

食管癌组织 cDNA 文库的建立

印 螺 丁少宏 肖 蕾 冯 璐 李 玮 王秀琴 吴 昊

(中国医学科学院肿瘤研究所, 北京)

细胞恶化是一个多阶段的过程, 其中涉及多个基因的变化^[1]。而一般的转染 NIH 3T3 细胞的方法只能分离出一个转化基因, 因而有一定的局限性。要阐明癌变的机制, 一个有效的方法就是建立 cDNA 文库, 再从中找出与癌变相关的那些基因。在此我们构建了食管癌组织的全长的 cDNA 文库, 希望通过进一步的分析揭示食管癌细胞在基因表达水平上的特异性, 并分离这些特异的基因。

从未经放疗, 化疗的食管癌手术标本中提取 RNA, 进而分离 mRNA^[2]; 以 mRNA 为模板逆转录成 cDNA^[3], 逆转录效率在 30%, cDNA 长度在 0.1—8kb 之间; 进一步用 RNase H、DNA 多聚酶 I 和 *E. coli* DNA 连接酶的方法合成双链 cDNA^[3], cDNA 第二条链的合成效率近 100%, 几乎与第一条链等长; 用琼脂糖凝胶电泳收集 0.5kb 以上的片段以除去不完整的 cDNA^[4]; 用 EcoRI 甲基化酶将 cDNA 内部的 EcoRI 位点保护后, 在 cDNA 两端接上人

工合成的 EcoRI 接头从而插入 λ gt11 载体中, 用从 BHB 2688 和 2690 菌株中提取的包装蛋白 (包装效率为 8×10^7 pfu/ μ g DNA) 将重组的 λ gt11 DNA 体外包装成完整的噬菌体, 并用以感染 *E. coli* Y1090^[5]; 重组子数目为 10^6 , 建库效率是 5.7×10^6 重组子/ μ g cDNA。由此可见, 我们已获得完整的、全长的食管癌组织 cDNA 文库。我们还将建立正常食管的 cDNA 文库并对二者进行比较。

参 考 文 献

1. Land, H. et al.: Science, 1983, 222, 771.
2. Maniatis, T. et al.: Molecular Cloning, Cold Spring Harbor Laboratory, New York, 1982, 187—198.
3. 沈翔菲等:《生物化学与生物物理进展》, 1986, 6, 62.
4. Danner, D. B. et al.: Anal. Biochem., 1982, 125, 139.
5. Davis, L. G. et al.: Molecular Biology, Elsevier Science Publishing Co., Inc., New York, 1986, 208—211.

[本文于 1987 年 9 月 14 日收到]

2.0ml 0.23M KIO₃ 溶液, 然后加水定容至 20.00 ml, 即可进行测定。

二、样品的测定

吸取 1ml 血清 (或少于 1ml), 准确称取 0.3000 克已处理过的茶叶和人发样品置消化管中, 加入 3.5ml 混合酸 ($H_2SO_4:HClO_4 = 3:4$)、100 μ l 5% $(NH_4)_2MoO_4$, 在自控电热消化器上 (消化温度为 224℃) 消化至呈亮黄绿色后, 取出冷却, 定容至 25.00ml。

电解液的准备: 吸取一定体积消化液后, 其他步骤同工作曲线的绘制。

从表 2 可以看出, 血清、茶叶、人发三类样品测定的精密度均小于 10%, 完全能满足痕量分析的要求。就准确度而言, 吕荣三等用阴极溶出伏安法曾报道“正常人的血清含硒约 3×10^{-7} g/ml” (应用化学 1(5) 78 1984), 本文正常人血清硒为 0.128—0.238 μ g/ml 之间。用催化极谱法测硒, 有灵敏、准确、快速、简便的特点, 非常适用于生物样品和环境样品中痕量硒的测定, 值得推广。

[本文于 1987 年 7 月 8 日收到]