

及分化的影响,具有一定的创新性。

关键词:Cdk5;3T3-L1 前脂肪细胞;AMPK

B-S2-14

具有抗氧化活性的含硒短肽的研制

田锐¹,孙琦¹,刘进文²,吕美薇²;指导教师:朱贵明,王芳芳,王迪迪

1. 佳木斯大学 2012 级临床医学

2. 佳木斯大学 2013 级临床医学

【立论依据】 硒蛋白是微量元素硒发挥生物学功能的主要形式。人体中硒蛋白在抗氧化、抗肿瘤和调节免疫等方面都具有显著的作用,其中抗氧化活性是多种硒蛋白最核心的生物学功能。研制一种具有潜在应用价值的、类似于硒蛋白的抗氧化活性的含硒短肽具有重要意义。

【设计思路】 选取抗氧化活性最强的硒蛋白如硒蛋白 P、谷胱甘肽过氧化物酶等,设计出 3~5 种含硒代半胱氨酸活性中心的硒蛋白截短型的短肽,根据硒蛋白基因表达的特殊性构建其表达载体及其哺乳动物细胞表达体系,实现此类含硒短肽的准确、高效的翻译,再通过抗氧化检测筛选出具有应用开发价值的短肽。

【实验内容】 (1)用于硒蛋白基因工程表达的哺乳动物细胞株的建立:选择在人类硒蛋白翻译过程中将编码硒代半胱氨酸密码子 TGA 正确解码时起着重要作用的 3 个反式作用因子,即 SECIS 结合蛋白 2(SBP2)、Sec 特异延伸因子(EFSec)和核糖体蛋白 L30(RPL30),将它们的编码基因分别克隆并构建为 1 个三基因表达载体 pcDNA3.1-SBP2/Efsec/RPL30,稳定转染 HepG2 细胞系获得目的基因高表达的单克隆细胞株;(2)利用生物信息学的方法,筛选和设计硒蛋白截短型的短肽,并将其编码基因插入真核表达载体 pcDNA4HisMaxB 获得相应的重组载体;(3)利用各重组载体分别对已建立的转基因细胞株进行稳定转染,使目的基因表达并纯化获得含硒短肽;(4)利用常规的抗氧化检测方法,考察各种含硒短肽体外抗氧化活性,并筛选出最佳者用于后续研究。

【材料】 人肝癌细胞系 HepG2;质粒 pcDNA3.1、pcDNA4HisMaxB;各种基因工程工具酶及常规试剂;细胞培养及转染试剂;抗氧化检测试剂盒等。

【可行性】 硒蛋白复杂的翻译机制已经逐渐阐明,在原核生物细胞中利用反式作用因子提高硒蛋白表达已取得成功,为真核表达提供重要的启示,我们的设计在理论上是可行的;实验室相关技术方法及条件成熟,完全可满足本研究的要求。

【创新性】 具有抗氧化活性的硒蛋白分子量大大限制了其药用价值,我们研究中获得截短型的含硒短肽从而使其具有应用开发价值。此外,应用 3 个反式作用因子构建硒蛋白基因工程表达体系也是本研究的一个创新。

关键词:含硒短肽;硒蛋白;抗氧化活性;基因工程

B-S2-15

MiR-382 促进大鼠肝前体细胞 WB-F344 肝向分化的研究

蔺红梅,孙林峰,李梦华,高婷;指导教师:郑永霞

嘉兴学院 2012 级临床医学

【立论依据】 肝卵圆细胞的定向分化可为肝细胞移植和生物人工肝提供丰富的肝细胞源。阐明肝卵圆细胞分化的分子机制,是实现控制其定向分化的基础和前提。前期研究显示:miR-382 在肝干细胞分化过程中表达上调,提示 miR-382 可能促进肝干细胞的分化过程。然而,目前对于 miR-382 在肝干细胞分化中的作用和分子机制

仍知之甚少。

【设计思路】 本项目拟利用肝细胞生长因子(HGF)诱导大鼠肝前体细胞 WB-F344 向肝实质细胞分化的细胞模型,观察 miR-382 在肝前体细胞 WB-F344 分化进程中的表达变化,并从功能学和分子标志物两方面检测该 microRNA 分子对肝卵圆细胞分化的作用,并通过寻找该 microRNA 分子的靶基因初步明确 miR-382 调控肝干细胞分化的分子机制。

【实验内容】 (1)建立 HGF 诱导大鼠肝上皮样干细胞 WB-F344 肝向分化的细胞模型,并通过糖原染色和肝分化标志物的检测证实该模型的有效性。(2)通过 qPCR 的方法检测 miR-382 在整个诱导分化进程中的表达变化。(3)从功能学指标和分子标志物指标两方面检测 miR-382 过表达或者低表达对 WB-F344 细胞分化的影响。(4)miR-382 通过靶向抑制候选靶基因 Ezh2 的表达提高肝干细胞的分化能力。

【材料】 大鼠肝前体细胞 WB-F344,肝细胞生长因子 HGF,Trizol 试剂,Lipofectamine 2000 转染试剂,MiR-382 mimics 等等。

【可行性】 (1)项目组成员均系统学习了细胞生物学和分子生物学的知识和实验操作技能,对科研有浓厚的兴趣,并已加入指导教师课题组进行科研项目训练。(2)项目指导教师承担的浙江省教育厅课题(Y201330031)包含肝干细胞定向分化的研究,积累了丰富的肝实质细胞诱导分化经验。

【创新性】 (1)本项目首次研究 miR-382 在肝干细胞分化中的作用,该研究有助于我们认识 miR-382 的功能。(2)本项目首次提出 miR-382 通过调控表观遗传修饰酶 Ezh2 的表达影响染色质修饰状态并参与肝干细胞分化的作用机制,本实验数据将丰富我们对肝干细胞分化过程中表观遗传修饰的认识,具有一定的理论意义。

关键词: Dlk1-Dio3 microRNA 簇;miR-382;WB-F344;肝卵圆细胞分化

B-S2-16

诱导脂肪干细胞分化对原发性肾上腺皮质功能减退症的治疗

谢昀晖¹,罗宫薇²,李萌²;指导教师:杨蓓

1. 南昌大学 2013 级临床医学
2. 南昌大学 2013 级医学影像学

【立论依据】 原发性肾上腺皮质功能减退症是临床上一类内分泌疾病,主要是由于双侧肾上腺绝大部分或全部被毁,从而导致体内出现肾上腺皮质激素分泌不足而产生的临床表现。故其现阶段治疗以肾上腺皮质激素替代治疗为主。但长期激素替代治疗难以达到合理的剂量,且激素替代治疗不但在应激反应中无效,还可能存在副作用和潜在的风险。而通过干细胞技术诱导属于成体干细胞的脂肪干细胞(ASCs)向肾上腺皮质细胞分化并移植来恢复自身的分泌肾上腺皮质激素能力,既可解决激素替代疗法的剂量问题,又可弥补肾上腺细胞移植存在的供体来源及免疫排斥的不足,也能应对其它干细胞移植带来的较难获得、伦理及安全性等问题。

【设计思路】 本研究通过改变培养条件,加入视黄酸、ACTH、低钾、血管紧张素、肾上腺组织上清液诱导 ASCs 表达合成类固醇激素的关键酶 P450_{scc}、CYP11B 等和表达 ACTHR 情况,探讨产生有功能的 ASCs 来源的肾上腺皮质样细胞方法,判断是否产生有功能的肾上腺皮质样细胞,并将其移植至切除肾上腺大鼠模型肾包膜下,观察其生存情况和产生肾上腺皮质激素的能力。

【实验内容】 观察诱导液对 ASCs 增殖、分化、形成肾上腺皮质样细胞的影响,及特异标志表达情况。测定诱导后培养液中皮质酮、醛固酮浓度及其变化情况,判断是否产生有功能的肾上腺皮质样细胞。观察诱导分化的 ASCs,搭载在明胶海绵上移植入切除肾上腺的大鼠模型肾包膜下,宿主大鼠的生存情况,测定血液中皮质酮、醛固酮的浓度,并取移植物切片观察。

【材料】 实验动物为 SD 大鼠,其它实验材料主要有 qPCR、免疫细胞化学及蛋白质印迹等实验方法相关材料。