

【实验内容】 收集低度上皮内瘤变(LSIL)、高度上皮内瘤变(HSIL)和宫颈癌组织样本等不同类型的宫颈肿瘤组织标本,抽提 DNA;根据高危型 HPV 早期基因 E6/E7 基因序列,在同源性分析的基础上,设计 HPV 不同型别的 E6/E7 特异性探针及引物,PCR 扩增宫颈肿瘤组织标本 DNA,通过基因测序验证 PCR 扩增的特异性;进一步优化 PCR 条件,建立高危型 HPV 检测到的多重 PCR 技术,检测宫颈肿瘤组织标本中 HPV 感染及型别,并与目前临床上使用的检测试剂盒比较,分析检测的灵敏性和特异性。

【材料】 LSIL 组织样本、HSIL 组织样本和宫颈癌组织样本各 30 例;HPV16+Siha 细胞、HPV18+Hela 细胞;不同型别 HPV 的 E6/E7 特异性探针及引物;高保真 PCR 酶及反应体系;琼脂糖凝胶电泳及毛细管电泳检测系统等。

【可行性】 本项目立论依据充分,标本来源丰富,前期预实验已运用此方法对高危型 HPV16/18 完成初步分型。

【创新性】 迄今尚无相关研究报道。本检测方法的建立为我国高危型 HPV 流行检测及宫颈癌疫苗的推广奠定基础。

关键词: 早期基因 E6/E7;基因分型;人乳头瘤病毒;宫颈癌;疫苗

B-S4-25

原发性肝细胞癌中 KIAA0101 基因转录变异体 2 对转录变异体 1 的抑制作用研究

廖建明;指导教师:朱 帆

武汉大学 2010 级临床医学八年制

【立论依据】 原发性肝细胞癌(HCC)是全球第三大致死的肿瘤类型,恶性程度高,预后差。基于本实验室构建的 HCC 病人癌组织和正常组织的差异表达库,我们筛选到了一系列与 HCC 相关的差异表达蛋白,其中包括 KIAA0101 蛋白。KIAA0101 与 DNA 的复制、损伤修复以及细胞周期有关。KIAA0101 有两种转录变异体(transcript variant, tv),KIAA0101 tv1 参与 DNA 复制和修复,而 tv2 功能未见报道。本实验室研究发现 tv1 的 mRNA 和蛋白在肝癌细胞系中比癌旁组织中表达量高,并能抑制多柔比星诱导的细胞凋亡;在肝癌细胞系 HepG2. 2. 15 中,tv2 表达量明显低于 tv1,转染 tv2 过表达能够下调 tv1 的 mRNA 水平。因此,我们推测 KIAA0101 的两种转录变异体在肝细胞癌的形成和发展过程中起到了不同的作用。

【设计思路】 我们检测发现 KIAA0101 tv1 和 tv2 在肝癌组织中的表达有差异,所以我们进行 tv1 和 tv2 的生物学活性的比较研究;前期实验发现 KIAA0101 tv2 能够抑制 tv1 在 HepG2. 2. 15 中的表达,所以我们进行 KIAA0101 tv2 对 tv1 的表达及功能的调控研究。

【实验内容】 (1)肝癌组织及癌旁组织、多种肝癌细胞系中 KIAA0101 tv1 和 tv2 的表达情况,及其在肝癌细胞系中的细胞亚定位研究;(2)KIAA0101 tv1 和 tv2 生物学活性的比较研究;(3)KIAA0101 tv1 和 tv2 对 KIAA0101 promoter 的调控研究;(4)KIAA0101 tv2 过表达对 tv1 表达及功能的抑制作用的研究。

【材料】 原发性肝癌组织及癌旁组织,多种肝癌细胞系(HepG2、HepG2. 2. 15、Huh-7、HCCLM3、BEL7402)

【可行性】 (1)本实验室多年围绕肝癌分子机制及防治方向进行了长期的课题探索,对于 KIAA0101 基因致原发性肝细胞癌的研究已取得重要进展,成果于 2012 年发表于 Hepatology 杂志。(2)本实验室前期实验发现,在肝癌细胞系 HepG2. 2. 15 中,KIAA0101 tv2 的表达量明显低于 tv1,tv2 的过表达能抑制 tv1 的 mRNA 水平。(3)本实验室具备完成本课题所需的所有仪器,承担并参与了多项国家、省部级项目,专业背景扎实。

【创新性】 (1)关于 tv2 的功能研究目前尚无报道,而我们实验发现 KIAA0101 两种转录变异体在肝癌组织表达不同,此研究对于了解肝细胞癌中 KIAA0101 两种转录变异体的相互作用具有重要意义。(2)我们前期实验发现 KIAA0101 tv2 过表达能够抑制 tv1 的 mRNA 水平,此实验可能为肝细胞癌的分子治疗提供新的思路。

关键词: 原发性肝细胞癌、KIAA0101、转移变异体、细胞迁移、癌基因活性