

肿瘤中表达相对较高,我们的免疫组化染色结果中,恶性肿瘤组 Notch1 阳性率 93%,良性对照组 5 例中 3 例 Notch1 表达为阴性,另 2 例表达阳性率均 <5%,与文献报道相符。

本实验验证了乳腺癌组织中 mTOR 与 Notch 通路存在相关性,符合肿瘤中存在 mTOR - Notch 通路的假设,但仅能说明两者同时活化,并不能证明其共同活化是由于一种蛋白作为上游活化了另一蛋白,亦或两种蛋白具有共同的活化因素。笔者认为,组织中存在更为复杂的信号通路网络和更多的影响因素,对于组织中 mTOR - Notch 通路的存在与具体组成还需进一步的实验验证。

由于 Notch 与肿瘤发生发展的关系十分复杂,应用 Notch 抑制剂治疗肿瘤仍然十分具有争议。笔者的结果提示在 mTOR 与 pS6 共同活化的肿瘤当中,如果两者之间为上游与下游的关系,则可以通过抑制 Notch 通路来对 pS6 活化的乳腺癌进行靶向治疗,反之,在 Notch 通路活化的肿瘤当中,亦可使用 mTOR 抑制剂进行治疗,从而扩大了 mTOR 活化亚型的乳腺癌中靶向治疗药物的选择范围。如果两者作用关系为共同活化因子作用下的并列关系,则可考虑应用联合靶向治疗,这对未来乳腺癌靶向治疗新方案及肿瘤个体化治疗具有很好的指导意义。由于尚有研究表明 Notch 通路可以正调节 mTOR,我们认为 mTOR 与 Notch 以非常复杂的方式相互作用。但两者的关系在肿瘤的发生发展、生理病理作用上可能具有更多的方

式和更为重要的影响。

参考文献

- 1 Manning BD, Cantley LC. AKT/PKB signaling: navigating downstream[J]. *Cell*, 2007, 129(7): 1261 - 1274
- 2 Sabatini DM. mTOR and cancer: insights into a complex relationship [J]. *Nat Rev Cancer*, 2006, 6(9): 729 - 734
- 3 Ehebauer M, Hayward P, Arias AM. Notch, a universal arbiter of cell fate decisions[J]. *Science*. 2006, 314(5804): 1414 - 1415
- 4 Chen VC, Stull R, Joo D, *et al.* Notch signaling respecifies the hemangioblast to a cardiac fate[J]. *Nat Biotechnol*, 2008, 26(10): 1169 - 1178
- 5 Robertson GP. Functional and therapeutic significance of Akt deregulation in malignant melanoma [J]. *Cancer Metastasis Rev*, 2005, 24(2): 273 - 285
- 6 Ma J, Meng Y, Kwiatkowski DJ, *et al.* Mammalian target of rapamycin regulates murine and human cell differentiation through STAT3/p63/Jagged/Notch cascade[J]. *J Clin Invest*, 2010, 120(1): 103 - 114
- 7 McKenzie G, Ward G, Stallwood Y, *et al.* Cellular Notch responsiveness is defined by phosphoinositide 3 - kinase - dependent signals[J]. *BMC Cell Biol*, 2006, 7: 10
- 8 Artavanis - Tsakonas S, Rand MD, Lake RJ. Notch signaling: cell fate control and signal integration in development[J]. *Science*, 1999, 284(5415): 770 - 776
- 9 Parr C, Watkins G, Jiang WG. The possible correlation of Notch - 1 and Notch - 2 with clinical outcome and tumour clinicopathological parameters in human breast cancer[J]. *Int J Mol Med*, 2004, 14(5): 779 - 786

(收稿日期:2013 - 05 - 06)

(修回日期:2013 - 05 - 17)

RYBP 慢病毒表达载体的构建及对结肠癌细胞 HCT116 增殖的影响

马 雯 陈 虹 黄秉仁 陈 等

摘 要 **目的** 构建 RYBP 慢病毒表达载体 pWPI - RYBP,包装慢病毒颗粒并感染结肠癌细胞 HCT116,分析 RYBP 的表达及对 HCT116 细胞增殖的影响。**方法** 用 DNA 克隆技术在慢病毒表达载体 pWPI - IRES - EGFP 序列中引入 Flag 标签及多个单酶切位点序列,改造后的载体命名为 pWPI - linker。采用反转录 - 多聚酶链反应(RT - PCR)从肝癌 SK - Hep - 1 细胞总 RNA 中扩增 RYBP 的全长开放阅读框序列,克隆入 pWPI - linker 载体中,得到 pWPI - RYBP。利用人胚肾细胞 HEK293T 包装重组慢病毒颗粒,分析该慢病毒颗粒感染 HCT116 细胞的效率、RYBP 蛋白的表达,用 MTS 方法分析 RYBP 过表达对 HCT116 细胞增殖的

基金项目:国家自然科学基金资助项目(81272229)

作者单位:100005 中国医学科学院基础医学研究所、北京协和医学院基础学院生物化学与分子生物学系、医学分子生物学国家重点实验室

通讯作者:陈等,电子邮箱:chendeng2001@hotmail.com

影响。**结果** 用改造的 pWPI - linker 载体成功构建慢病毒表达载体 pWPI - RYBP 包装的慢病毒颗粒能高效感染 HCT116 细胞, 表达出 Flag - RYBP 融合蛋白。MTS 方法分析表明, RYBP 的过表达抑制 HCT116 细胞的增殖, 增殖抑制率达 26.1%。**结论** 改建的慢病毒表达载体 pWPI - linker 带有可供选择的多个单克隆位点和标签蛋白序列, 为今后基于 pWPI 载体的克隆构建和表达蛋白质的分析提供了极大的便利; RYBP 慢病毒表达载体 pWPI - RYBP 的构建为进一步研究 RYBP 的生物学功能及基因治疗奠定了基础。

关键词 RYBP 慢病毒载体 HCT116 细胞增殖

Construction of a Lentiviral Vector Carrying RYBP Gene and Its Effect on HCT116 Cell Proliferation. Ma Wen, Chen Hong, Huang Bingren, Chen Deng. National Laboratory of Medical Molecular Biology, Institute of Basic Medical Sciences, CAMS and PUMC, Beijing 100005, China

Abstract Objective To construct a lentiviral vector pWPI - RYBP which was packaged into lentiviral particles and infected colorectal carcinoma cell line HCT116 and to analyze the effect of RYBP over - expressing on cell proliferation. **Methods** DNA cloning technique was employed to introduce Flag protein sequence tag and multiple single restriction enzyme sites into lentiviral vector pWPI - IRES - EGFP and renamed the vector as pWPI - linker. Then reverse transcriptase - polymerase chain reaction (RT - PCR) method was adopted to amplify full - length encoding sequence of RYBP from human hepatocarcinoma cell SK - Hep - 1, and cloned it into pWPI - linker, and named the newly constructed lentiviral vector as pWPI - RYBP. Next, we gained recombinant virus particles in packaging cell HEK293T and proved that the particles infected HCT116 cells with high efficiency and the expressed fusion protein flag - RYBP was also detected by Western blot. In addition, using MTS method, we proved that the over - expressed RYBP inhibits HCT116 cell proliferation and the inhibitory rate was 26.1%. **Conclusion** We have successfully constructed a lentiviral vector pWPI - linker from pWPI - IRES - EGFP, which is more convenient for target gene cloning and expressing detection. We also successfully got the expression vector pWPI - RYBP based on pWPI - linker, and this result will lay a solid foundation for the study of biological functions and gene therapy of RYBP in the future.

Key words RYBP; Lentivirus vector; HCT116; Cell proliferation

RYBP 基因 (ring1 and YY1 binding protein) 是一个编码 228 个氨基酸的碱性蛋白质。该蛋白质主要位于细胞核, 可参与多梳蛋白抑制复合物 1 (polycomb repressive complex 1, PRC1) 的组成, 在染色质水平抑制 Hox 基因表达^[1-3], 随着研究的深入, 越来越多的证据显示, RYBP 与肿瘤的发生发展可能有密切关系。这主要有以下几个方面的证据支持: ①RYBP 蛋白与多个凋亡调节蛋白, 如 FADD、caspase 8/10、Apoptin、DEDD 和 Hippo 等相互作用, 在胞质和胞核中促进肿瘤细胞的凋亡, 但对正常细胞没有明显的细胞毒性^[4-7]; ②RYBP 蛋白被多种抗肿瘤药物或化合物, 如 doxorubicin、etoposide、LAQ824、trichostatin A (TSA) 和 orvalproic acid (VPA) 等诱导表达, 也能协同增强 Etoposide 和肿瘤坏死因子 - α (TNF - α) 诱导的肿瘤细胞的凋亡^[7-10]; ③RYBP 在包括宫颈癌、前列腺癌、肝癌和肺癌等多种肿瘤组织中的表达降低, 并与患者存活率的降低显著相关^[8, 11, 12]。因此, RYBP 可能是一个新的抑癌基因。

慢病毒 (lentivirus) 属于反转录病毒科, 为 RNA 病毒, 1974 年首次作为载体用于基因转移。慢病毒载体具有转移片段大, 感染效率高, 目的基因表达时间长, 不易引发宿主免疫反应等优点, 在多种疾病的治疗中发挥重要作用。随着载体系统的发展, 其生物安全性进一步提高, 借助慢病毒载体研究基因功能和

对疾病进行基因靶向治疗成为研究中的热点。

本研究构建了携带 RYBP 基因的慢病毒表达载体, 在 HEK293T 细胞中包装成慢病毒颗粒后感染结肠癌细胞 HCT116, 观察了 RYBP 表达对肿瘤细胞生长的影响, 旨在为深入研究 RYBP 在肿瘤发生中的作用机制提供新的研究工具。

材料与方法

1. 材料: 人结肠癌细胞 HCT116、人胚肾细胞 HEK293T 为本室保存。肝癌细胞 SK - Hep - 1 购自中国科学院上海生命科学研究院细胞资源中心。DH5 α 感受态细胞购自北京全式金生物技术有限公司。慢病毒表达质粒 pWPI - IRES - EGFP (Addgene plasmid 12254)、结构质粒 psPAX2 (Addgene plasmid 12260) 和封套质粒 pMD2G (Addgene plasmid 12259) 由瑞士洛桑联邦理工学院 Didier Trono 博士馈赠。DNA 胶回收试剂盒和去内毒素质粒小提试剂盒均购自原平皓生物有限公司。VigoFect 转染试剂及质粒大提试剂盒购自威格拉斯生物技术 (北京) 有限公司; Trizol 试剂购自 Invitrogen 公司。MTS 细胞增殖检测试剂盒、温度敏感的碱性磷酸酶 (TSAP) 和反转录试剂盒购自 Promega 公司。热启动高保真 DNA 聚合酶、T4 多核苷酸激酶 (T4 PNK)、DNA 连接试剂盒、限制性内切核酸酶 BamH I、Xho I 和 Nde I 购自宝生物工程 (大连) 有限公司。限制性内切核酸酶 Sma I 购自 New England BioLabs 公司。Flag 抗体和 β - actin 抗体购自 Sigma 公司。羊抗兔二抗和羊抗鼠二抗购自北京中杉金桥生物技术有限公司。ECL 化学发光底物购自 Pierce 公司。引物序列均由上海生工合成。

2. 方法: (1) 细胞培养: SK - Hep - 1、HCT116 和 HEK293T

细胞在含 10% 胎牛血清和双抗 (100U/ml 青霉素和 0.1mg/ml 链霉素) 的 DMEM 培养基中于 37℃ 和 5% CO₂ 的孵育箱中培养。(2)pWPI-IRES-EGFP 载体的优化:pWPI-IRES-EGFP 用 SmaI 酶切消化,回收酶切后的载体,用 TSAP 碱性磷酸酶进行去磷酸化处理;合成一对互补的寡核苷酸序列作为接头,正向序列如下:5'-GCC ACC ATG GAT TAC AAG GAT GAC GAC GAT AAG GGA TCC CGG GCG CGC CAT ATG-3'。将两条互补序列退火,形成双链寡核苷酸接头,再用 T4 多核苷酸激酶对 5'末端进行磷酸化处理,用 DNA 连接试剂盒进行接头与上述去磷酸载体连接,连接产物转化 DH5α,提取质粒 DNA,用 BamH I 和 Xho I 进行双酶切鉴定,对阳性克隆进一步测序确认,将改造载体命名为 pWPI-linker。(3)RYBP 全长编码序列的克隆:培养 SK-Hep-1 细胞,用 Trizol 试剂提取细胞总 RNA,以 Oligo(dT)₁₅ 反转录合成 cDNA,再以此 cDNA 为模板,用下述引物扩增全长 RYBP 编码序列:P1:5'-CGG GAT CCA TGA CCA TGG GCG ACA AG-3';P2:5'-GGA ATT CCA TAT GTC AGA AAG ATT CAT CAT TGA CTG C-3',PCR 反应条件:98℃ 预变性 10s,接着 98℃ 变性 10s,58℃ 5s,72℃ 50s,共 35 个循环,最后 72℃ 再延伸 5min,扩增产物经琼脂糖凝胶回收,与 pWPI-linker 载体一道分别用 BmaH I 和 Nde I 酶切后再进行连接,转化 DH5α,用 BmaH I 和 Xho I 双酶切和测序鉴定重组质粒,正确克隆命名为 pWPI-RYBP。(4)慢病毒的制备:转染前 1 天将 HEK293T 细胞按 70% 汇合度接种于 100mm 培养皿,将 5μg 的慢病毒表达载体 pWPI-linker 或 pWPI-RYBP 分别与 3μg 的 psPAX2 和 2μg 的 pMD2G 于生理盐水中稀释后,室温放置 5min,再与同样生理盐水稀释并室温放置 5min 的转染试剂 VigoFect 混合,室温放置 15min 后,加入提前 1h 换液的 293T 包装细胞,转染 12h 后,更换成完全培养基。转染 48h 后,收集病毒上清液,3000r/min 离心 5min,用 0.45μm 膜过滤,分装后冻存于 -80℃ 冰箱备用。(5)免疫印迹法检测慢病毒介导的 RYBP 在 HCT116 细胞中的表达:转染前 1 天将 HCT116 细胞接种至 6 孔板中,使感染前培养细胞达到 80% 左右的汇合度。感染时,去除孔内的培养基,将含病毒的完全培养基以 2/3 的体积比例加入细胞培养孔中,不足体积用完全培养基补充,使终体积为 1.0ml。感染 24h 后更换成完全培养基,继续培养 48h 后,收集感染的细胞,加入 NP-40 细胞裂解液 (50mmol/L Tris-HCl (pH 值 8.0),1.0% NP-40,1mmol/L EDTA,137mmol/L NaCl 和蛋

白酶抑制剂混合物)4℃ 裂解 15min,12000r/min 离心 10min 收集上清,BCA 法测定总蛋白浓度。取 40μg 总蛋白上样,经 SDS-PAGE 电泳分离后,印迹到硝酸纤维素膜上,5% 脱脂奶粉室温封闭 1h,用 Flag 和 β-actin 抗体 4℃ 孵育过夜,然后用相应偶联辣根过氧化物酶的二抗于室温孵育 1h,洗膜后,加入 ECL 化学发光液做 X 线片显影。(6)MTS 法检测细胞增殖率:转染前一天将 HCT116 细胞接种 96 孔板,约 5 × 10³ 个/孔,每个感染组做 3 个复孔。第 2 天,用上述制备的慢病毒溶液感染细胞,24h 后更换成新的完全培养液,继续培养 48h 后,每孔加入 20μl MTS 溶液,再继续培养 3h 后,用酶联免疫检测仪在 490nm 处测定各孔的吸光值。各组细胞增殖率按如下公式计算:细胞增殖率 (%) = 对照组或实验组 OD₄₉₀ 平均值/对照组 OD₄₉₀ 平均值 × 100%。

3. 统计学方法:数据采用 Excel 统计分析工具进行分析。细胞实验均重复 3 次,数值用均数 ± 标准差 ($\bar{x} + s$) 表示,两样本间均数比较采用 *t* 检验,*P* < 0.05 表示差异具显著性。

结 果

1. pWPI-linker 载体的构建及鉴定:为了便于外源基因克隆及表达蛋白的检测,我们对慢病毒表达质粒 pWPI-IRES-EGFP 进行了改造,通过插入人工合成接头的方法,引入了编码 Flag 标签蛋白以及多个单克隆位点的 DNA 片段。该重组质粒用 BamH I 和 Xho I 双酶切(Xho I 酶切位点为载体序列中的酶切位点),用琼脂糖凝胶电泳分离鉴定,插入片段方向正确的克隆酶切片段按序列长度从大到小依次为:9271、1409、500、278 和 172bp (图 1A,泳道 1),如果插入方向相反,最后两个小片段的理论值应为 230、220bp,在琼脂糖凝胶电泳上则显示分子质量约为 230bp 的一个条带(图 1A,泳道 2)。对酶切鉴定方向正确的第一泳道对应克隆进行测序,也证实插入序列及方向正确,命名为 pWPI-linker,并标出插入序列、标签蛋白序列及各酶切位点在序列上的位置(图 1B)。

2. pWPI-RYBP 重组克隆的鉴定:RT-PCR 扩增 RYBP 全长编码序列,得到预期大小的特异扩增片段(图 2A)。将此 PCR 产物克隆入 pWPI-linker 载

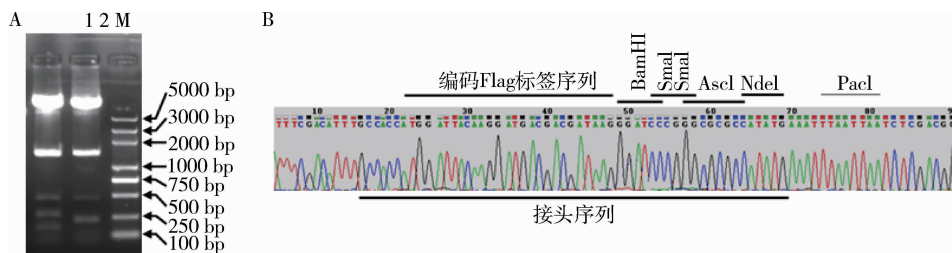


图 1 pWPI-linker 的 BamHI 和 XhoI 双酶切鉴定和插入序列测序结果

A. 插入片段酶鉴定:1 和 2 为挑选的两个不同插入方向的克隆;M: DNA 分子质量标准;B. 插入序列测序结果:接头序列、Flag 标签序列及酶切位点标于测序图相应位置

体,所获重组质粒酶切鉴定结果如图 2B 所示,阳性克隆可见有预期大小的插入片段,进一步 DNA 序列分析结果显示,插入顺序与 GenBank 中公布的 RYBP 全长编码序列 (NM_012234.5) 完全一致,表明 RYBP 慢病毒重组质粒构建成功。

3. RYBP 慢病毒包装和 RYBP 蛋白表达的分析: 将 pWPI-linker 和 pWPI-RYBP 分别与包装质粒共转染 HEK293T 细胞,转染 48h 后,收集细胞培养液上清, -20℃ 冻存备用。感染前一天,接种细胞 HCT116 于 6 孔板。第 2 天,分别用 RYBP 和空载体慢病毒上清感染 HCT116 细胞,感染 48h 后,在倒置荧光显微镜下观察到大量绿色荧光(图 3A)。通过计数 GFP 阳性细胞,可知病毒感染效率达 70% 以上。收集并分离细胞总蛋白,Western blot 检测 RYBP 的表达,结果如图 3B 所示,用 Flag 标签抗体,可在 RYBP 慢病

毒感染细胞中检测出分子质量约为 38kDa 的特异性的 Flag-RYBP 融合蛋白条带,而在空载体慢病毒感染细胞中未检出相应蛋白条带。

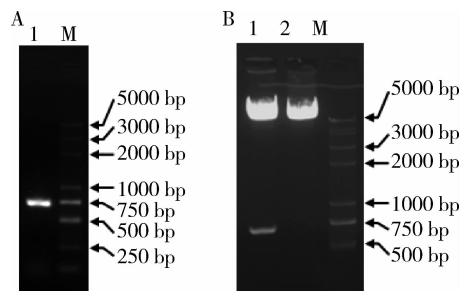


图 2 RYBP 全长编码序列的克隆

A. RYBP 全长编码序列的 RT-PCR 结果;1. RYBP RT-PCR 结果;M. DNA 分子质量标准;B. pWPI-RYBP 克隆的 BamHI 和 NdeI 酶切鉴定 1. pWPI-RYBP;2. pWPI-linker;M. DNA 分子质量标准

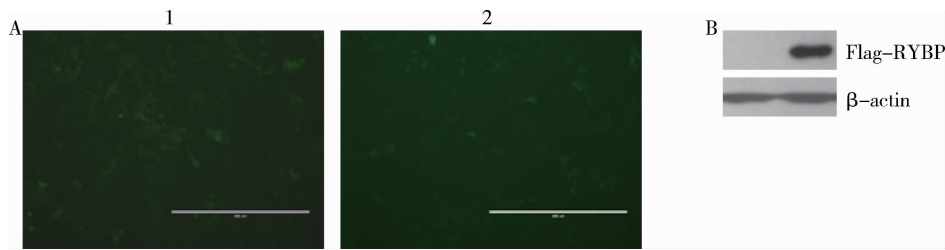


图 3 制备的慢病毒颗粒对 HCT116 细胞的感染及 Flag-RYBP 融合蛋白的检测

A. 荧光显微镜下观察慢病毒感染 HCT116 细胞中 GFP 的表达;B. Western blot 检测 Flag-RYBP 融合蛋白的表达;1. pWPI-linker 感染 HCT116 细胞;2. pWPI-RYBP 感染 HCT116 细胞

5. RYBP 慢病毒介导的表达抑制结肠癌细胞 HCT116 的增殖:用空载体和 RYBP 慢病毒颗粒分别感染 HCT116 细胞,用 MTS 法分析 RYBP 过表达对细胞增殖的影响。如图 4 所示,与对照组相比,RYBP 过表达明显抑制 HCT116 细胞的增殖,抑制率为 $(26.1 \pm 1.0)\%$,差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。

讨 论

肿瘤的发生发展与原癌基因的激活和抑癌基因的失活高度相关。RYBP 有肿瘤细胞特异的凋亡诱导活性,在多种肿瘤组织中的表达降低,推测是一个新的抑癌基因^[7,11,12]。但由于它在多种肿瘤组织和肿瘤细胞中的表达相对较低,限制了对肿瘤分子功能的深入研究。

慢病毒载体是近年发展起来的基因工程载体,它的优点是克隆外源片段较大,宿主范围较广泛,能够在体内外高效转染分裂和非分裂细胞,并将携带的外源基因整合到宿主染色体上长期稳定表达,因而越来越受到研究者的广泛青睐。

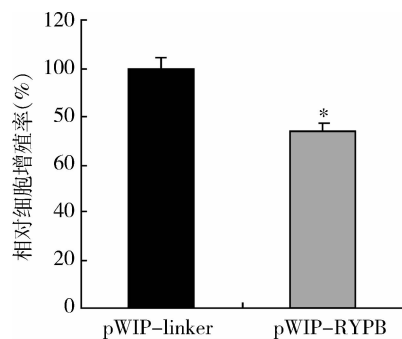


图 4 慢病毒介导的 RYBP 过表达抑制 HCT116 细胞的生长

pWPI-linker 对照慢病毒颗粒和 pWPI-RYBP 慢病毒颗粒分别感染 HCT116 细胞,72h 后,用 MTS 方法分析细胞的存活率。与对照组比较,* $P < 0.01$

pWPI-IRES-EGFP 载体由瑞士的 Didier Tronos 博士构建,属于第 2 代的慢病毒载体。但该载体可用于外源基因克隆的酶切位点仅有 3 个,即 Pme I、Swa I 和 Pac I,因此该载体的应用有以下 3 个方面的局

限性:①单位点非定向插入,需要筛选插入方向正确的克隆;②这 3 个酶均非分子克隆常用酶,仅有少数几家公司生产,量少且价格相对较贵;③无表达序列标签,不方便靶蛋白的鉴定。基于上述不足,笔者首先对该载体的克隆位点进行改造:一方面引入 5 个常见的酶切位点 BamH I、Sma I、Xma I、Nde I 和 Asc I,这样既方便定向克隆,也利于平末端克隆;另一方面,在这些酶切位点上游引入带有 Kozak 序列特征的 Flag 表达标签蛋白,利于克隆基因的高效表达及鉴定。

目前国内关于结肠癌慢病毒载体介导的基因治疗的报道较多,包括 CXCR7 - shRNA、PAR2 - RNAi 等,但未见关于 RYBP 慢病毒过表达载体构建和功能研究的报道。这里,笔者新构建的 pWPI - RYBP 载体能够包装出携带 RYBP 基因的病毒颗粒,能够感染人结肠癌细胞 HCT116、表达 Flag - RYBP 融合蛋白、并证明 RYBP 能够抑制结肠癌 HCT116 细胞的增殖,说明我们对 pWPI - IRES - EGFP 载体的优化和 pWPI - RYBP 的构建是成功的。总之,该研究结果有一定的创新性,为将来基于 pWPI 载体的慢病毒表达载体的构建和 RYBP 基因功能研究以及慢病毒载体介导的基于 RYBP 的基因治疗奠定了基础。

参考文献

- 1 Garcí'a E, Marcos - Gutí'erez C, Del Mar Lorente M, *et al.* RYBP, a new repressor protein that interacts with components of the mammalian Polycomb complex, and with the transcription factor YY1[J]. EMBO J, 1999, 18(12): 3404 - 3418
- 2 Gao Z, Zhang J, Bonasio R, *et al.* PCGF homologs, CBX proteins, and RYBP define functionally distinct PRC1 family complexes[J]. Mol Cell, 2012, 45(3):344 - 356
- 16 唐书明,黄芳,窦昌贵,等. 基因重组组别藻蓝蛋白对小鼠 S180 肉瘤的抑制作用[J]. 药物生物技术,1999,6(3):168 - 170
- 17 孙英新,张娟,于功昌,等. 钝顶螺旋藻藻蓝蛋白抗百草枯诱导大鼠肺纤维化的研究[J]. 中华劳动卫生职业病杂志,2012,30(9): 650 - 655
- 18 关燕清,郭宝江. 硒化藻蓝蛋白生物材料抗肝癌作用的研究[J]. 华南师范大学学报,2001,3(1):40 - 44
- 19 黄蓓,王广策,李振刚. 藻蓝蛋白色素肽光动力学抗肿瘤作用的实验研究[J]. 激光生物学报,2002,11(3):194 - 198
- 20 Raúl EC, Rocío LP, Silvina RD, *et al.* Immunomodulatory Properties of the Protein Fraction from *phorphyra columbina*[J]. Journal of Agricul-

- 3 Tavares L, Dimitrova E, Oxley D, *et al.* RYBP - PRC1 complexes mediate H2A ubiquitylation at polycomb target sites independently of PRC2 and H3K27me3[J]. Cell, 2012, 148(4):664 - 678
- 4 Zheng L, Schickling O, Peter ME, *et al.* The death effector domain - associated factor plays distinct regulatory roles in the nucleus and cytoplasm[J]. J Biol Chem, 2001, 276(34):31945 - 31952
- 5 Danen - van Oorschot AA, Voskamp P, Seelen MC, *et al.* Human death effector domain - associated factor interacts with the viral apoptosis agonist Apoptin and exerts tumor - preferential cell killing[J]. Cell Death Differ, 2004, 11(5):564 - 573
- 6 Stanton SE, Blanck JK, Locker J, *et al.* Rybp interacts with Hippin and enhances Hippin - mediated apoptosis[J]. Apoptosis, 2007, 12(12): 2197 - 2206
- 7 Novak RL, Phillips AC. Adenoviral - mediated Rybp expression promotes tumor cell - specific apoptosis[J]. Cancer Gene Ther, 2008, 15(11): 713 - 722
- 8 Chen D, Zhang J, Li M, *et al.* RYBP stabilizes p53 by modulating MDM2[J]. EMBO Rep, 2009,10:166 - 172
- 9 Scott GK, Mattie MD, Berger CE, *et al.* Rapid alteration of microRNA levels by histone deacetylase inhibition[J]. Cancer Res, 2006, 66(3): 1277 - 1281
- 10 McGarry LC, Winnie JN, Ozanne BW. Invasion of v - Fos (FBR) - transformed cells is dependent upon histone deacetylase activity and suppression of histone deacetylase regulated genes[J]. Oncogene, 2004, 23(31): 5284 - 5292
- 11 Lando M, Holden M, Bergersen LC, *et al.* Gene dosage, expression, and ontology analysis identifies driver genes in the carcinogenesis and chemoradioresistance of cervical cancer[J]. PLoS Genet, 2009, 5(11): e1000719
- 12 Taylor BS, Schultz N, Hieronymus H, *et al.* Integrative genomic profiling of human prostate cancer[J]. Cancer Cell, 2010, 18(1):11 - 22

(收稿日期:2013 - 04 - 03)

(修回日期:2013 - 05 - 02)

(上接第 28 页)

- tural and Food Chemistry,2012,60:8146 - 8154
- 21 李冰,褚现明,高美华. 藻蓝蛋白 - 光动力疗法治疗小鼠 HeLa 细胞瘤的免疫和凋亡机制研究[J]. 中国激光医学杂志,2011,20(1):1 - 6
- 22 李冰,褚现明,高美华,等. 藻蓝蛋白介导光动力疗法在乳腺癌治疗中的机制研究[J]. 中国药理学通报,2011,27(3):383 - 389
- 23 周桃,黄蓓,左漫漫,等. PEG 脂质体增强藻蓝蛋白亚基对乳腺癌细胞光毒性的研究[J]. 中国科学技术大学学报,2011,41(1): 35 - 44

(收稿日期:2013 - 04 - 09)

(修回日期:2013 - 04 - 24)