

[文章编号] 1000-1182(2007)01-0022-04

# DNA pol 启动子和CMV启动子调控的 p53基因在涎腺腺样囊性癌细胞中表达的比较

阎炳智<sup>1</sup>, 王洁<sup>1</sup>, 张波<sup>2</sup>, 董福生<sup>3</sup>, 侯琳<sup>2</sup>, 王旭<sup>1</sup>

(1.河北医科大学口腔医学院 病理教研室, 河北 石家庄 050017; 2.北京大学医学院 病理系, 北京 100083;  
3.河北医科大学口腔医院 口腔颌面外科, 河北 石家庄 050017)

[摘要] 目的 检测DNA pol 启动子在涎腺腺样囊性癌细胞中的活性, 探讨DNA pol 启动子对外源性野生型p53基因表达的影响。方法 荧光素酶法测定DNA pol 启动子在涎腺腺样囊性癌细胞中的活性。构建携带人野生型p53基因的真核表达载体, 以脂质体法转染涎腺腺样囊性癌SACC-83细胞, 逆转录聚合酶链反应(RT-PCR)检测p53基因mRNA的表达。博来霉素、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>及紫外线刺激转染细胞, 采用RT-PCR及Western blot法比较DNA损伤下DNA pol 启动子和CMV启动子调控的p53基因及P53蛋白的表达。结果 荧光素酶活性分析显示, 涎腺腺样囊性癌细胞中DNA pol 启动子活性增高。p53基因的导入使其在涎腺腺样囊性癌细胞中表达增强, DNA pol 启动子组较CMV启动子组更为明显。DNA损伤后, DNA pol 启动子组的p53基因和P53蛋白的表达较CMV启动子组增强(P<0.05)。结论 在涎腺腺样囊性癌SACC-83细胞中, DNA pol 启动子的活性增高, DNA pol 启动子能够增强外源性野生型p53基因在涎腺腺样囊性癌细胞中的表达。

[关键词] 涎腺腺样囊性癌; DNA pol ; p53基因; DNA损伤; 基因转染

[中图分类号] R739.8 [文献标识码] A

Expression of p53 Gene with DNA pol and CMV Promoter in Salivary Adenoid Cystic Carcinoma Cells  
YAN Bing-zhi<sup>1</sup>, WANG Jie<sup>1</sup>, ZHANG Bo<sup>2</sup>, DONG Fu-sheng<sup>3</sup>, HOU Lin<sup>2</sup>, WANG Xu<sup>1</sup>. (1. Dept. of Oral Pathology, College of Stomatology, Hebei Medical University, Shijiazhuang 050017, China; 2. Dept. of Pathology, Health Science Center of Peking University, Beijing 100083, China; 3. Dept. of Oral and Maxillofacial Surgery, College of Stomatology, Hebei Medical University, Shijiazhuang 050017, China)

[Abstract] Objective To evaluate the activity of DNA pol promoter on p53 gene in salivary adenoid cystic carcinoma(SACC) cells. Methods The luciferase activity was examined and used to evaluate the activity of DNA pol promoter on SACC-83 cells. Eukaryotic expression plasmids of p53 gene were constructed and stably transfected into SACC-83 cells. RT-PCR was used to assess the expression of p53 gene. The SACC-83 cells were subjected to the treatments of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, ultraviolet radiation, Bleocin, and affected p53 mRNA and protein level in SACC-83 cells were characterized with RT-PCR and Western blotting. Results The result of luciferase activity proved that the activity of DNA pol promoter in SACC-83 cells was much higher than that of CMV promoter. The results of RT-PCR suggested that p53 gene with different promoters were all expressed effectively, but the expression efficiency was different. It was greater in DNA pol group than in CMV group. After DNA damage, p53 gene expression increased and DNA pol promoter could enhance the expression of p53 gene more than CMV promoter. The results of Western blotting indicated that the expression of P53 protein between the two groups did not show any difference. Conclusion In SACC cells, the activity of DNA pol promoter was increased and DNA pol promoter could enhance the expression of p53.

[Key words] salivary adenoid cystic carcinoma; DNA pol ; p53 gene; DNA damage; gene transfection

[收稿日期] 2006-09-25; [修回日期] 2006-11-26

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(30271422); 国家人事部留学回国人员基金资助项目(20029901); 河北省自然科学基金资助项目(2004000624)

[作者简介] 阎炳智(1972-), 男, 河北人, 主治医师, 博士

[通讯作者] 王洁 T I 0311 86265780

p53基因是重要的抑癌基因之一, 多数人类肿瘤细胞中存在p53基因的突变<sup>[1]</sup>。涎腺腺样囊性癌细胞中存在p53基因的异常且突变多发生在5'-8'外显子<sup>[2]</sup>。DNA pol 是一种DNA聚合酶, 参与细胞DNA修复、复制和重组以及肿瘤发生等多种生命活动。

通常在正常细胞中DNA pdl 的表达维持在较低水平,而多数肿瘤细胞有过度表达<sup>[3]</sup>。本实验通过检测DNA pdl 启动子在涎腺腺样囊性癌细胞中的活性,探讨涎腺腺样囊性癌细胞中DNA pdl 启动子对外源性野生型p53基因表达的影响,为提高外源性野生型p53基因的疗效提供新思路和新途径。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

涎腺腺样囊性癌细胞系SACC-83由北京大学口腔医学院口腔颌面外科实验室提供。RPMI-1640培养基(Gibco公司,美国),Luciferase assay system、-Galactosidase enzyme assay system、Tfx™-20 Reagent转染试剂盒(Promega公司,美国),p53抗体DO-1(Santa Cruz公司,美国)。逆转录聚合酶链反应(reverse transcription-polymerase chain reaction, RT-PCR)引物由上海生物工程技术服务有限公司合成。pGL2-B(含DNA pdl 启动子的荧光素酶报告重组体)、pCMV-p53、pcDNA3由河北医科大学口腔医院病理科冻存。

### 1.2 SACC-83细胞中DNA pdl 启动子活性的测定

采用荧光素酶Luciferase活性分析测定SACC-83细胞中DNA pdl 启动子的活性。实验分为3组。

pGL2-Basic和pSV--Galactosidase Control共转染组,其中pGL2-Basic含有荧光素酶编码基因,无真核启动子和增强子,作为转染表达的阴性对照;而pSV--Galactosidase Control为-半乳糖苷酶(-galactosidase)表达质粒,作为监测转染效率的内标准。pGL2-Control和pSV--Galactosidase Control共转染组,pGL2-Control含有荧光素酶编码基因,包含SV40的启动子和增强子序列,可致荧光素酶高表达,作为转染表达的阳性对照;pGL2-B和pSV--Galactosidase Control共转染组,pGL2-B为含DNA pdl 启动子的荧光素酶报告重组体。将细胞培养至对数生长期,按每孔 $2 \times 10^5$ 个细胞接种至12孔细胞培养板,待细胞达80%汇合时,Tfx™-20脂质体转染,质粒与脂质体比例为1  $\mu$ g 3  $\mu$ L。转染后48 h收获细胞,液体闪烁计数仪上检测荧光素酶基因的表达水平。

### 1.3 真核表达载体pcDNA3-p53和pcDNA3-p53-B的构建

将p53(1.8 kb)基因从pCMV-p53切下,重组入pcDNA3,成功构建含CMV启动子的真核表达载体pcDNA3-p53,然后切除pcDNA3-p53中的CMV启动子,并克隆入从质粒pGL2-B切下的DNA pdl 启动子(400 bp)片段,构建含DNA pdl 启动子的真核表

达载体pcDNA3-p53-B。

### 1.4 p53基因的稳定转染及筛选

实验分4组:空载体pcDNA3组、pcDNA3-p53组、pcDNA3-p53-B组和非转染组,前3组分别用质粒pcDNA3、pcDNA3-p53、pcDNA3-p53-B转染SACC-83细胞。转染时乙醇沉淀质粒,Tfx™-20脂质体转染。转染48 h后传代,400  $\mu$ g/mL G418筛选4周至出现阳性克隆,挑选单个克隆扩大培养。

### 1.5 RT-PCR检测p53基因mRNA的表达

1.5.1 引物设计 内参照-actin引物:上游引物5'-CATGTTTGAGACCTTCAACACC-3',下游引物5'-TTGCCAATGGTATGACCTG-3';p53引物:上游引物5'-TACTCCCTGCCCTCAACAAGA-3',下游引物5'-CGCTATCTGAGCAGCGCTCATG-3'。

1.5.2 细胞总RNA的提取 Trizol试剂提取总RNA,紫外分光光度法测定其浓度。

1.5.3 RT-PCR反应 吸取1  $\mu$ g提取的细胞总RNA,在25  $\mu$ L反应体系中进行逆转录反应,并以-actin为内参照。然后各取5  $\mu$ L cDNA为模板进行PCR反应,反应体系为50  $\mu$ L,反应程序为:首先变性95 1 min,然后变性、退火、延伸分别为94 40 s,55 40 s,72 30 s,共30个循环,最后72 延伸5 min。扩增产物在1.5%琼脂糖凝胶中电泳,凝胶成像分析仪分析结果。

### 1.6 DNA损伤对SACC-83细胞中p53基因表达的影响

1.6.1 细胞刺激 将空载体pcDNA3组、pcDNA3-p53组、pcDNA3-p53-B组和非转染组细胞分别接种于6孔板,每孔 $5 \times 10^5$ 个细胞。24 h后,分别予以博莱霉素(0.6 mmol/L)、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>(0.4 mmol/L)及紫外线(紫外线直接照射1 h)刺激,继续培养3 h,换全培养基培养3 h。

1.6.2 细胞总RNA的抽提 采用Trizol试剂提取细胞总RNA。

1.6.3 RT-PCR反应 进行RT-PCR反应,扩增产物行凝胶电泳,凝胶成像分析仪分析结果。

### 1.7 蛋白质免疫印迹检测P53蛋白对SACC-83细胞应激的反应

1.7.1 细胞刺激 空载体pcDNA3组、pcDNA3-p53组、pcDNA3-p53-B组和非转染组细胞分别予以博莱霉素、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>及紫外线刺激,剂量同1.6.1。

1.7.2 细胞总蛋白的提取 弃细胞培养液,冰预冷的1  $\times$  PBS洗细胞2次。刮除细胞,将细胞悬液移至Eppendorf管,4 12 000 r/min离心2-3 min,弃上清液,加入与细胞沉淀等体积的细胞裂解液,轻柔混匀,冰浴30 min。4 12 000 r/min离心30 min,收集上清液,-20 冻存。

**1.7.3 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳** 配制12%SDS-聚丙烯酰胺凝胶,将电泳样品与等体积2×SDS上样缓冲液混合,100℃煮沸5 min,上样,以Tris-甘氨酸电泳缓冲液,积层胶8 V/cm,分离胶15 V/cm恒压电泳直至色素带至凝胶下缘。

**1.7.4 电转移** 电泳结束后将凝胶置于电转移缓冲液中浸泡30 min,剪下同样大小的硝酸纤维素膜1张和滤纸6张同样在电转移缓冲液中平衡15 min。按阴极 3层滤纸 凝胶 硝酸纤维素膜 3层滤纸 阳极的顺序依次铺好,并置于电转移槽中以7.5 V恒压电转1 h。

**1.7.5 免疫学检测** 电转结束后,PBS洗膜5 min ×3。5%脱脂奶粉37℃封闭1 h。PBST洗膜,5 min ×3。与抗(鼠抗人p53单克隆抗体,1:200 PBS稀释)结合,37℃孵育1 h。PBST洗膜,5 min ×3。与抗(生物素化的马抗鼠IgG,1:200 PBS稀释)结合,37℃孵育1 h。PBST洗膜,5 min ×3。与抗(链霉卵白素标记的碱性磷酸酶,1:500 Buffer稀释)结合,37℃孵育1 h。Buffer洗膜,5 min ×3。Buffer短暂浸泡膜,NBT-BCIP显色。显色满意后,充分水洗终止显色,晾干保存。

**1.8 统计学分析**

采用SPSS 11.0统计软件进行数据分析,组间比较采用单因素方差分析,检验水准双侧  $\alpha=0.05$ 。

**2 结果**

**2.1 SACC-83细胞中DNA pol 启动子活性测定**

经液体闪烁计数仪检测,pGL2-Basic和pSV-Galactosidase Control共转染组、pGL2-Control和pSV-Galactosidase Control共转染组和pGL2-B和pSV-Galactosidase Control共转染组荧光素酶基因的表达水平分别为236 ±23、792 ±36和2 281 ±57,DNA pol 启动子在SACC-83细胞中表达较高。

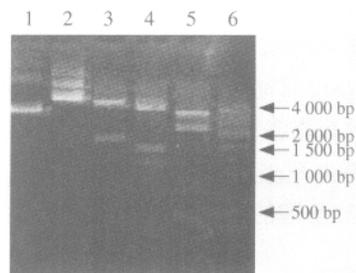
**2.2 真核表达载体pcDNA3-p53、pcDNA3-p53-B的构建**

将pCMV-p53包含的p53基因重组入pcDNA3,成功构建pcDNA3-p53,酶切鉴定正确(图1)。

切除pcDNA3-p53中的CMV启动子,然后克隆入从质粒pGL2-B上切取的DNA pol 启动子,获得含DNA pol 启动子的质粒pcDNA3-p53-B,酶切鉴定结果与预期一致(图2)。

**2.3 p53基因的稳定转染及筛选**

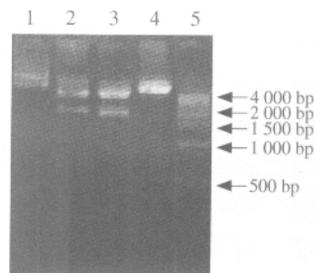
空载体pcDNA3组、pcDNA3-p53组、pcDNA3-p53-B组和非转染组,经G418筛选,4周后得到稳定阳性克隆,分别挑取数个阳性克隆单独培养。



1: pcDNA3 (5.4 kb); 2: pcDNA3-p53 (7.2 kb); 3: BamH I 酶切 (1.8 kb, 5.4 kb); 4: BamH I +Sma I 酶切 (260 bp, 1.2 kb, 1.54 kb, 4.2 kb, 4.7 kb); 5: Nco I 酶切 (517 bp, 735 bp, 2.65 kb, 3.3 kb); 6: DNA Marker

图1 pcDNA3-p53酶切鉴定图谱

Fig 1 Restriction analysis of pcDNA3-p53



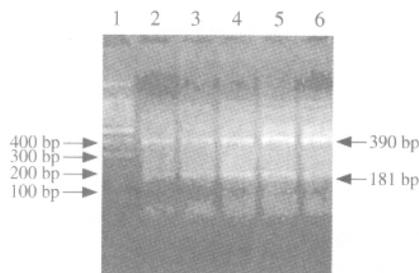
1: pcDNA3-p53-B (6.7 kb); 2: EcoR I 酶切 (2.2 kb, 4.5 kb); 3: Xho I +Mlu I 酶切 (2.0 kb, 4.7 kb); 4: Kpn I 酶切 (260 bp, 6.44 kb); 5: DNA Marker

图2 pcDNA3-p53-B酶切鉴定图谱

Fig 2 Restriction analysis of pcDNA3-p53-B

**2.4 RT-PCR检测p53基因mRNA的表达**

提取4组稳定转染的单克隆细胞总RNA,RT-PCR法鉴定转染p53基因mRNA的表达,结果见图3。空载体pcDNA3组、pcDNA3-p53组、pcDNA3-p53-B组和非转染组p53基因mRNA的表达强度分别为0.836 ± 0.012、0.931 ± 0.015、0.983 ± 0.019和0.839 ± 0.018。经统计学分析,空载体pcDNA3组和非转染组表达量最低,二者无统计学差异( $P>0.05$ )。pcDNA3-p53组和pcDNA3-p53-B组表达量升高( $P<0.05$ ),其中pcDNA3-p53-B组最高。提示稳定转染后,p53基因在SACC-83细胞中可获得较高水平的表达,且DNA pol 启动子较CMV启动子能够增强其表达。



1: DNA Marker; 2: 非转染组; 3: 空载体pcDNA3组; 4、5: pcDNA3-p53-B组; 6: pcDNA3-p53组

图3 转染SACC-83细胞后p53基因mRNA的表达  
Fi 3 E i f 53 RNA i SACC 83 II

### 2.5 DNA损伤对SACC-83细胞p53基因表达的影响

将4组细胞分别予以博莱霉素、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>和紫外线刺激，然后进行RT-PCR反应，检测p53基因对刺激造成的DNA损伤的反应，结果见表1。由表1可见，细胞经刺激后，转染p53基因的SACC-83细胞p53基因的表达较未转染组明显增强(P<0.05)，且pcDNA3-p53-B组的表达高于pcDNA3-p53组，提示DNA pol 启动子能够增强p53基因的表达。

表 1 DNA 损伤后SACC-83细胞中p53基因mRNA表达的RT-PCR结果

Tab 1 Expression of p53 mRNA in SACC-83 cells after DNA damage by RT-PCR

刺激方法	空载体 pcDNA3组	pcDNA3- p53组	pcDNA3- p53-B组	非转染组
博莱霉素	0.846 ±0.011	0.939 ±0.015	0.987 ±0.012	0.845 ±0.010
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	0.838 ±0.010	0.937 ±0.014	0.985 ±0.014	0.840 ±0.012
紫外线	0.841 ±0.013	0.942 ±0.015	0.989 ±0.010	0.839 ±0.015

### 2.6 DNA损伤对SACC-83细胞P53蛋白表达的影响

将4组细胞分别予以博莱霉素、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>和紫外线刺激，然后进行蛋白质免疫印迹试验，检测p53基因的蛋白表达对SACC-83细胞应激的反应，结果见表2。由表2可见，细胞经刺激后，转染p53基因的SACC-83细胞P53蛋白的表达较未转染组增强(P<0.05)，其中pcDNA3-p53-B组表达最强，提示DNA pol 启动子调控的P53蛋白表达较CMV启动子调控的p53蛋白表达增强。

表 2 DNA 损伤后SACC-83细胞中P53蛋白表达的蛋白质免疫印迹试验结果

Tab 2 Expression of P53 protein in SACC-83 cells after DNA damage by Western-blot

刺激方法	空载体 pcDNA3组	pcDNA3- p53组	pcDNA3- p53-B组	非转染组
博莱霉素	161.63 ±0.15	261.81 ±12.81	381.96 ±15.17	159.52 ±0.20
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	178.12 ±12.22	251.01 ±11.23	395.11 ±4.93	175.23 ±1.58
紫外线	175.53 ±12.24	265.56 ±12.19	389.20 ±15.50	175.41 ±1.91

## 3 讨论

DNA pol 是一种真核细胞中的DNA聚合酶<sup>[4]</sup>，主要参与碱基切除修复，还与DNA复制、重组、减数分裂等有关<sup>[5-6]</sup>。当某些因素造成细胞DNA损伤时，DNA pol 参与受损碱基的切除及无碱基位点的核苷酸填充过程。DNA pol 与肿瘤的发生有关。正常情况下DNA pol 的表达水平较低，而在多种肿瘤细胞中DNA pol 高表达。卵巢肿瘤、前列腺癌、乳腺癌及结肠癌组织均可以检测到高水平的DNA pol

蛋白表达<sup>[7-8]</sup>。笔者在实验中用荧光素酶活性分析方法间接测定了DNA pol 启动子在涎腺腺样囊性癌细胞系SACC-83中的活性，结果表明SACC-83细胞中DNA pol 启动子的活性明显增高，提示DNA pol 与涎腺腺样囊性癌的发生密切相关。

在有关p53基因治疗的研究中，肿瘤细胞系或肿瘤动物模型及临床治疗都较为广泛，但是仍然存在很多问题有待改进，如高效载体的寻找、导入基因的调控以及如何将p53与其他治疗手段有机结合起来等。目前的研究中，用来调控p53基因的启动子一般是CMV启动子，但其调控效果并不理想。为了提高外源性野生型p53基因的表达效率，本实验成功构建了携带不同启动子调控下的p53基因的真核表达载体pcDNA3-p53和pcDNA3-p53-B，转染入SACC-83细胞并获得有效表达。研究中发现DNA pol 启动子调控下的p53基因较CMV启动子调控下的p53基因表达水平高，提示由于DNA pol 启动子在肿瘤细胞中特异性高表达，使得与其偶联的外源性野生型p53基因的表达上调，能够更有效地恢复肿瘤细胞中外源性野生型p53基因的正常功能，从而进一步抑制肿瘤细胞的增殖。

DNA的损伤是指在外界因素作用下，DNA的结构发生变化。目前研究表明，抑癌基因p53对于保持细胞基因组稳定性发挥重要作用，P53蛋白是介导细胞对DNA损伤反应的重要因子。研究证实野生型p53基因参与细胞DNA损伤与修复过程，P53蛋白促进细胞周期阻滞并刺激DNA修复<sup>[9-10]</sup>。本实验采用紫外线、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>、博莱霉素作用于不同状态的SACC-83细胞，导致DNA的损伤。结果发现转染p53基因细胞的p53基因表达明显高于未转染细胞，而DNA pol 启动子调控下的p53基因表达较CMV启动子调控下的p53表达增强，提示p53基因的导入可以重建p53基因正常的修复DNA损伤的功能，从而抑制涎腺腺样囊性癌细胞的生长。作为与DNA损伤密切相关的DNA pol 基因，其启动子能够高效调控p53基因，使其具有更高的表达及修复功能。因此，进一步对DNA pol 启动子高效表达外源性野生型p53基因载体进行改造和完善，有可能成为治疗涎腺腺样囊性癌的新型基因治疗途径。

### [参考文献]

- [1] Hollstein M, Sidransky D, Vogelstein B, et al. p53 mutations in human cancers[J]. Science, 1991, 253(5015): 49-53.
- [2] Karja VJ, Syrjanen KJ, Kurvinen AK, et al. Expression and mutations of p53 in salivary gland tumours[J]. J Oral Pathol Med,

性和骨传导性，常与胶原等复合作为骨组织修复的人工骨材料<sup>[7]</sup>。将羟磷灰石用作盖髓材料可促进骨样牙本质形成<sup>[8]</sup>。但因其不具有抗菌能力，常需加入一定的抗菌药物联合使用。本实验也证实羟磷灰石对3种实验菌均无抗菌能力。

nHA-PA66是由聚酰胺类有机物和纳米羟磷灰石微晶体按3:7的比例复合而成的纳米仿生材料，其有机物和无机物的组成比例及力学性能与牙本质相似<sup>[9]</sup>，其组成成分聚酰胺为使用较广的医用惰性有机材料，在机体内仅发生极轻微降解，其降解产物有一定抗菌效果。在本实验中，由于nHA-PA66固化的液剂成分中含乙醇<sup>[10]</sup>，在预实验中发现后者对培养基成分有非特异性的溶解作用，影响对抑菌环的判读，因此实验采用蒸馏水新鲜调和制成的糊剂。通过对该材料的体外抑菌实验研究表明，无论新鲜调制的粉剂或已固化的nHA-PA66对3种实验菌几乎无明显的抗菌作用，但与口腔常用消毒药物碘仿联合使用后，通过碘仿与有机物接触后缓慢释放碘直接卤化细菌蛋白质，可大大增强抗菌能力。将碘仿加入nHA-PA66中制成的糊剂，既保持了纳米羟磷灰石复合材料的生物相容性和生物活性，又利用了后者强抗菌作用，因此通过对该材料组成的改进可使该材料更好地满足盖髓剂抗菌性能的要求，从而具有较好的应用前景。

[参考文献]

[1] Costa CA, Mesas AN, Hebling J. Pulp response to direct capping with an adhesive system[J]. Am J Dent, 2000, 13(2):81-87.

[2] Schuurs AH, Gruythuysen RJ, Wesselink PR. Pulp capping with adhesive resin-based composite vs. calcium hydroxide: A review [J]. Endod Dent Traumatol, 2000, 16(6):240-250.  
[3] Cox CF, Subay RK, Suzuki S, et al. Biocompatibility of various dental materials: Pulp healing with a surface seal[J]. Int J Periodontics Restorative Dent, 1996, 16(3):240-251.  
[4] Kouassi M, Michailesco P, Lacoste-Armyndt A, et al. Antibacterial effect of a hydraulic calcium phosphate cement for dental applications[J]. J Endod, 2003, 29(2):100-103.  
[5] Kitasako Y, Murray PE, Tagami J, et al. Histomorphometric analysis of dentinal bridge formation and pulpal inflammation[J]. Quintessence Int, 2002, 33(8):600-608.  
[6] Faraco IM Jr, Holland R. Response of the pulp of dogs to capping with mineral trioxide aggregate or a calcium hydroxide cement[J]. Dent Traumatol, 2001, 17(4):163-166.  
[7] Itoh S, Kikuchi M, Takakuda K, et al. Implantation study of a novel hydroxyapatite/collagen(HAp/coll) composite into weight-bearing sites of dogs[J]. J Biomed Mater Res, 2002, 63(5):507-515.  
[8] Hayashi Y, Imai M, Yanagiguchi K, et al. Hydroxyapatite applied as direct pulp capping medicine substitutes for osteodentin[J]. J Endod, 1999, 25(4):225-229.  
[9] 王学江, 汪建新, 李玉宝, 等.常压下纳米级羟基磷灰石针状晶体的合成[J]. 高技术通讯, 2000, 11(6):92-94.  
(WANG Xue-jiang, WANG Jian-xin, LI Yu-bao, et al. Preparation of nanograde hydroxyapatite needle-like crystals under normal atmospheric pressure[J]. High Technology Letters, 2000, 11(6):92-94.)  
[10] 严永刚, 李玉宝, 汪建新, 等. 聚酰胺66/羟磷灰石复合材料的制备和性能研究[J]. 塑料工业, 2000, 28(3):38-40.  
(YAN Yong-gang, LI Yu-bao, WANG Jian-xin, et al. Study on preparation and properties of Polyamide 66/nano apatite composites [J]. China Plastics Industry, 2000, 28(3):38-40.)

(本文编辑 王 晴)

(上接第25页)

1997, 26(5):217-223.  
[3] Wright WE, Platyszek MA, Rainey WE, et al. Telomerase activity in human germline and embryonic tissues and cells[J]. Dev Genet, 1996, 18(2):173-179.  
[4] Prasad R, Beard WA, Chyan JY, et al. Functional analysis of the amino-terminal 8-kDa domain of DNA polymerase beta as revealed by site-directed mutagenesis. DNA binding and 5'-deoxyribose phosphate lyase activities[J]. J Biol Chem, 1998, 273(18):11121-11126.  
[5] Parikh SS, Mol CD, Tainer JA. Base excision repair enzyme family portrait: Integrating the structure and chemistry of an entire DNA repair pathway[J]. Structure, 1997, 5(12):1543-1550.  
[6] Jonason AS, Baker SM, Sweasy JB. Interaction of DNA polymerase

beta with GRIPI during meiosis[J]. Chromosoma, 2001, 110(6):402-410.  
[7] Broccoli D, Young JW, de Lange T. Telomerase activity in normal and malignant hematopoietic cells[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 1995, 92(20):9082-9086.  
[8] Kim NW, Platyszek MA, Prowse KR, et al. Specific association of human telomerase activity with immortal cells and cancer[J]. Science, 1994, 266(5193):2011-2015.  
[9] Ko LJ, Prives C. p53 puzzle and paradigm[J]. Genes Dev, 1996, 10(9):1054-1072.  
[10] Oren M. p53 in growth control and neoplasia[J]. Biochim Biophys Acta, 1996, 1287(2/3):77-102.

(本文编辑 吴爱华)