

B-S4-36

精氨酸特异性单腺苷二磷酸核糖基化对大肠癌自噬的影响

杨莉¹, 牟春风¹, 高兴杰², 王亚萍², 孟云鹏²; 指导教师: 王娅兰

1. 重庆医科大学 2009 级基础医学

2. 重庆医科大学 2011 级临床医学

【立论依据】 精氨酸特异性单 ADP 核糖基化是蛋白质翻译后修饰重要形式, 目前研究极少。我们先前研究首次报道了精氨酸特异性单 ADP 核糖基化转移酶(ART1)对小鼠大肠癌细胞运动、黏附等具有重要作用并与 Rho 表达有关。有研究表明, 自噬基因 Beclin-1 在大肠癌中表达率高, 可促进大肠癌发生发展; Rho 信号通路与自噬调节有关。但精氨酸特异性单 ADP 核糖基化是否可通过 Rho 影响大肠癌细胞自噬水平, 对大肠癌细胞生长发挥调节作用尚不清楚。

【设计思路】 基于前期工作基础, 本研究拟通过改变 ART1 在大肠癌细胞的表达改变精氨酸特异性单 ADP 核糖基化水平, 观察大肠癌细胞自噬相关蛋白、Rho 及其下游与肿瘤增殖相关效应分子表达以及癌细胞增殖能力和小鼠移植瘤生长变化, 探讨精氨酸特异性单 ADP 核糖基化作用对大肠癌自噬的影响及其机制, 为寻求大肠癌治疗新靶点提供实验依据。

【实验内容】 构建 ART1 基因沉默和过表达慢病毒载体转染大肠癌 CT26 细胞使精氨酸特异性单 ADP 核糖基化水平改变; 电镜观察自噬小体的形成; 蛋白质印迹或 RT-PCR 法检测自噬相关蛋白(Lc3、Beclin-1)表达、Rho 蛋白家族 Rho1、Rac 和 Cdc42 及其下游与肿瘤增殖相关效应分子(c-fos、c-myc)的变化; 采用 CCK-8、流式细胞术和动物移植瘤模型, 观察大肠癌细胞增殖和生长。

【材料】 小鼠大肠癌 CT26 细胞, 相关蛋白抗体, 逆转录试剂盒, Balb/c 小鼠, CCK-8 试剂盒等。

【可行性】 自噬是细胞存活的必要因素, 其形成过程与 Rho 有关; 大肠癌中, 自噬相关基因 Beclin-1 表达高于正常组织, 其可促进大肠癌肿瘤的发生发展。本研究前期研究已显示, 抑制 ART1 可下调 Rho 相关信号转导。因此, 我们推测通过下调 ART1 抑制精氨酸特异性单 ADP 核糖基化作用, 可下调 Rho 信号转导, 进而下调大肠癌细胞自噬水平具有充分的理论依据。先前对精氨酸特异性单 ADP 核糖基化在大肠癌黏附、迁移等方面的研究, 也为本研究奠定了基础。

【创新性】 本研究首次通过观察精氨酸特异性单 ADP 核糖基化作用与大肠癌自噬以及与 Rho 信号通路关系, 阐明精氨酸特异性单 ADP 核糖基化作用对大肠癌细胞自噬的调节作用和机制。

关键词: 精氨酸特异性单 ADP 核糖基化; 自噬; 大肠癌

B-S4-37

探究 DLC1 与 RhoA-ROCK 通路对乳腺癌淋巴道转移的影响

周密, 冉启梅; 指导教师: 欧小波

遵义医学院 2012 级临床医学

【立项依据】 转移是恶性肿瘤的基本特征, 且癌细胞转移与细胞运动密切相关, 而 RhoA-ROCK 通路可作用于肌球蛋白, 参与细胞骨架重组, 影响细胞运动。那么 RhoA-ROCK 通路与癌细胞转移是否有一定相关性呢? 查阅相关资料得知, RhoA-ROCK 通路确实能影响癌细胞转移, 并可受 DLC1 调控抑制肝癌、胃癌、前列腺癌等恶性肿瘤的生长, 另有文献报道, 用 real-time PCR 方法分析 DLC1 的 mRNA 表达量在乳腺癌非转移细胞系中比高转移细胞系中多。由此我们猜想 DLC1 与 RhoA-ROCK 通路对乳腺癌转移可能产生一定影响。于是我们拟选择 DLC1、RhoA 作为测定指标, 探究 DLC1 与 RhoA-ROCK 通路对乳腺癌淋巴道转移的影响。

【实验内容】 分别选取已发生淋巴结转移和未发生转移的乳腺癌病变组织标本各 25 例,应用免疫组织化学法和蛋白质印迹法检测 DLC1、RhoA 在两组标本中的表达,对实验结果进行分析。

【材料】 已发生淋巴结转移和未发生转移的乳腺癌病变组织标本,DLC1 抗体,RhoA 抗体,相关试剂盒。

【可行性】 (1)应用免疫组织化学法预实验结果显示,发生转移与未发生转移的乳腺癌病变组织比较:DLC1 表达较少,RhoA 表达较多,二者间差异有统计学意义,用 spearman 等级相关分析显示 DLC1 与 RhoA 间存在相关性,由此提示乳腺癌淋巴道转移与 DLC1、RhoA-ROCK 通路可能存在一定联系。(2)已有文献报道从理论上支持我们通过检测两组标本中 DLC1、RhoA 的表达来探究其与乳腺癌淋巴道转移的关系。

【创新性】 (1)学习《病理生理学》,获知 RhoA-ROCK 通路可影响细胞运动,而学习《病理学》,我们知道癌细胞转移是恶性肿瘤的基本特征,本课题将病理生理学与病理学知识相联系,由 RhoA-ROCK 通路影响细胞运动联想到乳腺癌淋巴道转移。(2)大量文献报道 DLC1 能通过抑制 RhoA-ROCK 通路发挥抑癌作用,但其是否会影响乳腺癌淋巴道转移的文献却未见发表。(3)经实验探究,初步认识到 DLC1 能通过抑制 RhoA-ROCK 通路而抑制乳腺癌淋巴道转移,若进一步探究 DLC1 抑制 RhoA-ROCK 通路的机制,将为临床上抑制乳腺癌淋巴道转移提供新的治疗靶点和理论依据。

关键词: DLC1; RhoA-ROCK 通路; 乳腺癌淋巴道转移

B-S4-38

靶向/促穿膜双功能肽介导的肿瘤靶向基因递送系统的构建及其抗肿瘤作用研究

陈如兵¹, 张慕平², 宋建琴¹, 康莹¹, 林倩¹, 丁静¹; 指导教师: 丁宝月, 郑永霞

1. 嘉兴学院医学院大二药学
2. 嘉兴学院医学院大三药学

【立论依据】 基因治疗(gene therapy)现已成为攻克肿瘤最具潜力,也是研究最活跃的领域,许多学者为基因治疗能成功应用于临床进行了大量相关研究。要成功地实施基因治疗,必须具备 3 个关键因素:针对性的治疗基因;基因传递系统;基因表达调节系统。基因传递系统是基因治疗的核心技术,而转染效率与细胞毒性相矛盾、稳定性与穿膜能力相矛盾以及靶向性差,是基因递送系统存在的 3 个关键问题。本课题旨在为肿瘤的基因治疗寻找一种兼具高转染效率、高肿瘤细胞和组织特异靶向性及良好安全性和体内外稳定性的基因递药系统。

【设计思路】 首选通过将低分子量聚乙烯亚胺(LMW-PEI)连接到能形成单分子聚合物胶束的普朗尼克(Pluronic)表面,制得 PEI 衍生物;然后采用固相法合成兼具靶向和促穿膜作用的双功能短肽 DR5-TAT(D21),其中 DR5 短肽对正常细胞无毒副作用、对肿瘤细胞具有高特异性和高选择性且自身具有抗肿瘤活性,TAT 是具有促细胞穿膜作用的穿膜肽;再利用 SMCC 法将 D21 与 Pluronic-PEI 偶联,构建肿瘤靶向纳米基因载体递送系统(D21-Pluronic-PEI),并对其体内外性能进行评价。

【实验内容】 (1) Pluronic-PEI 的合成,DNA/Pluronic-PEI 纳米胶束的制备及其性能考察;(2) D21-Pluronic-PEI 的构建及其性能考察;(3)载 p53 的靶向纳米非病毒基因给药系统(p53/D21-Pluronic-PEI)的制备及其体内靶向特性和抗肿瘤效果评价

【材料】 分支状聚乙烯亚胺 Pluronic 123 (Mw=2000 Da),DR5 短肽,细胞穿膜肽 TAT,p53 等。

【可行性】 项目组有一定的专业基础,具有较强的创新意识和研究探索精神,具备开展该项目的素质与能力。该实验设计思路新颖,制定的项目方案切实可行,具有可靠的实施条件,可以保证该训练计划实施成效。项目组所在学校对学生实践创新及实验实训一贯积极支持和鼓励,匹配经费到位,配套扶持政策完善。因此,项目开展所需的人员、场地、实验设备、材料和经费等条件均可以保证。

【创新性】 (1)本课题拟采用不同 PO/EO 比的 Pluronic 连接低分子量 PEI,并在此基础上合成具有可实现肿