

B-S2-35

小鼠精子与子宫内膜细胞融合及嵌合细胞生物特性研究

阳 军, 叶 晔, 卢江浩; 指导教师: 王晓梅

深圳大学 2012 级临床医学

【立论依据】 宫颈癌和子宫内膜癌是我国妇女常见的恶性肿瘤。虽然大量的研究数据表明人乳头状瘤病毒 (HPV) 感染与宫颈癌的发生密切相关, 但仍有许多妇女在未感染 HPV 情况下发生宫颈癌, 因此宫颈癌的发病机制迄今为止尚未完全阐明。一些研究发现在妇女体内存在含有 Y 染色体的细胞, 这提示精子与女性体细胞相互作用和融合的可能, 而与精子融合的体细胞是否会产生恶性特征目前尚不清楚。如果精子与宫颈或子宫内膜的直接接触可导致细胞的融合, 而融合细胞可表现恶性特征则提示无保护的性生活具有导致宫颈或子宫内膜癌患病的风险。

【设计思路】 在体外证实小鼠精子对子宫内膜细胞的穿透性, 并观察融合后嵌合细胞的生物特性及转归, 通过标志性蛋白分析完成对嵌合细胞的干细胞特性或恶性特征的初步鉴定。

【实验内容】 附睾尾和精囊部获得成年雄鼠的精子, 精子获能后用特异荧光分子标记精子细胞膜或顶体结构, 然后进行精子与原代培养的雌鼠子宫内膜细胞的共培养, 根据荧光染料在细胞膜的弥散特征证实精子与子宫内膜细胞的融合。采用流式细胞仪分选嵌合细胞并进行体外的长期培养。取对数生长期的嵌合细胞进行其生物学特性鉴定, 包括: 增殖能力、干性特征及恶性特征的鉴定。

【材料】 实验动物: SPF 级 KM 小鼠; 主要试剂: DMEM 培养基、胎牛血清、胰蛋白酶、荧光染料等; 实验仪器: 二氧化碳培养箱、超净工作台、恒温水浴箱、倒置显微镜、激光共聚焦荧光显微镜、流式细胞仪等。

【可行性】 精子-体细胞融合已有部分体外研究报道, 本研究借鉴了这些研究的实验方法并对具体的实验方案进行了优化。参与本研究的成员前期研究已经证实精子与宫颈癌 Hela 细胞的融合现象并已掌握了进行相关实验的生物学技术。

【创新性】 小鼠精子对子宫内膜细胞穿透性的体外研究目前尚未见相关报道, 本研究旨在建立一种新型的精子-子宫内膜细胞融合模型, 并将对这一模型的生物特征进行初步的研究。

关键词: 精子; 嵌合细胞; 生物学特性

B-S2-36

TLR7 激动剂偶联 OCT4 对小鼠卵母细胞发育成熟的影响

王曼娜¹, 杨燕平², 鲁明瑞³, 曹子一¹, 凌锦春¹; 指导教师: 王晓梅, 靳广毅

1. 深圳大学 2011 级临床医学

2. 深圳大学 2010 级临床医学

【立论依据】 TLR7 激动剂是疫苗研发的理想佐剂, 其抗肿瘤的作用表现为多效性, 而肿瘤蛋白 OCT4 在生殖肿瘤中高度表达。更有研究表明, 肿瘤免疫是以细胞免疫为主, 而 TLR 配体与蛋白的偶联能产生更强的 T 细胞免疫效应。因此, 本课题选择易合成及改造性强的小分子 TLR7 激动剂作为佐剂, 首次将 TLR7 激动剂与 OCT4 蛋白偶联, 有关研究已初步证实了偶联疫苗产生强而显著的抗肿瘤活性, 具有临床应用价值。但是, OCT4 在生殖细胞中亦高表达, 该疫苗是否具有生殖细胞毒性尚需要进一步探明, 为后续临床应用提供参考, 此方面研究目前尚未见相关报道。

【设计思路】 用腹腔给药的方法研究体内生长发育成熟卵母细胞的超排情况, 用液滴培养法研究 3 种试剂对体内发育体外成熟卵母细胞的情况, 以及采用液滴包埋培养窦前卵泡模拟体外生长环境研究试剂对其体外发育成