

【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

瘤靶向和具促穿膜作用的双功能短肽 DR5-TAT(D21), 将其与所得的 PEI 衍生物偶联, 得到高效、低毒的新型基因靶向载体系统 (D21-Pluronic-PEI), 该研究国内外尚未见报道。(2) 重组人 p53 腺病毒注射液已应用于临床, 但该药选择的载体为病毒基因载体-5 型腺病毒, 本课题拟采用高效, 低毒且可主动靶向肿瘤细胞的新型聚阳离子载体系统 (D21-Pluronic-PEI) 作为 p53 载体, 拟为 p53 的应用开辟新途径, 国内外未见相关报道, 具有潜在的应用价值。

关键词: 肿瘤靶向; 双功能肽; 基因载体; 基因递药系统

S-5 药材, 药化, 有机化学

B-S5-1

基于纳米颗粒的生物分子传感新方法

王玉廷, 杜毅聪, 缴晓兵, 肖蓉芯, 沈光前, 孙泽文; 指导教师: 王月丹, 初明

北京大学医学部 2011 级基础医学

【立论依据】 通过在微米结构中堆积纳米颗粒形成的纳流体晶体具有单根纳米通道的电动力学特性, 即低离子浓度溶液中, 通过晶体的电导与颗粒表面的电荷密度成正比而与溶液中的离子浓度无关。蛋白质和核酸分子都是带有极性的生物大分子, 在结合到纳米颗粒表面的时候会改变纳米颗粒表面的电荷密度。通过纳流体晶体的理论电动力学模型可以测量生物大分子的浓度。另外, 核酸适配体是一种能和特定蛋白实现特异性结合的核酸片段, 适配体本身除了可以结合特定蛋白分子之外, 还能提升纳米颗粒表面的电荷密度改变量。

【设计思路】 (1) 以人 α -凝血酶分子作为模型蛋白, 通过在纳米颗粒的表面修饰特异性的 α -凝血酶核酸适配体探针, 然后在微米孔芯片中堆积成纳流体晶体, 通过电泳的形式让含有低浓度凝血酶分子的待测溶液通过纳流体晶体通道, 通过适配体结合分子后造成纳米颗粒表面电荷密度改变, 通过计算改变量, 进而实现对 α -凝血酶浓度的检测。(2) 为了进一步提高灵敏度, 利用“适配体 1-凝血酶-适配体 2”的类三明治结构, 即在原来的基础之上, 将待测的 α -凝血酶分子结合上适配体-2, 然后通过纳流体晶体。因为结合上核酸适配体-2 之后, 蛋白的带电量增加, 结合在纳米颗粒表面之后使得颗粒表面的电荷密度变化更加明显, 理论上的检测灵敏度会增加。此外, 核酸适配体-2 与适配体-1 在 α -凝血酶上结合位点不一样, 因此互不影响。进样方式依然采用电泳方式。

【实验内容】 (1) 在纳米颗粒表面结合 α -凝血酶适配体探针; (2) 利用上述纳米颗粒构建纳流体晶体; (3) 通过电泳使待测凝血酶溶液通过晶体通道, 并检测电导变化; (4) 在凝血酶上结合特异性适配体, 通过电泳加样, 再次检测电导变化。

【材料】 人 α -凝血酶溶液, 特异性 α -凝血酶适配体探针 1 和 2, 纳米颗粒溶液, 电导检测电极

【可行性】 (1) 通过晶体的电导与颗粒表面的电荷密度成正比而与溶液中的离子浓度无关的特性在生物传感器方面理论上已经完全成熟, 基于此原理的纳流体传感器也已初步实现。(2) 核酸适配体探针的特性研究已经相对透彻。

【创新性】 本实验首次设计出“适配体 1-蛋白-适配体 2”的三明治结构并应用于传感器中, 相比较于“适配体-蛋白”传感器极大提升了传感器检测的灵敏度。

关键词: 纳流体晶体; 适配体探针; α -凝血酶