

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2012.04.0010

· 基础研究 ·

KLF4 对肝癌细胞 HepG2 化疗和光动力治疗的调节作用

贾勇圣, 刘晓东, 史业辉, 董国雷, 佟仲生(天津医科大学附属肿瘤医院 乳腺肿瘤内科 国家教育部乳腺癌防治重点实验室, 天津 300060)

[摘要] **目的:** 分析重组人 Krüppel 类因子 4 (Krüppel-like factors 4, *KLF4*) 基因在肝癌 HepG2 细胞中对化疗和光动力治疗的调节作用。**方法:** 构建人 *KLF4* 慢病毒 pWPTS-*KLF4* 载体, 应用 RT-PCR、Western blotting 检测 pWPTS-*KLF4* 感染后 HepG2 细胞中 *KLF4* mRNA 和蛋白的表达, MTT 实验检测 HepG2 细胞对顺铂、环磷酰胺或氟尿嘧啶耐受性的变化以及对光动力治疗敏感性的变化, 罗丹明 123 染色检测 HepG2 细胞线粒体膜电位的变化。**结果:** 成功构建慢病毒 pWPTS-*KLF4* 载体。顺铂、环磷酰胺或氟尿嘧啶处理 HepG2 细胞 72 h 后, pWPTS-*KLF4* 感染组 HepG2 细胞存活率较对照组明显增高 [(43.43 ± 4.78)% vs (18.09 ± 1.02)% ; (110.51 ± 4.58)% vs (75.23 ± 5.92)% ; (34.55 ± 2.93)% vs (19.16 ± 1.32)% , $P < 0.01$]。光敏剂艾拉介导的光动力治疗后 24 h, pWPTS-*KLF4* 感染组 HepG2 细胞存活率较对照组明显减少 [(37.16 ± 3.26)% vs (57.24 ± 8.01)% , $P < 0.01$], 细胞的线粒体膜电位明显降低。**结论:** 重组人 *KLF4* 可以提高 HepG2 细胞化疗耐受性, 增加光动力治疗敏感性。

[关键词] *KLF4* 基因; 化疗; 光动力治疗; 肝癌

[中图分类号] R735.7; R730.5

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-385X(2012)04-0397-05

Krüppel-like factors 4 modulates the effects of chemotherapy and photodynamic therapy on hepatocarcinoma HepG2 cells

JIA Yong-sheng, LIU Xiao-dong, SHI Ye-hui, DONG Guo-lei, TONG Zhong-sheng (Key Laboratory of Breast Cancer Prevention and Therapy of Ministry of Education & Department of Oncology of Breast Tumor, Affiliated Tumor Hospital, Tianjin Medical University, Tianjin 300060, China)

[Abstract] **Objective:** To explore the regulatory effects of Krüppel-like factors 4 (*KLF4*) on chemotherapy and photodynamic therapy on HepG2 cells. **Methods:** Lentiviral pWPTS-*KLF4* vector containing human *KLF4* was constructed. The expression of *KLF4* mRNA and protein in HepG2 cells after pWPTS-*KLF4* infection was analyzed by RT-PCR and Western blotting; the tolerance of HepG2 cells to cisplatin, cyclophosphamide and fluorouracil and the sensitivity of HepG2 cells to photodynamic therapy were evaluated by MTT assay; the change of mitochondrial membrane potential in HepG2 cells was examined by Rhodamine 123 staining. **Results:** Lentiviral pWPTS-*KLF4* vector was successfully constructed. Treated with cisplatin, cyclophosphamide or fluorouracil for 72 h, the viable HepG2 cells were significantly increased after pWPTS-*KLF4* infection [(43.43 ± 4.78)% vs (18.09 ± 1.02)% ; (110.51 ± 4.58)% vs (75.23 ± 5.92)% ; (34.55 ± 2.93)% vs (19.16 ± 1.32)% , $P < 0.01$]; Treated with ALA mediated photodynamic therapy for 24 h, viable HepG2 cells were significantly decreased after pWPTS-*KLF4* infection [(37.16 ± 3.26)% vs (57.24 ± 8.01)% , $P < 0.01$], and mitochondrial membrane potential was significantly decreased. **Conclusion:** Recombinant human *KLF4* can increase the tolerance of HepG2 cells to chemotherapy and the sensitivity of HepG2 cells to photodynamic therapy.

[Key words] *KLF4* gene; chemotherapy; photodynamic therapy; hepatocarcinoma

[Chin J Cancer Biother, 2012, 19(4): 397-401]

[基金项目] 天津市自然科学基金项目资助 (No. 10JCYBJC11500)。Project supported by the Natural Science Foundation of Tianjin (No. 10JCYBJC1150)

[作者简介] 贾勇圣 (1979 -), 男, 河北省张家口市人, 博士, 讲师, 主要从事肿瘤分子药理学方面的研究, E-mail: jiays@yahoo.com

[通信作者] 佟仲生 (TONG Zhong-sheng, corresponding author), E-mail: tonghang@medmail.com.cn

人 Krüppel 类因子 4 (Krüppel-like factors 4, *KLF4*) 基因是 Yet 等^[1] 从人血管内皮细胞 cDNA 文库中克隆获得, 当时命名为 *hEZF* (human epithelial zinc finger)。 *KLF4* 基因单拷贝, 定位于染色体 9q31, cDNA 编码区长度为 1 413 bp, 编码一个 470 个氨基酸残基组成的多肽。 前期研究^[2] 发现, 肝癌干细胞中 *KLF4* 高表达, 其与肝癌干细胞自我更新、快速增殖和体内肿瘤生长密切相关, 靶向 *KLF4* 可有效抑制肝癌干细胞自我更新和增殖潜能。 Rowland 等^[3] 发现, 在鼠胚胎成纤维细胞中过表达 *KLF4* 后, 细胞对顺铂的耐受能力明显增强。 进一步研究^[3] 表明, *KLF4* 可以结合 p53 启动子, 负性调控 p53 转录, 调节细胞凋亡, 提示 *KLF4* 很可能与肿瘤细胞化疗耐受存在一定的关系。 鉴于此, 本研究选择 *KLF4* 表达缺失的肝癌细胞 HepG2 为研究对象, 通过慢病毒感染的方法在 HepG2 细胞中异位表达 *KLF4*, 分析其对 HepG2 细胞化疗的影响。 另外, 在一线临床工作中经常选择光动力治疗局部晚期化疗耐受的肿瘤患者, *KLF4* 是否也与光动力治疗存在某种联系? 因此本课题通过分析 *KLF4* 对 HepG2 细胞化疗和光动力治疗的影响, 以期为肝癌治疗提供资料。

1 材料与方法

1.1 细胞和主要试剂

HepG2 细胞购自北京协和医学院细胞中心, HEK 293T 细胞由本实验室保存, 在 10% 胎牛血清的 DMEM 完全培养基中培养。 质粒抽提试剂盒购自 Promega 公司, *KLF4* 抗体购自 Santa Cruz 公司, 内切酶 *Bam*H I 和 *Sal* I 购自 Fermentas 公司, 高保真 DNA 聚合酶 primeSTAR、Taq DNA 聚合酶、T4 DNA 连接酶购自 TaKaRa 公司。

1.2 pWPTS-KLF4 慢病毒载体的构建及慢病毒的包装

扩增 *KLF4* 基因的全长 cDNA, 根据参考文献^[4] 设计引物, 上游引物为 5'-ATGGATCCCTGCTTCGGGCTGCCGAGGACCTTCTGGG-3', 下游引物为 5'-TCGCAGTCGACGGCAGTGTGGGTCATATCCACTGTCTGGGA-3', 扩增片段 1 529 bp。 以肝癌细胞 BEL-7402 的 cDNA 为模板, 按照 primeSTAR 试剂盒说明扩增 *KLF4*, 扩增产物电泳后凝胶回收位于 1 500 bp 的电泳条带, 进行 *Bam*H I 和 *Sal* I 双酶切, 37 °C 过夜。 pWPTS-GFP 质粒(本实验室保存) 进行 *Bam*H I 和 *Sal* I 双酶切后电泳, 凝胶回收 pWPTS 片段。 将酶切后 *KLF4* cDNA 片段和线性 pWPTS 在 T4

连接酶作用下 4 °C 过夜。 次日用连接产物转化 HB101 感受态细菌, 挑取细菌克隆扩增后进行质粒提取, *Bam*H I 和 *Sal* I 双酶切检测克隆是否连接成功, 将连接成功的阳性克隆送 Invitrogen 公司测序。 pWPTS-KLF4 与包装质粒 pMD2. G 和 psPAX2(本实验室保存) 通过磷酸钙沉淀的方法共转染 293T 细胞, 293T 细胞包装 pWPTS-KLF4 病毒颗粒后感染 HepG2 细胞。

1.3 RT-PCR 检测 pWPTS-KLF4 感染后 HepG2 细胞中 *KLF4* mRNA 的表达

慢病毒 pWPTS-KLF4 感染 HepG2 细胞 72 h, 选取各组 1×10^6 细胞, 按照 Qiagen 公司 RNeasy mini 试剂盒说明提取细胞总 RNA。 取 1 μ g 总 RNA 按照 Promega 反转录试剂盒说明进行反转录, 合成 cDNA 第一链。 PCR 引物由上海英俊公司合成, *KLF4* 上游引物为 5'-CCCAATTACCCATCCTTCCT-3', 下游引物为 5'-AGGTTTCTCACCTGTGTGGG-3', 扩增片段 240 bp。 以 β -actin 基因为内参, β -actin 上游引物为 5'-AACAAGATGAGATTGGCATGG-3', 下游引物为 5'-AGTGGGGTGGCTTTTAGGAT-3', 扩增片段 251 bp。 扩增产物行 1.5% 琼脂糖凝胶电泳, 溴化乙锭染色观察, 凝胶成像系统拍照电泳产物。

1.4 Western blotting 检测 pWPTS-KLF4 感染后 HepG2 细胞中 *KLF4* 蛋白的表达

慢病毒 pWPTS-KLF4 感染 HepG2 细胞 72 h, 提取细胞总蛋白, 煮沸变性后进行 SDS-PAGE。 然后将蛋白转印到 PVDF 膜上, 以免抗 *KLF4* 抗体或小鼠抗 β -actin 抗体为一抗(1:500), 辣根过氧化物酶标记抗兔(1:3 000) 或抗小鼠 IgG 为二抗(1:5 000) 进行免疫标记, 然后化学发光法显色。

1.5 化疗药物作用后 HepG2 细胞存活率的检测

慢病毒 pWPTS-KLF4 感染 HepG2 细胞 72 h, 将每组细胞以 8×10^3 /孔密度接种于 96 孔板, 每组 3 孔。 24 h 后分别加入 100 μ mol/L 顺铂(DDP)、2 000 μ g/ml 环磷酰胺(CTX)、200 μ g/ml 氟尿嘧啶(5-FU), 孵育 72 h, 加入 MTI(5 mg/ml), 37 °C 细胞培养箱孵育 4 h, 吸出细胞培养基, 加入 150 μ l DM-SO, 充分溶解后以酶标仪在 492 nm 波长处检测。

1.6 光动力治疗后 HepG2 细胞存活率的检测

慢病毒 pWPTS-KLF4 感染 HepG2 细胞 72 h, 将每组细胞以 8×10^3 /孔密度接种于 96 孔板, 每组 3 孔。 24 h 后吸出细胞培养基, 用室温 PBS 洗 1 次, 加入含 0.1 mmol/L 光敏剂艾拉(5-aminolevulinic acid, ALA) 的无血清 DMEM 培养基, 37 °C 细胞培养箱孵育 4 h, 吸出细胞培养液, 重新加入无血清

DMEM 培养基,采用波长为 530 nm 的氩氦激光治疗仪进行照射,激光能量密度 2.5 J/cm^2 ,照射 10 min,换含 10% 胎牛血清的 DMEM 完全培养基,放回细胞培养箱孵育 24 h 后行 MTT 检测。

1.7 罗丹明 123 染色法检测 HepG2 细胞线粒体膜电位

pWPTS-KLF4 和 pWPTS 载体感染 HepG2 细胞 72 h 后,将每组细胞以 10×10^5 /孔密度接种于 6 孔板,每组 3 孔。光动力治疗后进行罗丹明 123 染色,流式细胞术检测细胞线粒体膜电位。

1.8 统计学处理

数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 SPSS11.0 软件进行分析,组间比较采用 *t* 检验。 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 成功构建 pWPTS-KLF4 载体

高保真 DNA 聚合酶扩增 *KLF4* 后进行电泳,结果(图 1A)显示在 1 500 bp 位置出现明显电泳条带,表明 *KLF4* cDNA 扩增成功。pWPTS-GFP 进行 *Bam*H I 和 *Sal* I 双酶切后电泳结果(图 1B)显示,载体出现线性分离条带,根据 GFP 分子量判定酶切成功。对连接后的 pWPTS-KLF4 进行 *Bam*H I 和 *Sal* I 双酶切鉴定,结果(图 1C)表明,克隆 1~3 均连接成功。测序后结果表明,3 号克隆碱基序列与 *KLF4* 序列完全匹配,证实 pWPTS-KLF4 载体构建成功。

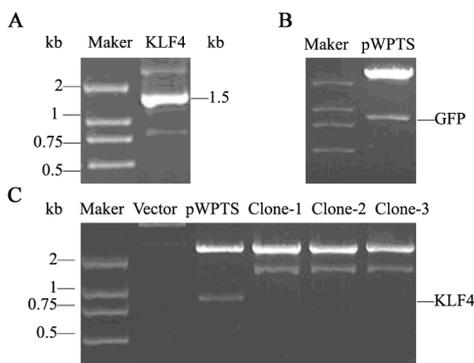


图 1 慢病毒 pWPTS-KLF4 载体的构建

Fig. 1 Construction of lentiviral pWPTS-KLF4 vector

A: Amplification of *KLF4* cDNA;

B: pWPTS-GFP was digested with *Bam*H I and *Sal* I;

C: pWPTS-KLF4 was identified by enzyme digestion

2.2 pWPTS-GFP 高效感染 HepG2 细胞

慢病毒 pWPTS-GFP 感染 HepG2 细胞 72 h, 荧

光显微镜观察显示, pWPTS-GFP 能够高效感染 HepG2 细胞,感染效率为 $(85.0 \pm 8.2)\%$ 。

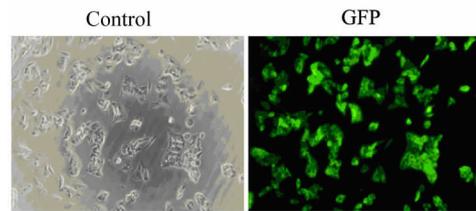


图 2 慢病毒 pWPTS-GFP 高效感染 HepG2 细胞 ($\times 200$)

Fig. 2 HepG2 cells highly infected by lentivirus pWPTS-GFP ($\times 200$)

2.3 pWPTS-KLF4 感染后 HepG2 细胞上调 *KLF4* 表达

慢病毒 pWPTS-KLF4 感染 HepG2 细胞 72 h 后, *KLF4* mRNA(图 3A)和蛋白水平(图 3B)的表达较 pWPTS 空载体感染组均明显提高。由此可见,慢病毒 pWPTS-KLF4 可以有效地在 mRNA 和蛋白水平上调 *KLF4* 的表达。

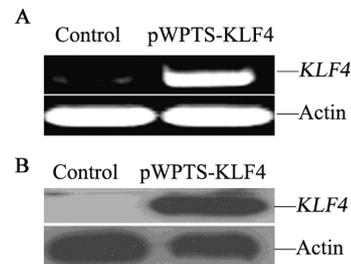


图 3 pWPTS-KLF4 感染上调 HepG2 细胞中 *KLF4* mRNA(A)和蛋白(B)的表达

Fig. 3 pWPTS-KLF4 infection upregulated *KLF4* mRNA(A) and protein(B) expression in HepG2 cells

2.4 pWPTS-KLF4 感染增加 HepG2 细胞对化疗药物的耐受性

MTT 实验结果(图 4)表明, $100 \mu\text{mol/L}$ 顺铂、 $2000 \mu\text{g/ml}$ 环磷酰胺、 $200 \mu\text{g/ml}$ 氟尿嘧啶孵育 72 h 后, pWPTS-KLF4 组存活的 HepG2 细胞百分比较对照组细胞明显增加 ($P < 0.01$), 表明 *KLF4* 异位表达可以增加 HepG2 细胞对顺铂、环磷酰胺和氟尿嘧啶的耐受性。

2.4 pWPTS-KLF4 感染提高 HepG2 细胞对光动力治疗的敏感性

MTT 结果(图 5A)显示, pWPTS-KLF4 组 HepG2 细胞经艾拉光动力治疗后,存活细胞比例较对照组

明显降低 ($P < 0.01$)。流式细胞术结果(图 5B)同样表明, pWPTS-KLF4 感染后, HepG2 细胞线粒体膜电位较对照组明显降低 ($P < 0.01$), 可见感染 pWPTS-KLF4 后, HepG2 细胞对艾拉介导的光动力治疗敏感性显著提高。

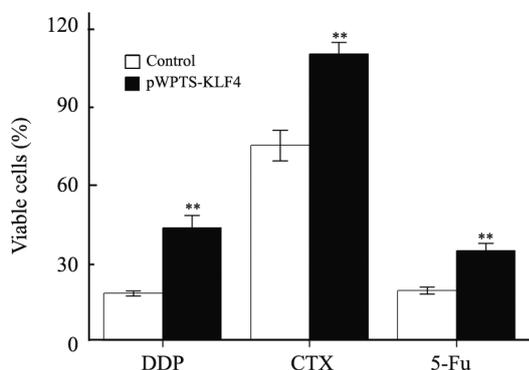


图 4 pWPTS-KLF4 感染增加 HepG2 细胞对化疗的耐受性
 Fig. 4 pWPTS-KLF4 infection increased chemotherapy tolerance of HepG2 cells
 ** $P < 0.01$ vs Lenti-vector control group

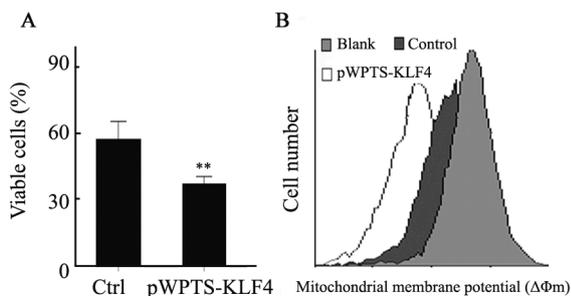


图 5 pWPTS-KLF4 感染对 HepG2 细胞光动力敏感性的影响
 Fig. 5 Effect of pWPTS-KLF4 infection on sensitivity of HepG2 cells in response to photodynamic therapy
 A: Cell viability; B: Mitochondrial membrane potential
 ** $P < 0.01$ vs Ctrl group

3 讨论

肿瘤的多药耐药性 (multiple drug resistance, MDR) 是指恶性肿瘤细胞接触一种抗癌药后, 继而对多种结构不同、作用机制各异的其他抗癌药产生耐药性。MDR 已成为当今医学界研究的热点^[5]。许多肿瘤常规化疗效果差、预后不良是困扰临床的重要难题, 而 MDR 则是肿瘤化疗失败的关键因素^[6]。近年来研究^[7-8]发现, 经治疗后残存的肿瘤干细胞是肿瘤耐药形成的根源, 常导致肿瘤对某些

药物治疗敏感性降低, 并引起肿瘤复发甚至转移。以往在肿瘤耐药机制的研究中发现, 肿瘤细胞解毒功能增强是其产生耐药的重要原因之一, 以顺铂为例, 当顺铂进入细胞后与 DNA 单链或双链发生交叉联结, 抑制肿瘤细胞的 DNA 复制, 促进细胞凋亡^[9-10]。谷胱甘肽 (glutathione, GSH) 是一种具有特殊生物学功能的氨基酸衍生物, 属于含有巯基的小分子肽类物质。谷胱甘肽有清除自由基、解毒等许多重要的生理功能, 可以整合顺铂, 产生解毒功能。当肿瘤细胞中谷胱甘肽水平增高, 其对顺铂耐受能力也随之提高^[11-12]。本课题组前期发现, 肝癌干细胞中 KLF4 表达水平较肝癌细胞增高, 与之相一致的是肝癌干细胞中谷胱甘肽水平也明显高于肝癌细胞。当肝癌干细胞中 KLF4 表达干扰后, 其对顺铂的敏感性明显增强。进一步研究^[13]发现, KLF4 通过调控肝癌细胞内谷胱甘肽含量进而提高肝癌细胞对顺铂的耐受性, 提示 KLF4 可能是肝癌细胞化疗耐受的一个重要因素。本研究发现, 慢病毒 pWPTS-KLF4 感染 HepG2 细胞后, HepG2 细胞对不同的化疗药物产生耐受, 因此靶向 KLF4 有望成为突破肝癌耐药的一条新途径。

光动力疗法是“生物医学光学”这一交叉学科领域的一项新的肿瘤治疗手段^[14], 其主要作用于浅表病灶, 且具有有效、安全、不良反应小^[15]、可协同^[16]、和相对成本低等优点^[17]。目前光动力疗法已被欧美国家正式批准用于临床, 已积累数千例病例, 主要应用于表浅恶性肿瘤^[18]。光动力疗法通过静脉注射光敏药物进入体内, 逐渐富集于病灶, 在匹配光敏药物吸收的特殊波长的激光作用下, 发生选择性光敏反应, 产生光活性物质 (通常为单态氧), 杀死癌细胞和组织, 从而达到杀灭肿瘤细胞的目的^[19-20]。Hagiya 等^[21]在对 HepG2 的研究中发现, 光动力治疗与耐药基因 ABCG2 转录水平具有一定的相关性。本研究发现, 当 KLF4 过表达后, HepG2 细胞对光动力治疗的敏感性显著提高, 此结果提示对于化疗耐药的肝癌细胞, 光动力治疗很可能是一条新的途径。本项研究也为临床上光动力治疗肿瘤耐药复发提供了分子机制的支持。

[参考文献]

[1] Yet SF, McA'Nulty MM, Folta SC, et al. Human EZF, a Kruppel-like zinc finger protein, is expressed in vascular endothelial cells and contains transcriptional activation and repression domains [J]. J Biol Chem, 1998, 273(2): 1026-1031.
 [2] 贾勇圣, 张文健, 刘虹麟, 等. KLF4 对肿瘤干细胞自我更新和增殖能力的影响 [J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2011, 18

- (4): 368-372.
- [3] Rowland BD, Bernards R, Peeper DS. The KLF4 tumour suppressor is a transcriptional repressor of p53 that acts as a context-dependent oncogene [J]. *Nat Cell Biol*, 2005, 7(11): 1074-1082.
- [4] Wang N, Liu ZH, Ding F, et al. Down-regulation of gut-enriched Kruppel-like factor expression in esophageal cancer [J]. *World J Gastroenterol*, 2002, 8(6): 966-970.
- [5] Baguley BC. Multiple drug resistance mechanisms in cancer [J]. *Mol Biotechnol*, 2010, 46(3): 308-316.
- [6] Sui H, Fan ZZ, Li Q. Signal transduction pathways and transcriptional mechanisms of ABCB1/Pgp-mediated multiple drug resistance in human cancer cells [J]. *J Int Med Res*, 2012, 40(2): 426-435.
- [7] Donnenberg VS, Meyer EM, Donnenberg AD. Measurement of multiple drug resistance transporter activity in putative cancer stem/progenitor cells [J]. *Methods Mol Biol*, 2009, 568: 261-279.
- [8] Li L, Li B, Shao J, et al. Chemotherapy sorting can be used to identify cancer stem cell populations [J]. *Mol Biol Rep*, 2012. [Epub ahead of print]
- [9] Stordal B, Pavlakis N, Davey R. A systematic review of platinum and taxane resistance from bench to clinic: An inverse relationship [J]. *Cancer Treat Rev*, 2007, 33(8): 688-703.
- [10] Li H, Wells SA, Jimenez-Roldan JE, et al. Protein flexibility is key to cisplatin cross-linking in calmodulin [J]. *Protein Sci*, 2012. [Epub ahead of print]
- [11] Boubakari, Bracht K, Neumann C, et al. No correlation between GSH levels in human cancer cell lines and the cell growth inhibitory activities of platinum diamine complexes [J]. *Arch Pharm (Weinheim)*, 2004, 337(12): 668-671.
- [12] Goddard P, Valenti M, Kelland LR. The role of glutathione (GSH) in determining sensitivity to platinum drugs in vivo in platinum-sensitive and -resistant murine leukaemia and plasmacytoma and human ovarian carcinoma xenografts [J]. *Anticancer Res*, 1994, 14(3A): 1065-1070.
- [13] Jia Y, Zhang W, Liu H, et al. Inhibition of glutathione synthesis reverses Kruppel-like factor 4-mediated cisplatin resistance [J]. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2012, 69(2): 377-385.
- [14] de Oliveira Mima EG, Vergani CE, Machado AL, et al. Comparison of photodynamic therapy versus conventional antifungal therapy for the treatment of denture stomatitis: A randomized clinical trial [J]. *Clin Microbiol Infect*, 2012. [Epub ahead of print]
- [15] Bugaj AM. Targeted photodynamic therapy—a promising strategy of tumor treatment [J]. *Photochem Photobiol Sci*, 2011, 10(7): 1097-1109.
- [16] Khadair A, Chen D, Patil Y, et al. Nanoparticle-mediated combination chemotherapy and photodynamic therapy overcomes tumor drug resistance [J]. *J Control Release*, 2010, 141(2): 137-144.
- [17] Cadet J. The photodynamic therapy of cancer cells [J]. *Photochem Photobiol*, 2011, 87(1): 1.
- [18] Jerjes W, Upile T, Radhi H, et al. Photodynamic therapy and end-stage tongue base cancer: Short communication [J]. *Head Neck Oncol*, 2011, 3: 49.
- [19] Agostinis P, Berg K, Cengel KA, et al. Photodynamic therapy of cancer: An update [J]. *CA Cancer J Clin*, 2011, 61(4): 250-281.
- [20] Yoo JO, Ha KS. New insights into the mechanisms for photodynamic therapy-induced cancer cell death [J]. *Int Rev Cell Mol Biol*, 2012, 295: 139-174.
- [21] Hagiya Y, Adachi T, Ogura S, et al. Nr2-dependent induction of human ABC transporter ABCG2 and heme oxygenase-1 in HepG2 cells by photoactivation of porphyrins: Biochemical implications for cancer cell response to photodynamic therapy [J]. *J Exp Ther Oncol*, 2008, 7(2): 153-167.
- [收稿日期] 2012-04-13 [修回日期] 2012-05-26
[本文编辑] 王莹

· 读者 · 作者 · 编者 ·

文稿中须写成斜体的外文字符

在科技文稿中出现许多外文字符,它们有的是正体、有的是斜体。正体和斜体外文字符各有其特定含义和用法,切不可混淆使用。现根据有关标准和规则,把生物医学文稿中须要写成斜体的外文字符归纳为以下几类:

(1)生物学中拉丁学名的属名和种名(包括亚属、亚种、变种)应斜体,例如大肠杆菌 *Escherichia coli*、幽门螺杆菌 *Helicobacter pylori* 等。(2)各种基因的缩写符号应斜体(基因表达产物缩写符号应写成正体),例如人脆性 X 智力低下基因 1 的符号为 *FMRI*、原癌基因 *RAF1*(人)、病毒癌基因 *v-raf-1*(鼠)、抑癌基因 *p53*(鼠)等。(3)限制性内切核酸酶缩写符号中前 3 个字母应斜体,例如 *Hind* III、*Bam* H I、*Sal* I 等。(4)各种统计学符号应斜体,例如样本数 *n*、均数 \bar{x} 、样本差 *s*、*t* 检验、*F* 检验、概率 *P*、相关系数 *r* 等。(5)各种物理量的量符号应斜体(*pH* 用正体除外),例如长度 *l*(或 *L*)、面积 *A*(或 *S*)、体积 *V*、质量 *m*、时间 *t*、压力 *p*、相对分子质量 *M_r*、物质的量浓度 *c_B* 等。(6)化学中表示旋光性、分子构型、构象、取代基等符号应斜体,例如左旋 *L*-、右旋 *D*-、邻位 *o*-、对位 *p*-、反式 *trans*-、顺式 *cis*- 等。(7)数学中用字母表示的变数和一般函数应斜体。(8)英文中使用的某些拉丁词应斜体,例如 *vs*、*in situ*、*in vivo*、*in vitro* 等。

(本刊编辑部)