

鼻咽癌细胞中 *ezrin* 基因增强子区的定位分析

高书颖 代延朋 尹美珺 龙霞 于洁*

(深圳北京大学香港科技大学医学中心, 北京大学深圳医院中心实验室, 深圳 518036)

摘要 本研究采用嵌套缺失和荧光素酶检测技术对鼻咽癌CNE2细胞*ezrin*基因增强子区进行定位分析。实验结果显示, CNE2细胞中, *ezrin*基因-1541/-706具有转录激活和转录增强作用, 存在转录正调控区和负调控区。对5个潜在转录调控区的进一步研究发现, *ezrin*基因-1297/-1186对*ezrin*启动子和SV40启动子具有显著的转录增强作用; 其它4个区域对启动子不表现转录调控作用, 或表现弱的转录增强作用。结果表明, *ezrin*基因-1297/-1186是具有增强子作用的关键转录调控区, 它有可能与其它潜在转录调控区以共同或协同的方式调控*ezrin*基因转录。

关键词 鼻咽癌; *ezrin*基因; 增强子; 转录调控

质膜-细胞骨架连接蛋白Ezrin参与多种细胞行为, 如细胞粘附^[1]、移动^[2]、信号传导^[3]和肿瘤形成^[4]等。研究发现, 对转移和非转移性鼻咽癌细胞利用抑制消减杂交技术所鉴定的差异表达基因中, Ezrin在转移性细胞株5-8F中表达显著上调^[5]; 通过RNA干扰降低Ezrin表达能够减少鼻咽癌细胞侵袭能力^[6]; 鼻咽癌CNE1细胞中EBV-LMP1可通过上调Ezrin表达来促进细胞转移^[7]; Ezrin在鼻咽癌中肿瘤转移和预后相关^[8]。另外, Ezrin在其它多种肿瘤细胞中也存在异常表达现象, 其表达上调与肿瘤细胞的移动侵袭相关^[9-10]。我们近期的研究发现, *ezrin*基因启动子区上游存在转录正调控区, 有可能对于Ezrin在肿瘤细胞中的高表达起重要作用^[11-12]。因此, 本文以鼻咽癌细胞CNE2为材料, 运用嵌套缺失和双荧光素酶报告基因检测技术, 对*ezrin*基因增强子区进行定位分析, 这一研究对于揭示*ezrin*基因在鼻咽癌等肿瘤细胞中的转录调控机制有重要意义。

1 材料与方法

1.1 质粒

pGL3-Basic、pGL3-Promoter和pRL-TK购自Promega公司(Madison, WI, USA)。携带*ezrin*基因序列的报告基因表达载体由本实验室构建(表1)。

1.2 细胞与细胞培养

鼻咽癌细胞株CNE2购自中国科学院上海细胞库。细胞在含10%灭活胎牛血清的1640培养基(In-vitrogen公司)中贴壁生长。用含0.25%胰蛋白酶和0.02% EDTA的消化液消化细胞, 进行传代培养。对

于需转染的细胞, 将细胞接种于96孔细胞培养板, 当细胞汇合率为50%~80%时可用于质粒瞬时转染实验。

1.3 瞬时转染

提取质粒并测定其含量。用Buffer TE (pH8.0)将含有萤火虫荧光素酶报告基因的质粒稀释至100 ng/ μ L, 内参照质粒pRL-TK稀释至20 ng/ μ L, 然后将萤火虫荧光素酶报告基因质粒分别与内参照质粒pRL-TK按100:1混合, 即1 μ g:0.01 μ g。96孔细胞培养板每孔转染萤火虫荧光素酶报告基因表达质粒的量为200 ng或400 ng。采用Lipofectamine™ 2000进行质粒瞬时转染, 转染步骤参照转染试剂说明进行, 每组实验样品3个平行实验孔, 并至少进行3次重复实验。

1.4 双荧光素酶活性检测及统计学分析

双荧光素酶活性检测参照双荧光素酶报告基因分析系统操作手册, 在Modulus single tube multi-mode reader (9200-001)上进行。根据照度计所读取的数据, 计算出各组转染细胞的相对荧光素酶活性(萤火虫荧光素酶/海肾荧光素酶), 以此代表实验启动子的转录活性。各组实验数据均计算平均值及标准差。应用SSPS 13.0软件对各组实验数据之间是否有显著性差别进行t检验, $P < 0.05$ 表示差异显著。

收稿日期: 2011-01-18 接受日期: 2011-03-03

中国博士后科学基金项目(No.20090450100, No.201003361)、广东省自然科学基金项目(No.9152800001000017, No.9151030002000008)和深圳市卫生局、科技和信息局项目(No.JC200903180676A, No.200901012, No.200801001)资助项目

*通讯作者。Tel: 0755-83923333-3516, E-mail: yujie007@hotmail.com

表1 本研究所用的携带*ezrin*基因序列的质粒Table 1 Plasmids carrying *ezrin* gene sequence used in this study

质粒 Plasmids	说明 Notes
pGL3-hE(-87/+134)	<i>ezrin</i> -87/+134 segment located upstream of the <i>luc</i> gene in pGL3-Basic
pGL3-hE(-1541/-706)	<i>ezrin</i> -1541/-706 segment located upstream of the <i>luc</i> gene in pGL3-Basic
pGL3-hE(-1445/-706)	<i>ezrin</i> -1445/-706 segment located upstream of the <i>luc</i> gene in pGL3-Basic
pGL3-hE(-1297/-706)	<i>ezrin</i> -1297/-706 segment located upstream of the <i>luc</i> gene in pGL3-Basic
pGL3-hE(-1025/-706)	<i>ezrin</i> -1025/-706 segment located upstream of the <i>luc</i> gene in pGL3-Basic
pGL3-hE(-946/-706)	<i>ezrin</i> -946/-706 segment located upstream of the <i>luc</i> gene in pGL3-Basic
pGL3-hE(-768/-706)	<i>ezrin</i> -768/-706 segment located upstream of the <i>luc</i> gene in pGL3-Basic
pGL3-hE(-1541/-921)	<i>ezrin</i> -1541/-921 segment located upstream of the <i>luc</i> gene in pGL3-Basic
pGL3-hE(-1541/-1029)	<i>ezrin</i> -1541/-1029 segment located upstream of the <i>luc</i> gene in pGL3-Basic
pGL3-hE(-1541/-1102)	<i>ezrin</i> -1541/-1102 segment located upstream of the <i>luc</i> gene in pGL3-Basic
pGL3-hE(-1541/-1186)	<i>ezrin</i> -1541/-1186 segment located upstream of the <i>luc</i> gene in pGL3-Basic
pGL3-hE(-1541/-1293)	<i>ezrin</i> -1541/-1293 segment located upstream of the <i>luc</i> gene in pGL3-Basic
pGL3-hE(-1541/-1445)	<i>ezrin</i> -1541/-1445 segment located upstream of the <i>luc</i> gene in pGL3-Basic
pGL3-P(hE)-hE(-1297/-1186)	<i>ezrin</i> -1297/-1186 segment located upstream of the <i>ezrin</i> promoter in pGL3-hE(-87/+134)
pGL3-P(hE)-hE(-1186/-1102)	<i>ezrin</i> -1186/-1102 segment located upstream of the <i>ezrin</i> promoter in pGL3-hE(-87/+134)
pGL3-P(hE)-hE(-1097/-1029)	<i>ezrin</i> -1097/-1029 segment located upstream of the <i>ezrin</i> promoter in pGL3-hE(-87/+134)
pGL3-P(hE)-hE(-1025/-921)	<i>ezrin</i> -1025/-921 segment located upstream of the <i>ezrin</i> promoter in pGL3-hE(-87/+134)
pGL3-P(hE)-hE(-919/-773)	<i>ezrin</i> -919/-773 segment located upstream of the <i>ezrin</i> promoter in pGL3-hE(-87/+134)
pGL3-P(SV40)-hE(-1297/-1186)	<i>ezrin</i> -1297/-1186 segment located upstream of the SV40 promoter in pGL3-Promoter
pGL3-P(SV40)-hE(-1186/-1102)	<i>ezrin</i> -1186/-1102 segment located upstream of the SV40 promoter in pGL3-Promoter
pGL3-P(SV40)-hE(-1097/-1029)	<i>ezrin</i> -1097/-1029 segment located upstream of the SV40 promoter in pGL3-Promoter
pGL3-P(SV40)-hE(-1025/-921)	<i>ezrin</i> -1025/-921 segment located upstream of the SV40 promoter in pGL3-Promoter
pGL3-P(SV40)-hE(-919/-773)	<i>ezrin</i> -919/-773 segment located upstream of the SV40 promoter in pGL3-Promoter

2 结果

2.1 *ezrin*基因-1541/-706序列的转录激活和转录增强作用

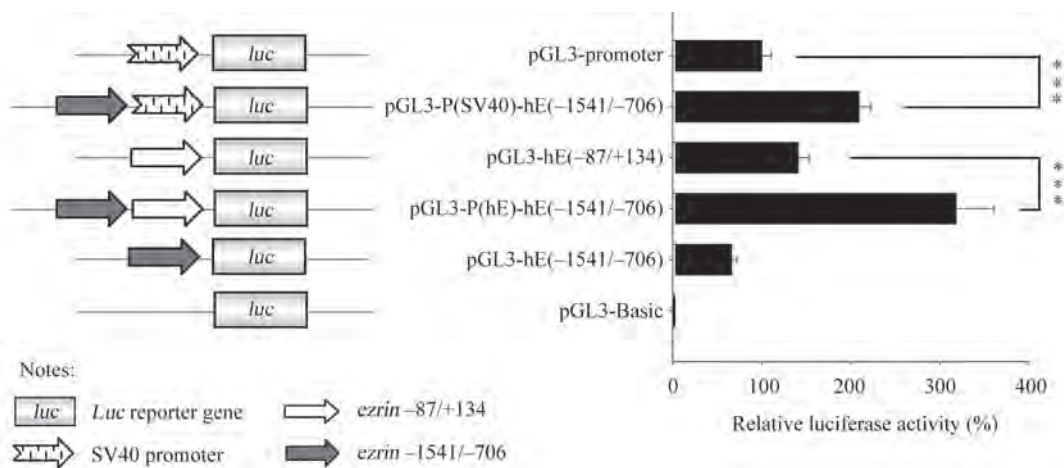
前期研究工作显示, *ezrin*基因-87/+134是表现启动子活性的最短片段, 将其称为*ezrin*启动子, 其上游-1324/-890序列为转录正调控区^[11]。然而, 这一区域GC含量约为80%, 没有合适的引物能够对这一区域进行精确定位克隆。因此, 本研究利用分子生物学软件Primer Premier 5.0对*ezrin* -1324/-890上下游序列进行引物搜索, 选择*ezrin*基因-1541/-1515序列为上游引物, -706/-729序列为下游引物, 扩增产物*ezrin*基因-1541/-706是能够扩增的含有*ezrin* -1324/-890的最短片段。将*ezrin*基因-1541/-706片段分别连接至SV40启动子上游、*ezrin*启动子上游和不含启动子的报告基因上游, 构建报告基因表达载体pGL3-P(SV40)-hE(-1541/-706)、pGL3-P(hE)-hE(-1541/-706)和pGL3-hE(-1541/-706)。

将质粒pGL3-Promoter、pGL3-P(SV40)-hE(-1541/

-706)、pGL3-hE(-87/+134)、pGL3-P(hE)-hE(-1541/-706)、pGL3-hE(-1541/-706)和pGL3-Basic分别与内参照质粒pRL-TK共转染鼻咽癌CNE2细胞, 采用双荧光素酶报告基因检测系统分析相对荧光素酶活性, 实验结果见图1。在CNE2细胞中, 当*ezrin*基因-1541/-706序列位于SV40启动子或*ezrin*启动子上游, 显著增强启动子控制的报告基因表达, 说明*ezrin*基因-1541/-706序列对SV40启动子和*ezrin*启动子具有转录增强作用。当*ezrin*基因-1541/-706序列位于无启动子控制的报告基因上游, 能够激活报告基因的表达, 显示了*ezrin*基因-1541/-706序列除了具有转录增强作用, 还具有与启动子相似的转录激活作用。

2.2 *ezrin*基因-1541/-706序列5'端缺失片段的转录激活作用

增强子的长度通常为100~200 bp, 为了对*ezrin*基因-1541/-706序列中的关键转录调控区进行定位分析, 将pGL3-hE(-1541/-706)及*ezrin*基因-1541/-706序列5'端片段缺失质粒分别与内参照质粒pRL-TK

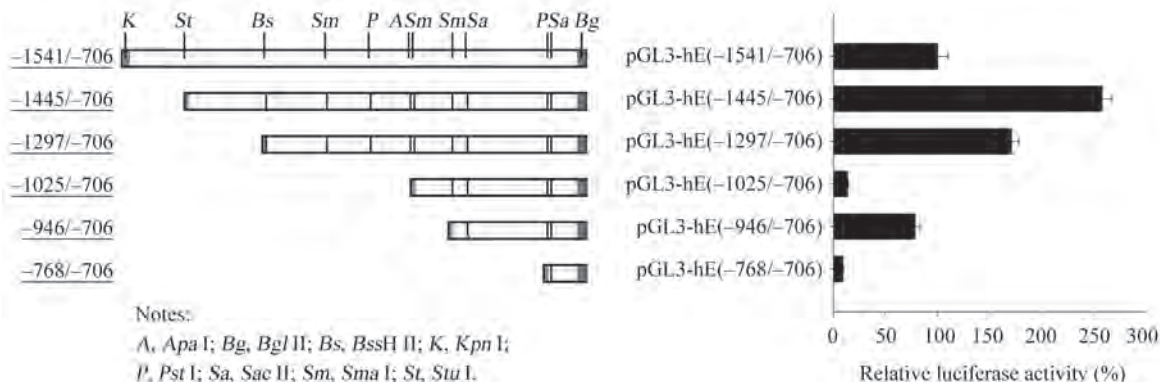


质粒 pGL3-Promoter、pGL3-P(SV40)-hE(-1541/-706)、pGL3-hE(-87/+134)、pGL3-P(hE)-hE(-1541/-706)、pGL3-hE(-1541/-706) 或 pGL3-Basic 与 pRL-TK 共转染 CNE2 细胞, 左图为瞬时转染质粒示意简图, 右图为对应质粒的相对荧光素酶活性。以 pGL3-Promoter 的相对荧光素酶活性为 100% 来计算其它质粒的相对酶活性, *** $P < 0.001$ 。

pGL3-Promoter, pGL3-P(SV40)-hE(-1541/-706), pGL3-hE(-87/+134), pGL3-P(hE)-hE(-1541/-706), pGL3-hE(-1541/-706), or pGL3-Basic was cotransfected with pRL-TK into CNE2 cells. Schematic representation of the plasmids used for transient transfections is shown on the left. Luciferase activity (right) was normalized to *Renilla* luciferase activity and then shown relative to that of pGL3-Promoter, which was given the value 100%. *** $P < 0.001$.

图1 *ezrin* 基因-1541/-706 序列的转录增强和激活作用

Fig.1 Transcriptional enhancement and activation of the human *ezrin* gene -1541/-706 sequence



来源于 pGL3-hE(-1541/-706) 的 *ezrin* 基因-1541/-706 5'-缺失质粒与 pRL-TK 共转染 CNE2 细胞, 左图为瞬时转染质粒示意简图, 右图为对应质粒的相对荧光素酶活性。以 pGL3-hE(-1541/-706) 的相对荧光素酶活性为 100% 来计算其它质粒的相对酶活性。

ezrin gene -1541/-706 5'-deletion constructs from pGL3-hE(-1541/-706) were cotransfected with pRL-TK into CNE2 cells. Schematic representations of plasmids used for transient transfections were shown on the left. Luciferase activities (right) were normalized to *Renilla* luciferase activity and then shown relative to that of pGL3-hE(-1541/-706), which was set to 100%.

图2 *ezrin* 基因-1541/-706 序列 5' 端缺失片段的转录激活作用

Fig.2 Transcriptional activation of 5'-deletion fragments of the human *ezrin* gene -1541/-706 sequence

共转染 CNE2 细胞, 检测相对荧光素酶活性。实验结果见图 2。CNE2 细胞中, 当质粒上 *ezrin* 基因-1541/-706 序列从 5' 端-1541 截短至-1445 和从-1025 截短至-946 时, 相对荧光素酶活性显著增加, 说明 *ezrin* 的-1541/-1445 和-1025/-946 区域对基因表达具

有负调控作用; 当 DNA 序列从-1445 截短至-1297、从-1297 截短至-1025 和从-946 截短至-768 时, 相对荧光素酶活性显著降低, 说明 *ezrin* 的-1445/-1297、-1297/-1025 和-946/-768 区域对基因表达具有正调控作用。

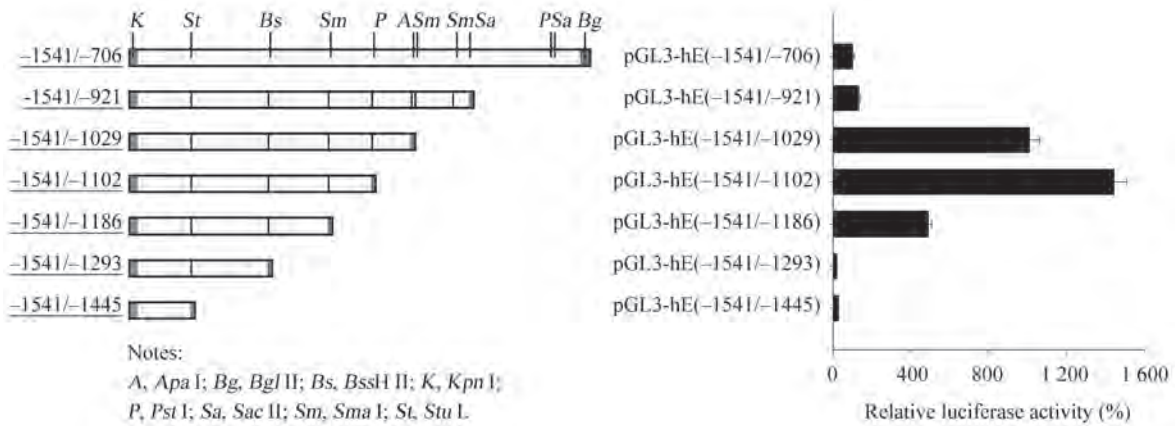
2.3 ezrin基因-1541/-706序列3'端缺失片段的转录激活作用

为了进一步验证5'端缺失实验结果, 将pGL3-hE(-1541/-706)及ezrin基因-1541/-706序列3'端缺失质粒分别与内参照质粒pRL-TK共转染CNE2细胞, 检测相对荧光素酶活性。实验结果见图3。CNE2细胞中, 当质粒上ezrin基因-1541/-706序列从3'端-921截短至-1029和从-1029截短至-1102时, 相对荧光素酶活性显著增加, 说明ezrin基因-1029/-921和-1102/-1029区域具有转录负调控作用; 当从3'端-1102截短至-1186和从-1186截短到-1293时, 相对荧光素酶活性显著降低, 说明-1186/-1102和-1293/-1186这两个区域具有转录正调控作用;

当DNA序列从-706截短至-921和从-1293截短至-1445时, 相对荧光素酶活性没有明显变化, 说明-921/-706和-1445/-1293这两个区域无调控基因表达的关键DNA序列元件。

2.4 ezrin基因增强子的鉴定

根据5'端和3'端缺失质粒的报告基因检测结果和-1541/-706片段上所具有的酶切位点, 选择潜在转录调控区-1297/-1186 (正调控)、-1186/-1102 (正调控)、-1097/-1029 (负调控)、-1025/-921 (负调控)、-919/-773 (正调控) 作进一步研究(图4)。利用酶切反应构建携带潜在转录调控区的报告基因表达载体, 潜在转录调控区分别位于ezrin启动子上游和SV40启动子上游, 将质粒转染细胞, 检测潜在转录调控区



来源于pGL3-hE(-1541/-706)的ezrin基因-1541/-706 3'-缺失质粒与pRL-TK共转染CNE2细胞, 左图为瞬时转染质粒示意简图, 右图为对应质粒的相对荧光素酶活性。以pGL3-hE(-1541/-706)的相对荧光素酶活性为100%来计算其它质粒的相对酶活性。

ezrin gene -1541/-706 3'-deletion constructs from pGL3-hE(-1541/-706) were cotransfected with pRL-TK into CNE2 cells. Schematic representations of plasmids used for transient transfections were shown on the left. Luciferase activities (right) were normalized to *Renilla* luciferase activity and then shown relative to that of pGL3-hE(-1541/-706), which was set to 100%.

图3 ezrin基因-1541/-706序列3'端缺失片段的转录激活作用

Fig.3 Transcriptional activation of 3'-deletion fragments of the human ezrin gene -1541/-706 sequence

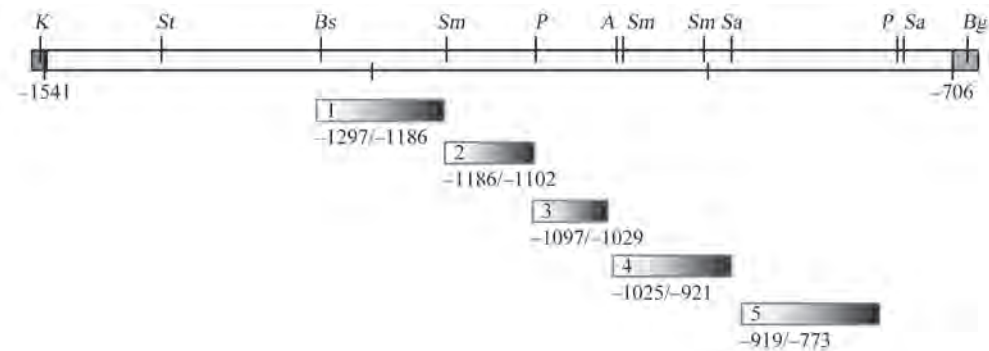
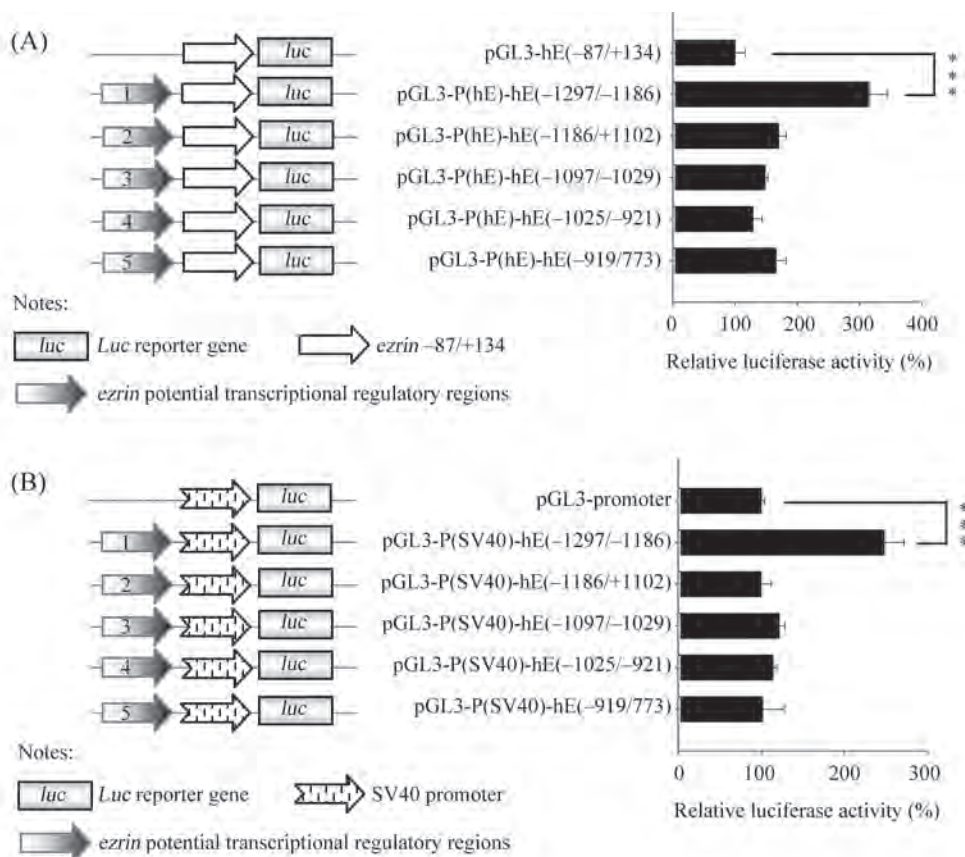


图4 ezrin基因-1541/-706中的潜在转录调控区

Fig.4 Potential transcriptional regulatory regions within ezrin gene -1541/-706



A: *ezrin* 基因转录调控区对 *ezrin* 启动子的转录增强作用。质粒 pGL3-hE(-87/+134)、pGL3-P(hE)-hE(-1297/-1186)、pGL3-P(hE)-hE(-1186/-1102)、pGL3-P(hE)-hE(-1025/-921) 或 pGL3-P(hE)-hE(-919/-773) 与 pRL-TK 共转染 CNE2 细胞, 以 pGL3-hE(-87/+134) 的相对荧光素酶活性为 100% 来计算其它质粒的相对酶活性; B: *ezrin* 基因转录调控区对 SV40 启动子的转录增强作用。pGL3-Promoter、pGL3-P(SV40)-hE(-1297/-1186)、pGL3-P(SV40)-hE(-1186/-1102)、pGL3-P(SV40)-hE(-1025/-921) 或 pGL3-P(SV40)-hE(-919/-773) 与 pRL-TK 共转染 CNE2 细胞, 以 pGL3-Promoter 的相对荧光素酶活性为 100% 来计算其它质粒的相对酶活性。*** $P < 0.001$ 。

A: enhancement of *ezrin* transcriptional regulatory regions on *ezrin* promoter. pGL3-hE(-87/+134), pGL3-P(hE)-hE(-1297/-1186), pGL3-P(hE)-hE(-1186/-1102), pGL3-P(hE)-hE(-1025/-921), or pGL3-P(hE)-hE(-919/-773) were cotransfected into CNE2 cells with pRL-TK. Luciferase activity was normalized to *Renilla* luciferase activity and then shown relative to that of pGL3-hE(-87/+134), which was set at 100%; B: enhancement of *ezrin* transcriptional regulatory regions on SV40 promoter. pGL3-Promoter, pGL3-P(SV40)-hE(-1297/-1186), pGL3-P(SV40)-hE(-1186/-1102), pGL3-P(SV40)-hE(-1025/-921), or pGL3-P(SV40)-hE(-919/-773) were cotransfected into CNE2 cells with pRL-TK. Luciferase activity was normalized to *Renilla* luciferase activity and then shown relative to that of pGL3-Promoter, which was set at 100%. *** $P < 0.001$.

图5 CNE2细胞 *ezrin* 基因增强子的鉴定

Fig.5 Identification of human *ezrin* gene enhancer in CNE2 cells

对 *ezrin* 启动子和 SV40 启动子的转录增强作用。

图5A显示, CNE2细胞中, -1297/-1186对 *ezrin* 启动子表现出较强的转录增强作用, 其它潜在转录调控区对 *ezrin* 具有较弱的转录增强作用。图5B显示, -1297/-1186对 SV40 启动子表现出较强的转录增强作用, 其它潜在转录调控区对 SV40 启动子无转录增强作用。由此认为, *ezrin* 基因-1297/-1186 具有增强子活性, 为 *ezrin* 基因关键转录调控区, 其它潜在转录调控区对启动子的转录调控作用远小于-1297/-1186序列, 它们在基因的转录调控过程

起辅助作用, 协助-1297/-1186或与-1297/-1186共同参与基因的表达调控。

3 讨论

本研究采用酶切反应和双荧光素酶报告基因检测技术, 鉴定鼻咽癌细胞中 *ezrin* 基因增强子区。嵌套缺失质粒报告基因检测结果显示, 在 *ezrin* 基因5'侧翼存在转录正调控区和负调控区。进一步鉴定了5个潜在转录调控区(-1297/-1186、-1186/-1102、-1097/-1029、-1025/-921和-919/-773)对启动子的转

录调控作用,发现-1297/-1186对*ezrin*启动子和SV40启动子均表现转录增强作用,其它4个区域对*ezrin*启动子的转录增强作用低于-1297/-1186(图5A),对SV40启动子无转录增强作用(图5B),由此判断,-1297/-1186为具有增强子作用的关键转录调控区。在被检测的5个潜在转录调控区中,-1297/-1186对启动子的转录增强作用与5'端和3'端缺失质粒报告基因检测结果一致;-1025/-921虽然3'端缺失实验中表现出显著的转录负调控作用,对*ezrin*启动子和SV40启动子并没有转录抑制作用;-1186/-1102、-1097/-1029和-919/-773单独存在时,对启动子无调控作用或转录增强作用较弱。研究发现,增强子的功能是可以累加的,SV40增强子序列可以被分为两半,每一半序列本身作为增强子功能很弱,但合在一起,即使其中间插入一些别的序列,仍然是一个有效的增强子^[13-14]。*ezrin*基因关键转录调控区-1297/-1186很可能与其它潜在转录调控区共同或协同调控基因转录。

双荧光素酶报告基因分析是目前研究基因表达调控的主要手段,-1297/-1186增强子区对细胞内Ezrin蛋白的表达调控作用及其生物学意义需要进一步研究。在后续研究工作中,我们拟首先确定*ezrin*增强子关键转录调控元件;然后利用同源重组技术,对鼻咽癌细胞*ezrin*增强子区关键转录调控元件进行定点突变,检测*ezrin*增强子对Ezrin蛋白表达水平和细胞移动侵袭能力的影响;最后将定点突变细胞进行裸鼠移植瘤实验,检测其致瘤性,明确*ezrin*增强子对Ezrin蛋白的表达调控作用及其生物学意义。

综上所述,本研究鉴定了鼻咽癌CNE2细胞中*ezrin*基因增强子区,这将有助于进一步揭示鼻咽癌等肿瘤细胞中*ezrin*基因的转录调控机制。

参考文献 (References)

- 1 Hiscox S, Jiang WG. Ezrin regulates cell-cell and cell-matrix adhesion, a possible role with E-cadherin/beta-catenin. *J Cell Sci* 1999; 112(18): 3081-90.
- 2 Crepaldi T, Gautreau A, Comoglio PM, Louvard D, Arpin M. Ezrin is an effector of hepatocyte growth factor-mediated migration and morphogenesis in epithelial cells. *J Cell Biol* 1997; 138(2): 423-34.
- 3 Hatzoglou A, Ader I, Splingard A, Flanders J, Saade E, Leroy I, *et al.* Gem associates with ezrin and acts via the Rho-GAP Protein Gmip to down-regulate the Rho pathway. *Mol Biol Cell* 2007; 18(4): 1242-52.
- 4 Kang YK, Hong SW, Lee H, Kim WH. Prognostic implications of ezrin expression in human hepatocellular carcinoma. *Mol Carcinog* 2010; 49(9): 798-804.
- 5 Yang XY, Ren CP, Wang L, Li H, Jiang CJ, Zhang HB, *et al.* Identification of differentially expressed genes in metastatic and non-metastatic nasopharyngeal carcinoma cells by suppression subtractive hybridization. *Cell Oncol* 2005; 27(4): 215-23.
- 6 Peng S, Fan S, Li X, Wang L, Liu H, Zhou M, *et al.* The expression of ezrin in NPC and its interaction with NGX6, a novel candidate suppressor. *Cancer Sci* 2007; 98(3): 341-9.
- 7 申志华, 陈小毅, 陈锦, 邓惠华, 揭伟. EBV-LMP1上调Ezrin表达对鼻咽癌细胞转移潜能的影响. *癌症* 2008; 27(2): 165-9.
- 8 林贵南, 吕跃, 蒋湘俐, 刘盼盼. Ezrin蛋白在鼻咽癌组织中的表达及其预后的相关研究. *广东医学* 2010; 31(7): 869-71.
- 9 Deng X, Tannehill-Gregg SH, Nadella MV, He G, Levine A, Cao Y, *et al.* Parathyroid hormone-related protein and ezrin are up-regulated in human lung cancer bone metastases. *Clin Exp Metastasis* 2007; 24(2): 107-19.
- 10 Akisawa N, Nishimori I, Iwamura T, Onishi S, Hollingsworth MA. High levels of ezrin expressed by human pancreatic adenocarcinoma cell lines with high metastatic potential. *Biochem Biophys Res Commun* 1999; 258(2): 395-400.
- 11 Gao SY, Li EM, Cui L, Lu XF, Meng LY, Yuan HM, *et al.* Sp1 and AP-1 regulate expression of the human gene VIL2 in esophageal carcinoma cells. *J Biol Chem* 2009; 284(12): 7995-8004.
- 12 高书颖, 李恩民, 孟令英, 崔磊, 袁华敏, 杜则澎, 等. 肺癌细胞中调控*ezrin*基因基本转录活性的顺式作用元件及转录因子的鉴定. *生物化学与生物物理进展* 2009; 36(3): 288-96.
- 13 Herr W, Clarke J. The SV40 enhancer is composed of multiple functional elements that can compensate for one another. *Cell* 1986; 45(3): 461-70.
- 14 Zenke M, Grundstrom T, Matthes H, Wintzerith M, Schatz C, Wildeman A, *et al.* Multiple sequence motifs are involved in SV40 enhancer function. *EMBO J* 1986; 5(2): 387-97.

Localization of *ezrin* Enhancer in Nasopharyngeal Carcinoma Cells

Gao Shuying, Dai Yanpeng, Yin Meijun, Long Xia, Yu Jie*

(Central Laboratory, Peking University Shenzhen Hospital, Shenzhen PKU-HKUST Medical Center, Shenzhen 518036, China)

Abstract To localize human *ezrin* gene enhancer in nasopharyngeal carcinoma cells, a series of reporter gene expression vectors were constructed using nested-deletion method and then were detected via luciferase assay. In CNE2 cells, it was found that *ezrin* -1541/-706 possessed promoter and enhancer activity, and there were some positive and negative transcriptional regulatory regions within this -1541/-706 region. Further studies on 5 potential transcriptional regulatory regions revealed that *ezrin* -1297/-1186 enhanced transcription of *ezrin* promoter and SV40 promoter significantly, other 4 regions showed absent regulation or weaker enhancement on promoters. These data suggested that the *ezrin* -1297/-1186, a key transcriptional regulatory region as an enhancer, probably regulated *ezrin* transcription in company with other potential regulatory regions.

Key words nasopharyngeal carcinoma; *ezrin*; enhancer; transcriptional regulation

Received: January 18, 2011 Accepted: March 3, 2011

This work was supported by Grants from China Postdoctoral Science Foundation (No.20090450100, No.201003361), the Natural Science Foundation of Guangdong Province (No.9152800001000017, No.9151030002000008) and the Basic Research Projects of Shenzhen Bureau of Science, Technology and Information (No.JC200903180676A, No.200901012, No.200801001)

*Corresponding author. Tel: 86-755-83923333-3516, E-mail: yujie007@hotmail.com