DOI: 10.16016/j.1000-5404.1997.04.040

个案与短篇

GAP-43 cDNA及 TH-3 cDNA重组逆转录病毒载体的构建*

Construction of the GAP-43 cDNA and TH-3 cDNA recombinant retroviral vectors

刘 俊** 蔡文琴*** 杨 辉 张可成 (第三军医大学附属新桥医院神经外科) 重庆, 630037

逆转录病毒载体介导的基因转移技术已成为进行基因治疗,细胞增殖、分化、癌变及死亡等不同研究的主要技术基础之一。为此,我们构建了 GAP-43及 TH-3重组逆转录病毒表达载体。

1 材料与方法

DNA限制性内切酶, T_4 DNA连接酶等工具酶购自 Promega公司和华美生物工程公司。

1.1 GAP-43重组逆转录病毒载体的构建

从含有全长 GAP-43 cDNA的重组质粒 pGEM-4中,以 BamHI, DraI 双酶切下约 900 bp的 GAP-43 cDNA片段,该片段去除了 GAP-43 cDNA的大部份非编码区(约 240 bp),凝胶电泳回收片段。逆转录病毒载体用 BglII 及 SnaBI酶切,回收约 9.67 kb片段,以摩尔比 3∶1连接(15℃过夜),转化大肠杆菌 DH5α后,提取转化质粒 DNA,根据分子量大小及酶切图谱鉴定阳性重组子(命名为 pN_2AGAP-43)。

1.2 TH-3重组逆转录病毒载体的构建

从含有全长 TH-3 cDNA的重组质粒 pGEM-2中,以 BamHI酶切下约 1.8 kb的片段,凝胶电泳回收片段。与经 BglII 酶切的逆转录病毒载体进行连接,转化大肠杆菌 DH5α后,提取转化质粒 DNA,根据分子量大小及酶切图谱鉴定阳性重组子(命名为 pN_2ATH-3)。

2 结果

(1) GAP-43cDNA定向克隆入逆转录病毒载体后,重组子经 ApaI 及 MluI 酶切后电泳,电泳见两条带,分别为 0.9 9.6 kb左右,见图 1 (2) TH-3 cDNA重组子经 ApaI 酶切后电泳,两条带分别为 1.6 9.8 kb左右。两条带分别为 1.6 9.8 kb左右,见图 2

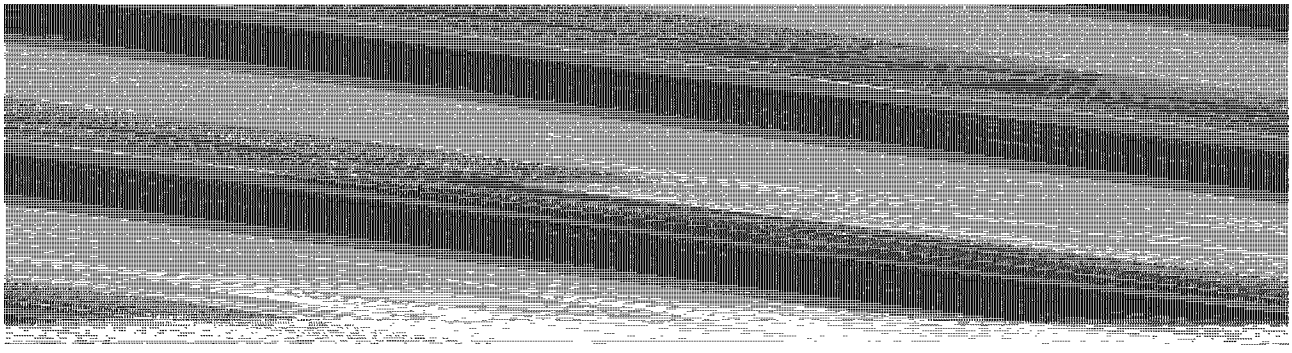


图 1 pN_2AGAP-43质粒鉴定

a.λDNA/HindIII Marker; b. pN_2A(ApaI 酶切); c. pN_2AGAP-43(ApaI 酶切); d. pN_2AGAP-43(ApaI -MluI 酶切); e.λDNA/EcoRI+ HindIII Marker

图 2 pN_2ATH-3质粒鉴定

a.λDNA/HindIII Marker; b. pN_2A(ApaI 酶切); c. pN_2ATH-3(MluI 酶切); d. pN_2ATH-3(ApaI 酶切); e.λDNA/EcoRI+ HindIII Marker

* 国家自然科学基金资助项目, No. 39370686

** 刘 俊,男,3岁,主治医师,博士

*** 第三军医大学基础医学部组织学与胚胎学教研室

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

3 讨论

GAP-43(神经生长相关蛋白质)存在于神经元内,集中在神经生长区和突触重建区。目前认为 GAP-43在神经发育、再生、塑形、神经递质释放及突触重建中起重要作用[1,2]。而 TH-3(酪氨酸羟化酶)是脑内多巴胺神经元合成多巴胺的主要调节物,对帕金森病有明确的治疗作用[3]。因此,我们构建的 GAP-43及 TH-3重组逆转录病毒表达载体为基因治疗帕金森病及为进一步探讨中枢神经系统的生长发育机理奠定了基础,目前正在进行这两种重组子的表达产物的研究。

关键词 GAP-43基因; TH-3基因;逆转录病毒载体
中图法分类号 Q75

参考文献

1 Eggen B JL, Brandsma D, Kasperaitis M *et al*. Rat B-50 gene transcription and translation. Brain Res, 1995, 690(1): 73
2 Lin P X, Fields R D, Agoston D V. Effects of electrical stimulation on GAP-43 expression in mouse sensory neurons. Brain Res, 1993, 76(1): 95
3 Kastner A, Hirsch E C, Agid Y *et al*. Tyrosine hydroxylase protein and messenger RNA in the dopaminergic nigral neurons of patients with Parkinson's disease. Brain Res, 1993, 606(2): 341

(收稿: 1996-12-10;修回: 1997-03-21)
(编辑 张大春)

对一例患者同时行心内膜心肌活检及射频消融术治疗

Report of performing radiofrequency ablation and endomyocardial biopsy simultaneously in a patient

宋治远* 舒茂琴 胡亚琴 何国祥 (第三军医大学附属西南医院心血管内科)重庆, 630038

1 病例资料

患者女, 12岁,生后 3个月起反复发生阵发性室上性心动过速,院外多次超声心动图检查均示左室增大。入院后查体: 双肺听诊正常,心浊音界向左扩大,心尖区可闻及二级吹风样收缩期杂音。X线胸片示双肺轻度瘀血,心影呈普大形,心胸比例 0.60 超声心动图示左室增大,室壁运动减弱,左室射血分数 37%。心电图示预激综合征(预激)伴阵发性室上性心动过速。于 1996年 2月 8日在局麻下行心内膜心肌活检(EMCB)及射频导管消融术(RFCA)。

2 方法与结果

EMCB按文献[1,2]方法进行,于左、右心室各取 2块直径约 2 mm的心内膜心肌组织送检。光镜检查及弹力纤维染色显示: 左室心内膜增厚、内膜弹力纤维组织增生、深染,心肌细胞肥大;右室心内膜心肌组织基本正常。按文献[3]操作方法行 RFCA治疗,旁道定位于左侧游离壁,在获得理想靶电位图后放电消融,开始 20W放电,旁道先后 3次被阻断,但均很快复发,后增大放电量、延长放电时间(即 30W放电 90 s 35W放电 30 s),消融成功。随访 10个月,室上性心动过速无复发。

3 讨论

本例患者有心动过速史近 12年,入院后检查示心脏增大,并有左心功能不全的表现,其心脏增大系长期反复心动过速发作所致?或同时合并先天性心内膜心肌病变?临床上难以确定。我们在行 RFCA治疗的同时做 EMCB,既根治了预激,又明确了心内膜弹力纤维组织增生症的诊断,为疾病预后的判断及后续治疗提供了可靠依据。

根据本例治疗成功的体会,我们认为: 虽然预激伴发心内膜弹力纤维增生症者临床罕见,但对儿童预激伴原因不明心脏扩大者,应想到同时合并本病之可能,若条件允许,可在行 RFCA治疗的同时做 EMCB,以明确诊断。

关键词 消融术,射频;活检术,心内膜
中图法分类号 R542.4

参考文献

1 倪廷枢,何国祥,王敏中等.心内膜心肌活检的临床应用.第三军医大学学报,1987, 9(2): 184
2 张全发.心内膜心肌活检.见: 杨鼎颐,崔长琮主编.实用心导管诊疗学.西安: 西北大学出版社, 1990. 266~282
3 宋治远,陈惠斌,何国祥等.射频消融阻断房室旁道后心电图 T波改变的机理及意义探讨.第三军医大学学报, 1995, 17(2): 137

(收稿: 1996-11-21;修回: 1997-01-10)
(编辑 汪勤俭)

* 宋治远,男, 40岁,副教授,副主任医师,硕士

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net