

DOI: 10.3779/j.issn.1009-3419.2006.02.06

· 研究生专栏 ·

重组人 p53 腺病毒注射液(今又生) 对人肺腺癌细胞生长及化疗敏感性研究

王朝霞 陆彬彬 王腾 德伟 束永前

【摘要】 背景与目的 在肺癌中, p53 突变是最常见的基因改变之一, p53 基因的突变常导致细胞对化疗不敏感。有研究表明导入野生型 p53 基因能增加化疗药物的敏感性。本研究的目的是探讨重组人 p53 腺病毒注射液(Ad-p53, 今又生, Gendicine) 对人肺腺癌细胞生长及化疗敏感性的影响。方法 将重组腺病毒载体所携带的野生型 p53 基因导入人肺腺癌细胞株 GLC-82(含突变型 p53 基因)及 A549(含野生型 p53 基因), 并联合应用化疗药物顺铂(DDP), 通过 Western blot 法分析外源野生型 p53 基因在细胞内的表达, MTT 法和流式细胞术观察对细胞生长及细胞周期、凋亡的影响。结果 通过 Western blot 证实了外源 p53 基因能在 GLC-82 及 A549 细胞中高效表达。MTT 法观察到 Ad-p53 对肺癌细胞的抑制作用呈时间依赖性和剂量依赖性效应。100 MOI Ad-p53 与 0.5 mg/L DDP 联合应用后 72 h, 对 A549 细胞的生长抑制率达 43.13% ± 0.72%, 显著高于单用 Ad-p53 组(23.44% ± 0.54%, $P < 0.001$)和 DDP 组(14.17% ± 1.39%, $P < 0.001$); 对 GLC-82 细胞生长的抑制率达 63.73% ± 0.92%, 显著高于单用 Ad-p53 组(41.51% ± 0.59%, $P < 0.001$)和 DDP 组(56.11% ± 1.12%, $P < 0.001$)。流式细胞术检测结果显示, Ad-p53 与 DDP 联合应用能使细胞阻滞于 G₀-G₁ 期, S 期细胞比例明显减少。Ad-p53 + DDP 组 A549 细胞凋亡率为 28.99% ± 1.07%, 显著高于单用 Ad-p53 组(15.35% ± 1.31%, $P < 0.001$)和 DDP 组(1.74% ± 0.77%, $P < 0.001$); Ad-p53 + DDP 组 GLC-82 细胞凋亡率为 62.98% ± 2.43%, 显著高于单用 Ad-p53 组(20.88% ± 0.71%, $P < 0.001$)和 DDP 组(6.91% ± 1.52%, $P < 0.001$)。结论 重组人 p53 腺病毒注射液能抑制肺腺癌细胞的生长, 并不受内源性 p53 状态的影响。它与抗癌药 DDP 联用能显著增加肺腺癌细胞的化疗敏感性。

【关键词】 肺肿瘤 基因治疗 p53 基因 顺铂

【中图分类号】 R734.2

Effect of recombinant adenovirus p53 on growth and chemosensitivity of human lung adenocarcinoma cell lines

WANG Zhaoxia, LU Binbin, WANG Teng, DE Wei, SHU Yongqian. Cancer Center, The First Affiliated Hospital, Nanjing Medical University, Nanjing, Jiangsu 210029, P. R. China

Corresponding author: SHU Yongqian, E-mail: YQSHU@Medmail.com.cn

【Abstract】 **Background and objective** p53 gene is the most commonly mutated gene in lung cancer. p53 mutation results in insensitivity of cells when exposed to chemotherapy. It has been reported that adenovirus-mediated wild-type p53 gene transfection into lung cancer cells can enhance the cytotoxic effect of anti-cancer drugs. The aim of this study is to evaluate the effects of domestic recombinant adenovirus-p53 (Ad-p53, Gendicine) on growth and chemosensitivity of human lung adenocarcinoma cell lines. **Methods** Human lung adenocarcinoma cell lines GLC-82 (including mutant p53) and A549 (including wild-type p53) were treated with Ad-p53, cisplatin (DDP) or Ad-p53 + DDP respectively. p53 expression was detected by Western blot. The cell growth inhibition was assessed by MTT, and cell cycle and apoptosis were detected by flow cytometry. **Results** High-level p53 expression was detected in Ad-p53 infected GLC-82 and A549 cells by Western blot. There was a dose-dependent and time-dependent inhibition of cell proliferation by Ad-p53. After combined treatment with Ad-p53 (100 MOI) and DDP (0.5 mg/L) for 72 h, the growth inhibition rate of A549 cells was 43.13% ± 0.72%, which was significantly higher than that in Ad-p53 group (23.44% ± 0.54%, $P < 0.001$) and DDP group (14.17% ± 1.39%, $P < 0.001$); and the growth inhibition rate of GLC-82 cells was 63.73% ± 0.92%, which was significantly higher than that in Ad-p53 group (41.51% ± 0.59%, $P < 0.001$) and DDP group (56.11% ± 1.12%, $P < 0.001$). Combined administration of Ad-p53 and DDP remarkably arrested A549 and GLC-82 cells in G₀-G₁, and cells in S phase significantly decreased. Meanwhile the apoptotic

rate of A549 cells was 28.99% \pm 1.07% in Ad-p53 + DDP group, which was significantly higher than that in Ad-p53 group (15.35% \pm 1.31%, $P < 0.001$) and DDP group (1.74% \pm 0.77%, $P < 0.001$). The apoptotic rate of GLC-82 cells was 62.98% \pm 2.43% in Ad-p53 + DDP group, which was significantly higher than that in Ad-p53 group (20.88% \pm 0.71%, $P < 0.001$) and DDP group (6.91% \pm 1.52%, $P < 0.001$). **Conclusion**

Ad-p53 (Genticine) can inhibit the growth of human lung adenocarcinoma cell lines irrespective of the status of endogenous p53 gene. Its combination with DDP may significantly enhance the chemosensitivity of human lung adenocarcinoma cells to DDP.

【Key words】 Lung neoplasms Gene therapy p53 gene Cisplatin

野生型 p53 基因是重要的抑癌基因,它所编码的 p53 蛋白在参与细胞周期调控、诱导细胞凋亡的过程中发挥着关键性的作用^[1,2]。p53 基因的突变或缺失导致细胞遗传不稳定和对化疗及放射治疗不敏感^[3]。肺癌中 p53 基因的突变率较高,在肺癌细胞中导入野生型 p53 基因能增加对多种化疗药物的敏感性^[4]。虽然国外重组人 p53 腺病毒制剂(recombinant adenovirus-p53, Ad-p53)在肺癌的研究已有较多的报道,但国内研制的基因治疗药物重组人 p53 腺病毒注射液(今又生, Genticine)目前只有头颈鳞癌方面的研究报道。自 2004 年 10 月~2005 年 4 月我们应用该 Ad-p53 制剂将重组腺病毒载体所携带的野生型 p53 基因导入人肺腺癌细胞株 GLC-82(含突变型 p53 基因)及 A549(含野生型 p53 基因),并联合肺癌常用化疗药物顺铂(DDP),观察对不同内源 p53 基因状态的人肺腺癌细胞的抑制作用及其化疗敏感性的影响。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂、仪器 人肺腺癌细胞株 GLC-82 购自中科院肿瘤所分子肿瘤学国家重点实验室, A549 购自上海细胞所。试剂: Ad-p53 注射液(今又生)由深圳市赛百诺基因技术公司提供, DDP 购自山东齐鲁制药厂, 一抗兔抗人 p53 多克隆抗体(FL-393: sc-6243)及羊抗兔二抗购自 Santa Cruz 公司, 一抗羊抗人 β -actin 单克隆抗体及兔抗羊二抗购自 Sigma 公司, RPMI 1640 购自 GIBCO 公司, 新生牛血清购自中美合资兰州民海生物工程有限公司, 噻唑蓝(MTT)、DMSO 购自 Sigma 公司。主要仪器: ELX800 酶标仪(美国 BIO-TEK INSTRUMENTS)、流式细胞仪(美国 BD-FACS Vantage SE)和半干电子转膜仪(瑞典 LKB)。

1.2 腺病毒滴度测定 Ad-p53 剂量为 1×10^{12} VP/(mL·支)(VP:病毒颗粒, virus particle), 空斑实验确定其滴度为 1×10^{10} PFU/(mL·支)(PFU:空斑形成单位, plaque-forming unit), 分装后 -20 保存。

1.3 细胞培养 GLC-82 及 A549 细胞均接种于含 10% 新生牛血清的 RPMI 1640 培养基中, 置 5% CO₂

饱和湿度、37 培养箱中培养。细胞为贴壁生长, 0.125% 的胰蛋白酶消化传代, 1~2 天换液一次。

1.4 Western blot 检测 将 1×10^6 GLC-82 及 A549 细胞接种于培养瓶中, 24 h 后换液。Ad-p53 组: 分别将 Ad-p53 按 25、50、100 PFU/细胞的感染复数(multiplicity of infection, MOI)感染细胞, 继续培养 24、48、72 h 后提取细胞总蛋白质; Ad-p53 联合 DDP 组: 先将 100 MOI Ad-p53 感染细胞, 1 h 后加入含 DDP 终浓度为 0.5 mg/L 的 RPMI 1640 完全培养基, 72 h 后提取细胞总蛋白质; DDP 组: 加入含 DDP 终浓度为 0.5 mg/L 的 RPMI 1640 完全培养基, 72 h 后提取细胞总蛋白质。用 Bradford 法测定蛋白质浓度。分别取 30 μ g 蛋白质在 10% 聚丙烯酰胺凝胶 15 mA 电泳 3 h, 30 mA 半干转膜 2 h, 5% 脱脂牛奶室温封闭 1 h, 接着分别与兔抗人 p53 多克隆抗体(1:500)和羊抗人 β -actin 单克隆抗体(1:2000)室温温育 2 h, 然后分别与辣根过氧化物酶标记的羊抗兔 IgG 抗体(1:1000)和兔抗羊 IgG 抗体(1:5000)室温温育 1 h, 应用发光试剂盒显示蛋白质条带。

1.5 MTT 比色法 取对数生长期的 GLC-82 及 A549 细胞按 1×10^4 /孔接种于 96 孔培养板, 每孔加液量 200 μ L。24 h 后换液, 设空白调零组(不接种细胞)、对照组(加入等量溶剂生理盐水)及实验组(Ad-p53、DDP 单药组: 加不同浓度的干预药物; 联合用药组: 根据单药对肺癌细胞的生长抑制效应, 选用 Ad-p53 100 MOI 和 DDP 0.5 mg/L 为联合用药浓度, 加药方法同上)。每组设 3 个复孔。分别继续培养 24、48、72 h 后小心吸出培养液, 加入 MTT 试剂(5 g/L) 20 μ L, 空白调零组加入 20 μ L PBS, 继续培养 4 h 后吸出上清, 每孔加 DMSO 150 μ L, 置水平摇床上摇 15 min 后, 在酶联免疫测定仪上选择波长 490 nm, 空白孔调零, 测定各孔吸光度 A。计算细胞生长的抑制率: 抑制率 = (1 - 实验组 A 值/对照组 A 值) \times 100%。根据直线回归法计算 GLC-82 及 A549 细胞的 Ad-p53 及 DDP 的 IC₅₀ 值。

1.6 流式细胞术检测细胞周期及凋亡率 取对数生

长期的 GLC-82 及 A549 细胞,以 1×10^6 /mL 细胞数接种于培养瓶中,24 h 后换液。设对照组(不加药物)、Adp53 组(100 MOI)、DDP 组(0.5 mg/L)及 Adp53 (100 MOI) + DDP(0.5 mg/L) 组。每组均重复 3 瓶。培养 72 h 后收集所有悬浮及贴壁细胞,70%冷乙醇 4 固定 2 h, -20 保存。检测前 PBS 洗两次,加入 RNA 酶(终浓度为 50 mg/L)消化,37 水浴 30 min 后冰浴,加入碘化丙啶(PI,终浓度为 20 mg/L),暗处避光染色 30 min,上流式细胞仪检测细胞周期及凋亡率。

1.7 统计学方法 采用 SPSS11.0 软件进行分析,数

据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,各组间差异采用 *t* 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 外源性 p53 基因在 GLC-82 及 A549 细胞中的表达 Western blot 分析结果显示(图 1),未经 Adp53 转染的 GLC-82 及 A549 细胞内未见明显的 p53 蛋白表达,而腺病毒载体能介导外源野生型 p53 基因在 GLC-82 及 A549 细胞中高效表达,表达强度呈时间依赖性和剂量依赖性。

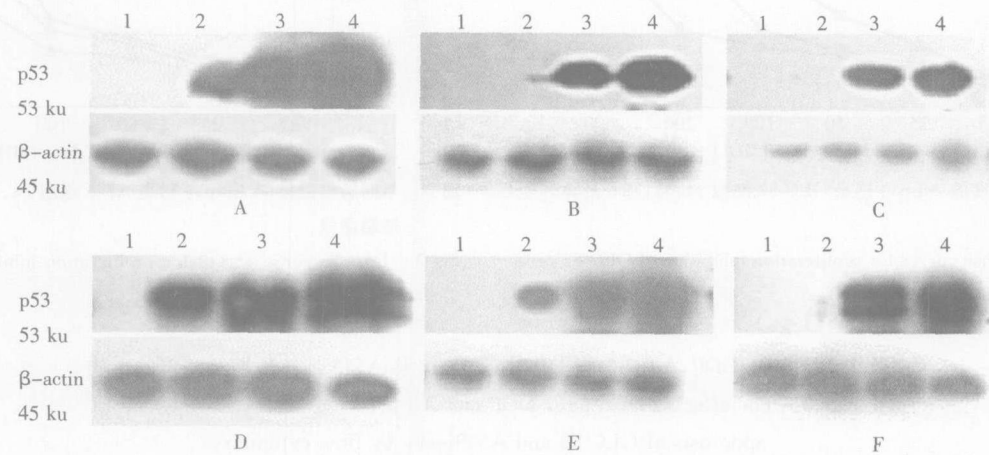


图 1 Western blot 分析 Adp53、DDP 和 Adp53 + DDP 组 GLC-82 及 A549 细胞中 p53 蛋白表达的情况

Fig 1 Western blot analysis of p53 expression in GLC-82 and A549 cells treated with Adp53, DDP or Adp53 + DDP

A: GLC-82 cells treated with Adp53: Lane 1: 0 MOI; Lane 2: 25 MOI; Lane 3: 50 MOI; Lane 4: 100 MOI. B: GLC-82 cells treated with 100 MOI Adp53: Lane 1: 0 h; Lane 2: 24 h; Lane 3: 48 h; Lane 4: 72 h. C: GLC-82 cells treated for 72 h: Lane 1: Control; Lane 2: 0.5 mg/L DDP; Lane 3: 100 MOI Adp53; Lane 4: 100 MOI Adp53 + 0.5 mg/L DDP. D: A549 cells treated with Adp53: Lane 1: 0 MOI; Lane 2: 25 MOI; Lane 3: 50 MOI; Lane 4: 100 MOI. E: A549 cells treated with 100 MOI Adp53: Lane 1: 0 h; Lane 2: 24 h; Lane 3: 48 h; Lane 4: 72 h. F: A549 cells treated for 72 h: Lane 1: Control; Lane 2: 0.5 mg/L DDP; Lane 3: 100 MOI Adp53; Lane 4: 100 MOI Adp53 + 0.5 mg/L DDP

2.2 Adp53 与 DDP 单用或联合应用对 GLC-82 及 A549 细胞生长的抑制作用 不同感染强度的 Adp53 感染 GLC-82 及 A549 细胞 24、48、72 h 的体外生长抑制曲线见图 2、3, Adp53 对肺癌细胞的抑制作用呈时间依赖性和剂量依赖性效应,与外源 p53 基因在 GLC-82 及 A549 细胞中的表达情况相一致。Adp53 和 DDP 对 A549 细胞作用 72 h 的 IC₅₀ 值分别为 184.6 MOI 和 4.8 mg/L,对 GLC-82 细胞分别为 120.2 MOI 和 0.5 mg/L。100 MOI Adp53 与 0.5 mg/L DDP 联合应用后 72 h,对 A549 细胞生长的抑制率为 43.13% ± 0.72%,与两个单药组比较差异均有统计学意义 ($P < 0.001$, $P < 0.001$);对 GLC-82 细胞生长的抑制率为 63.73% ± 0.92%,与两个单药组比较差异亦均有统计学意义 ($P < 0.001$, $P < 0.001$)。

(表 1)。

表 1 Adp53、DDP、Adp53 + DDP 对 GLC-82 及 A549 细胞的生长抑制效应

Tab 1 The effects of Adp53, DDP and Adp53 + DDP on growth inhibition of GLC-82 and A549 cells

| Group | Growth inhibition rate (%) |
|------------------------------|----------------------------|
| GLC-82 | |
| Adp53 100 MOI | 41.51 ± 0.59 |
| DDP 0.5 mg/L | 56.11 ± 1.12 |
| Adp53 100 MOI + DDP 0.5 mg/L | 63.73 ± 0.92* |
| A549 | |
| Adp53 100 MOI | 23.44 ± 0.54 |
| DDP 0.5 mg/L | 14.17 ± 1.39 |
| Adp53 100 MOI + DDP 0.5 mg/L | 43.13 ± 0.72* |

* $P < 0.001$, compared with single agent groups

2.3 Ad-p53 与 DDP 单用或联合应用对 GLC-82 及 A549 细胞周期及凋亡的影响 Ad-p53 转染 GLC-82 及 A549 细胞后能使细胞周期明显阻滞于 G₀-G₁ 期, S 期细胞比例明显减少, 细胞凋亡数明显增多。100 MOI Ad-p53 与 0.5 mg/L DDP 联合应用 72 h 后

GLC-82 细胞凋亡率为 62.98% ± 2.43%, 与两个单药组比较差异均有统计学意义 (P < 0.001, P < 0.001); 联合用药组 A549 细胞凋亡率为 28.99% ± 1.07%, 与两个单药组比较差异均有统计学意义 (P < 0.001, P < 0.001) (表 2)。

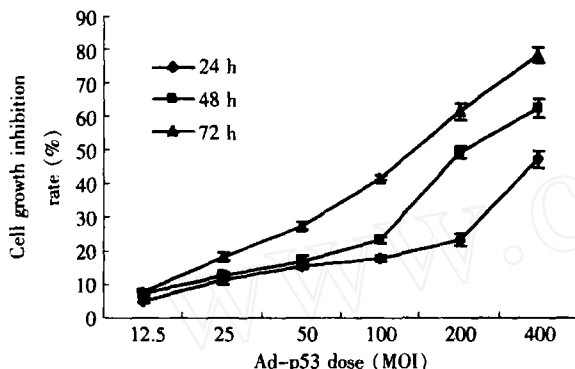


图 2 不同感染强度的 Ad-p53 感染 GLC-82 细胞 24、48、72 h 的体外生长抑制曲线

Fig 2 Dose-response curves for proliferation inhibition of GLC-82 cells treated with Ad-p53 by MTT

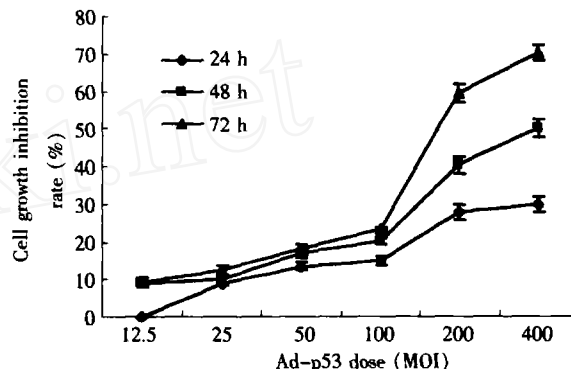


图 3 不同感染强度的 Ad-p53 感染 A549 细胞 24、48、72 h 的体外生长抑制曲线

Fig 3 Dose-response curves for proliferation inhibition of A549 cells treated with Ad-p53 by MTT

表 2 Ad-p53、DDP、Ad-p53 + DDP 对 GLC-82 及 A549 细胞周期及凋亡的影响

Tab 2 The effects of Ad-p53, DDP and Ad-p53 + DDP on cell cycle and apoptosis of GLC-82 and A549 cells by flow cytometry

| Group | G ₀ -G ₁ (%) | S (%) | G ₂ -M (%) | Apoptotic cell (%) |
|--------------|------------------------------------|----------------|-----------------------|--------------------|
| GLC-82 | | | | |
| Control | 54.84 ± 1.74 | 39.78 ± 2.48 | 5.38 ± 0.98 | 0.02 ± 0.01 |
| Ad-p53 | 80.46 ± 0.91* | 19.54 ± 1.13* | 0.00 ± 0.00 | 20.88 ± 0.71* |
| DDP | 47.83 ± 2.33 | 39.86 ± 1.94 | 12.31 ± 1.31 | 6.91 ± 1.52 |
| Ad-p53 + DDP | 87.64 ± 1.53** | 12.36 ± 0.85** | 0.00 ± 0.00 | 62.98 ± 2.43** |
| A549 | | | | |
| Control | 74.30 ± 2.70 | 22.56 ± 2.32 | 3.14 ± 1.57 | 0.45 ± 0.02 |
| Ad-p53 | 92.59 ± 3.02* | 7.40 ± 2.10* | 0.01 ± 0.53 | 15.35 ± 1.31* |
| DDP | 65.46 ± 2.06 | 16.57 ± 3.17 | 17.97 ± 2.27 | 1.74 ± 0.77 |
| Ad-p53 + DDP | 77.70 ± 0.68* | 14.96 ± 1.34* | 7.35 ± 1.90 | 28.99 ± 1.07** |

* : P < 0.001, compared with control group;

** : P < 0.001, compared with control group and single agent groups

3 讨论

野生型 p53 基因的突变或缺失是目前发现的各类肺癌中最常见的基因改变^[5], 肺癌中 p53 基因的突变率达 50% ~ 70%。即使在无 p53 基因突变的肺癌中, p53 基因因为结合了高水平的 MDM2 蛋白而无活性, 或因其下游基因如抗凋亡基因 Bcl-2 家族使 p53 基因功能发生变化或无活性转录而出现功能性失活^[6]。p53 基因突变、功能失活使肿瘤细胞对化疗及放射治疗的敏感性下降。Osaki 等^[4]应用 Ad-p53 转染人肺

鳞癌细胞 NCF-H157 和 NCF-H1299, 同时联合应用化疗药物 DDP、5-氟尿嘧啶、伊立替康等观察到, Ad-p53 与 DDP、5-氟尿嘧啶和伊立替康有明显的协同抗肿瘤效应, 体内实验显示 Ad-p53 联合 DDP、伊立替康有协同抑制小鼠移植瘤生长的作用, 这些抗癌药物可作为化疗联合基因治疗的代表药物。Horio 等^[7]研究 Ad-p53 与治疗非小细胞肺癌的常用化疗药物多西紫杉醇、紫杉醇、DDP、足叶乙甙等对非小细胞肺癌细胞株 A549 (含野生型 p53 基因)、H322 (含突变型 p53 基因)、H1299 (缺失 p53 基因) 等的联合作用观察到, Ad-

p53 能增加肺癌细胞对化疗的敏感性,促进细胞凋亡,它与化疗药物的协同抗肿瘤效应不受内源性 p53 状况的影响。Inoue 等^[8]用 Ad-p53 治疗肺癌也得到了与 Horio 等同样的结果,能增加 DDP、多西紫杉醇、阿霉素、足叶乙甙等的化疗敏感性,并不受内源性 p53 状况的影响,Ad-p53 对 A549 细胞作用 72 h 的 IC₅₀ 为 255 MOI。徐敏毅等^[9]采用自己构建的重组腺病毒载体介导野生型 p53 基因联合化疗药物 DDP、As₂O₃ 对人肺腺癌细胞株 GLC-82 (含突变型 p53 基因)的体内、外实验观察到,Ad-p53 与 DDP 或 As₂O₃ 有显著的协同抗肿瘤作用,Ad-p53 能增加 GLC-82 细胞的化疗敏感性。

本研究观察到 Ad-p53 注射液(今又生)能介导野生型 p53 基因在人肺腺癌细胞 GLC-82 中高效表达,A549 细胞中虽然含野生型 p53 基因,但外源 p53 基因仍能有效表达,表达强度呈时间依赖性和剂量依赖性。A549 细胞虽然含内源野生型 p53 基因,Northern blot 法可观测到内源 p53 mRNA 有低水平表达^[8],但我们用 Western blot 法未见明显 p53 蛋白的表达,这可能与内源 p53 蛋白半衰期短、表达量低有关。Ad-p53 抑制细胞生长的作用与外源 p53 基因在细胞中的表达强度相一致,对 A549 及 GLC-82 细胞作用 72 h 的 IC₅₀ 值分别为 184.6 MOI 和 120.2 MOI,它能明显促进细胞凋亡,阻滞细胞周期于 G₂-G₁ 期,使 S 期细胞比例明显减少,与小剂量 DDP 联用能显著增强肺腺癌细胞对 DDP 的化疗敏感性,作用效应不受内源性 p53 状况的影响。本研究结果显示,重组人 p53 腺病毒注射液可以提高含突变型 p53 基因及含野生型 p53 基因的肺腺癌细胞株对抗癌药物 DDP 的化疗敏感性。

参 考 文 献

- 1 Kastan MB, Canman CE, Leonard CJ. P53, cell cycle control and apoptosis: implications for cancer. *Cancer Metastasis Rev*, 1995, 14 (1) 3-15.
- 2 Swisher SG, Roth JA. Clinical update of Ad-p53 gene therapy for lung cancer. *Surg Oncol Clin N Am*, 2002, 11 (3) 521-535.
- 3 Roth JA, Grammer SF. Gene replacement therapy for non-small cell lung cancer: a review. *Hematol Oncol Clin North Am*, 2004, 18 (1) 215-229.
- 4 Osaki S, Nakanishi Y, Takayama K, et al. Alteration of drug chemosensitivity caused by the adenovirus mediated transfer of the wild-type p53 gene in human lung cancer cells. *Cancer Gene Ther*, 2000, 7 (2) 300-307.
- 5 Fisher MD. Strategies to restore p53 function in patients with lung cancer. *Clin Lung Cancer*, 2001, 3 (2) 99-101.
- 6 Rampino N, Yamamoto H, Ionov Y, et al. Somatic frameshift mutations in the BAX gene in colon cancers of the microsatellite mutator phenotype. *Science*, 1997, 275 (5302) 967-969.
- 7 Horio Y, Hasegawa Y, Sekido Y, et al. Synergistic effects of adenovirus expressing wild-type p53 on chemosensitivity of non-small cell lung cancer cells. *Cancer Gene Ther*, 2000, 7 (4) 537-544.
- 8 Inoue A, Narumi K, Matsubara N, et al. Administration of wild-type p53 adenoviral vector synergistically enhances the cytotoxicity of anti-cancer drugs in human lung cancer cells irrespective of the status of p53 gene. *Cancer Lett*, 2000, 157 (1) 105-112.
- 9 Xu MY, Lin C, Liang X, et al. Experimental study on combination of Ad-p53 with CDDP or As₂O₃ in human lung adenocarcinoma cell line GLC-82. *Natl Med J Chin*, 2000, 80 (9) 689-693. [徐敏毅, 林晨, 梁萧, 等. 基因治疗与化疗联合应用对人肺腺癌 GLC-82 细胞作用的实验研究. *中华医学杂志*, 2000, 80 (9) 689-693.]

(收稿:2005-06-22 修回:2005-09-06)

(本文编辑 李蓓兰)

· 启 事 ·

致作者

为了确保图片制版的效果,请作者向本刊投稿时,尤其是经网上投稿时,务必通过邮局寄来相关的插图,特别是电泳图、X光片或 CT 片、组织学照片、荧光照片等。电泳图需由原始凝胶电泳图拍摄而成,并标注各条带的名称或编码,以及 Marker 上各迁移带的片段大小,请勿剪切图片。X光片及 CT 片应要求部位明确。组织学照片及荧光照片应注明内部标尺比例或放大倍数及染色法等。大体标本照片在图中应有尺度标记。所有图片必须平整光滑,具有良好的清晰度和对比度,不能有折痕或缺损,背面均应贴上标签,注明图序、作者姓名、图的上下方向及其他相关信息。

本刊编辑部