

【结论】 在 SKOV3 细胞中, S1 通过抑制 Bcl-2、促进 Bax 释放, 诱导细胞发生凋亡, 并呈时间依赖性增强。同时 S1 通过抑制 Bcl-2, 释放自噬起始基因 Beclin1, 诱导自噬发生。但是自噬并未始终呈时间依赖性增强, 自噬水平在 S1 长时间作用下反而出现下降的趋势。据此推测, 随着 S1 诱导凋亡的不断增强, 大量活化的 caspase 可能通过裂解自噬起始基因 Beclin1, 从而抑制 Beclin1 诱导的自噬。

关键词: 凋亡; 自噬; 人卵巢癌; Bcl-2 抑制剂

A-S4-11

人 IL-29 的定点改造及抗肿瘤活性分析

李菲¹, 朱荣², 陈莉莉¹, 葛春蕾², 储晓丽¹, 马旭¹, 彭斐¹; 指导教师: 陈伟, 郭敏辰

1. 江南大学无锡医学院护理学

2. 江南大学生物工程学院生物工程

【目的】 对野生型人 IL-29 受体结合区域的氨基酸残基进行定点改造, 以期获得抗肿瘤活性更高的 IL-29 变体。

【方法】 采用 SWISS-MODEL 网络服务器对 IL-29 与 IL-28 进行同源建模, 再用 Z-dock 软件对 IL-29 与其受体结合亚基(IL-28R1)进行刚性蛋白质-蛋白质对接, 然后用 RosettaDOCK 软件对获得的 IL-29-受体复合物结构模型进行精细对接及优化。用 PyMol 软件分析确定 IL-29 肽链中与受体结合部位的关键氨基酸位点, 然后以不同氨基酸进行置换和分子对接分析, 用 MM-PBSA 法计算各位点氨基酸置换前后的结合自由能差($\Delta\Delta G$), 选择 $\Delta\Delta G$ 差值大的氨基酸种类和位点为改造位点。设计定点突变引物, 采用大引物 PCR 方法, 将拟改变的氨基酸的编码碱基通过 PCR 扩增引入野生型 IL-29 基因进行置换, 然后将获得的 IL-29 变体基因插入质粒 pPIC9K 构建重组表达质粒, 经测序鉴定后转化毕赤酵母进行发酵表达, 发酵液经超滤浓缩和除盐后, 采用 SP-Sepharose Fast Flow 阳离子交换层析纯化表达产物, 用 SDS-PAGE 和蛋白质印迹分析鉴定表达产物。将重组野生型 IL-29、重组 IL-29 变体设置高(1 000 ng/mL)、中(500 ng/mL)、低(50 ng/mL)三个剂量组, 分别对胃癌细胞 SGC 7901、结肠癌细胞 HCT-8 进行培养, 同时设置空白对照和阴性对照组, 以重组人 IFN $_{\alpha 2b}$ 药品为阳性对照组。用 WST-8 法检测各组样品对肿瘤细胞增殖的抑制率, 统计分析各组样品对肿瘤细胞抑制效应的差异。

【结果】 经定点改造和重组表达及纯化, 获得 2 个变体 IL-29 L (33Lys \rightarrow 33Arg 单点突变体)和 IL-29 Z (33Lys \rightarrow 33Arg, 35Arg \rightarrow 35Lys 双点突变体); WST-8 法预试验结果显示, 与阴性对照组比较, 重组野生型 IL-29 高剂量组对胃癌细胞 SGC 7901、结肠癌细胞 HCT-8 的增殖抑制率分别为 15.76% ($P < 0.05$)、10.70% ($P < 0.05$); 重组变体 IL-29 Z 高剂量组对 SGC 7901 的抑制率为 52.17% ($P < 0.01$), 对 HCT-8 无明显抑制效应; 重组 IL-29 L 高剂量组对 SGC 7901、HCT-8 的抑制率分别为 12.74% ($P < 0.05$)、11.80% ($P < 0.05$)。

【结论】 通过定点突变方法对人 IL-29 进行定点改造, 可望获得抗肿瘤活性更高的 IL-29 变体。

关键词: 人 IL-29; 定点突变; 胃癌细胞; 结肠癌细胞; 增殖; 抑制率

A-S4-12

苦参和奥沙利铂抑制 AOM 联合 DSS 诱导的小鼠结直肠肿瘤生长

徐凯, 刘利龙, 吴凡, 孙增蓬, 杨锋; 指导教师: 陈红平

南昌大学医学院 2011 级麻醉学

【目的】 结直肠癌占全国肿瘤死亡人数的第 5 位。奥沙利铂是治疗晚期结直肠癌的一线药物, 但它有神经毒