

·基础研究·

端粒酶活性及其 hTR 表达在诱导 大肠癌分化细胞中的变化

周俊宜, 郭俊明, 罗超权

(中山医科大学生化教研室, 广东 广州 510089)

摘要:【目的】观察全反式维甲酸(ATRA)和1,25-二羟维生素D₃(VD₃)大肠癌细胞株诱导分化过程中端粒酶活性的变化,并对其RNA组分hTR进行检测。【方法】ATRA和VD₃对大肠癌细胞进行诱导分化,在进行细胞活力测定、细胞增殖测定、流式细胞仪(FCM)分析细胞周期及碱性磷酸酶比活性测定的同时,分别在诱导后第2天、第4天和第6天用TRAP法检测其端粒酶活性的变化,并同时用RT-PCR的方法对端粒酶的RNA组分进行检测,PAGE观察结果。【结果】TRAP法检测端粒酶活性,结果显示在诱导分化的第2天后活性减弱,第4天、第6天其活性受到明显抑制。利用RT-PCR法检测各阶段端粒酶RNA组分无明显改变。【结论】ATRA和VD₃诱导大肠癌细胞分化过程中端粒酶活性明显抑制,但RT-PCR检测其RNA组分无改变。

关键词: 端粒酶; 维甲酸/类似物和衍生物; 胆骨化醇; 肿瘤细胞, 培养的/药物作用; RNA

中图分类号: R730.231; Q756 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-257X(2000)02-0084-03

The Change of Telomerase Activity and hTR Expression in Differentiating Colon Cancer Cells

ZHOU Jun-yi, GUO Jun-ming, LUO Chao-quan

(Department of Biochemistry, Sun Yat-sen University of Medical Sciences, Guangzhou, 510080 China)

Abstract: 【Objective】To observe the change of telomerase activity and hTR expression in differentiating colon cancer cells induced by ATRA and VD₃. 【Methods】The colon cancer cells were induced and differentiated by ATRA and VD₃ and their telomerase activity and RNA expression were tested on the secondary, fourth and sixth day respectively. PAGE was used to observe the results. 【Result】The telomerase activity is inhibited gradually on secondary, fourth and sixth day, but RNA expression didn't change. 【Conclusion】The telomerase activity is inhibited obviously in differentiating colon cancer cells induced by ATRA, VD₃, but their RNA components keep constant using RT-PCR for detection.

Key words: telomerase; tretionin/analog and derivatives; cholecalciferol; tumor cells, cultured/drug effects; RNA

端粒酶是一种在胚胎时期完成染色体端粒合成不可缺少的核糖核酸逆转录酶,在组成上包括有蛋白质组分和RNA组分。正常情况下,当胚胎发育完成以后,端粒酶活性就被抑制,所以在正常人

体细胞中是检测不到端粒酶活性的。自1994年首次在癌细胞株中检测到端粒酶活性以后,近年来已有研究证明,85%以上的恶性肿瘤细胞中端粒酶活性为阳性而正常细胞和良性肿瘤中则为阴性^{1,2},

收稿日期: 1999-08-20

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(39670715)

作者简介: 周俊宜(1963-),女,湖南郴州人,在职博士生,讲师。

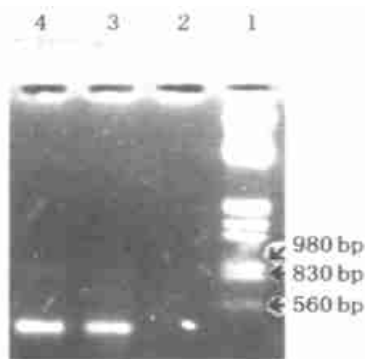


图2 诱导分化各阶段 RT-PCR 检测结果

Fig. 2 RT-PCR test of inducing cells

Lane 1: PCR Marker; Lane 3: No-inducing cells; Lane 4: The results of ARTA-VD₃ inducing cells

3 讨论

自从 Kim 等^[4] 1994 年首次发现端粒酶特异地存在于恶性肿瘤细胞而在正常人体细胞为阴性以后, 近年来已有研究证明端粒酶与细胞的永生化和恶性肿瘤的形成有密切关系。本研究以 TRAP 法检测大肠癌细胞在经全反式维甲酸诱导分化后不同阶段细胞的端粒酶活性, 发现在经诱导分化后的 48 h, 其活性已有所减弱, 在诱导后的第 4 天和第 6 天其端粒酶活性明显受到抑制, 无明显的梯形条带且扩增片段有下移(片段变小)的迹象。本研究的结果说明, 在经诱导分化剂诱导癌细胞向正常细胞转化的过程中, 其端粒酶的活性也随之受到抑制, 进一步证明了端粒酶确是一种很有价值的肿瘤标记物。下一步要考虑的是这种诱导分化过程中端粒酶活性的抑制究竟是何种机制所致, 在本实验过程中, 曾在检测未经诱导分化的大肠癌细胞端粒酶活性时加以分化细胞提取物, 发现它并不抑

制癌细胞中的端粒酶活性, 说明在诱导分化过程中端粒酶活性的抑制并不是由于诱导分化剂可直接抑制端粒酶活性也并非产生了某种抑制因子。究竟其机制如何, 还有待进一步的研究。

通过 RT-PCR 来检测诱导分化细胞中端粒酶的 RNA 组分, 发现在诱导分化的各阶段以 RT-PCR 仍可检测到端粒酶的 RNA 组分, 与未经诱导分化的大肠癌细胞相对照并无明显区别, 说明端粒酶的 RNA 组分并不和细胞的恶性程度相对应。

参考文献:

- [1] Piatyszek M A, Jyothi Gupta Shay J W, *et al.* Human telomerase RNA and telomerase activity in immortal cell lines and tumor tissues [J]. *Cancer Research*, 1996, 56 (3): 645.
- [2] Autexier C, Pruzan R, Funk W D, *et al.* Reconstitution of human telomerase activity and identification of a minimal functional region of the human telomerase RNA [J]. *EMBO J*, 1996, 15(21): 5928.
- [3] 郭俊明, 何小洪, 罗超权. 全反式维甲酸和 1, 25-二羟维生素 D₃ 联合对大肠癌细胞的诱导分化. *癌症*, 1999, 18(6): 649.
- [4] Kim N W, Piatyszek M A, Prowse K P, *et al.* Specific association of human telomerase activity with immortal cells and cancer [J]. *Science*, 1994, 266(23): 2011.
- [5] Junli F, Walter D F, Sy-Shi W, *et al.* The RNA component of human telomerase [J]. *Science*, 1995, 269 (1): 1236.
- [6] Sambrook J, Fritsch E F, Maniatis T (金冬雁, 黎孟枫译). *分子克隆* [M]. 第 2 版. 北京: 科学出版社, 1996. 401 ~ 405, 672 ~ 688.

(编辑 张敏瑞)

·新成果·

肝豆状核变性分子生物学研究

课题负责人 梁秀龄

(中山医科大学附属第一医院, 广东 广州 510080)

肝豆状核变性又称 Wilson 病(WD), 是一种较常见的以铜代谢障碍为特征的常染色体隐性遗传病, 其世界发病率为 1/2 ~ 1/20 万, 故开展该病的分子生物学研究, 对 WD 基因进行定位, 并开展 WD 的症状前诊断、早期诊断和杂合子检出, 以达到降低 WD 发病率, 提高人口素质, 在我国具有迫切性和一定优越性。本研究首次在国内系统地开展了 WD 的分子生物学研究。通过 RFLP(限制性片段长度多态性)连锁分析和微卫星 DNA 标记多态性分析, 首次系统地计算 5 个标记位点与 WD 位

(下转第 95 页)