



doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2014.06.013
http://www.zpwz.net/CN/abstract/abstract3921.shtml

· 基础研究 ·

U6/H1 双启动子 siRNA 表达框架构建及其对肿瘤细胞端粒酶活性的干扰作用

龚霞, 张慧慧, 彭剑雄, 罗建新

(中南大学湘雅医学院 医学检验系, 湖南 长沙 410013)

摘要

目的: 构建针对端粒酶 hTERT 基因的 U6/H1 双启动子 siRNA 表达框架 (SEC), 并观察其转录产物对 HeLa 细胞端粒酶活性的干扰作用。

方法: 利用融合 PCR 技术, 针对人端粒酶 hTERT 基因开放阅读区构建 3 条 U6/H1 双启动子 SEC 以及针对其 3' 端非翻译区构建 1 条 U6/H1 双启动子 SEC, 对各 SEC 鉴定后, 分别转染人宫颈癌 HeLa 细胞, 用端粒重复序列扩增法 (TRAP) 检测 HeLa 细胞的端粒酶活性。

结果: 4 种针对端粒酶 hTERT 基因的 U6/H1 双启动子 SEC 均成功构建, 转染 HeLa 细胞后, 对端粒酶活性的抑制率分别为 36.8%、57.39%、80.47%、70.31%。

结论: 针对端粒酶 hTERT 基因的 U6/H1 双启动子 SEC 的成功构建, 为开展肿瘤端粒酶基因干扰的实验研究提供了新的有效手段。

[中国普通外科杂志, 2014, 23(6):769-774]

关键词

端粒, 末端转移酶; RNA 干扰; 启动区 (遗传学)
中图分类号: R730.5

Construction of U6/H1 dual promoter siRNA expression cassettes and their interfering effects on telomerase activity in tumor cells

GONG Xia, ZHANG Huihui, PENG Jianxiong, LUO Jianxin

(Department of Laboratory Medicine, Xiangya School of Medicine, Central South University, Changsha 410013, China)

Corresponding author: PENG Jianxiong, Email: jxpeng@xysm.net

ABSTRACT

Objective: To construct the U6/H1 dual promoter siRNA expression cassettes (SEC) targeting human telomerase hTERT gene, and to observe the interfering effect of their transcription products on hTERT gene activity in HeLa cells.

Methods: By fusion PCR, three U6/H1 dual promoter SECs targeting the open reading frame of the hTERT gene and one SEC targeting the 3' untranslated region of the hTERT gene were constructed. The SECs were transferred into human cervical cancer HeLa cells respectively after identification, and then the telomerase activity in the HeLa cells was assessed by telomeric repeat amplification protocol (TRAP).

Results: The four SECs targeting human telomerase hTERT gene were all successfully constructed, and after their transfection into the HeLa cells, the rate of telomerase activity inhibition was 36.8%, 57.39%, 80.47%, and

基金项目: 湖南省科技厅课题资助项目 (98SSY1003)。

收稿日期: 2014-02-22; 修订日期: 2014-05-05。

作者简介: 龚霞, 中南大学湘雅医学院硕士研究生, 主要从事生化与分子生物学诊断方面的研究。

通信作者: 彭剑雄, Email: jxpeng@xysm.net

70.31%, respectively.

Conclusion: The successful construction of SECs targeting human telomerase hTERT gene may provide a novel effective approach for study of the gene interference of tumor telomerase.

[Chinese Journal of General Surgery, 2014, 23(6):769-774]

KEYWORDS Telomerase; RNA Interference; Promoter Regions (Genetics)

CLC number: R730.5

1998年, Fire等^[1]首次在线虫中发现了RNA干扰现象, 随后的研究发现, 这种RNA干扰现象也存在于拟南芥、果蝇、斑马鱼、真菌以及植物等真核生物^[2]。RNA干扰技术具有简便、特异、高效的特点, 已作为一种新的基因功能研究和疾病治疗的工具得到广泛应用^[3]。应用RNAi技术对肿瘤细胞端粒酶(hTERT)基因表达进行干扰, 从而特异抑制肿瘤端粒酶活性的研究尤为令人瞩目, 在肝癌^[4]、胰腺癌^[5]、肾癌^[6]、结肠癌^[7]、肺癌^[8]等肿瘤细胞的研究报道显示肿瘤细胞的端粒酶活性明显降低, 增殖显著抑制。目前获取所需的siRNA的主要技术方法包括: 化学合成^[9]、构建质粒^[10]或各种病毒载体^[11]转染细胞在细胞内表达生成siRNA。化学合成成本高, 载体构建方法操作繁琐。本实验利用融合PCR技术针对hTERT基因制备具U6和H1双启动子的siRNA/miRNA新型表达框架, 建立一种简便、快捷的制备siRNA/miRNA的方法, 并探讨其转染肿瘤细胞(HeLa)后对其端粒酶活性的影响, 为临床开展针对肿瘤端粒酶基因干扰的实验研究提供一种新的技术方法。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 细胞与试剂 人宫颈癌细胞株HeLa细胞, 由本校细胞中心提供。dNTP及Taq DNA聚合酶(上海生工); Ex Taq DNA聚合酶(大连宝生物); 琼脂糖(BBI); DMEM细胞培养液(Gibco); 小牛血清(杭州四季青); 普通DNA产物纯化及回收试剂盒(北京天根); 端粒酶活性检测试剂; pBR322 DNA/MspI Marker、DNA Marker I(北京天根)。模板: pSUPER.retro.neo+GFP(美国Oligoengine公司)、pRNAT-U6.1/Neo(美国Genscript公司), 均由本校肿瘤研究所提供。

1.1.2 引物

1.1.2.1 合成 siRNA/miRNA SEC 所需引物 正向引物: U6F、H1F、U6F 为与 U6 启动子区 5' 端相同的核苷酸序列; H1F 为与 H1 启动子区 5' 端互补的核苷酸序列。反向引物: 为特异性 siRNA/miRNA 序列引物。利用 siRNA/miRNA 设计软件设计针对人端粒酶 hTERT mRNA 序列(NM_198253)的 siRNA/miRNA 序列。选定 3 个 siRNA 靶序列位点分别为 2650-2668、2760-2778、3009-3027, miRNA 靶序列位点为 3964-3982。反向引物从 5' 端到 3' 端序列依次为: 19 nt 的特异核苷酸序列(siRNA/miRNA 反义链模板序列), 后接对向启动子的终止信号以及对应的启动子区 3' 端序列互补的序列。随机对照的特异序列为与 2650-2668 位点碱基构成相同但排列不同的片段(各引物序列见表 1)。以上引物均经 BLAST 比对后与人类基因组中其它基因无同源序列(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST>)。

1.1.2.2 TRAP-PCR-银染法引物^[12] TS 5'-AAT CCG TCG AGC AGA GTT-3'; ACX 5'-GCG CGG CTT ACC CTT ACC CTT ACC CTA ACC-3' (上海生物工程有限公司)。

1.2 实验方法

1.2.1 利用融合 PCR 技术构建 U6/H1 双启动子 SEC

1.2.1.1 单 H1 启动子 SEC 和单 U6 启动子 SEC 的合成 50 μL PCR 反应体系包括: 10×PCR 缓冲液(不含 MgCl₂), 25 mmol/L MgCl₂, dNTP (10 mmol/L), 模板分别为 pSUPER.retro.neo+GFP 质粒和 pRNAT-U6.1/Neo 质粒, Taq 酶 (5 U/μL), 引物分别为 H1F、H1R-1 (2/3/4/5) 和 U6F、U6R-1 (2/3/4/5) (10 μmol/L), 以灭菌 DDW 补足至 50 μL, 经 PCR 反应分别获得单 H1 启动子 SEC (H1-1/2/3/4/5) 和单 U6 启动子 SEC (U6-1/2/3/4/5)。

表1 构建 U6/H1 双启动子 SEC 的引物

名称	序列	hTERT 靶位点
H1F	5'-GAA TTC GAA CGC TGA CGT C-3'	—
U6F	5'-GAG AAG CAT GAA TTC CCC AGT-3'	—
H1R-1	5'-GGA AGA CAG TGG TGA ACT TTT TTT GTG GTC TCA TAC AGA AC-3'	2760-2778
U6R-1	5'-AAG TTC ACC ACT GTC TTC CCT TTT CGC GTC CTT TCC ACA AGA TA-3'	2760-2778
U6R-2	5'-GCC TGT TTC TGG ATT TGC ATT TTT GTG GTC TCA TAC AGA AC-3'	3009-3027
H1R-2	5'-TGC AAA TCC AGA AAC AGG CCT TTT CGC GTC CTT TCC ACA AGA TA-3'	3009-3027
H1R-3	5'-GAG GTG CTG TGG GAG TAA ATT TTT GTG GTC TCA TAC AGA AC-3'	3964-3982
U6R-3	5'-TTT ACT CCC ACA GCA CCT CCT TTT CGC GTC CTT TCC ACA AGA TA-3'	3964-3982
H1R-4	5'-CGG TTT GGT GGA TGA TTT CTT TTT GTG GTC TCA TAC AGA AC-3'	2650-2668
U6R-4	5'-GAA ATC ATC CAC CAA ACG CCT TTT CGC GTC CTT TCC ACA AGA TA-3'	2650-2668
H1R-5	5'-GTG TGA TGT GTC GGT ATT CTT TTT GTG GTC TCA TAC AGA AC-3'	随机对照
U6R-5	5'-GAA TAC CGA CAC ATC ACA CCT TTT CGC GTC CTT TCC ACA AGA TA-3'	随机对照

1.2.1.2 U6/H1 双启动子 SEC 的合成 50 μ L PCR 反应体系包括: 10 \times PCR 缓冲液 (不含 $MgCl_2$), 25 mmol/L $MgCl_2$, dNTP (10 mmol/L), 模板 (U6-1/2/3/4/5, H1-1/2/3/4/5), ExTaq 酶 (5 U/ μ L), U6F、H1F (10 μ mol/L), 以灭菌 DDW 补足至 50 μ L, 经 PCR 反应后可转录出 U6/H1 双启动子 SEC。

1.2.1.3 PCR 反应产物的纯化及鉴定 PCR 反应产物使用普通 DNA 产物纯化试剂盒进行纯化, 按说明书进行操作。用 2.5% 的琼脂糖凝胶电泳 (稳压 50 V, 100 min) 进行分析鉴定, 用紫外分光光度法进行定量分析。

1.2.2 细胞培养及 SEC 的转染^[13] HeLa 细胞用含有 10% 小牛血清的 DMEM 培养基在 37 $^{\circ}C$ 、5% CO_2 环境下培养。将对数生长期的细胞用胰蛋白酶消化、洗脱, 按 1×10^5 细胞 / 孔加入 6 孔培养板中, 继续于 37 $^{\circ}C$ 、5% CO_2 的细胞培养箱中培养至其长到培养板面积的 60%~70% 时采用磷酸钙共沉淀法进行转染, 每个 SEC 转染 3 次。

1.2.3 端粒酶活性的检测

1.2.3.1 细胞裂解液的制备 待测细胞裂解液按 Kim^[14] 法制备: HeLa 细胞用胰蛋白酶消化, 用冰冷的 0.1 mmol/L PBS 洗 2 次后, 按 1 μ L/3 000 个细胞加入预冷的裂解液, 吹打细胞悬液; 冰育 30 min 后, 4 $^{\circ}C$ 12 000 r/min 离心 30 min, 取上清液。酚试剂法测定蛋白浓度, 用 1 \times TRAP 缓冲液稀释裂解液蛋白浓度至 0.3 g/L。

1.2.3.2 端粒酶活性的定性及半定量检测 (1) 定性检测: 使用 TRAP-PCR 银染法进行定性检测。将上述细胞裂解液按金氏法^[15] 进行扩增反应, 产物

经 12% PAGE 电泳后以银染色法观察结果。(2) 半定量检测: 3 次转染后细胞端粒酶活性检测的 PAGE 胶经凝胶成像系统成像后, 用 Quantity One 软件分别对 3 次 PAGE 胶的各组电泳条带进行灰度扫描, 计算各泳道 DNA 条带的灰度值总和作为各泳道的灰度扫描值, 取 3 次扫描的均值作为每组的扫描灰度值, 以转染组的扫描灰度值和未转染组的扫描灰度值的比值计算出各转染组的相对端粒酶活性值, 以相对端粒酶活性值计算 RNA 干扰效率。并采用 SPSS 13.0 进行 One-Way ANOVA 统计学分析。

2 结果

2.1 U6/H1 双启动子 SEC 的鉴定

2.1.1 琼脂糖凝胶电泳定性检测 利用融合 PCR 技术, 在体外构建的针对 hTERT U6/H1 双启动子 SEC 进行琼脂糖凝胶电泳, 可见 3 条明显区带, 大小分别为 245 bp、366 bp、592 bp, 分别为单 H1 启动子 SEC、单 U6 启动子 SEC、U6/H1 双启动子 SEC (图 1)。

2.1.2 紫外分光光度法定量分析 融合 PCR 技术合成的 SEC 紫外分光光度法测定结果显示 $A_{260} \text{ nm}/A_{280} \text{ nm}$ 介于 1.8~2.0 之间, 提示纯度较好。

2.2 SEC 对 HeLa 细胞端粒酶活性的影响

2.2.1 端粒酶活性的定性检测 未转染组和分别转染了 U6/H1 双启动子 SEC 1~5 的转染组 HeLa 细胞裂解后, 用 TRAP-PCR-银染法检测相应的端粒酶活性, 结果显示转染了 U6/H1 双启动子 SEC 的转染组 (1~4) 其转录生成的 siRNA/miRNA 均

能明显抑制 HeLa 细胞端粒酶的活性, 未转染组(0)和随机对照组(5)则未见明显抑制(图 2A)。

用 Quantity One 软件分别对 3 次 PAGE 胶的各组电泳条带进行灰度扫描。统计学分析结果显

示: 各组灰度扫描值存在统计学差异 ($P < 0.05$), 而未转染组转染随机对照序列组无统计学差异 ($P > 0.05$); 对端粒酶活性的抑制率分别为 36.8%、57.39%、80.47%、70.31% (图 2B)。

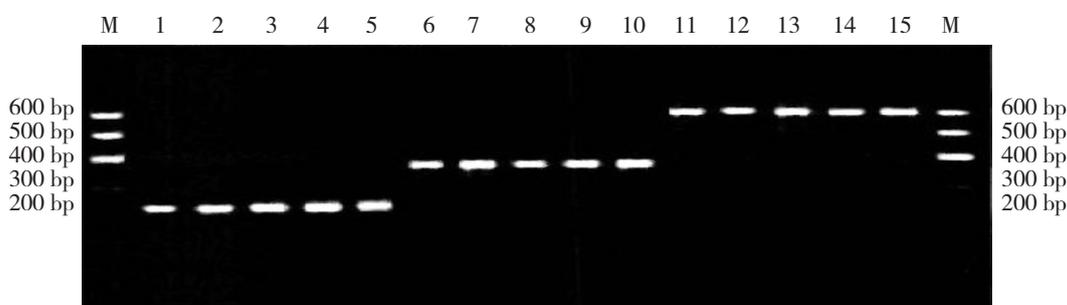


图 1 PCR 产物琼脂糖凝胶电泳分析 M: DNA 标记; 1-4: 分别针对 hTERT 2760-2778、3009-3027、3964-3982、2650-2668 位点 H1 单启动子反义链 SEC; 5: 随机对照 H1 单启动子反义链 SEC; 6-9: 分别针对 hTERT 2760-2778、3009-3027、3964-3982、2650-2668 位点 U6 单启动子反义链 SEC; 10: 随机对照 U6 单启动子反义链 SEC; 11-14: 分别针对 hTERT 2760-2778、3009-3027、3964-3982、2650-2668 位点 U6/H1 双启动子反义链 SEC; 15: 随机对照 U6/H1 双启动子反义链 SEC

Figure 1 Agarose gel electrophoresis for analysis of PCR products M: DNA Marker; 1-4: Products of single H1 promoter antisense strand SECs targeting hTERT 2760-2778, 3009-3027, 3964-3982, 2650-2668 respectively; 5: Products of single H1 promoter antisense strand SECs targeting randomized control sequence; 6-9: Products of single U6 promoter sense strand SECs targeting hTERT 2760-2778, 3009-3027, 3964-3982 and 2650-2668 respectively; 10: Products of single U6 promoter sense strand SEC targeting randomized control; 11-14: Products of U6/H1 dual promoters SECs targeting hTERT 2760-2778, 3009-3027, 3964-3982 and 2650-2668 respectively; 15: Products of U6/H1 dual promoter SEC targeting randomized control sequence

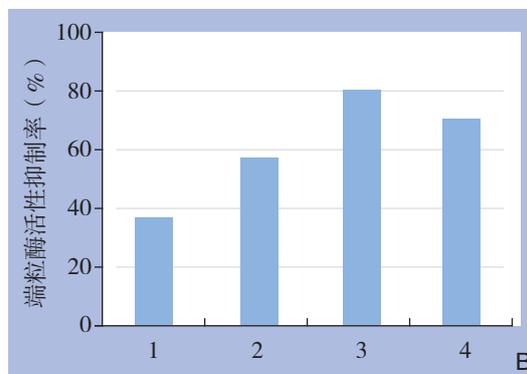
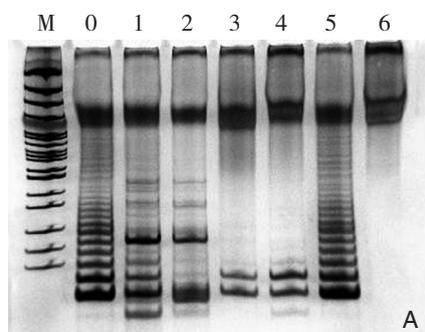


图 2 HeLa 细胞端粒酶活性检测 A: 各组细胞端粒酶表达情况; B: 各组细胞端粒酶活性抑制率 M: DNA 标记; 0: 未转染的 HeLa 细胞; 1-4: 分别转染针对 hTERT 2760-2778、3009-3027、3964-3982、2650-2668 位点 U6/H1 双启动子 SEC 的 HeLa 细胞; 5: 转染随机对照序列的 HeLa 细胞; 6: 阴性对照(双蒸水)

Figure 2 Determination of the telomerase activity in HeLa cells A: Telomerase expression in each group of cells; B: Rate of telomerase activity inhibition in each group of cells M: DNA Marker; 0: Untransfected HeLa cells; 1-4: HeLa cells transfected with U6/H1 dual promoter SECs targeting hTERT 2760-2778, 3009-3027, 3964-3982 and 2650-2668 respectively; 5: HeLa cells transfected with randomized control sequence; 6: Negative control (double distilled water)

3 讨论

人端粒酶是由人端粒酶 RNA (hTR)、人端粒酶逆转录酶 (hTERT) 以及端粒酶相关蛋白质 (TP1/TLP1) 3 部分组成的核糖核蛋白复合物。

端粒酶能以自身 RNA 为模板合成端粒 DNA, 维持端粒的长度^[16-18]。研究^[19]表明人体除干细胞和生殖细胞外, 绝大多数组织细胞是无端粒酶活性的, 而 85%~95% 的人恶性肿瘤组织端粒酶活性为阳性, 表明端粒酶激活可能是肿瘤细胞获得持续增殖

能力的一个途径。hTERT 是端粒酶发挥作用的主要限速因子,因此针对 hTERT 基因进行 RNA 干扰是抑制肿瘤实现肿瘤治疗策略的一个理想靶点。

近年来许多 RNAi 实验研究表明,针对同一靶基因序列随机设计的 siRNA,其对靶基因的特异抑制率有很大的差别。张汝钢等^[20]利用重组质粒转染结肠癌细胞,其 hTERT 干扰效率为 21.5%,Shen 等^[7]利用化学合成的 siRNA 同样干扰结肠癌细胞,其 hTERT 干扰效率为 $(45.00 \pm 6.18) \%$ 。因此如何设计高效、特异的抑制靶基因的 siRNA/miRNA 是 RNAi 实验成功的先决条件。本实验室已经利用融合 PCR 技术成功的构建了 2 条双 H1 启动子 SEC,经转染 HepG2 细胞,证实所构建的双 H1 启动子 SEC 对 HepG2 细胞端粒酶活性有明显的抑制作用^[21]。这说明针对靶位点设计的 SEC 是有效的。利用 PCR 技术获得 siRNA SEC 这一方法首先由 Castanotto 等^[22]提出。大多数的 pol III 启动子序列位于被转录产物的内部^[23],而 U6 和 H1 启动子不包含这些内部启动子序列,故广泛应用于表达干扰 RNA。本实验利用融合 PCR 技术,在体外构建的 SEC 转染细胞后,U6、H1 启动子将分别驱动 RNA pol III 从正向和反向转录特异的干扰序列,转录产物根据序列间的互补结合成 siRNA/miRNA,从而产生干扰效应。本实验合成的针对 hTERT mRNA 序列(NM_198253)2760-2778、3009-3027、3964-3982、2650-2668 4 个位点合成的 siRNA/miRNA SEC 转染 HeLa 细胞后,其对该细胞端粒酶活性抑制率分别为 36.8%、57.39%、80.47%、70.31%,对照组无明显的干扰作用。说明本实验构建的 SEC 成功发挥了 RNA 干扰作用。

本实验构建的新型 siRNA/miRNA SEC 相当于质粒表达框架去掉了质粒 DNA 序列,因而不会引入外源基因。该 SEC 片段大小(592 bp)远小于质粒 DNA 片段,更易于转染,提高转染效率。构建此新型 siRNA/miRNA SEC 所用的技术为 DNA 水平上的 PCR 反应,最短可在 1d 内合成,操作简便,只需合成不同的特异性引物,便可靶向不同的干扰位点,为高通量筛选有效的干扰位点和建立 RNAi 文库提供新的思路,为探索肿瘤基因抑制及遏制肿瘤增殖途径提供线索,为进一步在体内进行相关实验研究打下良好的基础。

参考文献

- [1] Fire A, Xu S, Montgomery MK, et al. Potent and specific genetic interference by double-stranded RNA in *Caenorhabditis elegans*[J]. *Nature*, 1998, 391(6669):806-811.
- [2] Tuschl T. RNA interference and small interfering RNAs[J]. *ChemBiochem*, 2001, 2(4):239-245.
- [3] Kim D, Rossi J. RNAi mechanisms and applications[J]. *Biotechniques*, 2008, 44(5):613-616.
- [4] Hu Y, Shen Y, Ji B, et al. Combinational RNAi gene therapy of hepatocellular carcinoma by targeting human EGFR and TERT[J]. *Eur J Pharm Sci*, 2011, 42(4):387-391.
- [5] 谭晶,孙敏,莫小华,等.重组质粒 pSilencer4.1CMV neo-hTERT-siRNA 转染胰腺癌细胞 BxPC-3 及其沉默效应的研究[J]. *南方医科大学学报*, 2010, 30(8):1847-1850.
- [6] Fang L, Cheng Q, Li W, et al. Antitumor activities of an oncolytic adenovirus equipped with a double siRNA targeting Ki67 and hTERT in renal cancer cells[J]. *Virus Res*, 2014, 181:61-71.
- [7] Shen Y, Zhang YW, Zhang ZX, et al. hTERT-targeted RNA interference inhibits tumorigenicity and motility of HCT116 cells[J]. *Cancer Biol Ther*, 2008, 7(2):228-236.
- [8] Ge L, Deng Z, Zhang Y, et al. Effect of plasmid-mediated RNA interference targeting telomerase reverse transcriptase on lung cancer cells[J]. *Oncol Rep*, 2011, 26(6):1487-1495.
- [9] Amarzguioui M, Rossi JJ, Kim D. Approaches for chemically synthesized siRNA and vector-mediated RNAi[J]. *FEBS Lett*, 2005, 579(26):5974-5981.
- [10] Li X, Li Y, Hu J, et al. Plasmid-based E6-specific siRNA and co-expression of wild-type p53 suppresses the growth of cervical cancer in vitro and in vivo[J]. *Cancer Lett*, 2013, 335(1):242-250.
- [11] Crowther C, Mowa MB, Ely A, et al. Inhibition of hepatitis B virus replication in vivo using helper-dependent adenovirus vectors to deliver antiviral RNAi expression cassettes[J]. *Antivir Ther*, 2013, doi: 10.3851/IMP2713.
- [12] Kim NW, Wu F. Advances in quantification and characterization of telomerase activity by the telomeric repeat amplification protocol (TRAP)[J]. *Nucleic Acids Res*, 1997, 25(13):2595-2597.
- [13] Jordan M, Wurm F. Transfection of adherent and suspended cells by calcium phosphate[J]. *Methods*, 2004, 33(2):136-143.
- [14] Kim NW, Piatyszek MA, Prowse KR, et al. Specific association of human telomerase activity with immortal cells and cancer[J]. *Science*, 1994, 266(5193):2011-2015.
- [15] de Lange T. Activation of telomerase in a human tumor[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1994, 91(8):2882-2885.
- [16] Zvereva MI, Shcherbakova DM, Dontsova OA. Telomerase: structure, functions, and activity regulation[J]. *Biochemistry (Mosc)*, 2010, 75(13):1563-1583.

- [17] Günes C, Rudolph KL. The role of telomeres in stem cells and cancer[J]. Cell, 2013, 152(3):390-393.
- [18] Nandakumar J, Cech TR. Finding the end: recruitment of telomerase to telomeres[J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2013, 14(2):69-82.
- [19] Shay JW, Bacchetti S. A survey of telomerase activity in human cancer[J]. Eur J Cancer, 1997, 33(5):787-791.
- [20] 张汝钢, 房殿春, 高春芳. 人端粒酶逆转录酶 RNA 干扰对结肠癌细胞生物学行为的影响 [J]. 胃肠病学和肝病学杂志, 2009, 18(3):243-246.
- [21] 张慧慧, 陈明, 罗建新, 等. 体外构建双 H1 启动子 SECs 及其对 HepG2 细胞端粒酶活性的干扰作用 [J]. 中国普通外科杂志, 2009, 18(1):53-57.
- [22] Castanotto D, Li H, Rossi JJ. Functional siRNA expression from transfected PCR products[J]. RNA, 2002, 8(11):1454-1460.
- [23] Nikitina TV, Tishchenko LI. RNA polymerase III transcription apparatus: structure and transcription regulation[J]. Mol Biol (Mosk), 2005, 39(2):179-192.

(本文编辑 宋涛)

本文引用格式: 龚霞, 张慧慧, 彭剑雄, 等. U6/H1 双启动子 siRNA 表达框架构建及其对肿瘤细胞端粒酶活性的干扰作用 [J]. 中国普通外科杂志, 2014, 23(6):769-774. doi: 10.7659/j.issn.1005-6947.2014.06.013

Cite this article as: GONG X, ZHANG HH, PENG JX, et al. Construction of U6/H1 dual promoter siRNA expression cassettes and their interfering effects on telomerase activity in tumor cells[J]. Chin J Gen Surg, 2014, 23(6):769-774. doi: 10.7659/j.issn.1005-6947.2014.06.013

本刊常用词汇英文缩写表

C-反应蛋白	CRP	甲型肝炎病毒	HAV	心电图	ECG
Toll 样受体	TLRs	碱性成纤维细胞转化生长因子	bFGF	心脏监护病房	CCU
氨基末端激酶	JNK	聚合酶链反应	PCR	血管紧张素 II	AngII
白细胞	WBC	抗生物素蛋白-生物素酶复合物法	ABC 法	血管内皮生长因子	VEGF
白细胞介素	IL	辣根过氧化物酶	HRP	血管性血友病因子	vWF
半数抑制浓度	IC ₅₀	链霉抗生物素蛋白-生物素酶复合物法	SABC 法	血红蛋白	Hb
变异系数	CV	磷酸盐缓冲液	PBS	血肌酐	SCr
标记的链霉抗生物素蛋白-生物素法	SP 法	绿色荧光蛋白	GFP	血尿素氮	BUN
表皮生长因子	EGF	酶联免疫吸附测定	ELISA	血小板	PLT
丙氨酸转氨酶	ALT	美国食品药品监督管理局	FDA	血压	BP
丙二醛	MDA	脑电图	EEG	血氧饱和度	SO ₂
丙型肝炎病毒	HCV	内毒素/脂多糖	LPS	烟酰胺腺嘌呤二核苷酸	NADPH
超氧化物歧化酶	SOD	内皮型一氧化氮合酶	eNOS	严重急性呼吸综合征	SARS
磁共振成像	MRI	内生肌酐清除率	CCr	一氧化氮	NO
极低密度脂蛋白胆固醇	VLDL-C	尿素氮	BUN	一氧化氮合酶	NOS
低密度脂蛋白胆固醇	LDL-C	凝血酶时间	TT	乙二胺四乙酸	EDTA
动脉血二氧化碳分压	PaCO ₂	凝血酶原时间	PT	乙酰胆碱	ACh
动脉血氧分压	PaO ₂	牛血清白蛋白	BSA	乙型肝炎病毒	HBV
二甲亚砜	DMSO	热休克蛋白	HSP	乙型肝炎病毒 e 抗体	HBeAb
反转录-聚合酶链反应	RT-PCR	人类免疫缺陷病毒	HIV	乙型肝炎病毒 e 抗原	HBeAg
辅助性 T 细胞	Th	人绒毛膜促性腺激素	HCG	乙型肝炎病毒表面抗体	HBsAb
肝细胞生长因子	HGF	三磷酸腺苷	ATP	乙型肝炎病毒表面抗原	HBsAg
干扰素	IFN	三酰甘油	TG	乙型肝炎病毒核心抗体	HBeAb
高密度脂蛋白胆固醇	HDL-C	生理氯化钠溶液	NS	乙型肝炎病毒核心抗原	HBeAg
谷胱甘肽	GSH	世界卫生组织	WHO	异硫氰酸荧光素	FLTC
固相 pH 梯度	IPG	双蒸水	ddH ₂ O	诱导型一氧化氮合酶	iNOS
核糖核酸	RNA	丝裂原活化蛋白激酶	MAPK	原位末端标记法	TUNEL
核因子-κB	NF-κB	四甲基偶氮唑盐微量酶反应	MTT	杂合性缺失	LOH
红细胞	RBC	苏木精-伊红染色	HE	增强化学发光法	ECL
红细胞沉降率	ESR	胎牛血清	FBS	肿瘤坏死因子	TNF
环氧酶-2	COX-2	体质量指数	BMI	重症监护病房	ICU
活化部分凝血活酶时间	APTT	天冬氨酸氨基转移酶	AST	转化生长因子	TGF
活性氧	ROS	脱氧核糖核酸	DNA	自然杀伤细胞	NK 细胞
获得性免疫缺陷综合征	AIDS	细胞间黏附分子	ICAM	直接胆红素	DBIL
肌酐	Cr	细胞外基质	ECM	总胆固醇	TC
基质金属蛋白酶	MMP	细胞外调节蛋白激酶	ERK	总胆红素	TBIL
计算机 X 线断层照相技术	CT	纤连蛋白	FN		