

B-S4-17

探讨苯并吡啶荧光标记的 2-脱氧-D-葡萄糖的设计合成及其在肿瘤糖代谢的应用

郑娇娇¹, 倪超颖², 易夏玉²; 指导教师: 柯志勇

1. 南方医科大学药学院 2011 级药学

2. 南方医科大学基础医学院 2011 级基础医学

【立论依据】 代谢改变是肿瘤的重要特征之一, 其与肿瘤的发生发展密切相关。肿瘤细胞无论在有氧或无氧条件下, 均需通过糖酵解(glycolysis)途径吸收大量的葡萄糖产生能量, 满足快速生长需求, 肿瘤细胞的这一代谢特点是肿瘤细胞具有的普遍现象和规律, 被称为 Warburg 效应。基于上述效应和系列研究工作基础, 采用光稳定性好的苯并吡啶类荧光探针针对 2-脱氧-D-葡萄糖进行标记并在体内外评价其对肿瘤的靶向成像能力, 考察肿瘤在体内的转移情况及治疗效果, 从而为肿瘤检测和评估治疗效果提供一个新型检测探针。

【设计思路】 在新型苯并吡啶类荧光探针光稳定好以及肿瘤组织中存在异常旺盛的无氧葡萄糖酵解现象的基础之上, 将苯并吡啶类荧光探针针对 2-脱氧-D-葡萄糖进行标记, 设计合成苯并吡啶类荧光标记的葡萄糖类似物, 探讨其在肿瘤糖代谢方面的应用。

【实验内容】 拟合成苯并吡啶类荧光标记的葡萄糖类似物, 采用 NMR、IR 光谱及质谱表征苯并吡啶类荧光标记的葡萄糖类似物的化学结构和纯度, 测定其理化特性, 细胞毒性、生物相容性和体外细胞的荧光成像性能, 评价其在活体动物内的光学成像能力, 并通过肿瘤组织的免疫荧光病理检查, 证实在体内肿瘤组织位置。

【材料】 1,1,2-三甲基-1-氢-苯并吡啶, 4-甲醛基苯甲酸, 无水乙醇和醋酸铵, 二氯甲烷, 2-脱氧-D-葡萄糖。

【可行性】 前期研究和预实验结果表明苯并吡啶类荧光染料具有良好的光稳定性、合适的水溶性及很好的细胞膜通透性, 而且在细胞内具有较强的荧光。这类染料的合成非常简单, 收率高, 基于苯并吡啶类染料的荧光探针, 并成功地将其应用于活细胞荧光成像为本课题核心假设的提出奠定了重要的理论和实验基础。

【创新性】 新型的苯并吡啶类荧光标记的葡萄糖类似物: (1) 光稳定性好; (2) 可通过葡萄糖靶向介导作用, 实现主动靶向介导内吞; (3) 能够示踪肿瘤细胞是否发生转移及其治疗效果, 是应用于检测动物实验肿瘤转移模型的最佳标记物。

关键词: 苯并吡啶类荧光标记的葡萄糖类似物; 荧光成像; 肿瘤细胞; 检测

B-S4-18

丝氨酸缺乏和 p53 依赖的代谢重构对乳腺癌细胞的影响

徐冰聪, 张 硕, 陈立畅, 王飞扬; 指导教师: 许伟榕

上海交通大学医学院 2011 级临床医学八年制

【立论依据】 丝氨酸对肿瘤细胞增殖具有重要作用。丝氨酸缺乏可导致肿瘤细胞氧化应激, 对其增殖产生抑制。肿瘤抑制基因 p53 在抗氧化代谢中发挥不可或缺的作用, 因此 p53 可帮助肿瘤细胞耐受丝氨酸缺乏。这与 p53 的抑癌功能是一对矛盾, 利用此矛盾可为肿瘤治疗提供新的思路。

【设计思路】 选取 p53 突变或缺失的三阴性乳腺癌细胞系, 给予丝氨酸缺失的培养环境, 观察其增殖情况、相关基因和蛋白表达情况。以 p53 阳性的乳腺癌细胞和正常培养基作对照

【实验内容】 MDA-MB-157(P53 null)或 HCC1937(P53 mutant)分别用不含丝氨酸的培养基(-SG)、加入丝氨酸的-SG、加入丙酮酸和 GSH 的-SG, 进行 72 h 培养, 每 24 h 用流式细胞仪检测细胞数量、细胞周期和细胞内 ROS 水平, 酶标仪检测抗氧化能力、GSH 和 GSSG 水平, Real-time PCR 检测 P53、PHGDH 的 mRNA 转录, 蛋白质

印迹检测 p53、PHGDH 的蛋白表达。MCF-7(P53 wildtype)作为 P53 的阳性对照。

【材料】 MCF-7、MDA-MB-157 或 HCC1937、MEM 培养液(HyClone SH30024)、丝氨酸、丙酮酸、GSH,相关的试剂盒和试剂。

【可行性】 已进行预实验,已实践过实验内容中提及的操作,已观察到 MCF-7 在丝氨酸缺乏时增殖先受抑制后恢复、细胞内 ROS 水平上升、PHGDH 表达上升

【创新性】 p53 对肿瘤细胞代谢的影响已成为研究热点。多数肿瘤中近一半存在 p53 基因的突变,丝氨酸在肿瘤增殖中的重要地位,使得丝氨酸、p53 以及相关的信号调节通路和酶可能成为肿瘤治疗的新靶点。

关键词: 丝氨酸;p53;氧化应激;代谢重构

B-S4-19

Raf-1 对 Hippo 通路的调节及其对胃癌细胞生长凋亡的影响

梁冰尔,汤铭昱,祝雪晴,方 斌;指导教师:程 枫

上海交通大学医学院 2011 级临床医学八年制

【立论依据】 Raf-1 蛋白激酶是酪氨酸激酶相关的信号传导途径中的重要信号分子, Hippo 通路调节细胞的生长、增殖与凋亡,被认为与人体多种肿瘤的发生存在紧密联系;近年来有研究表明 Raf-1 可能通过与 Hippo 通路核心分子 MST2 结合从而调控细胞的凋亡;我们希望通过研究胃癌细胞中 Raf-1 与 Hippo 通路的联系,为肿瘤诱导分化的临床应用提供一些新思路。

【设计思路】 建立对照组;检测 Raf-1 分子对胃癌细胞凋亡情况的影响;检测 Raf-1 对 Hippo 通路核心分子的影响。

【实验内容】 选择不同分化程度的胃癌细胞株进行培养;采用 Raf-1 蛋白阻断剂阻断部分细胞的 Raf-1 表达,蛋白质印迹法检测阻断情况;流式细胞术检测不同浓度阻断剂处理后胃癌细胞的凋亡情况;CCK 法描绘阻断后胃癌细胞与未经特殊处理胃癌细胞的生长曲线;蛋白质印迹法检测阻断剂处理后胃癌细胞中 Hippo 通路核心分子 MST2 的表达水平变化。

【材料】 胃癌细胞株 BCG823,SGC7901;Raf-1 蛋白阻断剂 Forskolin;MST2 及 Raf-1 抗体;CCK 试剂盒;细胞凋亡与坏死试剂盒。

【可行性】 Raf-1 以及 Hippo 信号通路均已被证实肿瘤细胞的凋亡中发挥重要作用;目前已有研究支持在部分肿瘤细胞中 Raf-1 与 MST2 活性间存在关联;实验器材及细胞株均由实验室及瑞金医院消化科提供。

【创新性】 目前对 Raf-1 相关信号通路的研究多集中于 MEK/MAPK 信号通路,而对其在其他信号通路中的作用机制的研究尚不完全成熟;在 Raf-1 对 Hippo 通路影响的研究中,国外多采用肝癌细胞作为研究对象,我们选择不同分化程度的胃癌细胞进行研究,以观察 Raf-1 对不同分化程度的肿瘤细胞的影响,希望能进一步探究 Raf-1 在肿瘤发生、发展中的作用。

关键词: Raf-1;Hippo 通路;胃癌;肿瘤细胞凋亡