

• 论 著 •

[文章编号] 1007-385X(2006)06-0462-04

死亡受体 5 胞外区域的重组、表达及活性鉴定

张长弓¹, 宋玉国³, 李文珠², 王 莉², 陈彩霞², 庄国洪¹ (1 厦门大学 医学院, 福建厦门 361005, 2 厦门大学 生命科学学院, 福建厦门 361005, 3 北华大学 医学院, 吉林 132011)

[摘 要] 目的: 构建死亡受体 5 (death receptor 5, DR5) 胞外区域 (eDR5) 的表达载体, 表达纯化重组蛋白并鉴定其生物特性。方法: 通过重叠 PCR 获得 DR5 胞外段编码序列, 构建 pET-22b(+)/DR5 表达载体, 转化大肠杆菌 BL21(DE3), IPTG 诱导表达, N^{i+} 柱亲和纯化, SDS-PAGE 直接 ELISA 鉴定纯化产物的纯度和特异性, 用 MTT 法检测 eDR5 蛋白阻断 DR5 单克隆抗体 FMU1.5 和 TRAIL 诱导人胶质瘤细胞株 U343(高表达 DR5)、U373(低表达 DR5) 细胞凋亡的作用。结果: 获得了 DR5 胞外段编码序列, 目的蛋白在上清及包涵体中都有表达, 表达量占菌体总蛋白的 30% 以上, 纯化的重组蛋白纯度达 95% 以上, 蛋白产量达 9 mg/ml。ELISA 结果表明所纯化蛋白为 eDR5。eDR5 蛋白可部分阻断 FMU1.5 和 TRAIL 诱导人胶质瘤细胞株 U343 细胞凋亡的作用, 其阻断率与 DR5 表达相关。结论: 死亡受体 5 胞外段基因的成功重组、表达及纯化, 为进一步的功能研究奠定了基础。

[关键词] 死亡受体 5; 基因克隆; 表达; 胶质瘤细胞; 细胞凋亡

[中图分类号] Q786 [文献标识码] A

Construction and expression of extracellular domain of human death receptor 5 and detection of its biological activity

ZHANG Chang-gong¹, SONG Yu-guo³, LIW en-zhu², WANG L², CHEN Cai-xia², ZHUANG Guo-hong¹ (1 Medical College, Xiamen University, Fujian Xiamen 361005, China; 2 School of Life Science, Xiamen University, Fujian Xiamen 361005, China; 3 Medical College, Beihua University, Jilin 132011)

[Abstract] **Objective** To construct the expressing vector of the extracellular domain of death receptor 5 (DR5), express it *E. coli*, identify the purified DR5 protein and study its biological activity. **Methods** The extracellular domain of DR5 (eDR5) was assembled by overlapping PCR. The expression vector pET-22b(+)/DR5 was constructed and transformed into *E. coli* BL21(DE3). The expression of eDR5 protein was induced by IPTG and purified by N^{i+} -affinity chromatographic column. The purity and specificities were detected by SDS-PAGE and ELISA, respectively. The blocking effects of purified eDR5 on FMU1.5-induced apoptosis of U343, U373 cells were observed. **Results** The extracellular domain of DR5 was obtained by overlapping PCR. The eDR5 protein was expressed in both supernatants and inclusion bodies with a yield more than 30% of total bacterial proteins. The purity of eDR5 was more than 95% and the yield reached 9 mg/ml. The result of ELISA showed the purified protein was eDR5. Purified eDR5 partially blocked the apoptosis of U343 cells induced by FMU1.5 and TRAIL. **Conclusion** The successful construction, expression, and purification of the extracellular domain of DR5 protein lays a foundation for further study of DR5 function.

[Key words] death receptor 5; gene clone; expression; glioma cell; cell apoptosis

[Chin J Cancer Biother 2006, 13(6): 462-465]

死亡受体 5 (death receptor 5, DR5) 是肿瘤坏死因子相关凋亡诱导配体 (TNF-related apoptosis inducing ligand, TRAIL) 的特异性、高亲和力受体之一, 与 TRAIL 结合后可有效激活细胞内信号转导途径, 诱导细胞发生凋亡反应^[1]。现有的研究^[2]表明, DR5 在肺癌、胃肠道肿瘤、脑恶性胶质瘤、胰腺癌、肝癌等恶性肿

瘤组织中都有不同程度的表达。抗 DR5 单克隆抗体

[基金项目] 厦门大学科研启动基金资助 (No. z03103)

[作者简介] 张长弓 (1964-), 男, 福建人, 讲师, 主要从事抗体工程研究; 宋玉国 (1962-), 男, 副教授, 硕士生导师, 主要从事肿瘤免疫学研究。张长弓与宋玉国共为第一作者

[通讯作者] 庄国洪, E-mail: zhuanguohong@yahoo.com.cn

mDR5-6可诱导人白血病 T 细胞 (Jurkat) 凋亡^[3]。研究提示, 抗 DR5 单克隆抗体与 IL-21 或抗 CD40 和抗 CD137 单克隆抗体联合应用具有协同抗肿瘤作用^[4-5]。Cao 等^[6]研究发现通过缺氧/复氧途径可以上调 DR5 的表达以增强 TRAIL 诱导肝癌细胞凋亡的作用。强心苷、毛地黄酮通过上调 DR5 的表达启动 TRAIL 诱导非小细胞肺癌等肿瘤细胞凋亡的作用^[7-8]。死亡受体 DR5 是肿瘤生物治疗的重要靶点, 以死亡受体为靶点的肿瘤生物治疗已成为研究热点^[9-10]。本实验采用重叠 PCR 方法成功获得人死亡受体 DR5 的胞外段区域编码序列, 并成功表达、纯化得到 DR5 胞外区蛋白质 (extracellular domain of DR5, eDR5), 这将为进一步抗肿瘤的功能研究奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料

大肠杆菌 BL21(DE3) 菌株、质粒 pET-22b(+) 均购自 Novagen 公司。引物由上海生工公司合成。限制

性内切酶、T4 DNA 连接酶及 Pfu DNA 聚合酶为 NEB 公司产品。质粒提取及胶回收试剂盒为 OMEGA 公司产品。Ni²⁺ HiTrap Chelating HP 树脂为 Amersham Pharmacia Biotech 公司产品。抗 DR5 鼠单克隆抗体 FMU1.5 由第四军医大学金伯泉教授惠赠, 人神经胶质瘤细胞株 U343(高表达 DR5)、U373(低表达 DR5) 由加拿大阿尔博塔大学郝春海博士提供。重组人可溶性 TRAIL (sTRAIL) 为 Peprotech 公司产品, HRP 标记的羊抗鼠 IgG 抗体由厦门波生公司惠赠。

1.2 DR5 胞外段表达载体的构建

从 NCBI 上查得 DR5 cDNA 胞外段序列, 将其分成 10 个长引物片段分别合成, 每对引物有 12 个碱基互补, 通过重叠 PCR 拼接到 DR5 胞外段序列, 引入 *Nco* 和 *Xho* 酶切位点。与质粒 pET-22b(+) 构建 pET22b(+)/DR5 重组载体。反应条件为: 95 °C 变性 40 s, 58 °C 退火 45 s, 72 °C 延伸 1 min, 循环数为 30。

表 1 DR5 胞外段引物及重叠 PCR 的操作流程

Tab 1 Primers of extracellular domain of DR5 and overlapping PCR procedure

Order of overlapping PCR	Primer	Products (bp)	
A9	F9 5'-TCTCCTCCACAGCTGGGGCTTCCCCACTGTGCTTTGTACCTGATTCTTTGTGGACACAT-3'	106	
	R10 5'-CTCGAGAGAACAGGGAGAGGCAGGAGTCCCTGGGTGGAGGTCACCGTCTCCTCCACAG-3'		
	A8	F1 5'-ATGGCCATGGATATCACCAACAAGACCTAGCTCCCAGCAGAGAGCGGCCCAACAAC-3'	106
		R2 5'-CGGCCCCACAACAAAAGAGGTCCAGCCCCCTAGAGGGATTGTGTCCACCTGGACACCAT-3'	
	A6	F3 5'-CCTGGACA CCATATCTCAGAAGACGGTAGAGATTGCATCTCCTGCAAATATGGACAGGA-3'	106
		R4 5'-TGGTGCAGCGCAAGCAGAAAAGGAGGTCATTCCAGTGAGTGCTATAGTCTGTCATATA-3'	
	A3	F5 5'-TCTGGTCGTGGTGCACGACTTAGCTCCACTTCACCTGAATCACACCTGGTGCAGCGCA-3'	106
		R6 5'-GAATCTTCTCCCGGAAGGTGCCTTCTTCGCACTGACACACTGTGTTCTGGTCTGGT-3'	
	A7	F7 5'-AAGAAAGATTCTCCTGAGATGTGCCGGAAGTGCCGCACAGGGTGTCCAGAGGGATGGTC-3'	106
		R8 5'-AGAGGGATGGTCAAGGTCCGGTATTGTACACCTGGAGTGACATCGAATGTGTCCACAA-3'	

1.3 eDR5 表达载体的构建及 eDR5 的表达和纯化

1.3.1 表达载体的构建 PCR 扩增产物及质粒分别用限制性内切酶 *Nco* 和 *Xho* 消化, 胶回收。在 T4 DNA 连接酶催化下, 将 eDR5 基因克隆至质粒 pET-22b(+) 中, 构建成重组质粒 pET-22b(+)/DR5 转化 *E. coli* BL21(DE3)。重组子进行菌液 PCR 鉴定、酶切鉴定, 阳性克隆送上海博亚公司测序。

1.3.2 eDR5 的表达和纯化 挑测序正确的重组质粒 pET-22b(+)/DR5 的 *E. coli* BL21(DE3) 单菌落, 37 °C 振荡培养过夜, 按 1:100 稀释到 LB 培养液中, 振荡培养至 D_{600} 值约为 0.6~0.8 时, 加入终浓度为 0.5 mmol/L 的 IPTG 诱导表达 5 h。Ni 柱亲和层析纯化蛋白, 采用透析法复性, 12% SDS-PAGE 分析表达量与纯

度。Lowry 法^[11]绘制牛血清白蛋白标准浓度曲线, 经拟合获得蛋白浓度与 640 nm 波长光密值 (D_{640}) 的直线方程, 按常规方法计算待测蛋白质的浓度。

1.4 ELISA 法鉴定 eDR5 蛋白的特异性

用纯化的 eDR5 (5 μ g/ml) 包被酶标板 100 μ l/孔, 4 °C 过夜, 以等浓度的 BSA 作为阴性对照, 各 3 复孔。37 °C 封闭 1 h, 加 1:5 000 稀释的 FMU1.4 FMU1.5 各 100 μ l/孔, 37 °C 温育 1 h, 加 HRP 标记的羊抗鼠抗体 100 μ l/孔, 37 °C 温育 30 min, 加入过氧化氢和 TMB 各 50 μ l/孔, 避光显色 15 min, 以 2 mol/L H_2SO_4 终止反应, 每个步骤间都要 PBST 洗涤 5 次, 晾干。在酶标仪上波长为 450 nm 波段测定各孔光密度值。

P/N 值 = (被检样品 D 值 - 空白对照 D 值) / (阴

性样品 D 值 - 空白对照 D 值), 以样品的 PN 值 ≥ 2.1 判为阳性, 反之则为阴性。

1.5 MTT 法^[12] 检测可溶性 α DR5 对 EMU1.5 TRAIL 诱导胶质瘤细胞凋亡的阻断效应

将 U343 U373 细胞种于 96 孔细胞培养板 (每孔 2×10^5 细胞), 24 h 后细胞铺满 60% 左右, 分别用 1.25~40 $\mu\text{g/ml}$ 的 α DR5 和 EMU1.5 (40 $\mu\text{g/ml}$)、TRAIL (100 ng/ml) 处理 U343 U373 细胞, 空白对照孔只加含血清培养液, 每种浓度设置 3 个平行复孔, 37 $^\circ\text{C}$ 、5% CO_2 继续培养 4 h 后加 20 μl MTT (7.5 mg/ml) 继续培养 4 h 加 100 μl 异丙醇, 在混合震荡器上震荡 10 min 使结晶充分溶解, 以酶联检测仪测 D_{570} 光密度值。本实验重复 3 次, 取平均值。细胞毒性 (%) = $(1 - \frac{\text{实验组 } D_{570}}{\text{对照组 } D_{570}}) \times 100\%$

2 结果

2.1 DR5 胞外域编码序列的重组

经重叠 PCR 将 10 个长引物片段拼接成完整的 α DR5 编码序列。第一步 PCR 反应: F1+R2 F3+R4 F5+R6 F7+R8 F9+R10 分别生成产物 A1, A2, A3, A4, A5; 第二步 PCR 反应: A1+A2, A3+A4 分别生成产物 A6, A7; 第三步 PCR 反应: A5+A6 生成产物 A8; 第四步 PCR 反应: A7+A8 生成产物 A9, 即为带有酶切位点的 α DR5 胞外段序列。图 1 的 1~4 泳道中分别可见 A1 (106 bp)、A6 (200 bp)、A8 (294 bp)、A9 (465 bp) 的产物条带, 均与理论值相符。

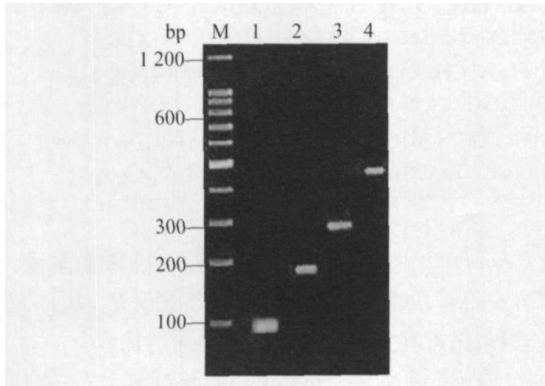


图 1 DR5 胞外域编码序列重组的 PCR 产物电泳图
Fig 1 Agarose gel electrophoresis of PCR product of α DR5
M: DNA markers; 1: A1 (102 bp); 2: A6 (200 bp); 3: A8 (294 bp); 4: A9 (465 bp)

2.2 重组 pET22b(+) /DR5 质粒的鉴定

重组子利用通用引物和 α DR5 特异引物进行 PCR 鉴定, 阳性的克隆提取质粒经 *Nco* 及 *Xho* 酶切后, 琼脂糖凝胶电泳鉴定, 得到两条目的条带, 分别为 α DR5 条带 (465 bp)、pET-22b(+) 条带 (5 482 bp)。(图

2)。阳性克隆送上海博亚公司测序, 测序结果表明获得一正确序列的重组子。

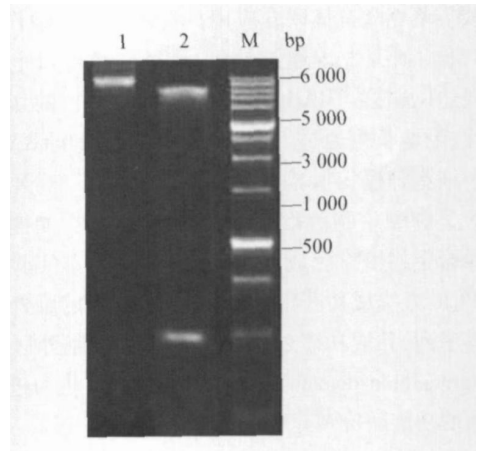


图 2 重组 pET22b(+) /DR5 质粒的双酶切鉴定
Fig 2 Identification of recombinant pET22b(+) /DR5
1: pET22b(+) /DR5; 2: pET22b(+), α DR5 (465 bp); M: DNA markers

2.3 DR5 胞外段在大肠杆菌中的表达及纯化

含重组质粒 pET-22b(+) /DR5 的 *E. coli* BL21 (DE3) 经 IPTG 诱导, 目的蛋白在上清及包涵体中都有表达, 表达量占菌体总蛋白的 30% 以上。包涵体经尿素洗涤和溶解, Ni^{2+} 柱纯化后复性。复性用透析法, 采用逐步降低尿素浓度的方法除去蛋白质溶液中的尿素。纯化蛋白的 SDS-PAGE (图 3) 显示, 在相对分子质量 17 000 附近有一特异条带, 符合目的蛋白理论推算值 (约 16 740), 扫描分析显示其纯度达 95% 以上。

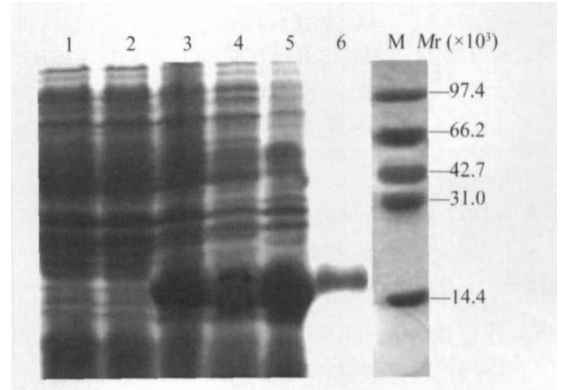


图 3 SDS-PAGE 分析 α DR5 的表达及纯化
Fig 3 SDS-PAGE analysis of α DR5 protein expression and purity

1: pET-22b(+) /DR5(-); 2: IPTG (-) pET-22b(+) /DR5(+); 3: IPTG (+) pET-22b(+) /DR5(+); 4: Bacterial supernatant; 5: Inclusion bodies; 6: After Ni^{2+} purifying; M: Protein markers

以 Lowry 法测定绘制牛血清白蛋白浓度标准曲线, 其光密度 (X) 和浓度 (Y) 的相关系数 $r = 0.999$, 得直线方程为 $Y = 0.0032X + 0.063$, 以此方程测定并计算纯化的 eDR5 蛋白浓度为 9 mg/ml 。

2.4 目的蛋白 eDR5 的特异性鉴定

经过 ELISA 检测, 纯化后得到的蛋白可以与 FMU1.5 特异结合, 其 P/N 值均大于 2.1, 而与 FMU1.4 无交叉反应, 3 次所测得的结果均相同, 说明复性后的融合蛋白是纯化的 eDR5 蛋白。

2.5 重组 eDR5 对 FMU1.5 和 TRAIL 诱导 U343 细胞凋亡的阻断作用

为检测 eDR5 的生物活性, 将 eDR5 分别与 DR5 单抗 FMU1.5、TRAIL 联合作用 U343 (高表达 DR5) 及 U373 (低表达 DR5) 细胞。结果显示, 在 U343 细胞 (图 4A), 在 eDR5 为 0 时, FMU1.5 可诱导细胞凋亡达 75% 以上, TRAIL 可诱导细胞凋亡达 90% 左右; 加入 eDR5 后可部分阻断细胞凋亡, 当 eDR5 $40 \text{ } \mu\text{g/ml}$ 和 FMU1.5 共同作用时, 细胞凋亡率减少至 13.87%。在 U373 细胞 (图 4B), 不论 eDR5 的剂量高低, 都基本没有影响细胞凋亡率的变化。

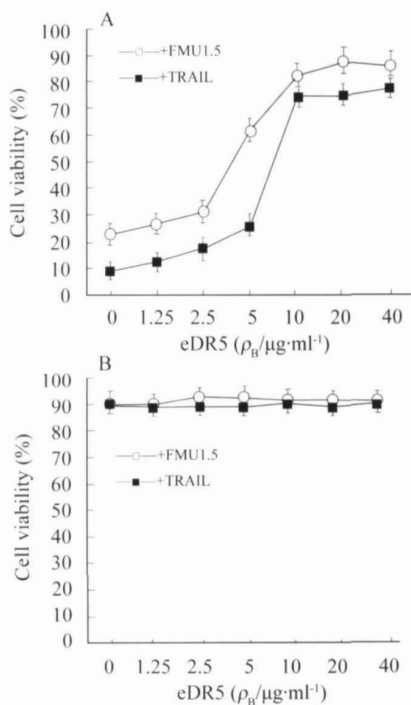


图 4 eDR5 阻断 Anti-DR5 mAb FMU1.5、TRAIL 诱导 U343(A) 和 U373(B) 细胞凋亡效应

Fig 4 Blocking effect of eDR5 on apoptosis of U343(A) and U373(B) cells induced by Anti-DR5 FMU1.5 TRAIL

3 讨论

本实验通过重叠 PCR 获得完整的 DR5 胞外段序

列 (465 bp), 并成功构建 pET-22b(+)/DR5 重组体, 基因产物在大肠杆菌 BL21 的培养上清及包涵体中都有表达, 蛋白的表达量占菌体总蛋白的 30% 以上, 经 SDS-PAGE 显示在相对分子质量为 17 000 附近有明显表达条带, 与编码的理论推算值相符。经 Ni^{2+} 树脂亲和层析进行纯化后表达蛋白的纯度达 95%。ELISA 检测显示表达纯化产物可与 FMU1.5 特异结合, 与 FMU1.4 没有反应, 说明得到的蛋白是 eDR5 并具有一定的抗原活性。

文献 [12] 证实 U343 细胞高表达 DR5 (86.5%), FMU1.5 $40 \text{ } \mu\text{g/ml}$ 可诱导 77.33% U343 细胞凋亡。当 U343 细胞中加入外源 eDR5 时, eDR5 通过与 FMU1.5 特异性结合竞争抗体与膜 DR5 的结合从而阻断 FMU1.5 对 U343 细胞的凋亡诱导作用。实验证实加入 $40 \text{ } \mu\text{g/ml}$ 外源 DR5 时 FMU1.5 对 U343 细胞的凋亡诱导率为 13.87%, 其最高阻断率近 53.5%, 说明 eDR5 具有一定的生物学活性。U373 细胞低表达 DR5 (2.61%), FMU1.5 $40 \text{ } \mu\text{g/ml}$ 可诱导 8.9% U373 细胞凋亡, 当 eDR5 存在时 $40 \text{ } \mu\text{g/ml}$ FMU1.5 对 U373 的凋亡诱导作用没有改变。eDR5 不能阻断 FMU1.4 的凋亡诱导作用。同样 eDR5 可以阻断 TRAIL 对 U343 细胞的凋亡诱导作用而对 U373 细胞的阻断作用不明显。这说明 eDR5 阻断 FMU1.5、TRAIL 的凋亡诱导作用与细胞表面 DR5 的表达相关, 也证实所表达纯化的 DR5 胞外段具有生物活性。我们用表达纯化的 eDR5 免疫 BLAB/c 鼠已经制备了抗 eDR5 特异的单克隆抗体, 该抗体可以诱导表达 DR5 的细胞凋亡 (另见报道)。

本研究获得人 DR5 胞外段基因, 获得高纯度 (95%) 有活性的 eDR5 蛋白, 为人源性抗体的筛选和基因治疗以及凋亡途径的研究奠定基础。

[参考文献]

- [1] W akzak H, Degli-Esposti MA, Johnson RS, *et al*. TRAIL-R2: A novel apoptosis-inducing receptor for TRAIL [J]. *EMBO J* 1997, 16 (17): 5386-5397.
- [2] Screaton GR, Mongkolsapaya J, Xu XN, *et al*. TRICK2: a new alternatively spliced receptor that transduces the cytotoxic signal from TRAIL [J]. *Curr Biol* 1997, 7: 693-696.
- [3] 刘广超, 马远方, 张 军, 等. 抗人 DR5 抗体 mDR5-6 细胞毒作用机制分析 [J]. *细胞与分子免疫学杂志*, 2006, 22(6): 790-793.
- [4] Smyth MJ, Hayakawa Y, Creteney E, *et al*. IL-21 enhances tumor-specific CTL induction by anti-DR5 antibody therapy [J]. *J Immunol* 2006, 176(10): 6347-6355.
- [5] Ken MA, Haug AM, Kodh AF, *et al*. Cyclooxygenase-2 inhibition (下转第 468 页)

滞细胞周期的作用更为明显所致;与消癌平合用 G₀-G₁ 期阻滞更明显,表明两药协同作用于此期。肿瘤是一个全身性疾病,综合治疗已成为共识, p53 基因治疗为综合治疗肿瘤开辟了新的天地。本实验通过重组 p53 腺病毒注射液联合中药对腹水瘤的实验研究,希望能为其进一步临床应用提供参考依据。

[参考文献]

[1] Sadeghi B, Arvieux C, Glehen O, *et al*. Peritoneal carcinomatosis from non-gynecologic malignancies: Results of the EVOCAPE 1 multicentric prospective study[J]. *Cancer*, 2000, 88: 358-363.

[2] 戚晓东, 王江, 魏政立, 等. 纤维蛋白黏合剂包埋顺铂治疗腹膜移植瘤的研究[J]. *中华实验外科杂志*, 2003, 20(10): 955

[3] Buller RE, Runnebaum IB, Karlan BY, *et al*. A phase I trial of Ad/p53 (SCH 58500) gene replacement in recurrent ovarian cancer[J]. *Cancer Gene Ther* 2002, 9(7): 553-566

[4] Soslow RA, Slamonitz BM, Saqi A, *et al*. Tumor suppressor gene cell surface adhesion molecule and multidrug resistance in mullerian serous carcinomas: Clinical divergence without immunophenotyp-

ic differences[J]. *Gynecologic Oncology*, 2000, 79: 430-437.

[5] Hong CY, Huang SC, Lin SK, *et al*. Norcantharidin-Induced post-G₂/M apoptosis is dependent on wild-type p53 gene[J]. *Biochim Biophys Res Commun* 2000, 276(1): 278-285

[6] Levine AJ. p53, the cellular gatekeeper for growth and division[J]. *Cell* 1997, 88(3): 323-331.

[7] Zhang L, Yu D, Hu M, *et al*. Wild-type p53 suppresses angiogenesis in human leiomyosarcoma and synovial sarcoma by transcriptional suppression of vascular endothelial growth factor expression [J]. *Cancer Res* 2000, 60(13): 3655-3661.

[8] Ohtani S, Kagawa S, Tango Y, *et al*. Quantitative analysis of p53-targeted gene expression and visualization of p53 transcriptional activity following intratumoral administration of adenoviral p53 *in vivo* [J]. *Mol Cancer Ther* 2004, 3(1): 93-100

[9] 李茂全, 沈建华, 胥彬, 等. 消癌平对 SGC-27901 胃癌细胞的作用及机制的实验研究 [J]. *介入放射学杂志*, 2001, 10(4): 228-231

[收稿日期] 2006-10-08 [修回日期] 2006-11-20
[本文编辑] 王莹

(上接第 465 页)

induces apoptosis signaling via death receptors and mitochondria in hepatocellular carcinoma[J]. *Cancer Res* 2006, 66(14): 7059-7066

[6] Cao L, Li Y, Cheng F, *et al*. Hypoxia/reoxygenation up-regulated the expression of death receptor 5 and enhanced apoptosis in human hepatocyte line[J]. *Transplant Proc* 2006, 38(7): 2207-2209

[7] Frese S, Frese-Schaper M, Andres AC, *et al*. Cardiac glycosides initiate Apo2L/ TRAIL- induced apoptosis in non-small cell lung cancer cells by up-regulation of death receptors 4 and 5[J]. *Cancer Res* 2006, 66(11): 5867-5874

[8] Horinaka M, Yoshida T, Shiraishi T, *et al*. Lutetolin induces apoptosis via death receptor 5 upregulation in human malignant tumor cells[J]. *Oncogene* 2005, 138(1): 71-77

[9] SbotAM, Tur V, Szegezdi E, *et al*. Designed tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand variants initiating apoptosis exclusively via the dDR5 receptor[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103(23): 8634-8639.

[10] Park SJ, Wu CH, Choi MR, *et al*. P-glycoprotein enhances TRAIL-triggered apoptosis in multidrug resistant cancer cells by interacting with the death receptor dDR5[J]. *Biochim Pharmacol* 2006, 72(3): 293-307

[11] 梁晓红, 孙汶生, 高立芬, 等. 重组人可溶性 dDR5 蛋白的表达、制备及其生物活性检测 [J]. *山东大学学报*, 2004, 42(3): 252-255

[收稿日期] 2006-08-30 [修回日期] 2006-12-10
[本文编辑] 王莹

• 读者 • 作者 • 编者 •

文稿中计量单位使用的要求

本刊严格执行国务院颁发的《中华人民共和国法定计量单位》,全面贯彻国家标准 GB3100-3102-1993《量和单位》的规定,正确使用量和单位的名称和符号。量符号以斜体拉丁和希腊字母表示 (pH 用正体除外),例如 *m* (质量)、*t* (时间)、*c* (浓度)、*V* (体积)、*p* (压力)、*F* (力) 等。单位符号一律以正体拉丁或希腊字母表示,例如 kg (千克)、m (米)、h (小时)、mol/L (摩尔每升) 等。表示人体检验指标的量浓度或质量浓度时,一般使用 L (升) 作为检验组含量单位的分母。表示用剂质量单位时,不能写成 mg/kg/d 的形式,应写成 mg/(kg·d) 或 mg·kg⁻¹·d⁻¹ 的形式。单位符号常见书写错误: 长度单位符号 A° (埃) 已不用,应写作 0.1 nm; 时间单位“小时”符号为 h (不是 hr)、“秒”符号为 s (不是 sec); 转速单位符号为 r/min (不是 rpm); 量浓度单位符号为 mol/L (不是 M、N, 也不是 mol/mm³); 力的单位“牛顿”符号为 N [不是 dyn (达因)、kgf (千克力), 换算 1 dyn = 10⁻⁵ N]; 热量单位“焦耳”符号为 J [不是 cal (卡)、kcal (千卡), 换算 1 cal = 4.187 J]; 放射性活度单位符号为 Bq [不是 Ci (居里), 换算 1 Ci = 3.7 × 10¹⁰ Bq]。

(本刊编辑部)