



doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2014.01.015
http://www.zpwz.net/CN/abstract/abstract3761.shtml

· 基础研究 ·

hTERT, CEA 及 CMV 启动子在人结肠癌细胞株中的转录活性比较

贺赛, 孙学军, 郑见宝, 陈南征, 任燕飞, Rajendra Gurung, 魏光兵, 张立, 姚建峰, 尉春艳
(西安交通大学医学院第一附属医院 普通外科, 陕西 西安 710061)

摘要

目的: 比较人端粒酶催化亚单位 (hTERT), 癌胚抗原 (CEA) 及巨细胞病毒 (CMV) 启动子在人结肠癌细胞株 LoVo 和 SW480 中的转录活性。

方法: 设计引物应用 PCR 法从人结肠癌基因组中克隆 hTERT 和 CEA 启动子; 用双酶切和 PCR 法切除原始载体 pLVX-EGFP-3FLAG 中的 CMV 启动子后, 将 hTERT, CEA 启动子与该载体重组, 构建出重组质粒 pLVX-hTERTp-EGFP-3FLAG 和 pLVX-CEAp-EGFP-3FLAG; 将上述两种质粒及原始载体 (含 CMV 启动子) 分别瞬时转染人结肠癌细胞株 LoVo 和 SW480 后, 检测两种细胞株绿色荧光蛋白表达。

结果: 经 PCR, 酶切及测序鉴定, 克隆及载体构建完全正确。CMV, hTERT 及 CEA 启动子的转录活性 (绿色荧光细胞数 / 总细胞数) 在 LoVo 细胞中依次为 54.7%, 33.0%, 9.5%; 在 SW480 中依次为 16.5%, 10.1%, 8.5%, 差异均有统计学意义 (均 $P < 0.05$)。

结论: 在人结肠癌细胞株中, 转录活性以 CMV 启动子最高, hTERT 启动子次之, CEA 启动子最低。该结果可为结肠癌的靶向性基因治疗研究提供参考。 [中国普通外科杂志, 2014, 23(1):74-80]

关键词

结肠肿瘤; 转录启动子; 转染
中图分类号: R735.3

Comparison of the transcriptional activity of hTERT, CEA and CMV promoter in human colon carcinoma cell lines

HE Sai, SUN Xuejun, ZHENG Jianbao, CHEN Nanzheng, REN Yanfei, RAJENDRA Gurung, WEI Guangbing, ZHANG LI, YAO Jianfen, WEI Chunyan

(Department of General Surgery, First Affiliated Hospital, Medical College, Xi'an Jiaotong University, Xi'an China 710061)

Corresponding author: SUN Xuejun, Email: sunxy@mail.xjtu.edu.cn

ABSTRACT

Objective: To compare the transcriptional activity of human telomerase reverse transcriptase (hTERT), carcinoembryonic antigen (CEA) and cytomegalovirus (CMV) promoters in human colon cancer LoVo and SW480 cells.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81172362; 81101874); 陕西省科学技术研究发展计划资助项目 (2011-K12-19); 西安交通大学医学院第一附属医院科研基金资助项目 (2009YK03); 光华医学创新研究基金资助项目 (0203126)。

收稿日期: 2012-12-15; **修订日期:** 2013-09-07。

作者简介: 贺赛, 西安交通大学医学院第一附属医院硕士研究生, 主要从事消化系统肿瘤基础与临床方面的研究。

通信作者: 孙学军, Email: sunxy@mail.xjtu.edu.cn

Methods: After the primer sets were designed, the hTERT and CEA promoters were cloned by PCR amplification from the genome of colon cancer cells. The CMV promoter was removed from the original vector pLVX-EGFP-3FLAG by double digestion and PCR method, and the hTERT and CEA promoters were introduced into the vector to construct the recombinant plasmid pLVX-hTERTp-EGFP-3FLAG and pLVX-CEAp-EGFP-3FLAG. Colon cancer LoVo and SW480 cells were transiently transfected with the above two recombinant vectors and the original vector (containing CMV promoter) respectively, and the expressions of green fluorescent protein in the two cell lines were determined.

Results: Results of PCR, enzyme digestion and sequencing showed that the cloning products and plasmid constructions were completely correct. The transcriptional activities (number of cells expressing green fluorescence/total number of cells) of CMV, hTERT and CEA promoters in LoVo cells were 54.7%, 33.0% and 9.5%, and in SW480 cells were 16.5%, 10.1% and 8.5%, respectively. All the differences had statistical significance (all $P < 0.05$).

Conclusion: In human colon cancer cells, the transcriptional activity of CMV promoter is the highest, hTERT promoter is second and CEA promoter is the lowest. These results may provide information for the study of targeted gene therapy of colon cancer. [Chinese Journal of General Surgery, 2014, 23(1):74-80]

KEYWORDS

Colonic Neoplasms; Transcription Initiation Site; Transfection

CLC number: R735.3

启动子是一段位于结构基因 5' 端上游区的 DNA 序列, 能活化 RNA 聚合酶, 使之与模板 DNA 准确地结合并具有转录起始的特异性。作为基因的组成部分, 它控制着基因表达 (转录) 的起始时间和程度, 从而决定基因的活动^[1-4]。本实验克隆了人端粒酶催化亚单位 (hTERT) 启动子及癌胚抗原 (CEA) 启动子的活性片段, 并比较了两者与巨细胞病毒 (CMV) 启动子的转录活性, 拟为 hTERT 和 CEA 启动子的克隆及转录活性的进一步研究提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

人结肠癌细胞株 LoVo 及 SW480 均为本实验室保存。胎牛血清和杜伯克改良伊波尔培养基 (DMEM 高糖) 购自美国 Gibco 公司, DH5 α 工程细菌及 pLVX-EGFP-3FLAG 表达载体由本实验室冻存。限制性内切酶、T4DNA 连接酶、TaKaRa Ex Taq 聚合酶、基因组 DNA 快速提取试剂盒购自宝生物工程 (大连) 有限公司。质粒小提试剂盒及琼脂糖凝胶电泳回收试剂盒购自天根生化科技 (北京) 有限公司。脂质体 lipofectamineTM2000 购自美国 Invitrogen 公司。引物设计用 Oligo6.0 及

Primer5.0 软件, 由上海生工生物有限公司合成, 测序由北京奥科生物公司完成。

1.2 实验方法

1.2.1 hTERT 基因启动子的克隆及 pLVX-hTERTp-EGFP-3FLAG 的构建 用基因组 DNA 提取试剂盒提取临床来源结肠癌肿瘤的人基因组 DNA。根据基因数据库 (GenBank, AN 097365) 中 hTERT 启动子序列设计一对引物: 上游引物为 5'-GTT TAT CGA TAC GCG TCA CAG ACG CCC AGG ACC GCG CTT C-3', 下游引物为 5'-GAA GCT TGA GCT CGA GCC ACG TGC GCC CAC GTG CGC CCA C-3'; 5' 端分别引入 MluI 和 XhoI 酶切位点 (下画线所示酶切位点)。所用 DNA 聚合酶为 TakaRa Ex Taq 聚合酶。25 μ L 的反应体系, 94 $^{\circ}$ C 预变性 2 min, 94 $^{\circ}$ C 变性 20 s, 52 $^{\circ}$ C 退火 30 s, 72 $^{\circ}$ C 延伸 60 s, 40 个循环, 最后 72 $^{\circ}$ C 延伸 10 min。聚合酶链反应 (PCR) 扩增 hTERT 片段与载体 pLVX-EGFP-3FLAG 通过 MluI 和 XhoI 双酶切, 连接构建 pLVX-hTERTp-EGFP-3FLAG (图 1A), 转化感受态菌 DH5a, 接种氨苄青霉素 (50 mg/ μ L) 的溶菌肉汤 (LB) 平板, 37 $^{\circ}$ C 培养 15 h。挑取单克隆菌落摇菌提质粒, MluI 和 XhoI 双酶切鉴定, 对符合预期的克隆送测序。

1.2.2 CEA 基因启动子的克隆及 pLVX-CEAp-EGFP-3FLAG 的构建 根据 GenBank (NT 011109) 中 CEA 启动子序列设计一对引物: 上游引物为 5'-GAC GCG TCC CGG GAC CCT GCT GGG TTT CTC-3', 下游引物为 5'-CCC TCG AGA GCT TGA GTT CCA GGA ACG-3'; 5' 端分别引入 MluI 和 XhoI 酶切位点 (下画线所示酶切位点)。用基因组 DNA 提取试剂盒提取结肠癌肿瘤的人基因组 DNA, 并以此为模板, PCR 扩增 CEA 启动子片段。所用 DNA 聚合酶为 TakaRa

Ex Tap 聚合酶, 25 μ L 的反应体系, 98 $^{\circ}$ C 预变性 2 min, 98 $^{\circ}$ C 变性 20 s, 55 $^{\circ}$ C 退火 30 s, 72 $^{\circ}$ C 延伸 60 s; 30 个循环, 最后 72 $^{\circ}$ C 延伸 10 min。PCR 扩增 CEA 片段与载体 pLVX-EGFP-3FLAG 通过 MluI 和 XhoI 双酶切、连接构建 pLVX-CEAp-EGFP-3FLAG (图 1B), 转化感受态菌 DH5a, 接种氨苄青霉素 (50 mg/ μ L) 的 LB 平板, 37 $^{\circ}$ C 培养 15 h, 挑取单克隆菌落摇菌提质粒, MluI 和 XhoI 双酶切鉴定, 对符合预期的克隆送测序。

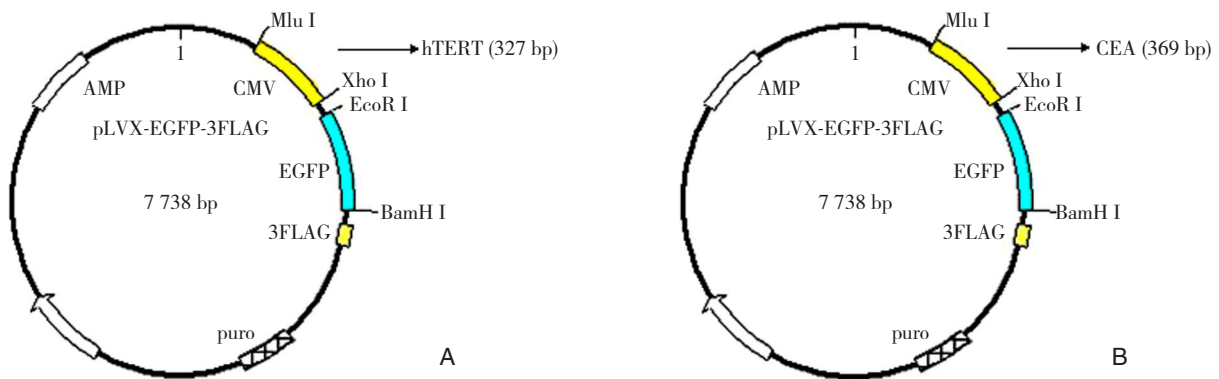


图 1 重组载体构建 A: pLVX-hTERT-EGFP-3FLAG; B: pLVX-CEA-EGFP-3FLAG

Figure 1 Construction of recombinant plasmids A: pLVX-hTERT-EGFP-3FLAG; B: pLVX-CEA-EGFP-3FLAG

1.2.3 人结肠癌细胞株 LoVo 和 SW480 的培养及 3 种质粒的瞬时转染 将 LoVo 及 SW480 细胞从液氮中取出, 复苏后在 37 $^{\circ}$ C, 5% CO₂ 条件下培养于 DMEM 完全培养基中, 细胞长满至单层后 (约 2~3 d), 用胰酶消化传代, 使细胞保持在对数生长期。细胞传至第 2 代后, 将细胞接种在 6 孔板中 (约 0.2×10^6 个细胞/孔), 25 h 后细胞生长至 80% 融合可用于转染。转染前, 弃去 6 孔板中的原培养液, 代之以 1.5 mL 无血清、无抗生素的 DMEM 不完全培养基。按照 lipofectamineTM2000 脂质体使用说明书, 取 4 μ g 经双酶切、测序鉴定正确的 pLVX-hTERTp-EGFP-3FLAG, pLVX-CEAp-EGFP-3FLAG 及 pLVX-EGFP-3FLAG (含 CMV 启动子) 分别加入 240 μ L 无血清、无抗生素的 DMEM 培养基, 轻轻混匀; 取 8 μ L 脂质体加入 240 μ L 无血清、无抗生素的 DMEM 培养基中, 轻轻混匀, 室温下孵育 5 min。将稀释的质粒和稀释的 lipofectamine2000 混合, 轻轻混匀, 室温下孵育 20 min。将混合物加到 6 孔板的各孔内, 轻轻混匀, 37 $^{\circ}$ C, 5% CO₂ 培养箱孵育 6 h 后弃去含有脂质体和质粒的培养

液, 代之以含有 10% 小牛血清 DMEM 完全培养液, 置于 37 $^{\circ}$ C, 5% CO₂ 培养箱孵育。24 h 后利用倒置荧光显微镜观察绿色荧光蛋白的表达。

1.2.4 倒置荧光显微镜观察绿色荧光蛋白的表达 随机选取 20 个视野, 分别在荧光和可见光下计数绿色细胞数和总细胞数。转录活性 = 绿色荧光细胞数 / 总细胞数^[5]。重复转染实验 6 次, 统计转录活性结果。将 6 次结果取平均值, 得到 3 种启动子分别在 LoVo 和 SW480 细胞中的转录活性。

1.3 统计学处理

用 SPSS 13.0 统计分析软件。结果以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示。2 个样本均数比较用 *t* 检验; 多个样本均数比较用单因素方差分析。P < 0.05 认为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 hTERT 启动子和 pLVX-hTERTp-EGFP-3FLAG 载体的鉴定

以人结肠癌基因组 DNA 为模板 PCR 扩增

hTERT 启动子片段, PCR 产物经 1% 琼脂糖凝胶电泳, 获得清晰的约 327 bp (碱基对) 大小的 DNA 片段 (图 2A), 与预期结果吻合。构建好的 pLVX-hTERTp-EGFP-3FLAG 行 MluI 和 XhoI 双酶切后可获得约 7 411 bp 和 327 bp 的片段, 与预期相符 (图 2B)。hTERT 启动子基因序列与 GenBank (AN 097365) 中 hTERT 启动子 DNA 序列完全一致, 经北京奥科有限公司测序确认。

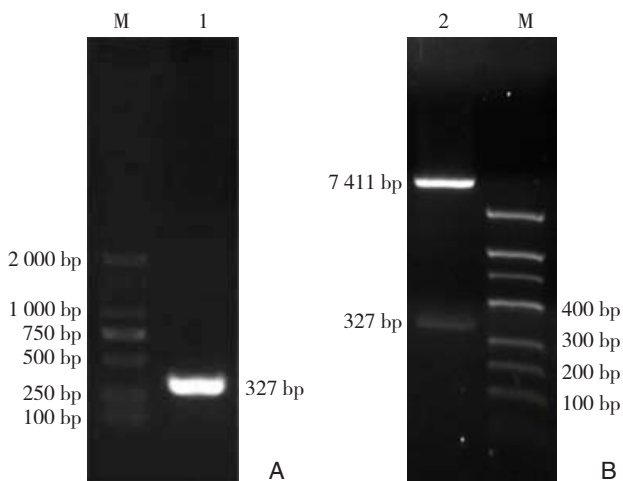


图 2 hTERT 启动子与其重组载体鉴定结果
A: hTERT PCR 产物电泳图; B: pLVX-hTERTp-EGFP-3FLAG 双酶切鉴定 M: DNA 分子质量标记; 1: PCR 产物; 2: 酶切产物

Figure 2 Results of identification for hTERT promoter and the recombinant vector A: electrophoretogram of hTERT PCR products; B: Double digestion for identification of pLVX-hTERTp-EGFP-3FLAG M: DNA marker; 1: PCR products; 2: Enzyme-digested products

2.2 CEA 启动子和 pLVX-CEAp-EGFP-3FLAG 载体的鉴定

同上法扩增 CEA 启动子片段, PCR 产物电泳后, 得到清晰的约 369 bp 大小的 DNA 片段 (图 3A), 与预期结果吻合。构建好的 pLVX-CEAp-EGFP-3FLAG 行 MluI 和 XhoI 双酶切后可获取约 7 369 bp 和 369 bp 的片段, 与预期相符 (图 3B)。CEA 启动子基因序列与 GenBank (NT 011109) 中 CEA 启动子 DNA 序列完全一致, 经北京奥科有限公司测序确认。

2.3 绿色荧光蛋白在 LoVo 及 SW480 细胞中的表达

将 pLVX-hTERTp-EGFP-3FLAG, pLVX-CEAp-EGFP-3FLAG, pLVX-EGFP-3FLAG 分别转

染的 LoVo 和 SW480 细胞, 于转染后 24 h 在倒置荧光显微镜下蓝光 (~395 nm) 激发时, 可见细胞内发射出均匀明亮的绿色荧光 (图 4)。

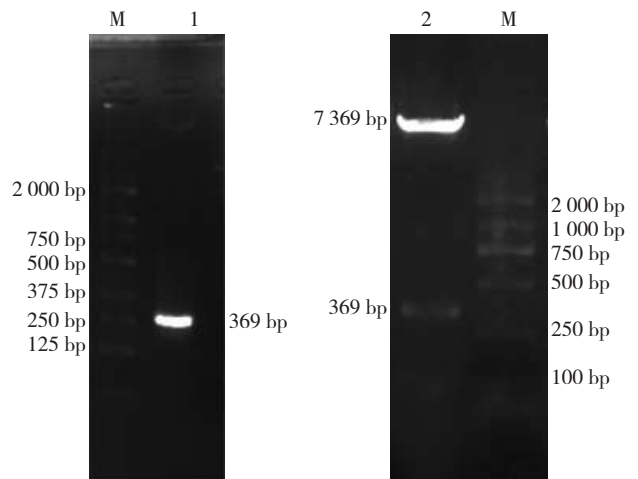


图 3 CEA 启动子与其重组载体鉴定结果
A: CEA PCR 产物电泳图; B: pLVX-CEAp-EGFP-3FLAG 双酶切鉴定 M: DNA 分子质量标记; 1: PCR 产物; 2: 酶切产物

Figure 3 Results of identification for CEA promoter and the recombinant vector A: electrophoretogram of CEA PCR products; B: Double digestion for identification of pLVX-CEAp-EGFP-3FLAG M: DNA marker; 1: PCR products; 2: Enzyme-digested products

2.4 启动子 hTERT, CEA 及 CMV 在人结肠癌细胞株 LoVo, SW480 中的转录活性比较

统计 6 次转染结果, 得到 3 种启动子在结肠癌细胞株 LoVo 和 SW480 中的转录活性: CMV 启动子的转录活性最高; hTERT 启动子次之; CEA 启动子最低 (图 5, 表 1), 3 种启动子的转录活性在人结肠癌细胞株 LoVo 和 SW480 中差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。

表 1 3 种启动子在 LoVo 和 SW480 细胞中的转录活性 (%)
Table 1 The transcriptional activity of the three promoters in LoVo and SW480 cells (%)

启动子	LoVo 细胞	SW480
CMV	54.7 ± 4.1 ¹⁾	16.5 ± 1.7 ¹⁾
hTERT	33.0 ± 3.5 ²⁾	10.1 ± 1.4 ²⁾
CEA	9.5 ± 0.9	8.5 ± 1.1

注: 1) 与 hTERT 启动子比较, $P < 0.05$; 2) 与 CEA 启动子比较, $P < 0.05$

Note: 1) $P < 0.05$ vs. hTERT promoter; 2) $P < 0.05$ vs. CEA promoter

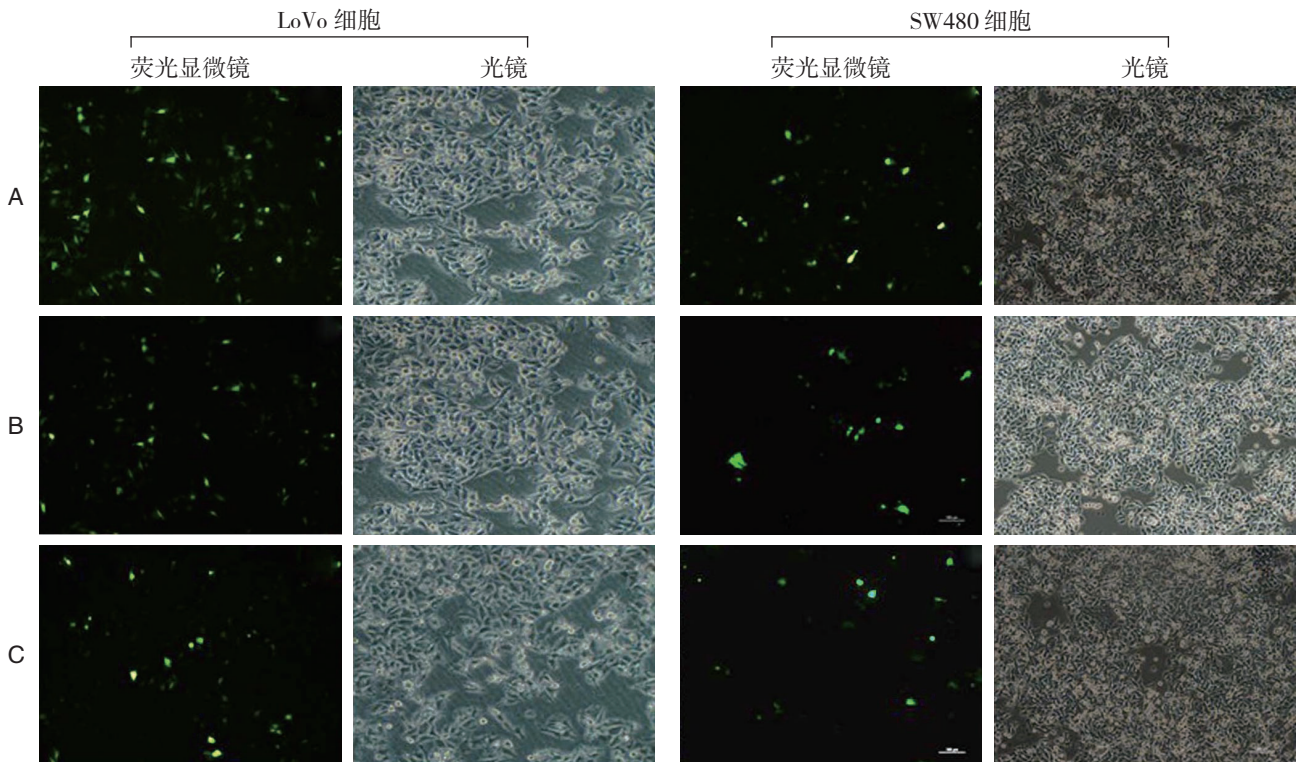


图 4 各组细胞转染 24 h 后镜下所见 ($\times 200$) A: pLVX-EGFP-3FLAG 转染; B: pLVX-hTERTp-EGFP-3FLAG 转染; C: pLVX-CEAp-EGFP-3FLAG 转染

Figure 4 Microscopic findings in each group of cells 24 h after transfection ($\times 200$) A: pLVX-EGFP-3FLAG transfection; B: pLVX-hTERTp-EGFP-3FLAG transfection; C: pLVX-CEAp-EGFP-3FLAG transfection

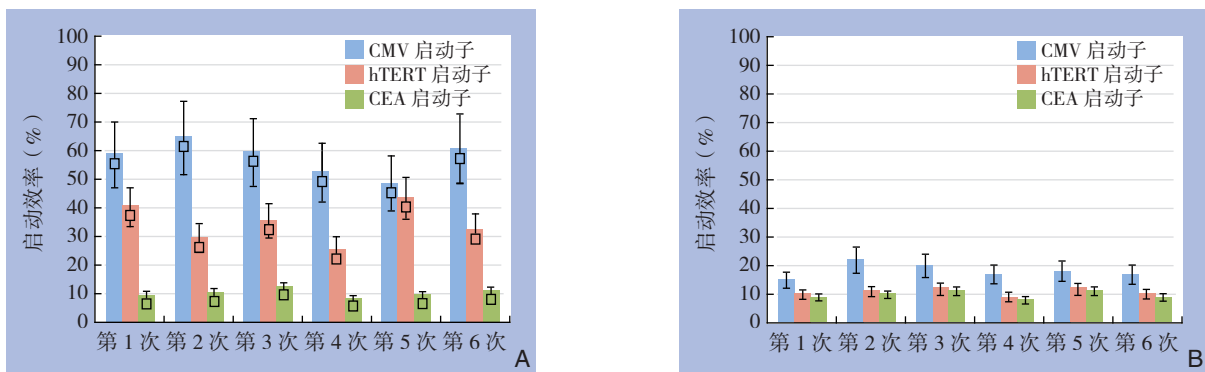


图 5 3 种启动子在结肠癌细胞株中的转录活性比较 A: LoVo 细胞; B: SW480 细胞

Figure 5 Comparison of the transcriptional activity among the three promoters in colon cancer cells A: LoVo cells; B: SW480 cells

3 讨 论

恶性肿瘤是当今世界面临的一个重要难题,虽然手术、放疗、化疗仍为主要的治疗手段,但均存在很多弊端。现代医学越来越关注肿瘤的基因治疗。由于抗肿瘤基因治疗作用缺乏组织特异性及靶向性,对正常细胞也可能产生严重毒性作用。这是已有的基因治疗方法难以应用于临床的重要原因之一。近年来,国内外研究者开始努力探索特异性

作用于肿瘤细胞的基因治疗方法,即靶向性基因治疗;甲胎蛋白(AFP)、CEA、前列腺特异性抗原(PSA)、hTERT等基因的启动子被作为抗肿瘤基因的调控元件用于靶向性基因治疗的尝试^[6-9]。

端粒酶是一种RNA依赖的DNA多聚酶,端粒酶的激活是细胞获得永生化和恶性变的重要机制。研究^[10-15]显示,85%以上的肿瘤细胞端粒酶阳性,而在成年人正常细胞中,除了干细胞和生殖细胞外,端粒酶均为阴性。hTERT启动子是RNA依赖的DNA多聚酶,是端粒酶活性的限速因素。

由于 hTERT 启动子只在肿瘤细胞中具有转录活性, 近年来有研究者^[16-19] 尝试用它作为抗肿瘤基因的调控元件, 以实现抗肿瘤基因在肿瘤细胞中靶向性表达的可能性。CEA 是在恶性肿瘤中表达很高的肿瘤特异性蛋白质标记, 90% 的胃肠道恶性肿瘤和乳腺癌, 70% 左右的非小细胞性肺癌过度表达 CEA; CEA 已成为临床诊断该类肿瘤存在和复发的极有意义的指标, 其辅助价值已受到重视。由于 CEA 启动子仅在 CEA 阳性的细胞中具有转录活性, 故与 hTERT 类似, CEA 启动子作为调控元件, 使得肿瘤细胞的靶向性治疗变成可能。

启动子的转录活性对外源基因的表达水平影响很大, 是基因工程表达载体中的重要元件^[20-23]。因此研究启动子的转录活性, 对于研究基因表达调控和构建表达载体也至关重要。本实验选用 CMV, hTERT, CEA 启动子作为研究对象, 成功克隆并构建了含有 hTERT 启动子、CEA 启动子的 pLVX-hTERTp-EGFP-3FLAG 和 pLVX-CEAp-EGFP-3FLAG 慢病毒表达载体, 使用相同的表达载体 pLVX-EGFP-3FLAG, 将对细胞无毒性影响的荧光报告基因 EGFP^[24-25] 分别瞬时转染入真核细胞 LoVo 及 SW480 中, 最终结果显示, CMV 启动子具有最高的转录活性, hTERT 次之, CEA 较差。此结果为后续研究目的基因的靶向性表达及其抑癌作用奠定实验基础。同时实验过程中, 本课题涉及的 3 种质粒在 LoVo 细胞中转染效率相对更高, 说明相同的质粒在不同的细胞中具有不同的转染效率。在转染的过程中, 发现绿色荧光蛋白的表达与转染的时间有一定的相关性。此外, 为保证脂质体转染法具有更高的成功率, 在操作过程中应尽量选择传至第 2~3 代的处于对数生长期的细胞, DNA 的提取尽可能纯净, 去除内毒素的污染, 并进行预实验摸索最优的转染 DNA 及脂质体量。

参考文献

- [1] Song MS, Jeong JS, Ban G, et al. Validation of tissue-specific promoter-driven tumor-targeting trans-splicing ribozyme system as a multifunctional cancer gene therapy device in vivo[J]. *Cancer Gene Ther*, 2009, 16(2):113-125.
- [2] Mirabello L, Kratz CP, Savage SA, et al. Promoter methylation of candidate genes associated with familial testicular cancer[J]. *Int J Mol Epidemiol Genet*, 2012, 3(3):213-227.
- [3] Zhang JF, Wei F, Wang HP, et al. Potent anti-tumor activity of telomerase-dependent and HSV-TK armed oncolytic adenovirus for non-small cell lung cancer in vitro and in vivo[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2010, 29:52.
- [4] Kyo S, Takakura M, Fujiwara T, et al. Understanding and exploiting hTERT promoter regulation for diagnosis and treatment of human cancers[J]. *Cancer Sci*, 2008, 99(8): 1528 - 1538.
- [5] 吴碧莲, 陈少强, 贾小力, 梭华 - Sofast 介导绿色荧光蛋白转染骨髓间充质干细胞的转染效果 [J]. *中国组织工程研究与临床康复*, 2008, 12(16): 3029-3032.
- [6] 蔡明, 王国斌, 陶凯雄, 等. survivin 靶向 SiRNA 协同 5-FU 对结肠癌细胞的化疗增敏作用 [J]. *中国普通外科杂志*, 2009, 18 (4): 343-347.
- [7] Zeng H, Wei Q, Huang R, et al. Recombinant adenovirus mediated prostate-specific enzyme pro-drug gene therapy regulated by prostate-specific membrane antigen (PSMA) enhancer/promoter[J]. *J Androl*, 2007, 28(6):827-835.
- [8] Dong K, Wang R, Wang X, et al. Tumor-specific RNAi targeting eIF4E suppresses tumor growth, induces apoptosis and enhances cisplatin cytotoxicity in human breast carcinoma cells[J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2009, 113(3):443-456.
- [9] 徐波, 肖焕擎, 曾山崎, 等. 人端粒酶反转录酶启动子调控 NK4 基因靶向治疗结肠癌的实验研究 [J]. *中华胃肠外科杂志*, 2010, 13(11):851-854.
- [10] Udono M, Fujiki T, Yamashita M, et al. Construction of a regulatable cancer-specific adenoviral expression system using human telomerase reverse transcriptase gene promoter[J]. *Biosci Biotechnol Biochem*, 2008, 72(6):1638-1641.
- [11] Zhang W, Chen Y, Yang X, et al. Functional haplotypes of the hTERT gene, leukocyte telomere length shortening, and the risk of peripheral arterial disease[J]. *PLoS One*, 2012, 7(10):e47029.
- [12] 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.
- [13] Wang W, Jin B, Li W, et al. Targeted antitumor effect induced by hTERT promoter mediated ODC antisense adenovirus[J]. *Mol Biol Rep*, 2009, 37(7):3239-3247.
- [14] Nemunaitis J, Tong AW, Nemunaitis M, et al. A phase I study of telomerase-specific replication competent oncolytic adenovirus (telomelysin) for various solid tumors[J]. *Mol Ther*, 2010, 18(2):429 - 434.
- [15] Bougel S, Renaud S, Braunschweig R, et al. PAX5 activates the transcription of the human telomerase reverse transcriptase gene in B cells[J]. *J Pathol*, 2010, 220(1):87-96.
- [16] 田勇, 孙学军, 王炜, 等. 5HRE 和 CEAp 联合调控的 TSST-1 激活淋巴细胞特异杀伤 CEA 阳性肿瘤细胞 [J]. *细胞与分子免疫学杂志*, 2010, 26(6):525-529.
- [17] Zhou X, Xie G, Wang S, et al. Potent and specific antitumor effect for colorectal cancer by CEA and Rb double regulated oncolytic

- adenovirus harboring ST13 gene[J]. PLoS ONE, 2012, 7(10):e47566.
- [18] Al-Asari S, Abduljabbar A, Al-Sanea N, et al. Serum CEA as a predictor of response to preoperative adjuvant therapy in rectal cancer patients[J]. Ann Oncol, 2008, 19(6):104-104.
- [19] Guo X, Evans TR, Somanath S, et al. In vitro evaluation of cancer-specific NF-kappaB-CEA enhancer-promoter system for 5-fluorouracil prodrug gene therapy in colon cancer cell lines[J]. Br J Cancer, 2007, 97 (6):745-754.
- [20] Greco A, Di Benedetto A, Howard CM, et al. Eradication of therapy-resistant human prostate tumors using an ultrasound-guided site-specific cancer terminator virus delivery approach[J]. Mol Ther, 2010, 18(2):295-306.
- [21] Sarkar D, Lebedeva IV, Su ZZ, et al. Eradication of therapy-resistant human prostate tumors using a cancer terminator virus[J]. Cancer Res, 2007, 67(11):5434-5442.
- [22] Emdad L, Sarkar D, Lebedeva IV, et al. Ionizing radiation enhances adenoviral vector expressing mda-7/IL-24-mediated apoptosis in human ovarian cancer[J]. J Cell Physiol, 2006, 208(2):298-306.
- [23] Jiang XL, Du LL, Yang S, et al. Suppression of teratocarcinoma growth by soluble TRAIL gene expression driven by the progression-elevated gene-3 promoter[J]. Cancer Biol Ther, 2009, 8(15):1517-1524.
- [24] Leroch M, Mernke D, Koppenhoefer D, et al. Living colors in the gray mold pathogen *Botrytis cinerea*: codon-optimized genes encoding green fluorescent protein and mCherry, which exhibit bright fluorescence[J]. Appl Environ Microbiol, 2011, 77(9):2887-2897.
- [25] Bateman E. Expression plasmids and production of EGFP in stably transfected *Acanthamoeba*[J]. Protein Expr Purif, 2010, 70(1):95-100.

(本文编辑 姜晖)

本文引用格式：贺赛，孙学军，郑见宝，等.hTERT，CEA及CMV启动子在人结肠癌细胞株中的转录活性比较[J]. 中国普通外科杂志，2014，23(1):74-80. doi: 10.7659/j.issn.1005-6947.2014.01.015

Cite this article as: HE S, SUN XJ, ZHENG JB, et al. Comparison of the transcriptional activity of hTERT, CEA and CMV promoter in human colon carcinoma cell lines[J]. Chin J Gen Surg, 2014,23(1):74-80. doi: 10.7659/j.issn.1005-6947.2014.01.015

欢迎浏览我刊姊妹刊《Gland Surgery》网站

由中国普通外科杂志社、楠西医药科技（杭州）有限公司联合主办的《Gland Surgery》（Print ISSN 2227-684X；Online ISSN 2227-8575）（季刊）于2012年4月正式创刊、出版并向国内外公开发行；欢迎普通外科同仁登录 <http://www.glandsurgery.org> 浏览交流。

《Gland Surgery》是我刊姊妹刊，主要发表腺体外科转化研究领域中的新成果和新发现等方面的文章，并提供腺体外科中诊断、预防以及临床调查中最新实用性资讯。其关注的领域包括：腺体疾病（胸、甲状腺、消化腺等）相关的多科性治疗、生物标记、成像、生物学、病理学以及技术进步的案例，同时还介绍一些关联领域，如营养学、公共卫生、人类遗传学、基础医学、教育学、社会学以及护理学等。本杂志的目标是为介绍腺体疾病及相关各领域的原创研究类文章和评论性文章的传播提供探讨的媒介。这是一本国际同行评议性杂志，聚焦腺体外科这一飞速发展领域中的前沿成果，同时提供腺体疾病诊断、预防和治疗的最新实用性资讯。腺体外科杂志以其杰出的编委团队为特色，汇集了一大批在腺体疾病治疗和研究方面经验丰富的专家。我们将借助编委会成员丰富和多样化的经验使广泛的腺体疾病研究不断进步。

欢迎业内人士投稿，并一如既往地关心支持我们。我们相信在不久的将来，《Gland Surgery》一定会在国际范围产生学术影响，成为外科学术期刊领域一颗耀眼的新星。

中国普通外科杂志编辑部