

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¹,刘芹²,李涛¹;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 α 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 β -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