

代谢,最终以单体结构通过肾小球的滤过进入尿液。前期研究发现胃癌患者尿液中的 EL 含量明显低于正常人,胃癌患者血液中 EL 代谢终产物以二聚体形式存在。因此,我们推测正常人血液中可能存在与 EL 蛋白靶向锚定的蛋白,可将血液中的 EL 二聚体降解为单体。而胃癌患者血液中由于缺少这一靶蛋白,致使 EL 二聚体无法分解为单体从尿液中排除。因此,本课题拟在血液中寻找 EL 相互作用蛋白并分析其对 EL 二聚体的降解作用,为寻找胃癌早期诊断和治疗的靶标提供重要理论依据。

【设计思路】 首先筛选正常人和胃癌患者血液中与 EL 蛋白相互作用的靶蛋白;然后检测靶蛋白在正常人及胃癌患者组织、血液及尿液中的差异性表达;分析靶蛋白表达与 EL 二聚体表达的相关性,以及靶蛋白的表达水平与临床病例信息的 logistic 回归分析,分析靶蛋白与肿瘤大小、肿瘤分期和预后的相关性。

【实验内容】 (1)免疫沉淀及质谱分析技术钓取正常人和胃癌患者血液中与 EL 蛋白相互的诱饵蛋白。(2)蛋白质印迹及免疫组化技术测定靶蛋白在临床样本蛋白表达水平,分析靶蛋白表达水平与 EL 二聚体表达水平的相关性。(3)Logistic 回归分析靶蛋白与肿瘤大小、肿瘤分期和预后等病例信息的相关性。

【材料】 正常人及胃癌患者的组织、血液及尿液标本。免疫沉淀、质谱分析、蛋白质印迹及免疫组化等试验的相关耗材。

【可行性】 前期工作已证明胃癌患者与正常人血液中 EL 二聚体的结构及表达量的差异是导致胃癌患者尿液中的 EL 含量明显降低的主要原因,此外项目组前期已经建立了基于免疫沉淀技术及质谱技术的靶蛋白调取体系及硬件设施,具有完成本实验的能力。

【创新性】 首次对尿液中筛选出的可以用于胃癌早期诊断的标志物 EL 在机体出现差异表达的机制进行深入分析;通过 EL 蛋白相互作用的靶蛋白的筛选及功能分析,为开发肿瘤早期诊断和治疗的靶标提供重要理论依据。

关键词: EL;免疫沉淀;胃癌;蛋白功能

B-S4-9

MiR-124 通过调控 Smad4 促进 C6 胶质瘤细胞凋亡的研究

张泽川¹, 龚巧云²;指导教师:池光范

1. 吉林大学 2012 级临床医学

2. 吉林大学 2010 级临床医学试验班

【立论依据】 胶质瘤是中枢神经系统肿瘤中最常见的恶性肿瘤。由于外科技术难以做到病理学上的全切除,术后复发率非常高。在前期实验中我们发现 C6 胶质瘤细胞 miR-124 含量显著低于与正常大鼠大脑组织,且转染 miR-124 后,C6 胶质瘤细胞数明显减少。我们应用 microRNA 靶基因信息软件查到 smad4 的 mRNA 与 miR-124-3p 有 3 个结合位点,smad4 可能是 miR-124 的靶基因。由此推测 miR-124 可能通过抑制 smad4 的蛋白表达对胶质瘤细胞起作用。

【设计思路】 本实验以大鼠 C6 胶质瘤细胞为研究对象,通过人为转染 miR-124,分析其对 smad4 蛋白表达的影响,并确定 smad4 为 miR-124 新靶基因,从而探索 miR-124 对促进 C6 胶质瘤细胞凋亡的新作用机制。

【实验内容】 (1)通过 qRT-PCR 检测正常大鼠大脑、C6 胶质瘤细胞、转染后的 C6 胶质瘤细胞中 miR-124 的表达水平。(2)转染外源 miR-124 观察 C6 胶质瘤细胞的生长状态。(3)结合蛋白质印迹和 TUNEL assay 方法,比较分析 miR-124 转染前和后 C6 胶质瘤细胞凋亡差异。(4)通过 qRT-PCR 检测比较分析转染 miR-124 前后 C6 胶质瘤细胞中 smad4 mRNA 的表达变化。(5)用蛋白质印迹检测转染 miR-124 前后的 C6 胶质瘤细胞中 Smad4 表达变化。(6)以 siRNA-Smad4 抑制 smad4 基因的表达后,再转染 miR-124 mimic,通过蛋白质印迹和细胞荧光染色方法比较分析细胞增殖的变化。

【材料】 C6 胶质瘤细胞,Lipo2000 脂质体,miR-124 mimic,实时 PCR 仪,超净台,孵箱,相差显微镜,荧光显微镜,PCR 相关试剂,蛋白质印迹相关试剂,TUNEL assay 试剂盒,Smad4 抗体等。

【可行性】 前期研究已证实人工转染 miR-124 后其细胞数明显降低,smad4 的蛋白水平下调;通过 microRNA

靶基因信息软件查到 smad4 可能是 miR-124 的另一个靶基因;项目组成员已熟练掌握研究所需要各种实验技术;实验设备齐全,具有完成上述实验的基本仪器设备。

【创新性】 我们将证明:miR-124 通过抑制 smad4 的蛋白表达,调控 smad4,抑制胶质瘤细胞的增殖且促进死亡。已有研究表明 miR-124 通过抑制靶基因 STAT3 的蛋白表达对胶质瘤起作用,但目前尚无关于 miR-124 与 smad4 之间作用关系的报道。

关键词: miR-124;胶质瘤;smad4;凋亡

B-S4-10

HIF-1 α 信号通路相关分子在胃癌中的表达及其对细胞增殖与侵袭的影响研究

屈 昊;指导教师:李 凡

吉林大学 2011 级临床医学七年制

【立论依据】 缺氧诱导因子 1 α (Hypoxia-inducible factor 1 α , HIF-1 α)是参与低氧环境中细胞适应性调节的关键转录因子,通过结合于靶基因上游转录调节区的低氧反应原件调控多种分子的表达。HIF-1 α 的异常增高参与了多种癌症的发生发展,课题组前期研究揭示了胃癌组织中存在着 HIF-1 α 的高表达现象,但是 HIF-1 α 的异常表达通过哪些下游靶基因及信号通路来实现对胃癌细胞的增殖、侵袭的调控尚不清晰。因此,高通量筛选及验证 HIF-1 α 下游靶基因,构建 HIF-1 α 信号网络并进行功能分析,为深入理解以 HIF-1 α 为核心的信号通路相关分子对胃癌细胞增殖与侵袭的影响奠定重要理论基础,同时也为阐明胃癌发生、发展机理,寻找胃癌早期诊断和治疗的靶标提供科学依据。

【设计思路】 本设计旨在前期研究基础上,检测胃癌细胞中 HIF-1 α 的表达变化,结合转录组学及数据库信息绘制与细胞增殖及侵袭相关的 HIF-1 α 调控网络图;利用 RNAi 技术沉默 HIF-1 α ,检测其靶基因的表达,探讨转染后对肿瘤细胞增殖及侵袭的影响。

【实验内容】 (1)结合转录组及数据库信息,初步构建胃癌中 HIF-1 α 调控网络,RT-qPCR 及蛋白质印迹对 HIF-1 α 及靶基因进行验证;(2)siRNA 技术对胃癌细胞 HIF-1 α 进行敲除,RT-qPCR、蛋白质印迹检测敲除后 HIF-1 α 及其靶基因表达;(3)MTT 及 transwell 实验检测有效基因敲除后胃癌细胞株的增殖能力及侵袭性变化。

【材料】 (1)胃癌细胞株 SGC-7901,细胞转染相关材料及试剂,HIF-1 α 及其靶基因引物、抗体,逆转录及实时定量 PCR 试剂,蛋白质印迹相关试剂。(2)转录组学信息,TRED 数据库,cytoscape 做图软件等计算机工具。

【可行性】 课题组前期利用外显子芯片、RT-qPCR 及蛋白质印迹法证实 HIF-1 α 在胃癌组织中呈高表达,并结合 TRED 数据库及胃癌基因表达谱筛选出胃癌中 HIF-1 α 可能的靶基因。以上工作为进一步探索 HIF-1 α 作用的下游靶基因及其对胃癌细胞增殖及侵袭性的影响及机制研究提供了思路及实验基础。此外,项目组具有完成信号调控网络研究的硬件设施及研究基础,为项目的顺利实施奠定基础。

【创新性】 将高通量组学、生物学实验及计算生物学技术紧密联合,探讨 HIF-1 α 信号通路对胃癌细胞增殖及侵袭性的影响及可能的机制。

关键词: HIF-1 α ;胃癌;siRNA;TRED