

B-S2-32

维甲酸诱导基因 I 对胆固醇 7 α 羟化酶的调控作用研究

赵 轩¹, 陈 辰¹, 陈于菲², 方朝毅¹, 王姝元¹; 指导教师: 孙岳平

1. 上海交通大学医学院 2011 级临床医学八年一贯制

2. 上海交通大学医学院 2011 级临床医学八年一贯制法文班

【立论依据】 基因芯片结果显示, 敲除维甲酸诱导基因 I(RIG-I) 的小鼠体内胆固醇 7 α 羟化酶(下文称 CYP7B1) 基因水平发生变化, 说明两者存在慢反应联系, 本实验目的旨在探究这两个基因之间是否存在直接调控的快反应联系。

【设计思路】 本实验首先需要对基因芯片的结果进行确定, 随后通过多种方式改变 RIG-I 的表达水平(干扰素刺激、质粒转染等), 观察 CYP7B1 是否存在明显的协同表达变化。如果能确定两者之间确实存在直接调控关系, 将进一步探究调控的具体机制, 从分子水平阐释调控的环节。

【实验内容】 利用 real-time PCR 检测基因芯片结果; 利用 IFN γ 上调 RIG-I 表达水平, 并运用 real-time PCR 检测 CYP7B1 的表达水平变化; 构建载有 RIG-I 基因的质粒并进行质粒转染, 运用 real-time PCR 和蛋白质印迹法检测 CYP7B1 的基因表达和蛋白表达变化情况; 转染 RIG-I promoter, 探究其调控 CYP7B1 的具体机制。

【材料】 细胞: 293T 细胞、Hela 细胞、HepG2 细胞等; 其他: RIG-I、CYP7B1 引物、一抗、二抗及其他常规所需试剂。

【可行性】 预实验中已经确定了 RIG-I 与 CYP7B1 间存在慢反应调控关系, 同时也确定了相关文献中 IFN- γ 对 RIG-I 的上调作用, 实验器材、试剂齐备。

【创新性】 本实验首次提出 RIG-I 基因与 CYP7B1 及其所参与的脂代谢过程有调控关系, 对胆固醇代谢、神经甾体代谢、及 CYP7B1 缺乏所引起的一系列疾病的研究也可以提供一定的实验依据和理论支持。

关键词: 维甲酸诱导基因 I; RIG-I; 胆固醇 7 α 羟化酶; CYP7B1; 脂代谢

B-S2-33

表没食子儿茶素没食子酸酯通过上调 LDLr 和 LRP1 表达促进 A β 淀粉样蛋白清除作用

钱 运, 吴 晗, 王若曦, 卢静璐; 指导教师: 程 枫

上海交通大学医学院 2011 级临床医学八年一贯制

【立论依据】 人体自身清除 A β 主要是通过中枢清除和外周清除两种方式, 中枢清除 A β 的方式主要是通过一些受体或者转运蛋白等介导 A β 进入小胶质细胞、星形胶质细胞或者神经元进行降解, 或通过脑血管中的受体介导 A β 由脑内泵到外周血液循环进行清除等。外周清除 A β 主要通过外周血循环中一些蛋白对中枢的 A β 起到“漏槽效应”。体内 A β 的清除与低密度脂蛋白受体(LDLR)和低密度脂蛋白受体相关蛋白 1(LRP1)有关, 人为改变其表达可能是潜在的治疗阿尔茨海默病(Alzheimer's Disease, AD)的新途径。

【设计思路】 在外周血中 A β 与可溶性 LRP1 结合形成的复合物随血循环到达肝脏清除, 促进 A β 从中枢到外周的转运并有效地防止了游离的 A β 再次进入中枢, 故肝脏中的 LRP1 介导着 A β 的全身系统性清除。LDLR 在 A β 清除的过程中也发挥了重要的作用, 在 LDLR 缺陷的 APP 转基因小鼠大脑 A β 的沉积显著性增加; 而在 LDLR 高表达的 APP 转基因小鼠大脑 A β 的沉积显著减少; 另外转基因小鼠中 LDLR 表达升高两倍足以使脑内 A β 减少 50% 以上。这些证据提示调控 A β 清除相关受体或蛋白的表达可能对 AD 起到疾病修饰的作用。表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG)属于茶多酚, 是绿茶中的主要活性成分之一。我们假设 EGCG 等多酚类物质对外周 A β 清除

有效,并探究 LDLR 和 LRP1 的表达是否受多酚物质的影响,同时探究外周清除途径中多酚类物质对肝细胞摄取 $A\beta$ 的影响。若多酚类物质能够提高 LDLR 或 LRP1 的表达水平,诱导 $A\beta$ 自身清除,则提示多酚类物质在 AD 治疗中存在潜在的应用前景,LDLR 或 LRP1 也将是有效的促进 $A\beta$ 清除的人为干预途径。

【实验内容】 (1)EGCG 对肝细胞 LDLR 和 LRP1 的 mRNA 和蛋白质表达水平的影响;(2)EGCG 对肝细胞 $A\beta$ 摄取和清除的影响:①高内涵定量检测对 $A\beta$ 摄取的影响;②ELISA 检测对 $A\beta$ 清除的影响。

【材料】 98%EGCG,Chang liver 细胞,胎牛血清等。

【可行性】 通过观察经 EGCG 处理的细胞对 $A\beta$ 的摄取从细胞水平来探究其作用,再从分子观察 LDLR 和 LRP1 的表达变化来探究 EGCG 对 LDLR 和 LRP1 自身清除途径的影响。理论上具有较好的可行性。

【创新性】 (1)选用中国历史悠久的绿茶当中的提取物 EGCG,廉价易得,在中国具有广泛的应用前景。(2)选用多组织来源细胞,机制探究全面。

关键词:EGCG; $A\beta$ 淀粉样蛋白;LDLR;LRP1;AD

B-S2-34

大鼠睾丸 Cx43 蛋白表达的加龄变化研究

陈珊珊,郑刚,胡圣佳,陈徐,戴圣倩;指导教师:张金萍
绍兴文理学院 2011 级临床医学

【立论依据】 缝隙连接(GJ)是目前认为相邻细胞间唯一能直接进行能量、物质和信息交换的一种特殊通道。缝隙连接 43(Connexin 43, Cx43)是睾丸中主要的缝隙连接蛋白,存在于 Sertoli cell、Leydig cell、精原细胞和精母细胞。原位染料偶联实验研究显示,在精子发生过程中,Leydig cell 之间、Sertoli cell 之间以及 Sertoli cell 和精原细胞、精母细胞之间的缝隙连接起着重要的局部调节作用。

【设计思路】 采用免疫组化和图像分析技术,观察大鼠出生后不同周龄睾丸组织中 Cx43 的表达状况和加龄变化,利用血细胞计数板检测精子百分率和活力,探讨缝隙连接蛋白与精子发生的相关性。

【实验内容】 雄性 SD 大鼠 42 只,分为 1、3、5、7、9、11、13 周龄组,每组 6 只。断颈处死各周龄大鼠,取 1~13 周龄双侧睾丸,Bouin 液固定 24 h,常规石蜡包埋、切片,免疫组化检测睾丸 Cx43 蛋白的表达,图像分析系统分析 Cx43 蛋白表达的积分光密度值。取 3~13 周龄双侧附睾,利用血细胞计数板检测精子百分率和活力。采用 SPSS 19.0 建立数据库,进行统计学处理,撰写实验报告。

【材料】 SD 雄性大鼠(浙江中医药大学实验动物中心提供)。兔抗大鼠 Cx43 单克隆抗体(Santa Cruz 公司),生物素标记羊抗兔 IgG 抗体、SABC 免疫组化试剂盒(华美公司,北京)。

【可行性】 绍兴文理学院医学院医学实验中心是浙江省实验示范中心建设单位和绍兴市大学生创新创业实践基地,具备完成该项课题所需要的所有仪器和实验条件。指导教师是浙江省教学名师,指导省、市级学生科研课题 8 项,指导学生在一级期刊和核心期刊杂志上发表论文 14 篇。课题组成员动手能力较强,获校级基础医学技能操作竞赛奖,较熟练地掌握了免疫组化和图像分析技术。

【创新性】 以 Cx43 蛋白为靶点,探讨 Cx43 蛋白在大鼠出生后不同周龄睾丸中表达的加龄变化以及与精子发生的相关性。

关键词:睾丸;Cx43 蛋白;周龄;精子发生;大鼠