



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 107513552 B

(45) 授权公告日 2021.02.02

(21) 申请号 201710988303.2

(22) 申请日 2017.10.21

(65) 同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 107513552 A

(43) 申请公布日 2017.12.26

(73) 专利权人 云南中烟工业有限责任公司
地址 650231 云南省昆明市红锦路367号

(72) 发明人 高茜 管莹 曾婉俐 向海英
天建华 杨叶昆 张承明 杨光宇
李雪梅

(74) 专利代理机构 昆明正原专利商标代理有限公司 53100

代理人 金耀生 于洪

(51) Int. Cl.
C12Q 1/02 (2006.01)

(56) 对比文件

US 2005042692 A1, 2005.02.24

WO 2012011110 A2, 2012.01.26

CN 204731070 U, 2015.10.28

CN 103020488 A, 2013.04.03

CN 106367468 A, 2017.02.01

梁重阳等. FITC标记重组灵芝免疫调节蛋白(rLz-8)在NB4细胞中的动态定位.《高等学校化学学报》.2009,第30卷(第3期),489-492.

Xiang Lin等. Polysaccharides of Dendrobium officinale Induce Aquaporin 5 Translocation by Activating M3 Muscarinic Receptors.《Planta Medica》.2015,第81卷(第2期),130-137.

戴维德等. 激光共聚焦显微成像技术对亚细胞位点光动力损伤的动态观察.《中华物理医学与康复杂志》.2015,第27卷(第10期),602.

审查员 刘超

权利要求书2页 说明书6页

(54) 发明名称

一种卷烟烟气对水通道蛋白5细胞表达量影响的检测方法

(57) 摘要

本发明涉及一种卷烟烟气对水通道蛋白5细胞表达量影响的检测方法,属于生物应用技术领域。本发明采用生物化学及细胞学方法,利用BMP6处理细胞,模拟了干燥综合症发生时的细胞微环境从而研究卷烟烟气对AQP-5表达量的影响,相较于动物实验而言更为简单、高效;在卷烟烟气的捕集上采用了口腔仿生模拟装置,更贴合实际的人抽吸状态;同时采用了高内涵系统,可高通量检测多个样品对细胞AQP-5表达量的影响,可快速准确可视的进行多样品检测,为卷烟烟气的功效性评价提供了一个新的快速手段。

1. 一种卷烟烟气对水通道蛋白5细胞表达量影响的检测方法,其特征在于,包括如下步骤:

步骤(1),采用用于研究主流烟气暴露于口腔中的仿生吸收装置,采用DMEM/F12细胞培养基浸润该装置的模拟人工口腔黏膜内壁;选取10-20支重量和吸阻一致的烟支作为待检测样品,平衡后进行抽吸,抽吸结束后,取出仿生吸收装置的瓶体中的液体,得到仿生抽吸液体;

步骤(2),将涎腺腺样囊性癌细胞经0.25%胰酶消化后,以 2×10^4 - 4×10^4 个/mL细胞浓度接种于含有DMEM/F12细胞培养基的细胞培养板上,在37℃、5%CO₂的条件下培养22-26h后,加入骨形成蛋白6至终浓度为6ng/ml,处理2-3d;

步骤(3),移去步骤(2)中的培养上清,以步骤(1)得到的仿生抽吸液体稀释4-8倍后的液体作为培养基继续在37℃、5%CO₂的条件下对细胞进行培养22-26h;

步骤(4),培养结束后弃上清,加入4%多聚甲醛室温固定细胞9-11min,再用含有0.2% Tritonx-100和1% BSA的PBS溶液使细胞膜通透;

之后加入FITC标记的AQP5抗体至终浓度为100-200μg/mL,室温避光孵育3-4h后,用PBS洗涤细胞培养板2-3次;接着再加入Hoechst染色液至终浓度为5-10μg/mL,室温避光孵育10-20min后,用PBS洗涤细胞培养板2-3次;

步骤(5),用高内涵成像系统对细胞进行扫描,选择FITC和Hoechst荧光双通道对细胞进行扫描获取图片;

步骤(6),使用高内涵分析软件中的Multi Wavelength Cell Scoring模块对图片进行分析,测量Hoechst通道中细胞核的平均直径,并用Hoechst通道中细胞核的平均直径值作为细胞核的直径参数;测量FITC通道中细胞质的平均直径,之后用FITC通道中细胞质的平均直径值作为细胞的直径参数;根据以上设置计算细胞核的Hoechst平均荧光值作为对照,同时计算细胞质的FITC平均荧光值,用FITC细胞平均荧光值表征该待检测样品的烟气对水通道蛋白5细胞表达量;

所述的用于研究主流烟气暴露于口腔中的仿生吸收装置包括用于烟气暴露吸收的瓶体、烟气捕集器和真空泵;所述瓶体的内壁设置模拟人工口腔黏膜内壁并浸润有人工唾液,其下部设置有连通瓶体的烟气进气管,上部设置有连通瓶体的大气连接管及烟气排出管;所述烟气进气管用于卷烟的夹持,且其上设置有第一阀门;所述大气连接管上设置有第二阀门;所述烟气排出管上设置有第三阀门,并通过管道依次连接烟气捕集器和真空泵。

2. 根据权利要求1所述的卷烟烟气对水通道蛋白5细胞表达量影响的检测方法,其特征在于,步骤(1)所述的平衡条件为:温度 $22 \pm 1^\circ\text{C}$,湿度 $60 \pm 2\%$,时间48h。

3. 根据权利要求1所述的卷烟烟气对水通道蛋白5细胞表达量影响的检测方法,其特征在于,步骤(1)所述的抽吸采用全自动转盘式吸烟机。

4. 根据权利要求1所述的卷烟烟气对水通道蛋白5细胞表达量影响的检测方法,其特征在于,步骤(1)所述的抽吸的抽吸频率为1口/min,抽吸持续时间为2s,抽吸容量为35mL ± 0.15mL/口。

5. 根据权利要求1所述的卷烟烟气对水通道蛋白5细胞表达量影响的检测方法,其特征在于,步骤(1)中,浸润模拟人工口腔黏膜内壁所用的DMEM/F12细胞培养基的量为5-10mL。

6. 根据权利要求1所述的卷烟烟气对水通道蛋白5细胞表达量影响的检测方法,其特征

在于,所述的细胞培养板为96孔板。

7.根据权利要求1所述的卷烟烟气对水通道蛋白5细胞表达量影响的检测方法,其特征在于,每个样品检测均重复三次,结果取三次检测的平均值。

一种卷烟烟气对水通道蛋白5细胞表达量影响的检测方法

技术领域

[0001] 本发明属于生物应用技术领域,具体涉及一种卷烟烟气对水通道蛋白5细胞表达量影响的检测方法。

背景技术

[0002] 唾液是维持口腔微生态环境平衡的主要因素,具有湿润口腔和食物、便于说话吞咽、移走味蕾上的食物微粒,从而不断尝到食物上的味道以及清洁和保护口腔等多种作用。卷烟感官评价表明部分卷烟烟气会引起口腔干涩、燥刺、不适等负面感受,因此研发具有降燥生津功能的卷烟产品,对于改善口腔舒适感提升卷烟抽吸品质具有重要意义。

[0003] 水通道蛋白家族(Aquaporins, AQP)是特异性跨膜转运水的一组蛋白,能显著增加细胞膜水通透性,参与水的分泌、吸收及细胞内外水的平衡。AQP5是一种主要表达于唾液腺及皮肤小汗腺的水通道蛋白,主要介导水分子跨细胞膜通透转运,在唾液分泌中起着重要作用。研究表明干燥综合症患者及干燥综合症模型小鼠涎腺细胞中存在AQP5的下调或亚细胞分布异常,因此恢复腺体内AQP5的正常亚细胞分布、上调AQP5成为治疗干燥综合症的可能手段。目前,医学上化学物质对水通道蛋白的影响大多是通过干燥综合症动物模型进行整体动物水平的AQP5研究,不适用于大批量样品的检测。因此如何通过细胞学方法来进行卷烟烟气对水通道蛋白影响检测对生津物质的开发起着重要作用。

发明内容

[0004] 本发明的目的是为了解决现有技术的不足,提供一种卷烟烟气对水通道蛋白5细胞表达量影响的检测方法,该方法利用BMP6处理细胞,模拟了干燥综合症发生时的细胞微环境从而研究卷烟烟气对AQP-5表达量的影响,相较于动物实验而言更为简单、高效。

[0005] 为实现上述目的,本发明采用的技术方案如下:

[0006] 一种卷烟烟气对水通道蛋白5细胞表达量影响的检测方法,包括如下步骤:

[0007] 步骤(1),采用专利申请号为201520354840.8的一种用于研究主流烟气暴露于口腔中的仿生吸收装置,采用DMEM/F12细胞培养基浸润该装置的模拟人工口腔黏膜内壁;选取10-20支重量和吸阻一致的烟支作为待检测样品,平衡后进行抽吸,抽吸结束后,取出仿生吸收装置的瓶体中的液体,得到仿生抽吸液体;

[0008] 步骤(2),将涎腺腺样囊性癌细胞经0.25%胰酶消化后,以 $2-4 \times 10^4$ 个/mL细胞浓度接种于含有DMEM/F12细胞培养基的细胞培养板上,在37℃、5%CO₂的条件下培养22-26h后,加入骨形成蛋白6至终浓度为6ng/ml,处理2-3d;

[0009] 步骤(3),移去步骤(2)中的培养上清,以步骤(1)得到的仿生抽吸液体稀释4-8倍后的液体作为培养基继续在37℃、5%CO₂的条件下对细胞进行培养22-26h;仿生抽吸液体的用量与细胞之间的比例没有限制,按照培养基的常用量使用即可;

[0010] 步骤(4),培养结束后弃上清,加入4%多聚甲醛室温固定细胞9-11min,再用含有0.2% Tritonx-100和1% BSA的PBS溶液使细胞膜通透;4%多聚甲醛的用量没有限制,只要能

固定细胞即可;PBS溶液的用量也没有限制,只要能使得细胞膜通透即可;

[0011] 之后加入FITC标记的AQP5抗体至终浓度为100-200 $\mu\text{g}/\text{mL}$,室温避光孵育3-4h后,用PBS洗涤细胞培养板2-3次;接着再加入Hoechst染色液至终浓度为5-10 $\mu\text{g}/\text{mL}$,室温避光孵育10-20min后,用PBS洗涤细胞培养板2-3次;

[0012] 步骤(5),用高内涵成像系统对细胞进行扫描,选择FITC和Hoechst荧光双通道对细胞进行扫描获取图片;

[0013] 步骤(6),使用高内涵分析软件中的Multi Wavelength Cell Scoring模块对图片进行分析,测量Hoechst通道中细胞核的平均直径,并用Hoechst通道中细胞核的平均直径值作为细胞核的直径参数;测量FITC通道中细胞质的平均直径,之后用FITC通道中细胞质的平均直径值作为细胞的直径参数;根据以上设置计算细胞核的Hoechst平均荧光值作为对照,同时计算细胞质的FITC平均荧光值,用FITC细胞平均荧光值表征该待检测样品的烟气对水通道蛋白5细胞表达量。

[0014] 进一步,优选的是,步骤(1)所述的平衡条件为:温度 $22 \pm 1^\circ\text{C}$,湿度 $60 \pm 2\%$,时间48h。

[0015] 进一步,优选的是,步骤(1)所述的抽吸采用全自动转盘式吸烟机。

[0016] 进一步,优选的是,步骤(1)所述的抽吸的抽吸频率为1口/min,抽吸持续时间为2s,抽吸容量为 $35\text{mL} \pm 0.15\text{mL}/\text{口}$ 。

[0017] 进一步,优选的是,步骤(1)中,浸润模拟人工口腔黏膜内壁所用的DMEM/F12细胞培养基的量为5-10mL。

[0018] 进一步,优选的是,所述的细胞培养板为96孔板。

[0019] 进一步,优选的是,每个样品检测均重复三次,结果取三次检测的平均值。

[0020] 抽吸时,全自动转盘式吸烟机连接在装置的烟气进气管上。

[0021] 本发明与现有技术相比,其有益效果为:

[0022] 本发明采用生物化学及细胞学方法,建立了一种卷烟烟气对水通道蛋白5细胞表达量影响的检测方法,该方法利用BMP6处理细胞,模拟了干燥综合症发生时的细胞微环境从而研究卷烟烟气对AQP-5表达量的影响,相较于动物实验而言更为简单、高效,将实验周期从几个月缩短至几天;在卷烟烟气的捕集上采用了口腔仿生模拟装置,更贴合实际的人抽吸状态;同时采用了高内涵系统,可高通量检测多个样品对细胞AQP-5表达量的影响,可快速准确可视的进行多样品检测,为卷烟烟气的功效性评价提供了一个新的快速手段。

具体实施方式

[0023] 下面结合实施例对本发明作进一步的详细描述。

[0024] 本领域技术人员将会理解,下列实施例仅用于说明本发明,而不应视为限定本发明的范围。实施例中未注明具体技术或条件者,按照本领域内的文献所描述的技术或条件或者按照产品说明书进行。所用材料或设备未注明生产厂商者,均为可以通过购买获得的常规产品。

[0025] 除按照本技术领域内试剂、溶液的常规术语外,本发明除非另有说明,否则百分数代表质量百分数。

[0026] 1.实验材料:涎腺腺样囊性癌细胞(SACC-83细胞)从ATCC购买。

[0027] 2.主要实验器材:

[0028] 高内涵成像系统(ImageXpress MICRO,Molecular Devices公司);

[0029] CO₂培养箱(Thermo公司);

[0030] 二级生物安全柜(Heal Force公司);倒置显微镜(TS100-F-HMC型,Nikon公司);

[0031] 96孔板、细胞培养瓶(美国Corning公司)。

[0032] 实施例1

[0033] 一种卷烟烟气对水通道蛋白5细胞表达量影响的检测方法,包括如下步骤:

[0034] 步骤(1),采用专利申请号为201520354840.8的一种用于研究主流烟气暴露于口腔中的仿生吸收装置,采用DMEM/F12细胞培养基浸润该装置的模拟人工口腔黏膜内壁;选取10支重量和吸阻一致的烟支作为待检测样品,平衡后进行采用全自动转盘式吸烟机抽吸,抽吸结束后,取出仿生吸收装置的瓶体中的液体,得到仿生抽吸液体;所述的平衡条件为:温度21℃,湿度58%,时间48h。所述的抽吸的抽吸频率为1口/min,抽吸持续时间为2s,抽吸容量为34.85mL/口。

[0035] 步骤(2),将涎腺腺样囊性癌细胞经0.25%胰酶消化后,以 2×10^4 个/mL细胞浓度接种于含有DMEM/F12细胞培养基的细胞培养板上,在37℃、5%CO₂的条件下培养22h后,加入骨形成蛋白6至终浓度为6ng/ml,处理2d;

[0036] 步骤(3),移去步骤(2)中的培养上清,以步骤(1)得到的仿生抽吸液体稀释4倍后的液体作为培养基继续在37℃、5%CO₂的条件下对细胞进行培养22h;

[0037] 步骤(4),培养结束后弃上清,加入4%多聚甲醛室温固定细胞9min,再用含有0.2% Tritonx-100和1% BSA的PBS溶液使细胞膜通透;

[0038] 之后加入FITC标记的AQP5抗体至终浓度为100μg/mL,室温避光孵育3h,用PBS洗涤细胞培养板2次;接着再加入Hoechst染色液至终浓度为5μg/mL,室温避光孵育10min后,用PBS洗涤细胞培养板2次;

[0039] 步骤(5),用高内涵成像系统对细胞进行扫描,选择FITC和Hoechst荧光双通道对细胞进行扫描获取图片;

[0040] 步骤(6),使用高内涵分析软件中的Multi Wavelength Cell Scoring模块对图片进行分析,测量Hoechst通道中细胞核的平均直径,并用Hoechst通道中细胞核的平均直径值作为细胞核的直径参数;测量FITC通道中细胞质的平均直径,之后用FITC通道中细胞质的平均直径值作为细胞的直径参数;根据以上设置计算细胞核的Hoechst平均荧光值作为对照,同时计算细胞质的FITC平均荧光值,用FITC细胞平均荧光值表征该待检测样品的烟气对水通道蛋白5细胞表达量。

[0041] 实施例2

[0042] 一种卷烟烟气对水通道蛋白5细胞表达量影响的检测方法,包括如下步骤:

[0043] 步骤(1),采用专利申请号为201520354840.8的一种用于研究主流烟气暴露于口腔中的仿生吸收装置,采用5mL DMEM/F12细胞培养基浸润该装置的模拟人工口腔黏膜内壁;选取20支重量和吸阻一致的烟支作为待检测样品,平衡后进行采用全自动转盘式吸烟机抽吸,抽吸结束后,取出仿生吸收装置的瓶体中的液体,得到仿生抽吸液体;所述的平衡条件为:温度23℃,湿度62%,时间48h。所述的抽吸的抽吸频率为1口/min,抽吸持续时间为2s,抽吸容量为35.15mL/口。

[0044] 步骤(2),将涎腺腺样囊性癌细胞经0.25%胰酶消化后,以 4×10^4 个/mL细胞浓度接种于含有DMEM/F12细胞培养基的细胞培养板上,在37℃、5%CO₂的条件下培养26h后,加入骨形成蛋白6至终浓度为6ng/ml,处理3d;

[0045] 步骤(3),移去步骤(2)中的培养上清,以步骤(1)得到的仿生抽吸液体稀释8倍后的液体作为培养基继续在37℃、5%CO₂的条件下对细胞进行培养26h;

[0046] 步骤(4),培养结束后弃上清,加入4%多聚甲醛室温固定细胞11min,再用含有0.2% Tritonx-100和1% BSA的PBS溶液使细胞膜通透;

[0047] 之后加入FITC标记的AQP5抗体至终浓度为200μg/mL,室温避光孵育4h,用PBS洗涤细胞培养板3次;接着再加入Hoechst染色液至终浓度为10μg/mL,室温避光孵育20min后,用PBS洗涤细胞培养板3次;

[0048] 步骤(5),用高内涵成像系统对细胞进行扫描,选择FITC和Hoechst荧光双通道对细胞进行扫描获取图片;

[0049] 步骤(6),使用高内涵分析软件中的Multi Wavelength Cell Scoring模块对图片进行分析,测量Hoechst通道中细胞核的平均直径,并用Hoechst通道中细胞核的平均直径值作为细胞核的直径参数;测量FITC通道中细胞质的平均直径,之后用FITC通道中细胞质的平均直径值作为细胞的直径参数;根据以上设置计算细胞核的Hoechst平均荧光值作为对照,同时计算细胞质的FITC平均荧光值,用FITC细胞平均荧光值表征该待检测样品的烟气对水通道蛋白5细胞表达量。

[0050] 其中,所述的细胞培养板为96孔板。每个样品检测均重复三次,结果取三次检测的平均值。

[0051] 实施例3

[0052] 一种卷烟烟气对水通道蛋白5细胞表达量影响的检测方法,包括如下步骤:

[0053] 步骤(1),采用专利申请号为201520354840.8的一种用于研究主流烟气暴露于口腔中的仿生吸收装置,采用10mL DMEM/F12细胞培养基浸润该装置的模拟人工口腔黏膜内壁;选取15支重量和吸阻一致的烟支作为待检测样品,平衡后进行采用全自动转盘式吸烟机抽吸,抽吸结束后,取出仿生吸收装置的瓶体中的液体,得到仿生抽吸液体;所述的平衡条件为:温度22℃,湿度60%,时间48h。所述的抽吸的抽吸频率为1口/min,抽吸持续时间为2s,抽吸容量为35mL/口。

[0054] 步骤(2),将涎腺腺样囊性癌细胞经0.25%胰酶消化后,以 23×10^4 个/mL细胞浓度接种于含有DMEM/F12细胞培养基的细胞培养板上,在37℃、5%CO₂的条件下培养24h后,加入骨形成蛋白6至终浓度为6ng/ml,处理2.5d;

[0055] 步骤(3),移去步骤(2)中的培养上清,以步骤(1)得到的仿生抽吸液体稀释5倍后的液体作为培养基继续在37℃、5%CO₂的条件下对细胞进行培养24h;

[0056] 步骤(4),培养结束后弃上清,加入4%多聚甲醛室温固定细胞10min,再用含有0.2% Tritonx-100和1% BSA的PBS溶液使细胞膜通透;

[0057] 之后加入FITC标记的AQP5抗体至终浓度为150μg/mL,室温避光孵育3.5h,用PBS洗涤细胞培养板2次;接着再加入Hoechst染色液至终浓度为8μg/mL,室温避光孵育15min后,用PBS洗涤细胞培养板3次;

[0058] 步骤(5),用高内涵成像系统对细胞进行扫描,选择FITC和Hoechst荧光双通道对

细胞进行扫描获取图片；

[0059] 步骤(6),使用高内涵分析软件中的Multi Wavelength Cell Scoring模块对图片进行分析,测量Hoechst通道中细胞核的平均直径,并用Hoechst通道中细胞核的平均直径值作为细胞核的直径参数;测量FITC通道中细胞质的平均直径,之后用FITC通道中细胞质的平均直径值作为细胞的直径参数;根据以上设置计算细胞核的Hoechst平均荧光值作为对照,同时计算细胞质的FITC平均荧光值,用FITC细胞平均荧光值表征该待检测样品的烟气对水通道蛋白5细胞表达量。

[0060] 其中,所述的细胞培养板为96孔板。每个样品检测均重复三次,结果取三次检测的平均值。

[0061] 实施例4

[0062] 一种卷烟烟气对水通道蛋白5细胞表达量影响的检测方法,包括如下步骤:

[0063] 步骤(1),采用专利申请号为201520354840.8的一种用于研究主流烟气暴露于口腔中的仿生吸收装置,采用8mL DMEM/F12细胞培养基浸润该装置的模拟人工口腔黏膜内壁;选取16支重量和吸阻一致的烟支作为待检测样品,平衡后进行采用全自动转盘式吸烟机抽吸,抽吸结束后,取出仿生吸收装置的瓶体中的液体,得到仿生抽吸液体;所述的平衡条件为:温度22℃,湿度60%,时间48h。所述的抽吸的抽吸频率为1口/min,抽吸持续时间为2s,抽吸容量为35mL/口。

[0064] 步骤(2),将涎腺腺样囊性癌细胞经0.25%胰酶消化后,以 2.8×10^4 个/mL细胞浓度接种于含有DMEM/F12细胞培养基的细胞培养板上,在37℃、5%CO₂的条件下培养23h后,加入骨形成蛋白6至终浓度为6ng/ml,处理2.7d;

[0065] 步骤(3),移去步骤(2)中的培养上清,以步骤(1)得到的仿生抽吸液体稀释6倍后的液体作为培养基继续在37℃、5%CO₂的条件下对细胞进行培养25h;

[0066] 步骤(4),培养结束后弃上清,加入4%多聚甲醛室温固定细胞10min,再用含有0.2% Tritonx-100和1% BSA的PBS溶液使细胞膜通透;

[0067] 之后加入FITC标记的AQP5抗体至终浓度为180μg/mL,室温避光孵育3.8h,用PBS洗涤细胞培养板3次;接着再加入Hoechst染色液至终浓度为7μg/mL,室温避光孵育16min后,用PBS洗涤细胞培养板2次;

[0068] 步骤(5),用高内涵成像系统对细胞进行扫描,选择FITC和Hoechst荧光双通道对细胞进行扫描获取图片;

[0069] 步骤(6),使用高内涵分析软件中的Multi Wavelength Cell Scoring模块对图片进行分析,测量Hoechst通道中细胞核的平均直径,并用Hoechst通道中细胞核的平均直径值作为细胞核的直径参数;测量FITC通道中细胞质的平均直径,之后用FITC通道中细胞质的平均直径值作为细胞的直径参数;根据以上设置计算细胞核的Hoechst平均荧光值作为对照,同时计算细胞质的FITC平均荧光值,用FITC细胞平均荧光值表征该待检测样品的烟气对水通道蛋白5细胞表达量。

[0070] 其中,所述的细胞培养板为96孔板。每个样品检测均重复三次,结果取三次检测的平均值。

[0071] 应用实例

[0072] 随机挑选市售的5种卷烟进行检测,采用实施例3所述的方法,FITC通道细胞质平

均荧光值及Hoechst通道细胞核平均荧光值结果如表1所示。

[0073] 表1:5种不同牌号卷烟的高内涵分析结果

样品编号 平均 荧光值	1#	2#	3#	4#	5#
[0074] FITC 通道细胞质平均 荧光值	$1.15 \times 10^5 \pm 0.05 \times 10^5$	$1.54 \times 10^5 \pm 0.20 \times 10^5$	$1.24 \times 10^5 \pm 0.35 \times 10^5$	$1.13 \times 10^5 \pm 0.11 \times 10^5$	$1.02 \times 10^5 \pm 0.16 \times 10^5$
Hoechst 通道细胞核平均 荧光值	$2.46 \times 10^4 \pm 0.30 \times 10^4$	$2.38 \times 10^4 \pm 0.13 \times 10^4$	$2.44 \times 10^4 \pm 0.29 \times 10^4$	$2.45 \times 10^4 \pm 0.18 \times 10^4$	$2.33 \times 10^4 \pm 0.16 \times 10^4$

[0075] 由表1可以看出,5种卷烟对SACC-83细胞的FITC通道细胞质平均荧光值有所差异,且对照Hoechst通道细胞核平均荧光强度没有显著变化。

[0076] 之后采用人工感官评吸方法对5种卷烟的生津感进行打分,结果如表2所示。

[0077] 表2:5种不同牌号卷烟的生津感打分

样品编号	1#	2#	3#	4#	5#
[0078] 人工感官评吸方法, 生津感打分(分)	7.17 ± 0.29	8.50 ± 0.50	7.67 ± 0.29	7.00 ± 0.50	6.50 ± 0.50

[0079] 表2是5种卷烟的人工感官评吸打分,将表2的结果和表1的结果采用SPSS16.0软件进行相关性分析,两者存在显著相关($p < 0.05$),表明采用本方法测出的样品对水通道蛋白5表达量影响与人工评吸的生津感存在显著的相关性,本方法可作为感官评吸的有力补充。

[0080] 以上显示和描述了本发明的基本原理、主要特征和本发明的优点。本行业的技术人员应该了解,本发明不受上述实施例的限制,上述实施例和说明书中描述的只是说明本发明的原理,在不脱离本发明精神和范围的前提下,本发明还会有各种变化和改进,这些变化和改进都落入要求保护的本发明范围内。本发明要求保护范围由所附的权利要求书及其等效物界定。