

病诊断、治疗和临床遗传学的开展提供理论基础。

【方法】 收集 20 个左右 FH 家系先证者及家系成员的血标本,测定所有研究对象的总血脂(TC)、甘油三酯(TG)、LDL-C 以及高密度脂蛋白(HDL-C)含量,记录患者及家系的详实临床数据资料。用 Qiagen 试剂盒从外周血提取基因组 DNA 并鉴定,运用多聚酶链式反应(PCR)结合直接测序方法,检测 LDLR 基因、PCSK9 基因,将核苷酸序列分析结果与 GenBank 比对,运用 MutationTaster、Poluphen-2、SIFT 等软件对突变位点进行预测和鉴定,分析突变所导致的蛋白结构变化及其与血脂表型的相关性。

【结果】 (1) 临床收集了 20 个 FH 家系,每个家系中均存在多个(≥ 3)血浆 TC 和 LDL-C 水平明显增高的患者。(2) 在 13 个家系中检测到 LDLR 基因突变,1 个家系中检测到 PCSK9 基因突变(p. E670G)。(3) LDLR 突变中,1 个是新的缺失突变(c. 2000_2000delG),1 个是新的纯合点突变(p. F202S)。(4) 预测软件预测发现的 LDLR 新突变(c. 2000_2000delG, p. F202S)均为致病突变,Swissmodel 建模显示 c. 2000_2000delG 突变导致 LDLR 蛋白胞内区发生截断,而 p. F202S 突变导致 LDLR 配体结合域发生了改变,且患者血脂异常、黄色瘤等临床表现较其他家系患者更为明显。

【结论】 FH 中 60% 左右为 LDLR 的突变。本研究发现了 2 个新的 LDLR 基因致病突变位点,且基因型和血脂表型密切相关。我们的发现扩充了 LDLR 基因的突变数据库,并为血脂临床遗传学的开展提供了理论支持。

关键词: 血脂异常;低密度脂蛋白受体;基因突变

S-3 病原生物与微生物学,感染与免疫

A-S3-1

抗日本血吸虫单抗识别曼氏血吸虫表面蛋白的研究

朱峰宇,崔士祥;指导教师:沈际佳

安徽医科大学 2011 级生物技术

【目的】 证明本实验室所制备的抗日本血吸虫表面蛋白(Sj29)的单克隆抗体可识别曼氏血吸虫表面蛋白(Sm29),拓宽抗 Sj29 单克隆抗体的用途,为今后研发检测血吸虫病的通用型试剂盒打下基础。

【方法】 通过基因工程技术和分子生物学技术扩增曼氏血吸虫表面蛋白基因(Sm29)并与 T 载体连接,连接产物转化至感受态细胞(大肠埃希菌),挑取单菌落,摇菌,提质粒双酶切鉴定,测序,再将测序正确的 Sm29 基因与真核表达载体 pEGFP-C2 连接,构建重组真核表达质粒,再将该重组质粒转染至真核细胞 COS-1 中表达,荧光显微镜观测转染效率。最后用蛋白质印迹技术和细胞爬片免疫组化两种方法验证抗 Sj29 单克隆抗体和兔日本血吸虫感染血清能否识别 Sm29 蛋白。

【结果】 经酶切后,琼脂糖凝胶电泳鉴定显示,所得的条带的位置及大小均与目的基因的位置及大小相一致,并且目的基因测序结果的相似度为 99%,其中 1% 突变的碱基为无义突变类型,对蛋白的表达没有影响。荧光显微镜下观察转染效率为 30%~40%。用日本血吸虫表面蛋白(Sj29)和曼氏血吸虫表面蛋白(Sm29)分别作为一抗进行蛋白质印迹,其结果显示此株抗 Sj29 单克隆抗体均能识别上述两种蛋白,并且其识别日本血吸虫表面蛋白(Sj29)的位置位于 20 kd 左右,而其识别曼氏血吸虫表面蛋白(Sm29)的位置位于 55 kd 左右,这两种结果均符合预期结果。以抗 Sj29 的单克隆抗体和日本血吸虫感染的兔血清分别为一抗作免疫组化,其结果均呈阳性,其对照组分别以 PBS 和正常兔血清为一抗,结果均呈阴性。说明抗 Sj29 的单抗不仅可以识别 Sm29 蛋白,同时感染兔血清中的抗体也可以识别曼氏血吸虫表面蛋白(Sm29),进一步提高了以后研发检测血吸虫病通用试剂盒的可行性。

【结论】 抗 Sj29 单克隆抗体能识别 Sm29 蛋白,为今后研发检测血吸虫循环抗原的通用型试剂盒打下基础。

关键词: 日本血吸虫;曼氏血吸虫;膜蛋白;免疫诊断;单克隆抗体