

DOI:10.16781/j.0258-879x.2016.06.0699

Bloom解旋酶基因RNA干扰载体对前列腺癌PC3细胞的抑制作用

罗霖替^{1,2},许厚强^{2*},刘忠伟^{2,3},段志强²,赵佳福^{1,2},吴萍^{1,2},陈福^{1,2}

1. 贵州大学生命科学学院, 贵阳 550025

2. 贵州大学动物科学学院高原山地动物遗传育种与繁殖教育部重点实验室, 贵阳 550025

3. 贵州大学农学院, 贵阳 550025

[摘要] **目的** 采用RNA干扰(RNAi)技术抑制前列腺癌PC3细胞系中Bloom解旋酶基因的表达,探讨Bloom解旋酶基因表达下调后对PC3细胞的抑制作用。**方法** 使用实验室前期成功构建的两条针对Bloom解旋酶基因的RNAi载体shRNA-1和shRNA-2转染前列腺癌PC3细胞,以未转染RNAi载体为对照组,分别在转染24、48、72 h后通过MTT法检测细胞增殖情况,转染48 h后通过Transwell小室法检验细胞侵袭、迁移能力,细胞划痕实验检测细胞迁移情况,Hoechst/PI双染法检测细胞凋亡情况。**结果** 转染RNAi载体后,与未转染对照组相比,各实验时间点的转染组细胞增殖率降低($P < 0.05$),Transwell细胞侵袭和迁移实验中穿过室膜的细胞数与对照组均减少(侵袭: 119 ± 24 , 118 ± 30 vs 227 ± 38 ; 迁移: 122 ± 13 , 121 ± 47 vs 277 ± 32 , $P < 0.05$),划痕愈合率与划痕迁移距离均降低,48 h时差异有统计学意义($P < 0.05$),而且细胞凋亡明显增加。**结论** 以RNAi载体干扰Bloom解旋酶基因的表达可抑制前列腺癌PC3细胞的增殖、迁移和侵袭能力并促进其凋亡,为前列腺癌的靶向基因治疗提供了依据。

[关键词] RNA干扰;前列腺肿瘤;Bloom解旋酶;细胞增殖;细胞迁移;细胞侵袭;细胞凋亡

[中图分类号] R 737.25 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2016)06-0699-05

Inhibitory effect of Bloom helicase gene targeted RNA interference vector against prostate cancer PC3 cells

LUO Mu-tan^{1,2}, XU Hou-qiang^{2*}, LIU Zhong-wei^{2,3}, DUAN Zhi-qiang², ZHAO Jia-fu^{1,2}, WU Ping^{1,2}, CHEN Fu^{1,2}

1. College of Life Science, Guizhou University, Guiyang 550025, Guizhou, China

2. Key Laboratory of Animal Genetics, Breeding and Production of Ministry of Education in the Plateau Mountain Region, College of Animal Science, Guizhou University, Guiyang 550025, Guizhou, China

3. College of Agriculture, Guizhou University, Guiyang 550025, Guizhou, China

[Abstract] **Objective** To explore the inhibitory effect of down-regulating Bloom helicase gene using RNA interference (RNAi) vectors on prostate cancer PC3 cells. **Methods** The BLM-RNAi vectors constructed previously in our lab were transfected into prostate cancer PC3 cells, and the proliferation ability of PC3 cells was detected with MTT at 24 h, 48 h and 72 h after transfection of recombinant vectors. At 48 h, the invasion and migration ability was detected with Transwell chamber assay, migration distance was examined with cell scratch test, and cell apoptosis was detected with Hoechst/PI. **Results** The proliferation ability of cells after transfection was significantly weaker than that in the blank control group ($P < 0.05$), the number of cells across Transwell membrane after transfection was significantly less than that in the blank control group (invasion ability: 119 ± 24 , 118 ± 30 vs 227 ± 38 , $P < 0.05$; migration ability: 122 ± 13 , 121 ± 47 vs 277 ± 32 , $P < 0.05$), cell scratch test also showed that the wound healig rate and cell migration distance in the experimental group were significantly lower than those in the blank control group ($P < 0.05$), and cell apoptosis in the experimental group was more notable compared with the blank control group. **Conclusion** RNAi vectors targeting Bloom helicase gene can inhibit the proliferation, migration and invasion ability of prostate cancer PC3 cells, and increase the cell apoptosis, which may cast new lights on the gene therapy of prostate cancer.

[Key words] RNA interference; prostatic neoplasms; Bloom helicase; cell proliferation; cell migration; cell invasion; apoptosis

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2016, 37(6): 699-703]

[收稿日期] 2015-12-04 **[接受日期]** 2016-01-20

[基金项目] 国家自然科学基金(31361406),贵州省国际合作项目[黔科合外G字(2011)7008号]. Supported by National Natural Science Foundation of China (31361406) and Guizhou Project of International Cooperation and Exchange (Guizhou kehe G[2011]7008).

[作者简介] 罗霖替,硕士生. E-mail: lmtwby@163.com

* 通信作者 (Corresponding author). Tel: 0851-88292003, E-mail: gzdxxhg@163.com

Bloom 解旋酶是 RecQ 家族中的重要成员,其能够与多种蛋白因子相互作用,影响蛋白因子的功能。据报道 Bloom 解旋酶的低表达可以上调 P53 蛋白的表达^[1],而 P53 是肿瘤抑制基因之一。本课题组前期研究也表明,在多种癌细胞(如胃癌、肺癌、前列腺癌等)中存在 Bloom 解旋酶基因的高表达,由此推断 Bloom 解旋酶的高表达抑制了 P53 蛋白的表达,使其无法诱导细胞凋亡进而导致细胞癌变^[2]。通过体外对 Bloom 解旋酶的药物实验发现,某些药物作用于与 DNA 结合的 Bloom 解旋酶时会抑制酶的活性,从而阻碍 Bloom 解旋酶与 DNA 的结合^[3]。前列腺癌是发病率和病死率较高的男性恶性肿瘤,由于目前对前列腺癌发病的分子机制缺乏准确的理解,致使大多数前列腺癌虽然在早期就可以被诊断出来,但仍找不到有效的靶向分子治疗手段。RNA 干扰(RNA interference, RNAi)是近年逐渐流行起来的一种基因沉默技术,由于其可以特异性剔除或沉默特定靶基因的表达,已被广泛应用于探索基因功能及恶性肿瘤的基因治疗领域^[4-10]。本课题组前期根据小干扰 RNA (small interfering RNA, siRNA) 的设计原则^[11] 成功构建了针对 Bloom 解旋酶基因的 RNAi 载体,并通过荧光定量 PCR 和蛋白质印迹法证实了重组 RNAi 载体能够在 mRNA 和蛋白水平抑制 Bloom 解旋酶的表达^[12]。本实验旨在研究抑制 Bloom 解旋酶基因的表达后前列腺癌 PC3 细胞的增殖、迁移、侵袭及凋亡能力的变化,拟为促进前列腺癌靶向药物的研究奠定基础。

1 材料和方法

1.1 材料与试剂 前列腺癌 PC3 细胞购自中国科学院上海细胞库,由贵州大学动物科学学院高原山地动物遗传育种与繁殖教育部重点实验室传代保存。脂质体购自 Invitrogen 公司, Opti-MEM 购自 Gibco 公司, MTT、多聚甲醛购自北京鼎国昌盛生物技术有限责任公司, Transwell 小室、细胞培养板购自 Corning 公司, 结晶紫、二甲亚砜(DMSO)购自北京索莱宝科技有限公司, Matrigel 胶购自 BD 公司, Hoechst/PI 双染试剂购自巴傲得生物科技有限公司。二氧化碳培养箱购自 Thermo 公司, T1-DH 荧光倒置显微操作系统购自 Nikon 公司, Synergy H1 多功能酶标仪购自 BioTek 公司。实验用水均为 Milli-Q 超纯水系统制成的超纯水。本实验中使用

的干扰载体为前期已构建好的干扰载体;构建重组载体所用的空载体 CMV-copGFP-T2A-Puro-H1-MCS 购自广州辉骏公司,两条具有干扰效率的 shRNA 序列由上海吉玛公司合成。将空载体和 shRNA 经酶切后连接成重组 RNAi 载体。

1.2 重组载体转染 PC3 细胞 将 PC3 细胞按 1×10^5 /孔的密度接种于 24 孔培养板,加入 DMEM/F12 培养液(含 10% 胎牛血清, 100 U/mL 卡那霉素, 100 U/mL 氨苄霉素), 37℃、5% CO₂ 培养至细胞融合度为 80% 左右。使用实验室前期成功构建的两条针对于 Bloom 解旋酶基因的重组 RNAi 载体 shRNA-1 和 shRNA-2 分别转染 PC3 细胞,即为 shRNA-1 组和 shRNA-2 组;以未转染重组 RNAi 载体的 PC3 细胞为未转染对照组。各转染组每孔载体用量为 1.25 μL,脂质体用量为 2 μL,载体和脂质体分别用无血清的 Opti-MEM 稀释。转染 6 h 后更换为含 10% 胎牛血清的无抗生素 DMEM/F12 培养液,转染 24~48 h 后荧光倒置显微镜下观察转染效率。

1.3 MTT 法检测转染后细胞的增殖情况 取处于对数生长期的 PC3 细胞调节密度为 1×10^4 /mL,接种于 96 孔培养板中,每孔 200 μL,每组设 6 个复孔。边缘孔用无菌 PBS 填充,同时设调零孔(调零孔中不含细胞,其他操作与实验组和对照组无异),置于 37℃、5% CO₂ 培养箱中培养。分别在转染后 24、48、72 h 时取出培养板,弃去原培养液,无菌 PBS 洗涤,各孔均加入 180 μL 无血清培养液和 20 μL MTT(5 mg/mL)。继续孵育 4 h 后弃去培养液,每孔加入 DMSO 150 μL,震荡 10 min,用酶标仪检测波长为 490 nm 时光密度(D)值,计算细胞的增殖率。细胞增殖率(%) = $(D_{\text{实验组}} - D_{\text{调零组}}) / (D_{\text{对照组}} - D_{\text{调零组}}) \times 100\%$ 。实验重复 3 次。

1.4 Transwell 小室法检测细胞的侵袭能力 取适用于 24 孔板的 Transwell 小室,在冰上用无血清的 Opti-MEM 将 Matrigel 胶按 1:3 的稀释倍数稀释,以每孔 50 μL 的量包被于 Transwell 小室的上室,37℃ 条件下放置 30 min 使 Matrigel 胶凝固,吸掉残液及未凝固的胶后加入无血清的 Opti-MEM 于 37℃ 平衡 30 min。重组 RNAi 载体转染细胞 48 h 后,胰酶消化细胞,用无血清的培养液调整细胞密度至 5×10^4 /mL。于上室内加入 200 μL 细胞悬液,下室加入 600 μL 含 10% 胎牛血清的培养液,在 37℃、5% CO₂ 的条件下培养 24 h 后取出 Transwell 小室。

PBS 冲洗膜,用无菌棉签擦净上室未穿膜的细胞,4%多聚甲醛固定 20 min,PBS 冲洗数次;0.1%结晶紫染色 20 min,显微镜下计数穿过室膜的细胞。每组设 4 个平行滤膜。

1.5 Transwell 小室法检测细胞的迁移能力 Transwell 小室上室不需要铺 Matrigel 胶,其余操作同 1.4 项,显微镜下计数穿膜细胞。

1.6 细胞划痕实验 取对数生长期的细胞以 5×10^4 /孔的密度接种于 6 孔板,重组 RNAi 载体转染细胞 48 h 后,用 10 μ L 移液枪头在 6 孔板中已贴板底的细胞群中间位置呈“—”字型划痕,分别在 0、24 和 48 h 时在显微镜下测量划痕的宽度,根据公式计算细胞划痕迁移距离:细胞划痕迁移距离=(0 h 划痕宽度—实验时间点划痕宽度)/2。每组细胞设 4 个实验样本,重复 4 次。

1.7 Hoechst/PI 双染法鉴定转染后细胞的凋亡情况 按照试剂盒说明先将每 10 μ L 的 Hoechst33342/PI 用 2 mL 的 Dilution Buffer 稀释(避光)。取出已转染 48 h 的细胞,弃去原培养液,每孔加入 500 μ L 稀释好的 Hoechst33342/PI 双染试剂,放入细胞培养箱中孵育 10 min;弃去染色液,无菌 PBS 冲洗细胞后尽快置于荧光倒置显微镜下观察结果。

1.8 统计学处理 采用 SPSS 19.0 软件进行分析,实验数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间差异比较采用单因素方差分析。检验水准(α)为 0.05。

2 结果

2.1 细胞转染效率 重组 RNAi 载体上带有 GFP 绿色荧光标记,转染进细胞后会发出绿色荧光。转染细胞 24 h 后,在荧光倒置显微镜下观察,发现 shRNA-1 组和 shRNA-2 组细胞均呈现绿色荧光,表明重组 RNAi 载体成功转染细胞(图 1)。

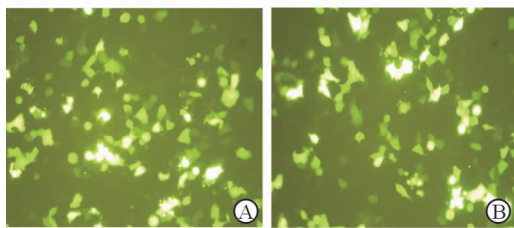


图 1 重组 RNAi 载体转染后细胞发出绿色荧光
Fig 1 PC3 cells transfected with recombinant vectors displaying green fluorescence

A: shRNA-1 group; B: shRNA-2 group. Original magnification: $\times 200$

2.2 细胞增殖情况 采用 MTT 法检测重组 RNAi 载体转染后各组细胞的增殖情况,结果发现转染后不同时间点 shRNA-1 组和 shRNA-2 组的细胞增殖率与对照组相比均降低,差异有统计学意义($P < 0.05$,表 1)。

表 1 转染后各组细胞不同时间点的细胞增殖率
Tab 1 Proliferation of PC3 cells transfected with the recombinant vectors at different time points

Group	%, $n=6, \bar{x} \pm s$		
	24 h	48 h	72 h
Blank control	100 \pm 0	100 \pm 0	100 \pm 0
shRNA-1	75 \pm 2*	77 \pm 3*	76 \pm 12*
shRNA-2	79 \pm 9*	83 \pm 5*	78 \pm 10*

* $P < 0.05$ vs blank control group at the same time

2.3 细胞侵袭能力 采用 Transwell 小室法检测重组 RNAi 载体转染后各组细胞的侵袭能力,通过在显微镜下观察计数后发现 shRNA-1 组的穿膜细胞数为(119 \pm 24)个、shRNA-2 组(118 \pm 30)个,与对照组[(227 \pm 38)个]相比差异均具有统计学意义($P < 0.05$)。结果见图 2。

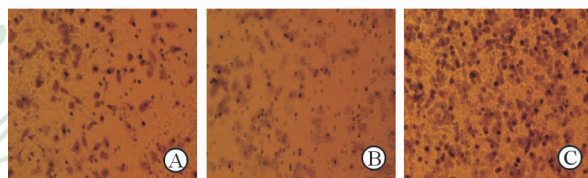


图 2 转染后各组细胞的体外侵袭能力
Fig 2 Invasion ability of cells transfected with recombinant vectors *in vitro* in each group

A: shRNA-1 group; B: shRNA-2 group; C: Blank control group. Original magnification: $\times 200$

2.4 细胞迁移能力 采用 Transwell 小室法检测重组 RNAi 载体转染后各组细胞的迁移能力,通过在显微镜下观察计数显示 shRNA-1 组的穿膜细胞数为(122 \pm 13)个、shRNA-2 组(121 \pm 47)个,均低于对照组(277 \pm 32)个,差异有统计学意义($P < 0.05$)。结果见图 3。

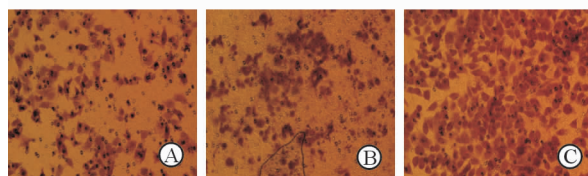


图 3 转染后各组细胞的体外迁移能力
Fig 3 Migration ability of cells transfected with recombinant vectors *in vitro* in each group

A: shRNA-1 group; B: shRNA-2 group; C: Blank control group. Original magnification: $\times 200$

2.5 划痕实验结果 通过细胞划痕实验检测重组 RNAi 载体转染后各组细胞的迁移情况,分别在划痕后第 0、24、48 小时观察各组细胞的划痕迁移距

离,结果显示 shRNA-1 组和 shRNA-2 组细胞的划痕愈合能力均低于对照组,且 48 h 时差异具有统计学意义($P < 0.05$,图 4,表 2)。

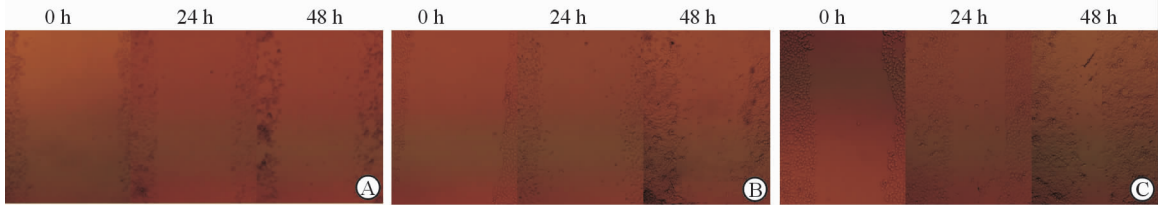


图 4 转染后各组细胞的划痕愈合情况

Fig 4 Wound healing ability of cells transfected with recombinant vectors in each group

A: shRNA-1 group; B: shRNA-2 group; C: Blank control group. Original magnification: $\times 100$

表 2 转染后各组细胞的划痕迁移距离

Tab 2 Migration distance of cells transfected with recombinant vectors in each group

Group	$l/\mu\text{m}, n=4, \bar{x} \pm s$	
	24 h	48 h
shRNA-1	58.0 ± 14.0	$83.0 \pm 14.4^*$
shRNA-2	75.0 ± 25.0	$125.0 \pm 25.0^*$
Blank control	83.0 ± 14.4	167.0 ± 38.0

* $P < 0.05$ vs blank control group at the same time

2.6 细胞凋亡情况 Hoechst/PI 双染后在荧光显微镜下观察重组 RNAi 载体转染后各组细胞的凋亡情况,结果发现 shRNA-1 组和 shRNA-2 组细胞呈现明显的亮蓝色,有核质固缩、形态萎缩等现象,与对照组相比细胞凋亡情况明显增加(图 5)。

致细胞衰老凋亡;而在癌细胞中 Bloom 解旋酶能够通过扰乱端粒的 T 环结构来辅助端粒复制^[15],从而维持端粒稳定,导致癌细胞的永生化。考虑到 Bloom 解旋酶在核酸代谢和稳定遗传中的作用,以 Bloom 解旋酶为靶标设计抗癌药物已成为一个新途径。

目前国内外对于前列腺癌的治疗以根治性手术为主要治疗手段,结合化疗、放疗、激素等方法。但前列腺癌早期无明显症状,一旦发现多已属于晚期,导致很多患者失去根治性手术的机会,故生存率不高^[16]。寻找与前列腺癌发生、发展相关的蛋白并进行靶向治疗是目前前列腺癌研究的热点^[17]。因此,基因治疗或生物学治疗作为新型的肿瘤治疗手段正日益受到重视^[18]。

癌细胞具有侵袭转移、生长过快及不易杀死等特点,在细胞癌变过程中难以有效控制,它是肿瘤细胞与宿主细胞之间一系列复杂多因素、多环节相互作用的结果^[19]。解决癌细胞易转移扩散等难题是前列腺癌基因治疗的关键核心,同时对肿瘤组织进行特异性靶向杀伤而不损伤机体的正常组织也是肿瘤治疗的理想目标^[20]。RNAi 技术是研究基因功能和抑制基因表达的有效方法,适用于研究和抑制肿瘤细胞中异常基因或蛋白质的表达^[21],而对其他基因无害,可为肿瘤的治疗提供靶点。该技术目前已广泛地应用于肿瘤的诊断^[22]、特异性治疗药物的开发合成^[23]及基因治疗^[21]中。

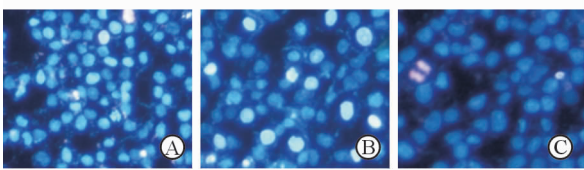


图 5 转染后各组细胞的凋亡情况

Fig 5 Cells apoptosis after transfected with recombinant vectors in each group

A: shRNA-1 group; B: shRNA-2 group; C: Blank control group. Original magnification: $\times 200$

3 讨论

Bloom 解旋酶在 DNA 代谢和维持染色体稳定等方面具有重要作用^[13]。端粒酶是端粒 DNA 重复序列延伸过程中的关键酶,端粒中的串联重复序列能够与多种蛋白结合形成特殊的 T 环结构^[14]。在正常细胞中随着细胞分裂的进行端粒逐渐变短,导

本研究结合 Bloom 解旋酶可以作为特异性分子靶标的研究报道^[24]及本课题组前期的研究结果,利用针对于人类 Bloom 解旋酶基因的 RNAi 载体,在体外将其转染进入前列腺癌 PC3 细胞中,通过 MTT 法、Transwell 小室法、划痕实验及

Hoechst/PI双染实验发现,设计合成的RNAi载体靶向抑制了PC3细胞中Bloom解旋酶基因的表达,有效阻碍了癌细胞的增殖、迁移、侵袭并促进其凋亡。上述结果表明RNAi技术或许能解决由于癌细胞生长过快、不易调控、难以杀死等特点造成的传统癌症治疗手段术后易复发且难以根治的难题,为抗前列腺癌靶向药物的开发研究及基因治疗提供有力依据。

[参考文献]

- [1] KANEKO H, FUKAO T, KASAHARA K, YAMADA T, KONDO N. Augmented cell death with Bloom syndrome helicase deficiency[J]. *Mol Med Rep*, 2011, 4: 607-609.
- [2] 孟惠惠,许厚强,刘金河,王时雄. 三种癌细胞株中Bloom综合征解旋酶(BLM)的表达水平高于正常细胞[J]. *细胞与分子免疫学杂志*, 2014, 30: 649-651.
- [3] 刘金河,许厚强,孟惠惠,罗霖替. 甘草次酸对Bloom解旋酶生物学特性的影响[J]. *中国生物化学与分子生物学报*, 2014, 30: 919-926.
- [4] RAMACHANDRAN P V, IGNAEIMUTHU S. RNA interference—a silent but an efficient therapeutic tool[J]. *Appl Biochem Biotechnol*, 2013, 169: 1774-1789.
- [5] JIN X, SUN T, ZHAO C, ZHENG Y, ZHANG Y, CAI W, et al. Strand antagonism in RNAi: an explanation of differences in potency between intracellularly expressed siRNA and shRNA [J]. *Nucleic Acids Res*, 2012, 40: 1797-1806.
- [6] SELKIRK M E, HUANG S C, KNOX D P, BRITTON C. The development of RNA interference (RNAi) in gastrointestinal nematodes [J]. *Parasitology*, 2012, 139: 605-612.
- [7] PENG A, WANG L, FISHER L A. Greatwall and Polo-like kinase 1 coordinate to promote checkpoint recovery[J]. *J Biol Chem*, 2011, 286: 28996-29004.
- [8] GONDI C S, RAO J S. Concepts *in vivo* siRNA delivery for cancer therapy[J]. *J Cell Physiol*, 2009, 220: 285-291.
- [9] KIM D H, ROSSI J J. Strategies for silencing human disease using RNA interference[J]. *Nat Rev Genet*, 2007, 8: 173-184.
- [10] ANTHONY R V, CANTLON J D. Ribonucleic acid interference; a new approach to the *in vivo* study of gene function[J]. *J Anim Sci*, 2007, 85(13 Suppl): E18-E19.
- [11] TUSCHL T. Expanding small RNA interference[J]. *Nat Biotechnol*, 2002, 20: 446-448.
- [12] 罗霖替,许厚强,刘忠伟,段志强,赵佳福,吴萍,等. 人前列腺癌PC3细胞Bloom解旋酶基因干扰载体的构建[J]. *中国细胞生物学学报*, 2015, 37: 1497-1502.
- [13] DE MUYT A, JESSOP L, KOLAR E, SOURIRAJAN A, CHEN J, DAYANI Y, et al. BLM helicase ortholog Sgs1 is a central regulator of meiotic recombination intermediate metabolism[J]. *Mol Cell*, 2012, 46: 43-53.
- [14] O' SULLIVAN R J, KARLSEDER J. Telomeres: protecting chromosomes against genome instability[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2010, 11: 171-181.
- [15] OPRESKO P L. Telomere ResQue and preservation—roles for the Werner syndrome protein and other RecQ helicase[J]. *Mech Ageing Dev*, 2008, 129(1/2): 79-90.
- [16] 王新敏,章乐,赵静,李强,倪钊,李应龙,等. PAK6基因沉默对前列腺癌细胞放疗敏感性研究[J]. *石河子大学学报(自然科学版)*, 2015, 33: 732-735.
- [17] 姚杰,刘秉乾,魏金星. 人前列腺癌组织中PCA-1及Ki-67蛋白的表达[J]. *郑州大学学报(医学版)*, 2013, 48: 198-200.
- [18] 龚丹丹,崔飞伦,范钰. TROP-2基因小干扰RNA转染对前列腺癌细胞黏附、迁移和侵袭的影响[J]. *山东医药*, 2012, 52: 17-19.
- [19] 李玉兵,江少波,任小刚,孙洁,谢立平. RNA干扰TGF- β 信号通路对人膀胱癌T24细胞迁移和侵袭能力的影响[J]. *医学研究杂志*, 2013, 42: 150-154.
- [20] 李长锋,张斌,王志成,杨海山,潘奇正. 靶向survivin的RNAi联合X线照射对肺腺癌A549细胞周期、凋亡及增殖的影响[J]. *中国老年学杂志*, 2009, 29: 542-544.
- [21] IZQUIERDO M. Short interfering RNAs as a tool for cancer gene therapy[J]. *Cancer Gene Ther*, 2005, 12: 217-227.
- [22] GRIMM D, WANG L, LEE J S, SCHÜRMAN N, GU S, BÖRNER K, et al. Argonaute proteins are key determinants of RNAi efficacy, toxicity, and persistence in the adult mouse liver[J]. *J Clin Invest*, 2010, 120: 3106-3119.
- [23] 任惠文,杨宝学. RNA干扰相关肿瘤治疗药物的研究进展[J]. *中华肿瘤杂志*, 2012, 34: 801-804.
- [24] NGUYEN G H, DEXHEIMER T S, ROSENTHAL A S, CHU W K, SINGH D K, MOSEDALE G, et al. A small molecule inhibitor of the BLM helicase modulates chromosome stability in human cells[J]. *Chem Biol*, 2013, 20: 55-62.