

A-S4-2

抑制白血病细胞活性的 miRNA 的发现及作用机制研究

卜一凡;指导教师:杨宝学

北京大学医学部 2010 级临床医学

【目的】 白血病是一类造血系统恶性肿瘤,严重威胁人类健康。临床上可使用“注射用核糖核酸 II”对白血病患者进行辅助治疗。该药是一种提取自牛胰腺的小分子 RNA 和多肽的混合物,但作用机制不清。本研究目的是通过 miRNA 芯片及生物信息学筛选,发现“注射用核糖核酸 II”中可能存在的具有抑制白血病细胞活性的 miRNA,并研究其作用机制。

【方法】 应用 microarray 技术分析“注射用核糖核酸 II”药物中含有的人源 miRNA。利用生物信息学技术和相关数据库预测其靶基因。通过 Gene Ontology 对靶基因进行功能富集。利用 DAVID 数据库进行 KEGG 信号转导通路富集分析进一步筛选出候选 miRNA。利用 CCK-8 细胞活性检测试剂盒确定所选 miRNA 对白血病细胞生长的抑制作用。蛋白质印迹技术检测其相关靶蛋白的表达水平。用人外周血单个核细胞分离液分离 CML 及 AML 患者外周血白细胞并进行原代培养。CCK-8 细胞活性检测试剂盒确定所筛选的 miRNA 对白血病原代细胞生长的抑制作用。

【结果】 应用 microarray 技术,从“注射用核糖核酸 II”药物中共检出 23 个人源 miRNA。利用 PicTar、miRanda 和 TargetScanS 等数据库进行靶基因预测,筛选出了 5 个 miRNA: miR-320a、let-7b、miR-II、miR-494 和 miR-335。利用 Cytoscape 软件及其插件 BiNGO 对上述 miRNA 的靶基因进行了功能富集分析。DAVID 工具进行了 KEGG 信号通路富集分析,最终选择了 miR-II 进行进一步研究。miR-II 靶基因大多富集于转录因子调控、细胞凋亡、细胞增殖等信号通路。疾病信号通路主要富集于以慢性髓系白血病、急性髓系白血病、胰腺癌为代表的多种癌症,在各条信号通路中主要负责调控 RAS、CyclinD、TGF- β 等重要分子的表达。3 种白血病细胞系(L1210、MEL 和 K562)体外实验显示,直接给予人工合成的 miR-II mimics 自 50 nmol/L 起就可抑制白血病细胞活性,抑制率最高可达 70%左右(300 nmol/L)且具有明显的剂量依赖效应。miR-II 对两种胰腺癌细胞系(PANC-1、AsPC-1)和一种正常细胞系(MDCK)无显著细胞毒性。AML(2 位)、CML(1 位)患者原代白血病细胞体外实验中,miR-II 具有一定的抑制白血病细胞活性的趋势。

【结论】 我们从 microarray 筛选获得的 23 种 miRNA 中,利用生物信息学方法确定出 1 种人源 miRNA: miR-II,体外实验证实 miR-II 对多种白血病细胞系具有显著抑制作用,但对胰腺癌细胞系和正常细胞无明显细胞毒性。实验结果表明 miR-II 对原代白血病细胞具有一定的抑制细胞活性的趋势,具体作用机制有待进一步研究。本研究对治疗白血病 miRNA 的研发具有重要意义。

关键词: 白血病;miRNA;生物信息学

A-S4-3

细胞表面 $\alpha 2,6$ -唾液酸在肝癌细胞粘附中的作用及机制研究

韦安稳,武 强,朱晓玲;指导教师:汪淑晶

大连医科大学 2011 级临床医学

【目的】 分析比较细胞表面不同连接方式的唾液酸在小鼠肝癌高淋巴道转移细胞株 Hca-F 和低淋巴道转移细胞株 Hca-P 中的表达,并研究差异性表达的 $\alpha 2,6$ -唾液酸在肝癌细胞淋巴黏附行为中的作用及分子机制。

【方法】 利用免疫细胞化学、流式细胞技术,分析肝癌细胞表面不同连接方式的唾液酸在 Hca-F 和 Hca-P 中的表达差异;通过 RNA 干扰技术干预差异表达的唾液酸转移酶,并使用 RT-PCR、蛋白质印迹及 Lectin-blot 方法