

为诱饵,运用酵母双杂交系统从人心脏 cDNA 文库中筛出了多个阳性克隆, TMED4 是 7 个阳性蛋白之一。相关文献报道, TMED4 在细胞的凋亡中起促进作用,而 TMED4 表达的沉默,不仅可以促进 HSP70 的表达,也提高了 HSP70 和 Apaf-1 的结合能力,从而对细胞的凋亡起到了抑制作用。

【设计思路】 3A 是否在细胞凋亡中有作用;进一步论证 3A 与 TMED4 存在相互作用;是否是 3A 和 TMED4 的相互作用影响了细胞凋亡。

【实验内容】 Annexin V 法分别检测 pBudCE4.1-3A+brefeldin A、pBudCE4.1+brefeldin A 比较两组细胞的凋亡情况;COIP、激光共聚焦显微镜观察进一步论证 3A 与 TMED4 存在相互作用及共定位;动物感染 CVB3 后蛋白质印迹法检测 TMED4 的表达; Annexin V 法及蛋白质印迹等实验分别对 pBudCE4.1-3A+shTMED4、pBudCE4.1-3A+Cont. shRNA 两组细胞的凋亡情况和 HSP70、caspase-3 的表达情况进行检测和分析。 Annexin V 法及蛋白质印迹等实验中每一实验组及对照组均采取多组平行实验分别按 0、6、12、18、24、30、36、42 h 等不同时间进行相关实验操作。

【材料】 成年 BALB/c 小鼠, TurboFect, brefeldin A, TMED4 Antibody, HSP70 Antibody, caspase-3 Antibody, TMED4 shRNA Plasmid 等。

【可行性】 本课题理论依据充足可行;课题所采用的各项技术已较熟练的掌握;课题所需器材完备,资金充足。

【创新性】 本课题的前期研究基础具有原创性且实验设计方案均为本组成员独立完成; TMED4 是一个新发现且研究尚不足的蛋白,我们的研究成果必然会丰富 TMED4 在细胞内的功能且关于 CVB3 3A 与 TMED4 的相互作用对细胞结构和功能影响机制的研究在国际上属于首次。

关键词: CVB3 3A; TMED4; 相互作用; 细胞凋亡; HSP70; caspase-3

B-S2-20

微环境对巨噬细胞杀菌能力的影响

雷 山,王嘉琦,李 雪,钟巧法;指导教师:刘靖华

南方医科大学 2011 级医学实验技术

【立论依据】 根据活化状态及功能,巨噬细胞主要分为 M1 型巨噬细胞、M2 型巨噬细胞。不同组织中的巨噬细胞具有不同的膜表面抗原及受体,对于来源于同一种组织不同区域的巨噬细胞,其表型也具有明显的差异性,这证实了局部微环境对巨噬细胞表型的影响。本课题组的前期工作发现,经腹腔注射 LPS 的小鼠腹腔巨噬细胞与体外 LPS 处理的腹腔巨噬细胞在形态及吞噬杀菌能力上存在明显差异,提示微环境对巨噬细胞的吞噬能力有显著影响。

【设计思路】 巨噬细胞吞噬功能差异与亚细胞结构之间的联系;巨噬细胞吞噬功能差异与其分型之间的联系;微环境与巨噬细胞分型及吞噬能力之间的联系。

【实验内容】 分别取未进行预处理、在体和离体 LPS 预处理后腹腔巨噬细胞进行形态学比较和亚细胞结构观察,检测吞噬和杀菌能力,并用抗体标记其表面分子,利用流式细胞仪,检测吞噬能力与分型之间的关系;分别用 LPS/IFN- γ 和 IL-4 诱导出 M1 型、M2 型巨噬细胞,观察细胞形态并检测其吞菌和杀菌能力;分别取正常小鼠和腹腔注射 LPS 预处理 24 h 小鼠的腹腔灌洗液、体外经 LPS 预处理后腹腔巨噬细胞培养液上清进行细胞因子检测。

【材料】 6~8 周的 C57 小鼠;流式细胞仪、荧光倒置显微镜、标准细胞间及相关细胞培养等仪器设备;IL-4、LPS、胞培养基等试剂。

【可行性】 本实验设计思路清晰,逻辑性强,实验方法成熟。所在实验室拥有流式细胞仪等相应的仪器设备,具备完成实验的所有条件;前期已有一定实验结果,为实验的实施打下良好的基础

【创新性】 巨噬细胞的分型是最近炎症免疫相关研究的热点。现阶段对其分型的研究多集中在表面抗原与

受体方面,对分型与吞噬能力之间的关系却少有研究。本实验通过对不同微环境中的巨噬细胞进行研究,探索其吞噬能力的差异与分型的关系,期望能从一个新的角度来阐述微环境对巨噬细胞杀菌能力的影响,为临床防治感染提供全新的思路与方向。

关键词: M1/M2 型巨噬细胞; LPS; 微环境; 吞噬

B-S2-21

晚期糖基化终产物诱导内皮细胞通透性增高的机制

张伟金¹, 周晓燕², 吴洁³, 徐静³; 指导教师: 黄巧冰, 郭晓华

1. 南方医科大学 2010 级临床八年制
2. 南方医科大学 2012 级病理生理学硕士研究生
3. 南方医科大学 2011 级临床八年制

【立论依据】 晚期糖基化终产物(advanced glycation end products, AGEs)可通过 $[Ca^{2+}]$ 通道诱导细胞凋亡,而 AGEs 是否也能通过该通道诱导内皮细胞通透性增高尚不清楚,若我们能够证实,将对于糖尿病防治及其并发症的控制具有重大指导意义。

【设计思路】 用 EGTA 抑制外钙内流,研究 $[Ca^{2+}]$ 在 AGEs 介导的肌动蛋白骨架的改变,通透性的增高以及 moesin 磷酸化中所起的作用。

【实验内容】 探讨 AGEs 介导肌动蛋白丝 F-actin 改变的剂量和时间效应;证实 EGTA 对 AGEs 介导内皮细胞骨架肌动蛋白改变的抑制作用;探讨 AGEs 引起内皮细胞通透性增高的时间和剂量效应;证实 AGEs 介导内皮细胞通透性的改变是 $[Ca^{2+}]$ 依赖性的;探讨 AGEs 引起 moesin 蛋白磷酸化的时间和剂量效应;验证 AGEs 引起 moesin 蛋白磷酸化是 $[Ca^{2+}]$ 依赖性的。

【材料】 激光共聚焦显微镜,跨上皮细胞电阻检测仪,倒置显微镜,垂直电泳仪,Transwell 培养皿,低温离心机, Petri Dish 培养皿, HUVECS 细胞株,胰蛋白酶, Moesin 抗体及磷酸化 Moesin 抗体,罗丹明-鬼笔环肽,胎牛血清,磷酸盐缓冲液, 0.5% TritonX-100, 4% 多聚甲醛固定液, FITC 标记的右旋糖干, EGTA 标准溶液, 细胞裂解液, 封闭缓冲液, Tris 盐缓冲液, TBST 缓冲液, 电泳加样缓冲液, Tris 溶液。

【可行性】 本项目假设有类似文献支持,有一定的理论基础。本研究团队近年来一直在休克微循环实验室从事 AGEs 和内皮细胞通透性方面的工作。经过多次试验,已掌握一定的技术手段和研究数据。我们的预实验结果已经显示 AGEs 刺激脐静脉内皮细胞呈浓度和时间效应,且 EGTA 能有效地抑制了 AGEs 在第 8 小时诱导的通透性的增高。

【创新性】 本研究将首次阐述 AGEs 是否依赖于 $[Ca^{2+}]$ 导致内皮细胞通透性的增高,目前国内外还未有论文涉及此话题,研究结果将进一步揭示 AGEs 在糖尿病并发症、动脉粥样硬化相关疾病的机制。

关键词: 晚期糖基化终产物; 细胞骨架; 通透性; $[Ca^{2+}]$

B-S2-22

淫羊藿甙促成骨细胞分化的分子机制研究

水一方¹, 王欢², 吴宗方²; 指导教师: 马长艳

1. 南京医科大学 2011 级生物技术
2. 南京医科大学 2011 级临床医学七年制

【立论依据】 骨质疏松症是以骨量减少和骨的微观结构退化为特征,导致骨的脆性增加以致易于发生骨折的