究[13]。

本实验在 cycun E 基因序列中选取了 612 ~ 634 nt、797 ~ 819 nt 两处作为干扰靶点，成功构建了针对 cyclin E 基因的 shRNA 长效真核表达载体。该载体可持续表达 siRNA，转染 HeLa 细胞后通过 RT-PCR 分析证实其中针对 797 ~ 819 nt 靶点的 shRNA 载体干扰效果较好，干扰组细胞中 cyclin E mRNA 水平较非干扰组及阴性对照组细胞明显下降（抑制率为 59%），与文献[7,8]报道的 cyclin E 基因有效干扰靶点抑制效率相近，说明该 shRNA 真核表达载体能特异地降低宫颈癌 HeLa 细胞中 cyclin E mRNA 水平，起到转录后基因沉默作用。MTT 方法分析干扰后 HeLa 细胞生长增殖情况，结果显示干扰载体转染细胞比非干扰因素处理组细胞的增殖能力随时间推移明显降低（$P < 0.05$），提示干扰 cyclin E 基因后可抑制 HeLa 细胞的恶性增殖。流式细胞仪分析 HeLa 细胞周期变化，显示干扰组的细胞中 $G_0 \sim G_1$ 期细胞明显增加，而 S 期细胞明显减少（$P < 0.05$），实验结果证实了 cyclin E 在细胞周期 G_1/S 时相转换的关键作用。干扰 cyclin E 基因表达可使 HeLa 细胞停滞在 $G_0 \sim G_1$ 期，一定程度地扭转其恶性程度。本实验初步证明了 RNAi 技术能有效下调 HeLa 细胞中 cyclin E 基因的表达，抑制宫颈癌细胞恶性增殖，为宫颈癌的基因治疗开辟了新的思路。

参考文献：

[1] Jiang M, Milner J. Selective silencing of viral gene E6 and E7 expression in HPV-positive human cervical carcinoma cells using small interfering RNAs[J]. Mothods Mol Biol, 2005, 292: 401 - 420.

[2] Kim Y T, Zhao M. Aberrant cell cycle regulation in cervical carcinoma [J]. Yonsei Med J, 2005, 46(5): 597 - 613.

[3] Boutla A, Delidakis C, Livadaras I, *et al*. Variations of the 3' protruding ends in synthetic short interfering RNA(siRNA) tested by microinjection in Drosophila embryos[J]. Oligonucleotides, 2003, 13(5): 295 - 301.

[4] Bales E, Mills L, Milam N, *et al*. The low molecular weight cyclin E isoforms augment angiogenesis and metastasis of human melanoma cells *in vivo*[J]. Cancer Res, 2005, 65(3): 692 - 697.

[5] 王 梅，刘丽娜，吕 申. 细胞周期素 E 蛋白在胃癌组织的表达及意义[J]. 肿瘤研究与临床，2006，18(4)：231 - 232.

[6] Farley J, Smith L M, Darcy K M, *et al*. Cyclin E expression is a significant predictor of survival in advanced, suboptimally debulked ovarian epithelial cancers: a Gynecologic Oncology Group Study[J]. Cancer Res, 2003, 63(6): 1235 - 1241.

[7] Li K, Lin S Y, Brunicardi F C, *et al*. Use of RNA interference to target cyclin E-overexpressing hepatocellular carcinoma [J]. Cancer Res, 2003, 63(13): 3593 - 3597.

[8] 宋海星，马文丽，宋艳斌，等. cyclin E 基因 siRNA 抑制 K562 细胞生长的研究[J]. 第一军医大学学报，2005，25(4)：361 - 365.

[9] 李长民，庄如锦，李佩玲，等. p27 和 cyclinE 在宫颈癌中的表达及其临床意义[J]. 中国现代医学杂志，2005，15(11)：1651 - 1654.

[10] Cho N H, Kim Y T, Kim J W. Alteration of cell cycle in cervical tumor associated with human papillomavirus: cyclin-dependent kinase inhibitors [J]. Yonsei Med J, 2002, 43(6): 722 - 728.

[11] 吕 伟，张 超，郝 佳，等. shRNA 沉默 VEGF 基因表达对大肠癌细胞生物学特性的影响[J]. 第三军医大学学报，2006，28(5)：447 - 450.

[12] Gesarone G, Garofalo C, Abrams M T, *et al*. RNAi-mediated silencing of insulin receptor substrate 1 (IRS-1) enhances tamoxifen-induced cell death in MCF-7 breast cancer cells [J]. J Cell Biochem, 2006, 98(2): 440 - 450.

[13] Castanotto D, Li H, Rossi J J. Functional siRNA expression from transfected PCR products[J]. RNA, 2002, 8(11): 1454 - 1460.

（编辑 龙 亮）

参考文献类型及标识

根据 GB 3469 规定，以单字母方式标识以下各种参考文献类型：

参考文献类型	专著	论文集	报纸文章	期刊文章	学位论文	报告	标准	专利
文献类型标识	M	C	N	J	D	R	S	P

对于专著、论文集中的析出文献，其文献类型标识建议采用单字母“A”；对于其他未说明的文献类型，建议采用单字母“Z”。

对于数据库(database)、计算机程序(computer program)及电子公告(electronic bulletin board)等电子文献类型的参考文献，建议以下列双字母作为标识：

电子参考文献类型	数据库	计算机程序	电子公告
电子文献类型标识	DB	CP	EB

本刊编辑部