二氧化硅纳米颗粒诱导血管内皮细胞自噬激活的转录组分析及实验验证

阮晨1a,b,吴冉1c,王来友1a,b,杜佳1a,b,曹敬博2

(1.南阳理工学院 a.河南省工业微生物资源与发酵技术重点实验室;b.生物与化学工程学院;c.信息工程学院, 河南 南阳 473004;2.辽宁大学 数学与统计学院,沈阳 110036)

摘 要:为寻找二氧化硅纳米颗粒诱导细胞自噬激活的调控蛋白,用 20 nm 的二氧化硅纳米颗粒处理大鼠 血管内皮细胞株,对细胞样品进行转录组测序分析及试验.根据 CCK-8 方法测定的细胞死亡率及自噬 Marker 蛋白 的表达量确定诱导时长,由此制备细胞样品并进行转录组测序及分析预测,通过 RNA 干扰实验筛选具有自噬调控 功能的蛋白质.研究结果表明,20 nm 二氧化硅纳米颗粒处理细胞的较优诱导时间为 24 h,自噬 Marker 蛋白 LC3B-II 的表达随着纳米颗粒处理时间的增加而增高;在转录组测序结果中共筛选到 295 个差异表达基因,差异基因的 KEGG 富集分析结果显示大部分基因参与多个自噬调控信号通路;通过 RNA 干扰实验和免疫印迹实验验证,结果 表明干扰 Arrdc4 基因的表达可以降低细胞内 LC3B-II 的表达水平.综合考虑所有实验结果,Arrdc4 可能通过 KEGG 显著富集的信号通路影响二氧化硅纳米颗粒诱导的细胞自噬,其调控机制仍有待深入挖掘.

关键词:二氧化硅纳米颗粒;自噬;转录组;Arrdc4 基因

中图分类号:Q291 文献标志码:A 文章编号:1000-2367(2025)03-0143-06

细胞自噬是一种生物体维持自身稳态的调节方式,在物质能量缺乏、环境胁迫出现及外界物质入侵时启动,保证细胞内部稳态,保证细胞的正常生存.除此之外,当细胞内出现损坏及异常的细胞器,出现冗余及错误折叠的蛋白质时,细胞的自噬也开始发挥作用,保证细胞内部生命活动的顺利进行^[1].

随着纳米技术的快速发展,纳米材料由于其优越的理化特性被广泛应用于食品、纺织、化妆品以及工业制造等领域^[2].不仅如此,纳米材料在生物医学领域的应用更为深入,开发出了服务于人类健康的纳米医疗、 纳米消毒以及纳米显影诊断等一系列医学技术,对当代医学的发展有巨大影响^[3-4].二氧化硅纳米颗粒是生 物医学领域中应用广泛的一种纳米材料,各种二氧化硅纳米颗粒药物复合物被合成并应用于控释药物和靶 向显像剂两个领域^[5].静脉注射的纳米颗粒可与血管内壁细胞发生相互作用,可能影响血管稳态和功能的维 持^[6-7].随着自噬领域研究的逐渐深入,纳米颗粒引发的细胞自噬效应逐渐凸显,已有研究发现50 µg/mL 20 nm的二氧化硅纳米颗粒相比大尺寸的纳米颗粒可以显著诱导血管内皮细胞自噬的发生,进而导致细胞 的坏死^[4].因此,纳米材料对人类健康的潜在风险尚未得到充分评估,相关毒理机制亟需阐明.

本研究以 20 nm 二氧化硅纳米颗粒诱导大鼠血管内皮细胞为研究对象,根据转录组测序及分析,预测 其中可能具有自噬诱导调控功能的蛋白质,并通过实验进行验证,为二氧化硅纳米材料的安全医学应用提供 理论基础.

收稿日期:2023-11-20;修回日期:2024-01-31.

- 基金项目:河南省自然科学基金(242300420500);河南省高等学校重点科研项目(23A180023);国家自然科学基金 (22201146);2024-2025 年南阳市科技计划项目.
- **作者简介(通信作者):**阮晨(1989-),男,河南南阳人,南阳理工学院讲师,博士,研究方向为计算生物学, E-mail: 3131071@nyist.edu.cn.
- 引用本文:阮晨,吴冉,王来友,等.二氧化硅纳米颗粒诱导血管内皮细胞自噬激活的转录组分析及实验验证[J].河南师范 大学学报(自然科学版),2025,53(3):143-148.(Ruan Chen,Wu Ran,Wang Laiyou,et al.Transcriptome analysis and experimental verification of autophagy activation induced by silica nanoparticles[J]. Journal of Henan Normal University(Natural Science Edition),2025,53(3):143-148.DOI:10.16366/j.cnki.1000-2367.2023.11. 20,0002.)

1 材料与方法

1.1 主要试剂及仪器

M199 基础细胞培养基、青霉素-链霉素双抗购于美国 Hyclone 公司.胎牛血清、细胞培养用磷酸盐缓冲 液购于杭州四季青生物工程材料有限公司.细胞裂解液、蛋白定量试剂盒、RNA 转染试剂盒、蛋白酶抑制剂 购于上海生工有限责任公司.Anti-LC3B-II 抗体、Anti-ACTB 抗体购于武汉三鹰生物科技有限公司.20 nm 二氧化硅纳米颗粒(SISN20-25M)购于美国 nanoComposix 公司.细胞培养箱(日本 SANYO 公司),蛋白电 泳转印套装(美国 BIO-RAD 公司),双色红外成像系统(美国奥德赛生物科技公司).

1.2 细胞培养和纳米颗粒的自噬诱导

用细胞计数板计数 5×10⁴ 个细胞后,铺板于 12 孔细胞培养板一孔中,加入适量细胞培养基于细胞培养 箱中培养,培养温度为 37 ℃,CO₂ 体积分数为 5%.培养至细胞汇合度在约 70%时,用磷酸盐缓冲液润洗细 胞,再用含有 50 μg/mL 20 nm 二氧化硅纳米颗粒的细胞培养基处理细胞 0、12、24、36 h.处理后的细胞样品 用于细胞存活率检测及免疫印记实验.

1.3 转录组测序及分析

用二氧化硅纳米颗粒处理细胞不同时间段,每个时间点约取 1×10⁷ 个细胞,每处理共 3 个生物学重复. 处理完毕后加入 Trizol 充分混匀进行低温保存.利用有机溶剂多次离心取上清的方法获取 RNA 沉淀并用 DEPC(焦碳酸二乙酯)水溶解分装.使用 Nanodrop 2000 spectrophotometer 检测 RNA 样品纯度.Qubit 3.0 检测 RNA 样品浓度.使用 Labchip GX 检测样品 RNA 的 RQS(RNA quality score)值.

使用诺唯赞转录组建库试剂盒(NR612-01)进行文库构建,建库完成将样品送至武汉百迈克生物科技有限公司进行测序,得到经过质控过滤后的高质量测序数据(clean data).用 Tophat-bowtie2-Cufflinks 转录组程序进行各基因的注释以及表达量的计算.根据 FPKM(fragments per kilobase of exon model per million mapped fragments)值过滤筛选差异表达基因^[8].KEGG(kyoto encyclopedia of genes and genomes)富集分析采用 R 语言进行超几何分布计算^[9].相关热图及基因表达量均采用 R 语言进行绘制.

1.4 细胞基因敲降实验

用细胞计数板计数 3×10⁴ 个细胞后,铺板于 24 孔细胞培养板一孔中,加入 1 mL 细胞培养基至于细胞 培养箱中培养,培养条件同 1.2.细胞汇合度于 60 %时,用 RNA 转染试剂进行 siRNA 的转染,转染时间为 24 h.转染结束后,用磷酸盐缓冲液洗涤细胞 3 次,加入二氧化硅纳米颗粒进行自噬诱导,诱导结束后进行后 续免疫印迹实验.

1.5 蛋白免疫印迹实验与荧光定量 PCR 实验

细胞处理完毕后,用磷酸盐缓冲液洗涤,加入1mL细胞裂解液并置于4℃冰箱中裂解2h.细胞裂解液 离心取上清,用蛋白定量试剂盒进行定量.取适量蛋白溶液并加入上样缓冲液混匀加热变性后上样,进行 SDS-PAGE电泳.电泳完毕后,用甲醇润洗 PVDF(聚偏二氟乙烯)膜,接着进行转膜.转膜结束后,用 LC3B-II 蛋白质一抗4℃孵育过夜.TBST溶液洗涤3次后,二抗室温孵育2h,再以 TBST洗涤3次后进行显影.取细 胞 RNA 反转录合成 cDNA.荧光定量 PCR 反应体系为 50 μL,40 个循环,各处理另设置2个重复,同时设空 白对照.最后通过各样品的 Ct 值对基因表达的情况进行定量.扩增引物由武汉奥科鼎盛有限公司设计合成. Arrdc4 基因的上下游引物分别为:5-AGCCATATTCCAAACCCAGAC-3⁻和 5⁻-TCTTCAGCATCTTC-CCATTCC-3⁻.内参基因为 β-actin.

1.6 数据分析

使用 R 语言的 t.test 函数对实验数据的差异显著性进行分析,数据资料以平均数士标准差进行分析.

2 结果与分析

2.1 二氧化硅纳米颗粒的细胞自噬诱导效应

取部分细胞置于细胞培养皿培养至细胞汇合度到 80%左右时,用磷酸盐缓冲液润洗细胞 3次,后加入

含有 50 µg/mL 20 nm 二氧化硅纳米颗粒的细胞培养基处理细胞,处理时长为 0、12、24、36 h.在各时间点检测细胞的存活率,由图 1(a)可知,在前 24 h 实验处理中,二氧化硅纳米颗粒的处理对细胞存活率影响较小, 但是当处理时长达到 36 h 后,细胞死亡率显著上升.接着,本研究采用免疫印迹实验检测细胞自噬 Marker LC3B-II 蛋白的表达量,判断二氧化硅纳米颗粒的处理对细胞自噬的诱导效应.由图 1(b)可知,随着纳米颗 粒处理时间的变长,细胞内 LC3B-II 蛋白的表达量逐渐提高,在 24 h 达到最大.综上所述,二氧化硅纳米颗粒 诱导细胞自噬的较优处理时长为 24 h.



⁽a)处理时长为0、12、24、36 h的细胞存活率; (b)细胞内LC3B-Ⅱ的蛋白表达量. *表示p<0.05, 全文同.

图1 二氧化硅纳米颗粒诱导细胞自噬的较优处理时长 Fig.1 The optimal treatment time of autophagy induced by silica nanoparticles

2.2 转录组细胞样品的提取质控

转录组样品的质控对于后续建库以及测序十分重要,不合格的质控会直接导致测序的冗余和失败.因此,用 50 µg/mL 20 nm 二氧化硅纳米颗粒分别处理细胞 0 h 和 24 h,每个样品 3 次重复.提取各样品mRNA 后,对其纯度及质量进行检测.由附录表 S1 可知,各样本的 mRNA 质量浓度均在 600 ng/µL 以上,每个样本的 mRNA 总量均大于 40 µg,满足转录组测序的总量要求.各样本的质量评估参数 RQS 值均在 9 以上且 OD_{260/280}均位于合理范围内,这一结果表明各样本的 mRNA 提取较完整,无杂质污染,纯度较高.以上数据表明,转录组样品的 mRNA 质控达标,可以进行转录组建库和上机测序.

2.3 各样本转录组数据的基本统计

各样品转录组测序质检完毕后,共产生不低于 60 G 的 clean data,各样本的数据产出量大体一致(附录 表 S2).每个样本的反映测序碱基质量完整度的 Clean Q30 值都不小于 80 %,说明各样品种中碱基测序识别 的可靠性较高,可以用于后续的数据分析.

2.4 差异基因的筛选

对所有样本的 clean data 注释及计算完毕后,利用 Cufflinks 程序的 Cuffdiff 脚本包进行 2 个时间点处 理组差异基因的数据过滤,过滤阈值定为: $\log_2(fold change) > 1.5 \pm p < 0.05; \log_2(fold change) < -1.5 \pm p < 0.05.差异基因的统计结果见附录图 S1,图 S1 中红色点表示上调基因,蓝色点表示下调基因.根据统计结$ $果,共筛选出 295 个差异表达基因,其中上调基因占 169 个,下调基因占 126 个.在上调基因中, <math>\log_2(fold change)$ 大于 1.5 的基因有 36 个; $\log_2(fold change)$ 位于 1.5 和 2.5 之间的有 133 个,约占上调基因总数的 78.8%.在下调基因中, $\log_2(fold change)$ 小于 - 1.5 的基因有 13 个; $\log_2(fold change)$ 位于 - 1.5 和 2.5 之间的有 133 个,约占上调基因总数的 78.8%.在下调基因中, $\log_2(fold change)$ 小于 - 1.5 的基因有 13 个; $\log_2(fold change)$ 位于 - 1.5 和 2.5 之间的有 133 个,约占上调基因总数的 量, 从上调基因中可能更容易筛选出其中具有调控功能的蛋白质.

2.5 富集分析

为了了解过滤出的差异基因的生物学功能及它们可能参与的信号通路,对这些基因进行 KEGG 富集分析,如图 2 所示,右侧不同的颜色图示代表不同 P-value,从深蓝色到浅蓝色,表示 P-value 从大到小,富集程度越来越显著.圆点的大小(count)代表富集到此通路的基因数目.由富集分析结果可知,过滤出的差异基因富集于多种与细胞自噬调控相关的信号通路,例如动物细胞自噬(autophagy-animal,hsa04140),雷帕霉素靶蛋白信号通路(mTOR signaling pathway,hsa04150),细胞循环(cell cycle,hsa04110)和丝裂原活化蛋白激酶信号通路(MAPK signaling pathway,hsa04010)等.这一结果表明差异基因可能在二氧化硅纳米颗粒诱导

细胞自噬的相关通路中发生功能.



图2 KEGG富集分析 Fig.2 KEGG enrichment analysis

2.6 表达量展示及功能验证

在差异基因的富集分析中,可以看出差异基因的 富集结果表现出了与细胞自噬的紧密联系.选取上调 基因中前18个进行实验筛选及验证,这些基因在两个 时间点处理组的表达量如图3所示,图中底部横坐标 代表样本,右侧纵坐标代表各差异基因,右侧图示代表 各基因的相对表达情况,黄色代表低表达,红色代表高 表达.

对选取的差异基因设计 siRNA 进行转染干扰基 因表达,转染时间为 48 h,转染完毕后用磷酸盐缓冲 液润洗,加入含有 50 µg/mL 20 nm 二氧化硅纳米颗 粒的细胞培养基,处理细胞 24 h.处理完毕后,用细胞 裂解液裂解细胞,提取蛋白质检测自噬 Marker LC3B-II 的表达量.在这一筛选过程中,用 siRNA 敲降 Arrdc4(arrestin domain containing 4)基因表达后,可 以减少二氧化硅纳米颗粒处理细胞过程中 LC3B-II 的 表达量,从而影响细胞自噬的发生.结果如图 4(a)所 示,其中 NC 为阴性对照.



Fig. 3 Differential gene transcriptional expression levels

用荧光定量 PCR 对二氧化硅纳米颗粒诱导细胞自噬 24 h 后 Arrdc4 基因表达情况进行辅助验证.在荧光定量 PCR 的实验结果中,二氧化硅纳米颗粒处理 24 h 后 Arrdc4 的表达量出现上升(如图 4(b)),这与转录组表达展示图(图 3)中 Arrdc4 基因的表达上调的结论相一致.

3 讨论与总结

纳米材料在生物医学领域应用逐渐深入的同时,其毒性机理的重要性逐渐突显,并被学者重视.学术界 普遍认为纳米颗粒诱导的细胞自噬紊乱效应是纳米材料的毒性特征之一,相关毒理机制的探究和挖掘有助 于了解其毒理成因,也有助于对纳米材料在生物医学上的应用进行科学地评估^[10-11].



图4 LC3B-II 蛋白的表达(a)和Arrdc4基因的转录表达情况(b) Fig.4 Expression of LC3B-II protein(a) and transcription expression of Arrdc4 gene(b)

二氧化硅纳米颗粒的毒性机制研究在多种细胞类型上都有探索.在心肌 H9c2 细胞中,纳米二氧化硅的 细胞毒性呈现粒径、剂量和时间依赖性;颗粒引起氧化应激,细胞内活性氧和丙二醛的水平升高;最近的研究 表明,细胞内的氧化应激就是纳米颗粒诱导细胞自噬的原因之一^[3,12-13].二氧化硅纳米颗粒还通过诱导 ROS 和脂质过氧化和谷胱甘肽耗竭,以剂量依赖性方式诱导 HepG2 细胞的氧化应激^[14].然而,二氧化硅纳 米颗粒在医学上主要用于合成药物载体和显影剂,在使用过程中纳米颗粒不可避免地会进入人体,对人类的 健康产生影响^[4-5].静脉注射的纳米颗粒可与血管内壁细胞发生相互作用,诱导细胞自噬,进而可能影响血 管稳态和功能.本研究以 20 nm 二氧化硅纳米颗粒诱导大鼠血管内皮细胞为研究对象,试图通过转录组测序 及分析预测,寻找到其中可能具有自噬调控功能的蛋白质,为纳米材料的安全应用提供理论基础.

在本研究中,首先探究了二氧化硅纳米颗诱导大鼠内皮细胞的较优诱导时间.根据较优诱导条件进行转录组质控、建库及测序,最后发现了169个差异上调基因.根据 KEGG 富集分析可以看出差异基因在多个自噬相关的信号调控通路中富集,这一结果表明通过测序分析筛选出的差异基因与自噬的发生存在一定联系. 由此深挖其中具有自噬调控功能的蛋白质,最终发现 Arrdc4 在其中发挥调控功能.Arrdc4 是一种 α-阻截蛋白,其主要作用是调控细胞胞吞作用及信号传导.已有文献发现 ARRDC1 和 Arrdc4 调节细胞囊泡的形成, 但相关调控机制尚未阐明^[15].在本研究中,通过敲降 Arrdc4 基因可以明显减少二氧化硅纳米颗粒处理细胞 过程中 LC3B-II 的表达量,影响细胞自噬的发生.综上,Arrdc4 蛋白可能通过 KEGG 富集出的信号通路影响 二氧化硅纳米颗粒诱导细胞自噬的发生.

本研究围绕二氧化硅纳米颗粒诱导大鼠内皮细胞自噬为对象进行转录组学分析及其实验验证,发现 Arrdc4 在纳米颗粒诱导自噬过程中发挥功能.干扰该蛋白基因表达后,细胞内 LC3B-II 的表达量较少,自噬 受到抑制.另外,本研究还存在很多不足,例如在本研究里没有对样本进行其他组学的测序及联合分析,深挖 调控通路.在未来,本研究将继续深入探究下去,利用其他生物信息学手段挖掘纳米颗粒诱导细胞自噬紊乱 的毒理机制,并在其他细胞里进行实验验证.最后,希望本研究结果可以为纳米颗粒诱导细胞自噬毒理机制 的阐明提供帮助和理论信息.

附录见电子版(DOI:10.16366/j.cnki.1000-2367.2023.11.20.0002).

参考文献

- [1] THIRUMALAIKUMAR V P,GORKA M, SCHULZ K, et al. Selective autophagy regulates heat stress memory in Arabidopsis by NBR1mediated targeting of HSP90.1 and ROF1[J]. Autophagy, 2021, 17(9): 2184-2199.
- [2] SOLARSKA-ŚCIUK K, ADACH K, CYBORAN-MIKOŁAJCZYK S, et al. Are biogenic and pyrogenic mesoporous SiO₂ nanoparticles safe for normal cells? [J]. Molecules, 2021, 26(5):1427.
- [3] WANG J, LI Y, DUAN J C, et al. Silica nanoparticles induce autophagosome accumulation via activation of the EIF2AK3 and ATF6 UPR pathways in hepatocytes[J]. Autophagy, 2018, 14(7): 1185-1200.
- [4] 崔海燕,纪龙翔,朱字晴,等.黄芪多糖对脂多糖诱导肠上皮细胞 IPEC-J2 氧化应激和炎症反应的缓解作用[J].河南师范大学学报(自然科学版),2022,50(4):101-106.
 CUI H Y,JI L X,ZHU Y Q,et al.Astragalus polysaccharides alleviate lipopolysaccharide-induced oxidative stress and inflammation in IPEC-J2 cells[J].Journal of Henan Normal University (Natural Science Edition),2022,50(4):101-106.
- [5] WANG D P, WANG Z J, ZHAO R, et al. Silica nanomaterials induce organ injuries by Ca²⁺-ROS-initiated disruption of the endothelial

barrier and triggering intravascular coagulation[J].Particle and Fibre Toxicology,2020,17(1):12.

- [6] BAUER A T, STROZYK E A, GORZELANNY C, et al. Cytotoxicity of silica nanoparticles through exocytosis of von Willebrand factor and necrotic cell death in primary human endothelial cells[J]. Biomaterials, 2011, 32(33):8385-8393.
- [7] HALAMODA KENZAOUI B, CHAPUIS BERNASCONI C, GUNEY-AYRA S, et al. Induction of oxidative stress, lysosome activation and autophagy by nanoparticles in human brain-derived endothelial cells[J]. The Biochemical Journal, 2012, 441(3): 813-821.
- [8] YU G C, WANG L G, YAN G R, et al. DOSE: an R/Bioconductor package for disease ontology semantic and enrichment analysis[J]. Bioinformatics, 2015, 31(4): 608-609.
- [9] KANEHISA M.GOTO S.KEGG Kyoto encyclopedia of genes and genomes[J].Nucleic Acids Research.2000.28(1):27-30.
- [10] YANG F, WANG X, SUN J, et al. Mesopore-encaged active MnOx in nano-silica selectively suppresses lung cancer cells by inducing autophagy[J]. Biomaterials Science, 2023, 11(6): 2056-2064.
- [11] SOLARSKA-ŚCIUK K, ADACH K, FIJAŁKOWSKI M, et al. Identifying the molecular mechanisms and types of cell death induced by bio-and pyr-silica nanoparticles in endothelial cells[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2022, 23(9):5103.
- [12] YE Y Y,LIU J W,CHEN M C, et al. In vitro toxicity of silica nanoparticles in myocardial cells[J]. Environmental Toxicology and Pharmacology, 2010, 29(2):131-137.
- [13] RUAN C, WANG C W, GONG X Q, et al. An integrative multi-omics approach uncovers the regulatory role of CDK7 and CDK4 in autophagy activation induced by silica nanoparticles[J]. Autophagy, 2021, 17(6): 1426-1447.
- [14] AHMAD J, AHAMED M, AKHTAR M J, et al. Apoptosis induction by silica nanoparticles mediated through reactive oxygen species in human liver cell line HepG2[J]. Toxicology and Applied Pharmacology, 2012, 259(2):160-168.
- [15] MASUTANI H.Thioredoxin-interacting protein in cancer and diabetes[J]. Antioxidants & Redox Signaling, 2022, 36(13/14/15):1001-1022.

Transcriptome analysis and experimental verification of autophagy activation induced by silica nanoparticles

Ruan Chen^{1a,b}, Wu Ran^{1c}, Wang Laiyou^{1a,b}, Du jia^{1a,b}, Cao Jingbo²

a. Henan Key Laboratory of Industrial Microbial Resources and Fermentation; b. School of Biological and Chemical Engineering;
 c. School of Information Engineering, Nanyang Institute of Technology, Nanyang 473004, China; 2. College of Mathematics and Statistics, Liaoning University, Shenyang 110036, China)

Abstract: In order to find the regulatory proteins of autophagy activation induced by silica nanoparticles, the rat vascular endothelial cell line was treated with 20 nm silica nanoparticles, and the cell samples were subjected to transcriptome sequencing analysis and subsequent verification. The optimal induction time was determined according to the cell death rate by CCK-8 kits and the expression of autophagy Marker protein. Then cell samples which were treated with 20 nm silica nanoparticles were prepared for transcriptome sequencing and analysis. The differentially expressed genes were selected for RNA interference experiments to screen the proteins with autophagy regulatory function. The results showed that the optimal induction time of cells treated with 20 nm silica nanoparticles was 24 h. The expression level of autophagy Marker protein LC3B-II increased with the increase of nanoparticle treatment time. A total of 295 differentially expressed genes were identified in the transcriptome sequencing results. KEGG enrichment analysis of the differentially expressed genes showed that most of the genes were mainly involved in multiple autophagy regulatory pathways. The subsequent experiments were performed on the differentially expressed genes, which were verified by RNA interference experiment and Western blot. The experimental results showed that interfering the expression of Arrdc4 gene could reduce the expression level of LC3B-II in cells. In this study, we conducted transcriptome sequencing analysis and subsequent experiments to verify the cell autophagy induced by silica nanoparticles, and found that interference with Arrdc4 gene expression could reduce the protein expression of LC3B-II in cells. Considering all the experimental results, Arrdc4 may affect silica nanoparticles-induced autophagy through KEGG significantly enriched signaling pathways, and the regulatory mechanism remains to be further explored.

Keywords: silica nanoparticles; autophagy; transcriptome; Arrdc4 gene

组别	质量浓度/(ng・ μ L ⁻¹)	体积/μL	总量/ μg	RQS 值	OD _{260/280}
0 h-1	689.5	100	68.9	9.4	1.96
0 h-2	662.3	100	66.2	9.1	1.99
0 h-3	634.3	100	63.4	9.3	1.95
24 h-1	623.3	100	62.3	9.4	1.96
24 h-2	610.2	100	61.0	9.2	1.96
24 h-3	633.5	100	63.4	9.1	1.99

表 S1 mRNA 质控 Tab. S1 The quality of the total mRNA

	表	S2 暑	基本数	∶据信息
Tab.	S2	Basi	c data	informations

组别	数据总量/G	Clean Reads	Clean Bases	Clean Q30
0 h-1	10.2	75 698 156	11 256 963 500	85.3%
0 h-2	10.5	72 658 954	123 658 694 500	84.5%
0 h-3	10.6	73 574 126	12 698 536 600	89.2%
24 h-1	10.1	71 123 654	11 255 698 200	84.1%
24 h-2	10.9	76 256 982	12 365 816 400	86.2%
24 h-3	10.6	77 125 698	16 895 327 200	81.3%



