

DOI: 10.3724/SP.J.1005.2010.00235

两个新的前列腺癌相关分泌蛋白的鉴定和表达

钱晓龙, 施庆国, 庞博, 武瑞琴, 俞岚, 李山虎, 王洪涛, 周建光

军事医学科学院生物工程研究所, 北京 100850

摘要: 为了获得代表不同前列腺癌进展阶段的细胞系的胞外蛋白表达谱, 验证其中差异表达蛋白是否为分泌蛋白, 在细胞水平看其是否有作为前列腺癌血清标志物的潜质, 文章利用双向电泳寻找胞外蛋白中差异表达的蛋白, 并质谱鉴定其是何种蛋白质。应用 RT-PCR 方法分析候选分子在 8 种细胞系中的表达和对雄激素刺激的应答, 构建了候选分子的真核表达载体, 瞬时转染 293T 细胞, 应用标签抗体 Western blotting 方法检测验证细胞培养基中候选分子的表达。结果表明: 筛选出两个 C4-2 胞外高表达的分子——磷酸丙糖异构酶-1(Triosephosphate isomerase 1, TPI1)和多配体聚糖结合蛋白(Syndecan binding protein, syntenin, ST1); 转录水平发现它们与前列腺癌恶性程度相关, 并且后者受雄激素的作用下调; 二者均为分泌蛋白。磷酸丙糖异构酶-1 和多配体聚糖结合蛋白均有作为指示前列腺癌发展阶段的血清标志物的潜质。

关键词: 前列腺癌; 血清标志物; 分泌蛋白; 磷酸丙糖异构酶-1; 多配体聚糖结合蛋白

Identification and expression of two new secretory proteins associated with prostate cancer

QIAN Xiao-Long, SHI Qing-Guo, PANG Bo, WU Rui-Qin, YU Lan, LI Shan-Hu, WANG Hong-Tao, ZHOU Jian-Guang

The Laboratory of Molecular Biology of Medicine, Beijing Institute of Biotechnology, Beijing 100850, China

Abstract: Our research intends to obtain extra-cellular proteinogram of cell lines representing different advancement stages of prostate cancer and to test whether screened differential expression proteins can be secreted and used as serum biomarkers for prostate cancer. By examining differential expression spots in two extra-cellular protein 2D-PAGE gels and mass spectrum, candidate molecules were obtained. The expressions of these candidate molecules in eight cell lines and response to androgen stimulus in LNCaP were analyzed by RT-PCR. By constructing eukaryotic expression vectors and western-blotting with anti tags antibodies, the candidate molecules were tested to understand whether they can be expressed in transfected 293T cell culture fluid. Two overexpressed molecules-triosephosphate isomerase 1 (TPI1) and syndecan binding protein, syntenin (ST1)-in extra-cellular proteinogram of C4-2 were screened out; both of them are secretory proteins. On transcriptional level, both proteins were up-regulated with the malignancy of prostate cancer cell lines and ST1 was dose-dependently inhibited by androgen. Considering cellular level results, both TPI1 and ST1 have their potential as serum biomarkers for indicating the developmental stage of prostate cancer.

Keywords: prostate cancer; serum biomarkers; secretory proteins; TPI1; ST1

收稿日期: 2009-11-20; 修回日期: 2009-12-21

基金项目: 国家高技术研究发展计划项目(编号: 2008AA02Z123)和国家自然科学基金项目(编号: 30770834, 30870961)资助

作者简介: 钱晓龙(1978-), 男, 在读博士研究生, 研究方向: 肿瘤胞外蛋白质组学。Tel: 010-66931807; E-mail: xiaolong_qian@eyou.com

施庆国(1978-), 男, 助理实验师, 在读硕士研究生。Tel: 010-66931807; E-mail: shiqingguo@yahoo.com.cn

钱晓龙和施庆国同为第一作者。

通讯作者: 周建光(1956-), 女, 教授, 博士生导师, 研究方向: 肿瘤分子生物学。Tel: 010-66931807; E-mail: zhou.jianguang@yahoo.com.cn

前列腺癌是北美国家男性中最常见的恶性肿瘤之一, 2008 年, 美国新确诊为前列腺癌的患者占该年新确诊为恶性肿瘤患者的 25%^[1]。在我国, 随着人口结构逐步老龄化, 前列腺癌的发病率也在逐年增高^[2]。虽然前列腺癌的诊断已取得很大进展, 前列腺特异性抗原(Prostate specific antigen, PSA)的检测已经广泛应用于临床, 但 PSA 为前列腺特异性, 而非前列腺癌特异性标志物, 且临床上发现部分前列腺癌患者 PSA 为阴性, 因而需寻找新的前列腺癌血清标志物。一类对雄激素非依赖的前列腺癌, 去雄激素治疗无效, 预后较差。既往一些研究利用的细胞系多是雄激素依赖性的前列腺癌细胞系, 不能很好地模拟对雄激素非依赖的临床前列腺癌的生物行为。Thalmann 等^[3]在已建立的 LNCaP 前列腺癌细胞系的基础上, 将之接种于裸鼠, 并将裸鼠去势, 由 LNCaP 演变为 C4-2 前列腺癌细胞系, 该细胞具有 LNCaP 所不具备的雄激素非依赖性以及更强的成瘤性特征, 在研究临床非雄激素依赖性前列腺癌时与临床实际结果相似性更高。

分泌蛋白是在细胞中合成并分泌到细胞外起作用的蛋白质, 在细胞的生长、发育、分化、增殖、凋亡和信号转导等过程中发挥重要作用。分泌释放到细胞外的全部蛋白质构成分泌蛋白质组, 其中包括通过经典及非经典分泌途径所分泌的蛋白质^[4]。通过研究比较肿瘤细胞-正常细胞分泌蛋白质组, 寻找表达有差异的分泌蛋白质, 可有望作为肿瘤标志物应用于临床进行肿瘤的诊断和评估^[5]。

本研究中, 我们比较了雄激素依赖性的 LNCaP 细胞和雄激素非依赖性的 C4-2 细胞胞外蛋白的双向电泳图谱, 并鉴定和初步分析了其中两个新的前列腺癌细胞分泌蛋白——磷酸丙糖异构酶-1(Triosephosphate isomerase 1, TPI1)和多配体聚糖结合蛋白(Syndecan binding protein, syntenin, ST1), RT-PCR 测定 TPI1 和 ST1 在不同恶性程度前列腺癌细胞系中及雄激素诱导下的转录水平的改变, 并通过构建 TPI1 和 ST1 真核表达载体, 检测其在 293T 细胞中和细胞外液中的表达。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 细胞系

良性前列腺增生(Benign prostate hyperplasia,

BPH)细胞由南开大学张琚教授馈赠; 人前列腺癌细胞系 LNCaP、C4-2 及 C4-2B 细胞系由美国 Virginia 大学 L.W.Chung 教授馈赠, 用含 8% 胎牛血清的 RPMI1640 传代培养; 人前列腺癌细胞系 PC3、DU145, 宫颈癌 HeLa 细胞, 人乳腺癌细胞系 MCF-7 和 293T(SV40 转化的人胚肾上皮细胞)为本室保存。

1.1.2 抗体和化学试剂

辣根过氧化物酶(Horseradish peroxidase, HRP)标记的 FLAG 抗体购自 SIGMA 公司; β -actin 抗体, 6 \times His 鼠单克隆抗体, 山羊抗兔、山羊抗鼠 HRP 标记二抗均购自北京中杉金桥生物技术有限公司。乳酸脱氢酶(Lactate dehydrogenase, LDH)测定试剂盒购自北京普利莱基因技术公司, BCA 蛋白测定试剂盒购自 Pierce 公司, ReadyPreP 2-D cleanup 试剂盒、Bio-lyte 两性电解质购自 Bio-Rad 公司。尿素购自 Fluka 公司, CHAPS、DTT 购自 AMRESCO 公司, 其余试剂均为国产分析纯。

1.1.3 引物

在构建 TPI1 和 ST1 真核表达载体引物时, 我们应用 Primer Premier 5.0 软件, 选择扩增 TPI1 和 ST1 完整开放阅读框(Open reading frame, ORF)的序列, 并加上相应的酶切位点和保护碱基, 并增加 0~2 个碱基使多聚组胺酸标签(6 \times His Tag)得以表达; 在 TPI1 和 ST1 半定量 PCR 的引物设计时, 我们应用 Primer Premier 5.0 软件综合引物复性温度、错配等因素, 选择扩增长度在 80~300 bp 之间的上下游引物。本文中所用的引物见表 1。

1.2 方法

1.2.1 细胞损伤的检测和判定

用 LDH 测定试剂盒检测细胞损伤, 当细胞条件培养基(Conditioned medium, CM)中 LDH 相对活力(即 CM 中 LDH 检测值/CM 中 LDH 检测值+等体积细胞裂解液 LDH 检测值)小于 5%时, 可以认为细胞未发生明显损伤(该值越大, 说明细胞损伤越为严重)。标准曲线的制备和细胞损伤程度的检测按普利莱公司的 LDH 测定试剂盒说明书要求进行。

1.2.2 细胞外蛋白质的收集和浓缩

用含 8%胎牛血清的 RPMI 1640 培养液培养细胞

表 1 本文中所用的引物

引物编号	用途	序列(5 → 3)
TPI-FOR- <i>Bam</i> H	构建 pcDNA3.1-TPI1	CGGGATCCAGCGCCTCGGCTCCAGCG
TPI-REV- <i>Kpn</i>	构建 pcDNA3.1-TPI1	GGGGTACCAGATGCTTGGTGTGGATGACAGGTGTG
ST1-FOR- <i>Bam</i> H	构建 pCMV-Tag 2B-ST1	CGGGATCCTCTCTCTATCCATCTCTCGAAGAC
ST1-REV	构建 pCMV-Tag 2B-ST1	TTAAACCTCAGGAATGGTGTGG
2B-FLAG-FOR	构建 pcDNA3.1-FLAG-ST1	GCCACCATGGATTACAAGGATG
ST1-REV- <i>Kpn</i>	构建 pcDNA3.1-FLAG-ST1	GGGGTACCACAACCTCAGGAATGGTGTGGTC
tpi-for-s	TPI1 半定量 RT-PCR	GGCATCACTGAGAAGGTTGTTTTTC
tpi-rev-s	TPI1 半定量 RT-PCR	CCAGTCACAGAGCCTCCATAAATG
ST1-for-s	ST1 半定量 RT-PCR	TTCTCCAGCCTCATTGGTTGG
ST1-rev-s	ST1 半定量 RT-PCR	GCCTGTTTGAGCACCTTGTC

至 75%融合，去除培养液，PBS 洗涤 3 次，无酚红、无血清的 RPMI I640 培养液继续培养 24 h 后收集细胞培养液，先以 0.45 μm 的无菌滤器过滤上清，以去除细胞碎片，再用 Millipore 公司的 Amicon Ultra-15 超滤管超滤浓缩样品，-70℃ 保存或 BCA 法定量后用于 Western blotting 检测。

1.2.3 LNCaP 细胞的雄激素诱导

LNCaP 细胞培养至 60%融合，弃去含血清的培养液，用无酚红、无血清的 RPMI I640 培养液培养 24 h 后，换为添加含人工合成的雄激素 R1881(用无水乙醇配制)的培养液继续培养 48 h，R1881 浓度分别为 0.01 nmol/L、0.1 nmol/L 和 1 nmol/L。

1.2.4 LNCaP 和 C4-2 细胞胞外蛋白质的双向电泳和分析

取用 ReadyPreP 2-D cleanup 试剂盒纯化的 80 μg LNCaP和C4-2 细胞胞外蛋白加到IPG phor电泳槽中，轻覆以IPG干胶条(7 cm, pH3~10)，第一向电泳操作及第二向电泳前的胶条平衡过程按照 BioRad公司的指南进行。将胶条转入 10%SDS-PAGE 胶上端，低熔点琼脂糖封胶液固定胶条，Mini PROTEAN[#]3 蛋白电泳仪进行第二向垂直电泳。电泳结束后用高解析离子淌度质谱(High Definition Mass Spectrum, HDMS)分析兼容的银盐染色法对 SDS-PAGE胶染色，ImageScanner扫描，PDQuest软件转化为数字化图像后，对染色阳性的蛋白质斑点进行检测、背景消减、标准化和匹配分析等。取 3 份LNCaP 与 C4-2 细胞系的胞外蛋白质进行双向电泳，利用 PDQuest软件中提供的蛋白质斑点回顾性分析工具

(Spot Review Tool)，选取重复性和分辨率都较好，且差异较为稳定的斑点进行后续研究。

1.2.5 银染凝胶差异点的挖取和 HDMS 鉴定及数据库检索

挖取重复性和分辨率较好的蛋白质斑点，在军事医学科学院仪器测试分析中心利用HDMS质谱仪 (Waters公司，美国)，采用概率打分和容错性搜索的方法进行质谱分析^[6]，用 Mascot 软件进行数据库搜索。

1.2.6 表达 His 标签的真核表达载体 pcDNA3.1-TPI1 和 pcDNA3.1-FLAG-ST1 的构建

以 C4-2 细胞 cDNA 为模板，用 TPI-FOR-*Bam*H 和 TPI-REV-*Kpn* 引物和 Pfu 酶进行 PCR 反应，双酶切后连接至 pcDNA3.1 的 *Bam*H 和 *Kpn* 位点即得到 pcDNA3.1-TPI1。用 *Bam*H 与 *Kpn* 进行双酶切鉴定。

以 C4-2 细胞的 cDNA 为模板，用 ST1-FOR-*Bam*H 和 ST1-REV 引物和 Pfu 酶进行 PCR 反应，*Bam*H 单酶切后连接至 pCMV-Tag 2B 载体的 *Bam*H 和 *Eco*R V 两个位点间即得到 pCMV-Tag 2B-ST1。*Eco*R 单酶切 pcDNA3.1 空质粒并用 Klenow Fragment 补平粘端后，再用 *Kpn* 单酶切；以 pCMV-Tag 2B-ST1 为模板，用 2B-FLAG-FOR 和 ST1-REV-*Kpn* 引物和 Pfu 酶进行 PCR 反应，然后用 *Kpn* 单酶切 PCR 产物，与已经制备好的 pcDNA3.1 载体连接即得 pcDNA3.1-FLAG-ST1。构建完成后用 *Hind* 进行单酶切鉴定。

1.2.7 RNA 的提取和半定量 RT-PCR 检测

RNA 的提取、反转录和半定量 RT-PCR 按照常规方法进行。磷酸甘油醛脱氢酶(Phosphoglyceraldehyde dehydrogenase, GAPDH)在多数人类细胞系中的表达是恒定的, 故而用作半定量 RT-PCR 的内对照。

1.2.8 293T 细胞胞内蛋白质的提取和胞内、胞外蛋白质的 Western blotting 检测

均按照常规方法进行。

2 结果与分析

2.1 LNCaP 与 C4-2 细胞胞外蛋白质的双向电泳图谱的比较

对 3 份分离纯化的 LNCaP 与 C4-2 细胞的胞外蛋白质进行了双向电泳和银盐染色(图 1A)。PDQuest 软件分析显示 3 份分离纯化的 LNCaP 与 C4-2 细胞的胞外蛋白质均存在比较稳定的 2 个蛋白质斑点的差异(图 1B)。PDQuest 软件中提供的蛋白质斑点回顾性分析工具显示, 1 号斑点在 C4-2 中比 LNCaP 上调 2.114 倍, 2 号斑点在 C4-2 中比 LNCaP 上调 3.217 倍。

2.2 差异点的质谱鉴定

根据 HDMS 鉴定及数据库 Mascot 检索的结果(Mowse 分数大于 38 即可认为 $P < 0.05$)。图 1 中的 1 号点被鉴定为 TPI1, Mowse 分数为 623, 匹配的序列覆盖率为 72%, 相对分子量为 26 653 Da, 等电点为 6.45; 2 号点被鉴定为 ST1, Mowse 分数为 275, 匹配的序列覆盖率为 28%, 相对分子量为 32 397 Da, 等电点为 7.05; 二者鉴定结果均可信并与双向电泳点的位置相符(图 2)。

2.3 内源性 TPI1 和 ST1 在不同前列腺癌细胞系中及雄激素诱导下转录水平的表达分析

RT-PCR 方法在不同细胞系中检测 TPI1 和 ST1 转录水平的表达, 结果显示二者在恶性程度更高的前列腺癌细胞系 C4-2、C4-2B 和 DU145 中比 LNCaP 表达高, 而在前列腺良性增生细胞系 BPH 中低表达(图 3A), 在宫颈癌 Hela 细胞系和人乳腺癌细胞系 MCF-7 中也有表达。RT-PCR 检测 LNCaP 细胞系中不同浓度雄激素 R1881 诱导后 ST1 转录水平的表达, 显示随着诱导的雄激素浓度升高, ST1 表达水平降低(图 3B)。

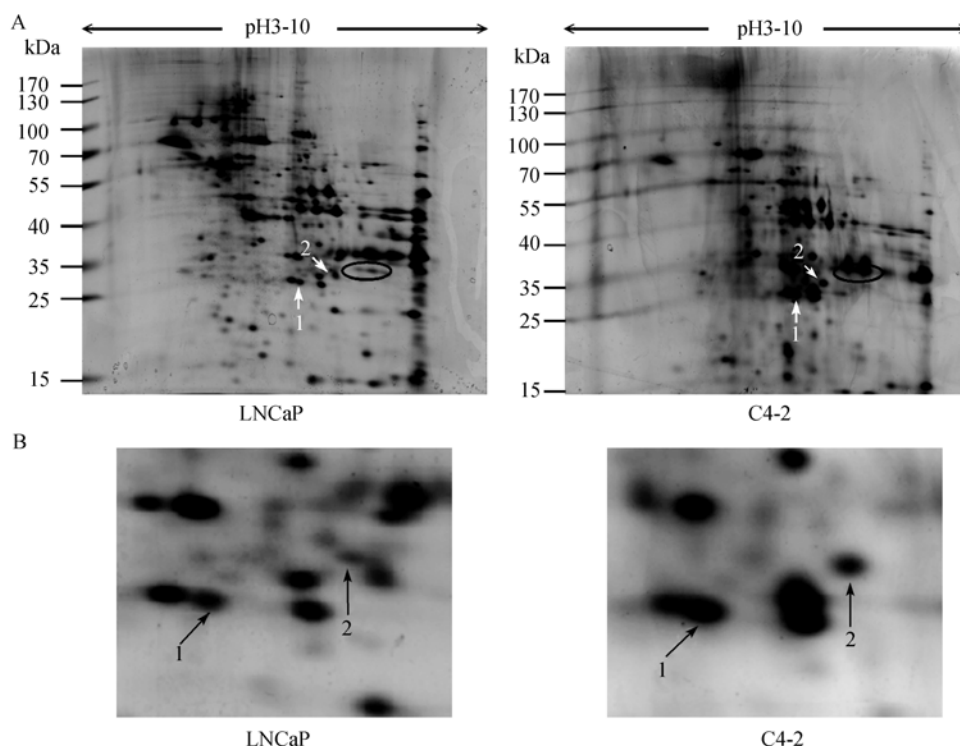


图 1 LNCaP 与 C4-2 细胞胞外蛋白质的双向电泳图谱的比较

A: LNCaP 与 C4-2 细胞胞外蛋白质的双向电泳图谱。箭头所示的 1 号、2 号斑点为两个有稳定差异的点, 椭圆区域内的两个点经质谱鉴定均为 PSA(前列腺特异性抗原); B: A 图中 1、2 号斑点所在区域的局部放大, 1、2 号斑点显示在 C4-2 胞外比 LNCaP 上调。

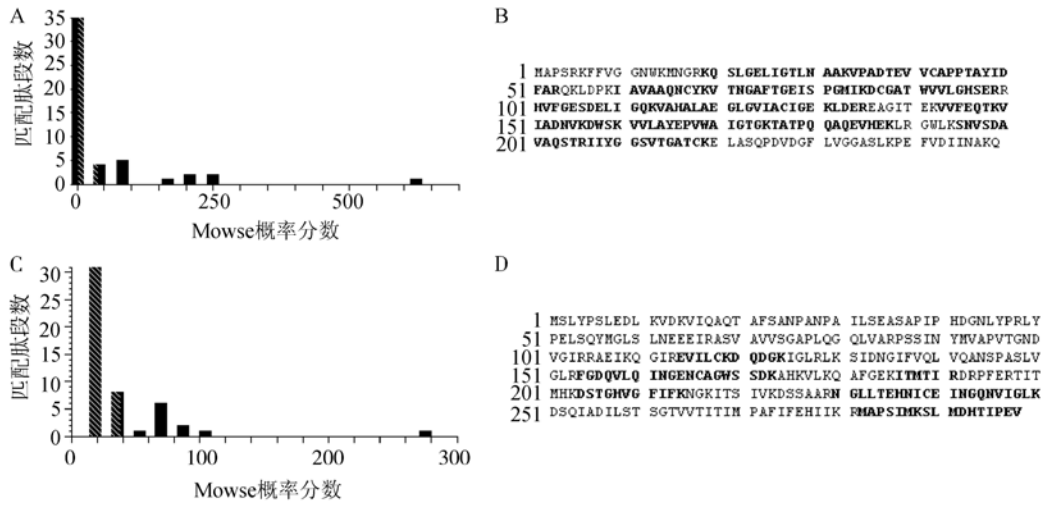


图2 差异点的质谱鉴定

A: 1号点的 Mowse 分数; B: 1号点的肽段匹配情况(黑体字为匹配肽段); C: 2号点的 Mowse 分数; D: 2号点的肽段匹配情况(黑体字为匹配肽段)。

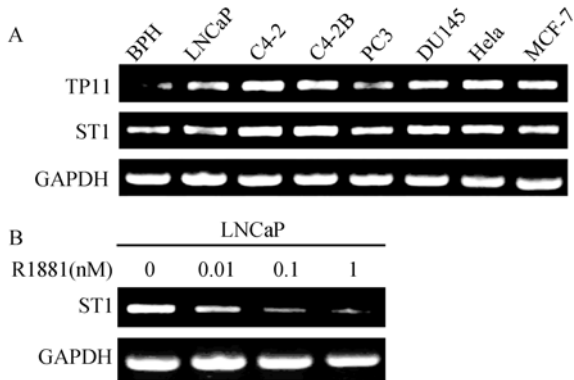


图3 RT-PCR 检测 TPI1 与 ST1 表达的特点

A: TPI1 和 ST1 在不同细胞系中的表达谱; B: TPI1 和 ST1 在不同浓度 R1881 作用下的表达差异。

2.4 TPI1 与 ST1 真核表达载体的构建及在 293T 细胞中的表达

成功构建载体 pcDNA3.1-TPI1(C 端可表达 His 标签)和 pcDNA3.1-FLAG-ST1(C 端可表达 His 标签且 N 端可表达 FLAG 标签), 测序证实没有序列突变, 瞬时转染 293T 细胞, 24 h 后提取胞内蛋白, 各取 20 μ g 蛋白用 6 \times His 鼠单克隆抗体进行 Western blotting 检测, 证实 TPI1 表达(图 4a)。用 6 \times His 鼠单克隆抗体和 HRP 标记的 FLAG 抗体均检测到 ST1 已成功表达(图 4b)。

2.5 外源表达的 TPI1 和 ST1 分子可分泌性质

成功对 293T 细胞用 pcDNA3.1-TPI1、pcDNA3.1-FLAG-ST1 和 pcDNA3.1 空载体进行了转染, LDH 相

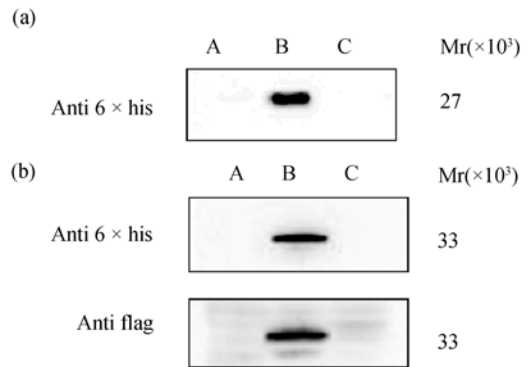


图4 TPI1 与 ST1 在 293T 细胞中的外源表达

(a): 应用 His 标签抗体进行 TPI1 的外源表达验证。A 为正常培养的 293 细胞胞内蛋白, B 为瞬时转染 pcDNA3.1-TPI1 的 293T 细胞胞内蛋白, C 为瞬时转染 pcDNA3.1 空载体的 293T 细胞胞内蛋白; (b): 应用 His 标签抗体和 HRP 标记的 FLAG 抗体进行 ST1 的外源表达验证。A 为正常培养的 293 细胞胞内蛋白, B 为瞬时转染 pcDNA3.1-FLAG-ST1 的 293T 细胞胞内蛋白, C 为瞬时转染 pcDNA3.1 空载体的 293T 细胞胞内蛋白。

对活力分别为 3.3%、2.9%和 2.2%, 表明细胞未发生明显损伤。提取转染了 pcDNA3.1-TPI1 和 pcDNA3.1 空载体的 293T 细胞的胞内、胞外蛋白, 各取 20 μ g 蛋白用 6 \times His 鼠单克隆抗体和 Actin 抗体进行 Western blotting 检测, 结果显示, 外源的 TPI1 在 pcDNA3.1-TPI1 转染的 293T 细胞培养液中表达, 空载体转染的细胞培养液中无表达, 而未能在细胞外液中检测到作为对照的定位于胞内的蛋白 α -actin(图 5a)。

从转染 pcDNA3.1-FLAG-ST1 和 pcDNA3.1 空载体的 293T 细胞中各取 20 μ g 胞内、胞外蛋白, 用

6×His 鼠单克隆抗体、HRP 标记的 FLAG 抗体和 Actin 抗体进行 Western blotting 检测, 结果显示 ST1 在细胞培养液中表达, 而未能在细胞外液中检测到作为对照的定位胞内的蛋白 β -actin(图 5b)。

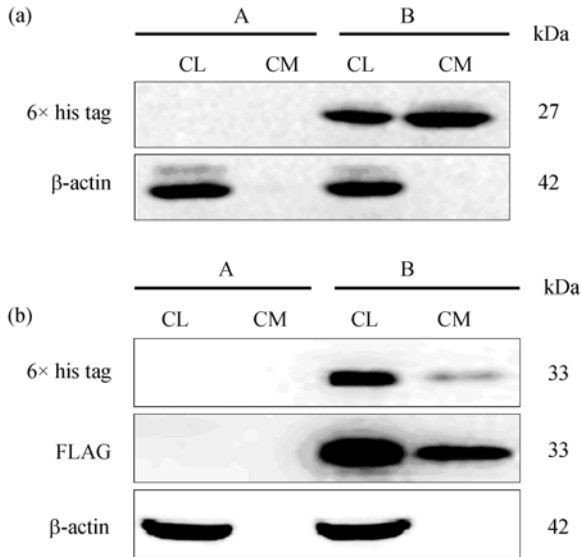


图 5 293T 细胞中外源表达的 TPII 和 ST1 的可分泌性分析

(a) TPII 的可分泌性分析: A 为瞬时转染 pcDNA3.1 空质粒的 293T 细胞, B 为瞬时转染 pcDNA3.1-TPII 的 293T 细胞; (b) ST1 的可分泌性分析: A 为瞬时转染 pcDNA3.1 空质粒的 293T 细胞, B 为瞬时转染 pcDNA3.1-FLAG-ST1 的 293T 细胞。CL: 细胞裂解液; CM: 细胞条件培养基。

3 讨论

Sardana 等^[7]应用电喷雾电离质谱法合并反向 C-18 色谱法对前列腺癌细胞系 PC3(AR)6 的胞外蛋白质组分进行了分析, 发现其中含有信号肽, 通过经典途径分泌的蛋白质仅占 23%。由此可见, 直接收集细胞外蛋白进行分泌蛋白质组研究, 可以获得大量通过非经典途径分泌的蛋白质, 并为肿瘤血清标志物提供候选分子。

本研究中, 我们第一次应用蛋白质双向电泳技术进行了前列腺癌细胞系 LNCaP 和 C4-2 的胞外蛋白质组分析, 通过多种实验确认了 TPII 和 ST1 是在 LNCaP 和 C4-2 细胞系中差异表达的分泌蛋白质。我们首先通过 LNCaP 和 C4-2 细胞胞外蛋白质的双向电泳图谱的比较, 找到了两个在 C4-2 细胞中高表达的分泌蛋白质的斑点, HD 质谱鉴定为 TPII 和 ST1。由

于 TPII 和 ST1 都没有明显的信号肽结构, 我们分别构建了其相应的真核表达载体, 通过外源性分泌实验证实它们可以分泌至细胞外, 提示在前列腺癌患者血清标本中有可能检测到它们的表达。其中用 N 端 FLAG 标签的抗体和 C 端 His 标签的抗体均可以检测到 ST1 的分泌, 提示其很可能是以全长的形式到达细胞外的。TPII 是糖酵解途径中的一个关键组分, Martin 等^[8]利用蛋白质组学的方法在 LNCaP 细胞的胞外检测到了 TPII 蛋白质的存在, 这与我们的结果相符, 但未证实其为分泌蛋白质。其他的肿瘤如在结肠癌^[9]、肺小细胞肺癌的组织标本^[10,11]和膀胱癌患者的组织标本及尿沉渣中均检测到其高表达^[12]。糖酵解途径的过度活化是恶性肿瘤快速进展的一个标志, 而我们的实验证实, 外源 TPII 容易在细胞外液中聚集, 说明其有作为候选肿瘤标志物的潜质。ST1 含有一系列串联重复的 PDZ 结构域, 这些结构域可以与蛋白聚糖类的胞内区结合, 介导细胞与细胞骨架间的信号转导^[13]。ST1 还可以刺激 *c-jun* 的磷酸化并激活 Wnt 信号通路^[14], 并且可以通过激活 *c-src* 促进黑色素瘤的转移^[15], 所有这些均提示 ST1 与恶性肿瘤的进展密切相关。我们发现在恶性程度较高的 C4-2B, 以及雄激素受体和 PSA 阴性的前列腺癌细胞系 PC3 和 DU145 RNA 水平 TPII 和 ST1 均呈现高表达, 说明其在前列腺癌诊断上可以作为 PSA 有益的补充。

综上所述, 我们的研究证明 TPII 和 ST1 具有可分泌性质。由于我们还没有找到二者比较好的特异性抗体, 因此未用 Western blot 和 ELISA 方法对二者在 LNCaP 和 C4-2 细胞外培养基中内源性差异表达情况进行检测。但胞外蛋白质双向电泳和半定量 RT-PCR 的结果保持一致, 说明二者在细胞水平体现出较好的作为前列腺癌血清诊断标志物的潜质, 特别是在指示前列腺癌的发展阶段方面。当然, 确切评估这两个分子的临床价值, 还需要通过建立相应的动物模型和大量的临床血清本来验证。

参考文献(References):

- [1] Jemal A, Siegel R, Samuels A, Ward E, Hao YP, Xu JQ, Murray T, Thun MJ. Cancer statistics, 2008. *CA Cancer J Clin*, 2008, 58(1): 71-96. [\[DOI\]](#)
- [2] Liu GF. Epidemiological survey of benign prostatic hy-

- perplasia and prostate cancer in China. *Chin Med J*, 2000, 113(4): 299–302.
- [3] Thalmann GN, Sikes RA, Wu TT, Degeorges A, Chang SM, Ozen M, Pathak S, Chung LWK. LNCaP Progression model of human prostate cancer: androgen-independence and osseous metastasis. *Prostate*, 2000, 44(2): 91–103. [\[DOI\]](#)
- [4] Volmer MW, Radacz Y, Hahn SA, Klein-Scory S, Stuhler K, Zapatka M, Schmiegel W, Meyer HE, Schwarte- Waldhoff I. Tumor suppressor Smad4 mediates downregulation of the anti-adhesive invasion promoting matricellular protein SPARC: Landscaping activity of Smad4 as revealed by a “secretome” analysis. *Proteomics*, 2004, 4(5): 1324–1334. [\[DOI\]](#)
- [5] 甄朱. 蛋白质组学进展. 生物工程学报, 2001, 17(5): 491–493.
- [6] 吴松峰, 朱云平, 贺福初. 人类蛋白质组表达谱蛋白质鉴定的分步搜索策略. 遗传, 2005, 27(5): 687–693.
- [7] Sardana G, Marshall J, Diamandis EP. Discovery of candidate tumor markers for prostate cancer via proteomic analysis of cell culture-conditioned medium. *Clin Chem*, 2007, 53(3): 429–437. [\[DOI\]](#)
- [8] Martin DB, Gifford DR, Wright ME, Keller A, Yi E, Goodlett DR, Aebersold R, Nelson PS. Quantitative proteomic analysis of proteins released by neoplastic prostate epithelium. *Cancer Res*, 2004, 64(1): 347–355. [\[DOI\]](#)
- [9] Katayama M, Nakano H, Ishiuchi A, Wu WW, Oshima R, Sakurai J, Nishikawa H, Yamaguchi S, Otsubo T. Protein pattern difference in the colon cancer cell lines examined by two-dimensional differential in-gel electrophoresis and mass spectrometry. *Surg Today*, 2006, 36(12): 1085–1093. [\[DOI\]](#)
- [10] Chen GA, Gharib TG, Huang CC, Thomas DG, Shedden KA, Taylor JMG, Kardia SLR, Misek DE, Giordano TJ, Iannettoni MD, Orringer MB, Hanash SM, Beer DG. Proteomic analysis of lung adenocarcinoma: identification of a highly expressed set of proteins in tumors. *Clin Cancer Res*, 2002, 8(7): 2298–2305.
- [11] Li C, Xiao ZQ, Chen ZC, Zhang XP, Li JL, Wu XY, Li XY, Yu H, Li MY, Zhu G, Liang SP. Proteome analysis of human lung squamous carcinoma. *Proteomics*, 2006, 6(2): 547–558. [\[DOI\]](#)
- [12] Montgomerie JZ, Gracy RW, Holshuh HJ, Keyser AJ, Bennett CJ, Schick DG. The 28K protein in urinary bladder, squamous metaplasia and urine is triosephosphate isomerase. *Clin Biochem*, 1997, 30(8): 613–618. [\[DOI\]](#)
- [13] Grootjans JJ, Zimmermann P, Reekmans G, Smets A, Degeest G, Durr J, David G. Syntenin, a PDZ protein that binds syndecan cytoplasmic domains. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1997, 94(25): 13683–13688. [\[DOI\]](#)
- [14] Luyten A, Mortier E, Van Campenhout C, Taelman V, Degeest G, Wuytens G, Lambaerts K, David G, Bellefroid EJ, Zimmermann P. The postsynaptic density 95/disc-large/zona occludens protein syntenin directly interacts with frizzled 7 and supports noncanonical Wnt signaling. *Mol Biol Cell*, 2008, 19(4): 1594–1604. [\[DOI\]](#)
- [15] Boukerche H, Su ZZ, Prevot C, Sarkar D, Fisher PB. mda-9/Syntenin promotes metastasis in human melanoma cells by activating c-Src. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105(41): 15914–15919. [\[DOI\]](#)

•综合信息•

“全国高等院校遗传学教学改革研讨会”将在芜湖召开

中国遗传学会“全国高等院校遗传学教学改革研讨会”定于2010年4月23-26日在安徽芜湖召开。会议将就遗传学教学方法和课程体系改革、遗传学精品课程与教学团队建设、遗传学教材与教学辅助教材建设、遗传学实验教学体系改革及实验内容的更新等问题进行交流,目的是探讨遗传学教学如何适应现代遗传学的发展。

主办单位:中国遗传学会、首都师范大学、安徽师范大学、中国遗传学会教育教学委员会

协办单位:安徽省遗传学会、安徽省植物学会、《遗传》编辑部

大会报告邀请人有:乔守怡(遗传学教学改革思考);孙开来、邱广蓉(人类发育与遗传学整合课程教学体会);张飞雄(高校遗传学教学方法和课程体系改革的思考与实践);丁毅(紧跟生命科学发展趋势,努力搞好遗传学课程与团队建设);刘庆昌(农科遗传学教学的一些思考);张根发(新形势下高校遗传学双语教学发展对策与路径选择的分析与思考)等。

日程安排与收费:4月23日全天在安徽芜湖安徽师范大学铁山宾馆报到;24日大会报告,24日晚上青年学者论坛,主题是:基因环境与社会;25日分组交流(实践教学、理论教学、双语教学);26日考察(自费)。

参会代表收取会议费800元,会员700元(凭会员证),学生代表600元(凭学生证)。

联系人:中国遗传学会办公室王长城, E-mail: ccwang@genetics.ac.cn, 电话: 010-64889611。