

分类号：
学号：20232014022

密级：
单位代码：10759

石河子大学

硕士学位论文



组蛋白去甲基化酶（KDM5D） 在肝细胞癌中的机制研究

学位申请人	王晨杰
指导教师	吴向未 教授 陈雪玲 教授
申请学位门类级别	医学硕士
学科、专业名称	基础医学
研究方向	免疫学
所在学院	医学院

中国·新疆·石河子
2026年5月

分类号：
学号：20232014022

密级：
单位代码：10759

石河子大学

硕士学位论文



组蛋白去甲基化酶（KDM5D） 在肝细胞癌中的机制研究

学位申请人	王晨杰
指导教师	吴向未 教授 陈雪玲 教授
申请学位门类级别	医学硕士
学科、专业名称	基础医学
研究方向	免疫学
所在学院	医学院

中国·新疆·石河子
2026年5月

Study on the Mechanism of Histone Demethylase KDM5D

in Hepatocellular Carcinoma

A Dissertation Submitted to

Shihezi University

In Partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of

Master of Medicine

By

Wang Chenjie

(Immunology)

Dissertation Supervisor: Professor. Wu Xiangwei


Professor. Chen Xueling

May, 2026

石河子大学学位论文独创性声明及使用授权声明

学位论文独创性声明


本人所提交的学位论文是在我导师的指导下进行的研究工作及取得的研究成果。据我所知，除文中已经注明引用的内容外，本论文不包含其他个人已经发表或撰写过的研究成果。对本文的研究做出重要贡献的个人和集体，均已在文中作了明确的说明并表示谢意。

研究生签名： 


时间： 2026 年 5 月 24 日

使用授权声明

本人完全了解石河子大学有关保留、使用学位论文的规定，学校有权保留学位论文并向国家主管部门或指定机构送交论文的电子版和纸质版。有权将学位论文在学校图书馆保存并允许被查阅。有权自行或许可他人将学位论文编入有关数据库提供检索服务。有权将学位论文的标题和摘要汇编出版。保密的学位论文在解密后适用本规定。

研究生签名： 

时间： 2026 年 5 月 24 日

导师签名： 

时间： 2026 年 5 月 24 日

摘要

目的:

肝细胞癌 (hepatocellular carcinoma, HCC) 是常见且高度致死的消化系统恶性肿瘤, 缺氧微环境在其侵袭、迁移及转移过程中发挥重要作用。KDM5D 作为 KDM5 家族成员, 其在 HCC 中的表达特征、生物学功能及缺氧相关调控机制尚未完全明确。本研究旨在系统评估 KDM5D 在 HCC 中的表达水平及其对肝癌进展的影响及相关机制。

方法:

(1) 采用免疫组织化学 (immunohistochemistry, IHC) 和 Western blot (WB) 检测临床肝癌组织及对照组织中 KDM5D 的表达, 并结合 TIMER2、TNMplot 等公共数据库分析其在肝细胞癌队列中的表达差异。

(2) 筛选 KDM5D 表达较高的肝癌细胞系, 构建 KDM5D 稳定敲低细胞模型, 并通过 RT-qPCR 和 WB 验证敲低效率; 采用 CCK-8、克隆形成实验、Transwell 迁移实验及 EMT 相关蛋白检测评价 KDM5D 对细胞增殖、迁移及 EMT 表型的影响。

(3) 建立裸鼠皮下移植瘤模型和尾静脉肺定植模型, 评估 KDM5D 对体内肿瘤生长及远处定植能力的作用。

(4) 利用 JASPAR 预测 KDM5D 启动子区 HIF1A 结合位点, 并通过 ChIP-qPCR 验证其富集; 采用 HIF1A siRNA、HIF1A 过表达及 CoCl₂ 缺氧模拟处理, 检测 HIF1A 对 KDM5D 表达及相关迁移、EMT 表型的调控作用。

结果:

(1) 临床样本检测显示, 肝癌组织中 KDM5D 的 IHC 阳性信号较对照组织增强, 并主要定位于细胞核 ($P < 0.05$); WB 及灰度定量进一步证实肿瘤组织中 KDM5D 蛋白表达升高 ($P < 0.01$)。公共数据库分析结果与临床样本趋势一致, TIMER2 显示 KDM5D 在 LIHC 中较正常组织升高 ($P < 0.01$), TNMplot 提示肿瘤组织表达升高且转移样本呈进一步升高趋势 ($P = 0.0427$)。

(2) 细胞实验显示, 三条 shRNA 均可下调 KDM5D, 其中 sh-4048 敲低效率最为稳定 (mRNA, $P < 0.001$; 蛋白, $P < 0.01$)。功能实验表明, 敲低 KDM5D 对细胞增殖无明显影响, 但可显著抑制肝癌细胞迁移 ($P < 0.01$), 并伴随 EMT 相关蛋白表达改变, 表现为 E-cad 上调, N-cad、Vim、Slug、Snail 等下调 ($P < 0.05$), 提示 EMT 过程受到抑制。

(3) 动物实验显示, KDM5D 敲低可抑制裸鼠皮下移植瘤生长, 肿瘤体积生长曲线整体低于对照组 ($P < 0.0001$), 终点肿瘤体积显著降低 ($P < 0.001$); 尾静脉肺定植模型中, KDM5D 敲低组肺部成瘤率低于对照组。

(4) 机制实验表明, HIF-1 α 可在细胞内富集于 KDM5D 启动子目标区域 ($P < 0.05$), CoCl₂

缺氧模拟可上调 HIF-1 α 并伴随 KDM5D 表达变化 ($P < 0.05$)。HIF1A siRNA 抑制或 HIF1A 过表达均可引起 KDM5D 蛋白水平相应改变 (均 $P < 0.05$)。在 KDM5D 敲低背景下, HIF1A 过表达或 CoCl₂ 处理可部分恢复细胞迁移能力 (分别 $P < 0.001$ 、 $P < 0.01$), 并使 EMT 相关蛋白出现一定程度回复 ($P < 0.05$), 提示 HIF1A 对迁移及 EMT 网络的促进作用与 KDM5D 状态密切相关。

结论:

KDM5D 在肝癌组织及公共数据库中均呈显著高表达, 且表达水平与肝癌恶性进展密切相关。细胞实验表明, 敲低 KDM5D 对肝癌细胞增殖无明显影响, 但能够显著抑制细胞迁移、逆转上皮间质转化表型, 同时减弱肿瘤体内成瘤能力与肺转移定植能力。机制层面, 缺氧核心因子 HIF1A 可靶向结合 KDM5D 启动子, 在缺氧微环境下调控其转录表达。功能与蛋白验证证实, KDM5D 是介导 HIF1A 促细胞迁移、诱导上皮间质转化的关键下游分子。综上, HIF1A-KDM5D-EMT 信号轴参与缺氧微环境介导的肝癌恶性演进, 该研究为将 KDM5D 视作肝癌潜在治疗靶点奠定了实验基础。

关键词: 肝细胞癌; KDM5D; HIF1A; 缺氧; 上皮-间质转化; 迁移与转移

Abstract

Objective:

Hepatocellular carcinoma (HCC) is a common and highly lethal malignancy of the digestive system. The hypoxic microenvironment plays an important role in HCC invasion, migration, and metastasis. KDM5D, a member of the KDM5 family, remains incompletely characterized in terms of its expression profile, biological function, and hypoxia-related regulatory mechanisms in HCC. This study aimed to systematically evaluate KDM5D expression in HCC and its effects on hepatoma cell migration, epithelial-mesenchymal transition (EMT), *in vivo* tumorigenesis, and pulmonary colonization, and to further explore the upstream regulatory role of the hypoxia-related transcription factor HIF1A on KDM5D, thereby providing experimental evidence for the involvement of the HIF1A-KDM5D-EMT axis in HCC malignant progression.

Methods:

Immunohistochemistry (IHC) and Western blotting (WB) were used to detect KDM5D expression in clinical HCC tissues and control tissues. Public databases, including TIMER2 and TNMplot, were used to analyze differential KDM5D expression in HCC cohorts.

HCC cell lines with relatively high KDM5D expression were screened, and stable KDM5D knockdown cell models were established. Knockdown efficiency was verified by RT-qPCR and WB. CCK-8 assays, colony formation assays, Transwell migration assays, and detection of EMT-related proteins were performed to evaluate the effects of KDM5D on cell proliferation, migration, and EMT phenotype.

Nude mouse subcutaneous xenograft models and tail vein pulmonary colonization models were established to assess the effects of KDM5D on *in vivo* tumor growth and distant colonization ability.

JASPAR was used to predict potential HIF1A binding sites in the KDM5D promoter region, and CHIP-qPCR was performed to verify HIF1A enrichment. HIF1A siRNA, HIF1A overexpression, and CoCl₂-induced hypoxia-mimetic treatment were used to examine the regulatory effects of HIF1A on KDM5D expression, cell migration, and EMT-related phenotypes.

Results:

Clinical sample analysis showed that KDM5D-positive IHC signals were stronger in HCC tissues than in control tissues and were mainly localized in the nucleus ($P < 0.05$). WB and grayscale quantification further confirmed increased KDM5D protein expression in tumor tissues ($P < 0.01$). Public database analyses were consistent with the clinical sample results. TIMER2 showed that KDM5D expression was higher in LIHC tissues than in normal tissues ($P < 0.01$), and TNMplot indicated elevated KDM5D expression in tumor tissues, with a further increasing trend in metastatic samples ($P = 0.0427$).

Cellular experiments showed that all three shRNAs downregulated KDM5D, among which sh-4048

exhibited the most stable knockdown efficiency (mRNA, $P < 0.001$; protein, $P < 0.01$). Functional assays demonstrated that KDM5D knockdown had no obvious effect on cell proliferation but significantly inhibited HCC cell migration ($P < 0.01$). This was accompanied by changes in EMT-related protein expression, including upregulation of E-cadherin and downregulation of N-cadherin, vimentin, Slug, and Snail ($P < 0.05$), suggesting inhibition of the EMT process.

Animal experiments showed that KDM5D knockdown suppressed the growth of subcutaneous xenograft tumors in nude mice. The tumor growth curve was lower in the KDM5D knockdown group than in the control group ($P < 0.0001$), and the final tumor volume was significantly reduced ($P < 0.001$). In the tail vein pulmonary colonization model, the pulmonary tumor formation rate was lower in the KDM5D knockdown group than in the control group.

Mechanistic experiments showed that HIF-1 α was enriched at the target region of the KDM5D promoter in cells ($P < 0.05$). CoCl₂-induced hypoxia-mimetic treatment upregulated HIF-1 α and was accompanied by changes in KDM5D expression ($P < 0.05$). HIF1A siRNA-mediated inhibition or HIF1A overexpression induced corresponding changes in KDM5D protein levels (both $P < 0.05$). Under KDM5D knockdown conditions, HIF1A overexpression or CoCl₂ treatment partially restored cell migration ability ($P < 0.001$ and $P < 0.01$, respectively) and partially reversed EMT-related protein changes ($P < 0.05$), suggesting that the pro-migratory and EMT-promoting effects of HIF1A are closely associated with KDM5D status.

Conclusion:

KDM5D is consistently upregulated in HCC tissues and public database analyses, and its expression is associated with malignant progression of HCC. Although KDM5D knockdown does not significantly affect HCC cell proliferation, it suppresses cell migration, attenuates the EMT phenotype, and reduces in vivo tumorigenic and pulmonary colonization abilities. HIF1A can bind to the KDM5D promoter region and regulate its expression under hypoxia-related conditions. Functional and protein-level evidence supports that KDM5D may serve as an important downstream mediator of HIF1A-induced migration and EMT. These findings suggest that the HIF1A-KDM5D-EMT axis may participate in hypoxia-driven malignant progression of HCC and provide experimental evidence for KDM5D as a potential therapeutic target.

Keywords: hepatocellular carcinoma; KDM5D; HIF1A; hypoxia; epithelial-mesenchymal transition; migration and metastasis.

目录

摘要.....	I
Abstract	III
目录.....	V
中英文缩略词对照表.....	VII
前言.....	1
1 材料和方法.....	3
1.1 材料.....	3
1.1.1 研究对象.....	3
1.1.2 主要试剂及耗材.....	4
1.1.3 设计合成.....	9
1.1.4 主要试剂配制.....	10
1.2 方法.....	11
1.2.1 细胞培养.....	11
1.2.2 细胞转染.....	14
1.2.3 细胞功能学验证.....	19
1.2.4 蛋白免疫印迹实验.....	23
1.2.5 染色质免疫共沉淀相关实验.....	25
1.2.6 RT-qPCR 相关实验.....	28
1.2.7 琼脂糖凝胶电泳实验.....	30
1.2.8 免疫组织化学染色.....	31
1.2.9 建立裸鼠皮下瘤模型.....	32
1.2.10 建立裸鼠尾静脉注射肺转移模型.....	32
1.2.11 统计方法.....	32
2 结果.....	33
2.1 KDM5D 在肝癌患者组织中表达上调.....	33
2.1.1 IHC 结果显 KDM5D 在肝癌组织中表达升高.....	33
2.1.2 WB 验证肝癌组织中 KDM5D 蛋白水平升高.....	34
2.2 公共数据库与细胞系证实 KDM5D 在肝癌中高表达.....	36
2.2.1 TIMER2 泛癌分析 KDM5D 在 LIHC 中表达升高.....	36
2.2.2 TNMplot 在线工具验证肿瘤及转移组织中表达升高.....	36
2.2.3 肝癌细胞系中 KDM5D 表达验证并确定后续研究模型.....	36
2.3 构建 KDM5D 稳定敲低细胞株并筛选慢病毒序列.....	38
2.3.1 RT-qPCR 验证三条 shRNA 均可敲低 KDM5D mRNA.....	38

2.3.2	WB 验证 KDM5D 蛋白敲低效果	38
2.4	敲低 KDM5D 对细胞增殖影响不显著	39
2.4.1	增殖相关实验未观察到一致变化趋势	39
2.5	敲低 KDM5D 抑制肝癌细胞迁移并影响 EMT 相关蛋白表达	41
2.5.1	敲低 KDM5D 抑制 MHCC-97H 与 HCCLM3 细胞迁移能力	41
2.5.2	敲低 KDM5D 导致 EMT 相关蛋白发生改变	41
2.6	敲低 KDM5D 抑制裸鼠皮下移植瘤生长	43
2.6.1	建立皮下成瘤模型并监测肿瘤体积变化	43
2.6.2	剥离肿瘤组织并进行体积统计证实敲低 KDM5D 抑制生长	43
2.7	敲低 KDM5D 降低尾静脉注射后肺部定植能力	44
2.7.1	肺转移模型敲低 KDM5D 可减少肺部肿瘤灶	45
2.8	HIF-1 α 可能直接结合 KDM5D 启动子并调控其表达	45
2.8.1	JASPAR 预测 HIF-1 α 在 KDM5D 启动子存在潜在结合位点	46
2.8.2	ChIP 实验证明 HIF-1 α 可在细胞内与 KDM5D 启动子区域特异性结合	46
2.8.3	缺氧模拟 (CoCl ₂) 条件下 KDM5D 蛋白表达升高	46
2.9	HIF1A 及缺氧模拟可促进 KDM5D 表达	47
2.9.1	HIF1A siRNA 干扰使 KDM5D 降低	48
2.9.2	过表达 HIF1A 促进 KDM5D 表达	48
2.9.3	联合 CoCl ₂ 缺氧模拟强化 HIF1A 对 KDM5D 调控	48
2.10	HIF1A 过表达或缺氧可挽救 KDM5D 敲低导致的迁移下降	49
2.10.1	过表达 HIF1A 可部分恢复干扰 KDM5D 降低的迁移能力	49
2.10.2	CoCl ₂ 缺氧模拟可挽救迁移抑制	50
2.11	KDM5D 介导 HIF1A 影响 EMT 相关蛋白	51
2.11.1	HIF1A 过表达 (及缺氧模拟) 重塑 EMT 相关蛋白表达	51
2.11.2	KDM5D 参与 HIF1A 介导的 EMT 相关蛋白表达	51
3	讨论	54
	结论	57
	综述	58
	参考文献	64
	致谢	70
	作者简介	71
	导师评阅表	72

中英文缩略词对照表

英文缩写	英文全名	中文译名
CCK-8	Cell Counting Kit-8	细胞计数试剂盒
Ct	Cycle Threshold	循环阈值
ChIP	Chromatin Immunoprecipitation	染色质免疫沉淀
DMSO	Dimethyl Sulfoxide	二甲基亚砜
E-cad	Epithelial Cadherin	上皮钙黏蛋白
DSS	Disease Specific Survival	疾病特异性生存期
EdU	5-Ethynyl-2'-Deoxyuridine	5-乙炔基-2'脱氧尿嘧啶核苷
EMT	Epithelial-Mesenchymal Transition	上皮间质转化
FBS	Fetal Bovine Serum	胎牛血清
GEO	Gene Expression Omnibus	基因表达综合数据库
GSEA	Gene Set Enrichment Analysis	基因组富集分析
HIF1A	Hypoxia Inducible Factor 1 Subunit Alpha	低氧诱导因子 1 α 亚基
KDM5D	Lysine Demethylase 5D	赖氨酸去甲基化酶 5D
N-cad	Neural Cadherin	神经钙黏蛋白
OD	Optical Density	光密度
OS	Overall Survival	总体生存率
PBS	Phosphate Buffered Saline	磷酸缓冲盐溶液
PFS	Progression Free Survival	无进展生存率
PMSF	Phenylmethanesulfonyl Fluoride	苯甲基磺酰氟
PVDF	Poly Vinylidene Fluoride	聚偏氟乙烯
RT-qPCR	Real-time Quantitative Polymerase Chain Reaction	实时荧光定量聚合酶链反应
RFS	Recurrence Free Survival	无复发生存率
SDS	Sodium Dodecyl Sulfate	十二烷基磺酸钠
SLUG	Snail Family Transcriptional Repressor 2	蜗牛家族转录抑制因子 2
SNAIL	Snail Family Transcriptional Repressor 1	蜗牛家族转录抑制因子 1
TCGA	The Cancer Genome Atlas	癌症基因组图谱
TEMED	N, N, N', N'-Tetramethylethylenediamine	四甲基乙二胺
Tris	Tris (hydroxymethyl) aminomethane	三羟甲基氨基甲烷
VIM	Vimentin	波形蛋白
WB	Western blot	蛋白免疫印迹

前言

肝细胞癌 (hepatocellular carcinoma, HCC) 是全球范围内高发且高致死的消化系统恶性肿瘤之一, 疾病负担仍处于高位并呈持续增长趋势^[1-3]。尽管外科切除、消融、介入及系统治疗等策略不断进步, 但 HCC 由于异质性强、早期隐匿、复发转移率高以及系统治疗有效率有限, 整体预后仍不理想^[4-6]。近年来免疫治疗为部分患者带来获益, 但总体有效率仍有限, 且疗效明显受肿瘤免疫微环境及分子特征影响, 因此仍亟需从关键机制节点出发寻找更可转化的干预靶点与联合治疗策略^[7,8]。

肿瘤缺氧微环境被认为是推动 HCC 恶性进展的重要驱动因素之一。肿瘤快速生长与异常血管结构导致氧供不足, 缺氧可系统性重塑肿瘤细胞代谢、转录与信号通路, 并与侵袭转移、治疗耐受及免疫抑制密切相关^[6, 9, 10]。缺氧应答的核心转录因子 HIF-1 α (HIF1A) 可结合靶基因启动子区域的缺氧反应元件 (hypoxia response element, HRE), 驱动广泛的下游转录网络, 从而促进肿瘤细胞获得更强的生存与侵袭能力。在 HCC 中, 缺氧 HIF1A 信号与侵袭转移、血管侵犯等恶性特征存在相关性, 并被认为是连接微环境压力-恶性表型的关键枢纽^[11, 12]。

缺氧驱动肿瘤进展的重要机制之一是诱导上皮-间质转化 (epithelial-mesenchymal transition, EMT)。EMT 过程中, 肿瘤细胞表现为 E-cad 下降、N-cad 及 Vim 升高, 并伴随 Slug/Snail 等转录因子激活, 从而获得迁移侵袭优势^[13, 14]。在 HCC 中, 缺氧可通过 HIF1A 激活 EMT 关键转录因子并促进迁移侵袭能力增强^[15]; 同时, 缺氧诱导的 EMT 还可进一步塑造免疫抑制微环境, 从而促进转移发生^[16]。EMT 研究领域也强调表型可塑性与网络化调控的概念, EMT 常以蛋白网络或转录网络的整体偏移呈现, 而非单一分子变化^[14]。因此, 从缺氧-HIF1A-EMT-迁移及转移定植的链条中识别关键中介节点, 是理解 HCC 恶性进展并寻找靶向切入点的重要方向。

表观遗传调控是缺氧适应与肿瘤可塑性的关键基础机制之一。组蛋白修饰 (甲基化/去甲基化) 可改变染色质开放性与转录因子可及性, 进而影响转录程序、细胞命运决定与肿瘤表型转换^[17-19]。赖氨酸去甲基化酶 (lysine demethylases, KDMs) 作为重要“橡皮擦 (erasers)”, 在多种肿瘤中与干性维持、耐药及转移相关, 并呈现明显的背景依赖性^[17, 20]。KDM5 (JARID1) 亚家族主要去除 H3K4me3/2 活性标记, 从而在转录层面广泛调控基因表达; 其结构基础与抑制剂开发亦被持续推进, 使其具备潜在药物可成性^[21, 22]。在肝癌领域, 部分 KDM 成员已被报道与恶性表型相关。例如 KDM5B 在 HCC 中与肿瘤生长和预后相关, 并可促进肝癌细胞自我更新与进展^[23, 24]; 同时, KDM1A (LSD1) 也被报道可通过表观遗传方式调控免疫抑制相关分子 (如 PD-L1) 从而影响 HCC 免疫

微环境^[25, 26]。这些证据提示：KDM 家族可能是连接缺氧信号与 HCC 恶性进展的重要表观遗传层面节点。

在上述研究框架下，KDM5D(JARID1D)作为 KDM5 家族中位于 Y 染色体的成员，其肿瘤生物学意义近年来逐渐受到关注。KDM5D 被报道可参与肿瘤性别差异相关表型，并可能通过影响细胞黏附与肿瘤免疫等过程介入肿瘤进展^[27]；此外，Y 染色体缺失所致的 KDM5D 下调也被认为会影响肿瘤表观遗传状态^[28]。近期研究还提示 KDM5D 可通过酶学活性影响关键信号通路从而介入肿瘤进程^[29]。然而，在 HCC 背景下，KDM5D 的表达特征、关键功能表型以及其与缺氧 HIF1A 轴的关系仍缺乏系统阐明。考虑到缺氧模拟常用 CoCl₂ 稳定 HIF1A 并诱导缺氧应答^[30]，从缺氧 HIF1A-KDM5D-EMT-迁移的角度构建机制链条具有明确的实验可行性与生物学意义。

基于此，本研究以临床组织与公共数据库分析为起点明确 KDM5D 在 HCC 中的表达状态，并在 MHCC-97H 与 HCCLM3 细胞中建立稳定敲低体系，重点评估其对迁移与 EMT 相关蛋白的影响，同时通过裸鼠皮下成瘤与尾静脉肺定植模型验证其体内效应；机制层面通过启动子结合位点预测、染色质免疫沉淀-定量 PCR (ChIP-qPCR) 验证以及 HIF1A 干预缺氧模拟与挽救实验，系统检验 HIF1A-KDM5D-EMT 链条在肝癌缺氧相关恶性进展中的作用，为后续靶向缺氧信号或表观遗传节点的干预策略提供更具可转化价值的实验依据。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 研究对象

1.1.1.1 公共数据库分析

表 1-1 公共数据库分析

名称	链接网址	目的
GEO 数据库	https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/	下载肝癌组织基因表达数据和临床信息
JASPAR 数据库	https://jaspar.elixir.no	预测可能影响 KDM5D 表达水平的调节因子结合位点
TCGA 数据库	https://www.cancer.gov/ccg/research/genome-sequencing/tcga	下载肝癌组织基因表达数据和临床信息
TIMER2.0 数据库	http://timer.cistrome.org/	分析泛癌中 KDM5D 基因的表达水平
TNM PLOT	https://tnmplot.com/analysis/	分析肝癌中 KDM5D 在正常、肿瘤、转移组织中的表达水平

1.1.1.2 肝癌细胞系

肝癌细胞系 MHCC-97H、HCCLM3、HuH-7、Hep3B、HepG2、SNU-387 均购于中国科学院。

1.1.1.3 人类组织样本

本研究所用人类组织样本来源于石河子大学第一附属医院 2019 年至 2024 年收治的肝癌患者组织蜡块，20 例癌旁组织及 37 例肿瘤组织蜡块。研究方案已通过石河子大学第一附属医院伦理委员会审查批准，伦理批号为 KJ2025-290-01。

1.1.1.4 实验动物

4 周龄 BALB/c 雄性裸鼠（体重约 18~20 g）购买于斯贝福（北京）生物技术有限公司（许可证号：SCXK（京）2024-0001），实验方案由石河子大学医学院实验动物伦

理委员会审查获批（批号为 A2026-685）。

1.1.2 主要试剂及耗材

1.1.2.1 RNA 实验相关主要消耗性试剂以及耗材

表 1-2 RNA 实验相关主要消耗性试剂以及耗材

主要试剂以及耗材	公司
无酶管（1.5 mL/4.5 mL）	Axygen 公司
无酶吸头（10 μ L/200 μ L/1 mL）	Axygen 公司
RNA 提取试剂盒 E.N.Z.A. Total RNA Kit I	Omega Bio-Tek 有限公司
无水乙醇	北京国药有限公司
实时荧光定量 PCR 试剂盒 Fast SYBR Mixture	北京康为生物科技有限公司
50 \times TAE 缓冲液	北京索莱宝科技有限公司
琼脂糖（BBI）	北京索莱宝科技有限公司
DNase/RNase Free Water	北京天根有限公司
移液枪	德国 Eppendorf 公司
平盖八连排	中国生工生物工程有限公司
无菌细胞培养板（6/12/24/96 孔板）	中国生工生物工程有限公司

1.1.2.2 细胞实验相关主要消耗性试剂以及耗材

表 1-3 细胞实验相关主要消耗性试剂以及耗材

主要试剂以及耗材	公司
1 \times PBS 缓冲液	北京索莱宝科技有限公司
4%多聚甲醛	北京索莱宝科技有限公司
Triton [®] X-100	北京索莱宝科技有限公司
100 \times 青-链霉素混合液	北京索莱宝科技有限公司
胰蛋白酶（0.25%EDTA）不含酚红	北京索莱宝科技有限公司
1%结晶紫染液	北京索莱宝科技有限公司
DNase/RNase Free Water	北京天根有限公司
15 mL/50 mL 离心管	美国 Corning 公司
100 cm 细胞培养皿	美国 Corning 公司
T25 细胞培养瓶	美国 Corning 公司
细胞培养板（6/12/96 孔）	美国 Corning 公司
0.8 μ m Transwell 小室	美国 Corning 公司

主要试剂以及耗材	公司
Edu Imaging Kits (cy3)	美国 APExBIO 生物科技有限公司
离心管 (15 mL/50 mL)	美国 Corning 公司
OPTI-MEM 培养基	美国 GIBCO 公司
RPMI-1640 培养基	美国 GIBCO 公司
DMEM 高糖培养基	美国 GIBCO 公司
胎牛血清	美国 GIBCO 公司
Lipofectamine®2000 Regent	美国赛默飞世尔科技有限公司
Lipofectamine®3000 Regent	美国赛默飞世尔科技有限公司
CCK-8	日本同仁技术有限公司
si-RNA 及 si-NC	上海吉玛基因有限公司
KDM5D 及对照慢病毒	上海吉玛基因有限公司
质粒小提试剂盒	北京天根有限公司
细胞冻存管	美国 Corning 公司

1.1.2.3 动物实验相关主要消耗性试剂以及耗材

表 1-4 动物实验相关主要消耗性试剂以及耗材

试剂以及耗材	公司
生理盐水	科伦药业公司
75%酒精	山东利尔康医疗公司
碘伏	山东利尔康医疗公司
手术剪、组织剪、镊子、血管钳	上海医疗器械公司
游标卡尺	温州三和量具仪器有限公司
电子秤	美国 METTLER TOLEDO 公司

1.1.2.4 免疫组织化学染色相关主要消耗性试剂和耗材

表 1-5 免疫组织化学染色主要消耗性试剂以及耗材

试剂以及耗材	公司
无水酒精	天津市富宇精细化工有限公司
二甲苯	天津市富宇精细化工有限公司
10% 福尔马林溶液	北京索莱宝科技有限公司
伊红染液	北京索莱宝科技有限公司
酸酒精	北京索莱宝科技有限公司