

# 小鼠组蛋白 H3K4 甲基化酶 *Smyd3* 启动子 荧光素酶报告载体的构建与活性分析

雷学华<sup>①</sup> 吴凤瑞<sup>②③</sup> 刘勇<sup>②③</sup> 丁彪<sup>②③</sup> 王荣<sup>③</sup> 李文雍<sup>②③\*</sup>

① 安徽大学生命科学学院 合肥 230039; ② 胚胎发育与生殖调节安徽省重点实验室 阜阳 236041;

③ 阜阳师范学院生命科学学院 阜阳 236041

**摘要:** 为研究小鼠(*Mus musculus*)组蛋白 H3K4 甲基化酶基因 *Smyd3* 转录调控的分子机制,本研究首先通过 PCR 的方法克隆了 5 条不同长度的 *Smyd3* 启动子 5' 端缺失片段,与 pMD19-T 载体连接后,双酶切克隆入 pGL3-Basic 荧光素酶报告基因载体,构建 *Smyd3* 启动子-pGL3-Basic 报告基因重组质粒,瞬时转染 HEK293 细胞 48 h 后采用双报告基因检测试剂盒检测 *Smyd3* 启动子各缺失片段的相对荧光活性。结果表明,本研究成功构建 *Smyd3* 启动子 5' 端缺失片段-pGL3-Basic 荧光报告基因重组质粒,所构建的启动子重组子转染组与阳性对照组相比表现出荧光活性,并且 pGL3-*Smyd3*-4 的荧光活性最强,是其他的 2 至 4 倍左右,pGL3-*Smyd3*-5 的荧光活性最弱。本研究初步确定 *Smyd3* 基因的启动子核心区域可能位于 -533 ~ -42 bp 之间,在 -2 026 ~ -533 bp 之间可能存在启动子负调控序列。

**关键词:** 组蛋白 H3K4 甲基化;*Smyd3* 启动子;活性分析;小鼠

**中图分类号:** Q786 **文献标识码:** A **文章编号:** 0250-3263(2013)01-22-06

## Construction and Analysis of Luciferase Reporter Vector for Promoter of *Smyd3*, A Gene Encoding Mouse H3K4 Methylase

LEI Xue-Hua<sup>①</sup> WU Feng-Rui<sup>②③</sup> LIU Yong<sup>②③</sup> DING Biao<sup>②③</sup>  
WANG Rong<sup>③</sup> LI Wen-Yong<sup>②③\*</sup>

① College of Life Science, Anhui University, Hefei 230039;

② Key Laboratory of Embryo Development and Reproductive Regulation, Anhui Province, Fuyang 236041;

③ College of Life Science, Fuyang Normal University, Fuyang 236041, China

**Abstract:** To further study the molecular mechanism of transcription regulation of the mouse (*Mus musculus*) histone H3K4 methylase gene *Smyd3*, different 5'-flanking regions of *Smyd3* promoter were cloned by PCR and inserted into pMD19-T vector. The pMD19-T vector was digested by two enzymes, and then inserted into pGL3-Basic luciferase reporter vector. The recombination plasmids were transiently transfected into HEK293 cells, and then its fluorescence activity was measured with the dual-luciferase reporter assay after 48 hours. The results showed that pGL3-Basic-*Smyd3*-1 - pGL3-Basic-*Smyd3*-5 luciferase reporter gene vectors were constructed successfully. Compared with the positive control, construction of promoter recombinants transfected group showed fluorescence activity, and the pGL3-*Smyd3*-4 fluorescence was most active, about 2 - 4 times of

**基金项目** 国家自然科学基金项目(No. 31071310,31201789),安徽省教育厅自然科学基金项目(No. KJ2012B132);

\* 通讯作者, E-mail: liwyfyu@yahoo.com.cn;

**第一作者介绍** 雷学华,男,硕士;研究方向:生物化学与分子生物学;E-mail: Leixuehuachangde@163.com。

收稿日期:2012-07-02,修回日期:2012-10-22

the others, while the pGL3-Smyd3-5 fluorescence activity was the weakest. This study suggests that the core promoter region of the *Smyd3* gene may be located on the up-stream between -533 bp to -42 bp and that the area between -2 026 bp to -533 bp is a transcriptional negative regulation region.

**Key words:** Histone H3K4 methylase; *Smyd3* promoter; Activity analysis; Mouse

近年来组蛋白修饰已成为表观遗传学领域的研究热点,组蛋白翻译后修饰主要包括甲基化和去甲基化、乙酰化和去乙酰化、磷酸化和去磷酸化、泛素化和去泛素化、基因组印记和 X 染色体失活等(Lachner et al. 2002, 2003, Soppe et al. 2002, 蒋智文等 2009)。其中组蛋白甲基化是组蛋白修饰的一个重要方式,在基因调控中起着重要作用。常见的组蛋白甲基化发生在赖氨酸和精氨酸上,赖氨酸可以被单、二、三甲基化,而精氨酸则只能被单、二甲基化。在组蛋白 H3 上有 5 个可能被甲基化的位点(K4、K9、K27、K36、K79),目前研究主要集中在 H3K4 和 H3K9 位点上,通常组蛋白甲基化是相应的组蛋白甲基化酶催化的(Racedo et al. 2009)。新近发现的组蛋白 H3K4 甲基化酶(SET and MYND domain containing 3, *Smyd3*)是一种组蛋白 H3K4 二、三甲基化转移酶(Hamamoto et al. 2004),包含 SET 结构域和一个 MYND 结构域,前者可以接受 S-腺苷甲硫氨酸所提供的甲基,使染色质空间结构发生变化从而影响基因的转录,而后者可以与下游靶基因启动子区特定核苷酸序列 5'-CCCTCC-3'结合,进而影响其转录表达(罗学刚等 2009)。研究报道 *Smyd3* 是 *MMP-9* 转录中的新调控因子,*Smyd3* 的过表达与转移性癌症有着一定分子间的联系(Cock-Rada et al. 2012)。另有研究表明,*Smyd3* 在宫颈癌、肺癌、胃癌、结肠癌、乳腺癌、肝癌及口腔上皮癌高度表达,而在相应正常的组织中表达量较低(Hamamoto et al. 2006, 徐鋈耀等 2006, 何传超等 2009)。当采用小 RNA 分子(siRNA)或者短发夹 RNA(shRNA)对 *Smyd3* 进行特异性干扰后,发现肝癌、宫颈癌、乳腺癌等癌细胞受到明显的抑制,并诱导其凋亡(王娟娟等 2010)。用 RNA 干扰技术在人肝癌细胞(HepG2)中特异性干扰 *Smyd3* 后,可抑制癌

基因 *c-Myc* 的表达(刘鑫等 2008)。研究表明,*c-Myc* 在肝癌中扮演着乙型肝炎 X 抗原-*Smyd3* (HBX-*Smyd3*) 相关的下游基因(Yang et al. 2009)。其他研究表明,*Smyd3* 通过加快细胞周期 S 期的进程而提高细胞增殖能力,其高度表达与人类肿瘤细胞的增殖具有广泛的相关性,促进 HepG2 细胞的凋亡(罗学刚等 2007)。

上述研究都直接或者间接说明 *Smyd3* 与其下游基因的转录表达有一定的相关性,但对 *Smyd3* 本身的转录调控研究并不多见。本研究通过构建不同长度 *Smyd3* 启动子 5' 端缺失片段的 pGL3-Basic 荧光报告基因载体,共转染 HEK293 细胞,双荧光素酶报告基因检测其活性,从而推测其启动子活性区域,为进一步研究小鼠(*Mus musculus*)组蛋白 H3K4 甲基化酶 *Smyd3* 转录调控的分子机制奠定基础。

## 1 材料与方法

**1.1 细胞株、质粒及实验动物** HEK293 细胞购于上海拜力生物科技有限公司;大肠杆菌(*Escherichia coli*)DH5 $\alpha$  感受态细胞购于天根生化科技有限公司;pMD19-T 载体购于 TaKaRa 公司;pGL3-Basic 载体、pRL-TK 载体购于 Promega 公司;pCDNA3.1 载体购于 Invitrogen 公司;6~8 周龄昆明小鼠购于安徽医科大学,饲养条件为湿度 50%~60%,光照时间 14 h/d,温度 23~25 $^{\circ}$ C,自由采食、饮水。

**1.2 主要试剂及仪器** 动物组织总 RNA 提取试剂盒、高纯度质粒小提试剂盒、琼脂糖凝胶 DNA 回收试剂盒购于天根生化科技有限公司;逆转录试剂盒、双荧光素酶报告基因检测系统、GLOMAX<sup>TM</sup>20/20 Luminometer 购于 Promega 公司;PureLink<sup>TM</sup> 高纯度 DNA 质粒纯化试剂盒、Dual-Luciferase Lipofectamine<sup>TM</sup>-2000 购于 Invitrogen 公司;Takara DNA Linkage Kit 购于

TaKaRa 公司。

**1.3 扩增组蛋白 H3K4 甲基化酶 *Smyd3* 启动子 5'端缺失片段** 使用酚-氯仿抽提法提取小鼠组织基因组 DNA, -20℃ 冰箱保存备用。设计 *Smyd3* 基因启动子 5'端缺失片段引物, 扩增片段长度分别为 2 220 bp、1 516 bp、1 408 bp、727 bp、236 bp, 并在正向和反向引物上各引入对应的酶切位点 *Mlu* I / *Xho* I。共设计了 5 条正向引物 Fn (n 为 1 ~ 5) 和 1 条反向引物 R。引物由上海英潍捷基生物技术有限公司合成。以小鼠基因组 DNA 为模板, F1、R 为引物, 进行第一轮扩增, PCR 反应条件为: 94℃ 3 min; 94℃ 30 s, 58℃ 1 min, 72℃ 2.5 min, 32 个循环; 72℃ 10 min。以 5 倍稀释后的第一轮扩增产物为模板, Fn、R 为引物, 进行第二轮扩增, PCR 反应条件为 94℃ 3 min; 94℃ 30 s, 60℃ 1 min, 72℃ 2.5 min, 32 个循环; 72℃ 10 min。电泳, 胶回收, 获得目的片段。

**1.4 启动子报告基因重组子构建** 将小鼠组蛋白甲基化酶 *Smyd3* 启动子 5'端缺失片段与 pMD19-T 载体的连接产物转化到 DH5 $\alpha$  感受态细胞, 接种到含 IPTG 和 X-gal 的氨苄 LB 培养皿进行蓝白斑筛选, 挑取阳性克隆菌落, 用引物 F5 和 R 进行菌落 PCR 验证, 鉴定目的片段是否转入。挑取阳性克隆菌扩大培养, 提取质粒送上海英潍捷基生物技术有限公司测序。获得的组蛋白甲基化酶 *Smyd3* 启动子 5'端缺失片段-pMD19-T 重组质粒, -20℃ 冰箱保存。

将提取的组蛋白甲基化酶 *Smyd3* 启动子 5'端缺失片段-pMD19-T 重组质粒和 pGL3-Basic 载体用 *Mlu* I / *Xho* I 进行双酶切后连接、转化、接种、蓝白斑筛选, 挑取阳性克隆菌落用 *Smyd3* 基因启动子 5'端缺失片段引物 F5 和 pGL3-Basic 载体上的反向引物 GLp2 进行菌落 PCR 及双酶切验证。挑取阳性克隆菌落扩大培养, 提取质粒并测序(上海英潍捷基生物技术有限公司)。获得的组蛋白甲基化酶 *Smyd3* 启动子 5'端缺失片段-pGL3-Basic 重组质粒, -20℃ 冰箱保存备用。

**1.5 细胞培养、转染和荧光素酶检测** 在

37℃, 5% CO<sub>2</sub> 培养箱中, 将 HEK293 细胞系放在 DMEM(添加 10% 胎牛血清)中, 过夜培养至 90% 以上融合以备转染使用。根据 Lipofectamine™-2000 指导手册将下列质粒共转染 HEK293 细胞: 0.5  $\mu$ g 组蛋白甲基化酶 *Smyd3* 启动子 5'端缺失片段-pGL3-basic 荧光素酶报告基因重组质粒; 0.1  $\mu$ g 插入一段反向序列的 pcDNA3.1 空载质粒(Mock)作为参照; 0.1  $\mu$ g pRL-TK 所表达的 *Renilla luciferase* 作为转染效率的内参计算相对荧光素酶活性。以 pGL3-Basic 空质粒作为阴性对照, 以 pcDNA3.1-c-Myc 与 pGL3-组蛋白三甲甲基化酶 *Mll1* 重组质粒(pGL3-Mll1-2)共转染 HEK293 细胞作为阳性对照。所有转染样品在 37℃, 5% CO<sub>2</sub> 培养箱中培养 48 h 后, 收集细胞并裂解, 用 Dual-Luciferase Reporter Assay System 在 GLOMAX™ 20/20 Luminometer 测定荧光素酶活性。

## 2 结果

**2.1 组蛋白 H3K4 甲基化酶 *Smyd3* 启动子 5'端缺失片段的克隆** 从 NCBI 网站(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)获得小鼠组蛋白甲基化酶 *Smyd3* 的 mRNA 序列, 然后通过 UCSC 网站(<http://genome.ucsc.edu/>)的 Blast 比对获得小鼠的基因组 DNA 序列, 运用 Neural Network Promoter Prediction (NNPP, [http://www.fruitfly.org/seq\\_tools/promoter.html](http://www.fruitfly.org/seq_tools/promoter.html))网站对基因转录起始位点上游 -2 026 ~ +194 bp 的序列进行分析, 使用 Primer5.0 软件设计启动子缺失突变体的引物, 引物序列见表 1。

以提取的小鼠基因组 DNA 为模板, PCR 扩增 5 段不同长度的 *Smyd3* 启动子 5'端缺失片段, 片段长度依次是 2 220 bp、1 516 bp、1 408 bp、727 bp、236 bp(图 1)。

**2.2 启动子报告基因重组子的构建** 将以上 PCR 扩增获得的 5 条片段先与 pMD19-T 连接, 然后将它与 pGL3-Basic 载体同时用 *Mlu* I / *Xho* I 进行双酶切后连接, 获得组蛋白甲基化酶 *Smyd3* 启动子 5'端缺失片段-pGL3-Basic 重组

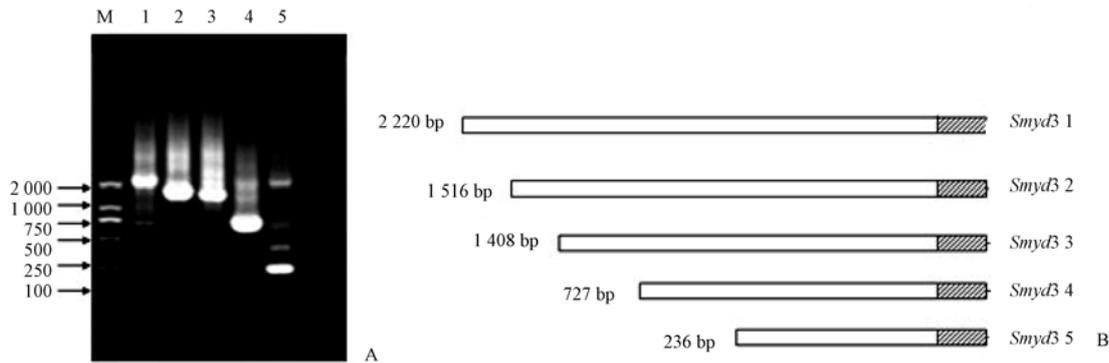


图1 *Smyd3* 启动子片段 PCR 产物的电泳结果 (A) 及 5 条不同长度的 *Smyd3* 启动子 5' 端缺失片段 (B)

Fig. 1 Electrophoretic analysis of *Smyd3* promoter by PCR (A). Map of sequences with five different lengths of deletion fragments of the *Smyd3* promoter (B)

M. D2000 DNA 分子量标准; 1~5. 分别是 5 条不同长度的 *Smyd3* 启动子 5' 端缺失片段的扩增产物。  
M. D2000 DNA Marker; 1-5. Amplified products of different 5'-flanking regions of mouse *Smyd3* promoter.

表 1 *Smyd3* 启动子 5' 端缺失片段引物序列

Table 1 The primer sequence of 5'-flanking regions of mouse *Smyd3* promoter

引物 Primer	序列 Sequence (5' - 3')
F1	CGACGCCGTCCGAAGCCTAAGGTCCA
F2	CGACGCCGTTACTTCCGCTGTATCCT
F3	CGACGCCGTTACAGGCAGTAGTGACGC
F4	CGACGCCGTAGTCTTGTGCCTACTCCTT
F5	CGACGCCTTTTGATACAGGGCTTCTC
R	CCGCTCGAGCCTCAGCCTCCTCAGTTC
GLp2	CTTTATGTTTTTGGCGTCTTCA

质粒,进行双酶切验证(图 2),与测序结果比对,启动子报告基因重组子构建成功。

**2.3 荧光素酶活性检测** 将构建的重组报告基因载体共转染到 HEK293 细胞,进行双荧光素酶报告基因检测,结果见图 3。

上游含有组蛋白三甲化酶 *Mu1* 基因启动子阳性对照的相对荧光活性受到外源因子 *c-Myc* 的作用而呈现出抑制现象,重组质粒转染组与之相比荧光活性具有显著差异 ( $P < 0.05$ )。pGL3-*Smyd3*-5 重组质粒转染组的相对荧光活性比其余 4 个转染组都要低,前 3 个大约比其高 1 倍,第 4 个转染组大约比其高 4 倍,而 pGL3-*Smyd3*-4 重组质粒转染组的荧光活性比其他转染组高约 2~4 倍。所以不同长度的 *Smyd3* 缺失片段在 HEK293 细胞中表现出一定转录活性。

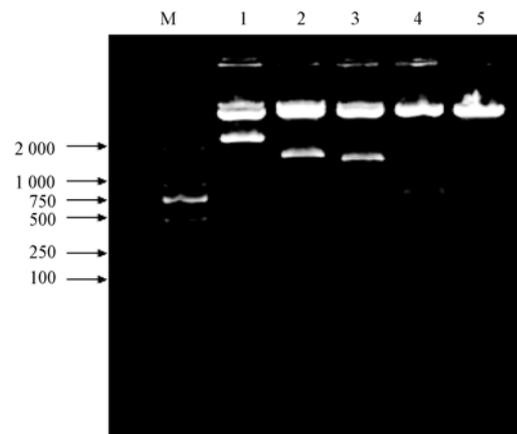


图 2 *Smyd3* 启动子片段与 pGL3-Basic 重组质粒双酶切鉴定

Fig. 2 The restriction endonuclease analysis of *Smyd3* promoter fragment and pGL3-Basic recombinant plasmid

M. DL2000 DNA 分子量标准; 1. pGL3-F1R 重组质粒;  
2. pGL3-F2R 重组质粒; 3. pGL3-F3R 重组质粒;  
4. pGL3-F4R 重组质粒; 5. pGL3-F5R 重组质粒。  
M. DL2000 DNA marker; 1. pGL3-F1R recombinants;  
2. pGL3-F2R recombinants; 3. pGL3-F3R recombinants;  
4. pGL3-F4R recombinants; 5. pGL3-F5R recombinants.

### 3 讨论

本研究首先通过生物信息学网站 NNPP ([http://www.fruitfly.org/seq\\_tools/promoter](http://www.fruitfly.org/seq_tools/promoter)).

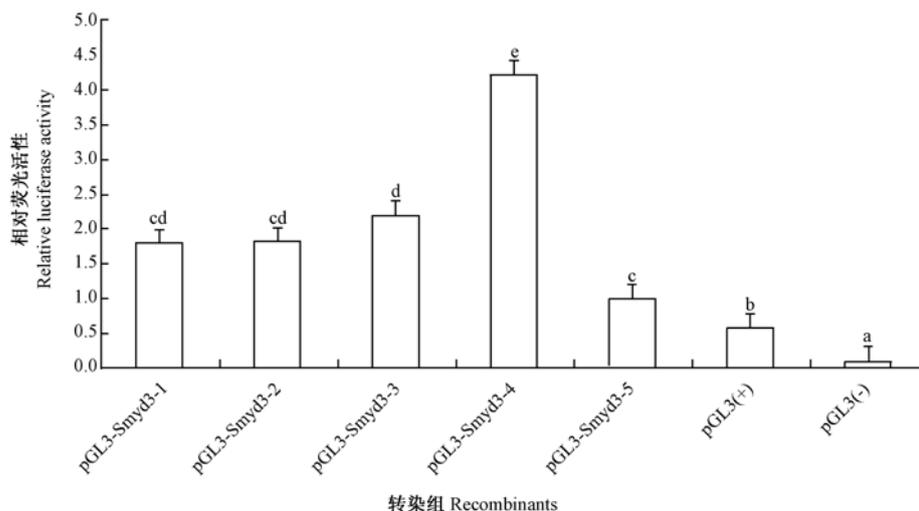


图3 重组子在 HEK293 细胞中的相对荧光活性

Fig. 3 Relative luciferase activities of recombinants in HEK293 cells

pGL3-Smyd3-(1~5): pGL3 与 Smyd3-(1~5) 的重组质粒; pGL3(+): pcDNA3.1-c-Myc 与 pGL3-Mll1-2 共转染 HEK293 细胞; pGL3(-): pGL3-Basic 空质粒转染 HEK293 细胞; 图柱上不同字母表示两者之间存在显著差异 ( $P < 0.05$ )。

pGL3-Smyd3-(1~5): Recombinants of pGL3 and Smyd3-(1~5); pGL3(+): pcDNA3.1-c-Myc and pGL3-Mll1-2 co-transfection HEK293 cells; pGL3(-): pGL3-Basic transfection HEK293 cells; Values sharing different letters are significantly different at  $P < 0.05$ .

html) 对 *Smyd3* 的转录起始位点上游 -2 026 ~ +194 bp 序列进行分析, 共预测到 6 个转录起始位点, 3 个 TATA box 和 2 个 GC box。文献报道, 人 (*Homo sapiens*) 的 *Smyd3* 基因启动子的核心区处于 -1 334 bp 的上游 (谢景航等 2009), 因此为了确定小鼠的 *Smyd3* 基因核心启动子可能的位置, 首先提取小鼠组织基因组 DNA, 确定转录起始位点后, 通过 PCR 方法扩增出 5 条不同长度的 *Smyd3* 基因启动子 5' 端缺失片段, 分别是 -42 ~ +194 bp、-533 ~ +194 bp、-1 214 ~ +194 bp、-1 322 ~ +194 bp 和 -2 026 ~ +194 bp。构建启动子报告基因重组质粒 pGL3-Smyd3-(1~5), 采用双荧光素酶报告基因检测系统检测分析, 结果显示, 5 种不同的启动子序列相对荧光活性先升高后降低, 与上游含有组蛋白三甲基化酶 *Mll1* 基因启动子的阳性对照相比, 重组质粒转染组表现出一定的转录活性。pGL3-Smyd3-4 重组质粒转染组的相对荧光活性要比其余 4 个转染组高 2 ~ 4 倍左右, 而 pGL3-Smyd3-5 重组质粒转染组的

荧光活性却比另外 4 组都要低, 重复实验结果相同。在小鼠精胺氧化酶基因 (*mSMO*) 启动子研究中, 其最长片段的启动子活性较低, 随着片段的减短活性先升高后降低, 再升高后降低两个循环, 研究认为在其上游 -176 ~ +124 bp 为 *mSMO* 核心启动子区, -615 ~ -176 bp 为重要的转录调控区 (汤桂成等 2011)。而在对小鼠 *TLE4* 基因启动子克隆及分析中也得到类似的结果, 将克隆出的不同长度的启动子片段瞬时转染到小鼠畸胎瘤细胞和小鼠胚胎肝细胞荧光检测发现, 在 *TLE4* 基因启动子 -2 521 ~ -2 137 bp 区存在负性调控元件, 而在启动子 -2 137 ~ -1 794 bp 区活性最强 (赵黎黎等 2010)。有研究从人外周血细胞中获得自噬相关基因 *ATG5* 后, 克隆出 4 条不同的缺失片段, 共转染到 HEK293 细胞, 检测其荧光活性, -3 555 ~ -337 bp 和 -2 749 ~ -337 bp 的活性较高, 而 -4 532 ~ -337 bp 和 -6 081 ~ -337 bp 的相对荧光活性比前面两段的要低, 随着片段长度的减小, 荧光活性先降低后升高

(Martin et al. 2012)。因此我们初步确定 *Smyd3* 基因启动子核心区域位于 -533 ~ -42 bp 之间,在 -2 026 ~ -533 bp 之间可能有启动子的负调控序列,从而使 pGL3-*Smyd3*-1 ~ pGL3-*Smyd3*-3 相对荧光活性在一定程度上受到抑制,而失去这段序列的 pGL3-*Smyd3*-4 的荧光活性却要其高 2 ~ 4 倍左右,pGL3-*Smyd3*-5 则可能失去部分启动子核心区域,因此它的活性比前 4 组都要低。

目前,针对 *Smyd3* 基因的研究主要集中在其作用的下游基因,而对其本身以及与其作用的一些转录因子的研究较少。本研究对 *Smyd3* 可能存在的核心启动区域进行研究分析,初步确定了 *Smyd3* 基因核心启动子区域位于 -533 ~ -42 bp 之间,并猜测在 -2 026 ~ -533 bp 之间可能存在启动子负调控序列。这为今后进一步研究 *Smyd3* 基因本身的转录调控机制提供了一定的参考。

## 参 考 文 献

- Cock-Rada A M, Medjkane S, Janski N, et al. 2012. *SMYD3* promotes cancer invasion by epigenetic upregulation of the metalloproteinase *MMP-9*. *Cancer Research*, 72(3): 810 - 820.
- Hamamoto R, Furukawa Y, Morita M, et al. 2004. *SMYD3* encodes a histone methyltransferase involved in the proliferation of cancer cells. *Nature Cell Biology*, 6(8): 731 - 741.
- Hamamoto R, Silva F P, Tsuge M, et al. 2006. Enhanced *SMYD3* expression is essential for the growth of breast cancer cells. *Cancer Science*, 97(2): 113 - 118.
- Lachner M, Jenuwein T. 2002. The many faces of histone lysine methylation. *Current Opinion in Cell Biology*, 14(3): 286 - 298.
- Lachner M, O' Sullivan R J, Jenuwein T. 2003. An epigenetic road map for histone lysine methylation. *Journal of Cell Science*, 116(11): 2117 - 2124.
- Martin L J, Gupta J, Jyothula S S K, et al. 2012. Functional variant in the autophagy-related 5 gene promoter is associated with childhood asthma. *PLoS One*, 7(4): e33454.
- Racedo S E, Wrenzycki C, Lepikhov K, et al. 2009. Epigenetic modifications and related mRNA expression during bovine oocyte *in vitro* maturation. *Reproduction, Fertility Development*, 21(6): 738 - 748.
- Soppe W J J, Jasencakova Z, Houben A, et al. 2002. DNA methylation controls histone H3 lysine 9 methylation and heterochromatin assembly in *Arabidopsis*. *The EMBO Journal*, 21(23): 6549 - 6559.
- Yang L, He J, Chen L B, et al. 2009. Hepatitis B virus X protein upregulates expression of *SMYD3* and *c-Myc* in HepG2 cells. *Medical Oncology*, 26(4): 445 - 451.
- 何传超, 徐黎耀. 2009. 组蛋白甲基转移酶 *SMYD3* 致癌机制研究进展. *广东医学*, 30(9): 1402 - 1403.
- 蒋智文, 刘新光, 周中军. 2009. 组蛋白修饰调节机制的研究进展. *生物化学与生物物理进展*, 36(10): 1252 - 1259.
- 刘鑫, 陈立波, 叶进, 等. 2008. shRNA 干扰 *SMYD3* 对肝癌细胞 *c-Myc* 表达及凋亡的影响. *世界华人消化杂志*, 16(13): 1373 - 1377.
- 罗学刚, 林超, 陆云华, 等. 2007. *SMYD3* 与细胞增殖相关性及其对细胞周期的影响. *中国药科大学学报*, 38(3): 277 - 282.
- 罗学刚, 潘辉, 刘志鹏, 等. 2009. *SMYD3* 在肿瘤发生发展中的作用. *生命的化学*, 29(2): 247 - 249.
- 汤桂成, 韩钰, 王艳林. 2011. 小鼠精胺氧化酶基因启动子结构和功能研究. *生物技术*, 21(1): 14 - 17.
- 王娟娟, 张乐鸣, 戴永平, 等. 2010. microRNA 沉默 *SMYD3* 基因对乳腺癌细胞侵袭能力影响及其机制的探讨. *中华肿瘤防治杂志*, 17(19): 1532 - 1536.
- 谢景航, 邹佳宁, 唐聪, 等. 2009. 人 *SMYD3* 基因启动子荧光素酶报告载体的构建与分析. *中国药科大学学报*, 40(2): 173 - 177.
- 徐黎耀, 陈立波, 徐黎阳, 等. 2006. RNA 干扰 *SMYD3* 基因表达对诱导肝癌细胞凋亡的影响. *癌症*, 25(5): 526 - 532.
- 赵黎黎, 牟玉莲, 崔文涛, 等. 2010. 小鼠 *TLE4* 基因启动子克隆及分析. *畜牧兽医学报*, 41(3): 274 - 278.