

B-S5-8

探索薄层色谱法在桉叶油含药血清制备中的应用

郭炳阳¹, 徐明振²; 指导教师: 余永莉

1. 遵义医学院 2012 级临床医学
2. 遵义医学院 2013 级临床医学

【立项依据及设计思路】 跟随指导教师做实验发现, 所制备的桉叶油含药血清品质因为没有相关检测数据而不能保证, 甚至是否真的含有研究的药物都值得怀疑。查阅文献发现液/气-质联用法可以检测, 但仪器昂贵, 上机样品要求高, 需要专业技术人员, 且桉叶油成分复杂使得检测所需的标准品难以配置而放弃此方法检测。在《有机化学》学习中了解到薄层色谱法(TLC)是一种快速分离和定性分析少量物质的实验技术, 其优点是操作方便、设备简单、结果显示快速。结合其原理, 与指导教师讨论其应用于判定桉叶油含药血清品质及指导桉叶油含药血清制备方案选择的可行性。拟探索 TLC 定性和半定量检测性能能否满足桉叶油含药血清制备过程中判定血清中是否含有原药成分和新生成分, 指导给药剂量、方式和采血时间的选择的实验要求。

【实验内容】 (1)TLC 能否制备桉叶油浓度比色卡。(2)TLC 能否检测出桉叶油含药血清中是否含有原药成分和新生成分, 并运用液相色谱检测验证实验结果。(3)TLC 半定量检测性能能否满足指导桉叶油含药血清制备过程中给药剂量、方式及采血时间选择的实验要求。

【材料】 清洁级小鼠, 薄层硅胶板, 液相色谱仪, 桉叶油。

【可行性】 (1)研究者具有较强的动手能力和灵敏的思维能力, 指导教师多年从事桉叶油研究, 有丰富的科研经历, 可以保证实验顺利开展。(2)预实验和实验结果表明:①TLC 可以定性检测桉叶油含药血清含有原药成分。②其他条件一致, 不同时间点收集的血清 TLC 显色存在颜色梯度差。③其他条件一致, 不同剂量桉叶油灌胃所制备血清 TLC 显色也存在颜色梯度差。提示 TLC 可以用于指导桉叶油含药血清制备的方案选择和血清品质的定性鉴定, 满足了实验要求。

【创新性】 用实验验证了经济、简便、快速易行的 TLC 可以取代液/气-质联用技术, 满足桉叶油含药血清制备中血清制备的方案选择和血清品质的定性鉴定的实验要求, 也为 TLC 推广应用到制备其他中药含药血清提供了参考方法和实验依据。

关键词: 薄层色谱; 比色卡; 中药含药血清; 桉叶油; 气-质联用

B-S5-9

PEG 诱导金钗石斛原生质体融合

吴贵英¹, 祝飞¹, 沈访¹, 乔晓颖²; 指导教师: 徐德林

1. 遵义医学院 2011 级临床医学
2. 遵义医学院 2012 级临床医学

【立论依据】 金钗石斛(*Dendrobium nobile*)在治疗心血管疾病、提高机体免疫功能、抗疲劳等方面具有显著功效, 在国内外具有广阔的市场前景。然而由于生长缓慢、繁殖率低等生物学特性, 以及生态环境的破坏和长期过度采挖等因素, 金钗石斛野生资源日渐枯竭, 严重制约了市场需求。利用现代生物技术选育出优良种苗, 拓展金钗石斛种质资源, 为金钗石斛的产业化生产奠定基础。

【设计思路】 本研究拟采用原生质体培养结合细胞融合的方法, 将含有不同优良性状的两个品系进行原生质体制备和 PEG 诱导细胞融合, 从杂种细胞中筛选出兼具二者优良性状的异源四倍体细胞株。

【实验内容】 本研究以金钗石斛种子为外植体进行组培, 诱导产生愈伤组织, 进而通过酶解的方法已经获得

两个品系高密度、高纯度和高活力的原生质体,进一步研究不同条件下 PEG 对金钗石斛细胞融合的影响,筛选出最适宜金钗石斛同核体和异核体细胞融合的条件,最后综合显微观察、核型分析和 PCR 检测的结果,鉴定出融合两个品系原生质体、细胞生长旺盛的细胞系。

【材料】 本研究采用两个金钗石斛研究材料:一个为指标性成分含量高、药用品质优良、源自于贵州赤水的品系,另一个为植株生长力旺盛、茎粗大、抗逆性强、农艺性状优良的云南瑞丽品系。

【可行性】 米尔斯坦和科勒用细胞融合技术制备单克隆抗体成功,1984 年获诺贝尔医学与生理学奖后,该技术被广泛应用于生物、医药、农业研究领域,并成功获得白菜、甘蓝、番茄和马铃薯的融合杂种细胞。若获得四倍体金钗石斛,可以拓展它的野生资源,成为解决金钗石斛现面临问题的重要方法之一。

【创新性】 通过本研究有望培育出药用品质优良、生物量高、产业应用潜力大的异源四倍体细胞株,拓展金钗石斛的种质资源,有望进一步将该细胞株系诱导成再生苗,直接应用于生产实践,有助于贵州金钗石斛产业健康可持续发展。

关键词: 赤水金钗石斛;PEG;原生质体;细胞融合;异源四倍体

B-S5-10

基于 TFH-B 细胞轴探讨白芍总苷治疗 CIA 小鼠的作用机制

马梦佳,杨学安,吴晔华,李雪亮,谢天宇;指导教师:徐琦

新疆医科大学 2012 级临床医学

【立论依据】 类风湿关节炎是一种以慢性侵蚀性关节炎为特征的全身性自身免疫病,其发病原因尚不明确,B 细胞产生的抗体在 RA 的发病机制中起着重要作用,TFH 是辅助 B 细胞主要的 T 细胞亚群。白芍总苷具有多途径抑制自身免疫反应,对类风湿关节炎具有确切疗效,因此,拟基于 TFH-B 细胞轴探讨白芍总苷治疗 CIA 小鼠的作用机制。

【设计思路】 通过白芍总苷对牛 II 胶原诱导关节炎(CIA)小鼠脾脏中 TFH-B 细胞表型、mRNA 表达水平、血清中相关细胞因子、Ig 亚类的影响,初步探讨白芍总苷治疗 CIA 小鼠中对 TFH-B 细胞轴的影响。

【实验内容】 将 DBA 小鼠分为白芍总苷组、益赛普组、布洛芬组、模型组以及空白组,每组 15 只小鼠。通过牛 II 胶原与弗氏佐剂 1 d,14 d 免疫小鼠,建立 CIA 小鼠模型。末次免疫后,各实验组小鼠隔日灌胃给药,并采用关节炎指数(AI)评分法每日评价小鼠关节炎程度,至第 28 天。采用流式细胞术检测脾脏中 CD3+CD4+CXCR5+ICOS+TFH 细胞及 B 细胞的表型;荧光定量 RT-PCR 法检测脾脏中 Bcl-6 和 ICOS 表达水平;酶联免疫吸附实验(ELISA 法)检测血清中相关细胞因子 IL-21、IL-17、TGF- β 以及 Ig 不同亚类的水平;免疫组化方法检测脾脏中 CXCR5+ICOS+TFH 细胞、B 细胞的分布及滑膜处炎细胞的浸润。

【材料】 流式细胞术抗体、细胞因子 ELISA 检测试剂盒、荧光定量 PCR 试剂盒等。

【可行性】 小组成员已掌握了 CIA 小鼠模型的建立方法以及小鼠的灌胃,尾静脉注射等实验技术,已发表相关 SCI 论文一篇。新疆医科大学基础医学院形态中心实验室及病原生物学重点实验室可提供实验所需设备及相关实验指导。

【创新性】 TFH 是辅助 B 细胞功能主要的 T 细胞亚群,TFH 对 B 细胞的相关调节作用在 RA 发病中相关机制的研究较少;白芍总苷对 RA 治疗作用的机制尚未有定论,通过测定小鼠脾脏中 Bcl-6 和 ICOS 转录水平,从转录水平、细胞因子水平及细胞水平探讨白芍总苷对 TFH 细胞的影响和作用机制。

关键词: 白芍总苷;TFH 细胞;B 细胞;mRNA;细胞因子