

A-S6-3

药渣饲养蝇蛆安全性的初步探讨

夏冰天¹, 张婉颖², 杨 媛¹; 指导教师: 魏 洪

1. 贵阳医学院 2012 级临床医学卓越医师教学改革班

2. 贵阳医学院 2011 级医学检验

【目的】 评价头花蓼药渣饲养所得的蝇蛆作为动物饲料蛋白的安全性。

【方法】 选取 80 只小鼠随机分为 4 组, 即对照组和高、中、低剂量组, 每组各 20 只。高、中、低剂量组小鼠以药渣饲养获得蝇蛆(其含量分别为 9%、7.5%、5%)替代常规饲料中蛋白成分, 对照组小鼠采取常规饲料喂养, 进行 30 d 喂养实验。实验期内观察小鼠的表观体征。实验结束后, 取小鼠眼眶血进行血常规检查和生化检测; 进行解剖, 取其心、肝、肾、脑、脾和胸腺称量, 计算脏器系数; 取小鼠肝、肾组织, 制作 H-E 染色病理切片。

【结果】 药渣饲养所得蝇蛆喂养的各剂量组小鼠与对照组小鼠相比, 其体重、呼吸、进食、活动情况均良好, 增重量与食物利用率无显著性差异($P > 0.05$); 血常规检查(淋巴细胞、红细胞等)和生化检测(肌酐、转氨酶等)所得数据间差异基本无显著性($P > 0.05$), 脏器系数间无显著差异($P > 0.05$)。切片观察肝脏的肝小叶结构完整, 肝细胞成多边形, 核圆居中, 无血管病变、萎缩、变性和坏死等改变; 肾脏的肾小球与肾小管结构清晰, 肾小管上皮细胞无变性坏死, 肾小囊无粘连、狭窄等组织病变。

【结论】 该实验初步说明头花蓼药渣饲养所得的蝇蛆作为动物饲料蛋白安全、可行, 为药渣的生物处理及动物饲料蛋白的开发提供新途径。

关键词: 头花蓼; 药渣; 蝇蛆; 安全性评价

A-S6-4

优化脱细胞处理制备心肌 ECM 薄片——探索制备“心肌生物创可贴的脚手架”

姜煜东¹, 李文思¹, 王 璐²; 指导教师: 席姣娅

1. 华中科技大学 2009 级临床医学八年制

2. 华中科技大学 2010 级临床医学八年制

【目的】 研究表明, 移植用组织工程技术在体外构建工程心肌(engineered cardiac tissue, ECT)明显修复心泵功能。将心肌脱细胞处理制备出保留天然成分、超微结构和三维结构的心肌细胞外基质(extracellular matrix, ECM), 能有效支持细胞的存活和生长, 并影响其迁移和分化, 可被用于构建仿生 ECT。然而目前的脱细胞方法尚存在不足。本研究拟联合使用经典脱细胞试剂 SDS 和 Triton X-100, 改良脱细胞方法, 制备性能更为优良的心肌 ECM 薄片, 为构建仿生工程心肌片提供理想的生物支架。

【方法】 取 6 周龄成年昆明小白鼠心脏, 经处理、包埋后沿横断面切成 300 μm 心室肌薄片, 置于 4℃ 无钙台氏液中保存。将切片分为正常对照组、SDS 脱细胞组和改良脱细胞组。改良脱细胞组心肌片置于 0.1% SDS 中, 37℃ 振荡反应 11.5 h, 去掉 SDS, 加入 PBS 漂洗 3 次, 再加入 0.5% Triton X-100, 37℃ 振荡反应 0.5 h。SDS 组心室肌薄片按相同反应条件用 0.1% SDS 处理 12 h。两组反应结束后, 均加入 PBS 振荡漂洗 3 次, 时间分别为 10 min、30 min 和 1 h, 以去除残余脱细胞试剂。正常对照组心室肌薄片置于含双抗的 PBS 中 37℃ 振荡反应 12 h。通过细胞成分定量(总 RNA 定量和总蛋白定量分析)、H-E 染色和免疫荧光染色(胶原蛋白 VI、层粘连蛋白和 Hechst33247)评估脱细胞程度和 ECM 成分保留。将改良脱细胞组 ECM 与小鼠胚胎干细胞源心肌细胞(murine embryonic stem cell derived cardiomyocytes, mES-CMs)和小鼠胚胎成纤维细胞(murine embryonic fibroblasts,

MEFs)共培养,通过动态观察和 H-E 染色的方法检测其生物相容性。

【结果】 SDS+Triton X-100 改良脱细胞法能有效降低残留细胞成分含量;改良脱细胞法对核质去除较 SDS 脱细胞法更加彻底;改良脱细胞法更好地保留了胶原蛋白 VI 和层粘连蛋白两种 ECM 关键成分;改良脱细胞法制得的 ECM 能有效支持种子细胞生长和迁移。

【结论】 SDS+Triton X-100 联合脱细胞法能更有效地去除细胞成分,并保护 ECM 中关键成分及其结构。制得的心肌 ECM 薄片具有良好的生物相容性。

关键词: 心肌 ECM;脱细胞处理

A-S6-5

兴奋性对果蝇伤害性感觉神经元形态结构的影响

李若男¹,李蕊²,杨阳³,王瑶³,华锋³,李宏伟³,夏良锋⁴,钟司宇³;

指导教师:杨利敏,隋洪玉,鲁彦

1. 佳木斯大学 2010 级预防医学
2. 佳木斯大学 2011 级临床医学
3. 佳木斯大学 2012 级临床医学
4. 佳木斯大学 2013 级临床医学

【目的】 应用基因遗传学实验技术,观察应用基因调控技术改变神经元兴奋性后,果蝇伤害性感觉神经元树突、轴突形态结构的变化,初步探讨兴奋性对神经元在发育过程中轴、树突形态结构及功能的影响。

【方法】 (1)应用单细胞基因调控技术 Flip-out 和 MARCM,在果蝇胚胎及幼虫发育的不同时期通过过表达内向整流钾离子通道蛋白-Kir2.1,抑制单个神经元兴奋性;通过过表达钠离子通道蛋白——NaChBac 或阳离子通道蛋白-dTrpA1,提高单个神经元兴奋性。(2)免疫组织化学方法对神经元轴、树突进行荧光染色后,应用激光共聚焦显微镜进行三维扫描,以获取神经元轴、树突的影像,通过三维图像分析软件 Amira 进行图像分析,从而确定抑制神经元兴奋性后其轴、树突形态结构的变化。(3)在体视显微镜下观察抑制伤害性感觉神经元后,果蝇三期幼虫爬行行为的改变,从而初步确定神经元形态结构与其功能的关系。

【结果】 (1)抑制单个神经元兴奋性后,其树突总长度明显增加,树突在皮肤表面的覆盖面积无明显变化;轴突末端结构单一化,细小分支明显减少,并有结节样结构出现,但轴突末梢主干长度无显著性减少,轴突末梢在中枢的投射偏向腹侧。(2)提高神经元兴奋性后,树突总覆盖面积明显减少,与邻近神经元之间出现明显分隔带;轴突末梢细小分支增加,在中枢的投射位置偏向背侧。(3)通过在不同发育阶段过表达 Kir2.1,我们发现,兴奋性对神经元形态、结构及中枢投射的调节作用在三期幼虫早期之前均有效,但在三期幼虫中晚期改变神经元兴奋性则对神经元形态、结构及中枢投射无调节作用。

【结论】 神经元兴奋性对神经元形态及中枢投射的调节作用是从出生至二期幼虫时期,这一窗口时期是神经元兴奋性对神经元形态及中枢投射的关键时期。

关键词: 伤害性感觉神经元;兴奋性;单细胞基因调控技术;轴突;树突;中枢投射

A-S6-6

将局解后的头颅制成水平切颅骨标本的方法

高体明,贺锦桥;指导教师:陈惠,赵岩,曹小明

九江学院基础医学院 2013 级临床医学

【目的】 为了提高医学生操作能力和补充实验教学的需要,利用局部解剖学实验后的头颅标本制成颅骨水平