

S-3 病原生物与微生物学, 感染与免疫

B-S3-1

pTn5GFP 转座质粒用于耐药鲍曼不动杆菌生物被膜相关基因的研究

陈君逸¹, 周 明¹, 卢 鹏²; 指导教师: 邹清华

1. 北京大学医学部 2010 级临床医学

2. 北京大学医学部 2011 级临床医学

【立论依据】 鲍曼不动杆菌(*Acinetobacter baumannii*, AB)是一种革兰氏阴性球杆菌,是引起院内感染的主要菌种之一,多重耐药和泛耐药 AB 菌株感染更是给临床治疗带来极大的困难。生物被膜形成能力与 AB 耐药以及致病性密切相关。寻找 AB 生物被膜形成的关键基因对于 AB 相关疾病的预防和控制具有重要意义。转座子是一段特殊的 DNA 片段,在转座酶的作用下,可随机插入细菌基因组,使插入基因失活,改变相关表型。应用转座子随机突变策略可以找出特定表型对应的基因,但是以传统的抗生素抗性基因作为报告基因显然不能满足对多重耐药菌株的研究。

【设计思路】 绿色荧光蛋白(GFP)因为不需要单独加入底物并且易于观察而被广泛用来标记生物分子或细胞。已有研究表明,GFP 基因插入细菌的染色体上后,可以有效地对细菌进行标记。基于转座质粒以及 GFP 的特点,本研究拟构建具有 Tn5 转座子和 GFP 基因的 pTn5GFP 转座质粒,利用 GFP 作为报告基因,构建临床分离的多重耐药 AB 突变文库,进而筛选出 AB 生物被膜形成的关键基因,并对其功能进行研究。

【实验内容】 以 pGFPmut3.1 质粒为模板,扩增 GFP 基因,将其连接入含有 Tn5 转座子的 pRL27 质粒,构建 pTn5GFP 转座质粒。利用该质粒对多重耐药 AB 菌株进行转座子突变,构造突变文库。对突变株的生物被膜情况进行分析,确定转座子插入位点,找出生物被膜形成的关键基因,并对其功能进行研究。

【材料】 临床多重耐药 AB 两株,R005 和 R036,自北京大学人民医院获得。常用工具菌 *E. coli* CC118 $\lambda\pi$ 和 *E. coli* DH5 α 。pRL27 和 pGFPmut3.1 质粒由原实验室毕业研究生提供。

【可行性】 已成功构建了 pTn5GFP 转座质粒,该质粒在容纳菌株 *E. coli* CC118 $\lambda\pi$ 具有绿色荧光表型,并已通过预实验初步确定了两株多重耐药 AB 生物被膜形成能力和最适实验条件。

【创新性】 本研究将 GFP 报告基因的便捷性以及转座质粒的转座性结合起来,有效解决了因耐药性而无法对泛耐药菌株构建突变文库的问题,结果直观,易于筛选,可行性高。

关键词: 转座子; GFP; 多重耐药菌; 鲍曼不动杆菌; 生物被膜

B-S3-2

结核分枝杆菌 38KD 蛋白对小鼠树突状细胞的功能影响

袁建波¹, 秦 欢², 宋 丹³, 秦焕永¹; 指导教师: 秦娜琳

1. 遵义医学院 2011 级医学检验

2. 遵义医学院 2011 级免疫

3. 遵义医学院 2012 级临床

【立论依据】 结核分枝杆菌(MTB)是结核病的病原菌,属胞内寄生菌。MTB 感染机体后由抗原提呈细胞(APC)将抗原分子提呈给初始 T 细胞,诱导体内产生以细胞免疫为主的适应性免疫应答。树突状细胞(DC)作为提呈能力最强的 APC 在机体抗结核免疫中起着重要作用。有研究表明 MTB 可通过影响 DC 的功能来调节淋巴细胞的应答。如 Palma 等发现 MTB 的 PstS1 蛋白可刺激 DC 诱导记忆性 T 细胞增殖并分泌更多的 IFN- γ 和 IL-