

基因表达谱技术分析棒曲霉毒素肾细胞毒性的机制

甘婧¹, 张百刚², 师振强¹, 钟玉杰¹, 王晓瑞¹, 晋程妮¹, 夏效东¹, 彭晓丽¹

(1. 西北农林科技大学食品科学与工程学院, 陕西杨凌 712100)

(2. 兰州理工大学生命科学与工程学院, 甘肃兰州 730050)

摘要: 本文研究了食品污染物棒曲霉毒素诱导人胚肾细胞损伤过程中基因表达谱动态变化。5 μM PAT 作用 HEK293 细胞 3、24 h, 应用数字基因表达谱 (DGE) 技术筛选差异表达基因, 分析基因富集的 GO 功能, KEGG 信号通路及 Pathway 信号途径分析, 并通过定量 PCR 对部分差异表达基因进行验证。分析发现, 在 3 h 和 24 h 受 PAT 诱导的差异表达基因分别为 79 个和 261 个, 其中上调表达基因分别为 71 和 192 个, 下调表达基因分别为 8 和 69 个。PAT 主要诱导了细胞凋亡基因的差异表达, RNA 降解差异基因全部表达上调, RNA 合成差异基因表达下调, 泛素介导的蛋白降解大部分差异基因上调, MAPK 信号通路主要参与 PAT 毒性的下游进程, 其相关差异基因大部分上调。DGE 技术为我们在分子水平上提供了 PAT 胚肾细胞损伤机制的众多线索, 为相关基因生物学效应研究奠定基础。

关键词: 棒曲霉毒素; 数字基因表达谱; 人胚肾细胞; 凋亡

文章编号: 1673-9078(2017)6-38-44

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2017.6.007

Mechanisms of Patulin (PAT) Toxicity towards Human Embryonic Kidney (HEK)293 Cells, as Determined by Digital Gene Expression Profile Analysis

GAN Jing¹, ZHANG Bai-gang², SHI Zhen-qiang¹, ZHONG Yu-jie¹, WANG Xiao-rui¹, JIN Cheng-ni¹, XIA Xiao-dong¹, PENG Xiao-li¹

(1. College of Food Science and Engineering, Northwest A & F University, Yangling 712100, China)

(2. College of Life Science and Engineering, Lanzhou University of Technology, Lanzhou 730050, China)

Abstract: The dynamic changes in gene expression profiles of human embryonic kidney (HEK)293 cells during the injury process induced by food contaminant patulin (PAT) were analyzed. HEK293 cells were treated with 5 μM PAT for 3 h and 24 h, and the differentially expressed genes were screened using a digital gene expression (DGE) tag profiling technique. Gene ontology (GO) enrichment analysis and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) pathway analysis were carried out, and some of the differentially expressed genes were verified by real-time quantitative polymerase chain reaction (PCR). The results showed that 79 and 261 genes were differentially expressed after 3-h and 24-h PAT induction, respectively. Among them, 71 and 192 genes were upregulated, while 8 and 69 genes were downregulated. PAT mainly induced the differential expression of apoptosis-related genes; differentially expressed RNA degradation genes were all upregulated, and differentially expressed RNA polymerase genes were downregulated. Most differentially expressed genes of ubiquitin-mediated proteolysis were upregulated. Mitogen-activated protein kinase (MAPK) cascade signaling genes were mainly involved in the downstream process, and most related genes were upregulated. The DGE technique provided numerous clues to renal cell damage induced by PAT at the molecular level and laid a foundation for the study of the biological effects of related genes.

Key words: patulin; digital gene expression tag profile; human embryonic kidney cells; apoptosis

收稿日期: 2016-10-21

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (31571928、31201286); 中央高校基本科研创新一般项目 (2014YB021)

作者简介: 甘婧 (1992-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 食品安全

通讯作者: 彭晓丽 (1982-), 女, 博士, 副教授, 研究方向: 食品安全

棒曲霉毒素 (Patulin, PAT) 又称展青霉素, 最早是在 1942 年从棒状曲霉中分离出来, 化学名为 4-羟基-4-氢-呋喃(3,2-碳)吡喃-2(6-氢)酮, 是一种有毒的真菌代谢产物。PAT 主要污染水果及其制品, 尤其是腐烂的苹果、苹果汁、苹果酒、山楂、梨和番茄等。另外国外研究者还在面粉、大麦、小麦、发霉的面包以及饲料中都有检出 PAT^[1,2]。可见, PAT 是影响食品安全的重要因素之一, 因此研究 PAT 的毒性作用及机理, 对于保护食品安全和人类健康具有重要科学意义和社会意义。

动物试验表明, 在 2.5~41 mg/kg body weight 范围内, PAT 能引起严重器官病变, 包括肾脏、消化道组织、免疫系统等^[3]。另外, PAT 已被证实具有神经毒性、致畸等毒性, 并被国际癌症组织定义为 3 类致癌物质。至目前为止, 虽然有不少学者对 PAT 毒性机制做了很多研究工作, 但大多侧重于研究单个或数个基因或蛋白与 PAT 诱导的毒性机制的关系, 如 PAT 能引起肝细胞孕烷受体 (PXR) 基因、碳氢化合物受体 (AhR) 基因, 以及细胞色素 P450s 基因表达发生变化^[4]。有表明 NRF2 参与了 PAT 诱导的肾细胞毒性机制, 同时抗氧化酶基因 SOD2、CAT、GPx 基因表达发生变化^[5]。最新研究表明, PAT 诱导的肾毒性与 P53 活化相关, P53 可通过调节 ROS 的生成而有促进 PAT 的毒性作用^[6]。我们在前期研究也证实, PAT 能够引起人胚肾细胞发生细胞凋亡, 线粒体功能损伤, 内源 ROS 水平升高, 抗氧化酶水平下降^[7,8]。

但是, 作为一种外源化学物质进入细胞后, 对其细胞功能的影响必然十分广泛, 更多的响应基因或蛋白是否存在? 这些相应毒性作用基因的动态变化趋势如何都是值得研究的重要课题。PAT 的肾毒性机制缺乏毒理基因组学的基因转录整体研究。因此, 本研究采用数字基因表达谱 (Digital gene expression Tag profiling, DGE) 技术对 PAT 肾毒性作用的相关基因进行筛选和系统分析。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 细胞株及试剂

人胚肾细胞 HEK293 细胞株, 棒曲霉毒素 (Pribolab), DMEM (gibico)、胎牛血清 (gibico), CCK-8 试剂盒 (Beyotime), Ultrapure RNA Kit (CW0597, 康为世纪), SuperRT cDNA kit (CW0741, 康为世纪), RealSYBR Mixture (CW0760, 康为世纪)。高通量测序主要耗材为 Illumina Gene Expression

Sample Prep Kit 和 Solexa 测序芯片 (flowcell)。

1.1.2 试验仪器

BC-J160S CO₂ 培养箱, 湘仪 TDZ5-WS 多孔板离心机, Biorad 680 多功能酶标仪, TE 2000 荧光倒置显微镜, 伯乐 IQ5 多色实时定量 PCR 仪, 高通量测序主要仪器为 Illumina Cluter Station 和 Illumina Genome Analyzer 系统。

1.2 试验方法

1.2.1 细胞培养与处理

HEK293 细胞用含 10% 胎牛血清 (FBS) 的 DMEM 培养基 (青霉素、链霉素各 100 U/L), 置于 37 °C、5% CO₂ 培养箱中培养。待细胞长至 80%~90% 满时, 0.25% 胰蛋白酶消化, 铺板, 贴壁过夜, 去除培养基, 采用含 5 μM PAT 的无血清培养基处理, 培养箱中继续培养, 分别在 0、3 和 24 h 取样。

1.2.2 细胞形态观察及细胞活力测定

细胞形态采用倒置显微镜观察及照相。WST-8 是一种类似于 MTT 的化合物, 在电子耦合试剂存在下, 可以被线粒体内的一些脱氢酶还原生成橙黄色的 formazan, 细胞毒性越大, 颜色越浅, 按照 CCK-8 试剂盒说明进行细胞活力测定。

1.2.3 总 RNA 提取

按照 RNA 提取说明书提取总 RNA。

1.2.4 DGE 测序

用带有 Oligo (dT) 的磁珠富集吸附纯化 RNA 中的 mRNA, 以 Oligo (dT) 引导逆转录合成双链 cDNA; 采用 4 碱基 (CATG) 识别酶 NlaIII 酶切双链 cDNA, 磁珠沉淀纯化带有 cDNA 3' 端的片段, 将其 5' 端连接 Illumina adapter 1; Adapter1 与 CATG 位点的结合处是 Mmel 的识别位点, Mmel 识别位点与酶切位点分离的内切酶, 酶切 CATG 下游 17 bp 处, 产生了带有 adapter 1 的 Tag。磁珠沉淀出去 3' 片段, 在 Tag 3' 末端连接 Illumina adapter 2, 获得两端连有不同接头序列的 21 bp 标签 library; 经 15 个循环的 PCR 线性扩增后, 通过 6% TBE PAGE 胶纯化 85 bp 碱基条带, 解链后, 单链分子倍加到 Solexa 测序芯片上固定, 每条分子经过原位扩增成为一个单分子簇 (cluster) 的测序模板, 加入 4 色荧光标记的 4 种核苷酸, 边合成边测序。每个通道的产生数百万条原始 Read, Read 的测序读长为 35 bp。

1.2.5 DGE 数据分析

测序所得原始序列数据, 通过一系列数据处理, 去除含有少量低质量序列以及各种杂质成分, 得到 Clean Tag, 并对 Clean Tag 进行基因注释、标准化和

确定基因表达量。TPM (Transcript Per Million clean tags) 是一个标准化的指标,指每一百万 clean tag 中包含该种转录本的拷贝数。采用严格的算法筛选样本间的差异表达基因,对差异检验 P 值做多重假设检验校正,通过控制 FDR (false discover rate) 决定 P 值阈值。试验分析中,差异基因定义为 FDR≤0.001 且倍数差异在 2 倍以上的基因。后续的 GO (Gene ontology) 分析,KEGG (Kyoto encyclopoedia of genes and

genomes) 信号通路显著性分析均基于差异表达基因。

1.2.6 实时定量PCR验证

将提取的总 RNA 逆转录成 cDNA 后进行实时定量 PCR 检测。随机挑选个基因,引物由 Invitrogen (上海) 公司合成,序列如表 1 所示。PCR 循环条件: 95 °C 预变性 10 min; 95 °C, 变性 15 s, 60 °C, 退火 1 min, 40 个循环; 72 °C, 终延伸 5 min。采用 2^{-ΔΔCt} 法计算待测基因表达水平。

表 1 实时定量 PCR 所用基因特异性引物

Table 1 Gene-specific primers used in real-time quantitative PCR

基因名称	上游引物	下游引物	产物长度
GDAP1	acgagcgtgtcttgaagaga	actcctcaagcaaaccaac	157
MYC	cacatcagcacaactacgca	ttgtgtgttcgaccttgac	169
PI4KA	ttcatcatctgtgctggggt	ttgggtgacttgcttccg	227
AATF	acgaagagagtggcatggaa	tctggttcttcacggctctt	168
ACTB	tcgtgcgtgacattaaggag	aggaaggaaggctggaagag	178

2 结果与讨论

2.1 PAT对人胚肾细胞形态及细胞活力的影响

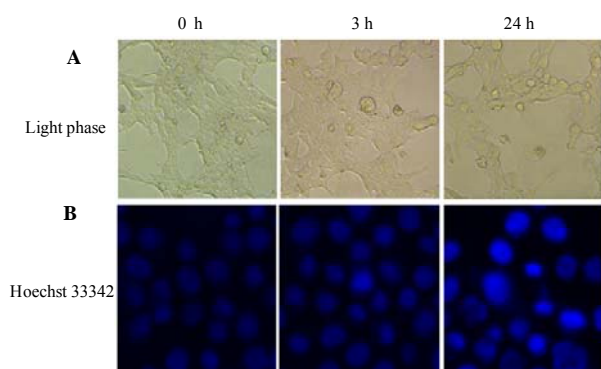


图 1 PAT 诱导细胞形态变化

Fig.1 Cell morphological changes caused by PAT treatment

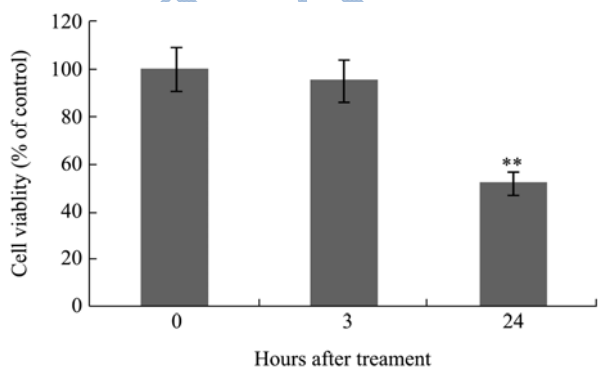


图 2 PAT 对细胞活力的抑制

Fig.2 Inhibition of cell viability by PAT

显微形态观察发现, 5 μM PAT 处理 HEK293 细胞 24 h 引起细胞形态发生明显改变, 包括细胞大小异常, 细胞贴壁变松甚至脱落 (图 1A)。采用 Hoechst 33342

对细胞核进行凋亡染色, 结果表明, 5 μM PAT 处理 24 h 时引起细胞形态明显异常, 大小不均, 部分细胞肿胀, 细胞核着色明显加深, 染色质聚集, 出现凋亡形态 (图 1B)。细胞活力降低, 在 3 和 24 h 时 PAT 对细胞存活率抑制率分别为 5.9% 和 47.6% (图 2)。

2.2 测序数据评估及差异表达基因筛选

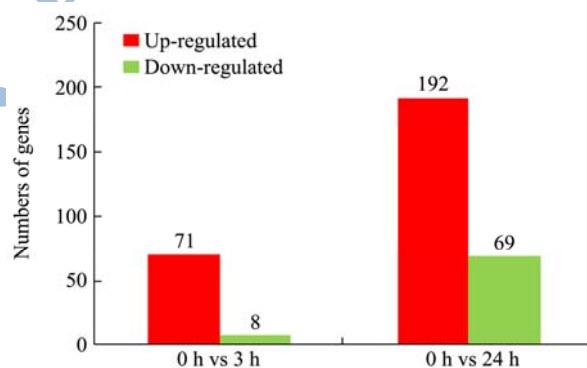


图 3 5 μM PAT 处理 3 h、24 h 差异基因表达情况

Fig.3 Differential gene expression of HEK293 cells treated with 5 μM PAT for 3 h and 24 h

对照细胞和 5 μM PAT 诱导损伤早期 (3 h)、晚期 (24 h) 细胞通过高通量测序分析, 分别得到 3282379、3416010 和 3461725 个 clean tag。利用 clean tag 进行进一步的差异基因表达筛选、GO 分析和 KEGG 信号通路分析等。

人体总参考基因数为 22748 个, 其中具有 CATG 位点的基因数为 21495 个, 占总参考基因的 94.49%。经过严格筛选, 最后确定对照细胞、损伤早期细胞、损伤晚期细胞表达基因分别为 13016、13083 和 13235 个, 基因表达比例分别是 57.22%、57.51% 和 58.18%。

数据分析过程中选 $FDR \leq 0.001$ 且倍数差异在 2 倍以上的基因, 认为是受 PAT 调控的差异表达基因。分析表明, 3 h、24 h 时受 $5 \mu\text{M}$ PAT 诱导的差异表达基因分别为 79 个和 261 个, 其中上调表达基因分别为 71 个和 192 个, 下调表达基因分别为 8 个和 69 个(见图 3)。

2.3 差异基因本体信息分析

按照 GO 分类体系, 对差异表达基因分别按所处的细胞位置、分子功能、参与的生物进程进行了分类。结果如图 4 所示, 其中差异基因的细胞组分分类, 变化最显著的几种在细胞核、线粒体、细胞骨架和细胞质结构中。在分子功能类型中, 变化最为显著的是蛋白结合、核酸结合、跨膜转运蛋白活性等。变化最为显著的细胞进程包括凋亡信号、氨基酸代谢、MAPK 信号、疾病(包括癌症、阿尔兹海默和帕金森病)相关基因表达。

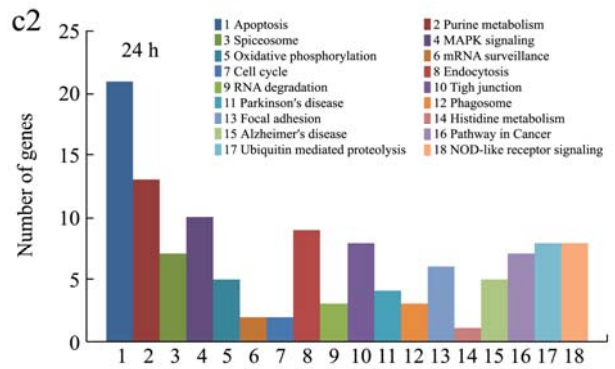
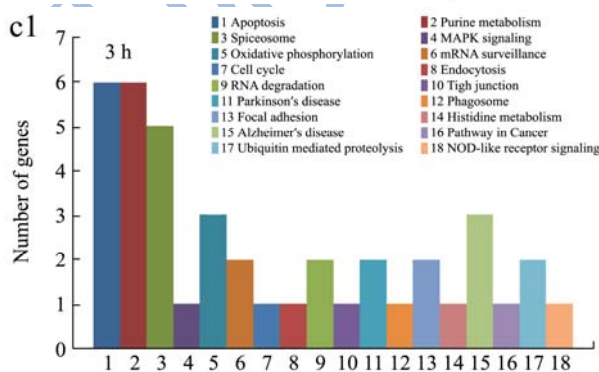
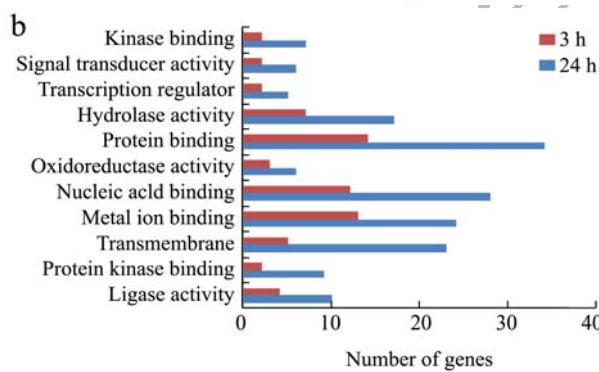
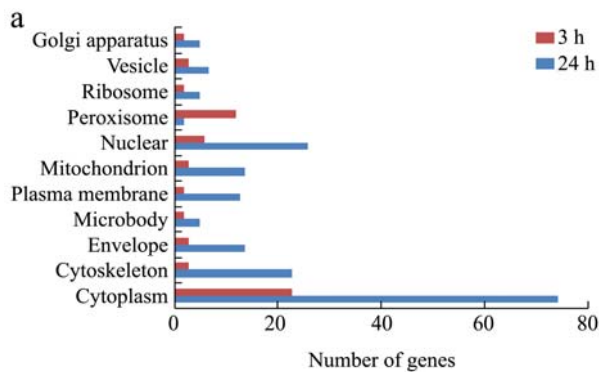


图 4 差异基因进行细胞组分、分子功能及生物进程的 GO 功能分类

Fig.4 Assignment of genes classified by Gene Ontology functional categories: cellular component, molecular function, and biological processing

2.4 PAT 诱导的部分差异基因

我们进一步对差异基因进行分析, 筛选出在 3 h、24 h 时表达差异均大于 2 倍的基因, 详细信息如表 2 所示。分析发现, 受 PAT 调控变化最为剧烈的 HSPB8(Heat Shock protein B8)基因, 在 3 h、24 h 表达倍数分别是未处理对照的 615 倍和 607 倍。HSPB8 蛋白定位于线粒体基质, 具有分子伴侣、蛋白激酶、促凋亡/抗凋亡、延长生物寿命等生物学功能, 与生物耐热、抗氧化、抗肿瘤相关^[9-11]。本研究发现 HSPB8 的异常表达暗示其在 PAT 的毒性作用中起重要的调节作用。后期我们正对 HSPB8 基因在 PAT 毒性中的生物学功能进行系统研究。其余的差异基因分别涉及到细胞凋亡、线粒体分裂、线粒体氧化磷酸化、蛋白激酶、蛋白转运、RNA 修复与降解、泛素介导的蛋白降解的信号途径。

以实时定量 PCR 方法验证不同处理时间(3、24 h)后人胚肾细胞中部分基因的 mRNA 表达水平, 结果如图 5 所示, 虽然表达倍数略有差异, 但 4 个基因表达调控趋势与 DGE 测序结果基本一致, 这表明 DGE 技术所提供的数据具有较高的可信度和准确性。

在处理的 2 个时间点一共找到 340 个差异基因, 其中 263 个受 PAT 正调控, 77 个基因受 PAT 负调控。由于 PAT 能诱导细胞发生凋亡现象, 我们重点分析了凋亡通路基因表达情况。结果表明, 一共有 23 个凋亡基因受 PAT 调控, 其中在 3 h 有 6 个凋亡基因, 全部上调表达, 在 24 h 时有 22 个基因受调控(17 个表达增加, 5 个表达降低)。上调的主要涉及 caspase 家族(CARD8, caspase 8 recruitment domain family, member 8)、死亡结构域家族、Bcl2 家族(Bcl2L12, Bcl2-like 12; BMF, Bcl2 modifying factor)、TNF 受

体家族 (TNFRSF1, tumor necrosis factor receptor superfamily, member 1A)、DNA 损伤诱导转录因子 (DDIT4, DNA-damage-inducible transcript 4) 等。下调的主要涉及凋亡拮抗因子 (AAFT, apoptosis antagonizing transcription factor)、MYC (组织增生)、

线粒体核糖蛋白 (MRPS30, mitochondrial ribosomal protein S30)、核糖体蛋白 (RPS6, ribosomal protein S6)。由此可见, PAT 胁迫引起 HEK293 细胞凋亡促进基因上调表达, 而凋亡抑制因子的表达被抑制, 最终引起了细胞凋亡。

表2 受 PAT 诱导在 3、24 h 基因表达差异均大于 2 倍基因列表

Table 2 Genes with more than 2-fold difference in expression at 3 h and 24 h after PAT treatment

Gene	Gene description	Fold change (log ₂) 3 h	Fold change (log ₂) 24 h	ID
HSPB8	Heat shock 22 ku protein 8	615 (9.3)	607 (9.2)	NM_014365
MIF4GD	MIF4G domain containing	5.0 (2.3)	5.4 (2.4)	NM_020679
ULBP1	UL16 binding protein 1	4.6 (2.2)	5.4 (2.4)	NM_025218
BCL2L12	BCL2-like 12 (proline rich)	4.2 (2.1)	3.7 (1.9)	NM_001040668
ATP6V1C2	ATPase, H ⁺ transporting, lysosomal 42 ku, V1 subunit C2	3.8 (1.9)	3.6 (1.8)	NM_001039362
WWP2	WW domain containing E3 ubiquitin protein ligase 2	3.8 (1.9)	3.5 (1.8)	NM_007014
IFI27L1	Interferon, alpha-inducible protein 27-like 1	3.5 (1.8)	3.5 (1.8)	NM_145249
FIS1	Fission 1 (mitochondrial outer membrane) homolog	3.3 (1.7)	4.0 (2.0)	NM_016068
RNF34	Ring finger protein 34, E3 ubiquitin protein ligase	3.2 (1.7)	3.9 (2.0)	NM_025126
HMGN1	High mobility group nucleosome binding domain 1	3.0 (1.6)	2.3 (1.2)	NM_004965
CSTF3-AS1	CSTF3 antisense RNA 1 (head to head)	3.0 (1.6)	3.1 (1.6)	NR_034027
COPRS	Coordinator of PRMT5, differentiation stimulator	2.9 (1.5)	3.1 (1.6)	NM_018405
TM2D3	TM2 domain containing 3	2.8 (1.5)	3.7 (1.9)	NM_078474
PITRM1	Pitriysin metallopeptidase 1	2.8 (1.5)	2.3 (1.2)	NM_001242309
NCDN	neurochondrin	2.7 (1.5)	2.3 (1.2)	NM_014284
RBM38	RNA binding motif protein 38	2.7 (1.5)	3.0 (1.6)	NM_183425
UNKL	Unkempt family zinc finger-like	2.6 (1.4)	2.5 (1.4)	NM_023076
REEP4	Receptor accessory protein 4	2.6 (1.4)	3.2 (1.7)	NM_025232
GUCY1B3	Guanylate cyclase 1, soluble, beta 3	2.5 (1.3)	5.1 (2.3)	NM_000857
CIAPIN1	Cytokine induced apoptosis inhibitor 1	2.4 (1.3)	3.3 (1.7)	NM_020313
SNX7	Sorting nexin 7	2.4 (1.3)	3.0 (1.6)	NM_152238
PAPD7	PAT associated domain containing 7	2.4 (1.3)	2.2 (1.1)	NM_001171806
SLC37A3	Solute carrier family 37, member 3	2.3 (1.2)	2.4 (1.3)	NM_207113
PDXDC1	Pyridoxal-dependent decarboxylase domain containing 1	2.3 (1.2)	2.2 (1.2)	NM_015027
C6orf136	Chromosome 6 open reading frame 136	2.3 (1.2)	3.2 (1.7)	NM_145029
NDUFA4	NADH dehydrogenase (ubiquinone) 1 alpha subcomplex, 4, 9 ku	2.3 (1.2)	2.1 (1.1)	NM_002489
UFC1	Ubiquitin-fold modifier conjugating enzyme 1	2.2 (1.2)	2.2 (1.2)	NM_016406
FAM135A	Family with sequence similarity 135, member A	2.2 (1.1)	3.4 (1.8)	NM_001162529
IGBP1	Immunoglobulin (CD79A) binding protein 1	2.1 (1.1)	2.5 (1.3)	NM_001551
SURF1	surfeit 1	2.1 (1.0)	2.4 (1.3)	NM_003172
PI4KA	Phosphatidylinositol 4-kinase, catalytic, alpha	0.5 (-1.0)	0.4 (-1.3)	NM_058004
FAM173A	Family with sequence similarity 173, member A	0.4 (-1.2)	0.3 (-1.9)	NM_023933

在真核生物中, 泛素蛋白降解系统可以通过调节功能蛋白质的周转或降解不正常蛋白, 实现对多种代谢过程的调节。分析发现, 3 h 的两个差异基因全部上调, 24 h 时 5 个上调表达, 3 个下调表达。其中 WWP2

(WW domain containing E3 ubiquitin protein ligase 2)、RNF34 (ring finger protein 34, E3 ubiquitin protein ligase) 基因在 3、24 h 均上调。已有研究证明, WWP2 基因可能是一个潜在的致癌基因, 参与推动了肿瘤的

形成和生长^[12]。RNF 家族蛋白与细胞的凋亡及程序性死亡过程密切相关。可以看出上调的基因都具有抑制细胞增殖, 诱导细胞凋亡的作用。下调的基因有 FBXW8 (F-box and WD repeat domain containing 8)、MRPS18C (mitochondrial ribosomal protein S18C)、WDR62 (WD repeat domain 62)。FBXW8 属于 F-box 蛋白家族, 可以选择性地结合降解蛋白参与泛素蛋白降解途径^[13]。MRPS18C 为人类结合蛋白分子活性基因, WDR62 在早期胚胎生长发育过程中具有重要作用。由以上得出结论, 泛素介导蛋白降解途径中促凋亡因子表达上调, 正常生长因子和抑凋亡因子表达被下调, 所以此途径参与了 PAT 引起的细胞毒性作用。

DGE 数据共检测出 3 条 RNA 降解差异基因, 全部上调表达, 其 PAPP7 (PAT associated domain containing 7)、SURF (surfeit 1) 均在 3 h 和 24 h 时间点上调表达, LSM1 (LSM1, U6 small nuclear RNA associated) 在 24 h 时间点上调表达。而 RNA 合成酶基因 POLR2J (polymerase (RNA) II (NDA directed) polypeptide J) 在 24 h 表达发生下调 (0.38 倍), 也说明 RNA 合成过程受阻。

MAPK (Mitogen Activated Protein Kinase) 级联信号途径参与介导细胞分裂、生长、死亡等多种生理功能。由差异基因分析可见, MAPK 信号途径的 11 个差异基因中有 10 个都是在 24 h 时出现, 其中 8 个上调, 3 h 时一个相关基因上调。这说明 MAPK 信号途径参与了 PAT 毒性信号的转导过程, 且主要是参与信号的下游转导过程。

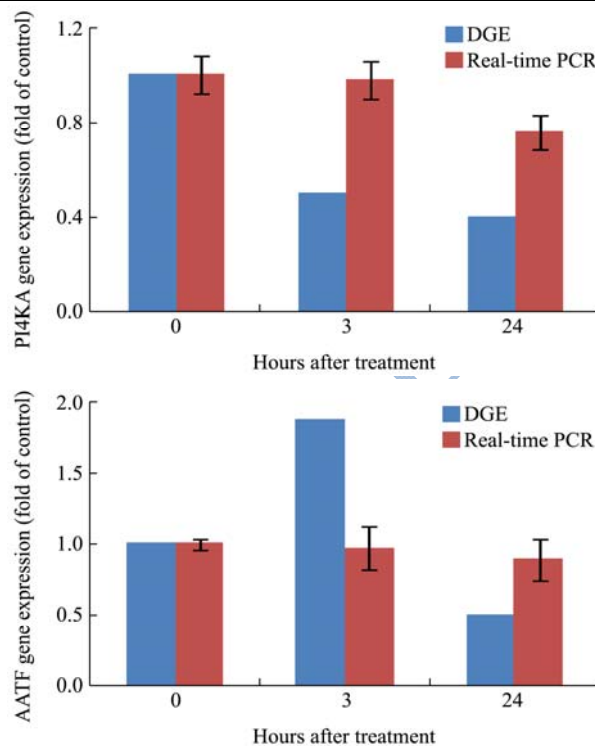
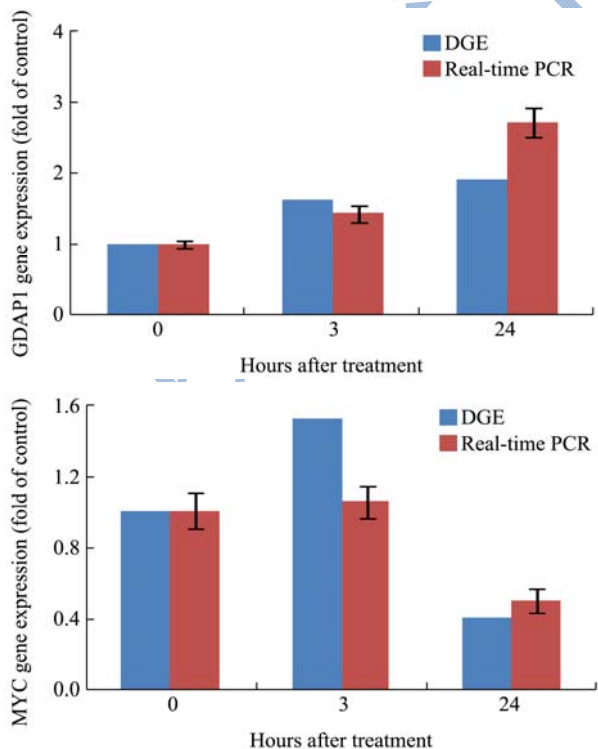


图5 实时定量 PCR 验证基因表达

Fig.5 Real-time PCR analyses of the genes

注: GDAP1 为神经节苷酯诱导分化相关蛋白 1, 主要参与神经元发育; MYC 基因为 v-myc 禽骨髓细胞瘤病毒癌基因同源物, 是一种癌基因, 其过表达与多种癌症相关; PI4KA 为人磷脂酰肌醇 4-激酶 α 亚基, 参与 4,5-二磷酸磷脂酰肌醇的合成; AATF 为凋亡拮抗转录因子, 可通过与 MAP3K12/DLK 相互作用, 调节细胞凋亡。

3 结论

棒曲霉毒素对人胚肾细胞具有明显的毒性作用, 利用 DGE 高通量特性所检测的基因表达变化为我们提供了分析 PAT 对胚肾细胞损伤机制的众多线索。PAT 诱导了细胞凋亡基因的差异表达, RNA 降解基因全部表达上调, RNA 合成基因表达下调, 泛素介导的蛋白降解途径大部分差异基因上调, MAPK 信号途径参与了 PAT 毒性通路号的下游信号转导进程。对于以上差异表达显著的基因, 值得进一步通过相关实验深入研究其所代表的生物学意义。

参考文献

[1] Wu T, Yu F, Su C, et al. Activation of ERK mitogen-activated protein kinase in human cells by the mycotoxin patulin [J]. Toxicology and Applied Pharmacology, 2005, 207(2): 103-111

[2] 王琢, 闫培生. 真菌毒素产生菌的分子鉴定研究进展[J]. 中国农业科技导报, 2010, 12(5): 42-50

- WANG Zhuo, YAN Pei-sheng. Research progress on molecular identification of mycotoxin-producing fungi [J]. Journal of Agriculture Science and Technology, 2010, 12(5): 42-50
- [3] Boussabbeh M, Salem I, Prola A, et al. Patulin induces apoptosis through ROS-mediated endoplasmic reticulum stress pathway [J]. Toxicological Sciences, 2015, 144(2): 328-337
- [4] Ayed-Boussema I, Pascucci J, Rjiba K, et al. The mycotoxin, patulin, increases the expression of PXP and AhR and their target cytochrome P450s in primary cultured human hepatocytes [J]. Drugs and Chemical Toxicology, 2012, 35(3): 241-250
- [5] Pillay Y, Phulukdaree A, Nagiah S, et al. Patulin triggers NRF2-mediated survival mechanisms in kidney cells [J]. Toxicol, 2015, 99(1): 1-5
- [6] Jin H, Yin S, Song X, et al. P53 activation contributes to patulin-induced nephrotoxicity via modulation of reactive oxygen species generation [J]. Scientific Reports, 2016, 6: 24455
- [7] 张百刚,彭晓丽,李光辉,等.棒曲霉毒素对人胚肾细胞增殖与诱导其凋亡的研究[J].现代食品科技,2015,31(3):12-17
ZHANG Bai-gang, PENG Xiao-li, LI Guang-hui, et al. Effects of patulin on the proliferation and apoptosis of human embryonic kidney cells [J]. Modern Food Science and Technology, 2015, 31(3): 12-17
- [8] Zhang B, Peng X, Li G, et al. Oxidative stress is involved in patulin induced apoptosis in HEK293 cells [J]. Toxicol, 2015, 94: 1-7
- [9] Sun Y, MacRae T. The small heat shock proteins and their role in human disease [J]. FEBS Journal, 2005, 272(11): 2613-2617
- [10] Kim H, Morrow G, Westwood J, et al. Gene expression profiling implicates OXPHOS complexes in lifespan extension of flies over-expressing a small mitochondrial chaperone, Hsp22 [J]. Experimental Gerontology, 2010, 45(7-8): 611-620
- [11] Chen Q, Cheng X. Research progress on heat shock protein 22 [J]. International Journal of Pathology Clinical Medical, 2006, 26: 235-237
- [12] Maddika S, Kavela S, Rani N, et al. WWP2 is an E3 ubiquitin ligase for PTEN [J]. Nature Cell Biology, 2011, 13(6): 728-733
- [13] Wang H, Chen Y, Lin P, et al. The CUL7/F-box and WD repeat domain containing 8 (CUL7/Fbxw8) ubiquitin ligase promotes degradation of hematopoietic progenitor kinase 1 [J]. Journal of Biological Chemistry, 2014, 289(7): 4009-4017