

显著( $P < 0.05$ )。与同组手术侧比较,两给药组 SOD、T-AOC、NOS 活性、MDA 含量均升高,其中连续给药组 SOD 活性、单次给药组 T-AOC 活性差异显著( $P < 0.05$ )。

**【结论】** 牛磺酸可以通过有效清除氧自由基、保护氧化酶活性和抑制脂质过氧化,对青春前期大鼠睾丸缺血再灌注损伤有明显的保护作用,并对其对侧睾丸组织损伤亦有一定的保护作用,且连续给药明显优于单次给药。

**关键词:** 睾丸;缺血再灌注;氧自由基;牛磺酸;青春前期;大鼠

## A-S1-31

# BMPs 与 wnt-3a 促进 C3T3-E1 细胞成骨作用的研究

张 晔<sup>1</sup>, 常宇晨<sup>2</sup>; 指导教师:史念珂

1. 天津医科大学 2011 级临床医学七年制
2. 天津医科大学 2012 级临床医学七年制

**【目的】** 在促进 MSCs 骨形成的众多调节因子中,骨形成蛋白(BMPs)家族在胚胎发育及骨骼形成中扮演重要的角色。目前发现的 BMPs 家族成员骨诱导活性中,具有成骨活性的有 BMP2、7、9 亚型。除了 BMP 通路外,wnt 通路在骨形成中也起到了重要的作用。本实验旨在进行 BMP-2/wnt-3a、BMP-7/wnt-3a、BMP-9/wnt-3a 三种联合转染,观察感染后细胞各基因和蛋白的干扰效率及细胞体外成骨分化的影响,评价三种转染的成骨分化能力的强弱,并与单独转染效果进行比较。

**【方法】** 以 cDNA 文库为模版,应用 PCR 方法获得 BMP2、BMP7、BMP9、wnt-3a 基因的编码序列,经大肠杆菌转化后抽取质粒,构建基因表达质粒载体,酶切鉴定重组体并且经测序进一步确定。然后用 pLP/VSVG、pLP2、pLP1 质粒与 BMP2、BMP7、BMP9、wnt-3a 共转染 293FT 细胞。包装 pELNS-BMP2、BMP7、BMP9、wnt-3a 后转染小鼠间充质干细胞 MC3T3-E1 细胞,GFP 荧光证实转染效果。茜素红染色检测钙结节,蛋白质印迹和 real-time PCR 检测成骨相关基因(Runx2)的表达水平,鉴定各成骨诱导因子的单独转染效能。最后用双基因联合转染(BMP-2/wnt-3a、BMP-7/wnt-3a、BMP-9/wnt-3a 三组)MC3T3-E1 细胞,GFP 荧光证实转染效果;应用 ELISA 检测 MC3T3-E1 细胞培养上清中 BGP 和 ALP 的表达水平;应用 real-time PCR 检测 Runx2 mRNA 的表达水平;应用蛋白质印迹法检测蛋白的表达水平,鉴定双基因联合转染的成骨分化效能。

**【结果】** pELNS-BMP2、pELNS-BMP7、pELNS-BMP9、pELNS-wnt3a 表达质粒构建成功。重组慢病毒 pELNS-BMP2、pELNS-BMP7、pELNS-BMP9、pELNS-wnt3a 构建成功,成功转染 MC3T3-E1 细胞;Runx2 表达水平:BMP2>BMP9>BMP7;茜素红染色显示 BMP-2 钙结节数量最多。双基因联合转染 MC3T3-E1 细胞,GFP 荧光证实转染成功;蛋白质印迹与 real-time PCR 法显示三组联合转染 Runx2 表达水平比单独转染明显上升,且联合转染 Runx2 表达水平:BMP-2/wnt-3a>BMP-9/wnt-3a>BMP-7/wnt-3a; BGP 表达与 ALP 表达亦然。

**【结论】** BMPs 能促进间充质干细胞向成骨细胞分化,其中 BMP2 成骨效果最好。而 BMPs 与 wnt-3a 的联合转染成骨效果高于单独转染,说明 BMP 通路与 wnt 通路有协同作用。其中 BMP-2/wnt-3a 双基因联合转染比另两种转染(BMP-7/wnt-3a 和 BMP-9/wnt-3a)成骨效能更高。这为组织工程骨重建研究提供了重要的理论依据和技术支持。

**关键词:** 骨形成蛋白;wnt 通路;骨组织工程;骨再生