

学校编号: 10384

分类号\_\_\_\_\_密级\_\_\_\_\_

学号: B200126009

UDC\_\_\_\_\_

厦 门 大 学

博 士 学 位 论 文

肿瘤细胞中 PKCs 的表达  
及阿霉酮 A 对胃癌细胞的作用

The expression of PKCs in malignant tumor and the effects of  
Amoitone A against gastric cancer cells

张鸣青

指导教师姓名: 苏文金 教授

申请学位级别: 博 士 学 位

专 业 名 称: 动 物 学

论文提交日期: 2009 年 7 月 17 日

论文答辩日期: 2009 年 8 月 18 日

学位授予单位: 厦 门 大 学

学位授予日期:

答辩委员会主席: 沈月毛

评 阅 人: 耿运琪, 韩伟, 俞雁,

桑建利, 王永潮

2009 年 8 月

## 厦门大学学位论文原创性声明

本人呈交的学位论文是本人在导师指导下，独立完成的研究成果。本人在论文写作中参考其他个人或集体已经发表的研究成果，均在文中以适当方式明确标明，并符合法律规范和《厦门大学研究生学术活动规范（试行）》。

另外，该学位论文为（ ）课题（组）的研究成果，获得（ ）课题（组）经费或实验室的资助，在（ ）实验室完成。（请在以上括号内填写课题或课题组负责人或实验室名称，未有此项声明内容的，可以不作特别声明。）

声明人（签名）：

年 月 日

## 厦门大学学位论文著作权使用声明

本人同意厦门大学根据《中华人民共和国学位条例暂行实施办法》等规定保留和使用此学位论文，并向主管部门或其指定机构送交学位论文（包括纸质版和电子版），允许学位论文进入厦门大学图书馆及其数据库被查阅、借阅。本人同意厦门大学将学位论文加入全国博士、硕士学位论文共建单位数据库进行检索，将学位论文的标题和摘要汇编出版，采用影印、缩印或者其它方式合理复制学位论文。

本学位论文属于：

（      ）1.经厦门大学保密委员会审查核定的保密学位论文，于  
年    月    日解密，解密后适用上述授权。

（      ）2.不保密，适用上述授权。

（请在以上相应括号内打“√”或填上相应内容。保密学位论文应是已经厦门大学保密委员会审定过的学位论文，未经厦门大学保密委员会审定的学位论文均为公开学位论文。此声明栏不填写的，默认为公开学位论文，均适用上述授权。）

声明人（签名）：

年    月    日

## 目 录

摘 要 .....	I
Abstract .....	III
缩略语及中英文对照 .....	V
第一部分 前 言 .....	1
1. PKC 家族及其与细胞凋亡的相关性 .....	1
1.1 PKCs 激酶家族蛋白 .....	1
1.2 PKC 与细胞凋亡的关系 .....	5
1.3 PKCs 家族和癌症的相关性 .....	12
2. RNAi 与肿瘤的基因治疗 .....	12
2.1 基因治疗的原理和方法 <sup>[75]</sup> .....	13
2.2 主要基因治疗途径 .....	13
2.3 RNAi 与免疫防御 .....	16
3. 本文研究目的与内容 .....	28
第二部分 乳腺癌及胃癌 PKCs 表达与其分化程度的相关性 .....	29
1. 材料与方法 .....	29
1.1 临床标本 .....	29
1.2 主要仪器及耗材 .....	29
1.3 免疫组织化学分析临床肿瘤样品 .....	30
2. 结果与分析 .....	34
2.1 乳腺癌 PKCs 表达与其分化程度的相关性 .....	34
2.2 胃癌 PKCs 表达与其分化程度的相关性 .....	42
3. 讨论 .....	47
3.1 乳腺癌 PKCs 表达与其分化程度的相关性 .....	47
3.2 PKCs 在胃癌中表达及意义 .....	48
第三部分 PKC $\alpha$ siRNA 在体内外对胃癌细胞的作用 .....	50
1. 材料与方法 .....	50
1.1 肿瘤细胞株 .....	50
1.2 培养基 .....	50
1.3 主要试剂与溶液 .....	50

1.4 方法	54
2. 结果与分析	61
2.1 PKC $\alpha$ siRNA 对 BGC-823 细胞 PKC 基因表达的影响	61
2.2 PKC $\alpha$ siRNA 对 BGC-823 细胞生长的作用	62
2.3 PKC $\alpha$ siRNA 对细胞增殖相关基因表达的作用	63
2.4 PKC $\alpha$ siRNA 对 BGC-823 细胞集落形成的影响	63
2.5 PKC $\alpha$ siRNA 在体内作用的研究	64
2.6 Oligofectamine –PKC $\alpha$ siRNA 对人胃癌裸鼠皮下移植瘤的作用	65
3. 讨论	66
第四部分 阿霉酮 A 在体内外对胃癌细胞 BGC-823 的作用	69
1. 材料与方法	69
1.1 化合物来源	69
1.2 方法	69
2. 结果与分析	69
2.1 阿霉酮 A 对胃癌细胞生长的作用	69
2.2 阿霉酮 A 对胃癌细胞凋亡的作用	70
2.3 阿霉酮 A 能够诱导 TR3 核浆转运	71
2.4 阿霉酮 A 对裸鼠移植瘤生长的影响	73
3. 讨论	75
第五部分 结 论	78
参考文献	80
致 谢	92

**Contents**

Abstract in Chinese .....	I
Abstract.....	III
List of Abbreviations .....	V
Part I Introduction.....	1
1. PKC family and its associations with apoptosis.....	1
1.1 PKCs family protein kinase .....	1
1.2 PKC and apoptosis .....	5
1.3 The correlation between PKCs and cancer .....	12
2. RNAi and tumor gene therapy.....	12
2.1 The principles of gene therapy and methods .....	13
2.2 The main means of gene therapy .....	13
2.3 RNAi and immune defense .....	16
3.The purpose and content of this dissertation.....	28
Part II PKCs and differentiation degree of breast cancer or gastric cancer ...	29
1. Materials and Methods.....	29
1.1 Clinical samples .....	29
1.2 The main instruments and reagents.....	29
1.3 Immunohistochemical analysis of clinical tumor samples .....	30
2. Results and Analysis .....	34
2.1 The relavance between the expressions of PKCs and the degrees of differentiation in breast cancer .....	34
2.2 The relavance between the expressions of PKCs and the degrees of differentiation in gastric cancer .....	42
3. Discussion.....	47
3.1 The relavance between the expressions of PKCs and the degrees of differentiation in breast cancer .....	47
3.2 The significance of PKCs expressions and PKC $\alpha$ siRNA treatment in gastric cancer.....	48
Part III. PKC and cancer cells in vitro and in vivo.....	50
1. Materials and Methods.....	50
1.1 Tumor cell lines .....	50
1.2 Media .....	50
1.3 Main reagents and buffers .....	50

1.4 Methods .....	54
2. Results .....	61
2.1 The effects of PKC $\alpha$ siRNA on BGC-823 cells .....	61
2.2 The effects of PKC $\alpha$ siRNA on the growth of BGC-823 cells .....	62
2.3 The actions of PKC $\alpha$ siRNA on the expressions of proliferation-related genes .....	63
2.4 The effects of PKC $\alpha$ siRNA on the colony formation of BGC-823 cells .....	63
2.5 The in vivo effects of PKC $\alpha$ siRNA.....	64
2.6 The effects of Oligofectamine-PKC $\alpha$ siRNA on gastric carcinoma in nude mice .....	65
3. Discussions.....	66
Part IV Effect of Amoitone A on gastric cancer cells BGC-823 in vitro and in vivo.....	69
1. Materials and Methods.....	69
1.1 Compound sources.....	69
1.2 Methods .....	69
2. Results .....	69
2.1 The effect of amoitone A on the growth of gastric cancer cells .....	69
2.2 Amoitone A induces apoptosis in gastric cancer cells .....	70
2.3 Amoitone A induces TR3 translocation.....	71
2.4 Amoitone A inhibits the growth of transplanted tumor in nude mice ..	73
3. Discussions.....	75
Part V Conclusions.....	78
References.....	80
Acknowledgements .....	92

## 摘要

肿瘤是一种基因疾病，其发生机理及抗肿瘤药物的研发是当前生命科学研究的热点。本文应用现代生物学技术，观察乳腺癌、胃癌组织中PKCs表达及与肿瘤分化程度的相关性，研究PKC $\alpha$  siRNA和阿霉素A在体内外对胃癌细胞BGC-823的作用，对探索肿瘤发生、发展的分子机理和开发抗肿瘤药物及新技术具有重要的学术意义和潜在的应用价值。

首先，研究了蛋白激酶C (Protein Kinase C, PKC) 和乳腺癌分化及转移的相关性。通过免疫组织化学方法检测 48 例乳腺癌病人手术标本 PKC 同工酶蛋白表达，发现 PKC  $\alpha$  和 PKC  $\beta$  与乳腺癌分化程度无显著相关性；PKC  $\eta$  与乳腺癌分化程度显著相关；PKC  $\zeta$  与乳腺癌分化程度极显著相关；通过 HE 染色显示的乳腺肿瘤组织与 PKC 免疫组化的结果进行对照，发现 PKC  $\eta$ 、PKC  $\zeta$  的表达量在大多数乳腺浸润性导管癌细胞中明显增多，且在乳腺肿瘤组织胞浆中的表达与肿瘤的分化程度高低呈正比关系，与肿瘤的恶性程度呈反比关系。

其次，采用免疫组织化学卵白素生物素过氧化物酶连接法对 80 例胃癌标本蛋白激酶 C 同工酶，包括 PKC $\alpha$ 等蛋白的表达水平进行对比研究，探讨它们在胃癌中的表达水平与肿瘤分化程度的相关性。结果表明，在 I - II 型与III型胃癌中，PKC $\alpha$ 阳性率分别为 67.5%与 19.1% ( $P < 0.05$ )，在胃癌未转移的病例中，PKCs 蛋白表达水平普遍较高，PKC $\alpha$ 与肿瘤转移关系有极显著意义 ( $P < 0.01$ )。此外，PKCs 蛋白表达水平与肿瘤患者的年龄无关。

接着，研究了 PKC $\alpha$  siRNA 在体内外对人胃癌细胞 BGC-823 的作用。构建了表达 PKC $\alpha$  siRNA 的载体，将之转染入人胃癌细胞 BGC-823 中，发现 PKC $\alpha$  siRNA 特异性地抑制目的基因的表达和人胃癌细胞的增殖，与细胞增殖相关基因 c-myc、PCNA 表达也出现下调，提示了 PKC $\alpha$ 水平变化可影响肿瘤细胞的正常生长，且抑制肿瘤细胞中肿瘤生长相关基因的表达。PKC $\alpha$  siRNA 经阳离子脂质体 Oligofectamine 包裹，采用瘤内注射处理，经 PKC $\alpha$  siRNA 处理后的细胞在裸鼠皮下形成移植瘤的时间延长，具有较高的肿瘤抑制率，但随着时间的延长，其抑瘤率又逐渐下降，与对照组的差别逐渐缩小，可能是导入细胞内的 siRNA 逐渐降解而失去活性，提示反义基因治疗需连续给药或加用其它治疗才能达到最佳效



果。

最后,研究了本实验室从海洋微生物分离获得的化合物阿霉酮 A 在体内外对胃癌细胞 BGC-823 的作用。结果表明,阿霉酮 A 在体外能抑制胃癌细胞 BGC-823 的生长,当浓度为 10 $\mu$ g/mL 时其抑制率为 80%,且胃癌细胞 BGC-823 的凋亡率随着阿霉酮 A 浓度的增加而逐渐升高。将胃癌细胞 BGC-823 注射到裸鼠皮下诱发肿瘤(移植瘤),通过腹腔注射阿霉酮 A 13 mg/kg(2 次/周,连续四周),阿霉酮 A 可抑制裸鼠体内移植瘤的生长。进一步的研究表明,阿霉酮 A 能够诱导内源 TR3 核浆转运,该结果证实了本实验室早期工作的结果,阿霉酮 A 能够在体内和体外诱导 TR3 表达和核浆转运,从而抑制胃癌细胞恶性生长。

关键词: 基因治疗, PKCs, 肿瘤转移, 胃癌, 阿霉酮 A, 凋亡

## Abstract

Cancer is a genetic disease. Currently, in the field of life sciences, the researches on the mechanisms of tumorigenesis and the development of anticancer drugs are hotspot. In this dissertation, using modern biological technologies, the relevance between the expressions of protein kinases C (PKCs) in breast cancer and gastric cancer BGC-823 cells and the degrees of differentiation was studied. The inhibitory effects of PKC $\alpha$  siRNA and amoitone A on the growth of gastric cancer BGC-823 cells were observed in vitro and in vivo.

First, the relevance between PKCs and breast cancer differentiation, and metastasis was studied. In 48 cases of breast cancer patients, the expressions of PKC isozymes were accessed by immunohistochemical methods which showed no significant correlation between the expressions of breast cancer PKC  $\alpha$  , PKC  $\beta$  , and the degree of tumor cell differentiation. However, the expressions of PKC  $\eta$  and PKC  $\zeta$  was significantly correlated to the degree of breast cancer cell differentiation. Through HE staining, the PKC immunohistochemical results showed that the expressions of PKC  $\eta$  and PKC  $\zeta$  markedly increased in the majority of invasive ductal breast cancer cells. In the cytoplasm of breast tumor tissue, the expression of PKC  $\eta$  and PKC  $\zeta$  was positively correlated with the magnitude of the tumor cell differentiation, and inversely correlated with the degree of malignancy.

Secondly, in 80 cases of gastric cancer samples, the expressions of PKC isozymes, particularly PKC $\alpha$ , were examined with the relevance to the degrees of tumor cell differentiations by immunohistochemical avidin-biotin peroxidase method. The results showed that the positive rates of PKC $\alpha$  were 67.5% and 19.1% ( $p < 0.05$ ) in types I - II and III gastric cancer cells, respectively. In the case of gastric cancer with metastasis, the expression levels of PKCs were generally high, which was significantly correlated with the degree of tumor cell metastasis ( $p < 0.01$ ). In addition, PKCs protein expression levels had no correlations with ages of cancer patients.

Thirdly, the effects of PKC $\alpha$  siRNA on the growth of human gastric cancer cell BGC-823 were studied. The recombinant PKC $\alpha$  siRNA was constructed and transferred into BGC-823 cells. PKC $\alpha$  siRNA suppressed the expression of target gene and the growth of tumor. The expressions of genes c-myc and PCNA, that are

correlated with cell proliferation, were founded decrease, showing that knock down of PKC $\alpha$  may inhibit the growth of tumor cell, and suppress the expression of tumor growth gene. PKC $\alpha$  siRNA packed by cationic liposome Oligofectamine, applied by tail vein injection, suppressed the tumor growth under nude mice skin. But as time extended, its inhibition rate decreased gradually compared with the control group, which may be caused by the degradation of siRNA in cells during cell proliferations. This result suggested that to achieve the best results, antisense gene therapy need more drug delivery or combined with other treatments.

Lastly, the natural product namely amoitone A isolated from a marine fungal strain, was tested for its antitumor activity in BGC-823 cells. The results showed that amoitone A inhibited the growth of BGC-823 cells with the inhibitory rate ca. 80% at 10  $\mu$ g/ml. The apoptosis ratios of BGC-823 increased with increasing amoitone A concentrations. Amoitone A inhibited the tumor growth in the experiment of nude mice transplanted with BGC-823 cells treated with amoitone A intraperitoneally, 13 mg/kg (twice/week, for four weeks). Further studies showed that amoitone A could induce endogenous and exogenous plasma TR3 nuclear translocation, and induced TR3 expression and nuclear slurry transfer in vivo and in vitro, inhibiting the growth of malignant gastric cancer cells.

**Key words:** gene therapy, PKCs, tumor metastasis, gastric cancer, amoitone A, apoptosis

## 缩略语及中英文对照

缩写	英文全称	中文全称
APS	Ammonium persulfate	过硫酸氨
AIF	apoptosis inducing factor	凋亡诱导因子
ATP	adenosine 5'-triphosphate	三磷酸腺苷
Bad	Bcl-2/Bcl-X <sub>L</sub> -antagonist causing cell death	诱导细胞死亡的 Bcl-2/Bcl-X <sub>L</sub> 拮 抗物
Bak	Bcl-2 homologous antagonist/killer	Bcl-2 同源拮抗物
Bax	Bcl-2-associated X protein	Bcl-2 相关的蛋白 X
Bcl	B-cell lymphoma/Leukemia	B 淋巴细胞/白血病
BSA	bovine serum albumin	牛血清白蛋白
CDKs	cyclin dependentkinases	周期蛋白依赖性激酶
<i>c-myc</i>	myelocytomatosis oncogene	髓细胞组织增生癌基因
DMEM	Dulbecco's modified of Eagle's medium	一种细胞培养液
ECL	enhanced chemiluminescent	免疫印迹化学发光
ERK	extracellular signal- regulated kinase	胞外信号调控激酶
FADD	Fas-associated death domain protein	Fas 相关的死亡 结构域蛋白
FasL	FAS ligand	FAS 配基
FITC	Fluoresceine isothiocyanate	异硫氰酸酯
GSH	glutathione	谷胱苷肽
ICE	IL-1 $\beta$ converting enzyme	白细胞介素-1 $\beta$ 转化酶
JNK	c-Jun N-terminal kinase	c-Jun 氮末端激酶
IL-1	Interleukin-1	白细胞介素 1
MAPK	mitogen-activated protein kinase	有丝分裂原激活的 蛋白激酶

---

PBS	phosphate-buffered saline buffer	磷酸缓冲液
PKC	protein kinase C	蛋白激酶 C
ROS	reactive oxygen species	活性氧自由基
TGF	transforming growth factor	转化生长因子
TNF $\alpha$	tumor necrosis factor $\alpha$	肿瘤坏死因子 $\alpha$
TNFR	TNF receptor	肿瘤坏死因子受体
z-VAD. fmk	benzyloxycarbonyl-Val-Ala-As p-fluoromethyl ketone	一种泛 caspase 抑制剂

---

## 第一部分 前 言

目前,恶性肿瘤已逐步成为人类健康的头号杀手。据美国癌症协会统计,2007年全球癌症新发病例超过1200万,其中发达国家540万,发展中国家670万;死亡病例760万,其中发达国家290万,发展中国家470万<sup>[1]</sup>。我国每年新增病例超过220万,死亡160万<sup>[2]</sup>。因此,如何对恶性肿瘤进行综合防治已经成为医学研究的重要领域,各国均投入大量的人力、物力和财力深入研究肿瘤的发病机制、开发预防或治疗肿瘤新药,以期能突破目前人类在肿瘤治疗上面临的瓶颈。

当前,抗肿瘤药物的作用靶点主要有:肿瘤新生血管生长因子,如血管内皮生长因子、成纤维母细胞生长因子;肿瘤细胞信号传导分子,如法尼基转移酶(FTase)、酪氨酸蛋白激酶(PTK)、细胞周期调控酶等;肿瘤转移因子,如乙酰肝素酶、基质金属蛋白酶(MMP)、氨肽酶N等;肿瘤细胞的微管系统、拓扑异构酶、胸苷酸合成酶;肿瘤的多药耐药性、肿瘤的端粒酶,以及分子伴侣热休克蛋白等<sup>[3]</sup>。针对以上作用靶点的药物如单克隆抗体药物<sup>[4,5]</sup>、基因治疗药物<sup>[6]</sup>和有机小分子化合物药物的研发进展迅速。

近年来不断有新作用靶点的化合物和新结构的化合物进入临床试验,2000-2004年期间,经FDA批准上市的抗肿瘤新分子药物(NME)共有13种,占抗肿瘤药物的87%,占批准总数的18%,如2004年,就有两个用于治疗转移性结肠癌的Genentech公司的抗癌新药Bevacizumab和Cetuximab被美国食品和药品管理局FDA批准用于临床<sup>[7]</sup>。Bevacizumab(商品名Avastin)于2004年2月26日获得(FDA)的批准上市用于一线治疗晚期结直肠癌,这是世界上首个批准上市的血管内皮生长因子(VEGF)抑制剂。2007年,Bevacizumab被FDA批准新增乳腺癌的适应症。有机小分子化合物作为各类靶点的抑制剂,已成为抗肿瘤药物的研究热点。

### 1. PKC 家族及其与细胞凋亡的相关性

#### 1.1 PKCs 激酶家族蛋白

蛋白激酶C(Protein Kinase C, PKC)是G蛋白偶联受体系统中的效应物,在

非活性状态下是水溶性的，游离存在于胞质溶胶中，激活后成为膜结合的酶。蛋白激酶 C 家族 (PKCs) 是由一类结构相类似的丝氨酸/苏氨酸激酶所组成的。同蛋白激酶 A 一样, 蛋白激酶 C 属于多功能丝氨酸和苏氨酸激酶。蛋白激酶 C 能激活胞质中的靶酶参与生化反应的调控, 同时也能作用于细胞核中的转录因子, 参与基因表达的调控, 不过所调控的基因多与细胞的生长和分化相关。这类激酶在细胞内介导多种信号通路, 对细胞增殖、分化、凋亡、基因表达和血管生成等过程中起着重要的调节作用。因此, 特异性的阻断 PKCs 通路可以运用到抑制肿瘤生成和攻克抗肿瘤药物的耐药性<sup>[8]</sup>。

### 1.1.1 PKCs 蛋白结构特征及分类

PKCs 最早是作为磷脂和钙依赖的激酶被发现的<sup>[9]</sup>。PKC 的激活是脂依赖性的, 需要膜脂二酰基甘油(Diacylglycerol, DAG)的存在, 同时又是  $\text{Ca}^{2+}$  依赖性的, 需要胞质溶胶中  $\text{Ca}^{2+}$  浓度的升高。在基因组中一共有 9 个基因编码 PKCs 蛋白, 根据蛋白结构和依赖不同磷酸酯激活的特性, PKCs 家族成员可被分为三类(图 1-1): 依赖于钙离子, 磷脂酰丝氨酸(Phosphatidylserine, PS)和 DAG 激活的经典的 PKC(cPKCs), 包括  $\text{PKC}\alpha$ ,  $\text{PKC}\beta\text{I}$ ,  $\text{PKC}\beta\text{II}$  和  $\text{PKC}\gamma$ , 而仅依赖于钙离子而不需要磷脂酰丝氨酸和二酰基甘油激活的 PKC 亦称为新型 PKC(nPKCs), 包括  $\text{PKC}\sigma$ ,  $\text{PKC}\delta$ ,  $\text{PKC}\epsilon$ ,  $\text{PKC}\eta$  和  $\text{PKC}\theta$ ; 既不依赖于钙离子也不需要二酰基甘油激活的非典型 PKC(aPKCs), 包括  $\text{PKC}\zeta$ 、 $\text{PKC}\lambda$ <sup>[10-12]</sup>。

所有的 PKC 家族成员的基本结构相似: N 端均有一调节结构域(C1, C2, 约 20-40kd), 并通过一段较灵活的铰链区(V3)连接到 C 端的催化结构域(C3, C4, 约 45kd)上<sup>[13]</sup>。四个保守的结构域 C1-C4 如图 1-1 所示。二酰基甘油和佛波脂(Phorbol ester) 结合的位点位于调节结构区的 C1 是由 1 段(aPKCs)或者 2 段(cPKCs 和 nPKCs)的富含 Cys 的结构域组成的。由于在非典型 PKC 中的 C1 中只有一段富含 Cys 的结构域, 因此 aPKC 不能结合 DAG 和佛波酯, 所以它的激活不依赖这些因子<sup>[14]</sup>。C2 的保守性较低, 它是钙离子和磷脂酰丝氨酸结合的位点, 而且 C2 区只存在于经典 PKCs 中。尽管新型 PKCs 有一段类似 C2 的结构域, 但它只能结合磷脂酰丝氨酸而不能结合钙离子<sup>[14-16]</sup>。至于 C3 和 C4, 它们系 ATP 结合区域和底物结合区域, 存在于所有的 PKC 家族成员中, 构成 PKC 催化结构域核心。C1 区靠近 N 端的部分有一段假性底物序能与自身的 C4 区结合,

因此阻止了真正的底物进入催化结构域，达到自我抑制活性的目的<sup>[8]</sup>。

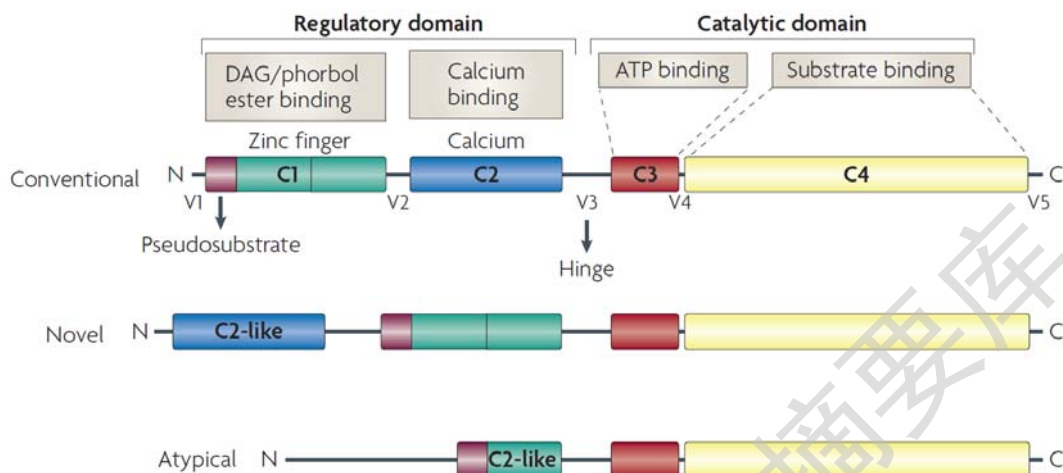


图 1-1 三类 PKCs 基本结构对比<sup>[8]</sup>

Fig 1-1 Structure of the PKCs family<sup>[8]</sup>

### 1.1.2 PKC 活性的调节

PKC激活机制是目前研究的热点<sup>[17-20]</sup>。首先，质膜上DAG水平的提高触发了PKCs在细胞中的重定位，进而激活PKCs。PKC的激活一般由酪氨酸激酶受体偶联到PLC $\gamma$ 或者G蛋白受体偶联到PLC $\beta$ 。DAG水平的提高还可以通过其他机制，例如和PLD、PAP结合，但具体机制尚不清楚。PLCs剪切lipid phosphoinositide 4,5-biphosphate，生成可溶的第二信使inositol triphosphate 和膜脂DAG。膜脂DAG的提高触发cPKCs和nPKCs通过C1区域(50个氨基酸域包括了调节域中的C1A和C1B)转运到膜表面，这个过程是可逆的。在膜上，PKCs发生构象的改变，暴露出底物和scaffold蛋白的结合位点并导致激酶活化。PKCs 同时还发生一系列的丝氨酸/苏氨酸磷酸化和自体磷酸化，这是PKC成熟、活化和稳定所必需的过程。许多PKC介导的反应并不需要涉及allosteric激活被DAG锚定的结合因子调节，而只是蛋白被修饰后的结果，例如酪氨酸磷酸化，或者蛋白酶体降解。尽管PKCs的C1区域必需与膜上的DAG结合，进而活化cPKC和nPKC。但这并不能解释PKCs定位于多种细胞器，虽然，PKCs确实可以被佛波脂激活并转运到线粒体或者高尔基体<sup>[21, 22]</sup>。这种转运的机制较复杂，可能和蛋白与蛋白结合或者蛋白和脂类结合有关，如PKC和RACK1的结合<sup>[23, 24]</sup>，也可能和细胞凋亡有关。



Degree papers are in the "[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)". Full texts are available in the following ways:

1. If your library is a CALIS member libraries, please log on <http://etd.calis.edu.cn/> and submit requests online, or consult the interlibrary loan department in your library.
2. For users of non-CALIS member libraries, please mail to [etd@xmu.edu.cn](mailto:etd@xmu.edu.cn) for delivery details.

厦门大学博硕士论文摘要库