

讨 论

实验采用3种不同的转染方法,将报告基因绿色荧光蛋白瞬时转入真核细胞,结果显示脂质体法的转染效率最高,细胞毒性最小,是一种较为理想的转染方法。

本实验将绿色荧光蛋白的哺乳动物表达载体 pEGFP - C1 转入真核细胞中,观察到 EGFP 发出明亮的绿光,并且 EGFP 的表达和转染的时间有相关性,即从转染后的 6h 开始表达,到 21h 到达高峰,之后,其表达强度随时间延长而逐渐减低。这表明绿色荧光蛋白是非常易于检测的报告基因,并且它的表达具有时效性。

我们比较了磷酸钙法、电穿孔法和脂质体法对于绿色荧光蛋白瞬时转染的效率。结果显示,脂质体法的转染效率最高,对细胞生长影响的不良反应最小。综合比较这3种转染方法,磷酸钙法是磷酸钙 - DNA 复合物黏附到细胞膜并通过胞饮进入目的细胞的细胞质^[3]。电穿孔是通过将细胞暴露在短暂的高场强电脉冲中转导分子的方法^[4]。阳离子脂质体转染是带负电的 DNA 自动结合到带正电的脂质体上,形成 DNA - 阳离子脂质体复合物,被俘获的 DNA 就会被导入培养的细胞。通过实验,我们可以看到磷酸钙法优点为价格低,细胞毒性小,但是,该实验对技术的要求较高,且实验的重复性较差。每种试剂都必须小心校准,保证质量,因为甚至偏离最优条件 1/10 个 pH 值,都可能导致磷酸钙转染的失败^[5]。电穿孔法虽然很多报道表明电穿孔转染效率很高,但是,一般情况下成功的电穿孔过程伴随高度(50%或更高)的毒性,会引起细胞的死亡。另外,高强度的电场脉冲也能引起细胞融合,可能会影响到细胞的性状和生

长^[6]。阳离子脂质体介导的转染方法是因转染效率高、安全、细胞毒性小、无免疫原性、操作简单,成为较理想的转染方法^[7]。

此外,采用阳离子脂质体法为保证转染的成功,在操作的过程中需要注意选用对数期生长的细胞,尽可能地提纯用于转染的质粒 DNA,去除内毒素的污染可保证理想的转染效果,应按照转染说明书适量配比用于转染 DNA 量和脂质体量,并进行预实验找到最佳的比例等。

总之,在以绿色荧光蛋白为报告基因的真核细胞转染系统中,脂质体法是相对转染效率高、毒性小的理想的转染方法。

参考文献

- 1 Welsh S, Kay SA. Reporter gene expression for monitoring gene transfer. *Curr Opin Biotechnol*, 1997, 8 (5): 616 - 617
- 2 Colosimo A, Goncz KK, Holmes AR, *et al.* Transfer and expression of foreign genes in mammalian cells. *Biotechniques*, 2000, 29 (2): 314 - 318
- 3 Fu H, Hu Y, McNelis T, *et al.* A calcium phosphate - based gene delivery system. *J Biomed Mater Res A*, 2005, 74 (1): 40 - 48
- 4 Odani N, Ito K, Nakamura H. Electroporation as an efficient method of gene transfer. *Dev Growth Differ*, 2008, 50 (6): 443 - 448
- 5 Kejnovsky E, Kyr J. Millimolar concentrations of zinc and other metal cations cause sedimentation of DNA. *Nucleic Acids Res*, 1998, 26 (23): 5295 - 5299
- 6 Sandri M, Bortoloso E, Nori A, *et al.* Electrotransfer in differentiated myotubes: a novel, efficient procedure for functional gene transfer. *Exp Cell Res*, 2003, 286 (1): 87 - 95
- 7 Dass CR, Walker TL, Burton MA. Liposomes containing cationic dimethyl dioctadecyl ammonium bromide: formulation, quality control, and lipofection efficiency. *Drug Deliv*, 2002, 9 (1): 11 - 18

(收稿:2009 - 09 - 16)

(修回:2009 - 12 - 03)

基于 UPLC - Q - TOF 的经前期综合征 肝气逆证大鼠模型代谢表征研究

张惠云 罗国安 孙 鹏 乔明琦 黎 莉 黄 浩 魏 娜 魏 盛

摘 要 目的 研究经前期综合征(PMS)肝气逆证大鼠代谢指纹差异,以期为 PMS 肝气逆证在代谢层次上的发病机制寻

基金项目:“十一五”国家科技支撑计划“调肝方药干预经前期综合征肝气逆证的代谢机制”(2006BAI08B05 - 10)

作者单位:250355 济南,山东中医药大学中医药经典理论教育部重点实验室(张惠云、孙鹏、乔明琦、魏盛);100084 北京,清华大学生命科学与医学研究院中药现代化研究中心(罗国安、黎莉);300071 天津,南开大学药学院(黄浩);300071 天津,南开大学生命科学学院(魏娜)

通讯作者:张惠云,电子信箱:zhuiyun@163.com

找证据。方法 用电刺激法复制经前期综合征肝气逆证大鼠模型, UPLC - TOF - MS 法检测各组大鼠尿液的代谢指纹变化。结果 对照组、造模组在主成分分析中得到了较好的区分, 给予白香丹胶囊后代谢网络有修复趋势。结论 利用代谢组学能够较好地地区分 PMS 肝气逆证模型大鼠代谢模式及药物调控趋势, 该方法可为情志病证发病机制及模型评价研究提供新手段, 显示出代谢组学在中医证候研究中的可行性。

关键词 经前期综合征 肝气逆证 代谢组学

Study on the Metabolic Pattern of Premenstrual Syndrome (PMS) Liver - Qi Invasion Model Rats Based - UPLC - Q - TOF. Zhang Huiyun, Luo Guoan, Sun Peng, Qiao Mingqi, Li Li, Huang Hao, Wei Na, Wei Sheng. Shandong University of Tradition Chinese Medicine, Shandong 250355, China

Abstract Objective To study the difference of premenstrual syndrome liver - Qi invasion rats metabolic fingerprint cards, with a view to find the evidence of the premenstrual syndrome liver - Qi invasion pathogenesis in metabolic levels. **Methods** We copied the premenstrual syndrome liver - Qi invasion model rats by electric stimulation and detected the metabolic fingerprint changes of rats in each group by UPLC - Q - TOF. **Results** The control group and the model group got well distinguished by analysis of PCA. Metabolic system had a restoration trend after dosing Baixiangdan Capsule. **Conclusion** Using metabonomics can well distinguish the premenstrual syndrome liver - Qi invasion model rats and the drug - control mode trends. The method can provide new means for the emotional diseases pathogenesis and the evaluation of models, which showed feasibility of metabonomics on zheng - study of Traditional Chinese Medicine.

Key words Premenstrual syndrome; Liver - Qi invasion; Metabonomics

经前期综合征 (premenstrual syndrome, PMS) 是周期性发作于月经周期后半期, 伴有身体、精神、行为改变的症候群。它的严重程度因人而异, 严重者能影响正常的工作和生活。本病征最多见于 30 ~ 40 岁的育龄妇女, 是育龄妇女最常见的病证之一。PMS 症状表现有身体不适、焦虑、背痛、疲乏、消沉等^[1], 是年轻女性中普遍存在的一种病证, 其发病与情绪、身体和行为密切相关。PMS 发病覆盖面广、发病率非常高, WHO 已将其列为 21 世纪对人类健康影响最大的十大病证之一。探索并揭示 PMS 病因和发病机制成为该领域基础研究的前沿。

乔明琦、张惠云等针对 PMS 开展了发病机制的深入探讨, 成功构建了该病猕猴消减 cDNA 文库和蛋白质双向电泳指纹图谱, 从基因组学和蛋白质组学对“肝主疏泄与调节机体单胺类神经递质与性激素及其调节激素有关”的假说进行了验证。虽然基因组学和蛋白质组学可以很大程度地揭示病理生理机制, 但他们也存在信号通路蛋白相互影响, 靶位点难以定位等缺点, 而且不能动态、实时地反映整体信息。本实验通过 PMS 肝气逆证模型大鼠尿液代谢指纹分析, 为该病证发病机制及模型评价研究提供新证据。

材料与方 法

1. 实验材料: (1) 实验动物: 健康未孕雌性大鼠, 体重 180 ~ 220g, Wistar 种 30 只, SPF 级, 山东中医药大学实验动物中心提供, 许可证号: SCXK (鲁) 20050015。 (2) 药品及试剂: 白香丹胶囊由白芍、香附、牡丹皮 3 味中药组成 (山东中医药大学生产, 批号: 080201), 乙腈 (色谱纯, Merck 公司), 甲酸 (色

谱纯, 美国 Tedia 公司), 水为 MilliQ 超纯水, 其他试剂均为分析纯。 (3) 仪器: UPLC - TOF - MS (美国 Waters 公司), 紫外检测器, 高速冷冻离心机 (上海天美, CT15RT), ST - A 数字脉冲生物刺激仪 (由济南空军后勤装备总厂、山东中医药大学联合研制)。

2. 实验方法: (1) 受试大鼠筛选: 采用旷场实验筛选得分相近大鼠进入实验。 (2) PMS 肝气逆证大鼠造模: 根据阴道涂片的结果, 将处于动情后期大鼠 30 只, 随机分为 3 组, 每组 10 只, 分别为对照组、模型组、给药组, 除对照组外其他两组连接 ST - A 数字脉冲生物刺激仪, 给予造模刺激。刺激条件如下: 电压 2700 ~ 3300V, 脉宽 0.3s, 脉冲间隔白天 5min, 夜晚 10min, 连续刺激 5 天。 (3) 采样: 大鼠每天上午 9:00 灌胃 4ml 灭菌饮用水, 随即放入代谢笼中, 量筒收集 2ml 尿液, 10000r/min 离心 20min, 取上清液作为供试品。大鼠造模完成后即进行旷场实验测定相关行为学指标。 (4) 旷场实验^[2]: 旷场实验箱 100cm × 100cm × 50cm, 周壁底面为黑色, 底面用白线划分为面积相等的 25 块, 沿墙格称外周格, 其余为中央格。操作者握住大鼠尾根部 1/3 处, 小心放入旷场正中格, 用摄像系统记录动物 3 min 的行为变化。① 水平得分 (crossing): 动物穿越底面方块数为水平活动得分 (4 爪均进入的方格方可记数, 为水平运动得分); ② 垂直得分 (Rearing): 直立次数为垂直活动得分 (2 前爪腾空或攀附墙壁, 为垂直运动得分)。旷场实验得分 = ① + ②。同时记录修饰时间、修饰次数、中央格停留时间、粪便粒数。每只动物造模结束后进行一次测定, 3 分钟/次, 比较各组得分差异。行为评定采用盲法, 3 位观察者观看录像评分, 3 人一致性很高 (Kappa 值大于 0.95)。 (5) 分析条件: 色谱条件: 流速: 0.4ml/min, 样品室温度: 4℃, 柱温: 60℃ (表 1)。质谱条件: 电喷雾离子源, 正离子 V 模式, 50 ~ 1000Da, 扫描时间: 0.1s, inter time: 0.02s, lock

mass:0.01ml/min LE([M+H]⁺ = 556.2771)(200pg/ml),毛细管电压:3kV,锥孔电压:60V,离子源温度:100℃,脱溶剂气温:300℃,脱溶剂剂气流量:700L/h,锥孔气流量:50L/h。

表1 大鼠尿样UPLC色谱条件

时间(min)	0.2%甲酸水(%)	乙腈(%)
0	100	0
18	65	35
20	5	95
22	5	95
25	100	0
28	100	0

3. 数据处理:行为学实验数据用SPSS 13.0统计软件分析,多个样本均数比较用单因素方差分析,检验水准 $\alpha = 0.05$ 。UPLC-TOF-MS 图谱数据采用 Micromass MarkerLynx 软件进行色谱峰识别以及峰匹配,并采用主成分分析法(PCA)对对照组、模型组和给药组进行模式识别。

结 果

1. 各组大鼠旷场实验得分比较:旷场实验水平得分反映动物的兴奋性,垂直得分反映动物对环境的适应程度,旷场实验总分是动物探索行为及兴奋性的总体反映,各组间比较均有显著性差异($P < 0.05$)。见表2。由表2可见,较对照组大鼠造模后水平得分、垂直得分及旷场实验总分均显著增加($P < 0.05$),用药后这一趋势得到明显纠正($P < 0.05$)。

表2 各组大鼠旷场实验行为学得分比较($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	水平得分	垂直得分	旷场实验得分
对照组	49.92 ± 29.11	11.58 ± 5.41	61.50 ± 30.93
模型组	64.00 ± 20.15*	15.92 ± 6.26*	79.92 ± 24.18*
给药组	43.33 ± 11.11#	9.75 ± 2.18#	53.08 ± 12.56#

*表示与正常对照组相比, $P < 0.05$;#表示与模型组相比, $P < 0.05$

2. 各组大鼠旷场实验行为学观察:中央格停留时间是对动物空间认知能力的反映,修饰次数主要反映动物活动量大小及对环境满意程度,而粪便粒数则反映动物紧张程度。见表3。由表3可见,模型组大鼠中央格停留时间较正常对照组显著延长($P < 0.01$),用药可非常显著改善这一现象($P < 0.01$)。修饰次数各组大鼠均无显著性差异($P > 0.05$),但模型组大鼠有增多趋势,用药后上述现象得以纠正,未能得到阳性结果可能与样本数过小及离散度太大有关。粪便粒数方面,模型组大鼠明显较对照组为多($P < 0.01$),用药后则恢复正常。

表3 各组大鼠旷场实验行为学测试结果比较($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	中央格停留时间	修饰次数	粪便粒数
对照组	1.14 ± 0.31	18.58 ± 10.56	2.00 ± 0.76
模型组	3.12 ± 0.60**	22.75 ± 11.62	4.25 ± 0.89**
给药组	1.31 ± 0.33#	18.08 ± 9.81	2.00 ± 1.00#

**表示与正常对照组相比, $P < 0.01$;#表示与模型组相比, $P < 0.01$

3.3 组尿样代谢物色谱图结果:从3组试验大鼠尿样色谱总离子流图(图1)中,可以观察到模型组大鼠的代谢物色谱图与正常组之间的差别明显大于给药组大鼠尿样的代谢物色谱图与正常组之间的差别,提示白香丹胶囊干预能纠正PMS肝气逆证大鼠模型代谢紊乱。

4. 主成分分析结果:实验中,对正常组、模型组和给药组大鼠尿样代谢图谱数据进行PCA统计分析,结果表明(图2),模型组与正常组和给药组完全分开,同时给药组与正常组非常接近,从而提示白香丹胶囊能逆转PMS肝气逆证大鼠模型代谢紊乱,与行为学结果相一致。且造模过程中大鼠的代谢谱出现逐渐偏离起始点的趋势(图3),表明造模过程中大鼠代谢模式的变化轨迹。

5. 差异代谢物分析:在潜在生物标志物中(表4),2-氨基己二酸、褪黑激素、4-羟基谷氨酸参与了与情绪活动密切相关的代谢途径;5,7,4'-三羟基黄酮与调节经前期症状关系密切;前列腺素F_{2a}与影响月经周期有关。

讨 论

代谢组学是继基因组学、转录组学和蛋白质组学之后,系统生物学的重要领域^[3]。代谢组学的研究最早是1985年,Nicholson研究小组利用NMR技术分析大鼠的尿液,意识到这可能是生命科学的巨大突破^[4],并与1999年提出了代谢组学(metabonomics)的概念。代谢组指的是“一个细胞、组织或器官中,所有代谢组分的集合,尤其指小分子物质”,而代谢组学则是一门“在新陈代谢的动态进程中,系统研究代谢产物的变化规律,揭示机体生命活动代谢本质”的科学。

细胞内的生命活动大多发生与代谢层面,如细胞信号释放、能量传递、细胞间通信,故代谢组学被认为是组学研究的最终方向。基因与蛋白质的表达密切相关,代谢物则更多地反映了细胞所处的环境,如营养状态、药物和环境污染等影响。正如Billy David所言:“基因组学和蛋白组学告诉你可能发生什么,而代谢组学则告诉你已经发生了什么”^[5]。

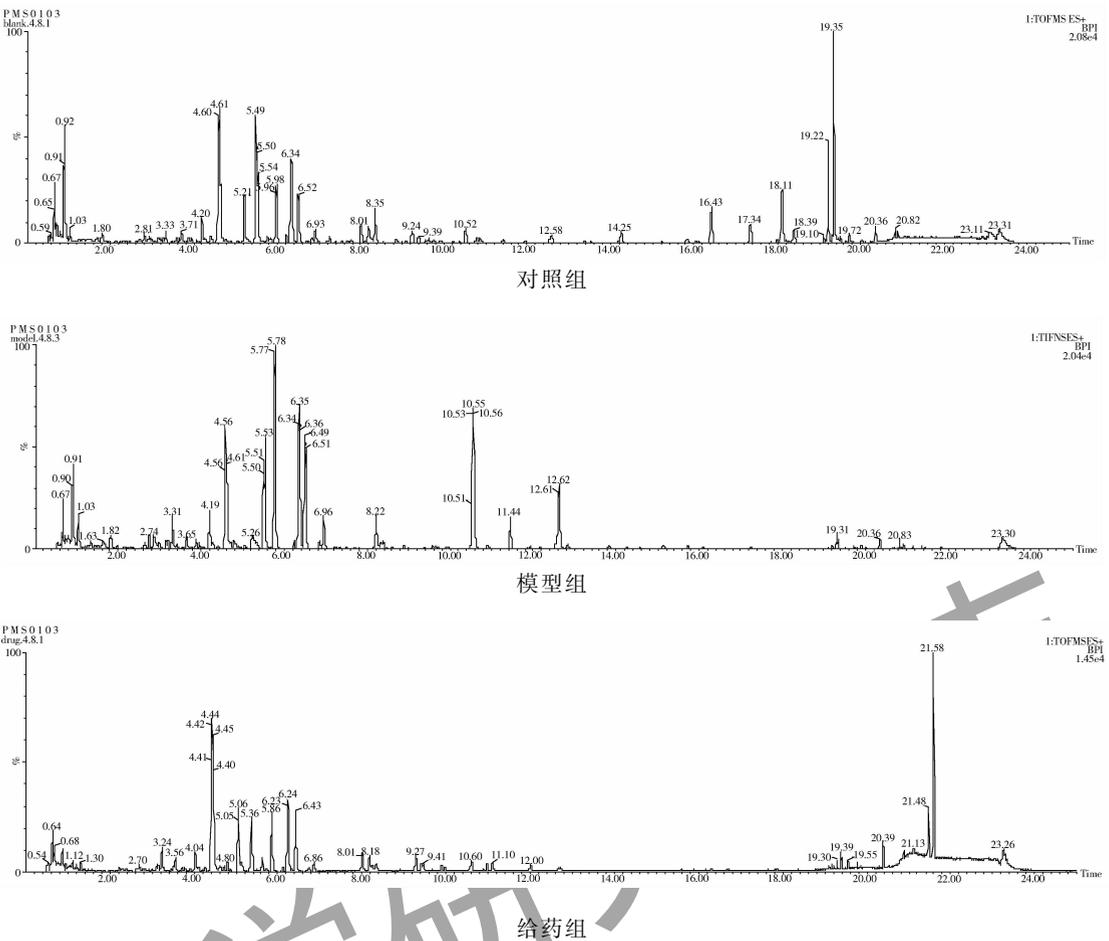


图 1 3组大鼠尿样代谢物色谱总离子流图

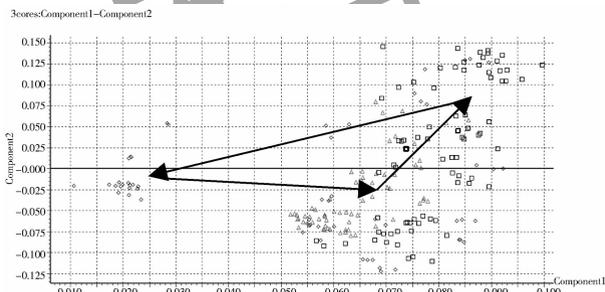


图 2 3组大鼠尿样代谢物 PCA 模式分析 Scores 图

方框为对照组, 菱形为模型组, 三角形为给药组

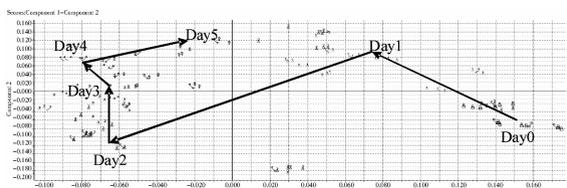


图 3 模型组 PCA 模式分析 0~5 天 Scores 图

表 4 潜在生物标志物信息表

序号	保留时间 (min)	选择离子	鉴定	模型组趋势
1	1.0	$[M-H]^+$	甲基鸟嘌呤	↑
2	1.1	$[M-H]^+$	2,3-二羟基-3-甲基戊酸	↑
3	4.6	$[M-H]^+$	D-半乳糖胺	↓
4	4.7	$[M-H]^+$	5-氨基戊酸	↓
5	5.7	$[M-H]^+$	2-氨基己二酸	↑
6	5.8	$[M-H]^+$	D-脯氨酸	↑
7	6.3	$[M-H]^+$	褪黑激素	↑
8	6.4	$[M-H]^+$	3-羟基丙酮酸-5-羧基	↑
9	6.5	$[M-H]^+$	4-羟基谷氨酸	↑
10	8.1	$[M-H]^+$	2,3-二氢甲基吡啶酸	↓
11	8.3	$[M-H]^+$	去氧腺苷	↓
12	12.6	$[M-H]^+$	5,7,4'-三羟基异黄酮	↑
13	16.3	$[M-H]^+$	癸二酸	↓
14	19.3	$[M-H]^+$	前列腺素 F2 α	↓

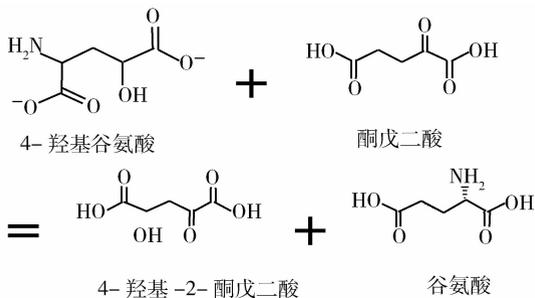
目前,代谢组学主要用于发病机制,模型的鉴别和确证,药物作用机制的研究,药物毒性评价,药物临床前安全性评价,疾病诊断等^[6]。

本研究利用课题组前期建立的动物模型结合代

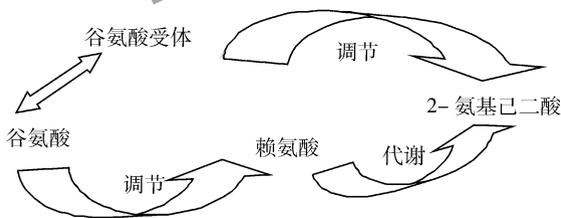
谢组学技术方法,分析了大鼠内源性小分子代谢物谱的变化过程,并分析了白香丹胶囊干预下的大鼠尿样代谢谱的变化。结果表明造模过程中,大鼠内源性代谢物谱逐渐偏离正常组的代谢谱,而白香丹胶囊干预组的样本则呈现回归正常的趋势,从代谢物的角度表明白香丹胶囊对 PMS 肝气逆证大鼠代谢紊乱有明显的纠正作用,这一结果与行为学研究结果相一致。表明,利用基于尿液检测、多维统计分析的代谢组学研究,对中药复方药效的评价提供了一种新方法。利用多维统计方法,实验中发现并鉴定了 14 个与 PMS 肝气逆证造模过程密切相关的代谢物,这些代谢物可以帮助理解 PMS 肝气逆证发生机制。

2-氨基己二酸是赖氨酸主要代谢路径的代谢产物,它受谷氨酸受体调节对抗神经兴奋活动,是赖氨酸代谢的中间产物。而赖氨酸的正常代谢也依赖谷氨酸的调节。因此 2-氨基己二酸的升高可能是由于谷氨酸升高引起。

同时 4-羟基谷氨酸与谷氨酸存在如下关系:



所以,4-羟基谷氨酸的升高可能引起谷氨酸的升高。



本课题组前期研究表明 PMS 肝气逆证与谷氨酸 (Glu) 水平有密切关系。研究发现 PMS 肝气逆证大鼠模型下丘脑、边缘叶中 Glu 显著下降;皮质、海马中 Glu 显著升高。Glu 是大脑中的主要兴奋性神经递质,参与脑内蛋白质和糖代谢,促进氧化过程,改善中枢神经系统的功能。在大脑发育和整个生命过程中,谷氨酸系统对神经元的突触强度和功能等多方面起作用。早期大脑发育突触的形成、突触的维持、突触

的可塑性都受谷氨酸系统的影响,神经元的数目和它们连接的数目都由谷氨酸系统和受体的活动所决定。Glu 系统活动异常能影响神经元的可塑性和引起神经毒性。在精神分裂症中,许多 Glu 调节的过程好像都被扰乱了,异常的大脑发育、异常的突触可塑性、神经退化可能都是精神分裂症的发病或促进因素。因此,Glu 是脑内神经元生长发育、成熟修复和神经传递过程中重要的神经递质^[7]。国际报道经前烦躁不安的女性一生中罹患情感障碍疾病的概率较高。谷氨酸能系统可能参与了情感障碍的发病过程。降低谷氨酸能活性或抑制谷氨酸受体相关信号转导的药物具有抗躁狂作用^[8]。兴奋性氨基酸神经递质除了通过相应受体产生兴奋作用外,还是一种潜在的神经毒素。研究发现,脑缺血动物模型脑细胞外液兴奋性氨基酸含量显著增高,可产生强烈的神经毒性。其机制可能是:过量的兴奋性氨基酸强烈作用于神经末梢突触后膜 AMPA 和 NMDA 受体,使大量 Na⁺ 和 Ca²⁺ 内流,引起神经元肿胀,胞内 Ca²⁺ 超载,直至神经细胞坏死。

5,7,4'-三羟基异黄酮可使经前期妇女血浆中的脂蛋白、氨基酸和碳水化合物的代谢发生显著改变,暗示 5,7,4'-三羟基异黄酮在能量代谢方面的作用^[9]。前列腺素 F2α 可以在动情周期和月经周期的黄体晚期间使黄体溶解而影响月经周期。

褪黑激素参与了 5-HT 代谢途径(图 4)。在松果体中,5-HT 首先在 5-羟色胺-N-乙酰转移酶作用下生成 N-乙酰-5-羟色胺,然后进一步受 5-羟色胺吲哚氧位甲基转移酶催化生成 5-甲氧基-N-乙酰吲哚乙胺(褪黑激素)。褪黑激素具有广泛的生理活性,其昼夜节律性和季节性节律与机体免疫、神经内分泌和生殖系统功能调节有密切关系。褪黑激素的合成分泌表现为昼夜性节律、季节性节律和生命周期性变化。Axelrod 等发现不但褪黑激素的合成分泌具有节律性,而且合成褪黑激素的多种酶类及其前体物也具节律性,如 N-乙酰转移酶(NAT)、羟基吲哚-O-甲基转移酶(HIOMT)、5-羟色胺等。其中 NAT 和 HIOMT 的变化与褪黑激素相同,而 5-羟色胺恰好相反^[10]。此外,褪黑激素还有清除自由基、抗氧化、抗炎、抗肿瘤等作用。

而 PMS 肝气逆证本身就是一个涉及周期性、免疫、神经内分泌和生殖系统功能的复杂性综合征。其升高可能与经前烦躁易怒情绪有关。

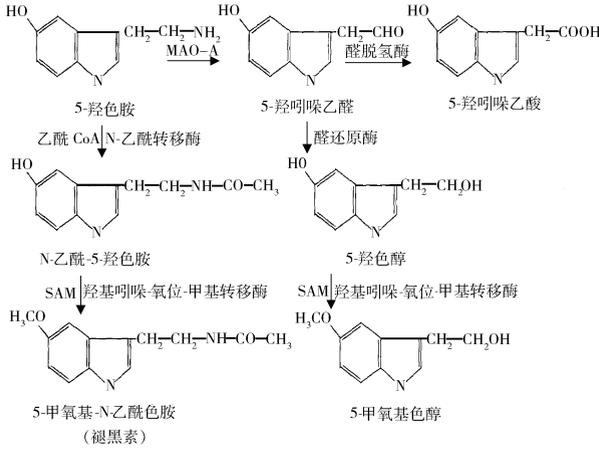


图 4 5-HT 在脑内的降解与褪黑素的生成

表 4 中其他潜在生物标志物与 PMS 肝气逆证的关系有待于进一步研究。

本文利用代谢组学原理与技术,通过 PMS 肝气逆证模型大鼠尿液代谢图谱分析,力图探明与该病证密切相关的代谢模式,得到了 PMS 肝气逆证代谢轮廓图,为肝主疏泄理论提供代谢组学新证据。对于调肝方药干预该病证代谢水平上的靶成分及作用机制还有待于进一步研究。

参考文献

1 Tabassum S, Afridi B, Aman Z, *et al.* Premenstrual syndrome: frequency and severity in young college girls. *J Pak Med Assoc*, 2005, 55

(12):546-549
 2 刘晓伟,张红梅,曲宏达,等.“怒伤气”大鼠行为观察与检测. *江苏中医药*, 2005, 26(3):53-55
 3 Nicholson JK, Timbrell JA, Sadler PJ. Proton NMR spectra of uric acid as indicators of renal damage: memory nephrotoxicity in rats. *Mol Pharmacol*, 1985, 27:644
 4 German JB, Bauman DE, Burrin DG, *et al.* Metabolomics in the opening decade of the 21st century: building the roads to individualized health. *J Nutr*, 2004, 134(10):2729
 5 徐文,林东海,刘孝昌. 代谢组学研究现状与展望. *药学学报*, 2005, 40(9):769-774
 6 陈慧梅,刘志红. 代谢组学及其研究方法和应用. *肾脏病学与透析肾移植杂志*, 2005, 14(1):54-59
 7 Konradi C, Heckers S. Molecular aspects of glutamate dysregulation: implications for schizophrenia and its treatment. *Pharmacol Ther*, 2003, 97(2):153-179
 8 周璇,王雪琦. 谷氨酸能和 γ 氨基丁酸系统与情感障碍. *中国神经科学杂志*, 2003, 19(2):130-133
 9 Solanky KS, Bailey NJC, Beckwith Hall BM, *et al.* Application of biofluid H-1 nuclear magnetic resonance-based metabolomic techniques for the analysis of the biochemical effects of dietary isoflavones on human plasma profile. *Anal Biochem*, 2003, 323(2):197-204
 10 Abe Mitsushi, Masanori T. Detection of melatonin, its precursors and related enzyme activities in rabbit tears. *Experimental Eye Research*, 1999, 68(2):255-262

(收稿:2009-10-20)

(修回:2009-12-03)

大电导钙敏感钾通道在人足月妊娠子宫平滑肌组织中的表达

戴凌 沙金燕

摘要 目的 了解大电导钙敏感钾通道(large-conductance calcium-sensitive potassium channel, BK_{Ca})蛋白在人足月妊娠未临产及临产子宫下段平滑肌组织中的表达情况,探讨 BK_{Ca}在分娩启动中的作用。方法 采用 Western blot 分别测定人足月妊娠未临产及临产子宫下段平滑肌组织中 BK_{Ca}蛋白 α 亚单位的表达。结果 人足月妊娠未临产子宫下段平滑肌组织中 BK_{Ca}蛋白 α 亚单位的相对表达量为 1.18 ± 0.20 (n=9),足月妊娠临产子宫下段平滑肌组织中 BK_{Ca}蛋白 α 亚单位的相对表达量为 0.60 ± 0.08 (n=11),二者统计学差异显著 (P=0.009)。结论 人足月妊娠未临产子宫下段平滑肌组织 BK_{Ca}蛋白的表达高于临产子宫下段平滑肌组织,提示 BK_{Ca}在宫缩发动中具有一定作用。

关键词 大电导钙敏感钾通道 妊娠 子宫平滑肌 分娩 Western 印迹杂交

Expression of Large-Conductance Calcium-sensitive Potassium Channels in Human Term Myometrium. Dai Ling, Sha Jinyan. *Kunshan Hospital of Traditional Chinese Medicine, Jiangsu 215300, China*

基金项目:国家自然科学基金(30571961)

作者单位:215300 江苏省昆山市中医医院(戴凌);200433 上海,第二军医大学附属长海医院(沙金燕)