极低频磁场对人乳腺癌细胞蛋白质表达谱的影响*

李 汉[①] 曾群力[①②] 翁 瑜[①] 鲁德强[①] 姜 槐[①] 许正平[①②**]

(① 浙江大学生物电磁学省重点实验室; ② 浙江大学医学院环境基因组学中心, 杭州 310031)

摘要 极低频磁场(ELF MF)被国际癌症研究中心列为可疑致癌物, 但其诱发肿瘤的具体机制并不清楚. 为此, 采用蛋白质组技术研究人乳腺癌细胞 MCF7 受 ELF MF 辐照后蛋白质表达谱的变化, 以探索确定该细胞的极低频磁场反应蛋白质. 在将 MCF7 细胞暴露于 50 Hz, 0.4 mT 正弦极低频磁场中 24 h 后, 直接抽提蛋白, 进行双向凝胶电泳. 凝胶经银染后, 使用 PDQuest 软件分析假辐照组与磁场辐照组间差异表达蛋白质斑点. 结果显示, 与假辐照组相比, 磁场辐照组中有 6 个蛋白质斑点的表达量发生显著改变(至少 5 倍的增加和减少), 同时, 在磁场辐照组中有 19 个蛋白点消失和 19 个新蛋白点出现. 通过搜索 SWISS-PROT 蛋白数据库, 对差异蛋白的类别和功能进行了初步推测. 在此基础上, 进一步选择 3 个差异表达蛋白斑点, 经胶内酶解后, 进行串联质谱分析, 分别鉴定为 RNA 结合蛋白调节亚基、蛋白酶体 β 亚基 7 型前体和翻译调控肿瘤蛋白. 结果表明, 50 Hz, 0.4 mT 极低频磁场辐照 24 h 改变了 MCF7 细胞内多种蛋白的表达水平, 影响环节涉及基因转录、蛋白翻译、蛋白代谢、功能蛋白相互作用等多个层面, 说明极低频磁场可能作为一种环境应激因素改变细胞的正常生理功能.

关键词 极低频磁场 **MCF7** 双向凝胶电泳 质谱 蛋白质表达谱

随着电力事业的发展和各类家用电器的广泛应用, 现代家居和职业场所中的极低频磁场(ELF MF)暴露水平急剧增高, 业已成为一种新的环境污染源. 自 70 年代以来, 流行病学调查陆续发现极低频磁场暴露与部分肿瘤性疾病发病率上升有相关性, 特别是儿童期白血病[1]和男性乳腺癌[2]. 国际癌症研究中心(IARC)据此将极低频磁场列为可疑致癌物, 但缺乏相应的实验研究证据. 为此, 极低频磁场的生物学效应及相关的作用机制迅速成为公共卫生和生物物理领域的研究热点. 传统的研究方法主要是由实验者选取一些和癌症发生、进展相关的基因、蛋白质, 考察它们在磁场辐照处理后的表达变化, 从而推测磁场的诱癌或促癌机理, 但相关实验阴阳性结果并存, 如Jin等人[3]报道了ELF MF可以上调HL60 细胞中

2004-08-26 收稿, 2004-12-08 收修改稿

* 国家自然科学基金项目(批准号: 50137030, 30170792)、浙江省科技攻关计划重点科研项目(批准号: 021106135)、浙江省自然科学基金项目(批准号: 301524)和浙江省卫生厅重点项目(批准号: 2004ZD006)资助

** 联系人, E-mail: zpxu@zju.edu.cn

*c-myc*基因的表达，但Lacy-Hulbert等人[4]以及Saffer等人[5]却不能重复该结果；同时，在考察ELF MF能否诱导热激蛋白[6,7]以及是否影响胞浆中Ca^{2+}浓度[8]上也有截然不同的两类结果. 这些分歧使得极低频磁场的作用机制至今仍未阐明，在是否促发、诱发肿瘤上也无法形成一致认识，导致其可能带来的健康风险无法正确评估，世界各国的极低频磁场安全暴露标准无法统一.

现存的实验分歧显示传统的研究思路具有明显的局限性. ELF MF作为一种低能量的环境因素，可能通过复杂的信号传递过程作用于细胞，从而改变多个基因、蛋白质的表达水平，进而产生一系列下游效应. 而人为选取实验观察指标无法排除主观偏差，不能展现ELF MF的作用全貌. 蛋白质组研究技术的出现可以很好的弥补传统方法的不足，高通量、中性地展示细胞蛋白质表达谱的全局变化，快速筛选磁场反应蛋白质，从而全面了解极低频磁场的作用方式、通路和生物学后果，可能为ELF MF的机理研究提供新的突破口. 最近，Nylund等人[9]运用双向电泳和MALDI-TOF质谱等蛋白质组技术平台研究了射频段电磁场对人内皮细胞的作用，筛选到了 38 个差异蛋白，充分说明该技术可应用于电磁场生物学效应研究. 本研究中，我们以人乳腺癌细胞MCF7 为研究对象，探索 50 Hz, 0.4 mT正弦极低频磁场 24 h暴露对蛋白质表达的影响，结果找到 44 个差异表达蛋白点，并对 3 个进行了串联质谱鉴定.

1　材料与方法

1.1　细胞培养

人乳腺癌细胞MCF7 购自ATCC (Number: HTB-22), 37℃, 5%CO_2培养于含 10%胎牛血清(HYCLONE, 美国)的DMEM培养基(HYCLONE, 美国)中. 待单细胞层近汇合时，以 2.5×10^4个/cm^2密度接种于直径为 100 mm的细胞培养皿(ORANGE, 美国)中，继续培养 24 h后进行磁场辐照和假辐照处理.

1.2　磁场辐照

极低频磁场辐照系统由本室自行设计[10]. 简单地说，该系统包含 3 个串联线圈、两个功率调节器和一套CO_2培养箱. 3 只线圈内的空间区域即构成了一个恒温、均匀、强度为 0~0.8 mT连续可调的 50 Hz正弦磁场辐照区. 磁通密度使用工频场强仪测定(WG EFA-2, 德国). 培养箱所处位置的交流背景场是 1~2 μT, 静磁场是 18.5 μT, 其中水平场为 14.1 μT, 垂直场为 12.0 μT. 暴露区域的温度由电子温度计监测，整个实验期保持在(37±0.2)℃. 含有MCF7 细胞的 100 mm培养皿中心位于辐照系统的中心轴上，辐照强度为 0.4 mT, 辐照时间为 24 h. 假辐照组放置于其他条件与辐照组相同但不加磁场的细胞培养箱中.

1.3　蛋白抽提与定量

辐照完成后，将两组细胞同时取出，置于冰上，弃培养基，用预冷的新鲜 PBS 洗涤一次后，直接加入哺乳动物蛋白质抽提试剂 M-PER(PIERCE, 美国) 500 μL, 冰上静置 8~10 min 后刮下细胞，收集悬液至 1.5 mL 离心管中，14000×*g*, 4℃离心 15 min, 收集上清，分装冻存于–70℃深冷冰箱. 蛋白定量采用 BCA 试剂盒(PIERCE, 美国)，操作参考产品说明书.

1.4　双向电泳

第一向等电聚焦采用 17 cm, pH 3~10 的线性 IPG 胶条(BIO-RAD, 美国). 取 200 μg 蛋白与水化缓冲液(7 mol/L 尿素, 2 mol/L 硫脲, 4%CHAPS, 0.001%BPB, 临用前加入 10 mg/mL DTT, 5 μL/mL Bio-lyte 3-10)混合，取 300 μL 胶内加样. 被动水化 14 h 后转入 PROTEAN IEF Cell (BIO-RAD, 美国)进行等电聚焦，程序为: 250 V, 30 min; 1000 V, 2 h; 10000 V, 5 h; 10000 V, 60000 VHr; 聚焦温度为 17℃. 一向电泳结束后的 IPG 胶条分别在含 2% DTT(Promega, 美国)和 2.5%碘乙酰胺(BIO-RAD, 美国)的胶条平衡缓冲液(6 mol/L 尿素, 2% SDS, 0.375 mol/L Tris-HCl, pH 8.8, 20%甘油)中平衡 12 min, 再转移到 1.0 mm 厚的 12% SDS-聚丙烯酰胺凝胶上端，并在胶条酸性端加分子量标记(Fermentas, 美国)，然后用 0.5%低熔点琼脂糖(BIO-RAD, 美国)封胶. 二向电泳在 PROTEAN Plus Dodeca Cell (BIO-RAD, 美国)中进行，200 V 恒压电泳 7 h. 辐照组和假辐照组均进行 9 次重复. 文中未标明的电泳试剂均购自 BIO-RAD.

1.5 银染

采用改进的快速银染法，且与质谱兼容[11]. 流程为: 40%乙醇、10%乙酸固定凝胶 30 min; 30%乙醇、0.2%硫代硫酸钠、6.8%醋酸钠敏化 30 min; 去离子水漂洗 3 次，每次 5 min; 0.25%硝酸银染色 20 min; 去离子水漂洗 3 min，并冲干净正反胶面; 2.5%碳酸钠、0.04%甲醛显色 3~5 min 至蛋白点显现完全而杂条纹正要出现; 1.46% EDTA 终止反应.

1.6 图像获取与分析

凝胶采用 GS800 Calibrated Imaging Densitometer(BIO-RAD，美国)扫描成 TIFF 格式(分辨率为 150 dpi)，然后使用 PDQuest v7.1.1(BIO-RAD，美国)软件进行差异分析. 过程包括背景消减、蛋白点检测和匹配，以及分子量和等电点的确定等. 蛋白点的匹配选取假辐照组和辐照组中点数量最多且形态最为完备的胶为参考胶，先利用软件的自动匹配功能进行匹配，再用人工加减标记的方法进行校正，与参考胶不同的点被加入参考胶中，与参考胶相同的点视为同一蛋白分子. 蛋白点表达量采用软件生成的 GAUSS 图像中该点所含所有象素强度之和，并用该点强度占该胶内所有蛋白点强度总和的比例进行校正. 分子量通过外加的标准确定，pH 依据胶条的线性划分.

1.7 质谱选点

观察软件统计的差异蛋白点在凝胶上的原始位置，若满足: (ⅰ) 在 9 次重复凝胶上均能找到，且差异显著; (ⅱ) 形态完备，无明显变形、拖尾; (ⅲ) 与周围蛋白点完全分离，则选择手工切割.

1.8 胶内酶解和 LC-IT 串联质谱

参照文献[12]进行，步骤简述为: 脱色液(30 mmol/L 铁氰化钾: 100 mmol/L 硫代硫酸钠 = 1∶1)处理 20 min，去离子水漂洗至胶块透明; 0.2 mol/L 碳酸氢铵缓冲液浸没胶块，静置 20 min 后，真空离心浓缩; 12.5 ng/μL 胰酶液 37℃孵育过夜; 50%乙腈、0.1% TFA 抽提 3 次，合并样品. 样品液经 Surveyor HPLC (ThermoQuest，美国)系统分离导入 LCQ DECA XP 质谱仪(Finnigan，美国)，毛细管温度为 200℃. 全扫描模式下，收集质荷比在 200~1400 之间的离子，串联质谱碰撞能量为 35%. 软件分析使用 SEQUEST 搜索 NCBI 人类蛋白质数据库.

2 结果

2.1 极低频磁场改变细胞的蛋白质表达谱

MCF7 细胞经极低频磁场辐照后，提取蛋白，与未经磁场处理的细胞蛋白样品一起进行双向凝胶电泳，其 9 次重复的代表性银染电泳图谱见图 1. 经 PDQuest 软件分析后，一般每块凝胶上平均可找到 1000 个左右蛋白点. 选取假辐照组中一块凝胶为参考胶，假辐照组的蛋白点匹配率为 84%，辐照组匹配率为 83%，保证了较好的重复性. 统计磁场作用后与假辐照组间表达水平上调 5 倍和下调至假辐照组 0.2 倍以下的蛋白点，共找到 6 个: 其中 3 个点表达上调，3 个下调，t 检验显示差异有显著性(表 1). 同时，有 19 个蛋白点只出现在假辐照组中，磁场作用后消失; 19 个蛋白点只出现在辐照组中. 根据外加标准分子量标记确定了差异蛋白的相对分子质量，同时依据胶条的线性划分确定了差异蛋白的等电点.

2.2 差异蛋白的功能分析

根据所得差异点等电点和相对分子质量数据，我们使用 TagIdent 网页程序(http://ca.expasy.org/tools/tagident.html)搜索了 SWISS-PROT 蛋白数据库，初步推测差异蛋白的类别及功能. TagIdent 网页程序由 EXPASY 网站(http://www.expasy.org)开发，可利用蛋白分子的实验等电点和相对分子质量搜索 SWISS-PROT 蛋白数据库，返回可匹配蛋白名单，也允许同时使用氨基酸标签来辅助搜索. 我们设定的搜索参数为: pI range: 0.25; Mw range (in percent): 20%; OS or OC: homo sapiens. 结果显示，差异蛋白点可归纳为以下 6 类蛋白质: (ⅰ) 参与胞内蛋白运输的蛋白质; (ⅱ) 蛋白磷酸化激酶的调节因子; (ⅲ) 细胞质膜以及核膜上的离子通道蛋白; (ⅳ) 癌症发生相关蛋白; (ⅴ) 转录共激活因子; (ⅵ) 机体免疫相关抗原.

2.3 典型差异蛋白点的质谱鉴定

根据第 1.7 小节中所述选点原则并适当参考

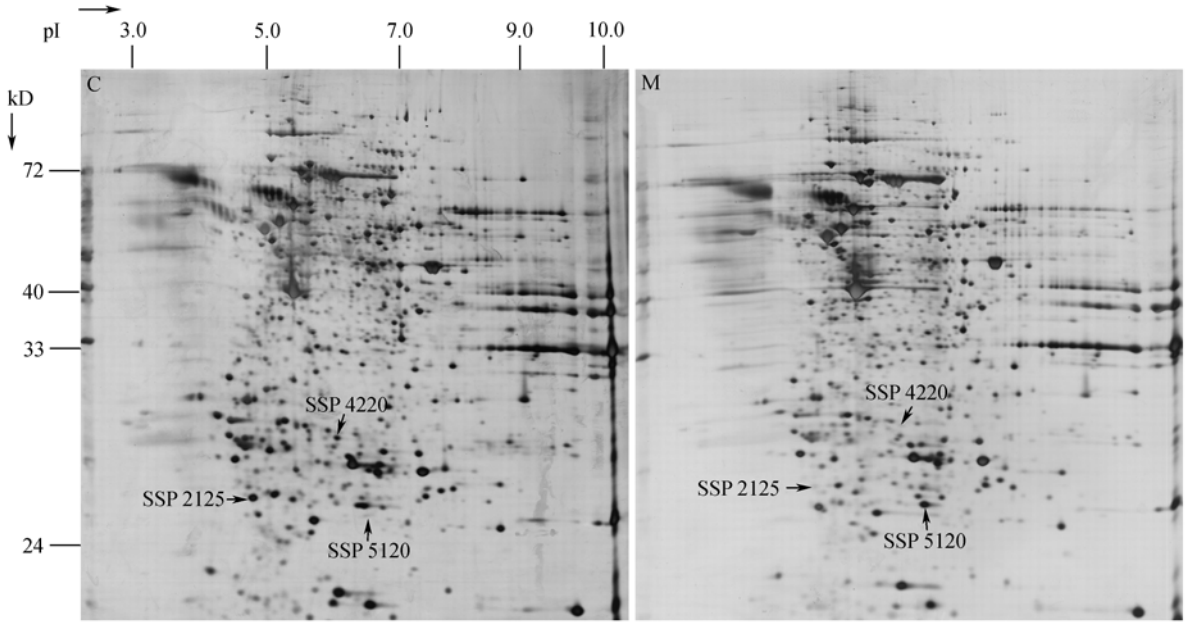

图 1　假辐照组(C)与磁场辐照组(M)双向电泳图谱比较

差异点 SSP 2125, 4220, 5120 手工切割, 进行质谱鉴定(SSP 为 PDQuest 软件生成的点标记)

表 1　假辐照组和辐照组间表达差异显著的蛋白质斑点

蛋白点标记 SSP[a)]	实验测量值[b)]		校正后表达量[c)]		组间变化[d)]
	MW/kD	pI	假辐照组 C	辐照组 M	
1115	25.53	5.00	84738.8120±11102.1318	14396.5606±2860.1636	–
2125*	25.01	5.04	294037.4043±43213.6938	41125.6543±6270.8814	–
2224	26.60	5.25	40135.9695±5414.1047	253805.3768±10827.7294	+
4220*	28.71	6.11	180526.1±39623.2255	17928.92±8518.6079	–
5120*	24.40	6.44	31661.6909±2596.6503	361239.9479±14363.2141	+
7323	30.76	7.20	18351.0065±1878.2473	104338.0156±1625.0219	+

a) SSP 为 PDQuest 软件生成的蛋白点标记; b) PDQuest 软件计算生成; c) 以单个蛋白点量与整块胶所有蛋白点量之和的比例进行校正; d) – 示该点辐照组表达下调, + 示上调; * 示该点手工切割后进行质谱鉴定

TagIdent 搜索结果, 我们选取并切割了在辐照组中表达上调的 SSP5120, 在辐照组中表达下调的 SSP 2125 和 4220 共 3 个差异点(SSP 为 PDQuest 软件生成的点标记), 依次进行胶内酶解和 LC-IT 串联质谱鉴定(图 1). SSP 5120 酶解产物色谱出峰图见图 2(a); 图 2(b)显示出峰时间在 56.82~56.87 min, 质荷比为 616.8286 的前体离子 CID 谱图, 解析序列为 VEKDGLILTSR. 事实上, SSP5120 共被解析出 9 条特异肽段, 鉴定为 RNA 结合蛋白调节亚基(SWISS-PROT ID: O14805), 序列覆盖度为 55.03%. SSP 4220(图 3)被解析出 3 条特异肽段, 鉴定为蛋白酶体β 亚基 7 型前体(SWISS-PROT ID: Q99436), 序列覆盖度为 13.72%, 尽管数值偏低, 但 3 条肽段的 Xcorr 值都在 2.0 以上(2.5364, 4.2467, 4.5462), DeltaCn 值均高于 0.1(0.2022, 0.6234, 0.5851), 保证了结果的可信度. SSP 2125(图 4)共被解析出 9 条特异肽段, 鉴定为翻译调控肿瘤蛋白(SWISS-PROT ID: P13693), 序列覆盖度达到 44.19%. 3 个差异蛋白的鉴定结果、蛋白序列覆盖度及相应 Xcorr 和 DeltaCn 平均值见表 2.

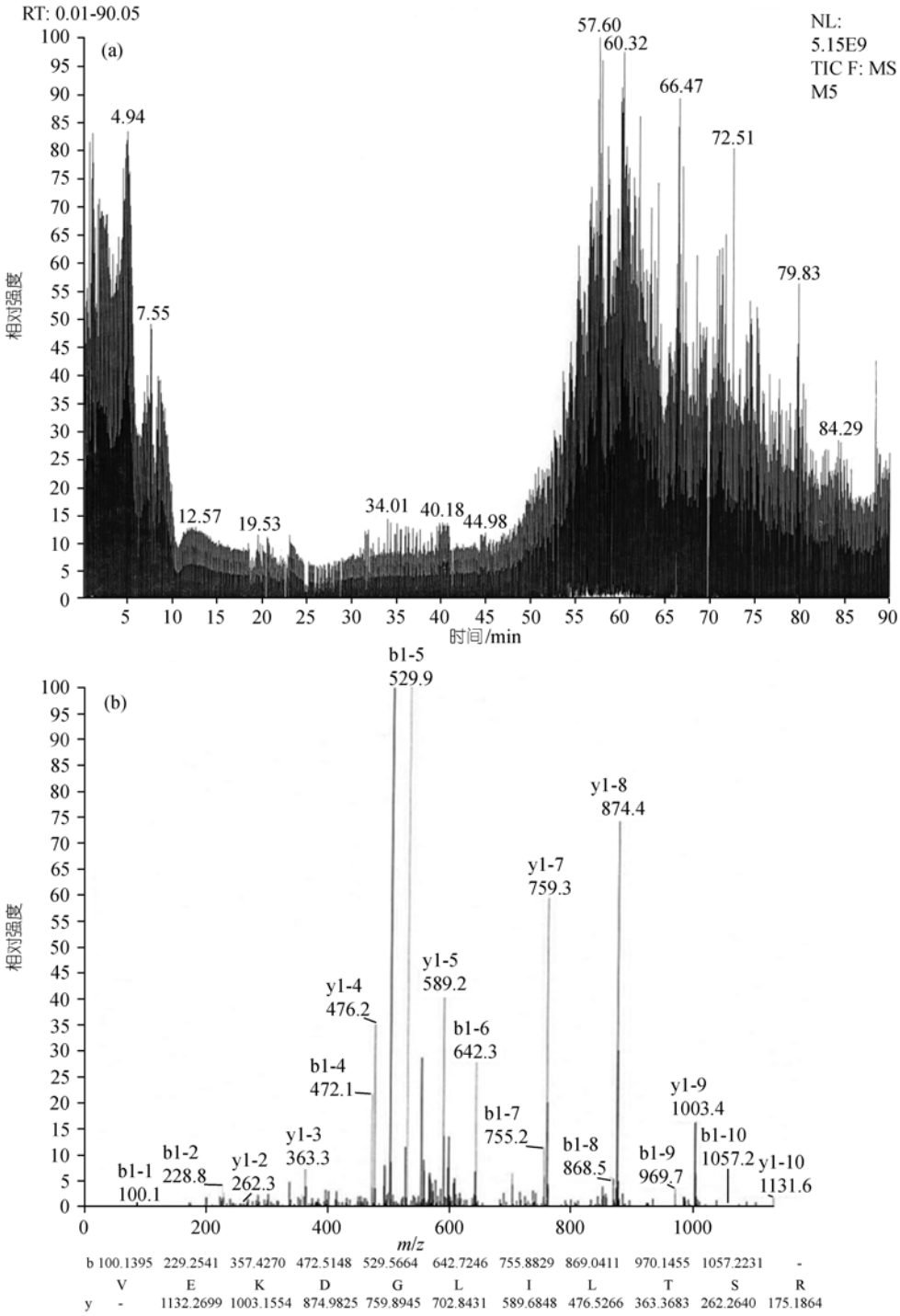

图 2 SSP 5120 串联质谱解析

(a) 酶解产物原始色谱出峰图; (b) 质荷比为 616.8286 的前体离子(出峰时间 56.82~56.87 min)CID 谱图，解析序列为 VEKDGLILTSR，覆盖 RNA-binding protein regulatory subunit (SWISS-PROT ID: O14805)序列 146~156 位氨基酸

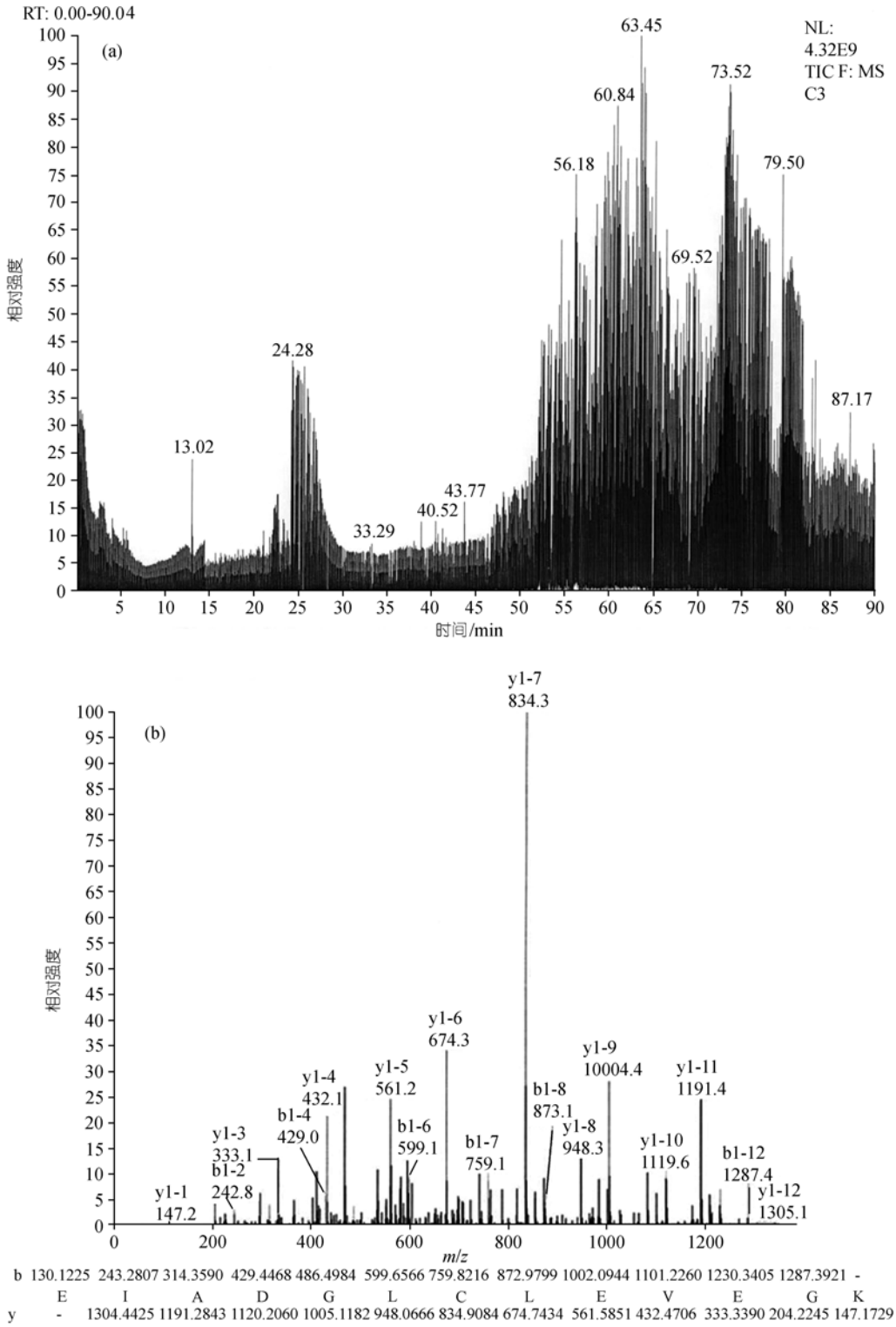

图 3　SSP 4220 串联质谱解析

(a) 酶解产物原始色谱出峰图; (b) 质荷比为 755.6536 的前体离子(出峰时间 50.79~50.87 min)CID 谱图，解析序列为 ATEGMVVADKNCSK，覆盖 Translationally controlled tumor protein (TCTP) (SWISS-PROT ID: P13693)序列 22~34 位氨基酸

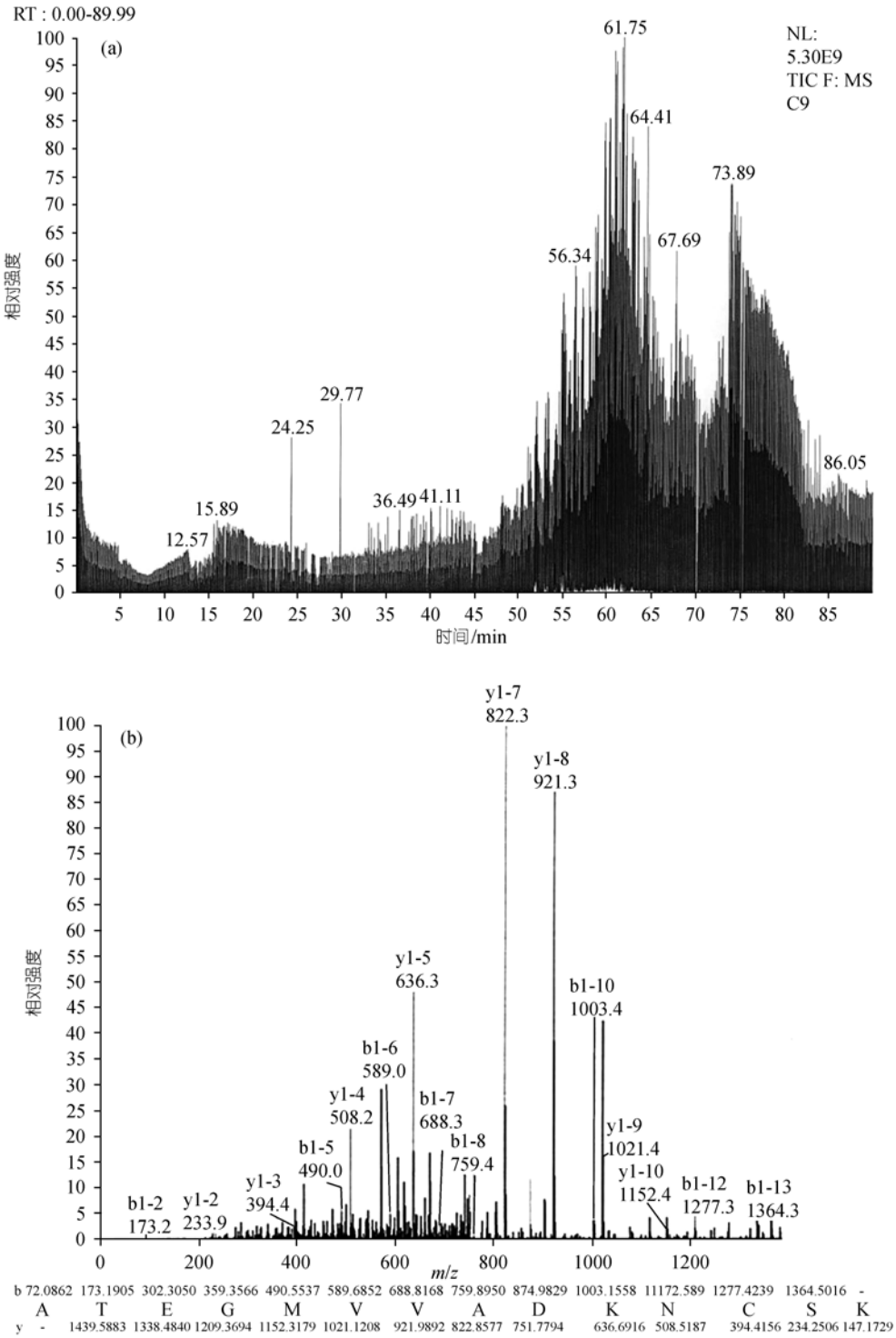

图 4 SSP 2125 串联质谱解析

(a) 酶解产物原始色谱出峰图; (b) 质荷比为 717.2186 的前体离子(出峰时间 63.00~63.08 min) CID 谱图, 解析序列为 EIADGLCLEVEGK,覆盖 Proteasome subunit beta type 7 precursor (SWISS-PROT ID: Q99436)序列 63~76 位氨基酸

表 2　组间差异蛋白点质谱鉴定结果

蛋白点编号SSP[a)]	鉴定结果	SWISS-PROT ID	理论Mr/pI值[b)]	实验Mr/pI值[c)]	序列覆盖度	Xcorr平均值[d)]	DeltaCn平均值[d)]
5120	RNA 结合蛋白调节亚基	O14805	19.89/6.33	24.40/6.44	55.03%	3.487	0.440
4420	蛋白酶体β亚基 7 型前体	Q99436	29.97/7.58	28.71/6.11	13.72%	3.776	0.470
2125	翻译调控肿瘤蛋白	P13693	19.60/4.84	25.01/5.04	44.19%	3.567	0.469

a) SSP 为 PDQuest 软件生成的蛋白点标记; b) 数据库原始记录; c) PDQuest 软件计算值; d) Xcorr 及 DeltaCn 为 SEQUEST 软件生成的统计参数, Xcorr > 2.0, DeltaCn > 0.1 结果可信度高

3　讨论

极低频磁场的生物学效应和健康影响仍然存在争议，其根本原因是不了解该环境因子与机体作用的机制. 蛋白质是生命功能的直接行使者，而蛋白质组学以基因组所表达的全部蛋白质即蛋白质组为研究对象，能够准确描述细胞状态发生变化时究竟有哪些蛋白在表达、表达量如何以及有无翻译后修饰等情况. 因此，利用蛋白质组技术考察极低频磁场的生物学效应可能在整体层面上准确显现磁场与细胞的原初作用，发现磁场反应的特异蛋白，从而勾画出磁场作用的通路，阐明其危害健康的机制. 本研究成功地运用当今蛋白质组学技术平台的主要分析手段，发现了一批电磁场反应蛋白质，为后续的深入研究打下了良好的基础.

双向电泳分离蛋白结合生物质谱鉴定是目前蛋白质组学的主流技术平台，影响实验成败的关键在于蛋白质样品的制备和电泳条件的优化. 针对双向电泳实验的重复性和稳定性要求，我们对样品制备、胶条转移以及凝胶染色等步骤进行了摸索和优化，结果使MCF7 细胞蛋白得到了有效分离，且保证了 9 次重复的均一性，适合后续的差异分析和质谱鉴定. 当前，极低频磁场研究领域的最大问题就是实验的重复性，这又涉及实验材料的敏感性问题. Ishido等人[13]报道了 50 Hz极低频磁场在两种来源MCF7 细胞中抑制褪黑素分泌的效应明显不同，而Jin等人[3]也发现不同来源的HL60 细胞对磁场敏感程度也有差别. 我们认为，相比于选用的磁场辐照时间、强度等指标的差异，细胞来源和辐照时的具体状态更能影响实验的最终结果. 因此，不同批次的实验要保证选用材料、辐照状态、处理手法等的完全一致，在此基础上利用蛋白质组等发现型技术筛选磁场特异反应蛋白或基因，实现不同实验室间样品处理和数据记录的标准化，才能客观揭示极低频磁场的生物学效应.

本研究成功鉴定了 3 个差异蛋白. RNA结合蛋白(RBP)是细胞内对基因表达进行转录后控制的重要蛋白，它具有两个亚基：RNA结合亚基(RBS)和RNA结合调节亚基(RS)[14]. 实验证实RS可以抑制RBS的RNA结合活性[14]，从而影响RBP的功能发挥，有报道指出失去RNA结合活性的RBP可以导致各种疾病包括脆性X综合症等[15]. 此外，RS还可以和细胞骨架中的微管纤维结合，可能充当了RBS和细胞骨架间功能联系的一个桥梁. 极低频磁场上调表达RS蛋白，就可能抑制了下游相关RBP的RNA结合活性和部分细胞骨架相关的生物学功能，如mRNA翻译、降解　等，从而在转录后水平控制了相关基因的表达. 翻译调控肿瘤蛋白(TCTP)在几乎所有哺乳动物组织中表达，有报道发现：TCTP的过量表达会导致细胞生长阻滞和形态变化，且会使微管发生重排，增加微管的数量和稳定性[16]. 我们的实验观察到极低频磁场可以抑制TCTP的表达，那么就有可能削弱TCTP对细胞生长的阻滞作用，并影响微管结构的稳定性. TCTP还具有钙离子结合蛋白的某些特征，Xu等人[17]的研究发现TCTP的表达变化会受到胞内钙稳态破坏的诱导，而胞内钙离子浓度同样会受到磁场作用的调控[8]，因此，我们推测磁场可能通过改变胞内钙离子浓度，破坏钙稳态来诱导一系列下游蛋白包括TCTP等的表达变化. 目前，TCTP的确切功能还未完全揭示，但已发现它参与了广泛的生物学过程，包括细胞增殖、分裂调控、肿瘤回复、组胺释放等，因此可以预见极低频磁场通过调控TCTP表达而影响多个细胞生理过程. 蛋白酶体 β 亚基 7 型前体的具体生物学功能还不清楚，但蛋白酶体本身是细胞内具有多肽酶活性的降

解酶，是胞内蛋白代谢的重要调控分子，也是某些蛋白前体剪接修饰获得功能的关键酶类．极低频磁场下调该蛋白功能亚基提示磁场可能在翻译后水平调控某些功能蛋白的活性．

从上述分析可见，本研究筛选确定的 3 个差异蛋白与细胞骨架系统有直接或者间接的联系．Nylund等人[9]的实验也发现GSM 900 MHz的电磁场辐照可以通过上调表达细胞骨架波形蛋白而影响人内皮细胞EA.hy926 的细胞骨架，因此，细胞骨架很有可能是不同频谱电磁场作用的共同靶点之一．当然，已发现的磁场反应蛋白间的内在联系和卫生学后果有待进一步的实验研究．

致谢 质谱鉴定由上海生命科学研究院生物化学与细胞生物学研究所蛋白质组学研究分析中心完成．

参 考 文 献

1 Wertheimer N, Leeper E. Electrical wiring configurations and childhood cancer. Am J Epidemiol, 1979, 109: 273~284

2 Matanoski G M, Breysse P N, Elliott E A. Electromagnetic field exposure and male breast cancer. Lancet, 1991, 337: 737[DOI]

3 Jin M, Lin H, Han L, et al. Biological and technical variables in myc expression in HL60 cells exposed to 60Hz electromagnetic fields. Bioelectrochemistry and Bioenergetics, 1997, 44: 111~120 [DOI]

4 Lacy-Hulbert A, Wilkins R, Hesketh T R, et al. No effect of 60Hz electromagnetic fields on MYC or β-actin expression in human leukemic cells. Radiation Res, 1995, 144: 9~17

5 Saffer J D, Thurston S J. Short exposures to 60Hz magnetic fields do not alter MYC expression in HL60 cells or Daudi cells. Radiation Res, 1995, 144: 18~25

6 Pipkin J L, Hinson W G, Young J F, et al. Induction of stress proteins by electromagnetic fields in cultured HL-60 cells. Bioelectromagnetics, 1999, 20: 347~357[DOI]

7 Shi B, Farboud B, Nuccitelli R, et al. Power-line frequency electromagnetic fields do not induce changes in phosphorylation, localization, or expression of the 27-Kilodalton heat shock protein in human keratinocyte. Environmental Health Perspectives, 2003, 111: 281~287

8 McCreary C R, Thomas A W, Prato F S. Factors confounding cytosolic calcium measurement in jurkat E6.1 cells during exposure to ELF magnetic fields. Bioelectromagnetics, 2002, 23: 315~328 [DOI]

9 Nylund R, Leszczynski D. Proteomics analysis of human endothelial cell line EA.hy926 after exposure to GSM900 radiation. Proteomics, 2004, 4: 1359~1365[DOI]

10 Li C M, Chiang H, Fu Y D, et al. Effects of 50Hz magnetic fields on gap junctional intercellular communication. Bioelectromagnetics, 1999, 20: 290~294

11 Yan J X, Wait R, Berkelman T, et al. A modified silver staining protocol for visualization of proteins compatible with matrix-assisted laser desorption/ionization and electrospray ionization mass spectrometry. Electrophoresis, 2000, 21: 3666~3672[DOI]

12 Ding S J, Li Y, Shao X X, et al. Proteome analysis of hepatocellular carcinoma cell strains, MHCC97-H and MHCC97-L, with different metastasis potentials. Proteomics, 2004, 4: 982~994[DOI]

13 Ishido M, Nitta H, Kabuto M. Magnetic fields (MF) of 50Hz at 1.2μT as well as 100μT cause uncoupling of inhibitory pathways of adenylyl cyclase mediated by melatonin 1a receptor in MF- sensitive MCF-7 cells. Carcinogenesis, 2001, 22: 1043~1048[DOI]

14 Hod Y, Pentyala S N, Whyard T C, et al. Identification and characterization of a novel protein that regulates RNA-protein interaction. Journal of Cellular Biochemistry, 1999, 72: 435~444[DOI]

15 Siomi M C, Zhang Y, Siomi H, et al. Specific sequences in the fragile X syndrome protein FMR1 and the EXR proteins mediate their binding to 60S ribosomal subunit and the interactions among them. Molecular and Cellular Biology, 1996, 16: 3825~3832

16 Gachet Y, Tournier S, Lee M, et al. The growth-related, translationally controlled protein P23 has properties of a tubulin binding protein and associate transiently with microtubules during the cell cycle. Journal of Cell Science, 1999, 112: 1257~1271

17 Xu A, Bellamy A R, Taylor J A. Expression of translationally controlled tumor protein is regulated by calcium at both the transcriptional and post-transcriptional level. Biochem J, 1999, 342: 683~689[DOI]