



第33卷 第11期 (2011年11月): 1204-1212

## 分子伴侣BiP结构域分析及对肝癌细胞增殖和凋亡的影响

李祥柱 刘艳娜 赵文君 周菁华 郭风劲\*

(重庆医科大学细胞生物学及遗传学教研室, 重庆医科大学分子医学及肿瘤研究中心, 重庆 400016)

**摘要** 结合免疫球蛋白(binding immunoglobulin protein, BiP), 是Hsp70 (70 kilodalton heat shock proteins)蛋白家族的成员之一, 是内质网应激(endoplasmic reticulum stress, ERS)主要的调节器。为了研究BiP的分子结构与生物学功能的关系, 首先, 分析BiP的DNA序列和蛋白质空间构象, 接着利用重叠PCR方法分别克隆ATPase结构域缺失体和peptide-binding结构域缺失体(BiPa和BiPp), 成功构建带myc标签的真核表达载体, 转染LO2细胞和SMMC-7721细胞, 应用免疫印迹方法检测其在细胞内的表达; 运用MTT法、BrdU免疫组化法及流式细胞仪分别检测细胞的增殖和凋亡; 检测BiP及两个组成结构域对SMMC-7721细胞增殖和凋亡的影响。酶切、电泳和DNA测序结果显示, BiP全长和两个缺失体的真核表达载体构建成功; 免疫印迹检测到BiP三种真核载体在LO2细胞和SMMC-7721细胞中均能正确表达; MTT和BrdU免疫组化结果表明, BiP全长和缺失体BiPa、BiPp三种真核载体均能有效促进SMMC-7721的增殖, 各组间细胞增殖率结果分析提示ATPase功能域可能抑制细胞增殖, 而peptide-binding结构域可能促进细胞的增殖; 流式细胞仪结果显示, 转染BiP、BiPa、BiPp三种真核载体均可以促进SMMC-7721的凋亡, 缺失体BiPa与全长BiP组间凋亡率差异不显著; 而缺失体BiPp组细胞凋亡率明显低于全长BiP组, 两组差异具有显著性( $P < 0.05$ ); 提示ATPase功能域与细胞凋亡可能不相关, 而peptide-binding结构域可能促进细胞的凋亡。上述结果表明, BiP的两个组成结构域: ATPase功能域与peptide-binding结构域, 独立存在或者共同存在时, 调控细胞增殖与凋亡具有差异性; 当两个结构域共同存在时, 它们会协同调控细胞的增殖与凋亡, 具体的分子机制还需要进一步的实验研究和探讨。

**关键词** BiP; 缺失体; 生物信息学; 细胞增殖

收稿日期: 2011-5-29 接受日期: 2011-8-22

国家自然科学基金(No.31040019)和教育部留学人员基金(No.2009-1590)资助项目

\*通讯作者。Tel: 023-68485898, E-mail: guo.fengjin@gmail.com

[阅读全文 PDF](#)

此摘要已有 548 人浏览

您是第 102463 位访问者, 欢迎!

主 办: 中国科学院上海生命科学研究院生物化学与细胞生物学研究所 中国细胞生物学学会

地 址: 上海岳阳路319号31号楼B楼408室 邮编: 200031 电话: 021-54920950 / 2892 / 2895 Email: cjcb@sibs.ac.cn



沪ICP备05017545号