网络出版时间:2026-02-04 DOI:10.13207/j.jnwafu.2026.08.003

鸡*ELAVL1*基因 SYBR Green Ⅰ实时荧光定量PCR检测方法的建立及应用

彭慧[1,2],詹冬梅[1,2],高梦茹[1,2],陈松彪[1,2],何雷[1,2],陈建[1,2],丁轲[1,2,3],余祖华[1,2]

(1 河南科技大学 动物科技学院,功能微生物与畜禽健康实验室,河南 洛阳 471003;2 洛阳市活载体生物材料与动物疫病防控重点实验室,河南 洛阳 471023;3 河南科技学院 动物科技学院,河南 新乡 453003)

[摘 要] 【目的】建立鸡胚胎致死异常视觉蛋白1基因(*ELAVL1*)的SYBR Green Ⅰ实时荧光定量PCR检测方法,为研究鸡*ELAVL1*基因在肿瘤性疾病发生发展中的作用提供技术支持。【方法】根据鸡*ELAVL1*基因序列设计特异性荧光定量PCR引物,以pMD19-T-ELAVL1质粒为模板,优化引物浓度和退火温度,进行实时荧光定量PCR扩增,建立鸡*ELAVL1*基因SYBR Green Ⅰ实时荧光定量PCR检测方法。以pMD19-T-ELAVL1质粒为标准品,进行实时荧光定量PCR扩增,建立标准曲线,检测该方法的特异性、敏感性和重复性。应用该方法检测鸡*ELAVL1*基因在不同组织中的转录水平及其在鸡淋巴瘤细胞MSB1、鸡成纤维细胞DT40、鸡肝癌细胞LMH和鸡成纤维细胞DF1中的差异表达情况。【结果】鸡*ELAVL1*基因实时荧光定量PCR检测方法最佳引物浓度为0.2 μmol/L,最佳退火温度为60 ℃;建立的标准曲线循环阈值(Ct)与模板浓度(1.1×10^3~1.1×10^8拷贝/μL)有良好的线性关系(R^2=0.993),扩增效率为109.7%。建立的鸡*ELAVL1*基因实时荧光定量PCR检测方法具有良好的特异性;对重组质粒的检测下限为1.1×10^1拷贝/μL,灵敏度是普通PCR的100倍;批内和批间变异系数分别为0.44%~1.92%和0.32%~0.57%,重复性良好。*ELAVL1*基因在鸡心脏、肝脏、脾脏、肺脏、肾脏、胸腺和法氏囊中均有表达,在脾脏中表达水平最高,在肺脏中表达水平最低;在鸡淋巴瘤细胞MSB1、鸡成纤维细胞DT40和鸡肝癌细胞LMH中的表达量显著或极显著高于鸡成纤维细胞DF-1。【结论】建立了鸡*ELAVL1*基因SYBR Green Ⅰ实时荧光定量PCR检测方法,该方法具有良好的特异性、灵敏性和重复性。

[关键词] 鸡;*ELAVL1*基因;SYBR Green Ⅰ;实时荧光定量PCR

[中图分类号] S858.31 [文献标志码] A [文章编号] 1671-9387(2026)08-0018-07

Establishment and application of SYBR Green Ⅰ real-time fluorescence quantitative PCR method for detection of chicken *ELAVL1* gene

PENG Hui[1,2],ZHAN Dongmei[1,2],GAO Mengru[1,2],CHEN Songbiao[1,2],HE Lei[1,2],CHEN Jian[1,2],DING Ke[1,2,3],YU Zuhua[1,2]

(1 *Laboratory of Functional Microbiology and Animalhealth,College of Animal Science and Technology,Henan University of Science and Technology,Luoyang,Henan* 471003,*China*;2 *Luoyang Key Laboratory of Live Carrier Biomaterial and Animal Disease Prevention and Control,Luoyang,Henan* 471023,*China*;3 *College of Animal Science and Technology,Henan Institute of Science and Technology,Xinxiang,Henan* 453003,*China*)

Abstract:【Objective】The study aims to establish a SYBR Green Ⅰ real-time quantitative PCR detection method for the detection of chicken *ELAVL1* gene,thereby providing technical support for studying the role of

[收稿日期] 2025-05-30 [修回日期] 2025-07-12
[基金项目] 国家自然科学基金项目(32472990)
[作者简介] 彭慧(2000—),女,河南南阳人,在读硕士,主要从事动物疫病防控研究。E-mail:240320181088@stu.haust.edu.cn
[通信作者] 余祖华(1977—),女,河南信阳人,教授,主要从事动物疫病病原与分子免疫学研究。E-mail:yzhd05@163.com

*ELAVL*1 gene in the occurrence and development of tumor diseases in chickens.【Method】Specific primers for real-time quantitative PCR were designed based on the chicken *ELAVL*1 gene sequence. Using the pMD19-T-ELAVL1 plasmid as a template, the primer concentration and annealing temperature were optimized, and fluorescence quantitative PCR amplification was performed to establish a SYBR Green Ⅰ RT-qPCR method for detectioning chicken *ELAVL*1 gene. qPCR amplification was performed using the pMD19-T-ELAVL1 plasmid as the standard sample, and the standard curve was established to test the specificity, sensitivity and repeatability of the method. The method was used to measure the transcription level of *ELAVL*1 gene in different tissues and its differential expression in MSB1 lymphoma cells, DT40 fibroblasts, LMH hepatocellular carcinoma cells and DF1 fibroblasts.【Result】The optimal concentration of primers was 0.2 μmol/L and the optimal annealing temperature was 60 ℃. The established standard curve showed a good linear relationship between the fluorescence cycle threshold (Ct) and the template concentration in the range of 1.1×10^{3}—1.1×10^{8} copy/μL (R^{2}=0.993), with an amplification efficiency of 109.7%. The developed ELAVL1 detection method exhibited high specificity. The lower limit of detection for recombinant plasmid was 1.1×10^{1} copy/μL, which was 100-fold more sensitive than conventional PCR. The intra- and inter-assay coefficients of variation ranged from 0.44% to 1.92% and from 0.32% to 0.57%, respectively, demonstrating excellent repeatability. The *ELAVL*1 gene was expressed in the heart, liver, spleen, lung, kidney, thymus and bursa of chicken, with the highest expression level in the spleen and the lowest in the lung. The expression levels of *ELAVL*1 were significantly or extremely significantly higher in MSB1 lymphoma cells, DT40 fibroblasts and LMH hepatocellular carcinoma cells compared to chicken DF-1 fibroblasts.【Conclusion】A SYBR Green Ⅰ real-time quantitative PCR method was established for chicken *ELAVL*1 gene, exhibiting high specificity, sensitivity and reproducibility.

Key words: chicken; *ELAVL*1 gene; SYBR Green Ⅰ; real-time fluorescence quantitative PCR

胚胎致死异常视觉蛋白1(embryonic lethal abnormal vision like 1, ELAVL1)也称为人类抗原R(human antigen R, HuR)，是一种典型的RNA结合蛋白(RNA binding protein, RBP)。ELAVL1是基因表达的关键效应因子，通过与3′非翻译区(3′untranslated element, 3′UTR)富含AU的元件(AU-rich element, ARE)结合，发挥调控mRNA翻译的作用[1-3]。ELAVL1在多种细胞中广泛表达，主要存在于正常细胞的细胞核中，当细胞受到外源刺激或在肿瘤细胞中，ELAVL1与靶mRNA结合，形成ELAVL1-mRNA复合物，该复合物通过核孔被转运到细胞质，在细胞质中表达，从而发挥稳定靶mRNA和调节蛋白质翻译的功能[4-5]。此外，外界刺激、药物、病毒感染以及致瘤因子等常引起ELAVL1表达水平变化[6-7]。ELAVL1的作用广泛，可调控肿瘤的发生发展，在几乎所有类型的癌症中均呈异常高表达，包括胰腺癌[8]、前列腺癌[9]、乳腺癌[10]、结肠癌等[11]，可以影响肿瘤细胞的增殖和凋亡，是许多癌症治疗的关键靶点[9, 12-15]。近年来研究表明，ELAVL1可参与多种病毒的复制，如腺病毒[16-17]、肝炎病毒[18-19]、辛德比斯病毒、柯萨奇B3病毒等[20]。

实时荧光定量PCR方法(RT-qPCR)是一种被广泛使用的具有良好灵敏度和特异性的定量分析方法，该方法已经应用于各类基因实时表达水平的定量检测[21-22]，但目前尚鲜见应用于鸡*ELAVL*1基因检测的报道。因此，本研究设计鸡*ELAVL*1特异性荧光定量PCR检测引物，以构建的标准品质粒pMD19-T-ELAVL1为模板，建立了鸡*ELAVL*1基因SYBR Green Ⅰ RT-qPCR检测方法，为研究*ELAVL*1在鸡机体组织内的分布及在马立克氏病等肿瘤性疾病中的作用提供技术支持。

1　材料与方法

1.1　材　料

28日龄健康SPF鸡3只，购自洛阳中科基因检测诊断中心有限公司。鸡重组质粒pMD19-T-ELAVL1、pMD19-T-IDH1、pMD19-T-RORA、pMD19-T-FGL2和pMD19-T-TGF-β1及马立克氏病毒转化的T淋巴瘤细胞MSB1、鸡成纤维细胞DF-1、鸡成纤维细胞DT40、鸡肝癌细胞LMH，均由河南科技大学动物科技学院功能微生物与畜禽健康实验室保存。

AG RNAex Pro组织RNA提取试剂、氯仿替代物、反转录试剂盒、2×SYBR® Green Pro *Taq* HS

Premix,均为艾科瑞生物有限公司(郑州)产品;细胞RNA提取试剂盒为南京诺唯赞生物科技股份有限公司产品;异丙醇、无水乙醇等均购自北京化工厂。荧光定量PCR仪(型号为CFX96)和普通PCR仪(型号为T100)为美国Bio-Rad公司产品;核酸蛋白浓度测定仪(型号为Thermo 2000)为赛默飞世尔科技公司产品;高速冷冻离心机(型号为3-18K)为德国Sigma公司产品。

1.2 引物设计与合成

根据GenBank中鸡*ELAVL1*基因序列(Genbank登录号:NM_201833.2)和内参基因*GAPDH*序列,使用Primer 5.0软件设计鸡*ELAVL1*和*GAPDH*特异性荧光定量PCR引物。*ELAVL1*引物序列为:F,5′-GTTTCCTATGCTCGTCCA-3′;R,5′-TGTAATTGCCTCTTCTGCTT-3′;预计扩增片段长度为219 bp。*GAPDH*引物序列为:F,5′-CCAGAACATCATCCCAGCGT-3′;R,5′-CAGGTCAGGTCAACAACAGA-3′;预计扩增片段长度为132 bp。引物序列由上海生工生物工程技术服务有限公司合成。

1.3 引物浓度和退火温度的优化

以重组质粒pMD19-T-ELAVL1标准品为模板进行SYBR Green Ⅰ实时荧光定量PCR,反应体系为20 μL:2×SYBR® Green Pro *Taq* HS Premix 10 μL,模板1 μL,0.1,0.2,0.3,0.4或0.5 μmol/L引物分别加0.2,0.4,0.6,0.8,1.0 μL,用RNase free water补足20 μL。反应条件为:95 ℃预变性30 s;95 ℃变性30 s,50,52,54,56,58或60 ℃退火30 s,40个循环。反应程序使用Bio-Rad系统检测,以相对荧光强度(RFU)最高、循环阈值(circulatory threshold,Ct)最小且熔解曲线为单峰作为标准,筛选出最佳的RT-qPCR反应条件。

1.4 标准曲线的建立

将重组质粒标准品10倍倍比稀释,取1.1×10^3~1.1×10^8拷贝/μL共6个稀释度作为模板,以优化好的反应条件进行SYBR Green Ⅰ RT-qPCR扩增。反应结束后,使用Bio-Rad软件进行鸡*ELAVL1* RT-qPCR标准曲线分析。

1.5 特异性、敏感性、重复性试验

1.5.1 *特异性* 应用已建立的方法,以鸡重组质粒pMD19-T-ELAVL1、pMD19-T-IDH1、pMD19-T-RORA、pMD19-T-FGL2、pMD19-T-TGF-β1和ddH_2O为模板进行SYBR Green Ⅰ RT-qPCR反应,检测该方法的特异性。

1.5.2 *敏感性* 将重组质粒pMD19-T-ELAVL1标准品进行10倍倍比稀释。分别以1.1×10^1~1.1×10^8拷贝/μL的pMD19-T-ELAVL1为模板,进行SYBR Green Ⅰ RT-qPCR和普通PCR检测,比较其灵敏度。

1.5.3 *重复性* 将重组质粒pMD19-T-ELAVL1标准品进行10倍倍比稀释。分别以1.1×10^3~1.1×10^7拷贝/μL的pMD19-T-ELAVL1为模板,进行SYBR Green Ⅰ RT-qPCR检测,设3个平行对照进行批内重复性试验。对于批间重复,在不同时间段对上述试验进行3次重复。计算Ct平均值、标准差及变异系数,分析该方法的重复性。

1.6 鸡*ELAVL1*基因SYBR Green Ⅰ RT-qPCR检测方法的初步应用

1.6.1 *绝对荧光定量检测ELAVL1在鸡组织中的分布* 取SPF鸡的心脏、肝脏、脾脏、肺脏、肾脏、胸腺和法氏囊组织,分别剪取约100 mg样本,用组织研磨仪研磨后,按AG RNAex Pro组织RNA提取试剂说明书提取RNA,测定浓度后取1 μg RNA反转录成cDNA。以cDNA为模板,利用已建立的鸡*ELAVL1* SYBR Green Ⅰ RT-qPCR方法进行检测,通过标准曲线计算*ELAVL1*拷贝数,分析*ELAVL1*基因在鸡不同组织中的分布。

1.6.2 *相对荧光定量检测ELAVL1在鸡不同细胞系中的表达差异* 将DF-1细胞、MSB1细胞、DT40细胞和LMH细胞培养至对数生长期,采用RNA提取试剂盒提取细胞总RNA,测定浓度后取1 μg RNA反转录成cDNA。以cDNA为模板,采用相对荧光定量PCR检测*ELAVL1*在DF-1、MSB1、DT40和LMH细胞中的mRNA水平,通过$2^{-\Delta\Delta Ct}$法计算结果。

1.7 数据统计分析

使用Graphpad Prism9进行作图和统计分析。数据使用*t*-test方法进行差异分析,结果以3次独立试验的"平均值±标准差"呈现。

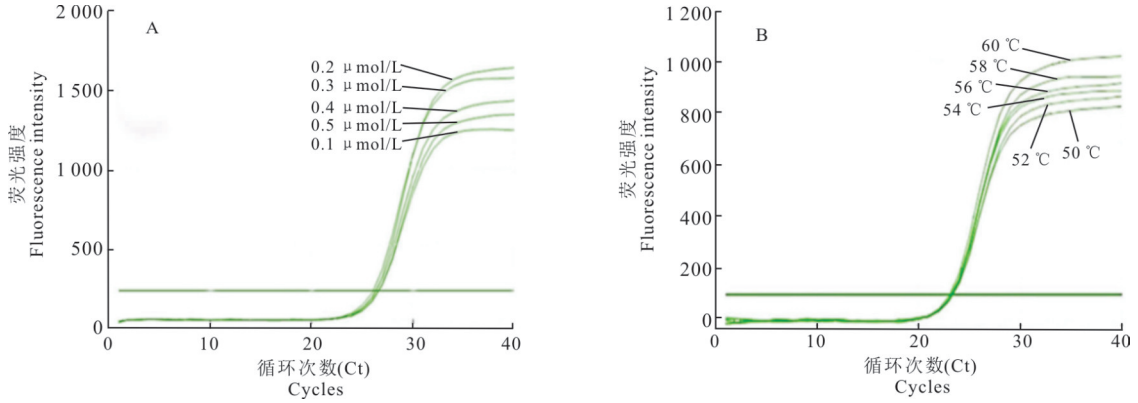
2 结果与分析

2.1 引物浓度的优化

引物浓度优化试验结果(图1-A)显示,当引物浓度为0.2 μmol/L(加0.4 μL)时,Ct值最低,最先扩增,且扩增的荧光信号峰值最高。因此确定*ELAVL1*基因最适引物浓度为0.2 μmol/L。

2.2　退火温度的优化

退火温度优化试验结果（图 1-B）显示，当退火温度为 60 ℃时，Ct值呈“S”形曲线，此时Ct值最低，最先扩增，且扩增的荧光信号峰值最高，强度最强。因此确定 *ELAVL1* 基因扩增的最适退火温度为 60 ℃。



A. 引物浓度优化；B. 引物退火温度优化。图中水平线代表阈值，下图同。

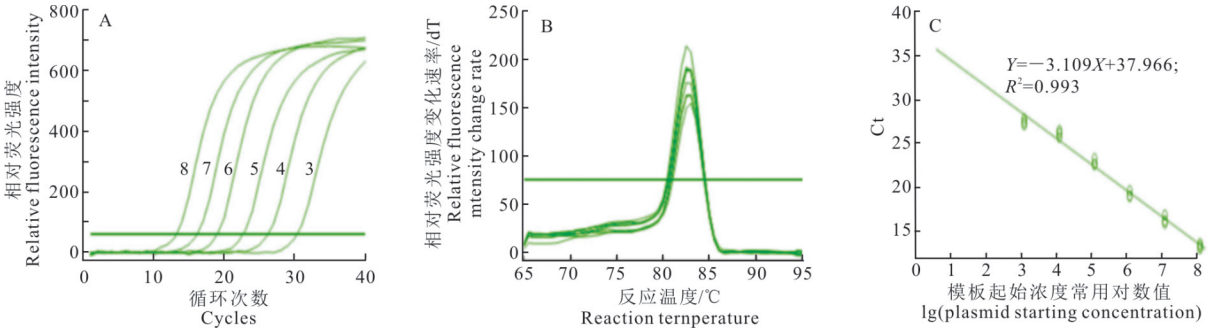
A. Optimization of primer concentration; B. Optimization of annealing temperature. Horizontal line represent threshold, The same below.

图 1　鸡*ELAVL1*基因的SYBR Green Ⅰ RT-qPCR检测引物浓度和退火温度的优化

Fig. 1　Optimization of primer concentration and annealing temperature for SYBR Green Ⅰ RT-qPCR detection of chicken *ELAVL1* gene

2.3　标准曲线的建立

经反应条件的优化，确定最佳反应体系为 20 μL，包括 2×SYBR Green Ⅰ Mix 10 μL，上、下游引物（0.2 μmol/L）各 0.4 μL，模板（质粒或 cDNA）1 μL，ddH_2O 8.2 μL。反应条件为：95 ℃预变性 30 s；95 ℃变性 30 s，60 ℃退火 30 s，40个循环。将阳性重组质粒 pMD19-T-ELAVL1 连续 10 倍稀释，以 1.1×10^3～1.1×10^8 拷贝/μL 质粒为模板进行 SYBR Green Ⅰ RT-qPCR扩增，并以模板起始浓度的常用对数值为 X 轴，Ct值为 Y 轴，建立标准曲线如图 2 所示。由图 2 可知，pMD19-T-ELAVL1质粒在 1.1×10^3～1.1×10^8 拷贝/μL时，X 与 Y 具有良好的线性关系，标准曲线方程为 $Y=-3.109X+37.966$，决定系数 $R^2=0.993$，扩增效率为 109.7%，熔解曲线呈现单峰，无非特异性扩增。



A. 扩增曲线，3～8分别为 1.1×10^3～1.1×10^8 拷贝/μL重组pMD19-T-ELAVL1扩增结果；B. 熔解曲线；C. 标准曲线。

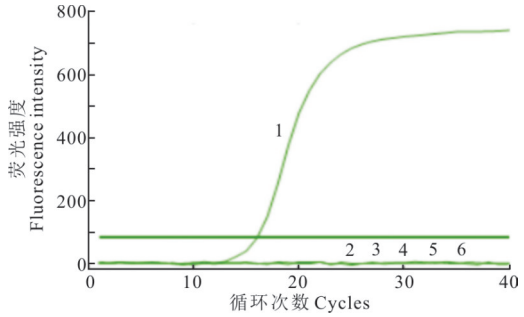
A. Amplification curve, and amplification results of recombinant pMD19-T-ELAVL1 at cycle numbers 3－8 ranged from 1.1×10^3 to 1.1×10^8 copy/μL; B. Melting curve; C. Standard curve.

图 2　鸡*ELAVL1*基因的SYBR Green Ⅰ RT-qPCR检测标准曲线的建立

Fig. 2　Establishment of a standard curve for SYBR Green I RT-qPCR detection of chicken *ELAVL1* gene

2.4　检测方法特异性

特异性试验结果显示，除了标准品质粒 pMD19-T-ELAVL1 有扩增曲线，其他重组质粒 pMD19-T-IDH1、pMD19-T-RORA、pMD19-T-FGL2、pMD19-T-TGF-β1 和 ddH_2O 均无扩增曲线（图 3）。该结果表明，建立的检测方法具有良好的特异性。



1～6分别为模版pMD19-T-ELAVL1、pMD-19-T-IDH1、pMD19-T-RORA、pMD19-T-FGL2、pMD19-T-TGF-β1和ddH_2O扩增结果。
1－6 are amplification results of templates pMD19-T-ELAVL1, pMD-19-T-IDH1, pMD19-T-RORA, pMD19-T-FGL2, pMD19-T-TGF-β1 and ddH_2O, respedively.

图3 鸡*ELAVL1*基因SYBR Green Ⅰ RT-qPCR检测方法的特异性

Fig. 3 Specificity for SYBR Green Ⅰ RT-qPCR for detecting chicken *ELAVL1* gene

2.5 检测方法敏感性

敏感性试验结果显示，SYBR Green Ⅰ RT-qPCR方法的最低检测限度为1.1×10^1拷贝/μL，灵敏度是普通PCR（1.1×10^3拷贝/μL）的100倍（图4）。

2.6 检测方法重复性

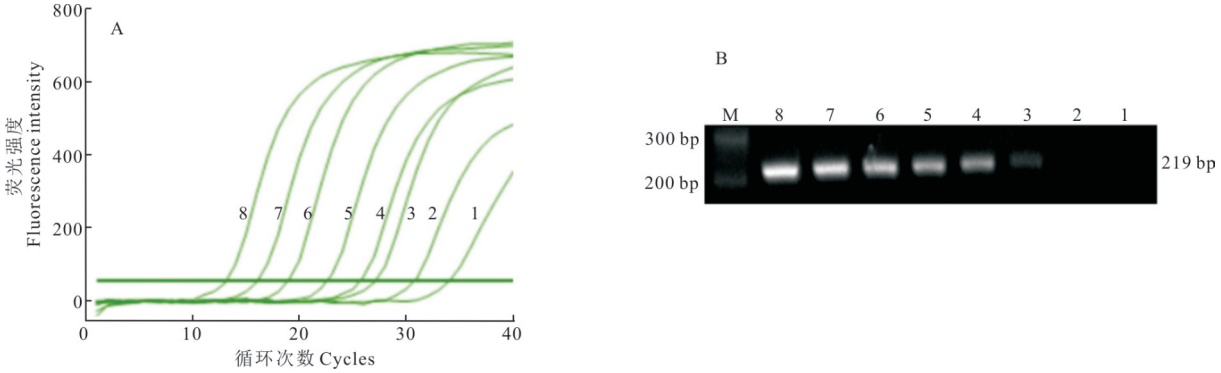
表1结果显示，批内和批间变异系数分别在0.44%～1.92%和0.32%～0.57%，分别小于2%和1%，表明该方法具有良好的稳定性和可重复性。

2.7 *ELAVL1*基因在鸡机体组织中的分布检测

图5结果显示，*ELAVL1*在鸡的心脏、肝脏、脾脏、肺脏、肾脏、胸腺和法氏囊中均有表达，其中在脾脏中的表达水平最高，在肺脏中表达水平最低。

2.8 *ELAVL1*在不同鸡细胞系中的表达检测

应用建立好的SYBR Green Ⅰ RT-qPCR方法检测鸡*ELAVL1*在MSB1细胞、DT40细胞和LMH细胞中表达的差异。结果（图6）显示，与DF-1细胞相比，*ELAVL1*在MSB1、DT40和LMH细胞中的表达水平显著或极显著升高。



A. pMD19-T-ELAVL1标准质粒SYBR Green Ⅰ RT-qPCR扩增；B. pMD19-T-ELAVL1标准质粒PCR扩增。1～8分别为1.1×10^1～1.1×10^8拷贝/μL质粒模板扩增结果；M. DNA marker。

A. SYBR Green I RT-qPCR amplification of the pMD19-T-ELAVL1 standard plasmid; B. PCR amplification of the pMD19-T-ELAVL1 standard plasmid. 1－8 are amplification results for plasmid templates at concentrations of 1.1×10^1－1.1×10^8 copies/μL, respectively; M. DNA marker.

图4 鸡*ELAVL1*基因SYBR Green Ⅰ RT-qPCR检测方法的敏感性

Fig. 4 Sensitivity of SYBR Green Ⅰ RT-qPCR for detecting chicken *ELAVL1* gene

表1 鸡*ELAVL1* SYBR Green Ⅰ RT-qPCR检测方法的重复性

Table 1 Repeatability of SYBR Green Ⅰ real-time PCR for detecting chicken *ELAVL1*

重复性试验 Repeatability test	标准质粒含量/（拷贝·μL^{-1}） Content of standard	Ct值 Ct value	变异系数/% Coefficient of variation	重复性试验 Repeatability test	标准质粒含量/（拷贝·μL^{-1}） Content ofstandard	Ct值 Ct value	变异系数/% Coefficient of variation
批内重复性 Intra-assay repetition	1.1×10^7	16.00±0.11	0.70	批间重复性 Inter-assay repetition	1.1×10^7	16.05±0.07	0.44
	1.1×10^6	19.12±0.09	0.44		1.1×10^6	19.12±0.06	0.34
	1.1×10^5	22.80±0.21	0.91		1.1×10^5	22.79±0.07	0.32
	1.1×10^4	26.71±0.25	0.95		1.1×10^4	26.09±0.15	0.57
	1.1×10^3	27.71±0.05	1.92		1.1×10^3	27.49±0.33	0.33

3 讨 论

人们对*ELAVL1*基因的研究多集中于肿瘤方面，其在几乎所有类型的癌症中均异常高表达，可以影响肿瘤细胞的增殖、侵袭与迁移，是各种癌症潜在的治疗靶标，在肿瘤早期筛查或预后评估中具有良好的指导意义[12-15]。目前，有关*ELAVL1*基因检测和功能的研究多局限于哺乳动物模型和人类临床疾病方面，尚鲜见其在鸡体内分布及在鸡肿瘤

性疾病发生中作用的报道。

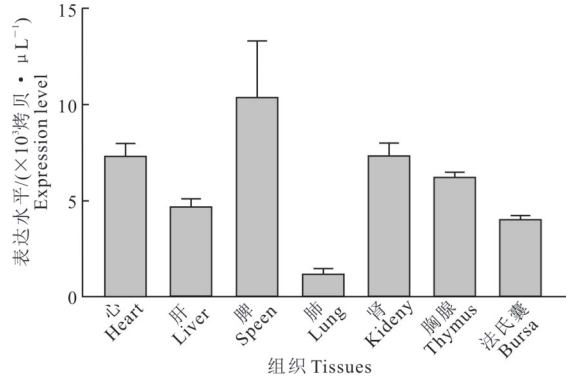
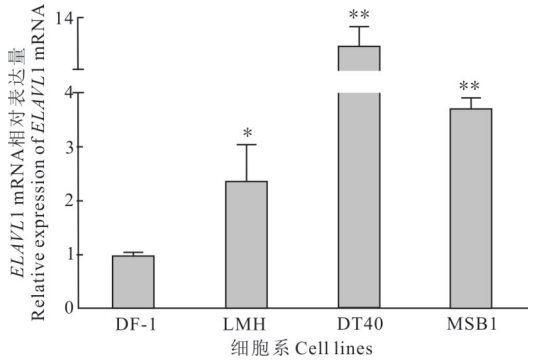


图5　鸡不同组织中*ELAVL1*基因拷贝数的SYBR Green Ⅰ RT-qPCR检测

Fig. 5　Copy numbers of *ELAVL1* gene via SYBR Green Ⅰ real-time PCR in chicken tissues



*代表差异显著（$P<0.05$）；**代表差异极显著（$P<0.01$）。

*indicates significant difference ($P<0.05$); ** indicates extremely significant difference ($P<0.01$).

图6　不同细胞系中鸡*ELAVL1*基因mRNA水平的SYBR Green Ⅰ RT-qPCR检测

Fig. 6　*ELAVL1* gene mRNA levels in different cell lines measured by SYBR Green Ⅰ RT-qPCR

SYBR Green Ⅰ是一种绿色荧光染料，能与所有dsDNA双螺旋小沟区域结合。游离状态下，SYBR Green Ⅰ只发出微弱的荧光，但与双链DNA结合后，荧光强度增大，且具有良好的通用性[23]，不需要特异性探针，其荧光强度与DNA数量的对数值具有良好的线性关系。因此，该方法是检测样本中目的基因初始浓度的理想方法。由于这种染料与dsDNA结合缺乏特异性，所以当PCR反应中有非特异性扩增或者引物二聚体时，SYBR Green Ⅰ也会与之结合而产生假阳性。为了避免这种情况，首先要设计特异性强的引物并优化PCR反应条件，其次在PCR反应结束时需进一步分析熔解曲线，从而排除引物二聚体、单链二级结构以及错误扩增产物的影响。本研究通过设计引物，优化反应条件中的引物浓度和退火温度，建立鸡*ELAVL1* SYBR Green Ⅰ RT-qPCR检测方法，该方法的熔解曲线为单峰曲线，无非特异性扩增，具有良好的特异性，对鸡*ELAVL1*基因的检测下限为1×10^1拷贝/μL，敏感性是常规PCR方法的100倍；批内、批间试验的变异系数均小于2%，具有良好的重复性。为验证所建立方法的实用性，本试验使用优化的引物浓度和退火温度，采用绝对荧光定量PCR方法检测鸡*ELAVL1*基因在不同组织中的表达量，以探究*ELAVL1*在鸡机体的分布情况。结果表明，*ELAVL1*基因在所测的组织中均有表达，这与*ELAVL1*基因在鸡多种组织细胞中广泛表达的结果[24]一致。

*ELAVL1*在许多类型细胞中广泛表达，在多种肿瘤细胞和组织中过表达[3]。白血病患者外周血单个核细胞中*ELAVL1*的表达水平显著高于正常人[25]。与正常结直肠上皮细胞株相比，ELAVL1蛋白在结直肠癌细胞株中显著过表达[26]。与正常人食管鳞状上皮细胞相比，癌旁组织和细胞系中*ELAVL1*的mRNA和蛋白表达均显著升高[27]。同样，在胃癌组织和细胞系中也呈现相同的趋势[28-29]。为了探究*ELAVL1*在鸡正常细胞和肿瘤细胞中的表达是否有差异，本研究采用所建立的方法，检测了鸡成纤维细胞DF-1、T淋巴瘤细胞系MSB1、B淋巴瘤细胞系DT40和肝癌细胞系LMH中*ELAVL1*的表达水平，结果发现*ELAVL1*在所检测的细胞中均有表达，但在肿瘤细胞系MSB1、DT40和LMH中的相对表达量显著高于正常DF-1细胞，这与上述文献报道一致，推测*ELAVL1*在鸡肿瘤的发生中可能具有重要的调控作用，但具体的调控作用和调控机制尚有待进一步研究。

综上，本研究建立了鸡*ELAVL1* SYBR Green Ⅰ RT-qPCR检测方法，该方法具有良好的特异性、敏感性和重复性，可用于检测*ELAVL1*在鸡机体组织的分布及其在不同细胞系中的表达水平，为研究*ELAVL1*在家禽肿瘤性疾病发生中的作用及机理提供了技术支持。

[参考文献]

[1] SIDALI A, TEOTIA V, SOLAIMAN N S, et al. AU-rich element RNA binding proteins: at the crossroads of post-transcriptional regulation and genome integrity[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2022, 23(1): 96.

[2] BRENNAN C M, STEITZ J A. HuR and mRNA stability[J]. Cellular and Molecular Life Sciences CMLS, 2001, 58(2): 266-277.

[3] WANG J, GUO Y, CHU H L, et al. Multiple functions of the

RNA-binding protein HuR in cancer progression, treatment responses and prognosis[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2013, 14(5): 10015-10041.

[4] WU X Q, XU L. The RNA-binding protein HuR in human cancer: a friend or foe[J]. Advanced Drug Delivery Reviews, 2022, 184: 114179.

[5] FINAN J M, SUTTON T L, DIXON D A, et al. Targeting the RNA-binding protein HuR in cancer[J]. Cancer Research, 2023, 83(21): 3507-3516.

[6] SRIKANTAN S, GOROSPE M. HuR function in disease[J]. Front Biosci (Landmark Ed), 2012, 17(1): 189-205.

[7] HAN J, BACK S H, HUR J, et al. ER-stress-induced transcriptional regulation increases protein synthesis leading to cell death [J]. Nature Cell Biology, 2013, 15(5): 481-490.

[8] JOHNSON S, YU Z H, LI X, et al. A novel NR4A2-HuR axis promotes pancreatic cancer growth and tumorigenesis that is inhibited by NR4A2 antagonists[J]. American Journal of Cancer Research, 2024, 14(9): 4337-4352.

[9] SINGH V, SINGH A, LIU A J, et al. RNA binding proteins as potential therapeutic targets in colorectal cancer[J]. Cancers, 2024, 16(20): 3502.

[10] WEI L J, KIM S H, ARMALY A M, et al. RNA-binding protein HuR inhibition induces multiple programmed cell death in breast and prostate cancer[J]. Cell Communication and Signaling, 2024, 22(1): 580.

[11] YADAV V, SINGH T, SHARMA D, et al. Unraveling the regulatory role of HuR/microRNA axis in colorectal cancer tumorigenesis[J]. Cancers, 2024, 16(18): 3183.

[12] 陈禹鑫, 殷文婕, 蒋壮, 等. RNA结合蛋白ELAVL1与肿瘤进展的关系研究[J]. 中国现代医学杂志, 2021, 31(13): 65-70.
CHEN Y X, YIN W J, JIANG Z, et al. Research on the relationship between the RNA binding protein ELAVL1 and tumor progression[J]. China Journal of Modern Medicine, 2021, 31(13): 65-70.

[13] ASSONI G, LA PIETRA V, DIGILIO R, et al. HuR-targeted agents: an insight into medicinal chemistry, biophysical, computational studies and pharmacological effects on cancer models [J]. Advanced Drug Delivery Reviews, 2022, 181: 114088.

[14] EBERHARDT W, BADAWI A, BIYANEE A, et al. Cytoskeleton-dependent transport as a potential target for interfering with post-transcriptional HuR mRNA regulons[J]. Frontiers in Pharmacology, 2016, 7: 251.

[15] RAGURAMAN R, SHANMUGARAMA S, MEHTA M, et al. Drug delivery approaches for HuR-targeted therapy for lung cancer[J]. Advanced Drug Delivery Reviews, 2022, 180: 114068.

[16] WANG Z Z, LI F, ZHANG H H, et al. RAB5C, a new mRNA binding target of HuR, regulates breast cancer cell proliferation [J]. Cell Biology International, 2023, 47(2): 374-382.

[17] JEHUNG J P, KITAMURA T, YANAGAWA-MATSUDA A, et al. Adenovirus infection induces HuR relocalization to facilitate virus replication[J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2018, 495(2): 1795-1800.

[18] HUNG C M, HUANG W C, PAN H L, et al. Hepatitis B virus X upregulates HuR protein level to stabilize HER2 expression in hepatocellular carcinoma cells[J]. BioMed Research International, 2014, 2014(1): 827415.

[19] SEO Y, KANG Y, HAM Y, et al. PLK1-ELAVL1/HuR-miR-122 signaling facilitates hepatitis C virus proliferation[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2022, 119(51): e2214911119.

[20] BONENFANT G, WILLIAMS N, NETZBAND R, et al. Zika virus subverts stress granules to promote and restrict viral gene expression[J]. Journal of Virology, 2019, 93(12): e00520-19.

[21] ZHANG C, XIANG X Y, LIU J, et al. Constitutively active glucagon receptor drives high blood glucose in birds[J]. Nature, 2025, 641(8065): 1287-1297.

[22] BONG D, SOHN J, LEE S V. Brief guide to RT-qPCR[J]. Molecules and Cells, 2024, 47(12): 100141.

[23] CHITRADEVI S, SUKUMAR K, et al. Quantitative profiling of fowl adenoviral load in experimentally infected chicken using SYBR Green real time PCR[J]. Veterinarski Arhiv, 2025, 95(1): 39-50.

[24] 曹楠婧, 王九菊. RNA结合蛋白HuR的研究进展[J]. 生命的化学, 2021, 41(6): 1222-1229.
CAO N J, WANG J J. Research progress of RNA binding protein HuR[J]. Chemistry of Life, 2021, 41(6): 1222-1229.

[25] 赵旭宏, 杨桂花, 李丹丹. RNA结合蛋白质HuR通过增加YAP1 mRNA稳定性促进白血病细胞增殖[J]. 中国生物化学与分子生物学报, 2020, 36(3): 337-343.
ZHAO X H, YANG G H, LI D D. RNA-binding protein HuR promotes proliferation of acute myeloid leukemia cells by increasing stability of YAP1 mRNA[J]. Chinese Journal of Biochemistry and Molecular Biology, 2020, 36(3): 337-343.

[26] BLANCO F F, PREET R, AGUADO A, et al. Impact of HuR inhibition by the small molecule MS-444 on colorectal cancer cell tumorigenesis[J]. Oncotarget, 2016, 7(45): 74043-74058.

[27] XU X H, SONG C, CHEN Z H, et al. Downregulation of HuR inhibits the progression of esophageal cancer through interleukin-18[J]. Cancer Research and Treatment, 2018, 50(1): 71-87.

[28] 王伟, 何天乐, 李扬, 等. RNA结合蛋白HuR调控lncRNA DLEU2促进食管鳞癌细胞增殖、侵袭的机制[J]. 中国老年学杂志, 2024, 44(4): 883-888.
WANG W, HE T Y, LI Y, et al. Mechanism of RNA binding protein HuR regulating lncRNA DLEU2 to promote the proliferation and invasion of esophageal squamous cell carcinoma [J]. Chinese Journal of Gerontology, 2024, 44(4): 883-888.

[29] LI Q, TONG D D, GUO C, et al. MicroRNA-145 suppresses gastric cancer progression by targeting Hu-antigen R [J]. American Journal of Physiology Cell Physiology, 2020, 318 (3): 605-614.

(责任编辑: 马秋明)