

B-S3-19

登革病毒 prM 蛋白糖基化对 ADE 的影响

范舒雅, 张海斌, 陈燕琴, 何诗敏; 指导教师: 周俊梅

中山大学 2011 级临床医学

【立论依据及设计思路】 登革病毒的致病作用表现复杂, 目前大多数学者均认同 Halstead 等于 1977 年提出的抗体依赖增强效应(ADE)学说。现已知与机体免疫应答有关的病毒蛋白包括 E 蛋白、M 蛋白和 NS1 蛋白。其中, prM 蛋白(即 M 蛋白的前体)的切割是未成熟登革病毒颗粒向成熟病毒颗粒转变的关键步骤。且 prM 蛋白为黄病毒属的主要表面抗原, 能诱导机体产生特异性抗体, 研究发现其亦与 ADE 作用相关。同行及我们的研究均发现 prM 抗体是诱导 ADE 作用发生的主要增强型抗体。prM 蛋白本身为糖蛋白, 其糖基化位点存在于 7、31、52 上。目前对于 prM 蛋白各位点的糖基化作用及其机制不明, 特别是其对 ADE 作用的影响尚无报道。因此, 本实验通过构建单个和多个糖基化位点突变的真核表达载体, 制备突变后 prM 抗体, 探讨登革病毒 prM 蛋白 N-糖基化位点 7、31、52 的单个和多个位点的突变重组对其 ADE 效应的影响。

【实验内容】 通过聚合酶链式反应(PCR)、突变体的设计与构建技术构建重组真核表达载体 pPICZ α A-prM, 通过毕赤酵母表达系统稳定表达并纯化蛋白, 免疫小鼠, 制备鼠多克隆抗体。用分析型流式细胞仪和荧光定量 PCR 两种方法检测 ADE 效应。

【材料】 酵母表达质粒 pPICZ α A; 菌株 *P. pastoris* x33; 实验小鼠; C6/36 细胞株; LoVo 细胞株。

【可行性】 预期结果: (1)prM 蛋白的各位点的糖基化都将对病毒的 ADE 效应有所影响, 且糖基化位点越多, 对 ADE 效应影响越大。(2)prM 蛋白部分位点的糖基化将对病毒的 ADE 效应有所影响, 且不同位点影响不同。(3)prM 蛋白 3 个位点的糖基化对病毒的 ADE 效应都没有影响。

【创新性】 登革病毒是广泛流行于热带亚热带危害较大的虫媒病毒。人们对登革出血热和登革休克综合征机制未明确。其次, 从蛋白糖基化角度研究探讨 prM 蛋白参与 ADE 效应的可能机制尚未见报道。本研究项目有助于进一步探讨 DHF/DSS 的发生机制, 并能为新型登革热病毒疫苗与药物的研发提供新方向或者新思路。

关键词: 登革病毒; prM 蛋白; 糖基化; 突变重组; prM 多克隆抗体; 抗体依赖性感染增强作用(ADE)

B-S3-20

 α -生育酚抑制日本血吸虫性成熟的作用研究

张丽梅¹, 王晓莹¹, 李梓雄², 黎扬蝉², 龙尔平³, 刘璇⁴, 李浩², 杨帆²; 指导教师: 吕志跃

1. 中山大学 2009 级临床医学八年制
2. 中山大学 2010 级临床医学八年制
3. 中山大学 2010 级眼科学
4. 中山大学临床医学五年制

【立论依据及设计思路】 血吸虫病是我国重点防治的重大传染病, 虫卵既是主要致病因子, 又是传播的关键环节。迄今唯一有效杀虫药物吡喹酮虽能杀虫但不能清除沉积宿主肝脏和肠系膜静脉中的虫卵, 且已发现吡喹酮耐药虫株, 故研发血吸虫病新型防治药物刻不容缓。众多研究确证 α -生育酚可明显促进哺乳动物的生殖性能, 但对无脊椎动物血吸虫的生殖作用未见报道。我们第一次证实 α -生育酚喂食感染血吸虫小鼠, 可显著抑制血吸虫的发育成熟。课题组拟进一步结合体内外实验, 以揭示 α -生育酚抑制血吸虫性成熟的分子基础及相关机制。

【实验内容】 (1) α -生育酚对感染小鼠血吸虫性成熟抑制作用的时间、剂量效应研究; 确定作用的最佳喂食时间和最佳浓度。(2) α -生育酚抑制血吸虫性成熟的宿主普适性研究; 新增 SD 大鼠、新西兰兔等为血吸虫感染模型。