

## A-S3-12

## 呼吸系统感染肺炎克雷伯菌中 I 类整合子基因盒的相关研究

高 昂,王昕凝,丁 印,石志源;指导教师:于 红

青岛大学医学院 2010 级临床医学

**【目的】**肺炎克雷伯菌是医源性感染的重要致病菌之一,随着临床大剂量抗生素的不规范使用,肺炎克雷伯菌多重耐药菌株日趋增多,常导致治疗的失败和病程迁延。I 类整合子是肺炎克雷伯菌中分布最普遍的整合子,其携带的耐药基因盒在细菌耐药性方面起关键作用,且整合子的分布及携带的基因盒存在明显的地区差异性。目前尚未见青岛地区肺炎克雷伯菌整合子的研究报道,本研究旨在探讨 I 类整合子的分布、基因盒的组成及其与耐药表型的关系,明确青岛地区肺炎克雷伯菌中 I 类整合子及其携带的基因盒流行情况,为临床合理应用抗生素提供可靠依据。

**【方法】**收集 2011 年至 2013 年青岛市立医疗集团分离鉴定的呼吸系统感染的非重复肺炎克雷伯菌 82 株,采用美国临床和实验室标准协会(CLSI)推荐的 K-B 法测定细菌对 16 种常用抗菌药物的敏感性;提取细菌基因组 DNA,PCR 检测整合子保守区的整合酶基因;对保守区阳性的菌株进行可变区基因的 PCR 扩增,将回收纯化的 PCR 产物克隆至 pMD18-T 载体,经琼脂糖凝胶电泳及 PCR 鉴定后,重组克隆送往华大基因公司进行测序,通过在线 Blast 和 DNA Star 软件进行同源比对分析,确定 I 类整合子携带的耐药基因盒。

**【结果】**82 株肺炎克雷伯菌对 16 种常用抗菌药物的耐药率为 2.3%~72.1%,其中对头孢唑林、哌拉西林和头孢吡辛类药物的耐药率达 60%以上;I 类整合子的阳性率为 76.82%,I 类整合子可变区扩增片段大小从 750~2 500 bp 不等,测序结果显示其携带的 11 种基因盒主要包括编码氨基糖苷类耐药性的 aad 家族(aadA1、aadA2、aadA5、aadB)、aac 家族(aacA4)、编码磺胺类耐药性的 dfr 家族(dfrA1、dfrA5、dfrA12)、编码氯霉素耐药性的 catB8 基因及功能不明的 orfF 及 orfC 基因,共组成 7 种不同的基因盒排列组合(已向 GeneBank 申请登录)。

**【结论】**青岛地区呼吸系统感染肺炎克雷伯菌中 I 类整合子的阳性率较高,其携带的耐药基因盒主要赋予细菌对氨基糖苷类和磺胺类的耐药性,这些耐药基因盒的不同排列组合构成了肺炎克雷伯菌多重耐药的物质基础。

**关键词:**肺炎克雷伯菌; I 类整合子; 基因盒; 耐药

## A-S3-13

## ZHX2 调控 HBV 转录活性的研究

徐蕾琪;指导教师:马春红

山东大学 2010 级临床医学八年制

**【目的】**乙型肝炎病毒(HBV)慢性感染是原发性肝细胞癌(HCC)发生的重要因素,HBV 的复制与表达受宿主肝细胞内多种转录因子调控,寻找宿主细胞内抑制 HBV 启动子活性的转录因子,将为实现控制 HBV 复制、阻断 HCC 发生提供重要理论依据。研究证实,新型转录抑制因子 ZHX2 能抑制肝癌重要标志物 AFP 和 GPC3 的表达,并通过抑制 cyclinA/E 启动子,在 HCC 发生中发挥抑癌作用。本室前期研究发现 HCC 组织中 ZHX2 表达与 HBcAb 相关,然而 ZHX2 是否抑制 HBV 转录迄今尚未报道。本研究旨在探索 ZHX2 对 HBV 基因启动子活性的调控作用及其分子机制。

**【方法】**设计引物,以 pcDNA3-HBV1.1 质粒为模板 PCR 扩增获得 HBV 不同启动子片段,克隆入 pGL3-Basic,构建 HBV 启动子报告基因表达载体。ZHX2 过表达载体分别与 HBV 不同启动子报告基因表达载体共转染肝癌细胞系 HepG2.2.15、BEL7402、HepG2 细胞,双荧光素酶报告基因检测启动子活性变化;干扰 NF- $\kappa$ B 后检测启动子活性变化。在 HepG2.2.15 细胞过表达 ZHX2,ELISA、RT-PCR、蛋白质印迹法检测 HBV 基因转录