

doi: 10.3872/j.issn.1007-385X.2014.05.009

## RNA 干扰沉默 NS 基因对人非小细胞肺癌 A549 细胞增殖和凋亡的影响

潘艳明<sup>1</sup>, 张伟<sup>2</sup>, 马微<sup>1</sup>, 杨丹<sup>1</sup>, 金丹<sup>3</sup>, 任风云<sup>1</sup>, 冯玉宽<sup>1△</sup>, 胡静<sup>1</sup> (1. 牡丹江医学院 黑龙江省普通高等院校肿瘤疾病防治重点实验室, 黑龙江 牡丹江 157011; 2. 牡丹江医学院附属红旗医院 呼吸内科, 黑龙江 牡丹江 157011; 3. 牡丹江市妇女儿童医院, 黑龙江 牡丹江 157000)

**[摘要]** **目的:** 研究 RNA 干扰沉默核干细胞因子(nucleostemin, NS)基因表达对人肺腺癌 A549 细胞株增殖和凋亡的影响。**方法:** 向 A549 细胞内分别转染靶向 NS 基因的 siRNA 表达载体 pcDNA4/C-NS-silencer 和空载体 pcDNA4/C vector 作为 silencer 组和 vector 组, 以不转染质粒的 A549 细胞为 normal 组, Real-time PCR 检测转染 pcDNA4/C-NS-silencer 对 A549 细胞内 NS 基因表达的影响。CCK-8 法检测沉默 NS 基因对 A549 细胞增殖的影响, 流式细胞术检测对细胞周期的影响, Hoechst33258 核染色法和流式细胞术检测对细胞凋亡的影响。**结果:** Silencer 组 NS 基因表达较 vector 组和 normal 组明显被抑制(0.166 ± 0.024 vs 0.497 ± 0.022, 0.505 ± 0.032, 均 P < 0.01); Silencer 组 A549 细胞增殖活性显著低于 vector 组和 normal 组(0.518 ± 0.107 vs 0.855 ± 0.102, 0.832 ± 0.158, 均 P < 0.05); Silencer 组 A549 细胞周期阻滞于 G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> 期; Silencer 组细胞核皱缩呈致密浓染, 染色质碎裂呈块状并有边集现象, 且细胞凋亡率较 vector 组与 normal 组显著增高[(34.80 ± 6.77)% vs (9.70 ± 1.50)%], (8.16 ± 2.01)%, P < 0.01]。**结论:** RNA 干扰沉默 NS 基因可抑制人肺腺癌 A549 细胞的增殖, 促进细胞凋亡。

**[关键词]** 非小细胞肺癌; A549 细胞; 核干细胞因子基因; RNA 干扰; 凋亡; 增殖

**[中图分类号]** R734.2; R730.54

**[文献标志码]** A

**[文章编号]** 1007-385X(2014)05-0532-05

## Effect of RNAi-mediated silencing of nucleostemin gene on proliferation and apoptosis of human non-small cell lung cancer A549 cells

Pan Yanming<sup>1</sup>, Zhang Wei<sup>2</sup>, Ma Wei<sup>1</sup>, Yang Dan<sup>1</sup>, Jin Dan<sup>3</sup>, Ren Fengyun<sup>1</sup>, Feng Yukuan<sup>1△</sup>, Hu Jing<sup>1</sup> (1. Key Laboratory of Tumor Prevention and Treatment of Heilongjiang Higher Education Institutions, Mudanjiang Medical College, Mudanjiang 157011, Heilongjiang, China; 2. Department of Respiratory, Hongqi Hospital Affiliated to Mudanjiang Medical College, Mudanjiang 157011, Heilongjiang, China; 3. Women's and Children's Hospital of Mudanjiang, Mudanjiang 157000, Heilongjiang, China)

**[Abstract]** **Objective:** To determine the effect of silencing nucleostemin (NS) gene expression on proliferation and apoptosis of non-small cell lung cancer (NSCLC) A549 cells *in vitro*. **Methods:** The recombinant pcDNA4/C-NS-silencer targeting the NS gene was constructed. Human NSCLC A549 cells were transfected with pcDNA4/C-NS-silencer or the control vector pcDNA4/C. NS mRNA abundance was assessed by real-time RT-PCR, cell proliferation by CCK-8 assay, and cell cycle progress and apoptosis by flow cytometric assay with Hoechst33258 staining in untransfected and transfected A549 cells. **Results:** Compared with control vector-transfected and untransfected A549 cells, A549 cells transfected with pcDNA4/C-NS-silencer had significantly lower NS mRNA abundance (0.166 ± 0.024 vs 0.497 ± 0.022, 0.505 ± 0.032, P < 0.01) and a significantly lower proliferation activity (0.518 ± 0.107 vs 0.855 ± 0.102, 0.832 ± 0.158, P < 0.05). NS gene silencing resulted significant increases in the percentage of cells in G<sub>1</sub>/G<sub>0</sub> phase, in chromatin condensation and

**[基金项目]** 国家自然科学基金资助项目(No. 81372293, No. 81241088); 黑龙江省教育厅科学技术研究项目(No. 12531736); 黑龙江省卫生厅科研课题(No. 2009-456). Project supported by the National Natural Science Foundation of China(No. 81372293, No. 81241088), the Science Research Project of the Bureau of Education of Heilongjiang Province(No. 12531736), and the Science Research Project of the Bureau of Health of Heilongjiang Province(No. 2009-456)

**[作者简介]** 潘艳明(1981-), 男, 黑龙江省哈尔滨市人, 助理研究员, 硕士, 主要从事肿瘤血管和淋巴管生成的分子机制及其调控的研究, E-mail: mdjpy@163.com

**[通信作者]** 胡静(Hu Jing, corresponding author), E-mail: jinghu\_2001@hotmail.com; 冯玉宽(Feng Yukuan, co-corresponding author), E-mail: fyk107@hotmail.com. △为共同通信作者

fragmentation, and in apoptosis ( $[34.80 \pm 6.77]\%$  vs  $[9.70 \pm 1.50]\%$ ,  $[8.16 \pm 2.01]\%$   $P < 0.01$ ), as compared with control vector-transfected and untransfected A549 cells. **Conclusion:** RNAi-mediated silencing of the NS gene results in human non-small cell lung cancer cell proliferation, G<sub>1</sub> arrest and apoptosis, thereby possessing a therapeutic potential.

[ **Key words** ] non-small cell lung cancer; A549 cell; nucleostemin (NS); RNA interference; proliferation; apoptosis [ Chin J Cancer Biother, 2014, 21(5): 532-536 ]

非小细胞肺癌(non-small cell lung carcinoma, NSCLC)是发病率较高的恶性肿瘤,已成为肿瘤患者死亡的首要病因<sup>[1]</sup>。尽管人类在 NSCLC 的筛选、诊断和治疗方面进行了大量的研究,并取得了一定进展,但 NSCLC 的疗效仍不尽人意,急需改善疗效的新治疗方法出现<sup>[2]</sup>。核干细胞因子(nucleostemin, NS)是最早被发现在大鼠胚胎干细胞和处于分化早期的骨髓细胞中表达的一种基因<sup>[3]</sup>,对维持干细胞的多能性和肿瘤细胞的增殖起了重要的作用。研究者<sup>[4-6]</sup>相继证明,NS 基因表达量的增高与包括 NSCLC 在内的多种恶性肿瘤的恶性程度相关,是肿瘤发生发展的促进因子。本研究通过设计针对人 NS 基因的 siRNA,采用阳离子脂质体作为转染试剂,观察导入 siRNA 后对人肺腺癌 A549 细胞增殖和凋亡的影响。

## 1 材料与方法

### 1.1 细胞株与主要试剂

人非小细胞肺癌细胞系 A549 购于中国科学院上海生命科学研究院生物化学与细胞生物学研究所,细胞购自美国模式培养物集存库(American Type Culture Collection, ATCC),常规培养。质粒提取试剂盒购自北京天为时代生物有限公司,反转录试剂盒、总 RNA 提取试剂盒、Lipofectamine™ 2000 试剂盒购自 Gibco 公司,博来霉素购自 Invitrogen 公司, Pvu I 限制性内切酶购自 TaKaRa 公司, Annexin V/FITC 凋亡试剂盒购自美国 BD 公司, Real-time PCR 试剂均购自 TaKaRa 公司。PCR 引物由上海申能博彩生物科技有限公司合成。倒置荧光显微镜购自日本 Olympus 公司,荧光定量 PCR 仪购自日本 TaKaRa 公司, FACSCalibur 型流式细胞仪购自美国 BD 公司, PCR 仪、凝胶成像系统购自美国 PE 公司。

### 1.2 细胞转染及阳性单克隆细胞的筛选

用限制性内切酶 Pvu I 将已构建好的 NS 特异性 siRNA 表达载体 pcDNA4/C-NS-silencer<sup>[3]</sup>线性化,按 Lipofectamine™ 2000 试剂盒使用说明操作,用脂质体法转染 A549 细胞,参考文献[1]的方法筛选具抗性单细胞来源细胞克隆。用终质量浓度 200 μg/ml 的博来霉素筛选阳性克隆,扩大培养。

### 1.3 Real-time PCR 检测 siRNA 表达载体转染后

### A549 细胞内 NS 基因表达

实验分为 normal 组、silencer 组和 vector 组, normal 组为正常人肺腺癌 A549 细胞, silencer 组为转染 pcDNA4/C NS silencer 的 A549 细胞, vector 组为转染空载体 PCDNA4/C vector 的 A549 细胞。

采用 TRIzol 方法提取三组细胞的总 RNA,检测总 RNA 的含量和纯度。以 mRNA 为模板,逆转录合成 cDNA,反应体系为 20 μl,反应条件为 42 °C 保温 1 h, 70 °C 保温 15 min。荧光定量 PCR 反应体系为 20 μl,包括 SYBR 法预混试剂 10 μl,上游引物(10 μmol/L) 0.4 μl,下游引物(10 μmol/L) 0.4 μl, cDNA 模板 2 μl, dH<sub>2</sub>O 7.2 μl。反应条件为 95 °C 10 s, 60 °C 20 s, 72 °C 20 s,共 40 个循环。反应结束后以 2<sup>-ΔΔCT</sup>方法定量各组数据,并进行分析。内参基因 β-actin 扩增引物:上游引物 5'-CCTG-TACGCCAACACAGTGC-3',下游引物 5'-ATACTC-CTGCTTGCTGATCC-3';目的基因 NS 扩增引物:上游引物 5'-GGGAAGATAACCAAGCGTGTG-3',上游引物 5'-CCTCCAAGAAGTTTCCAAAGG-3'。

### 1.4 CCK-8 法检测 siRNA 表达载体转染对 A549 细胞增殖的影响

取各组对数生长期的 A549 细胞,制备细胞悬液,接种 96 孔培养板,每孔 100 μl(含 5 × 10<sup>4</sup> 个细胞),常规培养,在不同时间点(0、24、48 h)加入 10 μl CCK-8 溶液,培养箱内孵育 4 h 后,将 96 孔培养板中液体转移至另一个 96 孔板,采用酶标仪检测在 450 nm 波长处的光密度(D)。

### 1.5 流式细胞术检测 siRNA 表达载体转染对 A549 细胞周期的影响

接种各组对数生长期的 A549 细胞到 6 孔板,每孔 1 × 10<sup>4</sup> 个细胞,常规培养 24 h,胰酶(消化后收集细胞,用预冷 PBS 洗细胞 2 次,用预冷的 75% 乙醇重悬细胞,于 4 °C 固定过夜,收集细胞,以 1 ml 的 PBS 洗细胞两次,1 000 × g 离心 5 min 收集细胞沉淀,加入 100 μl PBS(含 50 μg/ml PI、100 μg/ml RNase A),4 °C 避光常温孵育 30 min,添加 5 μl RNase A(1 mg/ml),震荡混匀后再加 5 μl PI(5 mg/ml)和 100 μg/ml RNase A,避光孵育 30 min,流式细胞术检测各组细胞周期情况。

1.6 Hoechst33258 核染色实验观察 siRNA 表达载体转染对 A549 细胞凋亡的影响

各组细胞制备细胞爬片, 并均加入 30 mg/L 的荧光染料 Hoechst33258, 继续培养 24 h 后取出爬片, 倒置荧光显微镜下观察细胞核的染色强度和核形态, 并据之以评价细胞的凋亡情况。

1.7 流式细胞术检测 siRNA 表达载体转染对 A549 细胞凋亡的影响

将各组细胞接种到 6 孔板, 每孔添加 2 ml 细胞悬液(含  $1 \times 10^5$  个细胞), 常规培养细胞 24 h, 用 dPBS 洗涤细胞 2 次, 收集细胞沉淀; 加入 500  $\mu$ l 的结合缓冲液重悬细胞沉淀。加入 5  $\mu$ l Annexin-V-FITC, 混匀后室温避光反应 10 min, 再加入 5  $\mu$ l PI, 混匀后室温避光孵育 5 min, 流式细胞术检测细胞凋亡。

1.8 统计学处理

计量数据以  $\bar{x} \pm s$  表示, 采用 SPSS 16.0 统计软件分析, 组间比较采用 One-Way ANOVA 分析, 以  $P < 0.05$  或  $P < 0.01$  表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 转染 siRNA 表达载体干扰 A549 细胞 NS 基因的表达

Real-time PCR 法检测各组细胞 NS 基因表达情况, 结果显示, 转染 pcDNA4/C-NS-silencer 的 A549 细胞 NS 基因表达量显著低于空质粒对照组和未感染组(  $0.166 \pm 0.024$  vs  $0.497 \pm 0.022$ 、 $0.505 \pm 0.032$ , 均  $P < 0.01$  )。

2.2 干扰 NS 基因表达抑制 A549 细胞的增殖

CCK-8 法检测结果(图 1)显示, 感染 24 和 48 h, Silencer 组 A549 细胞增殖活性低于空质粒对照组和未感染组( 24 h:  $0.188 \pm 0.037$  vs  $0.402 \pm 0.107$ 、 $0.377 \pm 0.112$ , 均  $P < 0.05$ ; 48 h:  $0.518 \pm 0.107$  vs  $0.855 \pm 0.102$ 、 $0.832 \pm 0.158$ , 均  $P < 0.05$  )。

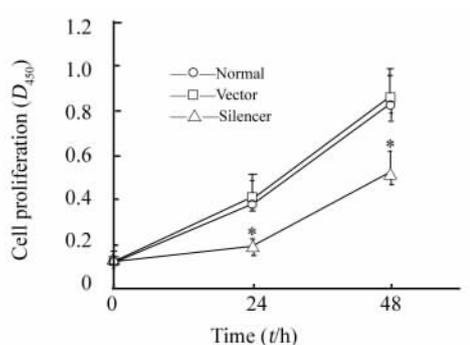


图 1 转染 pcDNA4/C-NS-silencer 抑制 A549 细胞的增殖  
Fig. 1 pcDNA4/C-NS-silencer transfection inhibited the proliferation of A549 cells  
\*  $P < 0.05$  vs normal or vector group

2.3 干扰 NS 基因表达将 A549 细胞周期阻滞于 G<sub>1</sub>/G<sub>0</sub> 期

流式细胞仪检测细胞周期结果(图 2)显示, 与 normal 组相比较, silencer 组 A549 细胞 S 期细胞数明显降低, 而 G<sub>1</sub> 期细胞数明显增加[ S 期: ( $25.97 \pm 3.90$ )% vs ( $60.26 \pm 2.41$ )%; G<sub>1</sub> 期: ( $73.13 \pm 4.70$ )% vs ( $34.87 \pm 3.77$ )%,  $P < 0.01$  ]。结果说明, 沉默 NS 基因可阻滞细胞周期于 G<sub>1</sub>/G<sub>0</sub> 期。

2.4 干扰 NS 基因表达促进 A549 细胞的凋亡

流式细胞仪检测结果(图 3)显示, silencer 组的细胞凋亡率较 vector 组与 normal 组明显增高[ ( $34.80 \pm 6.77$ )% vs ( $9.70 \pm 1.50$ )%、( $8.16 \pm 2.01$ )%, 均  $P < 0.01$  ], 而 vector 组与 normal 组间细胞凋亡率差异无统计学意义(  $P > 0.05$  )。

Hoechst33258 核染色结果(图 4)显示, silencer 组的 A549 细胞体积变小, 细胞核皱缩呈致密浓染, 染色质碎裂呈块状并有边集现象, 核染色强度变淡, 说明细胞发生凋亡; 而 normal 组和 vector 组的细胞核染色强度及形态大小均相对正常。

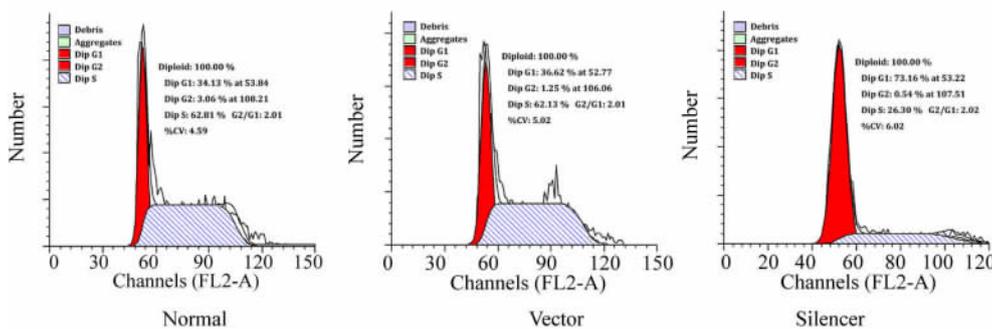


图 2 转染 pcDNA4/C-NS-silencer 使 A549 细胞周期阻滞于 G<sub>1</sub>/G<sub>0</sub> 期  
Fig. 2 pcDNA4/C-NS-silencer transfection arrests A549 cells in the G<sub>1</sub>/G<sub>0</sub> phase

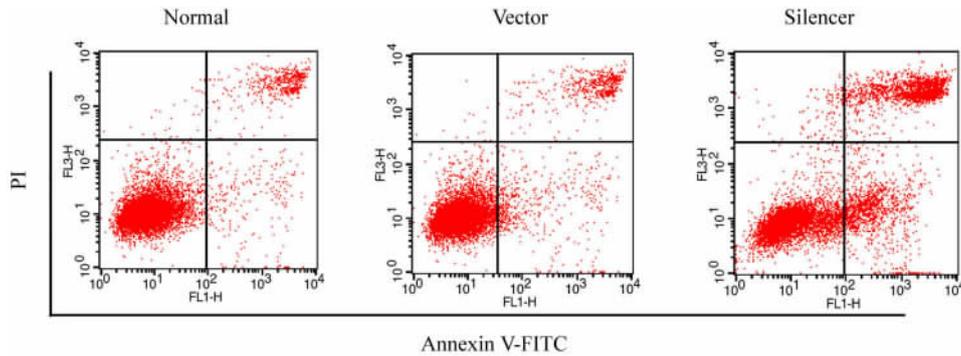
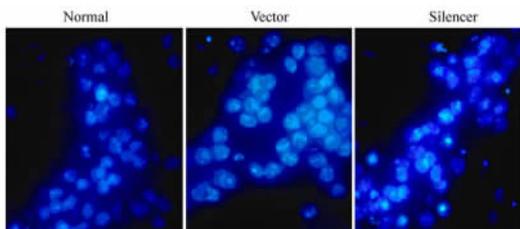


图 3 NS 基因沉默促进 A549 细胞发生凋亡

Fig. 3 Silencing of NS gene expression promoted apoptosis of A549 cells

图 4 NS 基因沉默使 A549 细胞发生凋亡  
(Hoechst33258 染色,  $\times 100$ )Fig. 4 Silencing of NS gene expression made apoptosis happened in A549 cells (Hoechst33258 staining,  $\times 100$ )

### 3 讨论

NS 是在大鼠胚胎干细胞和处于分化早期的骨髓细胞中发现的一种基因<sup>[7]</sup>,其表达的蛋白产物几乎全部都集中在干细胞核内,在干细胞处于早期多潜能状态时 NS 表达丰度很高,而在干细胞分化开始时该基因几乎完全消失<sup>[8]</sup>。而且,NS 基因在人类的肿瘤细胞中表达丰度也很高<sup>[9]</sup>。目前,NS 是干细胞和肿瘤细胞的一个公认的增殖指标,运用 RNAi 方法可抑制多种恶性肿瘤如宫颈癌 Hella 细胞<sup>[10]</sup>和食管癌 Eca-109<sup>[11]</sup>的增殖,NS 基因表达下调可导致细胞离开细胞增殖周期而发生分化<sup>[11]</sup>,但是对 NSCLC 的作用和在诊断中应用的研究还很少。

RNA 干扰技术可以高效、特异性阻断体内特定基因的表达,可通过向细胞内转染 RNA 干扰质粒来观察基因沉默后的效果,进而研究特定基因表达对肿瘤及其他疾病的影响<sup>[12-14]</sup>。本研究将携带有 NS shRNA 片段的 pcDNA4/C-NS-silencer 载体成功转染 A549 细胞,进一步研究 NS 基因对 NSCLC A549 细胞株增殖和凋亡的影响。结果显示,NS 基因沉默使

A549 细胞增殖活性明显降低,阻滞细胞周期于  $G_1/G_0$  期。此外,流式细胞术检测证实,NS 基因沉默后细胞凋亡率明显增高,提示沉默 NS 基因亦可以通过促进细胞凋亡在 NSCLC 的发生发展中起作用。

目前,NS 基因在肺癌中表达的作用主要集中在组织水平,少见相关的细胞水平研究和作用机制研究报道,有待进一步深入探讨。2010 年李娟等<sup>[6]</sup>对肺癌组织的研究显示,NS 基因的 mRNA 和蛋白在 NSCLC 组织中表达明显高于癌旁肺组织,与肿瘤的分化程度密切相关。在以往研究<sup>[15]</sup>的基础上,李娟等<sup>[6]</sup>推测,NS 基因的这种作用与其使肿瘤细胞周期  $G_1/S$ 、 $G_2/M$  两个重要阶段跃迁相关,使得肿瘤细胞一直处于细胞周期中,促进细胞有丝分裂和不断增殖。本研究从细胞水平证实了这一推测,补充了 NS 基因在 NSCLC 中作用的实验资料。以往有关 NS 基因在肿瘤中的作用研究,主要集中在食管癌<sup>[11]</sup>、乳腺癌<sup>[16]</sup>、白血病<sup>[17]</sup>、口腔癌<sup>[18]</sup>等方面,本研究提示 NS 基因在肺癌中起重要作用,能够通过调控肺癌细胞的增殖和凋亡影响肺癌的发生和发展,因此有望成为肺癌治疗的靶基因。近年来,人们也对 NS 基因是否可作为肿瘤治疗的靶点进行了有益的探索<sup>[19]</sup>,但是,NS 基因是否能成为可靠、可行的治疗靶基因,还有待于进一步地深入研究。

综上所述,A549 细胞转染 pcDNA4/C-NS-silencer 载体后,通过 RNA 干扰机制使部分 NS 基因发生沉默,明显抑制了人肺癌 A549 细胞的增殖活性,使细胞周期阻滞在  $G_0/G_1$  期,同时明显促进细胞凋亡,具体的分子机制还需要进一步探讨。本研究为治疗肿瘤提供有价值的思路,为提高人肺癌的化疗效果提供了一定的实验基础。

### [参考文献]

[1] Jemal A, Bray F, Center MM, et al. Global cancer statistics [J].

- CA Cancer J Clin, 2011, 61(2): 69-90.
- [2] Hu J, Cheng Y, Li Y, et al. MicroRNA-128 plays a critical role in human non-small cell lung cancer tumorigenesis, angiogenesis and lymphangiogenesis by directly targeting vascular endothelial growth factor-C [J]. Eur J Cancer, 2014, 50(13): 2336-2350.
- [3] Brummelkamp TR, Bernards R, Agami R. Stable suppression of tumorigenicity by virus-mediated RNA interference [J]. Cancer Cell, 2002, 2(3): 243-247.
- [4] Liu SJ, Cai ZW, Lao WD, et al. Role of nucleostemin growth regulation of gastric cancer, liver cancer and other malignancies [J]. World J Gastroenterol, 2004, 10(9): 1246-1249.
- [5] 刘冉录, 徐勇, 张志宏, 等. 核干因子在前列腺癌中的表达及其临床意义 [J]. 中华男科学杂志, 2008, 5(14): 418-422.
- [6] 李娟, 黎友伦, 程序, 等. Nucleostemin 基因在非小细胞肺癌组织中的表达及意义 [J]. 中国组织化学与细胞化学杂志, 2010, 19(3): 229-233.
- [7] Tsai RY, McKay RD. A nucleolar mechanism controlling cell proliferation in stem cells and cancer cells [J]. Genes Dev, 2002, 16(23): 2991-3003.
- [8] Tsai RY, McKay RD. A multistep, GTP-driven mechanism controlling the dynamic cycling of nucleostemin [J]. J Cell Biol, 2005, 168(2): 179-184.
- [9] Bardutzky J, Shen Q, Henninger N, et al. Differences in ischemic lesion evolution in different rat strains using diffusion and perfusion imaging [J]. Stroke, 2005, 36(9): 2000-2005.
- [10] 蔡子微, 刘思金, 孙立秋, 等. Nucleostemin 特异性 RNA 干扰对 Hela 细胞内外增殖能力的影响 [J]. 中国病理生理杂志, 2005, 21(7): 1331-1335.
- [11] 郑学芝, 刘桂莲, 李丽, 等. RNA 干扰 Nucleostemin 基因对人食管癌 Eca-109 细胞株增殖影响的实验研究 [J]. 肿瘤防治研究, 2007, 34(2): 103-106.
- [12] Feng Y, Hu J, Ma J, et al. RNAi-mediated silencing of VEGF-C inhibits non-small cell lung cancer progression by simultaneously down-regulating the CXCR4, CCR7, VEGFR-2 and VEGFR-3-dependent axes-induced ERK, p38 and AKT signalling pathways [J]. Eur J Cancer, 2011, 47(15): 2353-2363.
- [13] Guo X, Wand W, Hu J, et al. Lentivirus-mediated RNAi knockdown of NUPR1 inhibits human non-small cell lung cancer growth in vitro and in vivo [J]. Anat Rec, 2012, 295(12): 2114-2121.
- [14] Ma W, Wang D, Li L, et al. Caveolin-1 plays a key role in the oleonic acid-induced apoptosis of HL-60 cells [J]. Oncol Rep, 2014, 32(1): 293-301.
- [15] Ma H, Pederson T. Depletion of the nucleolar protein nucleostemin causes G1 cell cycle arrest via the p53 pathway [J]. Mol Biol Cell, 2007, 18(7): 2630-2635.
- [16] Kobayashi T, Masutomi K, Tamura K, et al. Nucleostemin expression in invasive breast cancer [J/OL]. BMC Cancer, 2014, 14: 215 [2014-04-15]. <http://www.biomedcentral.com/1471-2407/14/215>.
- [17] You Y, Li X, Zheng J, et al. Transcript level of nucleostemin in newly diagnosed acute myeloid leukemia patients [J]. Leuk Res, 2013, 37(12): 1636-1641.
- [18] Yoshida R, Fujimoto T, Kudoh S, et al. Nucleostemin affects the proliferation but not differentiation of oral squamous cell carcinoma cells [J]. Cancer Sci, 2011, 102(7): 1418-1423.
- [19] Gao HX, Gao XF, Wang GQ, et al. In vitro study of Nucleostemin gene as a potential therapeutic target for human lung carcinoma [J]. Biomed Environ Sci, 2012, 25(1): 91-97.
- [收稿日期] 2014-05-21 [修回日期] 2014-07-27  
[本文编辑] 黄静怡

· 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 *RAFI* (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*、*BamH 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*、面积 *A* (或 *S*)、体积 *V*、质量 *m*、时间 *t*、压力 *p*、相对分子质量 *M<sub>r</sub>*、物质的量浓度 *c<sub>B</sub>* 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)