

- 188 – 196
- 5 Arczewska KD, Baumeier C, Kassahun H, *et al.* Caenorhabditis elegans NDX – 4 is a MutT – type enzyme that contributes to genomic stability[J]. DNA Repair (Amst),2011,10(2): 176 – 187
- 6 Takagi Y, Setoyama D, Ito R, *et al.* Human MTH3 (NUDT18) protein hydrolyzes oxidized forms of guanosine and deoxyguanosine diphosphates: comparison with MTH1 and MTH2[J]. J Biol Chem, 2012,287(25): 21541 – 21549
- 7 宋晓宁, 郑君德, 刘东戈, 等. MTH2 蛋白与 8 – 氧鸟嘌呤脱氧核苷在阿尔茨海默病患者海马组织中的表达变化[J]. 中日友好医院学报,2009,5: 287 – 290
- 8 Ishibashi T, Hayakawa H, Ito R, *et al.* Mammalian enzymes for preventing transcriptional errors caused by oxidative damage[J]. Nucleic Acids Res,2005,33(12): 3779 – 3784
- 9 Kakuma T, Nishida J, Tsuzuki T, *et al.* Mouse MTH1 protein with 8 – oxo – 7,8 – dihydro – 2' – deoxyguanosine 5' – triphosphatase activity that prevents transversion mutation. cDNA cloning and tissue distribution[J]. J Biol Chem,1995,270(43): 25942 – 25948
- 10 Cai JP, Kawate H, Ihara K, *et al.* Significance of the conserved amino acid sequence for human MTH1 protein with antimutator activity [J]. Nucleic Acids Res,1997,25(6): 1170 – 1176
- 11 Cai JP, Ishibashi T, Takagi Y, *et al.* Mouse MTH2 protein which prevents mutations caused by 8 – oxoguanine nucleotides[J]. Biochem Biophys Res Commun,2003,305(4): 1073 – 1077
- 12 蒙茗, 黑爱莲, 姜平, 等. MTH2 和 MTH3 蛋白在快速老化模型鼠 SAMP8 胸腺中增龄性表达的比较研究[J]. 医学研究杂志, 2013,42(5): 34 – 37
- 13 Ishibashi T, Hayakawa H, Sekiguchi M. A novel mechanism for preventing mutations caused by oxidation of guanine nucleotides [J]. EMBO Rep,2003,4(5): 479 – 483
- 14 Zhang LQ, Dai DP, Gan W, *et al.* Lowered nudix type 5 (NUDT5) expression leads to cell cycle retardation in HeLa cells[J]. Mol Cell Biochem,2012,363(1 – 2): 377 – 384
- 15 郑君德, 宋晓宁, 林静, 等. 氧化应激与老年性痴呆发病的相关性研究[J]. 中国神经免疫学和神经病学杂志,2008,4: 301 – 304
- 16 戴大鹏, 干伟, 张立群, 等. MTH1 基因的低表达对 HeLa 细胞内 RNA 氧化程度的影响[J]. 医学研究杂志,2011,40(6): 35 – 38
- (收稿日期:2013 – 11 – 19)
- (修回日期:2013 – 12 – 02)

人 FAM172A 基因慢病毒载体的构建及其在巨噬细胞中的表达

李梅芳 张 蓉 李连喜 俞立波 屠印芳 陆俊茜 包玉倩 贾伟平

摘 要 目的 构建人 FAM172A 基因慢病毒载体,并包装慢病毒 FAM172A 感染人巨噬细胞予以鉴定。方法 以 PDC315 – FAM172A 为模板扩增 FAM172A 基因全长序列后,与慢病毒载体 pLenti6.3/V5 – GFP 经酶切、连接转化大肠杆菌,挑取阳性克隆,行菌液 PCR、酶切及测序鉴定。将鉴定正确的 FAM172A 基因慢病毒载体和病毒包装质粒共转染 FT293 细胞包装慢病毒 FAM172A,测定病毒效价。Western blot 和 QPCR 验证慢病毒 FAM172A 感染巨噬细胞效果。结果 菌液 PCR、酶切及测序结果显示 FAM172A 基因成功插入到慢病毒载体中。病毒包装后荧光显微镜观察到 FT293 细胞中有大量绿色荧光,病毒效价为 1.2×10^8 TU/ml。Western blot 和 QPCR 结果显示,慢病毒 FAM172A 侵染靶细胞后可明显增加目的基因 FAM172A 的表达。结论 成功构建慢病毒 FAM172A,为后续 FAM172A 基因功能研究奠定了基础。

关键词 FAM172A 基因 慢病毒载体 巨噬细胞

[中图分类号] R3 [文献标识码] A

Construction of the Lentivirus Vector of Human FAM172A Gene and Its Expression in Human Macrophages. Li Meifang, Zhang Rong, Li Lianxi, *et al.* Department of Endocrinology and Metabolism, Shanghai Jiaotong University Affiliated the Sixth People's Hospital, Shanghai Clinical Center for Diabetes, Shanghai Diabetes Institute, Shanghai Key Laboratory of Diabetes Mellitus, Shanghai 200233, China

Abstract Objective To construct the lentivirus vector of human FAM172A gene, package corresponding virus and identify its expression in human macrophages. **Methods** After PDC315 – FAM172A being taken as a template to amplify overall length of FAM172A

基金项目:国家自然科学基金面上项目(81170759)

作者单位:200233 上海交通大学附属第六人民医院内分泌代谢科、上海市糖尿病临床医学中心、上海市糖尿病研究所、上海市糖尿病重点实验室

通讯作者:李连喜,电子信箱:lilx@sjtu.edu.cn

gene, the products for amplification and lentiviral vector pLenti6.3/V5 - GFP were digested, linked together and transformed into *E. coli* cells. The candidate clones were picked and identified by bacterial PCR, enzyme digestion and sequence. The correctly confirmed lentivirus vector of FAM172A gene and packing mix were co-transfected into FT293 cells to package lentivirus FAM172A and the corresponding infection titer was measured. Western blot and QPCR verified the effects of transferring lentivirus FAM172A into macrophages. **Results** The FAM172A gene was successfully inserted into the lentivirus vector confirmed by bacterial PCR, enzyme digestion and sequence identification. A lot of green fluorescence proteins in FT293 cells were found under fluorescent microscope. Viral titer was 1.2×10^8 TU/ml. Western blot and QPCR confirmed that the expression of target gene FAM172A obviously increased after lentivirus FAM172A infecting macrophages. **Conclusion** The lentivirus virus for FAM172A was successfully constructed, which established the foundation for further function research of FAM172A gene.

Key words FAM172A gene; lentivirus vector; Macrophages

FAM172A 基因又名 C5orf21 基因, 是一个结构和功能尚未明确的新基因。本研究率先从主动脉组织中克隆出了该基因, 并初步研究了高糖、高脂对其表达的影响, 结果显示 FAM172A 基因与糖尿病大血管病变的发生密切相关^[1~3]。笔者前期已经成功构建能在真核细胞内表达 FAM172A 蛋白的表达载体 PDC315 - FAM172A, 但该质粒对巨噬细胞的转染效率很低, 而巨噬细胞在糖尿病血管病变中发挥着关键作用^[2,4,5]。因此, 本研究为了在巨噬细胞中有效表达 FAM172A 蛋白进而研究其生物学功能, 拟采用转染效率高的慢病毒载体进行重组载体构建, 并转染巨噬细胞进行表达和鉴定, 将为深入研究 FAM172A 与巨噬细胞的相互作用奠定实验基础。

材料与方法

1. 材料: PDC315 - FAM172A 质粒本课题组前期研究(上海市第六人民医院糖尿病研究所, -80℃保存), 引物和测序(上海生工生物工程公司), 限制性内切酶 *Nhe* I 和 *Asc* I 及 T4 连接酶(Thermo 公司), 反转录、PCR 试剂盒和 DNA marker(宝生物工程大连有限公司), 质粒中量抽提试剂盒、DNA 凝胶回收试剂盒(Axygen 公司), FT293、HEK293 和 THP-1 细胞(中科院上海细胞生物研究所, 其中 FT293 细胞用来包病毒, HEK293 细胞用来测病毒效价, THP-1 细胞经佛波酯诱导成巨噬细胞作为靶细胞), 慢病毒载体 pLenti6.3/V5 - GFP、病毒包装质粒 ViraPower™ Lentiviral Packaging Mix, lipofectamine 2000, Trizol、DEPC H₂O 及荧光染料 SYBR Green I (Invitrogen 公司), RPMI1640、DMEM 高糖培养液、胰蛋白酶及胎牛血清(Gibco 公司), 佛波酯(Sigma 公司), polybrene (Millipore 公司), FAM172A 抗体(Abcam 公司)。

2. 扩增 FAM172A 基因全长序列: 通过对人 FAM172A mRNA 序列(Genbank)和慢病毒载体 pLenti6.3/V5 - GFP 图谱进行分析, 选择 *Nhe* I 和 *Asc* I 作为双酶切位点, 以 PDC315 - FAM172A 质粒为模板, 含有 *Nhe* I 和 *Asc* I 酶切位点的引物(上游引物: 5' - TATTGCTAGCGCCGCCACCATGCT-TATTCCTTGAG - 3', 下游引物: 5' - TTTATGGCGCGCCTTA-CAGCTCTTCGTGCTTG - 3') 扩增 FAM172A 基因全长序列,

PCR 反应条件为: 94℃ 2min; 94℃ 30s, 55℃ 45s, 68℃ 3min, 30 个循环; 68℃ 10min。

3. 人 pLenti6.3/V5 - GFP - Fam172A 慢病毒载体的构建及鉴定: 取上述 PCR 产物行 1.2% 琼脂糖凝胶电泳, 割胶纯化目的条带(参照试剂盒说明书)。然后分别将纯化产物与慢病毒载体 pLenti6.3/V5 - GFP 行 *Nhe* I 和 *Asc* I 双酶切, 再次割胶纯化后, 取酶切后的目的基因(50ng/μl) 1.8μl、线性化载体(50ng/μl) 1μl、T4 连接酶 1μl、10×buffer 1μl 和 ddH₂O 5.2μl 共 10μl, 16℃ 过夜连接后转化大肠杆菌, 涂板经氨苄青霉素筛选, 挑取单克隆摇菌, 用菌液 PCR 进行初步鉴定(PCR 引物: 上游: 5' - CTGTGATTTCTGATACCTG - 3'; 下游: 5' - AATAAGTCTTCTAGCCCACTGC - 3'), 将阳性克隆进一步行酶切、测序鉴定并用 Axygen 质粒抽提试剂盒抽提质粒备用。

4. 慢病毒 FAM172A 包装: 将生长状态好的 FT293 细胞用 0.25% 胰蛋白酶消化后, 分细胞于 10ml 培养皿中, 次日细胞密度达到 60% ~ 70% 左右进行转染。用 36μl Lipofectamine 2000 将 3μg 的 pLenti6.3/V5 - GFP - Fam172A 慢病毒载体和 9μg 病毒包装质粒共转染 FT293 细胞, 5h 更换培养液, 48h 后收集细胞培养上清, 3000r/min 离心 10min, 去除细胞和碎片, 并用 0.45μm 的滤器过滤收集病毒原液后, 将其在 50000g 下超速离心 2h, 去除上清, 重悬于 1ml DMEM 培养液中, 分装小管, 放置于 -80℃ 保存备用。

5. 慢病毒 FAM172A 的效价测定: 将 HEK293 细胞培养至对数生长期, 胰酶消化计数后, 按照每孔 8000 个细胞接种于 96 孔板, 37℃ 培养过夜。第 2 天, 拿出 1 只病毒原液冰水浴融化后, 用病毒稀释培养基(RPMI1640 + 10% FBS + 8μg/ml polybrene) 稀释浓度 10^{-8} ~ 10^{-3} , 每个稀释浓度做 3 个复孔。第 5、6 天, 在倒置荧光显微镜下观察各孔中 GFP 表达量, 计算病毒效价: 病毒效价(TU/ml) = 平均值 Mean(表达 GFP 的细胞数/该孔稀释的病毒液相当于原病毒的体积)。

6. 巨噬细胞慢病毒 FAM172A 感染复数(MOI)测定: 在生长状态好的 THP-1 细胞中加入佛波酯按 1×10^4 /孔的密度接种于 96 孔板中。次日细胞贴壁伸出伪足诱导成巨噬细胞, 用病毒稀释培养基按不同 MOI 值(0、2、5、10、30、60、120 和 240) 稀释慢病毒 FAM172A 并分别侵染巨噬细胞 48h, 荧光显微镜观察并拍摄细胞生长情况和荧光情况确定最佳 MOI, 每

个 MOI 值设立 3 个复孔。

7. Western blot 和 QPCR 验证慢病毒 FAM172A 感染巨噬细胞效果:对生长状态良好的 THP-1 单核细胞按 2×10^6 /孔的密度接种并诱导成巨噬细胞于 6 孔板,共接种 12 孔。按照最佳 MOI 值稀释慢病毒 FAM172A 和相应的慢病毒空质粒分别感染巨噬细胞 48h 后,分别收集细胞总蛋白和抽提 RNA,进行 Western blot 和 QPCR 验证(QPCR 引物:上游:5'-GAAA-CAAAGAAGCGACGTGAT-3';下游:5'-TCGGCTTCTCGTT-GAAT-3')。

结 果

1. 人 pLenti6.3/V5-GFP-Fam172A 慢病毒载体的构建及鉴定:以 PDC315-FAM172A 质粒为模板扩增 FAM172A 基因全长序列,电泳证实约在 1251bp 处有一特异性条带,片段大小符合 FAM172A 基因全长编码框大小(图 1)。将构建好的人 pLenti6.3/V5-GFP-Fam172A 慢病毒载体克隆(挑取 3 个)用菌液 PCR 鉴定,发现 3 个克隆均含有 FAM172A 基因插入片段(图 2)。将 pLenti6.3/V5-GFP-Fam172A 1 号阳性克隆抽提质粒后,用 Nhe I 和 Asc I 行双酶切,得到两条片段,大小分别约为 8800bp 和 1251bp(图 3)。将 1 号质粒双向测序,经 GenBank 比对与 FAM172A mRNA(transcript variant 1, NM 032042.5)序列一致。因此电泳和测序结果均证实人 pLenti6.3/V5-GFP-Fam172A 慢病毒载体构建成功。

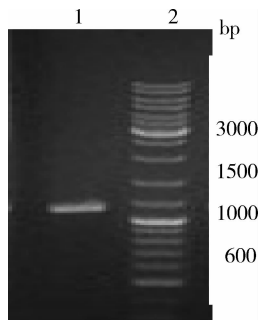


图 1 FAM172A 基因扩增产物
1. FAM172A 基因;2. DL10000 Marker

2. 慢病毒 FAM172A 包装及效价测定:包装病毒 24h 后,在荧光显微镜下可见 80% 以上的 FT293 细胞均有 GFP 表达,表明慢病毒 FAM172A 包装成功(图 4)。病毒稀释后分别感染 HEK293 细胞,观察并计算 GFP 的表达量,测得病毒效价为 1.2×10^8 TU/ml。

3. 巨噬细胞慢病毒 FAM172A MOI 测定:荧光显微镜观察显示(图 5),当 MOI = 60 时,细胞荧光效率较高,细胞状态较好。

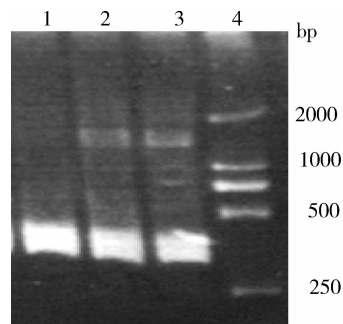


图 2 pLenti6.3/V5-GFP-Fam172A 慢病毒载体克隆 PCR 鉴定
1~3. 单克隆菌落;4. DL2000 Marker

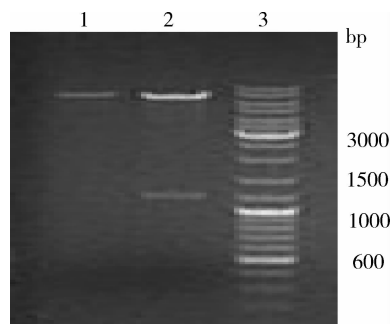


图 3 pLenti6.3/V5-GFP-Fam172A 1 号慢病毒载体双酶切鉴定结果
1. 未经酶切的质粒;2. 双酶切的质粒;3. DL10000 Marker

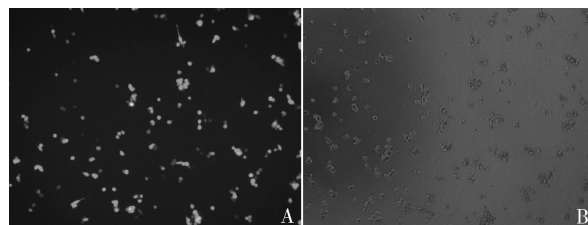


图 4 慢病毒 FAM172A 感染 FT293 细胞后 GFP 的表达情况($\times 100$)
A. 荧光显微镜下细胞;B. 同一视野下可见光细胞

4. 慢病毒 FAM172A 在巨噬细胞中的表达:Western blot 分析结果显示,FAM172A 在感染慢病毒 FAM172A 的巨噬细胞中表达量显著高于感染阴性对照病毒的巨噬细胞,与预期结果一致(图 6A)。QPCR 结果显示,慢病毒 FAM172A 感染靶细胞后,可明显增加目的基因的表达(图 6B)。

讨 论

FAM172A 基因是课题组前期从人主动脉组织中克隆出的新基因^[1,3],且率先在国际上证实了 FAM172A 基因的存在,并发现其在人主动脉组织内

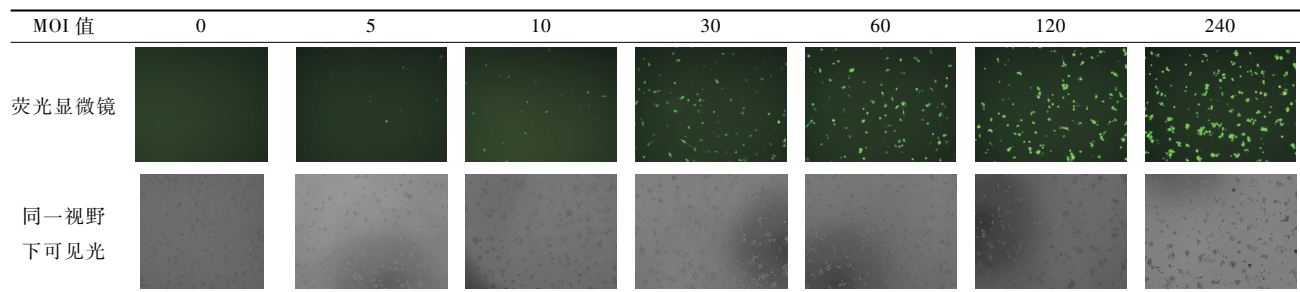


图5 荧光显微镜观察不同 MOI 值感染巨噬细胞后 GFP 的表达情况 (×100)

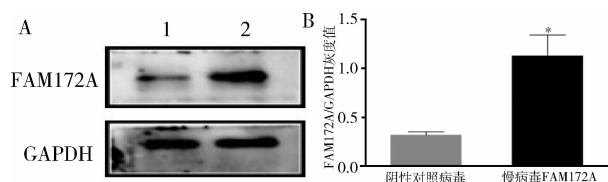


图6 Western blot 和 QPCR 检测转染后巨噬细胞中 FAM172A 基因表达

A. Western blot 检测; 1. 阴性对照病毒; 2. 慢病毒 Fam172A;
B. QPCR 检测: 分别转染阴性对照病毒和慢病毒后 FAM172A 基因相对表达量, * $P = 0.006$

存在 5 种剪切体。RT-PCR 结果显示在人内皮细胞、血管平滑肌细胞及巨噬细胞中, FAM172A 基因表达均较高, 且分别用高糖、油酸及低密度脂蛋白刺激巨噬细胞, 亦可增加 FAM172A 基因的表达, 这些提示 FAM172A 可能与糖尿病大血管病变发病有关^[1]。生物信息学分析发现 FAM172A 蛋白含有 Arb2 结构域。Arb2 结构域与 H3 组蛋白第 9 位赖氨酸 (H3K9) 甲基化有关。研究发现 H3K9 的甲基化与糖尿病时的“代谢记忆效应”有关, 且证实 db/db 小鼠血管平滑肌细胞中 H3K9 甲基化水平较对照 db/+ 小鼠的显著降低, 提示 Arb2 结构域在糖尿病动脉粥样硬化的发病过程中起着重要的作用^[6]。由此笔者推测糖尿病时, FAM172A 基因的表达可增加导致 H3K9 甲基化缺失, 从而引发糖尿病大血管并发症的出现。所以, 笔者试图将 FAM172A 基因导入巨噬细胞, 这是探讨其在糖尿病大血管病变中作用最直接、最有效的方法。

在基因治疗领域, 病毒载体是目前使用最多的载体系统, 主要由反转录病毒 (包括慢病毒载体)、腺病毒、腺相关病毒、单纯疱疹病毒及痘病毒组成。由于大多反转录病毒只能感染分裂期的细胞, 无法容纳长于 8kb 的外源基因片段。腺病毒载体在感染细胞时病毒 DNA 只在细胞核内游离, 无法整合到染色体上, 且其介导的基因表达作用短暂不稳定, 长期反复使用

容易引起免疫反应。所以笔者选用了近年来以 HIV-1 (人类免疫缺陷 I 型病毒) 为基础发展起来的慢病毒载体。与一般的反转录病毒载体相比, 这种载体最大的优点就在于其能高效的将目的基因导入分裂期细胞和非分裂细胞。此外, 其还可以容纳较大片段的目的基因, 在体内可以长期表达且稳定性高, 免疫反应小, 安全性好^[7-9]。对神经元细胞、内皮细胞、心肌细胞等非再生细胞也具有较高的感染效率, 便于研究从而实现基因靶向治疗的效果。本研究采用了 Invitrogen 公司 ViraPower™ 慢病毒包装系统中 Lentiviral Packaging Mix, 由 pLP1、pLP2、pLP/VSVG 3 种元件构成, 其中 pLP1 和 pLP/VSVG 上含有 β 球蛋白内含子, 能显著增强慢病毒的整合和复制, 可以大大提高转染效率。

GFP 作为一种新型的报告基因, 能即时的检测到基因的及蛋白定位, 且表达非常稳定, 对活细胞又没有伤害性^[10,11]。因此本研究使用了含有 GFP 的慢病毒载体 pLenti6. 3/V5-GFP, 这样包装出的慢病毒 FAM172A 转染细胞时, 在不影响 FAM172A 蛋白的生物学特性下, 可通过荧光显微镜观测 GFP 表达情况判断 FAM172A 的表达情况, 便于研究。

本研究以 PDC215-FAM172A 为模板, PCR 扩增出 FAM172A 基因全长序列后, 经酶切、纯化、连接、转化和质粒抽提后, 电泳和基因测序证实人 pLenti6. 3/V5-GFP-FAM172A 慢病毒表达构建成功。pLenti6. 3/V5-GFP-FAM172A 慢病毒载体和病毒包装质粒共转染 FT293 细胞后, 荧光显微镜下出现大量荧光, 提示成功包装出了慢病毒 FAM172A, 并用 Western blot 和 QPCR 证实巨噬细胞中转染慢病毒 FAM172A 后, 其表达量均显著增加, 为进一步研究 FAM172A 在巨噬细胞中的作用以及调控机制奠定了基础。

参考文献

1 李连喜, 陶征, 董雪红, 等. C5orf21 基因的分子克隆及在糖尿病大

- 血管病变中的作用[J]. 中华医学杂志, 2009, 89(36): 2574-2577
- 2 李连喜, 周闻白, 陶征, 等. FAM172A 蛋白对人胚胎肾细胞凋亡及增殖的影响[J]. 中华医学杂志, 2010, 90(34): 2424-2427
- 3 Li L, Dong X, Leong MC, *et al.* Identification of the novel protein FAM172A, and its up-regulation by high glucose in human aortic smooth muscle cells [J]. *Int J Mol Med*, 2010, 26(4): 483-490
- 4 Kanter JE, Kramer F, Barnhart S, *et al.* Diabetes promotes an inflammatory macrophage phenotype and atherosclerosis through acyl-CoA synthetase 1 [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2012, 109(12): E715-724
- 5 Nishizawa T, Bornfeldt KE. Diabetic vascular disease and the potential role of macrophage glucose metabolism [J]. *Ann Med*, 2012, 44(6): 555-563
- 6 Villeneuve LM, Reddy MA, Lanting LL, *et al.* Epigenetic histone H3 lysine 9 methylation in metabolic memory and inflammatory phenotype of vascular smooth muscle cells in diabetes [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2008, 105: 9047-9052
- 7 Dropulic B. Lentiviral vectors: their molecular design, safety, and use in laboratory and preclinical research [J]. *Hum Gene Ther*, 2011, 22(6): 649-657
- 8 Liu C, Wang L, Li W, *et al.* Highly efficient generation of transgenic sheep by lentivirus accompanying the alteration of methylation status [J]. *PLoS One*, 2013, 8(1): e54614
- 9 Froelich S, Tai A, Wang P. Lentiviral vectors for immune cells targeting [J]. *Immunopharmacol Immunotoxicol*, 2010, 32(2): 208-218
- 10 Donner JS, Thompson SA, Kreuzer MP, *et al.* Mapping intracellular temperature using green fluorescent protein [J]. *Nano Lett*, 2012, 12(4): 2107-2111
- 11 Shaner NC, Lambert GG, Chammass A, *et al.* A bright monomeric green fluorescent protein derived from Branchiostoma lanceolatum [J]. *Nat Methous*, 2013, 10(5): 407-409

(收稿日期: 2013-11-14)

(修回日期: 2013-12-03)

猪皮寡肽对大鼠皮肤创面 bFGF 的影响

吕旭潇 孙明江 刘长龙 代 龙

摘 要 **目的** 探讨猪皮寡肽对碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)的影响。**方法** 建立大鼠皮肤创伤模型。随机分为 5 组: 模型组、阳性对照组(京万红组)、猪皮寡肽高剂量组(相当于 2 倍临床浓度剂量)、猪皮寡肽中剂量组(相当于常规人用剂量)、猪皮寡肽低剂量组(相当于 0.5 倍临床浓度剂量)。取用药后第 7、14 天局部创面新生肉芽组织为所需实验样品, 观察猪皮寡肽对皮肤创面碱性成纤维细胞生长因子的影响。**结果** 第 7 天高剂量组中 bFGF 含量高于其他组, 第 14 天组织中各组 bFGF 含量下降, 但猪皮寡肽高、中剂量组明显高于其他各组。**结论** 猪皮寡肽能够提高创面愈合过程中 bFGF 的含量。

关键词 猪皮寡肽 创面愈合 bFGF 免疫组化

[中图分类号] R318 [文献标识码] A

Effect of Zhupiguatai on bFGF in Rat Skin Wound Healing. Lü Xuxiao, Sun Mingjiang, Liu Changlong, *et al.* Shandong University of Traditional Chinese Medicine. Shandong 250355, China

Abstract Objective To investigate the effect of Zhupiguatai on bFGF. **Methods** After the models being set up, the rats were randomly assigned to 5 groups: model group, Jing wan hong group, the high does of Zhupiguatai group, the medium dose of Zhupiguatai group, and the low dose of Zhupiguatai group. The 7, 14 days granulation tissue was taken to be as the desired experiment samples. The effect of Zhupiguatai on the bFGF was observed. **Results** bFGF of first 7 days in the high dose group were higher than that in other groups. Levels of bFGF decreased in each tissue of The first 14 days. But it in Zhupiguatai high dose group was significantly higher than that in other groups. **Conclusion** Zhupiguatai can improve bFGF levels in wound healing process.

Key words Zhupiguatai; Wound healing; bFGF; Immunohistochemistry

猪皮的结构、组成与人体皮肤相似, 以 I 型、III 型

胶原与临床康复为主, 能促进成纤维细胞的生长, 在创面修复中发挥重要作用^[1,2]。猪皮胶原(经胃蛋白酶限制性酶解得到的)由三股肽链呈三股螺旋结构, 主要由甘氨酸、脯氨酸和羟脯氨酸等氨基酸组成, 具有生物活性的肽段包埋在结构内部, 不能充分暴露并表现出活性^[3]。本实验将猪皮胶原采用适当的方法

基金项目: 国家“十一五”科技支撑计划项目(2008BAI53B073); 山东省自然科学基金资助项目(ZR2011HM051)

作者单位: 250355 济南, 山东中医药大学药理学系

通讯作者: 孙明江, 电子信箱: 13869180658 @ 163.com