

南、美罗培南纸片;培养基:营养琼脂培养基;仪器:VITEK-32 全自动微生物鉴定/药物分析系统,低速高速离心机,PCR 仪,电泳仪,凝胶成像系统,-20℃低温冰箱;试剂:D3H₂O,PCR 引物,等电聚焦电泳用聚丙烯酰胺凝胶, TaqMix(含 KCl、Tris-HCl、MgCl₂、dNTP 混合物、Pfu DNA 聚合酶、溴酚蓝、其它增强剂与稳定剂),GelRed 核酸电泳染料,PCR DNA Loading Buffer(1 000 bp)。

【可行性】 (1)研究路线在理论和实践上都是可行的,相关的技术都比较成熟;(2)湖北医药学院具备所有相关实验条件;(3)本课题指导教师有 20 余年的微生物代谢产物及基因组研究经历,且已完成十堰地区三甲医院近十年来临床耐药菌株的流行病学调查和耐药性分析;(4)现已获得耐药菌株 *K. oxytoca*,正在进行其染色体 DNA 携带耐药基因的筛查。

【创新性】 国内外对产酸克雷伯菌耐碳青霉烯类机理的研究刚刚起步,本课题拟提取耐药株质粒 DNA,分析耐药基因,预测产酸克雷伯菌院内感染的可能。目前,国内相关报道很少,本课题为较早开展的研究。

关键词:产酸克雷伯菌;碳青霉烯类;耐药性;KPC-2

B-S3-6

NF- κ B 在感染合胞病毒的人支气管上皮细胞凋亡中作用的探讨

吴东升¹,丁 煌¹,张诗瑶²,张 彧¹,张晨阳¹;指导教师:李 玲,刘慧萍

1. 湖南中医药大学 2012 级中西医结合

2. 湖南中医药大学 2013 级中医临床

【立论依据】 呼吸道合胞病毒(RSV)易致呼吸道上皮细胞受损凋亡,NF- κ B 与细胞凋亡密切相关。建立感染 RSV 的支气管上皮细胞(NHBE)模型,检测 NHBE 的增值、凋亡情况及 NF- κ B 的转位,阐明 NF- κ B 在感染合胞病毒的人支气管上皮细胞凋亡中的作用,为临床治疗呼吸道疾病提供新的方法和思路。

【设计思路】 建立感染 RSV 的 NHBE 模型,检测细胞增值、凋亡情况以及 NF- κ B 是否转位,定性定量地探讨呼吸道合胞病毒(RSV)是否通过诱导 NF- κ B 激活介导人支气管上皮细胞(NHBE)凋亡。

【实验内容】 培养人支气管上皮细胞(NHBE),建立并鉴定 RSV 感染 NHBE 的体外细胞模型(用定量 RT-PCR 法鉴定细胞模型是否成功;设正常组、水相处理组、RSV 感染组,MTT 比色法检测 RSV 对 NHBE 增殖的抑制作用,感染组以不同滴度分为 1 000、500、100、50、10 TCID₅₀ 5 个组,感染 12、48、72、96、120 h);用 Annexin-V-FITC 凋亡检测试剂盒检测 RSV 诱导体外培养的 NHBE 的凋亡;以免疫荧光法和蛋白质印迹法检测经 RSV 处理的人支气管上皮细胞 NF- κ B 的激活和对细胞凋亡的影响。

【材料】 人支气管上皮细胞(NHBE)细胞;RSV A 亚型原型株 Long 株;细胞胞浆核蛋白提取试剂盒;Annexin V-FITC 凋亡检测试剂盒;兔抗 NF- κ B 抗体;电泳仪。

【可行性】 (1)呼吸道合胞病毒(RSV)易致呼吸道上皮细胞受损凋亡,NF- κ B 与细胞凋亡密切相关,感染 RSV 的人支气管上皮细胞模型容易建立成功。(2)本组成员长期跟随老师进行呼吸合胞病毒、流感病毒的研究,具有一定的科研基础和实验能力。(3)所需试剂、仪器、材料,医学基础实验中心基本都有配备,学校同时具备 SPF 级实验中心。

【创新性】 (1)首次从 NF- κ B 角度探讨感染 RSV 的 NHBE 模型,为临床治疗呼吸道疾病提供新的方法思路。(2)分别使用免疫荧光法和蛋白质印迹法定性与定量检测 RSV 是否通过诱导 NF- κ B 激活介导 NHBE 凋亡。

关键词:呼吸道合胞病毒(RSV);人支气管上皮细胞(NHBE);核因子 NF- κ B