3　讨论

基因外显子的5′侧翼区的3 000 bp左右的区段为基因的调控元件所在部位,常包含基因转录启动子、增强子、沉默子和转录因子结合位点。通过基因报告技术可以把待确定的顺式调控序列的接到报告基因上来控制基因的活性,这些反应元件可以对宿主细胞中基因调控和表达的变化起反应,从而可以直观地反映细胞内与基因表达有关的信号变化[5]。我们采用基因组步移的方法扩增EOLA1基因5′侧翼区不同长度的片段,首先用4个6碱基平头内切酶酶切人基因组DNA,使用平头内切酶的目的是便于在片段末端连接特异的接头,以获得通用引物结合位点,可以与序列特异引物配对进行PCR扩增目的序列。本实验中将酶切基因组片段连接上接头后与EOLA1基因特异引物配对进行2轮PCR扩增目的片段,但电泳显示*Eco*RV酶切后未扩增酶切片段,原因可能与该区域附近无相应酶切位点,以致最后进行的PCR反应太长而不能完成所致。

将扩增出的产物测序确认后再亚克隆入β-gal报告质粒,转染ECV304细胞,同时转染荧光素酶表达质粒作为内对照,进行瞬时表达,提取反应液分别测定β-gal相荧光素酶的活性,以β-gal/荧光素酶活性值后得到β-gal的相对活性值,从而反映出目的片段中是否含有促进转录的启动子活性。结果显示,在EOLA1基因5′侧翼区的-1～-2 659 bp、-1～-1 951 bp均有较强的β-gal上调活性,且活性差异不明显,在-1～-361 bp无β-gal上调活性,表明在5′侧翼区的-361～-1 951 bp内存在启动子序列,生物信息学分析(http://www.searchlauncher.bcm.tmc.edu/)显示此区域内存在2个可能的启动子位点,分别是-1 793～-1 843 bp的GCCTACATCCCATAAAGAGGGACCCTCTCCTCCTCACCTCATCTCCAGCA和-1 964～-2 014 bp处的CAGAAATGAGTAAAACACCGGCCTTGCCTTCAAGCAACTCAAGAGACCCT,但无典型TATA盒结构,因此具体启动子位点尚需经过缺失突变和点突变的实验来确定。

参考文献:

[1] LIANG Z W, LUO X D, YANG Z C. Cloning of differentially expressed genes following lipopolysaccharide stimulation in human umbilical vein endothelial cell[J]. Chin J Traumatol, 2003, 6(2): 107-113.

[2] 梁自文,杨宗城,罗向东,等.人类内皮活化相关新基因EOLA1的发现与初步研究[J].解放军医学杂志,2003,28(5):422-424.

[3] LIANG Z, YANG Z. Identification and characterization of a novel gene EOLA1 stimulating ECV304 cell proliferation[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2004, 325(3): 798-802.

[4] SIEBERT P D, CHENCHIK A, KELLOGG D E, *et al*. An improved method for walking in uncloned genomic DNA[J]. Nucleic Acids Res, 1995, 23(6): 1087-1088.

[5] ARENAL A, PIMENTEL R, GARCIA C, *et al*. The SV40 T antigen nuclear localization sequence enhances nuclear import of vector DNA in embryos of a crustacean (Litopenaeus schmitti)[J]. Gene, 2004, 337: 71-77.

(编辑　薛国文)

关于计量单位的使用

在医学领域中计量单位使用很频繁。国务院于1984-02-27公布了《关于在我国统一实行法定计量单位的命令》和《中华人民共和国法定计量单位》。1993-12-27国家技术监督局发布了《量和单位》国家强制标准,全国必须统一采用的计量单位。

我国的法定计量单位包括:①国际单位制的基本单位,如长度(m)、质量(kg)、时间(s)等;②国际单位制的辅助单位;③国际单位制中具有专门名称的导出单位,如频率(Hz)、压力(Pa)、能量(J);④国家选定的非国际单位制单位,如时间(min、h、d)、转速(r/min);⑤由以上单位构成的组合形式单位,如速度(m/s)、浓度(mol/L);⑥由词头和以上单位所构成的倍数和分数单位,如μm、kPa、ml等。在医学写作时必须严格执行国务院的命令和有关的国家标准。

各种单位除在无数值的叙述性文字中和科普读物中可使用中文名称或中文符号外,均应使用符号。单位符号都是正体拉丁和希腊字母,无复数形式,符号后不附加圆点(正常语法名字尾标点符号除外)。来源于人名的单位,例如:Pa、Gy、W等和10^6以上的词头,例如:M、G、T等的首字母大写以外均为小写,容积"升"的符号可用大写(L)也可用小写(l),一般在单独使用不加词头时用大写。数值与单位符号之间、单位符号与相邻的其他符号(例如:化学元素符号)之间应留半个阿伯数字空隙,词头与其所组合的单位符号之间不需空隙。词头不能单独使用,也不能重叠使用(例如:"mμm"应为"nm")。

本刊编辑部