

论著

TRAF1基因干扰质粒的构建及其对胃癌细胞生物学功能的影响

王芬¹, 杨燕², 冯茜¹, 步光奎¹, 黄利华¹, 闰宏伟¹, 郭勤¹, 徐灿霞¹, 沈守荣¹

1. 中南大学湘雅三医院消化内科, 长沙 410013;
2. 湘潭市中心医院消化内科, 湖南 湘潭 411100

摘要: 目的: 构建TRAF1 基因干扰重组质粒及建立TRAF1 基因干扰瞬时转染胃癌细胞模型, 然后通过干扰目标胃癌细胞中的TRAF1 基因来检测TRAF1 对胃癌细胞的生物学功能的影响。方法: 首先通过real-time PCR 和Western 印迹验证TRAF1 在胃癌细胞系BGC823, SGC7901, MGC803 中的表达, 筛选出TRAF1 表达量最高的一株细胞作为干扰转染的目标细胞; 设计及构建3 个TRAF1 的shRNA 表达载体pLVX-shRNA-TRAF1-shRNA1~3, 将其分别转染至目标胃癌细胞系中, 应用real-time PCR 和Western 印迹筛选出干扰效率最强的shRNA, 最后通过M 及流式细胞术检测TRAF1 对胃癌细胞凋亡能力的影响, 通过Transwell 小室迁移实验来检测对其迁移功能的影响。结果: 与GES-1 比较, TRAF1 基因在BGC823, SGC7901, MGC803 中的表达均有上调($P<0.05$), 其中以BGC823 表达最高; 3个TRAF1 shRNA 对TRAF1 基因均有抑制作用, 以pLVX-shRNA-TRAF1-shRNA2 干扰效果最强; 干扰胃癌细胞BGC823中的TRAF1 可使细胞生长活力减弱, 凋亡明显增加, 但对其迁移功能无明显影响。结论: TRAF1 基因在胃癌细胞系BGC823 中上调最明显; pLVX-shRNA-TRAF1-shRNA2 可成功干扰BGC823 中TRAF1 的表达; TRAF1 可抑制BGC823细胞的凋亡。

关键词: TRAF1 干扰 胃癌细胞系

Construction of RNAi targeting TRAF1 gene and effect of TRAF1 on gastric cancer cells

WANG Fen¹, YANG Yan², FENG Qian¹, BU Guangkui¹, HUANG Lihua¹, L� Hongwei¹, GUO Qin¹, XU Canxia¹, SHEN Shourong¹

1. Department of Gastroenterology, Third Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410013;
2. Department of Gastroenterology, Xiangtan Center Hospital, Xiangtan Hunan 411100, China

Abstract: Objective: To construct the RNAi targeting tumor necrosis factor receptor associated factor (TRAF1) gene, and to explore the effect of interference targeting TRAF1 on the biological behavior of gastric cancer cells.

Methods: We detected the expression of TRAF1 in BGC823, SGC7901, and MGC803 gastric cancer cell lines through the real-time PCR and Western blot; then we constructed three pLVXshRNA- TRAF1-shRNAs expression vector targeting TRAF1. When TRAF1 was interfered successfully, we selected the strongest interference efficiency ShRNA by real-time PCR and Western blot. Based on interference targeting TRAF1 on gastric cancer, we tested the cell proliferation activity and apoptosis through MTT assay and flow cytometry, and the cell migration by transwell migration assay.

Results: The expression of TRAF1 was increased in BGC823, SGC7901, and MGC803 gastric cancer cell lines compared with gastric epithelial cells ($P<0.05$), and the highest expression was in BGC823 gastric cell line. In the three TRAF1 shRNAs, the strongest interference efficiency shRNA was pLVX-shRNA-TRAF1-shRNA2. When the gene TRAF1 of BGC823 was interfered, the cell growing power was weakened and the apoptosis rate increased, and the cell migration had no difference.

Conclusion: The expression of TRAF1 is up-regulated in gastric cancer cell lines BGC823, SGC7901, and MGC803, and the most obvious one is BGC823. The interference targeting TRAF1 can successfully inhibit the expression of TRAF1 in gastric cancer cell line BGC823. TRAF1 can inhibit the apoptosis of BGC823 cells.

Keywords: TRAF1 interference gastric cancer cell line

收稿日期 2012-05-17 修回日期 网络版发布日期

DOI: 10.3969/j.issn.1672-7347.2012.09.003

基金项目:

湖南省自然科学基金(10JJ5035)。

通讯作者: 沈守荣, Email: ssr-350403@163.com

作者简介: 王芬, 博士, 副主任医师, 主要从事Hp相关疾病的基础与临床研究。

作者Email: ssr-350403@163.com

参考文献:

1. Nardone G, Compare D. Epigenetic alterations due to diet and Helicobacter pylori infection in gastric carcinogenesis [J]. Expert Rev Gastroenterol Hepatol, 2008, 2(2): 243-248.
2. Coray DS, Heinemann JA, Tyrer PC, et al. Human lactoferrin increases Helicobacter pylori internalisation into AGS cells [J]. World J Microbiol Biotechnol, 2012, 28(5): 1871-1880.

扩展功能

本文信息

- Supporting info
- PDF(1679KB)
- [HTML全文]
- 参考文献[PDF]
- 参考文献

服务与反馈

- 把本文推荐给朋友
- 加入我的书架
- 加入引用管理器
- 引用本文
- Email Alert
- 文章反馈
- 浏览反馈信息

本文关键词相关文章

- TRAF1
- 干扰
- 胃癌细胞系

本文作者相关文章

- 王芬
- 杨燕
- 冯茜
- 步光奎
- 黄利华
- 闰宏伟
- 郭勤
- 徐灿霞
- 沈守荣

PubMed

- Article by WANG Fen
- Article by YANG Yan
- Article by FENG Qian
- Article by BU Guangkui
- Article by HUANG Lihua
- Article by L� Hongwei
- Article by GUO Qin
- Article by XU Canxia
- Article by SHEN Shourong

3. Ruggie M, Fassan M, Tsukanov V, et al. From open-type atrophic gastritis to gastritis staging [J]. Dig Dis Sci, 2011, 56(6): 1917-1918.
4. Tsang YH, Lamb A, Romero-Gallo J, et al. Helicobacter pylori CagA targets gastric tumor suppressor RUNX3 for proteasome-mediated degradation [J]. Oncogene, 2010, 29(41): 5643-5650.
5. 王芬,潘建华,罗丽丹,等. 不同幽门螺杆菌临床菌株对人胃黏膜 细胞系GES-1增殖和凋亡的影响及其致癌性的研究 [J]. 中南大学学报: 医学版, 2011, 36(9): 865-871. WANG Fen, PAN Jianhua, LUO Lidan, et al. Chronic Helicobacter pylori infection induces proliferation and apoptosis in gastric epithelial cells and gastric precancerosis in Mongolian gerbils [J]. Journal of Central South University. Medical Science, 2011, 36(9): 865-871.
6. Ebner K, Bandion A, Binder BR, et al. GMCSF activates NF-kappa B via direct interaction of the GMCSF receptor with I kappa B kinase beta [J]. Blood, 2003, 102(1): 192-199.
7. Sughra K, Birbach A, de Martin R, et al. Interaction of the TNFRreceptor associated factor T F1 with I-kappa B kinase-2 and T F2 indicates a regulatory function for NF-kappa B signaling [J]. PLoS One, 2010, 5(9): 12683.
8. Zhang BC, Wang Z, Li T, et al. NF- κ B2 mutation targets TRAF1 to induce lymphomagenesis [J]. Blood, 2007, 110(2): 743-751.
9. Takeuchi K, Ohno Y, Tsuzuki Y, et al. Helicobacter pylori infection and early gastric cancer [J]. J Clin Gastroenterol, 2003, 36(4): 321-324.
10. Parkin DM, Bray F, Ferlay J, et al. Global cancer statistics 2002 [J]. CA Cancer J Clin, 2005, 55(2): 74-108.
11. Nagini S. Carcinoma of the stomach: A review of epidemiology, pathogenesis, molecular genetics and chemoprevention [J]. World J Gastrointest Oncol, 2012, 4(7): 156-169.
12. Bradley JR, Pober JS. Tumor necrosis factor receptor-associated factors (T F)s [J]. Oncogene, 2001, 20(44): 6482-6491.
13. Perkins ND. Integrating cell-signalling pathways with NF-kappaB and IKK function [J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2007, 8(1): 49-62.

本刊中的类似文章

1. 何艳, 贺智鄂, 孙会卿, 王文龙, 雷建华. RNA干扰HBx基因对肝癌细胞化疗效果的影响[J]. 中南大学学报(医学版), 2009, 34(05): 395-400
2. 任勇, 王云皎, 程智刚, 于鹏, 李靖怡, 白念岳, 贺正华, 杨胜辉, 郭曲练. RNA干扰抑制MDR1表达逆转Bel/402/b-Fu肝癌细胞耐药性的研究[J]. 中南大学学报(医学版), 2006, 31(06): 872-876
3. 王云皎, 程智刚, 于鹏, 李靖怡, 白念岳, 贺正华, 杨胜辉, 郭曲练.

携带DREAM基因shRNA的慢病毒载体的构建及其对坐骨神经缩窄损伤大鼠的镇痛作用

- [J]. 中南大学学报(医学版), 2009, 34(08): 723-730
4. 段绍斌, 刘伏友, 陈愔音, 刘芳, 李莹, 凌光辉, 肖力, 刘虹, 彭佑铭. 转化生长因子 β 1短发夹RNA对白蛋白致人肾小管上皮细胞细胞因子过表达的抑制作用[J]. 中南大学学报(医学版), 2009, 34(10): 949-956
 5. 刘惠宁¹, 蔡净亭¹, 林秋华², 何可人¹, 余蓉¹. Caveolin-1与绒毛膜癌侵袭力之间的关系[J]. 中南大学学报(医学版), 2008, 33(04): 331-337
 6. 徐灿霞¹, 齐艳美¹, 杨文斌¹, 王芬¹, 周建党², 沈守荣¹. 幽门螺杆菌CagA+菌株对BGC-823细胞系Cx43表达及细胞增殖的影响[J]. 中南大学学报(医学版), 2007, 32(02): 288-294
 7. 阳惠湘, 易艳容. 干扰素- α 对CCl4诱导的大鼠肝纤维化治疗作用[J]. 中南大学学报(医学版), 2008, 33(10): 919-925
 8. 汤天凤¹, 周巧玲¹, 朱伶俐², 唐荣¹, 敖翔¹. 福辛普利、氯沙坦对肾小管上皮细胞TLR4表达的影响[J]. 中南大学学报(医学版), 2008, 33(10): 958-965
 9. 欧阳若芸^{1,2}, 胡成平¹, 陈平², 朱锦琪¹, 黄信刚². 哮喘中Th1/Th2类细胞因子免疫失衡对神经生长因子表达的影响[J]. 中南大学学报(医学版), 2007, 32(01): 119-123
 10. 张东山^{1,2}, 刘伏友¹, 彭佑铭¹, 熊关钟², 柴湘平². 抑制Smad3的pSUPER RNAi系统的构建和活性鉴定[J]. 中南大学学报(医学版), 2007, 32(06): 1042-1046
 11. 杨晓苏, 胡益民, 肖波, 杨期东, 赵惠敏. 利用RNAi建立脊髓性肌萎缩症的细胞模型[J]. 中南大学学报(医学版), 2008, 33(12): 1108-1112
 12. 张勇, 杨欢, 肖波, 鲁特飞. RelB基因沉默的髓源树突状细胞负载Ta146~162对TACHr预致敏T细胞免疫反应的影响[J]. 中南大学学报(医学版), 2010, 35(1): 38-44
 13. 吕辉, 贺智敏*. RNA干扰技术的演进及其在基因功能和基因治疗研究中的应用[J]. 中南大学学报(医学版), 0, (0): 102-105
 14. 吕辉, 贺智敏*. RNA干扰技术的演进及其在基因功能和基因治疗研究中的应用[J]. 中南大学学报(医学版), 2005, 30(1): 102-105
 15. 李宁¹, 范学工^{1,*}, 汤参娥², 朱才¹. TLR9在 CpG寡脱氧核苷酸所致种属特异性免疫效应中的意义[J]. 中南大学学报(医学版), 2005, 30(5): 533-535