

斑马鱼胚胎和肿瘤细胞评价细胞毒药物活性比较研究*

张红翠¹ 王晓伟¹ 徐晓敏¹ 鲁 疆¹ 安晓晶¹ 许 波³ 马成俊³ 张 红² 王振华^{1,2,△}

(1 石河子大学药学院 新疆 石河子 832002 2 中国科学院近代物理研究所 甘肃 兰州 730000 ;

3 烟台大学生命科学学院 山东 烟台 264005)

摘要 目的:比较斑马鱼胚胎和肿瘤细胞作为药物筛选模型的优缺点。方法:采用 MTT 法检测顺铂、紫杉醇、阿霉素、5-氟尿嘧啶四种药物对 HL-60 和 Hela 细胞的增殖影响;同时,观察药物对斑马鱼胚胎发育的影响。结果:阿霉素、顺铂及紫杉醇作用于 HL-60 及 Hela 细胞的 IC₅₀ 均显著高于作用于斑马鱼胚胎的 LD₅₀;而 5-FU 作用于肿瘤细胞和斑马鱼胚胎的结果与其它药物相反。四种抗肿瘤药物对斑马鱼胚胎的生长发育均有致畸作用。结论:斑马鱼胚胎作为细胞毒类药物筛选模型,对于抗微管类药物较为敏感,但对于抗代谢药敏感性较肿瘤细胞差。

关键词 斑马鱼 胚胎 肿瘤细胞 抗肿瘤药

中图分类号 Q95-3, R730.231 **文献标识码** A **文章编号** 1673-6273 (2012) 27-5214-04

Evaluation Cytotoxic Drugs Activities with Zebrafish Embryos and Tumor Cells *

ZHANG Hong-cui¹, WANG Xiao-wei¹, XU Xiao-min¹, LU Jiang¹,AN Xiao-jing¹, XU Bo³, MA Cheng-jun³, ZHANG Hong², WANG Zhen-hua^{1,2,△}

(1 Pharmacy college of Shihezi University, Shihezi, Xinjiang, 832002; 2 Institute of Modern physics, Chinese Academy of Science, Lanzhou, Gansu, 730000; 3 School of Life Sciences, Yantai University, Yantai, Shandong, 264005, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the differences in cytotoxic drug screening with zebrafish embryos and tumor cells. **Methods:** Human leukemia cells (HL-60) and cervical cancer cells (Hela) were used to evaluate the cytotoxic effect of four different antineoplastic drugs (paclitaxel, 5-fluorouracil, doxorubicin and cisplatin) with MTT assay. And the impact of the four drugs on zebrafish embryos development was also observed. **Results:** The data demonstrated that the half inhibitory concentration (IC₅₀) of paclitaxel, doxorubicin and cisplatin on cancer cells significantly exceeded the LD₅₀ of the three drugs on zebrafish embryos. However the effect of 5-fluorouracil was opposite. And the four drugs had teratogenic effect on zebrafish embryos. **Conclusion:** Zebrafish and embryos as a new model for drug screening in cytotoxic drugs, is more susceptible to the inhibitor of microtubule formation and less susceptible to antimetabolites than tumor cells.

Key words: Zebrafish; Embryos; Tumor cells; Antineoplastic drugs

Chinese Library Classification(CLC): Q95-3, R730.231 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2012)27-5214-04

前言

恶性肿瘤是严重威胁人类健康的第一杀手,表明当前恶性肿瘤防治技术仍不理想。多年来人类一直在不断地寻找新型的抗肿瘤药物,敏感和快速的筛选技术是寻找到理想抗肿瘤药的重要环节。肿瘤细胞作为筛选模型,具有经济、简便、快速等诸多优势,但局限于其组成的单一性,难以反映肿瘤组织的异质性,也较难体现化合物对整个机体的作用。

斑马鱼(Danio rerio),又名蓝条鱼、花条鱼,原产于印度、孟加拉国。由于其个体小,养殖花费少,能大规模繁育,且具许多优点,吸引了众多研究者的注意^[1-3]。作为一种新的模式动物,斑马鱼有以下诸多优点。斑马鱼在遗传、生理和药理反应方面与

人类存在高度的相似性;具有与哺乳动物相似的心血管、造血、神经及代谢等系统,在药物筛选方面具有相当大的潜能。在国际上,斑马鱼模式生物的使用正逐渐拓展和深入到生命体的多种系统(例如,神经系统、免疫系统、心血管系统、生殖系统等)的发育、功能和疾病(例如,神经退行性疾病、遗传性心血管疾病、糖尿病等)的研究中^[4-6],并已应用于小分子化合物的大规模新药筛选^[7]。

与传统的斑马鱼成鱼实验相比,斑马鱼胚胎发育技术具有鲜明的特点:①雌鱼常年产卵且产卵较多,胚胎实验的可重复性好、成本低、灵敏度高^[8]、影响因素少;②胚胎体外受精、体外发育、胚体透明,从完整的活体可观察到所有内部器官和结构及其发育过程、利于操作,避免了杀死或解剖动物^[9],胚胎发育

* 基金项目 教育部新世纪优秀人才支持计划(NCET-10-0967) 国家自然科学基金项目(11175222);

兵团科技攻关计划(2011GG11) 石河子大学自然科学重点项目(ZRXX2009ZD01);

山东省优秀中青年科学家奖励基金(2006BS01226) 山东省自然科学基金项目(ZR2009BM027 & Y2008B51)

作者简介 张红翠(1985),女,硕士研究生,主要研究方向 肿瘤与细胞药理学

△通讯作者 王振华,电话 0993-2057005, E-mail zhenhuawang@tom.com; wangzh@impcas.ac.cn

(收稿日期 2012-02-23 接受日期 2012-03-18)

同步且发育速度快,72 hpf (概念) 从卵膜(chorion)里孵化出来,能自由游动,3个月进入性成熟;③斑马鱼胚胎从受精卵至仔鱼孵化,可以观察到近20种不同表现的反应指标^[10],可以此判断污染物的致毒机理。据此,斑马鱼胚胎作为新型药物筛选模型具有很广泛的应用前景。

本研究通过观察阿霉素、顺铂、紫杉醇、5-氟尿嘧啶四种抗肿瘤药物对斑马鱼胚胎发育毒性影响及对 HL-60、Hela 两种肿瘤细胞的增殖毒性作用,比较两药物筛选模型的优缺点。

1 材料与方法

1.1 实验材料与仪器

阿霉素 (批号 20091202, 山西普德药业)、顺铂 (批号 107015CF, 齐鲁制药)、紫杉醇 (批号 1106201 曙光医药公司)、5-氟尿嘧啶 (批号 1105061 上海旭东海普药业);注射用链霉素,1 g (100 万单位)/支,购自山东瑞阳制药有限公司;注射用青霉素钠,80 万单位/支,购自山东鲁抗医药股份有限公司;胰蛋白酶,MTT,胎牛血清均购自美国 Sigma 公司;其余为国产分析纯试剂。

多功能酶标仪 (Infinite M200, Tecan);AL204-IC 型万分之一电子天平 (梅特勒-托利多仪器有限公司制造);CO₂ 培养箱 (HF100-IL2L, Heal force);超净工作台 (SW-CJ-IFD, Boxun);细胞培养瓶 (Costar, USA);细胞培养板 (Costar, USA);高速低温离心机 (5810R, Eppendorf);倒置相差显微镜 (Zeiss, Axio LabA1);生物显微镜;体式显微镜;pH 计 (HI98107, HANNA);盐度计 (HI98303, HANNA);斑马鱼养殖系统 (北京爱生生物科技有限公司)。

1.2 实验用肿瘤细胞及斑马鱼胚胎获取

人前髓细胞白血病 HL-60 细胞株及人宫颈癌 Hela 细胞株均引自中国典型培养物保藏中心 (武汉),由本室传代保存。

AB 系斑马鱼由国家斑马鱼模式动物中心张博教授惠赠,养殖水温 (28±1) °C, pH 为 6.8~7.0,溶解氧≥6.0 mg·L⁻¹,控制光照周期为 14 h 光照/10 h 黑暗。饵料为丰年虾,早晚各饲喂一次。实验前一天晚上,取体格健壮、状态良好的 2 尾雄鱼和 1 尾雌鱼放入产卵盒中 (产卵条件同上) 并用隔板将雌雄分开,次日开灯后即刻去掉隔板,其后约 10~30 min,雌鱼开始产卵并完成受精过程,受精卵于 28°C^[11] 的 E3 液 (13.7 mmol/L NaCl, 0.54 mmol/L KCl, 0.025 mmol/L Na₂HPO₄, 0.044 mmol/L KH₂PO₄, 1.3 mmol/L CaCl₂, 1.0 mmol/L MgSO₄ 及 4.2 mmol/L NaHCO₃, pH 7.2) 中进行孵化,孵化过程中及时挑出死卵。

1.3 细胞毒性试验

采用 MTT 法测定药物对 Hela 细胞和 HL-60 细胞增殖的抑制作用。于 96 孔培养板每孔加入 100 μL 密度为 5×10⁴ 个·mL⁻¹ 的细胞悬液,培养 24 h 后向相应孔中加入不同浓度的待测药物 100 μL,每处理组设 4 个复孔,另设不加药物的阴性对照组 (control),不加细胞的空白对照组 (blank)。继续培养 48 h,小心吸去药液 (HL-60 细胞培养板于 1000 rpm 离心 10 min 后小心吸去药液),然后每孔分别加入含 5 mg·L⁻¹ MTT 的新鲜培养基 20 μL,于 37 °C 温育 4 h,小心吸去上清液,每孔加入 150 μL DMSO 后振荡 5 min,于 570 nm 处测定各孔吸光值 (OD₅₇₀),参考波长 630 nm。根据各孔 OD 值计算药物对细胞

增殖的抑制率^[13]:

$$\text{抑制率}(\%) = \left(1 - \frac{\text{给药组 OD 值} - \text{blank 组 OD 值}}{\text{control 组 OD 值} - \text{blank 组 OD 值}}\right) \times 100$$

根据药物浓度对应的增殖抑制率,采用 Origin Pro 8.0 软件作线性回归分析,计算药物对细胞增殖抑制率达 50% 时对应的半数抑制浓度 (IC₅₀)。

1.4 斑马鱼胚胎发育毒性测定

选用发育至囊胚期 (受精后 4 h, 4 hpf) 的斑马鱼胚胎时进行实验^[12],每个药物浓度组放置 30 胚胎。分别统计胚胎死亡率和畸形率,并对典型特征进行拍照。实验重复 3 次,结果取平均值。畸形判定标准为与正常发育仔鱼形态不同的为畸形仔鱼。

记录不同浓度药液中斑马鱼在 96 hpf 内的死亡数量 (只),计算死亡率 (%)^[14]:

$$\text{死亡率}(\%) = \frac{\text{每组死亡个体数}}{\text{每组胚胎数}} \times 100$$

记录不同浓度药液中斑马鱼在 96 hpf 后的畸形数量 (只),计算畸形率 (%)。

$$\text{死亡率}(\%) = \frac{\text{每组畸形个体数}}{\text{每组存活胚胎数}} \times 100$$

根据实验结果,实验数据处理使用 OriginPro8.0 统计分析软件,并进行绘图与半数致死浓度 (LD₅₀)、半数致畸浓度 (TD₅₀) 计算值。

1.5 统计学方法

所有数据均以 Excel3.0,软件统计,图表及趋势线拟合均以 Origin8.0 软件完成。

2 结果与分析

2.1 四种抗肿瘤药物对 HL-60 和 Hela 细胞增殖的抑制作用

MTT 测定结果反映了四种抗肿瘤药物对 HL-60 和 Hela 细胞增殖抑制作用。结果表明四种抗肿瘤药物均可浓度依赖性地抑制两株细胞的增殖 (图 1)。四种药物中紫杉醇对 Hela 和 HL-60 细胞的生长抑制作用最为明显,其 IC₅₀ 分别为 1.78 μg·L⁻¹ 及 1.69 μg·L⁻¹,顺铂和阿霉素对两株肿瘤细胞的生长抑制作用相当,略低于紫杉醇。

2.2 四种抗肿瘤药物对斑马鱼胚胎生长发育的影响

在具有抗肿瘤效果的同时,该四种药物对斑马鱼胚胎也具有一定的药物毒性,主要表现在对斑马鱼胚胎的致死及致畸作用。随着四种药物浓度的增加,斑马鱼胚胎的死亡率和仔鱼的畸形率均逐渐增加。

四种药物中对斑马鱼胚胎毒性作用最小的为 5-氟尿嘧啶,半数致死浓度及半数畸形浓度远远高于 5-FU 对肿瘤细胞的半数抑制浓度,LD₅₀ 为 56.2 μg·L⁻¹,TD₅₀ 为 68.8 μg·L⁻¹ (图 2)。

2.3 四种抗肿瘤药物作用下斑马鱼仔鱼的形态学变化

斑马鱼胚胎经四种抗肿瘤药物处理后孵化出来的仔鱼,出现了不同程度的畸形,主要体现为:脊柱弯曲,围心腔水肿及尾部弯曲 (图 3)。

3 讨论

斑马鱼在 50 年前首次被用于筛选小分子药物,近十年来斑马鱼才被用于药物的大规模筛选。斑马鱼胚胎在药物筛选中

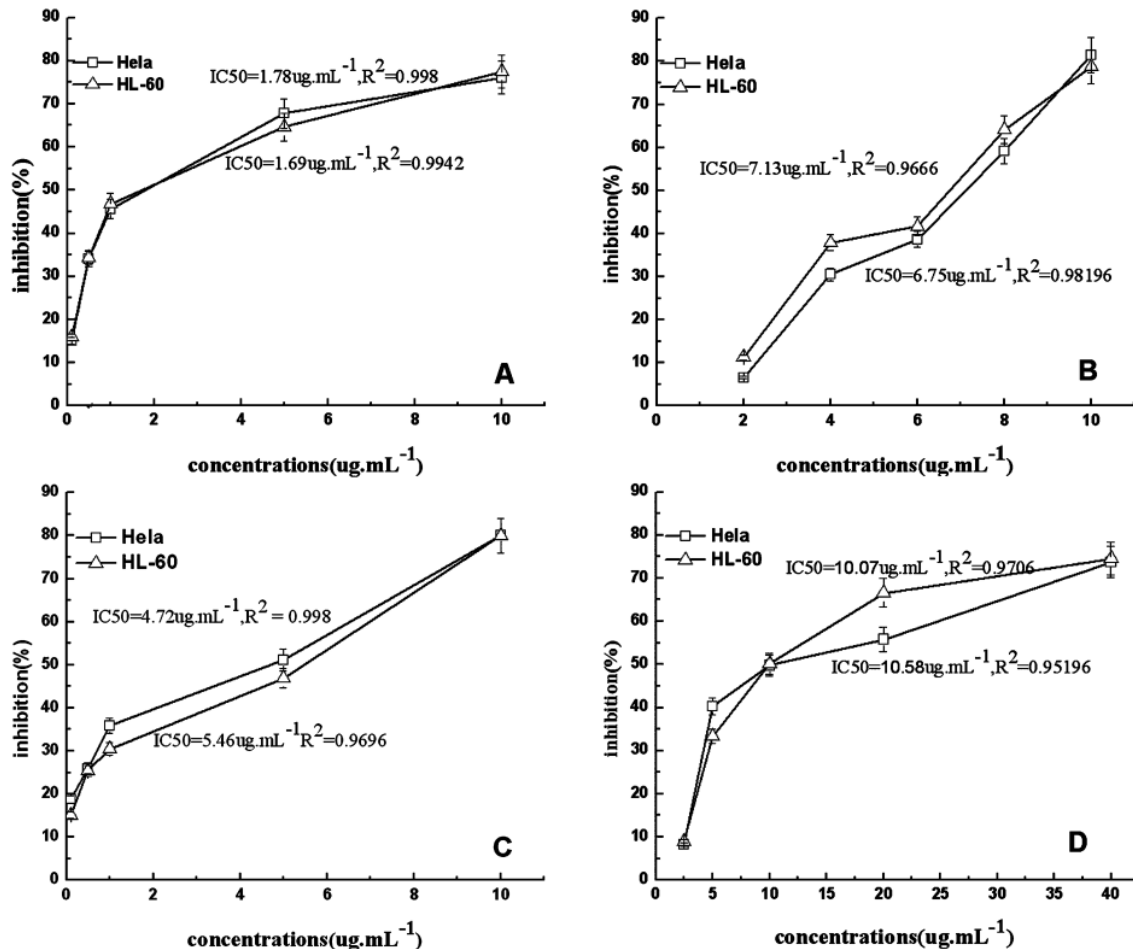


图 1 四种抗肿瘤药物对 HeLa 细胞及 HL-60 细胞增殖的影响。A 紫杉醇 B 顺铂 C 阿霉素 D 5- 氟尿嘧啶。

Fig. 1 Effect of the four antineoplastic drugs in HeLa and HL-60 cells : A, paclitaxel B, cisplatin C, doxorubicin D, 5-FU

具有高效、可靠、灵敏、经济,实验周期短等优势。目前,斑马鱼的大规模筛选已从单纯筛选影响斑马鱼发育的药物发展到筛选细胞周期抑制剂、细胞凋亡诱导剂、血管生成抑制剂/促进剂、细胞色素调节剂、动脉缩窄、心脏节律调节剂及行为调控药物等多方面^[15]。

本研究结果显示,阿霉素、紫杉醇、顺铂及 5- 氟尿嘧啶四种药物对 HL-60 及 HeLa 两株细胞增殖均有较强的抑制作用,其 IC_{50} 介于 $1\sim 10 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 之间,其中紫杉醇活性最强,其他顺序为阿霉素 > 顺铂 > 5- 氟尿嘧啶。四种药物对斑马鱼胚胎发育也表现出了明显毒性,其作用强度顺序与细胞毒性基本一致,且均可致胚胎死亡和发育畸形,发育畸形主要表现为 脊柱弯曲、围心腔水肿及尾部弯曲,表明斑马鱼胚胎较肿瘤细胞对药物的敏感性更高。

四种抗肿瘤药物中阿霉素为抗生素类抗肿瘤药,它与铂类配合物抗肿瘤药顺铂的抗肿瘤作用机制相似,均是直接与 DNA 发生反应,从而抑制 DNA 的复制与 RNA 的转录,最终抑制细胞的有丝分裂。紫杉醇为植物来源的双萜烯结构的抗肿瘤药物,它是一种新型的抗微管药物,主要通过抑制微管解聚化从而阻断细胞的有丝分裂。而 5- 氟尿嘧啶属于抗代谢药,其主要作用是在体内经活化途径生成 5- 氟尿嘧啶脱氧核苷酸 (5F-dUMP),与胸苷酸合成酶的活性中心共价结合,抑制此酶

的活性,使脱氧胸苷酸缺乏,DNA 合成障碍。5- 氟尿嘧啶对斑马鱼胚胎的 LD_{50} ($56.2 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) 显著高于肿瘤细胞的 IC_{50} (HeLa $10.58 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, HL-60 $10.07 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$),表明斑马鱼胚胎对 5- 氟尿嘧啶敏感性差。恶性肿瘤与斑马鱼胚胎的共同之处就在于二者均处于细胞快速分裂的状态,需要大量的供细胞生长及分裂的原料。而斑马鱼胚胎在生长发育过程中主要靠卵黄囊提供原料,卵黄囊中含有丰富的核酸等物质作为 DNA 合成底物,可能是其对抗代谢药物 5- 氟尿嘧啶不敏感的原因之一,有待进一步研究。

参考文献(References)

- [1] 陈粉丽, 张松林, 李运彩. 斑马鱼胚胎毒理学研究进展[J]. 湖北农业科学, 2010, 49 (4) : 1484-1486
Chen Fen-li, Zhang Song-lin, Li Yun-cai. Advances in toxicology research on zebrafish embryos[J]. Hubei Agricultural Sciences, 2010, 49 (4) : 1484-1486
- [2] 梁爽. 斑马鱼在新药药理毒理方面的研究[J]. 中山大学研究生学刊, 2009, 30 (3) : 26-31
Liang Shuang. Zebrafish as a pharmacological and toxicological tool in drug discovery and development [J]. Journal of the graduates SUN YAT-SEN University (natural sciences, medicine), 2009, 30 (3) : 26-31
- [3] 刘敬强, 佟侃, 崔景荣. 斑马鱼在肿瘤药理学研究中的应用[J]. 中国药理学杂志, 2010, V45 (23) : 1800-1803

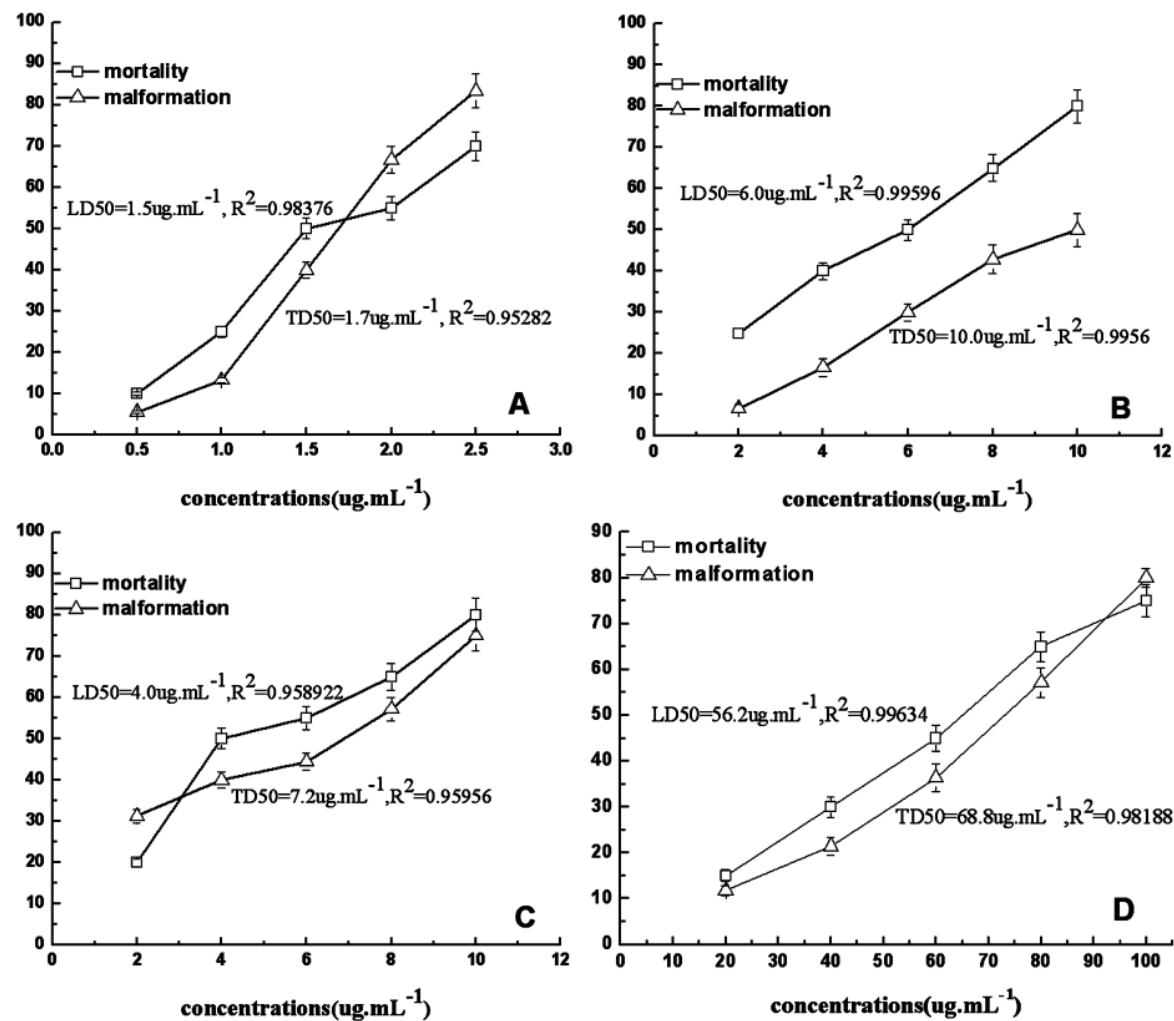


图 2 四种抗肿瘤药物对斑马鱼胚胎发育的影响。A 紫杉醇 B 顺铂 C 阿霉素 D 5- 氟尿嘧啶。

Fig. 2 Effects of four antineoplastic drugs on zebrafish embryos development. A, paclitaxel B, cisplatin C, doxorubicin D, 5-FU

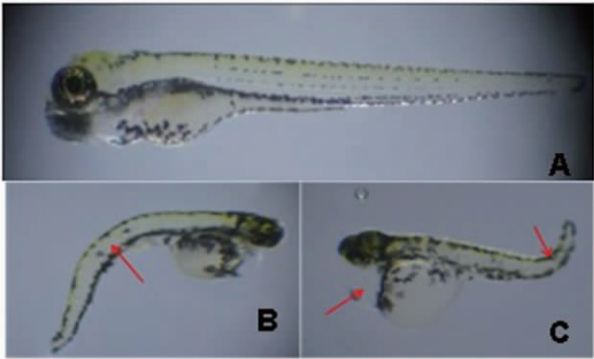


图 3 四种抗肿瘤药物对斑马鱼胚胎的致畸作用

Fig. 3 The four drugs have teratogenic effect on zebrafish embryos
正常斑马鱼仔鱼 (A), 抗肿瘤药物导致的斑马鱼胚胎畸形 脊柱弯曲
(B)、围心腔水肿及尾部弯曲 (C) (10×)
Normal zebrafish(A), abnormalities induced by the antitumor drugs: spinal
column curving(B), edema in pericardial sac and curvature of the tail (C)
(10×)

Liu Jing-tao, Tong Kan, Cui Jing-rong. Application of Zebrafish in
Tumor Pharmacology Research [J]. Chinese Pharmaceutical Journal,
2010,V45(23):1800-1803

[4] 汪晓华, 熊思东. 斑马鱼一种新的免疫学研究模式生物 [J]. 生命的
化学,2003,23(3):206-208
Wang Xiao-hua, Xiong Si-dong. Zebrafish: A New Model Organism
in Immunological Research[J]. Chemistry of Life,2003,23(3):206-208
[5] 于学慧, 张世栋, 张承梅. 发育生物学的理想动物模型 - 斑马鱼[J].
中国实验动物学杂志. 2001, 11(3): 172-175
Yu Xue-hui, Zhang Shi-dong, Zhang Cheng-mei. Zebrafish as a
model system for developmental genetics [J]. Chinese Journal of Lab
Animal Sciences,2001,11(3):172-175
[6] 牛荣丽, 闫松, 杜长青, 等. 抗肿瘤新药研究的新型模式生物斑马鱼.
中国新药杂志[J]. 2006, 15(7): 496-500
Niu Rong-li, Yan Song, Du Chang-qing, et al. Recent advances of
toxicological exploitation in the research and development of new
drug: nonclinical safety evaluation[J]. Chinese Journal of New Drugs,
2006,15(7):496-500
[7] 方薇, 曾静, 王付利. 模式生物斑马鱼在人类疾病研究中的应用[J].
医学信息, 2010 337-338
Fang Wei, Zeng Jing, Wang Fu-li. Application of the model organism
zebrafish in study of human disease [J]. Medical Information,2010:
337-338

- el plus Cisplatin in the Treatment of Advanced Ovarian Cancer by Different Administration Routes[J]. Anti-tumor Pharmacy,2012,2(1): 61-64
- [4] 张颖,王建,王东,等. 紫杉醇加铂类和环磷酰胺加铂类方案对卵巢上皮性癌疗效[J]. 现代生物医学进展,2009,9(1):66-68
Zhang Yin, Wang Jian, Wang Dong, et al. Comparison of Curative Effect in Treatment of Ovarian Carcinoma by Platinum plus Taxinol or Platinum plus Cyclophosphamide[J]. Progress in Modern Biomedicine,2009,9(1):66-68
- [5] 郝颂华,杨玲竹,王欣. 参麦注射液联合 TP 方案治疗晚期卵巢癌疗效观察[J]. 肿瘤基础与临床, 2010,(4):315-316
Hao Song-hua, Yang Ling-zhu, Wang Xin, et al. Effects of Shenmai Injection Combined with TP Regimen on the Treatment of Advanced Ovarian Cancer[J]. Basic and Clinical Oncology,2010,(4):315-316
- [6] 徐力,陈敏. 桂枝茯苓丸加减联合 DP 方案治疗晚期卵巢癌 20 例[J]. 现代中医药, 2011,(2):11-14
Xu Li, Chen Min. 20 cases patients with advanced ovarian cancer in the treatment of Guizhifulin capsule combined with DP Regimen [J]. Modern Traditional Chinese Medicine,2011,(2):11-14
- [7] Kohorn E I. The new FIGO 2000 staging and risk factor scoring system for gestational trophoblastic disease: description and critical assessment[J]. Int J Gynecol Cancer,2001,11(1):73-77
- [8] Clark O H, Benson A R, Berlin J D, et al. NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology: neuroendocrine tumors [J]. J Natl Compr Canc Netw,2009,7(7):712-747
- [9] Piccart M J, Bertelsen K, James K, et al. Randomized intergroup trial of cisplatin-paclitaxel versus cisplatin-cyclophosphamide in women with advanced epithelial ovarian cancer: three-year results [J]. J Natl Cancer Inst,2000,92(9):699-708
- [10] Petricoin E F, Ardekani A M, Hitt B A, et al. Use of proteomic patterns in serum to identify ovarian cancer [J]. Lancet,2002,359(9306): 572-577
- [11] McGuire W P, Hoskins W J, Brady M F, et al. Cyclophosphamide and cisplatin compared with paclitaxel and cisplatin in patients with stage III and stage IV ovarian cancer[J]. N Engl J Med,1996,334(1):1-6
- [12] 孙燕,张湘茹,洪婉君,等. 安素泰治疗晚期肿瘤[J]. 中国新药杂志. 1998(3):10-13
Sun Yan, Zhang Xiang-ru, Hong Wan-jun, et al. Results of paclitaxel in the management of advanced cancer[J]. Chinese New Drugs Journal,1998(3):10-13
- [13] 毛文娟. TP 方案治疗 81 例卵巢癌的近期疗效观察 [D]. 大连医科大学, 2011
Mao Wen-juan. Surveys of Short-term Efficacy of TP Therapeutic Regimen Applied to 81 Cases of Ovarian Cancer Patients [D]. Dalian medical university,2011
- [14] Hennessy B T, Coleman R L, Markman M. Ovarian cancer [J]. Lancet,2009,374(9698):1371-1382
- [15] Johan O. R. Gustafsson, Martin K. Oehler, Andrew Ruskiewicz, et al. MALDI Imaging Mass Spectrometry (MALDI-IMS) Application of Spatial Proteomics for Ovarian Cancer Classification and Diagnosis[J]. Int. J. Mol. Sci,2011,12(1):773-794
- [16] Payam Zahedi, Raquel De Souza, Loan Huynh, et al. Combination Drug Delivery Strategy for the Treatment of Multidrug Resistant Ovarian Cancer[J]. Mol. Pharmaceutics,2011,8 (1):260-269
- [17] 刘玉莲,杨丛忠. 黄芪药理作用概述[J]. 中国药业,2004,(10): 79
Liu Yu-lian, Yang Cong-zhong. Summarizing the pharmacological function of Huangqi[J]. China Pharmaceuticals,2004,(10):79

(上接第 5217 页)

- [8] 于学慧, 张世栋, 张承梅. 抗肿瘤药物研究的新型模式生物斑马鱼 [J]. 中国新药杂志, 2006, 15 (7) :496-500
Yu Xue-hui, Zhang Shi-dong, Zhang Cheng-mei. Zebrafish: a new model for anti-cancer agents[J]. Chinese Journal of New Drugs,2006,15 (7) :496-500
- [9] Stnnae M, Braunbeek T. Effects of triphenyltin acetate on survival, hatching success, and liver ultrastructure of early life stages of zebrafish(D.rerio)[J]. Ecotoxicol Environ Safety,1999,44:25-39
- [10] Charles B, Kimmel, William W, et al. Stages of embryonic development of the zebrafish[J]. Development Dynamics,1995,203:253-310
- [11] 袁宗勤, 于燕光, 丛日浩, 等. 温度对斑马鱼胚胎发育的影响研究 [J]. 现代农业科学. 2009,16(4):188-220
Yuan Zong-qin, Yu Yan-guang, Cong Ri-hao, et al. A Study on effects of temperature on embryo development in zebrafish [J]. Modern Agricultural Sciences,2009,16(4):188-220
- [12] 李乙根, 黄文瑾, 黄诚. 斑马鱼在新药发现中的应用[J]. 生命科学, 2011,3 (3) :173-178
Li Yi-gen, Huang Wen-jin, Huang Cheng. Zebrafish in drug discovery [J]. Chinese Bulletin of Life Sciences,2011,3 (3) :173-178
- [13] 张化莲, 张梅月, 周爱青. 紫杉醇对宫颈癌 Hela 细胞增殖和荷瘤裸小鼠肿瘤生长抑制作用[J]. 肿瘤基础与临床,2006, 19(4): 291-293
Zhang Hua-lian, Zhang Mei-qing, Zhou Ai-qing. The effect of inhibition of growth induced by paclitaxel in cervical cancer Hela Cells[J]. Journal of Basic and Clinical Oncology,2006,19(4):291-293
- [14] 黄慧琳, 刘华钢, 蒙怡, 等. 氯化两面针碱和羟基喜树碱对斑马鱼胚胎孵育的影响[J]. 中国实验方剂杂志, 2011, 17(21): 238-241
Huang Hui-lin, Liu Gang-hua, Meng Yi, et al. Effect of nitidine chloride and hydroxycamptothecine on development of zebrafish embryo [J]. Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae, 2011,17(21):238-241
- [15] Liu S, Leach S D. Zebrafish models for cancer [J]. Annu Rev Pathol, 2011,6:71-93