

doi: 10.3872/j.issn.1007-385X.2013.02.008

· 基础研究 ·

沉默 *Med19* 的表达对结肠癌 Caco-2 细胞增殖和凋亡的影响

笄晨星, 顾勇, 段炜, 吴秀华(中国人民武装警察部队陕西省总队医院 消化内科, 陕西 西安 710054)

[摘要] **目的:** 探讨 RNA 干扰 *Med19* 的表达对结肠癌 Caco-2 细胞增殖和凋亡的影响。**方法:** 构建靶向 *Med19* 的干扰质粒 pSilencer-Med19-siRNA, 转染 Caco-2 细胞后, RT-PCR 检测 Caco-2 细胞中 *Med19* mRNA 的表达, Western blotting 检测 Caco-2 细胞中 *Med19* 蛋白的表达, MTT 检测 pSilencer-Med19-siRNA 转染后 Caco-2 细胞的增殖, 流式细胞术分析 Caco-2 细胞的凋亡。**结果:** RT-PCR 及 Western blotting 检测结果显示, pSilencer-Med19-siRNA 转染后 Caco-2 细胞中 *Med19* mRNA 及蛋白表达水平上均显著下降 ($P < 0.01$); MTT 及流式细胞术检测结果表明, 与 pSilencer 对照组相比, pSilencer-Med19-siRNA 组 Caco-2 细胞的增殖明显受到抑制[7 d 时: $(0.86 \pm 0.09)\%$ vs $(1.38 \pm 1.10)\%$, $P < 0.01$], 且细胞凋亡比例明显升高[$(22.72 \pm 2.85)\%$ vs $(7.23 \pm 1.29)\%$, $P < 0.01$]。**结论:** RNA 干扰沉默 *Med19* 的表达可抑制结肠癌 Caco-2 细胞的增殖, 促进其凋亡, 提示 *Med19* 可作为结肠癌治疗的潜在靶点。

[关键词] *Med19*; 结肠癌; RNA 干扰; 增殖; 凋亡

[中图分类号] R735.3*5; R730.54

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-385X(2013)02-0177-06

Silencing *Med19* expression on proliferation and apoptosis of colon cancer Caco-2 cells

Da Chenxing, Gu Yong, Duan Wei, Wu Xiuhua (Department of Gastroenterology, Shaanxi Provincial General Hospital of Chinese People's Armed Police Force, Xi'an 710054, Shaanxi, China)

[Abstract] **Objective:** To explore the effect of the down-regulation of *Med19* expression by RNAi on the proliferation and apoptosis of colon cancer Caco-2 cells. **Methods:** The pSilencer-Med19-siRNA interference plasmid targeting *Med19* was constructed, which was transfected into Caco-2 cells. The level of *Med19* mRNA in transfected Caco-2 cells was detected by RT-PCR and the level of *Med19* protein was determined by Western blotting. Flow cytometry and MTT were performed to detect the proliferation and apoptosis of Caco-2 cells after pSilencer-Med19-siRNA transfection. **Results:** The results of RT-PCR and Western blotting showed that the mRNA and protein levels of *Med19* declined markedly in Caco-2 cells that were transfected by pSilencer-Med19-siRNA vector ($P < 0.01$). Compared with the control pSilencer group, flow cytometry and MTT assay demonstrated that pSilencer-Med19-siRNA significantly suppressed proliferation (7 d: $[0.86 \pm 0.09]\%$ vs $[1.38 \pm 1.10]\%$, $P < 0.01$) and induced the apoptosis of Caco-2 cells ($[22.72 \pm 2.85]\%$ vs $[7.23 \pm 1.29]\%$, $P < 0.01$) in the pSilencer-Med19-siRNA group. **Conclusion:** Silence *Med19* expression by interference RNA can inhibit the proliferation and induce apoptosis of colon cancer Caco-2 cells, so *Med19* may act as a potential therapeutic target in colon cancer.

[Key words] *Med19*; colon cancer; RNA interference; proliferation; apoptosis

[Chin J Cancer Biother, 2013, 20(2): 177-181]

小干扰 RNA (small interfering RNA, siRNA) 是一种短片段双链 RNA 分子, 可通过触发转录后的某种监控程序导致特定 mRNA 降解, 这一现象称为 RNA 干扰 (RNA interference, RNAi)。与传统反义技术相比, RNAi 具有转染效率高、基因封闭作用强等优点^[1], 目前已成为人为改变基因表达的强有力工具, 广泛用于反向基因组学、基因治疗、抗病毒、抗

肿瘤等方面研究。中介体 (mediator, Med) 是 RNA 聚合酶 II 通用转录装置的重要组成部分, 在真核

[作者简介] 笄晨星 (1982 -), 女, 陕西省西安市人, 硕士, 主要从事消化内科疾病临床研究。E-mail: dachenxing@126.com

[通信作者] 段炜 (Duan Wei, corresponding author), E-mail: suweixsc@hotmail.com

mRNA 合成的活化和阻抑中起着关键作用^[2-3], 2002 年 Chen 等^[4]利用差异消减 PCR 法从高转移肺癌细胞中克隆获得其家族重要成员 *Med19* 基因。本研究组在前期实验^[2]中已发现, *Med19* 在结肠癌组织中存在高表达, 但确切作用机制尚不清楚。本实验以 RNAi 技术沉默 *Med19* 基因在人结肠癌 Caco-2 细胞中的表达, 观察其对肿瘤细胞增殖和凋亡的影响, 从而为结肠癌治疗提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 主要试剂

质粒 pSilencer 1.0-U6(AM7207)、大肠杆菌 DH5 α 购自上海博华生物科技有限公司, Annexin V-FITC/PI 凋亡试剂盒购自南京凯基生物公司, RPIM 1640、LipofectamineTM2000 购自美国 Invitrogen 公司, 小牛血清购自杭州四季青公司, MTT(M2128) 购自美国 Sigma 公司; 限制性内切酶 *Hind*III、*Bam*HI、*Eco*RI 和 T4 DNA 连接酶、TRIzol、*Med19* 引物、GAPDH 引物、RT-PCR 试剂盒(2240LIR98242) 及 RT-PCR 相关试剂购自大连 TaKaRa 公司。Anti-*Med19*(ab49271)、GAPDH 兔抗人多克隆抗体和辣根过氧化物酶标记的羊抗兔二抗购自 Abcam 公司。Chemi DocXRS 系统购自 Bio-Rad 公司, FACS CaliburTM 流式细胞仪购自美国 Becton Dickinson 公司。

1.2 细胞培养

结肠癌 Caco-2 细胞株由第四军医大学分子生物学教研室提供, 培养于含 10% 小牛血清的 RPMI 1640, 37 °C、5% CO₂ 的培养箱中, 每 2~3 d 传代培养。当细胞覆盖培养皿达 50%~70% 时进行转染。

1.3 *Med19*-siRNA 序列及 pSilencer-*Med19*-siRNA 载体构建

Med19 基因序列引自 GeneBank[153450], 采用干扰引物设计软件设计针对 *Med19* 基因的 siRNA, 选取 5'-GGTGAAGGAGAAGCTAAGT-3' 作为实验组的干扰序列, 对干扰序列随机重排作为阴性对照组的序列, 经 Blast 软件分析证明两组序列均与人的其他编码序列无同源性。所有寡核苷酸退火后分别插入经 *Bam*HI 和 *Hind*III 线性化的载体 pSilencer 中, 载体磷酸化处理、电泳、胶回收, 在 T4 DNA 连接酶作用下将载体和核苷酸双链进行连接, 于 16 °C 连接反应过夜, 连接产物转化感受态大肠杆菌 DH5 α 。本部分实验由大连 TaKaRa 宝生物工程有限公司完成。

1.4 pSilencer-*Med19*-siRNA 转染 Caco-2 细胞

实验分 control 组(空白对照组)、pSilencer(阴性对照组)、pSilencer-*Med19*-siRNA 组(干扰组)。

pSilencer 组及 pSilencer-*Med19*-siRNA 组采用 LipofectamineTM2000 介导的脂质体转染技术(具体步骤参照说明书), 用 50 μ l Opti-MEM 稀释 pSilencer-*Med19*-siRNA 并混匀, 用 50 μ l Opti-MEM 稀释 1.0 μ l LipofectamineTM2000 混匀并室温静置 5 min, 将混合转染试剂和 pSilencer-*Med19*-siRNA 稀释液混匀室温下静置 20 min, 将转染复合物加入 24 孔板中, 100 μ l/孔, 混匀, 静置于 37 °C、5% CO₂ 培养箱中。转染 24~72 h 后收集 Caco-2 细胞备用。

1.5 RT-PCR 检测 pSilencer-*Med19*-siRNA 转染后 Caco-2 细胞中 *Med19* mRNA 的表达

转染 48 h 后, 按照 TRIzol 方法说明书提取 RNA, 取 1 μ g 总 RNA 逆转录为 cDNA, 进行 PCR 反应, 扩增条件为 94 °C 预变性 2 min, 94 °C 变性 30 s, 退火 57 °C 30 s, 延伸 72 °C 1 min, 扩增 30 个循环, 72 °C 延伸 10 min, 停止反应; 扩增产物于 1.5% 琼脂糖凝胶电泳, 于紫外线下拍照, 用 Hema 凝胶成像分析系统检测条带 *D* 值, 计算目标带 *D* 值与内参 *D* 值的比值。

1.6 Western blotting 检测 pSilencer-*Med19*-siRNA 转染后 Caco-2 细胞中 *Med19* 蛋白的表达

收获的 Caco-2 细胞加入超声裂解缓冲液(1% Triton X-100, 50 mmol/L Tris-HCl, pH 7.4, 150 mmol/L NaCl, 0.1% SDS, 1 mmol/L PMSF, 1 mmol/L EDTA), 经过裂解、离心, 取总蛋白 55 μ g, 加等体积 2 \times 上样缓冲液煮沸变性 5 min, 分离蛋白采用 SDS-PAGE, 电泳后采用半干法转膜至 PVDF 膜, anti-*Med19* 及 GAPDH 兔抗人多克隆抗体稀释度为 1:200, 羊抗兔二抗稀释度为 1:5 000, ECL 化学发光法显影并摄片, 观察结果, 计算目的条带的平均光密度 *D* 值, 以 *Med19* 和 GAPDH 蛋白量的比值为最终结果。实验共重复 3 次。

1.7 流式细胞术检测 pSilencer-*Med19*-siRNA 转染后 Caco-2 细胞的凋亡

转染后 48 h, 取各组 Caco-2 细胞按 Annexin V-FITC/PI 试剂盒染色后上流式仪检测, 利用双参数分析, 即可将早期凋亡细胞 Annexin V⁺/PI⁻、晚期凋亡细胞 Annexin V⁺/PI⁺ 与继发坏死的细胞 Annexin V⁻/PI⁺ 区分开, 并计算出阳性细胞百分率。实验重复 3 次。

1.8 MTT 法检测 pSilencer-*Med19*-siRNA 转染后 Caco-2 细胞增殖情况

取各组 Caco-2 细胞, 以 5 \times 10³ 个/孔的密度接种于 96 孔细胞培养板, 设 3 个复孔, 常规培养 24、48、72、96 h 后, 每孔加入 5 mg/ml MTT 20 μ l, 继续

孵育 4 h 后弃上清,加入 DMSO 150 μ l,振荡 10 min 溶解结晶沉淀。用酶联免疫测定仪于 570 nm 处测定光密度 *D* 值。

1.9 统计学处理

采用 SPSS 17.0 统计软件数据,以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 *LSD-t* 检验法。 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 pSilencer-Med19-siRNA 转染沉默 Caco-2 细胞中 *Med19* mRNA 的表达

实验结果(图 1)显示,与 Control 组及 pSilencer 组比较,pSilencer-Med19-siRNA 组 Caco-2 细胞中 *Med19* mRNA 表达水平明显降低($P < 0.01$);Control 组与 pSilencer 组比较无显著性差异($P > 0.05$)。可见 pSilencer-Med19-siRNA 载体转染后 Caco-2 细胞中 *Med19* mRNA 水平显著下降,这一结果提示载体转染成功。

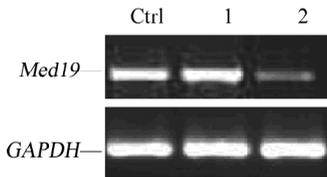


图 1 RT-PCR 检测 pSilencer-Med19-siRNA 转染后 Caco-2 细胞中 *Med19* mRNA 的表达

Fig. 1 Expression of *Med19* mRNA in Caco-2 cells after pSilencer-Med19-siRNA transfection detected by RT-PCR

Ctrl: Control; 1: pSilencer; 2: pSilencer-Med19-siRNA

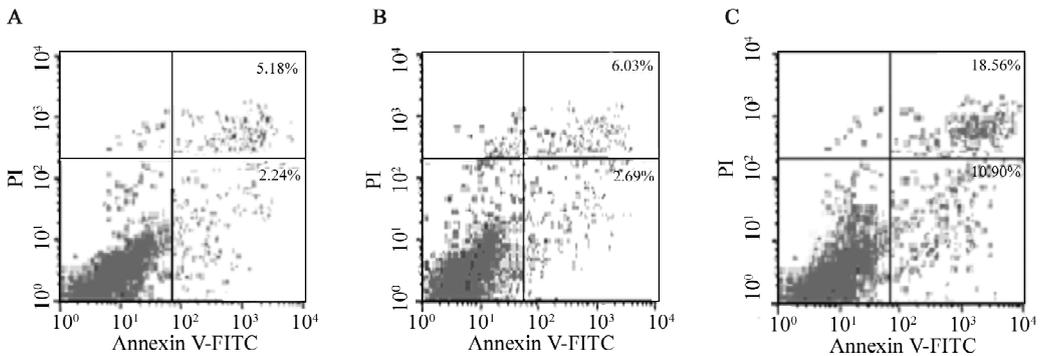


图 3 流式细胞术检测 pSilencer-Med19-siRNA 转染对 Caco-2 细胞凋亡的影响

Fig. 3 Effect of pSilencer-Med19-siRNA transfection on apoptosis of Caco-2 cells detected by flow cytometry

A: Control; B: pSilencer; C: pSilencer-Med19-siRNA

2.4 pSilencer-Med19-siRNA 转染抑制 Caco-2 细胞增殖

2.2 pSilencer-Med19-siRNA 转染沉默 Caco-2 细胞中 *Med19* 蛋白的表达

实验结果(图 2)显示,pSilencer-Med19-siRNA 组 Caco-2 细胞中 *Med19* 蛋白表达水平明显低于 Control 组及 pSilencer 组($P < 0.01$);Control 组与 pSilencer 组比较无显著性差异($P > 0.05$)。可见 pSilencer-Med19-siRNA 载体转染后 Caco-2 细胞中 *Med19* 蛋白水平显著下降,这一结果提示 *Med19* 基因在 Caco-2 细胞内表达已被靶向抑制。

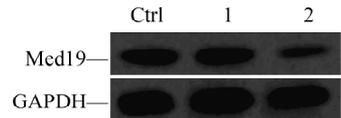


图 2 Western blotting 法检测 pSilencer-Med19-siRNA 转染后 Caco-2 细胞中 *Med19* 蛋白的表达

Fig. 2 Expression of *Med19* protein in Caco-2 cells after pSilencer-Med19-siRNA transfection detected by Western blotting

Ctrl: Control; 1: pSilencer; 2: pSilencer-Med19-siRNA

2.3 pSilencer-Med19-siRNA 转染促进 Caco-2 细胞的凋亡

实验结果(图 3)显示,pSilencer-Med19-siRNA 组对 Caco-2 细胞的凋亡率为 $(22.72 \pm 2.85)\%$,明显高于 Control 组的 $(6.12 \pm 1.03)\%$ 及 pSilencer 组的 $(7.23 \pm 1.29)\%$ ($P < 0.01$)。可见 pSilencer-Med19-siRNA 转染沉默 *Med19* 基因的表达可促进 Caco-2 细胞凋亡。

实验结果(图 4)显示,pSilencer-Med19-siRNA 转染组 Caco-2 细胞的增殖率明显低于 Control 组和

pSilencer 组 [5 d: (0.31 ± 0.08)% vs (0.98 ± 0.08)%、(0.90 ± 0.09)% ; 6 d: (0.65 ± 0.09)% vs (1.17 ± 0.11)%、(1.21 ± 0.11)% ; 7 d: (0.86 ± 0.09)% vs (1.57 ± 1.10)%、(1.38 ± 1.10)% ; 均 $P < 0.01$]。可见 pSilencer-Med19-siRNA 载体转染可显著抑制 Caco-2 细胞的增殖, 随着作用时间的延长, 这一作用更为明显。

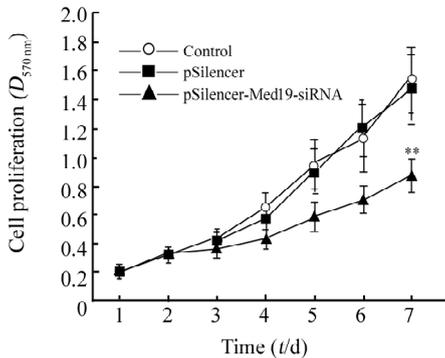


图4 MTT法检测 pSilencer-Med19-siRNA 转染后 Caco-2 细胞的增殖

Fig. 4 Proliferation of Caco-2 cells after pSilencer-Med19-siRNA transfection detected by MTT

** $P < 0.01$ vs control group

3 讨论

结肠癌位居癌症发生率的第三位, 仅次于肺癌和乳腺癌, 并呈逐年上升趋势, 全球每年约有 1 023 256 例新发病例, 造成 529 020 人死亡^[5], 严重危害人类健康。结肠癌的预后与临床病理分期密切相关^[6], 长期以来, 手术切除辅以化疗是治疗结肠癌的主要手段, 但是, 化疗对正常组织的毒性, 可能会产生致死性的副作用^[7]。因此, 筛选与结肠癌细胞增殖、侵袭、分化和凋亡密切相关的特异性靶基因已成为迫切需要解决的问题。

Med19 在人类编码的基因名为肺癌转移相关蛋白 (lung cancer metastasis-related protein 1, LCMR1), 作为 Med 家族的重要成员, 能够通过参与细胞周期调控、信号转导或转录调控影响细胞增殖、分化及凋亡^[8-10]。研究^[11-12]证实, Med19 缺失可显著下调基因的转录和激活转录水平, 约为野生型的 30%。目前 Med19 与肿瘤转移之间的关系较为明确, 并定义为肿瘤转移相关基因, 许多恶性肿瘤组织如胃癌、肺癌、骨肉瘤、脑星型细胞瘤等都存在高表达, 而其来源的正常组织或良性病变中低表达或不表达^[13-15]。本研究组在前期实验^[16]中通过检测 Med19 基因在

结肠癌、癌旁正常组织中的表达, 证实 Med19 在肿瘤组织中的高表达具有特异性, 并且结合结肠癌临床病理学资料分析进一步发现, 其表达水平与肿瘤分期及淋巴转移密切相关, 表明 Med19 表达上调可能是肿瘤侵袭程度和转移增加的原因。

近年来, 病毒载体的 RNA 干扰或过表达技术迅速发展, 为肿瘤靶标研究提供了新思路, 不仅能够对与增殖、侵袭相关的靶标进行基因操作, 更可作为潜在的治疗手段抑制肿瘤的增殖、侵袭, 为结肠癌的靶向治疗提供强有力手段^[17]。目前研究发现, 干扰 Med19 的表达可在一定程度上抑制或逆转细胞恶性生物学特性, 而不诱导正常组织细胞凋亡^[18-20], 提示 Med19 可能成为恶性肿瘤治疗的潜在靶目标。本实验应用 Ambion 公司干扰引物设计软件设计针对 Med19 的特异 siRNA, 成功构建 pSilencer-Med19-siRNA 载体, 并转染结肠癌 Caco-2 细胞株。结果显示, 与 Control 组及 pSilencer 组相比, pSilencer-Med19-siRNA 组的 Caco-2 细胞中 Med19 表达在转录、蛋白水平明显降低, 表明 Med19 在 Caco-2 细胞内表达已被靶向抑制。本实验通过 MTT 法及流式细胞术测定发现, 与转染空载体 pSilencer 组的 Caco-2 细胞相比, pSilencer-Med19-siRNA 载体转染沉默 Med19 基因可显著抑制 Caco-2 细胞的增殖, 且随着作用时间的延长, 这一作用更为明显。同时, Med19 基因沉默可促进 Caco-2 细胞凋亡, 凋亡细胞率由 (6.12 ± 1.03)% 增加到 (22.72 ± 2.85)%。这一结果提示设计靶向 Med19 基因的 siRNA 序列能够成功沉默 Caco-2 细胞的 Med19 基因表达水平, 而 Med19 基因在结肠癌的无限增殖、抗凋亡中发挥重要作用。

综上所述, 本实验证实了利用 RNAi 技术抑制结肠癌细胞 Med19 基因能够有效抑制肿瘤细胞的恶性表征。因此, Med19 在结肠癌靶向基因治疗中可能成为有效靶位点, 具有良好的应用前景。

[参考文献]

- [1] Persengiev SP, Zhu X, Green MR. Nonspecific, concentration-dependent stimulation and repression of mammalian gene expression by small interfering RNAs (siRNAs) [J]. RNA, 2004, 10 (1): 12-18.
- [2] Casamassimi A, Napoli C. Mediator complexes and eukaryotic transcription regulation: An overview [J]. Biochimie, 2007, 89 (12): 1439-1446.
- [3] Lewis BA, Reinberg D. The mediator coactivator complex: Functional and physical roles in transcriptional regulation [J]. J Cell Sci, 2003, 116 (Pt18): 3667-3675.
- [4] Chen L, Liang Z, Tian Q, et al. Overexpression of LCMR1 is sig-

- nificantly associated with clinical stage in human NSCLC [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2011, 30(1): 18.
- [5] Kamangar F, Dores GM, Anderson WF. Patterns of cancer incidence, mortality, and prevalence across five continents: Defining priorities to reduce cancer disparities in different geographic regions of the world [J]. *J Clin Oncol*, 2006, 24(14): 2137-2150.
- [6] Ju J. miRNAs as biomarkers in colorectal cancer diagnosis and prognosis [J]. *Bioanalysis*, 2010, 2(5): 901-906.
- [7] 李韧, 曹京旭, 布洁, 等. 氟尿嘧啶、亚叶酸钙和奥沙利铂联合贝伐单抗治疗转移性结肠癌疗效观察 [J]. *武警医学*, 2009, 20(3): 224-226.
- [8] Li LH, He J, Hua D, et al. Lentivirus-mediated inhibition of *Med19* suppresses growth of breast cancer cells *in vitro* [J]. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2011, 68(1): 207-215.
- [9] Béve J, Hu GZ, Myers LC, et al. The structural and functional role of *Med5* in the yeast mediator tail module [J]. *J Biol Chem*, 2005, 280(50): 41366-41372.
- [10] Baidooonso SM, Guidi BW, Myers LC. *Med19* (*Rox3*) regulates intermodule interactions in the *Saccharomyces cerevisiae* mediator complex [J]. *J Biol Chem*, 2007, 282(8): 5551-5559.
- [11] Fujita Y, Fujikane T, Fujiuchi S, et al. The diagnostic and prognostic relevance of human telomerase reverse transcriptase mRNA expression detected *in situ* in patients with non small cell lung carcinoma [J]. *Cancer*, 2003, 98(5): 1008-1013.
- [12] van de Peppel J, Kettelarij N, van Bakel H, et al. Mediator expression profiling epistasis reveals a signal transduction pathway with antagonistic submodules and highly specific downstream targets [J]. *Mol Cell*, 2005, 19(4): 511-522.
- [13] Ding N, Tomomri-Sato C, Sato S, et al. *MED19* and *MED26* are synergistic functional targets of the *RE1* silencing transcription factor in epigenetic silencing of neuronal gene expression [J]. *J Bio Chem*, 2009, 284(5): 2648-2656.
- [14] Li LH, He J, Hua D, et al. Lentivirus-mediated inhibition of *Med19* suppresses growth of breast cancer cells *in vitro* [J]. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2011, 68(1): 207-215.
- [15] Sato S, Tomomori-Sato C, Parmely TJ, et al. A set of consensus mammalian mediator subunits identified by multidimensional protein identification technology [J]. *Mol Cell*, 2004, 14(5): 685-691.
- [16] 段炜, 笄晨星, 顾勇, 等. 结肠癌组织 *Med19* 的表达及临床意义 [J]. *武警医学*, 2012, 23(6): 512-514.
- [17] Barzon L, Zanusso M, Colombo F, et al. Clinical trials of gene therapy, virotherapy, and immunotherapy for malignant gliomas [J]. *Cancer Gene Therapy*, 2006, 13(6): 539-554.
- [18] Ding XF, Huang GM, Shi Y, et al. *Med19* promotes gastric cancer progression and cellular growth [J]. *Gene*, 2012, 504(20): 262-267.
- [19] Zou SW, Ai KX, Wang ZG, et al. The role of *Med19* in the proliferation and tumorigenesis of human hepatocellular carcinoma cells [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2011, 32(3): 354-360.
- [20] Sato S, Tomomori-Sato C, Banks CA, et al. A mammalian homolog of *Drosophila melanogaster* transcriptional coactivator *intersex* is a subunit of the mammalian mediator complex [J]. *J Biol Chem*, 2003, 278(50): 49671-49674.
- [收稿日期] 2012 - 11 - 12 [修回日期] 2013 - 02 - 25
[本文编辑] 王莹, 黄静怡

· 读者 · 作者 · 编者 ·

化学元素和核素符号规范书写的要求

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}Co , ^{32}P , $^{99\text{m}}\text{Tc}$, ^{125}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: N^{14} , 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: H^+ , Cl^- , O^{2-} , Mg^{2+} , Al^{3+} , PO_4^{3-} 等,不应写成 O^{-2} , O^{--} , Mg^{+2} , Mg^{++} , Al^{+++} , 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: $^{110}\text{Ag}^{\text{m}}$, $^{110}\text{Ag}^*$, He^* , NO^* 等。
- (5) 分子中核素的原子数标注在核素符号右下角,例如: H_2 , 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(氧化氮),Ba(钡)—Ra(镭),Nb(铌)—Nd(钕)—Np(镎),HF(氟化氢)—Hf(铪)等。

(本刊编辑部)