

B-S3-16

弓形虫重组粘附蛋白复合体 MIC2-M2AP 的制备、鉴定及免疫保护效应

谢彬彬, 章庆伟, 白炳君, 陈亲芬; 指导教师: 梁韶晖, 刘文权

温州医科大学 2010 级临床医学

【立论依据】 弓形虫微线体分泌的粘附蛋白 MIC2 与 M2AP(MIC2 相关蛋白)以 1:1 的比例形成 MIC2-M2AP 六聚复合体,转移到弓形虫顶端与宿主细胞膜之间形成的连接区域,协助虫体进入宿主细胞。

【设计思路】 制备弓形虫重组粘附蛋白复合体 MIC2-M2AP,鉴定其免疫原性和免疫反应性及其在抗弓形虫入侵宿主细胞中的作用,为筛选 MIC2-M2AP 作为弓形虫疫苗候选抗原的研究奠定基础。

【实验内容】 RT-PCR 扩增弓形虫 MIC2 和 M2AP 基因,克隆至组成型表达的毕赤酵母表达载体 pGAPZ α A 中,构建重组真核表达质粒 pGAPZ α A-MIC2 和 pGAPZ α A-M2AP,利用同源重组的方法将 MIC2 和 M2AP 基因整合到同一毕赤酵母细胞 X33 的基因组中进行发酵表达获得重组 MIC2-M2AP 复合体,His 标签 Ni-NTA 柱亲和层析纯化后免疫小鼠,采用免疫小鼠血清和弓形虫感染鼠血清进行蛋白质印迹鉴定重组 MIC2-M2AP 复合体的免疫原性和免疫反应性,免疫小鼠抗重组 MIC2-M2AP 复合体多抗血清体外中和实验观察阻断弓形虫入侵宿主细胞效应,重组 MIC2-M2AP 复合体免疫小鼠的抗弓形虫感染效应。

【材料】 弓形虫 RH 株速殖子,毕赤酵母表达载体 pGAPZ α A。

【可行性】 国外文献已经证实 MIC2-M2AP 复合体在协助虫体的滑移运动和侵入细胞中发挥重要的作用,敲除 MIC1 基因后,弓形虫株对宿主细胞的入侵率下降 50%,敲除 MIC2 的结合蛋白 M2AP 后,弓形虫株对宿主细胞的入侵率下降 80%以上,因此重组 MIC2-M2AP 复合体有可能作为弓形虫疫苗候选抗原。目前我们已成功构建了重组真核表达载体 pGAPZ α A-MIC2 和 pGAPZ α A-M2AP,其核苷酸序列与 GenBank 中的序列同源性为 100%。

【创新性】 国内外在弓形虫疫苗候选抗原筛选研究中,目前报道较多的是弓形虫表面抗原(SAG)、棒状体蛋白(ROP)、致密颗粒抗原(GRA)等可能作为弓形虫疫苗候选抗原的研究,而关于微线体蛋白(MIC)尤其是 MIC2-M2AP 复合体可作为弓形虫疫苗候选抗原的研究未见报道,而根据已报道的微线体蛋白相关研究成果,我们推测重组 MIC2-M2AP 复合体免疫会产生较强的免疫保护效果。

关键词: 刚地弓形虫; MIC2; M2AP; 免疫保护

B-S3-17

新型疟疾传播阻断疫苗候选抗原的确定及其效应研究

李思涵¹, 张心尧¹, 陈晓枫¹, 罗强², 刘啸白¹; 指导教师: 曹雅明

1. 中国医科大学四年级临床医学七年制

2. 中国医科大学四年级临床医学五年制

【立论依据】 疟疾作为重要的全球性公共卫生问题之一,其防控已被写入联合国千年发展目标。我国也正式提出到 2020 年实现消除疟疾这一宏伟目标。“疟原虫发育阶段机理及其在疟疾传播阻断上的应用的研究”被国际疟疾消除专家委员会定位为今后疟疾研究的重点方向,由此提示切断疟原虫在人与媒介按蚊之间的传播是人类彻底消除疟疾的根本策略。

【设计思路】 鉴于疟原虫有性发育阶段的配子体是由人类至媒介按蚊传播的唯一形式,同时,目前研究的疟疾传播阻断疫苗(TBV)候选抗原 P230、P48/45、P25/28 均难以产生完全的传播阻断效应,因此,进一步拓展和深