# 核仁素对microRNAs的调控 及其在心肌保护中的作用

汇报人:

2024-01-15



- ・引言
- ・核仁素与microRNAs概述
- ・实验材料与方法
- 实验结果与数据分析
- 核仁素在心肌保护中作用机制探讨
- ・结论与展望







#### 心血管疾病危害

心血管疾病是全球范围内的重大健康问题,心肌损伤和心肌梗死是其主要表现,对人类的生命健康造成严重威胁。

#### microRNAs的作用

microRNAs是一类内源性非编码小RNA,通过调控基因表达参与多种生物过程,包括 心肌细胞的生长、分化和凋亡等。





#### 核仁素与microRNAs的关联

核仁素是一种多功能蛋白,参与RNA的加工和修饰。近年来发现,核仁素能够调控 microRNAs的表达和功能,进而影响心肌细胞的命运和心血管疾病的发生发展。



# 国内外研究现状及发展趋势





#### microRNAs在心血管疾病中的研究

已有大量研究表明, microRNAs在心血管疾病的发生发展中发挥重要作用, 其表达谱的改变与心肌损伤、心肌梗死等病理过程密切相关。



#### 核仁素对microRNAs的调控机制

核仁素通过影响microRNAs的加工、成熟和稳定性等方面,调控其表达和功能。具体机制包括与Drosha、Dicer等酶的相互作用,以及对pri-miRNA和pre-miRNA的识别和结合等。



#### 核仁素在心肌保护中的潜在应用

基于核仁素对microRNAs的调控作用,以及microRNAs 在心血管疾病中的重要地位,核仁素有望成为心肌保护的 新靶点。通过调节核仁素的表达或活性,可以影响 microRNAs的表达谱和功能,进而保护心肌细胞免受损伤。



### 研究目的和内容

#### 研究目的

本研究旨在深入探讨核仁素对microRNAs的调控机制及其在心肌保护中的作用,为心血管疾病的预防和治疗提供新的思路和策略。

#### 研究内容

首先,通过生物信息学分析和实验验证,筛选与心血管疾病相关的关键microRNAs;其次,研究核仁素对这些关键microRNAs的调控作用及其机制;最后,在细胞和动物模型中验证核仁素通过调控microRNAs对心肌细胞的保护作用,并探讨其潜在的临床应用价值。





# 核仁素结构与功能



#### 核仁素结构

核仁素是一种多功能蛋白质,具有特定的结构域,包括RNA结合域、核定位信号等,这些结构域使其能够与RNA相互作用并在细胞核和细胞质之间穿梭。

#### 核仁素功能

核仁素在细胞内具有多种生物学功能,包括参与基因表达调控、RNA加工和转运、以及维持基因组稳定性等。此外,核仁素还与多种疾病的发生和发展密切相关。



# microRNAs生物合成及作用机制

#### microRNAs生物合成

microRNAs是一类内源性非编码小RNA分子,其生物合成包括转录、加工和成熟等多个步骤。在细胞核内,microRNA基因被转录为初级转录物(pri-miRNA),随后被加工成为前体microRNA(pre-miRNA),并最终被剪切成成熟的microRNA。

#### microRNAs作用机制

成熟的microRNAs通过与目标mRNA的3'非翻译区(3'UTR)结合,抑制其翻译或促进mRNA降解,从而实现对基因表达的负调控。这种调控机制在细胞增殖、分化、凋亡等过程中发挥重要作用。



# 核仁素与microRNAs相互作用关系



#### 核仁素对microRNAs的调控

核仁素能够通过与microRNAs前体或成熟体相互作用,影响其稳定性、加工和转运等过程,从而调控microRNAs的表达水平。这种调控作用可以影响细胞的生物学行为和相关疾病的发生和发展。



#### microRNAs对核仁素的反馈调节

microRNAs也可以通过与核仁素的mRNA结合,抑制其翻译或促进mRNA降解,从而实现对核仁素表达的负反馈调节。这种调节机制有助于维持细胞内环境的稳定和适应不同的生理或病理状态。





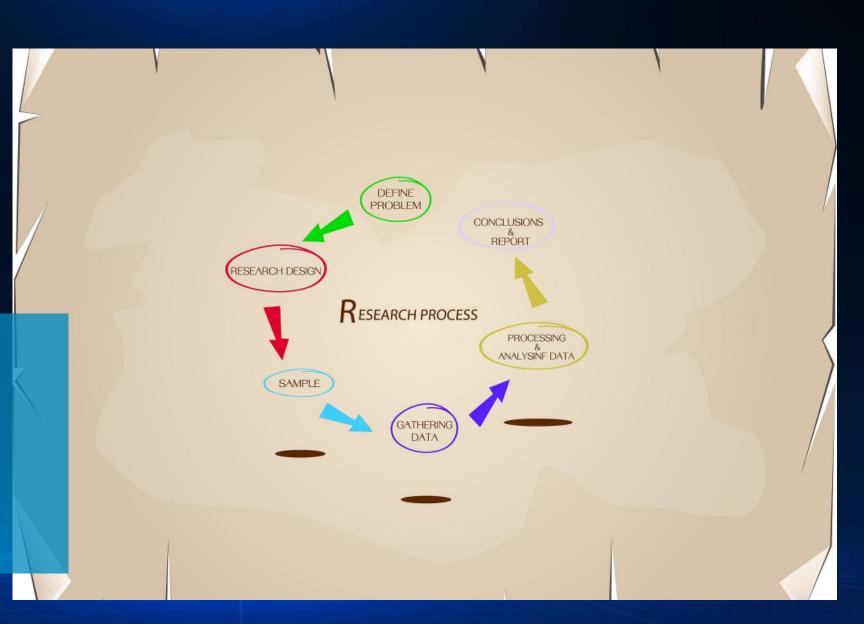
# 实验动物模型建立及分组处理

#### 动物模型

选用健康成年雄性SD大鼠,体重 200-250g,适应性饲养一周后用于 实验。

#### 分组处理

将大鼠随机分为对照组、缺血再灌注组(I/R组)、核仁素处理组(I/R+核仁素组),每组至少6只。



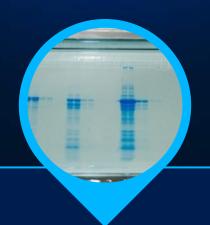


# 心肌细胞分离培养及转染操作



#### 心肌细胞分离

取新生1-3天SD大鼠乳鼠,无菌条件下取出心脏,剪碎后用胰蛋白酶消化,收集细胞悬液,差速贴壁法去除成纤维细胞,得到纯净的心肌细胞。



#### 细胞培养

将心肌细胞接种于含10%胎牛血 清的DMEM培养基中,置于 37℃、5% CO2培养箱中培养, 隔天换液。

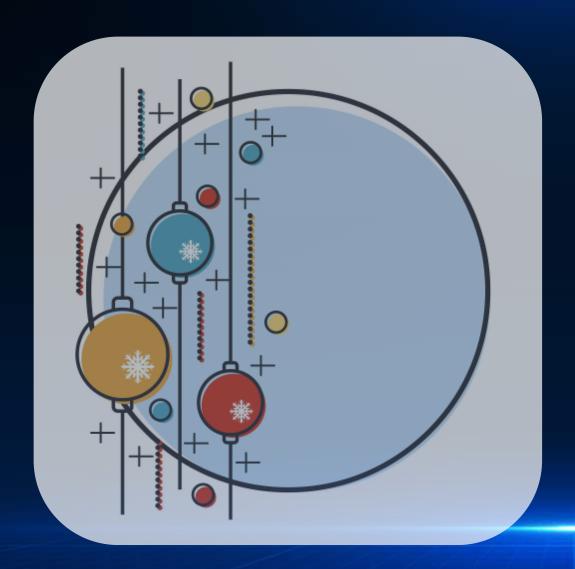


转染操作

采用脂质体转染法,将核仁素表达质粒或microRNA模拟物/抑制剂转染至心肌细胞中,具体操作按照转染试剂说明书进行。



# microRNA芯片检测及数据分析



#### 芯片检测

提取各组心肌细胞总RNA,利用microRNA芯片技术检测microRNA表达谱变化,芯片检测服务由专业生物公司完成。

#### 数据分析

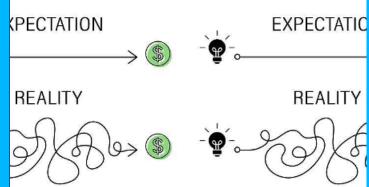
对芯片检测结果进行标准化处理,筛选差异表达的 microRNAs, 利用生物信息学方法对差异microRNAs进行靶 基因预测和功能注释。



# 实时荧光定量PCR验证芯片结果

#### 引物设计

针对差异表达的microRNAs设计特异性引物,同时设计内参基因引物。



#### 结果分析

比较各组microRNAs的相对表达量, 验证芯片检测结果的准确性。



#### 实时荧光定量PCR

提取各组心肌细胞总RNA,反转录得到cDNA,以cDNA为模板进行实时荧光定量PCR扩增,记录Ct值并计算相对表达量。



以上内容仅为本文档的试下载部分,为可阅读页数的一半内容。如要下载或阅读全文,请访问: <a href="https://d.book118.com/928112065000006076">https://d.book118.com/928112065000006076</a>