| | |
|---|---|
| 发放日期 | |
| 归档日期 | |
| 指导教师（签字） | 李炽 |
| 第 1 本 | 共 1 本 |

# 苏州大学研究生科研记录本

## （自然科学类专业用）

论文题目：LDB1调节心肌损伤的作用及机制研究

Study on the Role and Mechanism of LDB1 in Regulating Myocardial Injury

培养单位：苏州大学

专　　业：心外科

姓　　名：王宇翔

学　　号：20235234086

指导教师：李炽

使用起止时间：2024-12-7～2025-11-8

记录起止页码：4-137

科研名称：LDB1调节心肌损伤的分子机制研究 日期：2024年12月07日

(一) 研究名称：LDB1-Floxed小鼠基因鉴定

(二) 研究方案设计：小鼠取样后通过PCR鉴定出基因型。

(三) 研究时间：2024-12-07 ~ 2024-12-08

(四) 研究地点：儿科临床研究所实验室及动物房。

(五) 研究材料：

1. 试剂及材料：

| 试剂及材料 | 生产商 |
| --- | --- |
| 八联管 | Bio-RAD |
| 2x Lysis Buffer (102-T) | Viagen Biotech |
| Proteinase K (1124) | Biofroxx |
| 2x Taq Plus Master Mix II | 诺唯赞 |
| DNA marker | 诺唯赞 |
| 50x TAE | 碧云天 |
| 琼脂糖 | 碧云天 |
| 10000x GelRed染料 | Nobleblo Technology Co. Ltd |

2. 仪器设备

| 仪器 | 生产商 |
| --- | --- |
| 电泳槽 | 北京六一 |
| DNA凝胶成像仪 | UNITEC |
| 高速低温离心机 | Eppendorf |
| 电热恒温水浴箱 | 一恒科技有限公司 |

3. 实验动物

| 小鼠品系 | 生产商 |
| --- | --- |
| LDB1-flox | GemPharmatech Co., Ltd. |
| $A1cf^{Tg(MYH6-Cre/Esr1*)Jmk}$ | Jackson |

(六).研究方法

材料：4.引物：

| LDB1-Flox引物 | 序列(5'-3') |
|---|---|
| F | GAAGAGGGTGCCATTTCCCT |
| R | GAGTCTCTGGCCTGCTTACC |

| MRH6-Cre引物 | 序列(5'-3') |
|---|---|
| P1 | CCAACTCTTGTGAGAAGAGCA |
| P2 | TCTATTGCACACAGCAATCCA |
| P3 | CCAGCATTGTGAGAACAAGG |
| P4 | AGTGGCCTCTTCCAGAAATG |
| P5 | TGCGACTGTGTCTGATTTCC |

(2).研究方法

(1).小鼠出生后2周左右进行剪脚趾编号，同时收集剪下来的组织置于EP管中，用于基因鉴定：剪脚趾编号方法：上肢为两位数，从右手左依次为1、2、3、4、5、6、7、8，代表十位数，下肢从右至左依次为0、1、2、3、4、5、6、7、8、9，代表个位数；三位数编号法则按照如下所述：右上肢代表的十位数，左上肢代表十位数，下肢代表个位数，编号方法同上。

(2).将收集的脚趾按照4℃，12000 rpm，2min条件下离心备用。

(3)配置100X proteinase K溶液：将整瓶proteinase K粉末(Biofroxx 1124)溶解于ddH2O，定容至4mL，按照每管200μL数格分装至EP管中，-80℃保存。

(4).两管裂解体系：每只小鼠取材组织所对应的裂解体系如下所示：

| | |
|---|---|
| 2X Lysis Buffer | 75μL |
| ddH2O | 75μL |
| 100x proteinase K | 1.5μL |
| Total | 150μL |

GelRed DNA染料（即200mL 1.4%琼脂糖凝胶加入20μL GelRed），充分混匀后倒入制胶模具中，插入电泳齿梳，等待完全凝固。待胶凝固后，拔去齿梳置于电泳槽内，1X TAE浸没凝胶。

(12). 将上述完成PCR扩增反应的样品及DNA marker依次加入至琼脂糖凝胶加样孔道内，随后开始电泳，可按照120V 40min恒压模式。

(13). 将完成电泳的琼脂糖凝胶放入显影仪显像，判断小鼠基因型。

(七). 研究过程

1、酶谱裂解体系：（70~82#）

酶谱体系（13+1=14份）：2X Lysis Buffer：75X14=1050μL

ddH2O：75X14=1050μL；100X proteinase K：1.5X14=21μL

2. 酶谱反应体系：（70~82#）

酶谱反应体系（13+1=14份）：

①. LDB1-Flox：2X Taq Plus Master Mix II：10X14=140μL；

ddH2O：6X14=84μL；F：14μL；R：14μL.

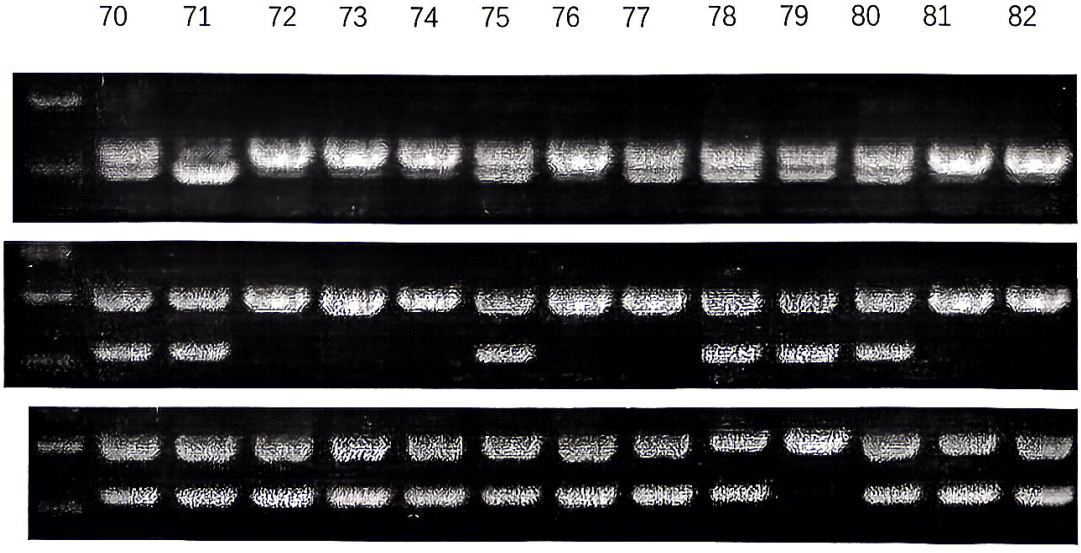
②. Mutant：2X Taq Plus Master Mix II：10X14=140μL；

ddH2O：6X14=84μL；P2：7μL；P3：7μL；P4：7μL；P5：7μL

③. WT：2X Taq Plus Master Mix II：10X14=140μL；

ddH2O：6X14=84μL；P1：7μL；P2：7μL；P4：7μL；P5：7μL.

(11). 研究结果：



科研名称：LDB1调节心肌投射的下游靶标研究　日期：2024年12月7日

(七).结果分析：

各小鼠对应基因型如下所示：

①. $LDB1^{fl/WT}$ - MYH6-$Cre^{+/-}$：70，75，78，80；

②. $LDB1^{WT/WT}$ - MYH6-$Cre^{+/-}$：71；

③. $LDB1^{fl/fl}$ - MYH6-$Cre^{+/-}$：72，73，74，76，81，82；

④. $LDB1^{fl/WT}$ - MYH6-$Cre^{-/-}$：77

⑤. $LDB1^{fl/WT}$ - MYH6-$Cre^{+/+}$：79。

其中，79号小鼠可用作进一步繁育，70、75、78、80可用作双杂合小鼠的杂体性状等高级实验。$LDB1^{fl/fl}$ 和到的小鼠适当保留。其余小鼠安乐死。

科研名称：CPB调节心肌损伤的个体化机制研究 日期：2024年12月12日

(七).研究过程：每组设置4只大鼠，按照1次实验每组各1只大鼠分批次进行.

①. 2024-12-12 ~ 2024-12-13：

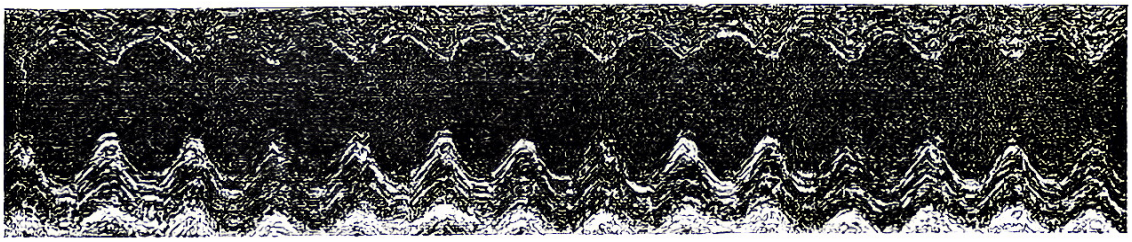
| | Sham组 | CPB组 |
|---|---|---|
| 体重(g) | 516 | 590 |
| 2%戊巴比妥(mL) | 1.25 | 1.5 |
| 呼吸频率(次/分) | 65 | 65 |
| 潮气量(mL) | 4.5 | 4.5 |
| I/E | 1:2.5 | 1:2.5 |
| ACT(S) | — | 492 |
| 滴注流量(mL/min) | — | 60 |
| CPB时间(min) | — | 90 |

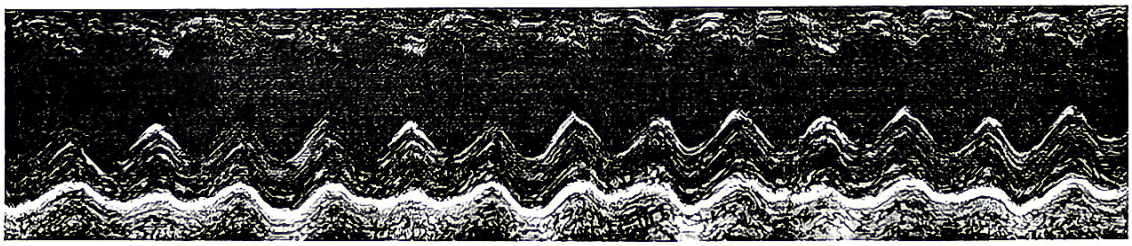
(八).研究结果：

①. 2024-12-12 ~2024-12-13：

| | Sham | CPB |
|---|---|---|
| HR(bpm) | 338 | 261 |
| MAP(mmHg) | 131 | 79 |
| Temperature(℃) | 37.9 | 39 |
| pH | 7.42 | 7.32 |
| $PaO_2$(mmHg) | 175 | 155 |
| $PaCO_2$(mmHg) | 32 | 41 |
| Hb(g/L) | 147 | 78 |
| LVEF(%) | 69.38 | 57.79 |
| LVFS(%) | 37.14 | 29.54 |

| | Sham | CPB |
|---|---|---|
| pH | 7.34 | 7.28 |
| $PaO_2$(mmHg) | 197 | 183 |
| $PaCO_2$(mmHg) | 46 | 36 |
| Hb(g/L) | 150 | 83 |
| LVEF(%) | 67.40 | 60.12 |
| LVFS(%) | 35.92 | 31.30 |





③. 2024-12-17~2024-12-18 (七). 研究进程：

| | Sham | CPB |
|---|---|---|
| 体重(g) | 583 | 576 |
| 2%戊巴比妥(mL) | 1.4 | 1.4 |
| 呼吸频率(次/分) | 65 | 65 |
| 潮气量(mL) | 4.5 | 4.5 |
| I/E | 1:2.5 | 1:2.5 |
| ACT(s) | — | 497s |
| 灌注流量(mL/min) | — | 60 |
| CPB时间(min) | — | 90 |