

γ H₂AX对胶质瘤放射敏感性预测效果的实验研究

王均伟 张春智 韩宝林 王雷波 姚鑫

【摘要】 目的 观察高级别胶质瘤细胞系(U87、U251和LN229) γ H₂AX蛋白表达变化,据此判断胶质瘤对放射线的敏感程度。**方法** 选择胶质瘤细胞系U87、U251和LN229细胞株,通过细胞克隆形成实验,检测经不同剂量(0、2、4、6、8和10 Gy)X线照射后胶质瘤细胞克隆形成率,并绘制细胞存活曲线、测定放射敏感性;采用Western blotting法检测经剂量为2 Gy的X线照射后不同时间点(0 min、30 min、1 h、2 h、6 h、12 h、24 h、36 h和48 h)各胶质瘤细胞系 γ H₂AX蛋白表达变化。**结果** 细胞克隆形成实验显示,随着X线照射剂量的增加,胶质瘤细胞存活分数逐渐降低、细胞克隆形成率减少,放射增敏比自高至低依次为U87、LN229和U251细胞(均 $P=0.000$)。Western blotting法显示,随着X线照射时间的延长,各胶质瘤细胞系 γ H₂AX蛋白表达呈现先上升后下降的时间效应曲线,U87、LN229和U251细胞 γ H₂AX蛋白表达峰值时间依次为2、1和1 h($P=0.000、0.000、0.015$); γ H₂AX蛋白相对衰减速度($r=0.733, P=0.025$)和升高程度($r=0.672, P=0.047$)均与放射增敏比呈正相关。**结论** γ H₂AX蛋白有望成为检测高级别胶质瘤细胞系放射敏感性的一项预测指标。

【关键词】 神经胶质瘤; 细胞系,肿瘤; 辐射耐受性; DNA损伤; 细胞,培养的

Predictive effect of γ H₂AX expression on the radiosensitivity of glioma

WANG Jun-wei¹, ZHANG Chun-zhi², HAN Bao-lin³, WANG Lei-bo², YAO Xin²

¹Grade 2011, Graduate School, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China

²Department of Neurosurgery, Tianjin Huanhu Hospital, Tianjin 300060, China

³Department of Radiotherapy, Baodi People's Hospital, Tianjin 301800, China

Corresponding author: YAO Xin (Email: yx9798@126.com)

【Abstract】 Objective To observe the expression changes of γ H₂AX in high-grade glioma cell lines (U87, U251 and LN229) and to investigate the relationship between the expression of γ H₂AX and the radiosensitivity of high-grade glioma cells *in vitro*. **Methods** The radiosensitivity of glioma U251, U87 and LN229 cell lines were measured by clone forming assay. After X-ray irradiation of different doses (0, 2, 4, 6, 8 and 10 Gy), the clone forming rates of 3 cell lines were measured, and cell survival curves were drawn. The DNA double-strand break (DSB) damage of 3 cell lines were determined by Western blotting assay. **Results** For glioma U251, U87 and LN229 cell lines, the survival fraction and clone forming rate were gradually decreased with the increase of X-ray radiation dose, and the radiotherapy sensitization enhancement ratio (SER) of U87 cells was slightly higher compared with LN229, U251 cells ($P=0.000$, for all). In the Western blotting assay, the kinetics of the expression of γ H₂AX protein after irradiation was featured by increase and decay. The γ H₂AX expression of U87, LN229 and U251 cells after irradiation reached the peak value at 2 h, 1 h and 1 h respectively ($P=0.000, 0.000, 0.015$). There was positive correlation between SER and γ H₂AX attenuation speed ($r=0.733, P=0.025$), as well as between SER and degree of increasing ($r=0.672, P=0.047$). **Conclusions** The phosphorylated histone γ H₂AX is expected to become a powerful tool to monitor DNA DSB and to predict the radiosensitivity in high-grade glioma radiotherapy.

【Key words】 Glioma; Cell line, tumor; Radiation tolerance; DNA damage; Cells, cultured

This study was supported by Natural Science Foundation of Tianjin (No. 13JCYBJC21700), Scientific and Technological Project of Tianjin Bureau of Public Health (No. 12KG113) and Program for Science and Technology of Tianjin Bureau of Public Health (No. 2012K2003).

doi:10.3969/j.issn.1672-6731.2014.03.015

基金项目:天津市自然科学基金资助项目(项目编号:13JCYBJC21700);天津市卫生局科技公关项目(项目编号:12KG113);天津市卫生局科技基金资助项目(项目编号:2012K2003)

作者单位:300070 天津医科大学研究生院2011级(王均伟);300060 天津市环湖医院神经外科(张春智,王雷波,姚鑫);301800 天津市宝坻区人民医院放疗科(韩宝林)

通讯作者:姚鑫(Email:yx9798@126.com)

神经胶质瘤为颅内常见肿瘤,约占颅内肿瘤的 45%^[1-2],为预后较差的颅内原发性恶性肿瘤,具有浸润性生长和边界不清等生物学特点,难以手术全切除。随着药物化疗和放射治疗技术的不断进步,胶质瘤的综合治疗效果明显优于单纯外科手术,而放射治疗也成为其中不可缺少的辅助方法^[3]。各种物理(如电离辐射、紫外线)、化学(如博来霉素)或生物学(如细胞凋亡)因素均可导致 DNA 双链断裂(DSB)^[4],放射治疗主要通过直接物理作用(DNA 双链断裂)和诱导细胞相关基因表达介导细胞凋亡,促进肿瘤细胞死亡。研究发现,DNA 双链断裂后可诱发组蛋白家族中 H₂AX 蛋白丝氨酸-谷氨酰胺-谷氨酸(SQE)结构域中丝氨酸残基迅速磷酸化,生成磷酸化 γ H₂AX^[5],后者是目前检测 DNA 双链断裂的一项新型生物学标志物^[6]。在本研究中,我们通过检测经体外培养的高级别胶质瘤细胞系(U87、U251 和 LN229)放射治疗后 γ H₂AX 表达水平,探讨其与高级别胶质瘤放射敏感性之间的关系。

材料与方 法

一、实验材料

1. 实验细胞系及培养 胶质瘤细胞系 U87、U251 和 LN229 细胞,经体外培养并传代至第 15 代,由天津市环湖医院神经外科研究所提供并保存。

2. 主要试剂与药品 细胞培养液由 MEM 培养基[含 4500 mg/L 葡萄糖、L-谷氨酰胺和盐酸吡哆醇,不含 NaHCO₃ 和丙酮酸钠,用于培养 U87 细胞]或 DMEM 培养基[含 Earls's 盐、L-谷氨酰胺和非必需氨基酸,用于培养 U251 和 LN229 细胞]、胎牛血清及头孢霉素组成,其中培养基与头孢霉素之比为 1000:1,培养基与胎牛血清之比为 9:1。MEM、DMEM 培养基和胎牛血清为美国 HyClone 公司产品。质量分数为 0.25%胰蛋白酶和 D-Hanks 液由美国 Gibco 公司提供。免疫试剂中 I 抗工作液[含兔抗人组蛋白 H₂AX(1:500)和兔抗人 β -肌动蛋白(β -actin, 1:1000)多克隆抗体]、II 抗工作液[含辣根过氧化物酶(HRP)标记的山羊抗兔多克隆抗体(1:10000)]由美国 Signalway Antibody 公司出品,经上海总代理提供和北京中杉金桥生物技术有限公司分装;ECL Western blotting kit 高敏化学发光检测试剂盒购自北京康为世纪生物科技有限公司。

3. 主要设备与仪器 化学发光凝胶成像系统购自美国 Alpha Inntech 公司。Varian 6EX 直线加速器

为美国 Varian 公司产品(中心精度:0.50 mm、位置精度:1 mm)。

二、实验方法

1. 细胞培养及照射 (1)细胞培养:采用 25 cm² 培养瓶或直径为 10 cm 的培养皿于培养液中分别培养 U87、U251、LN229 细胞,置 37 °C、体积分数为 5% 二氧化碳、饱和湿度培养箱内连续培养,光学显微镜下观察细胞形态良好并贴壁者,取呈对数生长期的细胞进行实验。(2)照射条件与方法:细胞置于培养瓶或培养皿中,Varian 6EX 直线加速器进行单次垂直照射,剂量为 300 cGy/min。

2. 细胞克隆形成实验观察不同细胞系放射敏感性 采集处于指数生长期的细胞株,于原培养瓶中以质量分数为 0.25%胰蛋白酶消化成单细胞,离心半径 400 mm、转速 1000 r/min 离心 5 min,加入培养液中轻轻吹打,使细胞均匀悬浮于条件培养基中,计数 3 次,取平均值,调整细胞密度为 200、400、1 × 10³、5 × 10³、100 × 10³ 和 500 × 10³ 个/ml,并分别接种于 10 cm 培养皿,每组设 3 个平行处理孔,培养 24 h 待细胞贴壁后分别予以 0、2、4、6、8 和 10 Gy 垂直 X 线照射,继续于 37 °C、体积分数为 5% 二氧化碳、饱和湿度培养箱内连续培养约 2 周,弃培养液,磷酸盐缓冲液冲洗 3 次,多聚甲醛溶液固定 20 min, Giemsa 染色过夜,清水冲洗后于荧光显微镜下观察克隆细胞集落形态并拍照,计数 ≥ 50 个细胞的克隆数。计算克隆形成率(PE)和细胞存活分数(SF),计算公式为克隆形成率(%) = (对照组克隆数 / 细胞数) × 100%, 细胞存活分数 = 克隆数 / (细胞数 × 克隆形成率)。采用 Sigma Plot 10.0 软件制作单击多靶数学模型[S = 1 - (1 - e^{-D/D₀})ⁿ], D₀ 为细胞平均致死剂量,拟合细胞存活曲线,获得放射增敏比(SER)。

3. Western blotting 法检测不同细胞系 X 线照射后 γ H₂AX 蛋白表达时间效应 取处于指数生长期的细胞株,按 X 线照射时间分为 9 组(0 min、30 min、1 h、2 h、6 h、12 h、24 h、36 h 和 48 h),以 25 cm² 培养瓶连续培养 2 d,待细胞贴壁并铺满整个培养瓶约 75% 时,予剂量为 2 Gy 的 X 线照射,置细胞培养箱中分别培养 0 min、30 min、1 h、2 h、6 h、12 h、24 h、36 h 和 48 h,弃培养液,磷酸盐缓冲液冲洗 3 次,细胞裂解液和蛋白酶抑制剂混合液提取细胞总蛋白。采用二辛可宁酸(BCA)法测定蛋白质表达水平:蛋白变性、十二烷基磺酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)分离,蛋白质转移至聚偏二氟乙烯(PVDF)

膜,膜封闭液室温下封闭 1 h,滴加 I 抗工作液 4 ℃ 过夜, TBST 缓冲液洗膜后滴加 II 抗工作液,室温孵育 1 h, ECL 化学发光检测试剂盒显影。记录凝胶成像系统检测结果,并计算各电泳条带平均光密度(OD)值。目的蛋白相对表达量为目的电泳条带灰度值/内参灰度值,并以 Western blotting 法电泳条带中 6 h 与 30 min 之目的蛋白表达量差值代表目的蛋白相对衰减速度,以目的蛋白峰值与初始值差值代表目的蛋白升高程度。

三、统计分析方法

应用 SPSS 20.0 统计软件进行数据计算与分析。不同胶质瘤细胞系多靶单击拟合后生物学参数的比较采用单因素方差分析, $\gamma\text{H}_2\text{AX}$ 蛋白表达水平的比较行随机区组设计的方差分析,两两比较行 q 检验;不同胶质瘤细胞系 X 线照射后 $\gamma\text{H}_2\text{AX}$ 蛋白相对衰减速度和升高程度与放射敏感性相关性分析,均采用 Pearson 相关分析。以 $P \leq 0.05$ 为差异具有统计学意义。

结 果

一、X 线照射后不同胶质瘤细胞系存活分数及放射敏感性的比较

经不同剂量(0、2、4、6、8、10 Gy)X 线照射后,各胶质瘤细胞系中以 U251 细胞存活分数最高、LN229 细胞次之, U87 细胞最低(图 1)。经单击多靶数学模型 $[S = 1 - (1 - e^{-D/D_0})^n]$ 拟合细胞存活曲线,获得放射敏感性指标, X 线照射剂量为 2 Gy 时,细胞存活分数(SF₂)、D₀值和 SER 值比较,以 U87 细胞 SF₂值和 D₀值最低、SER 值最高, U251 细胞 SF₂值和 D₀值最高、SER 值最低,而 LN229 细胞上述各项指标介于二者之间(表 1)。

二、X 线照射后不同胶质瘤细胞系 $\gamma\text{H}_2\text{AX}$ 蛋白表达变化

Western blotting 法显示,经剂量为 2 Gy 的 X 线照射后,不同胶质瘤细胞系 $\gamma\text{H}_2\text{AX}$ 蛋白表达水平各照射时间点之间差异均有统计学意义($P < 0.05$; 表 2, 3),与 X 线照射后 1 和 6 h 相比, U87 细胞 $\gamma\text{H}_2\text{AX}$ 蛋白表达水平于照射后 2 h 达峰值水平($P = 0.000$),并随照射时间的延长逐渐下降,至 36 h 恢复至基础水平($P = 0.755$);与 X 线照射后 30 min 和 2 h 相比, U251 和 LN229 细胞 $\gamma\text{H}_2\text{AX}$ 蛋白表达水平均于照射后 1 h 即达峰值水平(U251: $P = 0.044$ 、0.029; LN229:

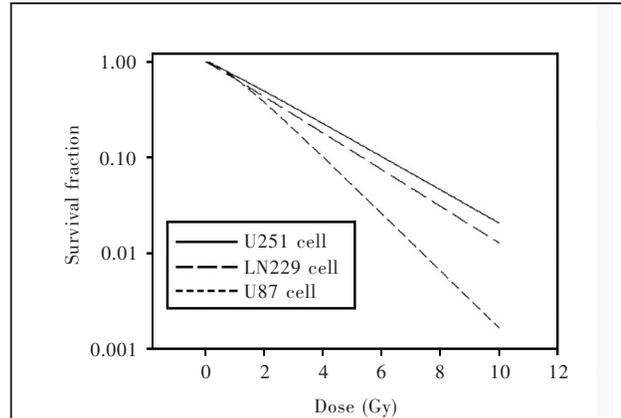


图 1 不同胶质瘤细胞系存活曲线
Figure 1 Survival curves of different cell lines

表 1 不同胶质瘤细胞系单击多靶数学模型拟合后放射敏感性指标的比较($\bar{x} \pm s$)

Table 1. Radiosensitive parameters of different cell lines after single-hit multitarget model fitting ($\bar{x} \pm s$)

Cell line	N	SF ₂	D ₀ (Gy)	SER
U87	3	0.38 ± 0.01	1.45 ± 0.11	1.31 ± 0.04
U251	3	0.50 ± 0.01	2.51 ± 0.12	1.00 ± 0.00
LN229	3	0.43 ± 0.01	2.26 ± 0.07	1.14 ± 0.02
F value		132.143	85.499	115.709
P value		0.000	0.000	0.000

SF₂, survival fraction in 2 Gy, 照射剂量为 2 Gy 时的细胞存活分数; D₀, mean lethal dose, 细胞平均致死剂量; SER, sensitization enhancement ratio, 放射增敏比

$P = 0.000$ 、0.006), 其后表达水平逐渐下降并于 36 h 恢复至基础水平(U251: $P = 1.000$, LN229: $P = 0.826$)。

相关分析显示,不同胶质瘤细胞系放射敏感性与 X 线照射后 $\gamma\text{H}_2\text{AX}$ 蛋白表达衰减速度($r = 0.733$, $P = 0.025$)和升高程度($r = 0.672$, $P = 0.047$)均呈正相关关系。

讨 论

神经外科手术是胶质瘤的首选治疗方法,以最大程度切除肿瘤为原则。然而,由于胶质瘤呈弥漫浸润性生长且具有恶性变之特征,术中很难准确区分胶质瘤边界而难以手术全切除,术后极易复发且病死率高,患者预后不良。经研究表明,术后放射治疗可以降低局部复发率,提高患者生存率^[7],因此,寻找一项放射敏感性预测指标,成为胶质瘤放射治疗的关键。

细胞克隆形成实验可用于评价肿瘤细胞增殖

表 2 X 线照射 (2 Gy) 后各时间点不同胶质瘤细胞系 γ H₂AX 蛋白表达水平的比较 ($\bar{x} \pm s$, OD 值)

Table 2. Comparison of the expression of γ H₂AX in different cell lines after X-ray radiation (2 Gy) at each observation time point ($\bar{x} \pm s$, OD value)

Time point	N	U87	U251	LN229
0 min	3	0.80 ± 0.19	0.81 ± 0.13	0.89 ± 0.17
30 min	3	1.05 ± 0.14	0.93 ± 0.25	1.01 ± 0.01
1 h	3	1.53 ± 0.23	1.38 ± 0.27	2.06 ± 0.84
2 h	3	2.46 ± 0.15	1.21 ± 0.25	1.64 ± 0.31
6 h	3	1.63 ± 0.16	1.05 ± 0.26	1.35 ± 0.01
12 h	3	1.35 ± 0.10	0.97 ± 0.17	1.13 ± 0.13
24 h	3	1.20 ± 0.16	0.72 ± 0.16	1.08 ± 0.13
36 h	3	1.12 ± 0.14	0.79 ± 0.14	0.99 ± 0.18
48 h	3	0.79 ± 0.07	0.76 ± 0.18	0.75 ± 0.11

表 3 X 线照射 (2 Gy) 后不同时间点胶质瘤细胞系 γ H₂AX 蛋白表达水平的随机区组设计的方差分析表

Table 3. The randomized design analysis of variance of the expression of γ H₂AX in different cell lines after X-ray radiation (2 Gy) at each observation time point

Variable	SS	df	MS	F value	P value
U87					
Among groups	0.130	2	0.065	3.405	0.000
Among treatment	6.335	8	0.792	41.471	0.000
Error	0.306	16	0.019		
Total variation	6.771	26			
U251					
Among groups	0.429	2	0.215	9.580	0.002
Among treatment	1.184	8	0.148	6.611	0.001
Error	0.358	16	0.022		
Total variation	1.972	26			
LN229					
Among groups	0.025	2	0.013	2.222	0.141
Among treatment	3.352	8	0.419	73.303	0.000
Error	0.091	16	0.006		
Total variation	3.469	26			

能力和侵袭力,以及探讨细胞对不同杀伤因素的敏感性^[8],是X线照射致细胞死亡之“金标准”^[9]。本研究结果显示,不同胶质瘤细胞系(U87、U251、LN229)经X线照射后,细胞存活率下降,且随放射剂量的增加,细胞存活率呈逐渐下降之趋势;其中以U87细胞对放射线最敏感,其细胞存活曲线陡直, SF₂和D₀呈最低值、SER呈最高值,而U251细胞对放射线最不敏感,细胞存活曲线平缓、SF₂和D₀呈最高值、SER呈最低值。

近年研究显示, γ H₂AX 可以作为肿瘤细胞 DNA

损伤的敏感性和特异性生物学标志物,用于判断肿瘤细胞对放射治疗敏感或抵抗^[10-12]。H₂AX 是组蛋白 H₂A 家族成员之一,其羧基末端(C 末端)存在一段由 22 个残基组成的高度保守同源序列,其中包含第 139 位的丝氨酸残基 SQE 结构域^[5]。经电离辐射(IR),肿瘤细胞 SQE 结构域中的丝氨酸残基迅速磷酸化并在 DNA 双链断裂电离辐射位点聚集形成焦点, γ H₂AX 形成焦点的数量与电离辐射造成的 DNA 双链断裂数量具有相关性^[13-14],因此, γ H₂AX 蛋白即可作为电离辐射后细胞发生 DNA 双链断裂损伤的预测指标。更重要的是, γ H₂AX 在 DNA 损伤修复中发挥重要的连接作用,可快速募集一系列 DNA 损伤修复相关蛋白和信号因子,如 BRCA1、Nbs1、P53 结合蛋白 1(p53BP1),间接修复 DNA 损伤^[15]。Celeste 等^[16]的研究发现, H₂AX 缺陷细胞发生 DNA 双链断裂损伤时,其损伤修复相关蛋白可向损伤位点聚集,但移动速度减慢且不能持续聚集于损伤位点。一旦由 γ H₂AX 介导的 DNA 损伤修复完成, γ H₂AX 即被 Pph3 等脱磷酸化^[17],形成 H₂AX 并在其他 DNA 损伤修复中被重新利用,从而有效地去除损伤位点的 γ H₂AX,即电离辐射后 γ H₂AX 具有形成和消失过程。本研究 Western blotting 法检测显示,经 X 线照射后不同胶质瘤细胞系 γ H₂AX 蛋白表达随着时间的延长而逐渐升高,并于 1~2 小时达峰值水平,之后逐渐降低,至 36 小时恢复至照射前水平。进一步证实, X 线照射可以产生诱导 U87、U251 和 LN229 细胞 DNA 双链断裂和修复的时间效应,从而参与 DNA 损伤修复过程。

由于 γ H₂AX 参与 DNA 损伤修复,因此通过抑制 H₂AX 磷酸化或直接抑制 γ H₂AX 在 DNA 修复进程中的功能,亦可通过潜在的电离辐射致敏剂延长电离辐射后 γ H₂AX 磷酸化持续时间,增加未被修复的 DNA 损伤数量,促进胶质瘤放射治疗之有效性。Mahrhofer 等^[18]的研究结果提示,在胶质瘤细胞系中,呈放射抵抗的 MO59K 细胞 γ H₂AX 蛋白达峰值时间比放射敏感的 MO59J 细胞更早,与本实验放射敏感性最低的 U251 细胞 γ H₂AX 蛋白达峰值时间最早、放射敏感性相对较高的 U87 细胞 γ H₂AX 蛋白达峰值时间最晚的结论相符。 γ H₂AX 蛋白相对衰减速度与放射敏感性间的关系则取决于所选细胞系和检测方法的不同^[18-19],本研究结果显示, U87、U251 和 LN229 细胞的放射敏感性与 γ H₂AX 蛋白相对衰减速度呈正相关。另有研究证实,去乙酰酶抑制剂丁酸

钠可以通过提高 γ H₂AX蛋白表达水平而促进DNA双链断裂的修复,进而增加HeLa细胞对放射线之敏感性,与本实验U87、U251和LN229细胞放射敏感性与 γ H₂AX蛋白升高程度呈正相关相符^[10]。

有研究显示, γ H₂AX蛋白有望成为高级别胶质瘤的分子生物学标志物,并作为预测胶质瘤放射敏感性的重要指标。免疫印迹法是定性分析蛋白质表达变化的方法,但仅能检测 γ H₂AX表达变化;而流式细胞术则可较为客观地定量评价蛋白表达变化,同时可进一步结合细胞周期对 γ H₂AX表达变化进行分析,但不能从单细胞角度分析 γ H₂AX焦点形成情况;而免疫荧光检测则能更为直观地观察单细胞 γ H₂AX焦点形成情况,以及 γ H₂AX与其他蛋白质的相互作用情况。本实验所用细胞种类较少,今后应继续扩大胶质瘤细胞系种类,深入阐明 γ H₂AX蛋白与放射敏感性之间的关系,通过流式细胞、免疫荧光等实验室检测技术评价胶质瘤细胞系放射敏感性,提高神经胶质瘤治疗前筛查率。

参 考 文 献

[1] Dong J, Huang Q. Targeting glioma stem cells: enough to terminate gliomagenesis? Chin Med J (Engl), 2011, 124:2756-2763.

[2] Xu GZ, Yuan XH. New progress in targeted therapy of glioma. Zhongguo Lin Chuang Shen Jing Wai Ke Za Zhi, 2011, 16:568-572.[徐国政,袁先厚.脑胶质瘤靶向治疗新进展.中国临床神经外科杂志,2011,16:568-572.]

[3] Shah AH, Snelling B, Bregy A, Patel PR, Tememe D, Bhatia R, Sklar E, Komotar RJ. Discriminating radiation necrosis from tumor progression in gliomas: a systematic review what is the best imaging modality? J Neurooncol, 2013, 112:141-152.

[4] Kang MA, So EY, Ouchi T. Deregulation of DNA damage response pathway by intercellular contact. J Biol Chem, 2012, 287:16246-16255.

[5] Rogakou EP, Pilch DR, Orr AH, Ivanova VS, Bonner WM. DNA double - stranded breaks induce histone H₂AX phosphorylation on serine 139. J Biol Chem, 1998, 273:5858-5868.

[6] Sak A, Stuschke M. Use of γ H₂AX and other biomarkers of double-strand breaks during radiotherapy. Semin Radiat Oncol, 2010, 20:223-231.

[7] Sheehan JP, Shaffrey ME, Gupta B, Larner J, Rich JN, Park DM. Improving the radiosensitivity of radioresistant and hypoxic glioblastoma. Future Oncol, 2010, 6:1591-1601.

[8] Plumb JA. Cell sensitivity assays: clonogenic assay. Methods Mol Med, 2004, 88:159-164.

[9] Zhu LH, Shen WJ, Li P, Zhang Q. Effects of X-ray radiation on cultured vascular smooth muscle cells. Zhonghua Fang She

Zhong Liu Xue Za Zhi, 2001, 10:127-131.[朱丽红,申文江,李平,张强.X射线对血管平滑肌细胞作用机制的实验研究.中华放射肿瘤学杂志,2001,10:127-131.]

[10] Koprinarova M, Botev P, Russev G. Histone deacetylase inhibitor sodium butyrate enhances cellular radiosensitivity by inhibiting both DNA nonhomologous end joining and homologous recombination. DNA Repair (Amst), 2011, 10:970-977.

[11] Redon CE, Weyemi U, Parekh PR, Huang D, Burrell AS, Bonner WM. γ - H₂AX and other histone post - translational modifications in the clinic. Biochim Biophys Acta, 2012, 1819: 743-756.

[12] Martin NT, Nahas SA, Tunuguntla R, Fike F, Gatti RA. Assessing "radiosensitivity" with kinetic profiles of γ - H₂AX, 53BP1 and BRCA1 foci. Radiother Oncol, 2011, 101:35-38.

[13] Méndez-Acuña L, Di Tomaso MV, Palitti F, Martínez-López W. Histone post - translational modifications in DNA damage response. Cytogenet Genome Res, 2010, 128(1-3):28-36.

[14] Zwicker F, Ebert M, Huber PE, Debus J, Weber KJ. A specific inhibitor of protein kinase CK2 delays gamma - H₂AX foci removal and reduces clonogenic survival of irradiated mammalian cells. Radiat Oncol, 2011, 6:15.

[15] Ivashkevich A, Redon CE, Nakamura AJ, Martin RF, Martin OA. Use of the γ - H₂AX assay to monitor DNA damage and repair in translational cancer research. Cancer Lett, 2012, 327 (1/2):123-133.

[16] Celeste A, Fernandez - Capetillo O, Kruhlak MJ, Pilch DR, Staudt DW, Lee A, Bonner RF, Bonner WM, Nussenzweig A. Histone H₂AX phosphorylation is dispensable for the initial recognition of DNA breaks. Nat Cell Biol, 2003, 5:675-679.

[17] Chowdhury D, Keogh MC, Ishii H, Peterson CL, Buratowski S, Lieberman J. Gamma - H₂AX dephosphorylation by protein phosphatase 2A facilitates DNA double - strand break repair. Molecular Cell, 2005, 20:801-809.

[18] Mahrhofer H, Bürger S, Oppitz U, Flentje M, Djuzenova CS. Radiation induced DNA damage and damage repair in human tumor and fibroblast cell lines assessed by histone H₂AX phosphorylation. Int J Radiat Oncol Biol Phys, 2006, 64:573-580.

[19] Paull TT, Rogakou EP, Yamazaki V, Kirchgessner CU, Gellert M, Bonner WM. A critical role for histone H₂AX in recruitment of repair factors to nuclear foci after DNA damage. Curr Biol, 2000, 10:886-895.

(收稿日期:2014-02-08)

本期广告目次

波立维[赛诺菲(杭州)制药有限公司]	封二
泰嘉(深圳信立泰药业股份有限公司)	封三
恩必普(石药集团恩必普药业有限公司)	封四