

被降解所致。

【结论】 实验表明,L-AI 在溶液中不是以均一形态存在的,可能存在多种形态,而且 L-AI 易被降解。因此,影响 L-AI 结晶的可能原因包括蛋白聚集所导致的构象不均一以及目的蛋白被降解。

关键词:L-阿拉伯糖异构酶;蛋白质印迹;降解;聚集

A-S2-20

PKA 信号通路通过 CREB 正性调控 USP22 基因的转录激活

张昭雪,徐秋琴,陈 颀;指导教师:熊建军,周小鸥

九江学院基础医学院 2012 级医学检验

【目的】 通过对原癌基因 USP22 的 5'端启动子活性分析,获得 PKA 信号通路调控 USP22 转录激活的直接证据并探索其中机制。

【方法】 克隆 USP22 基因 5'端核心启动子,定向插入荧光素酶报告载体 pGL3-Basic;重组质粒经脂质体转染人宫颈癌 HeLa 细胞 12 h 后,分别采用 PKA 信号的激动剂 Forskolin 和抑制剂 H-89 刺激;双荧光素酶实验分析 USP22 启动子片段的相对活性;在此基础上,利用 real-time PCR 检测 Forskolin 和 H-89 对内源性 USP22 表达影响,以获得 PKA 信号通路调控 USP22 转录激活的直接证据;采用 DNA 定点突变技术,剔除该启动子区一个典型的 CREB/ATF 结合位点,经 Forskolin 和 H-89 处理,双荧光素酶检测以证实 PKA 信号通路通过 CREB/ATF 反应元件调控 USP22 的转录;最后,联合染色质免疫共沉淀(ChIP)与 real-time PCR 实验观察 H-89 对转录因子 CREB 与 USP22 启动子结合能力的影响。

【结果】 USP22 基因的启动子活性及内源性 mRNA 表达受到 PKA 通路抑制剂 H-89 的显著抑制,但并未因为 PKA 的激活而出现明显上调;破坏 CREB/ATF 结合位点可消除 USP22 启动子对 H-89 的反应性;H-89 抑制 CREB 与 USP22 启动子中 CREB/ATF 反应元件的结合导致 USP22 转录活性的下降。

【结论】 CREB/ATF 结合位点控制着 USP22 基因的常规表达;USP22 的转录受到 PKA 信号通路的正性调控;PKA 信号通路通过转录因子 CREB 实现上述功能。

关键词:USP22 基因;PKA 信号通路;CREB;转录调控

A-S2-21

基于信号通路网络交互研究复叶耳蕨总黄酮诱导 BMSCs 成骨分化的分子机制

罗 超,黄淑萍,邱淑玲;指导教师:殷婷婷

九江学院 2011 级临床医学

【目的】 探究复叶耳蕨总黄酮对大鼠骨髓间充质干细胞(BMSCs)增殖、定向成骨分化的影响以及相关信号通路。

【方法】 采用差速贴壁法体外分离、纯化和培养大鼠骨髓间充质干细胞,取 P3 代细胞,采用 MTT 法检测细胞生长曲线、流式细胞术测定细胞表面标志。实验采用不同浓度的复叶耳蕨总黄酮培养基对大鼠 BMSCs 定向诱导分化,观察 BMSCs 诱导分化过程中诱导细胞的形态;测定诱导细胞碱性磷酸酶(ALP)活性和组织化学染色观察钙化结节形成能力;采用 RT-PCR 和 ELISA 法检测 BMSCs 诱导分化过程中的 WNT 和 BMP 通路转导体及其交汇靶点 Runx2 相关基因表达。