

A-S2-35

CdSe/ZnS 量子点对小鼠腹腔巨噬细胞功能的影响

鲁芳淇;指导教师:林桂森

深圳大学 2011 级临床医学

【目的】 量子点(quantum dots)是一种半导体纳米晶体,具有其独特的光学和电子学性质,与有机荧光染料相比,其荧光光谱比较稳定、荧光强度高,激发量子点的激发波长范围很宽,且连续分布,所以可以用同一波长的光激发不同大小的量子点,量子点作为一种新型生物荧光探针已成功应用于生命科学领域。但是,量子点的免疫毒性问题一直是研究学者关注的问题。量子点作为外来物质,可能会导致机体产生一系列的免疫反应,其对巨噬细胞的影响迄今为止并未见相关报道。因此,本项目以巨噬细胞为研究对象,研究其对 CdSe/ZnS 量子点的摄取能力,以及摄取后对巨噬细胞活性以及功能的影响。

【方法】 本项目通过 Confocal 成像观察巨噬细胞对 CdSe/ZnS 量子点的摄取和定位,同时采用流式细胞术检测巨噬细胞对 CdSe/ZnS 量子点的摄取率;其次,利用 MTT 法检测量子点摄取对巨噬细胞活力的影响;最后,通过 real-time PCR 和 ELISA 法检测量子点摄取后对巨噬细胞不同细胞因子转录水平和分泌水平的影响。

【结果】 量子点作用 2 h 后可以被巨噬细胞摄取,摄取后分布在细胞浆内;量子点浓度对细胞活性有影响;1.25 nmol/L 影响不显著,但 2.5 nmol/L 影响显著。量子点可提高巨噬细胞 IL-6 与 TNF- α 的转录水平,对 IL-2、IL-12 的影响不显著;量子点对巨噬细胞 IL-6 与 TNF- α 分泌量的影响不显著。

【结论】 高剂量的 CdSe/ZnS 量子点可降低巨噬细胞的活力,但并不显著影响巨噬细胞的免疫反应功能。本项目首次研究了 CdSe/ZnS 量子点对巨噬细胞的影响,可为 CdSe/ZnS 量子点细胞毒性研究方面提供新的理论依据,有助于推进 CdSe/ZnS 量子点在医学上的实际应用。

关键词: 量子点;巨噬细胞;细胞毒性;免疫功能

A-S2-36

骨质疏松、黄韧带骨化与正常人的血清 miRNA 的对比研究

雪若妍;指导教师:史念珂

天津医科大学 2012 级影像诊断五年制

【目的】 50 岁以上的妇女的骨质疏松发病率高达 70%,黄韧带骨化主要累及老年人,65 岁以上亚洲人的发病率达 40%。两者均好发于老年人,然而黄韧带骨化患者均无骨质疏松现象。本研究目的利用 miRNA 微阵列芯片检测骨质疏松、黄韧带骨化患者以及正常人的血清差异 miRNA。为研究黄韧带骨化、骨质疏松等老年骨骼系统疾病的发生机制、早期诊断及治疗提供有益的线索。

【方法】 收集 5 例骨质疏松、5 例黄韧带骨化患者以及 5 例正常人群的血清。提取血清总 RNA,经质控合格后,利用 miRNA 微阵列芯片技术筛选骨质疏松、黄韧带骨化患者与正常对照的血清标本中的差异表达的 miRNA。

【结果】 以 fold-change >2 、 $P>0.05$ 为标准,与正常对照人群血清 miRNA 比较,黄韧带骨化患者血清中有 17 个 miRNA 表达明显上调,3 个 miRNA 明显下调,骨质疏松患者血清中有 11 个 miRNA 表达明显上调。miRNA21、24 为黄韧带骨化与骨质疏松患者血清的共同差异 miRNA。

【结论】 本研究初步筛选出黄韧带骨化、骨质疏松与正常人群相比的差异表达的 miRNA,为 miRNA 对黄韧带骨化和骨质疏松的筛查、早期诊断提供有益线索。并且发现两组疾病血清中存在的共同差异 miRNA:miRNA24、miRNA21。两者在黄韧带骨化表现为下调,在骨质疏松表现为上调。提示 miRNA21、24 可能在黄韧带骨

化和骨质疏松的发生、发展过程中起重要作用,为黄韧带骨化和骨质疏松等老年骨骼系统疾病的治疗提供新的思路。

关键词:骨质疏松;黄韧带骨化;血清 miRNA

A-S2-37

构建一种新型穿膜活性 hMsra 的酵母表达体系

陈佳佳,王跃申,孙守国,何绍俊;指导教师:喻红

武汉大学 2010 级临床医学五年制

【目的】 当机体代谢生成的活性氧簇超过了抗氧化系统的清除能力,可引起氧化应激而与心血管疾病、炎症、肿瘤等发生密切相关。甲硫氨酸亚砷还原酶 A (methionine sulfoxide reductase A, MsrA)能够特异还原被氧化的甲硫氨酸,是细胞内一道重要的蛋白抗氧化防御屏障。导师课题组曾构建大肠杆菌表达系统并获得人源性 MsrA (hMsrA),证实其在体外的抗氧化作用。本课题试图利用酵母表达体系表达一种具有细胞穿膜活性的分泌型 Pep-1-hMsrA,为进一步研究 MsrA 对细胞的抗氧化保护机制奠定基础。

【方法】 利用基因克隆技术,合成含有细胞穿膜肽的 pUC19/pep-1 载体,双酶切将 Pep-1 序列连接到 pET28a/hMsrA 质粒上,构建 pUC19/pep-1-hMsrA,再双酶切亚克隆到酵母表达载体获得 pPICZ9k/pep-1-hMsrA 重组质粒。经线性化的质粒电转导入毕赤酵母 GS115,通过 G418 抗性筛选、PCR 鉴定拷贝数,构建新的 hMsrA 酵母表达体系。经甲醇(0.5%V/V)诱导表达,SDS-PAGE 鉴定发酵液中 Pep-1-hMsrA 融合蛋白的产量,利用 Ni-NTA Agarose 亲和层析分离纯化目的蛋白,蛋白质印迹法鉴定融合蛋白的细胞穿膜效率,利用特异荧光底物鉴定融合蛋白的催化活性。

【结果】 成功构建 pPIC9k/Pep-1-hMsrA 重组质粒,并筛选出 17 株表达 Pep-1-hMsrA 的 GS115 工程株。诱导表达并纯化的目的蛋白产量约为 30~40 mg/L,SDS-PAGE 显示 MW 为约 50 kD 的单一一条带,糖染色表明目的蛋白糖基化。蛋白质印迹法鉴定纯化蛋白有免疫原性,并具有特异还原活性。

【结论】 建立了 Pep-1-hMsrA 重组蛋白的酵母表达体系,纯化的 Pep-1-hMsrA 存在高度糖基化可能影响其催化活性,有待进一步研究此 MsrA 融入蛋白的结构与功能。

关键词:甲硫氨酸亚砷还原酶 A;细胞穿膜肽;毕赤酵母表达体系;纯化

A-S2-38

一个中国 X 性连锁少汗型外胚层发育不良家系的遗传变异分析

黄芙蓉¹,陶昱²,李海瑞¹,王碧媛¹,蒋子剑¹;指导教师:马捷

1. 西安交通大学医学部 2010 级临床医学

2. 西安交通大学医学部 2009 级口腔医学

【目的】 前期,课题组在临床工作中发现了一个 X 性连锁少汗型外胚层发育不良(XLHED)疑似患者家系。该家系共四代 24 例,男性 15 例,女性 9 例,患者 4 例。鉴此,课题组拟通过分子水平的研究,分析鉴定该家系的致病基因和遗传突变,探讨可能的分子致病机制,为疾病的预防与治疗奠定一定的基础。

【方法】 课题组对该家系资料进行了收集和整理,绘制出了遗传图谱。本课题对疾病家系中所有患病及未患病个体进行了详细的临床检查,并获得患者口腔的临床和 X 线照片。遗传分析中课题组运用直接测序的方法对