设计大赛

第四组

**人鼠嵌合型FZD7 knock in小鼠FZD7蛋白表达及FZD7多肽疫苗的抗肿瘤效应研究**

**孙浩彬 浦思嘉 黄嘉楠**

**指导老师：王晓梅 Christina C.N. WU**

深圳大学，518060

**立项依据：**中国每年新增癌症患者占全球的20%以上，肿瘤已成为世界瞩目的健康杀手。目前，靶向治疗是治疗肿瘤的有效手段，其主要针对肿瘤干细胞表面标志物进行设计研究，具有专一性和特异性。FZD7是肿瘤干细胞的表面标志物，可激活Wnt信号传导通路而介导肿瘤的生长和迁移，FZD7失活，将阻断Wnt经典和非经典通路，明显减少肿瘤细胞的存活和迁移，故认为可以FZD7作为靶点研制抗肿瘤疫苗，又因FZD7免疫原性弱，所以采用免疫增强剂TLR7与其偶联以使之能被免疫系统所识别。

**设计思路：**构建嵌合型人源化FZD7 KI小鼠模型，运用WB技术检测小鼠不同时期、不同组织中FZD7的蛋白表达。将新型免疫佐剂TRL7与FZD7多肽偶联制备FZD7多肽免疫敏化疫苗，免疫小鼠3次，免疫间隔为两周，检测该疫苗在体内外的免疫应答效应。第3次免疫后的第2天对模型小鼠进行荷瘤实验，并检测FZD7多肽疫苗的抑瘤效果及免疫毒性。

**实验内容：**

1. WB检测并分析野生型和嵌合型FZD7 KI小鼠在出生0天、3天、7天、14天、28天不同组织中FZD7的蛋白表达量。选取组织有：皮肤、脑、胸腺、心脏、肺、肝脏、胃、小肠、脾、肾、肌肉、骨髓。
2. FZD7多肽疫苗的制备：确定FZD7抗原表位，构建FZD7蛋白表达载体，并提纯基因工程FZD7蛋白。将新型免疫佐剂TRL7与FZD7蛋白偶联，制备FZD7-TRL7免疫敏化疫苗。
3. FZD7多肽疫苗的体外免疫应答反应：取野生型小鼠脾淋巴细胞，体外抗原刺激后检测炎性因子与细胞因子表达水平，验证免疫激活效应。
4. FZD7多肽疫苗的抗肿瘤效应：FZD7-TRL7疫苗免疫FZD7 KI小鼠3次，第3次免疫后的第2天将FZD7阳性细胞接种小鼠。实时记录小鼠肿瘤体积、重量、荷瘤后的存活时间，检测细胞因子及抗体效价等，确定体内免疫应答效应、靶向杀伤肿瘤效应。
5. FZD7多肽疫苗的免疫毒性检测：FZD7-TRL7疫苗分别免疫两周龄FZD7 KI小鼠和野生型小鼠3次，免疫间隔两周，第3次免疫后的第5天，分别检测两种小鼠及免疫器官指数、各组织切片等，观察免疫毒性效应发生情况。

**创新性：**

1.课题组具有FZD7基因的专利权，该多肽疫苗的研发具有原创性。

2.本课题创新性地将TRL7激动剂与FZD7蛋白偶联，解决了肿瘤细胞特异性蛋白在体内免疫原性弱，不易被免疫系统识别的问题。

3.本实验中采用嵌合型人源化FZD7 KI小鼠模型进行实验，具有更高的临床参考意义与价值。

**可行性：**1.实验室已制备出人源化FZD7 KI的小鼠模型。2. 前期实验制备出FZD7免疫敏化疫苗并证实FZD7 KI的小鼠FZD7蛋白出生后呈现发育递减式表达，可用于肿瘤荷瘤模型。3实验室具备完成本项目的实验条件。