

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2015.09.042

成骨细胞介电特性检测的方法研究*

刘玺 丁冲 王哲 张健 商澎[△]

(西北工业大学生命学院 西北工业大学特殊环境生物物理学研究所 空间生物实验模拟技术

国防重点学科实验室 陕西 西安 710072)

摘要 目的:以小鼠成骨细胞为材料,建立一套完整的用于成骨细胞的介电特性检测方法。**方法:**本研究首先是设计制作不同形状和尺寸的细胞介电谱检测装置(测量池),其次进行测量池的生物相容性评价,包括浸提液毒性实验,HE染色观察细胞形态。最后将细胞培养在测量池中,连入阻抗分析仪在20Hz~10MHz检测并联电导Gp和电容Cp并绘制介电谱图。**结果:**生物相容性检测表明测量池对细胞无毒性,可使用。此外,介电特性检测结果表明随着频率的增大,细胞的电容减小,电导略微增大后减小;随着培养时间的增长,电容值增大而电导值减小;经中强磁场处理后,细胞的电容和电导值都有下降。**结论:**该方法能够为其他贴壁细胞的介电特性检测提供研究基础,并对于在此基础上展开的贴壁细胞介电特性解析提供参考。

关键词:介电特性;介电检测;介电谱;测量池

中图分类号:Q61;Q813;Q75 文献标识码:A 文章编号:1673-6273(2015)09-1764-05

Research on the Method of Detecting Dielectric Properties of Osteoblast*

LIU Xi, DING Chong, WANG Zhe, ZHANG Jian, SHANG Peng[△]

(Key Laboratory for Space Bioscience and Biotechnology, Institute of Special Environmental Biophysics,

School of Life Sciences, Northwestern Polytechnical University, Xi'an, Shaanxi, 710072, China)

ABSTRACT Objective: To establish a complete set of dielectric properties detective method for osteoblast by using mouse osteoblast. **Methods:** Different shape and size of cell dielectric spectroscopy detection device (dielectric cell) was designed and made, and the biocompatibility, including the toxicity test of leach liquor, HE staining was measured to observe the cell morphology. The cell were cultured in the measuring vessel, parallel conductance Gp and parallel capacitance Cp in 20Hz~10MHz was detected by impedance analyzer and draw the dielectric spectra. **Results:** Biocompatibility testing showed that the dielectric cell had no toxicity to cell and it can be used. Dielectric properties detection results showed that with the increase of frequency, the capacitance decreased, conductance slightly increased and then decreased. With the growth of the culture time, the Cp and Gp values all decreased. Moderate intensity magnetic field treated showed that the Cp and Gp values all declined. **Conclusions:** This method can provide a research bases for other dielectric property detective of adherent cells, and it can also provide a reference for adherent cells analysis based on this method.

Key words: Dielectric properties; Dielectric detective; Dielectric spectroscopy; Measurement vessel

Chinese Library Classification(CLC): Q61; Q813; Q75 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2015)09-1764-05

前言

细胞介电谱是细胞的介电常数和电导率随电场频率变化的介电响应谱率^[1]。它是在相当宽的频率范围研究电磁波与物质相互作用的一种谱学方法,也是研究生物细胞介电特性的常用方法^[2]。介电谱的理论研究应该追溯到P.Debye在20世纪20年代关于介电体中存储电荷的衰减的研究工作,该工作可视为研究介电弛豫现象的经典。近年来,介电谱在生物体系的研究得到了飞速发展,除了介电模型外,对测量数据的模型化模拟计算^[3-5]使得更多复杂体系的介电谱得到很好的解释^[6,7],并从中获得了更多信息。

介电谱技术在生物领域的研究至今已有半个多世纪,主要

集中在组织介电特性检测方面,生物组织中含有大量带电荷的无机、有机离子及各种极性分子,均具有电解质行为。在低频电流下,生物组织具有复杂的电阻性质。有的表现为欧姆电阻,即在一定范围内,其电压、电流呈线性关系;有的呈非线性关系,其中还有对称性和非对称性^[8]。自意大利神经生物学家Galvani通过观察蛙的神经肌肉收缩现象建立生物电理论以来,相继有Cole兄弟建立了生物阻抗等效模型,Schwan提出了频散理论,推动了生物组织阻抗特性的研究,形成了生物组织阻抗理论。Clar等在0.5 Hz~10 kHz频率段研究了皮肤的介电弛豫现象;Kosterich等对骨组织进行研究发现,弛豫频率与进入骨中电解质的电导率成正比,低频电导率与渗透在组织中的充填流体通道有关,并且与该组织周围的电导率成正比。1985年Lukas首

* 基金项目:国家自然科学基金项目(51147008)

作者简介:刘玺(1990-),女,硕士研究生,主要研究方向:细胞的介电特性检测,电话:029-88491613, E-mail: liuxi@mail.nwpu.edu.cn

△ 通讯作者:商澎, E-mail: shangpeng@nwpu.edu.cn

(收稿日期:2014-08-09 接受日期:2014-08-31)

次提出采用生物阻抗方法测量人体成分,他假设人体是由脂肪和非脂肪组成,通过导入人体一定频率的电流测量人体电阻值并间接测量人体脂肪含量^[9]。如今,生物组织阻抗作为一项生理参数,已在基础医学和临床诊断中得到了广泛的应用^[10,11]。

细胞悬浮液是生物物质中最广泛的被介电谱方法研究的一类重要体系,证实细胞膜存在的最初实例之一就是建立在细胞悬浮液的介电研究基础之上的。细胞膜是一种多相的各向异性介电材料,它具有电容性,较高的电导率,在特定的条件下还具有较高的电导。将细胞内液和外液视为与电学行为相似的电质溶液,厚度很薄的高电阻率的细胞膜介于这两种溶液中,从而可将细胞膜视为电容器^[12,13]。目前对于细胞的介电特性解析也主要是根据这一模型展开。从 Pauly 和 Schwan 提出细胞的单壳模型(即将细胞看做一个被绝缘性壳包裹的导电球)以来,Asami^[14]以及 Irimajiri^[15]等人又提出了具有细胞膜外基质(细胞壁)的双层壳模型和含有细胞器和细胞质中含有膜状结构的双壳模型。随后,Holzel 等首次采用三壳的球形模型获得了大肠杆菌细胞的电学参数,但该模型不适合杆状的大肠杆菌细胞。赵孔双等^[16]借助三壳层椭球模型对大肠杆菌细胞悬浮液进行了介电解析,较好的解决了这一问题。近年来已经可以做到精确的解析悬浮细胞的相关电学行为,在反映细胞的结构、组成、物理特性的基础上对于理解细胞的功能和代谢机制方面也发挥了重大作用。基于细胞层面的介电理论的相关医疗仪器和诊断方法也先后出现并得到初步应用。

对于贴壁细胞,因为目前尚未有其模式化解析的报道,其精确解析存在较大困难,所以贴壁细胞的介电特性研究也较少。但是贴壁细胞占人体细胞的大多数,对于人类的健康生活和疾病防治存在着至关重要的联系。因此,探索建立贴壁细胞介电检测的装置和实验条件及方法意义重大。尤其是贴壁细胞的典型代表骨细胞,这方面不仅是急需解决的基本生物学问题,而且能够为相关疾病的预防和治疗提供理论依据。本实验室在已有悬浮细胞介电特性研究的基础上,主要提出贴壁细胞介电特性检测的方法,为今后对贴壁细胞的介电特性深入研究打好基础。

1 材料和方法

1.1 实验材料

1.1.1 细胞种类 采用的贴壁细胞是小鼠成骨细胞 MC3T3-E1,由澳大利亚悉尼大学 ANZAC 研究所周虹教授赠予。

1.1.2 主要仪器与试剂 本实验所需的主要仪器设备如表 1

表 1 试验所需主要的设备

Table 1 The main equipment required in this experiment

Equipment	Model	Company
Cell culture box	Forma311	Thermo
Super clean bench	HDL APPARATUS	Beijing Donglian
Phase-contrast microscope	Kx4	Olympus
High-speed centrifuge	Primo R	Heraeus
Molecular Devices	Synergy HT	BIO-TEK
High-pressure sterilize	MLS-3780/3750	SANYO
Impedance analyzer	6500B	Wayne Kerr
Fluorescence microscope	80i	Nikon

所示。

本实验所要使用的主要试剂如表 2 所示。

表 2 实验所需主要的试剂

Table 2 The main reagent is required in this experiment

Reagent	Company
α -MEM culture media	Gibco
Fetal Bovine Serum(FBS)	Hyclone
Parenzyme	SINO-American Biotechnology company
L- glutamine	SINO-American Biotechnology company
DMSO	Sigma
Hematoxylin stain	Beyotime Institute of Biotechnology
eosin stain	Beyotime Institute of Biotechnology
MTT	Sigma
Conductive silver glue	Wentworth

1.2 细胞培养

采用小鼠成骨样细胞 MC3T3-E1, 用含有 10%胎牛血清、1%谷氨酰胺和 1%双抗(青霉素和链霉素)的 α -MEM 培养基将细胞培养于 100 cm²的培养瓶中。置于 37℃, 5%CO₂ 的细胞培养箱中,待密度达到 80%~90%以上经行胰蛋白酶消化传代。传代时,先到掉旧的培养液,向瓶内加入 1 mL 胰蛋白酶消化液,轻轻晃动培养瓶使消化液平铺瓶底后置于培养箱中,约 3~5 min 后在显微镜下观察细胞发现胞质回缩,细胞间隙增大后倒掉消化液。加入培养基后用弯头管吸取加入的培养基反复吹打瓶壁细胞,使细胞脱离瓶壁后形成细胞悬液。采用血球计数板对细胞计数后调整到所需密度即可接种实验。

1.3 测量池的制作

考虑到要将贴壁细胞在正常生长状态下连入电路,我们参考了相关文献^[11,12]最终采用如下方式设计并制作贴壁细胞介电特性检测的测量池。将载玻片裁成 19×26 mm 后在边缘涂画两条宽约 1 mm 的导电银胶条,置于 150℃ 的烘箱 30 min 烘干后取出冷却至室温,见图 1。将修饰好的载玻片洗净湿热高压后放入无菌 35 mm 培养皿即可。使用时在超净工作台中将细胞接种在培养皿内经修饰的载玻片上,待其贴壁后再在皿内补加一定的培养基,见图 2。

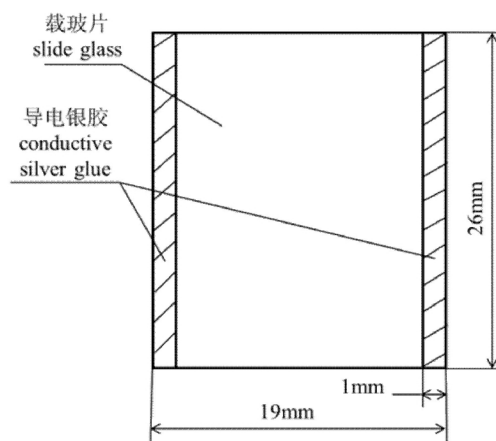


图 1 涂有导电银胶的载玻片

Fig. 1 Slide glass with conductive silver adhesives

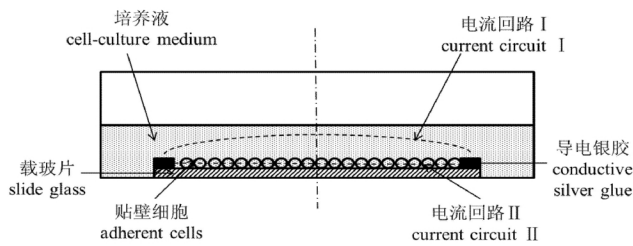


图2 贴壁细胞测量池的原理图

Fig. 2 Schematic diagram of adherent cells measurement vessel

采用阻抗分析仪自带的探针夹具进行测量。直接测量到的谱线不能直接使用, 因为有连接过程中存在的线间电容和电感, 对此可用仪器配置的原件进行校正。此外, 对于电极表面的电极极化, 它会干扰细胞真实的谱线。但是由于它是金属电极表面和富含离子的液体之间形成的双电层产生的, 而在实际检测时是将细胞连同电极片取出检测, 与培养基分离, 因此, 此处可以忽略。

1.4 测量池的生物相容性检测

为了验证测量池的生物相容性, 我们设计了浸提液实验。主要考虑涂覆在载玻片上的导电银胶对细胞的毒性。实验分组: 测量池设为 E 组, 同时设置培养皿内没有涂覆导电银胶的载玻片的一组为 G 组, 单纯在培养皿内加培养基不放置玻璃片的为 C 组。将培养基分别浸泡在三组样品中 2 mL/皿, 每组浸泡 2 个皿, 浸泡 24 h。在浸泡培养基的同时将细胞按照 5×10^4 cells/mL 的密度接种在可拆卸的 96 孔板中, 200 μ L/孔, 每组接种 3 个孔作为平行样。培养 12 h 待细胞贴壁正常生长后, 用浸泡了 24 h 的培养基给细胞换液, 完成后以此为起点放入培养箱中正常培养。

采用 MTT 比色法检测测量池的毒性, 即检测细胞在浸提液培养条件下的增殖情况和细胞活性。取在可拆卸的 96 孔板中正常生长的细胞, 以 20 μ L/孔加入浓度为 5 mg/mL 的 MTT 溶液, 置于 37 $^{\circ}$ C, 5%CO₂ 饱和湿度的培养箱孵育 4~6 h 弃去孔内上清, 以 150 μ L/孔加入 DMSO, 震荡 10 min, 使得蓝紫色结晶充分溶解。选择 490 nm 波长使用多功能酶标仪检测各孔的吸光度值^[2]。

为确保实验结果准确, 我们还采用了结晶紫法检测了细胞的生长情况, 得到了与 MTT 法相同的结果。同样在可拆卸的 96 孔板中, 每 200 μ L 培养液加入 20 μ L, 11% 的戊二醛溶液, 室温轻轻震荡 15 min; 双蒸水洗三次风干后采用 0.1% 的结晶紫染色, 每孔 100 μ L, 室温轻轻震荡 10 min 后再用双蒸水清洗风干; 每孔加入 100 μ L, 10% 的醋酸后在 595 nm 处检测吸光度值。对于测量池是否会影响细胞形态, 我们采用了 HE 染色的方法分析了细胞的长宽比以及面积来说明导电银胶的影响。采用 4% 多聚甲醛固定 10 min 后, 用蒸馏水洗 2 次, 每次 2 min; 苏木素染色 10 min, 吸去苏木素后缓慢加自来水浸泡去除多余染液 12 min, 再用蒸馏水洗一遍; 伊红染色 5 min 后洗去染液即可。实验中选取 3 种不同密度接种细胞染色拍照观察, 分别为 3×10^4 cells/mL、 5×10^4 cells/mL、 7×10^4 cells/mL。

1.5 介电特性检测方法

经过验证的测量池无论对细胞的形态或是增殖都无有害

影响, 与对照组相比无显著性差异。因此, 将细胞按照 5×10^4 cells/mL 的密度接种在测量池的玻璃片上, 1 mL/皿, 面积密度为 101.215 cells/mm²。接种时将细胞全都滴在玻片上而不落入旁边的皿内, 待 2~3 h 后细胞不会被冲落时再在皿内补加 1 mL 培养基后放入培养箱中正常培养 12 h 待其贴壁。此时, 将实验组 E 组放入 0.2 T 的中强磁场中培养, 对照组 C 组正常培养, 每隔 12 h 检测一次细胞的电学参数并换液。

检测时, 将细胞放入超净台内, 用探针夹具与阻抗分析仪相连接。首先选择并联测量模式, 频率为 20 Hz~10 MHz。其次用镊子将长有细胞的玻片从培养皿中取出放到干净的空皿内, 用两根探针分别接触两根导电银胶条, 记录细胞的电容和电导数值后将玻片重新放回原来的皿内并换页继续培养。实验中检测了 12 h、24 h、36 h、48 h、72 h 这 5 个时间点。到 72 h 时按照该密度接种的细胞已长满所以到此结束检测。

2 实验结果

2.1 生物相容性检测的结果

通过 MTT 比色法检测测量池的细胞毒性试验结果如图 3~4 所示: 其中, C 组代表正常培养基培养组; E 组为浸泡测量池玻片的浸提液培养组; G 组为浸泡普通载玻片的培养基培养组。浸泡 24 h 的浸提液培养 1 天和两天各组间均无显著性差异。浸泡 48 h 的浸提液培养 1 天, C 组与 E 组有显著性差异 ($P < 0.05$); 培养两天, C 组与 E 组、G 组与 E 组有显著性差异 ($P < 0.01$)。

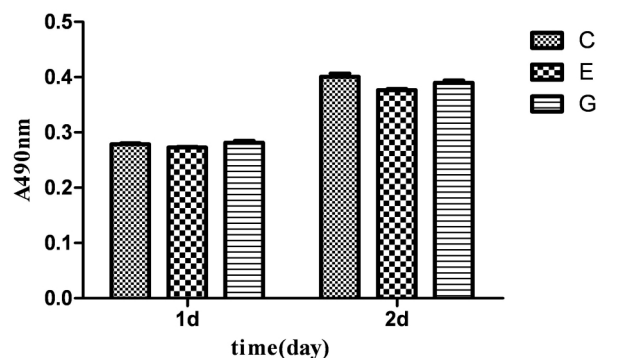


图3 MTT 法检测浸泡 24 h 的浸提液培养细胞的活性

Fig. 3 MTT method test immerse 24 h leach liquor cultured cells activity

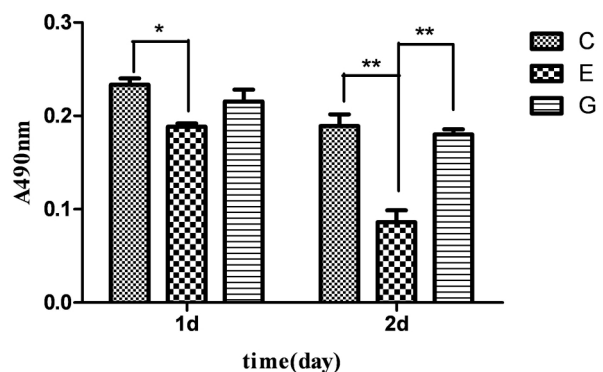


图4 MTT 法检测浸泡 48 h 浸提液培养细胞的活性

Fig. 4 MTT method test immerse 48 h leach liquor cultured cells activity

通过结晶紫法检测测量池的生物相容性试验结果如图 5~6 所示:浸泡 24 h 的浸提液培养 1 天和两天各组间均无显著性差异。浸泡 48 h 的浸提液培养 1 天,C 组与 E 组有显著性差异($P<0.05$);培养两天,C 组与 E 组有显著性差异($P<0.01$)。

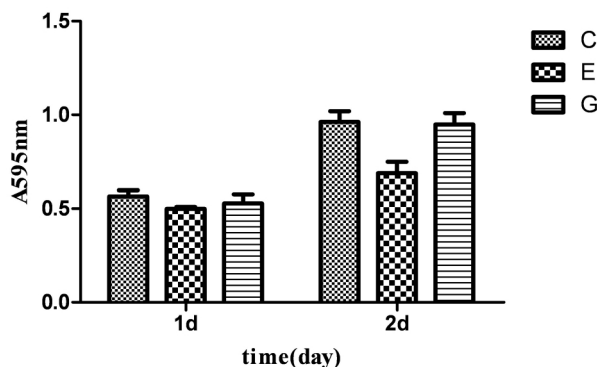


图 5 结晶紫法检测浸泡 24 h 浸提液培养细胞的活性

Fig. 5 Crystal violet method test immerse 24 h leach liquor cultured cells activity

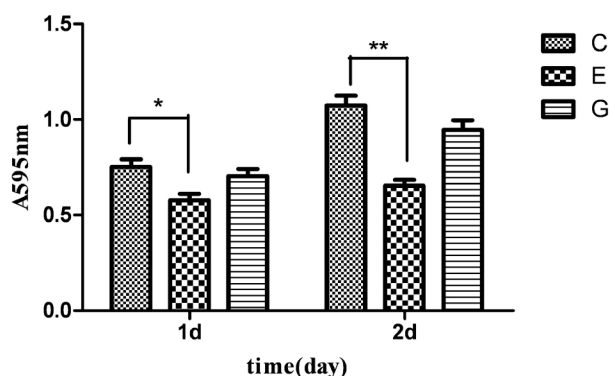


图 6 结晶紫法检测浸泡 48 h 浸提液培养细胞的活性

Fig. 6 Crystal violet method test immerse 48 h leach liquor cultured cells activity

上述结果显示,测量池上的导电银胶对细胞的毒性在 48 h 的培养时间内是可以接受的。其中,培养 24 h 对细胞无影响,超过 48 h 后有略微的影响,不过到达 48 h 时也已达到 MC3T3-E1 细胞普通培养的正常换液时间。所以,我们可以说测量池对细胞的增殖和活性无有害影响,可以使用。通过 HE 染色法分析细胞在测量池上生长的形态学参数如图 7~8 所示。图中 C 组为对照组,代表普通载玻片上生长的细胞;E 组为实验组,代表涂有导电银胶的载玻片上生长的细胞。上述结果显示对照组和实验组的细胞形态无显著性差异,测量池对细胞的形态无有害影响,可以使用。

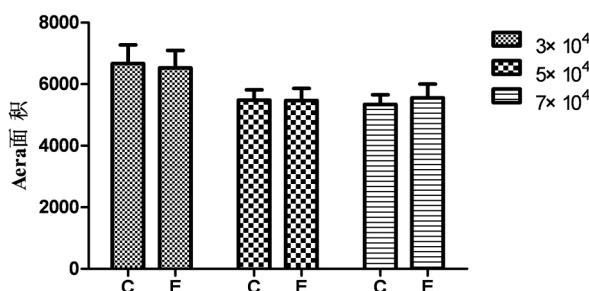


图 7 HE 染色分析细胞的面积
Fig. 7 HE staining analysis cell area

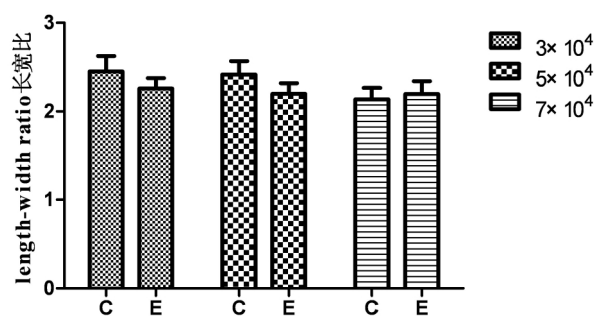


图 8 HE 染色分析细胞的长宽比

Fig. 8 HE staining analysis cell length-wide ratio

2.2 介电谱检测

实验测得细胞的电容和电导随频率变化的关系如图 9~10 所示。图中,c 为对照组,代表正常培养的细胞在各个时间点的检测结果;e 为实验组,代表在 0.2 T 中强磁场环境下培养的细胞在各个时间点的检测结果。上述结果表明随着频率的增大,细胞的电容减小,电导略微增大后减小;随着培养时间的增长,电容值增大而电导值减小;经中强磁场处理后,细胞的电容和电导值都有下降。这可能是由于磁场对细胞的形态和增长都有一定影响从而导致细胞膜的电位发生变化,而使得其电容和电导变小。

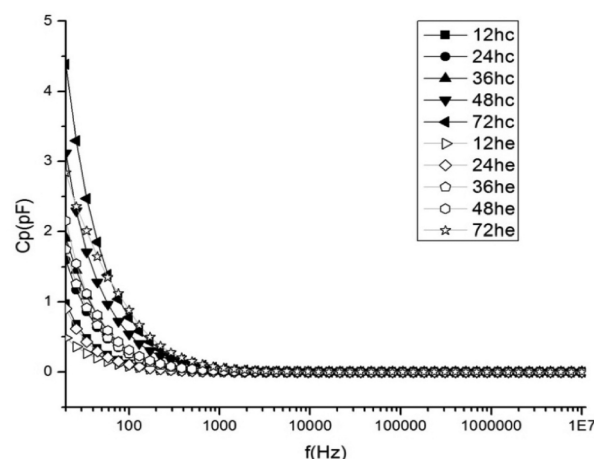


图 9 不同的时间点细胞的并联电容随频率的变化

Fig. 9 Changes in different time points of cell parallel capacitance with frequency

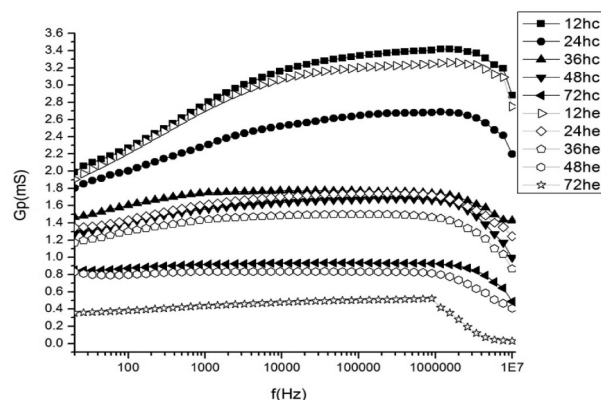


图 10 不同的时间点细胞的并联电导随频率的变化

Fig. 10 Changes in different time points of cell parallel conductance with frequency

3 讨论

介电谱是在相当宽的频率范围内研究电磁波与物质相互作用的一种谱学方法^[2]。用介电谱方法研究物质的结构与性质已经有很长的历史了。自 20 世纪 20 年代 Debye 极性分子理论的建立开始,至今介电谱的研究已有快速的发展并取得了很多成果。研究表明,介电谱测量的是溶液的介电性能,主要是电容和电导随频率的变化谱线。正常细胞的细胞膜主要是由磷脂双分子层构成,其电导率的数量级在 10-6 S/m,远低于含有大量离子的培养液和细胞质的电导率(1 S/m)^[17]。在交变电场作用下,培养液和细胞内的离子迁移,到达细胞膜表面时将受电导率极低的膜的束缚而停留,此时细胞就成为一个个微小的电容。细胞越多,总体电容就越大。细胞越大,离子迁移时间越长,松弛频率就越低。因而细胞数目和大小与电容随频率谱线的低频值和松弛频率相关^[18]。由脂质体和蛋白质为主体构成的细胞膜具有近乎绝缘的电性质,细胞中的电导主要是由水和离子移动所引起,在交流电场作用下,电荷移至并储存在细胞和溶液的相界面,破坏了原有的双电层而形成新的电荷的非均匀分布,即所谓界面极化^[19]。

无论是悬浮细胞还是贴壁细胞,他们都满足细胞介电特性的基本理论,都可以将其视为两个平行电极板间夹着电介质物质的一个个小的电容。但是由于贴壁细胞特殊的贴壁生长要求,他不能像细胞悬浮液那样将其视为细胞均匀的分散在液体中,从而只要将悬浮液加入测量池再连入电路即可检测到其电学参数,在此基础上,可对单个悬浮细胞模型化后用数学方法解析^[20,21]。但这并不意味着贴壁细胞的介电谱无法得到和解析,我们所要做的是制作一种合适的测量装置让细胞在其中贴壁生长的同时还可连入电路检测。所以,在充分了解其原理的基础上实现检测方法的建立意义重大。

本文在悬浮细胞相关理论研究的基础上结合成骨细胞自身的生长特点和电学特性,设计制作了一种适合于成骨细胞贴壁生长的介电特性检测装置。并从细胞的形态和增殖两个方面验证了测量池的生物相容性。实验结果表明,培养 24h 细胞的生长状况及形态与对照组无显著性差异,培养 48h 有极轻微的差异,测量池的生物相容性良好。表明测量池可以用于成骨细胞的介电特性检测,在实际检测时,可以使用该测量池培养细胞并在 24h 左右换液即可。

另外,本文建立了一种可用于成骨细胞的介电特性检测方法。使用这种方法检测相关贴壁细胞的电学参数简便、快捷、精确,测量池性质稳定重复性好。由于检测时将细胞与培养基分离,因此避免了由于培养基的连入而增加的电极极化。短暂的分离检测不仅不会影响细胞的正常生长而且这种方法还可以实时监测细胞的电学参数变化。所以,这种方法为贴壁细胞的介电特性研究提供了一种新思路并且有望在此基础上展开更加深入的研究

参考文献(References)

- [1] 崔湘屏, 马青, 丁方. 正常人血小板介电谱的实验研究[J]. 生物医学工程学杂志, 2007, 24(3): 682-684
Cui Xiang-ping, Ma Qing, Ding Fang. Experimental research for dielectric spectroscopy of normal human platelets [J]. J Biomed Eng, 2007, 24(3): 682-684
- [2] 赵孔双. 介电谱方法及应用 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2008: 1-3
Zhao Kong-shuang. Dielectric Spectroscopy Method and Application [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2008: 1-3
- [3] Lampe B, Koslowski T. Theory and simulation of organic solar cell model compounds: from atoms to excitons [J]. Phys. Chem. Chem. Phys, 2011, 13(3): 16247-16253
- [4] ShunWei Liu. Pentacene field-effect transistors by in situ and real time electrical characterization: Comparison between purified and non-purified thin films [J]. Thin Solid Films, 2013, 512(2): 534-640
- [5] Bae HJ, Jeong C, Lee SD, et al. Photo-controlled molecular growth and electrical performances of a pentacene-based organic transistor with a photo-reactive insulator[J]. Solid-State Electronics, 2012, 68(5): 108-110
- [6] Bin Li, JW Yoo, CY Koo, et al. Impact of electrode metals on a pentacene-based write-once read-many memory device [J]. Synthetic Metals, 2010, 160(4): 2385-2389
- [7] Asami K. Dielectric properties of microvillous cells simulated by the three-dimensional finite-element method [J]. Bioelectrochemistry, 2011, 81(1): 28-33
- [8] Michael B. Contactless dielectrophoretic spectroscopy: Examination of the dielectric properties of cells found in blood [J]. Electrophoresis, 2011, 32(22): 3164-3171
- [9] Lukas, HP Johnson, W Bolonchuk. Assessment of fat-free mass using bioelectrical impedance measurement of the human body [J]. Am J Clin Nutr. 1985, (41): 810-817
- [10] Peter K, Nathan W, Levin, et al. Current state of bioimpedance technologies in dialysis. Nephrol. Dial. Transplant, 2008, 23 (3): 808-812
- [11] YiweiLian, Kongshuang Zhao. Dielectric Analysis of Micelles and Microemulsions Formed in Hydrophilic Ionic Liquid. I. Interaction and Percolation [J]. Phys. Chem. B, 2011, 115(39): 368-374
- [12] Richarad B, Hyun J K, Hyun Roh, et al. Dielectric response of human melanoma cells on the surface of polymeric chemoattractants [J]. Tissue Engineering and Regenerative Medicine, 2012, 9(1): 24-27
- [13] Ahn H, Sohn I P, Kwon H C, et al. Characteristics of the cell membrane fluidity, actin fibers, and mitochondrial dysfunctions of frozen-thawed two-cell mouse embryos[J]. 2002, 61(4): 466-476
- [14] Asami K, Hanai T, Koizumi N, Dielectric approach to suspensions of ellipsoidal particles covered with a shell in particular reference to biological cells [J]. Japanese J. Appl. Physics, 1980, 19(10): 359-365
- [15] Asami K, Irimajiri A. Dielectric dispersion of a single spherical bilayer membrane in suspension Biochim [J]. Biophys, 1984, 76(9): 370-376
- [16] Bai W, Zhao K S, Asami K. Dielectric properties of E.coli cell as simulated by the three-shell spheroidal model [J]. BiophysJChem, 2006, 122: 136-142
- [17] 胥飞, 肖登明. 介电谱法监测贴壁细胞生长的研究[J]. 高技术通讯, 2005, 15(12): 52-56
Xu Fei, Xiao Deng-ming. Monitoring the culture process of anchorage dependent cells by dielectric spectroscopy [J]. Chinese High Technology Letters, 2005, 15(12): 52-56

提示 miR-451 与这些肿瘤的发生发展有着密切的关系。进一步探究其在肿瘤中所发挥的作用机制发现,miR-451 可以应用于肿瘤的早期诊断、治疗、以及预后,具有重要的临床价值。但是,目前人们对 miR-451 的生物学机制如转录调控、靶基因调节等的研究尚浅,且主要集中在体外实验细胞学水平,动物及人体实验较少,进而限制了其在临床上的应用。随着 miRNAs 研究的不断深入,miR-451 调控网络也在不断完善,这必将在人类肿瘤的诊治中有着广阔的应用前景。

参考文献(References)

- [1] Kaikkonen M U, Lam M T Y, Glass C K. Non-coding RNAs as regulators of gene expression and epigenetics [J]. *Cardiovasc Res*, 2011, 90(3): 430-440
- [2] Hwang H W, Mendell J T. MicroRNAs in cell proliferation, cell death, and tumorigenesis[J]. *Br J Cancer*, 2006, 94(6): 776-780
- [3] Dore L C, Amigo J D, Dos Santos C O, et al. A GATA-1-regulated microRNA locus essential for erythropoiesis[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2008, 105(9): 3333-3338
- [4] Li H Y, Zhang Y, Cai J H, et al. MicroRNA-451 Inhibits Growth of Human Colorectal Carcinoma Cells via Downregulation of Pi3k/Akt Pathway[J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2013, 14(6): 3631-3634
- [5] Redova M, Poprach A, Nekvindova J, et al. Circulating miR-378 and miR-451 in serum are potential biomarkers for renal cell carcinoma [J]. *J Transl Med*, 2012, 10(1): 55
- [6] Bian H B, Pan X, Yang J S, et al. Upregulation of microRNA-451 increases cisplatin sensitivity of non-small cell lung cancer cell line (A549)[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2011, 30(1): 20
- [7] Wang R, Wang Z X, Yang J S, et al. MicroRNA-451 functions as a tumor suppressor in human non-small cell lung cancer by targeting ras-related protein 14 (RAB14)[J]. *Oncogene*, 2011, 30 (23): 2644-2658
- [8] Ju X, Li D, Shi Q, et al. Differential microRNA expression in childhood B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia [J]. *Pediatr Hematol Oncol*, 2009, 26(1): 1-10
- [9] Godlewski J, Nowicki M O, Bronisz A, et al. MicroRNA-451 regulates LKB1/AMPK signaling and allows adaptation to metabolic stress in glioma cells[J]. *Mol Cell*, 2010, 37(5): 620-632
- [10] Ali S, Saleh H, Sethi S, et al. MicroRNA profiling of diagnostic needle aspirates from patients with pancreatic cancer[J]. *Br J Cancer*, 2012, 107(8): 1354-1360
- [11] Bandres E, Bitarte N, Arias F, et al. microRNA-451 regulates macrophage migration inhibitory factor production and proliferation of gastrointestinal cancer cells [J]. *Clin Cancer Res*, 2009, 15 (7): 2281-2290
- [12] Konishi H, Ichikawa D, Komatsu S, et al. Detection of gastric cancer-associated microRNAs on microRNA microarray comparing pre-and post-operative plasma[J]. *Br J Cancer*, 2012, 106(4): 740-747
- [13] Nelson P T, De Planell-Saguer M, Lamprinak S, et al. A novel monoclonal antibody against human Argonaute proteins reveals unexpected characteristics of miRNAs in human blood cells[J]. *RNA*, 2007, 13(10): 1787-1792
- [14] Siolas D, Lerner C, Burchard J, et al. Synthetic shRNAs as potent RNAi triggers[J]. *Nat Biotechnol*, 2004, 23(2): 227-231
- [15] Yang J S, Maurin T, Robine N, et al. Conserved vertebrate mir-451 provides a platform for Dicer-independent, Ago2-mediated microRNA biogenesis [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2010, 107(34): 15163-15168
- [16] Cifuentes D, Xue H, Taylor D W, et al. A novel miRNA processing pathway independent of Dicer requires Argonaute2 catalytic activity [J]. *Science*, 2010, 328(5986): 1694-1698
- [17] Cheloufi S, Dos Santos C O, Chong M M W, et al. A dicer-independent miRNA biogenesis pathway that requires Ago catalysis[J]. *Nature*, 2010, 465(7298): 584-589
- [18] Diederichs S, Haber D A. Dual role for argonautes in microRNA processing and posttranscriptional regulation of microRNA expression[J]. *Cell*, 2007, 131(6): 1097-1108
- [19] Kosaka N, Iguchi H, Ochiya T. Circulating microRNA in body fluid: a new potential biomarker for cancer diagnosis and prognosis [J]. *Cancer Sci*, 2010, 101(10): 2087-2092
- [20] Xie Z, Chen G, Zhang X, et al. Salivary MicroRNAs as Promising Biomarkers for Detection of Esophageal Cancer[J]. *PloS One*, 2013, 8 (4): e57502
- [21] Ng E KO, Li R, Shin V Y, et al. Circulating microRNAs as specific biomarkers for breast cancer detection [J]. *PloS One*, 2013, 8(1): e53141
- [22] Kovalchuk O, Filkowski J, Meservy J, et al. Involvement of microRNA-451 in resistance of the MCF-7 breast cancer cells to chemotherapeutic drug doxorubicin[J]. *Mol Cancer Ther*, 2008, 7(7): 2152-2159
- [23] Bergamaschi A, Katzenellenbogen B S. Tamoxifen downregulation of miR-451 increases 14-3-3 ζ and promotes breast cancer cell survival and endocrine resistance[J]. *Oncogene*, 2011, 31(1): 39-47
- [24] Godlewski J, Bronisz A, Nowicki M O, et al. microRNA-451: A conditional switch controlling glioma cell proliferation and migration [J]. *Cell Cycle*, 2010, 9(14): 2814-2820
- [25] Brenner B, Hoshen M B, Purim O, et al. MicroRNAs as a potential prognostic factor in gastric cancer[J]. *World J Gastroenterol*, 2011, 17 (35): 3976-3985
- [26] Heinzelmann J, Henning B, Sanjmyatav J, et al. Specific miRNA signatures are associated with metastasis and poor prognosis in clear cell renal cell carcinoma[J]. *World J Urol*, 2011, 29(3): 367-373
- [27] Xie P, Xu F, Cheng W, et al. Infiltration related miRNAs in bladder urothelial carcinoma [J]. *J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci*, 2012, 32: 576-580

(上接第 1768 页)

- [18] 董秀珍. 生物电阻技术研究进展 [J]. *中国医学物理学杂志*, 2004, 21(6): 311-317
Dong Xiu-zhen. The development of the bioelectric impedance technologies[J]. *Chinese J Medical Physics*, 2004, 21(6):311-317
- [19] 赵孔双. 微小生物细胞的介电研究方法 [J]. *生物物理学报*, 2000, 16(1): 176-181
Zhao Kong-shuang. Some method of dielectric study on small

biological cells [J]. *Biophysicasinica*, 2000,16(1): 176-181

- [20] Asami K. Dielectric properties of microvillous cells simulated by the three-dimensinal finite-element method [J]. *Bio electrochemistry*, 2011, 81(1): 28-33
- [21] Katsumoto Y, Hayashi Y, Oshige I et al. Dielectric cytometry with three-dimensional cellular modeling [J]. *Biophys*, 2008, 95 (6): 3043-3047