

WAVE1 基因稳定表达细胞株的建立及其对血小板源性生长因子诱导细胞迁移的影响

张德玲, 张亚辉, 欧阳静萍

(武汉大学医学院病理生理学教研室, 湖北省过敏与免疫相关疾病重点实验室, 湖北省武汉市 430071)

[关键词] 病理学与病理生理学; WAVE1; 稳定表达; ECV304; 血小板源性生长因子

目的 WAVE1 蛋白是定位于细胞骨架的一种特殊的激酶 A 锚定蛋白(AKAP)家族成员,它能结合 PKA 并整合细胞外信号形成多价信号传导复合物,共同转移到细胞骨架的特殊位点,激活 PKA 来调节肌动蛋白骨架改变,从而调节细胞变形,移动等基本生物过程。本实验通过建立 WAVE1 稳定表达细胞株,探讨它对血小板源性生长因子诱导下细胞迁移的影响。**方法** (1) 分别将真核表达载体 pEGFP 胆固醇 1 和重组质粒 pEGFP 胆固醇 1/WAVE1 通过脂质体转染至人 ECV304 细胞株,以 0.6 g/L 的 G418 筛选转染细胞 4~6 周,挑选单细胞克隆进行培养。通过荧光显微镜观察融合蛋白的发光情况,并通过 Western blotting 法检测 WAVE1 融合蛋白的表达,以筛选正确的稳定表达细胞株。(2) 20 μ g/L 血小板源性生长因子分别作用于 pEGFP 胆固醇 1 稳定表达细胞株(对照组)和 WAVE1 稳定表达细胞株,通过 boyderr 小室跨膜迁移实验检测两组细胞迁移。**结果** (1) 荧光显微镜观察发现 WAVE1 过表达筛选细胞株中细胞发光率皆大于 80%,且发光分布于细胞核及胞浆。Western blotting 法显示对照组在 27 kDa 出现一条蛋白条带,为 EGFP 蛋白。WAVE1 稳定表达筛选组在 110 kDa 处出现明显的蛋白条带,与预期的融合蛋白分子量相符,而对照组在该处无相应条带。(2) 血小板源性生长因子诱导对照组细胞发生明显的迁移,跨膜细胞数量增加。与对照组相比,WAVE1 稳定表达细胞株明显抑制了血小板源性生长因子诱导的细胞迁移,跨膜细胞数量明显减少($P < 0.01$)。**结论** 本研究成功建立人 WAVE1 基因稳定表达细胞株。过度表达 WAVE1 可抑制血小板源性生长因子诱导的细胞迁移。

[基金项目] 国家自然科学基金(30470680)资助

[作者简介] 通讯作者欧阳静萍,教授,博士研究生导师,联系电话 027-61230399, E-mail 为 jpyo@163.com。

(此文编辑 胡必利)