图像及基因测序结果可知，rPB-DR已获得成功构建，并已经与具有启动子活性报告功能的pGL3-basic荧光素酶质粒连接，成功构建rPB-DR-luci。同时，我们成功构建了rPB-luci，作为活性测定的对照实验组。

另外，我们在构建rPB-DR时将RARE进行了不同拷贝条件的替换和插入，包括了两种单位置替换，一种双位置替换及一种直接插入，便于选择活性最高的拷贝条件。

在构建实验中，我们参考基因突变的基本方案，设计了应用两步PCR进行构建的方法。首先，我们应用双酶切后的产物作为模板，提高了PCR的特异性，减少了非特异条带的产生。其次，我们将两端需要的限制性内切酶酶切位点和DR(3)序列(及反向互补序列)设计在引物中，以rPB-DR(3A)为例，设计引物P1、P6中分别带有两端需要插入的酶切位点(*Mlu* Ⅰ和*Bgl* Ⅱ)，而P3、P2中则分别带有DR(3)序列及其反向互补序列，第1步两次PCR(引物分别是P1P2和P3P6)将模板序列rPB于ARE处(-236/-223)分为两段，第1段下游端与第2段上游端完全相同并均有DR(3)序列；第2步PCR(引物P1P6)将两段重新整合，而插入的DR(3)序列已将ARE序列替换，同时构建的改造启动子序列两端已插入新的酶切位点。这种方法简单易行，构建成本较低，尤其适合于突变碱基较多，突变位置距模板两端较远的情况，虽然有一定的基因突变的可能性，但高保真DNA聚合酶的应用可有效防止突变的发生，使之成为一种稳定有效的突变方案。

构建完成后，我们应用构建的质粒转染前列腺癌细胞株DU145，并进行荧光素酶活性测定，以此反映该启动子的活性。DU145是一种常用的前列腺癌细胞株，能够代表AR表达阴性的雄激素非依赖性前列腺癌。从实验结果可见，插入前列腺特异性启动子rPB的pGL3-basic质粒在转染后其荧光素酶活性仍然较低，说明rPB在AR表达阴性的前列腺癌细胞中的活性很低。而同时进行的转染及活性测定中可见，4种改良型rPB-DR在维甲酸的刺激下，其活性均远高于rPB($P<0.01$)，其中rPB-DR(6)的活性最高，这说明我们构建的改良型启动子在AR表达阴性的前列腺癌细胞中已经具有相当的活性，并以rPB-DR(6)的活性最高，证明我们构建的启动子基本具备了较强的特异性和针对性，符合实验预想，可以进行之后的整合自杀基因及改良启动子的腺病毒载体的构建工作，也为我们选择最佳的启动子构建方式奠定了基础。

参考文献：

[1] Eastham J A, Chen S H, Sehgal I, *et al*. Prostate cancer gene therapy: herpes simplex virus thymidine kinase gene transduction followed by ganciclovir in mouse and human prostate cancer models[J]. Hum Gene Ther, 1996, 7(4): 515-523.

[2] 江 军，王洛夫，方玉华，等. 雄激素受体反义RNA抑制前列腺癌细胞LNCaP致癌性的研究[J]. 第三军医大学学报，2003，25(15)：1336-1338.

[3] 江 军，王洛夫，方玉华，等. 雄激素受体反义RNA对前列腺癌细胞雄激素受体表达的抑制作用研究[J]. 第三军医大学学报，2003，25(6)：501-504.

[4] Blackburn R V, Galoforo S S, Corry P M, *et al*. Adenoviral-mediated transfer of heat-inducible double suicide gene into prostate carcinoma cells [J]. Cancer Res, 1998, 58(7): 1358-1362.

[5] Koshiuka K, Elstner E, Williamson E, *et al*. Novel therapeutic approach: organic arsenical melarsoprol alone or with all-trans-retinoic acid markedly inhibits growth of human breast and prostate cancer cells *in vitro* and *in vivo* [J]. Br J Cancer, 2000, 82(2): 452-458.

[6] Jiang G, Sladek F M. The DNA binding domain of hepatocyte nuclear factor 4 mediates cooperative, specific binding to DNA and heterodimerization with the retinoid X receptor alpha[J]. J Biol Chem, 1997, 272(2): 1218-1225.

(编辑 龙 亮)

关于数字的用法

在各种出版物上数字的用法总的原则是：凡是可以使用阿拉伯数字，而且又很得体的地方均应使用阿拉伯数字。以下两种情况必须使用阿拉伯数字：

1 公历世纪、年代、年、月、日和时刻 例如：公元前5世纪、20世纪90年代、1995年6月8日14时30分。表示年份要写全称，1995年不能写成95年或'95年；1953-1958年不能写成1953-58年。年月日可以写成1995-06-08。时刻用":"分隔的形式。如：13时45分8秒可以写成13:45:08。

2 计数和计量(整数、小数、分数、百分数、均数)包括序数、编号 4位和4位以上的数字采用三位分节法，不用"千分撇"，节与节之间留半个阿拉伯数字的空隙(如2,431改为2 431)。年份、部分代号、仪器型号等非计量数字不用分节，也不加千分撇。尾数"0"多，5位以上的数字，可以用"万""亿"表示，但不得以十、百、千、百万、十亿等汉字表示，例如3 579 000可写成357.9万但不能写成3百57万千或357万9千。

本刊编辑部