

Đánh giá mức độ sao chép mRNA và khả năng biểu hiện protein HIP ở mô ung thư vú

Đặng Thị Tuyết Minh¹, Lê Thị Phương^{2,*}

¹Trường Cao đẳng Y tế Hà Đông

²Trường Đại học Kỹ thuật Y tế Hải Dương

Nhận ngày 15 tháng 4 năm 2014

Chỉnh sửa ngày 28 tháng 4 năm 2014; Chấp nhận đăng ngày 14 tháng 5 năm 2014

Tóm tắt: Nhiều nghiên cứu khoa học đã khẳng định sự tăng cường tổng hợp HIP được biểu hiện ở cả mức độ RNA và protein. Đặc biệt sự tăng cường tổng hợp này còn liên quan chặt chẽ tới giai đoạn phát triển, tình trạng biệt hoá và mức độ ác tính của từng dòng tế bào. Để đánh giá mức độ sao chép mRNA và biểu hiện protein *HIP* theo các giai đoạn phát triển và các thể tế bào học khác nhau của mô ung thư vú, chúng tôi đã tách chiết RNA tổng số từ 62 mẫu mô (47 mẫu ung thư và 15 mẫu mô u xơ vú); tổng hợp cDNA bằng kỹ thuật sao chép ngược (reverse transcript-polymerase chain reaction/RT-PCR); sau đó, đánh giá mức độ sao chép mRNA và biểu hiện protein HIP bằng kỹ thuật RT-PCR bán định lượng và kỹ thuật Western blot. Kết quả cho thấy, mức độ biểu hiện mRNA và protein HIP khác biệt một cách rõ rệt giữa mô ung thư và u xơ vú, đặc biệt sự khác nhau này còn phụ thuộc vào các giai đoạn phát triển và các thể loại tế bào học khác nhau của ung thư.

Từ khóa: Biểu hiện, HIP/L29, sao chép, RT-PCR, ung thư vú.

1. Mở đầu

Ung thư vú xuất hiện là do sự phát triển ác tính của các tế bào biểu mô lót bên trong lòng ống và tiểu thùy của tuyến vú. Đây là loại ung thư đứng hàng đầu đối với phụ nữ ở độ tuổi 40-60, tuy nhiên những năm gần đây bệnh xuất hiện cả ở phụ nữ còn trẻ trong độ tuổi 20-30 với tần số tăng dần. Theo thống kê của Tổ chức Ung thư Mỹ (Society, 2008), tỷ lệ mắc là 92,04/100000 dân ở châu Âu và 67,48/100000 dân trên toàn thế giới. Năm 2007, ở Mỹ có khoảng 238.510 phụ nữ mới được chẩn đoán

ung thư vú, bao gồm 2 loại ung thư: 178.480 ca ung thư xâm lấn (invasive breast cancer) và 60.030 ca ung thư không lan tỏa (*in situ*), ước đoán khoảng 40.460 bệnh nhân đã chết. Ở Việt Nam, theo ghi nhận của bệnh viện K năm 2010, tỷ lệ mắc ung thư vú là 30/100000 phụ nữ tại Hà Nội còn ở thành phố Hồ Chí Minh tỷ lệ này là 20/100000 [1]. Bệnh này, nếu được phát hiện sớm và điều trị kịp thời, đúng phương pháp sẽ kéo dài thời gian hoặc hoàn toàn khỏi bệnh và tiết kiệm chi phí điều trị rất nhiều.

Heparan sulfate interacting protein (HIP) là protein màng tế bào có khả năng gắn đặc hiệu và chọn lọc với heparin/heparan sulfate, thông qua đó tham gia vào quá trình tương tác tế bào-tế bào [2, 3]. Quá trình này đóng vai trò quan

* Tác giả liên hệ. ĐT: 84-982181195.
E-mail: phuongsinh@ymail.com

trọng trong sự phát triển, biệt hoá và di chuyển của tế bào. HIP được tổng hợp nhiều ở dòng tế bào biểu mô, nội mạc, không phát hiện được ở dòng tế bào sợi và tổ chức liên kết. Nhiều nghiên cứu đã chỉ ra rằng, HIP được tăng cường tổng hợp ở các dòng tế bào và mô ung thư ở cả mức độ mRNA và protein [2, 4-7]. Trong nghiên cứu này chúng tôi tiến hành đánh giá mức độ sao chép mRNA và biểu hiện protein HIP ở mô ung thư vú, so sánh mối tương quan giữa sao chép mRNA và biểu hiện protein theo các giai đoạn phát triển và thể tế bào học khác nhau của ung thư vú.

2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Vật liệu

Gồm 62 mẫu mô trong đó có 15 mẫu u xơ và 47 mẫu mô ung thư. Tất cả các mẫu mô này được lấy từ bệnh nhân đã được chẩn đoán xác định tại bệnh viện K Hà Nội dựa vào lâm sàng và cận lâm sàng (mô bệnh học, XQ, hoá sinh). Bệnh nhân chỉ bị ung thư vú ngoài ra không mắc bất kỳ loại hình bệnh tật, ung thư nào khác. Trong 47 mẫu ung thư vú chúng tôi lựa chọn các mẫu theo giai đoạn khác nhau ở cùng một thể loại ung thư, hay các thể loại tế bào học khác nhau ở cùng một giai đoạn ung thư để so sánh sự khác nhau giữa các giai đoạn và các thể tế bào học.

2.2. Phương pháp

Kỹ thuật RT-PCR bán định lượng đánh giá mức độ sao chép mRNA của HIP

Tách chiết RNA tổng số

Mô bệnh phẩm (120 - 150 mg) được nghiền trong 1ml dung dịch isogen tạo thành hỗn hợp dịch đồng nhất. RNA được tách bằng 0,2 ml chloroform và ly tâm 15.000 vòng/phút ở 4°C

trong 15 phút, thu phần dịch trong. Làm tủa RNA bằng 0,5 ml isopropanol và ly tâm 15.000 vòng/phút ở 4°C trong 5 phút. Giữ lại phần cặn ở đáy ống. Rửa tủa bằng ethanol 75%, ly tâm thu hồi tủa và hòa tan bằng 20 µl nước cất có diethyl-pyrocbonat (DEPC).

Kỹ thuật tổng hợp ngược cDNA (RT-PCR)

cDNA được tổng hợp từ 2-3 µg RNA tổng số với sự tham gia của enzym sao mã ngược MMLV-RT, 10 pmol mỗi ngẫu nhiên (random primer), dNTPs, chất ức chế protein DTT 0,1M và chất ức chế phân huỷ RNA (RNAase out).

RT-PCR bán định lượng khuếch đại gen mã hóa HIP ở mô ung thư vú

Sử dụng quy trình đã được mô tả bởi nhóm nghiên cứu của TS. Tạ Thành Văn và CS. Cặp mồi đặc hiệu với HIP đã được ứng dụng để đánh giá mức độ sao chép của HIP. Gen GAPDH được dùng để kiểm tra chất lượng cDNA và so sánh lượng mẫu sử dụng trong mỗi phản ứng.

Trình tự cặp mồi đặc hiệu với HIP và GAPDH:

HIP-F: 5'- GCT TAT GGT GCA GAC ATG G- 3'

HIP-R: 5'-CAG AGA TAT CTA CTC TGA AGC- 3'

GAPDH-F: 5' - ACA TGT TCC AAT ATG ATT CC - 3'

GAPDH-R: 5' - TGG ACT CCA CGA CGT ACT CA - 3'

Quy trình có thể được mô tả chi tiết như sau:

Thành phần phản ứng RT- PCR: Thể tích 20 µl gồm: 1 x Ex-Taq buffer; 2,5 mM dNTPs; 10 pmol mỗi xuôi và ngược; 1 unit Ex Taq Polymerase (Takara Bio Inc. Kyoto, Japan), 150 ng cDNA (với cặp mồi HIP) hoặc 300 ng cDNA (với cặp mồi GAPDH).

Chu kỳ của phản ứng RT-PCR: 94⁰C - 5 phút; [94⁰C - 50 giây, 58⁰C - 50 giây, 72⁰C - 50 giây] trong 35 chu kỳ; 72⁰C - 5 phút; bảo quản ở 4⁰C

Sản phẩm phản ứng PCR được điện di trên gel agarose 1,5% và nhuộm với ethidium bromide, sau đó được chụp ảnh và xử lý bằng phần mềm chuyên dụng. Tỷ lệ đậm độ vạch của gen HIP sẽ được so sánh giữa mô ung thư và mô u xơ hay là giữa các giai đoạn hoặc các thể tế bào học khác nhau.

Kỹ thuật Western blot đánh giá mức độ biểu hiện protein HIP

Kỹ thuật tách chiết protein từ mẫu mô TTL

Mô sinh thiết tươi được nghiền trong đệm SEB (8.0M ure, 1% SDS, Tris 0.5M, 5% mercaptoethanol, chất ức chế protease), với tỷ lệ 1 mg mô/ 10 μ l đệm.

Kỹ thuật Western blot xác định mức độ biểu hiện HIP

HIP trong dung dịch protein toàn phần nghiền từ mẫu mô sinh thiết có trọng lượng phân tử xấp xỉ 24 kDa được phân tách bằng phương pháp điện di biến tính trên gel polyacrylamid 12% (SDS-PAGE).

Lượng protein tổng số được phân tích trên mỗi giếng điện di là 1.5 mg và được chạy với hiệu điện thế không đổi là 130V. Chúng tôi sử dụng thang protein chuẩn để xác định trọng lượng các băng protein tương ứng. SDS-PAGE được chạy song song 2 bản gel, một bản dùng để chuyển màng thực hiện Western blot, bản gel còn lại được nhuộm với Coomassie blue 250R để làm đối chứng.

Hỗn hợp protein phân tách theo trọng lượng phân tử trên gel polyacrylamid được chuyển sang màng nitrocellulose. Vị trí phân bố các protein trên gel được chuyển sang vị trí tương ứng trên màng. Các nhóm hóa học không đặc

hiệu trên màng sẽ khóa nhờ dung dịch đệm phủ (blocking buffer).

Để xác định HIP, màng nitrocellulose được ủ qua đêm ở 4⁰C với kháng thể đặc hiệu của HIP đã được pha loãng tới nồng độ 1/50 (kháng thể bậc 1). Sau khi được rửa bằng đệm TBST để loại bỏ kháng thể dư thừa, màng nitrocellulose được ủ với kháng thể bậc 2 (kháng thể kháng IgG thô gắn alkaline phosphatase). Kháng thể bậc 2 dư thừa sau đó cũng được loại bỏ bằng các rửa với đệm TBST.

Bổ sung cơ chất BCIP/NBT (5-bromo-4-chloro-3-indoyl-phosphate/p-nitro-blue tetrazolium chloride) cho enzyme chuyển hóa phát huỳnh quang để phát hiện vạch HIP phản ứng với kháng thể đặc hiệu trên màng.

Màng nitrocellulose được chụp ảnh bằng máy chuyên dụng hoặc scan. Đậm độ vạch protein được xác định bằng phần mềm Dolphin để đánh giá mức độ biểu hiện theo phương pháp bán định lượng dựa vào đậm độ của băng HIP trên màng.

Bản gel nhuộm với Coomassie blue 250R được chụp ảnh bằng máy chuyên dụng hoặc scan sử dụng như một đối chiếu chuẩn.

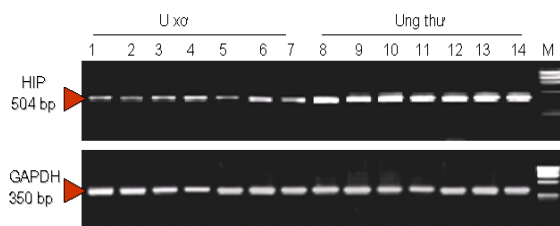
3. Kết quả và thảo luận

Đánh giá mức độ sao chép của HIP ở mô u xơ so với mô ung thư theo giai đoạn và thể tế bào học khác nhau.

Bằng kỹ thuật RT-PCR bán định lượng chúng tôi sử dụng cặp mồi đặc hiệu với HIP và GAPDH để đánh giá mức độ sao chép mRNA của HIP ở mô ung thư vú so với mô u xơ và theo các giai đoạn ung thư, sản phẩm PCR đặc hiệu của HIP có kích thước 504 bp và của GAPDH có kích thước 350 bp. Kết quả điện di

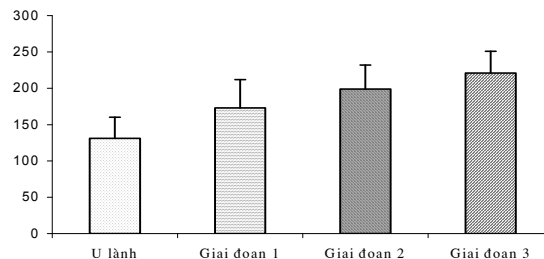
sản phẩm PCR của HIP và GAPDH trên gel agarose 1,5% được thể hiện ở hình 1.

Quan sát ở hình 1 chúng ta thấy đậm độ vạch của HIP ở những mẫu ung thư rõ hơn mẫu u xơ, hình ảnh điện di GAPDH cho thấy chất lượng mRNA của các mẫu tốt, đảm bảo tiêu chuẩn cho phản ứng, đồng thời không có sự khác biệt về lượng mẫu đã sử dụng trong mỗi phản ứng PCR. Gen GAPDH được thể hiện trên mọi tế bào, không phụ thuộc vào thể loại, trạng thái hoạt động hay nguồn gốc nên được dùng như một gen nội chuẩn để đánh giá chất lượng của sản phẩm RNA. Kết quả ở hình 1 cho thấy, HIP được tăng cường sao chép rất rõ ở mô ung thư và thấp hơn trên những mẫu tách từ u xơ.



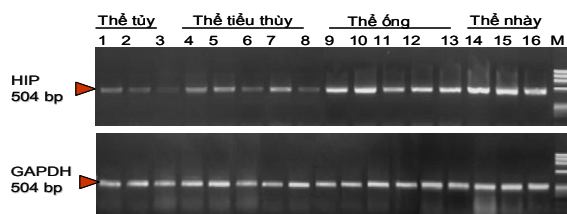
Hình 1. Kết quả phản ứng RT-PCR của gen HIP và GAPDH trên mô u vú lành tính và mô ung thư: 1-7: Sản phẩm được khuếch đại từ cDNA của mô u vú lành tính; 8-14: mô ung thư; MK: thang chuẩn DNA 100 bp.

Để đánh giá sự biểu hiện của HIP theo các giai đoạn khác nhau, chúng tôi tiến hành đo đậm độ của vạch HIP theo các giai đoạn I, II, III của UTV thể ống sử dụng phần mềm chuyên dụng *chemidoc iQ 76S00503*, mức độ sao chép của HIP giữa các giai đoạn sẽ được vẽ đồ thị. Kết quả ở hình 2 cho thấy, giá trị đậm độ vạch tăng dần theo giai đoạn ung thư. Điều này gợi ý rằng, HIP được tăng cường sao chép ở những mẫu ung thư so với mẫu lành tính và phụ thuộc vào giai đoạn phát triển của ung thư.



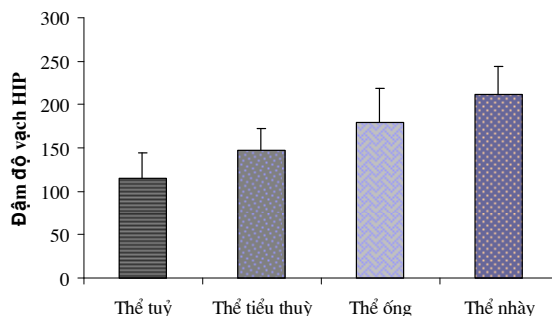
Hình 2. So sánh sự sao chép của HIP ở mô lành tính và mô ung thư thể ống ở các giai đoạn khác nhau.

Để so sánh mức độ biểu hiện HIP theo các thể loại tế bào học của ung thư, chúng tôi tiến hành phản ứng RT-PCR bán định lượng trên các mẫu cDNA của 4 nhóm thể tế bào học (thể tuyến thể tiểu thùy, thể ống và thể nhày) của cùng giai đoạn II (hình 3).



Hình 3. Kết quả phản ứng RT-PCR của gen HIP và GAPDH ở các thể loại tế bào ung thư vú khác nhau: Thể tuyến (1-3); thể tiểu thùy (4-8); thể ống (9-13) và thể nhày (14-16); MK: Thang DNA chuẩn 100 bp.

Chúng tôi cũng tiến hành đo đậm độ của vạch HIP theo các thể tế bào học của UTV giai đoạn II sử dụng phần mềm chuyên dụng, mức độ sao chép của HIP giữa các thể tế bào học sẽ được thể hiện ở hình 4.



Hình 4. So sánh sao chép của HIP các thể tế bào học khác nhau cùng giai đoạn.

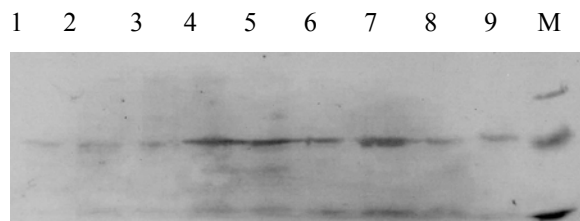
Kết quả ở hình 4 cho thấy, có sự khác biệt về mức độ sao chép HIP giữa các thể tế bào ung thư khác nhau trong cùng giai đoạn II và HIP tăng cường sao chép cao nhất ở thể nhày và thấp nhất ở thể tủy.

Bảng 1. Các giai đoạn khác nhau của các thể tế bào học giữa mô u lành và mô ung thư

STT	Phân loại mô bệnh học	Giai đoạn	Số lượng	Ký hiệu mẫu	Tổng số	
					n	%
1	Thể ống xâm nhập	I	6	1- 6	36	77
		II	16	7- 22		
		III	14	23 - 36		
2	Thể tủy	II	3	37- 39	3	6
3	Thể tiểu thùy	II	5	40 - 44	5	10
4	Thể nhày	II	3	45 - 47	3	7
Tổng			47	47	47	100

Đánh giá mức độ biểu hiện protein HIP ở mô u xơ so với mô ung thư theo giai đoạn và thể tế bào học khác nhau.

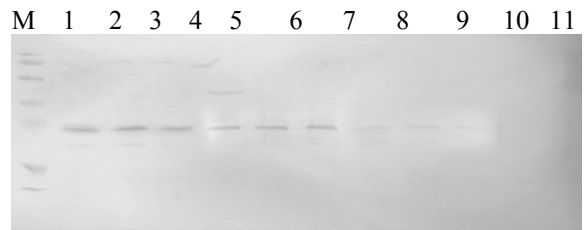
Để đánh giá mức độ biểu hiện protein HIP ở mô u xơ so với mô ung thư theo các giai đoạn và ở các thể loại tế bào học khác nhau của ung thư vú trên cùng một giai đoạn, chúng tôi sử dụng kỹ thuật Western blot. Sử dụng quy trình kỹ thuật đã được mô tả ở phần phương pháp, chúng tôi thu được vạch protein HIP đặc hiệu có trọng lượng phân tử 24 kDal.



Hình 5. Hình ảnh Western blot đánh giá mức độ biểu hiện protein HIP của mô ung thư và mô u xơ vú. M: Marker; 1-3: u xơ; 4-9: mẫu ung thư.

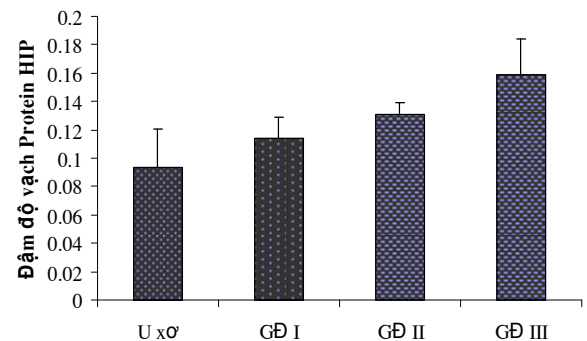
Quan sát kết quả ở hình 5 cho thấy, các vạch protein HIP đậm nét ở mô ung thư vú, trong khi mờ hơn nhiều ở mô u xơ. Điều này cho phép chúng tôi có thể đưa ra nhận định ban đầu rằng: protein HIP tăng cường tổng hợp trên mô ung thư vú.

Chúng tôi tiếp tục sử dụng phương pháp Western blot để đánh giá sự biểu hiện của protein HIP theo các giai đoạn khác nhau (giai đoạn I, II, III) và theo các thể tế bào học khác nhau (thể tủy, thể tiểu thùy, thể ống, thể nhày) của cùng giai đoạn II. Vạch HIP đặc hiệu tương ứng với 24 kDal được phát hiện ở hình 6 và hình 8.



Hình 6. Hình ảnh kết quả Western blot đánh giá mức độ biểu hiện protein HIP của mô ung thư thể ống theo từng giai đoạn. M: Marker; 1-3: mẫu K giai đoạn 3; 4-6: mẫu K giai đoạn 2; 7-8: mẫu K giai đoạn 1; 9-11: mẫu lành.

Đậm độ vạch protein HIP theo các giai đoạn và các thể tế bào học khác nhau được đo bằng phần mềm chuyên dụng và được tính giá trị trung bình cộng rồi vẽ đồ thị.



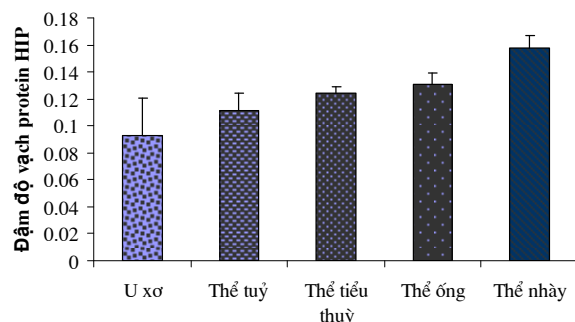
Hình 7. So sánh sự biểu hiện của HIP ở mô lành tính và mô ung thư thể ống ở các giai đoạn khác nhau.

Kết quả ở hình 7 cho thấy, mức độ biểu hiện protein HIP không những có sự khác biệt giữa u xơ và ung thư mà còn tăng dần theo giai đoạn ung thư. Tuy nhiên, sự khác biệt này chưa thực sự rõ ràng.



Hình 8. Hình ảnh Western blot đánh giá mức độ biểu hiện protein HIP ở các thể tế bào ung thư vú khác nhau trong cùng giai đoạn II M: Marker protein; 1-2: thể ống; 3-5: thể tuyến; 6-8: thể tiểu thùy; 9-11: thể nhày.

Kết quả ở hình 8 cho thấy, các vạch protein HIP khác nhau theo các thể tế bào học của ung thư vú. Vạch protein rõ nhất ở UTV thể nhày và thấp ở thể tuyến.



Hình 9. So sánh sự biểu hiện của HIP theo các thể tế bào học khác nhau của cùng giai đoạn.

Quan sát hình 9 cho thấy, có sự khác biệt về sự biểu hiện protein HIP giữa các thể tế bào học khác nhau trong đó sự tăng cường biểu hiện protein HIP của thể ống và thể nhày cao hơn nhiều so với thể tuyến và thể tiểu thùy.

Thảo luận

Ung thư vú là loại ung thư hay gặp nhất và có xu hướng ngày càng gia tăng ở phụ nữ nước ta. Bệnh phát sinh chủ yếu từ các tế bào biểu

mô của các ống tuyến vú. Việc điều trị ung thư không những gây tổn kém về kinh tế cho bệnh nhân, cho xã hội mà còn làm ảnh hưởng tới chất lượng cuộc sống của người phụ nữ. UTV nếu được phát hiện sớm và điều trị kịp thời tỷ lệ sống thường cao. Để chẩn đoán ung thư vú nhiều phương pháp đã và đang được áp dụng như khám lâm sàng, chẩn đoán hình ảnh, hoá sinh và mô bệnh học. Các phương pháp này ít nhiều thể hiện sự hạn chế trong việc phát hiện và chẩn đoán ung thư ở giai đoạn sớm. Việc nghiên cứu ứng dụng các phương pháp sinh học phân tử để chẩn đoán sớm ung thư vú là hết sức cần thiết. Trong nghiên cứu này với việc sử dụng kỹ thuật RT-PCR bán định lượng và kỹ thuật western blot chúng tôi nhận thấy mức độ sao chép mRNA và biểu hiện protein của HIP khác biệt nhau một cách rõ rệt giữa mô ung thư và mô u xơ. Phân loại theo thể tế bào học khác nhau của ung thư vú cho thấy HIP được sao chép và biểu hiện cao nhất ở mô ung thư thể nhày, thấp hơn ở thể ống, thể tiểu thùy và thấp nhất ở thể tuyến. Các mẫu mô ung thư ở các giai đoạn khác nhau thì sự sao chép và biểu hiện của HIP cũng ở những mức độ khác nhau. Như vậy, HIP đã được tăng cường tổng hợp ở mô ung thư vú và đặc biệt ở những dòng ung thư biểu mô thể ống có độ di căn và ác tính cao. Kết quả này của chúng tôi phù hợp với các kết quả nghiên cứu trước đây. Các tác giả cũng phát hiện rằng ở mức độ mRNA và protein, HIP đều tăng cường sao chép và tổng hợp ở các dòng tế bào ung thư biểu mô tuyến và biểu mô thể ống. Còn ở dòng tế bào sợi hoặc mô lành, đặc biệt là mô u xơ, nơi mà dòng tế bào sợi chiếm ưu thế, HIP được tổng hợp ở mức độ thấp hoặc không phát hiện được [5-7]. Một câu hỏi đặt ra: **Cơ chế phân tử của hiện tượng này là gì?** Những nghiên cứu mới nhất của Carson DD và cộng sự đã phát hiện rằng: những con chuột đã bị phá hủy gen HIP ($HIP^{-/-}$) có hiện tượng suy nhược

toàn thân, thể trọng thấp, suy dinh dưỡng, toàn bộ các cơ quan của cơ thể đều nhỏ, chuyển hóa cơ bản thấp... Điều đó chứng tỏ HIP là một trong những thành phần quan trọng trong nhóm protein gắn với ribosom (ribosomal protein L29) có vai trò quan trọng điều hòa quá trình phiên mã, tạo phức hợp ribosom hoàn chỉnh. Khi HIP bị giảm tổng hợp hoặc bị loại bỏ hoàn toàn thì sẽ ảnh hưởng trầm trọng đến quá trình phiên mã và hậu quả tạo cho cá thể có kiểu gen HIP^{-/-} có mức độ sinh tổng hợp protein trong tất cả các tế bào của các cơ quan bị giảm nghiêm trọng.

Kết quả chẩn đoán bằng kỹ thuật gen của chúng tôi cũng tương ứng với các kết quả thăm khám lâm sàng và cận lâm sàng (mô bệnh học). Đặc biệt trong nghiên cứu này, bằng chứng về sự sao chép và biểu hiện protein của HIP phụ thuộc vào thể tế bào học và các giai đoạn tiến triển của ung thư vú đã được nghiên cứu. Đây là những cơ sở khoa học rất có ý nghĩa cho những nghiên cứu tiếp theo nhằm ứng dụng HIP như một marker có giá trị để góp phần chẩn đoán sớm ung thư vú, một loại hình ung thư khá phổ biến hiện nay mà việc phát hiện sớm và can thiệp sớm đóng vai trò vô cùng quan trọng trong điều trị và tiên lượng bệnh.

Những kết quả nghiên cứu này đã góp phần làm sáng tỏ cơ chế phân tử về vai trò của HIP trong ung thư và mở ra một triển vọng ứng dụng HIP không chỉ là một marker mới trong ung thư mà còn có thể là một cái đích đầy hứa hẹn cho liệu pháp phân tử trị liệu cho một số loại hình ung thư trong đó có ung thư tuyến vú mà việc ngăn chặn quá trình hoạt hóa HIP chính là khâu then chốt.

4. Kết luận

Từ những kết quả nghiên cứu trên cho phép chúng tôi rút ra một số kết luận:

Mức độ biểu hiện protein HIP khác biệt một cách rõ rệt giữa mô ung thư và u xơ vú.

Mức độ biểu hiện protein HIP phụ thuộc vào các giai đoạn và ở các thể loại tế bào học khác nhau của ung thư vú.

Sự tăng cường biểu hiện của HIP tương đồng với mức độ sao chép mRNA.

Tài liệu tham khảo

- [1] Nguyễn Chấn Hùng, 2004. Ung thư học Nội khoa. Nxb. Y học tp. Hồ Chí Minh.
- [2] WHO Fact sheet N^o 297 February 2006.
- [3] Liu S., Smith E. Sott, Julian J., Rohde H. L., Karin J. Norman., Carson D. D., 1996. cDNA Cloning and expression of HIP, a novel cell surface heparan sulfate/heparin-binding protein of human uterine Epithelial cells and cell lines. *Journal of Biological Chemistry*, 271: 11817-11823.
- [4] Jacobs A. L., Julian J. A., Sahin A. A., Carson D. D., 1997. Heparin/Heparan sulfate interacting protein expression and functions in human breast cancer cells and normal breast epithelia. *Cancer Research*, 57: 5148-5154.
- [5] Liu S., Hoke D., Julian J., Carson D. D., 1997. Heparin/Heparansulfate (HP/HS) Interacting protein supports cell attachment and selective, high affinity binding of (HP/HS). *Journal of Biological Chemistry*, 272: 25856 - 25862.
- [6] Nguyễn Thị Phương Ngọc, Trần Văn Khánh, Đào Kim Chi, Phạm thị Lý, Tạ Thành Văn, 2006. Tăng cường tổng hợp Heparansulfate interacting protein (HIP) ở mô ung thư tuyến tiền liệt, *Tạp chí Dược học*, 11A/2006 (số 367 năm 46): 127-132.
- [7] Phan thị Minh Phương, Trần Văn Khánh, Nguyễn thị Băng sương, Phạm thị Thu Vân, Trần thị Chính, Tạ Thành Văn, 2007. Tăng cường sao chép Heparansulfate interacting protein (HIP) ở mô ung thư tuyến giáp, *Tạp chí Y học Việt Nam*, 5: 25-29.

Assessment of Copy Level of mRNA and Protein HIP Expression in Human Breast Cancer Tissues

Đặng Thị Tuyết Minh¹, Lê Thị Phương²

¹*Ha Dong Medical College*

²*Hai Duong Medical Technical University*

Abstract: Many scientific studies have confirmed that the synthetic enhancement of HIP is expressed at both level of the RNA and protein. Especially, this synthetic enhancement is also closely related to the developmental stages, special condition and the level of individual malignant cell lines. To assess the copy level of mRNA and HIP protein expression according to the developmental stages and different cells of breast cancer tissue, totally 62 tissue samples were RNA extracted (47 cancer samples and 15 tissue samples of breast fibroids); we accompanied cDNA by the reverse transcript technique (reverse transcript-polymerase chain reaction / RT-PCR), and then assessed the copy level of mRNA and HIP protein expression by techniques of semi-quantitative RT-PCR and Western blot. The results showed that the expression levels of mRNA and protein HIP were obviously different between the fibroid tissue and breast cancer, particularly this difference depends on the developmental stages and other cytological categories of cancers.

Keywords: Expression; HIP/L29; Copy, RT-PCR; Breast Cancer.