

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<sup>1</sup>,陶昱<sup>2</sup>,李海瑞<sup>1</sup>,王碧媛<sup>1</sup>,蒋子剑<sup>1</sup>;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