

究显示, SIRT3 在乳腺癌干细胞中高表达, 但其对乳腺癌干细胞衰老的影响及机制未明。我们猜测 SIRT3 可通过增强 ROS 清除酶活性, 抑制 ROS 的蓄积, 从而阻碍乳腺癌干细胞衰老。本研究拟在乳腺癌干细胞中沉默、过表达 SIRT3, 探究 SIRT3 对乳腺癌干细胞衰老的作用, 并利用免疫共沉淀等技术, 阐明其中机制。

【实验内容】 (1) 体外实验: 构建过表达、沉默 SIRT3 的乳腺癌干细胞稳定细胞系, 检测 ROS 及相关基因的表达量, 同时检测细胞衰老状态, 利用免疫共沉淀及质谱技术研究其机制; (2) 体内实验: 过表达、沉默 SIRT3 的乳腺癌干细胞稳定细胞系体内成瘤, 获得成瘤实验标本, 检测 ROS 及相关基因的表达量、细胞衰老状态; (3) 临床研究: 获取临床乳腺癌样本, 研究 SIRT3 表达量与乳腺癌干细胞数量、乳腺癌患者生存率及生存时间的相关性。

【材料】 临床乳腺癌组织标本、Balb/c 裸鼠、乳腺癌细胞系 MCF7 等。

【可行性】 已有研究证实 SIRT3 可调控干细胞衰老相关基因; 现有研究提示, SIRT3 在乳腺癌干细胞中高表达; 本小组及所在实验室长期致力于肿瘤干细胞研究, 具备相关经验、技术、设备, 所以本研究从理论、人员、实验技术、实验条件上都是可行的。

【创新性】 从 SIRT3 的角度探究乳腺癌干细胞的衰老机制, 成果可为防治乳腺癌提供新靶点。

关键词: 乳腺癌干细胞; 衰老; SIRT3; 机制

B-S4-35

B-Myb 在肺癌中的作用与分子机制初探

刘梦茹¹, 刘弘夷¹, 周亚¹, 姜雪²; 指导教师: 卜友泉

1. 重庆医科大学 2010 级基础医学

2. 重庆医科大学 2011 级基础医学

【立论依据】 B-Myb 是经典癌基因 Myb 家族的成员之一, 其编码蛋白隶属于转录因子, 在细胞周期和肿瘤发生发展过程中均具有重要作用。我们前期已发现, B-Myb 在肺癌中表达异常上调, 提示其在肺癌中具有重要作用, 但其具体功能与分子机制仍不清楚, 本课题拟对此进行研究。

【设计思路】 基于 B-Myb 在肺癌中表达上调, 故选用“功能失活”策略进行研究。即: 采用 RNA 干扰技术, 抑制人肺癌细胞系 H1299 中 B-Myb 的高水平表达, 构建 B-Myb 基因沉默稳定细胞株, 分析 B-Myb 基因沉默后肺癌细胞的生长增殖、细胞周期和迁移侵袭能力以及全基因组基因表达谱的变化, 由此初步揭示 B-Myb 在肺癌中的潜在作用与分子机制。

【实验内容】 首先, 分别构建阴性对照和靶向 B-Myb 的 RNA 干扰质粒; 然后, 将上述质粒瞬时转染人肺癌细胞系 H1299, 结合嘌呤霉素抗性筛选和绿色荧光蛋白追踪, 分别建立阴性对照和 B-Myb 基因沉默稳定细胞株, 通过定量 RT-PCR 和蛋白质印迹技术检测确认 B-Myb 基因表达的抑制程度; 最后, 使用上述构建的稳定细胞株, 分别采用 MTT 实验、流式细胞仪、软琼脂克隆形成实验、迁移侵袭实验对细胞的生长增殖、细胞周期分布、克隆形成能力和迁移侵袭能力进行分析, 并通过基因芯片技术对全基因组基因表达谱进行检测。

【材料】 人肺癌细胞系 H1299、细胞培养基、RNA 干扰质粒、转染试剂、定量 PCR 试剂、B-Myb 抗体、基因芯片等。

【可行性】 理论可行性: 本课题是依据大量文献、我们的前期研究结果以及经典的分子肿瘤学理论, 经过严密论证而提出。技术可行性: 本课题采用的实验技术均为经典和成熟的肿瘤分子生物学研究技术, 指导教师提供全程指导。

【创新性】 采用“功能失活”策略, 综合运用 RNA 干扰、稳定细胞株构建、细胞表型分析和基因芯片技术, 以期首次初步阐明 B-Myb 在肺癌中的作用与潜在分子机制, 目前国内外尚未见报道。

关键词: B-Myb; 肺癌; 细胞周期; 生长增殖; 迁移; 侵袭