

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2018.02.009

· 基础研究 ·

长链非编码 RNA LINC01001 在乳腺癌中的表达及其对 MCF-7 细胞增殖的影响

梅虹, 李常恩, 杨梁, 高迎飞(湖北医药学院附属人民医院 甲状腺乳腺外科, 湖北 十堰 442000)

[摘要] **目的:** 探讨长链非编码 RNA LINC01001 在乳腺癌组织中的表达及其对乳腺癌 MCF-7 细胞增殖能力的影响。**方法:** 筛选 2016 年 3 月至 2017 年 6 月于湖北医药学院附属人民医院甲状腺乳腺外科行手术切除的乳腺癌患者癌及癌旁组织 12 例, qRT-PCR 检测乳腺癌组织及癌旁组织 LINC01001 的相对表达量; 通过重组质粒在人乳腺癌 MCF-7 细胞中过表达 LINC01001, 采用流式细胞术和 MTT 法检测过表达 LINC01001 后 MCF-7 细胞周期分布和增殖能力变化。qRT-PCR 检测 miR-485-5p 和 *CDKN1A* mRNA 的表达变化, Western blotting 检测 CDKN1A、CDK4、CDK6 和 Cyclin D1 蛋白表达变化。**结果:** LINC01001 在乳腺癌组织中表达水平低于对应的癌旁组织 ($P < 0.01$)。LINC01001 重组质粒转染 MCF-7 细胞后可显著抑制细胞周期进展 ($P < 0.05$), 抑制细胞的增殖能力 ($P < 0.05$)。过表达 LINC01001 后, MCF-7 细胞的 miR-485-5p 的表达水平降低 ($P < 0.01$), *CDKN1A* mRNA 表达水平升高 ($P < 0.01$); 可促进 CDKN1A 蛋白的表达和抑制 CDK4、CDK6 和 Cyclin D1 蛋白的表达。**结论:** LINC01001 在乳腺癌组织中表达降低, 其可能通过下调 miR-485-5p 的表达上调 *CDKN1A* 的表达来抑制乳腺癌 MCF-7 细胞的增殖能力, 为 lncRNA 的临床应用提供实验基础。

[关键词] 乳腺癌; 长链非编码 RNA; 微小 RNA; CDKN1A; 增殖

[中图分类号] R737.9; R730.4 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2018)02-0158-05

Expression of lncRNA LINC01001 in breast cancer and its effect on proliferation of MCF-7 cells

MEI Hong, LI Changen, YANG Liang, GAO Yingfei (Department of Thyroid and Breast Surgery, Affiliated People's Hospital of Hubei University of Medicine, Shiyan 442000, Hubei, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the expression of long non-coding RNA LINC01001 in breast cancer tissues and its effect on the proliferation of breast cancer MCF-7 cells. **Methods:** The expression levels of lncRNA LINC01001 were analyzed in 12 cases of cancer and para-cancer tissues from breast cancer patients, who underwent surgical resection in Affiliated People's Hospital of Hubei University of Medicine from March 2016 to June 2017. The plasmid over-expressing LINC01001 was transfected into human breast cancer MCF-7 cells. The cell cycle distribution and proliferation ability of MCF-7 cells were detected by flow cytometry and MTT assay, respectively. The mRNA expressions of miR-485-5p and *CDKN1A* mRNA were detected by qRT-PCR, and the protein expressions of CDKN1A, CDK4, CDK6 and Cyclin D1 were detected by Western blotting. **Results:** The expression level of lncRNA LINC01001 in breast cancer tissues was lower than that in para-cancer tissues ($P < 0.01$). LINC01001 recombinant plasmid transfection significantly inhibited cell cycle progression ($P < 0.05$) and cell proliferation ($P < 0.05$) of MCF-7 cells. qRT-PCR showed that the expression level of miR-485-5p was decreased ($P < 0.01$) and the expression level of *CDKN1A* mRNA was increased ($P < 0.01$) after over-expressing LINC01001. Western blot results confirmed that over-expression of LINC01001 could promote the expression of CDKN1A protein, but decrease the expressions of CDK4, CDK6 and Cyclin D1 proteins. **Conclusion:** The expression of LINC01001 in breast cancer tissues was decreased. LINC01001 may down-regulate the expression of miR-485-5p to up-regulate the expression of CDKN1A, and further to inhibit the proliferation of breast cancer MCF-7 cells, providing experimental basis for the clinical application of lncRNA.

[Key words] breast cancer; long non-coding RNA (lncRNA); microRNA(miRNA); CDKN1A; proliferation

[Chin J Cancer Biother, 2018, 25(2): 158-162. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2018.02.009]

[作者简介] 梅虹 (1981-), 女, 硕士生, 主治医师, 主要从事长链非编码在乳腺癌中的治疗作用研究, E-mail: 23816799@qq.com

[通信作者] 高迎飞 (GAO Yingfei, corresponding author), 副主任医师, 副教授, 硕士生导师, 主要从事长链非编码在乳腺癌中的治疗作用研究, E-mail: gyfei2002@126.com

乳腺癌是女性最常见的恶性肿瘤之一,严重威胁女性的身体健康^[1]。乳腺癌的分子靶向治疗是近年来研究的热点。长链非编码核RNA(long non-coding RNA, lncRNA)是由大于200个核苷酸组成的转录本,具有进化保守性^[2]。lncRNA广泛参与调节细胞增殖、衰老、凋亡等生物学过程,与肿瘤的恶性生物学行为有关^[3-4]。长链非编码LINC01001是一种新发现的lncRNA,目前在肿瘤中尤其是乳腺癌中生物学功能尚不清楚。本研究通过检测乳腺癌组织标本中LINC01001的表达及其对乳腺癌MCF-7细胞增殖过程的调控作用,探讨LINC01001在乳腺癌生长中的作用机制,为乳腺癌的分子诊断与靶向治疗提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 细胞与主要试剂

乳腺癌细胞系MCF-7购于中国科学院上海生命科学研究院细胞资源中心。LINC01001过表达质粒和阴性对照质粒由上海吉凯基因化学技术有限公司合成,RPMI-1640培养基、胎牛血清购于美国Gibco公司,Lipofectamine 3000购于美国Invitrogen公司,qRT-PCR相关试剂购于日本TaKaRa公司,引物(表1)购于上海生物工程股份有限公司,一抗CDKN1A、CDK4、CDK6、Cyclin D1及 α -Tubulin和二抗均购于美国CST公司,ECL发光试剂盒购于美国Thermo公司,细胞周期检测试剂盒购于上海鑫乐生物科技有限公司,四甲基偶氮唑蓝(MTT)购于美国Sigma公司。

表1 qRT-PCR引物序列

Tab. 1 Sequence of qRT-PCR primers

| Type | Primer sequences (5'-3') |
|------------|--------------------------|
| LINC01001 | F GCCCAGCTCTTCTCCTGT |
| | R AGAGGCTGACTCGAGGAAGTT |
| GAPDH | F ACAACTTTGGTATCGTGAAGG |
| | R GCCATCACGCCACAGTTTC |
| miR-485-5p | F AGAGGCTGGCCGTGATG |
| | R CAGTGCCTGTCGTGGAGT |
| U6 | F CTCGCTTCGGCAGCACA |
| | R AACGCTTCACGAATTTGCGT |
| CDKN1A | F CGATGGAAGTTCGACTTTGTCA |
| | R GCACAAGGGTACAAGACAGTG |

1.2 临床标本收集

收集湖北医药学院附属人民医院甲状腺乳腺外科2016年3月至2017年6月12例乳腺癌患者的肿瘤和相应癌旁组织,所有患者术前均未接受任何放疗或化疗,患者年龄均大于18岁,均已签署知情同意书。所有组织样本收集后立即使用液氮冷冻后长

期保存于-80℃冰箱中。

1.3 RNA提取及qRT-PCR检测

按照TRIzol说明书操作分别提取组织及MCF-7细胞总RNA,取500 ng总RNA为模板逆转录,根据说明书进行qRT-PCR扩增检测。lncRNA和mRNA检测以GAPDH为内参,miRNA检测以U6为内参。最终Ct值均以 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 分析。

1.4 细胞培养及质粒转染

将乳腺癌MCF-7细胞接种于含10% FBS的RPMI 1640培养基中,于37℃、5%CO₂饱和湿度培养箱中培养,取对数生长期细胞进行实验。按照lipofectamine 3000转染说明书操作,以无血清RPMI 1640培养基做溶媒配置转染试剂及质粒工作液,分别向MCF-7细胞中转染LINC01001质粒(实验组)及阴性对照质粒(对照组)。转染12 h后更换为含10% FBS的RPMI 1640培养基。

1.5 流式细胞术检测转染MCF-7细胞的细胞周期

乳腺癌MCF-7细胞转染72 h后,胰酶消化收集细胞;PBS溶液洗2遍,使用70%乙醇溶液重悬细胞,4℃下固定24 h;离心弃上清,PBS溶液洗2遍,使用含RNA酶的PI染液400 μ l重悬细胞,避光孵育1 h,流式细胞仪上机检测细胞周期。

1.6 MTT法检测转染MCF-7细胞的增殖能力

将转染24 h的细胞消化、重悬。重新接种于96孔细胞培养板(4 000个/孔),分别检测第1、2、3、4和5 d MCF-7细胞的增殖能力。在每个时间点的操作如下,每孔加入20 μ l MTT溶液,培养箱内孵育4 h,吸去上清;每孔加入150 μ l二甲基亚砷,振荡10 min,保证结晶充分溶解。酶标仪检测波长在490 nm处的光密度(D)值。每组设4个复孔。

1.7 生物信息学预测miR-485-5p的靶向目标

lncRNA能通过分子海绵效应结合目的基因,从而发挥基因表达的调节作用^[5]。DIANA TOOLS在线预测网站检索结果(图1)表明,促癌基因miR-485-5p可能是LINC01001的结合分子之一,结合评分为0.033。MicroRNA.org在线预测网站检索表明,CDKN1A可能是miR-485-5p的靶向目标之一,mirSVR score:-0.1213; PhastCons score:0.6459。

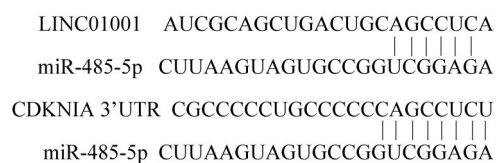


图1 LINC01001和CDKN1A mRNA 3'UTR与miR-485-5p的结合位点

Fig. 1 The sites at 3'UTR of LINC01001 and CDKN1A mRNA 3'UTR to bind with miR-485-5p

1.8 Western blotting 检测 MCF-7 细胞 CDKN1A 蛋白的表达

收集转染 72 h 后的 MCF-7 细胞,使用细胞裂解液提取细胞总蛋白,每孔上样 40 μg 蛋白后,SDS-PAGE 分离目的蛋白,电转至硝酸纤维膜,分别用 1:1 000 稀释的 CDKN1A、CDK4、CDK6、Cyclin D1 及 α-Tubulin 一抗结合相应目的蛋白,以 1:10 000 稀释的含辣根过氧化物酶标记的二抗结合一抗,ECL 法检测相关蛋白表达量。

1.9 统计学处理

采用 SPSS 20.0 统计学软件,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用独立样本 *t* 检验。以 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 LINC01001 在乳腺癌组织中低表达

qRT-PCR 检测结果(图 2)显示,乳腺癌组织中 LINC01001 的相对表达量低于对应的癌旁组织 (1.73 ± 0.25 vs 4.44 ± 0.50 , $t=4.81$, $P < 0.01$),提示 LINC01001 可能参与乳腺癌的发生发展。

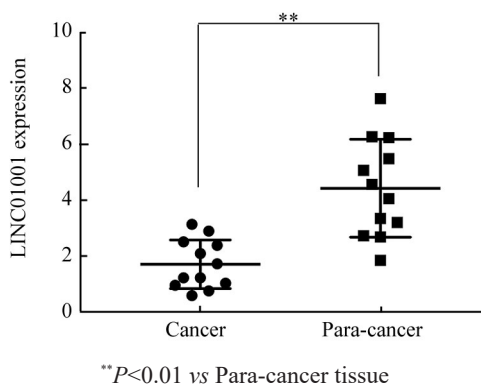


图 2 乳腺癌及癌旁组织中 LINC01001 的相对表达量
Fig. 2 Relative expression of LINC01001 in the breast cancer tissues and para-cancer tissues

2.2 过表达 LINC01001 抑制 MCF-7 细胞周期的进展

采用瞬时转染技术,以脂质体 3 000 为媒介包裹质粒,将 LINC01001 质粒或阴性对照质粒转染人 MCF-7 细胞中。通过 qRT-PCR 检测结果显示,LINC01001 质粒能明显提高 MCF-7 细胞内 LINC01001 的表达水平 (5.84 ± 0.65 vs 1.04 ± 0.18 , $t=7.14$, $P < 0.01$)。流式细胞术检测转染 MCF-7 细胞的细胞周期结果(表 2)显示,与对照组相比,转染 LINC01001 质粒后,G0/G1 细胞数升高 22.56% ($P < 0.01$),S 期细胞数降低 28.59% ($P < 0.05$),G2/M 期细胞数减少 33.72% ($P < 0.05$),提示 LINC01001 可抑制 MCF-7 细胞细胞周期的进展。

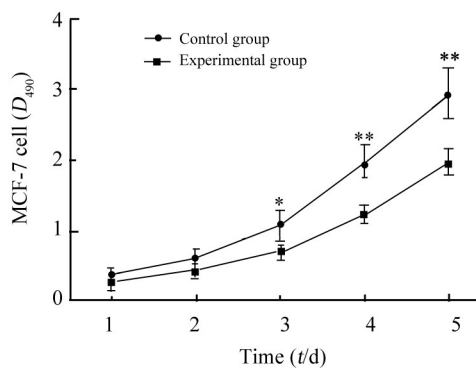
表 2 LINC01001 对乳腺癌 MCF-7 细胞周期的影响
[$n=4,(\bar{x} \pm s)\%$]

Tab. 2 The effect of LINC01001 on the cell cycle of breast cancer MCF-7 cells [$n=4,(\bar{x} \pm s)\%$]

| Group | G0/G1 | S | G2/M |
|--------------|-------------|-------------|-------------|
| Control | 58.07±2.05 | 20.39±1.74 | 21.53±2.19 |
| Experimental | 71.17±1.49 | 14.56±1.49 | 14.27±1.48 |
| <i>t(P)</i> | 5.17(<0.01) | 2.55(<0.05) | 2.75(<0.05) |

2.3 过表达 LINC01001 明显抑制 MCF-7 细胞的增殖能力

MTT 检测结果(图 3)显示,与对照组相比,转染 LINC01001 质粒后第 3 天开始,实验组细胞增殖能力开始明显降低 ($P < 0.05$),提示 LINC01001 对 MCF-7 细胞增殖具有一定的抑制作用。



* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs Control group

图 3 MTT 检测过表达 LINC01001 对 MCF-7 细胞增殖的影响
Fig.3 The effect of LINC01001 over-expression on the proliferation of MCF-7 cells by MTT assay

2.4 LINC01001 通过抑制 miR-485-5p 促进 CDKN1A 表达

在 MCF-7 细胞内过表达 LINC01001 后,qRT-PCR 检测显示 miR-485-5p 的表达水平较对照组明显下降 (0.34 ± 0.09 vs 1.00 ± 0.04 , $t=6.88$, $P < 0.01$)。对 miR-485-5p 的靶基因 CDKN1A 的 qRT-PCR 检测表明,CDKN1A mRNA 表达水平较对照组明显降低 (1.04 ± 0.15 vs 5.91 ± 0.93 , $t=5.19$, $P < 0.01$),提示 LINC01001 可能是通过抑制 miR-485-5p 而间接促进 CDKN1A 表达。

2.5 过表达 LINC01001 可提高 MCF-7 细胞中 CDKN1A 蛋白的表达水平

在 MCF-7 细胞内过表达 LINC01001 后,Western blotting 检测结果(图 4)显示,与对照组相比,实验组中 CDKN1A 蛋白表达明显增加,细胞周期相关蛋白 CDK4、CDK6 和 Cyclin D1 表达降低,提示 LINC01001 可提高

CDKN1A蛋白的表达水平。

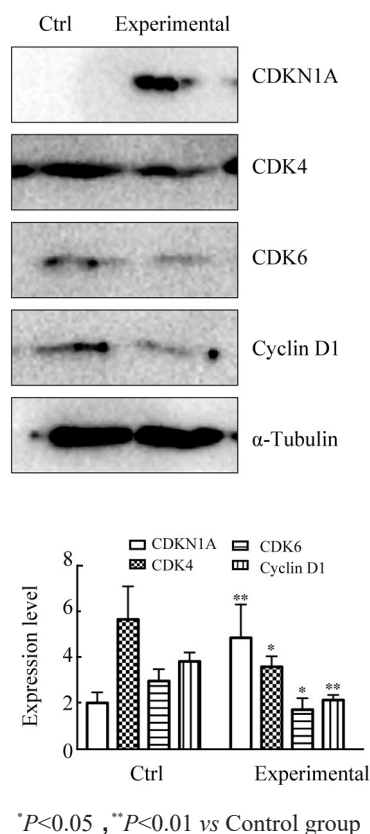


图4 MCF-7细胞中CDKN1A蛋白及下游蛋白的表达
Fig. 4 Expression of CDKN1A protein and downstream protein in MCF-7 cells

3 讨论

lncRNA是一类长度大于200个核苷酸的内源性非编码单链RNA,在肿瘤发生、发展等生物学过程中发挥重要的调节作用^[6-9]。lncRNA在乳腺癌的研究有许多进展,lncRNA-UCA1在乳腺癌中高表达,通过抑制具有抑癌效应的miR-143,促进乳腺癌细胞的生长,抑制癌细胞的凋亡^[10-11]。lncRNA-NBAT1在乳腺癌中低表达,与乳腺癌患者的预后具有相关性,lncRNA-NBAT1可抑制乳腺癌细胞的转移^[12]。lncRNA-PANDAR在乳腺癌组织及细胞系中高表达,通过抑制p16基因的表达,促进乳腺癌细胞的G1/S期转换,加快细胞周期的进展,促进乳腺癌细胞的增殖作用^[13]。LINC01001在乳腺癌中的作用并不清楚,研究其在乳腺癌发生、发展中的作用,将有助于更加全面地了解乳腺癌发生、发展的机制。

在本研究中,通过对临床组织标本中LINC01001的表达检测证实LINC01001低表达于乳腺癌组织当中。LINC01001可能在乳腺癌的发生发展过程具有一定的调控作用。为进一步探讨LINC01001在乳腺

癌细胞中的生物学功能,本研究应用重组质粒特异性过表达乳腺癌MCF-7细胞中LINC01001,G0/G1期细胞比例增多、S期和G2/M细胞比例减少,表示LINC01001能有效将MCF-7细胞周期阻滞在DNA复制期以前;通过MTT法进一步证实,过表达LINC01001对MCF-7细胞增殖能力有明显抑制。lncRNA的作用机制较为复杂,其中一种重要机制即是作为分子海绵与microRNA结合进而抑制其对下游相应靶mRNA的沉默效应^[14]。通过DIANA tools在线生物信息学网站的检索表明,miR-485-5p可能是LINC01001的结合分子之一。综上可推测,LINC01001的抗乳腺癌细胞增殖作用可能是通过抑制miR-485-5p的表达来实现的。为证实这一假说,本研究通过质粒转染过表达MCF-7细胞内LINC01001,通过qRT-PCR检测发现,过表达LINC01001可明显抑制MCF-7细胞内miR-485-5p的表达水平。microRNA.org在线预测网站检索表明CDKN1A基因是miR-485-5p的下游抑制靶点。CDK4、CDK6可分别与Cyclin D1形成Cyclin-CDK复合物,对细胞周期进行正调控^[15-16]。CDKN1A基因属于细胞周期依赖性激酶抑制因子,可特异性的抑制Cyclin-CDK复合物的形成,抑制细胞周期的进展,因而CDKN1A具有巨大的抑癌潜能^[17]。通过进一步研究发现,在过表达LINC01001后MCF-7细胞内CDKN1A的表达水平也有所提高,细胞周期受到明显抑制。至此,本研究初步表明LINC01001的作用机制是通过抑制miR-485-5p/CDKN1A轴而实现的。笔者下一步将通过双荧光素酶报告系统进一步验证miR-485-5p和CDKN1A的靶向关系。

综上所述,LINC01001在乳腺癌组织中表达下降,主要通过抑制miR-485-5p表达进而促进CDKN1A的表达而抑制乳腺癌细胞的增殖,本研究为lncRNA的临床应用提供了一定的实验依据。

[参考文献]

- [1] AKRAM M, IQBAL M, DANIYAL M, et al. Awareness and current knowledge of breast cancer[J/OL]. Biol Res, 2017, 50(1): 33[2017-10-11]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2896709/>. DOI: 10.1186/s40659-017-0140-9.
- [2] WANG H, GUAN Z, HE K, et al. LncRNA UCA1 in anti-cancer drug resistance[J]. Oncotarget, 2017, 8(38): 64638-64650. DOI: 10.18632/oncotarget.18344.
- [3] LI N, YANG M, SHI K, et al. Long non-coding RNA HOXA11-AS in human cancer: a meta-analysis[J/OL]. Clin Chim Acta, 2017, 474: 165-170[2017-10-11]. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0009898117303716?via%3Dihub>. DOI:10.1016/j.cca. 2017. 09.015.
- [4] SCHMITT A M, CHANG H Y. Long noncoding RNAs in cancer pathways[J]. Cancer Cell, 2016, 29(4): 452-463. DOI: 10.1016/j.

- ccell.2016.03.010.
- [5] LIANG W C, FU W M, WONG C W, et al. The lncRNA H19 promotes epithelial to mesenchymal transition by functioning as miRNA sponges in colorectal cancer[J]. *Oncotarget*, 2015, 6(26): 22513-22525. DOI:10.18632/oncotarget.4154.
- [6] MA W, CHEN X, DING L, et al. The prognostic value of long non-coding RNAs in prostate cancer: a systematic review and meta-analysis[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(34): 57755-57765. DOI: 10.18632/oncotarget.17645.
- [7] 胡洪林, 杨兰, 邓颖, 等. lncRNARP5-1185K9.17在结直肠癌组织中的表达及其临床意义[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2017, 24(7): 773-777. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2017.07.013.
- [8] 潘海霞, 杨兰, 胡洪林, 等. lncRNANCRNA00173在骨肉瘤组织中的表达及其临床意义[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2017, 24(8): 884-888. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2017.08.012.
- [9] IGUCHI T, UCHI R, NAMBARA S, et al. A long noncoding RNA, lncRNA-ATB, is involved in the progression and prognosis of colorectal cancer[J]. *Anticancer Res*, 2015, 35(3): 1385-1388.
- [10] XING Z, PARK PK, LIN C, et al. LncRNA BCAR4 wires up signaling transduction in breast cancer[J]. *RNA Biol*, 2015, 12(7): 681-689. DOI:10.1080/15476286.2015.1053687.
- [11] TUO Y L, LI X M, LUO J. Long noncoding RNA UCA1 modulates breast cancer cell growth and apoptosis through decreasing tumor suppressive miR-143[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2015, 19(18): 3403-3411.
- [12] HU P, CHU J, WU Y, et al. NBAT1 suppresses breast cancer metastasis by regulating DKK1 via PRC2[J]. *Oncotarget*, 2015, 6(32): 32410-32425. DOI:10.18632/oncotarget.5609.
- [13] SANG Y, TANG J, LI S, et al. LncRNA pandar regulates the G1/S transition of breast cancer cells by suppressing p16(INK4A) expression[J/OL]. *Sci Rep*, 2016, 6: 22366[2017-10-11].<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/pmid/26927017/>. DOI:10.1038/srep 22366.
- [14] KONDO Y, SHINJO K, KATSUSHIMA K. Long non-coding RNAs as an epigenetic regulator in human cancers[J]. *Cancer Sci*, 2017, 108(10): 1927-1933. DOI: 10.1111/cas.13342.
- [15] SHERR C J, BEACH D, SHAPIRO G I. Targeting CDK4 and CDK6: from discovery to therapy[J]. *Cancer Discov*, 2016, 6(4): 353-367. DOI: 10.1158/2159-8290.CD-15-0894.
- [16] VANARSDALE T, BOSHOFF C, ARNDT K T, et al. Molecular pathways: targeting the cyclin D-CDK4/6 axis for cancer treatment [J]. *Clin Cancer Res*, 2015, 21(13): 2905-2910. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-14-0816.
- [17] ORLANDO S, GALLASTEGUI E, BESSON A, et al. p27Kip1 and p21Cip1 collaborate in the regulation of transcription by recruiting cyclin-Cdk complexes on the promoters of target genes[J]. *Nucleic Acids Res*, 2015, 43(14): 6860-6873. DOI: 10.1093/nar/gkv593.

[收稿日期] 2017-08-30

[修回日期] 2017-12-11

[本文编辑] 王映红

· 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^{+++} , P O_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(锕)—NO(一氧化氮),Ba(钡)—Ra(镭),Nb(铌)—Nd(钕)—Np(镎),HF(氟化氢)—Hf(铪)等。

(本刊编辑部)