

论著

APC不同功能区域对结肠癌细胞株HT-29中β-连环蛋白表达的影响

吕梁1, 霍继荣1, 刘佳2, 武捷2, 王捷2

1.中南大学湘雅二医院消化内科, 长沙 430011; 2. 广州军区广州总医院医学实验科, 广州 510010

摘要:

目的: 探讨含有APC蛋白不同功能区域的pEGFP-N3-APC重组质粒对结肠癌细胞株HT-29中β-连环蛋白表达的影响。方法: 脂质体介导重组质粒pEGFP-N3-APC1~5转染HT-29, 采用绿色荧光及RT-PCR验证重组质粒在细胞中的表达。以Western免疫印迹检测转染后HT-29细胞中β-连环蛋白的表达, 以SPSS 13.0软件分析电泳条带的灰度值。结果: 重组质粒转染HT-29细胞后, 绿色荧光及RT-PCR结果显示5个APC蛋白不同功能区域多肽可在细胞中表达。Western免疫印迹结果显示, 重组质粒pEGFP-N3-APC1, pEGFP-N3-APC2和pEGFP-N3-APC3对β-连环蛋白表达无影响, 而pEGFP-N3-APC4和pEGFP-N3-APC5均可降低结肠癌细胞株HT-29中β-连环蛋白的表达水平, 其中以pEGFP-N3-APC5的抑制程度最强。结论: 含有APC蛋白中15氨基重复序列+SAMP重复序列的APC5基因片段既可有效降低β-连环蛋白的表达, 同时又是相对长度较短的可用于基因治疗的最优片段。

关键词: APC 重组质粒 转染 &beta -连环蛋白

Effect of recombinant pEGFP-N3-APC vectors carrying various APC functional domains on the expression of β-catenin in HT-29 cells

L Liang1, HUO Jirong1, LIU Jia2, WU Jie2, WANG Jie2

1. Department of Gastroenterology, Second Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 430011;

2. Experimental Medicine Section, Guangzhou General Hospital, Guangzhou Military Command of Chinese PLA, Guangzhou 510010, China

Abstract:

Objective To explore the effect of recombinant pEGFP-N3-APC vectors carrying various APC functional domains on the expression of β-catenin in human colorectal cancer cells HT-29. Methods The recombinant plasmids were transfected into HT-29 cells mediated by lipofectamineTM 2000, and detected by green fluorescence and RT-PCR. Western blot was applied to detect β-catenin expression level in HT-29 cells after transfection, and gray scales of electrophoresis strips were analyzed by SPSS 13.0. Results Green fluorescence and RT-PCR made clear that all 5 recombinant plasmids were successfully expressed in HT-29 cells. Western blot showed that β-catenin expression level in HT-29 cells was not affected after being transfected with pEGFP-N3-APC1, pEGFP-N3-APC2 and pEGFP-N3-APC3, and was distinctly affected after being transfected with pEGFP-N3-APC4 and pEGFP-N3-APC5, especially the later one. Conclusion The selected APC5 gene fragment with 15-amino acid repeats and SAMP repeats, which is relatively short, can degrade β-catenin level in HT-29 cells and may be applied in the gene therapy.

Keywords: adenomatous polyposis coli; recombinant expressive vector transfection; β-catenin

收稿日期 2009-02-16 修回日期 网络版发布日期

DOI: 10.3969/j.issn.1672-7347.2010.

基金项目:

通讯作者: 霍继荣

作者简介:

作者Email: hjr198@hotmail.com

参考文献:

[1] Liu J, Stevens J, Rote C A, et al. Siah-1 mediates a novel β-catenin degradation pathway linking p53 to the adenomatous polyposis coli protein [J]. Mol Cell, 2001, 7 (5): 927-936.

[2] Xiao J H, Ghosn C, Hinchman C. Adenomatous polyposis coli (APC)-independent regulation of beta-

扩展功能

本文信息

Supporting info

PDF (2065KB)

[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

▶

▶ APC

▶ 重组质粒

▶ 转染

▶ &beta

▶ -连环蛋白

本文作者相关文章

PubMed

catenin degradation via a retinoid X receptor-mediated pathway [J]. J Biol Chem, 2003, 278 (32) : 29954-29962.

[3] Nathke I S, Adams C L, Polakis P, et al. The adenomatous polyposis coli tumor suppressor protein localizes to plasma membrane sites involved in active cell migration [J]. J Cell Biol, 1996, 134 (1) : 165-179.

[4] Mogensen M M, Tucker J B, Mackie J B, et al. The adenomatous polyposis coli protein unambiguously localizes to microtubule plus ends and is involved in establishing parallel arrays of microtubule bundles in highly polarized epithelial cells [J]. J Cell Biol, 2002, 157 (6) : 1041-1048.

[5] 吕梁, 霍继荣, 刘斌, 等. 重组pEGFP-N3-APC质粒在结肠癌细胞株HT-29中的表达 [J]. 医学临床研究, 2008, 7 (25) : 1153-1156.

L Liang, HUO Jirong, LIU Bin, et al. Expression of recombinant pEGFP-N3-APC vectors in HT-29 colorectal carcinoma cell line [J]. Journal of Clinical Research, 2008, 7 (25) : 1153-1156.

[6] Takao S, Akiko I K, Takanori O, et al. Adenomatous polyposis coli (APC) plays multiple roles in the intestinal and colorectal epithelia [J]. Med Mol Morphol, 2007, 6 (40) : 68-81.

[7] Oliver M S, Lan P T, Hanan L. The adenomatous polyposis coli (APC) tumour suppressor-genetics, function and disease [J]. Mol Med Today, 2000, 12 (6) : 462-469.

[8] Sandra C M, Sarah J N, Julian H, et al. Assessment of endostatin gene therapy for familial adenomatous polyposis-related desmoid tumors [J]. Cancer Res, 2006, 66 (16) : 8233-8240.

#### 本刊中的类似文章

1. 李婷<sup>1,2</sup>, 周建华<sup>1</sup>, 邓征浩<sup>1</sup>, 傅春燕<sup>1</sup>, 蒋海鹰<sup>1</sup>, 高振芹<sup>1</sup>, 王金胜<sup>2</sup>, 任宏政<sup>1</sup>, 王鹏<sup>1</sup>. FGF-2和osteopontin在非小细胞肺癌中的表达及其相关性[J]. 中南大学学报(医学版), 2009,34(11): 1114-1119
2. 谭倩<sup>1</sup>, 唐华容<sup>1</sup>, 刘荣荣<sup>2</sup>, 王光平<sup>1</sup>, 杨晓苏<sup>3</sup>, 陈方平<sup>1</sup>. FVII活化蛋白酶基因的Marburg I型多态性与脑梗死发病的相关性[J]. 中南大学学报(医学版), 2009,34(12): 1171-1175
3. 谭洪毅, 潘频华, 赵然然, 覃庆武, 王慧, 胡成平. 呼吸道合胞病毒感染大鼠脊髓背根节信号转录因子的研究[J]. 中南大学学报(医学版), 2009,34(12): 1189-1195
4. 袁平, 王万春. 膝关节三维有限元模型的建立及生物力学分析[J]. 中南大学学报(医学版), 2010,35(1): 85-89
5. 王微微<sup>1</sup>, <sup>2</sup>, 张明<sup>1</sup>, 王渊<sup>1</sup>, 金晨望<sup>1</sup>, 闫斌<sup>1</sup>, 麻少辉<sup>1</sup>. 脑内5-HT参与S I及S II脑区痛觉调控的功能磁共振成像研究[J]. 中南大学学报(医学版), 2010,35(3): 185-193
6. 卿春华, 陈平, 向旭东. 茶多酚对低剂量烟草悬凝物诱导人支气管上皮细胞氧化损伤及凋亡的影响[J]. 中南大学学报(医学版), 2010,35(2): 123-
7. 杨乐平, 谭兴国, 杨竹林, 李清龙, 苗雄鹰. 胰腺癌大鼠RAD51和MAX的表达[J]. 中南大学学报(医学版), 2010,35(2): 146-
8. 王敏<sup>1</sup>, 李先平<sup>1</sup>, 王庆林<sup>2</sup>, 汤兰桂<sup>2</sup>. 用抗HCV多抗从随机12肽库中筛选抗原表位[J]. 中南大学学报(医学版), 2010,35(3): 236-240
9. 樊敏<sup>1</sup>, 刘伏友<sup>2</sup>, 杨宇<sup>1</sup>, 叶云<sup>1</sup>, 黄谷香<sup>1</sup>. 糖原合成酶激酶-3 $\beta$ 磷酸化促进人腹膜间皮细胞分化的实验研究[J]. 中南大学学报(医学版), 2010,35(4): 329-
10. 王文欢<sup>1</sup>, 伍仁毅<sup>1</sup>, 孙国瑛<sup>2</sup>, 李新华<sup>1</sup>, 袁伟建<sup>1</sup>, 唐丽安<sup>1</sup>. VEGF-C和VEGF-D在胃癌组织中的表达与淋巴结转移的关系[J]. 中南大学学报(医学版), 2010,35(4): 335-
11. 谷娟<sup>1</sup>, 严谨<sup>2</sup>, 吴卫华<sup>3</sup>, <sup>4</sup>, 黄琪<sup>3</sup>, 欧阳冬生<sup>1</sup>. 醛糖还原酶的研究进展[J]. 中南大学学报(医学版), 2010,35(4): 395-
12. 刘虹, 彭佑铭, 李娟, 刘映红, 成梅初, 袁芳, 刘伏友. 3547例慢性肾脏疾病患者分期及相关因素分析[J]. 中南大学学报(医学版), 2010,35(5): 499-
13. 陶立坚<sup>1</sup>, \*, 张军<sup>1</sup>, 胡高云<sup>2</sup>, 陈卓<sup>2</sup>, 龚娟<sup>2</sup>. 1-(3-氟苯基)-5-甲基-2-(1H)吡啶酮对鼠肾成纤维细胞的影响[J]. 中南大学学报(医学版), 2004,29(2): 139-141
14. 陈名久, 吴显宁, 尹邦良, 等. 可吸收线分层缝合技术在颈部食管胃吻合术中的应用[J]. 中南大学学报(医学版), 2011,36(3): 265-
15. 朱淑娟<sup>1</sup>, <sup>2</sup>, 钱亦华<sup>1</sup>, 史利利<sup>1</sup>, 杨维娜<sup>1</sup>, 冯新正<sup>1</sup>, 李翠琴<sup>3</sup>, 刘勇<sup>1</sup>. 丹参酮IIA对A $\beta$ 25-35引起的Meynert核团神经元钙电流变化的影响[J]. 中南大学学报(医学版), 2010,35(8): 840-