

- 38 Vermeer H, Hendriks-Stegeman BI, van der Burg B, van Buul-Offers SC, Jansen M. Glucocorticoid-induced increase in lymphocytic FKBP51 messenger ribonucleic acid expression: a potential marker for glucocorticoid sensitivity, potency, and bioavailability. *J Clin Endocrinol Metab* 2003;88:277-284
- 39 Krummrei U, Baulieu EE, Chambraud B. The FKBP-associated protein FAP48 is an antiproliferative molecule and a player in T cell activation that increases IL2 synthesis. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003;100:2444-2449
- 40 Neye H. Mutation of FKBP associated protein 48 (FAP48) at proline 219 disrupts the interaction with FKBP12 and FKBP52. *Regul Pept* 2001;97:147-152
- 41 成军, 刘妍, 洪源, 王建军, 杨倩. 基因表达谱芯片技术筛选丙型肝炎病毒非结构蛋白3反式调节靶基因. 世界华人消化杂志 2003;11:930-933
- 42 成军, 刘妍, 洪源, 王建军, 杨倩. 基因表达谱芯片技术筛选乙型肝炎病毒X蛋白反式调节基因. 世界华人消化杂志 2003;11:920-924
- 43 洪源, 刘妍, 成军, 杨倩, 王建军. 应用表达谱芯片技术对截短型乙型肝炎病毒表面抗原中蛋白反式调节基因的研究. 世界华人消化杂志 2003;11:943-946
- 44 Valdez BC, Yang H, Hong E, Sequitin AM. Genomic structure of newly identified paralogue of RNA helicase II/Gu: detection of pseudogenes and multiple alternatively spliced mRNAs. *Gene* 2002;284:53-61
- 45 成军, 刘妍, 洪源, 王建军, 杨倩, 王琳. 乙型肝炎病毒和丙型肝炎病毒反式调节靶基因的抑制性消减杂交和基因芯片分析结果的比较. 世界华人消化杂志 2004;12:327-331

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2004年版权归世界胃肠病学杂志社

• 研究快报 •

基因表达谱芯片筛选双环醇作用HepG2细胞后的差异表达基因

王建军, 成军, 刘妍, 杨倩, 纪冬, 党晓燕, 王春花

王建军, 成军, 刘妍, 杨倩, 纪冬, 党晓燕, 王春花, 中国人民解放军第302医院传染病研究所基因治疗研究中心、全军病毒性肝炎防治研究重点实验室 北京市 100039
国家自然科学基金攻关项目, No. C030114020, No. C30070689, No. C39970674, No. C39900130
军队“九、五”科技攻关项目, No. 98D063
军队回国留学人员启动基金项目, No. 98H038
军队“十、五”科技攻关青年基金项目, No. 01Q138
军队“十、五”科技攻关面上项目, No. 01MB135
项目负责人: 成军, 100039, 北京市西四环中路100号, 中国人民解放军第302医院传染病研究所基因治疗研究中心, 全军病毒性肝炎防治研究重点实验室. cj@genetherapy.com.cn
电话: 010-66933391 传真: 010-63801283
收稿日期: 2004-03-15 接受日期: 2004-05-11

摘要

目的: 应用基因表达谱芯片技术了解双环醇在肝细胞中可能上调或下调的基因, 了解其可能的调节功能线索。

方法: 以双环醇处理HepG2细胞, 同时以二甲基硫氧化物(DMSO)处理的相同细胞系作为对照; 24 h后制备细胞裂解液, 提取mRNA. 应用基因表达谱芯片技术对差异表达mRNA进行检测和分析。

结果: 经基因表达谱芯片分析, 12种基因的表达水平上调, 9种基因的表达水平下调。

结论: 筛选到的一些与细胞周期、蛋白质的翻译合成、能量代谢、体内免疫调节、细胞凋亡及细胞内的信号传导方面的起重要作用及肿瘤发生相关的基因, 推测了双环醇可能存在的调控机制的线索, 尚需进一步的实验证明。

王建军, 成军, 刘妍, 杨倩, 纪冬, 党晓燕, 王春花. 基因表达谱芯片筛选双环醇作用HepG2细胞后的差异表达基因. 世界华人消化杂志 2004;12(7):1711-1714
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/12/1711.asp>

0 引言

百赛诺(双环醇片)是由中国医学科学院药物研究所研发, 北京协和药厂生产, 经国家药品监督管理局批准上市的国家一类抗肝炎化学合成新药, 是我国第一个有自主知识产权的国家一类新药. 双环醇对各种原因引起的肝损伤有明显的保护作用, 近年来广泛应用于病毒性肝炎的治疗中. 我们应用基因表达谱芯片技术, 筛选双环醇作用人肝癌细胞系HepG2细胞后差异表达基因, 并应用生物信息学(bioinformatics)技术对差异表达的基因进行分析. 双环醇作用HepG2细胞后差异表达基因的研究, 为深入了解双环醇在肝细胞内的调节作用机制提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料 人肝癌细胞系 HepG2 细胞由本室保存, 细胞培养相关试剂及总 RNA 提取试剂 Trizol 均购自 Gibco 公司. 双环醇为二甲基硫氧化物(DMSO)水溶液. 在35 mm 培养皿中常规培养 HepG2 细胞, 细胞生长至对数期时分别将双环醇及DMSO加入细胞培养液中, 使双环醇终浓度达到 1×10^{-5} mol/L, 24 h 后收获细胞, 每 5×10^6 个细胞加入 1 mL Trizol 试剂. 立即于液氮中保存。

1.2 方法

1.2.1 总 RNA 提纯及 mRNA 纯化 使用 Trizol 试剂一步法提取双环醇及 DMSO 处理的 HepG2 细胞总 RNA (分别标记为实验组和对照组), 样品经分光光度计检测吸光度 A 值, 并行热稳定实验, 于 -20 和 70 保温 1 h 后, 经琼脂糖凝胶电泳检测 28 s、18 s 条带变化. 以

Qiagen 公司 Oligotex mRNA Midi Kit 纯化得 mRNA. 操作按说明书进行, 并行电泳检测.

1.2.2 探针标记 参照 Schena et al^[1] 方法逆转录标记 cDNA 探针并纯化. Cy3-dUTP 标记对照组细胞 mRNA (5 μ g), Cy5-dUTP 标记实验组细胞 mRNA (5 μ g). 乙醇沉淀后溶解在 20 μ L 5 \times SSC+2 g/L SDS 杂交液中.

1.2.3 芯片制备 芯片包含的 1 152 个 cDNA 由上海联合基因有限公司提供, 包括原癌基因和抑癌基因、免疫调节相关基因、细胞凋亡和应激反应蛋白相关基因、信号转导相关基因等. 以通用引物进行 PCR 扩增, PCR 产物长度为 1 000-3 000 bp. 靶基因以 0.5 μ g/ μ L 溶解于 3 \times SSC 溶液中, 用 Cartesian 公司的 Cartesian 7500 点样仪及 TeleChem 公司的硅烷化玻片进行点样. 玻片经水合 (2 h)、室温干燥 (30 min), UV 交联, 再分别用 2 g/L SDS、水及 2 g/L 的硼氢化钠溶液处理 10 min, 晾干备用.

1.2.4 杂交及洗涤 将基因芯片和杂交探针在 95 $^{\circ}$ C 水浴变性 5 min, 将混合探针加在基因芯片上, 置于 60 $^{\circ}$ C 杂交 15-17 h. 依次以 2 \times SSC+2 g/L SDS、1 g/L \times SSC +2 g/L SDS、1 g/L \times SSC 洗涤 10 min, 室温晾干.

1.2.5 检测与分析 用 General Scanning 公司的 ScanArray 3000 扫描芯片. 用预先选定的内参照基因 (24 条管家基因, 每个基因点 2 个点, 共 48 个点) 对 Cy3 和 Cy5 的原始提取信号进行均衡和修正. 用 ImageGene 3.0 软件分析 Cy3、Cy5 两种荧光信号的强度, 计算 Cy5/Cy3 比值. 阳性结果判断: Cy5/Cy3 > 2.0, 红色荧光, 显示表达增强; Cy5/Cy3 < 0.5, 为绿色荧光, 显示表达减弱.

2 结果

2.1 总 RNA 及 mRNA 的定性、定量分析 总 RNA 的吸光度 A₂₆₀/A₂₈₀ > 1.89, 热稳定实验 70 $^{\circ}$ C 保温 1 h 与 -20 $^{\circ}$ C 1 h 电泳条带比较, 显示 28 S 条带无明显降解, 电泳结果证实已抽提高纯度的总 RNA. mRNA 主要集中于 0.9-4.0 kb 的连续条带.

2.2 芯片杂交体系验证及结果分析 在芯片上共有 1 152 个 cDNA. 为了监控芯片杂交技术体系的整个过程, 在芯片上设置了阴性对照 (8 条水稻基因, 共 8 个点), 这些点的杂交信号均很低, 证实了数据的可靠性. 由于实验组探针标记 Cy5 荧光素 (呈红色), 对照组探针标记 Cy3 荧光素 (呈绿色), 红绿颜色的差异就显示该基因在实验组和对照组中基因表达水平上的差异, 黄色代表表达水平无差异. 按阳性标准, 从 1 152 个基因中筛选出差异常表达基因共 94 条, 占 8.15%, 其中 38 条基因表达增强, 56 条基因表达降低.

2.3 双环醇下调基因类型在基因芯片的扫描分析中, 如果荧光染料的 Cy5/Cy3 比值在 0.500 以下, 就判断为双环醇的下调基因. 我们发现 9 种基因的表达水平下调 (表 1).

表 1 双环醇下调基因类型

编号	Cy5/Cy3	基因名称
1	0.461	成纤维细胞生长因子受体 1 (FGFR1)
2	0.463	核膜层蛋白 B 受体 (LBR)
3	0.469	DEAD/H 框蛋白
4	0.470	鸟苷酸环化酶 1 (GUCY1)
5	0.479	丝分裂素激活蛋白激酶激酶的激酶 2 (MAP3K2)
6	0.483	磷蛋白
7	0.485	脂酰辅酶 A 氧化酶
8	0.489	内皮素 1 (EDN1)
9	0.498	RNA 结合性基序蛋白 (RBM)

2.4 双环醇上调基因 双环醇上调基因类型在基因芯片的扫描分析中, 如果荧光染料的 Cy5/Cy3 比值在 2.00 以上, 就判断为双环醇的上调基因. 我们发现 12 种基因的表达水平上调 (表 2).

表 2 双环醇上调基因类型

编号	Cy5/Cy3 比值	基因名称
1	2.005	B- 细胞 CLL/ 淋巴瘤 10 (BCL10)
2	2.021	FYN- 结合蛋白 (FYB)
3	2.025	乳酸脱氢酶 B ₁
4	2.039	FKBP- 相关蛋白 (FAP48)
5	2.084	细胞分裂周期蛋白 23 (CDC23)
6	2.591	甘氨酸胺基转移酶 (GATM)
7	2.092	白血病抑制因子受体 (LIFR)
8	2.106	二乙基对硝基苯磷酸酯酶 2
9	2.210	DnaJ 样热激蛋白 40 (HLJ1)
10	2.360	肿瘤坏死因子受体 (TNFR)
11	2.456	Cofilin 蛋白
12	2.484	CAMP 依赖性蛋白激酶

3 讨论

百赛诺 (双环醇片) 对于肝细胞损伤具有保护作用^[1-3]. 对慢性丙型肝炎有很好的改善临床症状和降低转氨酶的作用, 长期服用, 无明显不良反应, 耐受性好^[4]. 此外, 双环醇还对肾缺血-再灌注损伤有保护作用^[5]. 基因表达谱芯片技术可快速有效地检测到两组组织或细胞基因表达谱的差异. 我们分别应用双环醇及其溶剂 DMSO 处理 HepG2 细胞, 使双环醇终浓度达到 1×10^{-5} mol/L, 24 h 后收获细胞, 之后从中提取总 RNA, 逆转录为 cDNA, 进行基因芯片技术分析. 结果表明, 12 种基因的表达水平上调, 9 种基因的表达水平下调, 在下调的基因中, 包括一些蛋白质体内合成、肿瘤发生、脂类代谢及信号传导相关的基因. 核膜层蛋白 B 受体 (LBR)、RNA 结合性基序蛋白 (RBM)、DEAD/H 框蛋白参与细胞核的转录、复制、翻译等生物学功能. 内皮素 1 (EDN1) 为强有力的血管收缩剂, 还具有多种生物学效应, 包

括血液动力学、心肌、肾脏、内分泌、平滑肌收缩和促细胞分裂效应等。也调节基因表达和培养的血管和非血管细胞的生长。可能参与体内微管结构的生长和补偿性改造。其对细胞核信号的传递可能在细胞分化和发育中起关键作用^[6-10]。成纤维细胞生长因子受体1(FGFR1)由一些T细胞产生,并对这些T细胞起到刺激作用。这些受体使T细胞响应在损伤和炎症刺激后成纤维细胞生长因子的表达。并且与T细胞受体有相互作用^[11]。与前列腺癌的进展相关^[12],还有人认为其水平的增高为癌前病变的指标^[13]。介导富含半胱氨酸的酸性分泌蛋白对内皮细胞增生和骨骼成肌细胞分化的抑制作用^[14]。与碱性成纤维细胞生长因子有高亲和性,通过阻断FGFR1相关的血管发生,可能对抑制肿瘤的生长具有一定的作用^[15]。鸟苷酸环化酶1(GUCY1)为催化cGMP合成的酶,直接或间接对各式各样的刺激进行应答,包括激素和神经递质^[16-19]。丝分裂素激活蛋白激酶激酶的激酶2(MAP3K2)是MAP激酶家族成员,参与细胞内信号转导途径。脂酰辅酶A氧化酶参与脂肪酸的 β 氧化,与脂类代谢相关。

在上调的基因中,包括一些与细胞周期、凋亡、能量代谢及免疫相关的基因。细胞分裂周期蛋白23(CDC23):与细胞的染色质相关,将细胞增生和DNA的复制之间联系起来,通过刺激微染色体复合物的磷酸化作用参与细胞分裂周期前复合物的活化作用,在DNA复制的起始阶段起重要作用^[20-22]。Cofilin蛋白是人T细胞中的一种胞质磷蛋白,是一种小分子的肌动蛋白结合蛋白,受辅助刺激信号的调节,去磷酸化后易位至细胞核。DnaJ样热激蛋白40(HLJ1)为一种伴侣蛋白,多在心脏、骨骼肌和胰腺中表达^[23]。甘氨酸胺基转移酶(GATM)、乳酸脱氢酶B在肌酸和糖类代谢中起重要作用。白血病抑制因子受体(LIFR)为体内免疫抑制因子的受体。BCL10:为细胞内的一种蛋白成分,与细胞凋亡相关,对核因子 κ B(NF- κ B)的激活有重要作用,在许多淋巴瘤和实体肿瘤中均发现其基因的突变或缺失,因此推测其缺失或突变可能为这些肿瘤发生的基因基础^[24-26]。FAP48是细胞内与免疫调节有密切关系的蛋白类型^[27]。这种蛋白与肽基脯氨酰异构酶、FK506结合蛋白59(FKBP59)和FKBP12蛋白之间能够结合,具有大环内酯类分子的结合位点,可能是这些免疫抑制剂药物受体的天然的共同配体分子^[28-29]。FYN-结合蛋白(FYB):可上调整合素蛋白介导的细胞黏附功能和肥大细胞内炎性递质的释放,参与炎症和变态反应的过程^[30]。二乙基对硝基苯磷酸酯酶2:为一种酯酶,与HDL相关,可降低LDL脂质过氧化物的敏感性^[31]。在氧化应激作用下可表达增加,起到抗氧化酶的作用减轻氧化损伤并减弱巨噬细胞泡沫结构的形成^[32-33]。CAMP依赖性蛋白激酶(CPKA)参与调节体内多种蛋白的功能,具有抑制凋亡^[34]、提高细胞的活动力^[35]、提高自然杀伤(NK)细胞的细胞毒作用^[36]、调节丘脑后部加压素的表达^[37]、抑制细胞外信号调节激酶(Erk)和p38丝分裂素蛋白激酶(MAPK)的

活性等作用。

通过对上述双环醇激活相关基因的分析,我们发现应用双环醇刺激细胞后,一些与细胞周期、蛋白质的生物合成、能量代谢、体内免疫调节、细胞凋亡及细胞内的信号传导方面的起重要作用及肿瘤发生相关的基因表达增高或降低,提示双环醇在维持细胞稳定、促进损伤细胞修复及提高机体免疫力,抗肿瘤方面可能有一定作用。关于双环醇具体的体内作用机制仍需要进一步的实验来证实。

4 参考文献

- 1 李烨,戴国伟,李燕,刘耕陶.双环醇对扑热息痛引起小鼠肝脏能量代谢和线粒体功能障碍的影响.药学报 2001;36:723-726
- 2 赵冬梅,刘耕陶.双环醇对刀豆蛋白A所致小鼠肝细胞核DNA损伤的保护作用.中华医学杂志 2001;81:844-848
- 3 Lu H, Li Y. Effects of bicyclol on aflatoxin B1 metabolism and hepatotoxicity in rats. *Acta Pharmacol Sin* 2002;23:942-945
- 4 姚光弼,计焱焱,周霞秋,王勤环,吴婉芬.双环醇治疗慢性丙型肝炎的临床研究.中华医学杂志 2002;82:958-960
- 5 赵冬梅,孙韬,李燕.双环醇对大鼠肾脏缺血-再灌注损伤的保护作用.药学报 2002;37:412-414
- 6 Hughes PM, Anthony DC, Ruddin M, Botham MS, Rankine EL, Sablone M, Baumann D, Mir AK, Perry VH. Focal lesions in the rat central nervous system induced by endothelin-1. *J Neuropathol Exp Neurol* 2003;62:1276-1286
- 7 Erdem M, Erdem A, Erdem O, Yildirim G, Memis L, Himmetoglu O. Immunohistochemical localization of endothelin-1 in human placenta from normal and growth-restricted pregnancies. *Pediatr Dev Pathol* 2003;6:307-313
- 8 Chauhan BC, LeVatte TL, Jollimore CA, Yu PK, Reitsamer HA, Kelly ME, Yu DY, Tremblay F, Archibald ML. Model of endothelin-1-induced chronic optic neuropathy in rat. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2004;45:144-152
- 9 Andrzejewska A, Dlugosz JW. The endothelin-1 receptor antagonists ameliorate histology and ultrastructural alterations in the pancreas and decrease trypsinogen activation in severe taurocholate pancreatitis in rats. *Int J Exp Pathol* 2003;84:221-229
- 10 Fratz S, Geiger R, Kresse H, Roemer G, Hennig M, Sebening W, Hess J. Pulmonary blood pressure, not flow, is associated with net endothelin-1 production in the lungs of patients with congenital heart disease and normal pulmonary vascular resistance. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2003;126:1724-1729
- 11 Byrd VM, Kilkenny DM, Dikov MM, Reich MB, Rocheleau JV, Armistead WJ, Thomas JW, Miller GG. Fibroblast growth factor receptor-1 interacts with the T-cell receptor signalling pathway. *Immunol Cell Biol* 2003;81:440-450
- 12 Freeman KW, Gangula RD, Welm BE, Ozen M, Foster BA, Rosen JM, Ittmann M, Greenberg NM, Spencer DM. Conditional activation of fibroblast growth factor receptor (FGFR) 1, but not FGFR2, in prostate cancer cells leads to increased osteopontin induction, extracellular signal-regulated kinase activation, and in vivo proliferation. *Cancer Res* 2003;63:6237-6243
- 13 Brandlein S, Beyer I, Eck M, Bernhardt W, Hensel F, Muller-Hermelink HK, Vollmers HP. Cysteine-rich fibroblast growth factor receptor 1, a new marker for precancerous epithelial lesions defined by the human monoclonal antibody PAM-1. *Cancer Res* 2003;63:2052-2061
- 14 Motamed K, Blake DJ, Angello JC, Allen BL, Rapraeger AC, Hauschka SD, Sage EH. Fibroblast growth factor receptor-1 mediates the inhibition of endothelial cell proliferation and the promotion of skeletal myoblast differentiation by SPARC: a role for protein kinase A. *J Cell Biochem* 2003;90:408-423
- 15 He QM, Wei YQ, Tian L, Zhao X, Su JM, Yang L, Lu Y, Kan B, Lou YY, Huang MJ, Xiao F, Liu JY, Hu B, Luo F, Jiang Y, Wen YJ, Deng HX, Li J, Niu T, Yang JL. Inhibition of tumor growth with a vaccine based on xenogeneic homologous fibroblast growth factor receptor-1 in mice. *J Biol Chem* 2003;278:21831-21836

- 16 Nakane M, Hsieh G, Miller LN, Chang R, Terranova MA, Moreland RB, Kolasa T, Brioni JD. Activation of soluble guanylate cyclase causes relaxation of corpus cavernosum tissue: synergism of nitric oxide and YC-1. *Int J Impot Res* 2002;14:121-127
- 17 Pyatakova NV, Khropov YV, Churakov AM, Tarasova NI, Serezhenkov VA, Vanin AF, Tartakovsky VA, Severina IS. Derivatives of benzotetrazine-1, 3-dioxide are new NO-donors, activators of soluble guanylate cyclase, and inhibitors of platelet aggregation. *Biochemistry (Mosc)* 2002;67:329-334
- 18 Mizusawa H, Hedlund P, Brioni JD, Sullivan JP, Andersson KE. Nitric oxide independent activation of guanylate cyclase by YC-1 causes erectile responses in the rat. *J Urol* 2002;167:2276-2281
- 19 Semple-Rowland SL, Tepedino M, Coleman JE. Pinopsin mRNA levels are significantly elevated in the pineal glands of chickens carrying a null mutation in guanylate cyclase-1. *Brain Res Mol Brain Res* 2001;97:51-58
- 20 Gregan J, Lindner K, Brimage L, Franklin R, Namdar M, Hart EA, Aves SJ, Kearsey SE. Fission yeast Cdc23/Mcm10 functions after pre-replicative complex formation to promote Cdc45 chromatin binding. *Mol Biol Cell* 2003;14:3876-3887
- 21 Lee JK, Seo YS, Hurwitz J. The Cdc23 (Mcm10) protein is required for the phosphorylation of minichromosome maintenance complex by the Dfp1-Hsk1 kinase. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003;100:2334-2339
- 22 Hart EA, Bryant JA, Moore K, Aves SJ. Fission yeast Cdc23 interactions with DNA replication initiation proteins. *Curr Genet* 2002;41:342-348
- 23 Mohri K, Ono S. Actin filament disassembling activity of *Caenorhabditis elegans* actin-interacting protein 1 (UNC-78) is dependent on filament binding by a specific ADF/cofilin isoform. *J Cell Sci* 2003;116:4107-4118
- 24 Miao J, Kusafuka T, Udatsu Y, Okada A. Mutation analysis of the BCL10 gene in childhood solid malignancies. *Med Pediatr Oncol* 2002;39:543-546
- 25 Kawano T, Iwase S, Nakayama R, Horiguchi-Yamada J, Kobayashi M, Yamada H. Lack of BCL10 mRNA mutation in lymphoid malignancies. *Anticancer Res* 2002;22:305-309
- 26 Park YK, Park HR, Kim YW, Chi SG, Unni KK. Lack of Bcl10 mutations in malignant cartilaginous tumors. *Int J Mol Med* 2002;9:217-219
- 27 Vermeer H, Hendriks-Stegeman BI, van der Burg B, van Buul-Offers SC, Jansen M. Glucocorticoid-induced increase in lymphocytic FKBP51 messenger ribonucleic acid expression: a potential marker for glucocorticoid sensitivity, potency, and bioavailability. *J Clin Endocrinol Metab* 2003;88:277-284
- 28 Neye H. Mutation of FKBP associated protein 48 (FAP48) at proline 219 disrupts the interaction with FKBP12 and FKBP52. *Regul Pept* 2001;97:147-152
- 29 Krummrei U, Baulieu EE, Chambrud B. The FKBP-associated protein FAP48 is an antiproliferative molecule and a player in T cell activation that increases IL2 synthesis. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003;100:2444-2449
- 30 Geng L, Pfister S, Kraeft SK, Rudd CE. Adaptor FYB (Fyn-binding protein) regulates integrin-mediated adhesion and mediator release: differential involvement of the FYB SH3 domain. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001;98:11527-11532
- 31 Ikeda Y, Suehiro T, Ohsaki F, Arai K, Kumon Y, Hashimoto K. Relationships between polymorphisms of the human serum paraoxonase gene and insulin sensitivity in Japanese patients with type 2 diabetes. *Diabetes Res Clin Pract* 2003;60:79-85
- 32 Rosenblat M, Draganov D, Watson CE, Bisgaier CL, La Du BN, Aviram M. Mouse macrophage paraoxonase 2 activity is increased whereas cellular paraoxonase 3 activity is decreased under oxidative stress. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003;23:468-474
- 33 Ng CJ, Wadleigh DJ, Gangopadhyay A, Hama S, Grijalva VR, Navab M, Fogelman AM, Reddy ST. Paraonase-2 is a ubiquitously expressed protein with antioxidant properties and is capable of preventing cell-mediated oxidative modification of low density lipoprotein. *J Biol Chem* 2001;276:44444-44449
- 34 Porcellini A, Messina S, De Gregorio G, Feliciello A, Carlucci A, Barone M, Picascia A, De Blasi A, Avvedimento EV. The expression of the thyroid-stimulating hormone (TSH) receptor and the cAMP-dependent protein kinase RII beta regulatory subunit confers TSH-cAMP-dependent growth to mouse fibroblasts. *J Biol Chem* 2003;278:40621-40630
- 35 Glenn HL, Jacobson BS. Cyclooxygenase and cAMP-dependent protein kinase reorganize the actin cytoskeleton for motility in HeLa cells. *Cell Motil Cytoskeleton* 2003;55:265-277
- 36 Bariagaber AK, Whalen MM. Decreased adenylyl cyclase and cAMP-dependent protein kinase activities inhibit the cytotoxic function of human natural killer cells. *Hum Immunol* 2003;64:866-873
- 37 Wong LF, Harding T, Uney J, Murphy D. cAMP-dependent protein kinase A mediation of vasopressin gene expression in the hypothalamus of the osmotically challenged rat. *Mol Cell Neurosci* 2003;24:82-90

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2004 年版权归世界胃肠病学杂志社

• 研究快报 •

大鼠肝再生相关基因LRRP1的人同源基因是一种新型琥珀酸脱氢酶的亚单位编码基因

成军, 王刚, 刘妍, 邵得志, 张玲霞, 陈菊梅

成军, 王刚, 刘妍, 邵得志, 张玲霞, 陈菊梅, 中国人民解放军第302医院传染病研究所基因治疗研究中心、全军病毒性肝炎防治研究重点实验室 北京市 100039
国家自然科学基金资助课题, No. C39970674, No. C03011402
军队回国留学人员启动基金项目, No. 98H038
项目负责人: 成军, 100039, 北京市西四环中路100号, 中国人民解放军第302医院传染病研究所基因治疗研究中心, 全军病毒性肝炎防治研究重点实验室. cj@genetherapy.com.cn
电话: 010-66933391 传真: 010-63801283
收稿日期: 2004-03-15 接受日期: 2004-05-11

摘要

目的: 应用分子生物学和生物信息学方法, 寻找、克隆大鼠肝再生相关基因LRRP1的人同源基因, 阐明LRRP1基因的结构和功能, 为研究肝脏再生调节的分子生物学机制奠定基础。

方法: 利用美国国立卫生研究院建立的核苷酸数据库