

B-S4-11

D5 Stat5a 对人类乳腺癌细胞钙粘蛋白表达的影响

祖力布努尔·麦麦提, 蒋晃, 张姣, 杨晓萌, 姚思宏; 指导教师: 谭敦勇, 张洁
吉首大学 2011 级临床医学

【立论依据及设计思路】 Delta5 STAT5a 是谭敦勇教授运用基因克隆等技术发现人类转录因子“STAT5a”的一种信使 RNA 剪切后的变体。大量前期工作证实 D5 Stat5a 在人类乳腺癌组织有异常表达, 经腺病毒介导将 D5 Stat5a cDNA 转入培养的人乳腺癌细胞后, 能显著促进癌细胞的增值与去分化。提示 D5 Stat5a 在乳腺癌的发生、发展及预后中, 具有重要的病理学意义。E-cadherin 位于上皮组织, 是细胞与细胞之间相互连接的主要分子。在人的许多恶性肿瘤中 E-cadherin 表达减少或缺失与肿瘤发展, 侵袭和转移密切相关, 体外试验明确的证实了在培养状态下表达 E-cadherin 分子的肿瘤不侵入其附着的基质, 但如果使 E-cadherin 表达缺失, 肿瘤细胞获得侵袭能力。将 E-cadherin 的 cDNA 转染肿瘤细胞使其表达 E-cadherin 分子后, 肿瘤丧失其侵袭能力。我们推测 D5 Stat5a 对癌细胞转移特性的影响与其调节 E-cadherin 等基因的表达有关。本课题拟通过采用腺病毒介导的基因转移技术转染人乳腺癌细胞, 检测转染后 E-cadherin 表达的变化, 以了解 D5 Stat5a 对人乳腺癌细胞 E-cadherin 的表达是否具有调节作用。

【实验内容】 培养乳腺癌细胞(MCF-7), 分为空白组、阴性对照组和实验组。用腺病毒(Adv-D5)转染实验组乳腺癌细胞, 同法构建不针对任何基因的阴性对照腺病毒。采用 qRT-PCR、蛋白质印迹和细胞免疫荧光方法检测 D5 Stat5a 转染后 E-cadherin 在 mRNA 水平和蛋白水平的表达, 将所得数据进行统计学处理并分析。

【材料】 D5 Stat5a 和细胞系, RPMI 1640 培养液 10% 胎牛血清, 1% 青链霉素, 腺病毒(Adv-D5), Trizol 试剂, E-cadherin 的引物, PCR 仪, 逆转录反应试剂盒, 36℃ 水浴箱, 低速离心机, CO₂ 细胞恒温培养箱。

【可行性】 E-cadherin 是一类介导细胞间质同质粘附的钙依赖性跨膜糖蛋白, 其下调可降低一个组织内细胞黏附的强度, 导致细胞活动性增加。大量研究表明癌细胞中 E-cadherin 表达下调或异常表达。D5 stat5a 可能是通过调控 E-cadherin 的表达来影响癌细胞的转移, 实验的进展具有可预见性。

【创新性】 D5 stat5a 作为一种刚被研究出来的 STAT5a 的基因变体, 目前关于这种基因与 E-cadherin 在乳腺癌中的关系研究尚少, 通过对比 MCF-7 与 Adv-D5 转染后 MCF-7 中 E-cadherin 的表达情况, 探讨 D5 stat5a 对 E-cadherin 的影响, 为 D5 stat5a 在乳腺癌的治疗中提供理论依据。

关键词: D5 Stat5a; 乳腺癌; E-cadherin; Adv-D5

B-S4-12

凋亡抑制蛋白 ILP-2 对乳腺癌细胞 MCF-7 氧化应激损伤的保护作用

周佩云, 李宇丹, 刘铁军, 孙子怡, 杨超萍; 指导教师: 向明钧
吉首大学 2010 级临床医学

【立论依据】 文献表明氧化应激会损伤体内核酸等生物大分子物质而促进肿瘤的发生发展; 凋亡抑制蛋白 ILP-2 在生长中的乳腺癌有高表达, 由此, 我们猜想乳腺癌中高表达的 ILP-2 可能与氧化应激的损伤作用存在联系

【设计思路】 实验以乳腺癌细胞株 MCF-7 制备氧化应激的细胞模型, 研究氧化应激状态下 MCF-7 内 ILP-2 的表达情况; RNAi ilp-2 基因表达, 分析 ILP-2 与氧化应激损伤之间的关系

【实验内容】 利用 H₂O₂ 对乳腺癌细胞株 MCF-7 进行氧化应激造模, 流式细胞术(flow cytometry, FCM)检测细胞内活性氧簇(reactive oxygen species, ROS), 分光光度法检测丙二醛(MDA)、谷胱甘肽(GSH)水平; 通过瞬