

转录因子 MZF1 对大鼠 RGC32 基因启动活性的影响及可能的结合部位

王璐璐,何凤霞,赵 聃,虞天一,张 婧,卢燕来,邱 文*,王迎伟*

(南京医科大学微生物与免疫学系,江苏 南京 210029)

[摘要] 目的:构建大鼠补体应答基因 32(response gene to complement,RGC32)启动子(全长和截短)荧光素酶报告质粒,并观察人胚肾细胞(HEK293)过表达髓锌指基因 1(myeloid zinc finger gene1,MZF1)对大鼠 RGC32 基因启动活性的影响。同时,筛选其可能的 MZF1 结合位点。方法:将 RGC32 基因启动子全长(-686~-1 nt)插入到荧光素酶报告基因载体 pGL3-basic 中,获得 RGC32 基因启动子全长荧光素酶报告质粒(pGL3-RGC32-FL)后,再将 pGL3-RGC32-FL 与本课题组前期构建的大鼠野生型 MZF1 表达质粒(pIRES2-EGFP-MZF1)共转染 HEK293 细胞,检测其荧光素酶活性,以确定 MZF1 对 RGC32 基因的启动作用。另用生物信息学软件预测 RGC32 基因启动子上转录因子 MZF1 潜在的结合位点,并据此构建 3 个 RGC32 基因启动子截短的荧光素酶报告质粒(即 pGL3-RGC32-1、pGL3-RGC32-2 和 pGL3-RGC32-3)。将上述 RGC32 基因启动子全长和各截短的荧光素酶报告质粒与 MZF1 过表达质粒共转染 HEK293 细胞,再行荧光素酶活性测定,以筛选 MZF1 的结合位点。结果:菌液 PCR 及核酸测序证实,大鼠 RGC32 基因启动子(全长和各截短)的荧光素酶报告质粒均构建成功。将 pGL3-RGC32-FL 和 pIRES2-EGFP-MZF1 共转染 HEK293 细胞发现,RGC32 基因启动子活性显著增加。而将 pGL3-RGC32-FL、pGL3-RGC32-1、pGL3-RGC32-2 和 pGL3-RGC32-3 分别与 pIRES2-EGFP-MZF1 共转染 HEK293 细胞后显示,pGL3-RGC32-3 的启动活性显著低于 pGL3-RGC32-FL、pGL3-RGC32-1 和 pGL3-RGC32-2。提示 MZF1 可能结合在 RGC32 基因启动子的-286~-86 nt 区域。结论:成功构建了大鼠 RGC32 基因启动子全长及截短荧光素酶报告质粒,证实过表达 MZF1 可促进 RGC32 基因的启动,并初步筛查出转录因子 MZF1 在 RGC32 基因启动子上可能的结合区域。

[关键词] 补体应答基因 32;髓锌指基因 1;荧光素酶报告质粒;启动子活性

[中图分类号] R392.11

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-4368(2015)02-143-06

doi:10.7655/NYDXBNS20150201

Construction of rat RGC32 promoter and identification of its binding sequence with MZF1

Wang Lulu, He Fengxia, Zhao Ran, Yu Tianyi, Zhang Jin, Qiu Wen*, Wang Yinwei*

(Department of Mathematics, NJMU, Nanjing 210029, China)

[Abstract] **Objective:** To construct luciferase reporter plasmids of full-length and truncated promoters of rat response gene to complement 32 (RGC32) gene and detect their activity in HEK293 cells in response to myeloid zinc finger gene 1 (MZF1) overexpression, screening the possible binding sites for MZF1. **Methods:** Rat RGC32 promoter (-686~-1 nt) was amplified by PCR and cloned into the luciferase reporter plasmid (pGL3-basic). The recombinant plasmid (pGL3-RGC32-FL) and rat MZF1 expression plasmid (pIRES2-EGFP-MZF1) were co-transfected into HEK-293 cells and then the luciferase activity was detected to determine the role of MZF1 in RGC32 gene transcription. Meanwhile, the potential MZF1 binding sites within RGC32 promoter were predicted by bioinformatics software. Based on the predicted results, different luciferase reporter plasmid of truncated MZF1 gene promoter that named pGL3-RGC32-1, pGL3-RGC32-2 and pGL3-RGC32-3 were constructed. The promoter luciferase reporter plasmids of pGL3-RGC32-FL or pGL3-RGC32-1, pGL3-RGC32-2, pGL3-RGC32-3 and the plasmid of pIRES2-EGFP-MZF1 were co-transfected into HEK293 cells. Then, the luciferase activity was detected to screen the MZF1 binding sites. **Results:** It was verified that different kinds of plasmids were all constructed correctly by PCR analysis and nucleotide sequencing. The plasmids of pGL3-RGC32-FL and pIRES2-EGFP-MZF1 were also co-transfected into HEK293 cells, and then the luciferase activity was detected. The results showed that the transcriptional activity of RGC32

[基金项目] 国家自然科学基金(31470853,81273333,81471626);江苏省自然科学基金面上项目(BK20131386)资助
*通信作者 (Corresponding author), E-mail: qiuwen@njmu.edu.cn; wangyw@njmu.edu.cn

gene was increased markedly in response to MZF1 overexpression. In addition, the plasmids of pGL3-RGC32-FL or pGL3-RGC32-1, pGL3-RGC32-2 and pGL3-RGC32-3 and pIRES2-EGFP-MZF1 were co-transfected into HEK293 cells, and then the luciferase activity in different groups was determined. The result displayed that the activity of pGL3-RGC32-3 was much lower than that in pGL3-RGC32-FL, pGL3-RGC32-1 and pGL3-RGC32-2, indicating that the region of rat RGC32 promoter (-286~-86 nt) might contain MZF1 binding element. **Conclusion:** The rat full-length and truncated rat RGC32 promoter luciferase reporter plasmids were constructed successfully, overexpress MZF1 could increase the transcriptional activity of RGC32 gene, and the MZF1 binding region was identified.

[Key words] response gene to complement 32 (RGC32); myeloid zinc finger gene 1 (MZF1); luciferase reporter plasmid; promoter activity

[Acta Univ Med Nanjing, 2015, 35(02):143-148]

系膜增生性肾小球肾炎 (mesangial proliferative glomerulonephritis, MsPGN) 是人类肾小球肾炎中一种常见的病理类型, 其发病率较高, 预后也相对较差^[1]。MsPGN 病变特征是肾小球系膜细胞 (glomerular mesangial cells, GMCs) 异常增生以及细胞外基质 (extracellular matrix, ECM) 的过度分泌^[2]。大鼠 Thy-1 肾炎 (Thy-1 nephritis, Thy-1N) 是一种公认的研究人类 MsPGN 的动物模型^[3]。已有文献报道, 大鼠 Thy-1 的病变呈现补体 C5b-9 依赖性, 尤其是亚溶解型 C5b-9 (sublytic C5b-9) 对于 GMCs 的病理损伤发挥着重要的始动作用^[4-6]。本课题组前期的研究发现, sublytic C5b-9 可促进大鼠 GMCs 增殖^[7]。为了进一步研究 sublytic C5b-9 诱导 GMCs 增生的分子机制, 本研究利用基因芯片检查了 Thy-1 肾炎增殖时相肾组织基因谱系的变化, 并与体外用 sublytic C5b-9 刺激 GMCs 明显上调的基因谱系进行比对, 结果发现补体应答基因 32 (response gene to complement 32, RGC32) 的 mRNA 丰度在体内外均显著上调。随后, Western blot 证实 RGC32 蛋白在 sublytic C5b-9 刺激 GMCs 后表达增加, 而沉默 RGC32 基因可显著抑制由 sublytic C5b-9 诱导的 GMCs 增生反应。

人类 RGC32 基因首次由 Badea 等^[8]在 1998 年克隆, 其蛋白分布于人体许多组织器官包括胎盘、骨骼肌、肾脏等。近年来的研究显示, 补体膜攻击复合物、皮质激素及转化生长因子- β (TGF- β) 等均可诱导靶细胞中 RGC32 基因的表达增加^[9-11], 而 IL-1 β 、干扰素 (IFN)- α 2b 则可下调 RGC32 表达^[12-13]。Badea 等^[8]研究发现, CDC2 活性有赖于 RGC32 蛋白的磷酸化, RGC32 活化后能使 CDC2 与周期蛋白 B1 活化并形成复合体, 促使细胞由 G1 期进入 S 期。Fosbrink 等^[10]的研究表明, 敲除 RGC32 基因可以抑制 sublytic C5b-9 介导的人内皮细胞及平滑肌

细胞的增殖, 提示 RGC32 是 sublytic C5b-9 诱导细胞增殖和炎症反应的重要调控基因。本课题组前期的研究也发现, RGC32 参与了 sublytic C5b-9 诱导的 GMCs 的增殖反应, 但目前为止有关 sublytic C5b-9 刺激诱导 GMCs 中 RGC32 基因表达上调的机制仍不清楚。

髓锌指基因 1 (myeloid zinc finger gene 1, MZF1) 属于锌指蛋白 Kruppel 转录因子家族的成员, 包含 13 个 C2H2 锌指结构。这些锌指结构均能结合至相应的 DNA 序列上从而调节基因的表达^[14]。已知 MZF1 是一个双功能的转录因子, 它既可作为转录抑制子也能作为转录激活子调控细胞的分化、迁移和增生。有文献报道^[15], MZF1 能与 p55PIK 启动子上的顺式作用元件“TGGGGA”结合, 从而转录激活 p55PIK, 促进结直肠癌细胞的增殖。鉴于本课题组前期的研究已表明, RGC32 参与调控了 sublytic C5b-9 诱导的 GMCs 的增生反应, 加上用生物信息学软件预测 RGC32 基因启动子上的结合元件发现, 在大鼠 RGC32 基因的启动子上含有 MZF1 的结合元件。那么, MZF1 作为转录因子是否可通过启动 RGC32 基因的转录从而促进 GMCs 的增生, 目前尚不知晓。为了澄清上述问题, 本实验构建了大鼠 RGC32 基因启动子 (全长和各截短) 的荧光素酶报告质粒, 在与 MZF1 过表达质粒共转染 HEK293 细胞后, 探讨 MZF1 对 RGC32 基因启动活性的影响。同时筛选 MZF1 在 RGC32 基因启动子上可能的结合区域, 拟为进一步研究 RGC32 基因在 sublytic C5b-9 诱导 GMCs 增殖中所起的作用提供实验依据和材料。

1 材料和方法

1.1 材料

HEK293 细胞 (美国组织细胞库, ATCC)。荧光素酶双报告载体质粒 (pGL3-basic 和 pRL-SV40) 以

及荧光素酶报告基因检测试剂盒(Promega 公司,美国)。MZF1 过表达质粒(pIRES2-EGFP-MZF1)为本课题组前期构建并成功表达。组织基因组 DNA 提取试剂盒(北京百泰克生物技术有限公司)。TransStart® FastPfu DNA Polymerase(北京全式金公司)。限制性内切酶 *Mlu* I、*Bgl* II 和 T4 连接酶(NEB 公司,美国)。GenEscort™ III 转染试剂(南京慧基生物技术有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 引物设计

登陆 NCBI, 搜索 GenBank 数据库中大鼠的 RGC32 DNA 序列(NC_005114.3), 利用 Primer 5.0 软件辅助设计针对 RGC32 基因启动子区(-686~-1 nt)的引物, 然后应用 TF Search 软件预测 RGC32 基因启动子区域某些转录因子可能的结合位点, 并根据软件预测结果设计引物扩增启动子各截短片段。合成上下游引物时, 分别加入 *Mlu* I 和 *Bgl* II 酶切位点序列。

1.2.2 大鼠肾组织总 DNA 的抽提及鉴定

采用组织基因组 DNA 提取试剂盒抽提大鼠肾

组织基因组 DNA, 具体操作步骤详见试剂盒说明书。应用紫外/可见分光光度仪测定总 DNA 的含量和纯度, 并通过琼脂糖凝胶电泳鉴定其 DNA 的完整性。

1.2.3 大鼠 RGC32 基因启动子结合元件的分析及其全长和截短的扩增

为了研究大鼠 RGC32 基因启动子区转录因子的结合位点, 应用生物信息学软件 TF Search 预测了大鼠 RGC32 启动子上转录因子的结合元件。根据预测结果, 设计了 1 对引物来扩增 RGC32 基因启动子全长序列及 3 对引物来扩增其截短序列。设计的 RGC32 基因启动子 3 个截短的长度分别为 486 bp(-486~-1 nt)、286 bp(-286~-1 nt)和 86 bp(-86~-1 nt)。引物序列见表 1, 其中下划线分别表示 *Mlu* I、*Bgl* II 酶切位点, CG、AG 代表保护性碱基。以大鼠基因组 DNA 为模板, 应用 TransStart® FastPfu DNA Polymerase 进行 PCR 反应, 扩增大鼠 RGC32 基因启动子序列(全长和截短)。PCR 扩增条件如下: 95℃ 预变性 2 min, 95℃ 20 s, 55℃ 20 s, 72℃ 30 s/kb 循环 30 次后, 72℃ 终延伸 5 min。扩增产物经琼脂糖凝胶电泳后进行割胶纯化。

表 1 扩增大鼠 RGC32 基因启动子(全长和截短)的引物序列

Table 1 The primers for rat RGC32 gene full-length and truncated promoter

名称	引物序列(5'→3')	位置
全长	上游: CGACGCGTATGGCCCTATACCGGAATGG 下游: GAAGATCTGGAGAGGTTGCTCAGTGACACG	-686~-1 nt
1 号截短	上游: CGACGCGTGCAAGCAAGGAGGCTCTGC 下游: GAAGATCTGGAGAGGTTGCTCAGTGACACG	-486~-1 nt
2 号截短	上游: CGACGCGTTCTCCGGAGGCCGGCG 下游: GAAGATCTGGAGAGGTTGCTCAGTGACACG	-286~-1 nt
3 号截短	上游: CGACGCGTACCCGAGCGGACCCG 下游: GAAGATCTGGAGAGGTTGCTCAGTGACACG	-86~-1 nt

1.2.4 大鼠 RGC32 基因启动子(全长和截短) pGL3 质粒的构建与鉴定

将 pGL3-basic 和上述不同 PCR 产物用 *Mlu* I 和 *Bgl* II 进行双酶切, 运用割胶法纯化线性化的 pGL3-basic 和酶切后的 PCR 产物, 再在 T4 DNA 连接酶的作用下连接反应(16℃ 过夜), 将连接产物转化感受态细胞 DH5α, 并涂布于含氨苄抗性的 LB 平板上, 37℃ 培养 12 h 后, 挑取菌落接种于 3 ml 含氨苄抗性的 LB 培养液中, 37℃ 培养过夜。取培养后的菌液(1 μl)用上述引物分别进行 PCR 扩增, 其产物经 1.5% 琼脂糖凝胶电泳鉴定, 筛选出阳性克隆质粒再送测序鉴定。最后, 将构建的重组质粒分别命名为 pGL3-RGC32-FL(全长)、pGL3-RGC32-1(1 号截

短)、pGL3-RGC32-2(2 号截短)和 pGL3-RGC32-3(3 号截短)。

1.2.5 重组质粒转染 HEK293 细胞

将 HEK293 细胞接种于 24 孔板(1×10⁵ 个/孔), 培养过夜, 待细胞融合度达到 70% 时, 用 GenEscort™ III 转染试剂将 pIRES2-EGFP-MZF1 分别与上述 RGC32 基因启动子全长和各截短质粒共转染 HEK293 细胞, 其中各组均共转染 pRL-SV40 作为转染率内参照, 实验同时设转染 pGL3 空质粒(pGL3-basic)组作为对照。

1.2.6 荧光素酶活性的测定

质粒转染 HEK293 细胞 48 h 后, 加入裂解液裂解细胞, 收集的裂解物用双荧光素酶报告基因检

测试试剂盒，分别检测 RGC32 基因启动子全长和各截短表达质粒及内参照质粒的荧光活性,操作步骤详见试剂盒说明书。其中,目的基因的萤火虫荧光素酶活性标记为 M1, 内参照 pRL-SV40 质粒的海肾荧光素酶活性标记为 M2, M1/M2 即为被检测质粒的相对荧光素酶活性(relative luciferase activity, RLU)。

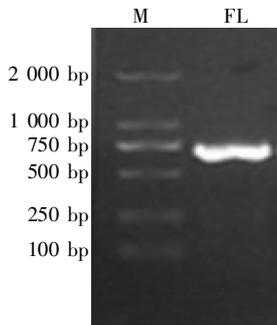
1.3 统计学方法

所得数据以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示, 采用 SPSS 软件进行方差分析和 Bonfferoni 检验, $P \leq 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 大鼠 RGC32 基因启动子全长荧光素酶报告质粒的构建和鉴定

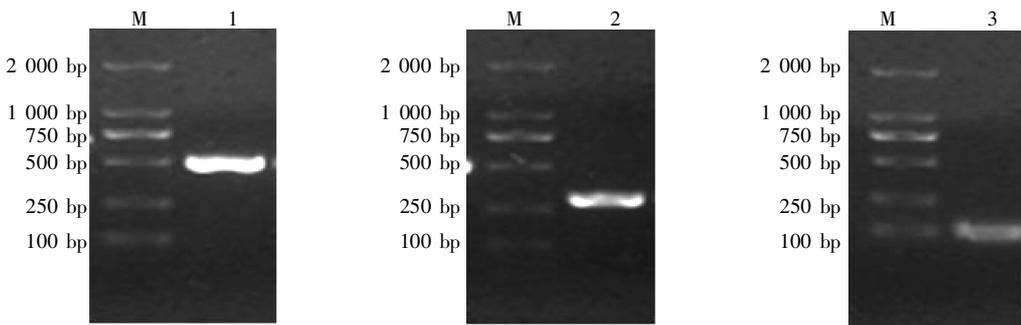
PCR 扩增大鼠 RGC32 基因启动子全长(-686~-1 nt)后, 将其插入 pGL3-basic 质粒中。重组质粒经转化后涂布于 LB 平板, 挑 3 个克隆摇菌, 菌液 PCR 反应筛出阳性克隆(图 1), 由公司测序。将所得的测序序列与 NCBI 上报告序列进行比对后证实, 两者序列及插入方向均正确。表明大鼠 RGC32 基因启动子全长荧光素酶报告质粒(pGL3-RGC32-FL)已成功构建。



M: Marker ; FL: pGL3-RGC32-FL 质粒菌液 PCR 扩增产物。

图 1 琼脂糖凝胶电泳

Figure 1 Agarose gel electrophoresis



M: Marker ; 1: pGL3-RGC32-1 ; 2: pGL3-RGC32-2 ; 3: pGL3-RGC32-3。

图 3 各截短荧光素酶报告质粒菌液 PCR 鉴定扩增产物

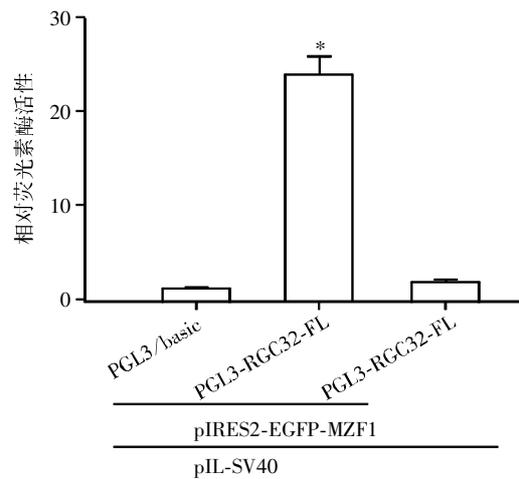
Figure 3 Identification results of luciferase reporter plasmids by PCR

2.2 MZF1 过表达对大鼠 RGC32 基因启动子全长活性的影响

实验分组如下: ①pIRES2-EGFP-MZF1、pGL3-basic 和 pRL-SV40 共转染; ②pIRES2-EGFP-MZF1、pGL3-RGC32-FL 和 pRL-SV40 共转染; ③pGL3-RGC32-FL 和 pRL-SV40 共转染。48 h 后裂解细胞行双荧光素酶报告基因检测。结果显示, pGL3-RGC32-FL 和 pIRES2-EGFP-MZF1 联合转染组, 其 RLU 值显著高于其他各组(图 2)。提示在 HEK293 中过表达 MZF1 能够启动 RGC32 基因的转录。

2.3 大鼠 RGC32 基因启动子各截短荧光素酶报告质粒的构建与鉴定

大鼠 RGC32 基因启动子各截短荧光素酶报告质粒的菌液 PCR 鉴定结果如图 3 所示, 目的片段大小均相吻合。DNA 测序结果亦显示序列及插入方向均正确。表明大鼠 RGC32 基因启动子截短荧光素酶报告质粒均已构建成功, 可用于后续功能实验。

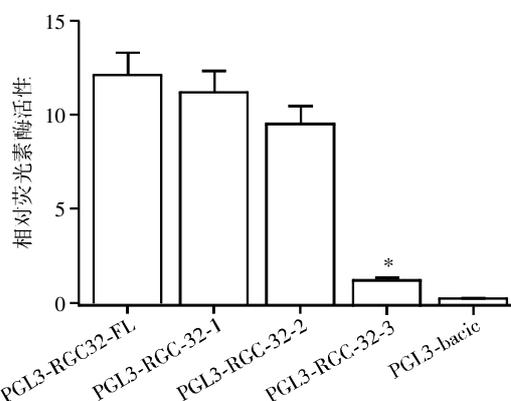


与其他两组比较, * $P < 0.001$ 。

图 2 MZF1 对于大鼠 RGC32 基因启动子全长活性的影响
Figure 2 The effects of MZF1 on the activity of rat RGC32 gene promoter (full-length)

2.4 MZF1 过表达对于大鼠 RGC32 基因启动子各截短活性的影响

将 pGL3-basic、RGC32 基因启动子全长 (pGL3-RGC32-FL) 和各截短 (pGL3-RGC32-1、pGL3-RGC32-2 和 pGL3-RGC32-3) 荧光素酶报告质粒分别与 pIRES2-EGFP-MZF1 质粒和 pRL-SV40 质粒共转染 HEK293 细胞,检测各组荧光素酶活性。由图 4 可见,转染 pGL3-RGC32-3 质粒的细胞与转染 pGL3-RGC32-FL、pGL3-RGC32-1 和 pGL3-RGC32-2 质粒组相比,其 RLU 值显著降低。这一结果提示,在大鼠 RGC32 基因启动子上 -286~-86 nt 区域可能存在 MZF1 的结合位点。



与 pGL3-RGC32-FL 组、pGL3-RGC32-1 组、pGL3-RGC32-2 组比较, * $P < 0.001$ 。

图 4 MZF1 对于大鼠 RGC32 基因启动子各截短活性的影响
Figure 4 The effects of MZF1 on the activity of different truncated rat RGC32 gene promoter

3 讨论

大鼠 Thy-1 肾炎因其病理变化类似于人类 MsPGN,多年来一直被用于人类 MsPGN 的实验研究。业已报道,在 MsPGN 患者和 Thy-1 肾炎大鼠肾小球中均观察到了 sublytic C5b-9 的沉积^[16-17],而本课题组前期的研究也发现,sublytic C5b-9 刺激大鼠 GMCs 可促进其增殖及 ECM 分泌^[18-19]。

此外,本课题组前期的研究还表明,在大鼠 Thy-1 肾炎发病期间和体外用 sublytic C5b-9 刺激 GMCs 后能够增加 RGC32 基因的表达。并且体外沉默 RGC32 的表达后,也能显著抑制由 sublytic C5b-9 引起的 GMCs 的增殖反应。Lim 等^[20]研究显示,在胰腺术后胰腺组织再生过程中 RGC32 的 mRNA 丰度明显上调。另在心肌肥厚小鼠实验模型中,RGC32 蛋白在心肌细胞中的表达也明显升高^[21]。这些结果提示,RGC32 在细胞增殖中可能起一定的调控作用。但是,在 Thy-1 肾炎发病中由 sublytic

C5b-9 刺激 GMCs 启动 RGC32 基因的转录机制尚未阐明。

为了进一步研究 RGC32 基因的启动调控情况,本实验采用了荧光素酶报告基因技术,该技术常用于检测启动子与反式作用元件的相互作用及其对靶基因表达的影响,通过将所要研究的目的基因的启动子序列克隆到报告基因表达载体中,然后再将重组质粒导入适当的细胞中,借用目的基因的启动子启动萤火虫荧光素酶,检测荧光素酶报告基因即可反映插入片段的启动子活性。本实验构建了大鼠 RGC32 基因启动子全长荧光素酶报告质粒 (pGL3-RGC32-FL),同时又根据生物信息学软件 TF Search 对可能与 RGC32 基因启动子结合的转录因子进行预测,结果显示,在 RGC32 基因启动子上存在转录因子 MZF1 的结合位点,同时相关文献也表明,MZF1 的表达可以促进细胞的增殖。据此,将大鼠野生型 MZF1 表达质粒 (pIRES2-EGFP-MZF1) 与 pGL3-RGC32-FL 共转染 HEK293 细胞,检测细胞的荧光素酶活性。结果发现,将 pGL3-RGC32-FL 与 pIRES2-EGFP-MZF1 共转染 HEK293 细胞后,其荧光素酶活性明显高于转染 pGL3-basic 的对照组细胞,提示 MZF1 能够启动 RGC32 基因的转录。

有研究发现,MZF1 可以结合基因启动子上的顺式作用元件“TGGGGA”,从而激活相应基因转录。为了确定大鼠 MZF1 与 RGC32 基因启动子的结合区域,本研究先通过 TF Search 软件预测了大鼠 RGC32 基因启动子转录因子 MZF1 可能的结合位点(分别在 -686~-486 nt、-486~-286 nt 和 -286~-86 nt),并据此设计构建了 RGC32 基因启动子(截短)荧光素酶报告质粒,即 pGL3-RGC32-1、pGL3-RGC32-2 和 pGL3-RGC32-3。随后将这几种质粒(包括全长质粒)分别与 pIRES2-EGFP-MZF1 共转染 HEK293 细胞,再测定各组细胞荧光素酶活性。结果发现,pGL3-RGC32-3 的启动子活性显著低于 pGL3-RGC32-FL、pGL3-RGC32-1 和 pGL3-RGC32-2 组,提示 MZF1 在 RGC32 启动子上的结合区域可能位于 -286~-86 nt。不过值得一提的是,MZF1 与 RGC32 具体的结合元件须通过染色质免疫共沉淀 (chromatin immunoprecipitation assay,ChIP) 和启动子突变实验才能确定。

综上所述,本实验成功构建了大鼠 RGC32 基因启动子(全长)荧光素酶质粒,并在 HEK293 细胞中证实过表达 MZF1 后发现其可促进 RGC32 基因

的启动。与此同时,根据软件预测的 RGC32 基因启动子上转录因子 MZF1 可能的结合位点,设计并构建了不同的大鼠 RGC32 基因启动子截短荧光素酶报告质粒,探讨了 MZF1 过表达对大鼠 RGC32 基因启动子的激活作用,并初步筛出了其可能的结合区域,这为以后深入研究 Thy-1 肾炎大鼠由 sublytic C5b-9 刺激 GMCs 后启动 RGC32 基因的转录及其调控机制提供了必要的实验材料和研究依据。

[参考文献]

- [1] Tumlin JA, Madaio MP, Hennigar R, et al. Idiopathic IgA nephropathy: pathogenesis, histopathology, and therapeutic options[J]. *Clin J Am Soc Nephrol*, 2007, 2(5): 1054-1061
- [2] Mestecky J, Suzuki H, Yanagihara T, et al. IgA nephropathy: current views of immune complex formation [J]. *Contrib Nephrol* 2007, 157(1): 56-63
- [3] Nazeer K, Janech MG, Lin JJ, et al. Changes in protein profiles during course of experimental glomerulonephritis [J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2009, 296(1): 186-193
- [4] Qiu W, Che N, Feng X, et al. Apoptosis of glomerular mesangial cells induced by sublytic C5b-9 complexes in rats with Thy-1 nephritis is dependent on Gadd45 upregulation[J]. *Eur J Immunol*, 2009, 39(11): 3251-3266
- [5] Gao L, Zhang Y, Qiu W, et al. Effects of PI3-k/Akt short hairpin RNA on proliferation, fibronectin production and synthesis of thrombospondin-1 and transforming growth factor-beta1 in glomerular mesangial cells induced by sublytic C5b-9 complexes[J]. *Cell Prolif*, 2009, 42(1): 83-93
- [6] Zhang J, Li Y, Shan K, et al. Sublytic C5b-9 induces IL-6 and TGF- β 1 production by glomerular mesangial cells in rat Thy-1 nephritis through p300-mediated C/EBP β acetylation[J]. *FASEB J*, 2014, 28(3): 1511-1525
- [7] Qiu W, Zhang Y, Liu X, et al. Sublytic C5b-9 complexes induce proliferative changes of glomerular mesangial cells in rat Thy-1 nephritis through TRAF6-mediated PI3K-dependent Akt1 activation[J]. *J Pathol*, 2012, 226(4): 619-632
- [8] Badea T, Niculescu F, Soane L, et al. RGC-32 increases p34CDC2 kinase activity and entry of aortic smooth muscle cells into S-phase [J]. *J Biol Chem*, 2002, 277(1): 502-508
- [9] Huang WY, Li ZG, Rus H, et al. RGC-32 mediates transforming growth factor-beta-induced epithelial-mesenchymal transition in human renal proximal tubular cells[J]. *J Biol Chem*, 2009, 284(14): 9426-9432
- [10] Fosbrink M, Cudrici C, Tegla CA, et al. Response gene to complement 32 is required for C5b-9 induced cell cycle activation in endothelial cells[J]. *Exp Mol Pathol*, 2009, 86(2): 87-94
- [11] Almon RR, Lai W, DuBois DC, et al. Corticosteroid-regulated genes in rat kidney: mining time series array data [J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2005, 289(5): E870-E882
- [12] Rieneck K, Bovin LF, Josefsen K, et al. Massive parallel gene expression profiling of RINm5F pancreatic islet beta-cells stimulated with interleukin 1 beta [J]. *APMIS*, 2000, 108(12): 855-872
- [13] Taylor MW, Grosse WM, Schaley JE, et al. Global effect of PEG-IFN-alpha and ribavirin on gene expression in PBMC in vitro [J]. *J Interferon Cytokine Res*, 2004, 24(2): 107-118
- [14] Morris JF, Hromas R, Rauscher FJ. Characterization of the DNA-binding properties of the myeloid zinc finger protein MZF1: two independent DNA binding domains recognize two DNA consensus sequences with a common Grich core[J]. *Mol Cell Biol*, 1994, 14(3): 1786-1795
- [15] Deng Y, Wang J, Wang Gh, et al. p55PIK Transcriptionally Activated by MZF1 Promotes Colorectal Cancer Cell Proliferation[J]. *Biomed Res Int*, 2013, 12(2): 81-83
- [16] Stangou M, Alexopoulos E, Pantzaki A, et al. C5b-9 glomerular deposition and tubular alpha3beta1-integrin expression are implicated in the development of chronic lesions and predict renal function outcome in immunoglobulin A nephropathy[J]. *Scand J Urol Nephrol*, 2008, 42(4): 373-380
- [17] Wang Y, He Q, Qin H, et al. The complement C5b-9 complexes induced injury of glomerular mesangial cells in rats with Thy-1 nephritis by increasing nitric oxide synthesis[J]. *Life Sci*, 2006, 79(2): 182-192
- [18] 赵 聘, 李 妍, 周建博, 等. 大鼠 Thy-1 肾炎增殖病变及 sublytic C5b-9 致其肾小球系膜细胞增生的实验研究 [J]. *南京医科大学学报: 自然科学版*, 2012, 32(10): 1343-1350
- [19] Qiu W, Li Y, Zhou JB, et al. TSP-1 promotes glomerular mesangial cell proliferation and extracellular matrix secretion[J]. *J Biomed Res*, 2011, 25(6): 402-410
- [20] Lim HW, Lee JE, Shin SJ, et al. Identification of differentially expressed mRNA during pancreas regeneration of rat by mRNA differential display[J]. *Commun Biochem Biophys Res Commun*, 2002, 299(5): 806-812
- [21] Strom CC, Aplin M, Ploug T, et al. Expression profiling reveals differences in metabolic gene expression between exercise-induced cardiac effects and maladaptive cardiac hypertrophy[J]. *FEBS J*, 2005, 272(11): 2684-2695