

术获得上述突变体的蛋白表达差异图谱,从而了解各个突变体的蛋白表达差异;以细胞免疫染色方法观察各突变体的亚细胞定位情况,从而了解 N 端缺失的部位对细胞定位的影响;以全细胞膜片钳技术检测各突变体(与 KCNQ1 共表达)的通道电流特征,从而了解 N 端缺失的部位对 KCNE1 功能的影响。最后,通过以上数据的综合分析评估 KCNE1N 端的功能,以及 N 端的核心功能部位。

【实验内容】 KCNE1 的 N 端缺失突变体的制备及其蛋白表达;野生型和突变体(与 KCNQ1 共表达)的细胞免疫染色;利用全细胞膜片钳技术,获得各缺失突变体与 KCNQ1 共表达后的通道功能的电生理数据。

【材料】 KCNE1、KCNQ1 哺乳动物细胞系表达质粒;哺乳动物表达细胞系 HEK293。

【可行性】 缺失突变体制备技术成熟,其他各项实验技术为实验室常用技术;理论基础充分,思路清晰;经文献查证对于 KCNE1 胞外段功能研究的尚无此类报道,因此该项目具有研究意义。

【创新性】 采用缺失突变体技术,通过多种实验方法从多个角度探讨蛋白特定部位的功能,是首次较深入探讨 KCNE1 蛋白特定区域的功能,对蛋白功能的深入了解,有助于积累临床治疗的理论依据。

关键词: IKs; KCNE1; 缺失突变体; LQTS

B-S2-27

在 小鼠 肝 纤维 化 中 β -catenin 信号 转 导 途 径 是 否 介 导 瘦 素 抑 制 SREBP-1c 的 表 达

林永萍¹, 苟惠清², 肖 宇³, 袁 雄⁴; 指导教师: 朱蕙霞

1. 南通大学医学院 2012 级临床
2. 南通大学医学院 2012 级口腔
3. 南通大学医学院 2012 级口腔
4. 南通大学医学院 2012 级临床

【立论依据】 肥胖易发肝纤维化并且大多数肥胖病人会有高瘦素血症。脂肪因子瘦素在肝纤维化的发生中发挥着独一无二的作用。在肝纤维化的发生中肝星状细胞(HSCs)的激活是一个关键的步骤而且固醇调节元件结合蛋白(SREBP-1c)能够抑制 HSCs 的激活。在已有的研究中,Leptin 可以抑制 SREBP-1c 的表达而导致肝纤维化, β -catenin 途径可以调节跟脂肪细胞分化有关的基因转录调节因子的表达,因此我们旨在认清 β -catenin 途径能否介导在小鼠肝纤维化中瘦素抑制 SREBP-1c 表达的作用。

【设计思路】 确认 Leptin 与 β -catenin 信号通路的关系;研究 β -catenin 是否介导 Leptin 诱导 SREBP-1c 表达的降低; β -catenin 信号通路对 SREBP-1c 表达的影响。

【实验内容】 小鼠肝纤维化模型制备、HSCs 分离与培养、蛋白质印迹分析、mRNA 分离和 real-time PCR 检测、质粒的制备和质粒转染检测分析、各蛋白表达的免疫组化及免疫荧光分析、肝纤维化组织检测、抑制剂的使用、荧光素酶的检测。

【材料】 Leptin, MaleC57BL/6Job/obmice, Ad. DKK-1, Ad. Fc, HSCs, SREBP-1c, primers, plasmid pSREBP1c-Luc, Plasmid pdncatenin, plasmid pwtcatenin, plasmid Plxre-luc, normal serum。

【可行性】 肝纤维化与 HSCs 的激活密不可分,而 HSCs 的激活是和瘦素水平的上调以及连续的 SREBP-1c 表达的下调联系在一起;相关实验表明 β -catenin 信号转导途径可以调节脂肪细胞的增殖与分化也参与了胆管结扎导致的肝纤维化,所以就很有必要去研究肝纤维化中 Leptin、 β -catenin 以及 SREBP-1c 三者之间的关系。

【创新性】 确定 β -catenin 信号传导通路在 Leptin 诱导肝纤维化中的作用,以及 β -catenin 信号通路对 SREBP-1c 表达的影响,可为以瘦素作为靶点治疗肝纤维化提供新的见解。

关键词: Leptin; β -catenin; SREBP-1c; hepatic stellate cell