

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2015.05.009

RNA 特异腺苷脱氨酶 1(p150 亚型)抑制肝细胞脂质合成 *

丁美玲 冯文强 张 松 曹海超 聂勇战[△]

(第四军医大学西京消化病医院肿瘤生物学国家重点实验室 陕西 西安 710032)

摘要 目的:在油酸诱导的肝细胞脂肪变模型中,检测 RNA 特异腺苷脱氨酶 1 p150 亚型(ADAR1-p150)高表达细胞系中脂肪合成的变化。**方法:**利用本课题组前期摸索的油酸刺激人胚胎肝细胞 L-02 细胞系脂肪变的条件,qRT-PCR 和 Western-Blot 检测油酸刺激组和对照组 ADAR1-p150 表达变化;将构建成功的 ADAR1-p150 过表达慢病毒载体 GV166-ADAR1-p150 及空载体病毒 GV166-control 感染 L-02 细胞,检测感染细胞中 ADAR1-p150 的 mRNA 和蛋白表达水平;通过油红 O 染色和 BODIPY 染色观察 L-02 ADAR1-p150 和 L-02 control 细胞中脂滴形成,并进一步利用高内涵系统检测其荧光强度,对脂滴合成作定量分析。**结果:**L-02 细胞在油酸刺激后 ADAR1-p150 的 mRNA 和蛋白水平降低;成功构建 ADAR1-p150 过表达慢病毒载体 GV166-ADAR1-p150 及空载体病毒 GV166-control,qRT-PCR 及 Western-Blot 检测显示病毒转染 GV166-ADAR1-p150 后 ADAR1-p150 在细胞中的表达水平显著升高;油红 O 染色和 BODIPY 染色发现 L-02 ADAR1-p150 较 L-02 control 细胞胞质中脂滴数量减少。高内涵筛选系统检测提示 L-02 ADAR1-p150 组中脂滴的荧光强度明显较 L-02 control 组低。**结论:**成功构建 ADAR1-p150 过表达稳定转染 L-02 细胞系,并证实高表达 ADAR1-p150 能够抑制脂肪合成。

关键词:ADAR1-p150;脂质合成;高内涵筛选系统

中图分类号:Q78;R589 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2015)05-829-05

RNA-specific Adenosine Deaminase 1 p150 Isoform Inhibits Lipid Synthesis in Hepatocytes*

DING Mei-ling, FENG Wen-qiang, ZHANG Song, CAO Hai-chao, NIE Yong-zhan[△]

(Xijing Hospital of Digestive Disease & State Key of Laboratory of Cancer Biology, Fourth Military Medical University, Xi'an, Shaanxi, 710032, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the regulatory effect of RNA-specific adenosine deaminase 1 p150 isoform (ADAR1-p150) on fat synthesis in oleic acid-induced hepatic steatosis cell model. **Methods:** Oleic acid stimulated steatosis model in human embryonic liver cell line L-02 cells was constructed according to our previously reported protocols. ADAR1-p150 expression was analyzed by qRT-PCR and Western-Blot in both control group and oleic acid (OA) group. ADAR1-p150 overexpression lentiviral vector GV166-ADAR1-p150 and control lentiviral vector GV166-control were constructed to infect L-02 cell line, the mRNA and protein expression levels of ADAR1-p150 were detected by qRT-PCR and Western-Blot. The lipid droplets formation of L-02 ADAR1-p150 and L-02 control cell lines was observed by oil red O staining and BODIPY staining. High Content Screening system was performed to detect the average fluorescence intensity of lipid droplets. **Results:** The mRNA and protein expression levels of ADAR1-p150 were down-regulated in OA group as compared with that in control group. ADAR1-p150 overexpression lentiviral vector GV166-ADAR1-p150 and empty vector virus GV166-control were successfully constructed. qRT-PCR and Western-Blot analysis showed that ADAR1-p150 expression significantly increased in GV166-ADAR1-p150 treated cells. Oil Red O staining and BODIPY staining revealed that the number of lipid droplets in L-02 ADAR1-p150 cells was less than that in L-02 control cells. High content screening system demonstrated that the lipid droplets fluorescence intensity of L-02 ADAR1-p150 cells was significantly lower than that of L-02 control cells. **Conclusions:** Stable ADAR1-p150 overexpressing cell line was successfully established. More importantly, high expression of ADAR1-p150 was capable of inhibiting fat synthesis in L-02 cells.

Key words: ADAR1-p150; Lipid synthesis; High content screening system

Chinese Library Classification(CLC): Q78; R589 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2015)05-829-05

前言

近年来,随着人们生活习惯的改变及肥胖的迅速流行,脂肪肝在世界范围内的发病率接近 20%^[1],而在我国经济发达地

* 基金项目:科技部重大国际合作项目(81110200)

作者简介:丁美玲(1989-),女,硕士研究生,主要研究方向:肝脏脂质代谢,电话:18502939296, E-mail: 13636719589@126.com

△ 通讯作者:聂勇战,电话:029-84771620, E-mail: nieyongzhan@gmail.com

(收稿日期:2014-08-19 接受日期:2014-09-15)

区的发病率超过 30%^[2]。脂肪肝可进一步发展为脂肪性肝炎、肝纤维化、肝硬化,甚至肝癌,是肝病患者死亡的主要原因之一^[2]。双链 RNA 腺苷脱氨酶 ADAR1 属于 A-to-I RNA 编辑酶^[3],主要通过将腺嘌呤核苷转变为次黄嘌呤核苷的编辑依赖活性来发挥作用^[3],参与胚胎发育、造血系统发育、机体免疫等多种重要的病理生理过程^[4]。本研究在前期已成功构建油酸刺激细胞脂肪变模型的基础上,发现 L-02 细胞在油酸刺激后 ADAR1-p150 的表达降低,提示 ADAR1-p150 可能参与肝脏脂肪代谢调控。

1 材料和方法

1.1 细胞脂肪变模型的建立

本课题组前期已证实人在正常肝细胞 L-02 (中国科学院,上海)中,油酸 OA (Sigma 公司,美国)刺激其产生脂肪变的最佳条件为 0.4 mmol/L, 12 h。本实验中以该条件构建 L-02 细胞脂肪变模型。

1.2 ADAR1-p150 过表达慢病毒载体的构建

使用限制性内切酶 Bam HI (NEB 公司,美国)和 AgeI (NEB 公司,美国)将 GV-166 载体(吉凯公司,上海)线性化。设计并合成 ADAR1-p150 引物,正向引物 ADAR1-p150-F: 5'-AG-GTCGACTCTAGAGGATCCCCGCCACCATGAATCCGCGC-AGGG GTATTCCTC-3',反向引物 ADAR1-p150-R: 5'-AGTC-CATGGTGGCGACCGGTACTGGGCAGA GATAAAAGTTCT-TTTC-3',PCR 扩增目的基因 ADAR1-p150。以 1:3 ~ 1:9 的比例加入线性化 GV-166 载体和纯化的 PCR 产物,以同样带有交换臂的 GAPDH 基因作为阳性对照,按照 25 °C, 30 min; 42 °C, 30 min 的反应条件将 PCR 产物交换入线性化表达载体。用氯化钙制备新鲜的大肠杆菌感受态细胞。将连接产物转化感受态细胞并挑选合适菌落进行 qPCR 鉴定,并将阳性菌落克隆进行测序以及比对,得到测序正确的目的质粒。将质粒载体分别进行高纯度无内毒素抽提,按 Invitrogen 公司 Lipofectamine 2000 使用说明共转染 293T 细胞,转染 8 h 后更换为完全培养基,培养 48 h 后,收集富含慢病毒颗粒的细胞上清液,对其浓缩后得到高滴度的慢病毒浓缩液,在 293T 细胞中测定并标定病毒滴度。

1.3 ADAR1-p150 过表达稳转细胞系的构建

按照 2×10^4 的细胞密度将 L-02 铺于 24 孔板, 24 h 细胞贴壁后进行下一步转染工作。设置 ADAR1-p150 慢病毒感染孔、对照慢病毒感染孔以及空白对照孔。即刻配制含 1/2000 体积的 Polybrene (吉凯公司,上海)、1% 的青霉素 (Gibco 公司,美国)和 5% 的胎牛血清 (Gibco 公司,美国)的 opti-Mem (Gibco 公司,美国)溶液,每孔加入 200-250 μ L 配制好的 opti-Mem 溶液。取目的基因慢病毒 LV-ADAR1-p150 和对照慢病毒 LV-control 置于冰盒融化,根据 L-02 细胞的复感染指数 (multiplicity of infection, MOI) 为 10 和病毒滴度计算并加入相应病毒体积,轻柔混匀后置于 37 °C 细胞培养箱培养。8-10 h 后更换为含 10% 胎牛血清和 1% 青霉素的 DMEM (Gibco 公司,美国)培养液,继续培养至细胞密度为 80%-90% 左右。各孔加入嘌呤霉素 (Sigma 公司,美国) 2 μ g/mL 筛选 7-10 天,获得 ADAR1-p150 稳定转染的 L-02 细胞系 (L-02 ADAR1-p150)。

1.4 RNA 提取及实时荧光定量 PCR 分析

将细胞培养至对数生长期收集细胞,洗去培养基并重悬于 40 μ L AE 缓冲液 (50 mmol/L 醋酸钠; 10 mmol/L EDTA; pH 5.3) 中,加入 40 μ L 10% SDS,震荡混匀,加入等体积的苯酚,混匀后 65 °C 孵育 4 min。在冰水浴中迅速冷却后 21000 $\times$ g 离心 2 min,取上层液体至新的离心管中,用苯酚/氯仿萃取 2 次,得到的水相加入醋酸钠 (pH 5.3, 至终浓度 0.3 mol/L) 和 2.5 倍体积的无水乙醇,冰上静置 10 min。21000 $\times$ g 离心 10 min,沉淀用 70% 乙醇洗 2 次后溶于 30 μ L 无 RNA 酶的水中,得到细胞总 RNA。

采用逆转录试剂盒 (TaKaRa 公司,日本)将 RNA 逆转录为 cDNA。一步法水浴 37 °C 1 h 得到 cDNA,采用 TaKaRa qPCR 试剂盒及 Bio-Rad CFX96 荧光定量系统 (Bio-Rad 公司,美国)进行荧光定量实验。

1.5 Western-Blot 蛋白印记分析

收集对数生长期细胞,4 °C 预冷的 PBS 洗涤 2 次,加入含蛋白酶抑制剂 (Bio-Rad 公司,美国)的细胞裂解液 (碧云天公司,中国)冰上裂解 20 min,超声 (10 s $\times$ 3 次)后 4 °C 离心 (12000 $\times$ g, 15 min),加入 1/4 体积 5 $\times$ 上样缓冲液 (碧云天公司,中国),100 °C 煮沸变性 10 min。留取少量蛋白液,以二奎琳甲酸 (BCA) 法测定蛋白总浓度。通过 8% SDS 聚丙烯酰胺凝胶分离蛋白后,将蛋白转移到至硝酸纤维素 (NC) 膜上。室温下 5% 脱脂奶粉封闭 1 h 后孵育鼠抗人 ADAR1 抗体 (1:400, Santa Cruz 公司,美国),4 °C 孵育过夜。次日以 TBST 洗膜 (8 min $\times$ 3 次)。之后加入 HRP-抗鼠 IgG (1:2000, Sigma 公司,美国)室温孵育 1 h。TBST 漂洗后使用 ECL 试剂 (Thermo 公司,美国)采用 Bio-RAD 凝胶成像仪 (Bio-Rad 公司,美国)对 NC 膜进行扫描成像。

1.6 油红 O 染色

在 6 孔板中铺入等量的 L-02 ADAR1-p150 和 L-02 control 细胞,加入 2 mL DMEM 高糖培养液 (含 10% 胎牛血清和 1% 青霉素)。待其密度达到 50%-60% 后加入油酸工作液 (0.4 mmol/L), 12 h 后去除培养液,4% 多聚甲醛固定细胞 15 min。用过滤后的 PBS 对 6 孔板进行清洗 (3 min $\times$ 3 次)。苏木素染核 2 min 后以去离子水清洗至胞浆颜色变淡,油红 O (Sigma 公司,美国)工作液避光染色 15 分钟, PBS 清洗 (3 min $\times$ 3 次),染色结束。

1.7 BODIPY 染色

于 6 孔板铺入等量 L-02 ADAR1-p150 和 L-02 control 细胞,每孔加 2 mL DMEM 高糖培养液 (含 10% 胎牛血清和 1% 青霉素)。待其密度达到 50%-60% 后加入油酸工作液 (0.4 mmol/L), 12 h 后去除培养液,4% 多聚甲醛固定细胞 15 min,细胞固定后去除多聚甲醛。用过滤后的 PBS 对 6 孔板进行清洗 (3 min $\times$ 3 次)。每孔中加入 0.1 μ g/mL 的 BODIPY 荧光染料 (BODIPY493/503, Invitrogen 公司,美国),避光置于 37 °C 孵箱,孵育 20 min。用过滤后的 PBS 清洗 6 孔板 (5 min $\times$ 3 次)。在每孔中加入 1 μ g/mL Hoechst 染料 (Sigma 公司,美国),置于 37 °C 孵箱避光孵育 15 min。以过滤的 PBS 清洗 6 孔板 (5 min $\times$ 3 次),至此荧光染色结束。

1.8 高内涵系统检测脂滴荧光强度

取 6 孔板铺入等量的 L-02 ADAR1-p150 和 L-02 control 细胞,待细胞贴壁并生长至 50 %-60 %后加入 0.4 mmol/L 油酸,12 h 后从细胞培养箱取出,以 4 %多聚甲醛固定细胞 15 min,PBS 清洗 3 遍后进行 BODIPY 染色(仅以 BODIPY 染料着色脂滴,不染核),之后运行高内涵仪器进行荧光检测。

1.9 数据分析

所有数据资料采用 SPSS 17.0 软件包作统计学分析。计量资料以 $\bar{X} \pm SD$ 表示,比较两组数据组间差异采用独立样本 t 检验;计数资料以百分率表示,均采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 表示有显著性差异。

2 结果

2.1 L-02 细胞油酸(OA)刺激后 ADAR1-p150 表达降低

以 0.4 mmol/L OA 刺激 L-02 细胞 12 h 以诱导细胞产生脂肪变,通过 qRT-PCR 和 Western-Blot 检测 OA 刺激前后 L-02 细胞中 ADAR1-p150 表达变化。结果显示,与对照组细胞相比,OA 刺激组细胞 ADAR1-p150 mRNA 水平明显降低 (0.25 ± 0.05) vs. (1.00 ± 0.11), $P < 0.01$, 同时其蛋白水平也有显著降低,提示 ADAR1-p150 可能具有抑制脂肪合成的作用(图 1 A 和 B)。

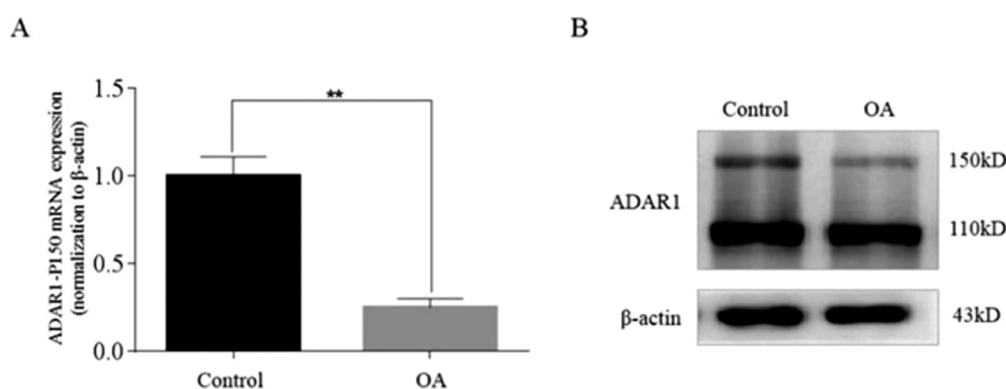


图 1 脂肪变细胞中 ADAR1-p150 表达降低

Fig. 1 ADAR1-p150 expression was down-regulated in steatosis cells

A: The mRNA level of ADAR1-p150 in steatosis cells by PCR; B: The protein level of ADAR1-p150 in steatosis cells by Western-Blot. **: $P < 0.01$ vs. control group

2.2 qRT-PCR 和 Western-Blot 鉴定 ADAR1-p150 过表达 L-02 细胞系

将 ADAR1-p150 过表达慢病毒载体 GV166-ADAR1-p150 和空载体 GV-control 感染 L-02 细胞,qRT-PCR 和 Western-Blot 检测 ADAR1-p150 的表达。结果显示,与空载体对照组相比,ADAR1-p150 过表达慢病毒载体感染细胞后

ADAR1-p150 mRNA 水平明显升高 (23.76 ± 0.32) vs. (1.00 ± 0.14), $P < 0.01$; Western-Blot 结果显示 GV166-ADAR1-p150 感染细胞后 ADAR1-p150 的蛋白水平显著升高,证实 ADAR1-p150 稳定转染的 L-02 细胞系已成功构建(图 2 A 和 B)。

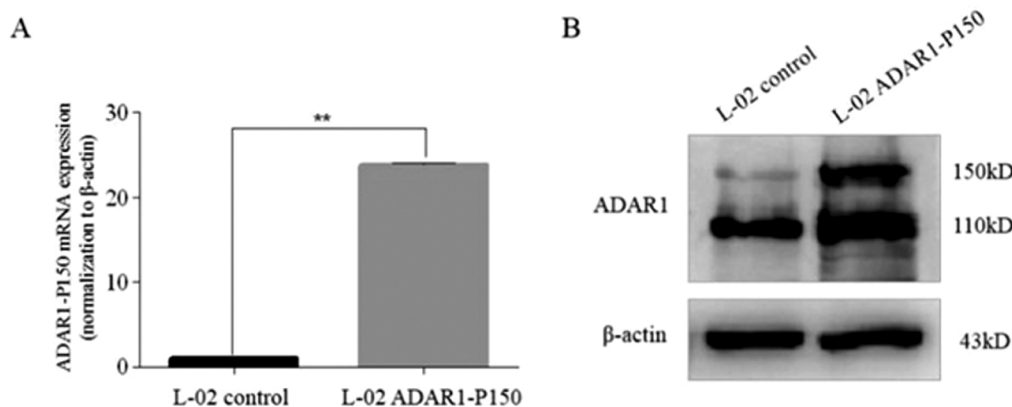


图 2 成功构建 ADAR1-p150 过表达慢病毒稳定转染 L-02 细胞系

Fig. 2 Stable ADAR1-p150 overexpressing lentivirus were successfully established

A: The mRNA level of ADAR1-p150 after ADAR1-p150 overexpression lentivirus vector GV166- ADAR1-p150 infection in L-02 cells by PCR; B: The protein level of ADAR1-p150 after GV166- ADAR1-p150 infection in L-02 cells by Western-Blot. **: $P < 0.01$ vs. control group

2.3 ADAR1-p150 高表达细胞中脂质合成减少

对 L-02 ADAR1-p150 和 L-02 control 细胞进行油红 O 染

色,结果显示,未加入油酸刺激时,无明显脂滴形成;油酸刺激后,胞质中有较明显的脂滴生成,证实前期油酸诱导细胞脂肪

变的模型构建成功。且相较于 L-02 control 细胞, L-02-ADAR1-p150 细胞中脂滴生成明显较少(图 3 A)。

对 L-02 ADAR1-p150 和 L-02 control 细胞进行 BODIPY 染色,结果显示,未加入油酸时,胞质中无明显脂滴形成;加入油酸后,细胞质中有明显的脂滴生成,相较于 L-02 control 细胞,L-02 ADAR1-p150 细胞中脂滴生成明显较少(图 3 B)。

根据前期确定的油酸诱导的最佳刺激浓度和时间诱导细胞脂肪变,运用高内涵检测系统检测 L-02 ADAR1-p150 和

L-02 control 细胞胞质中的脂滴的平均荧光强度。以 0 mM 油酸刺激,12 小时后 L-02 ADAR1-p150 和 L-02 control 细胞均不产生脂滴,荧光强度很弱(54.77 ± 1.08) vs. (51.32 ± 0.93), $P > 0.05$; 当给予 0.4 mmol/L 油酸刺激 12 h 后, L-02 ADAR1-p150 细胞中脂滴荧光强度明显较 L-02 control 细胞低(78.37 ± 1.26) vs. (191.15 ± 2.09), $P < 0.01$, 这也证明了高表达 ADAR1-p150 能够抑制脂肪合成(图 3 C)。

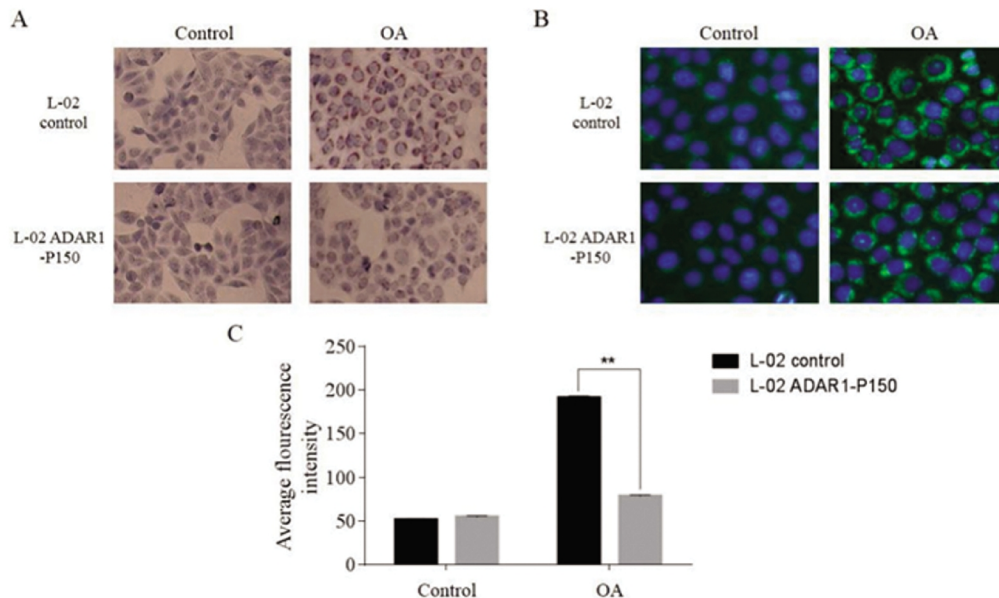


图 3 ADAR1-p150 高表达细胞中脂质合成减少

Fig. 3 High expression of ADAR1-p150 inhibited fat synthesis

(A, B): Oil red O staining (A) and BODIPY staining (B) labeled lipid droplets in L-02 ADAR1-p150 and L-02 control cells in OA stimulated group and control group; C: Detection average fluorescence intensity of lipid droplet;

A, B, C: Oleic acid concentration: 0.4 mmol/L, stimulated 12 h; amplification factor in A: 10×20 , red represents lipid droplets; amplification factor in B: 10×40 , green represents lipid droplets; **: $P < 0.01$ vs. control group.

3 讨论

代谢综合征(Metabolic Syndrome, MS)包括肥胖、高血压、高血脂、胰岛素抵抗等征候群,是当今全球最重要的公共健康问题之一。MS 在肝脏主要体现为非酒精性脂肪肝(Nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)^[2]。NAFLD 是指从单纯的脂肪肝到脂肪性肝炎相关的疾病,影响着全球 10-24% 人口的身体健康,是肝病患者死亡的主要原因之一。同时 NAFLD 患者中 II 型糖尿病和动脉粥样硬化的发病率明显增高严重影响国人健康,因此阐明其发病机制和寻找干预靶点是当今医学界亟待攻克的难题^[3]。

ADAR1 基因位于 1 号染色体长臂 2 区 1 带(1q21),编码发挥位点特异的腺苷酸脱氨作用的 RNA 编辑酶^[2]。ADAR1 基因转录较为复杂,可以 3 个不同的启动子通过对相互独立的首个外显子(外显子 1A、1B、1C)进行可变剪接生成成熟的 mR-NA^[2]。从 ADAR1A 起始转录的启动子能够被干扰素诱导并最终产生包含 3 个双链 RNA 结合域和 2 个 Z-DNA 结合域的 150 千道尔顿(kD)蛋白亚型 p150^[2]。从外显子 1B 或 1C 起始的

转录本可产生 110 kD 蛋白亚型,它与 p150 亚型相比缺少包含核输出信号在内的 248 个氨基酸^[2]。p150 亚型和 P110 亚型均可进行核穿穿梭,然而二者呈现不同的亚细胞定位:P110 主要位于胞核而全长的 p150 则主要定位于胞质^[2]。除 P110 外,还存在另一个具功能活性的截短亚型 P80^[2]。一项主要在白细胞中进行的研究发现,肿瘤坏死因子 α 、 γ 干扰素、脂多糖、病毒双链 RNA 及其类似复合物均可活化 ADAR1 表达^[2]。除了发挥转录后水平的编辑依赖活性,本课题组前期研究发现 ADAR1 还可以依赖非编辑活性和双链 RNA 结合蛋白 NF90 相互作用并调控 NF90 介导的基因表达^[2]。ADAR1 蛋白的几个亚型中,ADAR1-P110 为组成性表达,ADAR1-p150 主要受干扰素诱导表达^[2],然而 p150 在编辑内源性 RNA 中发挥何种功能尚不清楚。细胞中甘油三酯常以中性脂质小滴的形式储存于白色脂肪组织或肝脏组织的细胞质中。脂质小滴出现在非脂肪组织被称为异位脂质,异位脂质含量增多与外周胰岛素抵抗及高脂血症等一系列临床症状相关^[2]。多种方式能够评估细胞中脂滴的集聚程度,本实验中选用油红 O 和 BODIPY 染色定性和高内涵筛选系统定量检测肝细胞中脂滴的含量。油红 O 作为脂

溶性染料,能够在脂肪内高度溶解,可特异性地使脂肪组织和细胞内的脂滴着色,被广泛用于含脂肪组织的鉴定即脂肪细胞的研究^[9]。此外,BODIPY493/503 也已经成为科学家研究细胞内脂滴含量的标准染料之一。BODIPY 是一类近红外的短波长荧光染料,可特异性地着色中性脂质进而检测胞质中脂滴含量。BODIPY493/503 包含一个非极性结构域,一旦与中性脂质结合便释放出窄波长的绿色荧光信号,是多重染色实验中的理想方法^[2]。除了利用油红 O 染色和 BODIPY 染色直观观察胞质中脂滴含量以外,本研究还利用高内涵筛选系统定量检测细胞产生脂滴的荧光强度。作为一项能够进行荧光显微成像和定量图像分析的自动化筛选技术,高内涵筛选系统具有其独特的优势^[2]。本实验中在对细胞进行胞质 BODIPY 着色后,利用高内涵系统对结合于脂滴的染料荧光强度进行实时快速地计算和分析,为本研究提供了重要的定量数据资料。

总之,本课题在前期研究的基础上发现 ADAR1-p150 在脂肪酸诱导的脂肪变细胞中表达降低,进一步研究发现 ADAR1-p150 具有抑制脂肪合成的作用,可能是非酒精性脂肪性肝病、糖尿病等代谢性疾病的重要治疗靶点。

参考文献(References)

- [1] Sattar N, Forrest E, Preiss D. Non-alcoholic fatty liver disease [J]. BMJ, 2014,349:g4596
- [2] Carvalhana S, Machado MV, Cortez-Pinto H. Improving dietary patterns in patients with nonalcoholic fatty liver disease [J]. Curr Opin Clin Nutr Metab Care, 2012,15(5):468-473
- [3] Ling J, Lewis J, Douglas D, et al. Characterization of lipid and lipoprotein metabolism in primary human hepatocytes [J]. Biochim Biophys Acta, 2013,1831(2):387-397
- [4] Liu K, Czaja MJ. Regulation of lipid stores and metabolism by lipophagy [J]. Cell Death Differ, 2013,20(1):3-11
- [5] Iwazawa J, Ohue S, Hashimoto N, et al. Clinical utility and limitations of tumor-feeder detection software for liver cancer embolization [J]. Eur J Radiol, 2013,82(10):1665-1671
- [6] Ota H, Sakurai M, Gupta R, et al. ADAR1 forms a complex with Dicer to promote microRNA processing and RNA-induced gene silencing [J]. Cell, 2013,153(3):575-589
- [7] George CX, John L, Samuel CE. An RNA editor, adenosine deaminase acting on double-stranded RNA (ADAR1) [J]. J Interferon Cytokine Res, 2014,34(6):437-446
- [8] Nishikura K, Sakurai M, Ariyoshi K, et al. Antagonistic and stimulative roles of ADAR1 in RNA silencing [J]. RNA Biol, 2013,10(8):1240-1247
- [9] Vanni E, Bugianesi E, Kotronen A, et al. From the metabolic syndrome to NAFLD or vice versa?[J]. Dig Liver Dis, 2010,42(5):320-330
- [10] Ibrahim MA, Kelleni M, Gedawy A. Nonalcoholic fatty liver disease: current and potential therapies[J]. Life Sci, 2013,92(2):114-118
- [11] Biswas N, Wang T, Ding M, et al. ADAR1 is a novel multi targeted anti-HIV-1 cellular protein [J]. Virology, 2012,422(2):265-277
- [12] Liu Y, George CX, Patterson JB, et al. Functionally distinct double-stranded RNA-binding domains associated with alternative splice site variants of the interferon-inducible double-stranded RNA-specific adenosine deaminase [J]. J Biol Chem, 1997, 272(7): 4419-4428
- [13] Poulsen H, Nilsson J, Damgaard CK, et al. CRM1 mediates the export of ADAR1 through a nuclear export signal within the Z-DNA binding domain [J]. Mol Cell Biol, 2001, 21(22): 7862-7871
- [14] George CX, Samuel CE. Human RNA-specific adenosine deaminase ADAR1 transcripts possess alternative exon 1 structures that initiate from different promoters, one constitutively active and the other interferon inducible[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 1999, 96(8): 4621-4626
- [15] Fritz J, Strehlow A, Taschner A, et al. RNA-regulated interaction of transportin-1 and exportin-5 with the double-stranded RNA-binding domain regulates nucleocytoplasmic shuttling of ADAR1 [J]. Mol Cell Biol, 2009,29(6):1487-1497
- [16] Yang JH, Nie Y, Zhao Q, et al. Intracellular localization of differentially regulated RNA-specific adenosine deaminase isoforms in inflammation [J]. J Biol Chem, 2003, 278(46): 45833-45842
- [17] Yang JH, Luo X, Nie Y, et al. Widespread inosine-containing mRNA in lymphocytes regulated by ADAR1 in response to inflammation [J]. Immunology, 2003,109(1): 15-23
- [18] Nie Y, Ding L, Kao PN, et al. ADAR1 interacts with NF90 through double-stranded RNA and regulates NF90-mediated gene expression independently of RNA editing [J]. Mol Cell Biol, 2005,25 (16): 6956-6963
- [19] Zhang JY, Chen XD, Zhang Z, et al. The adenosine deaminase acting on RNA 1 p150 isoform is involved in the pathogenesis of dyschromatosis symmetrica hereditaria [J]. Br J Dermatol, 2013,169 (3): 637-644
- [20] Thiam AR, Farese RV, Walther TC. The biophysics and cell biology of lipid droplets[J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2013,14(12):775-786
- [21] Mehlem A, Hagberg CE, Muhl L, et al. Imaging of neutral lipids by oil red O for analyzing the metabolic status in health and disease[J]. Nat Protoc, 2013,8(6):1149-1154
- [22] Spangenburg EE, Pratt SJ, Wohlers LM, et al. Use of BODIPY (493/503) to visualize intramuscular lipid droplets in skeletal muscle [J]. J Biomed Biotechnol, 2011, 2011:598358
- [23] Wenzel C, Riefke B, Grundemann S, et al. 3D high-content screening for the identification of compounds that target cells in dormant tumor spheroid regions[J]. Exp Cell Res, 2014, 323(1): 131-143