DOI:10.16016/j.1000-5404.201506128

# PNKP 沉默对骨肉瘤放疗的增敏作用

周 斌,李宏维,史继德,王 颢,张海鸿 (730000 兰州,兰州大学第二医院骨三科)

[摘要] **目的** 研究多聚核苷酸激酶/磷酸酶(polynucleotide kinase/phosphatase, PNKP)在放疗诱导的细胞 DNA 损伤、细胞凋亡、细胞增殖和细胞周期中的调节作用。**方法** 将 U2OS 细胞系分为 3 组:骨肉瘤细胞对照组、阴性 siRNA 转染组(siC)和 PNKP siRNA 转染组(siPNKP)。Western blot 检测 0、1、2、4、6、8 Gy 6 个剂量水平 γ-射线照射后 U2OS 细胞中 PNKP 的变化,CCK-8 分析不同剂量 γ-射线照射后细胞的存活率,彗星实验检测辐射后骨肉瘤细胞 DNA 的损伤,MTT 法检测辐射后细胞增殖情况,流式细胞仪分析辐射后细胞凋亡、线粒体膜电位和细胞周期的变化。**结果** 4 Gy 剂量的 γ-射线可以显著降低骨肉瘤细胞 U2OS 中 PNKP 的表达(55.17%,$P<0.01$)和细胞的存活能力(与对照组相比下降 50.16%,$P<0.01$)。与单独辐射组(siC+IR)对比,PNKP 沉默可以抑制辐照后细胞的生长(抑制率增加到 129.61%,$P<0.01$),增加 DNA 的损伤(DNA 迁移量增加 58.94%,$P<0.01$),使细胞周期停滞在 S 期,促进细胞凋亡以及降低线粒体膜电位水平。**结论** PNKP 沉默可以增加骨肉瘤细胞放射治疗的敏感性。

[关键词] 多聚核苷酸激酶/磷酸酶;骨肉瘤;放疗敏感性
[中图法分类号] R345.57;R730.55;R738.1 [文献标志码] A

# PNKP silencing increases radiosensitivity of osteosarcoma cells *in vitro*

Zhou Bin, Li Hongwei, Shi Jide, Wang Hao, Zhang Haihong (Third Department of Orthopaedics, Second Hospital, Lanzhou University, Lanzhou, Gansu Province, 730000, China)

[**Abstract**] **Objective** To investigate the impact of polynucleotide kinase/phosphatase (PNKP) silencing on radiation-induced DNA damage, apoptosis, cell proliferation and cell cycle in osteosarcoma cells. **Methods** U2OS cells were divided into control (Ctrl) group, negative siRNA (siC) group and siPNKP group. After different doses (0, 1, 2, 4, 6 and 8 Gy) of γ-ray irradiation, the changes of PNKP level and cell survival rate were determined using Western blotting and CCK-8 assay. After irradiation at the best dose, DNA damage and cell proliferation were evaluated by Comet assay and MTT assay, respectively. Apoptosis, mitochondrial membrane potential and cell cycle were analyzed by flow cytometry. **Results** Irradiation of 4-Gy γ-rays to osteosarcoma cells significantly reduced PNKP expression (55.17%, $P<0.01$) and cell viability (50.16%, $P<0.01$) compared with the Ctrl group. PNKP silencing inhibited the cell growth (inhibitory rate reached to 129.61%, $P<0.01$) and increased DNA damage (DNA migration amount increased by 58.94%, $P<0.01$) after irradiation. It also could arrest the cell cycle in S phase, accelerate apoptosis and reduce mitochondrial membrane potential as compared with the siCtrl + IR group. **Conclusion** PNKP silencing increases osteosarcoma cell sensitivity to radiation therapy.

[**Key words**] polynucleotide kinase/phosphatase; osteosarcoma; radiosensitivity

Supported by the Natural Science Research Foundation (1208RJZA272) and the Creative Research Groups Plan (2013GS10047) of Gansu Provincial Department Science and Technology. Corresponding author: Zhang Haihong, E-mail: jingangan11@163.com

[基金项目] 甘肃省科技厅自然科学研究基金计划(1208RJZA272);甘肃省科技厅创新研究群体计划(2013GS10047)
[通信作者] 张海鸿,E-mail:jingangan11@163.com
[优先出版] http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20151203.1310.005.html(2015-12-03)

骨肉瘤是最常见的原发性恶性骨肿瘤,常发生于儿童和青少年皮肤、皮下、骨膜及长骨两端。在原发性骨肿瘤中,骨肉瘤发病率居第2位,仅次于浆细胞骨髓瘤。骨肉瘤的发病特点是瘤细胞直接形成骨样组织,故也称为成骨肉瘤。目前,手术、多种药物联合化疗和放疗是主要的治疗策略,然而,骨肉瘤很容易复发和肺转移,进而导致高死亡率和不良预后。因此,在治疗骨肉瘤方面,需要寻找新途径进一步提高其治愈率。一般情况下,骨肉瘤细胞有抗辐射性,在治疗原发性骨肉瘤的过程中,放疗受到了很大的限制[1]。因此,开发放射增敏新靶点及新药物以提高放射治疗的抗肿瘤疗效是目前研究亟待解决的问题。多聚核苷酸激酶/磷酸酶(polynucleotide kinase/phosphatase, PNKP)是一个相对分子质量为 $57\times10^3$ 的双功能 DNA 末端修复酶,其同时具有5′-激酶和3′-磷酸酶的活性,可以催化修复5′-P和3′-OH末端,在DNA损伤修复中有重要的作用[2-3]。放射治疗可非特异性地引起肿瘤细胞的DNA损伤[4-5],而PNKP的DNA损伤修复作用则会在一定程度上起到抗肿瘤杀伤的作用,其功能增强会使肿瘤细胞对放疗产生抗性,降低放疗效果。本研究主要探讨在骨肉瘤的放射治疗中,PNKP siRNA沉默对电离辐射引起的DNA损伤修复、细胞凋亡、线粒体膜电位、细胞增殖及细胞周期的调节作用,探讨其表达抑制对骨肉瘤放疗敏感性的影响,以期为探寻恶性肿瘤治疗的新靶点提供实验依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 主要试剂及材料

人骨肉瘤细胞株U2OS购自中国协和医科大学基础医学研究所细胞中心,胎牛血清(美国Gibco公司),DMEM培养基、反转录试剂盒(日本TaKaRa公司),DNA/RNA/蛋白质共提取试剂盒(美国Omega公司),Lipofectamine® 2000(美国Life Technologies公司),Anti-PNK抗体(英国Abcam公司),CCK-8试剂盒、Annexin V-FITC/PI细胞凋亡检测试剂盒(中国YEASEN公司),MTT试剂盒、线粒体膜电位检测试剂盒(JC-1,中国碧云天),彗星实验试剂盒(美国Trevigen公司)。

### 1.2 细胞培养及不同剂量γ-射线辐照

取预先经过复苏、培养和冻存的人骨肉瘤细胞U2OS培养在含10%胎牛血清(fetal calf serum,FCS)和双抗(100 U/mL青霉素和100 μg/mL链霉素)的培养基(Dulbecco's modified Eagle's medium,DMEM)中,置于37 ℃、5% $CO_2$ 的培养箱中培养。将上述细胞分别接种于6个直径为60 mm的培养皿中,采用 $^{60}$Co-γ 辐射源对其分别进行6个剂量水平(0、1、2、4、6、8 Gy)的室温辐射,每天1次,每次30 min,持续7 d。照射结束后,Western blot检测细胞中PNKP的表达。

### 1.3 PNKP siRNA转染人骨肉瘤U2OS细胞

质粒转染前,细胞分为3组:骨肉瘤细胞U2OS对照组(Ctrl),阴性siRNA转染骨肉瘤细胞组(siC)和PNKP siRNA转染骨肉瘤细胞组(siPNKP)。将siPNKP组以Lipofectamine® 2000介导转染PNKP siRNA(5′-GGACUCAAGUGGAACUGGUdTdT-3′),转染20~24 h后收集细胞。以上述方法将control siRNA转染入骨肉瘤U2OS细胞中,作为阴性对照。

### 1.4 RT-PCR检测细胞中PNKP的表达

采用DNA/RNA/蛋白质共提取试剂盒,从3组细胞中分别提取总RNA和总蛋白。取3 μL总RNA测浓度以及纯度,并用反转录试剂盒(M-MLV)检测转染后PNKP mRNA的表达量,选用GAPDH基因为内参。引物采用Primer 6.0软件设计并由Invitrogen公司合成。PNKP(Homo sapiens)NCBI参考序列:NM_007254.3,上游引物5′-AAGAAGCGTATGCGGAAG-3′,下游引物5′-CTCATCTGGTTGGTGAAGA-3′,产物长度254 bp,退火温度50.3 ℃。

### 1.5 Western blot检测细胞中PNKP的表达

总蛋白采用Western blot技术检测转染后PNKP蛋白水平的表达。转染后,细胞中加入M-PER裂解液提取总蛋白,将定量后的总蛋白用10% SDS-PAGE分离,NC膜进行转膜,3% BSA封闭45 min,孵育一抗(Anti-PNK antibody,1∶1 000)4 ℃过夜或者37 ℃ 4 h,TBST洗3次,3 min/次,孵育山羊抗兔辣根过氧化物酶标记的二抗(1∶10 000)1 h,TBST洗3次,3 min/次,ECL发光。采用Bio-Rad凝胶成像系统及Quantity One 4.62进行条带的记录及定量。

### 1.6 不同剂量γ-射线照射后细胞存活

转染结束后,采用$^{60}$Co-γ辐射源对对照组、siC组和siPNKP组分别进行6个剂量水平(0、1、2、4、6、8 Gy)γ-射线照射,每天1次,每次30 min,持续7 d。在辐射停止后的2~3 d,采用CCK-8试剂盒,依照说明书检测细胞存活情况,每个样品重复3次,结果取均值。

### 1.7 MTT法检测细胞增殖

将细胞配制成单细胞悬液,以每孔 $1\times10^4$ 细胞接种于96孔板上,严格按照MTT试剂盒说明书进行操作,在570 nm处读取各孔的光密度值[$D$(570)],空白孔(只加培养液)调零,每组重复3次,结果取均值,光学显微镜下观察细胞生长抑制情况。

细胞生长抑制率=[1-实验组$D$(570)值/对照组$D$(570)值]×100%。

1.8 *彗星实验检测 DNA 损伤修复作用*

将重悬后的细胞加入 20 μL 于第 2 层凝胶中,依照彗星实验试剂盒进行操作,25 V 电压电泳 15 min,SYBR 绿避光染色 10 min,荧光显微镜 550 nm 处拍照,每组选取 100 个细胞,采用 CASP 软件(Wroclaw University, Poland)测量彗星 DNA 迁移量、迁移距离作为 DNA 损伤修复的指标。

1.9 *流式细胞仪检测细胞周期*

将各组细胞制成悬液,用 PBS 洗 3 次,1 000 r/min 离心收集细胞,用预冷的 PBS 洗 2 次,再加入预冷 70% 乙醇,4 ℃下静置 2 h。1 000 r/min 离心弃去上清,PBS 洗细胞 1 次,加入 500 μL PBS(其中含 50 μg/mL 碘化丙锭 PI,100 μg/mL RNase A),4 ℃避光孵育 20 min。用流式细胞仪在 488 nm 处检测荧光强度,计数 $8\times10^3$ 细胞,结果用 WinMDI Version 2.9 软件分析。

1.10 *流式细胞仪检测细胞凋亡和线粒体膜电位*

按照 Annexin V-FITC/PI 细胞凋亡检测试剂盒的说明书进行细胞凋亡的检测,流式细胞仪在 488 nm 处检测荧光信号。线粒体膜电位的检测,细胞用 PBS 洗 2 次,采用 JC-1 法检测骨肉瘤细胞线粒体膜电位,流式细胞仪检测荧光强度。实验重复 3 次,结果用 CELLQuest 软件获取和分析数据。

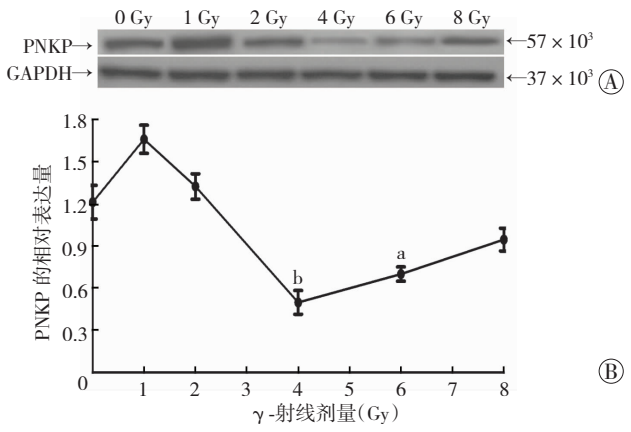
1.11 *统计学分析*

数据用 $\bar{x}\pm s$ 表示,采用 SPSS 13.0 进行单因素方差分析,LSD 多重比较进行各组间两两比较。

## 2 结果

2.1 *不同剂量 γ-射线对 U2OS 细胞中 PNKP 表达的影响*

Western blot 结果显示,当 γ-射线剂量为 4 Gy 时,U2OS 细胞中 PNKP 的表达水平最低(图 1)。

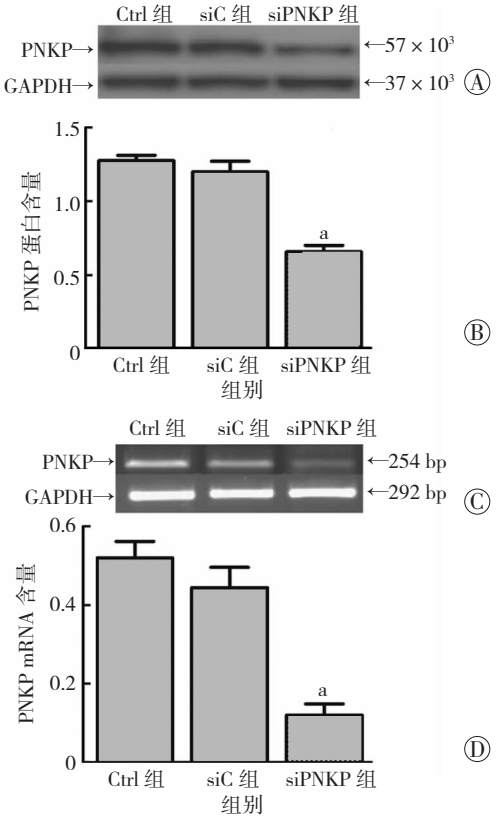



A:电离辐射影响 PNKP 表达的 Western blot 检测结果;B:半定量分析结果 a:$P<0.05$,b:$P<0.01$,与 0 Gy 比较

**图 1 不同剂量射线对 U2OS 细胞中 PNKP 表达的影响**

2.2 *PNKP siRNA 转染后人骨肉瘤 U2OS 细胞中 PNKP 的表达*

PNKP siRNA 转染人骨肉瘤细胞 U2OS 后,相较于对照组和 siC 组,siPNKP 组 PNKP 的表达在蛋白水平(图 2A、B)和 mRNA 水平(图 2C、D)都显著降低($P<0.01$)。



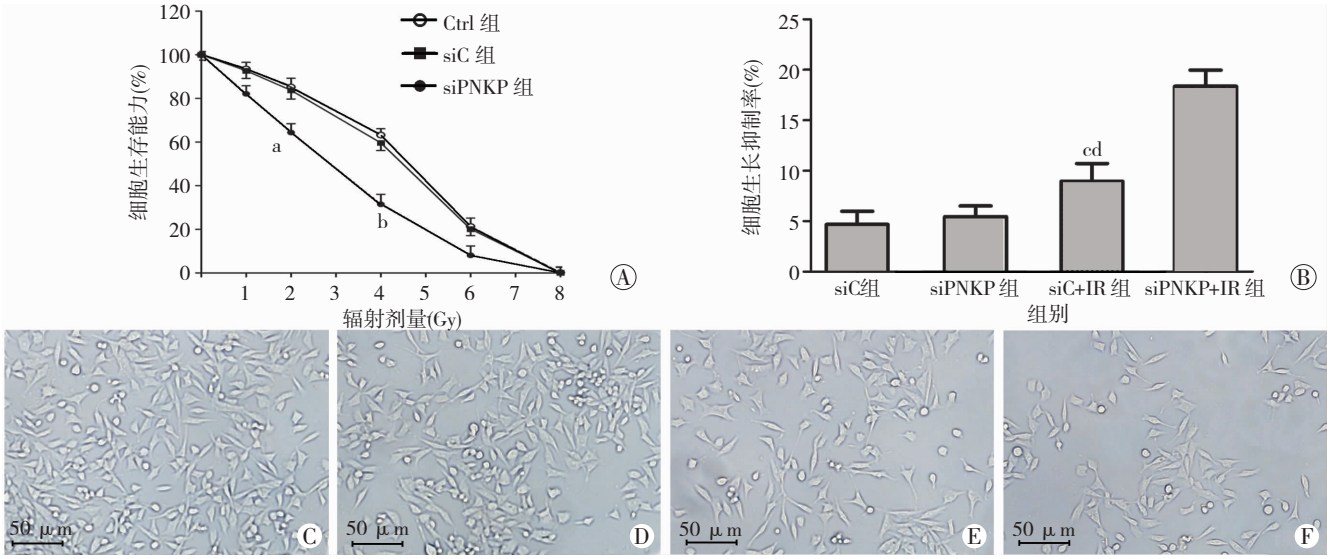

A、B:PNKP 沉默后蛋白水平检测及半定量分析结果;C、D:PNKP 沉默后核酸水平检测及半定量分析结果

a:$P<0.01$,与对照组及 siC 组比较

**图 2 PNKP 在人骨肉瘤 U2OS 细胞中的表达**

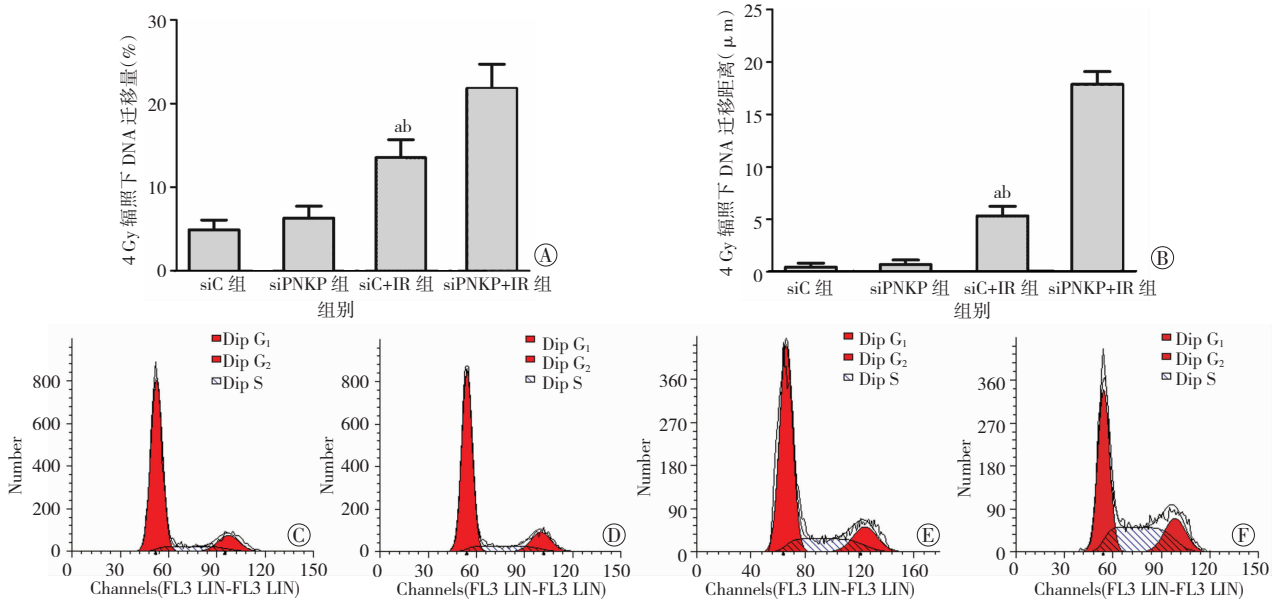
2.3 *不同强度射线对 PNKP 转染后 U2OS 细胞存活及最佳剂量对细胞增殖的影响*

当 PNKP 沉默后,γ-射线辐射对骨肉瘤细胞的杀伤力增强,并且当剂量为 2 Gy 和 4 Gy 时,骨肉瘤细胞的存活率显著下降($P<0.01$,图 3A)。选择 4 Gy 为最适照射剂量,对 siC 组和 siPNKP 组细胞进行 4 Gy 剂量的 γ-射线照射,每天 1 次,每次 30 min,持续 7 d。MTT 检测未照射组(siC 组和 siPNKP 组)和照射组(siC + IR 组和 siPNKP + IR 组)细胞增殖情况。结果表明,单独 4 Gy 剂量的辐照对骨肉瘤细胞生长有抑制作用($P<0.05$)。但是,与 siC + IR 组相比,siPNKP + IR 组骨肉瘤细胞的生长有极显著的抑制现象($P<0.01$,图 3B ~ F)。




A:CCK-8 检测细胞存活率;a: $P<0.05$,b: $P<0.01$,与对照组及 siC 组比较;B:MTT 法检测细胞生长抑制率;c: $P<0.05$,d: $P<0.01$,与 siC 组及 siPNKP+IR 组比较;C~F:显微镜下观察电离辐射对 U2OS 细胞生长的影响

**图 3　不同剂量 γ-射线照射后细胞存活率及最佳剂量辐照后细胞生长抑制率**




A、B:彗星实验检测电离辐射对 DNA 损伤后迁移量和迁移距离的影响;C~F:流式细胞仪检测电离辐射对各组细胞周期的影响(C:siC 组;D:siPNKP 组;E:siC+IR 组;F:siPNKP+IR 组)　a: $P<0.05$, b: $P<0.01$,与 siC 组及 siPNKP+IR 组比较

**图 4　PNKP 沉默对放疗诱导的 DNA 损伤修复和细胞周期的影响**

### 2.4　PNKP 沉默对放疗诱导的 U2OS 细胞 DNA 损伤修复和细胞周期的影响

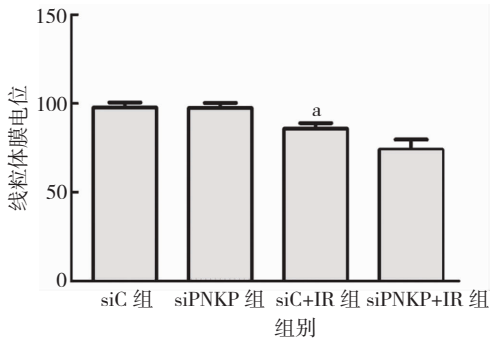
与 siC 组相比,siC+IR 组 DNA 迁移量和迁移距离显著增加($P<0.05$)。siPNKP+IR 组比 siC+IR 组 DNA 迁移量和迁移距离显著增加($P<0.01$,图 4A、B)。如图 4C~F 所示,与 siC 组相比,siC+IR 组细胞处于 $G_0/G_1$ 期的数量减少($P<0.05$),处于S 期的细胞增加($P<0.05$),$G_2$/M 期的细胞数量基本保持不变。而与 siC+IR 组相比,siPNKP+IR 组 $G_0/G_1$ 期的细胞数量显著减少($P<0.01$),S 期的细胞数量显著增加($P<0.01$)。

### 2.5　PNKP 沉默对放疗诱导的 U2OS 细胞线粒体膜电位和细胞凋亡的影响

线粒体膜电位的下降是细胞凋亡早期的一个标志性事件。如图 5 所示,采用 JC-1 法检测骨肉瘤细胞线粒体膜电位,流式细胞仪检测荧光强度, 与 siC 组相比,siC+IR 组线粒体膜电位显著下降($P<0.05$)。然而,与 siC+IR 组相比,siPNKP+IR 组线粒体膜电位也

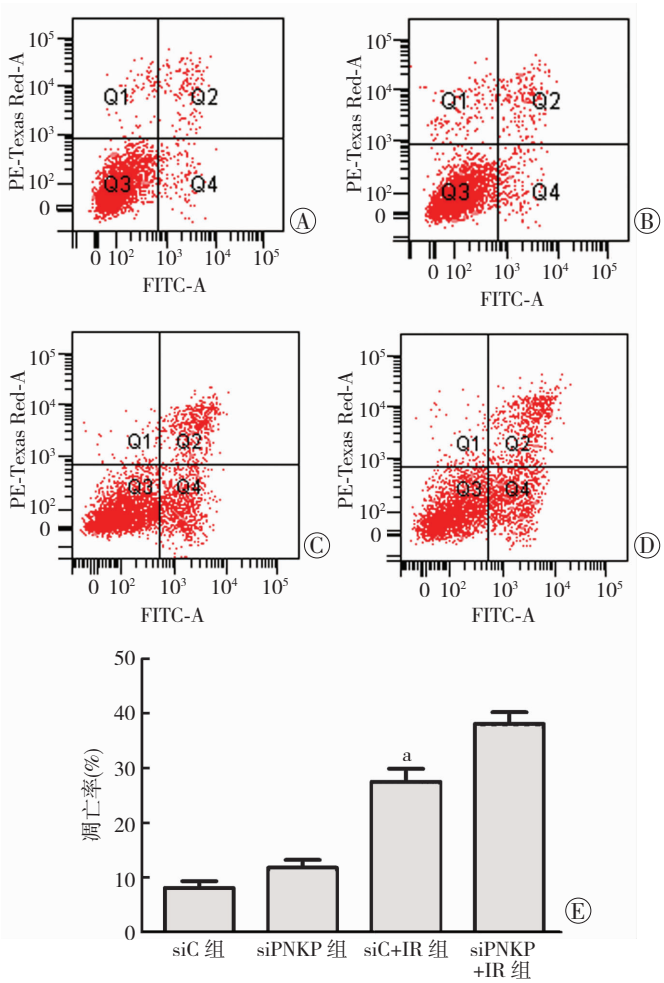
有显著下降的趋势($P<0.05$)。

本实验采用 Annexin V-FITC/PI 双染色法检测放射诱导细胞凋亡,结果表明,与 siC 组相比,siC + IR 组细胞凋亡率有显著的增加($P<0.01$)。另外,与 siC + IR 组相比,siPNKP + IR 组细胞凋亡明显($P<0.01$,图 6)。




a: $P<0.05$, 与 siC 组及 siPNKP + IR 组比较

**图 5 PNKP 沉默对放疗诱导的线粒体膜电位的影响**




A ~ D:流式细胞仪检测细胞凋亡(A:siC 组;B:siPNKP 组;C:siC + IR 组;D:siPNKP + IR 组);E:各组细胞凋亡率检测结果 a: $P<0.01$, 与 siC 组及 siPNKP + IR 组比较

**图 6 PNKP 沉默对放疗诱导的细胞凋亡的影响**

## 3 讨论

骨肉瘤源于成骨间充质细胞,是发生率较高的原发性骨恶性肿瘤。目前,由于放疗疗效和耐受性的不确定性,其在骨肉瘤的治疗方面一直饱受争议。Schwarz 等[6]调查 1980 – 2007 年患骨肉瘤的患者,发现仅有 5% 的患者接受放射治疗,并在经过放射治疗后,患者的 5 年存活率仅为 55%,而局部复发率达 15%。目前放疗仅对不能手术切除的肿瘤进行局部治疗,或者是缓解骨肿瘤转移的痛苦。因此,关于放射增敏剂的抗肿瘤疗效以及骨肉瘤放疗剂量的把控,都是在临床应用中急需解决的问题[7-8]。

PNKP 是一种 DNA 末端修复酶,在 DNA 损伤修复中起重要作用[9]。近年来已经有大量的研究证明,PNKP 在 DNA 氧化损伤中有重要的作用,在人类细胞中,一个稳定的 PNKP 的短发夹 RNA 基因沉默,可以提高细胞对过氧化氢和电离辐射的敏感性[10]。此外,一项临床研究发现 PNKP 突变引起的 DNA 损伤修复缺陷导致发育异常和神经退行性疾病,如头小畸形、癫痫、发育迟缓,而这些患者对射线或 DNA 损伤药物则高度敏感[11]。本研究也得到类似的结果,在人骨肉瘤细胞中,PNKP 沉默可以增加放疗诱导的 DNA 损伤,其机制可能与骨肉瘤细胞 S 期的阻滞有关。有研究表明,PNKP 修复 DNA 损伤的分子机制可能与 ATM 的激活有关,蛋白激酶 ATM 在 DNA 损伤应答中起中枢作用,因此 PNKP 可能与 ATM 存在某种调节反馈有关。电离辐射诱导的 DNA 损伤可以激活 ATM,活化的 ATM 磷酸化 PNKP 的丝氨酸 114 和 126 位点,增加 DNA 双链损伤的累积[12-13]。还有研究表明,ATM 可以阻滞 DNA 的复制[14]。而根据 Parsons 等[15]的研究,ATM 缺乏可导致 PNKP 含量的显著增加。因此,我们推断 PNKP 下调可以导致 DNA 复制的滞后,从而阻滞细胞周期 S 期。这与本实验结果一致,PNKP 沉默导致骨肉瘤细胞 S 期阻滞。总体来讲,PNKP 沉默可以提高放疗的敏感性,与骨肉瘤细胞 S 期的阻滞有密切关系。

近年来研究表明,在脊髓小脑型共济失调Ⅲ型病人的脑细胞中,突变的 ATXN3 可以导致 PNKP 失活进而引发细胞凋亡,其机制与 p53 信号通路的功能下降有关[2]。在本课题研究骨肉瘤放射增敏时也检测到相似的结果,PNKP 沉默可以增加放射诱导的细胞凋亡率,并且降低线粒体膜电位水平。线粒体膜电位的

降低是细胞凋亡早期的一个标志,因此 PNKP 沉默导致辐射诱导的细胞凋亡的增加与线粒体膜通透性的改变有密切的关系。

综上所述,PNKP 沉默可以有效提高骨肉瘤细胞的放疗敏感性,主要表现在降低放疗诱导的骨肉瘤细胞的生存能力、促进 DNA 损伤、加速细胞凋亡的进程、抑制细胞生长并使细胞停滞在 S 期。因此,在骨肉瘤的放射治疗中,PNKP siRNA 可以认为是一个潜在的放射增敏剂和治疗靶点。本研究着重在细胞水平上探讨了 PNKP 沉默对放疗的增敏作用,然而放射线对 PNKP 表达的调节作用以及 PNKP 在 DNA 损伤修复过程中的分子机制尚不清楚。另外,本文对 PNKP 的功能探讨基于体外实验,而对于 PNKP 在骨肉瘤患者中癌组织中的表达及其与化疗敏感性的关系尚缺乏可靠的临床数据。因此,本课题组在进一步的研究中将围绕 PNKP 在化疗敏感性中的作用,探讨 PNKP 与蛋白激酶 ATM 等相互作用在化疗引起的 DNA 双链断裂修复中的作用及其基因甲基化和 PNKP 泛素化修饰对放疗敏感性的调控作用。另外,进一步的动物实验和临床研究将为 PNKP 在化疗中的作用提供可靠支持。

**参考文献:**


[1] Ando K, Heymann M F, Stresing V, *et al*. Current therapeutic strategies and novel approaches in osteosarcoma[J]. Cancers (Basel), 2013, 5(2): 591 – 616. DOI:10.3390/cancers5020591

[2] Gao R, Liu Y, Silva-Fernandes A, *et al*. Inactivation of PNKP by mutant ATXN3 triggers apoptosis by activating the DNA damage-response pathway in SCA3[J]. PLoS Genet, 2015, 11(1): e1004834. DOI: 10.1371/journal.pgen.1004834

[3] Xu Y, Her C. Inhibition of Topoisomerase (DNA) I (TOP1): DNA Damage Repair and Anticancer Therapy[J]. Biomolecules, 2015, 5(3): 1652 – 1670. DOI:10.3390/biom5031652

[4] 李梦侠, 王东, 向德兵, 等. 电离辐射诱导骨肉瘤细胞 DNA 损伤修复蛋白 APE1 线粒体定位研究[J]. 第三军医大学学报, 2007, 29(15): 1458 – 1461.

[5] 王东, 张沁宏, 仲召阳, 等. 骨肉瘤 DNA 损伤修复相关基因表达与预后的关系[J]. 第三军医大学学报, 2005, 27(13): 1370 – 1373.

[6] Schwarz R, Bruland O, Cassoni A, *et al*. The role of radiotherapy in oseosarcoma[J]. Cancer Treat Res, 2009, 152: 147 – 164. DOI:10.1007/978-1-4419-0284-9_7

[7] Blattmann C, Oertel S, Schulz-Ertner D, *et al*. Non-randomized therapy trial to determine the safety and efficacy of heavy ion radiotherapy in patients with non-resectable osteosarcoma[J]. BMC Cancer, 2010, 10: 96. DOI: 10.1186/1471-2407-10-96

[8] Kamada T, Tsujii H, Tsuji H, *et al*. Efficacy and safety of carbon ion radiotherapy in bone and soft tissue sarcomas[J]. J Clin Oncol, 2002, 20(22): 4466 – 4471.

[9] 逄璐, 孙广毅, 张志慧, 等. PNKP 在 DNA 损伤修复中的作用[J]. 生命的化学, 2014, 34(6): 787 – 792.

[10] Rasouli-Nia A, Karimi-Busheri F, Weinfeld M. Stable down-regulation of human polynucleotide kinase enhances spontaneous mutation frequency and sensitizes cells to genotoxic agents[J]. P Proc Natl Acad Sci U S A, 2004, 101(18): 6905 – 6910. DOI:10.1073/pnas.0400099101

[11] Shen J, Gilmore E C, Marshall C A, *et al*. Mutations in PNKP cause microcephaly, seizures and defects in DNA repair[J]. Nat Genet, 2010, 42(3): 245 – 249. DOI:10.1038/ng.526

[12] Segal-Raz H, Mass G, Baranes-Bachar K, *et al*. ATM-mediated phosphorylation of polynucleotide kinase/phosphatase is required for effective DNA double-strand break repair[J]. EMBO Rep, 2011, 12(7): 713 – 719. DOI:10.1038/embor.2011.96

[13] Zolner A E, Abdou I, Ye R, *et al*. Phosphorylation of polynucleotide kinase/phosphatase by DNA-dependent protein kinase and ataxia-telangiectasia mutated regulates its association with sites of DNA damage[J]. Nucleic Acids Res, 2011, 39(21): 9224 – 9237. DOI:10.1093/nar/gkr647

[14] Iwahori S, Kohmon D, Kobayashi J, *et al*. ATM regulates Cdt1 stability during the unperturbed S phase to prevent re-replication[J]. Cell Cycle, 2014, 13(3): 471 – 481. DOI:10.4161/cc.27274

[15] Parsons J L, Khoronenkova S V, Dianova I I, *et al*. Phosphorylation of PNKP by ATM prevents its proteasomal degradation and enhances resistance to oxidative stress[J]. Nucleic Acids Res, 2012, 40(22):11404 – 11415. DOI:10.1093/nar/gks909


(**收稿**:2015-07-13;**修回**:2015-08-25)

(编辑 龙 亮)