

doi: 10.3872/j.issn.1007-385X.2015.03.003

· 基础研究

转铁蛋白和 RGD 肽共修饰脂质体的制备及其肺癌组织细胞的靶向性

姬颖华¹, 杨晓煜², 王萃楠¹, 赵欣³, 路平¹ (1. 新乡医学院第一附属医院 肿瘤科, 河南 卫辉 453100; 2. 新乡医学院基础医学院 病理学教研室, 河南 新乡 453003; 3. 新乡医学院第一附属医院 呼吸科, 河南 卫辉 453100)

[摘要] **目的:** 构建转铁蛋白(transferrin, TF)与整合素受体结合肽(RGD)共修饰脂质体(TF/RGD-LP), 从体内外评价 TF/RGD-LP 的肺癌组织细胞靶向性。**方法:** 薄膜分散法制备整合素受体结合肽 RGD 修饰的脂质体(RGD-LP), 采用后插入法制备 TF 与 RGD 共修饰脂质体 TF/RGD-LP, 分析脂质体的理化性质。将肺癌 A549 细胞分为 TF/RGD-LP、TF-LP、RGD-LP 和 LP 组, 每组设 5 个复孔。细胞摄取实验和肿瘤细胞球穿透实验研究 TF/RGD-LP 与肺癌 A549 细胞的亲和力和肿瘤组织的穿透能力, 通过荷瘤裸鼠活体成像实验检测 TF/RGD-LP 的肺癌组织细胞靶向性。**结果:** 所制备 TF/RGD-LP 粒径为 (122.8 ± 11.5) nm, 电位为 (6.4 ± 3.85) mV。体外细胞摄取实验表明, 肺癌 A549 细胞对 TF/RGD-LP 的摄取效率分别是 TF-LP、RGD-LP 和 LP 的 2.8、2.2 和 3.9 倍, TF-LP ($P=0.006$)、RGD-LP ($P=0.007$) 和 LP ($P=0.001$) 的主效应有统计学意义, 三者间有交互效应 ($P=0.006$); 肿瘤细胞球摄取实验以及裸鼠肿瘤组织活体成像实验表明, TF/RGD-LP 具有良好的肺癌组织靶向性。**结论:** TF/RGD-LP 具有良好的肺癌组织细胞靶向性, 是一种潜在的肺癌组织细胞靶向给药系统。

[关键词] 转铁蛋白; 整合素受体; 脂质体; 肿瘤靶向

[中图分类号] R734.2; R730.54

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-385X(2015)03-0299-05

Liposome particles modified with transferrin and arginine-glycine-aspartic acid peptide: Laboratory preparation and its lung cancer cells targeting

Ji Yinghua¹, Yang Xiaoyu², Wang Luonan¹, Zhao Xin³, Lu Ping¹ (1. Department of Oncology, the First Affiliated Hospital of Xinxiang Medical University, Weihui 453100, Henan, China; 2. Department of Pathology, School of Basic Medicine, Xinxiang Medical University, Xinxiang 453003, Henan, China; 3. Department of Respiration, the First Affiliated Hospital of Xinxiang Medical University, Weihui 453100, Henan, China)

[Abstract] **Objective:** To optimize the preparation of liposome particles co-modified with transferrin and arginine-glycine-aspartic acid (RGD) peptide and evaluate the efficiency of the prepared particles in targeting lung cancer cells *in vitro* and *in vivo*. **Methods:** Liposome particles modified, respectively, with vehicle (LP), transferrin (TF-LP), RGD peptide (RGD-LP) and TF and RGD (TF/RGD-LP) were prepared by a film-ultrasonic method. The appearance, size and Zeta potential of the particles were determined. The efficiency of these various particles in targeting lung cancer cells were assessed by cellular uptake assays in A549 cells and in a multicellular tumor spheroid model *in vitro* and by a imaging assay in solid tumors in nude mice *in vivo*. **Results:** TF/RGD-LP particles were 122.8 ± 11.5 nm in diameter with an average Zeta potential of 6.4 ± 3.85 mV. TF/RGD-LP particles were uptake by A549 cells 2.8, 2.2 and 3.9 times more efficiently than TF-LP, RGD-LP and LP particles respectively. In consistent with *in vitro* findings, TF/RGD-LP particles were most efficient among the types of particles tested in penetrating solid tumor spheroids *in vivo*. **Conclusion:** Co-modification with transferrin and RGD peptide can enhance the ability of liposomes to penetrate lung cancer cells and thus may offer a better antitumor agent delivery system.

[基金项目] 河南省卫生厅课题资助项目(No. 1203068)。Project supported by the Research Foundation of Education Bureau of Henan Province (No. 1203068)

[作者简介] 姬颖华(1982-), 女, 河南省卫辉市人, 硕士, 主治医师, 主要从事肿瘤化学治疗的基础及临床研究, E-mail: sunny8441_cn@sina.com

[通信作者] 路平(Lu Ping, corresponding author), E-mail: wert12@sina.com

[优先发表] <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.1725.R.20150615.1559.003.html>

[**Keywords**] transferrin; integrins receptor; liposome; tumor targeting

[Chin J Cancer Biother, 2015, 22(3): 299-303]

肿瘤是威胁人类生存的重大疾病, 广大医疗工作者对肿瘤的治疗展开广泛的研究^[1-2]。化学疗法(简称化疗)是目前肿瘤治疗最重要的方式之一, 然而化疗药物选择性差、毒副作用大, 且容易产生多药耐药性。转铁蛋白(transferrin, TF)是由 700 个氨基酸组成的单链糖蛋白, 广泛存在于人体中, TF 对转铁蛋白受体(transferrin receptor, TFR)具有特异识别能力和亲和力。研究^[3-4]证实, 在肿瘤细胞表面 TFR 是正常细胞表面 TFR 的 4~5 倍^[3-4]。TFR 在肺癌、肝癌、脑胶质瘤和卵巢癌细胞表面均有大量表达^[5-8]。TF 和 TFR 介导的内吞作用是生物细胞最具特点的转运过程之一。利用 TF-TFR 的转运途径, 将药物载体以及治疗性药物特异性地转运至肿瘤部位发挥药效是可行的。整合素受体(integrin receptor)也是一种在多种肿瘤细胞表面和新生血管表面大量表达的受体^[9]。RGD 肽是人们发现能够与整合素受体特异性结合的短肽链^[10]。脂质体是一种将药物包封于类脂双分子层形成的脂膜中所制成的载体剂, 是具有良好的生物相容性的传递载体。在脂质体表面修饰配体, 是构建主动靶向脂质体的重要方式。脂质体的主动靶向是指在脂质体双层装载抗体、糖基、激素、受体配体等特异性归巢装置(homing devices), 使其靶向到特异性组织, 或是通过改变脂质双层的磷脂组成, 使脂质体在某些物理化学条件下不稳定, 从而在特定的靶器官释放出包被物而产生作用^[4]。脂质体由磷脂双分子层和胆固醇构成, 构成脂质体的两种成分均可以用来铆合靶向受体的配体成分^[5]。本研究构建 TF 与 RGD 共修饰的脂质体, 研究该复合脂质体对肺癌 A549 细胞靶向性作用, 为研发肺癌靶向给药系统奠定实验基础。

1 材料与方法

1.1 主要材料与试剂

肺癌 A549 细胞美国 ATCC 细胞库。胎牛血清和 DMEM 培养基购自赛默飞世尔生物化学制品(北京)有限公司, 大豆磷脂(SPC)购自成都科龙化工试剂厂, 胆固醇(CHO)购自上海伯奥生物科技有限公司, TritonX-100 购自北京华美生科生物技术有限公司, DSPE-PEG2000 和磷脂购自美国 Sigma 公司。2~3 周龄的雄性 BALB/c 裸鼠购自中南大学医学院实验动物中

心(实验动物许可证号: ZNDX201309187), 体质量 20~25 g, 于本院实验动物中心清洁级实验室内饲养, 昼夜照明 12/12 h, 相对湿度 70%, 饲养温度 25℃。流式细胞仪(FC 500)购自美国贝克曼库尔特商贸有限公司, 活体成像仪(NightOwl LB983)购自德国伯托公司, 旋转蒸发仪(RE-200B 型)购自上海亚荣生化仪器厂, 激光粒度仪(Sizer Nano ZS90 型)及 Zeta 电位分析仪为英国 Malvern 产品, 激光共聚焦显微镜(Axiovert 40 CFC)为德国 Zeiss 产品。

1.2 TF 与整合素受体结合肽 RGD 共修饰脂质体(TF/RGD-LP)的制备及其表征

参照文献^[11-12]方法合成 RGD-PEG2000-DSPE。精密称取处方量的大豆磷脂、胆固醇和 RGD-PEG2000-DSPE 共同溶于丙酮中, 旋转除去有机溶剂, 然后加入 1 ml PBS 水化, 超声得到 RGD-LP。参照文献^[13-14]方法, 采用后插入法制备 TF/RGD-LP。用适量罗丹明标记的磷脂取代卵磷脂制备罗丹明标记的脂质体, 用于细胞摄取实验。在丙酮溶液中加入近红外染料 DIR 制备载 DIR 的脂质体, 用于活体成像实验。用激光粒度仪测定其粒径和电位。

1.3 A549 细胞对 TF/RGD-LP 的摄取

将 A549 细胞以 5×10^5 个/孔的密度接种于 6 孔板中, 24 h 后加入适量 TF-LP、RGD-LP、TF/RGD-LP 和 LP, 使孔中脂质体终浓度为 120 nmol/ml, 37℃ 分别孵育 2 和 4 h 后, 冷 PBS 冲洗 2 次, 洗去荧光药物, 胰酶消化 3 min 后离心, PBS 清洗 3 次, 流式细胞术检测各样品的荧光强度。将脂质体与细胞共同孵育 4 h 后, 冷 PBS 冲洗 2 次, 每孔加入 4% 多聚甲醛固定 15 min, 弃去多聚甲醛, 加入 2 μg/ml DAPI 溶液, 遮光染色 5 min, 冷 PBS 冲洗 2 次, 甘油封片保存。共聚焦显微镜观察。

1.4 肿瘤细胞球穿透实验

参照文献^[15-18]方法培养细胞制备体外肿瘤细胞球模型, 将 A549 细胞接种于 96 孔板中, 调整密度为 5 000/孔, 培养 7 d 后, 分别加入罗丹明标记的 RGD-LP、TF-LP、LP 和 TF/RGD-LP, 使孔中脂质体终浓度为 120 nmol/ml。37℃ 孵育 4 h 后, 冷 PBS 冲洗 2 次, 置于共聚焦显微镜下观察。

1.5 活体成像实验

取体重 20~25 g 雄性裸鼠, 将 A549 细胞悬液皮下接种于裸鼠背部, 7 d 后出现米粒大肿瘤证实

接种成功。取 4 只荷瘤裸鼠,分别尾静脉注射载近红外染料 DIR 的 RGD-LP、TF-LP、LP 和 TF/RGD-LP,以生理盐水组为阴性对照。24 h 后腹腔注射水合氯醛溶液麻醉,后置于活体成像仪下观察脂质体的体内分布($E_x = 780\text{ nm}$, $E_m = 810\text{ nm}$)。

1.6 统计学处理

采用 SPSS 21.0 统计软件,计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间样本均数比较采用多因素方差分析,以 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 脂质体的表征及 A549 细胞对脂质体的摄取

制备得到的 TF/RGD-LP 的粒径为(122.8 ± 11.5)nm,电位为(6.4 ± 3.85)mV。A549 细胞对脂质体的摄取实验结果(图 1)显示,肺癌 A549 细胞在 4 h 对 TF/RGD-LP 的摄取效率是 2 h 的 1.95 倍,差异具有统计学意义($P = 0.02$);A549 细胞对 TF/RGD-LP 的摄取效率分别是对 TF-LP、RGD-LP 和 LP 的 2.8 倍($P = 0.006$),2.2 倍($P = 0.007$)和 3.9 倍($P = 0.001$)。激光共聚焦观察结果(图 2)显示,TF/RGD-LP 组肿瘤细胞的荧光强度显著强于 TF-LP 组、RGD-LP 组和 LP 组。

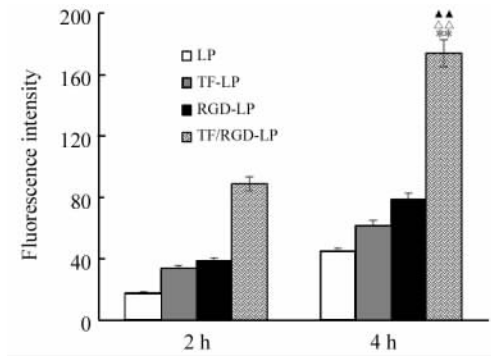


图 1 A549 细胞对不同脂质体的摄取

Fig.1 Uptake of different liposome by A549 cells

** $P < 0.01$ vs LP group; $\Delta\Delta P < 0.01$ vs TF-LP and RGD-LP group
 $\Delta\Delta P < 0.01$ vs TF/RGD-LP at 2 h

2.3 TF/RGD-LP 对肿瘤细胞球的穿透能力

肿瘤细胞球穿透实验与细胞摄取实验结果相一致,TF/RGD-LP 在肿瘤细胞球的荧光强度显著强于 TF-LP、RGD-LP 和 LP,且分布均匀(图 3)。

2.4 TF/RGD-LP 的体内分布

荷瘤裸鼠的近红外成像结果(图 4)显示,TF/RGD-LP 在肿瘤组织的荧光强度显著强于 TF-LP、RGD-LP 和 LP。

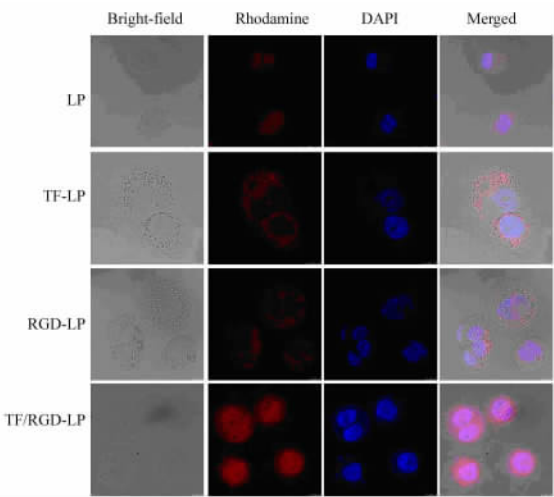


图 2 共聚焦显微镜观察 A549 细胞对脂质体的摄取($\times 500$)

Fig. 2 Uptake of different liposome by A549 cells in CLSM($\times 500$)

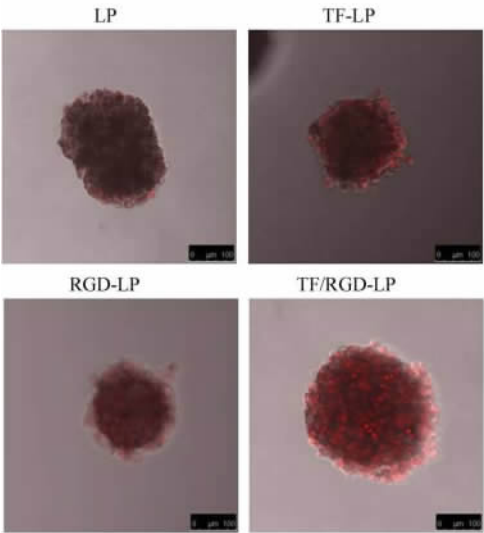


图 3 共聚焦显微镜观察脂质体对 A549 细胞球的穿透能力(Bar = 100 μm)

Fig. 3 Uptake efficiency of different liposomes by A549 cells in CLSM(Bar = 100 μm)

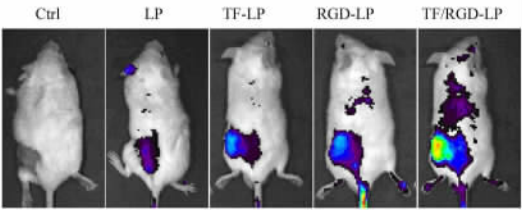


图 4 载近红外荧光染料 DIR 的不同类型的脂质体在小鼠体内的分布

Fig. 4 Ex vivo images of A549 bearing mice given different DIR loaded liposomes

3 讨 论

一直以来, 肿瘤的临床药物治疗疗效并不理想, 其主要原因除了化疗药物的毒副作用外, 还与其肿瘤靶向性较差、在治疗过程中易产生耐药等有关。为增强药物抗肿瘤活性, 降低不良反应, 将药物定向转运并蓄积于靶器官、靶组织和靶细胞的靶向给药系统已成为现代药剂学的研究热点。主动靶向制剂 (active targeting preparation) 是用修饰的药物载体作为“导弹”, 将药物定向运送到靶区浓集发挥药效作用。转铁蛋白受体是肿瘤细胞表面大量表达的特异性受体。已有研究表明, 将转铁蛋白连接到脂质体的表面能够使脂质体产生主动靶向性, 到达肿瘤组织。Tangjie 等^[19-20]将转铁蛋白连接到脂质体的表面, 实现了对脑胶质瘤的靶向给药。RGD 是一条能够识别肿瘤细胞表面高度表达的整合素受体的多肽^[12]。本研究将两条特异性的肿瘤细胞特异性靶向配体连接到脂质体的表面, 能够增强脂质体对肿瘤细胞的选择性, 结果显示该脂质体可以特异性地靶向肺癌肿瘤细胞, 从而可以避免载药后对正常细胞的损伤。

研究结果显示, 如果长循环脂质体的粒径小于 150 nm, 它可以通过高通透性和滞留效应 (enhanced permeability and retention effect, EPR) 有效地穿透肿瘤区的血管, 在肿瘤区富集, 这样就改变了药物在体内的分布, 降低了毒性。本研究制备得到的脂质体粒径约为 120 nm, 有利于其被动靶向到达肿瘤组织^[15]。细胞摄取实验结果显示, 肺癌细胞对 TF/RGD-LP 的摄取效率分别是 TF-LP、RGD-LP 和 LP 的 2.8 倍、2.2 倍和 3.9 倍, TF 和 RGD 修饰后能够有效增强脂质体的肿瘤靶向能力。肿瘤细胞球的摄取实验和脂质体的荷瘤鼠体内的分布实验也证实了相同的结果。

综上, 本研究成功构建了作用机制互补的 TF 和 RGD 双配体共同修饰的脂质体, 通过体内外研究发现, 它具有明显的肺癌细胞靶向能力, 并显示出良好的肿瘤细胞球穿透能力和荷瘤鼠体内的靶向性。TF 和 RGD 双配体共同修饰的脂质体是一种有效的肺癌靶向给药系统。

[参 考 文 献]

- [1] Kuai R, Yuan W, Li W, et al. Targeted delivery of cargoes into a murine solid tumor by a cell-penetrating peptide and cleavable poly (ethylene glycol) comodified liposomal delivery system via systemic administration [J]. Mol Pharm, 2011, 8(6): 2151-2161.
- [2] Qin Y, Chen H, Yuan W, et al. Liposome formulated with TAT-

- modified cholesterol for enhancing the brain delivery [J]. Int J Pharm, 2011, 419(1/2): 85-95.
- [3] Shah N, Chaudhari K, Dantuluri P, et al. Paclitaxel-loaded PLGA nanoparticles surface modified with transferrin and Pluronic-P85, an in vitro cell line and in vivo biodistribution studies on rat model [J]. J Drug Target, 2009, 17(7): 533-542.
- [4] Gan CW, Feng SS. Transferrin-conjugated nanoparticles of Poly (lactide)-D- α -Tocopheryl polyethylene glycol succinate diblock copolymer for targeted drug delivery across the blood-brain barrier [J]. Biomaterials, 2010, 31(30): 7748-7757.
- [5] Ulbrich K, Hekmatara T, Herbert E, et al. Transferrin- and transferrin receptor antibody modified nanoparticles enable drug delivery across the blood brain barrier (BBB) [J]. Eur J Pharm Biopharm, 2009, 71(2): 251-256.
- [6] Chang J, Jallouli Y, Kroubi M, et al. Characterization of endocytosis of transferrin-coated PLGA nanoparticles by the blood-brain barrier [J]. Int J Pharm, 2009, 379(2): 285-292.
- [7] Calzolari A, Oliviero I, Deaglio S, et al. Transferrin receptor 2 is frequently expressed in human cancer cell lines [J]. Blood Cells Mol Dis, 2007, 39(1): 82-91.
- [8] Guo J, Gao X, Su L, et al. Aptamer-functionalized PEGPLGA nanoparticles for enhanced anti-glioma drug delivery [J]. Biomaterials, 2011, 32(31): 8010-8120.
- [9] Jiang X, Xin H, Gu J, et al. Solid tumor penetration by integrin-mediated pegylated poly (trimethylene-carbonate) nanoparticles loaded with paclitaxel [J]. Biomaterials, 2013, 34(6): 1739-1746.
- [10] Huile G, Shuaiqi P, Zhi Y, et al. A cascade targeting strategy for brain neuroglial cells employing nanoparticles modified with angiopep-2 peptide and EGFP-EGF1 protein [J]. Biomaterials, 2011, 32(33): 8669-8675.
- [11] Lu J, Huang Y, Zhao W, et al. PEG-derivatized embelin as a nanomicellar carrier for delivery of paclitaxel to breast and prostate cancers [J]. Biomaterials, 2013, 34(5): 1591-1600.
- [12] Al Soraj M, He L, Peynshaert K, et al. siRNA and pharmacological inhibition of endocytic pathways to characterize the differential role of macropinocytosis and the actin cytoskeleton on cellular uptake of dextran and cationic cell penetrating peptides octaarginine (R8) and HIV-Tat [J]. J Control Release, 2012, 161(1): 132-141.
- [13] Hegi ME, Diserens AC, Gorlia T, et al. MGMT gene silencing and benefit from temozolomide in glioblastoma [J]. N Engl J Med, 2005, 352(10): 997-1003.
- [14] Zhang Q, Tang J, Fu L, et al. A pH-responsive α -helical cell penetrating peptide-mediated liposomal delivery system [J]. Biomaterials, 2013, 34(32): 7980-7993.
- [15] Kuai R, Yuan W, Qin Y, et al. Efficient delivery of payload into tumor cells in a controlled Manner by TAT and thiolytic cleavable PEG co-modified Liposomes [J]. Mol Pharma, 2010, 7(5): 1816-1826.
- [16] Tang J, Zhang L, Liu Y, et al. Synergistic targeted delivery of payload into tumor cells by dual-ligand liposomes co-modified with cholesterol anchored transferrin and TAT [J]. Int J Pharm, 2013

- 454 (1):31-40.
- [17] Ying X, Wen H, Lu WL, et al. Dual-targeting daunorubicin liposomes improve the therapeutic efficacy of brain glioma in animals [J]. J Control Release, 2010, 141(2): 183-192.
- [18] Chang S, Guo J, Sun J, et al. Targeted microbubbles for ultrasound mediated gene transfection and apoptosis induction in ovarian cancer cells [J]. Ultrason Sonochem, 2013, 20(1): 171-179.
- [19] Garcia-Garcia E, Andrieux K, Gil S, et al. Colloidal carriers and Blood brain barrier (BBB) translocation: A way to deliver drugs to the brain [J]. Int J Pharm, 2005, 298(2): 274-292.
- [20] Zhan C, Gu B, Xie C, et al. Cyclic RGD conjugated poly(ethylene glycol)-co-poly(lactic acid) micelle enhances paclitaxel anti-glioblastoma effect [J]. J Control Release, 2010, 143(1): 136-142.
- [收稿日期] 2015 - 01 - 23 [修回日期] 2015 - 03 - 07
- [本文编辑] 阮芳铭

· 科技动态 ·

长链非编码 RNA Xist 直接与 SHARP 作用并通过 HDAC3 沉默转录

X 染色体失活 (XCI) 是雌性哺乳动物发育过程中一个重要的事件, 而长链非编码 RNA (long non-coding RNA, lncRNA) Xist 对于 X 染色体转录沉默起到了至关重要的作用。由于技术手段的局限性, 关于在 XCI 过程中转录沉默的机制还不清楚。加州理工学院的 McHugh 等研究人员优化了他们在 2013 年建立的 RNA 反义核酸纯化方法 (RNA antisense purification, RAP), 同时结合定量质谱技术 (mass spectrometry, MS), 建立了 RAP-MS 方法, 利用该方法在细胞中鉴定 XCI 过程中与 Xist 直接作用的蛋白质。

他们使用稳定核素标记氨基酸培养细胞 (SILAC), 通过紫外交联使与 Xist 直接作用的蛋白 (RNA binding protein, RBP) 形成共价结合复合物; 同时用靶向 Xist 的反义核苷酸探针与 lncRNA 杂交, 形成稳定的 RNA-DNA 杂交产物; 然后利用 proteinG 磁珠捕获探针及探针所结合的复合物, 解交联后分离 Xist 和 RBP, 最后通过质谱鉴定 RBP 的组成。通过该方法, 研究人员在雄性小鼠胚胎干细胞 (embryonic stem cell, ESC) 中诱导表达了 Xist 并且鉴定到了 10 个与 Xist 直接作用的蛋白质。在这些蛋白质中, 用干扰 RNA 方法将 *SAFA*、*SHARP* 及 *LBR* 基因沉默以后, 无论是在雄性还是雌性 ESC 中均发现 XCI 相关基因例如 *Gpc4* 和 *Atrx* 的转录沉默消失。因此, 这三个蛋白质是 Xist 介导的基因沉默所必须的。之前的研究已经表明, *SAFA* 是一个锚定蛋白, 能将 Xist 锚定在失活的 X 染色体上; *SHARP* 能够与 *SMART* 及组蛋白去乙酰化酶 3 (histone deacetylase 3, HDAC3) 作用; *LBR* 能够将异染色质锚定在核内膜上。

在 XCI 的起始阶段, Xist 在 X 染色体上定位, 同时 RNA 聚合酶 II (RNA polymerase II, Pol II) 受到排斥。单独沉默 *SAFA* 后, Xist 在细胞核内的定位变得分散, 这与已有研究结论一致, 表明 *SAFA* 能够将 Xist 定位到基因组 DNA 上; 单独沉默 *SHARP* 后, Xist 与 RNA Pol II 共定位于染色体上, RNA Pol II 不再受到排斥, 这说明 *SHARP* 和 *SAFA* 可能是 Xist 发挥 X 染色体转录沉默所必需的两个蛋白。*SHARP* 是哺乳动物 *SMRT* 共抑制因子复合体中第一个被鉴定出的组分, 它会与 HDAC3 互作, 是体内脱乙酰基作用及其所产生的转录沉默效应所必需的。基于这些已有研究, 研究者假设, Xist 可能也是借助 *SHARP* 与 HDAC3 互作发挥其 X 染色体沉默功能的。为了验证这种假设, 他们在小鼠 ESC 中分别沉默了 HDAC3 和 *SMRT*, 结果确实消除了 Xist 的沉默作用, 表明此假设是正确的, 该结果也解释了 Xist 引起 XCI 时整个染色体所出现的去乙酰化效应。

XCI 过程中另一个重要事件是招募多梳蛋白抑制复合体 2 (polycomb repressive complex 2, PRC2), PRC2 通过对组蛋白 3 第 27 位赖氨酸的三甲基化 (histone H3 lysine 27 trimethylation, H3K27me3) 参与维持染色体的压缩和基因沉默。尽管 PRC2 对于 XCI 的起始并不是必须的, 但研究人员发现, 将 *SHARP* 或 *HDAC3* 沉默后, 失活的 X 染色体上 PRC2 均消失, 表明 *SHARP* 和 HDAC3 可能在 XCI 起始之后, 在建立一个表观沉默状态过程中起一定作用。

本项研究通过 RAP-MS 技术, 精确筛选到了 Xist 互作蛋白, 并对这些 RBP 的功能进行了深入研究, 发现这些 RBP 在 Xist 沉默 X 染色体过程中的重要角色, 表明 lncRNA 及其 RBP 在生物发育调控过程中具有重要作用。通过该研究可了解到 Xist 是如何定位到 X 染色体上的一些位点, 以及它是如何沉默转录, 如何改变 DNA 结构的, 人们有可能利用 lncRNAs 的这一原理, 让它们在基因组上移动, 利用它们作为治疗药物来靶向疾病中特异的缺陷信号通路。此外, 研究者建立的 RAP-MS 技术, 精确度和效率都是很高的, 可以用来鉴定其他与 lncRNA 直接作用的蛋白质。

[周玉梅 摘译, 王品 审阅. McHugh CA, Chen CK, Chow A, et al. Nature, 2015, 521(7551):232-236]