

【可行性】 本研究指导教师有所需研究方法的经验,已建立 ASCs 的分离、培养、扩增方法。并且本研究室具有完备的与本研究项目有关的设备和条件,故在技术上和人力上可确保本项目的完成。

【创新性】 对于肾上腺皮质功能减退症的治疗,细胞移植法比传统激素替代法更安全,效果更好。与肾上腺细胞移植相比,本研究可以解决后者存在的供体来源及免疫排斥的问题。而与采用其它干细胞转分化移植相比,ASCs 具有分化能力强、安全、易采集、无伦理问题等优点。

关键词: 全反式维甲酸;脂肪干细胞;肾上腺皮质功能减退症

B-S2-17

寻找胸腺干细胞——胸腺小体的潜在功能

郑越;指导教师:潘泽政

南昌大学 2012 级临床医学

【立论依据】 最新发现,Aire 极有可能也是一种多能干细胞标记基因; Aire⁺的胸腺髓质上皮细胞(mTEC)很可能是一类多潜能的前体细胞,尚无明确的实验证据;豚鼠胸腺组织体外培养能新形成“胸腺小体”,不再被其特异性抗体 KL1 标记,仍能被 KL4 标记,但其他抗原,如 Aire 的表达情况未知;提示从 mTEC 分化到成熟 HC 中间可能还有不成熟的过渡态。

【设计思路】 发现问题:胸腺小体(HC)功能尚不清楚。提出问题:高度分化的 HC 能否去分化?大胆假设:HC 就像干细胞的贮藏库,某种条件下能去分化,表现干性,成为胸腺干细胞甚至多能干细胞的源泉;胸腺只有 mTEC 表达 Aire,HC 不表达 Aire,让不表达 Aire 的 HC 表达 Aire,能否实现分化逆转,诱导多能性?

【实验内容】 手术分离豚鼠胸腺,建立 2 种体外培养体系。体系 A:组织块培养法体外重现“胸腺小体”,K5 和 K8、KL4 和 BrdU、Aire、Involucrin 双标记免疫荧光组织化学比对 HE 染色切片联合定位,鉴定新形成的“胸腺小体”;体系 B:KL1 包被免疫磁珠纯化胸腺小体上皮细胞(HCEC),饲养层 3T3 细胞体外培养 HCEC,构建豚鼠 Aire 基因真核表达载体重组质粒导入 HCEC,RT-PCR 检测豚鼠 HCEC 有无目的基因 Aire、胸腺上皮祖细胞(TEPC)标志基因 K5、K8 及干细胞标志基因 Oct4、Nanog、Sox2、Lin28 等表达。

【材料】 豚鼠,超净工作台,手术器械,切片机,倒置显微镜,离心、电泳、MACS 分选设备,PCR 体系,紫外产品,培养瓶 & 皿 & 基,明胶,血球计数板,pH 计,分光光度计,电子天平,冰箱,摇床,培养箱,恒温水浴锅,液氮罐,移液器,质粒载体,工具酶,DH5 α ,LipofectamineTM2000,3T3,丝裂霉素 C,胰蛋白酶,FBS,缓冲液,H. E 试剂,一抗,荧光二抗等

【可行性】 依托南昌大学医学实验教学中心,省医科院闵卫平院长支持,创新实验项目基金保障;2 位导师分别从事不同学科领域,经验丰富;团队更有留德免疫学博士张瑜娟加盟助力。

【创新性】 首次报道胸腺小体的分离、纯化、体外培养及诱导去分化(中心环节、技术难点);胸腺小体功能谜题;多能干细胞假说;胸腺干细胞移植,重建 T 细胞库,先天性或 AIDS 等免疫缺陷病治疗希望。

关键词: 胸腺;上皮;干细胞;Aire;豚鼠;胸腺小体;功能;去分化;KL1;KL4;免疫磁珠;分离;纯化;饲养层 3T3;培养;质粒;真核表达载体;免疫组化;多能性