

学校编码: 10384

分类号_____密级_____

学号: 21620141152536

UDC _____

廈門大學

硕士学位论文

Brd4 抑制剂 JQ1 对化疗药物 DOX 杀伤肿瘤细胞的增敏效应

**The chemosensitization effects of Brd4 inhibitor JQ1 in
DOX killing cancer cells**

姜璐

指导教师姓名: 陈瑞川 教授

专业名称: 生物化学与分子生物学

论文提交日期: 2017 年 04 月

论文答辩时间: 2017 年 05 月

学位授予日期: 2017 年 月

答辩委员会主席: 李勤喜

评阅人: _____

2017 年 05 月

厦门大学学位论文原创性声明

本人呈交的学位论文是本人在导师指导下,独立完成的研究成果。本人在论文写作中参考其他个人或集体已经发表的研究成果,均在文中以适当方式明确标明,并符合法律规范和《厦门大学研究生学术活动规范(试行)》。

另外,该学位论文为()课题(组)的研究成果,获得()课题(组)经费或实验室的资助,在()实验室完成。(请在以上括号内填写课题或课题组负责人或实验室名称,未有此项声明内容的,可以不作特别声明。)

声明人(签名):

年 月 日

厦门大学学位论文著作权使用声明

本人同意厦门大学根据《中华人民共和国学位条例暂行实施办法》等规定保留和使用此学位论文，并向主管部门或其指定机构送交学位论文（包括纸质版和电子版），允许学位论文进入厦门大学图书馆及其数据库被查阅、借阅。本人同意厦门大学将学位论文加入全国博士、硕士学位论文共建单位数据库进行检索，将学位论文的标题和摘要汇编出版，采用影印、缩印或者其它方式合理复制学位论文。

本学位论文属于：

1.经厦门大学保密委员会审查核定的保密学位论文，
于 年 月 日解密，解密后适用上述授权。

2.不保密，适用上述授权。

（请在以上相应括号内打“√”或填上相应内容。保密学位论文应是已经厦门大学保密委员会审定过的学位论文，未经厦门大学保密委员会审定的学位论文均为公开学位论文。此声明栏不填写的，默认为公开学位论文，均适用上述授权。）

声明人（签名）：

年 月 日

目录

英文缩略对照表.....	1
摘 要.....	3
Abstract.....	4
第一章 前言.....	5
1.1 癌症的治疗现状和困境.....	5
1.1.1 癌症的危害和治疗手段.....	5
1.1.2 化疗药物分类及作用机制.....	6
1.1.3 化疗药物 Doxorubicin 对于癌症的治疗和细胞毒性.....	6
1.1.3.1 化疗药物 Doxorubicin 治疗癌症的机制.....	6
1.1.3.2 化疗药物 Doxorubicin 的心肌毒性.....	6
1.2 基因转录的调控机制.....	7
1.2.1 转录因子 P-TEFb 功能概述.....	7
1.2.2 P-TEFb 的活性调控.....	7
1.3 BET 家族蛋白的结构、功能及 Brd4 活性调控的机制.....	9
1.3.1 BET 家族蛋白结构和功能.....	9
1.3.1.1 BD、ET 和 CTM 结构域的组成和功能.....	10
1.3.1.2 BET 家族蛋白的功能.....	12
1.3.2 Brd4 的活性调控.....	13
1.3.3 BET 家族与疾病的调控.....	14
1.3.3.1 BET 家族在肿瘤中的作用.....	14
1.3.3.2 Brd4 和炎症反应.....	15
1.3.3.3 Brd4 和急性骨髓白血病 (AML)	15
1.3.3.4 BET 家族蛋白是治疗癌症的潜在靶点.....	15
1.4 p53 与调控细胞凋亡.....	16
1.4.1 p53 活性的调控.....	16
1.4.2 p53 调控细胞凋亡.....	17

1.5 研究内容和意义	19
1.5.1 研究内容.....	19
1.5.2 研究意义.....	19
第二章 实验材料和方法	20
2.1 实验药品、试剂与仪器	20
2.1.1 细胞株、菌株和质粒资源.....	20
2.1.2 主要试剂和材料.....	20
2.1.3 主要实验仪器和耗材.....	22
2.2 常用溶液配方	23
2.2.1 质粒转化及挑取单克隆相关溶液.....	23
2.2.2 质粒 DNA 制备及克隆相关溶液.....	24
2.2.3 细胞培养、转染及感染相关溶液.....	25
2.2.4 生化实验相关溶液.....	26
2.2.5 Western blot 相关溶液.....	26
2.2.6 流式细胞相关溶液配方.....	27
2.3 实验方法	27
2.3.1 质粒转化.....	27
2.3.2 质粒 DNA 小量提取（碱裂解法）.....	28
2.3.3 质粒中量提取.....	28
2.3.4 DNA 限制性内切酶酶切.....	29
2.3.5 DNA 样品琼脂糖凝胶电泳.....	30
2.3.6 琼脂糖凝胶回收 DNA 片段（实验室自制 glass milk 法）.....	31
2.3.7 DNA 的连接.....	32
2.3.8 PCR 反应.....	32
2.3.9 特异性 shRNA 的构建.....	33
2.3.10 细胞培养.....	34
2.3.11 细胞瞬时转染（PEI 脂质体转染法）.....	34
2.3.12 病毒包装感染.....	35
2.3.13 细胞的药物处理.....	36

2.3.14 核分级分离(Nucleic fractionation).....	36
2.3.15 SDS-PAGE 蛋白电泳.....	37
2.3.16 免疫印记实验 (Western blot)	37
2.3.17 流式细胞实验.....	38
2.3.18 CCK8 试剂盒检测细胞活性.....	38
2.3.19 总 RNA 的提取.....	38
2.3.20 实时荧光定量 PCR(qRT-PCR).....	40
第三章 结果与讨论.....	42
3.1 Brd4 的应激活化是细胞用来抵抗 DOX 杀伤作用的一种手段.....	42
3.2 组蛋白去乙酰化酶 HDAC1/2/3 的抑制剂 MS275 能增加 DOX 对肿瘤细胞的杀伤效应.....	43
3.3 BET 家族抑制剂 JQ1 能增加 DOX 对肿瘤细胞的杀伤效应.....	45
3.4 DOX 能阻断 p53 的降解促进 p53 的积累和入核, JQ1 对 p53 的表达水平没有影响.....	46
3.5 JQ1 与 DOX 协同诱导的细胞凋亡是 p53 依赖性的.....	48
3.6 JQ1 调控抗凋亡基因 Bcl-XL、Bcl-2 下调且 p53 调控促凋亡基因 PUMA 上调协同导致了 JQ1 与 DOX 诱导的 p53 依赖性细胞凋亡.....	50
3.7 JQ1 抑制 c-MYC 的表达与 JQ1 和 DOX 协同诱导的 p53 依赖性的细胞凋亡没有直接关系.....	52
3.8 讨论与展望.....	54
参考文献.....	57
致谢.....	68

Contents

Abbreviation.....	1
Abstract in Chinese.....	3
Abstract in English.....	4
Chapter I Forewords.....	5
1.1 The difficulties of cancer treatment.....	5
1.1.1 The harm and treatment of cancer.....	5
1.1.2 The classification and mechanism of chemotherapy drugs.....	6
1.1.3 Doxorubicin for cancer treatment and cytotoxicity.....	6
1.1.3.1 The mechanism of Doxorubicin in cancer treatment.....	6
1.1.3.2 The cardiotoxicity of Doxorubicin.....	6
1.2 Regulation of gene transcription.....	7
1.2.1 Function of P-TEFb.....	7
1.2.2 Regulation of P-TEFb.....	7
1.3 The structure and function of BET family as well as the regulation of Brd4	9
1.3.1 The structure and function of BET family.....	9
1.3.1.1 The structure and function of BD, ET and CTM domains.....	10
1.3.1.2 The function of BET family.....	12
1.3.2 The regulation of Brd4.....	13
1.3.3 BET family and disease regulation.....	14
1.3.3.1 BET family and cancer.....	14
1.3.3.2 Brd4 and inflammation.....	15
1.3.3.3 Brd4 and AML.....	15
1.3.3.4 BET family is a potential target for the treatment of cancer.....	15
1.4 p53 and cell apoptosis.....	16
1.4.1 The regulation of p53.....	16

1.4.2 p53 and apoptosis regulation.....	17
1.5 Research contents and significance.....	19
1.5.1 research contents.....	19
1.5.2 Significance of research.....	19
Chapter II Materials and methods.....	20
2.1 Reagents and instruments.....	20
2.1.1 Cell lines、 E.coli and plasmids.....	20
2.1.2 Reagents and materials.....	20
2.1.3 Instruments and expendable supplies.....	22
2.2 Instruments and solutions.....	23
2.2.1 The solutions for plasmids and monoclonal.....	23
2.2.2 The solutions for preparation of DNA and cloning.....	24
2.2.3 The solutions for cell culture, transfection and infection.....	25
2.2.4 The solutions for bichemistry experiment.....	26
2.2.5 The solutions for Western blot.....	26
2.2.6 The solutions for flow-cytometry.....	27
2.3 Protocols and recipes.....	27
2.3.1 Plasmids transformation.....	27
2.3.2 Small-scale plasmid DNA extraction.....	28
2.3.3 Medium-scale plasmid DNA extraction.....	28
2.3.4 DNA Restriction endonuclease digestion of DNA.....	29
2.3.5 DNA agarose gel electrophoresis.....	30
2.3.6 DNA Extraction from agarose gel.....	31
2.3.7 DNA ligation.....	32
2.3.8 PCR.....	32
2.3.9 Construction of the specific shRNA.....	33
2.3.10 Cell culture.....	34
2.3.11 Cell transient transfection.....	34
2.3.12 Lenti-Virus infection.....	35

2.3.13 Pharmacological treatment.....	36
2.3.14 Modified Nucleic fractionation.....	36
2.3.15 SDS-PAGE.....	37
2.3.16 Western blot.....	37
2.3.17 Flow cytometry.....	38
2.3.18 CCK8 Cell proliferation assay.....	38
2.3.19 Total RNA isolation.....	38
2.3.20 qRT-PCR.....	40
Chapter III Results and Discussion.....	42
3.1 The activation of Brd4 is a means of cell resistance to DOX killing.....	42
3.2 The inhibitor of histone deacetylase HDAC1 / 2/3, MS275, increases the lethality of DOX on tumor cells.....	43
3.3 The BET family inhibitor JQ1 increases the lethality of DOX on tumor cells.....	45
3.4 DOX can block the degradation of p53 to promote its accumulation and nuclear translocation, JQ1 has no effect on the expression of p53.....	46
3.5 JQ1 and Dox co-induced apoptosis are p53-dependent.....	48
3.6 JQ1 down-regulated the antiapoptotic gene and p53 up-regulated the proapoptotic gene Puma resulted in JQ1&DOX induced p53-dependent apoptosis.....	50
3.7 The expression of c-MYC inhibited by JQ1 is not directly related to JQ1 and DOX co-induced p53-dependent apoptosis.....	52
3.8 Discussion and Outlook.....	54
Reference.....	57
Acknowledgement.....	68

英文缩略对照表

Abbreviation	Full Name
DOX	doxorubicin
CTD	C-terminal domain
TAR	transactivation response
7SK snRNP	7SK small nuclear ribonucleoprotein, HEXIM1/7SK LARP7/BINCD3/P-TEFb
Brd2/3/4	Bromodomain-containing protein 2/3/4
PID	P-TEFb interaction domain
PP1 α	Protein phosphatase 1 α
PP2B	Protein phosphatase 2B
BET	Bromodomains and extraterminal
BD (I, II)	Bromodomain (I, II)
CTM	C-terminal motif
Bcl-2	B-cell lymphoma 2
LSF	Low salt fraction
LSEN	Low Salt Extracted Nucleic
MS275	Entinostat
UV	Ultra violet
HDAC	Histone deacetylase
c-MYC	Cellular-myelocytomatosis oncogene
ATM	Ataxia telangiectasia mutated
ATR	Ataxia telangiectasia and RAD3 related
CE	Cytoplasm extraction
NE	Nuclear extraction

MDM2	Mouse double minute 2
P-TEFb	Positive transcription elongation factor b
HEXIM1	hexamethylene bis-acetamide inducible 1
DSIF	DRB-sensitivity inducing factor
NELF	Negative elongation factor
SECs	Super elongation complex
Pol II	RNA polymerase II
PI	Propidium Iodide
MOMP	Mitochondrial outer membrane permeabilization
BH	Bcl-2 homology domains
Mcl-1	myeloid cell leukemia 1

摘要

Brd4 是 BET 家族的成员，它在哺乳动物细胞中分布广泛，能够调控细胞周期和基因转录等，与肿瘤的发生也有密切关系。在静息细胞中绝大多数的 Brd4 通过其溴结构域识别乙酰化的组蛋白结合在染色质上。前期研究发现在一些外界刺激（如 UV 照射，DOX 处理）下，细胞中的 Brd4 与染色质解离形成有活性的 Brd4，游离的 Brd4 能够募集有活性的转录因子 P-TEFb 到基因的启动子区，促进基因转录延伸。DOX 是一种广谱性的抗肿瘤抗生素，能够通过引起 DNA 损伤等手段杀伤肿瘤细胞，但同时它具有很强的心肌毒性。JQ1 是 BET 家族的抑制剂，可以和乙酰化的组蛋白竞争结合 BET 家族的溴结构域（BD），能抑制 Brd4 募集 P-TEFb 到基因的启动子区，从而抑制转录。JQ1 可以有效治疗白血病、结肠癌、前列腺癌等，因此 JQ1 被认为是临床上治疗癌症的潜在有效药物。

我们的研究发现，DOX 诱导 Brd4 的应激活化是细胞用来抵抗 DOX 杀伤作用的一种手段，当用抑制剂 JQ1 阻断 Brd4 的应激活化时，与 DOX 共处理会引起细胞凋亡程度极大的增加。本文围绕着 JQ1 与 DOX 协同诱导细胞凋亡的机制进行了研究，我们发现：DOX 能够激活 p53，并促进其入核，而且 JQ1 与 DOX 协同诱导细胞凋亡是 p53 依赖性的，只在 p53 野生型的 HCT116 细胞中发生显著凋亡。同时，我们还发现，在 JQ1 和 DOX 共处理下，p53 依赖性的促凋亡基因 PUMA 显著增加，而抗凋亡基因 Bcl-XL 和 Bcl-2 显著下降，两者协同作用导致了 HCT116 细胞凋亡。我们的研究结果显示，JQ1 可以增加 DOX 对肿瘤细胞的杀伤力，因此 JQ1 与低剂量的 DOX 联用就能达到很强的杀伤肿瘤细胞的效果，有利于 DOX 在临床上更好的发挥作用。我们的研究结果为癌症的治疗提供了理论依据和新的思路，JQ1 与 DOX 的联合用药对于癌症的治疗具有广阔前景和深远意义。

关键词：JQ1；DOX；细胞凋亡

Abstract

Brd4 is a member of the BET family, which is widely distributed in mammalian cells and capable of regulating cell cycle and gene transcription. The vast majority of Brd4 binds acetylated histones through its bromodomains in untreated cells. Previous studies have found that Brd4 is activated when dissociates from chromatin under some external stimulation (such as UV, DOX). Activated Brd4 recruits positive transcription factor P-TEFb to the promoter region, promotes gene transcription and elongation. DOX is a widely used anti-tumor antibiotic, but has a strong cardiac toxicity. JQ1 is an inhibitor of the BET family and competes with the acetylated histone for binding to the bromodomains (BDs) of the BET family, thereby inhibits the process of Brd4 recruiting P-TEFb to promoter region. Many experiments have found that JQ1 is a promising drug for treating leukemia, colon cancer, prostate cancer and so on.

Our study found that the activation of Brd4 under DOX treatment is a means by which cell resist DOX. When Brd4 activation was blocked by JQ1, co-treatment with DOX lead to apoptosis. This paper explored the mechanism of JQ1 and DOX co-treatment induced apoptosis. The results showed that DOX activates p53 and promotes its nuclear translocation. In addition, JQ1 and DOX co-treatment induces significant apoptosis which only occurs in p53 wild-type HCT116 cells. In other words, JQ1 and DOX co-treatment induced apoptosis is p53-dependent. Furthermore, the expression of pro-apoptotic gene PUMA is significantly increased under co-treatment of JQ1 and DOX, and the anti-apoptotic gene Bcl-XL and Bcl-2 are greatly decreased. Their synergistic effect results in apoptosis. In conclusion, JQ1 increases the lethality of DOX on tumor cells, so JQ1 combines with low dose of DOX is able to kill massive tumor cells. Therefore, our research provides a new therapy for tumor, JQ1 and DOX co-treatment has broad prospects for the cure of tumor.

Keywords: JQ1;DOX;cell apoptosis

第一章 前言

癌症，目前仍是亟待攻克的世界性医学难题，在我国，癌症是危害健康的第一杀手。目前癌症的治疗还面临很多问题，例如治愈率低，复发率和死亡率高，预后差等。化疗药物 Doxorubicin（以下简称 DOX）在临床上应用广泛，可以通过引起 DNA 损伤等手段杀伤癌细胞，但其本身具有很强的心肌毒性，长期使用会引发心肌病和充血性心力衰竭^[1]。DOX 能够促进细胞中的 Brd4 应激活化，进而募集正性转录因子 P-TEFb 到基因的启动子区促进基因转录^[2]。Brd4 与肿瘤的发生关系密切，可以促进肿瘤相关基因的转录^[3]。Brd4 的抑制剂 JQ1 是治疗癌症的潜在小分子药物^[4]，鉴于 DOX，Brd4 以及其抑制剂 JQ1 之间的关系，我们希望探索新的联合用药方式，用于治疗肿瘤疾病。本文着力研究 JQ1 与 DOX 联用对细胞凋亡的影响和机制，开创一种新的联合用药手段，能够降低 DOX 的临床用量而且不影响其疗效，减少它的毒副作用，这对于癌症的治疗意义重大。

1.1 癌症的治疗现状和困境

1.1.1 癌症的危害和治疗手段

2015 年，赫捷院士、陈万青教授等人发表了我国癌症统计数据^[5]，显示 2015 年我国大约有 429.2 万个癌症新发病例以及 281.4 万癌症死亡病例。肺癌、肝癌、胃癌、食管癌和结直肠癌等在我国发病率和死亡率很高^[5]。

癌症的治疗手段主要包括：手术治疗、放射治疗、化学治疗传统的三大模式，以及新兴生物免疫疗法，热疗等^[6]。化学治疗（简称化疗）是一个快速发展的领域，已经普遍用于临床治疗恶性肿瘤。单用化疗药物可以治愈某些肿瘤，例如小儿急淋白血病、绒毛膜上皮细胞癌等^[7]。此外，很多恶性肿瘤如卵巢癌、骨肉瘤、乳腺癌等的治疗也都需要有化疗参与。临床使用的化疗药物都有不同程度的毒副作用，除了杀伤肿瘤细胞外，还会杀伤正常组织细胞，特别是对生长速度较快的骨髓细胞、淋巴细胞等造成巨大伤害，导致免疫系统受损、脱发及呕吐等不良反应^[8]。

1.1.2 化疗药物分类及作用机制

根据结构和来源，通常将化疗药物分成以下五大类：1) 烷化剂：（如氮芥类）；2) 周期特异性抗代谢物（如胸苷酸合成酶抑制剂）；3) 抗肿瘤抗生素（如蒽环类抗生素）；4) 植物类抗癌药（如长春花生物碱类）；5) 其它药物（铂类、激素等）^[9]。

这些化疗药物的作用机制各不相同，烷化剂中的活泼烷基可以与 DNA、RNA 和蛋白质中的亲核基团发生烷化反应，造成交叉联结或脱嘌呤，最终导致 DNA 链断裂。抗代谢药能干扰 DNA 和 RNA 的合成，其自身结构与体内核酸代谢的必需物质比如嘌呤、嘧啶等相似，竞争性的参与核酸代谢的过程，从而阻断核酸的合成^[10]。抗肿瘤抗生素，通过抑制 DNA、RNA 及蛋白质的合成，影响细胞分裂，导致细胞死亡^[11]。植物类抗癌药是植物碱和天然产品，能够抑制微管蛋白的聚合，从而抑制有丝分裂^[12]。铂类，包括顺铂（DDP）、奥沙利铂（L-OHP）、卡铂（CBP）等，能和 DNA 的碱基结合，使 DNA 分子交叉连接失去复制功能^[13]。

1.1.3 化疗药物 Doxorubicin 对于癌症的治疗和细胞毒性

1.1.3.1 化疗药物 Doxorubicin 治疗癌症的机制

化疗药物 Doxorubicin（以下简称 DOX），中文名称阿霉素，是一种广谱性抗肿瘤药物，属于蒽环类抗生素^[1]。关于 DOX 抗癌的作用机理，已有几种假说被提出：氧自由基的形成；嵌合于 DNA 相邻的碱基对之间造成 DNA 损伤，抑制 DNA 和 RNA 的合成；抑制拓扑异构酶 II 的活性；激活 p53 基因促进细胞凋亡^[14]。阿霉素类药物是普遍应用的抗肿瘤药，临床上常用于治疗多种恶性血液病和固体肿瘤例如白血病、乳腺癌、淋巴瘤和肉瘤、卵巢癌等^[15]。阿霉素在治疗癌症中发挥重要作用，尽管已经被应用了 30 多年，但仍然是一线的抗癌药物^[14]。

1.1.3.2 化疗药物 Doxorubicin 的心肌毒性

DOX 具有细胞毒性，其急性副作用在患者服药几分钟内便会产生，包括恶心、呕吐、骨髓抑制和心律失常。而慢性副作用需要几周或几个月才会表现，导致心脏、肝脏、大脑和肾脏损伤。其中最严重毒性是心脏毒性，能引发心肌病和充血性心力衰竭。DOX 高剂量的用药以及体内积累，会造成严重的不可逆的心

肌损伤^[16]。线粒体是 DOX 的重要靶点，在其心脏毒性中发挥关键作用。心脏富含线粒体，DOX 产生的自由基会对生物膜的结构功能进行修饰，主要发生在线粒体水平，影响线粒体的正常功能，造成心肌细胞损伤以及凋亡^[17]。

DOX 的细胞毒性限制了它在临床上的应用，当前有以下几种方法来降 DOX 毒副反应：1) 限制用药剂量，密切监测心脏状况^[18]。2) 寻找新的具有良好化疗功能和低细胞毒性的蒽环霉素类似物^[19]。例如 4'-阿霉素，与阿霉素相比，它具有相似的抗癌疗效，以及较低细胞毒性^[20]。3) 脂质体包膜，即用双脂层包裹药物，根据相似相溶原理，双脂层与生物膜结构类似，增加药物对细胞的亲和力。肿瘤中的微管系统通常都是间断的且有大小约(100 - 780nm)的孔径，脂质体可以通过这些孔径从血液中移动到肿瘤细胞周围^[21]。这种改变有助于减少 DOX 在心肌细胞中的分布，进而降低其心肌毒性^[22]。4) 联合用药。DOX 可以与一些抗氧化剂联用，例如与维生素 E、辅酶 Q 等联用^[23]，利用抗氧化剂来降低阿霉素的毒副作用。DOX 与其他药物联合用药，不仅能起到杀伤肿瘤的作用，而且还能降低 DOX 对心脏的损害，在临床治疗上有重要意义。

1.2 基因转录的调控机制

1.2.1 转录因子 P-TEFb 功能概述

P-TEFb 是由催化亚基 CDK9 和调节亚基 Cyclin T (主要是 Cyclin T1) 组成的异二聚体，具有激酶活性。它是正性转录因子，在转录过程中，能够磷酸化 RNA 聚合酶 II C 端结构域(CTD)ser2, 从而促进转录延伸。近期研究发现 P-TEFb 的 CDK9 还可以磷酸化负性延伸因子 DSIF 和 NELF, 从而解除这两个因子造成的转录暂停, 使转录延伸得以继续下去^[24]。P-TEFb 不仅对于大多数真核基因转录至关重要, 而且对于艾滋病毒 (HIV-1) 转录复制过程也是不可或缺的重要因子。HIV-1 的 Tat 蛋白可以与 P-TEFb 的 Cyclin T1 结合, 同时 Tat 还能与 HIV-1 的转录新生产物 TAR (transactivation response) 茎环结构结合, 从而将 P-TEFb 募集到 HIV-1 的转录复合物上, 进而促进 HIV-1 高效转录^[25, 26]。同时有文章报道, P-TEFb 与心肌肥大^[27], 肿瘤形成以及维持胚胎细胞干性也有关系^[28]。

1.2.2 P-TEFb 的活性调控

Degree papers are in the "[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)". Full texts are available in the following ways:

1. If your library is a CALIS member libraries, please log on <http://etd.calis.edu.cn/> and submit requests online, or consult the interlibrary loan department in your library.
2. For users of non-CALIS member libraries, please mail to etd@xmu.edu.cn for delivery details.

厦门大学博硕士学位论文摘要库