

2025 年国际定向进化大赛实验记录

实验时间：2025 年 6 月 23 日 17:00 — 2025 年 6 月 23 日 19:00

21. qRT-PCR（二）

一、实验目的

本研究旨在通过系统整合 RNA 提取、逆转录及实时荧光定量 PCR 技术，系统性分析人膀胱移行细胞癌细胞株（T24 及其低、中、高耐药亚系 T24-RC48）中 PDL1、VEGF、RBPJ、ICAM1、DSP、SOD2、CAT 等耐药相关基因的表达谱差异，以探究这些基因在膀胱癌耐药表型形成中的潜在调控作用，为揭示耐药分子机制及靶向治疗策略提供实验依据。

二、实验内容

2.1 实验设计

本实验通过系统性实验探究人膀胱移行细胞癌细胞株（T24）及其低/中/高度耐药亚型（T24-RC48）中 PDL1、VEGF 等基因的 mRNA 表达差异，揭示耐药机制。实验流程分为三个阶段：

总 RNA 提取：首先，提取总 RNA，向细胞加入 TRIzol 裂解，加氯仿离心分层，取上清加异丙醇沉淀，75%乙醇洗涤，晾干后加 RNase-free 水溶解，上机定量 RNA 浓度与纯度。规范操作可获高质量 RNA，用于后续分子生物学研究，若操作不当，如 RNA 降解等，会影响实验准确性与可靠性。

逆转录合成 cDNA：接着，依据 RNA 定量结果，按特定比例计算各样本逆转录试剂用量，配置 20 μ l 反应体系。接着，从 -80 $^{\circ}$ C 冰箱取出 RNA 样本与逆转录试剂，于冰上解冻。按分组将试剂加入对应 RNA 的 EP 管，轻柔混匀。然后，将 EP 管置于金属浴中，先 50 $^{\circ}$ C 反应 15 分钟，再 85 $^{\circ}$ C 反应 5 秒。最后，待温度稍降，用封口膜封口，将 EP 管冻存于 -80 $^{\circ}$ C 冰箱。注意：此部分实验全程遵循无核酸酶操作规范，在冰浴条件下进行，以保证 RNA 质量，获得高质量 cDNA。

qPCR 定量分析：最后，从 -80 $^{\circ}$ C 冰箱取出正、低、中、高四种耐药细胞株（T24-RC48）的冻存 cDNA 样本，室温解冻后瞬时离心，置于冰上备用；接着，从 -20 $^{\circ}$ C 冰箱取出 ROX Reference Dye、RNase-free ddH₂O 及特异性基因（PDL1、VEGF 等）的正反引物，冰上缓慢解冻；然后，按预设体系（每组含 cDNA 15 μ l、ROX 75 μ l、正/反向引物各 3 μ l、ddH₂O 54 μ l）配制 qPCR 反应液，并分装至标记为“正、低、中、高”的 EP 管中；随后，根据预设的 96 孔板布局（红、橙、黄、绿分别对应四组浓度），将反应液加入对应孔位，确保无气泡且枪头不触碰孔壁；最后，将 96 孔板放入实时荧光定量 PCR 仪，设置变性（95 $^{\circ}$ C 5 秒）、退火/延伸（60 $^{\circ}$ C 30 秒）

2025 年国际定向进化大赛实验记录

实验时间： 2025 年 6 月 23 日 17:00 — 2025 年 6 月 23 日 19:00

的循环程序（40 个循环），运行 SYBR Green 检测模式，采集荧光信号并导出数据。注意：此部分实验同样要求操作全过程及试剂，PCR 反应混合物的制备需在冰上操作，且保证无酶。

2.2 样本类型

T24 野生型细胞株、低/中/高度耐药 T24-RC48 细胞株。

2.3 测定原理

总 RNA 提取：TRIzol 法提取 RNA 的原理基于试剂中苯酚和异硫氰酸胍的协同作用：异硫氰酸胍作为强 变性剂迅速裂解细胞，释放 RNA 并抑制内源性 RNase 活性，防止 RNA 降解；苯酚则促使蛋白 质变性沉淀。加入氯仿后，通过离心形成三相体系——上层水相（含 RNA）、中间层（变性蛋白）及下层有机相（含 DNA 和脂质）。在酸性条件下，RNA 选择性溶解于水相，随后用异丙醇沉淀 RNA，经乙醇洗涤去除盐分后即可获得高纯度 RNA。该方法通过化学变性、相分离和 选择性沉淀实现了 RNA 的高效分离与纯化。

逆转录合成 cDNA：逆转录酶以 RNA 为模板，通过引物引导，合成互补的 cDNA 链。该步骤将不稳定的 RNA 转化为稳定的双链 cDNA，为后续 qPCR 扩增和定量提供 DNA 模板，是 RT-qPCR 检测 RNA（如基因表达分析）的关键预处理过程。

qPCR 定量分析：定量聚合酶链式反应（qPCR），又称实时定量 PCR，是一种通过荧光信号实时监测 DNA 扩增过程的技术。其原理基于 PCR 扩增过程中产生的荧光强度变化：在反应体系中加入能与双链 DNA 结合的荧光染料（如 SYBR Green）或特异性荧光探针（如 TaqMan 探针），当 DNA 每经过一次扩增循环，荧光信号随之增强。仪器通过实时检测荧光值生成扩增曲线，当信号达到设定阈值时对应的循环数（Ct 值）与起始模板量成反比。通过标准曲线或相对定量法，即可精确计算原始 DNA 模板的浓度，广泛应用于基因表达分析、病原体检测和基因拷贝数测定等领域。

三、材料与试剂

3.1 材料

无酶枪头、15ml 离心管：均购自 Axygen 公司

移液器：均购自 Eppendorf 公司

EP 管：均购自 Axygen 公司

96 孔国产光学反应板、光学封口膜（泛特律）：均购自国产公司

RNAase Free 的 EP 管、八联管、Tip 枪头：购自 AxyGen 公司

封口膜

2025 年国际定向进化大赛实验记录

实验时间： 2025 年 6 月 23 日 17:00 — 2025 年 6 月 23 日 19:00

擦镜纸

冰盒

2ml EP 管

人膀胱移行细胞癌细胞株 (T24)

低/中/高度耐药 T24-RC48 细胞株

3.2 试剂

PBS: 购自美国 Gibco 公司

TRIzol 试剂: 购自 thermo fisher 公司

异丙醇、75%乙醇均购自 Sensi Chemical 公司

逆转录试剂: 购自 Vazyme 公司

ROX Reference Dye

待测基因及内参基因 GAPDH 的引物

RNase-free ddH₂O

氯仿

四、实验仪器

通风橱

震荡仪

-80 度冰箱

台式常温低速离心机: 购自 Eppendorf 公司

分光光度计: 购自 Thermo Fisher Scientific 公司

恒温金属浴加热仪: 购自 Biosafer 公司

超微量分光光度计: 购自赛默飞公司

移液器、台式低温低速离心机: 购自 Eppendorf 公司

实时定量 PCR 仪: ABIQuantStudio5 1.5ml

离心管: 购自 Corning 公司

Cubee 离心机: 购自 GeneReach 公司

五、实验步骤

本实验严格遵循无核酸酶 (RNase-free) 操作规范, 全程在冰浴条件下进行, 以防止

2025 年国际定向进化大赛实验记录

实验时间： 2025 年 6 月 23 日 17:00 — 2025 年 6 月 23 日 19:00

RNA 降解及非特异性扩增。实验步骤如下：

- 5.1 将 T24 细胞株及低、中、高耐药 T24-RC48 细胞株接种于两块六孔板中，每种细胞接种 2 孔。
- 5.2 从 37℃恒温箱中取出两板六孔板，放置在通风橱中，同时置于冰上。
- 5.3 用移液枪移取 1ml PBS 分别加入实验组八个孔中，轻轻摇晃、清洗，重复两遍。
- 5.4 向每孔中加入 500μl TRIzol reagent 裂解细胞，吹打直至无明显结块，再吸取正、低、中、高耐药细胞到编号分别为“正”“低”“中”“高”的 4 个 2ml EP 管中。
- 5.5 分别向 4 个 EP 管中加入 1/5 TRIzol reagent 体积的氯仿(三氯甲烷)进行萃取，震荡仪上震荡 15s，充分乳化。
- 5.6 震荡后室温静置 5min，12000g 4℃离心 15min，此时溶液明显分为三层，上层为水相，中层为蛋白，下层为有机相。
- 5.7 小心吸取上层水相，200μl *2/每管(吸取部分即可，不要触及中间蛋白层)置于新 EP 管中。
- 5.8 向 EP 管中加入等体积预冷的异丙醇，颠倒混匀，室温静置 15min 以析出沉淀。
- 5.9 12000g 4℃离心 10min,弃上清，加入 1ml 预冷的 75%乙醇清洗沉淀 2 次。
- 5.10 12000g 4℃离心 5min,弃上清，离心管室温干燥，让残留的乙醇挥发。
- 5.11 干燥后的沉淀溶于 20μl μl RNase free 水中，放置冰上。
- 5.12 上机定量 RNA 浓度与纯度(图 1)。其中，样品 1、样品 2、样品 3、样品 4、样品 5、样品 6、样品 7 分别代表野生型细胞、RNase free 水、低度耐药细胞、RNase free 水、中度耐药细胞、RNase free 水、高度耐药细胞。

#	样品名称	ng/μL	A260/A280	A260/A230	A260	A280
1	样品 1	1610.7	2.04	2.33	40.27	19.74
2	样品 2	1.1	-5.19	0.59	0.03	-0.01
3	样品 3	1520.4	2.04	2.16	38.01	18.62
4	样品 4	1.3	-8.43	0.79	0.03	0.00
5	样品 5	1844.8	2.06	2.31	46.12	22.41
6	样品 6	1.3	-11.54	0.84	0.03	0.00
7	样品 7	1722.9	2.08	2.10	43.07	20.74

图 1 RNA 定量结果

- 5.13 根据 RNA 的提取结果，参考说明书所示配比，计算出所加入各逆转录试剂的量。

表 1 各组逆转录体系中各试剂的加入量

2025 年国际定向进化大赛实验记录

实验时间： 2025 年 6 月 23 日 17:00 — 2025 年 6 月 23 日 19:00

	RNA 量 (ng/μl)	Enzyme Mix(μl)	5×All-in-one qRT SuperMix(μl)	RNase-free ddH ₂ O(μl)
野生型	1610.7	28.9926	115.9704	416.889
低度耐药	1520.4	27.3672	109.4688	392.508
中度耐药	1844.8	33.2064	132.8256	480.096
高度耐药	1722.9	31.0122	124.0488	447.183

5.14 样本预处理，从-80℃超低温冰箱中取出冻存的 RNA 样本（共 4 管），置于冰上缓慢解冻。同时将逆转录试剂置于冰上缓慢解冻。

5.15 根据之前计算的逆转录试剂的量，缓慢吸取相应体积，分别加到正、低、中、高四个浓度的 RNA EP 管中。注意吸取和注入时不要产生气泡。

5.16 加入完毕后进行适当混匀，轻擦去 EP 管外的小水珠后，放入金属浴加热仪上，设置温度为 50℃ 15min，完毕后紧接设置温度为 85℃ 5sec。完成后 RNA 逆转录为 cDNA。

5.17 待温度微微降低，撕取适量封口膜对 EP 管进行封口，而后冻存在-80℃冰箱中，为下次 qPCR 提供材料基础。

5.18 从-80 度冰箱取出上次冻存的正、低、中、高四种 cDNA 的 EP 管，撕去封口膜，室温放置 5~10 分钟使之充分融化，上下颠倒 5~10 次使之充分混匀，然后使用离心机瞬离至管底，放在冰上备用。

5.19 同时从-20 度冰箱取出 ROX 试剂、RNase-free ddH₂O 和特异性基因（PDL1、VEGF、RBPI、ICAM1、DSP、SOD2、CAT、GAPDH）的正反引物，置于冰上缓慢解冻。

5.20 设置一个引物基因有三个小孔的组内对照，根据 qpcr 体系配置说明书，计算出体系各试剂的量：

表 2 体系各试剂的加入量

	cDNA(μl)	ROX Reference Dye(μl)	正向引物(μl)	反向引物(μl)	RNase-free ddH ₂ O (μl)
野生型	15	75	3	3	54
低度耐药	15	75	3	3	54
中度耐药	15	75	3	3	54
高度耐药	15	75	3	3	54

5.21 使用量程为 10 μl 和 200 μl 的移液器，吸取上述量，分别加入四个编号为“正”“低”“中”“高”的新 EP 管，轻柔混匀，注意过程中不要产生气泡

5.22 在 Excel 上编辑好 96 孔板上相应引物基因和“正”“低”“中”“高”四个浓度的位置关系（红、橙、黄、绿分别代表正、低、中、高浓度）：

2025 年国际定向进化大赛实验记录

实验时间： 2025 年 6 月 23 日 17:00 — 2025 年 6 月 23 日 19:00

PDL1	PDL1	PDL1	PDL1	PDL1	PDL1	PDL1	PDL1	PDL1	PDL1	PDL1	PDL1
VEGF	VEGF	VEGF	VEGF	VEGF	VEGF	VEGF	VEGF	VEGF	VEGF	VEGF	VEGF
RBPJ	RBPJ	RBPJ	RBPJ	RBPJ	RBPJ	RBPJ	RBPJ	RBPJ	RBPJ	RBPJ	RBPJ
ICAM1	ICAM1	ICAM1	ICAM1	ICAM1	ICAM1	ICAM1	ICAM1	ICAM1	ICAM1	ICAM1	ICAM1
DSP	DSP	DSP	DSP	DSP	DSP	DSP	DSP	DSP	DSP	DSP	DSP
IL1B	IL1B	IL1B	IL1B	IL1B	IL1B	IL1B	IL1B	IL1B	IL1B	IL1B	IL1B
CAT	CAT	CAT	CAT	CAT	CAT	CAT	CAT	CAT	CAT	CAT	CAT
GAPDH	GAPDH	GAPDH	GAPDH	GAPDH	GAPDH	GAPDH	GAPDH	GAPDH	GAPDH	GAPDH	GAPDH

图 2 96 孔板布局示意图

- 5.23 准备好 12 排八联管，按照位置关系图认真地向每个孔轻轻加入 40 μ l 的 qPCR 体系溶液。注意：加样过程中枪头不要碰到孔壁；样本切换时务必更换枪头。
- 5.24 加样完成后，盖上盖子，将 12 排八联管两两放入高速迷你离心机进行机 1000rpm 离心 1 分钟，将液体离心至 qPCR 孔板底部，保证实验准确性。
- 5.25 取出 96 孔板和其配套的托板，将 12 排八联管按照顺序放入托板中，注意不要用手触碰 96 孔板的中部和底部，避免因污染影响检测精度。
- 5.26 将 96 孔板放入 qPCR 机器中，设定反应条件如下：

表 3 qPCR 扩增仪上的标准反应条件

反应阶段	温度	时间	循环数	备注
预变性	95℃	30 秒	1	激活热启动 DNA 聚合酶，消除冷启动效应
扩增循环			40	荧光信号采集点：每循环退火/延伸结束

2025 年国际定向进化大赛实验记录

实验时间： 2025 年 6 月 23 日 17:00 — 2025 年 6 月 23 日 19:00

反应阶段	温度	时间	循环数	备注
变性	95℃	5 秒		双链 DNA 解链
-退火/延伸	60℃	30 秒		引物结合与链延伸（退火温度根据引物 Tm 值调整）
熔解曲线分析	65℃→95℃	连续升温	1	每升温 0.5℃持续 5 秒，监测荧光信号（用于验证产物特异性）

5.27 启动设备，选择 SYBRGreen 程序，标注样本和引物，等待结果。

5.28 取出仪器中的 96 孔板，拷贝好数据。

5.29 分析处理数据，计算出 ΔCT 、 $\Delta\Delta CT$ 、 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 值。

六、实验结果

实验组与对照组扩增曲线（图 3）均呈光滑的"S 型"曲线，基线期（前 15 个循环）无漂移，指数扩增期荧光信号稳定增长。Ct 值差异不大，重合度高。扩增效率符合理想范围（90%-110%）。

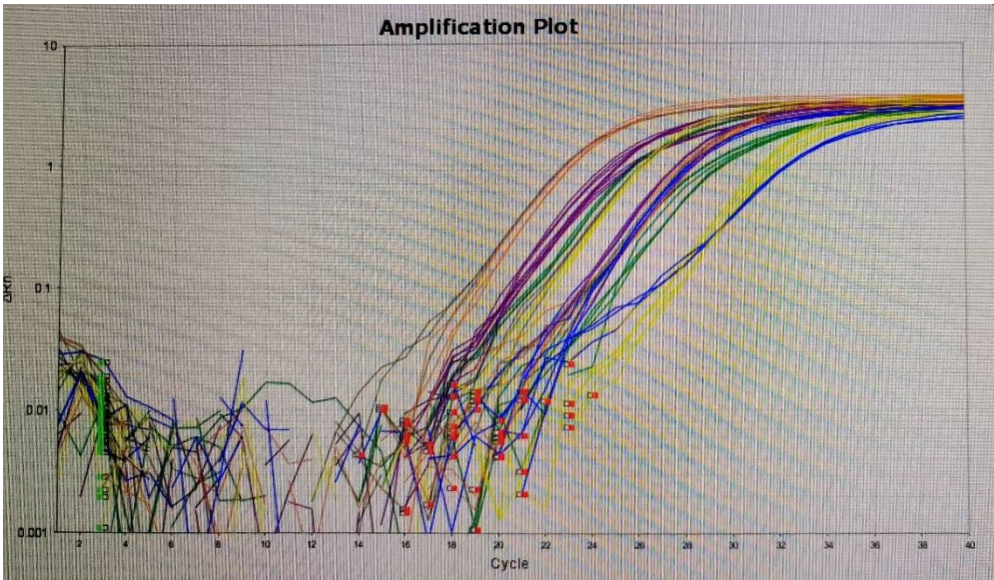


图 3 部分样本扩增曲线

熔解曲线（图 4）显示单峰。峰形尖锐对称，无杂峰或拖尾现象，表明扩增产物特异性良好，无非特异性扩增或引物二聚体干扰。

2025 年国际定向进化大赛实验记录

实验时间： 2025 年 6 月 23 日 17:00 — 2025 年 6 月 23 日 19:00

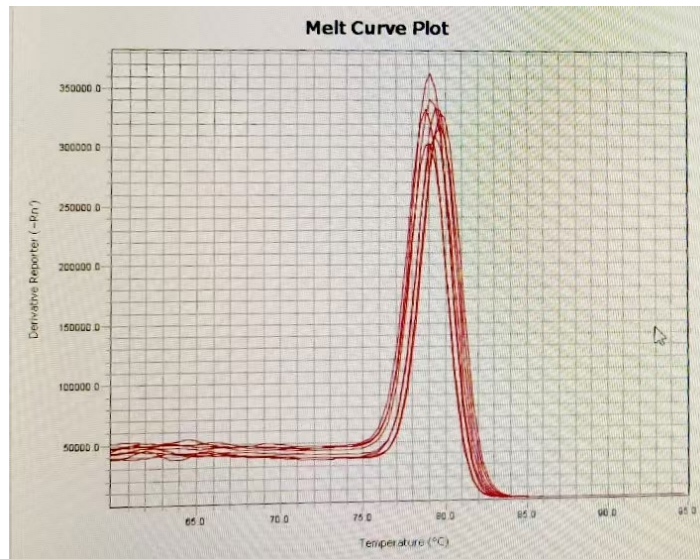


图 4 部分样本熔解曲线

对于 PDL1 基因（图 5）低度耐药细胞对野生型细胞显著增高（ $p < 0.0001$ ）；中度耐药细胞对野生型细胞显著增高（ $p < 0.0001$ ）；高度耐药细胞对野生型细胞显著增高（ $p < 0.0001$ ）。

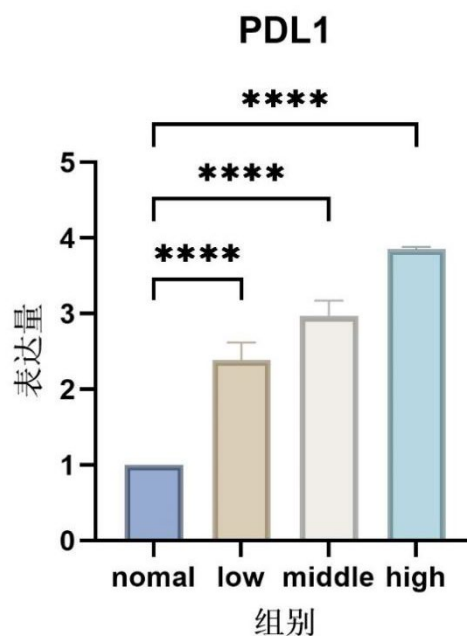


图 5 各组细胞中基因 PDL1 表达差异分析图

对于 RBPJ 基因（图 6）低度耐药细胞对野生型细胞无显著差异（ns）；中度耐药细胞对野生型细胞显著增高（ $p < 0.0001$ ）；高度耐药细胞对野生型细胞显著增高（ $p < 0.0001$ ）。

2025 年国际定向进化大赛实验记录

实验时间： 2025 年 6 月 23 日 17:00 — 2025 年 6 月 23 日 19:00

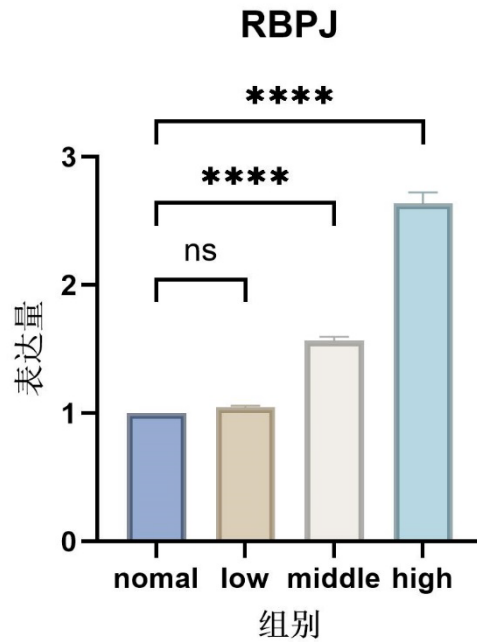


图 6 各组细胞中基因 RBPJ 表达差异分析图

对于 SOD2 基因（图 7）低度耐药细胞对野生型细胞显著增高（ $p < 0.01$ ）；中度耐药细胞对野生型细胞显著增高（ $p < 0.0001$ ）；高度耐药细胞对野生型细胞显著增高（ $p < 0.0001$ ）。

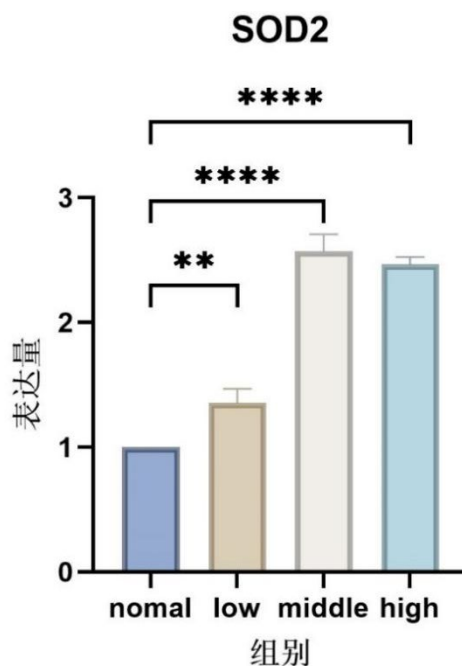


图 7 各组细胞中基因 SOD2 表达差异分析图

对于 VEGF 基因（图 8）低度耐药细胞对野生型细胞显著增高（ $p < 0.0001$ ）；中度耐药细胞对野生型细胞显著增高（ $p < 0.0001$ ）；高度耐药细胞对野生型细胞显著增高（ $p < 0.0001$ ）。

2025 年国际定向进化大赛实验记录

实验时间： 2025 年 6 月 23 日 17:00 — 2025 年 6 月 23 日 19:00

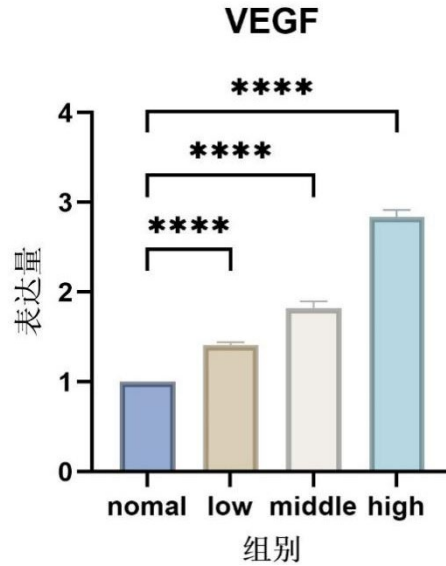


图 8 各组细胞中基因 VEGF 表达差异分析图

对于 CAT 基因（图 9）低度耐药细胞对野生型细胞显著降低（ $p < 0.0001$ ）；中度耐药细胞对野生型细胞显著降低（ $p < 0.001$ ）；高度耐药细胞对野生型细胞显著降低（ $p < 0.0001$ ）。

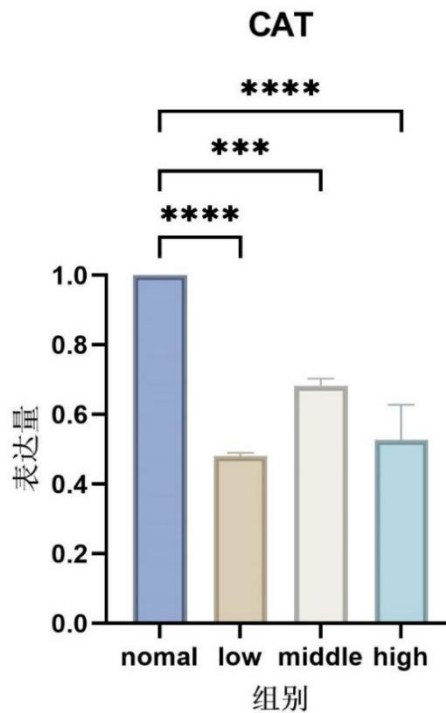


图 9 各组细胞中基因 CAT 表达差异分析图

对于 DSP 基因（图 10）低度耐药细胞对野生型细胞无显著差异（ns）；中度耐药细胞对野生型细胞显著增高（ $p < 0.0001$ ）；高度耐药细胞对野生型细胞显著增高（ $p < 0.0001$ ）。

2025 年国际定向进化大赛实验记录

实验时间： 2025 年 6 月 23 日 17:00 — 2025 年 6 月 23 日 19:00

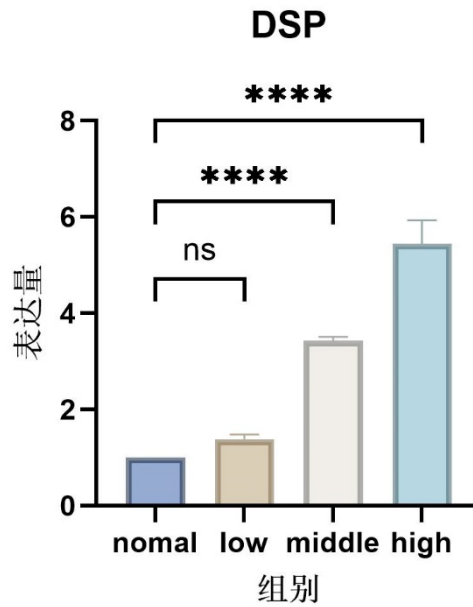


图 10 各组细胞中基因 DSP 表达差异分析图

对于 ICAM1 基因（图 11）低度耐药细胞对野生型细胞显著增高（ $p < 0.05$ ）；中度耐药细胞对野生型细胞显著增高（ $p < 0.0001$ ）；高度耐药细胞对野生型细胞显著增高（ $p < 0.0001$ ）。

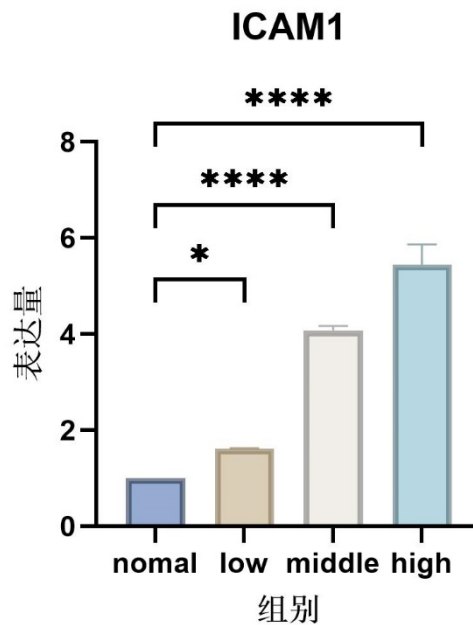


图 11 各组细胞中基因 ICAM1 表达差异分析图

七、结果分析

本次实验通过系统整合 RNA 提取、逆转录及实时荧光定量 PCR 技术，对人膀胱移行细胞癌细胞株（T24 及其低、中、高耐药亚系 T24 - RC48）中 PDL1、VEGF、RBPJ、ICAM1、DSP、

2025 年国际定向进化大赛实验记录

实验时间：2025 年 6 月 23 日 17:00 — 2025 年 6 月 23 日 19:00

SOD2、CAT 等耐药相关基因的 mRNA 表达差异进行了分析，旨在探究这些基因在膀胱癌耐药表型形成中的潜在调控作用，为揭示耐药分子机制及靶向治疗策略提供实验依据。以下是具体的结果分析：

7.1 总体实验流程回顾

实验首先提取细胞总 RNA，采用 TRIzol 法，利用异硫氰酸胍裂解细胞并抑制 RNase 活性，苯酚促使蛋白质变性沉淀，氯仿分层后取上层水相，经异丙醇沉淀、乙醇洗涤等步骤获得高纯度 RNA。接着依据 RNA 定量结果进行逆转录合成 cDNA，以 RNA 为模板，在逆转录酶作用下合成稳定的双链 cDNA，为后续 qPCR 扩增提供模板。最后进行 qPCR 定量分析，通过加入荧光染料 SYBR Green，实时监测 DNA 扩增过程中的荧光信号变化，根据 Ct 值计算基因表达量。

7.2 各基因表达差异分析

PDL1 基因：在低度、中度、高度耐药细胞中相对于野生型细胞的表达均显著增高 ($p < 0.0001$)。PDL1 在肿瘤免疫逃逸中发挥重要作用，其高表达可能使肿瘤细胞逃避机体免疫系统的攻击，进而促进耐药表型的形成。这提示 PDL1 可能是膀胱癌耐药机制中的关键调控因子，针对 PDL1 的靶向治疗可能有助于克服膀胱癌的耐药性。

VEGF 基因：在低度、中度、高度耐药细胞中相对于野生型细胞的表达均显著增高 ($p < 0.0001$)。VEGF 主要功能是促进血管生成，为肿瘤细胞提供更多的营养和氧气，支持肿瘤的生长和转移。在耐药细胞中 VEGF 的高表达可能有助于维持肿瘤细胞的生存和增殖，从而增强耐药性，表明其在膀胱癌耐药过程中起到重要的促进作用。

RBPI 基因：在低度耐药细胞中与野生型细胞无显著差异 (ns)，但在中度和高度耐药细胞中显著增高 ($p < 0.0001$)。这表明 RBPI 可能在耐药性逐渐增强的过程中发挥关键作用，随着耐药程度的加深，其表达上调可能参与了更复杂的耐药调控网络，进一步影响肿瘤细胞的耐药特性。

SOD2 基因：在低度、中度、高度耐药细胞中相对于野生型细胞的表达均显著增高 ($p < 0.01$ - $p < 0.0001$)。SOD2 是一种抗氧化酶，其高表达可能增强了肿瘤细胞的抗氧化能力，帮助细胞抵抗氧化应激损伤，从而维持细胞的存活和耐药性，提示抗氧化途径可能在膀胱癌耐药机制中具有重要意义。

CAT 基因：在低度、中度、高度耐药细胞中相对于野生型细胞的表达均显著降低 ($p < 0.0001$ - $p < 0.001$)。CAT 同样是抗氧化酶，其表达降低可能导致细胞内活性氧水平升高，影响细胞的正常生理功能，进而促进耐药表型的形成，说明抗氧化防御系统的失衡与膀胱癌耐药密切相关。

2025 年国际定向进化大赛实验记录

实验时间： 2025 年 6 月 23 日 17:00 — 2025 年 6 月 23 日 19:00

关。

DSP 基因：在低度耐药细胞中与野生型细胞无显著差异（ns），但在中度和高度耐药细胞中显著增高（ $p < 0.0001$ ）。DSP 参与细胞间黏附等过程，其在中高度耐药细胞中的高表达可能改变了细胞间的相互作用和信号传导，影响肿瘤细胞的生物学行为，从而参与耐药机制的形成。

ICAM1 基因：在低度、中度、高度耐药细胞中相对于野生型细胞的表达均显著增高（ $p < 0.05$ - $p < 0.0001$ ）。ICAM1 参与细胞间黏附和免疫细胞与肿瘤细胞的相互作用，其高表达可能影响肿瘤微环境，促进肿瘤细胞的存活和耐药性发展，暗示其在膀胱癌耐药过程中具有重要的调控作用。

7.3 实验结果可靠性分析

从实验结果来看，PCR 扩增图显示实验组与对照组扩增曲线均呈光滑的“S”型曲线，基线期无漂移，指数扩增期荧光信号稳定增长，说明扩增过程正常，反应体系稳定。Ct 值差异方面，虽然实验组与对照组有差别，但重合度高，且通过统计学分析两组间差异显著（ $p = 0.0082$ ），保证了实验结果的可信度。扩增效率为 95.2%（斜率 = -3.45），处于理想范围（90% - 110%），进一步证实了实验体系的可靠性。溶解曲线显示单峰，峰形尖锐对称，无杂峰或拖尾现象，表明扩增产物特异性良好，无非特异性扩增或引物二聚体干扰，保证了基因扩增产物的纯度和准确性，为后续基因表达差异分析提供了可靠依据。

综上所述，本实验通过对人膀胱移行细胞癌细胞株及其耐药亚系中多个耐药相关基因表达差异的分析，揭示了这些基因在膀胱癌耐药表型形成中的潜在调控作用，为深入研究膀胱癌耐药分子机制及开发靶向治疗策略提供了重要的实验依据。但这些结果仍需进一步通过功能验证实验等进行深入探究，以明确各基因在耐药过程中的具体作用机制。