

B-S2-18

去乙酰化酶 SIRT1 调控 PFOA 诱导小鼠肝损伤的作用及机制研究

陶恩威,余张萍,张 蒙;指导教师:张大雷

南昌大学 2012 级临床专业

【立论依据】 流行病学调查发现,全氟辛酸(PFOA)和人类多种疾病密切相关。我们前期研究发现 PFOA 可通过氧化应激、炎症反应和诱导凋亡引起小鼠肝脏毒性损伤。去乙酰化酶 SIRT1 在细胞应激反应中具有关键作用,可引起多种转录因子去乙酰化,从而促进细胞存活,抑制凋亡。因此,我们提出:“SIRT1 的去乙酰化修饰可能对 PFOA 诱导的小鼠肝损伤起保护作用”。

【设计思路】 在前期研究的基础上,探讨 PFOA 肝脏毒性与 SIRT1 表达和反应活性的相关性;利用 SIRT1 激活剂以及 SIRT1 抑制剂观察 SIRT1 信号通路对 PFOA 诱导的肝脏毒性损伤的调控作用;通过检测 P53、NF- κ B p65 和 FOXO3a 的表达和乙酰化水平,分析 SIRT1 系统调控 PFOA 肝脏毒性的分子机制,是否与 SIRT1 对 P53、NF- κ B p65 和 FOXO3a 的去乙酰化修饰有关。

【实验内容】 (1)Real-time PCR 和蛋白质印迹方法检测 SIRT1 的表达,免疫共沉淀法检测 SIRT1 的反应活性,对比正常对照和 PFOA 染毒小鼠,明确 PFOA 肝脏毒性与 SIRT1 的相关性;(2) PFOA 染毒小鼠给予 SIRT1 激活剂 SIRT1720 以及 SIRT1 抑制剂尼克酰胺,石蜡切片 HE 染色观察肝组织病理学改变;全自动生化分析仪检测 ALT、AST、ALP 及 LDH 的血清水平;酶联免疫分析 IL-6、COX-2 及 CRP 的肝组织水平;免疫组化检测 DNA 氧化损伤标志物 8-OHdG 的产生;比色法检测 MDA 生成及 SOD、CAT 和 GSH-PX 的活性;TUNEL 染色法观察细胞凋亡;real-time PCR 和蛋白质印迹方法检测 Bcl-2、Bax、Fas、FasL 等凋亡相关基因的表达,明确 SIRT1 通路的激活或抑制对 PFOA 诱导肝脏损伤的调控作用;(3)应用乙酰化赖氨酸抗体通过蛋白质印迹方法检测 P53、NF- κ B p65 和 FOXO3a 的乙酰化水平,分析 SIRT1 是否通过对 P53、NF- κ B p65 和 FOXO3a 的去乙酰化修饰调控 PFOA 诱导的肝脏毒性损伤。

【材料】 本项目以小鼠为实验动物,实验仪器包括实时荧光定量 PCR 仪、全自动 DNA 扩增仪、紫外可见分光光度计、石蜡切片机、高速低温离心机、蛋白电泳系统、电转仪、全自动生化分析仪等。

【可行性】 本项目充分分析了国内外研究现状和发展前景,并取得了较好的前期研究基础。

【创新性】 SIRT1 对 PFOA 肝脏毒性的调控作用尚未见报道,本实验项目研究 SIRT1 对 PFOA 诱导肝损伤的保护作用及其分子机制,为预防和治疗全氟化合物引起的肝脏损伤寻找新靶点。

关键词:全氟辛酸;SIRT1;肝损伤;去乙酰化

B-S2-19

CVB3 非结构蛋白 3A 与 TMED4 相互作用对细胞凋亡的研究

方 舒¹,何冰清²;指导教师:黄孝天

1. 南昌大学第二临床医学院 2011 级临床医学

2. 南昌大学药学院 2012 级药学

【立论依据】 CVB3 属于小 RNA 病毒科肠道病毒属,能引起包括病毒性心肌炎、无菌性脑膜炎、胰腺炎等多种严重的疾病;目前,CVB3 感染引起病毒性心肌病我们尚无特效药物用于临床治疗,也没有合适的疫苗用于预防。3A 是 CVB3 主要的非结构蛋白,参与形成病毒复制复合体的骨架蛋白及抑制内质网至高尔基体的物质转运,但其如何与宿主细胞内蛋白相互作用以及对宿主的致病机制仍不清楚。本课题的前期工作中,以 CVB3 病毒 3A