

论 著 基础研究

UbcH10 基因沉默对耐药乳腺癌细胞 MCF-7/TXT 药物敏感性影响

汪 成¹, 单 鸣^{1*}, 潘寅昊¹, 徐 明², 包家林¹

上海市黄浦区中心医院 1. 乳腺外科, 2. 病理科, 上海 200002

[摘要] 目的 观察 UbcH10 基因沉默对 MCF-7/TXT 细胞耐药的影响。方法 设计针对 UbcH10 的 siRNA 序列, 构建 shRNA 表达载体并进行重组慢病毒包装, 重组病毒感染 MCF-7/TXT 细胞, 转染后 72 h 通过荧光标记物确认细胞感染效率, 收集转染后细胞, Real-Time PCR 和 Western blotting 分别检测转染后细胞内 UbcH10 mRNA 及蛋白含量变化; CCK-8 检测基因沉默对 MCF-7/TXT 化疗药物敏感性的影响。结果 在 MCF-7/TXT 细胞中成功进行了 UbcH10 基因沉默实验, 病毒感染后 72 h 细胞的感染效率达到约 90%, 细胞内 UbcH10 mRNA 和蛋白相对含量明显降低, 与对照组比较差异具有统计学意义 ($P < 0.05$); UbcH10 基因沉默可以明显增强 MCF-7/TXT 对多西他赛的药物敏感性, 多西他赛对基因干预组和对照组细胞的不同时间点 IC_{50} 值明显降低, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。结论 UbcH10 沉默可显著增强乳腺癌耐药细胞 MCF-7/TXT 对多西他赛的化疗敏感性。

[关键词] MCF-7/TXT; siRNA; 慢病毒; UbcH10; 耐药性

[DOI] 10.3969/j.issn.1674-8115.2014.10.006 **[中图分类号]** R737.9 **[文献标志码]** A

Effects of UbcH10 gene silencing on drug sensitivity of drug resistant breast cancer cell MCF-7/TXT

WANG Cheng¹, SHAN Ming^{1*}, PAN Yun-hao¹, XU Ming², BAO Jia-lin¹

1. Department of Breast Surgery, 2. Department of Pathology, Central Hospital of Huangpu District, Shanghai 200002, China

[Abstract] **Objective** To investigate the effects of UbcH10 gene silencing on the drug resistance of human breast cancer cell MCF-7/TXT. **Methods** The shRNA expression vectors were constructed using the siRNA sequences which were designed based on the coding sequence of UbcH10. MCF-7/TXT cells were then infected by lentivirus. After being infected for 72 h, the infection efficiency was observed through the fluorescent marker and infected cells were collected. The variations of UbcH10 mRNA and protein levels of infected cells were detected by the Real-Time PCR and Western blotting, respectively. The effects of gene silencing on the sensitivity of chemotherapeutic drugs for MCF-7/TXT cells were detected by the CCK-8. **Results** The gene silencing test of MCF-7/TXT cells was successfully. After being infected for 72 h, the infection efficiency was about 90% and UbcH10 mRNA and protein levels of infected cells significantly decreased. Compared to the control group, the differences were statistically significant ($P < 0.05$). Silencing the UbcH10 gene significantly enhanced the drug sensitivity of taxotere towards MCF-7/TXT cells. IC_{50} values of taxotere of the gene silencing group at different time points were significantly lower than those of the control group. The differences were statistically significant ($P < 0.05$). **Conclusion** Silencing the UbcH10 gene can significantly enhance the chemotherapy sensitivity of drug resistant breast cancer cell MCF-7/TXT towards taxotere.

[Key words] MCF-7/TXT; siRNA; Lentivirus; UbcH10; drug resistance

[基金项目] 上海市医学重点专科建设项目 (ZK2012A13) (Construction Project of Shanghai Medical Key Discipline, ZK2012A13)。

[作者简介] 汪 成 (1975—), 男, 副主任医师, 硕士; 电子邮箱: wangcheng1212@hotmail.com; 单 鸣 (1976—), 男, 主治医师, 学士;

电子邮箱: shanming99@gmail.com。* 为共同第一作者

[通信作者] 包家林, 电子邮箱: huangpunxian@163.com。

乳腺癌是女性易患的恶性肿瘤之一,乳腺癌患病率约占中国恶性肿瘤总数的8%,其中以上海等沿海大城市为主要发病区,如上海地区的乳腺癌发病率已上升至女性恶性肿瘤的首位(2008年上海地区乳腺癌发病率61.59/10万)^[1]。乳腺癌治疗以手术为主,同时结合化学治疗(化疗)和放射治疗(放疗),在具体的治疗方案中多数患者采取手术与化疗、放疗、靶向治疗相结合的方法,因此,化疗的效果直接关系到乳腺癌的治疗效果。化疗有其固有的缺陷,即存在肿瘤耐药性问题^[2],肿瘤耐药性的产生使得化疗药物对于乳腺癌的治疗效果大打折扣,因此,寻找乳腺癌耐药机制产生的关键基因,明确特异蛋白在乳腺癌耐药机制产生过程中的调控机制是乳腺癌基础研究的重要方向^[3,4]。

UbcH10与多种肿瘤具有密切的关系^[5-7]。UbcH10表达水平与肺癌的恶性程度正相关,阻断UbcH10在肺鳞癌细胞株中的表达可明显抑制其增殖活性,使肿瘤细胞明显阻滞于G₁期,同时,抑制UbcH10基因表达可明显增强肺癌细胞对部分化疗药物的敏感性。王银平等^[9]通过免疫组织化学检测对乳腺癌及其癌旁组织进行了UbcH10蛋白表达分析,结果发现UbcH10的表达与乳腺癌恶性程度具有显著的相关性,研究还发现,在乳腺癌细胞MCF-7中靶向敲减UbcH10基因可明显抑制肿瘤细胞增殖活性,表明UbcH10基因与乳腺癌密切相关。本研究拟采用基因沉默的方法在乳腺癌耐药细胞株MCF-7/TXT中靶向沉默UbcH10,观察基因沉默是否会对耐药乳腺癌细胞的化疗药物敏感性产生影响。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 仪器和试剂 MCF-7/TXT为第二军医大学药理学教研室诱导获取;0.25%胰蛋白酶、胎牛血清、D-MEM培养基和RNA提取试剂(Invitrogen,美国);慢病毒实验系统产品(Systembio,美国);M-MLV反转录试剂盒及荧光定量试剂盒(大连宝生物工程有限公司);CCK-8细胞活性检测试剂盒(日本同仁化学公司);定量PCR仪(ABI,美国);酶标仪及紫外分光光度计(Thermo,美国);DNA合成在上海生工公司进行;多西他赛(Sigma,美国);蛋白一抗及二抗(Santa Cruz,美国);蛋白提取、定量试剂盒及

ECL发光试剂盒(Pierce,美国)。

1.2 方法

1.2.1 siRNA设计及重组慢病毒制备 美国国立生物技术信息中心(National Center of Biotechnology Information, NCBI)在线查找UbcH10基因信息,其cDNA序列编号为NM_007019.3,选取基因编码区序列,使用siRNA在线设计软件“siRNA Finder”设计针对基因编码区的siRNA序列(5'-GACCTGAGGTATAGCTCT-3')及其错义序列(NC)(5'-GAAGCCAGATCCAGCTTCC-3')。根据siRNA及NC序列,设计并合成互补的shRNA-DNA序列,双链DNA经退火后克隆至pshRNA-GFP表达载体,克隆经序列分析确定插入序列无误后,接种转化菌株至液体培养基,扩增细菌,进行不含内毒素质粒DNA的制备,方法参照试剂盒说明书。取对数生长期293T细胞,胰酶消化法制备细胞悬液,使用含10% FBS的DMEM完全培养基调整细胞密度至 5×10^5 个/mL,接种细胞到10 cm细胞培养皿,每皿10 mL细胞悬液,37℃和5% CO₂条件下培养24 h,然后进行共转染实验。实验分为对照组、错义组和沉默组,转染条件如下:shRNA重组表达载体2 μg,包装质粒混合物10 μg,转染试剂使用量为40 μL,转染过程按照Lipofectamine 2000转染试剂说明书步骤进行。转染后细胞正常条件培养24 h,使用含1% FBS的DMEM对细胞进行换液后继续正常条件培养。转染后48 h,收集细胞上清液,4℃条件下5 000 × g离心5 min,然后使用0.45 μm的PVDF膜过滤除掉蛋白碎片,病毒分装后-80℃保存,病毒滴度通过比例稀释法进行测定。

1.2.2 MCF-7/TXT细胞的慢病毒感染 取对数生长期的MCF-7/TXT细胞于感染前1日接种细胞到6孔细胞培养板,使用添加10% FBS的DMEM培养基;正常培养24 h,按照感染复数(multiplicity of infection, MOI)=10向细胞培养液中添加重组病毒,轻晃培养板以使病毒分布均匀,正常条件(37℃和5% CO₂)下过夜培养;感染24 h后细胞换液,使用含有10% FBS的完全培养基,后继续正常条件培养;病毒感染后72 h开始,通过绿色荧光蛋白(green fluorescent protein, GFP)表达观察细胞转染效率,转染效率计算公式:细胞转染效率(%)=有GFP表达的细胞数/相同视野中细胞总数×100%,选取5个视野计算求取平均值。收集细胞,分别提取细胞总RNA

和总蛋白,进行 mRNA 及蛋白含量检测。

1.2.3 MCF-7/TXT 细胞内 UbcH10 基因沉默效率检测 Real-Time PCR 检测转染后 MCF-7/TXT 细胞中 UbcH10 基因相对含量。病毒感染后 72 h,收集细胞,使用 4 ℃ 预冷的 dPBS 洗细胞 2 次,然后每孔加入 1 mL TRIzol 裂解液,并使用 1 mL 移液器反复吹打皿底,直至液体变得透明而且黏稠,将裂解液转移到干净的 1.5 mL 离心管,每管加入 200 μ L 三氯甲烷,剧烈晃动约 15 s,室温放置 5 min,12 000 $\times g$ 4 ℃ 离心 15 min;将上层转移到无 RNase 处理的 1.5 mL 离心管中,加入 500 μ L 异丙醇,充分混匀后室温放置 10 min,4 ℃ 下 12 000 $\times g$ 离心 10 min,弃去上清液,沉淀使用 1 mL 75% 乙醇重悬漂洗,沉淀在超净工作台中经 10 min 晾干,用 25 μ L 的 DEPC 水溶解 RNA 沉淀;紫外分光光度计测定 RNA 浓度,并通过琼脂糖电泳凝胶观察 RNA 条带的完整性。取 1 μ g RNA 反转录制备 cDNA,使用随机反转录引物 Random Primer,然后取 1 μ L 反转录产物进行 PCR 检测,实验以 β -actin 为参照基因。PCR 的反应总体积为 25 μ L:其中荧光定量试剂混合液 12.5 μ L,上下游引物(10 μ mol/L)各 0.5 μ L,cDNA 1 μ L,dH₂O 补足反应体系至 25 μ L。反应条件:95 ℃,10 min;58 ℃,20 min;72 ℃,20 min,反应共 40 个循环。PCR 检测引物序列: β -actin-上游 PCR 引物,5'-CCTGTACGCC-CAA CACAGTGC-3', β -actin-下游 PCR 引物 5'-ATACTC CTGCTTGCTGATCC -3',UbcH10-上游 PCR 引物 5'-ACCCTCATGATGTCTGGC GATAAA-3',UbcH10-下游 PCR 引物 5'-GTGATAGCAGGGCGT-GAGGAAGTT-3',PCR 产物长度分别 211 bp 和 192 bp。相对定量结果则通过 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 来进行计算,UbcH10 相对于 β -actin 的表达量为 $2^{-\Delta\Delta Ct} = 2^{C_{tm} - C_{tn}}$ 。

病毒感染后肿瘤细胞内 UbcH10 蛋白相对含量检测。收集病毒感染后 72 h MCF-7/TXT 细胞,使用 1 mL 的 dPBS 漂洗细胞两遍,加入 RIPA 细胞裂解液(1.0% NP-40 或 Triton-X-100、150 mmol/L NaCl、0.5% 脱氧胆酸钠、50 mmol/L Tris 和 0.1% SDS),充分吹打裂解细胞,转移裂解液到干净的 1.5 mL 离心管,12 000 $\times g$ 离心 10 min,收集上清液,通过 BCA 法检测样本裂解液中总蛋白含量。每组样本取 8 μ L 进行 SDS-PAGE 垂直电泳,分离胶浓度为 10%,450 mA 电流条件下转膜 100 min,5% 脱脂牛奶封闭 2 h,加入一抗(β -actin 和 UbcH10 的稀释比例分别为 1:800 和 1:300),4 ℃ 过夜孵育;TBST 3 次重复洗膜,然

后加入二抗(羊抗鼠,TBST 稀释,稀释比为 1:3 500),室温孵育 2 h,3 次重复 TBST 洗膜,添加 2 mL 的 ECL 发光底物,立刻进行 X 光曝片,通过调整曝光时间获取目的条带清晰的曝光底片,然后扫描底片后采用 Totallab 图像分析软件进行目的条件光密度值分析,UbcH10 蛋白相对含量 = UbcH10 条带的光密度值/ β -actin 条带的光密度值。

1.2.4 细胞增殖活性检测 取病毒感染后 72 h 的 MCF-7/TXT 细胞,胰酶消化法制备细胞悬液,苔兰染色后血小球计数板进行活细胞计数,使用含有 10% FBS 的 DMEM 完全培养基调整细胞浓度至 1×10^4 个/mL,接种细胞悬液到 96 孔细胞培养板,每孔添加 100 μ L 细胞悬液,正常条件培养 8 h,待细胞完全贴壁后,按照终浓度(1、10、50 和 100 μ g/mL)加入多西他赛到细胞培养液中,轻晃培养板使药物分布均匀,正常条件培养。并于加药后的 24、48 和 72 h,CCK-8 法检测细胞增殖活性:每孔细胞培养液中加入 10 μ L 的 CCK-8,后置于 37 ℃ 和 5% CO₂ 培养箱内继续培养 4 h,酶标仪测定孔板在 450 nm 波长处的吸光度,通过吸光度值计算细胞被抑制率,然后通过抑制曲线计算每个时间点的药物 IC₅₀ 值,分析确定基因干预是否对耐药肿瘤细胞的化疗药物敏感性产生影响。细胞被抑制率计算公式:细胞抑制率(%) = (对照组 A₄₅₀ - 处理组 A₄₅₀)/对照组 A₄₅₀ $\times 100\%$ 。

1.3 统计学方法

采用 SPSS 13.0 软件进行统计学分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用单因素方差分析。 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 shRNA 表达载体构建

shRNA 重组表达载体提取质粒后,使用多克隆位点上游的引物进行测序,经过序列分析,shRNA 表达载体中插入序列与设计完全一致(图 1)。

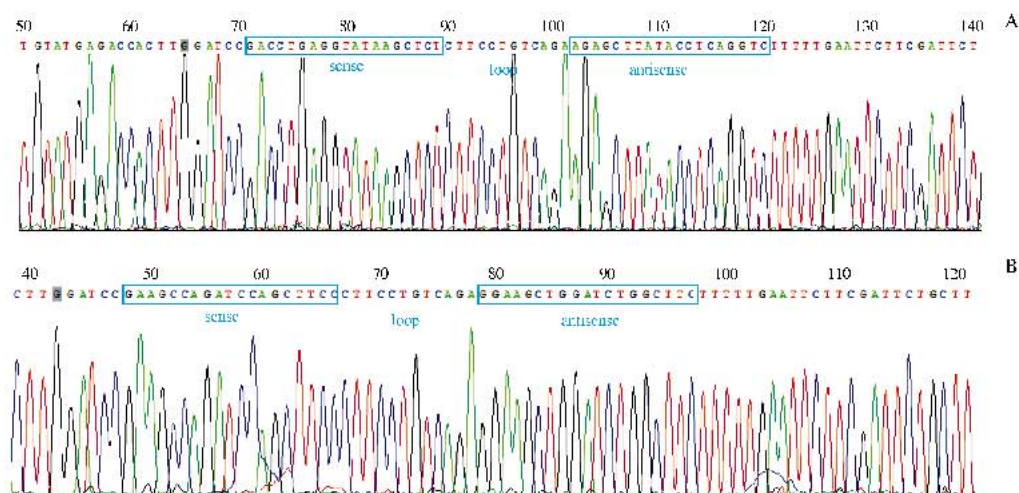
2.2 MCF-7/TXT 细胞的慢病毒感染效率检测

按照 MOI 为 10 进行 MCF-7/TXT 细胞慢病毒感染实验,病毒感染后 72 h 镜下观察,感染组细胞明显有 GFP 表达。通过计数分析,细胞的基因转导效率约为 90%(图 2)。

2.3 MCF-7/TXT 细胞中 UbcH10 基因沉默效率检测

Real-Time PCR 检测结果显示:慢病毒感染 MCF-7/TXT 细胞 72 h 后,基因沉默组细胞内 UbcH10 mRNA 含量明显降低,未转染组与转染组基因相对含量分别为 1.00 ± 0.12 和 0.22 ± 0.04 ,降低约 78%,组间比

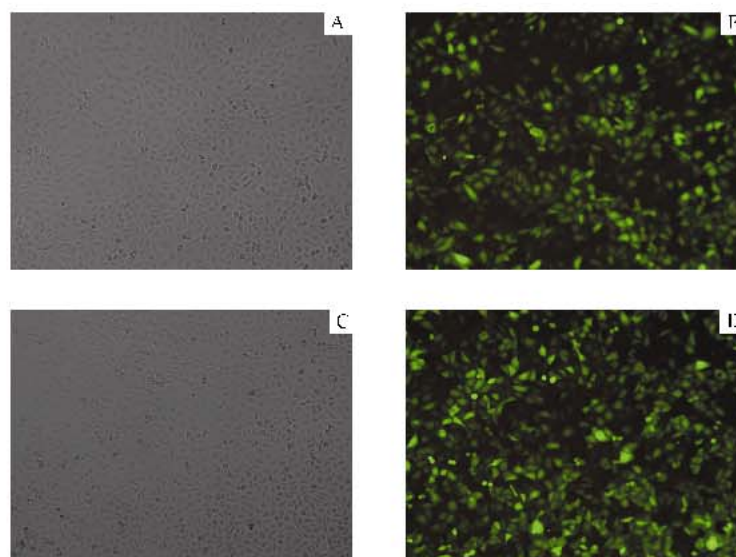
较差异具有统计学意义($P < 0.01$);而 NC 感染组与未转染组比较,UbcH10 mRNA 相对含量无明显差异($P > 0.05$),说明病毒系统对目的基因表达无明显影响。UbcH10 蛋白含量检测结果与 mRNA 检测结果完全一致(图 3)。



注: A. pshRNA-UbcH10; B. pshRNA-NC。

图 1 序列分析

Fig 1 Sequence analysis



注: A, B. MCF-7/TXT 感染 Lv-NC; C, D. MCF-7/TXT 感染 Lv-shRNA-UbcH10; A, C. 普通视野下细胞照片; B, D. 其对应的视野中细胞荧光照片。

图 2 细胞感染效率检测 $\times 120$

Fig 2 Detection of cell infection efficiency $\times 120$

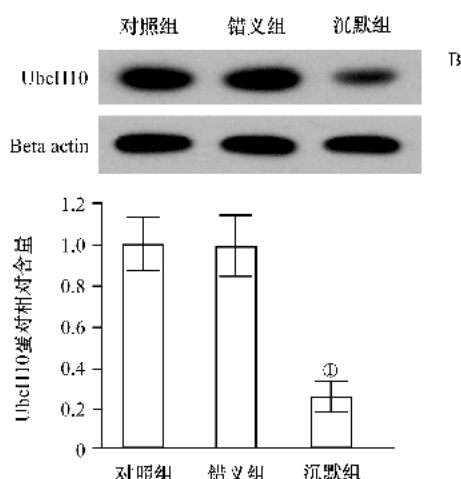
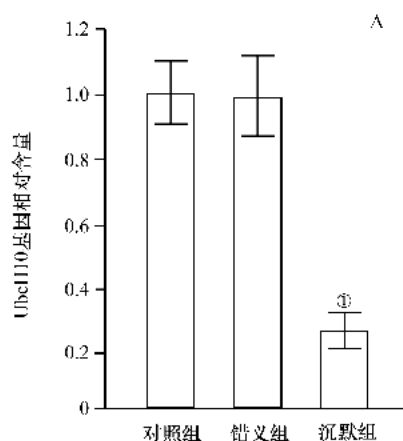
2.4 UbcH10 基因沉默对耐药肿瘤细胞化疗药物敏感性的影响检测

UbcH10 基因干预后的 MCF-7/TXT 细胞,再使

用不同浓度的多西他赛干预细胞,并于干预后的 24、48 和 72 h 检测细胞增殖活性,根据细胞活性计算个时间点的耐药细胞对多西他赛的 IC_{50} 值。检测数据

表明,在耐药细胞株 MCF-7/TXT 细胞中沉默 UbcH10 基因可明显增强细胞对多西他赛的敏感性,其中 24 h,基因沉默且药物处理组和单独药物处理组细胞对多西他赛的 IC_{50} 分别为 43.12 ± 5.13 和 36.72 ± 2.25 ,组间比较差异有统计学意义($P < 0.05$),48 h 细胞对多西他赛的 IC_{50} 分别为 $26.82 \pm$

3.19 和 9.31 ± 1.72 ,组间比较差异有统计学意义($P < 0.05$),72 h 组细胞对多西他赛的 IC_{50} 分别为 13.52 ± 1.88 和 3.45 ± 0.56 ,组间比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。错义序列转染且药物处理组与药物处理组细胞对多西他赛的 IC_{50} 比较,3 个检测时间比较差异无统计学意义($P > 0.05$)(表 1)。



注:① $P < 0.01$ 与未感染组比较。

图 3 病毒感染后 MCF-7/TXT 细胞中 UbcH10 基因表达检测

Fig 3 Detection of the gene expression of UbcH10 in infected MCF-7/TXT cells

表 1 MCF-7/TXT 细胞对多西他赛的 IC_{50} 值分析

Tab 1 The analysis of IC_{50} values of MCF-7/TXT cells towards taxotere

干预时间/h	$IC_{50}/(\mu g/mL)$		
	MCF-7/TXT	Lv-NC	Lv-UbcH10-RNAi
24	43.12 ± 5.13	51.77 ± 4.96	36.72 ± 2.25 ^①
48	26.82 ± 3.19	27.25 ± 2.02	9.31 ± 1.72 ^②
72	13.52 ± 1.88	11.27 ± 1.02	3.45 ± 0.56 ^③

注:① $P < 0.05$,② $P < 0.01$ 与基因未干预组比较。

3 讨论

泛素及蛋白酶体途径的蛋白质降解是真核细胞内蛋白质代谢的主要途径之一,这一途径是包括泛素结合酶、泛素活化酶和泛素蛋白连接酶共同主导的一个普遍存在的生物学进程。蛋白经过泛素及蛋白酶体途径后,再与泛素结合并通过泛素化途径被降解成多肽片段^[10,11]。泛素及蛋白酶体途径通过对众多蛋白产生影响,从而参与细胞的生命进程,如细胞周期、基因调控、细胞增殖及程序死亡等多个生物学过程。众多研究^[12,13]表明,泛素及蛋白酶体途径

的异常与肿瘤的发生和发展有着密切的关系,UbcH10 作为泛素及蛋白酶体途径的关键蛋白,在多种肿瘤组织和肿瘤细胞中异常表达,这说明 UbcH10 蛋白调控异常对肿瘤的形成及增殖有着关键的作用,UbcH10 在乳腺癌细胞也具有高表达的情况。

在本课题前期研究^[14]中发现,UbcH10 在乳腺癌组织与癌旁组织及乳腺良性肿瘤中的表达存在显著差异;通过对肿瘤组织的免疫组织化学检测发现,UbcH10 的表达与 Ki-67 和 HER-2 蛋白表达有相关性;对手术切除后辅助化疗的乳腺癌患者的随访中发现,UbcH10 高表达患者具有预后差且生存期短的特点。这提示我们,UbcH10 在乳腺癌的发生及进展中具有重要的调控机制,明确这种调控机制有助于更好的理解乳腺癌发病的分子层面的原因,为乳腺癌临床治疗提供新的分子靶标^[15]。

化疗被广泛用于临床肿瘤治疗,肿瘤耐药性使得化疗药物的治疗效果低下,甚至无效。本研究通过对 UbcH10 与肿瘤耐药性之间的关系,使用多西他赛长期诱导建立乳腺癌耐药细胞株 MCF-7/TXT,通过慢病毒途径在 MCF-7/TXT 细胞内对 UbcH10 基因

进行高效沉默,在基因沉默的基础上,使用多西他赛处理细胞,对耐药细胞的化疗敏感性进行了比较分析,分析 UbcH10 与肿瘤耐药之间可能存在的关联及分子机制。结果显示:通过慢病毒实验系统可以在细胞中长期、稳定的针对目标基因进行靶向沉默,耐药乳腺癌细胞中靶向沉默 MCF-7/TXT 基因可明显降低细胞对多西他赛的 IC_{50} 值;通过慢病毒介导的 UbcH10 靶向沉默可增强 MCF-7/TXT 对多西他赛的药物敏感性,细胞对化疗药物敏感性的变化应该与其耐药机制的调控有关。UbcH10 的功能研究指出, UbcH10 主要在细胞分裂后期通过促进 APC/C 复合物来影响多泛素化进程,从而调整或者影响底物降解程序。以往的研究^[16,17]多集中在其通过上述过程对细胞有丝分裂相关蛋白产生影响。本研究发现,耐药性的变化表明 UbcH10 的破坏事件可能不只针对有丝分裂相关的周期性蛋白,其对耐药相关蛋白的泛素化是否产生影响,也非常值得研究。赵黎明等^[18]研究也指出, UbcH10 基因沉默使得 NCI-H226 细胞对紫杉醇的药物敏感性大大增强,且可能是通过影响耐药相关蛋白 MDR1 来实现的。这些研究提示我们, UbcH10 基因可能会对乳腺癌细胞的耐药机制产生直接的影响。UbcH10 基因沉默可明显增强耐药乳腺癌细胞对多西他赛的化疗敏感性,这将为提高乳腺癌化疗的效果提供新的理论依据。

【参考文献】

- [1] 邵志敏,沈慎宙,徐兵河. 乳腺肿瘤学[M]. 上海:复旦大学出版社, 2013; 1.
- [2] 吴昊,杨舜龙. 2012 年乳腺癌研究进展回顾[J]. 中华乳腺病杂志, 2013, 7(1): 4-6.
- [3] 胡小辉,李建文. RNA 干扰技术在乳腺癌治疗中的研究进展[J]. 中华乳腺病杂志, 2013, 7(1): 52-56.
- [4] 李强,王兴武,宋宝. microRNA-21 对乳腺癌 MCF-7/ADR 细胞株多柔比星耐药性影响的研究[J]. 中华肿瘤防治杂志, 2012, 19(3): 188-191.
- [5] Donato G, Iofrida G, Lavano A, et al. Analysis of UbcH10 expression represents a useful tool for the diagnosis and therapy of astrocytic tumors[J]. Clin Neuropathol, 2008, 27(4): 219-223.
- [6] Berlingieri MT, Pallante P, Guida M, et al. UbcH10 expression may be a useful tool in the prognosis of ovarian carcinomas[J]. Oncogene, 2007, 26(14): 2136-2140.
- [7] Ieta K, Ojima E, Tanaka F, et al. Identification of overexpressed genes in hepatocellular carcinoma, with special reference to ubiquitin-conjugating enzyme E2C gene expression[J]. Int J Cancer, 2007, 121(1): 33-38.
- [8] Fujita T, Ikeda H, Kawasaki K, et al. Clinicopathological relevance of UbcH10 in breast cancer[J]. Cancer Sci, 2008, 100(2): 238-248.
- [9] 王银平,殷志强,陈雪华,等. UbcH10 在乳腺癌中的表达及意义[J]. 外科理论与实践, 2008, 13(2): 149-152.
- [10] Aristarkhov A, Eytan E, Moghe A, et al. E2-C, a cyclin selective ubiquitin carrier protein required for the destruction of mitotic cyclones[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 1996, 93(9): 4294-4299.
- [11] Lin Y, Hwang WC, Basavappa R. Structural and functional analysis of the human mitotic-specific ubiquitin conjugating enzyme, UbcH10[J]. J Biol Chem, 2002, 277(24): 21913-21921.
- [12] Townsley FM, Aristarkhov A, Beck S, et al. Dominant-negative cyclin-selective ubiquitin carrier protein E2-C/UbcH10 blocks cells in metaphase[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 1997, 94(6): 2362-2367.
- [13] Okamoto Y, Oaki T, Miyazaki K, et al. UbcH10 is the cancer-related E2 ubiquitin-conjugating enzyme[J]. Cancer Res, 2003, 63(64): 4167-4173.
- [14] 潘赞昊,郭善禹,汪成,等. UbcH10 在乳腺浸润性导管癌中的表达及预后分析[J]. 外科理论与实践, 2014, 19(1): 47-52.
- [15] Berlingieri MT, Pallante P, Shoner A, et al. UbcH10 is overexpressed in malignant breast carcinomas[J]. Eur J Cancer, 2007, 43(18): 2729-2735.
- [16] Sako K, Suzuki K, Isoda M, et al. Emi2 mediates meiotic MII arrest by competitively inhibiting the binding of Ubc2S to the APC/C[J]. Nat Commun, 2014, 5: 3667.
- [17] Dimova NV, Hathaway NA, Lee BH, et al. APC/C-mediated multiple monoubiquitylation provides an alternative degradation signal for cyclin B1[J]. Nat Cell Biol, 2012, 14(2): 168-176.
- [18] 赵黎明,王良哲,姜丽蓉,等. UbcH10 基因沉默联合紫杉醇干预对 NCI-H226 细胞增殖活性和凋亡的影响[J]. 上海交通大学学报:医学版, 2012, 32(7): 891-895.

[收稿日期] 2014-06-18

[本文编辑] 朱宝洲