

[文章编号] 1007-385X(2006)03-0209-05

## 肿瘤细胞表面柯萨奇病毒-腺病毒受体与5型腺病毒感染效率的关系

任鹏康<sup>1</sup>, 韦芳<sup>2</sup>, 李惠明<sup>2</sup>, 王丰<sup>2</sup>, 张巨峰<sup>2</sup>, 陈霞芳<sup>2</sup>, 李宗海<sup>3</sup>, 黄倩<sup>2</sup> (1. 上海市第一人民医院中心实验室, 上海 200080; 2. 上海交通大学附属第一人民医院中心实验室, 上海 200080; 3. 上海交通大学肿瘤研究所癌基因及相关基因研究国家重点实验室, 上海, 200032)

**[摘要]** **目的:** 探讨不同肿瘤细胞系柯萨奇病毒-腺病毒受体(CAR)和整合素的表达水平与5型腺病毒感染效率的关系, 为腺病毒基因治疗研究奠定基础。**方法:** 利用瞬时转染CAR的真核表达质粒提高肿瘤细胞表面CAR的表达, 应用抗体封闭细胞表面的CAR和整合素后, 通过流式细胞仪和荧光素酶分析法测定腺病毒Ad5-CMV-EGFP和Ad5-CMV-Luc对肿瘤细胞的感染效率和基因表达水平的变化。**结果:** 不同肿瘤细胞表面CAR和整合素的表达水平是不同的, 其中SMMC-7721和A549细胞CAR的表达量最高, 而K562细胞CAR的表达水平最低; 荧光显微镜和流式细胞仪检测Ad5-CMV-EGFP对肿瘤细胞的感染效率, 结果显示5型腺病毒对于SMMC-7721和A549细胞的感染效率最高, 而对于K562细胞则很低; 瞬时转染表达CAR的真核质粒可提高多种肿瘤细胞表面CAR的表达, 较大幅度提高了5型腺病毒的感染效率。而抗体封闭肿瘤细胞表面的CAR或整合素后, 腺病毒感染效率显著下降。**结论:** 肿瘤细胞表面CAR和整合素的表达水平决定了腺病毒对肿瘤细胞的感染效率。

**[关键词]** 腺病毒; 柯萨奇病毒-腺病毒受体; 整合素; 感染; 基因治疗

**[中图分类号]** R392.7 **[文献标识码]** A

## Relationship between adenovirus type 5 infection efficiency and Coxsackie virus-adenovirus receptor on tumor cells

REN Peng-kang<sup>1</sup>, WEI Fang<sup>2</sup>, LI Hui-ming<sup>2</sup>, WANG Feng<sup>2</sup>, ZHANG Ju-feng<sup>2</sup>, CHEN Xia-fang<sup>2</sup>, LI Zong-hai<sup>3</sup>, HUANG Qian<sup>2</sup> (1. Experimental Center, The First People's Hospital, Shanghai 200080, China; 2. Experimental Center, The first People's Hospital, Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200080, China; 3. State Laboratory for Oncogene and Related Gene Research, Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200080, China)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the relationship between adenovirus type 5 infection efficiency and expression of Coxsackie virus adenovirus receptor (CAR) and integrin in different tumor cell lines, providing a basis for further study of adenovirus gene therapy. **Methods:** The expression levels of CAR in different cell lines were examined by flow cytometry. The cells were infected with Ad5-CMV-GFP and Ad5-CMV-luc carrying report genes, tested the infection efficiency and determined their expression levels by flow cytometry and Luciferase Assay. The variation of adenovirus infection efficiency was evaluated and compared when the CAR expression was enhanced on cell surface with plasmid expressing CAR or blocked by antibodies of CAR and integrin. **Results:** The highest CAR expression was found in SMMC-7721 and A549 cell lines, the lowest in K562 cells. The results of fluorescence microscope and flow cytometry suggested that Ad5 had the highest efficiency in infecting SMMC-7721 and A549 cell lines, and the lowest in infecting K562 cells. **Conclusion:** The infection efficiency of adenovirus is determined by the levels of CAR and integrin on cancer cells.

**[Key words]** adenovirus; Coxsackie adenovirus receptor; integrin; infection; gene therapy

[Chin J Cancer Biother, 2006, 13(3): 209-213]

腺病毒载体是目前基因治疗中最常用的载体, 腺病毒感染细胞的过程首先是与细胞表面的第一受体(多数为柯萨奇病毒-腺病毒受体, coxsackie virus adenovirus receptor, CAR)结合吸附到细胞表面<sup>[1]</sup>, 然后其

**[基金项目]** 国家重大基础研究发展规划(“973”计划)项目  
(NO. 2004CB518800)

**[作者简介]** 任鹏康(1975-), 男, 博士生, 主要从事肿瘤基因研究

**[通讯作者]** 黄倩, E-mail: huangq@online.sh.cn

五邻体基底表面的 RGD(精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸)再与细胞表面的整合素(integrin)结合,从而通过内吞作用将腺病毒内化到细胞中。

本研究检测了不同肿瘤细胞表面 CAR 和整合素的表达水平,并分别通过瞬时转染表达 CAR 的真核质粒上调细胞表面 CAR 的表达,和抗体封闭 CAR 和整合素处理后再感染,检测腺病毒对不同肿瘤细胞的感染效率变化,探讨肿瘤细胞表面 CAR 和整合素在 5 型腺病毒感染时所起的作用。

## 1 材料与方法

### 1.1 细胞和主要试剂

人肝癌细胞系 SMMC-7721、人慢性髓性粒细胞白血病细胞系 K-562、人肺癌细胞系 A549 等细胞购自中国科学院上海细胞生物学研究所细胞库,人卵巢癌细胞系 SKOV-3 由上海交通大学肿瘤研究所惠赠。A549 细胞采用含 10% 胎牛血清的 DMEM-F12 培养基培养。人胚胎肾细胞株 HEK-293、SMMC-7721 和 SKOV-3 细胞均采用含 10% 新生小牛血清的 DMEM 培养基培养。K-562 用含 10% 新生小牛血清的 RPMI 1640 培养基培养。表达 EGFP 及荧光素酶的腺病毒 Ad5-CMV-EGFP、Ad5-CMV-Luc 由本实验室构建并保存。

限制性内切酶、T4 连接酶为 TAKARA 公司产品,Trizol 试剂盒、Opti-MEM、DMEM 和 RPMI 1640 培养基、Lipofectamine 2000 转染试剂盒购自 Invitrogen 公司, CAR 的单抗(Anti-CAR, RmcB)来自 Upstate 公司,整合素的抗体(MAB1976Z)来自 Chemicon 公司。FITC 标记的兔抗小鼠二抗(F.0313)购于 DAKO 公司。荧光素酶分析系统购自 Promega 公司。逆转录试剂盒购自 Fermentas MBI 公司。

### 1.2 CAR 基因的克隆和鉴定

用 Trizol 抽取 HEK-293 细胞总 RNA,经 Fermentas 逆转录试剂盒制备 cDNA。以此 cDNA 为模板用引物 fCAR-F: 5'-GGAATTCCCGCCTACCTGCAGCCG-3'(下划线为 EcoR I 切点)和 fCAR-R: 5'-GCTCTAGAGAGACATATGGAGGCTCTATAC-3'(下划线为 Xba I 切点)PCR 扩增 CAR 的全长 cDNA,经 EcoR I 和 Xba I 酶切后插入 pcDNA3.1(+ )中,得到质粒 pcDNA3.1-fCAR。通过限制性内切酶酶切和测序进行鉴定。

### 1.3 间接免疫荧光检测细胞表面 CAR 和整合素的表达

贴壁细胞用 0.2% EDTA 消化约 5~10 min,得到单细胞,重悬于 PBS 封闭液(20 mmol/L HEPES,1% BSA, pH 7.4)4℃ 1 h。悬浮细胞直接离心收集细胞后重悬于 PBS 封闭液。计数后取约  $2 \times 10^5$  细胞与抗 CAR(1:150)及抗整合素(1:200)抗体 4℃ 孵育 1 h。

用 PBS 洗 3 次(800 × g, 3 min),与二抗(1:20)在 4℃ 避光处孵育 45 min,经 PBS 洗 2 次,流式细胞仪(Beckman coulter EPICS XL)检测 5 000 个细胞表面 CAR 和整合素表达的平均荧光强度和阳性细胞的百分率,用软件 WinMDI 2.8 分析处理结果。

### 1.4 FCM 分析腺病毒对不同肿瘤细胞的感染效率

分别将 SKOV-3、A549、SMMC-7721 和 K562 细胞按每孔  $4 \times 10^4$  接种在 24 孔培养板中,每种细胞重复 3 孔。置 37℃ 5% CO<sub>2</sub> 培养箱中培养过夜。用 Ad5-CMV-EGFP(MOI = 10)感染细胞,2 h 后更换新鲜培养基,继续培养 48 h(在不同时间荧光显微镜观察并拍照记录)。弃培养液,PBS 洗细胞 2 次,胰蛋白酶消化,800 × g 离心 5 min 收集细胞。PBS 重悬细胞,流式细胞仪检测平均荧光强度和 EGFP 阳性细胞的百分率。

### 1.5 转染 fCAR 及采用抗体封闭后检测荧光素酶活性

SKOV-3 细胞按每孔  $4 \times 10^4$  细胞接种在 24 孔培养板中,置 37℃ 5% CO<sub>2</sub> 培养箱中培养过夜。采用脂质体 Lipofectamine 2000 分别转染质粒 pcDNA3.1-fCAR 和 pEGFP-N1,置 5% CO<sub>2</sub> 的孵箱中 37℃ 培养 24 h。用腺病毒 Ad-CMV-Luc(MOI = 10)感染细胞,室温孵育 2 h,然后换为新鲜培养基,继续培养 48 h。对于贴壁细胞,小心吸去培养基,用 PBS 轻轻漂洗 2 次,并尽量吸去残留 PBS,然后每孔加入 100 μl 平衡至室温的裂解液 CCLR,抖动培养板以保证所有的细胞被裂解液覆盖,再将贴壁细胞刮下,连同所有液体转移至 eppendorf 管中,置于冰上。对于悬浮细胞,离心收集,PBS 洗 2 次后加入裂解液 CCLR。将 eppendorf 管振荡 10~15 s 后于 4℃ 12 000 × g 离心 2 min,然后将上清转移至新的 eppendorf 管中,保存于 -80℃。荧光素酶活性的检测参照 Promega 公司荧光素酶分析系统的操作指南进行。

抗体阻断实验:SKOV-3 细胞以每孔  $4 \times 10^4$  细胞的量接种在 24 孔培养板中,置 37℃ 5% CO<sub>2</sub> 培养箱中培养过夜。Ad5-CMV-Luc 先在室温与不同浓度的抗 CAR 及抗整合素抗体孵育 30 min 后,分别加入到培养在 24 孔板中的 SKOV-3 细胞上,90 min 后更换新鲜培养基,继续培养 48 h 后按上述方法收集细胞裂解液,检测荧光素酶活性。

### 1.6 统计学处理

所得数据为 3 次实验结果平均值,数据分析采用软件 SPSS13.0 处理得到。

## 2 结果

### 2.1 重组质粒 pcDNA3.1-fCAR 的构建

HEK-293 细胞的 RNA 经 RT-PCR 扩增后得到了

CAR 的全长 cDNA, 经限制性内切酶酶切后插入质粒 pcDNA3.1, 得到了表达全长 CAR 的真核表达质粒 pcDNA3.1-fCAR。经 *EcoR* I 和 *Xba* I 双酶切鉴定, 插入片段长约 1.2 kb (图 1)。酶切及 DNA 测序结果表明该插入片段为全长 CAR 的 cDNA。

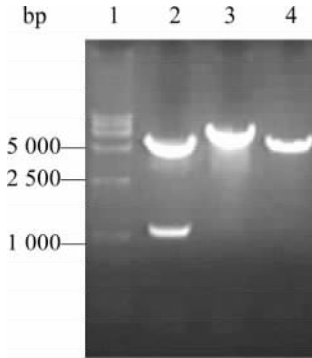


图 1 重组质粒 pcDNA3.1-fCAR 酶切鉴定图谱  
Fig. 1 Enzyme digested electrophoresis map of recombinant plasmid pcDNA3.1-fCAR

1: DNA marker DL15000; 2: Digested with *EcoR* I and *Xba* I; 3: Digested with *EcoR* I; 4: Plasmid pDC315 digested with *EcoR* I

## 2.2 肿瘤细胞表面 CAR 和整合素的 FCM 分析结果

间接免疫荧光标记肿瘤细胞 SMMC-7721、A549、SKOV-3 和 K562 后, 流式细胞仪检测细胞表面 CAR 和整合素的表达。结果(图 2)显示, SMMC-7721 的 CAR 和整合素表达水平最高, A549 细胞的表达水平次之, K562 细胞 CAR 和整合素的表达水平都很低。

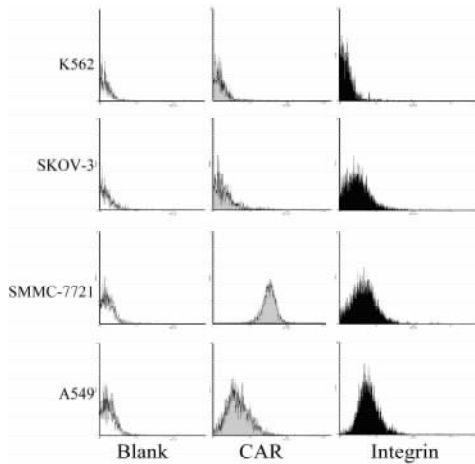


图 2 细胞表面 CAR 和整合素的表达

Fig. 2 Expression of CAR and integrin on tumor cells by flow cytometry

## 2.3 Ad5-CMV-EGFP 对不同肿瘤细胞的感染效率

表 1 可见, 相同剂量的 Ad5-CMV-EGFP 感染不同的肿瘤细胞后, EGFP 阳性细胞数明显不同, A549 和 SMMC-7721 的感染效率最高, 表现为平均荧光强度 (MnX) 很高。SKOV-3 细胞的感染效率次之, K562 的感染率最低。

表 1 Ad5-CMV-EGFP 对肿瘤细胞的感染效率

Tab.1 Infection efficiency of Ad5-CMV-EGFP by flow cytometry

| Cell lines | EGFP cells (%) | MnX   |
|------------|----------------|-------|
| SMMC-7721  | 97.2           | 186.1 |
| A549       | 96.6           | 141.7 |
| SKOV-3     | 88.6           | 133.4 |
| K562       | 8.3            | 2.1   |

## 2.4 瞬时转染 CAR 提高 Ad5 对肿瘤细胞的感染效率

转染 pcDNA3.1-fCAR 及 pEGFP-N1 后, 采用 Ad5-CMV-Luc 感染肿瘤细胞, 荧光素酶分析法检测肿瘤细胞荧光素酶活性。以同一种肿瘤细胞转染对照质粒 pEGFP-N1 的荧光素酶活性作为基础, 比较转染 pcDNA3.1-fCAR 后肿瘤细胞内荧光素酶活性增加倍数, 结果表明各种肿瘤细胞荧光素酶活性都有不同程度增加, 其中 A549 细胞提高了约 10 倍, SKOV-3 提高了 4.4 倍, K562 提高了 3.4 倍, 但 SMMC-7721 增加不明显(图 3)。

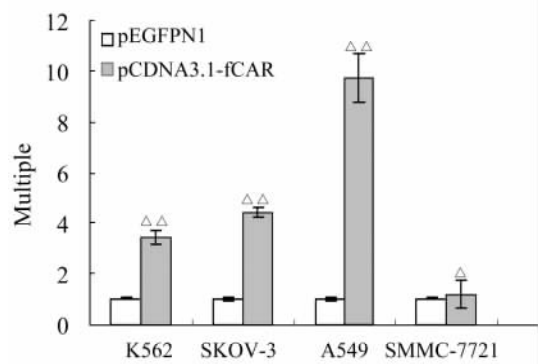


图 3 转染 pcDNA3.1-fCAR 提高 Ad5 对肿瘤细胞感染倍数

Fig. 3 Increased Ad5 infection efficiency by pcDNA3.1-fCAR transfection

Δ  $P < 0.05$ , ΔΔ  $P < 0.001$  vs pEGFP-N1;  $n = 3$

## 2.5 抗体封闭降低 Ad5 对肿瘤细胞的感染效率

Ad5-CMV-Luc 与不同浓度梯度的 CAR 抗体及整合素抗体孵育后再感染 SMMC-7721 和 SKOV-3 细胞, 培养 48 h 后检测荧光素酶活性。如图 4 和图 5 所示,

抗体封闭均能够有效降低 Ad5-CMV-luc 的感染效率。

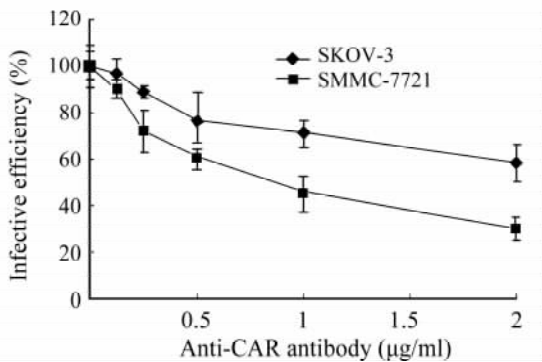


图 4 CAR 抗体封闭后降低腺病毒对肿瘤细胞的感染

Fig. 4 Decreased adenovirus infection on tumor cells after blocking with anit-CAR antibody

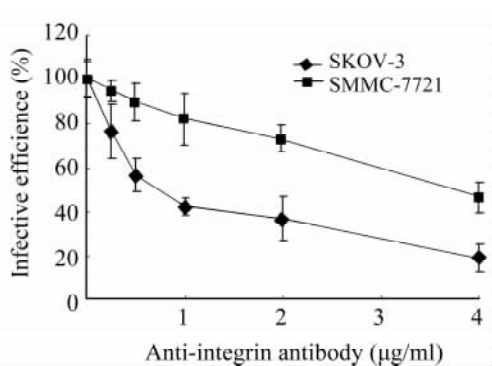


图 5 整合素抗体封闭后降低腺病毒对肿瘤细胞的感染

Fig. 5 Decreased adenovirus infection on tumor cells after blocking with anit-integrin antibody

### 3 讨论

腺病毒是肿瘤基因治疗最常用的载体,其对肿瘤的治疗效果取决于与靶细胞的结合能力和进入细胞的数量。腺病毒感染细胞的过程首先是腺病毒衣壳上的纤维蛋白(fiber)的头节区与细胞表面的特异性受体结合使腺病毒吸附到细胞表面,然后病毒纤维蛋白五邻体基底部的 RGD 与细胞表面的整合素  $\alpha_v\beta_3$  和  $\alpha_v\beta_5$  结合,通过内吞作用将腺病毒内化到细胞中。吸附和内吞两个过程分离但又相互作用,这样的两步侵入机制使得腺病毒在选择第一受体时非常灵活。最近又发现了更多的腺病毒受体,如硫酸乙酰肝素氨基葡聚糖<sup>[2]</sup>、主要组织相容性复合物 I (MHC-I)<sup>[3]</sup>、唾液酸<sup>[4]</sup>及二棕榈酰磷脂酰胆碱(DPPC)等<sup>[5]</sup>。

CAR 是相对分子质量为 46 000 的跨膜糖蛋白<sup>[6]</sup>,是免疫球蛋白超家族成员,CAR 蛋白贯通细胞膜,N 端的 236 个氨基酸组成胞外区,能够介导腺病毒和柯萨奇病毒与细胞的结合;中间 22 个氨基酸组成跨膜区;C

端的 107 个氨基酸组成胞内区,其生物功能尚未研究清楚<sup>[7]</sup>。

研究表明 CAR 在各种组织和细胞表面都有一定的表达,但在不同细胞表达存在差异,即使在同一组织类型的肿瘤细胞之间 CAR 的表达水平也存在差异<sup>[8]</sup>,这种差异直接影响了基因治疗的效果,而且肿瘤的恶性分化的程度越高,则 CAR 的表达越低<sup>[9-10]</sup>。有研究<sup>[11]</sup>报道通过抑制在肿瘤细胞经常上调的 Raf-MEK-ERK 通路,能够有效提高肿瘤细胞 CAR 的表达,提高腺病毒对细胞的感染效率。在化疗药物顺铂和组蛋白脱乙酰酶抑制剂 FR901228 作用下肿瘤细胞 CAR 的表达水平也会提高,腺病毒感染效率也显著提高<sup>[12-13]</sup>。

为了探讨腺病毒对肿瘤细胞的感染效率与肿瘤细胞表面 CAR 和整合素表达的关系。本研究利用流式细胞和其它技术(Western blot,荧光定量 RT-PCR,免疫组织化学和细胞染色等,数据未显示)检测了多种肿瘤细胞的 CAR 和整合素的表达水平,并通过荧光显微镜观察和流式细胞检测 Ad5-CMV-EGFP 感染细胞后,EGFP 表达阳性细胞数来确定病毒对于肿瘤细胞的感染效率,结果表明 Ad5-CMV-EGFP 对于 A549 和 SMMC-7721 等 CAR 表达水平高的细胞感染效率最高,而对于 CAR 和整合素表达水平都很低的 K562 细胞,感染效率则很低。

为了进一步证明 CAR 和整合素表达对 Ad5 感染效率的作用,本研究采用脂质体瞬时转染表达 CAR 的真核表达质粒,然后再检测 Ad5-CMV-luc 对细胞的感染效率变化。结果表明 CAR 的表达增加可明显提高腺病毒 Ad5-CMV-luc 对于各细胞感染效率。至于在 SMMC-7721 细胞转染全长 CAR 的 cDNA 后,Ad5 转染效率提高不明显,我们认为可能与 SMMC-7721 细胞内源性的 CAR 表达水平很高有关,因为内源性的 CAR 很高时,外源性的 CAR 表达对增加 Ad5 感染效率的影响不显著,而通过抗体阻断能够有效的降低腺病毒的感染,说明 CAR 表达水平在介导腺病毒感染方面起着重要的作用。

### [参考文献]

- [1] Bergelson JM, Cunningham JA, Droguett G, et al. Isolation of a common receptor for Coxsackie viruses and adenoviruses 2 and 5 [J]. Science, 1997, 275(5304): 1320-1323.
- [2] Dechecchi MC, Melotti P, Bonizzato A, et al. Heparan sulfate glycosaminoglycans are receptors sufficient to mediate the initial binding of adenovirus types 2 and 5 [J]. J Virol, 2001, 75(18): 8772-8780.
- [3] Pandha HS, Stockwin LH, Eaton J, et al. Coxsackie and adenovirus receptor, integrin and major histocompatibility complex class I expression in human prostate cancer cell lines: implications for

- gene therapy strategies[ J ]. Prostate Cancer Prostatic Dis. 2003, 6 ( 1 ): 6-11.
- [ 4 ] Burmeister WP, Guilligay D, Cusack S, *et al.* Crystal structure of species D adenovirus fiber knobs and their sialic acid binding sites [ J ]. J Virol, 2004, 78( 14 ): 7727-7736.
- [ 5 ] Balakireva L, Schoehn G, Thouvenin E, *et al.* Binding of adenovirus capsid to dipalmitoyl phosphatidylcholine provides a novel pathway for virus entry[ J ]. J Virol, 2003, 77( 8 ): 4858- 4566.
- [ 6 ] Coyne CB, Bergelson JM. CAR: A virus receptor within the tight junction[ J ]. Adv Drug Deliv Rev, 2005, 57( 6 ): 869-882.
- [ 7 ] Bowles KR, Gibson J, Wu J, *et al.* Genomic organization and chromosomal localization of the human Cocksackie virus adenovirus receptor gene[ J ]. Hum Genet, 1999, 105( 4 ): 354-359.
- [ 8 ] Marsee DK, Vadysirisack DD, Morrison CD, *et al.* Variable expression of coxsackie-adenovirus receptor in thyroid tumors: Implications for adenoviral gene therapy[ J ]. Thyroid, 2005, 15( 9 ): 977-987.
- [ 9 ] Nalbantoglu J, Pari G, Karpati G, *et al.* Expression of the primary coxsackie and adenovirus receptor is downregulated during skeletal muscle maturation and limits the efficacy of adenovirus-mediated gene delivery to muscle cells [ J ]. Hum Gene Ther, 1999, 10 ( 6 ): 1009-1019.
- [ 10 ] Kim M, Zinn KR, Barnett BG, *et al.* The therapeutic efficacy of adenoviral vectors for cancer gene therapy is limited by a low level of primary adenovirus receptors on tumour cells [ J ]. Eur J Cancer, 2002, 38( 14 ): 1917-1926.
- [ 11 ] Anders M, Christian C, McMahon M, *et al.* Inhibition of the Raf/MEK/ERK pathway up-regulates expression of the coxsackievirus and adenovirus receptor in cancer cells[ J ]. Cancer Res, 2003, 63 ( 9 ): 2088-2095.
- [ 12 ] Okegawa T, Nutahara K, Pong RC, *et al.* Enhanced transgene expression in urothelial cancer gene therapy with histone deacetylase inhibitor[ J ]. J Urol, 2005, 174( 2 ): 747-752.
- [ 13 ] Ambriovic-Ristov A, Gabrilovac J, Cimbora-Zovko T, *et al.* Increased adenoviral transduction efficacy in human laryngeal carcinoma cells resistant to cisplatin is associated with increased expression of integrin alphavbeta3 and coxsackie adenovirus receptor[ J ]. Int J Cancer, 2004, 110( 5 ): 660-667.
- [ 收稿日期 ] 2006 - 05 - 25 [ 修回日期 ] 2006 - 06 - 10
- [ 本文编辑 ] 王莹

· 读者 · 作者 · 编者 ·

## 化学元素和核素符号的规范书写方法

化学符号虽然是化学专业的学术交流语言,但在生物医学领域也有很广泛的使用。化学符号的书写有其特殊的规律和要求,生物医学论文中必须重视化学符号书写的规范化。根据 GB3102.8 - 93《物理化学和分子物理学的量和单位》的规定,把化学元素和核素符号书写的规范要求介绍如下:

1. 元素或核素的单字母符号均用正体大写,双字母符号首字母正体大写,第二个字母用正体小写。
2. 核素的核子数(质子数)应标注在元素符号的左上角,例如: $^{60}\text{Co}$ ,  $^{32}\text{P}$ ,  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ ,  $^{125}\text{I}$ 等;过去习惯把核子数标注在元素符号右上角的写法是错误的,例如: $\text{N}^{14}$ ,  $\text{Co}^{60}$ 等。
3. 离子价态的字符应标注在元素符号的右上角,例如: $\text{H}^+$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{O}^{2-}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Al}^{3+}$ ,  $\text{PO}_4^{3-}$ 等,不应写成  $\text{O}^{-2}$ ,  $\text{O}^{--}$ ,  $\text{Mg}^{+2}$ ,  $\text{Mg}^{++}$ ,  $\text{Al}^{+++}$ ,  $\text{PO}_4^{-3}$ 等。
4. 激发态的字符(电子激发态用\*,核子激发态用正体 m,也可用\*)标注在元素或核素符号的右上角,例如: $^{110}\text{Ag}^{\text{m}}$ ,  $^{110}\text{Ag}^*$ ,  $\text{He}^*$ ,  $\text{NO}^*$ 等。
5. 分子中核素的原子数标注在核素符号右下角,例如: $\text{H}_2$ ,  $\text{FeSO}_4$ 等。
6. 质子数(原子序数)标注在元素符号左下角,例如: $_{82}\text{Pb}$ ,  $_{26}\text{Fe}$ 等。
7. 对于形状相似的元素符号、化合物的化学式符号,书写时应注意区分,如:Co(钴)—CO(一氧化碳),No(锗)—NO(一氧化氮),Ba(钡)—Ra(镭),Nb(铌)—Nd(钕)—Np(镎),HF(氟化氢)—Hf(铪)等。

欢迎订阅《中国肿瘤生物治疗杂志》