ B 探究苗医验方四大血调控佐剂性关节炎大鼠 TNF- α 表达的作用机制

王时敏¹, 冯光霞², 熊 霞³, 王争地³, 刘榕孜³; 指导教师: 吴 宁, 曾 佳, 张金娟

1. 贵阳医学院 2010 级临床医学
2. 贵阳医学院 2010 级口腔医学
3. 贵阳医学院 2012 级临床医学

【立论依据】 类风湿性关节炎(rheumatoid arthritis, RA)的致残率在关节病中高居首位。四大血流传于西南苗族地区,在风湿类疾病的治疗中应用广泛。研究显示,炎症因子(如:TNF- α 、IL-1 β 等)及信号通路(如:NF- κ B等)的上调及激活与 RA 发病密切相关,且 RA 临床症状的改善与炎症因子的下调及信号通路的抑制有关。因而我们提出猜想:四大血能否下调 TNF- α 、IL-1 β 表达、抑制 NF- κ B 激活?若能下调,该作用是否与抑制 NF- κ B 有关?

【设计思路】 首先用四大血作用于 RA 模型动物及关节滑膜细胞,观察其能否下调 TNF- α 、IL-1 β 表达;若能,则对另一组 RA 模型动物及滑膜应用 NF- κ B 抑制剂,去除 NF- κ B 在四大血作用 RA 过程中的影响;之后,应用四大血观察 TNF- α 、IL-1 β 的表达水平是否下调,若未下调,说明四大血下调 TNF- α 、IL-1 β 的作用只与其抑制 NF- κ B 有关,若部分下调(与应用 NF- κ B 抑制剂之前相比,下调幅度减少),说明四大血下调 TNF- α 、IL-1 β 与抑制 NF- κ B 部分有关,若完全下调(下调幅度与应用 NF- κ B 作用前相同),说明四大血下调 TNF- α 、IL-1 β 的作用与其抑制 NF- κ B 无关。

【实验内容】 (1)建立 RA 动物模型——佐剂性关节炎(adjuvant arthritis, AA)大鼠用于体内实验,并培养 AA 大鼠滑膜细胞用于体外实验;(2)灌胃给予 AA 大鼠及滑膜细胞一定浓度四大血;(3)观察给药后 TNF- α 、IL-1 β 变化情况;(4)若 TNF- α 、IL-1 β 下调,则用 NF- κ B 抑制剂(BMS345541)对另一组 AA 大鼠及滑膜细胞进行预处理;(5)预处理后的 AA 大鼠及滑膜细胞给予一定浓度四大血;(6)观察 TNF- α 、IL-1 β 的表达水平。

【材料】 试剂:四大血、TNF- α 、IL-1 β 等。动物及组织:SD 大鼠、滑膜细胞。仪器:酶标仪、细胞培养箱等。

【可行性】 (1)本实验组前期成功建立 AA 大鼠模型并通过测量大鼠足跖肿胀度及病理形态学观察,证实了四大血最 RA 确切的治疗作用,具有较为扎实的实验基础;(2)所需实验器材易于获取;(3)采用常规实验手段,方法稳定可靠;(4)小组成员掌握所需实验技术手段,技能可靠。

【创新性】 (1)本实验研究对象为西南民族草药,具有地域性、民族性、特色性;(2)应用信号通路抑制剂,从而在去除 NF- κ B 的基础上,单方面的探讨四大血对 TNF- α 、IL-1 β 的作用。

关键词: 苗医验方四大血;类风湿性关节炎;TNF- α ;IL-1 β ;NF- κ B

B-S2-8

利用乳腺特异表达微 RNA 转基因小鼠探索乳汁微 RNA 对子代个体发育的影响

姜宇婷¹, 张 赫¹, 董娜珍², 张雪梅³, 甄 灼⁴, 赵芳晴⁴; 指导教师: 高 旭

1. 哈尔滨医科大学 2010 级基础七年制
2. 哈尔滨医科大学 2011 级基础七年制
3. 哈尔滨医科大学 2012 级基础七年制
4. 哈尔滨医科大学 2011 级临床七年制

【立论依据】 乳汁是新生儿及婴儿阶段重要的营养来源,其中含有多种免疫球蛋白、脂类以及生长因子等免

疫、营养相关物质。近年发现,在哺乳动物乳汁中存在丰富的微 RNA(microRNA)。微 RNA 主要发挥转录后水平基因表达调控作用,参与了多种生理病理过程。目前研究多集中于对乳汁中微 RNA 存在的证实与含量的检测,尚未见基于直接实验证据获得的乳汁中微 RNA 对子代个体生长发育作用的报道。据此,我们拟利用转基因模式小鼠对乳汁微 RNA 是否对子代个体生长发育有影响进行探索。

【设计思路】 首先,针对乳腺特异表达微 RNA(miR-X)转基因小鼠乳腺组织及乳汁中 miR-X 进行定量;其次,利用该 miR-X 转基因小鼠及野生型小鼠分别哺育野生型新生小鼠,通过对新生小鼠生长发育情况的检测,初步判定乳汁 miR-X 对子代发育的影响;最后,检测新生小鼠主要脏器 miR-X 靶基因表达情况。

【实验内容】 利用已建立的乳腺特异表达 miR-X 的转基因小鼠,分别进行基因组、乳腺组织以及乳汁的外源基因整合情况检测及 miR-X 的表达及含量检测。实验组用阳性雌鼠哺育野生型新生小鼠,观察并记录小鼠生长发育情况;对照组用野生型雌鼠哺育野生型新生小鼠,观察并记录小鼠生长发育情况。4 周后处死部分子代小鼠,取其肝脏等主要脏器,测定 miR-X 相关靶基因表达情况。

【材料】 乳腺特异表达 miR-X 转基因雌鼠 8 只,野生型雌鼠(C57Bl/6)8 只及用于合笼繁殖的野生型雄鼠;

【可行性】 乳汁微 RNA 的存在已被多项研究所证实,为本项目的提出提供了依据;乳汁中营养成分对子代个体的生物学作用已被证实,其中微 RNA 也必将具有一定的生物学作用。项目组所在实验室具有相关研究经验和仪器设备可保障实验的实施。乳腺特异表达微 RNA 转基因小鼠的建立为本项目提供了直接可靠的实验材料。

【创新性】 乳汁微 RNA 对子代个体发育的功能研究将丰富人们对乳汁功能的认识,为改良母乳替代品配方提供了更加直观的依据,为奶制品新的质量检测指标的提出提供了理论基础。此外,乳腺特异表达微 RNA 转基因小鼠是该项目的重要材料,也是本项目的特色。

关键词: 转基因小鼠;乳汁;微 RNA;基因表达调控

B-S2-9

滋阴活血法对卵巢早衰小鼠卵泡颗粒细胞凋亡的影响

宋 焰¹, 祁 鹏¹, 厉佳俊¹, 易海清², 柯 超²; 指导教师: 刘慧萍, 肖 艺

1. 湖南中医药大学 2012 级中西医结合

2. 湖南中医药大学 2012 级针灸推拿

【立论依据】 在中医滋阴活血理论的指导下,采用具有滋阴活血作用的补肾活血方对卵巢早衰小鼠进行研究,检测其卵泡颗粒细胞凋亡情况,阐明滋阴活血法对卵泡颗粒细胞凋亡影响的机制,为临床治疗卵巢早衰提供新的方法思路。

【设计思路】 (1)以雷公藤多甙片造成卵巢早衰为模型,随机将清洁级雌性小鼠分为空白组、模型组、西药物组、中药组。(2)给药:根据小鼠与人的体表面积进行换算后灌胃给药治疗 15 d。(3)指标检测:摘取卵巢,子宫,胸腺组织称重计算脏器指数;病理形态学观察卵巢内正常卵泡和闭锁卵泡的形态变化;放免法检测 E2、FSH、LH 激素水平;RT-PCR 法检测 Fas 和 Fas-L 的 mRNA 表达情况。

【实验内容】 研究滋阴活血法对卵巢早衰小鼠卵泡的作用;对卵巢早衰小鼠卵巢、子宫脏器指数的干预;对卵巢早衰小鼠 E2、FSH、LH 激素水平的调节;对卵巢早衰小鼠 Fas 和 Fas-L 的 mRNA 表达的影响。

【材料】 清洁级雌性小鼠;药物:补肾活血方组药、补佳乐、雷公藤;灌胃针、离心机、清洁试验台、RNA 提取试剂盒、PCR 仪、移液器等。

【可行性】 (1)补肾活血方具有补肾、活血、软坚的功效,可改善肾虚血淤所致病理变化,具有调节下丘脑-垂体-卵巢-性腺轴,促进卵巢分泌 E2,抑制卵巢卵泡细胞凋亡,增强机体免疫力等作用。(2)本组成员跟随老师进行课题研究,具有一定的科研基础和实验能力,并已学习过生化、免疫、组胚及病理学课程,掌握了与本项目密切相关的形态学、免疫组织、分子生物学技术。(3)所需试剂、仪器、材料,医学基础实验中心基本都有配备,这为研究提供