

B-S2-25

ETS1 在多巴胺能神经元发育中的作用

崔洋洋,李雪廷,朱 凯;指导教师:袁 栋

南京医科大学 2012 年级临床医学

【立论依据】 帕金森病是第二大神经系统退行性病变,主要多发于 60 岁以上的老年人。其基本病理改变是特异性多巴胺能神经元因各种原因渐行性退变坏死,数量减少,致使多巴胺释放减少,但具体机制不明。从多巴胺能神经元发育的角度或许能解释多巴胺释放减少的分子机制。多巴胺神经元发育的各个阶段都有转录因子基因参与调控,如 SHH、FGF、Nurr1、Pitx3、Mash1 等。这些因子决定了多巴胺能神经元发育的命运并控制了一些重要的发育过程。作为转录因子,ETS1 表达于发育中的脑组织。在前期研究发现 ETS1 影响胚胎神经发育的基础上,过表达 ETS1 抑制酪氨酸羟化酶(TH)的表达。但 ETS1 在多巴胺能神经元发育的哪一阶段发挥作用,如何发挥作用均未阐明。

【设计思路】 利用非洲爪蟾作为模式动物,通过过表达或封闭 ETS1 表达,检测在多巴胺能神经元发育的不同阶段标志基因的表达,探讨 ETS1 影响多巴胺能神经元发育的阶段;进而寻找 ETS1 的下游靶基因。

【实验内容】 选择分裂良好的非洲爪蟾胚胎,利用显微注射方法注射 ETS1 mRNA 或反义寡核苷酸,实现 ETS1 的过表达或基因封闭,在神经发育的不同阶段收集胚胎,提取 RNA 或蛋白质,利用定量 RT-PCR、整胚原位杂交及蛋白质印迹方法检测标志基因的表达改变。之后,通过萤光素酶报告基因方法检测 ETS1 对其靶基因的转录调控。

【材料】 非洲爪蟾胚胎,ETS1 mRNA、反义寡核苷酸,原位杂交用探针及其他试剂,RT-PCR、蛋白质印迹试剂,报告基因检测系统,其他常规试剂。

【可行性】 本课题建立在前期的预实验的基础上,研究方向明确;非洲爪蟾胚胎体积大,易于进行显微注射;胚胎在体外发育,便于随时观察表型。

【创新性】 发现新的调节多巴胺能神经元发育的转录因子 ETS1 及其作用机制,为探讨帕金森病的发生机理提供新的线索。

关键词: ETS1;多巴胺;神经元;发育

B-S2-26

KCNE1 蛋白胞外肽段功能的研究

贺彬婵¹,郑 雅²;指导教师:李小青

1. 南通大学 2011 年级临床

2. 南通大学 2011 年级口腔

【立论依据】 KCNE1/KCNQ1(IKs)为电压依赖性钾离子通道,介导心肌细胞动作电位复极化 3 期中的 IKs 电流。KCNE1 的突变会造成高致死性的 LQT 综合症(V 型)。KCNE1 为通道调控亚基,对通道功能的实现具有重要意义。在其调控下,通道表现为缓慢激活特征,失活速度减慢,并且通道电导率明显增大。KCNQ1 单独形成的通道,表现为快速激活和快速失活,通道电导性较小。KCNE1 是由 129 个氨基酸构成的单次跨膜蛋白,分胞外段(N 端),跨膜段(M 段)和胞内段(C 端)。N 端包含 42 个氨基酸,关于该段的功能,研究极少,对其认识仍不全面,仅被报道与蛋白转运有关。本课题主要探究该蛋白 N 端的功能,研究关于该段可能有的更多的生理功能,并分析该段核心功能区段。

【设计思路】 通过分子技术制备 KCNE1 的 N 端缺失突变体,将其分别与 KCNQ1 共表达;以蛋白质印迹技