

张孟贤, 韩娜, 于世英. RNA干扰沉默HDAC1基因对大肠癌细胞增殖和凋亡的影响.
世界华人消化杂志 2008年 4月;16(11):1173-1178

RNA干扰沉默HDAC1基因对大肠癌细胞增殖和凋亡的影响

张孟贤, 韩娜, 于世英.

430030, 湖北省武汉市解放大道1095号, 华中科技大学同济医学院附属同济医院肿瘤科. hanna@medmail.com.cn

目的: 研究下调HDAC1的表达对大肠癌细胞增殖、凋亡和细胞周期的影响. 方法: 设计合成HDAC1的特异性shRNA, 将其插入至pSilencer载体中, 并将重组后的pSilencer质粒载体经脂质体包裹转染SW480细胞株. 用RT-PCR和Western blot检测shRNA对细胞内HDAC1基因表达的影响, 同时采用Western blot对细胞周期相关基因进行检测. 采用MTT法检测生长抑制作用. 运用流式细胞术检测细胞的凋亡情况和细胞周期分布. 结果: 成功构建和筛选出HDAC1特异性的shRNA质粒载体, 与空白对照组相比, 转染HDAC1-shRNA的大肠癌细胞HDAC1 mRNA蛋白质表达水平明显下降($30.4\% \pm 4.5\%$ vs $64.6\% \pm 4.4\%$, $P < 0.01$; $27.4\% \pm 4.5\%$ vs $58.1\% \pm 3.3\%$, $P < 0.01$), p21(/WAF-1/CIP-1)表达增加($97.4\% \pm 2.6\%$ vs $62.6\% \pm 3.4\%$, $P < 0.01$), Cdk2和Cyclin E蛋白下降(Cdk2: $27.7\% \pm 6.0\%$ vs $42.6\% \pm 4.1\%$, $P < 0.01$; Cyclin E: $42.0\% \pm 8.5\%$ vs $82.8\% \pm 3.7\%$, $P < 0.01$), 细胞生长抑制率增加(24 h: $35.9\% \pm 4.9\%$ vs $1.2\% \pm 0.6\%$, $P < 0.01$; 48 h: $47.5\% \pm 7.0\%$ vs $1.3\% \pm 0.6\%$, $P < 0.01$; 72 h: $45.7\% \pm 6.2\%$ vs $1.0\% \pm 0.5\%$, $P < 0.01$; 96 h: $48.2\% \pm 4.7\%$ vs $1.2\% \pm 0.7\%$, $P < 0.01$), 凋亡率明显增加($31.3\% \pm 2.8\%$ vs $3.9\% \pm 0.7\%$, $P < 0.01$), G0/G1期和G2/M期细胞比例增加(G0/G1: $64.5\% \pm 0.9\%$ vs $57.8\% \pm 1.8\%$, $P < 0.01$; G2/M: $17.4\% \pm 1.3\%$ vs $14.5\% \pm 0.6\%$, $P < 0.05$), S期细胞比例相应下降($17.5\% \pm 1.0\%$ vs $27.7\% \pm 1.5\%$, $P < 0.01$). 结论: HDAC1特异的shRNA能够有效下调HDAC1基因, 诱导大肠癌细胞发生凋亡和细胞周期阻滞, 从而抑制细胞的增殖.

世界胃肠病学杂志社, 北京百世登生物医学科技有限公司, 100023, 北京市2345信箱, 郎辛庄北路58号院怡寿园1066号

电话: 010-85381892

传真: 010-85381893

E-mail: wjg@wjgnet.com

http: //www.wjgnet.com

2004-2007年版权归世界胃肠病学杂志社和北京百世登生物医学科技有限公司