

致突变研究

MNNG诱导的哺乳类细胞信号转导通路的改变

鲁 靖 余应年 谢海洋

(浙江大学医学院病理生理教研室 杭州 310031)

收稿日期 修回日期 网络版发布日期:

摘要 目的:本实验室曾用烷化剂N - 甲基- N'- 硝基- N - 亚硝基胍(N2methyl2N'2nitro2N2nitrosoguanidine ,MNNG) 在非洲绿猴肾vero 细胞上诱导出非定标性突变。进一步的研究提示细胞信号转导通路在非定标性突变的发生中扮演了重要角色。所以本实验的目的是研究与非定标性突变发生有关的细胞信号转导通路的改变。方法:本研究中,vero 细胞在0. 2μmol·L - 1MNNG处理2. 5h 后在不同的时间点制备全细胞抽提液,然后利用一种偶联抗Anti2Phosphotyrosine2Peroxidase) 进行Western 印迹分析来观察细胞蛋白质酪氨酸磷酸化的变化。为了评估MNNG处理vero 细胞引起的胞内JNK/ SAPK通路激活情况,我们用Western 印迹法和固相激酶活性测定法分别检测JNK1 的磷酸化程度和JNKs 的激酶活性。在这部分实验中,vero细胞在MNNG或1mg·L - 1放线菌素酮(CHM) 处理后在不同的时间点制备全细胞抽提液,Western 印迹法用抗JNK1 兔多克隆IgG和羊抗兔IgG- HRP 分别作为一抗和二抗。在固相激酶活性测定实验中,细胞抽提液在[γ232 PATP 存在下与GST2cJ un (79)2agarose 混合孵育,标记的磷酸化GST2c2J un 经SDS2PAGE 分离后进行放射自显影。结果:在磷酸化酪氨酸Western印迹分析中发现MNNG处理vero 细胞后再经0h 和12h ,细胞内45kDa 蛋白质酪氨酸磷酸化程度增强。在MNNG处理vero细胞后再经6h ,有62kDa 蛋白质酪氨酸磷酸化程度增强。1mg·L - 1CHM 处理vero 细胞12h 也可引起胞内45kDa 蛋白质酪氨酸磷酸化程度增强。在JNK1 磷酸化程度和JNKs 激酶活性测定中发现0. 2μmol·L - 1MNNG处理vero 细胞2. 5h 和1mg·L - 1CHM 处理vero 细胞1h 都可引起细胞抽提液中磷酸化JNK1 的比例增高,同时,通过测定JNKs 的底物c2J un 的磷酸化水平,发现这两种处理也都可使JNKs 的激酶活性大大增强(分别为对照的6. 7 倍和3. 0 倍)。结论:本研究发现0. 2μmol·L - 1MNNG处理vero 细胞可引起胞内45kDa 的62kDa 蛋白质酪氨酸磷酸化改变,提示MNNG可诱导哺乳类细胞内应激信号转导通路激活。另外,0. 2μmol·L - 1MNNG处理vero 细胞2. 5h 和1mg·L - 1CHM 处理vero 细胞1h 都可引起全细胞抽提液中磷酸化JNK1 的比例增高和JNKs 的激酶活性成倍增强。证明用于诱导vero 细胞产生非定标性突变的实验条件可以引起vero 细胞内信号转导通路发生改变,并且至少可以激活vero 细胞内JNK/ SAPK通路。

关键词

Abstract

Keywords

DOI

通讯作者

扩展功能

本文信息

- ▶ [Supporting info](#)
- ▶ [\[PDF全文\]\(60k\)](#)
- ▶ [\[HTML全文\]\(0k\)](#)
- ▶ [参考文献](#)

服务与反馈

- ▶ [把本文推荐给朋友](#)
- ▶ [加入我的书架](#)
- ▶ [Email Alert](#)

相关信息

- ▶ [本刊中 无 相关文章](#)
- ▶ [本文作者相关文章](#)
- [鲁靖余应年谢海洋](#)