

doi:10.3969/j.issn.1672-5565.2016.02.05

# 单细胞凝胶电泳应用研究进展

蔡继翔, 刘 焯, 梁明才, 杨 林\*

(哈尔滨工业大学化工学院, 哈尔滨 150090)

**摘要:**单细胞凝胶电泳技术是被广泛使用的检测 DNA 损伤的技术,其具有灵敏度高、简便、经济、快速等各种优点。在近 30 年来,该技术广泛被应用于遗传毒理、环境监测、医学诊断等研究及各类实验证实方面。近些年单细胞凝胶电泳与荧光原位杂交等其他技术相结合后更是拓宽了它的应用范围,本文主要介绍了单细胞凝胶电泳的原理及优劣,并重点阐明了其在遗传毒理学、细胞凋亡、环境监测、群体生物学、临床诊断与治疗,生物信息学领域上的应用,并讨论了它的发展前景。

**关键词:**单细胞凝胶电泳;优势;应用;发展

中图分类号:Q523 文献标志码:A 文章编号:1672-5565(2016)02-095-05

## Research progress about the application of single cell gel electrophoresis

CAI Jixiang, LIU Ye, LIANG Mingcai, YANG Lin\*

(School of Chemical Engineering, Harbin Institute of Technology, Harbin 150090, China)

**Abstract:**The single cell gel electrophoresis is a common technology for the detection of DNA damage.It has the advantages of high sensitivity,economic,easy and fast.In the past 30 years three decades,this technology has been widely used in genetic toxicology,environmental monitoring,medical diagnostics and nutrition research.Recently,single-cell gel was widely used in many fields by combining with fluorescence in situ hybridization.This article reviewed the applications of single cell gel electrophoresis in various fields,and discussed its development prospect.

**Keywords:**Single cell gel electrophoresis;Advantage;Application;Development

单细胞凝胶电泳(Single cell gel electrophoresis, SCGE),又称彗星实验,是一种快速并大通量的检测 DNA 损伤的方法。20 世纪 70 年代末 Rydberg 和 Johanson 最早报道利用该方法直接定量检测单个细胞 DNA 损伤<sup>[1]</sup>。首先将靶细胞包埋于低熔点琼脂糖中,利用裂解液裂解,在弱碱性解旋液作用下使 DNA 解螺旋,中和后,利用丫啶橙染色并用光度计测定单双链,对比检测 DNA 损伤情况。但最终因其操作难度问题,该方法未能广泛应用。

为了提升此方法的敏感性,1984 年,Ostling 和 Johanson 发展了微凝胶电泳技术,该方法与现在的 SCGE 方法较为接近。同样,首先将细胞加入到低熔点琼脂糖中,将凝胶固定在载玻片后在裂解液作用下裂解,然后在中性(后发展碱性)条件下进行电泳,若有 DNA 断裂片段,则其会向阳极移动,从而形

成彗星尾巴,此 DNA 损伤程度与彗星尾长度成正比相关。该方法从诞生之初已历经 30 多年,随着时间的推移,这种方法已得到改进,但现在仍没有完全标准化。

## 1 单细胞凝胶电泳原理

造成细胞 DNA 断裂的原因比较复杂。其中,化学介质,如氧自由基(Reactive oxygen species, ROS)是极其重要的因素。一般地,细胞在氧自由基作用下,细胞内的 DNA 直接受到损伤,引起高级结构的变化,致使其超螺旋结构松散。SCGE 方法首先利用细胞裂解液,破坏检测细胞细胞膜,从而使内部小分子的 DNA 及其他成分因膜破坏而进入凝胶,但细胞中的大分子核 DNA 会仍留在原位,核骨

收稿日期:2015-11-19;修回日期:2016-04-12.

基金项目:国家自然科学基金面上项目(No.31371755)。

作者简介:蔡继翔,男,硕士研究生,研究方向:功能性食品;E-mail:nb200zhengjf@163.com.

\*通信作者:杨林,女,教授,博士生导师,研究方向:食品安全与功能研究;E-mail:ly6617@hit.edu.cn.

架会使其固定在原位。如果检测细胞 DNA 未出现损伤问题,结果图片会显示较为规则的圆形的荧光团,无拖尾现象,表明核 DNA 完整地停留在核基质中。若检测细胞 DNA 受到损伤,在碱性电泳液(pH > 13)的作用下,DNA 由双链解螺旋变为单链,在电泳作用下,损伤细胞 DNA 的单链断裂并且会向阳极迁移,形成拖尾。同样,细胞核 DNA 受损伤程度越高,产生的断链及 DNA 碎片会越多,最后荧光检测得到的彗星尾越长和彗尾越亮<sup>[2]</sup>。该实验最终通过荧光显微镜观察结果图片有无彗星及彗尾的亮度、长度、彗尾比例等,判断检测细胞 DNA 是否受到损伤及损伤程度。

## 2 单细胞凝胶电泳优劣

SCGE 在分析细胞 DNA 损伤方面相对快速、简单和敏感。其能够结合其他 DNA 损伤相关技术,例如交联 ALS,从而更全面地进行细胞遗传学分析。

与其他的遗传毒理学检测方法相比,SCGE 主要存在以下优点:(1)数据可以以单细胞水平显示说明;(2)所需样本量少,只需要一小部分细胞;(3)适用范围广泛,几乎适用所有的真核细胞群;(4)测定结果敏感,操作简单,成本较低;(5)结果获得较为快速,若干小时可得到结果;(6)具有多种检测功能,结果图较为直观,易分析。

最近对 SCGE 研究发现,其不仅仅可以识别致癌物,而且可以测试细胞中 DNA 的损坏程度。在自然界中,有许多化学物质是致癌物质,但并不是每一种致癌物质都会造成 DNA 破碎,有些致癌物只会造成 DNA 损伤,SCGE 可以在细胞进行修补时,发现这一类的致癌物质,这是以往的测试都无法做到的。

尽管 SCGE 有许多优点,但目前该方法主要通过结果图片分析进行 DNA 损伤检测,并没有一个完全可靠的生物标记物确定 DNA 损伤。因此,一般需要与其他方法联用使结果更加明确。另一方面,使用 SCGE 方法的实验室很多,但实验不尽相同,这就导致的不同实验室 SCGE 分析结果之间的可比性较差。SCGE 自诞生开始,其具体方法都在不断探索和进步,整个实验方法仍没有完全标准化,因其涉及领域较为广泛,所以,标准化较为困难。

## 3 单细胞凝胶电泳应用

### 3.1 遗传毒理学应用

SCGE 可检测 DNA 交联、氧化性损伤与 DNA 切除修复缺陷等多种类型的 DNA 损伤,因此该方

法是研究遗传毒理学极为适用的方法之一<sup>[3]</sup>。

在遗传毒理学领域,大量的研究人员采用碱性 SCGE 来评估化学物质在体外或体内实验中的基因毒性。彗星实验可用于在体外研究中检测各种正常和转化的人类、动物和植物细胞。当然它同样适用于人类功能细胞,包括白细胞和淋巴细胞及其他组织细胞,如上皮细胞、生殖细胞、结肠细胞、胰岛细胞、腺癌细胞等。SCGE 也能够检测不同的细胞系及不同类型的癌细胞,如结肠癌、膀胱前列腺癌、黑色素瘤、神经胶质瘤等等<sup>[4]</sup>。标准的体内碱性 SCGE 可以很容易地适应调查生殖器官的细胞。多研究表明,在生殖细胞诱变剂的风险评估方面,彗星试验方法具有明显优势<sup>[5]</sup>。

SCGE 在动物细胞 DNA 损伤及相关研究方面也卓有成效。因其所需实验样本少,任何组织及器官均能被用于检测,所以已有大量的检测工作被完成。其中,啮齿动物更加被频繁地检测,但其他动物,如狗、羊、蝌蚪和鱼同样能够被较好检测。SCGE 方法已经应用于动物的多个器官和组织,包括血液、骨骼、大脑、胃肠粘膜、肾、肝、肺、鼻粘、卵巢、皮肤、脾脏和睾丸等<sup>[6]</sup>。

Speit 等使用 SCGE 的研究表明,当 DNA 链中出现一个修复通路出现问题,DNA 整链都有可能出现问题严重受损<sup>[7]</sup>。当前,在检测出某种物质特别是化学物质对 DNA 修补的影响方面,除去 SCGE 方法,其他方法都不能准确地进行分析测定。目前只有彗星分析法能够精确地测出 DNA 修复功能<sup>[8]</sup>,并及时发现致畸物质。彗星分析法还可用来确定某种物质是否是毒性物质,并明确人体 DNA 损伤或修补受其影响的程度。可利用 SCGE 进行人体白细胞的体外实验,如果被测物质是有毒物质,那么 DNA 将出现损伤,而出现损伤的 DNA 在结果上会显示彗星形状<sup>[9]</sup>。化学品测试在这一领域的数量迅速增加,至今已有大量化学物质进行了遗传毒理学方面的检测,如重金属、各类农药、亚硝酸胺等。

### 3.2 DNA 损伤及细胞凋亡的研究应用

因为 SCGE 的特点,该方法几乎被用来评估任何类型的真核细胞的 DNA 修复能力及包括双、单链断裂的不同的 DNA 损伤情况。中性和碱性的 SCGE 可分别用于分析和评估单链及双链 DNA 的损伤修复。同样,该方法可用于检测电离辐射引起的单和双链断裂及细胞修复。

有研究采用碱性 SCGE 方法检测健康受试者在受辐射情况下,外周血淋巴细胞 DNA 损伤和修复的。该方法具有能够分析单个细胞的优势,能够明确 DNA 受损细胞分布及程度。同样,可以直接使用

该方法对如紫外线辐射导致的不同程度的 DNA 链断裂进行化验检查。碱性 SCGE 可用来检测 DNA 切除修复、DNA 合成抑制剂链终止剂的作用。也有实验用该方法试验各类酶治疗损伤 DNA 细胞的效果。

因为 SCGE 方法的高灵敏度,也被应用于研究凋亡的 DNA 片段。细胞凋亡是人体自我保护的一种形式,如果存在一个细胞 DNA 损伤过于严重,已经无法修补,凋亡程序就会触发。如果缺失细胞凋亡功能或细胞凋亡功能紊乱,那么 DNA 损伤细胞会继续复制,从而危及生物体全身。凋亡功能的丧失可能会导致癌症的发生。相比于其他方法,单细胞凝胶电泳技术能够更快速并且准确地检测到已丧失凋亡功能的细胞,也可以提供细胞自杀过程的早期资料<sup>[10]</sup>,以上优点使该方法在研究细胞凋亡方面具有重要作用,出现凋亡现象的细胞 DNA 在结果图中会显示初期为严重的细胞拖尾现象,其尾部占有比重极高。SCGE 方法还可通过计数统计等方法快速测定凋亡细胞的比例。

### 3.3 环境污染监测中的应用

随着科技发展,环境污染愈发严重,而且环境污染与生物细胞 DNA 损害关系密切,严重环境污染可能导致周围生物癌变,因此人们对环境污染监测越来越重视。环境污染中的生物、物理、化学因素都能导致细胞 DNA 损伤,引起基因突变和细胞癌变。所以判断细胞 DNA 是否出现损伤情况在环境监测方面尤为重要。SCGE 能够检测不同生物不同细胞的不同类型的遗传毒性损伤情况。其具有利用少量细胞提供数据、结果敏感、实验快速、成本低、效率高等优点,因此彗星实验方法被广泛用于环境污染物的监测中。

在空气污染物方面,二氧化硫及飘尘是最主要的监测指标。SO<sub>2</sub>能引起 DNA 损伤的出现,而且进一步研究分析二者存在一定的剂量效应关系。张爱华等<sup>[11]</sup>用 SCGE 检测燃煤引起的砷中毒患者血细胞 DNA 的损伤情况,结果表明砷能引起人体血细胞 DNA 单链断裂。

大量研究报告表明 SCGE 在检测水生环境中极具潜力。过去的 5 年的研究发现,和其他常用的遗传生态毒理学生物标志物相比,在对水生生物遗传毒理学检测更具敏感性<sup>[12]</sup>。有研究使用 SCGE 检测利用工业用水所培养细胞的 DNA 损伤情况。由于其高灵敏度,SCGE 已被广泛用于鱼和贻贝细胞的实验室标准检测中。SCGE 也同样被利用于水质检测中<sup>[13]</sup>。

近年来,SCGE,在评估暴露人群的 DNA 损伤方

面已成为一个重要的工具。SCGE 已作为首选方法适用于人群为基础的环境污染研究中。在对个体暴露于空气污染物、金属、农药、辐射等有害异物研究中,有研究利用 SCGE 检测废物回收站附近动物,发现其脑 DNA 损伤概率显著上升。利用碱性 SCGE 方法测定不同土壤样本中的蚯蚓 DNA 损伤情况从而作为土壤污染的指标。由于 SCGE 方法的方便操作,因此, DNA 损伤的报告通常由该方法检测, SCGE 的成功反映在过去 30 年,环境监测领域有越来越多的研究、报告使用其进行检测<sup>[14]</sup>。

生产过程中同样会产生各类有毒物质。一般主要通过 DNA 损伤检测来确定这些物质是否具有致癌性或致突变性。生产中的某些物质可直接导致 DNA 断裂。而另一些物质则需在体内经代谢活化后会存在致癌性。王涛等<sup>[15]</sup>利用体外活化系统,利用 SCGE 方法检测了黄曲霉毒素、苯并(a)芘等 9 种间接致突变物与 DNA 损伤程度的关系,其结果具有显著性。

由此可见,在环境监测中,用 SCGE 检测 DNA 损伤的应用范围极其广泛,其对环境污染物的影响检测尤为重要<sup>[16]</sup>。

### 3.4 人群监测

SCGE 可用于群体生物学检测,全美通讯网项目招募了近 100 名研究小组共享数据集。利用 SCGE,通过其在生物监测研究中多样化的应用,检测人类的 DNA 损伤水平与环境 and 职业接触毒性药物,饮食和其他因素的关系<sup>[17]</sup>。

SCGE 能够应用于人群监测的主要原因是其所需样本数量少,只要明确年龄、工作环境等因素,只需要从研究对象获得少量细胞就能够进行研究。大量实验主要通过检测有核血细胞的 DNA 损伤来进行评价。有研究利用 SCGE 方法检测 20 岁人群淋巴细胞 DNA 损伤情况。研究调查 200 名健康人,利用碱性彗星方法检测 DNA 迁移的程度,发现吸烟者的血液淋巴细胞 DNA 受损率显著增加,且其中男性比率高于女性。

彗星分析法与其他分析法最显著的区别是 SCGE 可检测正常人群并明确修复情况。其能测出 DNA 损伤程度,其他测试法只能明确某一种物质是否会导致 DNA 损伤,却无法测出其损伤程度,更无法测出 DNA 修补的情况及速度<sup>[18]</sup>。

### 3.5 临床诊断与治疗监测

利用中性 SCGE 可检测接受放射治疗的病人的肿瘤细胞及一般细胞的 DNA 损伤情况,该方法已在何杰金氏病、非霍奇金淋巴瘤、鳞状细胞癌或腺癌方面有所应用。由于该方法所需样本较少,所以只要

少量血液或固体组织就能进行判断。采用碱性 SCGE,可检测在辐照条件下乳腺癌的缺氧细胞数量,该方法在此条件下具有较高敏感性<sup>[19]</sup>。同样,也有利用碱性彗星实验方法确定白内障晶状体上皮细胞 DNA 损伤。

在肿瘤研究方面,DNA 损伤和 DNA 修复缺陷是癌症发生的分子基础。许多基础研究与临床研究,采用 SCGE,来研究各种各样的肿瘤细胞对各类 DNA 损伤制剂的生物学效用,并得到重要的结果,使得肿瘤科学家得知最佳干预的时机。

在肿瘤放疗敏感性研究方面,由于肿瘤对于放疗反应是存在差异,预测肿瘤对于放疗的敏感性长期追求的目标,有多种因素可影响肿瘤的放疗效果,尚无一种方法来预测肿瘤对于放疗是否发生反应,而 SCGE 在目前被基础和临床肿瘤治疗学推崇的最先进的技术。同样,在肿瘤化疗敏感性预测方面,由于肿瘤细胞对于各种化学药物的反应是存在极大的差异,因此无论在肿瘤的治疗之前,尤其是在治疗的过程中,及时了解肿瘤治疗的进程,药量的大小,治疗方案选定,SCGE 是国际治疗所推荐的方法。

利用 SCGE 检测 DNA 损伤的程度与治疗的结果的联系还有待建立。在未来,SCGE 可能可以作为研究新药物和抗肿瘤之间的相互作用机制分析的重要方法。

### 3.6 高通量生物信息学研究的实验验证

生物信息学是一门收集、分析遗传数据并进行相关研究的学科,生物信息学特指数据库类的工作,其研究需要大量数据的支持。从某种角度而言,生物信息学是把基因组 DNA 序列信息分析作为源头的。

生物信息学是建立在分子生物学的基础上的,而 SCGE 方法在分子生物学上应用广泛。尤其在研究 DNA 损伤及修复的相关生物信息学方面,SCGE 作用尤为显著。在研究动物、人体 DNA 损伤相关基因及其通路的信息学研究方面,SCGE 对各类实验都能够起到验证作用。

## 4 单细胞凝胶电泳发展

Santos 等人于 1997 年创立了彗星电泳和荧光原位杂交技术联用(Comet-FISH)<sup>[20]</sup>。该方法是在原有 SCGE 方法基础上加以改善,其主要变化是在解旋和电泳完成后加入了原位杂交这一步骤,从而能够在检测 DNA 上确定特殊的基因序列,之后可以通过荧光显微镜检测得到目的基因 DNA 片段是否存在损伤。如果 FISH 标记的荧光信号只是出

现在彗星头部,这就表明目的基因所处的 DNA 片段无损;如果在彗星尾部发现该基因所标记荧光信号,这就表明目的基因所处 DNA 存在损伤情况。荧光原位杂交一般是通过寡聚核苷酸或 cDNA 探针在 DNA 变性以及复性的过程中通过识别目的基因、匹配目的序列基因从而杂交成功,但是这一技术的关键所在是如何能够与在低熔点琼脂糖中包埋的目的 DNA 杂交。Santos 等人通过使用化学变性法,在加入探针前,先将整个载玻片在变性液中放置 30min,然后再将其置于中和液内中和,通过不同梯度乙醇进行脱水处理,最后加入探针杂交。

Reite 等人<sup>[21]</sup>利用该方法技术检测了病人口咽癌细胞中 EGFR 基因的表达,从而证实了在口咽癌细胞中,EGFR 基因存在表达现象。

随着 SCGE 方法的不断发展,为了让我们更加细致,明确地分析 SCGE 实验结果图,分析尾矩、尾部 DNA、头部 DNA 含量等。国内外已经研发了各类分析软件。除了部分昂贵的商业软件外,也出现了一些免费的彗星分析软件。如 CASP 软件,其能够测量彗星强度、尾长、头面积、尾面积、尾部 DNA 含量、尾矩等多项参数,而且软件操作简便、快捷,便于使用。

同样,随着 SCGE 方法的发展及不断使用,各种 SCGE 试剂盒也应运而生,使该方法的操作更加简单,方便。

## 5 展望

相比其他实验方法,在 DNA 损伤检测方面,SCGE 是一种敏感、可靠而且快速方法。它可以检测 DNA 双单链断裂,可精确到单个细胞。鉴于其总体特征及优势,在过去的十几年里,该方法发展迅速,已广泛应用于各个方面。

SCGE 在基因毒性、临床、DNA 修复、环境生物监测、人工监测和生物信息学等领域的发展前景几乎是无限的。在未来,SCGE 还可能影响其他重要领域,并不断发展。

## 参考文献

- [1] SINGH N P, MCCOY M T, TICE R R, et al. A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells[J]. *Experimental Cell Research*, 1988, 175(1): 184-187.
- [2] 赵倩, 段丽菊, 刘英帅. 彗星实验检测单细胞 DNA 损伤的方法[J]. *公共卫生与预防医学*, 2004, 15(5): 57-59.  
ZHAO Qian, DUAN Liju, LIU Yingshuai. The comet assay

- method to detect the DNA damage [J]. *Journal of Public Health and Preventive Medicine*, 2004, 15(5): 57-59.
- [3] 李宏, 王崇均. 生物信息学在毒理基因组学研究中的应用 [J]. *生物信息学*, 2010, 8(4): 330-333.  
LI Hong, WANG Chongjun. Application of bioinformatics in the research of toxicogenomics [J]. *China Journal of Bioinformatics*, 2010, 8(4): 330-333.
- [4] DUTY S M, SINGH N P, SILVA M J, et al. The relationship between environmental exposures to phthalates and DNA damage in human sperm using the neutral comet assay [J]. *Environment Health Perspective*, 2003, 111: 1164-1169.
- [5] MEEKER J D, SINGH N P, RYAN L, et al. Urinary levels of insecticide metabolites and DNA damage in human sperm [J]. *Human Reproduction*, 2004, 19: 2573-2580.
- [6] ERSSON C, MOLLER L. The effects on DNA migration of altering parameters in the comet assay protocol such as agarose density, electrophoresis conditions and durations of the enzyme or the alkaline treatments [J]. *Mutagenesis*, 2011, 26: 689-695.
- [7] SPEIT G. Induction and repair of formaldehyde-induced DNA-protein crosslinks in repair-deficient human cell line [J]. *Mutagenesis*, 2000, 15(1): 85-90.
- [8] OLIVE P L. DNA damage and repair in individual cells: applications of the comet assay in radiobiology [J]. *International Journal of Radiation Biology*, 1999, 75(4): 395-405.
- [9] 王兰, 刘心荣. 单细胞凝胶电泳技术的应用和发展 [J]. *中国卫生检验杂志*, 2008, 18(12): 2829-2831.  
WANG Lan, LIU Xingrong. The application and development of single cell gel electrophoresis technology [J]. *Chinese Journal of Health Laboratory Technology*, 2008, 18(12): 2829-2831.
- [10] 曾军英, 刘学伟, 张杰, 等. 丙酮醛诱导细胞凋亡相关基因 COX-VA 的生物信息学分析 [J]. *生物信息学*, 2008, 6(4): 164-167.  
ZENG Junying, LIU Xuewei, ZHANG Jie, et al. Bioinformatics analysis for cell apoptosis induced by methylglyoxal related gene COX-VA [J]. *China Journal of Bioinformatics*, 2008, 6(4): 164-167.
- [11] 张爱华, 黄晓欣, 李军. 用 SCGE 法检测燃煤污染型砷中毒患者细胞 DNA 的损伤作用 [J]. *中国地方病学杂志*, 2000, 19(1): 7-9.  
ZHANG Aihua, HUANG Xiaoxin, LI Jun. Detection of DNA damage in blood cells of the patients of coal-burnt arsenism by SCGE [J]. *Chinese Journal of Endemiology*, 2000, 19(1): 7-9.
- [12] GRISOLIA C K. A comparison between mouse and fish micronucleus test using cyclophosphamide, mitomycin C, and various pesticides [J]. *Mutation Research*, 2002, 518: 145-150.
- [13] LEE R F, STEINERT S. Use of the single cell gel electrophoresis/comet assay for detecting DNA damage in aquatic (marine and freshwater) animals [J]. *Mutation Research*, 2003, 544: 43-64.
- [14] 李宏. 环境基因组学与毒理基因组学研究进展 [J]. *生物信息学*, 2011, 9(4): 269-274.  
LI Hong. Research development progress of environmental genomics and toxicogenomics [J]. *China Journal of Bioinformatics*, 2011, 9(4): 269-274.
- [15] 王涛, 衡正昌, 张遵真. 彗星试验检测间接致突变物的 DNA 损伤作用 [J]. *癌变·畸变·突变*, 2001, 13(3): 141-142.  
WANG Tao, HENG Zhenchang, ZHANG Zunzheng. Comet assay indirect mutagenic effects of DNA damage [J]. *Carcinogenesis Teratogenesis and Mutagenesis*, 2001, 13(3): 141-142.
- [16] 李明强, 曾照芳, 尤萍. 人参皂甙 Rb1 对大鼠脑缺血再灌注神经损伤后的修复作用 [J]. *生物信息学*, 2011, 9(2): 161-163.  
LI Mingqiang, ZENG Zhaofang, YOU Ping. Ginsenoside Rb1 on cerebral ischemia-reperfusion nerve injury repair [J]. *China Journal of Bioinformatics*, 2011, 9(2): 161-163.
- [17] COLLINS A, KOPPEN G, VALDIGLES V. The comet assay as a tool for human biomonitoring studies: The ComNet Project [J]. *Mutation Research*, 2014, 759: 27-39.
- [18] 邢彩虹, 李桂兰, 尹松年. 单细胞凝胶电泳技术及其应用进展 [J]. *卫生研究*, 2004, 33(5): 638-640.  
XING Caihong, LI Guilian, Yi Songnian. Single cell gel electrophoresis application and progress [J]. *Journal of Health Research*, 2004, 33(5): 638-640.
- [19] 张淑梅, 张彬, 张岩, 等. 癌症中 DNA 甲基化基因模块筛选 [J]. *生物信息学*, 2014, 12(3): 191-195.  
ZHANG Shumei, ZHANG Bing, ZHANG Yan, et al. The screening of DNA methylation gene module in cancers [J]. *Chinese Journal of Bioinformatics*, 2014, 12(3): 191-195.
- [20] SANTOS S J, SINGH N P, NATARAIAN A T. Fluorescence in situ hybridization with comets [J]. *Experimental Cell Research*, 1997, 232(2): 407-411.
- [21] REITER M, WELZ C, BAUMEISTER P, et al. Mutagen sensitivity and DNA repair of the EGFR gene in oropharyngeal cancer [J]. *Oral Oncol*, 2010, 46(7): 519-524.