

· 经验交流 · 文章编号: 1000-2790(2000)03-S0036-01

## 多肿瘤抑制基因对卵巢癌细胞周期的影响

刘淑娟, 辛晓燕, 王德堂

(第四军医大学西京医院妇产科, 陕西 西安 710033)

关键词: 卵巢肿瘤; 多肿瘤抑制基因; 细胞周期; 流式细胞术

中图分类号: R737.31 文献标识码: B

**0 引言** 多肿瘤抑制基因 1(MTS1)是人们发现的第一个直接参与细胞周期调控的抑癌基因<sup>[1,2]</sup>,其编码蛋白为 p16 蛋白,它通过与细胞周期素竞争性结合细胞周期素依赖激酶并使之失活,阻止细胞由 G1 期进入 S 期,从而抑制细胞分裂以及向恶变发展。在以往的研究<sup>[3]</sup>中我们构建了 MTS1 的真核表达载体并将其转入卵巢癌细胞。我们进一步探讨了 MTS1 基因对卵巢癌细胞周期的影响。

### 1 材料和方法

**1.1 材料** DMEM 培养基购自 Gibco 公司;胰蛋白酶购自

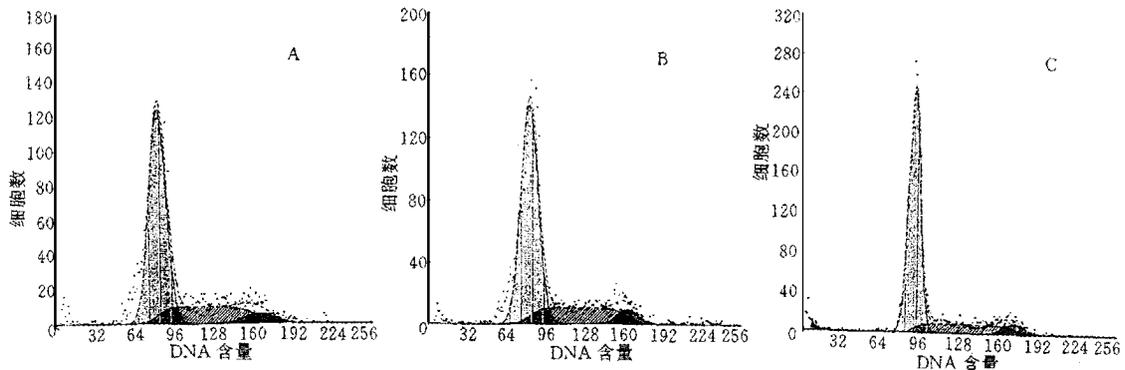


图 1 卵巢癌细胞的细胞周期分析

A: HO-8910; B: 8910-pdNA3; C: 8910-p16

**3 讨论** 肿瘤的发生是一个多基因多步骤的过程,近年来有关肿瘤的发生发展及调控机制的研究表明,细胞恶变是细胞增殖负向调控因子的缺失和正向调控因子的活性异常增强所致。多肿瘤抑制基因 1 由于其编码的 p16 蛋白可以通过参与细胞周期的调控而抑制细胞分裂以及向恶变发展,因此目前认为它在肿瘤的基因治疗方面可能存在着广泛的应用前景<sup>[4]</sup>。我们在实验中比较了转染 MTS1 基因的卵巢癌细胞 8910-p16 与 HO-8910, 8910-pdNA3 细胞的细胞周期,发现经 MTS1 转染后细胞由 G1 期进入 S 期受到抑制, G1 期细胞增多,而 S 期细胞比例相应减少,这与目前研究发现的 MTS1 的作用机制相符,也进一步证实将 MTS1 基因用于肿瘤基因治疗的可能性与可行性,为将来进行更深一步的研究打下了

基础。Sigma 公司;胎牛血清购自杭州四季青公司;人源性卵巢癌细胞系 HO-8910 由本实验室保存,经检测无 p16 蛋白表达;8910-p16 细胞为 HO-8910 经 MTS1 转染并筛选后所得;8910-pdNA3 细胞为 HO-8910 经 pdNA3 空载体转染并筛选后所得。

**1.2 方法** 取对数生长期的 8910-p16 细胞并制备单细胞悬液,  $1000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$  离心 10 min,  $0.01 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  PBS 洗 2 次后加入  $-20^\circ\text{C}$  预冷的  $700 \text{ mL} \cdot \text{L}^{-1}$  乙醇固定,混匀,4 过夜。次日再次以  $0.01 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  PBS 洗涤,并调整细胞数在  $5 \times 10^8 \cdot \text{L}^{-1} \sim 1 \times 10^9 \cdot \text{L}^{-1}$  之间,之后取 1 mL 并加入 PI(碘化丙啶)  $300 \mu\text{L}$  染色 30 min, 350 筛目过滤除去成团细胞,在 ELITE-ESP 型流式细胞仪上测定细胞周期,同时设 HO-8910 为空白对照和 8910-pdNA3 为空载体对照。

**2 结果** 经流式细胞仪检测显示, HO-8910 中处于 G1 期和 S 期的细胞分别为 69.8% 和 24.7%, 8910-pdNA3 细胞分别为 72.1% 和 22.4%, 而 8910-p16 细胞则分别为 75.8% 和 18.4%, 说明经 MTS1 转染后受阻于 G1 期的细胞增多,同时 S 期的细胞相应减少(图 1)。

### 基础

### 参考文献:

- [1] Kamb A, Gris NA, Weaver-Feldhaus J *et al*. A cell cycle regulator potentially involved in genesis of many tumor types [J]. *Science*, 1994; 264(5157): 436-440.
- [2] Nobori T, Miura K, Wu DJ *et al*. Deletions of the cyclin-dependent kinase-4 inhibitor gene in multiple human cancers [J]. *Nature*, 1994; 368(6473): 753-756.
- [3] 刘淑娟, 辛晓燕, 胡大海 *et al*. 抑癌基因 MTS1 真核表达载体的构建及其在卵巢癌细胞系 HO-8910 中的表达 [J]. 第四军医大学学报, 1999; 20(4): 348-353.
- [4] Hunter T, Pines J. Cyclins and cancer II: Cyclin D and CDK inhibitors come of age [J]. *Cell*, 1994; 79(4): 573-582.

编辑 王睿

收稿日期: 1999-12-01; 修回日期: 2000-01-11

作者简介: 刘淑娟(1973-), 女(汉族), 河北省石家庄市人, 医师, 硕士 Tel: (029) 3375391