

## B-S3-10

## 人疱疹病毒 6 型 DR7 蛋白在神经胶质瘤发生中的作用研究

周 帅,李明月,沈曦月;指导教师:李凌云

南京医科大学 2012 级生物技术

**【立论依据】** 神经胶质瘤是人类最常见的颅内原发性肿瘤,恶性程度高,对人类健康造成严重威胁。近年来有关神经胶质瘤和病毒感染相关的证据逐渐增多。人疱疹病毒 6 型(human herpesvirus 6, HHV-6)是一类嗜人淋巴细胞的双链 DNA 病毒,分为 HHV-6A 和 6B 两个亚型。HHV-6 是一种肿瘤相关病毒,近年来国内外文献均报道在胶质瘤标本中 HHV-6DNA 和蛋白的阳性率明显高于对照组,表明 HHV-6 感染在神经胶质瘤的发生中具有重要作用,但是起关键作用的病毒基因及机制仍不十分清楚。HHV-6 DR7 基因是潜在的转化基因,其表达产物是一种转录激活子。文献报道 DR7 蛋白能导致 NIH3T3 细胞体外转化以及裸鼠皮下成瘤,DR7 蛋白还可以和肿瘤抑制基因 p53 结合导致 p53 功能缺失。为探究 DR7 在神经胶质瘤发生中的作用,我们通过免疫组化检测了神经胶质瘤组织中 DR7 的表达,发现神经胶质瘤组织中 DR7 的阳性率明显高于瘤旁及正常组织。

**【设计思路】** 首先明确 DR7 蛋白对神经胶质瘤细胞增殖、侵袭和转移的影响,然后深入研究引起上述变化的分子机制,并在体内进一步证实 DR7 蛋白对神经胶质瘤肿瘤形成能力的影响。

**【实验内容】** (1)构建 DR7 过表达载体,建立 DR7 过表达稳定转染细胞系。(2)细胞水平上研究 DR7 蛋白对细胞增殖,侵袭和转移等生物学功能的影响。(3)运用基因芯片,real-time PCR 和蛋白质印迹等技术确定引起上述变化的机制。(4)体内验证 DR7 蛋白对神经胶质瘤细胞肿瘤形成能力的影响。

**【材料】** HHV-6 标准株,U87 细胞株,real-time PCR 试剂,蛋白质印迹用试剂及抗体,裸鼠。

**【可行性】** (1)理论依据充分。HHV-6 是嗜神经的 DNA 病毒,可长期潜伏于中枢神经系统。潜伏期的 HHV-6 基因组可整合于宿主染色体,一旦宿主免疫力下降则再激活,激活的 HHV-6 表达多种病毒蛋白,其中 DR7 是具有反式激活能力的转化基因。(2)有前期结果。我们已成功建立了 DR7 过表达稳定转染细胞系,MTT 和 Transwell 实验均表明 DR7 蛋白能明显促进 U87 细胞的增殖和侵袭。

**【创新性】** 本研究基于临床,运用分子生物学的相关技术,首次研究 HHV-6DR7 在神经胶质瘤发生发展中的作用,将为神经胶质瘤的预防及治疗提供新靶点。

**关键词:**人疱疹病毒 6 型;DR7;神经胶质瘤;肿瘤发生

## B-S3-11

## 日本血吸虫 PP2C 蛋白磷酸酶的鉴定与功能研究

毛勇安<sup>1</sup>,周 桥<sup>2</sup>;指导教师:冯金荣

1. 南通大学 2012 级临床医学

2. 南通大学 2011 级口腔医学

**【立论依据】** 日本血吸虫广泛流行于我国长江流域及以南地区,累计感染者超过 8 000 万,对人类的危害极大。目前日本血吸虫全基因组测序工作已经完成,但对于其重要基因的功能的研究却较少。

**【设计思路】** 蛋白质的可逆磷酸化是真核细胞的一个关键调控机制,其中蛋白磷酸酶是生物体内重要的调节因子,广泛参与细胞周期循环、细胞分化与凋亡、信号转导等生命活动。目前,蛋白磷酸酶在寄生虫生长发育过程中的作用已逐渐受到人们的重视。在血吸虫的研究中发现,外源的丝氨酸/苏氨酸蛋白磷酸酶可诱导小鼠产生有效的保护性免疫,抑制虫体的繁殖。而在弓形虫中的研究还发现,提高其 PP2C 磷酸酶活性可显著抑制虫体的繁殖。而在酿酒酵母等模式生物中的研究均发现,PP2C 磷酸酶在细胞周期循环等过程中也发挥着重要的作用。但

迄今为止,对于日本血吸虫 PP2C 蛋白磷酸酶的认识却几乎空白,本课题对其功能的研究有助于血吸虫病的临床治疗和新药的研发。

**【实验内容】** 采用 PCR 等方法克隆日本血吸虫 PP2C 蛋白磷酸酶编码基因,构建原核表达载体;进行诱导表达,并检测表达产物的去磷酸化活性;利用 RT-PCR 检测 PP2C 蛋白磷酸酶的组织特异性;利用融合 PCR 方法构建带有酿酒酵母启动子的日本血吸虫 PP2C 基因,并导入酿酒酵母 PP2C 缺失株,检测其与酿酒酵母 PP2C 功能上的联系。

**【材料】** 本实验主要以日本血吸虫为实验材料,同时,实验中还会利用酿酒酵母 PP2C 蛋白磷酸酶缺失株;原核表达载体采用 pET28a,酿酒酵母表达载体采用 pRS316 和 pHAC181。

**【可行性】** 前期我们已经鉴定了白念珠菌中的 PP2C 蛋白磷酸酶,建立了成熟的研究方案。此外,经过序列分析,我们已经初步找到日本血吸虫中编码 PP2C 蛋白磷酸酶的 10 个基因,经过生物信息学方法分析其具有 PP2C 催化结构域。

**【创新性】** 本研究首次对日本血吸虫的 PP2C 蛋白磷酸酶进行鉴定和功能研究,对于理解其在日本血吸虫生命活动中的作用有重要意义,可为血吸虫病的防治提供理论指导。

**关键词:** 日本血吸虫;PP2C 蛋白磷酸酶;去磷酸化活性

## B-S3-12

# 周期型马来丝虫 M29 基因疫苗的制备与应用

张波<sup>1</sup>,刘芹<sup>2</sup>,李涛<sup>1</sup>;指导教师:方政

1. 南通大学 2012 级临床医学
2. 南通大学 2012 级口腔医学

**【立论依据】** 丝虫病是一种严重危害人类健康的疾病,全球受威胁人口超过 11 亿。如何抵御丝虫感染和侵袭,除药物和防蚊外,免疫预防被视为一种重要的具有时效性的措施。本课题以我国流行的周期型马来丝虫为研究对象,克隆和表达周期型马来丝虫 M29 编码基因,建立 M29 基因真核表达体系,进行其表位基因原核及真核表达,重组构建马来丝虫 M29 表位基因疫苗,并进一步进行免疫学研究应用,筛选新的预防丝虫感染疫苗候选分子,为最终研制开发出具有保护作用的抗丝虫感染基因工程疫苗并进入临床奠定基础。

**【设计思路】** 进行研究方案及技术路线的自主设计,学习课题中所要求的引物的设计和合成技术,克隆和扩增周期型马来丝虫 M29 编码基因。通过 RT-PCR 技术和体外特异性扩增技术,进行马来丝虫 M29 表位基因原核及真核的重组质粒构建以及免疫学研究与应用。

**【实验内容】** 克隆和扩增周期型马来丝虫 M29 编码基因;构建含目的基因的原核及真核表达质粒;HeLa 细胞培养及转染技术实验;周期型马来丝虫 M29 基因疫苗免疫接种与检测。

**【材料】** *E. coli* DH5 $\alpha$  大肠埃希菌,pET-28a(+ )载体,pcDNA3.1(+ )质粒,试剂盒,限制性内切酶,DNA 连接酶,异丙基  $\beta$ -D-硫代半乳糖苷酶,咪唑。

**【可行性】** 课题研究将在指导教师专用科研实验室进行,备有课题研究所需各种仪器设备,该课题是指导教师科研项目中的子项目,具有前期工作的基础。同学们利用课余时间查阅资料;到实验室进行科研实际操作;由指导教师进行理论和实际操作方面的指导;有实验室在读研究生的实际带教。同学们通过理论学习和实际操作实践掌握相关技术,培养动手能力,按期完成计划项目。

**【创新性】** (1)以我国流行的周期型马来丝虫为研究对象,进行基因工程疫苗的研究。(2)采用先进的哺乳动物 HeLa 细胞作为真核表达系统,具备完整的蛋白质组装和修饰系统,表达产物的构象接近天然蛋白质。(3)通过设计 B 细胞表位,进行马来丝虫 M29 表位基因疫苗叠加免疫研究。

**关键词:** 周期型马来丝虫;肌球蛋白;基因;疫苗