

生殖医学

DOI: 10.13406/j.cnki.cyx.000274

Chk1 基因对人卵巢癌细胞 HO8910 增殖及细胞周期调控的影响及可能机制

王炼炼¹, 邓幼林², 李 聪²

(重庆医科大学附属第一医院 1. 生殖健康与不孕专科; 2. 妇产科, 重庆 400016)

【摘要】目的:探讨 siRNA 沉默检测点激酶 1 (Chk1) 基因对人卵巢癌细胞 HO8910 增殖和周期调控的影响及其作用机制。**方法:**设计并合成 3 条 Chk1 siRNA 干扰片段, 转染进入卵巢癌细胞 HO8910, Western blot 检测转染前后 HO8910 细胞中 Chk1 蛋白的表达情况, 筛选出有效片段。将 Chk1 siRNA 有效片段转染进入 HO8910 细胞, 采用 MTT 法和流式细胞仪分析 Chk1 siRNA 对 HO8910 细胞增殖和周期的影响; Western blot 方法分别检测细胞周期相关基因 CyclinA、CDK4、Cdc25A 蛋白表达。**结果:**3 个 siRNA 中, 1 条是有效 siRNA。该有效 Chk1 siRNA 片段转染后, HO8910 细胞中 Chk1 蛋白水平下降约 53.6%, 明显低于未转染组和脂质体转染组 ($P=0.000$)。转染 48 h 后, Chk1 siRNA 转染组 HO8910 细胞增殖活性下降, 抑制率为 $(52.1 \pm 5.1)\%$, 明显高于脂质体转染组的 $(7.6 \pm 3.8)\%$ ($P=0.000$)。流式细胞仪检测显示 Chk1 siRNA 转染组 HO8910 细胞 G2/M 期比例为 $(5.03 \pm 2.62)\%$, 明显低于未转染组 $(19.35 \pm 2.19)\%$ 和脂质体转染组 $(19.76 \pm 2.67)\%$ ($P=0.000$)。Western blot 结果显示转染 Chk1 siRNA 后, 细胞内与细胞周期相关的 CyclinA、CDK4、Cdc25A 蛋白水平表达明显增强, 与未转染组和脂质体组比较, 差异有统计学意义 ($P=0.000$)。**结论:**siRNA 沉默 Chk1 基因后, 可明显抑制卵巢癌细胞 HO8910 细胞的增殖, 其抑制增殖作用与减弱 G2/M 期阻滞有关。

【关键词】HO8910 细胞; RNA 干扰; 细胞周期; 检测点激酶 1**【中图分类号】**R737.31**【文献标志码】**A**【收稿日期】**2013-10-09

Effects of checkpoint kinase 1 gene on the proliferation and cycle of human ovarian carcinoma HO8910 cells and its potential mechanisms

Wang Lianlian¹, Deng Youlin², Li Cong²

(1. Department of Reproduction Health and Infertility; 2. Department of Obstetrics and Gynecology, The First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University)

【Abstract】Objective: To investigate the effects of checkpoint kinase 1 siRNA transfection on the proliferation and cell cycle of human ovarian carcinoma HO8910 cells and its mechanisms. **Methods:** Three Chk1 siRNA targeting fragments were designed and synthesized. After the transfection, Western blot was conducted to determine the expression of Chk1 at protein level. The effective Chk1 siRNA fragment was transfected into HO8910 cells, and MTT method and flow cytometry analysis were used for determining the influence of Chk1 siRNA on the proliferation and cell cycle, respectively. Then, Western blot was used to detect cell cycle of related genes CyclinA, CDK4 and Cdc25A at protein level. **Results:** One fragment among 3 Chk1 siRNAs was valid. In HO8910 cells, after transfection with the effective Chk1 siRNA, the protein level of Chk1 was decreased about 75.3%, significantly lower than that in the non-transfected group and liposome transfection group ($P=0.000$). At 48 h after transfection, the activity of cell proliferation was inhibited with an inhibition rate of $(52.1 \pm 5.1)\%$, significantly higher than that in the liposome transfection group $(7.6 \pm 3.8)\%$ ($P=0.000$). Flow cytometry showed that the proportion of HO8910 cells in G2/M phase was $(5.03 \pm 2.62)\%$, significantly lower than that in the non-transfected group $(19.35 \pm 2.19)\%$ and liposome transfection group $(19.76 \pm 2.67)\%$ ($P=0.000$). Western blot results showed that in the HO8910 cells transfected with Chk1 siRNA, the protein levels of CyclinA, CDK4 and Cdc25A were enhanced, which were statistically different compared with those of non-transfection group and liposome group ($P=0.000$). **Conclusion:** After Chk1 gene silencing

作者介绍:王炼炼, Email: llan_w@sina.com,

研究方向: 妇科生殖内分泌、辅助生殖技术等。

基金项目:国家自然科学基金青年基金资助项目 (编号: 8110039);

重庆市科委资助项目 (编号: CSTC2011jjA011)。

优先出版: <http://www.cnki.net/kcms/doi/10.13406/j.cnki.cyx.000274.html>

by siRNA, the proliferation of the human ovarian carcinoma HO8910 cells was inhibited, which was related with the blockade of G2/M phase arrest.

【Key words】HO8910 cell; RNA interference; cell cycle; checkpoint kinase 1

卵巢恶性肿瘤是女性生殖系统常见的恶性肿瘤之一,其绝大部分都源于上皮组织,而上皮性的卵巢癌具有死亡率最高、早起诊断困难、易复发等特点。研究显示,上皮性卵巢癌的 5 年生存率仅在 30% 左右,可能与化疗敏感性和耐药性有关^[1]。细胞周期检测点激酶 1 (checkpoint kinase 1, Chk1) 是生物进化过程中非常保守的一种蛋白激酶,其定位于人的染色体 11q24, cDNA 全长 1 891 bp, 编码的蛋白产物由 476 个氨基酸组成, 分子量为 54 kD, 在胚胎的生长发育中起着关键作用^[2]。Chk1 功能的紊乱与肿瘤的发生密切相关^[3], 而且对于肿瘤细胞来说, Chk1 激活促进 DNA 损伤修复作用降低了化疗药物对肿瘤细胞的杀伤作用, 与肿瘤耐药和复发密切相关^[4]。而 Chk1 缺失的肿瘤细胞则表现出多重缺陷, 比如: 细胞增殖缓慢、细胞周期检测点的阻滞反应消失、对 DNA 损伤剂的敏感性增强等^[5], 可作为抗癌治疗的一个特殊靶点。因此, 本研究通过 Chk1 siRNA 靶向干扰 Chk1 探讨其对卵巢癌细胞 HO8910 增殖以及细胞周期调控影响及其机制。

1 材料与方法

1.1 主要试剂和材料

上皮性卵巢癌细胞 (HO8910) 由重庆医科大学超声研究所惠赠, Chk1 siRNA 购自 Invitrogen 公司上海分公司。RP-MI1640 培养基、胎牛血清、胰蛋白酶购自美国 HyClone 公司; Lipo2000 购自美国 Invitrogen 公司; PRO-PREP™ 蛋白提取液购自北京赛百盛基因技术有限公司; SDS-PAGE 凝胶配置试剂盒和青霉素-链霉素双抗购自碧云天生物技术研究所; PVDF 膜购自美国 Millipore 公司; Page Ruler™ Prestained Protein ladder 来自美国 Fermentas 公司; 兔抗人多克隆 anti-Chk1、anti-CyclinA、anti-CDK4、anti-Cdc25A 均购自 Bioworld 公司; 兔抗人单克隆 anti-β-actin 和 HRP 标记的山羊抗兔 IgG 均购自北京博奥森生物技术有限公司; ECL 发光试剂盒购自美国 Bio-Rad 公司。

1.2 Chk1 siRNA 片段的设计与合成

本研究根据 GenBank 中提供的 Chk1 基因序列, 选择设计了 3 段针对 Chk1 siRNA 序列: ① 5'-GGUGGUUUUUCUGCAUGGUU-3'; ② 5'-AAAUUGGAUGCAGACAAA-3'; ③ 5'-AAGTTGAAGTTGCTGTAATA-3'。

1.3 细胞培养和转染

将冻存的卵巢癌 HO8910 细胞 37 °C 复苏至培养瓶中, 用含 10% 胎牛血清、1% 双抗的 RPMI 培养液, 置 37 °C, 5% CO₂ 的培养箱中培养。当 HO8910 细胞单层融合率达 85% 以上时, 弃培养液, 取 8 μg Chk1 siRNA 加入 0.75 ml 无抗无血清的 DMEM 培养液混匀; 取 30 μl Lipo2000 加入 0.75 ml 无抗无血清的 DMEM 培养液混匀, 室温静置 5 min; 再将两管液体轻混, 室温静置 20 min 后, 加入含 7.5 ml 无抗无血清的

DMEM 培养液中, 继续培养 6~8 h 后, 更换正常细胞所需 DMEM 培养液, 继续孵育 24 h。

1.4 MTT 法检测细胞增殖

将 HO8910 细胞稀释至 10⁴ 个/ml, 然后按 500 μl 细胞悬液接种密度接种于 96 孔板, 分为未转染组、空质粒组及转染 Chk1 siRNA 组。待细胞贴壁 24 h 后, 向各孔中分别加入 50 μl MTT, 于 37 °C 培养箱中温育 4 h。弃去各孔中的 DMEM 培养基和 MTT, 在所有孔中各加入 200 μl DMSO, 振荡混匀后, 用酶标仪在 490 nm 波长处检测其吸光度 (absorbance, A) 值。按下式计算细胞抑制率。细胞增殖抑制率 (%) = (1 - 实验组 A_{490 nm} 值 / 对照组 A_{490 nm} 值) × 100%

1.5 流式细胞仪检测细胞周期

转染 48 h 后, 收集上述 3 组细胞, 取约 1 × 10⁶ 个细胞加入 100 μl DNA Prep LPR, 轻轻混匀后室温避光反应 1 min, 再加入 1 ml DNA Prep Stain, 轻轻混匀, 避光反应 15~20 min, 用 300 目尼龙网过滤细胞, 检测细胞周期变化情况。

1.6 Western blot

分别收集 3 组细胞, 加入 100 μl 蛋白裂解液, -20 °C 放置 20 min, 13 000 r/min 离心 5 min, 收集上清, Bradford 法检测蛋白浓度。10% 的 SDS-PAGE 分离后, 转移至 PVDF 膜上, 以含 0.5 g/L 脱脂奶粉 TBST 液室温封闭 1 h, 加入抗体 anti-Chk1 (1:500)、anti-CyclinA (1:400)、anti-CDK4 (1:500)、anti-Cdc25A (1:200) 和 β-actin 抗体 (1:5 000), 4 °C 孵育过夜; 用 TBST 洗涤 3 次, 加入 HRP 标记的羊抗兔 IgG (1:5 000 稀释), 室温孵育 2 h, ECL 法显影, 并用凝胶化学成像分析仪记录其 OD 值。

1.7 统计学分析

应用 SPSS 15.0 统计学软件对各组数据进行统计学分析。行正态检验及方差齐性检验, 数据符合正态分布, 计量资料以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 多组数据参数间比较采用单因素方差分析, 其组间两两比较采用 SNK-*q* 法。检验水准 α=0.05。

2 结果

2.1 Chk1 siRNA 转染前后对 HO8910 细胞内 Chk1 蛋白水平的表达情况

将合成的 3 段 Chk1 siRNA 分别转染 HO8910 细胞后, 收集细胞并经 Western blot 分析后, 得出 Chk1 蛋白水平的相对表达量。结果提示序列 ③ 5'-AAGTTGAAGTTGCTGTAATA-3' 为有效片段 (图 1 和表 1)。

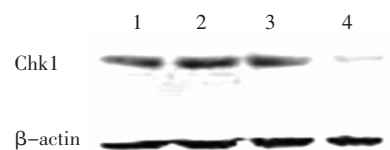


图 1 Chk1 siRNA 转染 HO8910 细胞后对 Chk1 蛋白水平表达的影响

Fig.1 Effect of transfecting Chk1 siRNA into HO8910 on the expression of Chk1 protein

表 1 HO8910 细胞转染 Chk1 siRNA 后 Chk1 蛋白表达的相对 OD 值的统计分析 (OD=Chk1/ β -actin 蛋白光密度值/比值)

Tab.1 Statistical analysis of A value of Chk1 at protein level in the transfected and untransfected HO8910 cells
(A value=comparative density value of Chk1/ β -actin)

组别	Chk1/ β -actin 相对 OD 值
未转染组	0.579 $\pm$ 0.011
片段 1 转染组	0.607 $\pm$ 0.015 ^a
片段 2 转染组	0.591 $\pm$ 0.014 ^b
片段 3 转染组	0.286 $\pm$ 0.012 ^c
F 值	460.324
P 值	0.000

注: a, 未转染组 vs. 片段 1 转染组, $q=1.242$, $P=0.241$; b, 未转染组 vs. 片段 2 转染组, $q=1.214$, $P=0.153$; c, 未转染组 vs. 片段 3 转染组, $q=29.364$, $P=0.000$

2.2 Chk1 siRNA 转染对 HO8910 细胞增殖的影响

以 MMT 法检测 3 组细胞的增殖, 以未转染组活性为 100%, 抑制率为 0, 脂质体转染组的抑制率为 (7.6 $\pm$ 3.8)%, Chk1 siRNA 转染组的抑制率为 (52.1 $\pm$ 5.1)%, 转染 siRNA 细胞的增殖活性较未转染组和脂质体转染组明显降低 ($F=123.418$, $P=0.000$)。质体转染组较未转染组 $q=2.834$, $P=0.067$; 转染 siRNA 组较脂质体转染组 $q=119.785$, $P=0.000$; siRNA 组较未转染组 $q=138.293$, $P=0.000$ 。

2.3 Chk1 siRNA 转染对 HO8910 细胞周期的影响

将 Chk1 siRNA 转染 HO8910 细胞, 用流式细胞仪检测细胞周期分布情况。与未转染组和脂质体转染组比较, HO8910 在转染 Chk1 siRNA 后 G1 期细胞数增多, 而 G2/M 期细胞数明显减少, 差异有统计学意义 ($P<0.05$)。G1 期: 脂质体转染组较未转染组 $q=0.782$, $P=0.678$; siRNA 组较脂质体转染组 $q=138.475$, $P=0.000$; siRNA 组较未转染组 $q=127.349$, $P=0.000$ 。S 期: 质体转染组较未转染组 $q=0.542$, $P=0.759$; siRNA 组较脂质体转染组 $q=46.367$, $P=0.000$; siRNA 组较未转染组 $q=47.215$, $P=0.000$ 。Cdc25A: 质体转染组较未转染组 $q=0.641$, $P=0.791$; siRNA 组较脂质体转染组 $q=32.451$, $P=0.000$; siRNA 组较未转染组 $q=33.594$, $P=0.000$ 。说明 Chk1 siRNA 对 HO8910 细胞 G2/M 细胞周期检测点有阻滞作用 (表 2)。

表 2 转染 Chk1 siRNA 对 HO8910 细胞周期分布的影响 ($n=4$)

Tab.2 Effect of transfecting Chk1 siRNA into HO8910 cells on the cell cycle ($n=4$)

组别	G1 (%)	S (%)	G2/M (%)
未转染组	34.45 $\pm$ 3.32	46.21 $\pm$ 4.57	19.35 $\pm$ 2.19
脂质体转染组	33.42 $\pm$ 3.11	46.82 $\pm$ 1.88	19.76 $\pm$ 2.67
Chk1 siRNA 组	69.48 $\pm$ 5.81	25.49 $\pm$ 2.93	5.03 $\pm$ 2.62
F 值	146.347	79.155	62.419
P 值	0.000	0.000	0.000

2.4 Chk1 siRNA 转染对 HO8910 细胞 CyclinA、CDK4、Cdc25A 蛋白水平表达的影响

Western blot 结果显示: 内参 β -actin 条带粗细亮度基本一致, 没有统计学差别; 而转染了 Chk1 siRNA 的 HO8910 细

胞内 CyclinA、CDK4 和 Cdc25A 蛋白含量都明显增多, 较未转染细胞组和脂质体转染组, 差异有统计学意义 ($P<0.05$)。CyclinA: 脂质体转染组较未转染组 $q=1.566$, $P=0.245$; siRNA 组较脂质体转染组 $q=48.857$, $P=0.000$; siRNA 组较未转染组 $q=50.384$, $P=0.000$ 。CDK4: 质体转染组较未转染组 $q=2.154$, $P=0.075$; siRNA 组较脂质体转染组 $q=223.456$, $P=0.000$; siRNA 组较未转染组 $q=237.657$, $P=0.000$ 。G2/M 期: 质体转染组较未转染组 $q=0.686$, $P=0.715$; siRNA 组较脂质体转染组 $q=42.584$, $P=0.000$; siRNA 组较未转染组 $q=41.863$, $P=0.000$ 。见图 2 和表 3。

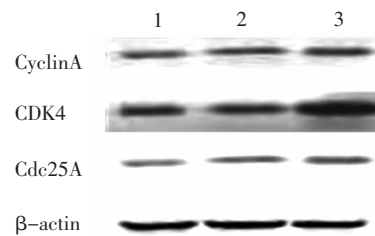


图 2 Chk1 siRNA 转染 HO8910 细胞后对细胞内 CyclinA、CDK4 和 Cdc25A 蛋白表达的影响

Fig.2 Effect of transfecting Chk1 siRNA into HO8910 cells on the expression of CyclinA, CDK4 and Cdc25A at protein level

表 3 转染 Chk1 siRNA 对 HO8910 细胞中 CyclinA、CDK4 和 Cdc25A 蛋白表达 OD 值的统计分析

Tab.3 Statistical analysis of OD value of CyclinA, CDK4 and Cdc25A at protein level in the transfected HO8910 cells

OD 值	未转染组	脂质体转染组	Chk1 siRNA 转染组
CyclinA/ β -actin	0.473 $\pm$ 0.026	0.498 $\pm$ 0.034	0.712 $\pm$ 0.011
CDK4/ β -actin	0.612 $\pm$ 0.013	0.665 $\pm$ 0.023	1.021 $\pm$ 0.037
Cdc25A/ β -actin	0.409 $\pm$ 0.035	0.402 $\pm$ 0.045	0.619 $\pm$ 0.039
F 值	107.409	291.006	34.850
P 值	0.000	0.000	0.000

3 讨论

众所周知, 恶性肿瘤的发生其根本原因就在于本应停止增殖或生理性凋亡的细胞不断地进入细胞周期, 从而导致细胞的恶性增殖。细胞通过调控 Cyclin、CDK、CKI 等基因的有序表达而实现对细胞周期进展速度的调控^[6]。

人类 Chk1 基因位于常染色体 11q24, 是一种丝氨酸苏氨酸蛋白激酶, 在 DNA 损伤引起的细胞周期检测点调节中起着重要作用^[7]。由于细胞周期与肿瘤的密切关系, Chk1 与肿瘤的关系以及其在肿瘤的发生、发展、转移、治疗中的作用是研究的焦点。文献报道, 多种肿瘤组织和细胞系高表达 Chk1^[8-9], 而 Chk1 的高表达也与肿瘤耐药、复发、不良预后等密切相关^[10]。与之相反, Chk1 缺失或者被抑制的肿

瘤细胞则表现出多重缺陷:如细胞增殖缓慢、细胞周期检测点的阻滞反应消失、对 DNA 损伤剂的敏感性增强等^[11-12]。由此可见,Chk1 可作为肿瘤治疗过程中增敏的有效靶点。本研究应用 RNA 干扰技术对卵巢癌细胞株 HO8910 中 Chk1 基因沉默,旨在探讨 Chk1 对卵巢癌细胞 HO8910 增殖和细胞周期的影响。

本研究首先确定了序列③(5'-AAGTTGAAG-TTGCTGTGAATA-3')为 Chk1 siRNA 有效序列,产生了靶向抑制 Chk1 表达的特异性效果。紧接着的结果显示,相比未转染组和脂质体转染组,Chk1 基因沉默后卵巢癌细胞 HO8910 的增殖活性明显下降,生长明显受到抑制。这表明一定水平 Chk1 蛋白的表达是肿瘤细胞增殖、生长等活动所必需。本研究还发现,Chk1 siRNA 沉默目的 Chk1 基因后对细胞周期也产生了显著效应,使大量细胞阻滞在 G1 期,而 G2/M 期细胞的数量则显著减少,这表明 Chk1 表达的减少影响了细胞增殖,其机制可能与减弱 G2/M 期阻滞有关。Huang 等^[13]研究发现,二氢杨梅素能够通过抑制 G2/M 期而抑制肝癌细胞的增生;Wu 等^[14]通过敲除 Chk1 基因来增强胶质母细胞瘤干细胞样细胞的放射敏感性,其机制也可能与减少 G2/M 肿瘤细胞的数量有关,这些结果都与本研究基本一致。

众所周知,Chk1 活化后对细胞周期检测点的调控是一个级联放大的磷酸化调控系统,可通过控制下游基因的磷酸化来控制整个系统^[6]。ATR-Chk1-Cdc25s 途径是 Chk1 对细胞周期检测点重要的调节途径之一^[15]。Cdc25A 是 Chk1 的直接作用底物^[16],Cdc25A 可通过去除 CDK 的 ATP 结合位点上苏氨酸、酪氨酸残基磷酸化而活化 CDK,使其与相应的 Cyclin 结合,促进细胞周期进行,而 Chk1 活化后可特异性促进 Cdc25A 的 S76 磷酸化加速 Cdc25A 的降解,抑制 Cdc25A 对下游效应器的激活作用,从而导致细胞周期阻滞^[17]。本研究结果还显示,较未转染组和脂质体转染组,Chk1 siRNA 转染后,HO8910 细胞内的 CyclinA、CDK4 和 Cdc25A 蛋白水平都明显增加,这说明 Chk1 沉默后,抑制了 Cdc25A 的降解,进而抑制 Cdc25A 对下游效应器的激活作用,从而削弱了细胞周期的阻滞作用。

综上所述,Chk1 siRNA 对卵巢癌 HO8910 细胞起着重要的调控作用,表现为肿瘤细胞增殖活性显著下降,生长受抑;细胞周期 G2/M 阻滞作用减弱;下游靶基因 CyclinA、CDK4 和 Cdc25A 表达增强,这表明 Chk1 对 HO8910 细胞 G2/M 期的检测点功能可能是通过调控 Cdc25A、CyclinA、CDK4 来完成的。

参 考 文 献

- [1] Ozols RF.Treatment goals in ovarian cancer[J].Int J Gynecol Cancer,2005,15(s1),3-11.
- [2] Desmarais JA,Hoffmann MJ,Bingham G,et al.Human embryonic stem cells fail to activate Chk1 and commit to apoptosis in response to DNA replication stress[J].Stem Cells,2012,30(7):1385-1393.
- [3] Tho LM,Libertini S,Ramplung R,et al.Chk1 is essential for chemical carcinogen-induced mouse skin tumorigenesis[J].Oncogene,2012,31(11):1366-1375.
- [4] Fang DD,Cao J,Jani JP,et al.Combined gemcitabine and Chk1 inhibitor treatment induces apoptosis resistance in cancer stem cell-like cells enriched with tumor spheroids from a non-small cell lung cancer cell line[J].Front Med,2013,PMID:23820871[Epub ahead of print].
- [5] Zachos G,Black EJ,Walker M,et al.Chk1 is required for spindle checkpoint function[J].Dev Cell,2007,12(2):247-260.
- [6] Reinhardt HC,Yaffe MB.Kinases that control the cell cycle in response to DNA damage:Chk1,Chk2 and MK2[J].Curr Opin Cell Biol,2009,21(2):245-255.
- [7] Wang B,Li Z,Wang C,et al.Zygotic G2/M cell cycle arrest induced by ATM/Chk1 activation and DNA repair in mouse embryos fertilized with hydrogen peroxide-treated epididymal mouse sperm[J].PLoS One,2013,8(9):e73987.
- [8] Grabauskiene S,Bergeron EJ,Chen G,et al.CHK1 levels correlate with sensitization to pemetrexed by CHK1 inhibitor in non-small cell lung cancer cells[J].Lung Cancer,2013,doi:10.1016/j.lungcan.2013.09.010 [Epub ahead of print].
- [9] Hong J,Hu K,Yuan Y,et al.Chk1 targets spleen tyrosine kinase (L) for proteolysis in hepatocellular carcinoma[J].J Clin Invest,2012,122(6):2165-2175.
- [10] Ma CX,Cai S,Li S,et al.Targeting Chk1 in p53-deficient triple-negative breast cancer is therapeutically beneficial in human-in-mouse tumor models[J].J Clin Invest,2012,122(4):1541-1552.
- [11] Kim KS,Choi KJ,Bae S.Interferon-gamma enhances radiation-induced cell death via downregulation of Chk1[J].Cancer Biol Ther,2012,13(11):1018-1025.
- [12] Wang X,Ma Z,Xiao Z,et al.Chk1 knockdown confers radiosensitization in prostate cancer stem cells[J].Oncol Rep,2012,28(6):2247-2254.
- [13] Huang H,Hu M,Zhao R,et al.Dihydromyricetin suppresses the proliferation of hepatocellular carcinoma cells by inducing G2/M arrest through the Chk1/Chk2/Cdc25C pathway[J].Oncol Rep,2013,30(5):2467-2475.
- [14] Wu J,Lai G,Wan F,et al.Knockdown of checkpoint kinase 1 is associated with the increased radiosensitivity of glioblastoma stem-like cells[J].Tohoku J Exp Med,2012,226(4):267-274.
- [15] Thanassoulas M,Escandell JM,Suwaki N,et al.ATR/ATR checkpoint activation downregulates CDC25C to prevent mitotic entry with uncapped telomeres[J].EMBO J,2012,31(16):3398-3410.
- [16] Aressy B,Ducommun B.Cell cycle control by the CDC25 phosphatases[J].Anticancer Agents Med Chem,2008,8(8):818-824.
- [17] Sørensen CS,Melietian M,Klein DK,et al.NEKL1 linking CHK1 and Cdc25A in DNA damage checkpoint signaling[J].Cell Cycle,2010,9(3):450-455.

(责任编辑:冉明会)