

[文章编号] 1007-3949(2005)13-03-0287-05

• 实验研究 •

Battenin 相互作用蛋白的筛选与初步鉴定

李斌元¹, 王桂良¹, 马云¹, 肖卫纯¹, 李洁¹, 孙春莉¹, 闵凌峰¹, 虞佳¹, Nanbert Zhong², 何淑雅¹

(1. 南华大学生物化学与分子生物学研究室, 湖南省衡阳市 421001;

2. 纽约州立发育不全基础研究所人类遗传研究室, 纽约 美国 NY10314)

[关键词] 分子生物学; 蛋白质相互作用; 酵母双杂交; Battenin 相互作用蛋白; Bax 抑制子 1

[摘要] 目的 寻找 Battenin 相互作用蛋白的筛选方法, 并对筛选出的 Battenin 相互作用蛋白进行初步鉴定。方法 将编码 Battenin 相互作用蛋白肽段的 cDNA 序列与 plexA 质粒的 DNA 结合结构域基因重组作为诱饵, 应用 MATCHMAKER LexA 酵母双杂交系统从人胎脑 cDNA 文库中筛选与 Battenin 相互作用蛋白再发生相互作用的蛋白质的 cDNA, 并进行生物信息学分析。结果 从胎脑 cDNA 文库中筛选得到 7 个阳性克隆, 其中一个基因与人 TEGT 基因有 99% 的同源性, TEGT 编码蛋白为 Bax 抑制子 1。结论 Battenin 相互作用蛋白与 Bax 抑制子 1 或类似物相互作用, Bax 抑制子 1 具有反式调控因子特性, 二者都可能参与基因表达调控。

[中图分类号] Q7

[文献标识码] A

Screening and Primary Identification of the Battenin Interactive Protein

LI Bin-Yuan¹, WANG Gui-Liang¹, MA Yun¹, XIAO Wei-Chun¹, LI Jie¹, SUN Chun-Li¹, MIN Ling-Feng¹, YU Jia¹, Nanbert Zhong², and HE Shu-Ya¹

(1. Institute of Biochemistry and Molecular Biology Research, Nanhua University, Hengyang 421001, China; 2. Department of Human Genetics, New York State Institute for Basic Research in Developmental Disabilities, Staten Island, NY 10314, USA)

[KEY WORDS] Protein Interaction; Yeast Two Hybrid System; Battenin Interactive Protein; Bax Inhibitor 1

[ABSTRACT] Aim To investigate the physiological role of Battenin interactive protein (BIP) and screen the proteins interacting with BIP in human fetal cDNA library. Methods The cDNA coding BIP and binding domain of plexA were recombinant as a "bait", proteins interacting with BIP were screened from human fetal cDNA library by yeast two-hybrid system.

Results Seven positive clones were isolated through plexA-HERPUD1 screening the human fetal brain cDNA library by yeast hybrid technique. One of them has 99% homology with the TEGE gene of human, which codes Bax inhibitor 1 (BF-1) (testis enhanced gene transcript). Bioinformatic analysis shows that: Bax inhibitor 1 which interacts with BCL-2 and BCL-X is a gene transcript enhanced factor and a regulatory factor of apoptosis and probably associated with gene expression regulation for cell's growth and development. The gene that codes Bax inhibitor 1 is TEGT located in chromosome 12q12-q13, containing 8 exons and 7 introns. Conclusions The interactive proteins of BIP were screened through yeast two-hybrid system successfully, and one of the proteins is Bax inhibitor 1. Bax inhibitor 1 is a gene transcript enhanced factor and a regulatory factor of apoptosis and probably associated with gene expression regulation for cell's growth and development.

Battenin 蛋白是新近发现的跨膜蛋白^[1-3], 存在于溶酶体和线粒体中, 其功能尚不清楚。文献[4]发现, Battenin 相互作用蛋白(Battenin interactive protein, BIP)的编码基因为 HERPUD1, 该基因位于常染色体 16q12. 2~13, 其主要功能也不清楚。因此, 探索 BIP 的特性与相互关系, 对阐明某些神经性疾病的发病机制具有重要意义。我们采用 MATCHMAKER LexA 酵母双杂交系统(MATCHMAKER LexA Two-Hybrid System), 以 BIP 基因 HERPUD1 的编码序列为诱饵,

从人胎脑 cDNA 文库筛选出 BIP, 并对它进行了初步鉴定。

1 材料与方法

1.1 材料

胎脑 MATCHMAKER LexA cDNA 文库, MATCHMAKER LexA 酵母双杂交系统, 酵母 SD 培养基, SD/-Trp、SD/-Ura、SD/-Ura/-His、SD/-Ura/-His-Trp、SD/-Ura/-His-Trp/-Leu 培养基, X- α gal 购自 Clontech 公司; 半乳糖(Gal)、棉子糖(Raf)和醋酸锂购自 Sigma 公司; QIAGEN Plasmid Mega Kit 购自 QIAGEN 公司; 大肠杆菌 KC8、酵母菌 EGY48(p8op-lacZ)、HERPUD1 编码序列由美国纽约州立发育不全研究所 Nanbert Zhong 博士惠赠, 其它化学试剂均国内购买。

[收稿日期] 2005-04-11 [修回日期] 2005-05-24

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(30370795)

[作者简介] 李斌元, 副教授, 从事基因表达调控与基因治疗研究, 联系电话 0734-8281032, E-mail 为 libinyuan001@163.com。王桂良, 硕士研究生, 研究方向为基因表达调控与基因治疗。通讯作者何淑雅, 教授, 硕士研究生导师, 课题负责人, 从事基因表达调控与基因治疗研究, E-mail 为 skyhe2000@hotmail.com。

测序公司为上海生物工程公司下属的华大基因组。

菌株与质粒特性是：酵母菌株 EGY48 (p8op^r lacZ) , 表型为 Ura3, 报告基因为 Leu2 和 lacZ; 大肠杆菌 KC8, TrpC 缺陷, 在 M9/Amp+/-Trp 培养基上不能生长; plexA: BD(DNA binding domain) 克隆质粒, 含 His 标志, 提供多克隆位点以构建诱饵质粒, 含此质粒的转化子能在 His^r, Ampicillin+ 培养基生长; pB42AD: AD(activation domain) 克隆质粒, 含 Trp 标志提供多克隆位点以构建 AD 质粒或文库质粒, 含此质粒的转化子能在 Trp^r, Ampicillin+ 培养基生长。

1.2 分子生物学方法

人胎脑文库扩增及质粒 DNA 的提取、醋酸锂法转化酵母细胞、酵母 DNA 的提取等均按照 CLON-TECH 公司酵母双杂交系统说明书进行。鲑精 DNA 的制备(carrier DNA, cDNA), 电转化细胞的制备及酵母质粒的电转化参照文献[5]进行。

1.3 诱饵质粒的构建与鉴定

按照下列程序进行 PCR 扩增 T-HERPUD1 cDNA 编码区: 95 °C 预变性 2 min, 然后按照 95 °C 变性 10 s → 58 °C 退火 20 s → 72 °C 延伸 45 s 循环 30 次后, 72 °C 再延伸 10 min, 4 °C 保存。HERPUD1 5' 端和 3' 端引物分别加 EcoR iv(GAATTC) 和 Sal iv(GTCGAC) 酶切位点, HERPUD1 引物由上海生工公司合成, 序列为上游引物 5'-ATC GAA TTC ATG GAG TCC GAG ACC GAA CCC GAG C-3', 下游引物 5'-GAT GTC GAC GCT CCG GTT CCG TCT CCG ACT CAT-3'。HERPUD1 酵母表达载体 pLexA- HERPUD1 的构建按照 CLON-TECH 公司酵母双杂交系统说明书进行。将 HERPUD1 的 PCR 产物和 plexA 质粒分别双酶切后, 目的片段回收, 进行连接反应。CaCl₂ 法将 plexA-HERPUD1 转化大肠杆菌 DH5 α 培养, 抽提质粒 DNA, PCR、双酶切和测序证实含插入子并读框正确。PCR 条件同上, plexA 质粒测序引物为 5'-CGTCAGCA-GAGCTCACCATTG-3'。

1.4 诱饵质粒转化 EGY48

从 SD/-Ura 培养皿上挑取 1~3 周的 EGY48 (p8op^r lacZ) 单菌落(2~3 mm) 数个至 1 mL SD-Ura 液体培养基中, 高速振动打散细胞, 转移至内含 50 mL SD/-Ura 液体培养基的 500 mL 锥型瓶中, 30 °C、250 r/min, 至 A₆₀₀ > 0.5, 转移过夜培养物至 300 mL SD/-Ura 培养基中, 使 A₆₀₀ 达到 0.2~0.3, 30 °C、250 r/min 离心 3 h 离心至 A₆₀₀ = 0.5 ± 0.1, 转移菌液至 50 mL 离心管中, 室温(20~21 °C)、1 000 × g 离心 5 min, 弃上清, 1.5 mL 新鲜配制的 1×TE/LiAc 溶液重悬细胞, 在 1.5 mL EP 管中加入 100 ng 诱饵质粒

(plexA-HERPUD1)、0.1 mg cDNA、0.1 mL 感受态 EGY48(p8op^r lacZ)、0.6 mL PEG/LiAc/TE, 高速混匀, 30 °C、200 r/min 离心 30 min, 加入 100% DMSO 70 μL, 42 °C 水浴热击 15 min(间断旋转混匀), 冰上放置 1~2 min, 室温 14 kr/min 离心 5 s, 弃上清, 1×TE 200 μL 重悬, 铺于 SD/-Ura/-His 培养皿, 30 °C 倒置培养 4~6 天。观察酵母菌落的生长情况, 判断诱饵质粒有无酵母毒性。

1.5 胎脑文库质粒的扩增及抽提

人胎脑 MATCHMAKER cDNA 文库用 pB42AD 质粒载体构建, 文库独立克隆数(cfu)是 3.5 × 10⁶。根据滴度和独立克隆数计算所需文库原始菌液体积和铺皿个数。液体培养基稀释文库原始菌液, 铺于 150 mm 的 LB 培养皿, 共铺皿 80 个。37 °C 培养 12 h, 根据克隆的生长数计算文库滴度。每皿加 LB 培养基 10 mL, 刮下菌落, 收集于锥形瓶中。用 QIANGEN Plasmid Mega Kit 抽提质粒, 置 -20 °C 保存待用。

1.6 文库转化与筛选

制备(已经转化 PLexA-HERPUD1 表达质粒的)酵母菌感受态, 醋酸锂法转入文库质粒。从 EGY48 (p8op^r lacZ/ plexA-HERPUD1) 融合菌株皿上挑取数个单克隆(2~3 mm)至 1 mL SD/-His/-Ura 液体培养基中, 高速振动打散细胞, 转移至内含 150 mL SD/-Ura/-His 液体培养基的锥型瓶中, 30 °C、250 r/min 振荡培养 18~24 h, 至 A₆₀₀ = 1.5, 转移过夜培养物至 1 000 mL SD/-Ura/-His 液体培养基中, 使 A₆₀₀ 达到 0.2~0.3, 30 °C、250 r/min、3 h, 至 A₆₀₀ = 0.5 ± 0.1, 转移菌液至 500 mL 离心管中, 室温(20 °C~21 °C)、1 000 × g 离心 5 min, 弃上清, 500 mL 灭菌水重悬细胞, 室温(20 °C~21 °C)、1 000 × g 离心 5 min 弃上清, 8 mL 新鲜配制的 1×TE/LiAc 重悬细胞, 在锥型瓶中加入: 0.3~0.5 mg 人胎脑文库质粒 DNA、0.1 mg cDNA、8 mL EGY48 (p8op^r lacZ/ plexA-HERPUD1) 融合菌株感受态细胞、60 mL PEG/LiAc/TE, 高速混匀, 30 °C、200 r/min、30 min, 加入 100% DMSO 7 mL, 42 °C 水浴热击 15 min 混匀, 冰上放置 1~2 min, 14 kr/min 室温离心 5 s, 弃上清, 1×TE 10 mL 重悬, 铺于 SD/-His/-Trp/-Ura 培养皿, 30 °C 倒置培养 4~6 d。刮取菌液铺于 SD/-Ura/-His/-Trp/-Leu/Raf/Gal 培养皿, 培养 4~6 天, X-gal 滤膜分析克隆变为蓝色者初步认为是阳性克隆。

1.7 阳性克隆质粒的分离

抽提阳性酵母克隆质粒, 电转化至大肠杆菌 KC8 中。KC8 有一个 TrpC 缺陷, 能由酵母质粒中的 TRP1 弥补。融合质粒从酵母中分离导入 KC8 感受

态细胞，然后铺皿到 M9/Amp⁺/Trp 培养基，只有含 AD 质粒(pB42AD-Y)的 KC8 大肠杆菌能在选择性培养基上生长，而含诱饵质粒(plexA-HERPUD1, TRP1 缺陷)的大肠杆菌在 M9/Amp⁺/Trp 培养基上不能生长，筛选分离得到靶质粒。

1.8 阳性克隆的初步鉴定、测序及生物信息学分析

将以上方法获得的阳性质粒 1 对 1 与诱饵质粒 plexA-HERPUD1 共转化-EGY48 酵母菌，重建相互作用，X-gal 滤膜分析消除假阳性。其中再次变蓝色者送测序，测序引物：5'-CCA GCC TCT TGC TGA GTG GAG ATG-3'。对所获序列进行 BLAST、基因定位、剪接位点、ORF、编码蛋白结构与功能等生物信息学分析。

2 结果

2.1 诱饵质粒的验证

plexA-HERPUD1 转化大肠杆菌 DH5 α 培养后提取质粒，对质粒进行 PCR 扩增，产生 925 bp 的条带(图 1A, Figure 1A)，经 EcoR iv 和 Sal I 双酶切，也产生 925 bp 的条带(图 1B, Figure 1B)。plexA-HERPUD1 测序结果证实诱饵质粒的插入子无突变、阅读框正确。说明重组诱饵质粒 plexA-HERPUD1 构建成功。

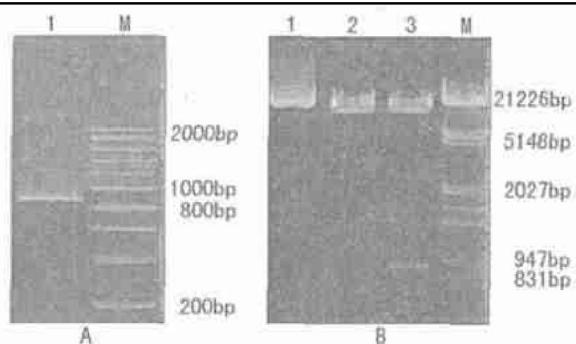


图 1. 聚合酶链反应产物电泳图 A 为 plexA-HERPUD-1, 其中 M 为 200 bp DNA 标准品, 1 为 PCR 产物; B 为 plexA-HERPUD-1 经 EcoR iv 和 Sal I 双酶切, 其中 M 为 λDNA/EcoR iv+ Hind III 标准品, 1 为 plexA-HERPUD-1, 2 为 plexA, 3 为该产物。

Figure 1. Electrophoretic map of PCR production

2.2 诱饵质粒转化 EGY48

plexA-HERPUD-1 转化 EGY48 后，在 SD/-His/-Ura 皿上生长旺盛，颜色、大小正常，说明诱饵质粒对 EGY48 无毒性(图 2, Figure 2)。



图 2. 诱饵质粒与酵母菌融合菌株

Figure 2. The result of invert EGY48 by plexA-HERPUD-1

2.3 在选择性培养基上筛选共转化子

文库质粒 pB42AD-Y 与 EGY48- plexA-HERPUD1 共转化子铺 SD/-His/-Trp/-Ura 皿和 SD/-His/-Trp/-Leu/-Ura 皿，发现表型正常，X-gal 筛选后得到 150 个 leu⁺ 和 LacZ⁺ 表型的克隆(图 3, Figure 3)。从中挑选 16 个克隆进行插入子鉴定：提取酵母质粒 DNA，转化大肠杆菌 KC8，再提取质粒 DNA，用高酶切点酶 Alu iv 消化，酶谱分析发现，1 号为独立克隆，2 号与 3 号，4 号与 5 号，6、7、8、9 号，10、11、12 号，13 与 14 号，15 与 16 号酶谱分别相同，各为同一克隆，所以共得到 7 个独立克隆(图 4, Figure 4)。将这 7 个阳性克隆质粒分别与诱饵质粒共转 EGY48，重建相互作用，发现没有假阳性。7 个 KC8 阳性克隆质粒 DNA，经 PCR 产物凝胶电泳，发现六个基因的碱基数在 600 bp~1 kb 之间，一个在 3.2 kb 左右(图 5, Figure 5)。

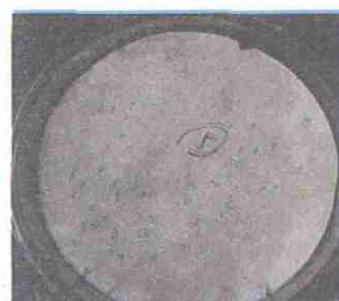


图 3. 用滤纸分析 X-gal 筛选得到的 Leu⁺ 或 lacZ⁺ 阳性克隆
Figure 3. The Leu⁺ or lacZ⁺ positive clones of yeast EGY48 (p8op-lacZ) obtained by X-gal screening with filter paper analyse

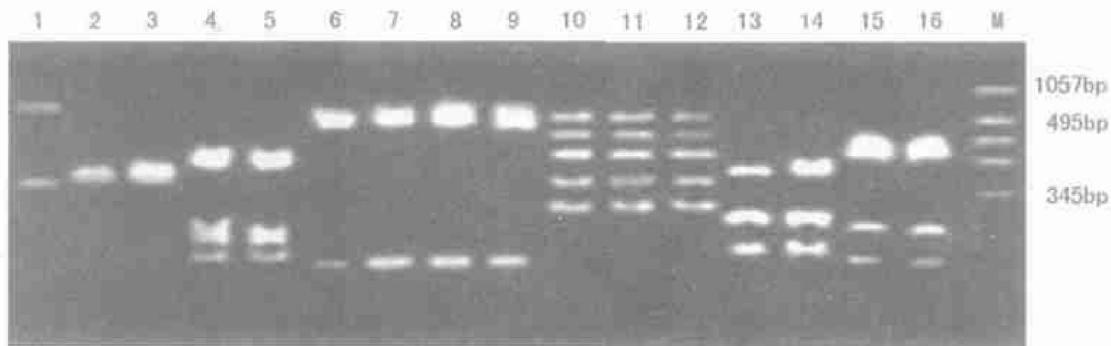


图 4. KC8 质粒 DNA 经 Alu iv 酶切产物电泳图 M 为 DNA 标准品, 1~ 16 为阳性克隆质粒 DNA 经 Alu iv 酶切的产物。

Figure 4. The electrophoretic map of production of KC8 plasmids DNA by Alu iv incised

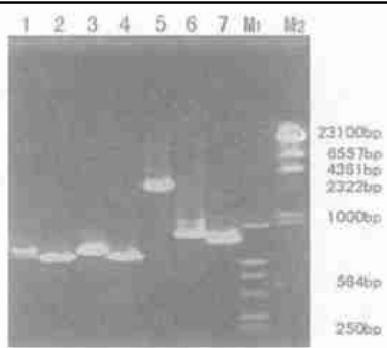


图 5. KC8 质粒 DNA 酶切产物 PCR 电泳图 M₁ 为 DL2000 DNA 标准品, M₂ 为 λDNA/Hind III 标准品, 1~ 7 为阳性克隆。

Figure 5. The electrophoretic map of production of KC8 plasmids DNA by PCR

2.4 测序结果

对其中一个阳性克隆进行 DNA 测序, 发现获得的 DNA 序列长度为 675 bp (图 6, Figure 6)。

```

AGGGCTGGCG GTGGGGITA TTGCAACGG CGACTGGCTG
GAATTAGGA AGACTGGAGA CTGCTGCCAG GACTCTGGAA
CCATGAACAT ATITGATCGA AACATCAACT TTGATGCCGT
TTTAAATTT TCTCATATAA CCCCGTCAAC GCAGCAGCAC
CTGAAGAAGG TCTATGCAAG TTTGCCCTT TGTATGTTTG
TGGCGCTGC AGGGGCCTAT GTCCATATGG TCACITCATTT
CATTCAAGCT GCCCTGCTGT CTGCCITGGG CTCCTGTATA
TTGATGATT GGCTGATGGC AACACCTCAT AGCCATGAAA
CTGAACAGAA AAGACTGGGA CITCITGCTG GATTTGCATT
CCITACAGGA GTGGCCCTGG CCCCTGCCCT GGAGTTTGT
ATTGCTGTCA ACCCCAGCAT CCTTCCCCT GCTTTCATGG
GCACCGCAAT GATCTTACC TGCTTCACCC TCAGTGCACT
CTATGCCAGG CGCCGTAGCT ACCTCTTCT GGGAGGTATC
TTGATGTCAG CCCTGAGCTT GTTGTGTTTG TCITCCCTGG
GGAATGTTT CTTGGATCC ATTGGCTTT TCCAGGCAA
NCTGTATGTG GGACTGGTGG TCATGTGTTG CTCNTCCCT
TTTGATACTC AACTCATTAT TGAAAGGGC GAACA

```

图 6. 一个阳性克隆的测序结果

Figure 6. The DNA sequence of a positive clone

2.5 所获基因及其编码蛋白的生物信息学分析

根据测序结果, 将获得的阳性克隆全长作 BLAST 分析, 发现该基因与人基因 TEGT 有 99% 同源性, 编码蛋白为 Bax 抑制子 1, 由此得知所筛选到的 BIP 为 Bax 抑制子 1, 编码该蛋白的基因为 TEGT 基因。对 TEGT 基因外显子及剪切位点分析, 结果发现含 8 个外显子, 7 个内含子。对 TEGT 基因定位分析发现, TEGT 基因位于常染色体 12q13. 12~ 12q13. 13。对 TEGT 基因进行 ORF 分析发现, 该基因的开放阅读框(ORF)是从第 41 位碱基到第 754 位碱基, 编码 237 个氨基酸。对 Bax 抑制子 1 亚细胞定位分析发现, 该蛋白质主要定位于内质网。对 Bax 抑制子 1 Nice Site View of PROSITE 分析发现, Bax 抑制子 1 是一个凋亡抑制因子, 具有 G-x(2)-[LIVM]-[GC]-P-x-[LI]-x(4)-[SAGD]-x(4,6)-[LIVM](2)-x(2)-A-x(2)-[MG]-T-x-[LIVM]-x-F 的亮氨酸拉链结构模式, 还与 BCL2 和 BCL-X 相互作用。对 Bax 抑制子 1 的 Swiss-Prot 分析发现, Bax 抑制子 1 是一种基因转录增强因子。

3 讨论

应用酵母双杂交体系筛选得到一个 BIP-Bax 抑制子 1。生物信息学分析结果发现, Bax 抑制子 1 由 237 个氨基酸残基组成, 主要定位于内质网。是一种基因转录增强因子, 具有抑制细胞凋亡的作用。Bax 抑制子 1 可能通过亮氨酸拉链结构实现与其他蛋白质的相互作用, 体现了反式作用因子的特性。Bax 抑制子 1 也与 BCL-2(B 细胞淋巴瘤/白血病 2)蛋白和 BCL-X(B 细胞淋巴瘤/白血病-X)蛋白相互作用, BCL-2 和 BCL-X 这两种蛋白是凋亡相关蛋白, 而 Battenin 蛋白又与 Bax 抑制子 1 相互作用, 因此推

测 BIP 也有调节凋亡的作用, 可能参与细胞生长发育的基因表达调控。

神经元蜡样脂褐质沉积症 (neuronal ceroid lipofuscinoses, NCL) 至少由 8 种不同基因突变引起 (CLN1~8)。青少年型 (JNCL, NCL3) 的致病基因为 CLN3。CLN3 编码的 Battenin 蛋白位于溶酶体膜, 为溶酶体必需的膜糖蛋白, 参与哺乳动物细胞溶酶体 pH 的调节并且具有营养神经作用^[6]。BIP 能与 Battenin 蛋白、CLN8P、线粒体 ATP 酶亚基 C 相互作用, 提示 BIP、Battenin 蛋白、CLN8P 和线粒体 ATP 酶亚基 C 可能组成一个新的复合物^[7]。所有的 NCL 发病可能有一共同途径, 推测有多种类型的 CLN 致病基因编码蛋白直接或间接构成与发病有关的共同通路, 形成一结构完整、功能相互制约协调的网络调控体系。此共同调控网络可能是 NCL 各类型疾病间存在联系的纽带, 其调控的系列反应可能就是发病的共同途径。共同病理特征主要为溶酶体内蜡样脂褐质以颗粒状、曲线状、指纹状、直线状和混合状样沉积, 导致以神经细胞和视网膜细胞为主的细胞凋

亡。但 BIP 调节凋亡作用是否与 NCL 的发病机制有关尚待进一步研究。

[参考文献]

- [1] Mole SE. The genetic spectrum of human neuronal ceroid lipofuscinoses. *Brain Pathol*, 2004, 14 (1): 70-76
- [2] Sohar I, Sleat DE, Jadot M, Lobel P. Biochemical characterization of a lysosomal protease deficient in classical late infantile neuronal ceroid lipofuscinoses (LINCL) and development of an enzyme-based assay for diagnosis and exclusion of LINCL in human specimens and animal models. *J Neurochem*, 1997, 73: 700-711
- [3] Ranta S, Savukoski M, Santavuori P, Haltia M. Studies of homogenous populations: CLN5 and CLN8. *Adv Genet*, 2001, 45: 123-140
- [4] Nanbert Zhong, Weina Ju, Dorota Moroziewicz, Ted Brown W. Molecular pathogenic studies of Batten disease: Identification and characterization of Battenin interactive proteins (BIP). *J Mol Diag*, 1999, 1 (1): G23
- [5] 萨姆布鲁克, 等. 黄培堂等译. 分子克隆实验指南(第三版). 北京: 科学出版社, 2002;
- [6] Puranam KL, Guo WX, Qian WH, et al. CLN3 defines a novel antiapoptotic pathway operative in neurodegeneration and mediated by ceramide. *Mol Genet Metab*, 1999, 66: 294-308
- [7] Zhong N, Ju W, Moroziewicz DN, Brown WT. Finding of Battenin interactive protein (BIP) may lead to understanding the pathogenic mechanism for neuronal ceroid lipofuscinoses. *Genet Med*, 2001, 3 (3): 140

(此文编辑 胡必利, 文玉珊)

读者•作者•编者

关于汉字文稿中名词术语使用英文缩写词的规定

当一个多汉字的名词术语在汉字文稿中反复出现时, 作者往往喜欢用一个英文缩写词来代替; 这样做, 既节省篇幅, 又避免繁琐重复, 为多数期刊所称颂, 我刊亦不例外。然而在编辑工作中发现, 由于受作者层次和参考文献种类等因素的影响, 在使用名词术语的英文缩写时存在以下问题: 同一个英文名词术语, 译成的汉文不同, 如 derived 这个词, 有的译成源性, 有的译为衍化, 还有的译成衍生; ④缩写不规范, 英文字母的大小写不一致, 如载脂蛋白 (apolipoprotein), 缩写为 apo 已不规范, 而它却有 Apo 和 apo 两种写法; ⑤用法不当, 有的用在文题中, 有的用作关键词, 有的名词术语仅两三个汉字, 为图方便, 个别作者也用缩写词来代替; 而且, 第一次出现时, 没有汉英对照, 只有缩写, 这是极不应该的。有鉴于此, 为求统一, 我刊对汉字文稿中名词术语使用英文缩写词来代替作如下规定, 请遵照执行。

1 名词术语在 3 个(含 3 个)汉字内, 一律使用汉文; 多于 3 个汉字的, 才可使用英文缩写词; 如胆固醇、脂蛋白、内皮素、高血压、糖尿病、再狭窄等, 都只能用汉字; 但冠心病、肺心病等例外。

2 文题、摘要、关键词、正文中的各层次标题、插图和表格标题中的名词术语, 不得使用英文缩写词来代替。

3 段首的名词术语需用缩写词时, 为了阅读方便, 可在缩写词左右加圆括号, 左半圆括号之前写出汉字名词术语全称。

4 第一次使用英文缩写词来代替名词术语时, 必须按照下列格式来写: 汉文全称(英文全称, 缩写词)。如极低密度脂蛋白胆固醇(very low density lipoprotein cholesterol, VLDLC)、动脉粥样硬化(atherosclerosis, As)等。

5 英文缩写词在汉字文稿中不用复数。

6 书写时缩写词字母之间不用连字符; 若词末有数字, 可在数字与左邻字母之间加连字符(用半字线), 如 IL-1。

7 名词术语的英文缩写词不移行。

8 汉字文稿中不宜过多使用英文缩写词, 我刊规定文献综述可用 4~6 个, 其它文稿限 4 个内。

以上规定请共同遵照执行。

(胡必利起草、修订)