

效果可靠,既可筛选 shRNA,又可直接作为 shRNA 使用。质粒表达载体在细胞内直接转录 shRNA,方法经济、易操作,可建立稳定表达 shRNA 的细胞克隆,延长 RNA 干涉效应^[9]。实验结果表明,不同序列和结构的 shRNA 所介导的基因敲出,效率和特异性差异明显。我们根据 shRNA 设计特定规则^[10],采用了一个载体编码 2 个 shRNA 的方法,采用体外化学合成两段 Hpa 基因特异性的 shRNA 的寡核苷酸片段,构建了 3 个能够稳定表达 shRNA 的 pGenesil-1-Hpa-shRNA 重组质粒,将其转染 SKOV3 卵巢癌细胞,用 G418 筛选出稳定的细胞克隆。3 组细胞克隆中,Hpa 的表达均受到一定的抑制。其中以 5' TTGCTACTC-CGAGAACT 3' 和 5' TGGTTCGAGTTAGGAGAA 3' 组合产生的抑制作用更明显。多个表达盒构建于一个载体上,能够转录出多种不同的短发夹型结构的小 RNA,简单而可靠,但可能存在启动子抑制现象或基因重排。这种抑制作用和重排不是绝对的,有时染色质结构的改变也会导致两个启动子同时高效转录。通过多方筛选,可得到较好的组合。

研究结果表明,shRNA 抑制作用和抑制效率具有片段特异性。一个载体编码同一基因的多个 shRNA 或编码多个基因的 shRNA,产生增效的或不同作用的 RNA 干涉功能将成为一种可能。

【参考文献】

- [1] Rye PD, Stigbrand T. Interfering with cancer: A brief outline of advances in RNA interference in oncology [J]. *Tumor Biol*, 2004, 25: 329-336.
- [2] Zhu J, Musco ML, Grace MJ. Three-color flow cytometry analysis of tricistronic expression of eBFP, eGFP, and eYFP using EMCV-IRES linkages [J]. *Cytometry*, 1999, 37: 51-59.
- [3] Boyd DD, Nakajima M. Involvement of heparanase in tumor metastases: A new target in cancer therapy? [J]. *J Natl Cancer Inst*, 2004, 96: 1194-1195.
- [4] Jiang M, Rubbi CP, Milner J. Gel-based application of siRNA to human epithelial cancer cells induces RNAi-dependent apoptosis [J]. *Oligonucleotides*, 2004, 14: 239-248.
- [5] Scherr M, Battmer K, Schultheis B, et al. RNA interference (RNAi) as an option for anti-bcr-abl therapy [J]. *Gene Ther*, 2005, 12: 12-21.
- [6] Ryther RC, Flynt AS, Phillips JA 3rd, et al. siRNA therapeutics: Big potential from small RNAs [J]. *Gene Ther*, 2005, 12: 5-11.
- [7] Fougerolles A, Manoharan M, Meyers R, et al. RNA interference *in vivo*: Toward synthetic small inhibitory RNA-based therapeutics [J]. *Methods Enzymol*, 2005, 392: 278-296.
- [8] Seki M, Iwakawa J, Cheng H, et al. p53 and PTEN/MMAC1/TEP1 gene therapy of human prostate PC-3 carcinoma xenograft, using transferring-facilitated lipofection gene delivery strategy [J]. *Hum Gene Ther*, 2002, 13: 761-773.
- [9] Paddison PJ, Caudy AA, Sachidanandam R, et al. Short hairpin activated gene silencing in mammalian cells [J]. *Methods Mol Biol*, 2004, 265: 85-91.
- [10] 刘军, 郭颖, 薛采芳, 等. 哺乳动物细胞 siRNA 表达载体构建及鉴定 [J]. *第四军医大学学报*, 2003, 24: 2235-2237.

编辑 王睿

· 经验交流 · 文章编号 1000-2790(2006)01-0013-01

口臭 267 例原因分析

涂平 孟广魁

(郑州大学第一附属医院口腔科, 河南 郑州 450052)

【关键词】口臭; 原因; 挥发性硫成分

【中图分类号】R781.4 【文献标识码】B

1 临床资料 我院 2001/2003 年口腔门诊以口臭为主诉的患者 267(男 151, 女 116)例, 年龄 11~60 岁。通过临床检查询问病史, 对由口腔局部因素、全身因素以及系统疾病的原因所致的口臭进行分析之后, 针对由口腔局部疾患引起的口臭再进一步查找, 详细检查患者有无口腔黏膜疾患、牙周疾患、残根残冠情况、舌苔的厚度、有无不良修复体、是否有口腔癌肿等局部因素, 以及它们与口臭的关系(表 1, 2)。

收稿日期 2005-01-06; 接受日期 2005-02-25

作者简介 涂平, 硕士生(导师石爱梅)。Tel (0371) 66849988

Email taping213@eyou.com

表 1 口臭患者 267 例的致病原因 [n(%)]

性别	口腔疾病	消化疾病	呼吸疾病	鼻咽疾病	精神因素	其他
男	130(48.7)	5(1.9)	4(1.5)	7(2.6)	2(0.8)	3(1.1)
女	98(36.7)	4(1.5)	3(1.1)	4(1.5)	3(1.1)	4(1.5)
合计	228(85.4)	9(3.4)	7(2.6)	11(4.1)	5(1.9)	7(2.6)

表 2 口腔局部疾患所致口臭的原因 [n(%)]

性别	牙周疾病	残根残冠	舌及黏膜疾病	不良修复体	癌肿
男	78(34.2)	17(7.5)	18(7.9)	11(4.8)	4(1.8)
女	56(24.6)	12(5.3)	21(9.2)	8(3.5)	3(1.3)
合计	134(58.8)	29(12.7)	39(17.1)	19(8.3)	7(3.1)

2 讨论 患有系统疾病或口腔疾病时, 会产生口臭。口腔疾病所致口臭占门诊求治的 85.4%, 主要是细菌分解腐败死后产生挥发性硫成分引起^[1], 常见的是牙周病引起的口臭^[2], 经口腔科治疗, 多数口臭是可以消失的, 若是系统疾病或精神因素所致, 则需相关科配合。

【参考文献】

- [1] 黄晓微, 李雪, 范旭. 成都地区健康人群口腔挥发性硫成分水平的测量及影响因素分析 [J]. *华西口腔医学杂志*, 2002, 20(5): 380.
- [2] 俞未一, 曹灵, 马骏驰, 等. 异常口气中挥发性硫化物的气相色谱分析研究 [J]. *口腔医学*, 2004, 24(5): 261.

编辑 潘伯荣