

域为 PCR 下游引物,分别针对每个物种设定上游引物,建立了七种动物源性成分的 DNA 条形码。DNA 条形码区域为 CO I 基因 1 200~1 710bp 的序列,其中猪、水牛、山羊、马、鸡、犬、鼠 7 种动物的 PCR 产物大小分别为 103、313、157、120、251、119 和 128 bp。对于大小接近的 PCR 产物,采用聚丙烯酰胺凝胶电泳方法检测。结果表明利用 CO I 基因,通过混合模板、混合引物进行交叉 PCR,均能特异性检测相应肉类。DNA 模板的灵敏度可达 0.01 ng,肉制品中 1% 的假肉(猪肉,1 mg)可被检出,熟肉的基因鉴定也是阳性。

【结论】 利用 CO I 基因 1 200~1 710 bp 区域,可以较好的区分不同肉类物种。该 PCR 方法特异性强、灵敏度高,所需检材微量,方法不受添加剂和高温加工等干扰,快捷准确,可作为肉制品中动物源性成分的鉴定方法进行推广。

关键词: DNA 条形码;基因鉴定;PCR;假肉

A-S2-25

基于 MUC1 细胞内段抗炎多肽的体外构建

李红羽¹,曲 东²,任 杰³;指导教师:李煜生

1. 南方医科大学 2010 级基础医学

2. 南方医科大学 2011 级预防医学

3. 南方医科大学 2011 级中西医结合临床医学

【目的】 在前期证实粘蛋白 1(MUC1)通过封闭 TLRs 信号通路抑制呼吸道合胞病毒(RSV)诱导的呼吸道炎症的基础上,以 TLRs 细胞内段 TIR 结构域相互作用的结构特点为基础,通过生物信息学分析确定 MUC1 胞内段(MUC1 CT)抗炎多肽的候选区域,并构建各种候选区域的缺失突变体真核、原核表达载体,进而找出发挥抗炎作用的多肽片段,并在体外验证其抗炎效果。

【方法】 根据生物信息学技术预测分析 MUC1 CT 潜在的抗炎片段;构建 MUC1 CT 各种缺失突变体的真、原核表达载体,即 pEGFP-C2-MUC1 CT mutants、pcDNA3-HA-MUC1 CT mutants 以及 pET14b-MCS-SBP-EGFP-MUC1 CT mutants-TAT;转染 pEGFP-C2-MUC1 CT mutants 入 A549 细胞(来源于 II 型肺泡上皮细胞),利用荧光显微技术明确各绿色荧光蛋白标记的突变体蛋白的细胞内定位;转染 pcDNA3-HA-MUC1 CT mutants(无异常定位的突变体)入 A549 细胞,待 MUC1 CT mutants 高表达后,用 RSV 感染各组细胞一定时间后,使用 ELISA 方法测定细胞培养上清中 TNF- α 的水平,筛选发挥抗炎作用的多肽片段;在明确 MUC1 CT 的核心抗炎片段的基础上,转化 pET14b-SBP-EGFP-MUC1 CT mutant 入大肠杆菌(DE₃),体外表达并纯化含有穿透肽(TAT)的 MUC1 CT 突变多肽,预先与 A549 细胞孵育,再给予 RSV 感染,通过测定上清中的 TNF- α 的水平,进一步明确具有抗炎活性的片段。

【结果】 (1)通过生物信息学分析 MUC1 CT,确定四处具有潜在抗炎活性的候选区域,分别是氨基酸位点 7-14 位,19-26 位,36-40 位,44-53 位;(2)成功构建基于 pEGFP-C2 和 pcDNA3-HA 真核表达载体的四种缺失突变体的真核表达载体;(3)通过 pEGFP-C2-MUC1 CT mutants 明确各种突变体的细胞内定位情况;(4)利用 pcDNA3-HA-MUC1 CT mutants 明确 MUC1 CT 的抗炎片段;(5)通过带有 TAT 的 MUC1 CT 突变多肽进一步证实该段的抗炎活性。

【结论】 MUC1 CT 抗炎片段在体外实验中具有抗炎性。

关键词: MUC1;抗炎多肽;体外构建