

文章编号: 1007-4627(2016)04-0481-07

BTG1 蛋白及其上下游信号通路对 X 射线和 碳离子辐射的应激响应

田宁^{1,2}, 李贺², 金亮亮³, 华君瑞², 马迎春³, 何进鹏², 吴鑫², 王菊芳²

(1. 兰州大学药学院, 兰州 730000;

2. 甘肃省空间辐射生物学重点实验室, 中国科学院近代物理研究所, 兰州 730000;

3. 兰州军区兰州总医院, 兰州 730000)

摘要: BTG1 是重要的抗细胞增殖蛋白, 在细胞对外界胁迫如电离辐射等的应激响应过程中发挥重要功能。到目前为止, 电离辐射诱导 BTG1 蛋白表达水平的长期变化情况、其对细胞基因组稳定性的影响及上下游相关的信号通路仍未完全阐明。通过荧光定量 PCR 技术发现 BTG1 对 X 射线和碳离子的应激呈现出先迅速升高再缓慢下降的过程。此外, 微核实验表明, 通过转染基因的质粒过表达载体或 siRNA 的方法外源性增加或抑制 786-O 细胞内 BTG1 的表达水平均能够显著影响碳离子辐照诱导的基因组不稳定性。深入研究发现电离辐射诱导的 NF- κ B 的表达和活化可能通过引起 SKA2 基因的表达而间接地调控 BTG1 的表达, 而 BTG1 则可能激活 PRMT1 的活性而引起基因组表观遗传学的改变, 进而影响细胞的基因组稳定性、细胞周期调控以及凋亡等进程。

关键词: 电离辐射; BTG1; NF- κ B; PRMT1; 表观遗传

中图分类号: R339 **文献标志码:** A **DOI:** 10.11804/ NuclPhysRev.33.04.481

1 引言

BTG1 是重要的肿瘤抑制因子, 它是 BTG/TOB 抗增殖蛋白家族中的成员之一^[1]。研究证实 BTG1 能够与多种蛋白发生相互作用, 从而在多种细胞进程中发挥重要调控功能, 例如 BTG1 在细胞质中通过与 CAF1 蛋白作用而影响 mRNA 的代谢^[2]; 在细胞核内 BTG1 能够促进甲基转移酶 PRMT1 的活性引起基因组表观遗传水平的改变^[3]; BTG1 通过结合 CNOT7/8 而间接调节 CDC2/4 的活性进而引起 DNA 复制受阻和细胞周期阻滞, 最终导致细胞增殖受到抑制^[4-5]; 此外, BTG1 还通过调控转录因子 HOXB9 而影响细胞的分化^[6]。

值得注意的是, 研究发现 BTG1 通过调控细胞周期参与细胞对外界胁迫的应激响应进程^[7], 我们的前期工作同样证明了 BTG1 参与肾癌细胞对电离辐射、血清饥饿等刺激响应^[8], 并且 BTG1 通过诱导 G2/M 期阻滞、增加自由基产量和染色体畸变率而增强肿瘤细胞的辐射敏感性^[9], 这些迹象表明 BTG1 与肿瘤细胞的辐射

敏感性密切相关, 提示 BTG1 可能作为临床肿瘤放疗增敏的新靶点。然而, BTG1 调控细胞对电离辐射应激响应的分子机制及其相关的上下游信号分子尚不清楚。在本研究中, 我们一方面检测了电离辐射后细胞内 BTG1 的长期表达情况, 并阐明了 BTG1 的表达水平对电离辐射诱导的基因组不稳定的影响; 另一方面, 在前期工作的基础上进一步探讨了 BTG1 与可能的上游调控因子 NF- κ B 和下游效应因子 PRMT1 之间的联系。

2 实验材料与方法

2.1 实验材料

人肾透明细胞腺癌细胞系 786-O 购于中国科学院上海生命科学研究院细胞资源中心, 细胞培养所用 RPMI-1640 培养基购自美国 GIBICO 公司, 胎牛血清购自美国 Hyclone 公司, 青霉素和硫酸链霉素购自美国 Sigma 公司。pcDNA3.0 质粒载体购自美国 Promega 公司, 扩增 BTG1 mRNA 全序列的 PCR 引物序列为: 5'-CCAAGCTTCCCCTCAGCCCTCTCTT-3' 和 5'-

收稿日期: 2015-12-12; 修改日期: 2016-02-09

基金项目: 国家自然科学基金项目(U1232125, 31270895, 11405232)

作者简介: 田宁(1987-), 女, 河南商丘人, 硕士研究生, 从事放射生物学研究; E-mail: 106tian.ning@163.com

通信作者: 王菊芳, E-mail: jufangwang@impcas.ac.cn.

CCGCTCGAGGCCACCCAAAGCAAAAAT-3', BTG1基因的siRNA购自广州锐博生物科技有限公司, siRNA以及质粒载体的转染试剂Lipofectamine 2000和总RNA提取试剂TRIzol均购自美国Invitrogen公司。反转录及荧光定量PCR检测试剂盒购自美国Promega公司, BTG1基因的定量PCR检测引物序列为: 5'-TCCATAATCCATCCCCAAGA-3'和5'-GGATGCAATCCTGGACATTT-3'; 内参GAPDH基因的定量PCR检测引物序列为: 5'-GTGGACCTGACCTGCCGTCT-3'和5'-GGAGGAGTGGGTGTCGCTGT-3'。所有扩增及定量PCR引物均由上海生工生物工程公司合成。总蛋白提取试剂RIPA裂解液和Caspase-3活性检测试剂盒购自上海碧云天生物技术有限公司, PRMT1活性检测试剂盒购自美国BPS Bioscience公司。BTG1、NF- κ B、磷酸化的NF κ B和GAPDH的一抗及二抗购自美国Santa Cruz Biotechnology公司。

2.2 实验方法

2.2.1 细胞培养及电离辐照

786-O细胞培养所用培养基为含10%胎牛血清和100 U/mL青霉素及100 mg/mL硫酸链霉素的RPMI-1640液体培养基, 细胞在CO₂浓度为5%的37 °C恒温培养箱中进行培养。指数期细胞进行电离辐照, 其中X射线辐照源为美国Faxrton公司的RX-650型生物学X射线辐照仪, 所用剂量率为0.8 Gy/min (100 keV, 5 mA); 重离子辐照在兰州重离子加速器装置(HIRFL)的深层实验终端进行, 所用束流为165 MeV/u的¹²C⁶⁺离子束, 剂量率为0.5 Gy/min。

2.2.2 BTG1过表达载体构建

TRIzol法提取人正常细胞MRC-5的总RNA, 经过寡聚Oligo(dT)反转录得到cDNA。利用扩增引物经PCR反应获得BTG1基因mRNA的全序列, 经DNA内切酶处理后利用T4 DNA连接酶将片段连接到pcDNA3.0载体, 产物转染到大肠杆菌经抗生素筛选后获得稳定表达BTG1的pcDNA3.0-BTG1过表达载体。

2.2.3 微核实验

786-O细胞接种到盖玻片上24 h后进行转染及照射处理, 处理结束36 h后使用卡诺液固定细胞15 min。固定好的细胞用1 mg/mL的吖啶橙工作液染色1 min, PBS清洗3次, 在荧光显微镜下进行观察统计。每个样本至少统计500个双核细胞内的微核总数, 结果以微核/双核细胞表示, 其中微核/双核细胞=微核总数/双

核细胞总数。

2.2.4 总RNA提取及荧光定量PCR

采用TRIzol法提取细胞总RNA并使用Eppendorf公司的BioPhotometer Plus核酸蛋白测定仪对样本进行质量和浓度检测, 利用Promega公司反转录试剂盒将1 μ g的总RNA反转录为cDNA, 使用Promega公司荧光定量PCR试剂盒对稀释后的cDNA进行基因的荧光定量PCR反应。所用内参基因为GADPH, 根据 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算BTG1相对表达量, 其中 $\Delta\Delta C_t = (C_{tBTG1} - C_{tGAPDH})_{\text{辐照样本}} - (C_{tBTG1} - C_{tGAPDH})_{\text{对照样本}}$ 。

2.2.5 Western blot分析

使用RIPA液裂解细胞提取总蛋白, BCA法测定总蛋白含量, 采用12% SDS-PAGE胶10 mA恒流进行凝胶电泳, 之后将凝胶上的蛋白转移到PVDF膜, 用含5%脱脂牛奶的PBST缓冲液封闭2 h, 一抗室温孵育1 h, 二抗室温孵育2 h后, 采用ECL法显影。

2.2.6 PRMT1活性检测

胰酶消化并收集细胞, 加入PRMT1活性检测试剂盒提供的裂解液, 冰浴15 min后离心收集上清蛋白, 按照PRMT1试剂盒说明书所示, 取一定体积上清蛋白进行PRMT1活性检测, 化学发光值用于指征PRMT1的活性。

2.2.7 Caspase-3酶活性检测

消化收集细胞, 按200万个细胞/100 μ L裂解液的比例加入裂解液, 冰浴裂解15 min后12000 rpm离心收集上清液。取一定体积上清液, 加入试剂盒内的检测缓冲液及Av-DEVD-pNA, 混匀后37 °C孵育2 h, 利用酶标仪检测样本在405 nm处的吸光值, 通过对比标准曲线计算Caspase-3酶活性。

2.2.8 细胞活性及凋亡检测

收集细胞并用PBS重悬, 加入0.4%的台盼蓝染色液染色5 min, 在光学显微镜下用血细胞计数板进行统计, 其中死亡细胞被台盼蓝染为蓝色, 细胞存活率=(1.0-蓝色细胞数/细胞总数) \times 100%, 每个样本统计的细胞总数不少于500个细胞。

照射后48 h消化收集细胞(含培养基中的悬浮细胞), 使用70%的乙醇进行固定, -20 °C保存。检测前一天将固定的细胞置于4 °C过夜, RNA酶处理后使用50 μ g/mL的PI避光染色20 min, 通过流式细胞仪检测并使用FlowJo软件进行sub-G1期细胞比例分析。

2.2.9 统计学处理

以上实验均至少重复3次, 数据采用mean \pm SE表

示, 使用 t 检验进行样本差异分析, * $P < 0.05$ 视为差异显著, ** $P < 0.01$ 视为差异极显著。

3 结果

3.1 BTG1参与786-O细胞对X射线和碳离子辐射的应激响应

BTG1 是细胞内重要的抗增殖基因, 我们的前期研究发现 *BTG1* 参与调节 786-O 细胞对电离辐射、血清饥饿以及二甲亚砷处理等刺激的应激响应过程^[8,10], 但在前期研究中我们仅检测了 786-O 细胞在经 X 射线或碳离子束照射后 24 h 内的表达水平, 在电离辐射处理细胞中 *BTG1* 的长期变化情况尚不清楚。因此, 我们首先检测了受照射细胞中 *BTG1* 的长期表达情况。结果显示, 5 Gy 的 X 射线照射引起 786-O 细胞中 *BTG1* 蛋白表达显著升高, 在照射后 24 h 已上调 3.85 倍, 这一结果与我们前期研究结果一致。然而, 在照射后 36 h 其表达水

平虽然仍显著高于对照, 但相对于 24 h 时间点 *BTG1* 蛋白表达发生下调, 甚至在照射后 48 h (对照水平的 0.85 倍) 和 60 h (对照水平的 0.56 倍) 细胞中 *BTG1* 的表达水平已经显著低于对照 (图 1(a))。荧光定量 PCR 结果发现在受照射细胞中 *BTG1* 基因的 mRNA 水平迅速上调, 在照射后 8 h 上调至对照水平的 3 倍左右, 但在 8 h 后的某一时间点其表达水平开始下降, 在 24 h 时恢复至对初始表达水平, 而在 48 h 时其表达水平下降至对照的 1/5 左右 (图 1(b))。此外, 在碳离子束照射时, 我们也获得了相似的实验结果, *BTG1* 的 mRNA 表达情况表现出与 X 射线照射时相似的变化, 但在重离子辐照后 36 h 和 48 h 细胞内 *BTG1* 的 mRNA 表达仍要略高于对照水平 (图 1(c))。上述结果表明 786-O 细胞在受到电离辐射后即刻诱导 *BTG1* 表达, 随着细胞对辐射应激响应后期事件的进行, *BTG1* 的表达又逐步被抑制, 这些都说明了 *BTG1* 无论在细胞电离辐射应激响应的早期还是晚期阶段都发挥着重要功能。

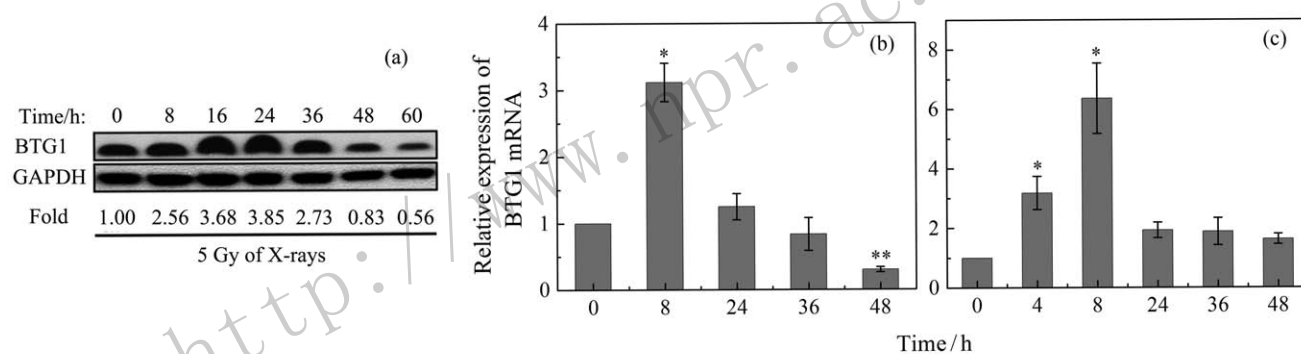


图 1 电离辐射调控 786-O 细胞内 *BTG1* 的表达

(a) 786-O 细胞经 5 Gy 的 X 射线照射后不同时间点 *BTG1* 蛋白表达水平检测, GAPDH 为内参; (b) *BTG1* 转录本相对表达水平检测, 未照射组为对照组, GAPDH 为内参; (c) 786-O 细胞经 2.5 Gy 的碳离子束照射后各时间点 *BTG1* 转录本相对表达水平检测, 未照射组为对照组, GAPDH 为内参; * $P < 0.05$ 视为差异显著, ** $P < 0.01$ 视为差异极显著。

3.2 *BTG1* 调控碳离子辐射诱导的基因组不稳定性

细胞对电离辐射的应激响应对于细胞的 DNA 损伤修复、基因组不稳定性、细胞周期调控和凋亡等进程至关重要^[11-12]。我们的前期研究证明了 *BTG1* 的表达水平能够影响 786-O 细胞的 DNA 损伤修复、细胞周期调控及凋亡过程^[8], 并且我们还发现 miR-19b 能够抑制 *BTG1* 的表达导致重离子辐射诱导的细胞微核数增加^[10], 这里我们进一步探讨了 *BTG1* 对电离辐射诱导的基因组不稳定性的影响。首先采用瞬时转染 pcDNA3.0-*BTG1* 过表达载体的方法外源性增强 786-O 细胞内 *BTG1* 的蛋白水平。在 2.5 Gy 的碳离子束照射后 36 h, 我们分别检测了对照及过表达 *BTG1* 细胞中

的微核数量。统计结果显示, 在转染 pcDNA3.0-*BTG1* 的细胞中微核的形成数量显著低于转染 pcDNA3.0 的对照组 (图 2(a)), 这说明细胞内过表达 *BTG1* 能显著降低重离子诱导的基因组不稳定性。然而, 在未照射时我们发现过表达 *BTG1* 并未增加或降低 786-O 细胞微核的形成数量, 说明过表达 *BTG1* 并未对基因组稳定性造成影响 (图 2(a))。

接下来采用 RNAi 技术通过转染 siRNA-*BTG1* 的方法来降低 786-O 细胞中 *BTG1* 的表达水平, 进而探索降低内源 *BTG1* 表达对细胞基因组稳定性的影响。结果如图所示, 2.5 Gy 碳离子束照射后 36 h, 转染 siRNA-*BTG1* 能极显著增加双核细胞中微核的数量 (图 2(b))。与细胞内过表达 *BTG1* 时情况相同, 在未照射的情况

下抑制细胞内 BTG1 的表达也未对微核的形成产生影响(图 2(b))。以上结果表明 BTG1 在碳离子辐照诱导的基因组不稳定性进程中发挥重要调控功能。

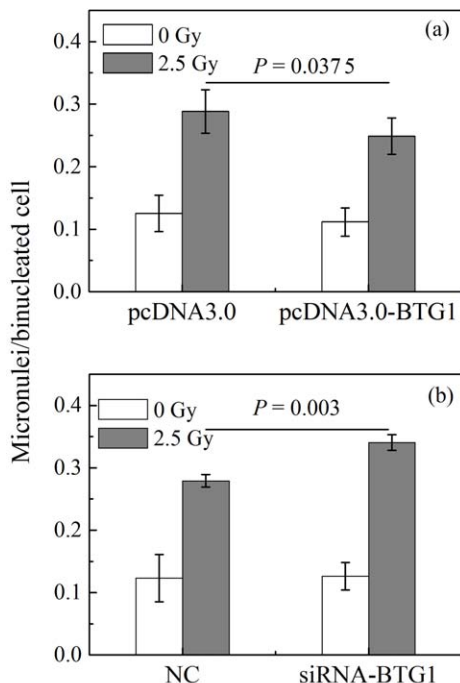


图 2 BTG1对经碳离子照射的786-O细胞基因组稳定性的影响

(a) 786-O细胞中外源性过表达BTG1(pcDNA3.0-BTG1)能够显著降低2.5 Gy的碳离子束辐照导致的基因组不稳定性,但在不照射时对细胞基因组稳定性无影响。(b) 抑制786-O细胞中BTG1的表达(siRNA-BTG1)能够显著增强2.5 Gy的碳离子束辐照导致的基因组不稳定性,但在不照射时对细胞基因组稳定性无影响。

3.3 BTG1上下游通路探索

我们前期研究发现 *miR-454-3p* 和 *miR-19b* 能够调控 BTG1 的表达,其中 *miR-454-3p* 基因位于 *SKA2* 基因的内含子区^[13],而 *SKA2* 基因的启动子区含有转录因子 NF- κ B 的结合位点^[14]。因此,我们推测NF- κ B 作为上游调控因子通过促进 *SKA2* 基因的转录而影响 BTG1 的表达。我们检测了电离辐射后 786-O 细胞中 NF- κ B 的蛋白表达水平及其磷酸化水平和 *SKA2* mRNA 的表达水平。结果如图 3(a) 所示,可以看到在 5 Gy 的 X 射线照射后 24 h 内 NF- κ B 蛋白表达量持续增高,之后基本维持在较高水平直到辐照后 60 h 才出现轻微下调;并且 NF- κ B 蛋白的磷酸化水平(p-NF- κ B)也随着其表达量的增加而持续增强,表明电离辐射能够诱导 NF- κ B 持续地高表达和磷酸化激活。另一方面,我们发现 *SKA2* mRNA 的表达则被持续地抑制在较低的水平(图 3(b))。这一结果提示可能正是由

于 NF- κ B 的表达和活化引起 *SKA2* 转录水平的降低而通过 *miR-454-3p* 间接地调节了 *BTG1* 的表达。

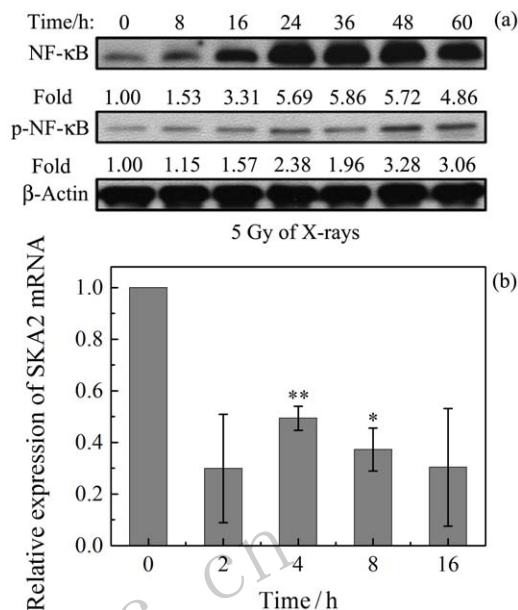


图 3 电离辐射后 BTG1 上游分子表达变化

(a) 786-O 细胞经 5 Gy 的 X 射线辐照后 NF- κ B 总蛋白(NF- κ B)及表达变化及其磷酸化水平(p-NF- κ B)检测, β -Actin 为内参;(b) 786-O 细胞经 5 Gy 的 X 射线辐照后 *SKA2* 基因的转录本表达水平相对于对照组(未照射处理)的变化情况, GAPDH 为内参; * $P < 0.05$ 视为差异显著, ** $P < 0.01$ 视为差异极显著。

BTG1 作为一个忠实的抗增殖因子能够通过影响蛋白精氨酸甲基转移酶 PRMT1 的活性而调控基因组的表观遗传变化^[3,15],因此我们推测在受照射细胞中 BTG1 也可能是通过调控 PRMT1 的活性而最终决定细胞的命运。我们首先检测了经 5 Gy 的 X 射线照射后 786-O 细胞内 PRMT1 的蛋白活性变化,在 X 射线照射后 8 h 时间点细胞中 PRMT1 显著升高,并在 24 h 时活性发生降低,至 48 h 时降低程度达到差异极显著水平(图 4(a)),可以看出电离辐射后细胞中 PRMT1 活性的变化趋势与 BTG1 蛋白的表达相一致,说明 PRMT1 的活性可能受到 BTG1 的调控。进而我们检测了细胞内 Caspase-3 的变化以及细胞活性和凋亡水平,结果显示电离辐射诱导的 PRMT1 活性的提高能够引起细胞内 Caspase-3 的活性升高约 8 倍(图 4(b)),流式检测分析结果表明受照射细胞 sub-G1 期比例升高 6%(图 4(c)),且台盼蓝染色结果显示细胞存活率下降 30% 左右(图 4(d)),以上检测指标差异程度均达到极显著水平。由此可以初步得出结论,电离辐射引起的 BTG1 表达的变化可能是通过 PRMT1 而将信号传递到下游分子最终引起多种的生物学效应。

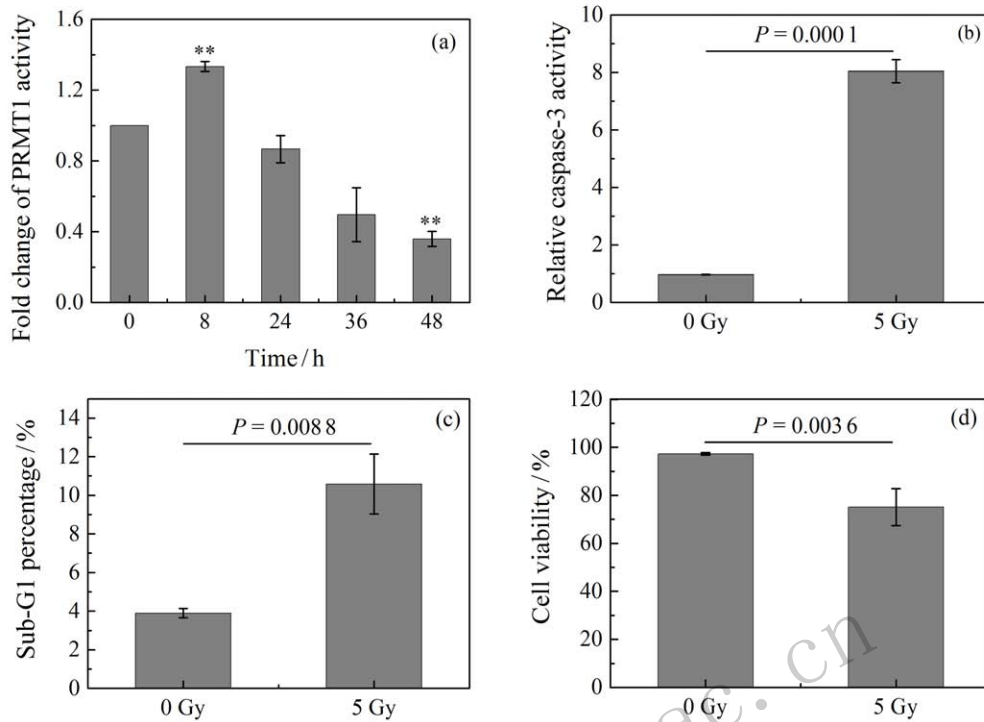


图4 PRMT1活性变化及其对细胞存活和凋亡的影响

(a)786-O细胞经5 Gy的X射线照射后PRMT1活性检测; (b)细胞Caspase-3蛋白酶活性显著增强; (c)照射后48 h细胞Sub-G1期比例显著升高; (d)细胞的活性显著降低; * $P < 0.05$ 视为差异显著, ** $P < 0.01$ 视为差异极显著。

4 讨论

通过对BTG1相关蛋白的表达变化及其对基因组不稳定影响的研究并结合前期工作,我们揭示了电离辐射条件下BTG1在细胞周期调控、基因组不稳定性 and 凋亡等进程中的新功能,并阐明了BTG1相关的调控网络(图5):肾癌细胞在电离辐射的早期阶段,BTG1表达迅速增高进行应答,同时下游蛋白PRMT1活性增强;随着细胞对辐射应答的进行,NF- κ B作为重要的调控因子被表达和活化,激活后的NF- κ B结合到SKA2基因启动子区从而促进其转录,miR-454-3p随着SKA2的转录被表达,miR-454-3p通过与BTG1的3'非编码区结合而抑制BTG1的翻译,使得BTG1蛋白水平降低进而使得BTG1下游因子PRMT1的活性下降,从而影响细胞DNA损伤修复、细胞周期调控和基因组稳定性等进程,最终导致细胞通过凋亡而发生死亡。

透明细胞癌约占肾癌的60%~80%,是一种抗辐射能力较高的恶性肿瘤,虽然手术仍是治疗肾癌的首选,但已证实放疗能够有效地提高肾癌患者的存活率^[16]。786-O细胞作为一种代表性的肾透明细胞癌细胞系同样具有较强的辐射抗性^[17],我们的前期研究发现电离辐

射条件下786-O细胞中BTG1蛋白和转录本水平都显著上升,提示BTG1参与细胞辐射应答,可能与肾癌细胞的辐射敏感性有关。更为重要的是我们发现高LET的重离子(2.5 Gy的碳离子)引起的BTG1的上调比5 Gy的X射线升高倍数多且应答速度快,进而造成的基因组不稳定性 and 凋亡比率显著高于X射线。由于重离子相对于X射线能引起更为严重的DNA团簇损伤,我们推测BTG1对辐射的应答响应可能与细胞的DNA损伤程度密切相关。

BTG家族参与细胞周期的负调控,同时其多个成员受到miRNA的调控,如在多种癌症中miR-21能够靶向调节BTG2的表达^[18-22]。同样,BTG1受到miR-19a的调控^[23];我们的前期研究不仅证明了miR-19b和miR-454-3p能负调控BTG1的表达,还发现了BTG1在细胞辐射应激响应中发挥重要功能。通过对miR-454-3p-BTG1上下游分子的研究,为电离辐射条件下NF- κ B发挥功能的方式提供了新的思路,并且有可能对于揭示NF- κ B通路功能多样性具有重大意义。

研究发现miR-301也位于SKA2基因的内含子区^[24],NF- κ B能够结合到SKA2的启动子区促进其表达,同时miR-301能靶向抑制NF- κ B的活性^[14],

因此,三者组成了一个负反馈调节环。另一方面,*BTG1*作为*miR-454-3p*的靶基因及*miR-301*的潜在靶基因也能够影响NF- κ B的激活^[25],所以在电离辐射响应过程中NF- κ B, SKA2, miRNA, *BTG1*之间同样构成了一个复杂的负反馈调控网络(图5)。因此,需要更深入的研究来阐明*BTG1*的调控机制。

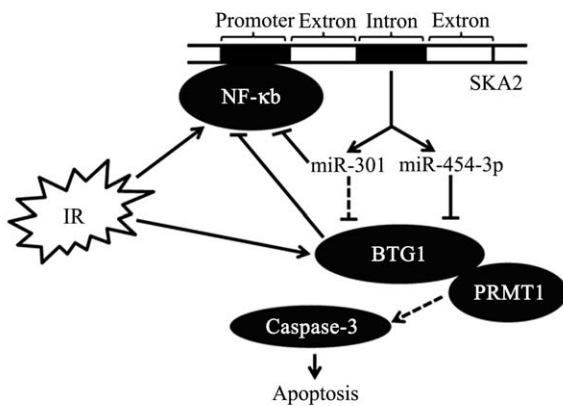


图5 NF- κ B-SKA2-miRNA-BTG1负反馈调控网络示意图

PRMT1在维持细胞基因组稳定性和增殖中发挥重要功能,它的缺失不仅诱导细胞周期阻滞而且在响应电离辐射导致的DNA损伤过程中对于激活G2/M和G1/S检验点必不可少^[26]。还有研究发现在肾癌细胞中通过抑制PRMT1的活性能消除BTG1诱导的细胞周期阻滞现象^[27]。我们的结果同样证明了PRMT1的活性与BTG1之间存在着正相关性(图1(a)和4(a)),电离辐射通过诱导BTG1的表达而增强PRMT1的水平,最终影响了细胞的基因组稳定性、细胞周期调控以及凋亡等进程。

通过该研究我们阐明了X射线或重离子照射786-O细胞后BTG1及其上下游蛋白的长期变化情况,证明了BTG1对碳离子照射诱导的基因组不稳定性具有重要调控作用,这为探索BTG1作为重离子治癌辐射增敏靶标提供了重要的基础数据支持。

参考文献:

- [1] WINKLER G S. *J Cell Physiol*, 2010, **222**(1): 66.
- [2] PREVOT D, MOREL A P, VOELTZEL T, *et al.* *J Biol Chem*, 2001, **276**(13): 9640.
- [3] BERTHET C, GUEHENNEUX F, REVOL V, *et al.* *Genes Cells*, 2002, **7**(1): 29.
- [4] BOGDAN J A, ADAMS-BURTON C, PEDICORD D L, *et al.* *Biochem J*, 1998, **336**(Pt 2): 471.
- [5] ZHU R, ZOU S T, WAN J M, *et al.* *Oncol Rep*, 2013, **30**(5): 2137.
- [6] PREVOT D, VOELTZEL T, BIROT A M, *et al.* *J Biol Chem*, 2000, **275**(1): 147.
- [7] IWAI K, HIRATA K, ISHIDA T, *et al.* *Biochem Biophys Res Commun*, 2004, **316**(3): 628.
- [8] WU X, DING N, HU W, *et al.* *Radiat Oncol*, 2014, **9**: 179.
- [9] ZHU R, LI W, XU Y, *et al.* *Oncol Rep*, 2015, **34**: 3017.
- [10] WU X, HUA J, DING N, *et al.* *Nuclear Physics Review*, 2014, **31**(4): 533.(in Chinese)
(吴鑫, 华君瑞, 丁楠, 等. 原子核物理评论, 2014, **31**(4): 533.)
- [11] SANTIVASI W L, XIA F. *Antioxid Redox Signal*, 2014, **21**(2): 251.
- [12] ZHOU B B, ELLEDGE S J. *Nature*, 2000, **408**(6811): 433.
- [13] HANISCH A, SILLJE H H, NIGG E A. *EMBO J*, 2006, **25**(23): 5504.
- [14] LU Z, LI Y, TAKWI A, *et al.* *EMBO J*, 2011, **30**(1): 57.
- [15] BAKKER W J, BLAZQUEZ-DOMINGO M, KOLBUS A, *et al.* *J Cell Biol*, 2004, **164**(2): 175.
- [16] JUUSELA H, MALMIO K, ALFTHAN O, *et al.* *Scand J Urol Nephrol*, 1977, **11**(3): 277.
- [17] DESCHAVANNE P J, FERTIL B. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 1996, **34**(1): 251.
- [18] TONG Z, JIANG B, WU Y, *et al.* *Int J Mol Sci*, 2015, **16**(7): 14511.
- [19] YANG Q, XU E, DAI J, *et al.* *Toxicol Lett*, 2014, **228**(3): 147.
- [20] COPPOLA V, MUSUMECI M, PATRIZII M, *et al.* *Oncogene*, 2013, **32**(14): 1843.
- [21] LIU M, WU H, LIU T, *et al.* *Cell Res*, 2009, **19**(7): 828.
- [22] MAO B, XIAO H, ZHANG Z, *et al.* *Mol Med Rep*, 2015, **12**(4): 4917.
- [23] LU K, LIU C, TAO T, *et al.* *FEBS Lett*, 2015, **589**(13): 1485.
- [24] CAO G, HUANG B, LIU Z, *et al.* *Biochem Biophys Res Commun*, 2010, **396**(4): 978.
- [25] CHO I J, LEE A K, LEE S J, *et al.* *Free Radic Biol Med*, 2005, **39**(11): 1523.
- [26] YU Z, CHEN T, HEBERT J, *et al.* *Mol Cell Biol*, 2009, **29**(11): 2982.
- [27] LIU C, TAO T, XU B, *et al.* *Oncology Letters*, 2015, **10**: 619.

BTG1 and Its Related Pathways in Cellular Response to X-ray and Carbon Ion Radiation

TIAN Ning^{1,2}, LI He², JIN Liangliang³, HUA Junrui², MA Yingchun³, HE Jinpeng², WU Xin², WANG Jufang²

(1. School of Pharmacy, Lanzhou University, Lanzhou 730000, China;

2. Gansu Key Laboratory of Space Radiobiology, Institute of Modern Physics, Chinese Academy of Sciences, Lanzhou 730000, China;

3. Lanzhou General Hospital, Lanzhou Command of CPLA, Lanzhou 730000, China)

Abstract: *BTG1*, an important anti-proliferative gene, plays critical roles in cellular response to stresses, including ionizing radiation (IR). However, the long term expression of *BTG1* induced by IR and its upstream/downstream signal pathways have not been elucidated clearly until now. The qRT-PCR results showed that the expression level of *BTG1* in 786-O cells was rapidly elevated by IR in a short time, and then decreased slowly. In addition, upregulation or downregulation by transfection of *BTG1* overexpression vector or siRNA could significantly affect the carbon ion radiation-induced genomic instability. Further study indicated that IR-induced *BTG1* expression may be regulated by NF- κ B-mediated activation of SKA2 indirectly; On the other hand, expression of *BTG1* may cause epigenetic changes by activating PRMT1, and subsequently influence the genomic stability, cell cycle regulation and apoptosis.

Key words: Ionizing radiation; *BTG1*; NF- κ B; PRMT1; Epigenetics

<http://www.npr.ac.cn>

Received date: 12 Dec. 2015; Revised date: 9 Feb. 2016

Foundation item: National Natural Science Foundation of China (U1232125, 31270895, 11405232)

Corresponding author: WANG Jufang, E-mail: jufangwang@impcas.ac.cn.