DOI:10.13232/j.cnki.jnju.2013.01.013

第 49 卷　第 1 期
2013 年 1 月

南京大学学报(自然科学)
JOURNAL OF NANJING UNIVERSITY
(NATURAL SCIENCES)

Vol. 49, No. 1
Jan., 2013

胞质和核定位 α-突触核蛋白过表达对人神经母细胞瘤细胞的影响*

夏　娟[1],高　静[1],熊御云[2],邱　晶[1],马　瑞[3],钱进军[4]**

(1. 江苏大学药学院,镇江,212013;2. 江苏大学基础医学与医学技术学院,镇江,212013;
3. 江苏大学临床医学院,镇江,212013;4. 江苏大学附属第四医院,镇江,212013)

摘　要: 探讨 α-突触核蛋白在人神经母细胞瘤(SH-SY5Y)细胞中定位过表达的影响. 研究应用 PLVU-SNCA-NES(NLS)-2A-EGFP 重组慢病毒载体感染 SH-SY5Y 细胞,通过观察绿色荧光蛋白(EGFP)检测目的基因在细胞中的表达情况. 形态观察与 MTT 检测相结合,分析胞质和核定位 α-突触核蛋白过表达对 SH-SY5Y 细胞增殖的影响,同时测定鱼藤酮、H_2O_2 对胞质和核定位 α-突触核蛋白过表达 SH-SY5Y 细胞活性的影响. MitoTracker 染色法测定胞质和核定位 α-突触核蛋白过表达的 SH-SY5Y 细胞中线粒体数目的变化. 结果发现,α-突触核蛋白胞质定位过表达使得 SH-SY5Y 细胞培养 96 h 时活性显著增强,24 h、48 h、96 h 时细胞中线粒体的数目显著增加,增长比率分别为 91.18%、41.15%、50.21%;α-突触核蛋白核定位过表达的 SH-SY5Y 细胞相对正常细胞表现出较低的细胞活性,在培养 48 h、72 h 后细胞存活率显著下降. 400 nmol/L 鱼藤酮损伤 24 h 后,α 突触核蛋白核定位过表达的 SH-SY5Y 细胞活性显著高于正常细胞鱼藤酮损伤组. 50～800 μmol/L H_2O_2 处理条件下,α-突触核蛋白的定位过表达对 SH-SY5Y 细胞活性的影响并不显著. 研究结果表明 α-突触核蛋白胞质定位过表达表现出一定的神经保护作用,α-突触核蛋白核定位过表达也能使 SH-SY5Y 细胞的活性发生改变.

关键词: α-突触核蛋白,胞质定位,核定位

Effects of cytoplasm localized or nuclear localized overexpression α-synuclein on SH-SY5Y cells

Xia Juan[1], *Gao Jing*[1], *Xiong Yu-Yun*[2], *Qiu Jing*[1], *Ma Rui*[3], *Qian Jin-Jun*[4]

(1. School of Pharmacy, Jiangsu University, Zhenjiang, 212013, China;
2. School of Medical Science and Laboratory Medicine, Jiangsu University, Zhenjiang, 212013, China;
3. School of Medicine, Jiangsu University, Zhenjiang, 212013, China;
4. Fourth People's Hospital of Zhenjiang, Jiangsu University, Zhenjiang, 212013, China)

Abstract: To study the effects of overexpression α-synuclein localized in cytoplasm or in nuclear on viability of SH-

* 基金项目:江苏省自然科学基金(BK2008249),江苏省"六大人才高峰"资助项目(2007038)
收稿日期:2012－01－21

** 通讯联系人,E-mail:qian-jinjun@163.com

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

SY5Y cells. The recombinant plasmid PLVU-SNCA-NES(NLS)-2A-EGFP was transfected into SH-SY5Y cells by lentivirus vector. Then the expression of reporter gene EGFP is detected by fluorescence microscopy; MTT to analyze the viability of SH-SY5Y, SH-SY5Y(NES) and SH-SY5Y(NLS) cells; MitoTraker Red to detect the amount of mitochondria. After transfected with the recombinant plasmid PLVU-SNCA-NES(NLS)-2A-EGFP by lentivirus vector for 48 h, the expression of EGFP is detected. Both the stable genetic SH-SY5Y(NES) and SH-SY5Y(NLS) are established. The viability of SH-SY5Y(NES) cells is significantly enhanced compared with normal control at 96 h, and the amount of mitochondria in SH-SY5Y(NES) is significantly increased at 24 h, 48 h and 96 h, and the increasing rate is 91.18%, 41.15% and 50.21%, respectively. While the viability of SH-SY5Y(NLS) is decreased following the transfection, it is surprising to find that following the administration of 400 nmol/L rotenone, the viability of SH-SY5Y(NLS) is much higher than SH-SY5Y cells. But with the treatment of 50～800 μmol/L H_2O_2, there is no significant difference in survival rate occurred among all kinds of cells. In summary, α-synulein cytoplasm overexpression may enhance the viability of SH-SY5Y cells. α-synuclein nuclear localization overexpression can also change the viability of SH-SY5Y cells.

Key words: α-synuclein, cytoplasm localization, nuclear localization

帕金森病(PD)是一种与年龄相关的,持续进行的神经退行性疾病[1],黑质密致部多巴胺神经细胞的缺失和胞质中嗜酸性包涵体(路易小体,Lewy body)的形成是 PD 的两大病理特征[2],多数研究者倾向于 PD 是遗传因素和环境因素共同作用的结果[3]. α-突触核蛋白基因(SNCA)是最早发现的与 PD 发生相关的基因,其编码蛋白 α-突触核蛋白是组成路易小体的主要成分之一. 转基因动物实验表明[4,5],α-突触核蛋白可能与 PD 的发病相关,即 α-突触核蛋白的异常聚集可能与路易小体的形成甚至与多巴胺神经元的变性缺失有关.

α-突触核蛋白作为一种小分子蛋白质家族,广泛的分布于中枢神经系统突触前末梢[6],所以有关 α-突触核蛋白参与 PD 发病机制的研究也主要集中在 α-突触核蛋白在胞质中发挥的作用. 目前,在 α-突触核蛋白转基因果蝇模型[7]、小鼠模型[4]以及细胞模型[8]中均发现了 α-突触核蛋白定位于核内的现象. α-突触核蛋白在细胞胞质和核定位过的表达研究为揭示 PD 的发病机制提供了新的思路.

本实验室成功构建了胞质定位和核定位突触核蛋白慢病毒表达载体,通过该载体感染 SH-SY5Y 细胞后,研究 α-突触核蛋白在细胞不同部位过表达对细胞活性的影响. 同时,检测胞质和核定位 α-突触核蛋白过表达细胞在外界刺激条件(鱼藤酮,H_2O_2)下活性的变化,为阐明 PD 的发病机制提供实验数据.

1 材料和方法

1.1 细胞株、重组质粒慢病毒载体 SH-SY5Y 人神经母细胞瘤细胞(中国科学院上海营养所柯尊记教授惠赠);重组质粒慢病毒载体 PLVU-SNCA-NES(NLS)-2A-EGFP 本实验室构建保存.

1.2 试剂 Nutrient Mixture Ham's F-12(F12)、Modified Eagle Medium(MEM)(Gibco 公司,美国);胎牛血清(杭州四季青,中国);MTT(3-(4,5)-2-噻唑-(2,5)-二苯基溴化四氮唑蓝)(Amresco 公司,美国);MitoTracker Red FM(invitrogen 公司,美国);胰酶,鱼藤酮(Sigma 公司,美国);30%过氧化氢(H_2O_2)(南京化学试剂厂,中国);其余未特殊注明的试剂均为国产分析纯.

1.3 SH-SY5Y 细胞的培养 将 SH-SY5Y 细胞接种于装有 F12:MEM(1:1)培养基(10%胎牛血清)的培养瓶中,置于 37 ℃ 5% CO_2 的孵箱中培养,2～3 d 传代一次. 实验时将培养的

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

细胞,分别接种于 6 孔和 96 孔培养板培养,接种细胞密度为每毫升 3×10^4 个.

1.4　重组质粒 PLVU-SNCA-NLS-2A-EGFP 慢病毒载体感染 SH-SY5Y 细胞　SH-SY5Y 细胞于 6 孔板中培养 48 h 后,慢病毒感染,当细胞融合率达到 80%～90%时,收取细胞并进行传代培养.

1.5　MTT 检测细胞活性　96 孔细胞培养板每孔加 100 μL MTT(1 mg/mL),37 ℃继续孵育 4 h 后,吸去 MTT,每孔加 DMSO 100 μL,待结晶物充分溶解,用酶联免疫检测仪于 570 nm 处测光吸收值.

1.6　MitoTracker 染色检测线粒体数量　用无血清培养基按 1∶1000 稀释 MitoTracker 染料成工作液(37 ℃ 温育),37 ℃下负载细胞 30 min,去除 MitoTracker 工作液,最后加入 PBS 收集细胞,制成细胞悬液,96 孔黑板(100 μL)测定荧光强度,最大激发波长为 581 nm,最大发射波长为 644 nm.

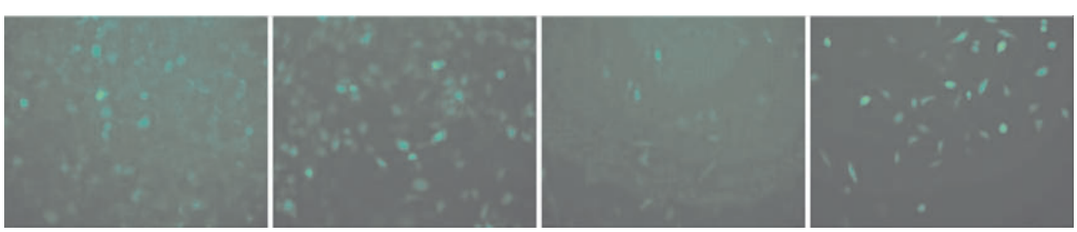
1.7　鱼藤酮对 α-突触核蛋白定位过表达的 SH-SY5Y 细胞存活率的影响　96 孔培养板培养细胞 48 h,加入新鲜培养基稀释的鱼藤酮溶液(终浓度分别为 100、200、300、400 nmol/L),继续培养 24 h 后,MTT 法检测细胞存活率.

1.8　H_2O_2 对 α-突触核蛋白定位过表达的 SH-SY5Y 细胞存活率的影响　96 孔培养板培养细胞,70 h 后,换无血清的 MEM,加入 H_2O_2(终浓度分别为 50、100、200、400、800 μmol/L),作用 1 h 后换 Hank's 液,MTT 法测细胞活性.

1.9　统计方法　采用 SAS 统计软件,ANOVA 方差分析,组间比较采用 q 检验,数据以(平均数±标准差)($\bar{x}\pm s$)表示.各实验至少重复 3 次.

2　结　果

2.1　慢病毒重组载体转染 SH-SY5Y 细胞株　重组质粒 PLVU-SNCA-NES(NLS)-2A-EGFP 慢病毒载体转染 SH-SY5Y 细胞,培养 48 h 后,观察到绿色荧光非常明显(图 1 A,B).慢病毒转染之后获得的 SH-SY5Y(NES)和 SH-SY5Y(NLS)细胞经传代培养后,也能观察到绿色荧光蛋白的表达(图 1 C,D),这表明重组慢病毒载体质粒中的 2A(自剪切多肽)基因能够成功的启动下游基因 EGFP 的翻译并表达出有功能的 EGFP 绿色荧光蛋白,通过检测绿色荧光蛋白的成功表达,可以间接确定 α-突触核蛋白转染到 SH-SY5Y 细胞中并成功表达.



(A)PLVU-SNCA-NES-2A-EGFP　(B)PLVU-SNCA-NLS-2A-EGFP　(C)SH-SY5Y(NES)　(D)SH-SY5Y(NLS)

A,B:EGFP expression in the SH-SY5Y cells after infection 48 h;

C,D:EGFP expression in the tablegenetic SH-SY5Y after infection

图 1　重组质粒慢病毒载体转染 SH-SY5Y 细胞株中 EGFP 的表达(×200)

Fig. 1　EGFP expression in the SH-SY5Y cells after infection under fluorescent microscope(×200)

2.2　α-突触核蛋白定位过表达对 SH-SY5Y 细胞形态和活性的影响　从形态学上看(图 2),α-突触核蛋白定位过表达细胞的形态相比正常细胞无明显差异.然而,α-突触核蛋白胞质定位过表达使 SH-SY5Y 细胞的生长变快,不同时间点时,SH-SY5Y(NES)细胞的密度大于未转染 SH-SY5Y 细胞和 SH-SY5Y(NLS)细胞的密度.

MTT 结果显示,随着培养时间的不断延长,SH-SY5Y、SH-SY5Y(NES)、SH-SY5Y(NLS)的细胞活性不断增强(图 3),细胞培养 96 h 时,α-突触核蛋白胞质定位过表达使得 SH-SY5Y 细胞的活性显著增加,其他时间点

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

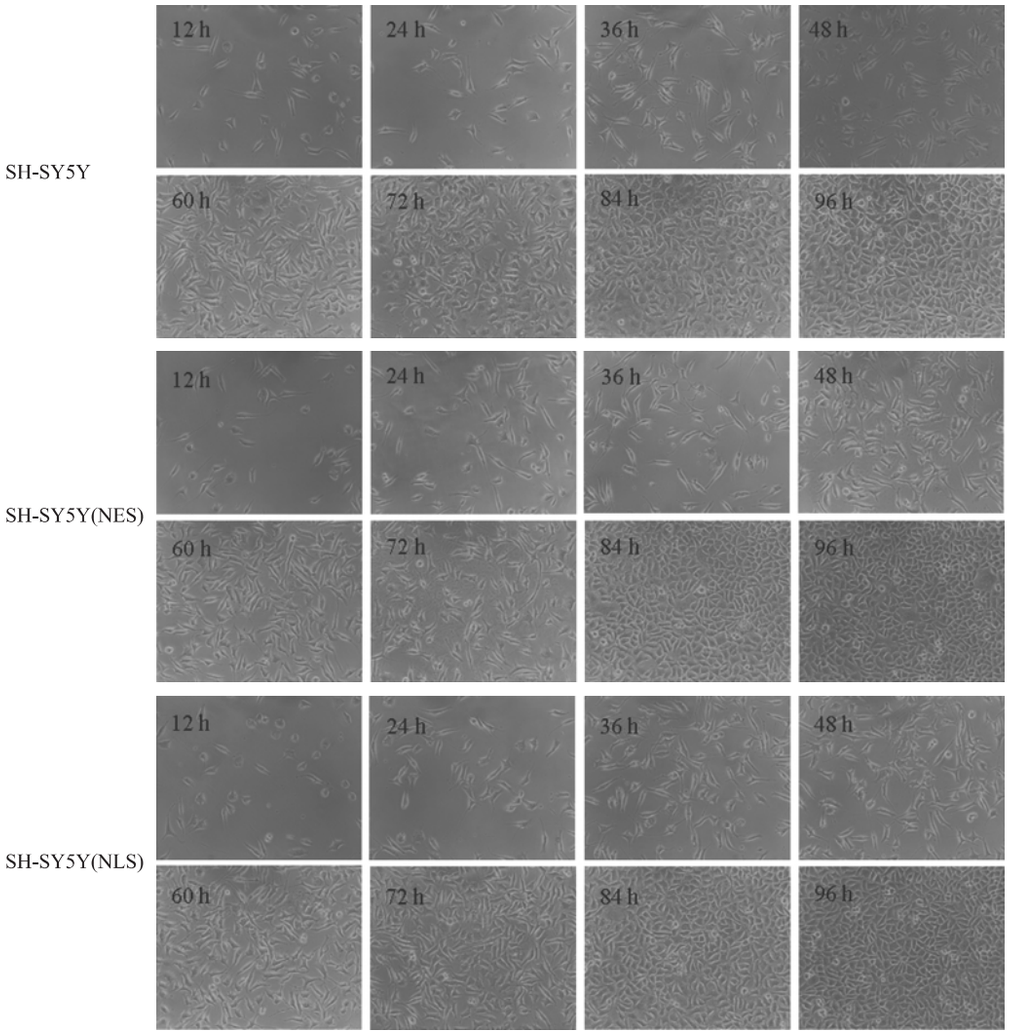


图 2 不同时间点 SH-SY5Y、SH-SY5Y(NES)、SH-SY5Y(NLS)细胞的形态变化

Fig. 2 Morphology of SH-SY5Y, SH-SY5Y(NES), SH-SY5Y(NLS) cells at different time points

时细胞活性部分增加,但不具有统计学差异;48 h、72 h 时 α-突触核蛋白核定位过表达使得 SH-SY5Y 细胞的活性明显下降,其他时间点时细胞的活性有下降的趋势.

2.3 α-突触核蛋白定位过表达对 SH-SY5Y 细胞内线粒体数量的影响 SH-SY5Y、SH-SY5Y(NES)、SH-SY5Y(NLS)三种细胞分别培养 48 h,72 h,96 h 之后通过 MitoTracker 染色法检测线粒体数量,结果显示(图 4),α-突触核蛋白胞质定位过表达的 SH-SY5Y 细胞中线粒体的数量显著增加($P<0.001$),48 h,72 h,96 h 时线粒体的数目分别增加 91.18%、41.15%、50.21%. 核定位过表达 α-突触核蛋白的 SH-SY5Y 细胞的线粒体数目在培养 96 h 也明显增加($P<0.01$).

2.4 α-突触核蛋白定位过表达保护细胞对抗鱼藤酮的毒性 用 100～400 nmol/L 的鱼藤酮处理 24 h 后,检测三组细胞的存活率. 结果显示(图 5),随着鱼藤酮浓度的增加,SH-SY5Y、SH-SY5Y(NES)、SH-SY5Y(NLS)三组细胞的存活率均呈现不同程度的下降,SH-SY5Y 组细胞存活率下降比定位过表达组显著. 当用 400 nmol/L 鱼藤酮作用于细胞时,α-突触核蛋白核定位过表达的细胞对抗了鱼藤酮

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

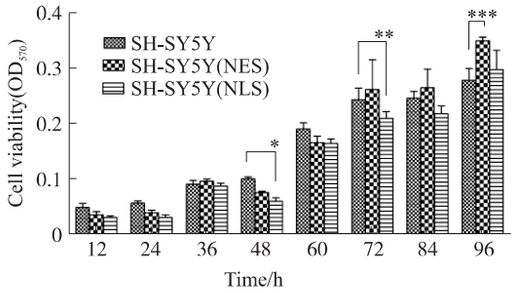


图 3　不同时间点 SH-SY5Y、SH-SY5Y(NES)、SH-SY5Y(NLS)细胞的活性

Fig. 3　Cell viability of SH-SY5Y、SH-SY5Y(NES)、SH-SY5Y(NLS) cells at different time points($n=8$, $*P<0.05$, $**P<0.01$, $***P<0.001$ vs SH-SY5Y)

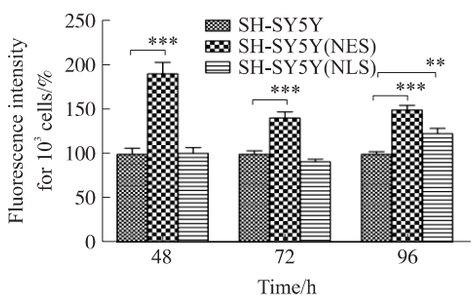


图 4　胞质和核定位 α-突触核蛋白过表达使 SH-SY5Y 细胞的线粒体数量发生变化

Fig. 4　Mitochondrial amount changes of cytoplasm localized or nuclear localized overexpression α-synuclein on SH-SY5Y cells($n=5$, $**P<0.01$, $***P<0.001$ vs SH-SY5Y)

的毒性,保持了较高的活性,与正常细胞相比具有显著性差异($P<0.01$).

2.5　α-突触核蛋白定位过表达未影响细胞对 H_2O_2 的敏感性　用 50～800 μmol/L 的 H_2O_2 处理 1 h 后,检测三组细胞的存活率.结果显示(图 6),随着 H_2O_2 浓度的增加,SH-SY5Y、SH-SY5Y(NES)、SH-SY5Y(NLS)三组细胞的存活率均呈现不同程度的下降.α-突触核蛋白胞质定位过表达的 SH-SY5Y 细胞与正常 SH-SY5Y 细胞相比具有较高的细胞活性,但并不具有统计学差异.在不同浓度 H_2O_2 处理下,α-突触核蛋白的定位过表达并没有影响 SH-SY5Y 细胞的活性.

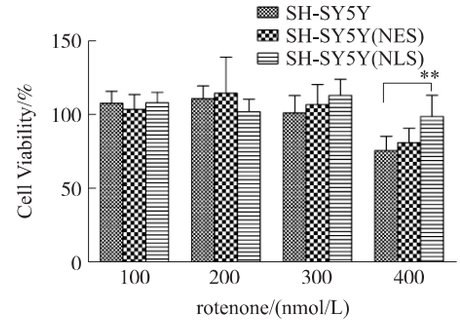


图 5　不同浓度鱼藤酮对 α-突触核蛋白定位过表达 SH-SY5Y 细胞活性的影响

Fig. 5　Cell viability of SH-SY5Y、SH-SY5Y(NES)、SH-SY5Y(NLS) treated by rotenone($n=5$, $**P<0.01$)

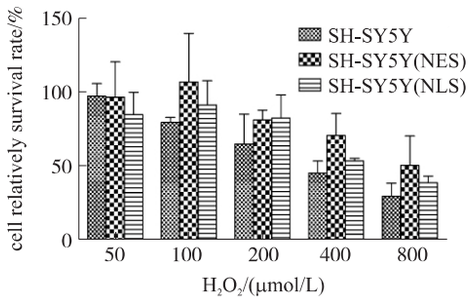


图 6　H_2O_2 对 α-突触核蛋白定位过表达 SH-SY5Y 细胞活性的影响

Fig. 6 Cell viability of SH-SY5Y、SH-SY5Y(NES)、SH-SY5Y(NLS) treated by H_2O_2($n=5$)

3　讨　论

α-突触核蛋白是与 PD 发病密切相关的一个蛋白家族,自从 Maroteaux L 等[9]于 1988 年首次报道 α-突触核蛋白定位于突触终末与核,大多数的研究工作都集中研究分布于突触终末的 α-突触核蛋白的可能病理生理作用,尽管如此,其明确的作用机制尚未得到阐明[10].该研究应用课题组构建的 PLVU-SNCA-NES(NLS)-2A-EGFP 重组慢病毒载体转染 SH-SY5Y 细胞,并对细胞中 α-突触核蛋白核定位和胞质定位过表达的影响进行初步研究.

慢病毒(lentivirus)载体是以 HIV-1(人类免疫缺陷 I 型病毒)为基础发展起来的基因治疗载体,它对分裂细胞和非分裂细胞均具有感

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

染能力,可以将外源基因有效地整合到宿主染色体上,从而达到持久性表达.本实验通过 PLVU-SNCA-NES(NLS)-2A-EGFP 重组慢病毒载体感染 SH-SY5Y 细胞,检测到报告基因 EGFP 的表达,证实该重组慢病毒载体成功转染 SH-SY5Y 细胞,本实验室先前的报道也证实该慢病毒载体可以稳定转染 293FT 细胞,并通过蛋白质印迹法发现 α-突触核蛋白胞质定位转染的细胞胞质内 α-突触核蛋白的表达与核定位组相比有明显的增多,而核定位组细胞在胞核内的表达也明显多于胞质定位组[11].

α-突触核蛋白胞质定位和核定位过表达的 SH-SY5Y 细胞在培养 12～96 h 之后活性产生变化.其中,胞质定位过表达的 α-突触核蛋白使得细胞培养 96 h 之后活性增加 25.79%,这与 Feany 等[12]在对过表达 α-突触核蛋白的果蝇 PD 模型研究中发现的 α-突触核蛋白胞质定位聚集表现为保护效应是一致的.然而 α-突触核蛋白核定位过表达的毒性作用在本研究中得到的结果并不明确.实验中发现 α-突触核蛋白核定位过表达使得培养 12～96 h 的细胞活性有下降趋势,在 48 和 72 h 时,细胞活性明显下降,与正常细胞组相比,下降了 40.44%和 13.79%.

MTT 活性的升高有可能是由于线粒体数目增多导致的,因而我们对细胞中线粒体数目进行检测.结果发现胞质定位过表达的 α-突触核蛋白会使得培养了 48～96 h 的细胞中线粒体数目显著上升,但是 SH-SY5Y(NES)细胞在 48～72 h 时,MTT 活性并没有升高,因此胞质定位过表达的 α-突触核蛋白会使得细胞中线粒体数目增多,而在 96 h 时,MTT 活性增高,说明胞质定位过表达的 α-突触核蛋白会对细胞产生保护作用,其机制有可能和线粒体有关;同时核定位过表达的 α-突触核蛋白在 96 h 时才会引起细胞中线粒体数目的增多,但是 SH-SY5Y(NLS)细胞在 48～72 h 时 MTT 活性下降,因此说明,α-突触核蛋白核定位过表达能够影响细胞分裂,减少细胞数量,并且对线粒体功能产生影响,而在 96 h 时引起的线粒体数目的增多可能是对线粒体功能出现缺陷而产生的反馈机制[13,14].很多研究[15～17]发现,α-突触核蛋白的过表达通过损伤线粒体的结构和功能而产生神经毒性作用,但其具体的机制有待进一步研究.

最新文献报道[18],在基因—环境相互作用的 PD 模型中,α-突触核蛋白表现出毒性/保护双重作用.其中,鱼藤酮、代森锰等环境毒素损伤条件下,野生型 α-突触核蛋白过表达具有神经保护作用[18];α-突触核蛋白过表达通过自噬作用保护神经细胞对抗鱼藤酮诱导的细胞死亡[19].本研究通过观察 SH-SY5Y、SH-SY5Y(NES)以及 SH-SY5Y(NLS)细胞对氧化应激损伤的敏感性的区别,发现 400 nmol/L 鱼藤酮处理 24 h 后,SH-SY5Y(NLS)细胞活性明显上升,SH-SY5Y(NES)有上升的趋势,却没有明显变化,同时给予 50～800 μmol/L H_2O_2 处理后,SH-SY5Y(NLS)和 SH-SY5Y(NES)细胞的活性相对正常细胞有增加的趋势,说明 α-突触核蛋白胞浆和核定位过表达后具有一定的神经保护作用.有研究发现 α-突触核蛋白的过表达能够增强 SH-SY5Y 细胞的抗氧化能力[20],这与实验研究中的结果是一致的,核定位 α-突触核蛋白转染使得细胞产生了一定程度的氧化应激而产生了对氧化应激的预适应,当再次遇到鱼藤酮和 H_2O_2 诱导的氧化应激作用时,表现出对氧化应激的耐受性,从而发挥了对神经细胞的保护作用.

综上所述,研究中通过成功构建的 PLVU-SNCA-NES(NLS)-2A-EGFP 重组慢病毒载体感染 SH-SY5Y 细胞,获得 α-突触核蛋白定位过表达的细胞模型,并初步检测 α-突触核蛋白定位过表达对细胞活性的影响.细胞中不同部位 α-突触核蛋白过表达在帕金森病发病中的作用还有待于进一步的研究.

References

[1] Ding Z, Ding H Q, Xie L, *et al*. Increased susceptiblity to H_2O_2 in SH-SY5Y cells affected by the desease of thioredoxin. Journal of Nanjing University (Natural Sciences), 2006, 42(5): 470～478. (丁 镇,丁红群,谢 丽等.鱼藤酮诱导 SH

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

－SY5Y 细胞对过氧化氢损伤易感性增高与硫氧还蛋白下调有关. 南京大学学报(自然科学),2006,42(5):470～480).

[2] Spillantini M G,Schmidt M L,Virginia M Y L,*et al*. α-Synuclein in Lewy bodies. Nature,1997,388(6645):839～840.

[3] Hatcher J M, Pennell K D, Miller G W. Parkinson's disease and pesticides:A toxicological perspective. Trends in Pharmacological Sciences,2008,29(6):322～329.

[4] Masliah E, Rockenstein E, Veinbergs I, *et al*. Dopaminergic loss and inclusion body formation in α-synuclein mice: implications for neurodegenerative disorders. Science,2000,287(5456):1265.

[5] Feany M B,Bender W W. A Drosophila model of Parkinson's disease. Nature,2000,404(6776):394～398.

[6] Zhao D L, Wang K. α-synuclein and Parkinson's disease. Chinese Medicinal Biotechnology,2010,5(004):300～304. (赵大龙,王　珂. α-synuclein 与帕金森病. 中国医药生物技术,2010,5(004):300～304).

[7] Takahashi M,Kanuka H,Fujiwara H,*et al*. Phosphorylation of[alpha]-synuclein characteristic of synucleinopathy lesions is recapitulated in[alpha]-synuclein transgenic Drosophila. Neuroscience Letters,2003,336(3):155～158.

[8] McLean P,Ribich S,IIvman B. Subcellular localization of a-synuclein in primary neuronal cultures:Effect of missense mutations. Advances in Research on Neurodegeneration,2000,7:53.

[9] Maroteaux L, Campanelli J, Scheller R. Synuclein: A neuron-specific protein localized to the nucleus and presynaptic nerve terminal. The Journal of Neuroscience,1988,8(8):2804.

[10] Cookson M R. The biochemistry of Parkinson's disease. Annual Review of Biochemistry, 2005,74:29～52.

[11] Xu M F,Qian J J,Gao J,*et al*. Construction of α-synucleinnuclear localization and nuclear export gene recombinant lentivirus vector. Journal of Jiangsu University(Medcine Edition),2011,21(2):139～142. (徐敏芳,钱进军,高　静等. 胞质定位和核定位突触核蛋白慢病毒表达载体的构建. 江苏大学学报(医学版),2011,21(2):139～142).

[12] Kontopoulos E,Parvin J D,Feany M B. alpha-synuclein acts in the nucleus to inhibit histone acetylation and promote neurotoxicity. Human Molecular Genetics,2006,15(20):3012～3023.

[13] Nugent S M E,Mothersill C E,Seymour C,*et al*. Increased mitochondrial mass in cells with functionally compromised mitochondria after exposure to both direct γ radiation and bystander factors. Radiation Research,2007,168(1):134～142.

[14] Xia S, Laterra J. Hepatocyte growth factor increases mitochondrial mass in glioblastoma cells. Biochemical and Biophysical Research Communications,2006,345(4):1358～1364.

[15] Zhu Y, Duan C, Lü L, *et al*. [alpha]-Synuclein overexpression impairs mitochondrial function by associating with adenylate translocator. The International Journal of Biochemistry & Cell Biology,2011,43(5):732～741.

[16] Parihar M S, Parihar A, Fujita M, *et al*. Alpha-synuclein overexpression and aggregation exacerbates impairment of mitochondrial functions by augmenting oxidative stress in human neuroblastoma cells. The International Journal of Biochemistry & Cell Biology,2009,41(10):2015～2024.

[17] Banerjee K,Sinha M,Pham C L L,*et al*. [alpha]-Synuclein induced membrane depolarization and loss of phosphorylation capacity of isolated rat brain mitochondria:Implications in Parkinson's disease. FEBS Letters,2010,584(8):1571～1576.

[18] Choong C J,Say Y H. Neuroprotection of α-synuclein under acute and chronic rotenone and maneb treatment is abolished by its familial Parkinson's disease mutations A30P,A53T and E46K. NeuroToxicology,2011,32(6):857～863.

[19] Dadakhujaev S,Noh H S,Jung E J,*et al*. Autophagy protects the rotenone-induced cell death in[alpha]-synuclein overexpressing SH-SY5Y cells. Neuroscience Letters,2010,472(1):47～52.

[20] Liu Y Y,Zhao H Y,Zhao C L,*et al*. Overexpression of α-synuclein in SH-SY5Y cells partially protected against oxidative stress induced by rotenone. Acta Physiologica Sinica,2006,58(05):421～428. (刘延英,赵焕英,赵春礼等. SH-SY5Y 细胞 α-突触核蛋白的过表达可部分抵抗鱼藤酮诱导的氧化应激. 生理学报,2006,58(05):421～428).

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net