2.3 转染TET-OFF基因调控系统后胃癌细胞对强力霉素诱导调控的反应

通过脂质体介导的瞬时转染方法，将pTET-OFF和pTRE2-Hyg Luciferase共转染胃癌细胞。加入不同浓度的强力霉素，观察它诱导调控反应的可能性和量效关系。结果显示：随着强力霉素浓度(0、20、100、500 ng/ml、1 μg/ml)的增加，荧光素酶的活性逐渐降低(平均RLU值分别为60905、25108、5468、988、61)；这说明转染TET-OFF基因表达调控系统的胃癌细胞SGC7901受强力霉素的诱导抑制。

2.4 端粒质粒转染SGC7901细胞和荧光素酶活性检测

pTET-OFF质粒分别和pBX质粒、pBX-ntf质粒共转染SGC7901细胞，经强力霉素诱导后，结果显示，后者荧光素酶活性(3次实验平均的RLU值为21 558)接近前者荧光素酶活性(3次实验平均RLU值为6 134)4倍；转染pTET-OFF质粒和pBX-neo质粒的7901细胞经诱导后荧光素酶活性接近pTET-OFF质粒和pBX-ntf质粒共转染的7901细胞组。此结果表明转染入胃癌细胞中的端粒片段降低了存在它附近荧光素酶报道基因的表达水平。

3 讨论

TET-OFF基因表达调控系统是目前一种实现在真核细胞对转染目的基因进行严密、特异、高效地调控系统[3]。其中，pTET-OFF是系统的调节部分，由CMV启动子调控表达调节蛋白tTA，pTRE2-Hyg是反应质粒，含有四环素反应元件(TRE)，可插入目的基因。在缺少四环素时，tTA结合TRE时，TET-OFF基因表达，激活目的基因转录。pTRE2-Hyg含有嘌呤霉素抗性基因，可对TET-OFF建立的细胞克隆进行筛选。pTRE2-Hyg-Luciferase是报告载体，在四环素存在和缺乏的情况下检测荧光素酶活力，常用于筛选及分离具有最佳诱导效果和最低背景的TET-OFF细胞株。

本实验通过脂质体介导的瞬时转染方法，将TET-OFF基因表达调控系统质粒转染胃癌细胞。通过不同浓度强力霉素的加入，观察强力霉素诱导的调控反应和量效关系后，确定转染TET-OFF基因表达调控系统的胃癌细胞SGC7901受强力霉素的诱导抑制。然后将插入有端粒片段的以荧光素酶为目的基因的报道质粒及对照质粒转染分别转染胃癌细胞，强力霉素作用下发现，转染有端粒片段的质粒，其荧光素酶活性下降4倍。这提示：胃癌细胞中，端粒的存在影响了它附近基因的表达。

文献[4～6]报道端粒位置效应与端粒长度有关，与染色质中组蛋白表达水平和状态有关。细胞在多次分裂复制后逐渐衰老，其间许多蛋白发生程序性[7]表达水平改变。那么，哺乳动物细胞端粒位置效应是否通过端粒进行性缩短，端粒附近沉默基因重新表达从而干预许多预衰老程序化改变，引起相应基因表达模式的改变呢，并影响细胞和器官功能呢？目前重要的是，鉴定受到端粒长度影响的内源性基因，从而确认端粒位置效应确实影响细胞衰老或癌症发生的生理及病理过程，揭示肿瘤发生及衰老的秘密。

参考文献：

[1] Baur J A, Zou Y, Shay J W, *et al*. Telomere position effect in human cells[J]. Science, 2001, 292(5524): 2075－2077.

[2] Kilburn A E, Shea M J, Sargent R G, *et al*. Insertion of a telomere repeat sequence into a mammalian gene causes chromosome instability[J]. Mol Cell Biol, 2001, 21(1): 126－135.

[3] Yin D X, Zhu L, Schimke R T. Tetracycline-controlled gene expression system achieves high-level and quantitative control of gene expression[J]. Anal Biochem, 1996, 235(2): 195－201.

[4] Wood J G, Sinclair D A. TPE or not TPE? It's no longer a question[J]. Trends Pharmacol Sci, 2002, 23(1): 1－4.

[5] Ning Y, Xu J F, Li Y, *et al*. Telomere length and the expression of natural telomeric genes in human fibroblasts[J]. Hum Mol Genet, 2003, 12(11): 1329－1336.

[6] Koering C E, Pollice A, Zibella M P, *et al*. Human telomeric position effect is determined by chromosomal context and telomeric chromatin integrity[J]. EMBO Rep, 2002, 3(11): 1055－1061.

[7] Lengauer C, Kinzler K W, Vogelstein B. Genetic instabilities in human cancers[J]. Nature, 1998, 396(6712): 643－649.

(编辑 龙 亮)

参考文献中英文作者名的著录方法

医学期刊的论文中，引用英文文献的比例很高，但有不少作者将英、美人的姓名搞错，以至用光盘核对时出现错姓、错名或姓名全错。英、美人姓名的习惯写法是：名-名-姓，“名”可以有1个、2个或3个，但“姓”只有1个。因此，从书籍或期刊中的姓名转录到文献时，要将次序调整为姓-名-名。姓是不可以简写的；“名”可以缩写，用第一个字母大写，不用缩写点。数据库在著录作者姓名时，已经调整为姓-名-名，可照录。

例如：John Quincy Public写为Public J Q。

本刊编辑部