

本文引文格式:陈晓颖,易雪丽,陆飞燕,等. FDFT1 基因重组慢病毒表达载体的构建及其表达测定[J]. 右江民族医学院学报, 2021, 43(2): 169-173.

【论著与临床报道】

FDFT1 基因重组慢病毒表达载体的构建及其表达测定

陈晓颖¹, 易雪丽^{1,2}, 陆飞燕², 曾怡²

(1. 右江民族医学院附属医院, 广西 百色 533000;

2. 右江民族医学院病原微生物学与免疫学教研室, 广西 百色 533000)

摘要:目的 构建法尼基二磷酸法尼基转移酶 1(farnesyl diphosphate farnesyl transferase 1, FDFT1)基因重组质粒并在人胚肾上皮细胞(293T)验证质粒表达。方法 设计 FDFT1 基因引物并经两次 PCR 扩增获取 FDFT1 目的基因;用相应的限制性内切酶将 pCDH-CMV-MCS-EF1-copGFP(pCDH-GFP)质粒线性化;FDFT1 基因及线性化载体经纯化后以同源重组反应连接构建重组质粒;重组质粒通过菌落 PCR、双酶切验证并测序做进一步验证;在 293T 细胞中利用三质粒共转染法包装 FDFT1 目的质粒并收集含病毒的上清液;以病毒液感染 293T 细胞验证 FDFT1 基因表达。结果 菌落 PCR 及双酶切说明目的基因成功插入载体质粒,测序结果说明重组质粒中 FDFT1 基因与 NCBI 中登记的相应基因同源。构建成功的 pCDH-GFP-FDFT1 质粒包装为慢病毒后感染 293T 细胞,可检测到细胞中 FDFT1 基因表达与对照病毒感染相比升高 15.13 倍。结论 本研究成功构建高表达 FDFT1 基因的重组慢病毒表达载体,为进一步研究 FDFT1 基因在肿瘤中的作用机制提供了实验基础。

关键词: FDFT1; 293T 细胞; 慢病毒; 基因重组

中图分类号: R37-33

文献标识码: A

文章编号: 1001-5817(2021)02-0169-05

doi:10.3969/j.issn.1001-5817.2021.02.004

Construction of recombinant lentiviral vectors carrying FDFT1 genes and its expression determination

Chen Xiaoying¹, Yi Xueli^{1,2}, Lu Feiyan², Zeng Yi²

(1. The Affiliated Hospital of Youjiang Medical University for Nationalities, Baise 533000, Guangxi, China; 2. Department of Pathogenic Biology and Immunology, Youjiang Medical University for Nationalities, Baise 533000, Guangxi, China)

Abstract: Objective To construct recombinant plasmids of farnesyl diphosphate farnesyl transferase 1 (FDFT1) and verify the expression of FDFT1 plasmids in human embryonic kidney epithelial cells (293T).

Methods FDFT1 gene primers were designed and FDFT1 target genes were obtained by PCR amplification twice. The pCDH-CMV-MCS-EF1-copGFP (pCDH-GFP) plasmid was linearized with corresponding restriction enzymes. After being purified, the FDFT1 genes and the linearized vectors were linked by homologous recombination reaction to construct recombinant plasmids. The recombinant plasmids were verified by colony PCR, double enzyme digestion and further verified by sequencing. The FDFT1 target plasmids were packaged in 293T cells by three-plasmid co-transfection and the supernatant containing virus was collected. The expression of FDFT1 genes was verified by 293T cells infected with supernatant containing virus. **Results** Colony PCR and double enzyme digestion indicated that the target genes were successfully inserted into the vector plasmids. Sequencing results showed that FDFT1 genes in the recombinant plasmids were homologous to corre-

基金项目:广西医药卫生自筹经费计划课题(Z20180222)

第一作者简介:陈晓颖(1990-),女,硕士,初级技师,研究方向:病毒免疫学,E-mail:506420672@qq.com

通讯作者简介:曾怡(1974-),女,医学博士,教授,硕士研究生导师,研究方向:病毒免疫学,E-mail:yizeng@ymcn.edu.cn

sponding genes registered in NCBI. The successfully constructed pCDH-GFP-FDFT1 plasmids were packaged into lentivirus and then infected with 293T cells. It was detected that the expression of FDFT1 genes increased by 15.13 times in comparison with that of control infected virus. **Conclusion** In this study, recombinant lentivirus vectors with high expression of FDFT1 gene were successfully constructed, providing an experimental basis for further study on the mechanism of FDFT1 genes in tumors.

Key words: farnesyl diphosphate farnesyl transferase 1; 293T cells; lentivirus; genetic recombination

法尼基二磷酸法尼基转移酶 1 (farnesyl diphosphate farnesyl transferase 1, FDFT1), 又称鲨烯合成酶, 是一种分子量为 47 kDa 的酶, 由 416 个氨基酸组成。人类 FDFT1 启动子包含两个固醇调节元件 (sterol regulatory element, SRE) SRE-1 基序、一个倒置的 SRE-3 (inverse SRE-3, Inv SRE-3) 和一个核转录因子 Y (nuclear factor, NF-Y), 是 SRE 结合蛋白 (binding protein, BP) SREBPs 的结合位点。这三个 SREBP 结合位点已经被证实与甾醇介导的 FDFT1 启动子的调控有关^[1]。SREBPs 以转录因子形式参与胆固醇生物合成途径的许多基因的转录。SREBP2 是 FDFT1 的关键转录因子之一。SREBP2 位于内质网膜上, 当 SREBP2 被激活后进入细胞核, 与 FDFT1 启动子中的 SRE 区域结合, 激活 FDFT1 进入转录过程。FDFT1 是胆固醇合成途径的第一个酶, 通过两阶段反应合成角鲨烯。两个焦磷酸法尼酯 (farnesyl pyrophosphate, FPP) 分子先聚合形成前角鲨烯二磷酸 (pre-squalene diphosphate, PSDP), PSDP 再被 NADPH 还原, 生成角鲨烯^[2], 角鲨烯通过氧化、还原等多步骤转化为胆固醇。有研究表明胆固醇代谢异常与癌症的发生有关^[3], 因此, 与胆固醇代谢相关的酶和相关的生物分子被认为可能是抗肿瘤治疗的靶点^[4], 靶向胆固醇代谢治疗方法备受重视。FDFT1 在胆固醇合成调节中起重要作用, 因在肺癌、髓系白血病、乳腺癌等肿瘤中高表达^[5]而备受关注。本实验通过构建 FDFT1 基因重组慢病毒表达载体, 为进一步探索 FDFT1 基因在肿瘤中的作用机制。

1 材料与方法

1.1 材料 包膜质粒 pMD2. G、包装质粒 psPAX2、pCDH-GFP 质粒载体为南京医科大学卢春教授馈赠。PCR 引物、PrimeScript™ II 1st Strand cDNA Synthesis Kit、PCR 试剂盒、DL 2,000 DNA Marker、DL 10,000 DNA Marker、DL 15,000 DNA Marker、DNA 切胶回收试剂盒、real-time PCR (qPCR) 试剂盒为 Takara 生物公司 (大连) 产品; 内切酶 *Xba* I、*Bam* H I 购自 NEB 公司; 质粒小量提取试剂盒、EasyGeno 重组试剂盒、DH5 α 感受态细胞为北京天根生化科技有限公司产品; 胎牛血清、DMEM 购自 Gibco 公司; Trizol 试剂为卓一生物技术有限公司 (南宁) 产品; lipofectamine2000 购自 Invitrogen 公司。293T 细胞株为本实验室保存。

293T 细胞株为本实验室保存。

1.2 方法

1.2.1 FDFT1 基因片段的扩增 根据 NCBI 登记的 FDFT1 基因序列设计 PCR 引物, 由 Takara 生物公司合成, 引物序列如下:

FDFT1-上游引物 (FDFT1-F): GGACCG-CAGAGGTGAGAGTCGC

FDFT1-下游引物 (FDFT1-R): TTCCTAAAG-GTCCCAGCCACAC

以 293T 细胞 cDNA 为模板, 普通 PCR 进行扩增, 得到 FDFT1 基因全长片段。50 μ l PCR 反应体系包括模板 1 μ l, TaKaRa LA Taq 0.5 μ l, 2 \times GC Buffer 25 μ l, dNTP Mixture 8 μ l, 上游引物 0.5 μ l, 下游引物 0.5 μ l, ddH₂O 14.5 μ l。PCR 反应条件如下: 94 $^{\circ}$ C 预变性 3 min; 94 $^{\circ}$ C 变性 30 s, 60 $^{\circ}$ C 退火 30 s, 72 $^{\circ}$ C 延伸 150 s, 共进行 35 个循环; 之后 72 $^{\circ}$ C 加长延伸 5 min。PCR 产物经琼脂糖凝胶电泳确定扩增阳性后, -20 $^{\circ}$ C 保存。

设计 FDFT1 基因 PCR 引物, 在上下游加入与 pCDH-GFP 载体同源序列 (“ ”部分) 及 *Xba* I、*Bam* H I 限制性酶切位点 (单下划线斜体部分), 并在上游引物起始密码子前增加 KOZAK 序列 (“ ”部分) 增强目的基因表达, 在下游引物终止密码子前增加 V5 标签蛋白编码序列 (双下划线斜体部分)。引物序列如下:

FDFT1-重组上游引物 (FDFT1-重组 F): 5'-CCTCCATAGAAGATTCTAGAGCCACCATGGAGTTCGTGAAATGCCTTGCCACCCGAAGAGTCTACAACCTGGTGCCTTC-3'

FDFT1-重组下游引物 (FDFT1-重组 R): 5'-TCCTTCGCGGCCGCGGATCCTTACGTAGAATCGAGACCGAGGAGAGGGTTAGGGATAGGCTTACCATGTTCTCCAGTCTGAACATAG-3'

以前述 FDFT1 基因 PCR 扩增产物为模板再次扩增, 反应体系及反应条件同前述, 使 FDFT1 基因片段上下游分别带有与载体互补序列及限制性酶切位点。纯化扩增产物。测定 DNA 浓度, -20 $^{\circ}$ C 保存备用。

1.2.2 pCDH-GFP 线性化载体的制备 用限制性内切酶 *Xba* I、*Bam* H I 酶切 pCDH-GFP 载体。双酶切反应体系如下:pCDH-GFP 质粒载体 1 μ g,*Xba* I 1 μ l,*Bam* H I 1 μ l,Cutsmart Buffer 5 μ l,ddH₂O 补足 50 μ l;双酶切条件:37 $^{\circ}$ C 水浴 15 min;65 $^{\circ}$ C 水浴 20 min。回收酶切后的 pCDH-GFP 载体,并测定其浓度。纯化的 pCDH-GFP 线性化载体-20 $^{\circ}$ C 保存备用。

1.2.3 FDFT1 基因重组质粒的构建及鉴定 将线性化载体与目的基因通过同源重组反应连接。10 μ l 反应体系如下:线性化载体 0.01 pmol,插入片段 0.05 pmol,2 \times EasyGeno Assembly Mix 5 μ l,以 ddH₂O 补足 10 μ l;反应条件如下:50 $^{\circ}$ C 反应 15 min,迅速冰上冷却 5 min。将上述反应液进行转化,转化体系如下:50 μ l DH5 α 感受态细胞;5 μ l 上述重组产物。转化条件如下:冰浴 30 min;42 $^{\circ}$ C 热激 90 s 后冰浴 150 s;加入 350 μ l 的 LB 液体培养基 37 $^{\circ}$ C 180 r/min 摇 45 min。取 100 μ l 转化液涂布于事先配好的含氨苄青霉素(Amp)的 LB 固体平板,37 $^{\circ}$ C 180 r/min 倒置培养 16~18 h。挑取单菌落接种至分装好的 Amp 抗性的 LB 液体培养瓶并标记,37 $^{\circ}$ C 180 r/min 振荡培养 60 min。取 1 μ l 菌液进行菌落 PCR 鉴定,PCR 反应体系及条件同 1.2.1。将菌落 PCR 阳性的菌液继续培养至 16 h 后提取质粒。将提取质粒进行双酶切验证,双酶切体系及条件同 1.2.2。对菌落 PCR、双酶切均符合的质粒(命名为 pCDH-GFP-FDFT1)进行序列测定(广州艾基生物有限公司)。根据实验需要将序列比对正确的质粒进行批量提取,-20 $^{\circ}$ C 保存备用。

1.2.4 FDFT1 慢病毒的包装 用胰酶消化 293T 细胞,离心弃上清后用 10% FBS 的完培将细胞调整为 1×10^5 cells/ml,取 2 ml 接种至 6 孔板中,37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 培养 24 h。转染前吸弃上清用预冷 PBS 洗细胞 2 次并尽量吸净,并用无血清 DMEM 润洗 1 次备用。将提取的 pCDH-GFP-FDFT1、pCDH-GFP 分别与包装质粒 psPAX2 和包膜质粒 pMD2. G 利用 lipofectamine2000 共转染 293T 细胞。转染 8 h 后给细胞换液,培养至 48 h 后观察荧光蛋白 GFP 表达情况并收集上清 4 $^{\circ}$ C 保存。加入新鲜完培继续培养 24 h 后观察荧光蛋白 GFP 表达情况并收集上清。将 48 h 和 72 h 的上清混合离心后用 0.45 μ m 滤器过滤,分装病毒液,-80 $^{\circ}$ C 保存。

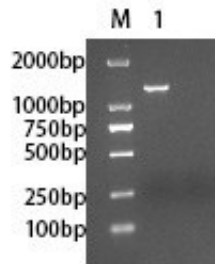
1.2.5 FDFT1 慢病毒的表达测定 按照实验所需将 293T 细胞用 10% FBS 的完培调整为 1×10^5 细胞/孔,接种至 6 孔板,37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 培养 24 h。将实验所需的病毒液置于冰上并在 4 $^{\circ}$ C 融化备用。感染前用预冷 PBS 洗细胞 2 次并尽可能吸干净,随机分组并标记,对应加入 200 μ l 的 FDFT1 病毒液(FDFT1-VIR)

及阴性对照病毒液(Ctrl-VIR),用无血清的 DMEM 补足 2 ml。感染 8 h 后以 10% 的完全培养基给细胞换液。96 h 观察荧光蛋白 GFP 表达,并用 Trizol 试剂分别提取细胞 RNA,以 PrimeScriptTM II 1st Strand cDNA Synthesis Kit 逆转录为 cDNA 后进行 qPCR,运用相对定量法比较两组样本 FDFT1 表达情况。

1.2.6 统计学方法 结果采用 SPSS 23.0 统计软件进行分析。Ct 值以($\bar{x} \pm s$)表示,采用相对表达量 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法比较基因的表达差异。将计量资料进行正态性分析,采用两独立样本 *t* 检验。检验水准 $\alpha=0.05$,双侧检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 FDFT1 目的基因的扩增 以 FDFT1-F、FDFT1-R 为引物,普通 PCR 从人全基因组 cDNA 中扩增 FDFT1 全长基因并进行琼脂糖核酸电泳,电泳结果显示在约 1200 bp 处出现单一条带,与实验预期的 FDFT1 目的条带 1254 bp 基本一致,见图 1。以该 FDFT1 PCR 产物为模板,以 FDFT1-重组 F、FDFT1-重组 R 引物再次进行 PCR 扩增,使 FDFT1 两端加入载体同源序列及限制性酶切位点,经琼脂糖核酸电泳,结果显示在约 1300 bp 处出现目的条带,与预期的 1342 bp 基本一致(图片未显示)。切胶回收纯化带载体同源序列的 FDFT1 PCR 扩增产物,得到浓度为 23.30 ng/ μ l 的 FDFT1 目的基因 DNA。



注:M:DL2,000 DNA Marker;

1:FDFT1 全基因组片段扩增产物。

图 1 FDFT1 全基因组片段扩增产物 1% 琼脂糖凝胶电泳

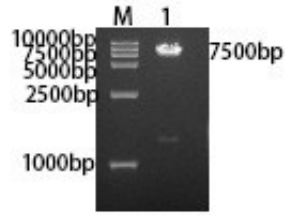
2.2 pCDH-GFP 线性化载体制备 用限制性内切酶酶切 pCDH-GFP 质粒,酶切后进行电泳验证酶切情况。如图 2 所示,在约 7500 bp 处呈现单一条带(预期条带为 7544 bp),说明线性化载体制备成功。切胶回收酶切后 pCDH-GFP 载体,得到浓度为 19.04 ng/ μ l 的线性载体 DNA。

2.3 FDFT1 基因重组质粒的构建及鉴定 利用同源重组技术将 FDFT1 目的基因片段连接到载体上,经转化涂布接种含 Amp 的 LB 平板,培养 16~18 h 后挑 2 个阳性克隆,分别转种至含 Amp 抗性的 LB 液体培养瓶。1 h 后取菌液进行菌落 PCR 鉴定,如图 3 所



注:M:DL15,000 DNA Marker;
1:pCDH-GFP 质粒双酶切产物。

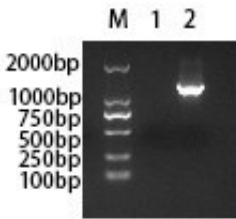
图 2 pCDH-GFP 质粒双酶切产物 1%琼脂糖凝胶电泳



注:M:DL15,000 DNA Marker;
1:pCDH-GFP-FDFT1 质粒双酶切产物。

图 4 pCDH-GFP-FDFT1 质粒双酶切产物 1%琼脂糖凝胶电泳

示,只有 2 号菌落在约 1200 bp 处出现条带。培养至 16~18 h,提取菌落 PCR 阳性菌液的质粒。质粒进行双酶切验证,如图 4 所示,酶切后的质粒出现两条条带,在约 1300 bp 及 7500 bp 处,说明目的基因重组成功。将菌落 PCR、双酶切验证均符合的重组质粒进行测序(广州艾基生物有限公司),测序结果显示重组质粒含有目的序列,与 GenBank 中登记的 FDFT1(NM_004462)基因同源,表明 FDFT1 基因重组质粒连接成功。



注:M:DL2,000 DNA Marker;
1:1 号菌落 PCR 扩增产物;
2:2 号菌落 PCR 扩增产物。

图 3 菌落 PCR 扩增产物 1%琼脂糖凝胶电泳

2.4 FDFT1 慢病毒包装 转染 48 h 后利用荧光显微镜观察荧光蛋白 GFP 表达。如图 5 所示,pCDH-GFP 组及 pCDH-GFP-FDFT1 组均可看到绿色荧光,表明构建的质粒成功转染 293T 细胞。

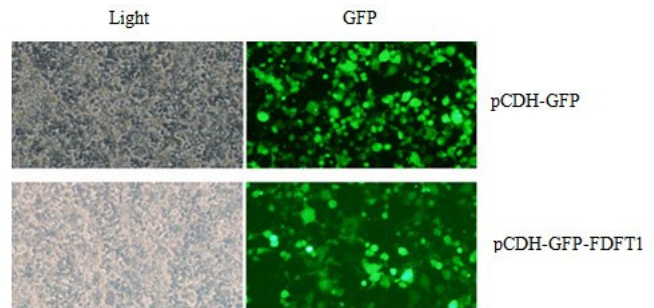


图 5 荧光显微镜观察三质粒共转染 48 h 的 293T 细胞(×100)

2.5 FDFT1 慢病毒表达测定 同体积的 Ctrl-VIR 及 FDFT1-VIR 分别感染 293T 细胞 96 h 后,两组均有绿色荧光表达,表明包装的病毒颗粒成功感染 293T 细胞。分别提取细胞总 RNA,以逆转录试剂进行逆转录为 cDNA,利用 qPCR 检测 FDFT1 表达,结果如表 1 所示,两组间差异有统计学意义($P < 0.001$),FDFT1-VIR 组相对 Ctrl-VIR 组上调 15.13 倍。

表 1 FDFT1 慢病毒感染 293T 细胞后 FDFT1 表达水平

组别	FDFT1	β actin	Δ Ct	$\Delta\Delta$ Ct	$2^{-\Delta\Delta$ Ct}
Ctrl-VIR 组	21.53±0.19	17.48±0.08	4.04±0.21	0.00±0.21	1.00±0.07
FDFT1-VIR 组	16.71±0.19	16.57±0.30	0.15±0.36	-3.89±0.36	15.13±1.09 ^a

注:①表内计量资料数据以($\bar{x} \pm s$)表示;②a:与 Ctrl-VIR 组比较, $P < 0.001$ 。

3 讨论

胆固醇是构成细胞质膜的重要部分,是维持细胞内稳态的必要脂质。胆固醇稳态^[6]是一个复杂的调控过程,它在胆固醇的合成、酯化、代谢和运输中起作用。近年来胆固醇生物合成的变化被认为是多种癌症^[7]的

标志。当癌细胞快速增殖时,它们依赖于升高的胆固醇生物合成来提供足够的胆固醇,以满足膜生物生成和能量稳态及类固醇激素合成。胆固醇也可以通过脂质筏间接的发挥促癌作用,通过富胆固醇的脂筏^[8]来传导肿瘤细胞的增殖、迁移和生存信号。也有研究发

现,胆固醇通过在 TME 中富集的胆固醇酯和氧甾醇等衍生物来调节其对肿瘤进展的影响^[9]。FDFT1 即法尼基二磷酸法尼基转移酶 1 是一种膜结合酶,位于染色体 8p. 22-23. 1 区^[10],参与胆固醇合成分支的调节。FDFT1 可能作为癌症的潜在靶点在癌症的治疗中发挥作用^[11]。Hughes SJ 等^[12]通过 Northern blot 分析和免疫组化分析发现在 8p22-23 区的 FDFT1 mRNA 过表达,在食管腺癌中表达增加。但 Weng ML 等^[13]研究发现在结直肠癌中 FDFT1 表达较低,FDFT1 作为抑癌基因通过负性调控 AKT/mTOR/HIF1 α 信号通路来实现肿瘤抑制功能。FDFT1 既作为一种致癌基因又是一种抑制基因与癌症密切相关,目前关于这种差异产生的原因的研究还很少。这种差异可能不仅是由于 FDFT1 表达的变化,而且是由于癌症中各种胆固醇代谢物如何导致不同反应的差异,这也可能是 TME 对 FDFT1 表现出不同反应的结果。关于 FDFT1 影响癌症特征的作用有很多报道,然而,关于与 FDFT1 相互作用的分子的研究却很少。虽然已经有很多关于 FDFT1 抑制剂的研究,但大多数研究都集中在降低血液胆固醇上,似乎还需要更多的研究将其用作抗癌药物。我们期望能够通过构建 FDFT1 慢病毒稳转株以研究 FDFT1 在各种肿瘤的发生发展中的相关机制,为癌症的治疗提供依据。

传统的脂质体转染方法存在一定的弊端,不适用于转染效率不高的细胞,慢病毒载体虽然操作复杂,但从理论上讲病毒颗粒能感染所有细胞,并能将外源基因整合到宿主染色体上,可以获得稳定表达的细胞株,比传统的脂质体转染发更具优势^[14]。腺病毒载体虽然病毒滴度高,且易于转染其他细胞,但仍不能克服表达沉默的自身缺陷^[15]。慢病毒载体是以病原体 HIV-1 为基础发展起来的基因治疗载体,该载体可以将外源基因随机插入宿主基因组,具有持久性表达,感染效率高、安全性高和免疫原性低等优势^[16]。虽然与其他载体相比,慢病毒载体更胜一筹,但其生物安全性方面的局限性是我们所关注的。近年来,研究者们也主要着力于改进其基因结构,从而增加慢病毒载体的生物安全性^[17]。在本实验中,我们通过包装产生的病毒为“自杀”性病毒,病毒在感染靶细胞后不会产生新的病毒颗粒,也不会再去感染其他细胞。本实验成功构建 FDFT1 慢病毒载体,经转染后获得的病毒液能感染 293T 细胞,并表达 FDFT1 基因。本文结果为进一步研究 FDFT1 基因在肿瘤中的作用机制提供了实验基础。

参考文献:

[1] Gelissen IC, Brown AJ. An Overview of Cholesterol Ho-

meostasis[J]. *Methods Mol Biol*, 2017, 1583:1-6.

- [2] Radisky ES, Poulter CD. Squalene synthase: steady-state, pre-steady-state, and isotope-trapping studies [J]. *Biochemistry*, 2000, 39(7): 1748-1760.
- [3] Kuzu OF, Noory MA, Robertson GP. The Role of Cholesterol in Cancer[J]. *Cancer Res*, 2016, 76(8): 2063-2070.
- [4] Ding X, Zhang WH, Li S, et al. The role of cholesterol metabolism in cancer[J]. *Am J Cancer Res*, 2019, 9(2): 219-227.
- [5] Tuzmen S, Hostetter G, Watanabe A, et al. Characterization of farnesyl diphosphate farnesyl transferase 1 (FDFT1) expression in cancer[J]. *Per Med*, 2019, 16(1): 51-65.
- [6] Ikonen E. Cellular cholesterol trafficking and compartmentalization[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2008, 9(2): 125-138.
- [7] Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation[J]. *Cell*, 2011, 144(5): 646-674.
- [8] Mollinedo F, Gajate C. Lipid rafts as signaling hubs in cancer cell survival/death and invasion: implications in tumor progression and therapy[J]. *J Lipid Res*, 2020, 61(5): 611-635.
- [9] Goossens P, Rodriguez-Vita J, Etzerodt A, et al. Membrane Cholesterol Efflux Drives Tumor - Associated Macrophage Reprogramming and Tumor Progression [J]. *Cell Metab*, 2019, 29(6): 1376-1389.
- [10] Shechter I, Conrad DG, Hart I, et al. Localization of the squalene synthase gene (FDFT1) to human chromosome 8p22-p23. 1[J]. *Genomics*, 1994, 20(1): 116-118.
- [11] Ha NT, Lee CH. Roles of Farnesyl-Diphosphate Farnesyltransferase 1 in Tumour and Tumour Microenvironments[J]. *Cells*, 2020, 9(11): 2352-2384.
- [12] Hughes SJ, Glover TW, Zhu XX, et al. A novel amplicon at 8p22-23 results in overexpression of cathepsin B in esophageal adenocarcinoma[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1998, 95(21): 12410-12415.
- [13] Weng ML, Chen WK, Chen XY, et al. Fasting inhibits aerobic glycolysis and proliferation in colorectal cancer via the Fdft1-mediated AKT/mTOR/HIF1 α pathway suppression[J]. *Nat Commun*, 2020, 11(1): 1869.
- [14] Durand S, Cimarelli A. The inside out of lentiviral vectors[J]. *Viruses*, 2011, 3(2): 132-159.
- [15] 张兴海, 罗俊生, 霍晓川, 等. 人胆固醇酯水解酶重组腺病毒载体的构建[J]. *山东医药*, 2011, 51(10): 17-18.
- [16] 赵晓彪, 李光耀, 刘孟刚, 等. 大鼠 Tmub1 基因过表达慢病毒载体的构建[J]. *重庆医学*, 2016, 45(13): 1744-1746.
- [17] Cockrell AS, Kafri T. Gene delivery by lentivirus vectors [J]. *Mol Biotechnol*, 2007, 36(3): 184-204.

收稿日期: 2021-01-30; 修回日期: 2021-03-03