论著

文章编号:1000-5404(2010)17-1824-04

肿瘤转移抑制基因 Nm23-H1 融合蛋白的表达纯化及其功能的初步研究

张志敏[1*],杨雪琴[1*],许 文[2],戴 楠[1],曾林立[1],李增鹏[1],王 东[1],王 阁[1] (400042 重庆,第三军医大学大坪医院野战外科研究所肿瘤中心[1];250031 济南,解放军第456医院肿瘤科[2])

【摘要】 目的 利用人 Nm23-H1 基因原核表达载体,在大肠杆菌中表达并纯化融合蛋白,并对蛋白其活性进行初步分析。方法 将重组质粒 pET28a-Nm23-H1 转化入 *E. coli* BL21(DE3),IPTG 诱导表达并鉴定。用金属螯合层析技术进行蛋白纯化,得到 Nm23-H1 融合蛋白,用 SDS-PAGE 及 Western blot 鉴定纯化蛋白,并用 RP-HPLC 法、电泳迁移率变动分析实验检测 Nm23-H1 融合蛋白的核苷二磷酸激酶(NDPK)活性及核酸内切酶(AP)修复活性。结果 转化溶原菌后能够表达目的蛋白,蛋白表达量高,为可溶性蛋白。Ni^{2+} 柱纯化后得到 Nm23-H1 融合蛋白经 SDS-PAGE 及 Western blot 鉴定正确。RP-HPLC 法就及电泳迁移率变动分析实验证明所纯化的 Nm23-H1 融合蛋白具有 NDPK 活性,不具有 AP 修复活性,但可以增加 APE1 蛋白的 AP 修复活性。结论 利用原核表达载体 pET28a-Nm23-H1 在 *E. coli* BL21(DE3)中高效表达和纯化得到具有 NDPK 活性,但无 AP 修复活性的 Nm23-H1 融合蛋白,此蛋白可以增强 APE1 蛋白的 AP 修复活性,共同参与细胞的 DNA 损伤修复。

【关键词】 Nm23-H1 基因;原核表达;蛋白纯化

【中图法分类号】 R394-33;R394.3;R784 【文献标志码】 A

Purification of Nm23-H1 fusion protein expression and its function

Zhang Zhimin[1*], Yang Xueqin[1*], Xu Wen[2], Dai Nan[1], Zeng Linli[1], Li Zengpeng[1], Wang Dong[1], Wang Ge[1] ([1]Cancer Center, Institute of Surgery Research, Daping Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, 400042, [2]Department of Oncology, No. 456 Hospital of PLA, Jinan, Shandong, 250031, China)

【Abstract】 **Objective** To construct the prokaryotic expression vector for human Nm23-H1 genes and purify its fusion protein and study its activity. **Methods** Recombinant plasmid pET28a-Nm23-H1 was transformed into *E. coli* BL21 (DE3) and its expression was induced and identified with IPTG. The expressed Nm23-H1 fusion protein was purified by affinity chromatographic with Ni^{2+} column and identified by SDS-PAGE and Western blotting. Immunogenicity and activity of Nm23-H1 fusion protein were analyzed by RP-HPLC and EMSA. **Results** The prokaryotic expression vector of pET28a- Nm23-H1 could express the Nm23-H1 fusion protein in *E. coli* BL21 (DE3). The Nm23-H1 fusion protein with NDPK activity could be purified by affinity chromatographic with Ni^{2+} column. However, the AP endonuclease activity of Nm23-H1 protein was too weak to be detected. **Conclusion** Nm23-H1 fusion protein is highly expressed in *E. coli* BL21 (DE3) and can be purified, which is of great significance for elucidating the biologic characteristics of Nm23-H1 genes.

【Key words】 Nm23-H1 gene; prokaryotic expression; protein purification

Supported by the National Natural Science Foundation of China (30801367, 30973457), the Excellent Talent "1135" Project of Institute of Surgery Research and Daping Hospital of Third Military Medical University (2008). Zhang Zhimin and Yang Xueqin are the first author who contributed equally to the anticle. Corresponding author: Wang Ge, Tel: 86-23-68757171, E-mail: wangge70@hotmail.com, Wang Dong, Tel: 86-23-68757151, E-mail: dongwang64@hotmail.com

Nm23-H1 基因首先作为肿瘤转移抑制基因被发现,当今已成为肿瘤转移的研究热点之一。随着 Nm23 家族新成员的不断发现,对 Nm23-H1 的功能认识也逐步加深。Nm23-H1 不仅对肿瘤转移发挥抑制作用,同时还参与了对细胞的调控,包括细胞的生长、增殖、分化和凋亡,以及 DNA 和蛋白质合成、微管聚合、信号转导等生物学过程[1]。近年来,国内外的研究表明,Nm23-H1 还与肿瘤的放、化疗抵抗密切相关[2]。为了深入研究 Nm23-H1 的生物功能及其与放

【基金项目】 国家自然科学基金面上项目(30801367,30973457);第三军医大学大坪医院野战外科研究所"1135"优秀人才工程专项基金(2008)

* 同等贡献者

【通信作者】 王 阁,电话:(023)68757171,E-mail:wangge70@hotmail.com

王 东,电话:(023)68757151,E-mail:dongwang64@hotmail.com

化疗抵抗的相关性,本研究利用含 His Tag 的 Nm23-H1 全长基因原核表达载体 pET28-Nm23-H1,成功纯化了 Nm23-H1 融合蛋白,并对其融合蛋白的相关酶活性进行了初步分析,为进一步研究 Nm23-H1 相关功能提供物质基础。

1 材料与方法

1.1 主要材料与试剂

原核表达载体 pET28a-Nm23-H1 由天津医科大学总医院天津市肺癌研究所馈赠[3];大肠杆菌 *E. coli* DH5α 和 BL21(DE3)感受态细胞由本室保存;Eppin-His 融合蛋白由我校临床生化教研室惠赠;APE1 纯化蛋白由大坪医院肿瘤中心实验室构建保存[4];DMEM 培养基、小牛血清购自 Gibco 公司;异丙基硫化-D-半乳糖苷(IPTG)购自 Sigma 公司;Polyvinylidne fluoride(PVDF)膜、尼龙膜、ECL 检测试剂盒、HRP 标记羊抗小鼠 IgG 抗体、HRP 标记 His 抗体、电泳迁移率变动分析实验 LightShift 试剂盒购自 Pierce 公司;尿嘧啶糖基化酶(UDG)购自美国 NEB 公司;兔抗人 Nm23-H1 多克隆抗体购自 Santa Cruz 公司;引物及测序由上海英骏生物工程公司合成;纯化设备由重庆富进生物医药有限公司提供;ADP、ATP 及 UTP 均购自美国 Ameresco 公司;UDP 购自美国 Sigma 公司。

1.2 细胞培养及核蛋白提取

A549 细胞用含 10% 小牛血清、青霉素(100 U/ml)和链霉素(100 μg/ml)的 DMEM 培养基,37℃、5% CO_2 条件下培养,每 3 天传代 1 次。核蛋白提取参照文献[4]。

1.3 融合蛋白的诱导表达、可溶性分析

将鉴定正确的 pET28a-Nm23-H1 阳性克隆转化入大肠杆菌 *E. coli* BL21(DE3)中表达,其中诱导温度为 30 ℃,诱导时间为 4 h,加入 IPTG 至终浓度为 0.4 mmol/L,可溶性分析采用冰浴下超声破菌,分离上清和沉淀,将沉淀用 8 mol/L 尿素重悬后与上清分别制样。行 12% SDS-PAGE 电泳,考马斯亮蓝染色,鉴定融合蛋白的表达形式。

1.4 Nm23-H1 融合蛋白的纯化及鉴定

在证实融合蛋白主要以可溶性表达后,按上述条件大量摇菌诱导融合蛋白表达,收集菌液离心。用 40 ml 上样缓冲液(20 mmol/L PBS,pH = 9.0)重悬,冰浴下超声破菌。加入1∶20 体积比的 Elution Buffer 至上清中减小非特异结合。Ni^{2+} 柱纯化(金属螯合层析):装柱平衡后上 Ni^{2+},Binding Buffer 平衡后上样并收集穿透,Binding Buffer 平衡至 A_{280}(UV)和电导(Cond.)趋于平衡为止,分别用 30、200 mmol/L 咪唑洗脱并收集。将纯化后的蛋白行 12% SDS-PAGE 电泳,考马斯亮蓝染色后分析结果。将电泳结果正确的蛋白溶液分 A、B 两组电转移到 PVDF 膜上,用 1% 的 BSA 37℃封闭 2 h,A 组一抗用兔抗人 Nm23-H1 抗体 4 ℃孵育过夜,二抗用 HRP 标记的兔抗小鼠 IgG 单抗 1∶3 000 稀释 37℃孵育 40 min;B 组用 HRP 标记的 His 抗体 1∶4 000 稀释 37 ℃孵育 1 h,采用发光蛋白免疫印迹法对两组进行显影分析。

1.5 Nm23-H1 融合蛋白 NDPK 酶活性检测

采用 RP-HPLC 法[5]检测蛋白质的 NDPK 活性,反应溶液均采用 1 × HMD 缓冲液[33 mmol/L Hepes-Na(pH = 7.4),5 mmol/L $MgCl_2$,1 mmol/L DTT]配制。标准曲线的制作:配制 ADP、ATP、UDP、UTP 混合标准溶液,浓度均为 0.5 mmol/L。进样 10 μl,以保留时间定性,峰面积定量。设 Nm23-H1 以及一个对照组(未加任何蛋白酶),每组均重复 3 次,37 ℃反应 5 min 后加 200 μl 0.2 mol/L 甲酸溶液终止反应。过滤后取 5 μl 上 C18 反相柱。流动相(KH_2PO_4 12.25 g,K_2HPO_4 1.74 g,10% 四丁基氢氧化氨水溶液 5.6 ml,冰乙酸 1.1 ml,乙腈 80 ml,双蒸水 900 ml,以 85% 的磷酸调 pH 至 5.0,用双蒸水补足至 1 000 ml)等度洗脱 10 min。柱温 37 ℃,检测波长 254 nm,流速 1.0 ml/min。按照公式计算酶比活性:

酶比活性:(U/mg) = 0.3 × Ap/(As + Ap) × 1/(M × t)[其中 Ap 为产物 UTP 峰积分面积,As 为底物 UDP 峰积分面积,t 为酶促反应时间(min),M 为反应酶量(mg)]。

1.6 Nm23-H1 融合蛋白 AP 修复活性检测

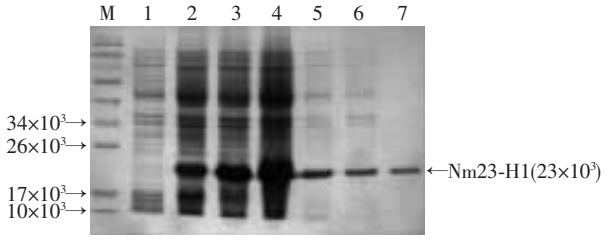
1.6.1 同位素标记探针检测 AP 修复活性 参照文献[6],新近合成模拟 AP 位点的 42 mer 寡核苷酸双链,序列为:正义链 22-U 5′-CCGCTGAATTGCACCCTCGAUCTAGGTCGATG-ATC-CTAAGCA-3′,反义链 22-C:5′-TGCTTAGGATCATCGACCTAG-GTCGAGGGTGCAATTCAGCGG-3′,其中 U 代表尿嘧啶,22-U 的 5′端标记同位素[γ-^{32}P] ATP,退火形成双链。22-U 中含有的尿嘧啶在尿嘧啶糖基化酶(UDG)作用下可形成一个 AP 位点,使双链探针能够被蛋白识别并将其切开为 21 bp 的反应产物。将提取处理后的细胞蛋白,纯化的 Nm23-H1 蛋白与含有同位素标记的双链核苷酸底物于 37 ℃共孵育。以 16 Gy 剂量的 X 线照射的 A549 细胞蛋白做阳性对照,2 μg BSA 蛋白做阴性对照。具体实验操作参照文献[4]。

1.6.2 电泳迁移率变动分析实验(electrophoretic mobility shift assay,EMSA) 根据文献[7],人工合成 AP 探针序列如下:5′-CTTGCATGCCTGCAGGTCGAUTCTAGAGATCCCCGGGTACC-GAGCTCGA-3′;5′-CGAGCTCGGTACCCGGGGATCCTCTGAGTC-GACCTGCAGGCATGCAAGC-3′,其中包含 AP 酶识别序列,在 3′端以生物素标记,退火形成双链。结合反应体系(20 μl)为:探针 1 pmol,1 × 结合缓冲液,50 mmo/L Hepes-KOH(pH = 7.8),1 mmol/L EDTA,5 mmol/L 二硫苏糖醇,37 ℃ 5 min,将 APE1 加入混合物中 0 ℃孵育 30 min。然后在以上混合物中加入待检的 2、4 pmol 纯化 Nm23-H1 蛋白,并以 APE1 纯化蛋白4 pmol 为对照。具体操作参照文献[4]。

2 结果

2.1 Nm23-H1 融合蛋白在大肠杆菌中的表达及纯化

将 IPTG 诱导前后不同时间点的细菌悬液行 SDS-PAGE 鉴定可见在相对分子质量(17 ~ 26) × 10^3(接近 23 × 10^3)处有目的蛋白条带,诱导后 4 h 达到高峰,可溶性和包涵体表达同时存在;选择破菌后上清通过 Ni^{2+} 柱纯化(金属螯合层析)技术进行纯化,得到 Nm23-H1 融合蛋白(图 1)。BCA 蛋白浓度定量:Nm23-H1 蛋白 100% 洗脱高峰收集部分,浓度为 6.5 mg/ml;100% 其他收集部分浓度为 1.5 mg/ml。纯度 90% 以上。

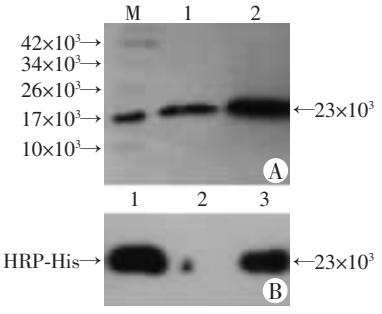


M：低分子质量蛋白标准；1：pET28a-Nm23-H1 未诱导；2：IPTG 诱导 pET28a-Nm23-H1 1 h 后细菌悬液；3：IPTG 诱导 pET28a-Nm23-H1 2 h 后细菌悬液；4：IPTG 诱导 pET28a-Nm23-H1 4 h 后细菌悬液；5：IPTG 诱导 pET28a-Nm23-H1 4 h 破菌后上清；6：IPTG 诱导 pET28a-Nm23-H1 4 h 破菌后包涵体；7：纯化后 Nm23-H1 蛋白

图1　pET28a-Nm23-H1 融合蛋白在大肠杆菌 BL21 中的表达及纯化结果

2.2　纯化的 pET28a-Nm23-H1 融合蛋白分别用 Nm23-H1 抗体和 His 抗体 Western blot 鉴定

Western blot 结果显示，经 Nm23-H1 抗体和 His 抗体孵育的融合蛋白在相对分子质量(17～26)×10³处出现特异性反应条带，与预期相符(图2)，表明 pET28a-Nm23-H1 成功表达 Nm23-H1 融合蛋白，该重组蛋白具有良好的免疫反应性。



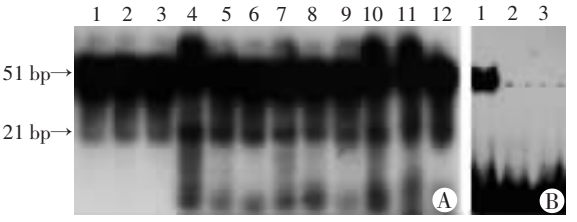
A：一抗为抗人 Nm23-H1 多克隆抗体；B：一抗为 HRP-His 抗体
M：低分子量蛋白标准；1：纯化后的 Nm23-H1 蛋白；2：A549 细胞核蛋白；3：Eppin-His 融合蛋白

图2　纯化的 pET28a-Nm23-H1 融合蛋白的 Western blot 结果

2.3　Nm23-H1 融合蛋白活性分析

根据标准曲线图谱，本实验方法可以在 10 min 之内清晰地分离出4个峰，出峰顺序分别为 UDP、ADP、UTP 以及 ATP。对照组由于未加任何蛋白酶，因此只有 UDP 和 ATP 两个峰。Nm23-H1 可见经酶反应后生成的 ADP 和 UTP 两个小峰，说明 Nm23-H1 融合蛋白具有 NDPK 活性(图3)。

利用同位素标记的方法检测 Nm23-H1 的 AP 修复活性，其实验结果显示：Nm23-H1 融合蛋白不参与反应切下 21 bp 的产物，并且随着加入蛋白量的增加，未见切下的产物量(图4A)，X 线照射的 A549 细胞由于含有 APE1 蛋白，因此其具有 AP 酶活性，且随着 X 线照射剂量的增加而增加，APE1 蛋白本身具有 AP 酶修复活性，同时也可以看见随着 Nm23-H1 融合蛋白的增加，APE1 蛋白的 AP 酶活性是增强的。EMSA 结果显示，APE1 纯化蛋白可以与 AP 酶作用物连接，但 Nm23-H1 融合蛋白未见结合(图4B)以上结果提示：Nm23-H1 融合蛋白缺乏 AP 修复活性，但是可以增强 APE1 蛋白的 AP 修复活性。

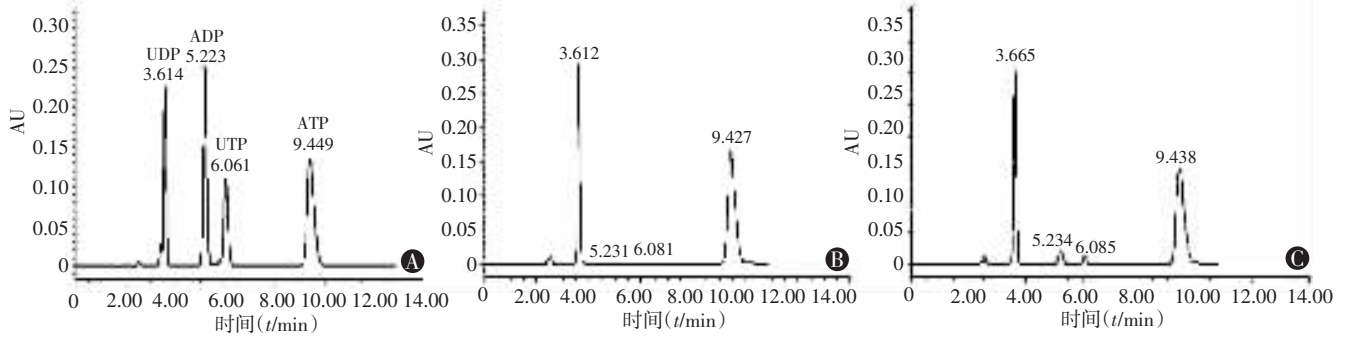


A：同位素标记探针检测 AP 修复活性　1：BSA 阴性对照；2：2 pmol Nm23-H1 融合蛋白；3：4 pmol Nm23-H1 融合蛋白；4：16 Gy 剂量的 X 线照射的 A549 细胞核蛋白阳性对照；5：4 Gy 的 X 线照射的 A549 细胞；6：0 Gy 的 X 线照射的 A549 细胞；7：4 pmol Nm23-H1 蛋白＋1 pmol APE1 蛋白；8：2 pmol Nm23-H1 蛋白＋1 pmol APE1 蛋白；9：1 pmol Nm23-H1 蛋白＋1 pmol APE1 蛋白；10－12：2、3、4 pmol APE1 融合蛋白
B：电泳迁移率变动分析实验　1：4 pmol APE1 纯化蛋白阳性对照；2,3：2、4 pmol Nm23-H1 融合蛋白

图4　纯化的 pET28a-Nm23-H1 融合蛋白 AP 酶修复活性检测结果

3　讨论

Nm23-H1 基因定位于 17q21.3，该位点被认为非常靠近 p53 基因位点，是许多肿瘤形成基因定位及易发生等位基因杂合性缺失的热点区域，全长约 10 kb，中间隔有 4 kb，含有 5 个外显子和 4 个内含子，编码蛋白的相对分子质量分别为 18.5×10^3 和 17×10^3，主要位于细胞质和细胞核，也可见于细胞膜[1,8]。该基因



A：4 种核苷酸混合物在 RP-HPLC 中的标准曲线；B：对照组；C：Nm23-H1 融合蛋白

图3　HPLC 检测纯化的 pET28a-Nm23-H1 融合蛋白 NDPK 酶活性

的全部编码区由 533 个核苷酸组成，编码的蛋白质含有 152 个氨基酸，并含亮氨酸重复序列，α 螺旋和碱性结构域，Nm23-H1 基因产物又称核苷酸二磷酸激酶-A（nucleotide diphosphate kinase，NDPK-A），与肿瘤转移抑制和信号转导更相关，具有酸性等电点，在神经母细胞瘤中，Nm23-H1 的亮氨酸拉链模序与转移潜能增加直接相关[9]。国内外许多实验研究证明，在人类的许多恶性肿瘤中 Nm23-H1 等位基因的缺失与肿瘤转移潜能呈明显负相关，Nm23 基因的肿瘤转移抑制作用主要由 Nm23-H1 发挥的[10]。

NDPK 是一类广泛存在的酶，它通过一种乒乓机制将 5′NTP 的 γ-磷酸基因转移到 5′NDP 上，使蛋白失活。晶体图和生物化学资料表明，细菌的 NDPK 以四聚体形式存在，而从真核生物体中提取的 Nm23-H1/NDPK 则以六聚体形式存在[11]。它被认为至少参与两个在肿瘤和发育上起重要作用的功能，即微管的聚合/解聚和 G 蛋白介导的信号传导。NDPK 可能通过影响细胞骨架而引起细胞运动，从而使 G 蛋白激活。G 蛋白位于细胞膜上，当激素和生长因子与受体结合时，G 蛋白起着传递信号的作用，这一过程需要能量，G 蛋白通过降解 GTP 生成 GDP 产生能量，而NDPK 又使 GDP 还原，因此推知 Nm23-H1 蛋白可能以这种方式来调节大量的 G 蛋白，介导细胞信号传导，进而参与发育和肿瘤的发展。

近几年，关于 Nm 蛋白家族参与 DNA 损伤修复的研究成为热点。目前已知，Nm 蛋白中 Nm23-H2 具有 DNA 损伤修复功能，而由于 Nm23-H1 具有 3′-5′核酸外切酶活性[8,12]，因此也可能参与了 DNA 损伤修复，但现在还没有直接的实验证据支持。脱嘌呤嘧啶内切核酸酶（AP endonuclease，APE1）是具有独特的 DNA 碱基切除修复及对转录因子的氧化还原双功能的分子，是调控 DNA 损伤修复和肿瘤放疗敏感性的关键因子之一。它通过氧化还原依赖或非依赖途径激活转录因子包括 p53、AP-1、NF-κB、HIF、Egr-1、Pax-8 等，调节多种生物学过程如凋亡、增殖和分化以及细胞放疗敏感性[13,14]。同时，APE1 利用其特有的脱嘌呤/脱嘧啶位点（AP 位点）核酸内切酶通过碱基切除修复（BER）对细胞烷化剂和氧化剂引起的 DNA 损伤进行修复。目前国外研究发现 Nm23-H1 与 APE1 共同存在于 SET 复合体中参与多种病理生理过程[15,16]，但是关于 Nm23-H1 与 APE1 之间的调节机制尚少见相关报道。我们实验室近期的研究证实了 Nm23-H1 与 APE1 之间具有重要的相关性，而 APE1 主要通过 AP 酶调节 BER 途径参与 DNA 损伤修复，在肿瘤的放射抵抗方面发挥重要作用，虽然本实验中 Nm23-H1 没有显示具有 AP 酶修复活性，但 Nm23-H1 可以部分增加 APE1 的 AP 酶修复活性，因此，Nm23-H1 有可能通过调节 APE1 间接参与 DNA 损伤修复，从而增强肿瘤细胞对放射的抵抗。因此，Nm23-H1 融合蛋白的合成和纯化为后续进一步探讨其 DNA 损伤修复功能及其参与肿瘤的放疗抵抗作用奠定了物质基础。

参考文献：

[1] Kaetzel D M, McCorkle J R, Novak M, *et al*. Potential contributions of antimutator activity to the metastasis suppressor function of NM23-H1 [J]. Mol Cell Biochem, 2009, 329(1/2): 161 - 165.

[2] Yang M, Jarrett S G, Craven R, *et al*. YNK1, the yeast homolog of human metastasis suppressor NM23, is required for repair of UV radiation- and etoposide-induced DNA damage[J]. Mutat Res, 2009, 660(1/2): 74 - 78.

[3] 杨雪琴，范羽，陈军，等. 野生型和突变型 nm23-H1 基因原核表达载体的构建、表达及纯化[J]. 中国肺癌杂志，2009，12(1)：23 - 27.

[4] 戴楠，王东，李梦侠，等. 人脱嘌呤脱嘧啶核酸内切酶 hAPE1 融合蛋白的构建、纯化及其功能的初步研究[J]. 第三军医大学学报，2009，31(12)：1123 - 1126.

[5] 杨雪琴，马力，朱大兴，等. 突变型 nm23-H1 基因的磷酸化活性研究[J]. 中国肺癌杂志，2009，12(3)：193 - 197.

[6] Wong H K, Muftuoglu M, Beck G, *et al*. Cockayne syndrome B protein stimulates apurinic endonuclease 1 activity and protects against agents that introduce base excision repair intermediates[J]. Nucleic Acids Res, 2007, 35(12): 4103 - 4113.

[7] Fan Z, Beresford P J, Zhang D, *et al*. Cleaving the oxidative repair protein Ape1 enhances cell death mediated by granzyme A[J]. Nat Immunol, 2003, 4(2): 145 - 153.

[8] Kaetzel D M, Zhang Q, Yang M, *et al*. Potential roles of 3′ - 5′ exonuclease activity of NM23-H1 in DNA repair and malignant progression [J]. J Bioenerg Biomembr, 2006, 38(3/4): 163 - 167.

[9] Kaul R, Verma S C, Murakami M, *et al*. Epstein-Barr virus protein can upregulate cyclo-oxygenase-2 expression through association with the suppressor of metastasis Nm23-H1 [J]. J Virol, 2006, 80 (3): 1321 - 1331.

[10] 许建平，谢青，张哉根，等. 肿瘤转移相关基因 mts1 及 nm23-H1 在肺癌中的表达及其与淋巴结转移的关系[J]. 第三军医大学学报，2005，27(7)：655 - 657

[11] Postel E H. Multiple biochemical activities of Nm23/NDP kinase in gene regulation[J]. J Bioenerg Biomembr, 2003, 35(1): 31 - 40.

[12] Ma D, McCorkle J R, Kaetzel D M. The metastasis suppressor NM23-H1 possesses 3′ - 5′ exonuclease activity[J]. J Biol Chem, 2004, 279(17): 18073 - 18084.

[13] Luo M, Delaplane S, Jiang A, *et al*. Role of the multifunctional DNA repair and redox signaling protein Ape1/Ref-1 in cancer and endothelial cells: small-molecule inhibition of the redox function of Ape1 [J]. Antioxid Redox Signal, 2008, 10(11): 1853 - 1867.

[14] Xiang D B, Chen Z T, Wang D, *et al*. Chimeric adenoviral vector Ad5/F35-mediated APE1 siRNA enhances sensitivity of human colorectal cancer cells to radiotherapy *in vitro* and *in vivo*[J]. Cancer Gene Ther, 2008, 15(10): 625 - 635.

[15] Fan Z, Beresford P J, Oh D Y, *et al*. Tumor suppressor NM23-H1 is a granzyme A-activated DNase during CTL-mediated apoptosis, and the nucleosome assembly protein SET is its inhibitor[J]. Cell, 2003, 112(5): 659 - 672.

[16] Chowdhury D, Beresford P J, Zhu P, *et al*. The exonuclease TREX1 is in the SET complex and acts in concert with NM23-H1 to degrade DNA during granzyme A-mediated cell death[J]. Mol Cell, 2006, 23(1): 133 - 142.

（收稿 2010-03-12 修回 2010-04-08）
（编辑 栾 嘉）