

Lectin Blot 检测施万细胞在生理和病理状态 N 寡糖链合成情况。

**【结果】** (1) $\beta$ -1,4-GalT V mRNA 在坐骨神经夹伤后 2 周与切断 1 周时表达水平明显增高,与正常对照组及其他各组相比,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),原位杂交结果显示  $\beta$ -1,4-GalT V 主要表达于 S100 阳性的施万细胞中。 $\beta$ -1,4-GalT V mRNA 的表达水平与体内炎症模型中 LPS 作用的浓度和作用时间有关,具有剂量和时间依赖性。(2)体外细胞培养时  $\beta$ -1,4-GalT V mRNA 的表达水平及 N 糖链的合成也与 LPS 的作用时间和作用浓度有关。干扰  $\beta$ -1,4-GalT V 的表达后可明显抑制 N 糖链的合成。

**【结论】**  $\beta$ -1,4-GalT V 主要定位于施万细胞中,与正常生理状态下的施万细胞相比,无论是坐骨神经损伤或炎症等病理状态下体内的施万细胞,还是 LPS 处理的体外培养的施万细胞,其  $\beta$ -1,4-GalT V 的表达均有不同程度的变化,提示  $\beta$ -1,4-GalT V 在施万细胞的生理病理过程均发挥重要的作用。干扰了施万细胞中  $\beta$ -1,4-GalT V 表达后其 N 糖链的合成也显著减少,证实了  $\beta$ -1,4-GalT V 与 N 糖链的合成密切相关。

**关键词:**  $\beta$ -1,4-半乳糖基转移酶 V;施万细胞;脂多糖;N 糖链;大鼠

## A-S2-28

# 谷氨酸对 NSCs 向神经元分化的影响

朱明健,叶 蕾,史文秀,刘 瑶,张金灿,杨 洁;指导教师:金国华,衣 昕  
南通大学 2012 级口腔医学

**【目的】** 探讨 Glu 对 NSCs 向神经元分化的影响。

**【方法】** 分离培养孕 15 d SD 大鼠皮质 NSCs,将传至第 4 代的 NSCs 行 NR1 细胞流式分析并以  $1 \times 10^5$  个/mL 的密度,接种于置有包被多聚赖氨酸盖玻片的 24 孔培养板各孔内分化培养,分为 control、Glu、Glu<sup>+</sup> MK-801(0 h)(0 h 加 MK-801)、Glu<sup>+</sup> MK-801(24 h)(24 h 加 MK-801)组培养 1、3、7、14 d 后行 DCX/Hoechst、TUNEL/Hoechst、MAP-2/Hoechst 免疫荧光双标检测。

**【结果】** 43% 的 NSCs NMDA 受体主要功能亚基 NR1 阳性;1 d 时 Glu 组、Glu<sup>+</sup> MK-801(24 h)组 DCX 神经元前体细胞明显多于 control、Glu<sup>+</sup> MK-801(0 h)组,3 d 时 MK-801(24 h)组 DCX 神经元前体细胞最多,Glu 组 DCX 神经元前体细胞数量有所下降,但多于其余两组,至 7 d 时 MK-801(24 h)组 DCX 神经元前体细胞仍较多,Glu 组 DCX 神经元前体细胞与其余两组差异无统计学意义,14 d 时 4 组几乎未见 DCX 神经元前体细胞,MAP-2/Hoechst 免疫荧光双标检测,MK-801(24 h)组 MAP-2 阳性神经元明显多于其它 3 组;TUNEL/Hoechst 免疫荧光双标显示:3、7、14 d 时 Glu 组 TUNEL 凋亡细胞明显多于其它 3 组。

**【结论】** Glu 可通过 NMDA 受体促进 NSCs 向神经元分化,并在神经元成熟过程中促进其凋亡,此作用可被 MK-801 阻断。

**关键词:** 谷氨酸;神经干细胞;分化;凋亡

## A-S2-29

# 同型半胱氨酸致泡沫细胞形成过程中 miR-148a 与 DNMT1 相互作用的研究

曹慧梅<sup>1</sup>,马 媛<sup>2</sup>;指导教师:徐 华,姜怡邓,田 珏,马胜超

1. 宁夏医科大学 2012 级生物技术
2. 宁夏医科大学 2012 级临床检验

**【目的】** 探讨 DNMT1 和其特异性 miRNA 二者在 Hcy 致泡沫细胞形成过程中的作用,阐明特异性 miRNA

与 DNMT1 相互调控的分子机制。

**【方法】** 培养 THP-1 单核源性泡沫细胞,油红 O 染色鉴定;生物信息学预测调控 DNMT1 的特异性 miRNA;运用 qRT-PCR 和 Western Blot 检测不同浓度 Hcy(0、50、100、200、500  $\mu\text{mol/L}$ )及 100  $\mu\text{mol/L}$  Hcy+叶酸+维生素 B<sub>12</sub> (H+F+V)干预泡沫细胞后,miR-148a 和 DNMT1 的表达。使用慢病毒 miR-148a mimic 和 inhibitor 分别过表达和抑制 miR-148a,检测其对 DNMT1 表达的影响;针对 miR-148a 与 DNMT1 特异性结合的碱基位点,构建野生型(Wt)和突变型(Mut)的 3'UTR 荧光素酶报告质粒,与 miR-148a mimic 共转染,运用双荧光素酶报告基因检测系统检测 DNMT1 荧光素酶活性。采用胆固醇检测试剂盒分析 miR-148a 过表达或抑制后对细胞内胆固醇含量的影响。用 100  $\mu\text{mol/L}$  Hcy 干预泡沫细胞,通过甲基化特异性 PCR(nMS-PCR)检测 miR-148a 启动子区甲基化改变,同时构建 DNMT1 重组质粒并感染泡沫细胞,检测 DNMT1 过表达后 miR-148a 启动子区 DNA 甲基化变化。

**【结果】** 分析提示调控 DNMT1 的特异性 miRNA 为 miR-148a;不同浓度 Hcy 干预泡沫细胞后,DNMT1 表达降低,miR-148a 表达升高,以 100  $\mu\text{mol/L}$  Hcy 组改变最为明显,差异均有显著性( $P < 0.05$ );给予 100  $\mu\text{mol/L}$  Hcy+叶酸+维生素 B<sub>12</sub> 后上述情况改善( $P < 0.05$ )。过表达 miR-148a 后 DNMT1 mRNA 和蛋白水平明显下降,而抑制 miR-148a 后 DNMT1 mRNA 和蛋白水平明显升高,差异均有显著性( $P < 0.05$ )。将 WtDNMT1 3'UTR 荧光素酶报告质粒与 miR-148a 共转染,荧光素酶活性显著下降( $P < 0.05$ );将 MutDNMT1 3'UTR 荧光素酶报告质粒与 miR-148a 共转染,荧光素酶活性无明显改变。提示 miR-148a 可能通过与 DNMT1 的 mRNA 3'UTR 碱基 UGCACUG 发生互补配对结合,从而靶向抑制其表达。过表达 miR-148a 后,细胞内总胆固醇和游离胆固醇含量明显增加;沉默 miR-148a 后,细胞内总胆固醇和游离胆固醇含量明显降低( $P$  均  $< 0.05$ );而细胞内胆固醇酯含量无明显变化。给予 100  $\mu\text{mol/L}$  Hcy 干预泡沫细胞后,miR-148a 甲基化呈显著下降趋势;给予叶酸+维生素 B<sub>12</sub> 干预后,miR-148a 甲基化水平较 Hcy 显著升高( $P$  均  $< 0.05$ )。过表达 DNMT1 后,miR-148a 启动子区 DNA 甲基化水平升高( $P < 0.05$ )。

**【结论】** miR-148a 是 DNMT1 的特异性 miRNA,其可能通过直接与 DNMT1 3'UTR 部分碱基序列 UGCACUG 发生互补配对结合影响 DNMT1 表达;miR-148a 可通过增加泡沫细胞内总胆固醇和游离胆固醇含量参与 Hcy 致泡沫细胞的形成过程;DNMT1 在 miR-148a 启动子区甲基化过程中发挥重要作用。

**关键词:** 关键词: MiR-148a;DNMT1;同型半胱氨酸;泡沫细胞

## A-S2-30

# ERO1 $\alpha$ 启动子区 DNA 甲基化和组蛋白甲基化相互作用调控 ERO1 $\alpha$ 表达改变介导 Hcy 致肝脏脂代谢紊乱的分子机制

王 羽,刘向明<sup>1</sup>,丁 宁<sup>1</sup>,刘蓉蓉<sup>2</sup>,王 燕<sup>2</sup>;指导教师:张鸣号,聂黎虹,田 珏,马胜超

1. 宁夏医科大学 2012 级生物技术
2. 宁夏医科大学 2012 级临床检验

**【目的】** 探讨 ERO1 $\alpha$  DNA 甲基化和组蛋白甲基化相互作用调控 ERO1 $\alpha$  基因表达介导同型半胱氨酸致肝脏脂代谢紊乱的分子机制。

**【方法】** 建立 apoE<sup>-/-</sup>小鼠 HHcy 模型,分为对照组、ApoE<sup>-/-</sup>对照组、HHcy 组和干预组。检测肝脏脂质沉积情况、TC、TG 及 DNMT1 含量、ERO1 $\alpha$  及 G9a 的表达;ntMS-PCR 法检测 ERO1 $\alpha$  DNA 甲基化改变;CHIP-qPCR 法检测 H3K9me2 含量;不同 Hcy 刺激 HL-7702 肝细胞,验证 ERO1 $\alpha$  表达及甲基化程度;构建 ERO1 $\alpha$  和 DNMT1 的重组表达及沉默载体,检测肝细胞内 TC 和 TG 含量变化;AZC 及 Bix01294 干预细胞后,分别检测 H3K9me2 表达及 ERO1 $\alpha$  甲基化水平。

**【结果】** HHcy 组小鼠肝脏脂质面积和血脂水平显著高于对照组,TC、TG 与其血清 Hcy 水平呈正相关。与对照组相比,各组中 ERO1 $\alpha$  的表达下降,与 HHcy 组相比,干预组中 ERO1 $\alpha$  表达升高,均与蛋白检测结果趋势一