

[文章编号] 1000-1182(2007)04-0399-05

阿霉素诱导鸟嘌呤-四链体形成对Tca8113细胞端粒酶介导的端粒延伸反应的影响

胡晓文^{1,2}, 黄洪章¹, 余东升¹

(1.中山大学附属第二医院 口腔颌面外科; 2.中山大学附属口腔医院 口腔颌面外科, 广东 广州 510120)

[摘要] 目的 探讨阿霉素诱导端粒重复序列核苷酸形成G4及其抑制Tca8113细胞端粒酶介导的端粒延伸反应的功能作用。方法 通过非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳迁移实验来分析不同质量浓度的阿霉素对d(TTAGGG)₃、d(TTAGGG)₄和d(TTAGGG)₅迁移速度的影响以及对d(TTAGGG)₄、d(TTAGAG)₄、d(TTAGGG)₅和d(TTAGGGT)电泳的影响;用二甲基硫酸盐(DMS)甲基化保护实验分析d(TTAGGG)₄和d(TTAGAG)₄中G的甲基化作用;利用经典端粒重复序列扩增法(TRAP)和改良TRAP-G4检测法分析阿霉素抑制Tca8113细胞端粒酶介导的端粒延伸反应的特点。结果 质量浓度为5.00 μg/mL阿霉素可使部分线性d(TTAGGG)₄和d(TTAGGG)₅转变成有二级结构的复合物,呈现为新的高速迁移条带。质量浓度为1.25 μg/mL阿霉素可保护端粒重复序列中G免遭甲基化作用。质量浓度为2.50、1.25 μg/mL阿霉素在TRAP检测中可部分抑制端粒延伸反应,而在TRAP-G4检测中可完全抑制端粒延伸反应。结论 阿霉素可通过诱导端粒重复序列形成分子内G4结构抑制端粒酶介导的端粒延伸反应。

[关键词] 阿霉素; Tca8113细胞; 端粒延伸反应

[中图分类号] R739.81 [文献标识码] A

Effects of guanine-quadruplexes formation induced by adriamycin on telomeric extension reaction mediated by telomerase of Tca8113 cells HU Xiao-wen^{1,2}, HUANG Hong-zhang¹, YU Dong-sheng¹. (1. Dept. of Oral and Maxillofacial Surgery, The Second Affiliated Hospital, Sun Yat-Sen University, Guangzhou 510120, China; 2. Dept. of Oral and Maxillofacial Surgery, The Affiliated Stomatology Hospital, Sun Yat-Sen University, Guangzhou 510120, China)

[Abstract] Objective To study the effects of adriamycin to disturb telomeric extension reaction mediated by telomerase of Tca8113 cells by inducing dinucleotides that contain telomeric repeats to form guanine-quadruplex (G4) structures. Methods In the presence of adriamycin, d(TTAGGG)₄, d(TTAGAG)₄, d(TTAGGG)₅ and d(TTAGGGT) were analyzed by electrophoretic mobility shift assay. The mobility of d(TTAGGG)₃, d(TTAGGG)₄ and d(TTAGGG)₅ in native polyacrylamide electrophoresis were observed. Methylation protection experiments were performed to investigate the effects of adriamycin on methylation of guanine in d(TTAGGG)₄ and d(TTAGAG)₄. The traditional telomeric repeats amplification protocol (TRAP) and modified TRAP-G4 assays were, respectively, used to analyze the different characteristics of adriamycin's inhibiting telomeric extension mediated by telomerase of Tca8113 cells. Results At 5.00 μg/mL of adriamycin, conversion of some of linear d(TTAGGG)₄ and d(TTAGGG)₅ to the new, high-mobility bands formed by complex with special second structures were found in the mobility shift assay. Adriamycin at 1.25 μg/mL protected the G in d(TTAGGG)₄ from methylating. Adriamycin at 2.50 μg/mL or 1.25 μg/mL partially inhibited the telomeric extension lengthened by telomerase of Tca8113 cells in TRAP assay, but completely did so in TRAP-G4 assay. Conclusion Adriamycin is able to disturb telomeric extension mediated by telomerase of Tca8113 cells by inducing dinucleotides that contain telomeric repeats to form intra-molecular G4 structures.

[Key words] adriamycin; Tca8113 cells; telomeric extension reaction

[收稿日期] 2006-11-02; [修回日期] 2007-01-23

[基金项目] 中国博士后科学基金资助项目(2003033421); 广东省

医学科研基金资助项目(A2006237)

[作者简介] 胡晓文(1966-), 男, 吉林人, 副教授, 博士

[通讯作者] 黄洪章, Tel: 020-81332507

端粒3'末端突出单链可形成四链状DNA结构^[1], 即鸟嘌呤-四链体(guanine-quadruplex, G4)。在体外已发现有多种形式的G4结构^[2-3], 含单个G丰富重复序列的核苷酸可形成四分子间G4结构; 而含有2个或多个端粒重复序列的核苷酸可形成两个分子间

G-G发卡型结构或分子内折叠型G4结构。G4在端粒酶催化的端粒延伸反应过程中的重要调节作用已受到人们的重视,能够特异作用于G4的小分子化合物对靶向端粒的肿瘤治疗有重要意义^[4-6]。研究^[7]发现,某些蒽醌类化合物具有诱导G4形成和稳定G4结构的作用,而且在一些肿瘤细胞株内显示出抑制端粒酶活性及对肿瘤细胞生物学性状产生影响的特性。阿霉素是蒽醌类抗肿瘤药物的主要代表,为了解阿霉素在G4形成中的作用及G4形成在Tca8113细胞端粒酶活性调控机制中的作用,本研究观察阿霉素诱导端粒重复序列核苷酸形成G4的功能作用及其诱导G4形成对Tca8113细胞端粒酶介导的端粒延伸反应的影响,为证明G4结构是新型端粒酶抑制剂设计的靶点提供实验证据。

1 材料和方法

1.1 药品与主要试剂

阿霉素(深圳万乐药业有限公司,批号922001),端粒酶检测试剂盒(美国罗氏生物公司), Tris- 盐酸、Tris- 硼酸、二硫苏糖醇、乙二胺四乙酸、牛血清白蛋白、聚丙烯酰胺、二甲基硫酸盐(dimethyl sulfate, DMS)、 β - 巯基乙醇、六氢吡啶、DMEM(dulbecco s modified eagle s medium)培养基(Sigma公司,美国)。

1.2 寡核苷酸及引物的合成

凝胶电泳迁移实验用核苷酸d(TTAGGGT)、d(TTAGGG)₃、d(TTAGGG)₄、d(TTAGGG)₅、d(TTAGAG)₄和端粒酶活性测定用核苷酸引物TsG4 [5-(GGGATT)₃GGGTT-3]、Ts[5-AATCCGTCGAGCAGAGTT-3]、Cxext [5-GTG(CCCTTA)₄-3]、NT内参照正向引物(5-ATCGCTTCTGGCCTTTT-3)、TSNT内参照反向引物(5-ATTCCGTCGAGCAGAGTTAAAAGGCCGAGAAGCGAT-3)均由上海生物工程公司合成。

1.3 非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳迁移实验

将5 nmd的上述凝胶电泳迁移实验用核苷酸分别与10 μ L缓冲液(浓度为50 mmol/L pH为7.5 Tris-盐酸,浓度为10 mmol/L MgCl₂,浓度为0.1 nmd/L EDTA和质量浓度为1.5 μ g/mL牛血清白蛋白)在25 $^{\circ}$ C下充分混合后孵育10 min,每份样品中加入阿霉素,使其质量浓度分别达到1.25、2.50、5.00 μ g/mL,室温下继续孵育4 h。首先分析不同质量浓度阿霉素对d(TTAGGG)₃、d(TTAGGG)₄和d(TTAGGG)₅迁移速度的影响,然后分析其对d(TTAGGG)₄、d(TTAGAG)₄、d(TTAGGG)₅和d(TTAGGGT)电泳的影响。依据这两个不同实验目的取相应样品混合物10 μ L,然后加

2 μ L负载缓冲液,于4 $^{\circ}$ C在1 \times Tris- 盐酸电泳缓冲液中行12%非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳。另外,用类似物d(TTAGAG)₄代替d(TTAGGG)₄在同样条件下进行电泳迁移实验作为对照。

1.4 DMS甲基化保护实验

5 nmd的d(TTAGGG)₄及d(TTAGAG)₄分别与上述10 μ L相同缓冲液混合,25 $^{\circ}$ C下孵育10 min,每份样品中加入阿霉素,使其质量浓度分别达到1.25、2.50、5.00 μ g/mL,室温下继续孵育4 h。将DMS加入到上述含不同质量浓度阿霉素的混合液中,使DMS终体积浓度为0.1%,室温下甲基化10 min,随后加入2 μ L浓度为7.2 mol/L β -巯基乙醇终止甲基化反应。随后样品进行乙醇沉淀,经六氢吡啶处理后进行12%变性聚丙烯酰胺凝胶电泳。

1.5 Tca8113细胞培养

人舌鳞癌Tca8113细胞(上海交通大学医学院附属第九人民医院惠赠)生长于含体积浓度为10%小牛血清的DMEM培养基中,置于37 $^{\circ}$ C、体积分数为5% CO₂饱和湿度细胞培养箱内传代培养,选用对数生长期细胞进行端粒酶提取。

1.6 端粒酶提取

收集对数生长期Tca8113细胞1 $\times 10^6$ 个,PBS冲洗,离心5 min,去除上清,用预冷的端粒酶裂解液于0 $^{\circ}$ C冰上孵育30 min。于4 $^{\circ}$ C 16 000 r/min,离心30 min,吸上清,经Bradford法蛋白定量后备用。

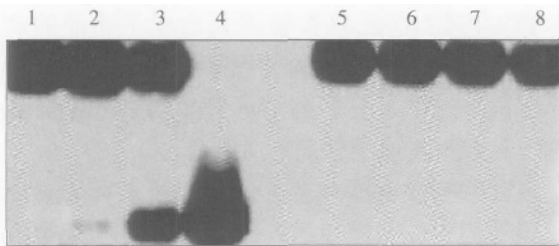
1.7 端粒酶介导的端粒延伸反应

分别采用经典端粒重复序列扩增法(telomeric repeat amplification protocol, TRAP)和参考文献^[8]中改良端粒重复序列扩增法(modified telomeric repeat amplification protocol, TRAP-G4)检测阿霉素对Tca8113细胞端粒酶介导的端粒延伸反应的影响。在TRAP-G4检测方法中,Ts引物变为TsG4:5-(GGGATT)₃GGGTT-3,取25 μ L端粒酶PCR反应混合液加入反应管内,再分别加入3.5 pmol TsG4引物、18 pmol Ts引物、22.5 pmol Cxext引物、7.5 pmol NT内参照正向引物、0.01 nmd TSNT内参照反向引物、2 μ g端粒酶提取液、储备浓度阿霉素或三蒸水,使PCR反应混合液总体积达到50 μ L,阿霉素作用质量浓度分别达到1.25、2.50、5.00 μ g/mL。30 $^{\circ}$ C下孵育30 min,90 $^{\circ}$ C下灭活端粒酶1 min。随后进行30个PCR循环:92 $^{\circ}$ C 30 s,55 $^{\circ}$ C 30 s,72 $^{\circ}$ C 90 s。在经典TRAP检测中,其PCR反应混合液内不加入TsG4引物,其余PCR反应条件相同。分别取上述不同TRAP检测反应产物15 μ L,并与2 μ L负载缓冲液混合并加样至12%非变性聚丙烯酰胺凝胶中进行电泳,凝胶经银染法显色。

2 结果

2.1 不同质量浓度阿霉素作用下寡核苷酸非变性凝胶电泳迁移情况

2.1.1 阿霉素可诱导含端粒重复序列的核苷酸形成紧凑的DNA二级结构 在梯度质量浓度阿霉素作用下,线性d(TTAGGG)₄的非变性凝胶电泳迁移情况发生了改变。在质量浓度为1.25 μg/mL阿霉素作用下,出现一个新的清晰的快速迁移条带。随阿霉素质量浓度增加,此快速迁移条带更清楚,几乎所有线性d(TTAGGG)₄均转变成快速迁移的条带(图1)。当用类似物d(TTAGAG)₄代替d(TTAGGG)₄在同样条件下进行电泳迁移实验后,未见高速迁移条带出现(图1)。



1-4依次为质量浓度0.00、1.25、2.50、5.00 μg/mL阿霉素对d(TTAGGG)₄的作用; 5-8依次为质量浓度0.00、1.25、2.50、5.00 μg/mL阿霉素对d(TTAGAG)₄的作用

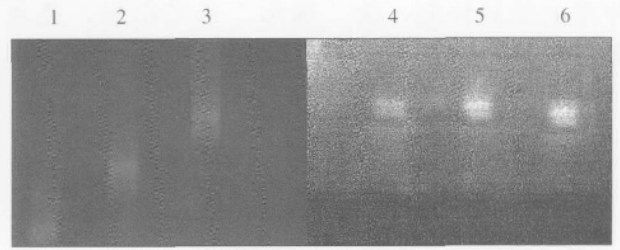
图1 不同质量浓度阿霉素对d(TTAGGG)₄和d(TTAGAG)₄非变性凝胶电泳的影响

Fig 1 Effects of adriamycin at different concentrations on d(TTAGGG)₄ and d(TTAGAG)₄ in native polyacrylamide electrophoresis

一般情况下,线性d(TTAGGG)₃、d(TTAGGG)₄及d(TTAGGG)₅进行凝胶电泳迁移实验时,它们的迁移速度主要依赖于其自身相对分子质量大小、序列长度及二级空间结构,因此,线性相对分子质量最小的d(TTAGGG)₃迁移速度最快,而相对分子质量最大的d(TTAGGG)₅迁移速度最慢(图2)。在质量浓度为5.00 μg/mL阿霉素存在下,上述三种线性核苷酸在凝胶中的迁移速度发生了改变,d(TTAGGG)₄及d(TTAGGG)₅的迁移速度明显加快,差不多与d(TTAGGG)₃一致(图2)。

2.1.2 阿霉素易诱导含端粒重复序列的核苷酸形成分子内G4结构 d(TTAGGGT)只含有一个端粒重复序列,如果阿霉素与其作用,只能形成分子间G4结构,在凝胶中会出现较低迁移速度的条带。但d(TTAGGGT)电泳迁移实验结果显示:每条泳带处均出现明显“拖尾”现象(图3),未出现分子间四聚体结构形成的低速迁移条带。d(TTAGGG)₅含有5个端粒重复序列,它既可形成分子内G4,也可形成分子间G4。在梯度质量浓度阿霉素作用下,泳道内

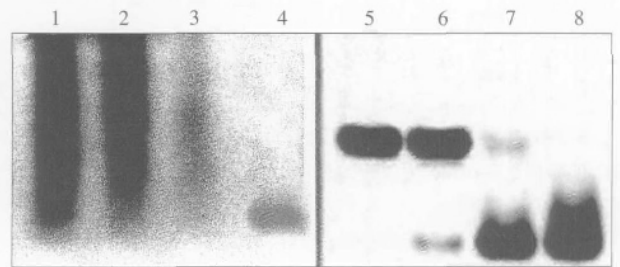
均出现新的快速迁移条带;随阿霉素作用质量浓度增加,快速迁移条带更加清楚,无低速迁移条带出现(图3)。上述电泳迁移实验结果提示,阿霉素容易诱导含端粒重复序列的核苷酸形成分子内G4结构,而非分子间G4结构。



1-3依次为没有阿霉素作用下的d(TTAGGG)₃、d(TTAGGG)₄及d(TTAGGG)₅迁移速度; 4-6依次为质量浓度为5.00 μg/mL阿霉素作用下的d(TTAGGG)₃、d(TTAGGG)₄及d(TTAGGG)₅迁移速度

图2 阿霉素对d(TTAGGG)₃、d(TTAGGG)₄及d(TTAGGG)₅在非变性凝胶电泳中迁移速度的影响

Fig 2 Effects of adriamycin on the mobility of d(TTAGGG)₃, d(TTAGGG)₄ and d(TTAGGG)₅ in native polyacrylamide electrophoresis



1-4依次为质量浓度为1.25、2.50、5.00、0.00 μg/mL阿霉素对d(TTAGGGT)的作用; 5-8依次为质量浓度为0.00、1.25、2.50、5.00 μg/mL阿霉素对d(TTAGAG)₅的作用

图3 不同质量浓度阿霉素对d(TTAGGGT)和d(TTAGAG)₅非变性凝胶电泳的影响

Fig 3 Effects of adriamycin at the different concentrations on d(TTAGGGT) and d(TTAGAG)₅ in native polyacrylamide electrophoresis

2.2 阿霉素保护端粒重复序列中鸟嘌呤免遭甲基化

在质量浓度为1.25 μg/mL阿霉素的作用下,d(TTAGGG)₄所有的G均可得到保护,未受DMS的甲基化作用。相反,用类似物d(TTAGAG)₄代替d(TTAGGG)₄时,即使在质量浓度为5.00 μg/mL阿霉素作用下,也未检测到阿霉素对G的保护;在变性凝胶电泳中,有对应于d(TTAGAG)₄中两个G处断裂的线性DNA片段泳带出现(图4)。

2.3 阿霉素诱导G4形成抑制Tca8113细胞端粒酶介导的端粒延伸反应

Tca8113细胞的TRAP检测结果表明,细胞内有端粒酶活性存在,银染的凝胶中有“梯形”带出现。当反应混合物内分别含有质量浓度为1.25、2.50、5.00 μg/mL阿霉素时,凝胶中“梯形”条带逐渐减

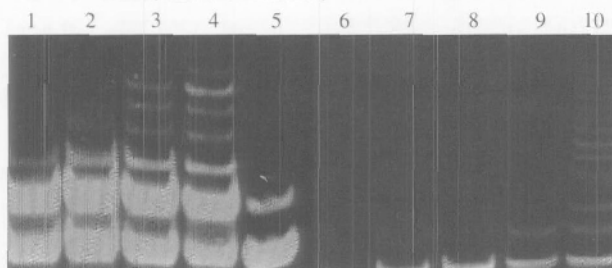
少；随阿霉素质量浓度增加，“梯形”条带逐减少更明显(图5)。在TRAP-G4测定中，无阿霉素存在时，TsG4被Tca8113细胞端粒酶延伸形成典型“梯形”条带，只有TsG4与Cxext间形成的二聚体。在质量浓度为1.25、2.50、5.00 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 阿霉素存在下，TsG4延伸完全受到抑制，无“梯形”条带出现，甚至TsG4-Cxext二聚体形成也受到抑制(图5)。



1-3依次为质量浓度为0.00、1.25、2.50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 阿霉素对d(TTAGGG)₄的作用；4-6依次为质量浓度为0.00、1.25、2.50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 阿霉素对d(TTAGAG)₄的作用

图4 阿霉素对d(TTAGGG)₄及d(TTAGAG)₄甲基化保护的影响

Fig 4 Effects of adriamycin on methylation of guanine in d(TTAGGG)₄ and d(TTAGAG)₄



1-4依次为质量浓度为5.00、2.50、1.25、0.00 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 阿霉素对Ts引物的作用；5、9为空白；6-8、10依次为质量浓度为5.00、2.50、1.25、0.00 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 阿霉素对TsG4的作用

图5 阿霉素对Tca8113细胞端粒酶介导的引物Ts和TsG4端粒延伸反应的影响

Fig 5 Effects of adriamycin on telomeric extension mediated by telomerase of Tca8113 cells in the presence of primer Ts or TsG4, respectively

3 讨论

研究^[9]表明，端粒功能主要依赖于其结构而非长度，端粒稳定对细胞生命维持十分重要。本研究通过比较d(TTAGAG)₄和d(TTAGGG)₄的非变性凝胶电泳迁移实验，结果发现阿霉素可促使含端粒重复序列的核苷酸形成高度有序的紧凑二级结构，GGG

串联区是阿霉素诱导紧凑二级结构形成的重要前提条件。阿霉素对线性d(TTAGGG)₃、d(TTAGGG)₄及d(TTAGGG)₅在凝胶电泳中迁移速度的影响提示，阿霉素可使至少含4个GGG串联的线性核苷酸结构发生改变，使其空间分子构象发生变化，形成紧凑的二级结构，导致迁移速度加快。因为G4结构比非结构性单链DNA迁移速度快，结合d(TTAGGG)₄及d(TTAGGG)₅序列特点，形成的紧凑二级结构主要为分子内G4结构。这与Fletcher等^[10]相关研究结果类同。另外在阿霉素作用下，d(TTAGGGT)在电泳迁移实验中出现明显“拖尾”现象，无清楚的慢速迁移条带出现。这些拖尾是部分核苷酸在阿霉素作用下形成的异常分子间不稳定多聚体，其空间结构及相对分子质量大小不一致，从而导致“拖尾”现象。而d(TTAGGG)₅在迁移实验中只出现了明显的快速迁移条带。这些迁移实验结果提示，阿霉素更容易选择性诱导端粒重复序列形成分子内G4结构。这也许与阿霉素生物化学性质有关。

通过非变性电泳迁移实验可以推测阿霉素对紧凑二级结构中G-G连接的Hoogsteen氢键有保护稳定作用。为了验证这个假设，本研究进行了DMS甲基化保护实验。DMS可特异对G中N₂进行甲基化，使G中C₂-C₃链对碱裂解具有特异敏感性，使核苷酸片段降解，形成长短不一的DNA分子，在变性凝胶电泳中出现降解片段。在阿霉素作用下，经DMS处理的d(TTAGGG)₄在变性凝胶电泳中未出现降解片段；而类似物d(TTAGAG)₄中的G未受到保护，其变性电泳中出现降解片段，这表明阿霉素能有效保护含有GGG串联的核苷酸中G残基免遭DMS甲基化，利于G-G连接的Hoogsteen氢键稳定，促进G4形成。在本系列以前研究中，本研究小组曾利用核磁共振氢谱仪观察到阿霉素对端粒重复序列核苷酸氢谱图产生影响，使其形成的代表有G四分体形成的Hoogsteen氢键波峰增宽增高。这两个实验结果一致。

分子内G4形成至少需要有4个TTAGGG存在。经典TRAP检测中，Ts引物不含G重复序列，所以只有在4个TTAGGG合成后方可检测到借助G4作用剂而抑制端粒酶引导的延伸反应。在此条件下产生的“梯形”条带代表了1-4个TTAGGG重复序列的延伸和Ts-Cxext二聚化体形成。在阿霉素作用下，TRAP测定显示端粒延伸抑制与阿霉素质量浓度间有剂量依赖性关系。质量浓度为1.25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 开始出现端粒延伸抑制，质量浓度为5.00 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 几乎完全抑制端粒延伸，但已得到部分延伸的Ts引物(少于4个TTAGGG序列)与Cxext间形成的二聚化体“梯形”条带仍可出现，这是因为只有在合成4个TTAGGG后，TRAP

法才可检测到抑制端粒延伸作用。因此, Ts-Cxext二聚体的形成会使TRAP法中通过分子内G4形成对端粒延伸的抑制作用受到掩盖。为了解决这一问题, Gomez等^[9]在传统TRAP法基础上进行了改良,建立了TRAP-G4检测法,对Ts进行修饰,正向引物变成了易于形成分子内G4结构又可被端粒酶延伸的TsG4。TsG4被设计成类似端粒序列的GGG区,同时又尽可能减少与逆向引物Cxext异常二聚化,所以序列中TTA被替换成ATT。当无阿霉素存在时, TsG4被Tca8113细胞端粒酶延伸形成典型“梯形”条带。在质量浓度为1.25、2.50 μg/mL阿霉素存在下, TsG4延伸完全受到抑制,包括TsG4-Cxext二聚体形成也受到抑制,这是由于TsG4在受端粒酶延伸作用之前已受到阿霉素的作用使之形成分子内G4,所以不能与Cxext间的碱基配对形成二聚体。由于质量浓度为1.25、2.50 μg/mL阿霉素在经典TRAP法中只能部分抑制端粒酶的延伸作用,至少会有Ts-Cxext二聚体存在,因此, TRAP-G4中检测结果显然是由于阿霉素使TsG4形成稳定分子内G4结构所致。用Ts和TsG4引物进行检测可以区别出以G4为基础的端粒酶抑制作用特点,也可有效帮助快速筛选具有端粒酶抑制作用的G4作用剂。

总之,本研究对阿霉素在G4形成中的作用及对Tca8113细胞端粒酶活性的影响特点进行了初步探讨。研究表明,阿霉素可诱导端粒序列核苷酸形成分子内G4结构,保护四分体中G免遭甲基化,可通过诱导G4形成抑制Tca8113细胞端粒酶介导的端粒延伸反应。

【参考文献】

[1] Petraccone L, Erra E, Esposito V, et al. Biophysical properties of quadruplex helices of modified human telomeric DNA[J]. Biopolymers, 2005, 77(2): 75-85.

[2] Esposito V, Randazzo A, Galeone A, et al. Structural study of four-stranded quadruplex structures containing 2'-deoxy-8-(propyn-1-yl) adenosine[J]. Bioorg Med Chem, 2004, 12(5): 1191-1197.

[3] Pothukuchy A, Mazzitelli CL, Rodriguez ML, et al. Duplex and quadruplex DNA binding and photocleavage by trioxatriangulenium ion[J]. Biochemistry, 2005, 44(6): 2163-2172.

[4] Pennarun G, Grandier C, Gauthier LR, et al. Apoptosis related to telomere instability and cell cycle alterations in human glioma cells treated by new highly selective G-quadruplex ligands[J]. Oncogene, 2005, 24(18): 2917-2928.

[5] Burger AM, Dai F, Schultes CM, et al. The G-quadruplex-interactive molecule BRACO-19 inhibits tumor growth, consistent with telomere targeting and interference with telomerase function[J]. Cancer Res, 2005, 65(4): 1489-1496.

[6] Rossetti L, Franceschin M, Schirripa S, et al. Selective interactions of perylene derivatives having different side chains with inter- and intramolecular G-quadruplex DNA structures. A correlation with telomerase inhibition[J]. Bioorg Med Chem Lett, 2005, 15(2): 413-420.

[7] Riou JF, Guittat L, Mailliet P, et al. Cell senescence and telomere shortening induced by a new series of specific G-quadruplex DNA ligands[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2002, 99(5): 2672-2677.

[8] Gomez D, Mergny JL, Riou JF. Detection of telomerase inhibitors based on G-quadruplex ligands by a modified telomeric repeat amplification protocol assay[J]. Cancer Res, 2002, 62(12): 3365-3368.

[9] 代晓明, 李龙江, 温玉明, 等. 端粒酶催化亚单位转染血管内皮细胞的实验研究[J]. 华西口腔医学杂志, 2004, 22(5): 373-375. DAI Xiao-ming, LI Long-jiang, WEN Yu-ming, et al. Studies on the transfection of umbilical endothelia with catalytic subunit of telomerase[J]. West China J Stomatol, 2004, 22(5): 373-375.

[10] Fletcher TM, Sun D, Salazar M, et al. Effect of DNA secondary structure on human telomerase activity[J]. Biochemistry, 1998, 37(16): 5536-5541.

(本文编辑 汤亚玲)

《华西口腔医学杂志》被日本科学技术信息中心数据库收录

日本科学技术信息中心数据库(JST)是在日本《科学技术文献速报》的基础上发展起来的网络版,由日本科学技术振兴事业团出版。日本《科学技术文献速报》1958年创刊,它是由日本科学技术情报中心(Japan information center of science and technology, JICST)编辑出版的综合性检索刊物。它是世界三大综合性文摘杂志之一,以简介和文摘两种形式报道世界上理工及经营管理等方面的文献,其中也报道少量的医学、农学及生命科学文献。日本《科学技术文献速报》摘录世界上60多个国家20多种文字出版的9700多种刊物。文献类型包括期刊、技术报告、政府出版物、学位论文和会议资料等,年报道量达55万条。最近,《华西口腔医学杂志》被日本科学技术信息中心数据库收录。