

B-S3-13

铜绿假单胞菌中 c-di-gmp 相关的突变菌株的研究

黄婷¹, 杨慧², 王浩¹, 闫军¹; 指导教师: 黄卫东, 王银

1. 宁夏医科大学 2012 级医学影像学

2 宁夏医科大学 2012 级临床医学

【立论依据】 作为一种新型而广泛存在的第二信使, 环鸟苷二磷酸(c-di-GMP)调控细菌的运动性、生物膜合成、细菌毒性、细胞周期等多种生理过程; 而这些功能均与细菌的致病性及耐药性密切相关。在细菌中, 环鸟苷二磷酸的代谢及胞内水平是由两种催化功能相反的酶共同起作用: 鸟苷酸环化酶(diguanylate cyclase, DGCs)将两分子 GTP 转化生成一分子 c-di-GMP; 而环鸟苷二磷酸特异的磷酸二酯酶(phosphodiesterase, PDEs)则将 c-di-GMP 分解为 pGpG, 并最终水解为 GMP。鸟苷酸环化酶具有高度保守的 GGDEF 蛋白结构域, 环鸟苷二磷酸特异的磷酸二酯酶则具有 EAL 结构域或较为少见的 HD-GYP 结构域, 这些蛋白统称为环鸟苷二磷酸代谢蛋白(c-di-GMP metabolizing proteins)。铜绿假单胞菌模式菌株 PAO1 中有多达 38 个含 GGDEF 及 EAL 结构域的蛋白; 然而, 环鸟苷二磷酸是水溶性的小分子化合物; 细胞内却存在如此多的担负环鸟苷二磷酸代谢功能的基因, 这些具有“重叠性”的基因功能及其相互协调的机制完全不清楚。

【设计思路】 基因突变将导致表型变化, 由此将表型与基因型相联系, 从而使得对特定基因功能进行分析成为可能。

【实验内容】 本研究利用细菌表型分析及 PCR 手段, 比较不同的基因在细菌的生物膜合成及泳动性中的作用。

【材料】 以课题组拥有的多个 GGDEF 及 EAL 结构域突变的铜绿假单胞菌突变菌株为主要研究对象。

【可行性】 (1)已经拥有多个环鸟苷二磷酸代谢相关的突变菌株, 实验材料有所保证; (2)涉及到的实验方法, 例如细菌培养及 PCR, 均较为规范和易于掌握。

【创新性】 本项研究中涉及到的多个基因均未见详细的分析、鉴定; 我们将以野生型为对照, 在确定基因型的基础上, 对突变体菌株的表型进行较为精细的分析、比较, 由此为未来进一步的研究工作奠定基础。

关键词: 铜绿假单胞菌; 环鸟苷二磷酸; GGDEF 及 EAL 结构域; 基因型; 表型

B-S3-14

博卡病毒 MVC 对 MDCK 细胞的感染能力分析

金彦国¹, 马鑫², 陈芳明¹; 指导教师: 孙玉宁, 张茜

1. 宁夏医科大学 2012 级生物技术

2. 宁夏医科大学 2012 级医学影像学

【立论依据】 犬亚型博卡病毒 MVC 属于细小病毒家族成员。病毒能够在不同的物种及生物体间发生种属间的感染和疾病传播, 关于博卡病毒在不同物种间的传播和感染方面的报道甚少。实验指导教师在前期研究发现, 博卡病毒 MVC 的感染性克隆载体能够在一些非犬来源的细胞系中进行 DNA 的复制并形成完整具有感染能力的病毒颗粒, 但是 MVC 并不能感染这些细胞系。MVC 能否感染犬来源的 MDCK 细胞系, 其感染能力如何? 这就是我们实验设计的出发点。

【设计思路】 用犬来源 WRD 细胞(MVC 的嗜性细胞, 感染的阳性对照)和 MDCK 细胞系作为感染对象, 采用不同感染滴度 MVC 与 2 种细胞孵育, 用免疫荧光技术、RT-PCR 观察细胞中是否有病毒基因表达; 采用 MTT 法观察细胞增殖能力的变化, 依此确认 MVC 对 MDCK 细胞的感染能力。