

太空诱变宫颈癌细胞的差异表达基因初探

Differential Gene Expression of Uterine Cervix Cancer Cell Induced by Exposing to the Space Environment

杨 丞/YANG Cheng, 李官成/LI Guan- cheng

中南大学肿瘤研究所免疫室, 长沙 410078

Immunity Lab.Cancer Research Institute,Xiangya School of Medicine,Central South University, Changsha 410078, China

[摘要] 将搭载于“神舟四号”飞船飞行返地后的宫颈癌 Caski 细胞进行单克隆化,筛选出生长速度快于对照组、编号为 44 F10 的细胞克隆, G1 期细胞减少, S 期细胞增多, 成瘤能力增强; 编号为 48A9 的细胞克隆细胞学行为与之相反, 与对照组差异均有显著性 ($P < 0.05$)。为了解太空诱变肿瘤细胞生物学行为改变的机制, 从分子水平入手研究经太空诱变的宫颈癌细胞和地面对照细胞的差异表达基因。应用含 2 747 个人类肿瘤相关基因的 Oligo 双通道芯片研究差异表达基因。分别抽提 44F10、48A9 组和地面对照细胞的总 RNA, 逆转录 cDNA 并标记探针。将实验组和对照组 cDNA 探针混合, 分别与同一张芯片杂交后, 用不同的波长扫描荧光强度, 从而筛选出差异基因。44F10 组有 16 个基因呈现差异表达, 48A9 组有 36 个基因呈现差异表达。差异性表达主要涉及细胞凋亡、细胞增殖、细胞周期调控和信号转导的基因。促进细胞增殖的基因在 44F10 组中表达上调, 而在 48A9 组中限制细胞增殖的基因表达上调。研究表明, 太空诱变宫颈癌细胞的差异表达基因导致了细胞生物学行为的改变。

[关键词] 宫颈肿瘤; 差异表达基因; cDNA 微阵列; 基因芯片

[中图分类号] R85

[文献标识码] A

[文章编号] 1000-7857(2006)08-0031-05

收稿日期: 2006-05-19

基金项目: “973”重大基础研究前期研究专项 2003(CA04200)

作者简介: 杨 丞, 女, 湖南长沙湘雅路 88 号中南大学肿瘤研究所免疫室, 硕士生, 主要研究方向为基因工程抗体与肿瘤的免疫治疗;

E-mail: yangcheng75@tom.com

李官成(通讯作者), 男, 湖南长沙湘雅路 88 号中南大学肿瘤研究所免疫室, 教授, 主要研究方向为基因工程抗体与肿瘤的免疫治疗; E-mail: libsun@public.cs.hn.cn

- [15] JONATHAN A M. Nondestructive Evaluation of Zirconium Phosphate Bonded Silicon Nitride Radomes [D]. Blacksburg, Virginia: Virginia Polytechnic Institute and State University, 1996.
- [16] BARTA J, MANELA M, FISCHER R. Si₃N₄ and Si₂N₂O for high performance radomes [J]. Materials Science and Engineering, 1985, 71:265-272.
- [17] 曾昭焕. 氮化硼的高温介电性能 [J]. 宇航材料工艺, 1993, 23 (2): 17-21.
- [18] THOMAS M P. Low loss radar window for reentry vehicle[P]. US Patent 4786548, 1988.
- [19] KIRBY K W, JANKIEWICZ A T, LOWELL R F, et al. Kevin W K, Mark Janney, Anthony Jankiewicz. Near net shape fabrication of ceramic radomes[P]. US Patent 6083452, 2000.
- [20] 齐共金, 张长瑞, 胡海峰, 等. 陶瓷基复合材料天线罩制备工艺进展 [J]. 硅酸盐学报, 2005, 33(5):632-638.
- [21] SANGHI G P. Machining of ceramic radomes. High performance ceramics [C]. Hyderabad: Indian Ceramic Society, 1986: 247-253.
- [22] 戎华, 曲晓飞, 杨美建, 等. 关于减小天线罩瞄准误差的补偿方法的研究[J]. 系统工程与电子技术, 2005, 27(6): 1135-1141.
- [23] 刘建杰. 雷达型空空导弹陶瓷天线罩结构与失效分析[D]. 南京:

南京航空航天大学, 2004.

- [24] WALTON J D. Radome engineering handbook [M]. New York: 1970.
- [25] 姜卫陵, 郦江涛, 赵云峰, 等. 玻璃纤维/酚醛复合材料的烧蚀性能研究[J]. 导弹与航天运载技术, 2003(5): 47-50.
- [26] 唐宝富, 王浚海. 一种雷达天线罩静压试验方法[J]. 电子机械工程, 2003, 19(2):18-20.
- [27] 薛澄岐, 陈志刚. 机载雷达罩静力试验研究 [J]. 电子机械工程, 2003, 19(6):14-16.
- [28] 柳敏静, 郭东明, 康仁科, 等. 天线罩系统电气性能分析[J]. 大连理工大学学报, 2005, 45(1): 39-44.
- [29] 张恒庆. 超高音速导弹天线罩电性能评价 [J]. 制导与引信, 2005, 26(1): 37-42.
- [30] 盛贤君, 郭东明, 徐志祥, 等. 导弹天线罩内廓型面测量与重构技术的研究[J]. 哈尔滨工业大学学报, 2003, 35(3): 284-287.
- [31] 邹志威, 朱剑锋. 应用低频涡流测量雷达天线罩的厚度 [J]. 无损检测, 2001, 23(11): 503-504.
- [32] 戎华. 导弹天线罩技术简介[J]. 声学及电子工程, 2003(3): 36-47.
- [33] 闫联生, 李贺军, 崔红. 高温陶瓷透波材料研究进展[J]. 宇航材料工艺, 2004(2): 14-16.

(责任编辑 李慧政)

Abstract: We investigated the effect of special space environment on cell growth characteristics and malignant phenotype in the Caski human uterine cervix cancer cell line. Caski cell was carried in "Shenzhou" spacecraft and the returning cell was monocloned. Strains numbered 44F10 was screened out since its increased cell proliferation and tumorigenesis. Moreover, its cell cycle was induced to progress from G1 to S phase, while strains 48A9 were opposite to 44F10 in cytological events. The difference between ground control groups and space groups was significant ($P < 0.05$). Little is known about the underlying changes in gene expression. The purpose of this study was to investigate these changes. Oligonucleotide microarray containing 2 747 probesets was performed on 44F10/ control cell and 48A9/ control cell. Total RNA from both cell types was isolated for reversed transcription cDNA probes; hybridization was performed with double pathway - specific gene expression profiling array membrane. Compared with ground control cell, 16 genes were detected to be differentially expressed in group 44F10. There are 36 genes exhibiting differential expression in group 48A9. Among these genes, a high proportion of genes were associated with apoptotic, cell cycle, cell proliferation and cell signal transduction. As expected, several growth-promoting genes were upregulated in group 44F10, while many genes associated with growth restriction were upregulated in group 48A9. The study provides that differential gene expression of uterine cervix cancer cell induced by exposing to the space environment can lead to alteration of phenotype.

Key Words: cervical carcinoma; differential gene expression; cDNA microarray; genechip

CLC Number: R85

Document Code: A

Article ID: 1000-7857(2006)08-0031-05

已有的空间生物学研究表明,重力值的改变可以导致细胞许多生理功能的显著变化^[1],离子辐射亦可改变细胞的生长特性^[2]。因此,空间特殊环境的复合作用更易于诱发细胞变异^[3]。我们将宫颈癌 Caski 细胞搭载于“神舟四号”飞船,筛选出生物学性状改变的细胞克隆(杨丞,李官成,李跃辉,等.太空诱变宫颈癌的生物学研究.中南大学学报医学版,2006,待发表)。为了解太空诱变的宫颈癌细胞生物学改变的机制,我们在已筛选的基础上挑选出变异方向相反的 2 株应用 cDNA 微阵列表达技术,研究了太空诱变株和地面对照株 2 747 个人类肿瘤相关基因的表达概况,寻找出与地面对照组的差异表达基因,并在此基础上初步分析了差异表达基因对太空宫颈癌细胞学生物行为的影响。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 细胞

经“神舟四号”搭载返地后的人宫颈癌 Caski 细胞由中日友好医院临床医学研究所提供。返地后单克隆化由本实验室完成,其中编号为 44F10 株为生长快的细胞克隆,48A9 为生长慢的细胞克隆。

1.1.2 主要试剂

人肿瘤相关基因 Oligo 芯片购自北京博奥生物芯片公司,包含 2 747 个人类肿瘤相关基因;Trizol 试剂购自赢润生物公司;RNA clean-up 试剂盒、PCR NucleoSpin Extract II 试剂盒购自德国 MACHEREY-NAGEL 公司;随机引物 T7-Oligo (dT) 15 (5'-AAACGACGGCCAGTGAATTGTAATACGACTCACTATAGGCGC TTTTTTTTTTTTTT-3'), dNTP (10mM each), Random Primer (9 mer) 购自上海博亚生物公司;cDNA Synthesis Kit 和 T₇ RiboMAX Express Large Scale RNA Production System 购自美国 Promega 生物公司;M-MLV 反转录酶购自 Invitrogen 公司;KLENOW 酶购自 Takara 公司;Cy5-dCTP、Cy3-dCTP 购自美国 Amersham Pharmacia 公司。

1.1.3 主要仪器

LuxScan 10 KA 双通道激光扫描仪(由北京博奥公司提供技术支持);GenePix Pro 4.0 图像分析软件由 Axon Instruments 公司生产。

1.2 方法

1.2.1 细胞 RNA 的提取

按 Trizol 试剂盒说明书提取细胞中的总 RNA,通过异丙醇沉淀法浓缩 RNA,并进一步采用 NucleoSpinR RNA clean-up 试剂盒对总 RNA 进行过柱纯化,最后用分光光度计定量 260 nm 处波长 A₂₆₀ 和 280 nm 处波长 A₂₈₀,甲醛变性胶电泳质检。

1.2.2 双链 cDNA 合成

取 5 μg 总 RNA,以 T₇-Oligo (dT)₁₅, (5'-AAACGA CGGCCAGTGAATTGTAATACGACTCACTATAGG CGC TTTTTTTT TTTTTTTT-3') 为引物,用 cDNA Synthesis Kit 合成双链 cDNA;双链合成后用 PCR NucleoSpin Extract II Kit 纯化。

1.2.3 体外转录合成 cRNA

用 T₇ RiboMAX Express Large Scale RNA Production System 将双链 cDNA 进行体外转录合成 cRNA;然后用 RNA Clean-up Kit 纯化。

1.2.4 随机引物反转录

取 2 μg cRNA,用 M-MLV 反转录酶,200 u/μl,9 Random Primer 进行反转录,反转录产物用 PCR NucleoSpin Extract II Kit 纯化。

1.2.5 cDNA 用 KLENOW 酶标记

取 2 μg cRNA 反转录产物,以 9 Random Primer 为引物进行 KLENOW 酶标记,标记产物用 PCR NucleoSpin Extract II Kit 纯化,纯化后抽干。标记过程中 dATP, dGTP, dTTP 终浓度为 120 μmol/L, dCTP 终浓度为 60 μmol/L, Cy5-dCTP, Cy3-dCTP 终浓度为 40 μmol/L。

1.2.6 杂交与清洗

标记的 DNA 溶于 30 μl 杂交液中(3×SSC, 0.2% SDS, 5×Denhart's, 25% 甲酰胺),于 42℃ 杂交过夜。杂交结束后,先在 42℃ 左右含 0.2% SDS, 2×SSC 的液体中洗 5 min,而后在 0.2×SSC 中室温洗 5 min。玻片甩干后即可用于扫描。

1.2.7 芯片扫描

芯片用 LuxScan 10KA 双通道激光扫描仪以 532 nm 和 635 nm 分别扫描。

1.2.8 芯片图像的采集与数据分析

采用 GenePix Pro 4.0 图像分析软件对芯片图像进行分析,把图像信号转化为数字信号;以 4 个看家基因 GAPD、ACTB、LDHA、RPL9 作为阳性对照,50%的 DMSO 作为阴性对照,以及酵母的 8 个基因间序列(Y1、Y2、Y3、Y4、Y5、Y6、Y7、Y8)作为外标,最后用 t-test 方法结合 2 倍差异的标准来确定差异表达基因,即实验组/对照组比值大于 2 为基因上调,在图中呈现红色;实验组/对照组比值小于 0.5,为基因下调,呈现绿色;黄色为无差异基因。

2 结果

2.1 各细胞株提取总 RNA 结果

各细胞总 RNA 电泳条带清晰,28S:18S 条带亮度比值接近 2:1,5S 条带几乎不可见,分光光度计测得地面对照细胞总 RNA A₂₆₀/A₂₈₀ 为 1.964, 44F10 组总 RNA A₂₆₀/A₂₈₀ 为 1.86, 48A9 组总 RNA A₂₆₀/A₂₈₀ 为 1.93。电泳结果显示获得高质量总 RNA(图 1)。

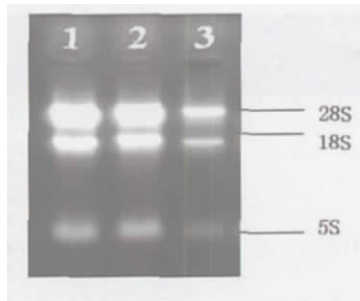


图 1 各细胞株的总 RNA 电泳结果

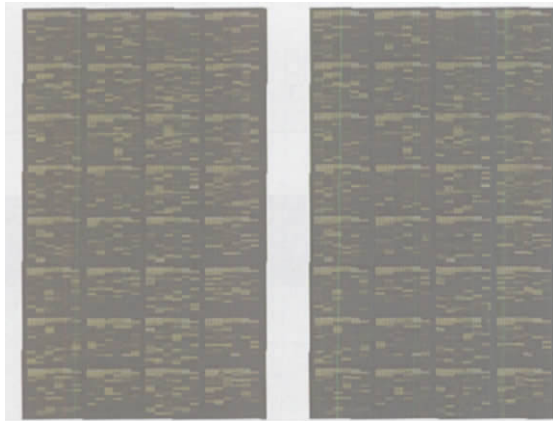
注: 1 对照; 2 44F10 细胞株; 3 48A9 细胞株

Fig. 1 Electrophoresis result of total RNA in different cells

1 Ground normal control; 2 cell number 44F10; 3 cell number 48A9

2.2 基因芯片的杂交信号叠加结果

从扫描信号叠加图(见图 2)可看出, 图 a 和 b 均以 Cy3 标记地面对照细胞, 图 a 中以 Cy5 标记 44F10 细胞, 图 b 中以 Cy5 标记 48A9 细胞, 荧光强度相似的黄色点占多数, 红色点则是实验组细胞杂交信号强, 绿色点则是对照组细胞杂交信号强, 分别表示实验组细胞和对照组细胞的相应基因高表达。



a. 44F10 细胞组与对照组细胞芯片杂交信号叠加图

b. 48A9 细胞组与对照组细胞芯片杂交信号叠加图

图 2 实验组与对照组细胞芯片杂交信号叠加图

(a) Hybridization sign in control cell/ 44F10 cell

(b) Hybridization sign in control cell/ 48A9 cell

Fig. 2 Image of two-colour hybridized microarray

2.3 基因芯片的杂交信号强度散点结果

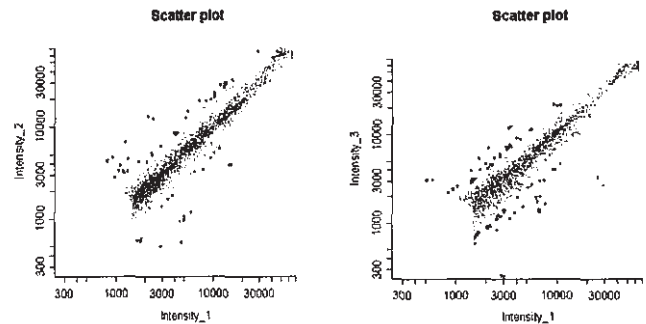
从荧光扫描的信号强度散点图可看出。以 Y 轴表示 Cy5 的杂交信号强度, X 轴表示 Cy3 的杂交信号强度, 可见绝大部分基因位于 45 度线上, 表示 Cy3/Cy5 比值为 1, 基因表达无差异, 比值在 0.5~2.0 范围之外的点表达才有差异(见图 3)。

2.4 基因芯片杂交数据分析

将原始数据按 $Cy5/Cy3 > 2$ 或 < 0.5 进行筛选, 发现 44F10 株与地面对照株在 2 747 个人肿瘤相关基因中有 16 个差异表达基因, 其中有 9 个基因呈现表达上调, 有 7 个基因表达下调; 48A9 细胞株有 36 个基因呈现差异表达, 其中有 17 个基因表达上调, 有 19 个基因表达下调(见表 1~4)。

3 讨论

本实验室在对太空搭载的宫颈癌细胞单克隆化后, 与地面对照比较, 空间诱变株的细胞克隆出现了多向性的生物学特性的改



a. 对照组细胞/44F10 细胞杂交信号强度散点

b. 对照组细胞/48A9 细胞杂交信号强度散点图

图 3 实验组细胞与对照组细胞杂交信号强度散点图

(a) Scatter graph of hybridization sign intensity in control group/44F10 group

(b) Scatter graph of hybridization sign intensity in control group/48A9 group

Fig. 3 Scatter graph of hybridization sign intensity

in control group/experimental group

细胞形态、细胞增殖、细胞周期及恶性表型的改变(杨丞, 李官成, 李跃辉, 等. 太空诱变宫颈癌的生物学研究. 中南大学学报医学版, 2006, 待发表)。而空间的特殊环境不仅可影响细胞的生理特性, 还可影响细胞内基因的表达^[4]。因前期研究表明 44F10 组生长速度快、倍增时间较地面对照短、G1 期细胞减少、S 期细胞增多, 在软琼脂集落实验和裸鼠成瘤实验中, 恶性表型程度高; 而 48A9 组变异方向与之相反。为了分析空间诱变株细胞生物学行为改变的原因, 我们利用基因芯片技术研究了这 2 株细胞克隆 2 747 个人类肿瘤相关基因的表达概况, 结果发现, 44F10 组与地面对照组之间存在 16 个表达差异基因, 48A9 组与地面对照组之间存在 36 个差异基因。这些差异基因主要集中在细胞信号传导相关基因、细胞周期和凋亡相关基因、细胞代谢和发育相关基因。

细胞周期和细胞凋亡都是观察细胞体外生长特性的参数, 以上差异表达基因中主要涉及细胞周期和细胞凋亡调控功能的基因有 CCND1、PTK2B、GADD45A、CDC6、CLU、SOD2。CCND1 基因编码的蛋白属于 Cyclin 家族中一员, 调控细胞周期 G1/S 期的过渡, 它的突变和过表达能改变细胞周期的进展, 研究多表明 CCND1 在肿瘤发生中起着关键的作用, 并且和肿瘤的远处转移高度相关^[5]。它在 44F10 组的表达上调解释了此组细胞与地面对照组之间的细胞生物学行为上的差异, 44F10 组细胞的增殖速度快、细胞周期进展的改变及恶性表型增高可能都与 CCND1 基因的调控有关。GADD45A 基因能诱导 G2/M 期的滞留, 抑制细胞生长并诱导细胞凋亡^[6-7]。CLU 基因编码的 clusterin 蛋白, 调节某些与细胞死亡、细胞老化、肿瘤进展和神经系统疾病相关的生理状态, 它在细胞内和细胞外的正常表达能对细胞起着保护作用, 一旦大量表达在细胞内或直接在细胞外环境生成相关蛋白, 则对细胞的生长有着高度的抑制作用^[8]。它们在 48A9 组细胞表达上调提示细胞表现为生长速度缓慢、恶性转化程度低是有因可循的。而 CDC6 基因在宫颈癌中的表达增加可增强肿瘤的转移能力^[9], 并且 P53 的活化可以减低 CDC6 的水平, 从而导致细胞增殖减慢及细胞凋亡^[10]。SOD2 基因可以保护细胞增殖的能力, 加快细胞进入 S 期的进程^[11]。它们在 48A9 组中表达下调同样说明了 48A9 组所表现的细胞生物学行为与上述基因所调控的表现并不矛盾。

信号传导通路在肿瘤细胞的生长中的作用不可忽视。SERPINE1 基因表达产物参与纤维蛋白溶解途径。纤维蛋白酶原是纤维蛋白溶解酶(PA)的前体, 其与细胞外基质的有形成成分相连, 经纤维蛋白溶解酶激活因子作用后转变为 PA 降解大多数基质物质, 并激活胶原酶, 这种对基质的降解作用影响着肿瘤转移过程

表 1 44F10 细胞表达上调的基因
Tab. 1 Upregulated genes in 44F10 cell

基因库登记号 GenBank Accession	基因名 Gene name	Cy ₅ /Cy ₃ 率 Cy ₅ /Cy ₃ Ratio
NM_002473	Homo sapiens myosin, heavy polypeptide 9 MYH9	2.137 7
NM_006851	Homo sapiens GLI pathogenesis- related 1 GLIPR1	2.524 4
NM_002300	Homo sapiens lactate dehydrogenase B LDHB	2.575 4
NM_000358	Homo sapiens transforming growth factor, beta- induced TGFBI	2.601 7
NM_001394	Homo sapiens dual specificity phosphatase 4 DUSP4	2.668 7
NM_021913	Homo sapiens AXL receptor tyrosine kinase AXL	2.785 2
NM_053056	Homo sapiens cyclin D1 CCND1	3.302 1
NM_000602	Homo sapiens serpin peptidase inhibitor, member 1 SERPINE1	5.168 9
NM_058242	Homo sapiens keratin 6C KRT6C	5.536 6

注: Cy₅ 标记 44F10 cell/Cy₃ 标记对照细胞。

表 2 44F10 细胞表达下调的基因
Tab. 2 Downregulated genes in 44F10 cell

基因库登记号 GenBank Accession	基因名 Gene name	Cy ₅ /Cy ₃ 率 Cy ₅ /Cy ₃ Ratio
NM_001875	Homo sapiens carbamoyl- phosphate synthetase 1 CPS1	0.037 4
NM_003733	Homo sapiens 2'- 5'- oligoadenylate synthetase- like OASL	0.197 9
NM_000710	Homo sapiens bradykinin receptor B1 BDKRB1	0.253 6
NM_002888	Homo sapiens retinoic acid receptor responder 1 RARRES1	0.268 4
NM_005564	Homo sapiens lipocalin 2 LCN2	0.337 0
NM_002852	Homo sapiens pentraxin- related gene, rapidly induced by IL- 1 beta PTX3	0.367 0
NM_020529	Homo sapiens nuclear factor of kappa light polypeptide gene enhancer in B- cells inhibitor, alpha NFKBIA	0.489 5

注: Cy₅ 标记 44F10 cell/Cy₃ 标记对照细胞。

表 3 48A9 细胞表达上调的基因
Tbl. 3 Upregulated genes in 48A9 cell

基因库登记号 GenBank Accession	基因名 Gene name	Cy ₅ /Cy ₃ 率 Cy ₅ /Cy ₃ Ratio
NM_002768	Homo sapiens procollagen (type III) N- endopeptidase PCOLN3	2.042 5
NM_002620	Homo sapiens platelet factor 4 variant 1 PF4V1	2.055 2
NM_002705	Homo sapiens periplakin PPL	2.105 8
NM_002414	Homo sapiens CD99 antigen MIC2	2.129 4
NM_014599	Homo sapiens melanoma antigen family D, 2 MAGED2	2.142 9
NM_003365	Homo sapiens ubiquinol- cytochrome c reductase core protein I UQCRC1	2.163 1
NM_000099	Homo sapiens cystatin C CST3	2.171 6
NM_000215	Homo sapiens Janus kinase 3 JAK3	2.171 9
NM_003982	Homo sapiens solute carrier family 7 member 7 SLC7A7	2.338 6
NM_002051	Homo sapiens GATA binding protein 3 GATA3	2.438 1
NM_000362	Homo sapiens TIMP metalloproteinase inhibitor 3 TIMP3	2.491 8
NM_004103	Homo sapiens PTK2B protein tyrosine kinase 2 beta PTK2B	2.497 0
NM_001924	Homo sapiens growth arrest and DNA- damage- inducible, alpha GADD45A	2.671 8
NM_058242	Homo sapiens keratin 6C KRT6C	3.088 9
NM_001831	Homo sapiens clusterin CLU	3.484 0
NM_005009	Homo sapiens non- metastatic cells 4 NME4	5.720 7
NM_000115	Homo sapiens endothelin receptor type B EDNRB	7.164 2

注: Cy₅ 标记 44F10 cell/Cy₃ 标记对照细胞。

的多个重要环节^[12]。研究表明, PAI- 1(SERPINE1)基因在宫颈癌细胞中的表达上调与宫颈癌患者的预后差及生存率低密切相关^[13]。SERPINE1 基因在 44F10 组的表达与对照组比较远高于 2 倍, 可见 44F10 组细胞的恶性表型增高很可能是由基因变异后表达产物的改变引起的。

DUSP4 基因在 MAPK 信号传导通路中起着关键作用, 能通过 MKP- 2 酶抑制细胞凋亡^[14]。TIMP3 基因参与 P53 信号传导途径, 表达上调的 TIMP3 基因不仅能诱导细胞凋亡, 还能降低 TNF- α 抑制细胞凋亡的影响^[15]。CD99 是广泛表达于细胞表面的

黏附分子, 可诱导细胞凋亡, 它的功能是通过细胞骨架的重组来完成的, actin 纤维作为早期信号事件被 CD99 所驱动^[16]。

在 48A9 组细胞上调的基因中, EDNRB 上调倍数最高, 因为此基因表达的降低与肿瘤转移后造成的死亡密切相关^[17], 因此它在 48A9 组细胞的上调也证明了此细胞在变异中倾向于低恶性程度, 与细胞所表现的生物学性状是一致的。

在两组中共同上调的 KRT6C 基因是角化蛋白基因家族的成员, 它是构成复层表皮成分, 并且在各种应激状态下或是细胞损伤中表达增强^[18]。

表 4 48A9 细胞表达下调的基因
Tbl. 4 Downregulated genes in 48A9 cell

基因库登记号 GenBank Accession	基因名 Gene name	Cy ₅ /Cy ₃ 率 Cy ₅ /Cy ₃ Ratio
NM_001875	Homo sapiens carbamoyl- phosphate synthetase 1 CPS1	0.074 4
NM_006799	Homo sapiens protease, serine, 21 PRSS21	0.087 7
NM_005567	Homo sapiens lectin, galactoside- binding, soluble, 3 binding protein LGALS3BP	0.198 7
NM_002888	Homo sapiens retinoic acid receptor responder 1 RARRES1	0.210 8
NM_080733	Homo sapiens WAP four- disulfide core domain 2 WFDC2	0.267 3
NM_000636	Homo sapiens superoxide dismutase 2 SOD2	0.296 3
NM_003733	Homo sapiens 2'- 5'- oligoadenylate synthetase- like OASL	0.339 4
NM_002447	Homo sapiens macrophage stimulating 1 receptor MST1R	0.366 3
NM_005564	Homo sapiens lipocalin 2 LCN2	0.378 4
NM_007192	Homo sapiens suppressor of Ty 16 homolog SUPT16H	0.421 9
NM_001252	Homo sapiens tumor necrosis factor (ligand) superfamily, member 7 TNFSF7	0.431 4
NM_002213	Homo sapiens integrin, beta 5 ITGB5	0.448 6
NM_013282	Homo sapiens ubiquitin- like, containing PHD and RING finger domains, 1 UHRF1	0.456 4
NM_001809	Homo sapiens centromere protein A CENPA	0.461 3
NM_006034	Homo sapiens tumor protein p53 inducible protein 11	0.464 3
NM_006569	Homo sapiens cell growth regulator with EF- hand domain 1 CGREF1	0.474 7
NM_002466	Homo sapiens v- myb myeloblastosis viral oncogene homolog (avian)- like 2 MYBL2	0.483 5
NM_005956	Homo sapiens formyltetrahydrofolate synthetase MTHFD1	0.493 9
NM_001254	Homo sapiens CDC6 cell division cycle 6 homolog CDC6	0.494 7

注: Cy5 标记 44F10 cell/Cy3 标记对照细胞。

4 结论

综上所述,经空间诱变的肿瘤细胞和地面对照细胞之间存在着许多基因的表达差异,并且这些变异细胞的基因表达异常与它们的生物学性状是对应的,但由于实验的基因芯片中只包括了2 000多种基因,所以研究结果反映的也只是宫颈癌细胞基因表达的部分特征。虽然如此,太空诱变宫颈癌细胞的差异表达基因的初步探索,为我们进一步的研究提供了有力的依据和线索,为后续研究奠定了基础。

参考文献 (References)

- [1] ZAYZAFON M, GATHINGS WE, McDonald JM. Modeled microgravity inhibits osteogenic differentiation of human mesenchymal stem cells and increases adipogenesis[J]. *Endocrinology*, 2004, 145(5): 2421- 2432.
- [2] CHANG PY, BJORNSTAD KA, ROSEN CJ, et al. Effects of iron ions, protons and x rays on human lens cell differentiation[J]. *Radiat Res*, 2005, 164(4): 531- 539.
- [3] KLAUS DM, BENOIT MR, NELSON ES, et al. Extracellular mass transport considerations for space flight research concerning suspended and adherent in vitro cell cultures[J]. *J Gravit Physiol*, 2004, 11(1): 17- 27.
- [4] KANO M, KITANO T, IKEEMOTO M, et al. Isolation and characterization of a novel gene sfjg in rat skeletal muscle up- regulated by spaceflight(STS- 90)[J]. *J Med Invest*, 2003, 50(1- 2): 39- 47.
- [5] BALCERCZAK E, PASZ- WALCZAK G, KUMOR P, et al. Cyclin D1 protein and CCND1 gene expression in colorectal cancer[J]. *Eur J Surg Oncol*, 2005, 31(7): 721- 726.
- [6] JIN S, TONG T, FAN W, et al. GADD45- induced cell cycle G2- M arrest associates with altered subcellular distribution of cyclin B1 and is independent of p38 kinase activity [J]. *Oncogene*, 2002, 21(57): 8696- 8704.
- [7] TONG T, JIJ, JIN S, et al. Gadd45a expression induces Bim dissociation from the cytoskeleton and translocation to mitochondria [J]. *Mol Cell Biol*, 2005, 25(11): 4488- 4500.
- [8] TROUGAKOS IP, LOURDA M, Agiostratidou G, et al. Differential effects of clusterin/apolipoprotein J on cellular growth and survival [J]. *Free Radic Biol Med*, 2005, 38(4): 436- 449.
- [9] MURPHY N, RING M, HEFFRON CC, et al. Quantitation of CDC6

and MCM5 mRNA in cervical intraepithelial neoplasia and invasive squamous cell carcinoma of the cervix [J]. *Mod Pathol*, 2005, 18 (6): 844- 849.

- [10] DUURSMA A, AGAMI R. p53- Dependent regulation of Cdc6 protein stability controls cellular proliferation [J]. *Mol Cell Biol*, 2005, 25(16): 6937- 6947.
- [11] SARSOOR E H, AGARWAL M, PANDITA T K, et al. Manganese superoxide dismutase protects the proliferative capacity of confluent normal human fibroblasts [J]. *J Biol Chem*, 2005, 280(18): 18033- 18041.
- [12] HAPKE S, KESSLER H, ARROYO de Prada N, et al. Integrin alpha (V)beta (3)/vitronectin interaction affects expression of the urokinase system in human ovarian cancer cells [J]. *J Biol Chem*, 2001, 276(28): 26340- 26348.
- [13] HAZELBAG S, KENTER G G, GORTER A, et al. Prognostic relevance of TGF- beta1 and PAI- 1 in cervical cancer [J]. *Int J Cancer*, 2004, 112(6): 1020- 1028.
- [14] CADALBERT L, SLOSS C M, CAMERON P, et al. Conditional expression of MAP kinase phosphatase- 2 protects against genotoxic stress- induced apoptosis by binding and selective dephosphorylation of nuclear activated c- jun N- terminal kinase [J]. *Cell Signal*, 2005, 17(10): 1254- 1264.
- [15] DRYNDA A, QUAX PH, NEUMANN M, et al. Gene transfer of tissue inhibitor of metalloproteinases- 3 reverses the inhibitory effects of TNF- alpha on Fas- induced apoptosis in rheumatoid arthritis synovial fibroblasts[J]. *J Immunol*, 2005, 174(10): 6524- 6531.
- [16] CERISANO V, AALTO Y, PERDICHIZZI S, et al. Molecular mechanisms of CD99- induced caspase- independent cell death and cell- cell adhesion in Ewing's sarcoma cells: actin and zyxin as key intracellular mediators[J]. *Oncogene*, 2004, 23(33): 5664- 5674.
- [17] SMITH SL, DAMATO BE, SCHOLLES AG, et al. Decreased endothelin receptor B expression in large primary uveal melanomas is associated with early clinical metastasis and short survival[J]. *Br J Cancer*, 2002, 87(11): 1308- 1313.
- [18] TAKAHASHI K, YAN B, YAMANISHI K, et al. The two functional keratin 6 genes of mouse are differentially regulated and evolved independently from their human orthologs[J]. *Genomics*, 1998, 53 (2): 170- 183.

(责任编辑 王 芷)