

关键词:抗癌防移片;乳腺癌;4T1 小鼠模型;肺转移瘤灶

## A-S4-9

# 量子点标记自杀基因靶向脂质体在肝癌诊治一体化中的应用研究

杨军星<sup>1</sup>, 赵雪<sup>2</sup>, 刘莹瑞<sup>2</sup>; 指导教师: 陈立

1. 吉林大学 2011 级口腔医学七年制
2. 吉林大学 2010 级临床医学七年制

**【目的】** 自杀基因/前体药物系统抗肿瘤作用效果显著,但自杀基因肿瘤靶向识别性差而限制其临床应用。基于叶酸偶联脂质体(FL)的生物相容性及靶向性、量子点(QD)荧光标记的高灵敏性及光稳定性、HSV-tk 自杀基因独特的旁观者效应,本研究拟开发多功能纳米载体-叶酸靶向量子点标记的 HSV-TK 基因脂质体(FL/QD-TK),并检测此载体系统在肝癌诊治一体化中作用。

**【方法】** 构筑 FL/QD-TK 并进行表征后,利用 MTT 法、激光共聚焦荧光显微镜、活体荧光成像仪及裸鼠移植瘤模型等方法对其体内外靶向性成像和治疗肝癌的作用及生物安全性进行研究。

**【结果】** 多功能纳米载体 FL/QD-TK 合成方法稳定,形貌均一,对叶酸受体高表达的 Bel-7402 肝癌细胞表现出较强的选择性杀伤作用,而对叶酸受体低表达的 HepG2 细胞靶向杀伤作用较弱。FL/QD-TK 可实时示踪 TK 基因在 Bel-7402 荷瘤裸鼠体内的运输与分布,实现了在肿瘤部位的靶向富集,系统性给药并联合 GCV 取得了良好的抗肿瘤效果,同时对各脏器组织形态学和血清学指标无影响。

**【结论】** 新型多功能纳米载体 FL/QD-TK 可在体外靶向和选择性杀伤叶酸受体高表达肝癌细胞,在体内可视化示踪 TK 基因治疗肿瘤并具备了较好的生物安全性,FL/QD-TK 作为一种潜在的高效低毒的纳米药物有望应用于肝癌的诊治一体化。

关键词: HSV-TK/GCV 自杀基因治疗系统;量子点;叶酸靶向脂质体;肝癌;诊治一体化;生物安全性

## A-S4-10

# Bcl-2 抑制剂 S1 诱导的卵巢癌细胞凋亡对自噬影响的实验研究

孙维; 指导教师: 孙连坤

吉林大学 2010 级白求恩医学试验班

**【目的】** 凋亡与自噬密切相关,但二者之间的关系尚需进一步探究。本研究利用 Bcl-2 抑制剂 S1 建立卵巢癌细胞(SKOV3)凋亡模型,初步探究 S1 诱导的 SKOV3 细胞中凋亡对自噬的影响。

**【方法】** 培养 SKOV3 细胞。用 MTT 法检测 S1 对细胞生存率的影响。用流式细胞术检测细胞凋亡率。用蛋白质印迹方法检测凋亡相关蛋白 Bcl-2、Bax、caspase3 和自噬相关蛋白 Beclin1、LC3 的变化。用免疫荧光技术检测 Beclin1 及 LC3 蛋白的表达情况。在 S1 作用的基础上,应用广谱 caspase 抑制剂 Z-VAD 抑制 caspase 后,检测 SKOV3 细胞中自噬相关蛋白 Beclin1、LC3 的变化。

**【结果】** S1 能够降低 SKOV3 细胞的生存率;增加 SKOV3 细胞的凋亡率。与对照组(0 h)相比,S1 组(2、4、8、12、24、48 h)中的 Bcl-2 蛋白表达持续降低,Bax 及 caspase3 蛋白表达持续增高,呈现出明显的时间依赖性;S1 组(2、4、8、12、24、48 h)中自噬的发生也呈时间依赖性,但自噬并不是持续增强的,在 12 h 时,自噬相关蛋白 Beclin1 和 LC3 蛋白表达水平最高,12 h 后则呈下降趋势,Beclin1 和 LC3 的荧光结果也表现出一致的现象。与 S1 单独作用(8、24 h)相比较,给予广谱 caspase 抑制剂 Z-VAD,8 h 结果显示 Beclin1 及 LC3 蛋白的表达水平基本无变化,而 24 h 结果显示 Beclin1 及 LC3 蛋白的表达水平显著增高,同时荧光实验也显示出同样的结果。

**【结论】** 在 SKOV3 细胞中, S1 通过抑制 Bcl-2、促进 Bax 释放, 诱导细胞发生凋亡, 并呈时间依赖性增强。同时 S1 通过抑制 Bcl-2, 释放自噬起始基因 Beclin1, 诱导自噬发生。但是自噬并未始终呈时间依赖性增强, 自噬水平在 S1 长时间作用下反而出现下降的趋势。据此推测, 随着 S1 诱导凋亡的不断增强, 大量活化的 caspase 可能通过裂解自噬起始基因 Beclin1, 从而抑制 Beclin1 诱导的自噬。

**关键词:** 凋亡; 自噬; 人卵巢癌; Bcl-2 抑制剂

## A-S4-11

# 人 IL-29 的定点改造及抗肿瘤活性分析

李菲<sup>1</sup>, 朱荣<sup>2</sup>, 陈莉莉<sup>1</sup>, 葛春蕾<sup>2</sup>, 储晓丽<sup>1</sup>, 马旭<sup>1</sup>, 彭斐<sup>1</sup>; 指导教师: 陈伟, 郭敏辰

1. 江南大学无锡医学院护理学

2. 江南大学生物工程学院生物工程

**【目的】** 对野生型人 IL-29 受体结合区域的氨基酸残基进行定点改造, 以期获得抗肿瘤活性更高的 IL-29 变体。

**【方法】** 采用 SWISS-MODEL 网络服务器对 IL-29 与 IL-28 进行同源建模, 再用 Z-dock 软件对 IL-29 与其受体结合亚基(IL-28R1)进行刚性蛋白质-蛋白质对接, 然后用 RosettaDOCK 软件对获得的 IL-29-受体复合物结构模型进行精细对接及优化。用 PyMol 软件分析确定 IL-29 肽链中与受体结合部位的关键氨基酸位点, 然后以不同氨基酸进行置换和分子对接分析, 用 MM-PBSA 法计算各位点氨基酸置换前后的结合自由能差( $\Delta\Delta G$ ), 选择  $\Delta\Delta G$  差值大的氨基酸种类和位点为改造位点。设计定点突变引物, 采用大引物 PCR 方法, 将拟改变的氨基酸的编码碱基通过 PCR 扩增引入野生型 IL-29 基因进行置换, 然后将获得的 IL-29 变体基因插入质粒 pPIC9K 构建重组表达质粒, 经测序鉴定后转化毕赤酵母进行发酵表达, 发酵液经超滤浓缩和除盐后, 采用 SP-Sepharose Fast Flow 阳离子交换层析纯化表达产物, 用 SDS-PAGE 和蛋白质印迹分析鉴定表达产物。将重组野生型 IL-29、重组 IL-29 变体设置高(1 000 ng/mL)、中(500 ng/mL)、低(50 ng/mL)三个剂量组, 分别对胃癌细胞 SGC 7901、结肠癌细胞 HCT-8 进行培养, 同时设置空白对照和阴性对照组, 以重组人 IFN $_{\alpha 2b}$  药品为阳性对照组。用 WST-8 法检测各组样品对肿瘤细胞增殖的抑制率, 统计分析各组样品对肿瘤细胞抑制效应的差异。

**【结果】** 经定点改造和重组表达及纯化, 获得 2 个变体 IL-29 L (33Lys $\rightarrow$ 33Arg 单点突变体)和 IL-29 Z (33Lys $\rightarrow$ 33Arg, 35Arg $\rightarrow$ 35Lys 双点突变体); WST-8 法预试验结果显示, 与阴性对照组比较, 重组野生型 IL-29 高剂量组对胃癌细胞 SGC 7901、结肠癌细胞 HCT-8 的增殖抑制率分别为 15.76% ( $P < 0.05$ )、10.70% ( $P < 0.05$ ); 重组变体 IL-29 Z 高剂量组对 SGC 7901 的抑制率为 52.17% ( $P < 0.01$ ), 对 HCT-8 无明显抑制效应; 重组 IL-29 L 高剂量组对 SGC 7901、HCT-8 的抑制率分别为 12.74% ( $P < 0.05$ )、11.80% ( $P < 0.05$ )。

**【结论】** 通过定点突变方法对人 IL-29 进行定点改造, 可望获得抗肿瘤活性更高的 IL-29 变体。

**关键词:** 人 IL-29; 定点突变; 胃癌细胞; 结肠癌细胞; 增殖; 抑制率

## A-S4-12

# 苦参和奥沙利铂抑制 AOM 联合 DSS 诱导的小鼠结直肠肿瘤生长

徐凯, 刘利龙, 吴凡, 孙增蓬, 杨锋; 指导教师: 陈红平

南昌大学医学院 2011 级麻醉学

**【目的】** 结直肠癌占全国肿瘤死亡人数的第 5 位。奥沙利铂是治疗晚期结直肠癌的一线药物, 但它有神经毒