

lncRNA NEAT1 在结核分枝杆菌感染 RAW264.7 巨噬细胞中的表达及作用的初步探讨

黄舒颖^{1,2}, 张 诚³, 黄自坤⁴, 罗 清⁴, 卿 城⁵

摘要 目的 检测 RAW264.7 巨噬细胞在感染结核分枝杆菌后胞内 lncRNA NEAT1 表达变化;通过敲低巨噬细胞 NEAT1 表达,初步探讨其在巨噬细胞抗结核免疫应答中的作用。方法 H37Rv 感染 RAW264.7 巨噬细胞,分别在 12、24、48 h 后收集细胞和培养上清液,RT-qPCR 检测细胞内 NEAT1 表达,ELISA 检测上清中细胞因子白介素 6(IL-6)表达。利用 RNAi 技术沉默巨噬细胞 NEAT1 表达,检测 H37Rv 感染后细胞因子 IL-6 分泌及对 H37Rv 杀菌功能影响。结果 与空白对照组比较,H37Rv 感染巨噬细胞 48 h 后,细胞内 NEAT1 表达和上清中炎症因子 IL-6 水平均显著上升($P < 0.01$)。沉默 NEAT1 的巨噬细胞感染 H37Rv 后,IL-6 分泌显著下调($t = 4.45, P < 0.01$),结核分枝杆菌清除能力显著下降($t = 8.98, P < 0.01$)。结论 H37Rv 感染 RAW264.7 巨噬细胞可促进 NEAT1 表达上调,沉默 NEAT1 可减弱巨噬细胞对胞内 H37Rv 清除能力。

关键词 结核分枝杆菌; lncRNA NEAT1; RAW264.7 巨噬细胞

中图分类号 R 392.11

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2019)02-0212-05
doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2019.02.010

结核病是严重危害人类健康的全球性公共卫生问题。世界卫生组织公布的报告表明,目前全球每年约有 150~200 万人死于结核病,高居单一病原致患者死亡的感染性疾病之首。我国是结核病高负担国家之一,结核病患者人数居世界第三位^[1]。近年来由于耐药菌株的不断增多、人口流动性加大以及 HIV 的蔓延,使得结核病的防治更加迫在眉睫。结核分枝杆菌 (*Mycobacterium tuberculosis*, MTB) 是一

类胞内寄生菌,主要寄生于感染受体的巨噬细胞内,因此机体抗结核免疫主要依赖于细胞免疫。遗憾的是,对 MTB 感染后相关免疫反应及免疫逃逸的机制至今尚未阐明,使得结核病的防治至今未再次获得突破性进展。

长链非编码 RNA (long-noncoding RNA, lncRNA) 是一类广泛存在的长度大于 200 nt 非编码 RNA,缺乏开放读码框,而是利用与 RNA、DNA 或者蛋白的相互作用,对靶分子进行核酸降解、干扰 RNA 翻译等方式在转录和转录后水平对细胞的增殖、凋亡、损伤、自噬和分化等生物学过程进行调控,在免疫、肿瘤、心血管^[2]等多种疾病中发挥重要作用。lncRNA NEAT1 是近期研究发现的一个重要的细胞功能调控因子,在卵巢癌^[3]、前列腺癌^[4]等肿瘤疾病的形成、分化及转移方面发挥重要作用。重要的是,NEAT1 参与了机体固有免疫过程,是体内重要的免疫正向调节因子。在感染性疾病中,NEAT1 参与了人体 HIV^[5]、汉坦病毒^[6]、寨卡病毒^[7]感染过程。在免疫性疾病系统性红斑狼疮患者单核细胞中发现 NEAT1 表达上调,进一步研究显示 NEAT1 可调节 THP-1 细胞炎症因子白介素 6(interleukin-6, IL-6)、CXCL10 表达^[8]。由于细胞因子 IL-6 和 CXCL10 与 MTB 感染后巨噬细胞炎症反应密切相关,因此,NEAT1 可能参与了巨噬细胞抗 MTB 的免疫过程。该研究采用 H37Rv 菌株构建感染巨噬细胞模型,检测 NEAT1 在巨噬细胞中的表达,另一方面利用 RNAi 干扰沉默巨噬细胞 NEAT1 表达,检测 H37Rv 感染后 IL-6 表达及其对 H37Rv 杀菌功能影响,初步探讨 NEAT1 在结核病免疫反应过程中的作用。

1 材料与方法

1.1 材料与主要试剂 RAW264.7 巨噬细胞购自中国科学院上海细胞研究所;MTB 标准菌株 H37Rv (ATCC 27294) 由本实验室保存;DMEM 培养基购自美国 Hyclone 公司;胎牛血清购自杭州四季青公司;TRIzol 试剂和 LipofectamineTM 2000 转染试剂均购自

2018-10-10 接收

基金项目:江西省自然科学基金(编号:20171BAB205028、20161BAB215224);江西省教育厅科学技术研究项目(编号:GJJ160120);江西省卫生计生委科技计划项目(编号:20185084)

作者单位:南昌大学第一附属医院¹ 妇产科、³ 超声科、⁴ 检验科、⁵ 重症医学科,南昌 330006

² 江西卫生职业学院护理系,南昌 330052

作者简介:黄舒颖,女,医师,讲师;

卿 城,男,硕士,主治医师,责任作者,E-mail:254685443

@qq.com

美国 Invitrogen 公司; PCR 引物购自上海生工生物工程公司; IL-6 ELISA 试剂盒购自上海明睿生物技术有限公司; 逆转录试剂盒与荧光定量 PCR 试剂盒购自大连宝生物 TaKaRa 公司; siRNA 干扰试剂购自广州锐博公司; 荧光定量 PCR 采用美国 ABI 公司 (Applied Biosystems 7600 系统)。其它所用试剂均为分析纯。

1.2 感染模型的建立 选取对数期生长的 RAW264.7 巨噬细胞加入 24 孔板, 置于 37 °C、5% CO₂ 孵箱中培养至细胞贴壁良好后, 将 H37Rv 按一系列感染复数 (multiplicity of infection, MOI) 对巨噬细胞进行感染, 4 h 后将胞外未感染的细菌用 PBS 洗去, 然后继续在培养箱中培养 (37 °C、5% CO₂), 12 h 后 TRIzol 提取细胞总 RNA; 或采用 MOI = 5 对巨噬细胞进行感染, 并于感染后 4 h 将胞外未感染的细菌用 PBS 洗去, 然后置于培养箱中培养 (37 °C、5% CO₂), 在感染后的不同时间点 (12、24、48 h) TRIzol 分别提取细胞总 RNA, RT-qPCR 检测细胞 NEAT1 表达情况, ELISA 技术检测培养上清液 IL-6 含量。

1.3 总 RNA 提取 TRIzol 法提取总 RNA, 具体参考试剂说明书。

1.4 RT-qPCR cDNA 逆转录采用 TaKaRa 公司逆转录试剂盒, 所有操作条件按说明书进行。内参 GAPDH 上游引物: 5'-GCACCGTCAAGGCTGAGAAC-3', 下游引物: 5'-TGCTGAAGACGCCAGTGA-3'。NEAT1 上游引物: 5'-CTTCCTCCCTTTAACTTATCC-ATTCAC-3', 下游引物: 5'-CTCTTCCTCCACCAT-TACCAACAATAC-3'^[8]; qPCR 反应采用 SYBR Premix EX Taq™ II, 使用 ABI 7500 系统进行上机, 具体的检测步骤及反应条件设置都按照试剂盒说明书进行。所有样品做 3 复孔, RNA 相对表达量以 2^{-ΔΔCt} 方法计算所得。

1.5 IL-6 蛋白测定 ELISA 检测培养上清液 IL-6 浓度, 具体步骤参考试剂说明书。

1.6 siRNA 细胞转染 制备 NEAT1 siRNA 以及 control siRNA (siNC), 具体由上海 Gene Pharma 公司完成。siRNA 引物序列^[8]: 正义序列: 5'-GUGAGA AGUUGCUUAGAAACUUUCC-3', 反义序列: 5'-GGA AAGUUUCUAAGCAACUUCUCACUU-3'。巨噬细胞分为 3 组: 空白对照组、siNC 转染组以及 siNEAT1 转染组。巨噬细胞贴壁良好后, siNEAT1 或 siNC 转染根据 Lipofectamine™ 2000 转染试剂说明书进行操作, 转染后细胞放在孵箱中培养 4~6 h 后更换完全

培养基, 转染后 24 h 收集细胞, TRIzol 提取细胞总 RNA, RT-qPCR 检测 siRNA 敲减效果。

1.7 siNEAT1 对巨噬细胞 IL-6 分泌影响 NEAT1 沉默后的 RAW264.7 巨噬细胞, 将 H37Rv 按 MOI = 5 的比例对细胞进行感染, 48 h 后 ELISA 法检测细胞培养上清液中 IL-6 的含量。

1.8 siNEAT1 对巨噬细胞对 H37Rv 杀菌功能检测 巨噬细胞分为 3 组: 空白对照组、siNC 转染组以及 siNEAT1 转染组; NEAT1 沉默后的 RAW264.7 巨噬细胞, 将 H37Rv 按 MOI = 5 的比例对细胞进行感染, 4 h 后用 PBS 洗去胞外未感染的 H37Rv, 该时间点设为 H37Rv 感染后 0 h。分别于 H37Rv 感染后 0 h、72 h 收集并裂解各组细胞, 将裂解液进行系列梯度稀释, 接种于含有 OADC 的 7H10 固体培养基上, 继续培养 3~4 周后进行菌落计数。

1.9 统计学处理 采用 SPSS 19.0 软件进行分析, 数据结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 两样本均数比较采用 *t* 检验, 多组间的比较采用 ANOVA 方差分析, 以 *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 H37Rv 感染 RAW264.7 巨噬细胞后 NEAT1 表达和 IL-6 分泌情况如图 1 所示, MTB 感染巨噬细胞后, RT-qPCR 检测显示细胞内 NEAT1 表达显著上调, 与空白对照组表达为 1.0 相比, 12、24、48 h 分别上调 (5.83 ± 1.21)、(5.25 ± 0.98)、(4.62 ± 0.93) 倍, 差异有统计学意义 (*F* = 33.55, *P* < 0.01)。ELISA 检测表明, 未感染时细胞培养上清液中 IL-6 的浓度为 (186.43 ± 28.09) pg/ml, MTB 感染 48 h 后 IL-6 浓度为 (404.29 ± 43.53) pg/ml, 差异有统计学意义 (*t* = 11.12, *P* < 0.01)。

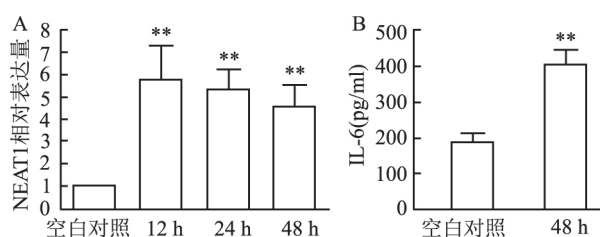


图 1 MTB 感染巨噬细胞后 NEAT1 表达和 IL-6 分泌情况

A: NEAT1; B: IL-6; 与空白对照组比较: ** *P* < 0.01

2.2 NEAT1 沉默后巨噬细胞 IL-6 分泌的变化 RNAi 转染成功地沉默了巨噬细胞 NEAT1 表达 (*t* = 16.19, *P* < 0.05), 见图 2A。将沉默 NEAT1 的

RAW264.7 巨噬细胞感染 MTB 后收集培养上清液, 采用 ELISA 法检测 IL-6 分泌水平。从图 2B 可见, 正常对照细胞仅少量分泌 IL-6 [(142.25 ± 36.43) pg/ml], 感染 MTB 后分泌量升高 [(405.26 ± 23.80) pg/ml], 差异有统计学意义 ($t = 12.08$, $P < 0.01$)。沉默 NEAT1 后的巨噬细胞, 与转染对照序列细胞 (siNC) 比较, IL-6 分泌量显著减少 ($t = 4.45$, $P < 0.01$)。

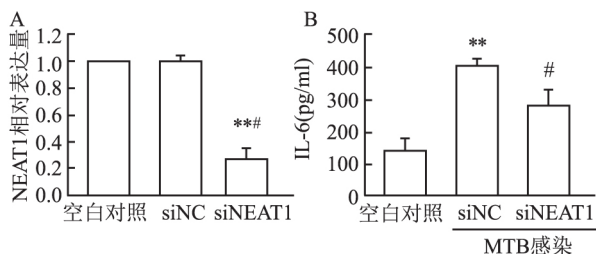


图2 ELISA 检测 NEAT1 沉默后感染 MTB 的 RAW264.7 巨噬细胞 IL-6 分泌量变化

A: NEAT1; B: IL-6; 与空白对照组比较: ** $P < 0.01$; 与 siNC 组比较: # $P < 0.05$

2.3 NEAT1 沉默后巨噬细胞对 H37Rv 杀菌能力的影响 以空白敲除组作为对照组, 敲低 NEAT1 的 RAW264.7 细胞为实验组, 分别感染 H37Rv 0.1% SDS 裂解细胞并接种于 7H10 固体培养基, 最后检测菌量。结果显示, H37Rv 感染后 0 h 时, siNEAT1 组与对照组细胞菌量差异无统计学意义 ($t = 1.03$, $P > 0.05$), 提示沉默 NEAT1 对巨噬细胞吞噬 MTB 功能无明显影响。以 0 h 时间点胞内 MTB 量为基准, 在 MTB 感染后 72 h 时, 与对照组比较, siNEAT1 处理组巨噬细胞中 MTB 的存活率显著上升 ($t = 8.98$, $P < 0.01$), 见图 3, 提示沉默 NEAT1 表达可显著抑制 RAW264.7 巨噬细胞清除胞内 MTB 的能力。

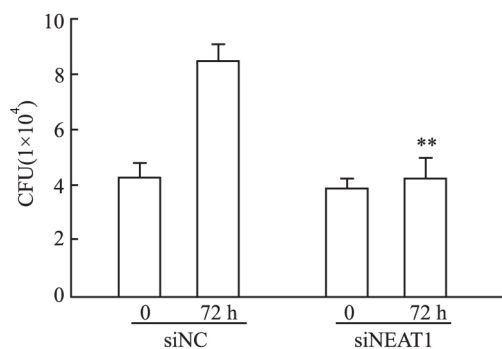


图3 siNEAT1 对 RAW264.7 细胞杀伤 H37Rv 影响的检测结果

与 siNC 72 h 组比较: ** $P < 0.01$

3 讨论

lncRNA 已被证实广泛参与多种人类疾病的调控。lncRNA THRIL^[9] 参与巨噬细胞内 TNF- α 基因转录和蛋白分泌; lncRNA Cox2^[10] 可调控巨噬细胞内 NF- κ B 与 Toll 样受体信号通路, 影响炎症因子干扰素、趋化因子的表达等。此外, lncRNA 在结核病免疫反应过程中的作用也逐渐引起了关注。例如 lncRNA CD244 可从表观遗传水平调控结核感染过程中 CD8 + T 细胞 IFN- γ 和 TNF- α 分泌^[11]。lncRNA MEG3 敲除的巨噬细胞, 其 BCG 清除能力显著提高^[12]。

NEAT1 又称为 MEN ϵ / β 或 VINC, 是从人类第 11 号染色体上一个被称为多发性内分泌瘤病 (MEN) I 型的基因位点, 由 RNA 聚合酶 II 转录生成, 具有高度的人鼠同源性^[13]。NEAT1 有 NEAT1-1 (约 3 700 bp) 和 NEAT1-2 (约 2 300 bp) 两个亚型。已有的研究^[8] 显示, NEAT1-1 是巨噬细胞的主要表达成分。因此本研究中直接选取检测巨噬细胞中 NEAT1-1 表达进行相关研究。

NEAT1 参与了机体的固有免疫反应调控, 是一个重要的促炎分子。Zhang et al^[14] 发现 NEAT1 在 HIV-1 感染患者的 T 细胞中表达上升, 敲除 NEAT1 则会促进 HIV-1 mRNA 从细胞核到细胞质的出核与转运过程, 进而促进 HIV-1 病毒的复制。汉坦病毒感染人脐静脉内皮细胞也会引起 NEAT1 表达升高, 转染上调 NEAT1 可活化 RIG-I/IRF7 信号通路, 促进炎症因子 IFN 分泌^[6]。Zhang et al^[8] 研究发现脂多糖 (LPS) 刺激可提高巨噬细胞内 NEAT1 的表达水平, 高表达的 NEAT1 可通过调控 JNK/ERK MAPK 信号通路影响巨噬细胞内炎症因子的表达。然而, 目前尚未见有关 NEAT1 在结核病中的研究报道。

由于 MTB 是胞内寄生菌, 在其感染机体后主要寄生于巨噬细胞内, 因此抗结核免疫研究最终还是要落实到巨噬细胞上来^[15]。为了明确 NEAT1 在 MTB 感染中的作用, 本研究首先采用 RT-qPCR 技术检测了 RAW264.7 巨噬细胞在感染 H37Rv 后细胞 NEAT1 的表达。结果表明, MTB 感染会诱导显著上调 NEAT1 在巨噬细胞中表达, 同时 IL-6 分泌增加。这可能是由于免疫细胞感染 MTB 后, 首先会迅速激活巨噬细胞, 并促进包括 IL-6 在内的多种促炎因子释放, 增强机体对 MTB 的杀伤能力, 阻止其广泛播散。最近研究^[11] 表明 NEAT1 可通过调控 JNK/

ERK MAPK 炎症信号通路影响巨噬细胞内炎症因子的表达。因此,在实验过程中检测 NEAT1 沉默后巨噬细胞 IL-6 分泌量变化。结果显示,siRNA 敲除 NEAT1 后,使 IL-6 分泌量下调。进一步通过胞内细菌计数实验显示,敲除 NEAT1 后可显著减弱 RAW264.7 巨噬细胞对 MTB 的胞内清除能力,进一步证实了 NEAT1 参加 MTB 感染后的免疫过程。

综上所述,本研究显示 MTB H37Rv 感染 RAW264.7 巨噬细胞后细胞内 NEAT1 表达显著升高,炎症因子 IL-6 分泌增加;沉默 NEAT1 会抑制巨噬细胞对 MTB 的清除能力。本研究提示 NEAT1 在结核病免疫反应过程中发挥了重要作用,为结核病免疫治疗提供了新的线索。

参考文献

- [1] Hmama Z, Peña-Díaz S, Joseph S, et al. Immuno-evasion and immunosuppression of the macrophage by *Mycobacterium tuberculosis* [J]. *Immunol Rev*, 2015, 264(1): 220–32.
- [2] Jandura A, Krause H M. The new RNA world: growing evidence for long noncoding RNA functionality [J]. *Trends Genet* 2017, 33(10): 665–76.
- [3] Chai Y, Liu J, Zhang Z, et al. HuR-regulated lncRNA NEAT1 stability in tumorigenesis and progression of ovarian cancer [J]. *Cancer Med*, 2016, 5(7): 1588–98.
- [4] Chakravarty D, Sboner A, Nair S S, et al. The oestrogen receptor alpha-regulated lncRNA NEAT1 is a critical modulator of prostate cancer [J]. *Urol Oncol* 2016, 34(11): 522.
- [5] Jin C, Peng X, Xie T, et al. Detection of the long noncoding RNAs nuclear-enriched autosomal transcript 1 (NEAT1) and metastasis associated lung adenocarcinoma transcript 1 in the peripheral blood of HIV-1-infected patients [J]. *HIV Med*, 2016, 17(1): 68–72.
- [6] Ma H, Han P, Ye W, et al. The long noncoding RNA NEAT1 exerts antihantaviral effects by acting as positive feedback for RIG-I signaling [J]. *J Virol*, 2017, 91(9): e02250–16.
- [7] Ramaiah A, Contreras D, Gangalapudi V, et al. Dysregulation of long non-coding RNA (lncRNA) genes and predicted lncRNA-protein interactions during zika virus infection [J]. *bioRxiv*, 2016: 061788.
- [8] Zhang F, Wu L, Qian J, et al. Identification of the long noncoding RNA NEAT1 as a novel inflammatory regulator acting through MAPK pathway in human lupus [J]. *J Autoimmun*, 2016, 75: 96–104.
- [9] Li Z, Chao T C, Chang K Y, et al. The long noncoding RNA THRIL regulates TNF α expression through its interaction with hnRNPL [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2014, 111(3): 1002–7.
- [10] Carpenter S, Aiello D, Atianand M K, et al. A long noncoding RNA induced by TLRs mediates both activation and repression of immune response genes [J]. *Science*, 2013, 341(6147): 789–92.
- [11] Wang Y, Zhong H, Xie X, et al. Long noncoding RNA derived from CD244 signaling epigenetically controls CD8⁺ T-cell immune responses in tuberculosis infection [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2015, 112(29): E3883–92.
- [12] Pawar K, Hanisch C, Vera S E P, et al. Down regulated lncRNA MEG3 eliminates mycobacteria in macrophages via autophagy [J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 19416.
- [13] Hirose T, Virnicchi G, Tanigawa A, et al. NEAT1 long noncoding RNA regulates transcription via protein sequestration within subnuclear bodies [J]. *Mol Biol Cell*, 2014, 25(1): 169–83.
- [14] Zhang Q, Chen C Y, Yedavalli V S, et al. NEAT1 long noncoding RNA and paraspeckle bodies modulate HIV-1 posttranscriptional expression [J]. *MBio*, 2013, 4(1): e00596–12.
- [15] Johnson B K, Abramovitch R B. Macrophage infection models for *Mycobacterium tuberculosis* [M] // *Mycobacteria* Protocols. New York: Humana Press 2015: 329–41.

The expression and function of lncRNA NEAT1 in RAW264.7 macrophages infected with *Mycobacterium tuberculosis*

Huang Shuying^{1,2}, Zhang Cheng³, Huang Zikun⁴, et al

(¹Dept of Obstetrics and Gynecology, ³Dept of Ultrasonography,

⁴Dept of Clinical Laboratory, The First Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330006;

²Faculty of Nursing, Jiangxi Health Vocational College, Nanchang 330052)

Abstract Objective To detect the expression changes of lncRNA NEAT1 in RAW264.7 macrophages after infected with tuberculosis. By lowering the expression of NEAT1 in cells, the role of its in anti-tuberculosis immune response in macrophages was preliminarily discussed. **Methods** RAW264.7 macrophages were infected with H37Rv, cells and culture supernatant were collected in the 12 h, 24 h, 48 h time points. Respectively, RT-qPCR was used to detect intracellular NEAT1 expression, and ELISA assay was used to detect IL-6 expression in culture

MDCK 细胞外基质对 HK-2 细胞的增殖和迁移的影响

袁育珺¹ 杨秀玲² 胡志坚³ 汪 渊³

摘要 目的 研究 MDCK 细胞外基质对 HK-2 细胞的增殖和迁移的影响。方法 用氨水制备 MDCK 细胞外基质,并作为 HK-2 细胞培养基础,随机分为正常对照组和细胞外基质组。用酸性磷酸酶、细胞划痕实验观察细胞的增殖和迁移状况;细胞免疫荧光和 Western blot 分析整合素 $\alpha 3$ 和 $\alpha 6$ 蛋白的表达变化。结果 与正常对照组比较,MDCK 细胞外基质能明显促进 HK-2 细胞的体外增殖和迁移,整合素 $\alpha 3$ 和 $\alpha 6$ 表达增加($P < 0.05$)。结论 MDCK 细胞外基质可促进体外培养的 HK-2 细胞的增殖和迁移。

关键词 细胞外基质;HK-2;整合素;增殖;迁移

中图分类号 R 735.7

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2019)02-0216-04
doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2019.02.011

肾小管上皮细胞生长、移行在急性肾损伤修复,延缓糖尿病肾病(diabetic nephropathy, DN)进展等过程中起重要作用,寻找促进肾小管上皮细胞增殖和迁移的因素或药物十分重要。整合素(integrin)是一类由 α 亚基和 β 亚基组成的异源二聚体跨膜蛋白,属细胞黏附分子家族,研究^[1]表明,其能介导细胞与细胞及细胞外基质(extracellular matrix,

ECM)之间的黏附,是细胞迁移、增殖等生理活动重要的调控因素。整合素 $\alpha 3$ 和 $\alpha 6$ 能与细胞外基质中的层黏连蛋白(Laminin, LN)结合^[2-3],影响细胞的黏附和运动^[4]。该研究采用体外培养 HK-2 细胞,运用相关分子生物学技术(如酸性磷酸酶活性、细胞划痕实验、免疫荧光、Western blot 等)分析生长于细胞外基质上的 HK-2 细胞的增殖和迁移状况以及整合素 $\alpha 3$ 和 $\alpha 6$ 蛋白表达的变化,并进一步探讨这些作用可能的分子调控机制,以开拓其在临床的应用前景。

1 材料与方法

1.1 材料 犬肾小管上皮细胞株 MDCK 和肾近曲小管上皮细胞株 HK-2 均购自中国科学技术大学生命科学院细胞库,于实验室液氮保存;DMEM 和原装小牛血清均购自美国 Gibco 公司;酸性磷酸酶(acid phosphatase, ACP)活性检测试剂盒购自安徽碧云天生物试剂公司;一抗 actin、整合素 $\alpha 3$ 和 $\alpha 6$ 均购自美国 Santa Cruz 公司;二抗购自美国 Pierce 公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养和细胞外基质的制备 液氮取出 HK-2 和 MDCK 细胞,迅速 37 °C 循环水浴解冻,及时接种于含 10% 小牛血清 DMEM 细胞培养箱(条件:37 °C、5% CO₂、饱和湿度)培养过夜。胰酶消化传代,备用。细胞外基质制备方法如下^[5-6]:取 MDCK 细胞(细胞覆盖率 90%),弃上清液, PBS 清洗 2 遍,加入氨水(浓度为 20 mmol/L)处理 10 min,弃氨水, PBS 清洗基质 3 遍,在含或不含 MDCK 细胞外基

2018-09-12 接收

基金项目:江西省卫生计生委科技计划项目(编号:20181141)

作者单位:江西省九江学院附属医院¹ 检验科、² 院感科,九江 332000

³ 安徽医科大学分子生物学实验室、生物化学教研室、安徽省/省部共建教育部重要遗传病基因资源利用重点实验室,合肥 230032

作者简介:袁育珺,男,硕士研究生;

汪 渊,男,教授,博士生导师,责任作者, E-mail: wanyuan@ahmu.edu.cn

supernatant. By using RNAi, NEAT1 was silenced in macrophages, and after H37Rv infection, the secretion of was detected, and the change of bactericidal capacity against MTB was assessed. **Results** Test results showed that the expression of NEAT1 and secretion of IL-6 were both significantly increased ($P < 0.01$). By silencing NEAT1 in macrophages, there was a significant decrease in secretion of IL-6 ($P < 0.01$), and the ability of MTB removal was significantly decreased ($P < 0.01$). **Conclusion** H37Rv infection RAW264.7 macrophages can promote NEAT1 expression, silencing NEAT1 can reduce the clearance of intracellular MTB by macrophages.

Key words Mycobacterium tuberculosis; lncRNA NEAT1; RAW264.7 macrophages