

[文章编号] 1000-4718(2007)01-0001-06

· 论 著 ·

用高通量实时荧光 PCR 技术研究低浓度 MNNG 诱发的细胞基因应答反应*

李红娟¹, 石 为¹, 卢翔云¹, 邵敏华², 周 韧¹, 卢大儒², 余应年^{1△}

(¹浙江大学医学院病理学和病理生理教研室, 浙江 杭州 310031; ²复旦大学生命科学院遗传所, 上海 200433)

[摘 要] 目的: 研究低浓度 N-甲基-N'-硝基-N-亚硝基胍对人羊膜 FL 细胞部分基因表达的影响, 以助于阐明 MNNG 引起细胞应答反应的基因及其调控机制。方法: 用 ABI 公司的高通量实时荧光定量 PCR 方法, 检测 FL 细胞在 0.2 μmol/L MNNG 处理后基因表达发生的改变。数据用 ABI 公司的 SDS 2.1 软件分析。结果: MNNG 处理后, 在检测的 95 个基因中, 29 个基因表达发生改变, 其中 14 个基因下调 2 倍以上, 15 个基因下调在 1.5-2 倍之间; 其中有 4 个基因与细胞周期相关, 6 个基因与信号转导相关, 6 个基因与转录调节相关。结论: 在低浓度 MNNG 攻击后, FL 细胞的基因表达发生了显著的变化。

[关键词] N-甲基-N'-硝基-N-亚硝基胍; 实时荧光定量 PCR; 基因表达

[中图分类号] R994.6 [文献标识码] A

Study on cellular gene response to low concentration of MNNG in human amnion FL cells by high throughput real-time fluorescent PCR

LI Hong-juan¹, SHI Wei¹, LU Xiang-yun¹, SHAO Min-hua², ZHOU Ren¹, LU Da-ru², YU Ying-nian¹

(¹ Department of Pathology and Pathophysiology, Zhejiang University School of Medicine, Hangzhou 310031, China; ² Institute of Genetics, School of Life Science, Fudan University, Shanghai 200433, China. E-mail: ynyu@hznc.com)

[ABSTRACT] AIM: To study the gene expression changes of 95 genes in human FL cells after treatment with low concentration of N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (MNNG) in order to elucidate the response genes and regulatory mechanism of human FL cells exposed to MNNG. METHODS: Gene expression of human FL cells treated with 0.2 μmol/L MNNG was detected by high throughput real-time PCR. Data were analyzed by SDS 2.1 software. RESULTS: 26 of 95 genes showed significant change in cells after MNNG treatment. The mRNA expression level decreased more than 2 fold in 14 of 26, and 1.5 to 2 fold in another 15 genes. There were 6 cell cycle related genes, 6 signal transduction related genes and 6 transcription regulation related genes in the 29 genes. CONCLUSION: There are significant alterations of gene profile in human FL cells after low concentration of MNNG attack.

[KEY WORDS] N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine; Real-time fluorescent PCR; Gene expression

单功能烷化剂 N-甲基-N'-硝基-N-亚硝基胍(N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine, MNNG)是一种高效的化学诱变剂和致癌剂,它能和 DNA 及蛋白质等生物大分子形成加合物而导致定标突变形成,作者实验室还发现, MNNG 还可通过非核起源的外遗传途径,激活细胞信号转导通路,引起一系列基因表达的改变而导致非定标突变的形成^[1,2]。

用传统的实验方法研究 MNNG 诱导的细胞反

应,已发现有多基因表达发生改变,但是研究周期较长。高通量基因芯片技术和蛋白质组学技术可以实现快速、高效,但分别存在假阳性率高和分辨率低的问题,其结果的可靠性需要用 Northern 杂交或荧光实时定量 PCR 方法进一步验证和确定。但原有的 Northern 杂交技术和荧光实时定量 PCR 都存在操作复杂、通量小的缺点,对芯片筛选出的众多差异基因难以验证。近年发展的高通量实时荧光 PCR 技术,以自动化程度高、低污染、高通量、用外

[收稿日期] 2006-02-27 [修回日期] 2006-04-28

* [基金项目] 国家重点基础研究发展规划(973)资助项目(No. 2002CB512901; No. 2002CB512902)

△通讯作者 Tel/Fax: 0571-87217149; E-mail: ynyu@hznc.com

参照^[3]等特点,及时满足了芯片数据验证和高通量基因表达定量的需要,在基因表达研究、转基因研究、药物疗效考核、病原体检测等诸多领域的应用有广阔的前景。

本实验应用高通量实时荧光定量 PCR 技术,采用 ABI 公司最新的低密度表达谱芯片(微流卡),检测人羊膜上皮 FL 细胞在低浓度 MNNG 处理后部分基因表达的改变,从而为进一步研究其应答基因的调控机制及致病的预防提供理论基础。

材 料 和 方 法

1 材料和试剂

MNNG 购自 Fluka 公司;Eagle's MEM 干粉培养基和新生牛血清购自 Gibco 公司;焦炭酸二乙酯(DEPC)购自 Sigma 公司,Trizol 试剂购自 Invitrogen 公司,去除 DNA 污染的 DNA-free™ 试剂盒购自 Ambion 公司;TaqMan 基因表达试剂盒包括微流卡(micro fluidic card)和 TaqMan 通用 PCR 混合液(TaqMan Universal PCR Master Mix, P/N 4304437)以及 RNA 反转录试剂盒(High-Capacity cDNA Archive Kit, P/N 4322171)购自 ABI 公司。

本实验选用微流卡(P/N4342259,样式 7)上分布 384 孔,共分为 4 个区。每个区可扩增 96 个基因 cDNA,其中以 18S rRNA 设定为内参照基因,其余 95 个为待扩增基因,是从本实验室前期进行的、用基因芯片技术筛选出对 MNNG 处理有反应的基因里选择感兴趣的基因进行验证。每个基因优化的上下游引物及 TaqMan MGB 探针检索自 www.appliedbiosystem.com 网站,并委托 ABI 公司以冻干形式合成于 384 孔的微流卡上。4 个区的待扩增基因均相同。

2 细胞培养和处理

人羊膜上皮 FL 细胞株由本实验室保存,单层培养于含 Eagle's 的 MEM、10% 新生牛血清、 1×10^5 U/L 青霉素钠和 1×10^5 U/L 硫酸链霉素的培养液中,置 37 °C、5% CO₂ 的饱和湿度培养箱中传代培养。细胞传代培养至对数生长期,进行处理,处理组与对照组各设 3 个重复。处理组细胞用含 MNNG(终浓度为 0.2 μmol/L)的无血清培养液,对照组则用含等量的溶剂 DMSO 的无血清培养液。处理 2 h 后,置于新鲜全培养液中,继续培养 4 h。细胞在培养及处理过程未发现明显的细胞脱落及形状改变。

3 细胞总 RNA 提取和纯化

细胞培养 4 h 后,弃去培养液,以磷酸盐缓冲液(PBS)洗涤两次,加入 Trizol 试剂完全裂解细胞,收集细胞裂解液,分装贮存于 -70 °C。取 1 mL 裂解

液,氯仿抽提,异丙醇沉淀,回收总 RNA,贮存于 -70 °C。以 1% 琼脂糖凝胶电泳和紫外分光光度计 A_{260}/A_{280} 鉴定 RNA 纯度和浓度。取约 10 μg 总 RNA,用 DNA-free™ 试剂盒纯化回收 RNA,去除 RNA 中可能存在的 DNA 污染^[4]。纯化后总 RNA 以相同方法鉴定 RNA 纯度和浓度。RNA 提取和纯化过程使用的枪头、EP 管和去离子水均经 DEPC 处理,容器经高温干烤,以防止 RNase 的污染。

4 荧光定量 RT-PCR

取 1 μg 纯化后总 RNA,用 High-Capacity cDNA Archive Kit 反转录试剂盒合成单链 cDNA 模板,保存于 -20 °C。根据 ABI 公司设计,384 孔板的微流卡上每个孔的反应体积约为 2 μL,经过优化设计的上下游引物和 TaqMan MGB 探针(5'-6-FAM 标记)以冻干形式存在,当加入 cDNA 模板、TaqMan PCR Master Mix 和去离子水的定比例混合液后,每条引物和探针的浓度分别达到 900 nmol/L 和 250 nmol/L,同时每孔大约含有从 1 ng 总 RNA 反转录而来的 cDNA 模板。PCR 反应及数据采集在 ABI Prism 7900HT Sequence Detection System 系统上进行,循环参数由 ABI 公司提供:50 °C,2 min,激活 AmpErase UNG 酶以防止非特异扩增产物;94.5 °C,10 min,灭活 AmpErase UNG 酶,同时激活 AmpliTaq Gold DNA 聚合酶;97 °C 15 s,59.7 °C 30 s,40 个循环。

5 数据分析

PCR 完成后,用 ABI Prism SDS 2.1 软件,用相对定量研究方法分析实验结果。根据扩增曲线,确定每个基因相应的 Ct 值,在 Microsoft Excel 软件上进行相对定量研究和统计处理。以 18 s rRNA 为阳性内对照基因,校正 PCR 模板的拷贝数。相对量采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 方法计算^[5],即 $\Delta Ct_{\text{目标基因}} = Ct_{\text{目标基因}} - Ct_{\text{同一标本 18 s}}$; $\Delta\Delta Ct_{\text{目标基因}} = \text{处理组 } \Delta Ct_{\text{目标基因}} - \text{对照组 } \Delta Ct_{\text{目标基因}}$,而相对倍数(relative quantification) = $2^{-\Delta\Delta Ct_{\text{目标基因}}}$ 。如相对倍数小于 1,则对其取负倒数($-1/2^{-\Delta\Delta Ct_{\text{目标基因}}}$),表示基因下调倍数(down-regulation relative quantification)。

对每个基因的处理和对照的各 3 次重复的 ΔCt 值,用配对 Student's 双侧 *t*-检验进行统计分析, $P < 0.05$ 的基因被认为具显著差异。有显著差异且 3 次重复表达趋势一致的基因为差异表达基因。

结 果

用 ABI 公司提供的专用于分析实时荧光定量 PCR 结果的软件 SDS 2.1,对扩增结果做相对定量分析,从扩增曲线(图 1)得知,在 96 个基因中,位于图

1 右下方和左上方以“○”标记的 7 个基因因为引物或者探针的问题没有获得扩增,其余 89 个基因在 3 次重复实验中均扩增良好。

数据分析后发现,经 0.2 $\mu\text{mol/L}$ MNNG 处理后,改变有显著意义的基因共 29 个,均下调,其中 14

个基因下调 2.0 倍以上,15 个基因下调 1.5 – 2.0 倍之间。经检索 www.ncbi.nlm.nih.gov、www.gene-cards.org、genereg.ornl.gov/webgestalt、www.affymetrix.com 等网站,对 MNNG 处理后表达下调的基因按照参与的生物过程分类,结果见表 1。

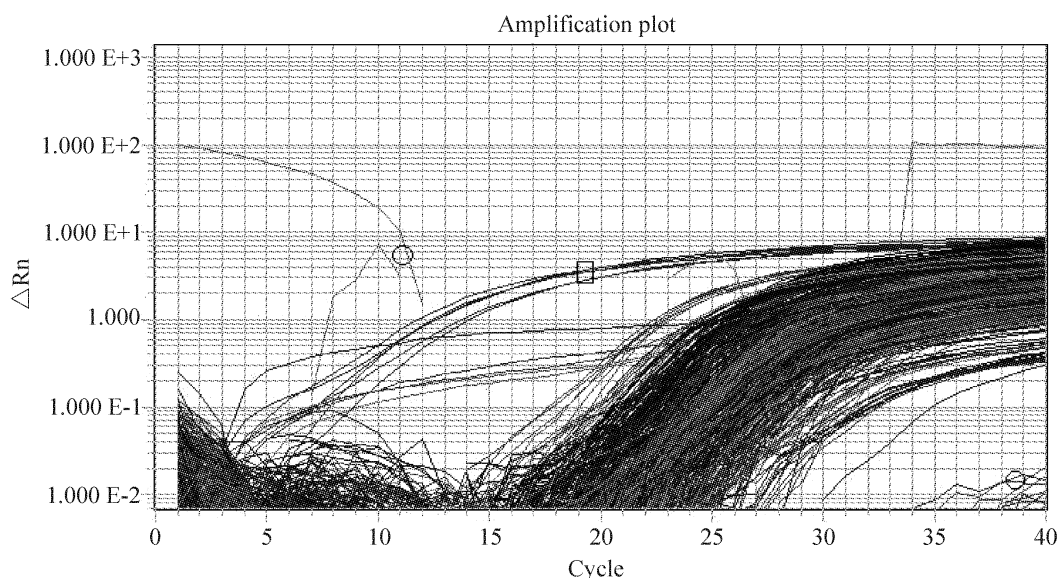


Fig 1 Amplification plot of PCR by SDS 2.1 software. □:18s rRNA; ○:unamplification gene.

图 1 用 SDS2.1 软件分析的 PCR 扩增曲线

表 1 下调基因分子功能分类

Tab 1 Classification of down-regulated genes by biological process

Index No.	RefSeq id	Gene symbol	Gene name	Distribution in cellular component description	Molecular function	Down-regulation relative quantification
Regulation of transcription						
	NM_001012320	ZNF302	Zinc finger protein 302	Nucleus, intracellular	DNA binding, zinc ion binding	3.7**
	NM_138330	ZNF675	Zinc finger protein 675	Nucleus, intracellular, cytoplasm	transcriptional repressor activity	2.1*
	NM_014515	CNOT2	CCR4 – NOT transcription complex, subunit 2	Nucleus	RNA polymerase II Transcription mediator activity	2.0*
	NM_007109	TCF19	Transcription factor 19	Nucleus	transcription factor activity	1.6**
	NM_173797	PAPD4	PAP associated domain containing 4	—	Nucleic acid binding	1.7*
	NM_014423	AFF4	AF4/FMR2 family, member 4	—	Transcription from RNA polymerase II promoter	1.8*
Cell cycle						
	NM_001259	CDK6	Cyclin – dependent kinase 6	Cytoplasm	Protein serine/threonine kinase activity	2.5**
	NM_018136	ASPM	Asp (abnormal spindle) – like, microcephaly associated (drosophila)	Nucleus	Calmodulin binding	2.9*

续表 1

	NM_203394	E2F7	E2F transcription factor 7	Nucleus	Cell proliferation and differentiation	1.6**
	NM_018227	FLJ10808	Hypothetical protein FLJ10808	—	Ubiquitin cycle	2.2**
Signal transduction	NM_004815	ARHGAP29	Rho GTPase activating protein 29	—	Rho GTPase activator activity	2.3*
	NM_001222	CAMK2G	Calcium/CaM kinase II gamma	Cytoplasm	Calcium signaling pathway	1.5**
	NM_002184	IL6ST	Interleukin 6 signal transducer (gp130, oncostatin M receptor)	Plasma membrane	Cytokine – cytokine receptor interaction Jak – STAT signaling pathway	2.4**
	NM_007118	TRIO	Triple functional domain (PTPRF interacting)	Membrane	Protein serine/threonine kinase activity	1.6**
	NM_001032394	GPR126	G protein – coupled receptor 126	Membrane	G – protein coupled receptor activity	2.2**
	NM_024576	OGFRL1	Opioid growth factor receptor – like 1	Membrane	Cell surface receptor mediated signal transduction	1.9*
Metabolism	NM_000484	APP	Amyloid beta (A4) precursor protein (protease nexin – II, Alzheimer disease)	Plasma membrane	Serine – type endopeptidase inhibitor activity	1.5**
	NM_014905	GLS	Glutaminase	Mitochondrion	Glutaminase activity, hydrolase activity	2.2**
	NM_002130	HMGCS1	3 – hydroxy – 3 – methylglutaryl – Coenzyme A synthase 1 (soluble)	Cytoplasm	Lipid, fatty acid and steroid metabolism	1.7*
	NM_006267	RANBP2	RAN binding protein 2	Nucleus	Peptidyl – prolyl cis – trans isomerase activity	2.5*
Transport	NM_004694	SLC16A6	Solute carrier family 16, member 6	Membrane	Monocarboxylic acid transporter activity	2.0**
	NM_014331	SLC7A11	Solute carrier family 7, (cationic amino acid transporter, y + system) member 11	Integral to membrane	Amino acid transporter activity	3.1*
	NM_006348	COG5	Component of oligomeric golgi complex 5	Membrane, golgi transport complex	Protein transport	1.5**
Protein biosynthesis	NM_001970	EIF5A	Eukaryotic translation initiation factor 5A	—	Translation initiation factor activity	1.8**
	NM_016061	YPEL5	Yippee – like 5 (drosophila)	—	Protein folding	1.5**
Development	NM_022772	EPS8L2	EPS8 – like 2	—	Receptor activity	1.9**
Immune response	NM_018284	GBP3	Guanylate binding protein 3	—	Immune response	3.0**
Unknown	Hs. 432548	C10orf18	Chromosome 10 open reading frame 18	—	—	1.8**
	NM_033224	PURB	Purine – rich element binding protein B	—	—	1.5**

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs DMSO; —: unclassified.

讨 论

在低浓度 MNNG 引起的 29 个表达下调的基因中,以下几类基因引起我们的关注:

细胞周期相关基因: CDK6、E2F7、ASPM、FLJ10808 下调可能使细胞周期发生改变。CDK6 参与细胞周期调控,与细胞增殖、分化密切相关,其编码的产物为细胞周期依赖的蛋白激酶家族(CDKs)的成员,是调节控制细胞周期,特别是 G₁-S 期过渡的关键。当 CDK6 活性下降或者被抑制时,使之不能解除 Rb 基因对转录因子的抑制,从而阻止细胞从 G₁ 期进入 S 期,抑制细胞增殖,阻止细胞生长。已有研究发现,许多人类肿瘤的发生都与 CDKs,特别是 CDK4 或 CDK6 有关。Ohtani 等^[6]发现,CDK4 和 CDK6 的抑制物 p16^{INK4a}(肿瘤抑制蛋白)可以使细胞停滞在 G₁ 期,可以导致细胞衰老。E2F7 基因,作为 E2F 转录因子中的新成员,其表达受细胞生长调节,编码的蛋白有两个保守的 DNA 结合区,缺少异二聚体形成区,可以阻断一系列靶基因依赖的 E2F 的活化,因此,E2F7 具有抑制细胞增殖的转录阻遏物的特性^[7]。MNNG 诱导的 CDK6 和 E2F7 基因表达的下调,是通过 CDK6 下调使细胞停滞在 G₁ 期,阻止受损 DNA 的复制、转录和翻译,还是因 E2F7 基因的下调通过使 E2F 失阻遏,而促进细胞增殖,或者其它机制,作者认为还需要相关实验继续研究。ASPM 作为钙调蛋白结合位点,参与细胞分化和细胞周期调节。FLJ10808 通过泛素化调节细胞周期。

信号转导相关基因: IL6ST、CAMK2G、ARHGAP29、TRIO、GPR126、OGFRL1 下调可能导致多个信号转导通路的异常。IL6ST 基因编码的 IL6ST 蛋白是一个非常重要的信号分子,为白细胞介素-6 家族细胞因子作用的受体的亚基,白细胞介素-6 家族的信号通过此受体亚基转导,参与多种生物功能,如细胞间信息传递、细胞周期调节、免疫反应、血细胞分化等功能^[8]。Zhao 等^[9]发现,在乳腺组织中,IL-6 家族信号通过此受体亚基,然后激活 Stat3、MAPK 和 PI3K。Yoshida 等^[10]发现,IL-6 ST 基因缺陷的小鼠可出现造血干细胞的减少、胎盘结构和功能的缺陷,甚至使胚胎出现致死性损伤。CAMK2G 具有丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶、酪氨酸蛋白激酶以及钙和钙调蛋白依赖的蛋白激酶活性,通过多种途径参与钙信号通路转导。GPR126 有 G-蛋白偶联受体活性,TRIO 有蛋白质丝氨酸/苏氨酸激酶活性,均与信号转导有关。可见 MNNG 可引起广泛的细胞信号转导异常,而且在作者实验室已经证

明,MNNG 可诱发多条信号通路的激活,如 JNK/SAPK 通路^[11]、cAMP - PKA - CREB 通路^[12]等。Wang 等^[13]研究证明,细胞经 MNNG 处理后有 cAMP - PKA - CREB 通路的激活;PKA 活性的激活并不依赖于 MNNG 的 DNA 损伤作用。

转录调节相关的基因: ZNF302、ZNF675、CNOT2、TCF19、AFF4、PAPD4 表达下调,可能使基因在转录水平下降。锌指蛋白基因 ZNF302、ZNF675 表达均下调 2 倍以上。锌指蛋白广泛存在于真核细胞,大部分是基因表达的调控因子,其调节功能一般是通过识别并结合于某基因上游(或内部)特定的 DNA 序列,影响转录起始复合物的形成,调控激活或抑制该基因的转录。某些锌指蛋白也参与蛋白质间的相互作用及蛋白质与脂质之间的相互作用,并通过其激酶结合区域传递信号。Jin 等^[14]发现在低浓度 MNNG 处理后,也发现有 ZNF198、ZNF263、ZNF14 等蛋白的表达改变。MNNG 处理是否通过复杂的信号转导通路的改变,导致锌指蛋白表达下调,从而影响其调控的下游基因的转录和翻译发生改变。而且另有报道,各种 DNA 损伤剂,如离子射线、紫外线和化学致癌物诱导的基因表达改变中都有不同种类的锌指蛋白的表达改变^[15]。因此锌指蛋白的表达改变或者是细胞对 DNA 损伤剂的一种普遍的应答反应。CNOT2、TCF19、AFF4、E2F7、PAPD4 也通过不同的途径参与转录调节过程,见表 1。

细胞代谢相关基因:众多与细胞代谢相关基因改变,如 GLS、HMGCS1、RANBP2、APP,使多种物质代谢紊乱。HMGCS1 编码产物与脂质的合成与降解、缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸的降解及丁氨酸盐的代谢有关。GLS 编码产物谷氨酰胺酶与谷氨酸盐、氮质代谢密切相关。APP 编码的淀粉样蛋白前体,与神经元的降解有关,目前被公认和 Alzheimer's disease 的发病有直接关系。诸多与细胞代谢密切相关的基因的下调,说明 MNNG 可导致细胞在物质代谢水平,如糖、脂肪、蛋白质等的代谢紊乱。

总之,本次实验证明,低浓度 MNNG 即可对细胞基因表达产生广泛的影响,但是这些基因是属于细胞对 DNA 损伤剂的普遍的应答反应,还是细胞对烷化剂 MNNG 的特异性反应;是细胞的保护性反应,还是对细胞的损伤;彼此之间是通过何种机制进行调控,仍有待更深入、详尽的研究。

本实验采用的高通量实时荧光定量 PCR 技术,是 ABI 公司针对基因芯片检测结果的验证和高通量基因表达定量研究的需要而推出的。此技术基于荧光实时定量 PCR,采用最新的低密度表达谱芯片(微

流卡),由于利用 TaqMan 技术,其重复性、准确性和灵敏性均较好,同时以高通量检测 384 个基因的优点,可以被广泛应用于基因表达研究、转基因研究,药物疗效考核、病原体检测等诸多领域。但是,诸多因素实验,如引物和探针的质量、实验试剂、样本的质量、扩增的条件、研究人员对数据的分析思路,均会对实验结果的精确性产生很大的影响,因此此项实验技术仍需继续优化和完善^[4]。

[参 考 文 献]

- [1] 余应年,杨 军. 化学诱变剂诱发基因非定性突变的分子机理研究[J]. 浙江大学学报(医学版), 2003, 32(5): 369 - 374.
- [2] 余应年. 细胞信号转导, DNA 聚合酶与体细胞基因突变[J]. 中国病理生理杂志, 2000, 16(10): 929 - 930.
- [3] Ke LD, Chen Z, Yung WK. A reliability test of standard - based quantitative PCR: exogenous *vs* endogenous standards[J]. Mol Cell Probes, 2000, 14 (2): 127 - 135.
- [4] Bustin SA. Quantification of mRNA using real - time reverse transcription PCR (RT - PCR): trends and problems[J]. J Mol Endocrinol, 2002, 29 (1): 23 - 39.
- [5] Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real - time quantitative PCR and the 2 (-Delta Delta CT) [J]. Methods, 2001, 25(4): 402 - 408.
- [6] Ohtani N, Yamakoshi K, Takahashi A, et al. The p16^{INK4a} - RB pathway: molecular link between cellular senescence and tumor suppression[J]. J Med Invest, 2004, 51(3 - 4): 146 - 153.
- [7] De Bruin A, Maiti B, Jakoi L, et al. Identification and characterization of E2F7, a novel mammalian E2F family member capable of blocking cellular proliferation [J]. J Biol Chem, 2003, 278 (43): 42041 - 42049.
- [8] Ernst M, Jenkins BJ. Acquiring signaling specificity from the cytokine receptor gp130[J]. Trends Genet, 2004, 20 (1): 23 - 32.
- [9] Zhao L, Stefan Hart S. Mammary gland remodeling depends on gp130 signaling through Stat3 and MAPK[J]. J Biol Chem, 2004, 279(42): 44093 - 44100.
- [10] Yoshida K, Taga T. Targeted disruption of gp130, a common signal transducer for the interleukin 6 family of cytokines, leads to myocardial and hematological disorders [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1996, 93(1): 407 - 411.
- [11] 竺可青, 余应年, 章锁江. MNNG 对哺乳类细胞 JNK/SAPK 及 p38MAPK 作用及其信号源研究[J]. 中国病理生理杂志, 2003, 19(4): 433 - 437.
- [12] Wang GL, Yu YN, Xie HY. Low concentration N - methyl - N' - nitro - N' - nitrosoguanidine activates DNA polymerase - β expression via cyclic - AMP - protein kinase A - cAMP response element binding protein pathway [J]. Mutat Res, 2001, 478(1 - 2): 177 - 184.
- [13] Wang Z, Wang G, Yang J, et al. Activation of protein kinase A and clustering of cell surface receptors by N - methyl - N' - nitro - N - nitrosoguanidine are independent of genomic DNA damage[J]. Mutat Res, 2003, 528 (1 - 2): 29 - 36.
- [14] Jin JH, Gao ZH. Proteomic analysis of cellular response to low concentration N - methyl - N' - nitro - N - nitrosoguanidine in human amnion FL cells [J]. J Zhejiang UNIV (Med Sci), 2003, 32(5): 375 - 379.
- [15] Ishiguchi H, Izumi H, Torigoe T, et al. ZNF143 activates gene expression in response to DNA damage and binds to cisplatin - modified DNA [J]. Int J Cancer, 2004, 111 (6): 900 - 909.