

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2013.06.013

## shRNA 下调 BAG-1 表达降低肺癌 A549 细胞对顺铂的耐药性

刘洋, 刘志良, 哈敏文, 王亚帝( 辽宁医学院 附属第一医院胸外科, 辽宁 锦州 121001 )

**[摘要]** **目的:**通过载体介导的 shRNA 下调 BAG-1 基因( Bcl-2 associated athanogene-1)表达,探讨其对肺癌 A549 细胞顺铂( cisplatin, DDP)耐药性的影响。**方法:**构建靶向 BAG-1 的 shRNA 干扰载体 pGCsi-BAG-1,稳定转染 A549 细胞。实验组使用稳定转染 pGCsi-BAG-1 的细胞株( BAG-1-shRNA ),阴性对照组使用无关序列质粒转染的细胞株( SC-shRNA ),对照组使用未转染的亲本 A549 细胞株( Control )。Western blotting 检测 pGCsi-BAG-1 转染对 A549 细胞 BAG-1、Bcl-2 表达的影响。MTT 法、流式细胞术分别检测 pGCsi-BAG-1 转染对 DDP 处理后 A549 细胞的增殖和凋亡的影响。**结果:**成功构建稳定干扰 BAG-1 表达的 A549 细胞株, BAG-1-shRNA 组细胞中 BAG-1 和 Bcl-2 蛋白表达显著低于 SC-shRNA 组和对照组( 均  $P < 0.05$  )。随 DDP ( 2.5 ~ 40  $\mu\text{g/ml}$  )浓度增加,各组细胞增殖抑制率也随之升高, DDP 浓度为 2.5  $\mu\text{g/ml}$  时, BAG-1-shRNA 组 A549 细胞的增殖抑制率即显著高于 SC-shRNA 组和对照组[ ( 22.26  $\pm$  4.89 )% vs ( 10.07  $\pm$  3.82 )%, ( 8.12  $\pm$  4.09 )%, 均  $P < 0.05$  ]。与 SC-shRNA 组和对照组相比, DDP ( 2.5  $\mu\text{g/ml}$  )处理 24 h 后, BAG-1-shRNA 组凋亡率显著升高[ ( 37.84  $\pm$  3.62 )% vs ( 16.80  $\pm$  2.81 )% ( 17.10  $\pm$  3.11 )%,  $P < 0.05$  ]。**结论:**下调 BAG-1 表达可抑制 DDP 作用下的 A549 细胞的增殖并促进其凋亡。

**[关键词]** BAG-1 基因; 肺癌; A549 细胞; 顺铂; 耐药

**[中图分类号]** R734.2; R730.5; R730.53 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2013)06-0706-05

## Reduction of cisplatin resistance of lung cancer A549 cells through down-regulating the expression of BAG-1 mediated by shRNA

Liu Yang, Liu Zhiliang, Ha Minwen, Wang Yadi ( Thoracic surgery, The First Hospital Affiliated to Liaoning Medical School, Jinzhou 121001, Liaoning, China )

**[Abstract]** **Objective:**To detect down regulation of the expression of BAG-1 gene in lung cancer A549 by transfected a vector contained shRNA, and to investigate its effects on the cisplatin ( DDP ) resistance of A549 cells. **Methods:** Interference vector pGCsi-BAG-1 target BAG-1 was constructed and stable transferred into A549 cells. Cells stable transferred by pGCsi-BAG-1 were used as an experimental group ( BAG-1-shRNA ), cells transferred by non-sense vector were used as a negative control group ( SC-shRNA ), and the parent A549 cells were used as a control group. Western blotting was performed to detect the effect of pGCsi-BAG-1 transfection on the BCL-2 and BAG-1 expression of A549 cells. MTT method and flow cytometry was used to detect the influence on proliferation and apoptosis of A549 cells after DDP treatment.

**Results:** An A549 cell line where BAG-1 was stably interfered was successfully constructed. And the expression of BCL-2 protein in cells of the BAG-1-shRNA group was significantly lower than that of SC-shRNA group and the control group ( all  $P < 0.05$  ). With increasing of the concentration of DDP, the proliferation inhibition rate of each cell was increased. When DDP concentration was 2.5  $\mu\text{g/ml}$ , the cell proliferation inhibition rate of the BAG-1-shRNA group was significantly higher than that of SC-shRNA group and the control group ( [ 8.12  $\pm$  4.09 ] % vs [ 10.07  $\pm$  3.82 ] % , [ 22.26  $\pm$  4.89 ] % ; all  $P < 0.05$  ). Compared with the SC-shRNA group and the control group, the apoptosis rate of the BAG-1-shRNA group was significantly increased after 24 h treatment with DDP ( [ 37.84  $\pm$  3.62 ] % vs [ 16.80  $\pm$  2.81 ] % , [ 17.10  $\pm$  3.11 ] % ,  $P < 0.05$  ). **Conclusion:** Down-regulation of BAG-1 expression can inhibit the proliferation of A549 cells after DDP treatment and promote its apoptosis.

**[基金项目]** 辽宁省科学技术计划立项课题资助项目( No. 2007225005-13 )。Project supported by the Science and Technology Plan Projects of Liaoning Province ( No. 2007225005-13 )

**[作者简介]** 刘洋( 1984 - ),男,内蒙古呼伦贝尔市人,硕士生,主要从事胸部肿瘤的基础与临床研究。E-mail: 335187646@qq.com

**[通信作者]** 刘志良( Liu Zhiliang, corresponding author ),E-mail: w335187646@163.com

[ **Key words** ] Bcl-2 associated athanogene-1( *BAG-1* ); lung cancer; A549 cell; cisplatin; resistance

[ *Chin J Cancer Biother*, 2013, 20(6): 706-710 ]

*BAG-1* ( Bcl-2 associated athanogene-1 ) 是一种多功能蛋白,参与细胞凋亡、细胞生存、细胞运动和扩散等生理活动。在各种人类恶性肿瘤(如乳腺癌、肺癌及宫颈癌)中 *BAG-1* 呈高表达<sup>[1-3]</sup>。*BAG-1* 基因定位于 9 号染色体,它编码的 *BAG-1* 蛋白有 *BAG-1L*( p50 )、*BAG-1M*( p46 )、*BAG-1S*( p33 ) 和 p29 四个异构体,相对分子质量分别为 50 000, 46 000, 33 000 和 29 000<sup>[4,6]</sup>。不同的 *BAG-1* 异构体其细胞定位和功能不同,它们通过与细胞靶点蛋白( *BCL-2*、丝氨酸/苏氨酸激酶和核激素受体等)相互作用来实现其抗凋亡作用<sup>[7-9]</sup>,还可以通过作用于分子伴侣等多种蛋白分子调节细胞的增殖、转录、迁移和运动<sup>[3]</sup>。研究<sup>[10-11]</sup>证实,*BAG-1* 调控的信号通路在肺癌的发生、发展、侵袭以及患者对治疗的反应性及预后等方面起重要作用。本研究通过基因沉默技术下调顺铂( cisplatin, DDP )耐药的肺腺癌 A549 细胞中 *BAG-1* 蛋白的表达,探讨下调 *BAG-1* 对 A549 细胞增殖和凋亡的影响。

## 1 材料与方法

### 1.1 细胞株及主要试剂

DDP 耐药的 A549 细胞由中国医学科学院上海细胞生物研究所提供。RPMI 1640 培养基、Lipofectamine™ 2000、G418 均购自美国 Gibco 公司,胎牛血清购自美国 Biowhittaker 公司,DDP 购自江苏豪森药业有限公司,兔抗人 *BAG-1* 单克隆抗体、兔抗人 *BCL-2* 一抗均购自美国 Santa Cruze 公司,兔抗人辣根过氧化物酶标记的二抗购自武汉博士德公司,MTT 购自美国 Sigma 公司,BCA 蛋白浓度测定试剂盒购自江苏碧云天研究所,0.25% 胰蛋白酶、二甲基亚砷均购自华美生物公司,ECL 化学发光试剂盒购自 Pierce 公司,Annexin V-FITC 凋亡检测试剂盒购自北京宝赛生物技术有限公司。

### 1.2 构建干扰载体 pGCsi-BAG-1 并稳定转染 A549 细胞

根据 GenBank 提供的 *BAG-1* 基因序列( NM\_004323 )进行基因序列比对,选择一条含有 21 个碱基特异性寡核苷酸序列( 5'-GCAAACCTTGATAGAGAGTAA-3' ),合成其发卡样两端配对 shRNA 寡核苷酸( 5'-GCAAACCTTGATAGAGAGTAAT-TCAAGAGATTACTCTCCTATCAAGTITGC-3' )及其互补链,其中包含 H1 启动子。退火后,体外合成双链

shRNA 片段,克隆至 pGCsilencer 载体中构建干扰载体 pGCsi-BAG-1,测序验证克隆的 RNAi 打靶序列 100% 正确后转染 A549 细胞,作为实验组( *BAG-1*-shRNA )细胞。采用脂质体 Lipofectamine™ 2000 转染 24 h,在荧光显微镜下计数表达荧光的细胞数,确定转染效率。阴性对照组( SC-shRNA ) A549 细胞转染插入无关序列的干扰载体。每孔设 5 个复孔。转染效率( % ) = 表达荧光的细胞数/细胞总数 × 100%。细胞经传代并且贴壁后,在培养基中加入 G418( 600 μg/ml ),持续作用 2 周后,改为维持质量浓度 300 μg/ml,再筛选 1 周,获得 *BAG-1* 表达沉默的细胞株用于实验。

### 1.3 Western blotting 检测 pGCsi-BAG-1 转染对 A549 细胞 *BAG-1*、*BCL-2* 表达的影响

收集生长状态良好的 SC-shRNA 组和 *BAG-1*-shRNA 组细胞,以 A549 细胞作为空白对照组。加入细胞裂解液,提取总蛋白并定量。各取 30 μg 蛋白,经 SDS-PAGE 分离蛋白后转膜,3% 小牛血清封闭,分别加入兔抗人 *BAG-1* 单克隆抗体( 1:500 )、兔抗人 *BCL-2* 单克隆抗体( 1:1 000 ) 4 ℃ 孵育过夜,0.05% TBST 洗膜,加入兔抗人辣根过氧化物酶标记的二抗( 1:5 000 )室温孵育 2 h,0.05% TBST 洗膜,用化学增强发光试剂盒曝光底片,显影,定影。通过凝胶分析软件分析各组蛋白的光密度( *D* )值,进行各组间比较。

### 1.4 MTT 法检测 pGCsi-BAG-1 转染对 DDP 处理后 A549 细胞增殖的影响

收集生长状态良好的 SC-shRNA 组和 *BAG-1*-shRNA 组细胞,以 A549 细胞作为空白对照组。用 0.25% 胰酶消化混悬后,按  $1 \times 10^3$  个/孔的密度接种于 96 孔板,细胞贴壁后继续培养 48 h,分别向三组细胞中加入 0、2.5、5、10、20、40 μg/ml 的 DDP,24 h 后每孔加入 20 μl MTT 溶液( 5 mg/ml ),4 h 后弃去培养液,加入 200 μl 的 DMSO 溶解蓝紫色结晶,PBS 洗涤,去除残留的结晶紫染色液。显微镜下计数细胞,按大于 50 个细胞增殖数目进行统计。细胞增殖抑制率( % ) = ( 1 - 实验组细胞总数/对照组细胞总数 ) × 100%,实验重复 3 次,取均值,绘制出 A549 细胞增殖抑制率曲线。

### 1.5 流式细胞术检测 pGCsi-BAG-1 转染对 DDP 处理后 A549 细胞凋亡的影响

收集生长状态良好的 SC-shRNA 组和 *BAG-1*-

shRNA 组细胞,以 A549 细胞作为对照组,调整细胞密度至  $5 \times 10^6$  个/ml,待细胞贴壁后继续培养 24 h,加入 DDP ( $2.5 \mu\text{g/ml}$ ) 作用 24 h。胰酶(不含 EDTA)消化细胞,再加入培养基终止消化,  $300 \times g$  离心 5 min 弃上清, PBS 溶液(用冰预冷)洗涤细胞 2 次,用  $1 \times$  膜联蛋白 V(annexin V)结合缓冲液重悬细胞,转移 100  $\mu\text{l}$  细胞悬液至 2 ml 的培养管中,加入 5  $\mu\text{l}$  的 FITC-annexin V 和 5  $\mu\text{l}$  的碘化丙啶(propidium iodide, PI),轻摇混匀,室温下避光孵育 15 min 后每管加入 400  $\mu\text{l}$  annexin V 结合缓冲液,流式细胞仪检测细胞凋亡率。

1.6 统计学处理

计量数据以  $\bar{x} \pm s$  表示,采用 SPSS18.0 统计软件分析,组间比较采用单因素方差分析(ANOVA),以  $P < 0.05$  或  $P < 0.01$  表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 成功构建的 pGCsi-BAG-1 稳定转染肺癌 A549 细胞株

经测序证实克隆的 RNAi 打靶序列 100% 正确。转染载体 24 h 后传代,其转染率为 50%。转染后在倒置显微镜下观察细胞形态变化,转染前的细胞贴壁生长,生长状态良好,多呈梭形,大小适中。转染后的细胞形态不规则,细胞皱缩,贴壁不佳(图 1)。当细胞贴壁后加入 G418(终质量浓度为 600  $\mu\text{g/ml}$ ),持续作用 2 周后,改为维持质量浓度 300  $\mu\text{g/ml}$ ,再筛选 1 周,取 30  $\mu\text{g}$  蛋白用于 Western blotting 检测其转染结果。

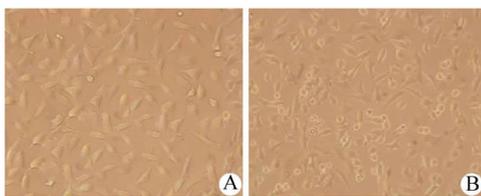


图 1 荧光显微镜观察细胞形态的变化(  $\times 200$  )  
Fig.1 Cell morphology change observed by fluorescence microscopy(  $\times 200$  )

A: Normal cells before transfection; B: Cells after transfection

2.2 pGCsi-BAG-1 转染抑制 A549 细胞 BAG-1 及 BCL-2 蛋白的表达

Western blotting 检测结果(图 2)显示, BAG-1-shRNA 组细胞中 BAG-1 蛋白( $D = 0.28$ )及 Bcl-2 蛋白( $D = 0.57$ )表达明显低于对照组(两种蛋白均  $D = 1$ )和 SC-shRNA 组(两种蛋白均  $D = 1$ ),差异有

统计学意义( $P < 0.05$ )。

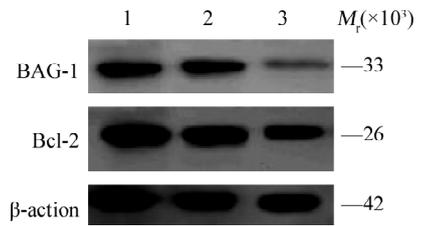


图 2 pGCsi-BAG-1 转染抑制 A549 细胞 BAG-1 及 BCL-2 蛋白的表达  
Fig.2 Expression of BAG-1 and BCL-2 in A549 cells inhibited by transfected pGCsi-BAG-1  
1:Control; 2: SC-shRNA; 3: BAG-1-shRNA

2.3 下调 BAG-1 基因表达增强 DDP 对 A549 细胞增殖的抑制

MTT 法检测结果(图 3)显示, DDP 浓度为 2.5  $\mu\text{g/ml}$  时, BAG-1-shRNA 组 A549 细胞的增殖抑制率显著高于 SC-shRNA 组和对照组 [ $(22.26 \pm 4.89)\% \text{ vs } (10.07 \pm 3.82)\%、(8.12 \pm 4.09)\%$ ,  $P < 0.05$ ]; 并且随 DDP 浓度升高, 各组细胞增殖抑制率也随之增加, BAG-1-shRNA 组的增殖抑制率始终显著高于 SC-shRNA 组和对照组 ( $P < 0.05$ ), 而 SC-shRNA 组与对照组的差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。

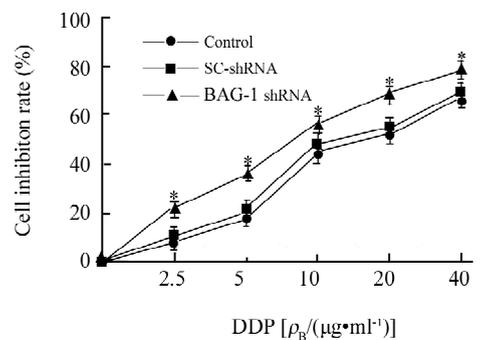


图 3 下调 BAG-1 基因表达抑制 A549 细胞增殖  
Fig.3 Proliferation of A549 cells inhibited by down-regulating the expression of BAG-1  
\*  $P < 0.05$  vs SC-shRNA group or control group

2.4 下调 BAG-1 基因表达增加 DDP 处理后 A549 细胞的凋亡

流式细胞术检测 BAG-1-shRNA 组、SC-shRNA 组和对照组细胞经 DDP 处理 24 h 后的凋亡率, 结果(图 4)显示, BAG-1-shRNA 组细胞凋亡率显著高于 SC-shRNA 组和对照组 [ $(37.84 \pm 3.62)\% \text{ vs}$

( $16.80 \pm 2.81$ )%、( $17.10 \pm 3.11$ )%, 均  $P < 0.05$ ], shRNA 转染细胞的凋亡率较 Control 组增加

了 2.25 倍。SC-shRNA 组和对照组细胞凋亡率的差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。

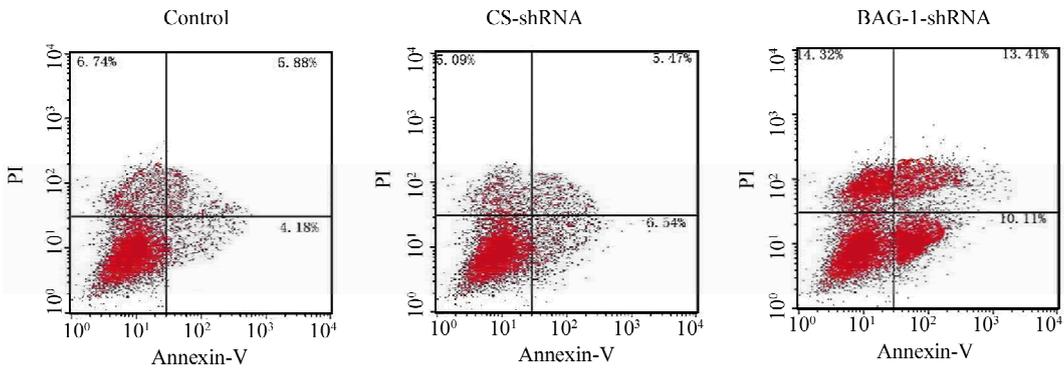


图 4 下调 BAG-1 基因表达增加 DDP 处理后 A549 细胞的凋亡

Fig. 4 Down-regulation of the expression of BAG-1 increased the apoptosis of A549 cells after treatment of DDP

### 3 讨论

肺癌在 20 世纪末已成为病死率最高的癌症<sup>[12]</sup>。目前,肺癌术后辅助化疗是良好的治疗手段。一线化疗方案以铂类为基本药物,并与新药联合,但常因患者对化疗药物产生耐药性而导致疗效不佳。因此,患者对抗癌药物产生耐药性仍是肺癌治疗面临的主要难题<sup>[13-14]</sup>。研究<sup>[4]</sup>发现,使用 RNA 干扰技术沉默 BAG-1 基因,可增加肺癌细胞对化疗药的敏感性。本研究通过沉默 BAG-1 基因,探究 BAG-1 分子对 DDP 耐药的 A549 细胞的影响。

研究<sup>[15]</sup>发现,在大多数肺癌组织中 BAG-1 表达水平都有所升高,并且 BAG-1 基因在细胞内的表达位置(包括细胞核,细胞质)与患者生存期的延长时间相关。BAG-1 在肺癌中过度表达能够抑制细胞凋亡<sup>[16-18]</sup>,并且可显著增加肺癌细胞对化疗药的耐受性<sup>[19]</sup>。Rudolf 等<sup>[20]</sup>发现,杂合性缺失 BAG-1 基因的肺癌小鼠模型中,肿瘤组织生长速度受到明显抑制,与未缺失 BAG-1 基因的小鼠相比,肺癌的发生数量减少 50%。表明 BAG-1 在肿瘤形成过程中发挥重要作用,有可能成为肺癌治疗的靶分子。

本研究选择对 DDP 耐药的 A549 细胞株,通过基因沉默技术下调 A549 细胞中 BAG-1 的表达。Western blotting 检测 BAG-1 及 Bcl-2 蛋白的表达,结果显示,BAG-1 及 Bcl-2 表达与对照组相比显著减少( $P < 0.05$ )。由于 BAG-1 蛋白与 Bcl-2 蛋白表达呈正相关,BAG-1 通过促进 Bcl-2 的功能起到抗凋亡作用,提示 BAG-1 过表达可促进 Bcl-2 的表达,增强 Bcl-2 的抗凋亡活性<sup>[4,5]</sup>。由此推测,沉默 BAG-1

基因可能减少 BAG-1 蛋白表达,导致 Bcl-2 的表达下调,降低或激活凋亡级联反应途径,从而促进细胞凋亡。

本研究结果显示,shRNA 组细胞的凋亡率显著高于对照组及 SC 组,证实 BAG-1 基因沉默可以显著促进 A549 细胞凋亡。将三组细胞暴露于浓度在 0~40  $\mu\text{g/ml}$  的 DDP 中 24 h 后检测细胞增殖抑制率,结果显示,随着浓度的增加,细胞的增殖抑制率也有所增加,证明抑制 BAG-1 表达可显著增加肺癌细胞对 DDP 敏感性。本研究的结果与以往研究<sup>[4]</sup>结论相似,在肺癌细胞中,应用 siRNA 干扰技术下调 BAG-1 表达使细胞对 DDP 诱导的细胞凋亡更加敏感。此外,BAG-1 参与调节各种细胞生理病理过程(凋亡、增殖、细胞周期控制等),因此,本课题组通过调节 BAG-1 的表达观察各因子的变化,发现 BAG-1 基因沉默后,其相关的传导通路的因子也发生改变(相关结果未展示),显示了 BAG-1 在肺肿瘤的治疗中的重要作用,其可能成为肿瘤治疗的重要靶点,关于 BAG-1 基因沉默增强 DDP 化疗敏感性的具体机制还有待更深入地研究。

综上所述,沉默 BAG-1 可以显著下调 BAG-1 蛋白在 DDP 耐药的 A549 细胞的表达,BAG-1 基因沉默后可促进肺癌细胞的凋亡,从而提高 A549 细胞对 DDP 的敏感性。BAG-1 基因可能成为增加铂类化疗敏感性的重要靶点,本研究为 BAG-1 靶点的肺癌治疗提供了实验基础。

### [参考文献]

[1] Krajewska M, Turner BC, Shabaik A, et al. Expression of BAG-1

protein correlates with aggressive behavior of prostate cancer [ J ]. Prostate, 2006, 66( 8 ): 801-810.

[ 2 ] 张印春, 张丽娜, 齐立强, 等. 乳腺浸润性导管癌组织中 Bag-1、Bcl-2、Bax 的表达变化及意义 [ J ]. 山东医药, 2012, 52( 2 ): 60-61.

[ 3 ] Hassumi-Fukasawa MK, Miranda-Camargo FA, Zanetti BR, et al. Expression of BAG-1 and PARP-1 in precursor lesions and invasive cervical cancer associated with human papillomavirus ( HPV ) [ J ]. Pathol Oncol Res, 2012, 18( 4 ): 929-937.

[ 4 ] Liu H, Liang Y, Li Y, et al. Gene silencing of BAG-1 modulates apoptotic genes and sensitizes lung cancer cell lines to cisplatin-induced apoptosis [ J ]. Cancer Biol Ther, 2010, 9( 10 ): 832-840.

[ 5 ] Tang SC, Beck J, Murphy S, et al. BAG-1 expression correlates with Bcl-2, p53, differentiation, estrogen and progesterone receptors in invasive breast carcinoma [ J ]. Breast Cancer Res Treat, 2004, 84( 3 ): 203-213.

[ 6 ] Yang X, Chernenko G, Hao Y, et al. Human BAG-1, RAP46 protein is generated as four isoforms by alternative translation initiation and overexpressed in cancer cells [ J ]. Oncogene, 1998, 17( 8 ): 981-989.

[ 7 ] Brimmell M, Burns JS, Munson P, et al. High level expression of differentially localized BAG-1 isoforms in some oestrogen receptor-positive human breast cancers [ J ]. Br J Cancer, 1999, 81( 6 ): 1042-1051.

[ 8 ] Dobbyn HC, Hill K, Hamilton TL, et al. Regulation of BAG-1 IRES-mediated translation following chemotoxic stress [ J ]. Oncogene, 2008, 27( 8 ): 1167-1174.

[ 9 ] Verghese J, Morano KA. A lysine-rich region within fungal BAG domain-containing proteins mediates a novel association with ribosomes [ J ]. Eukaryotic Cell, 2012, 11( 8 ): 1003-1011.

[ 10 ] Yadi Wang, Minwen Ha, Jian Cheng, et al. The role of expression and polymorphism of the BAG-1 gene in response to platinum-based chemotherapeutics in NSCLC [ J ]. Oncol Rep, 2012, 27( 4 ): 979-986.

[ 11 ] Leng XF, Chen MW, Xian L, et al. Combined analysis of mRNA expression of ERCC1, BAG-1, BRCA1, RRM1 and TUBB3 to predict prognosis in patients with non-small cell lung cancer who received adjuvant chemotherapy [ J ]. J Exp Clin Cancer Res, 2012, 31( 1 ): 25.

[ 12 ] Schiller JH, Harrington D, Belani CP, et al. Comparison of four chemotherapy regimens for advanced non-small cell lung cancer [ J ]. N Eng J Med, 2012, 346( 2 ): 92-98.

[ 13 ] 李连弟, 鲁凤珠, 张恩维, 等. 中国恶性肿瘤死亡率 20 年变化趋势和近期预测分析 [ J ]. 中华肿瘤杂志, 1997, 19( 1 ): 3-12.

[ 14 ] 刘京松, 王亚帝, 李岩欣, 等. BAG-1 蛋白在衣霉素诱导人肺癌 A549 细胞内质网应激及提高顺铂敏感性中的作用 [ J ]. 肿瘤, 2012, 32( 2 ): 99-103.

[ 15 ] 吴剑卿. 老年晚期非小细胞肺癌的化疗策略 [ J ]. 中华临床医师杂志, 2013, 7( 2 ): 486-487.

[ 16 ] Rorke S, Murphy S, Khalifa M, et al. Prognostic significance of BAG-1 expression in nonsmall cell lung cancer [ J ]. Int J Cancer, 2001, 95( 5 ): 317-22.

[ 17 ] Yang X, Hao Y, Ding Z, et al. Differential expression of antiapoptotic gene BAG-1 in human breast normal and cancer cell lines and tissues [ J ]. Clin Cancer Res, 1999, 5( 7 ): 1816-1822.

[ 18 ] Yang X, Hao Y, Ferenczy A, et al. Overexpression of anti-apoptotic gene BAG-1 in human cervical cancer [ J ]. Exp Cell Res, 1999, 247( 1 ): 200-207.

[ 19 ] Chen J, Xiong J, Liu H, et al. Distinct BAG-1 isoform shave different anti-apoptotic functions in BAG-1-transfected C33A human cervical carcinoma cell line [ J ]. Oncogene, 2002, 21( 46 ): 7050-7059.

[ 20 ] Rudolf G, Boris WK, Guadalupe C, et al. BAG-1 haplo-insufficiency impairs lung tumorigenesis [ J ]. BMC Cancer, 2004, 4: 85-90.

[ 收稿日期 ] 2013 - 06 - 26 [ 修回日期 ] 2013 - 10 - 25  
[ 本文编辑 ] 黄静怡

· 读者 · 作者 · 编者 ·

## 本刊对论文中实验动物描述的要求

根据国家科学技术部 1988 年颁布的《实验动物管理条例》和卫生部 1998 年颁布的《医学实验动物管理实施细则》，本刊对论文中有关实验动物的描述，要求请清楚以下事项：(1)品种、品系及亚系的确切名称；(2)遗传背景或其来源；(3)微生物检测状况；(4)性别、年龄、体重；(5)质量等级及合格证书编号；(6)饲养环境和实验环境；(7)健康状况；(8)对动物实验的处理方式。

医学实验动物分为四级：一级为普通级；二级为清洁级；三级为无特定病原体(SPF)级；四级为无菌级(包括悉生动物)。省部级课题及研究生毕业论文等科研实验必须应用二级以上的实验动物。

(本刊编辑部)