

了硬件的保障,同时具备 SPF 级实验中心。

【创新性】 (1)治法新用:该研究从滋补肝肾阴虚,养血活血着手研究凋亡机制,为临床治疗卵巢早衰提供新的思路。(2)Fas/Fas-L 介导的凋亡新用。

关键词:滋阴活血法;卵巢早衰;颗粒细胞;凋亡

B-S2-10

壮骨止痛方全方提取物对去势雌鼠相关基因的影响

何 飘,陈晓霞,马常敏夫,林 哲,周建雄;指导教师:张国民,刘慧萍

湖南中医药大学 2012 级中西医七年制

【立论依据】 全方提取组与模型组比较,全方提取组能够显著增加大鼠 TGF- β 1 mRNA、I 型胶原 mRNA 的平均面密度($P < 0.05$)。空白组与假手术组大鼠的 TGF- β 1 mRNA、I 型胶原 mRNA 的平均面密度均匀正常,全方提取组与空白组和假手术组大鼠的 TGF- β 1 mRNA、I 型胶原 mRNA 的平均面密度基本一致。

【设计思路】 60 只 3 个月龄雌性 SD 大鼠随机分为空白组、假手术组、模型组、全方提取组四组,15 只/组,除空白组及假手术组外,其余组去势(去卵巢)后建立绝经后骨质疏松症模型大鼠,假手术组则去除卵巢周边相应体积的脂肪。大鼠皆灌胃 13 周后处死取材,采用原位杂交法检测 I 型胶原 mRNA、TGF- β 1mRNA 在骨组织中的表达。

【材料】 实验动物与材料:SPF 级 3 个月龄 250 g 左右雌性 SD 大鼠 60 只,由广东省医学实验动物中心提供(动物合格证号:SCXK(粤)2008-0002)。饲料为标准普通饲料(湖南中医药大学实验动物中心提供)。药品及试剂:壮骨止痛方全方提取物(由中南大学药理学实验室提供);E2(批号:HY-032)放免试剂盒(北京华英生物技术研究所);TGF- β 1 mRNA 原位杂交试剂盒(批号:MK1065)、I 型胶原纤维 mRNA 原位杂交试剂盒(批号:MK1171),DAB 显色试剂盒(批号:AR1022),均购自武汉博士德生物有限公司。主要仪器:JY3002 型电子天平、超低温冰箱、LEICA DM LB2 型双目显微镜、HHS-2 电子恒温不锈钢水浴锅、Haier 医用微波炉、MIAS 医学图象分析系统、Motic B5 显微摄像系统等。

【可行性】 本项目所用实验室为国家中医药科研三级实验室,具备进行药物准备、动物造模、指标检测等方面的仪器与条件;学校动物实验中心免费为大学生提供创新性学习实验提供场地并且本实验是在指导教师悉心指导下完成的;理论和实践上都具备可行性。

【创新性】 探讨壮骨止痛方抗骨质疏松的作用机制,弥补国内对这方面研究的空缺;本实验研究的出发点是中药方剂壮骨止痛方的开发,学生创新性学习与研究密切关注祖国中药发展,充分调动了学生的自学能力和科学研究能力的培养。

关键词:去势;TGF- β 1mRNA;I 型胶原 mRNA;骨质疏松;壮骨止痛方

B-S2-11

移植转导自身免疫调节因子的骨髓细胞对 I 型糖尿病预防和治疗的研究

田惠宁;指导教师:李 一

吉林大学 2011 级临床医学

【立论依据】 I 型糖尿病又称自身免疫性糖尿病,是由于自身免疫耐受机制打破、自身反应性 T 细胞攻击胰

岛 β 细胞所致的自身免疫性疾病。迄今对自身免疫病的治疗方案多不理想,目前常规采用的免疫抑制手段不但降低患者免疫力,也使疾病容易复发。理想的治疗自身免疫病的策略是特异性清除自身反应性T细胞,重建对自身组织抗原的免疫耐受。而自身免疫调节因子(AIRE)恰在胸腺阴性选择中具有调控组织限制性抗原(TRA_s)表达、促进自身反应T细胞的清除、参与免疫耐受诱导的功能。因此,我们设想利用基因转导手段操纵骨髓细胞中AIRE的表达,通过模拟胸腺的阴性选择,诱导免疫耐受,为I型糖尿病的防治提供新策略。

【设计思路】 本实验拟通过以自身免疫糖尿病小鼠(NOD鼠)为模型,移植表达AIRE的骨髓细胞,使其在NOD鼠体内通过调控TRA_s的表达清除自身反应性T细胞,观察其诱导特异性清除对胰腺组织特异性T细胞的作用及对NOD鼠糖尿病发生的影响,探索I型糖尿病防治新方法。

【实验内容】 (1)构建编码小鼠AIRE的逆转录病毒载体,将其转入骨髓DCs细胞。(2)将转导AIRE的骨髓DCs细胞移植至经放射线照射的NOD小鼠,获得NOD嵌合鼠。(3)采用流式细胞术检测NOD嵌合鼠胸腺和脾脏中GFP⁺细胞数量,检测NOD鼠嵌合程度。(4)采用real-time PCR法、流式细胞术检测Ins2 mRNA水平和蛋白水平表达变化,检测AIRE对TRA_s的调控作用。(5)检测NOD鼠糖尿病发生时间和程度以及其病理学和胰岛自身抗体的改变。

【材料】 NOD鼠、编码AIRE的逆转录病毒载体、real-time PCR仪、流式细胞仪、葡萄糖检测试剂盒、尿糖试纸、ELISA试剂盒等。

【可行性】 前期工作中,以胸腺阴性选择为理论依据,对AIRE的表达、分布及其在自身耐受中的作用进行了系统、深入的研究,现以基因转导和骨髓细胞移植为技术手段,切实可行。

【创新性】 本研究首次将基因操纵和骨髓细胞移植两大先进技术相结合,利用AIRE能特异性清除自身反应性T细胞的功能,探究治疗I型糖尿病的方法,为自身免疫疾病的防治提供新思路。

关键词: 自身免疫性糖尿病;骨髓移植;AIRE;TRA_s

B-S2-12

Cx43形成的GJIC在NGF诱导PC12细胞神经元样分化中作用的研究

白玲;指导教师:刘海岩

吉林大学2010级临床医学七年制

【立论依据】 在神经系统的发育和修复过程中,神经元间的细胞通讯在细胞的静息、增殖、分化和凋亡过程的发生发展中发挥着重要作用。细胞间通讯有缝隙连接、膜表面分子接触通讯和化学通讯三种方式,而缝隙连接(GJ)是细胞间直接通讯的唯一方式。缝隙连接蛋白(connexin)是GJ结构和功能的基础,在缝隙连接蛋白家族中,Cx43在中枢神经系统的发育过程中发挥重要作用。功能性缝隙连接(GJIC)是通过缝隙连接在相邻细胞间传递氨基酸、离子、小分子等的一种通讯方式。研究表明,神经生长因子(NGF)可以促进Cx43磷酸化,同时可以诱导嗜铬细胞瘤PC12细胞分化而产生与交感神经元相似的神元。但是Cx43形成的功能性缝隙连接(GJIC)在NGF诱导PC12细胞分化中的作用尚不清楚。因此,本研究拟阐述Cx43形成的GJIC在NGF诱导PC12细胞分化中的作用。

【设计思路】 本实验拟构建Cx43稳定转染的PC12细胞系,并检测Cx43形成的GJIC的功能。NGF诱导PC12细胞和Cx43稳定转染的PC12细胞,分析Cx43形成的GJIC在NGF诱导PC12细胞神经元样分化过程中的作用,为神经损伤和修复提供新的研究靶点。

【实验内容】 (1)构建Cx43稳定转染的PC12细胞系;(2)实验分组:NGF诱导PC12细胞组,NGF诱导Cx43稳定转染的PC12细胞组,NGF诱导PC12细胞组+缝隙连接抑制剂(CBX),NGF诱导Cx43稳定转染的PC12细胞组+CBX;(3)形态学观察和NES免疫荧光细胞化学染色检测细胞分化率;(4)Dye Coupling检测Cx43形成的