

B-S4-29

PAK6 与 HDAC6 的相互结合诱导的细胞自噬在前列腺癌增殖中的作用

李婷婷; 指导教师: 刘 彤, 李 丰

中国医科大学四年级生物科学与生物技术

【立论依据】 前列腺癌 (prostate cancer, PCa) 是男性恶性肿瘤的第一杀手。近期研究表明细胞自噬作为双刃剑在前列腺癌、乳腺癌等肿瘤的生理与病理过程中发挥重要的作用, 但目前细胞自噬如何调控前列腺癌的机制尚无报道。p21 活化激酶-6 (p21-activated kinase 6, PAK6) 是丝/苏氨酸蛋白激酶 PAK 家族的一员, 通过磷酸化雄激素受体与肿瘤 E3 连接酶而泛素化降解雄激素受体, 从而负向调节前列腺肿瘤的生长。HDAC6 是 II 类组蛋白脱乙酰化酶的一个成员, 通过调节底物乙酰化水平促进肿瘤的生长与转化。已有文献报道, PAK6 在前列腺癌中呈高表达, 而 HDAC6 具有促进自噬小体形成的作用。我们前期的研究结果发现, PAK6 可通过结合 HDAC6 从而诱导细胞发生自噬, 且临床标本的免疫荧光结果显示 PAK6 与 HDAC6 共定位于细胞质中, 且恶性前列腺癌中的共定位明显高于正常前列腺组织, 提示两者在前列腺癌中发挥重要作用。因此本实验旨在探讨 PAK6 与 HDAC6 相互结合诱导的细胞自噬在前列腺癌中的发挥的生物学功能及调节机制。

【设计思路】 应用体内外结合实验研究二者在细胞内的相互作用。电镜及蛋白质印迹技术检测 PAK6 与 HDAC6 与细胞自噬的关系, 及 PAK6 与 HDAC6 诱导的细胞自噬在前列腺癌中的生物学功能。免疫组化检测二者在前列腺癌临床标本中表达的相关性。

【实验内容】 (1) 体外 GST-pull down 实验证实 PAK6 与 HDAC6 直接结合。(2) 共转染 HDAC6 和 PAK6 到工具细胞 HEK293 中, 免疫共沉淀检测二者在细胞内结合。(3) 成功构建过表达和沉默 PAK6 细胞系, 利用 MTT, 细胞计数及蛋白质印迹实验揭示 PAK6 与 HDAC6 诱导的细胞自噬在前列腺癌中的生物学功能。(4) 免疫组化分析前列腺癌组织临床标本中 PAK6 与 HDAC6 表达的相关性。

【材料】 前列腺癌及工具细胞系, 相应抗体, ECL 发光试剂及仪器, 共聚焦激光显微镜。

【可行性】 所在实验室为教育部医学细胞生物学重点实验室。前期实验成功证明 PAK6 和 HDAC6 的结合及共定位关系, 本人已熟练掌握了后续实验涉及的相关技术。

【创新性】 本研究首次发现 PAK6 和 HDAC6 在前列腺癌中的共定位表达变化及二者的相互作用, 阐明 PAK6 通过 HDAC6 促进细胞自噬, 为寻找前列腺癌的预警分子提供理论基础。

关键词: PAK6; HDAC6; 细胞自噬; 前列腺癌

B-S4-30

17-AAG 抑制 piRNA-PIWI 通路对神经母细胞瘤“干性”影响的研究

陈 取¹, 吴德鹏², 朱琳飞², 梁熠成², 李玮珊², 胡溢哲³; 指导教师: 田晓红, 柏树林

1. 中国医科大学 2009 级临床医学七年制
2. 中国医科大学 2010 级临床医学七年制
3. 中国医科大学 2011 级临床医学七年制

【理论依据】 piRNA 是细胞内三大非编码 RNA (noncoding RNA) 之一, 参与到干细胞干细胞“干性”的维持之中, 同时与 PIWI 蛋白组成 piRNA-PIWI 通路, 在大量不同类型的肿瘤细胞中高表达。类比 miRNA 领域取得的研