

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2014.21.012

碲化镉量子点对 PC-12 细胞的细胞毒性研究 *

鲍一苓 李亦白 樊 佳 葛亚坤[△]

(杭州电子科技大学生命信息与仪器工程学院 浙江 杭州 310018)

摘要 目的:探讨碲化镉(CdTe)量子点的生物安全性。**方法:**以水热法制备的、巯基丁二酸(MSA)包被的碲化镉(CdTe)量子点为研究对象,作用于体外培养的鼠神经元细胞(PC-12)。实验设立对照组和不同浓度 CdTe QDs 作用组。CdTe QDs 作用于细胞后,采用倒置荧光显微镜分别观察量子点作用下的细胞形态与细胞对量子点的摄取情况;使用 alamarBlue 检测 CdTe QDs 对细胞存活率的影响;Hoechst 33342 单染法观察 CdTe QDs 对 PC-12 细胞核形态的影响;Annexin V-FITC 单染检测 CdTe QDs 对 PC-12 细胞凋亡的影响。**结果:**CdTe 量子点作用后,低浓度实验组细胞变化不明显,高浓度实验组中的细胞的形态发生改变,引起细胞肿胀变圆,细胞数量减少,存活率显著下降;在染色下可见明显的细胞凋亡。**结论:**量子点与细胞接触后会通过胞吞途径进入细胞,汇聚于多种细胞器,对细胞器的功能造成损害,进而引发多种途径的细胞凋亡机制并引发细胞死亡。

关键词:碲化镉(CdTe);量子点;PC-12;细胞活性;细胞凋亡

中图分类号:Q95-3;Q75;Q78 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2014)21-4047-04

Cytotoxicity of Cadmium Telluride Quantum Dot on PC-12 Cells*

BAO Yi-ling, LI Yi-bai, FAN Jia, GE Ya-kun[△]

(College of Life Information Science and Instrument Engineering, Hangzhou Dianzi University, Hangzhou, Zhejiang, 310018, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the biological security of CdTe QDs. **Methods:** CdTe QDs which was made by hydrothermal method and covered by MSA was chosen as the object. The cells were divided into control group and CdTe QDs-treated groups with different concentrations of CdTe QDs. Affected by CdTe QDs. The cell morphology and the fluorescence of CdTe QDs was observed by inverted fluorescence microscope. The cell survival rate was examined by alamarBlue, and cell apoptotic morphology in staining was detected by Hoechst 33342. The influence of CdTe QDs on the apoptosis of PC-12 was examined by Annexin V-FITC single-stain procedure. **Results:** Affected by CdTe QDs, cells in the experimental group treated with low concentration of CdTe QDs changed not obviously while the morphology of those treated with high concentration obviously changed. In addition, they swelled and became round, the number of which decreased, and the survival rate decreased significantly. It was obvious apoptosis in staining. **Conclusions:** We consider that quantum point contact with cells, will be uptaken into the cell, together in various organelle, damage the function of the organelle, cause various pathways of apoptosis mechanism and cause cell death at last.

Key words: Cadmium telluride; Quantum dots; PC-12; Cell viability; Apoptosis

Chinese Library Classification: Q95-3; Q75; Q78 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2014)21-4047-04

前言

光伏产业随着社会对可再生能源的重视,在全球快速发展。碲化镉(CdTe)薄膜太阳能电池作为新型太阳能电池展现了它独特的优势,有广阔的发展前景。中国在近些年也开始引入生产碲化镉(CdTe)薄膜太阳能电池的技术,兴建生产流水线。CdTe 纳米晶粉是生产碲化镉(CdTe)薄膜太阳能电池的主要原材料。量子点属于纳米晶,在尺度上更小,具有量子效应^[1,2]。为在降低成本的同时获得高能量转化率,第三代太阳能电池已经开始处于研发阶段。基于胶体量子点的太阳能电池因具有可溶液工艺制备和潜在的多激子产生效应等特点有望能在降低制备成本的同时提高电池的能量转化效率,从而引起了人们的广泛关注。目前这一领域仍处于探索阶段,但碲化镉量子点因其

独特光学特性在第三代太阳能电池的研究中依然是热点^[3,4]。

因此随着光伏产业的发展,碲化镉量子点这种纳米颗粒与大众的接触机会越来越大,因此探讨这种纳米材料的生物安全性显得尤为重要。本实验选取了一种水热法制备的、巯基丁二酸(MSA)包被的碲化镉(CdTe)量子点为研究对象,作用于体外培养的鼠神经元细胞(PC-12),来模拟量子点进入机体后与器官的接触。在纳米尺度下物质的性质会有很大不同,很多研究表明纳米尺度物质有更强的毒性,但具体机理尚不明确^[5]。量子点与机体接触时,一方面有可能通过呼吸途径进入体内,先进入呼吸系统,随后可能通过循环系统进入神经系统对人造成更大伤害。除呼吸途径,因为量子点纳米级的尺度,也很可能通过皮肤进入体内^[6]。本实验主要探讨量子点对于神经系统可能造成的危害,检测量子点作用下 PC-12 细胞的活性,细胞凋亡情

* 基金项目:浙江省自然科学基金项目(Y2110775);浙江省大学生科技创新活动计划(新苗计划)项目(2013R407038)

作者简介:鲍一苓(1993-),女,本科,研究方向:生物医学信息工程, E-mail:343938615@qq.com

△ 通讯作者:葛亚坤(1981-),女,博士,主要研究方向:生物制造

(收稿日期:2013-11-27 接受日期:2013-12-24)

况等,对碲化镉量子点的生物安全性做评价。

1 材料与方法

1.1 细胞及主要试剂

鼠神经元细胞(PC-12 细胞),购自中科院上海细胞所。alarBlue,购自美国 life technology 公司。Hoechst 33342,购自美国 sigma 公司。FBS(胎牛血清),购自四季青公司。HS(马血清),购自 Gibco 公司。改良型 RPMI-1640,购自 HyClone 公司。水溶性 CdTe 量子点(巯基丁二酸包被),由杭州电子科技大学生仪学院严明老师提供。96 孔板,6 孔板,购自美国 costar 公司。DMSO 等试剂,国产,分析纯。

1.1.1 巯基丁二酸(MSA)包被的碲化镉(CdTe)量子点特征 碲化镉量子点呈球形,颗粒均匀,具有良好的单分散性和晶体结构。根据高分辨率图像估计,碲化镉量子点的平均尺寸在 4 nm 左右^[7]。

量子点表面带有负电荷,由于细胞膜表面也带有电荷,量子点表面的电荷可能会导致其在与细胞相互作用的过程中通过静电吸附结合到细胞膜表面,甚至会被细胞通过不同形式摄取到细胞内,进而影响细胞的功能甚至产生严重的细胞毒性。但在生理 PH 条件下所带电荷较低。CdTe 量子点具有荧光特性,且在生理 pH 值下荧光较强,激发光波长 405 nm,检测波长 599 nm,发红光^[8]。

1.1.2 alamarBlue 此试剂的主要成分是一种氧化还原指示剂其在氧化状态下呈现紫蓝色无荧光性,而在还原状态下,转变为呈粉红或红色荧光的还原产物^[9]。

1.1.3 Hoechst 33342 利用 Hoechst 33342 与 DNA 结合的特性可以给细胞染色用于检测细胞凋亡^[10]。

1.1.4 Annexin V Annexin V 是一种检测细胞凋亡的试剂,在正常细胞中,磷脂酰丝氨酸只分布在细胞膜脂质双层的内侧,细胞发生凋亡早期,膜磷脂酰丝氨酸(PS)由脂膜内侧翻向外侧。Annexin V 是一种分子量为 35-36kD 的 Ca 依赖性磷脂结合蛋白,能与细胞凋亡过程中翻转到膜外的磷脂酰丝氨酸高亲和力特异性结合。因此 Annexin V 是检测细胞早期凋亡的灵敏指标^[11,12]。用标记了 FITC 的 Annexin V 作为荧光探针,利用荧光显微镜可检测细胞凋亡的发生,正常细胞和早期凋亡细胞的细胞膜是完整的^[13]。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养及溶液配制 PC-12 细胞培养于体积分数为 5%胎牛血清和 10%马血清的改良型 RPMI-1640 培养液中,在 5% CO₂,37 °C 培养箱中进行培养,2-3 天传代 1 次。实验中用的量子点为已经用 PBS 配置,并经 0.22 μm 滤膜过滤除菌的量子点溶液,原液浓度为 500 μg/mL。PC-12 细胞的量子点浓度分组选取 0.625、1.25、2.5、5、10 μg/mL。从 1.2.2 至 1.2.4 的实验都选取这一量子点浓度。

1.2.2 alamarBlue 检测 CdTe QDs 对 PC-12 细胞增殖的影响 取对数生长期的 PC-12 细胞,接种于 96 孔板中,2×10⁴ 个细胞/孔,每孔设 5 复孔,培养 24 h 后,吸弃上清,用无血清培养液洗 2 次,按已分好的浓度组换成含 CdTe QDs 的无血清培养液,置于 5% CO₂,37 °C 培养箱中培养。作用 24 h 后,加入 20 μL alamarBlue 溶液,再培养 2 至 3 h,在酶标仪下测量每个孔

在 600 nm 和 570 nm 波长下的吸光度。

1.2.3 Hoechst 33342 单染法观察 CdTe QDs 对 PC-12 细胞核形态的影响 量子点作用 24 h 后,弃上清,用 0.01 mol/L PBS 洗一次,再用加入的多聚甲醛固定细胞 30 分钟,固定后弃上清,再用 PBS 洗一次,滴加 4 μg/mL Hoechst 33342 染液适量(能够覆盖住细胞),避光染色 30 分钟,在正置荧光显微镜下,紫外光激发下观察、拍照。

1.2.4 Annexin V-FITC 单染检测 CdTe QDs 对 PC-12 细胞凋亡的影响 将细胞接种于 96 孔板上。不同浓度 CdTe QDs 作用于 PC-12 细胞,24 h 后吸弃上清,PBS 液洗涤后每孔加 Binding Buffer 195 μL,Annexin V 5 μL,室温避光反应 10 min,立即在倒置荧光显微镜下,以蓝光激发观察样品,拍照。染色后,凋亡细胞的细胞膜发绿光。

1.3 统计学方法

实验数据以均数($\bar{x} \pm s$)表示,Excel 做图,组间数据进行 t 检验,P<0.05,被认为具有显著差异:P<0.01,被认为具有非常显著差异^[14]。

2 结果

2.1 量子点作用下 PC-12 细胞形态

图 1 为在不同浓度量子点作用下,经过 24 h 后细胞形态的变化。对照组与 0.625、1.25 μg/mL 处理组相比较,均不存在很显著差异。从 2.5 μg/mL 已经能明显看出细胞出现变圆脱落现象。到 10 μg/mL 时细胞已经大量变圆脱落。实验结果表明:量子点具有细胞毒性,在较低浓度下已使细胞大量变圆,且随着浓度升高,毒性有极显著的增强,10 μg/mL 量子点溶液对细胞已经有很强的毒性。

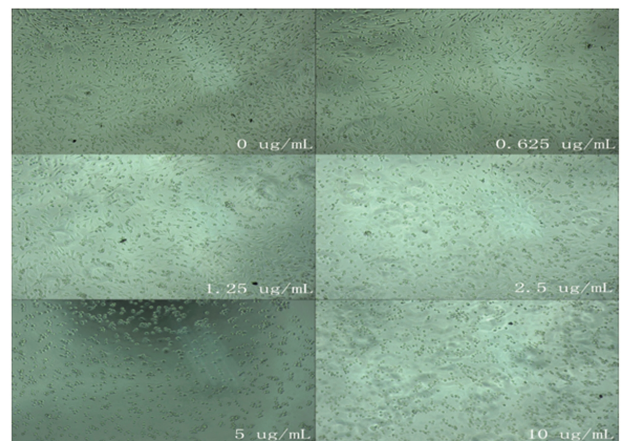


图 1 PC-12 细胞形态变化(24 h)

Fig. 1 Morphological changes of PC-12(24h)

2.2 alamarBlue 法检测量子点对 PC-12 细胞存活率的影响

在实验中测得的 600 nm 和 570 nm 波长下的吸光度,用于细胞活性的计算。计算公式如下:

$$5 = \frac{(\epsilon_{\text{OX}})_{\lambda_2} A_{\lambda_1} - (\epsilon_{\text{OX}})_{\lambda_1} A_{\lambda_2}}{(\epsilon_{\text{RED}})_{\lambda_1} A_{\lambda_2} - (\epsilon_{\text{RED}})_{\lambda_2} A_{\lambda_1}}$$

公式 5 用于计算 alamarBlue 的还原率,还原率越高说明细胞活性越强。

6.=

$$\frac{(\varepsilon_{\text{OX}})_{\lambda_2} A_{\lambda_1} - (\varepsilon_{\text{OX}})_{\lambda_1} A_{\lambda_2} \text{ of test agent dilution}}{(\varepsilon_{\text{RED}})_{\lambda_1} A_{\lambda_2} - (\varepsilon_{\text{RED}})_{\lambda_2} A_{\lambda_1} \text{ of untreated positive growth control}} \times 100\%$$

公式 6 用于计算实验组与对照组的还原率的百分差。计算

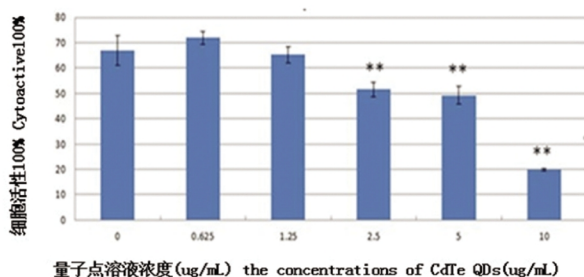


图 2 CdTe 量子点对 PC-12 细胞活性的抑制(作用 24h)

(*P<0.05,**P<0.01 vs 正常对照组)

Fig. 2 the effect on cytoactive of PC-12 inhibition by CdTe QDs (24h)

(*P<0.05,**P<0.01 vs control group)

表 1 CdTe 量子点作用下细胞增殖的变化(*P<0.05,**P<0.01 vs 正常对照组)

Table 1 Changes of cell's proliferation under the action of CdTe QDs(*P<0.05,**P<0.01 vs control group)

Group	Dose (ug/mL)	Activity100%(24h) PC-12
Control	0	67.0273± 5.8454
CdTe QDs	0.625	71.9723± 2.4865
	1.25	65.3235± 3.2276
	2.5	51.4578± 2.8176**
	5	49.2354± 3.5503**
	10	19.8406± 0.5764**

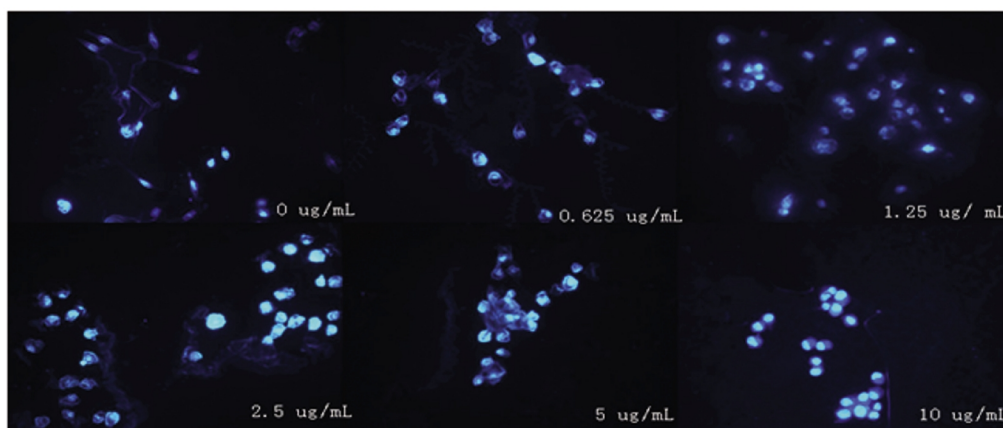


图 3 PC-12 细胞 Hoechst 33342 染色结果

Fig. 3 Results of PC-12 dyeing in Hoechst 33342

2.4 Annexin V-FITC 单染检测 CdTe QDs 对 PC-12 细胞凋亡的影响

PC-12 细胞正常形态较长,中间较圆两边细长,分枝较多,呈明显的神经细胞形态。从图 4 中可以看到被染色的细胞基本都为圆形,随着量子点浓度增大凋亡的细胞增多,与普通光下观察比较发现形态完好的细胞基本没有被染色,说明 PC-12 细胞凋亡后细胞形态会发生明显变化。

结果显示了与对照组相比实验组对细胞活性的抑制性。

如图 2(由公式 5 进行计算)所示,CdTe 量子点对 PC-12 细胞具有显著的毒性效应。检测结果显示,2.5 ug/mL,5 ug/mL,10 ug/mL 浓度的 CdTe 量子点的各组细胞活性与正常组相比均具有非常显著差异(P<0.01)。经公式 6 计算,得表 1 结果,同样可知 PC-12 在低浓度下活性就被明显抑制。

2.3 Hoechst 33342 单染法观察 PC-12 细胞凋亡形态

图 3 为 PC-12 细胞在 Hoechst 33342 染色后观察到的结果。细胞发生凋亡时,染色质会固缩。所以 Hoechst 33342 染色后,在荧光显微镜下观察,正常细胞的细胞核呈正常的蓝色,而凋亡细胞的细胞核会呈致密浓染,或呈碎块状致密浓染,颜色有些发白。从图 3 中我们能观察到,随着量子点浓度升高,有更多的细胞核会呈致密浓染。较高浓度的三组与较低浓度的三组相比较,高浓度量子点作用下亮度明显高于低浓度作用下的细胞。实验结果表明:CdTe 量子点会促进细胞凋亡,且在高浓度下有更多细胞发生凋亡。

3 讨论

3.1 CdTe 量子点对 PC-12 细胞的细胞活性影响

研究表明,量子点进入细胞后被转运至溶酶体,内质网和线粒体等多个细胞器^[15]。由于细胞器是维持细胞正常生理功能的基础,同时又对外源性有毒物质非常敏感,细胞器损伤将影响细胞内稳态,造成细胞功能异常。本实验中所用的 PC-12 细

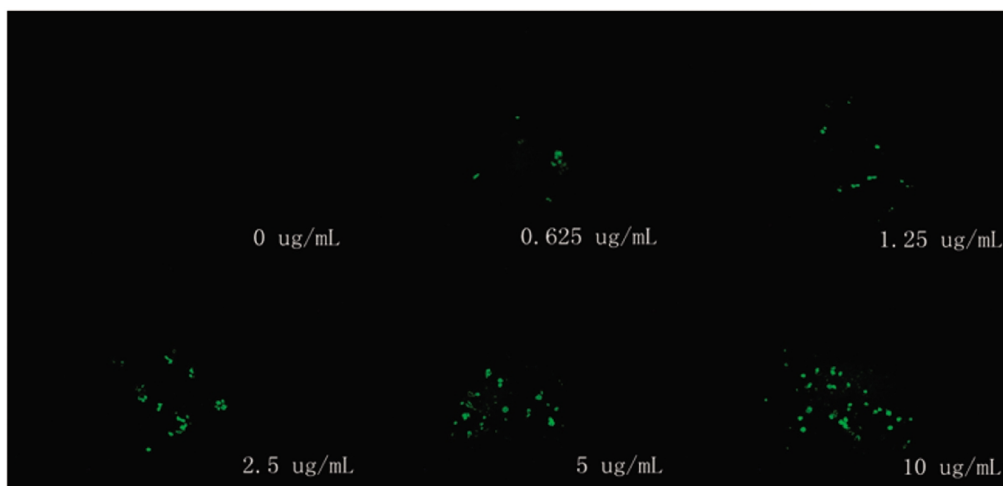


图4 Annexin V-FITC 染色观察 PC-12 细胞凋亡

Fig.4 Apoptosis of PC-12 dyeing in Annexin V-FITC

胞是大鼠肾上腺嗜铬细胞瘤细胞,它位于肾上腺髓质,在局部高浓度的皮质激素作用下,它被特化成内分泌细胞,在体外培养时表现出类似神经细胞的特点,因此广泛地被当作神经元模型^[16]。根据实验结果可知,PC-12 细胞对量子点较为敏感,在较低浓度量子点作用下细胞活性明显下降,说明 CdTe 量子点对 PC-12 细胞具有较强细胞毒性,可进一步推测碲化镉量子点对神经系统有较强的毒性。

3.2 CdTe 量子点对 PC-12 细胞的细胞凋亡影响

本研究也表明,量子点会引起细胞凋亡,并进一步致其死亡。细胞凋亡是细胞的基本特征之一,它在机体的胚胎发育、组织修复、内环境的稳定等方面起着十分重要的作用。细胞凋亡是由基因控制,为维持内环境稳定,细胞自主的有序的死亡过程。细胞凋亡与细胞坏死不同,细胞凋亡不是一件被动的过程,而是主动过程,它涉及一系列基因的激活、表达以及调控等的作用,它并不是病理条件下,自体损伤的一种现象,而是为更好地适应生存环境而主动争取的一种死亡过程^[17,18]。许多外源性化学物质也能通过引起细胞凋亡而体现其毒性作用。细胞凋亡过程十分复杂,存在多种途径。主要包括,线粒体途径,内质网信号途径,细胞凋亡的死亡受体途径等^[19,20]。在实验中通过凋亡检验,发现碲化镉量子点可以诱发细胞凋亡,且存在浓度和时间依赖性。实验中我们观察了细胞对量子点吞噬情况,与凋亡检测相比较发现凋亡越明显的细胞吞噬的量子点也越多,而已有研究表明量子点能够通过胞吞途径进入细胞,并会对多种细胞器造成损伤,包括线粒体和内质网,而这两种细胞器是引起细胞凋亡的重要途径。研究也发现 CdTe 量子点的确能够通过线粒体凋亡途径和内质网信号途径的激活造成细胞凋亡。综上所述,我们认为量子点与细胞接触后会通过胞吞进入细胞,汇聚于多种细胞器,对细胞器的功能造成损害,进而引发多种途径的细胞凋亡机制,并引发细胞死亡。且这一过程存在浓度和时间依赖性。

随着碲化镉作为主要原材料的太阳能电池快速普及,其在生产和使用中可能产生的纳米颗粒污染物可能对人体及其他生物造成伤害。本次实验从不同角度研究了碲化镉量子点对不同细胞系的细胞毒性,对大众了解这种光伏产业纳米颗粒污染

物有一定帮助。纳米材料在近些年快速兴起,但因为纳米技术还是一种较前沿的科学,纳米材料的生物安全性还没有建立起一个完整的评价机制,对人体的毒性作用机制也没有非常全面的研究。实验已经证明碲化镉量子点有一定生物毒性,因此碲化镉材料在如光伏产业等商品化大规模应用中,应保证生产和应用安全,建立严格的生产标准和回收制度,政府部门应对相关企业采取妥善的监管制度,切实保证污染物不会对环境和公众造成伤害。

参考文献(References)

- [1] 夏庚培,蔡伟,郑家贵,等. CdTe 多晶薄膜太阳能电池的结构改进[J]. 太阳能学报, 2005, 03: 73-76
Xia Geng-pei, Cai Wei, Zheng Jia-gui, et al. improved structure of CdTe polycrystalline thin film solar cells[J]. Solar journal, 2005, 03: 73-76
- [2] Alivisatos AP. Semiconductor clusters, nanocrystals, and quantum dots [J]. Science, 1996, 271, 933-937
- [3] 罗翀. 多晶硅及碲化镉薄膜光伏材料关键制备技术的研究 [D]. 南开大学, 2010
Luo Chong. Research on polycrystalline silicon and cadmium telluride thin film photovoltaic materials preparation technology [D]. Nankai University, 2010
- [4] 翟光美. IV-VI 族化合物量子点太阳能电池的制备及其性能研究 [D]. 华中科技大学, 2012
Zhai Guang-mei. Study on the performance of Science and Technology and preparation of IV-VI compound quantum dot solar cells [D]. Huazhong University, 2012
- [5] 赵冬梅,孙立国,王彦杰,等. 碲化镉纳米晶的制备及应用 [J]. 化学展, 2012, 07: 1277-1293
Zhao Dong-mei, Sun Li-guo, Wang Yan-jie, et al. The preparation and application of CdTe nanocrystals [J]. Chemical Exhibition, 2012, 07: 1277-1293
- [6] 孙晓宁,孙康宁,朱广楠,等. 纳米颗粒材料的毒性研究与安全性展望[J]. 材料导报, 2006, 20(5): 5-7
Sun Xiao-ning, Sun Kang-ning, Zhu Guang-nan, et al. Prospect of toxicity and safety of nano particle material [J]. Journal of materials, 2006, 20(5): 5-7

(下转第 4172 页)

- [18] Vaughan CK., Mollapour M, Smith J.R, et al. HSP90-dependent activation of protein kinases is regulated by chaperone-targeted dephosphorylation of Cdc37[J]. *Mol Cell*, 2008, 31(6): 886-895
- [19] Freeman BC., Felts SJ, Toft DO, et al. The p23 molecular chaperones act at a late step in intracellular receptor action to differentially affect ligand efficacies[J]. *Genes Development*, 2000, 14(4): 422-434
- [20] Echtenkamp FJ, Zelin E, Oxelmark E, et al. Global Functional Map of the p23 Molecular Chaperone Reveals an Extensive Cellular Network[J]. *Molecular Cell*, 2011, 43(2): 229-241
- [21] Zheng M, Cierpicki T, Burdette AJ, et al. Structural Features and Chaperone Activity of the NudC Protein Family [J]. *Journal of Molecular Biology*, 2011, 409(5): 722-741
- [22] Zhang Ming-hao, Marta Boter, Li Kuo-yu, et al. Structural and functional coupling of Hsp90- and Sgt1-centred multi-protein complexes[J]. *EMBO J*, 2008, 27(20): 2789-2798
- [23] Zhang M, Kadota Y, Prodromou C, et al. Structural basis for assembly of Hsp90-Sgt1-CHORD protein complexes: implications for chaperoning of NLR innate immunity receptors[J]. *Mol Cell*, 2010, 39(2): 269-281
- [24] Wandinger SK., Richter K., Buchner J. The Hsp90 Chaperone Machinery[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2008, 283(27): 18473-18477
- [25] Prodromou, C. The 'active life' of HSP90 complexes [J]. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2012, 1823(3): 614-623
- [26] Macro Retzlaff, Franz Hagn, Lars Mitschke, et al. Asymmetric activation of the HSP90 dimer by its co-chaperone Aha1 [J]. *Mol. Cell*, 2010, 37(3): 344-354
- [27] Miyata Y. Protein kinase CK2 in health and disease: CK2: the kinase controlling the HSP90 chaperone machinery [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2009, 66(11-12): 1840-1849
- [28] Li J, Richter K, Reinstein J, et al. Integration of the accelerator Aha1 in the Hsp90 co-chaperone cycle [J]. *Nature Structural & Molecular Biology*, 2013, 20(3): 326-331
- [29] Eckert K., Saliou JM, Monlezun L, et al. The Pih1-Tah1 cochaperone complex inhibits Hsp90 molecular chaperone ATPase activity[J]. *Biol Chem*, 2010, 285(41): 31304-31312
- [30] Kundrat L, Regan L. Balance between folding and degradation for Hsp90-dependent client proteins: a key role for CHIP[J]. *Biochemistry*, 2010, 49(35): 7428-7438
- [31] Chadli A, Graham JD, Abel MG, et al. GCUNC-45 Is a Novel Regulator for the Progesterone Receptor/hsp90 Chaperoning Pathway [J]. *Molecular and Cellular Biology*, 2006, 26(5): 1722-1730

(上接第 4050 页)

- [7] 许臻, 李冬梅, 姚亚玲, 等. 硫脲修饰法制备高发光性能 CdTe 量子点[J]. *物理化学学报*, 2009, 06: 1201-1206
- Xu Zhen, Li Dong-mei, Yao Ya-ling, et al. Thiourea modified preparation of luminescent properties of CdTe quantum dots [J]. *Chinese Journal of Chemical Physics*, 2009, 06: 1201-1206
- [8] 严明. 碲化镉量子点对血管内皮细胞的毒性及相关机制研究[D]. 浙江大学, 2011
- Yan Ming. Study on vascular endothelial cell toxicity and mechanism of CdTe quantum dots[D]. Zhejiang University, 2011
- [9] 杨阳, 刘宝瑞, 钱晓萍. Alamar Blue 法用于体外培养细胞活性检测的方法研究[J]. *现代肿瘤医学*, 2006, 01: 6-8
- Yang Yang, Liu Bao-rui, Qian Xiao-ping. Research methods for detecting cell activity in vitro of Alamar Blue method[J]. *Modern medical journal*, 2006, 01: 6-8
- [10] 刘锡娟, 丁慧荣, 张宏. 用 DAPI 和 Hoechst33342 染色法检测 DNA 的流式细胞方法探讨 [J]. *北京大学学报 (医学版)*, 2010, 04: 480-484
- Liu Xi-juan, Ding Hui-rong, Zhang Hong. Discussion on the method for flow cytometry staining was used to detect DNA DAPI and Hoechst33342 [J]. *Journal of Peking University (Medical Sciences)*, 2010, 04: 480-484
- [11] 陈大明, 金小海, 罗志福. 放射性 Annexin V 活体检测细胞凋亡的研究进展[J]. *原子能科学技术*, 2004, 38(1): 35-42
- Chen Da-ming, Jin Xiao-hai, Luo Zhi-fu. Research progress of apoptosis detection of radioactive Annexin V in vivo [J]. *Atomic Energy Science and technology*, 2004, 38(1): 35-42
- [12] 朱霖, 刘钰沈, 锐何. Annexin V 在核医学细胞凋亡显像中的应用 [J]. *中华核医学杂志*, 2004, 24(6): 379-381
- Zhu Lin, Liu Meng-shen, Rui He. Annexin V application in nuclear medicine imaging of apoptosis [J]. *Chinese Journal of nuclear medicine*, 2004, 24(6): 379-381
- [13] 祁本忠, 陈大明, 杨红伟. 细胞凋亡显像剂 ^{99}Tcm -HYNIC-Annexin V 的制备及其生物评价[J]. *同位素*, 2006, 19(3): 140-145
- Qi Ben-zhong, Chen Da-ming, Yang Hong-wei. biological evaluation of the preparation of cell apoptosis imaging agent ^{99}Tcm -HYNIC-Annexin V[J]. *Isotope*, 2006, 19(3): 140-145
- [14] 刘闯碧. 用 Excel 做 t 检验与 F 检验 [J]. *海峡预防医学杂志*, 2002, 05: 67-68
- Liu Min-bi. T test and F test by Excel [J]. *Journal of Preventive Medicine*, 2002, 05: 67-68
- [15] 张云娇. 特异性表面结合肽调控稀土纳米材料自噬和毒性的研究 [D]. 中国科学技术大学, 2012
- Zhang Yun-jiao. Study on peptide regulation of rare earth nanomaterials autophagy and toxicity of combined with specific surface[D]. University of Science and Technology of China, 2012
- [16] 徐进. 乙酸铅诱导 PC 12 细胞凋亡的信号途径研究 [D]. 浙江大学医学院, 2008
- Xu Jin. Study on the signal pathway of lead acetate induced apoptosis of PC 12 cell[D]. Medical college of Zhejiang University, 2008
- [17] 汤睿, 朱正纲. 凋亡途径与肿瘤治疗 [J]. *世界华人消化杂志*, 2005, 13(20): 2469-2472
- Tang Rui, Zhu Zheng-gang. Theway of apoptosis and tumor treatment [J]. *World Journal of Gastroenterology*, 2005, 13(20): 2469-2472
- [18] 李娜, 高俊岩, 刘敏. 细胞凋亡和肿瘤的关系研究进展 [J]. *当代医学*, 2009(171): 13-14
- Li Na, Gao Jun-yan, Liu Min. the research progress of the relationship between cell apoptosis and tumor [J]. *Contemporary Medicine*, 2009 (171): 13-14
- [19] Evan.G, Littlewood.T. A matter of life and cell death [J]. *Science*, 1998, 28: 1317-1322
- [20] R.Kumar, P.E.Herbert, A.N.Warrens. An introduction to death receptors in apoptosis [D]. *International Journal of Surgery*, 2005 (3): 268-277