

# 胃癌相关基因GCRG224的克隆及其在大肠杆菌中的表达

伍银桥, 王刚石, 王孟薇, 吴本俨, 尤纬绵, 王卫华

伍银桥, 王刚石, 王孟薇, 吴本俨, 尤纬绵, 王卫华, 中国人民解放军总医院南楼消化科 北京市 100853

伍银桥, 男, 1964-12-01 生, 湖北省京山县人, 汉族. 2003 年军医进修学院博士, 主要从事胃癌及癌前病变中癌相关基因异常的研究.

军队“十五”重点科研基金资助项目, No. 01Z035

项目负责人: 王孟薇, 100853, 北京市复兴路 28 号, 中国人民解放军总医院南楼消化科. wuyq56@hotmail.com

电话: 010-66937393 传真: 010-66935470

收稿日期: 2003-12-27 接受日期: 2004-02-01

## Cloning and expression of gastric cancer related gene GCRG224 in *E.coli*

Yin-Qiao Wu, Gang-Shi Wang, Meng-Wei Wang, Ben-Yan Wu, Wei-Di You, Wei-Hua Wang

Yin-Qiao Wu, Gang-Shi Wang, Meng-Wei Wang, Ben-Yan Wu, Wei-Di You, Wei-Hua Wang, Department of Gastroenterology, South Building, General Hospital of Chinese PLA, Beijing 100853, China

Supported by Key Project Grant in Medical Sciences from the Tenth Five-year Plan of Chinese PLA, No.01Z035

Correspondence to: Meng-Wei Wang, Department of Gastroenterology, South Building, General Hospital of Chinese PLA, Beijing 100853, China. wuyq56@hotmail.com

Received: 2003-12-27 Accepted: 2004-02-01

## Abstract

AIM: To express gastric cancer related gene GCRG224 by using thioredoxin fusion expression system.

METHODS: GCRG224 cDNA with complete open reading frame was amplified by PCR from plasmid pGEM-T, and then cloned into thioredoxin fusion expression vector pET102/D-TOPO. The recombinant plasmid was further transformed into *E.coli* BL21 strain. After induction with IPTG, thioredoxin-GCRG224 fusion protein was expressed in *E.coli*.

RESULTS: SDS-PAGE analysis showed the thioredoxin-GCRG224 fusion protein with a relative molecule mass of 16 800 was highly expressed. The thin layer gel scanning analysis showed that the yield of GCRG224 fusion protein was 22.3% of the total bacterial protein.

CONCLUSION: The GCRG224 recombinant fusion protein is successfully expressed in *E.coli*.

Wu YQ, Wang GS, Wang MW, Wu BY, You WD, Wang WH. Cloning and expression of gastric cancer related gene GCRG224 in *E.coli*. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2004;12(4):763-766

## 摘要

目的: 利用硫氧还蛋白融合表达系统表达胃癌相关基因 GCRG224.

方法: 采用PCR技术从pGEM-T质粒上扩增出含完整ORF的GCRG224 cDNA序列, 将其克隆至硫氧还蛋白融合表达载体 pET102/D-TOPO 中, 转化大肠杆菌 BL21, 经 IPTG 诱导表达重组融合蛋白, SDS-PAGE 分析表达产物.

结果: 高效表达出相对分子量约16 800的重组融合蛋白. 薄层凝胶扫描显示, 其表达量占菌体总蛋白质的 22.3%.

结论: 在大肠杆菌中成功表达了GCRG224重组融合蛋白.

伍银桥, 王刚石, 王孟薇, 吴本俨, 尤纬绵, 王卫华. 胃癌相关基因 GCRG224 的克隆及其在大肠杆菌中的表达. 世界华人消化杂志 2004;12(4):763-766  
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/12/763.asp>

## 0 引言

研究表明, 胃癌的发生发展过程中涉及到多种癌基因、抑癌基因的变化<sup>[1-7]</sup>, 但迄今为止, 仍未从基因角度阐明胃癌发生、浸润或转移等方面的机制, 胃癌的早期诊断、预后判断和治疗等各方面均无明显突破, 其年死亡率在我国仍居各类恶性肿瘤之首<sup>[8-13]</sup>. 我们应用荧光标记的 mRNA 差异显示技术分析了我人胃窦部进展期腺癌组织、癌旁组织和正常胃黏膜组织之间表达基因的差异, 从中筛选并克隆出 1 条基因序列, 命名为 GCRG224, 生物信息学分析显示其与已知的蛋白质无同源性<sup>[14-15]</sup>. 为了获得 GCRG224 蛋白并进一步研究其在胃癌发生发展中的作用, 我们通过 PCR 方法, 扩增了含完整 ORF 的 GCRG224 cDNA 序列. 采用基因重组技术, 构建了融合基因表达载体 pET-224, 并在大肠杆菌中得到高效表达.

## 1 材料和方法

1.1 材料 含目的片段的 pGEM-T 质粒由本室王刚石博士构建保存. *E.coli* TOP10, BL21 Star<sup>TM</sup>(DE3)菌株, platinum Pfx<sup>®</sup> DNA polymerase 和 pET102/D-TOPO 载体均为 Invitrogen 公司产品. IPTG, 质粒提取试剂盒购自 Promega 公司. DNA 分子质量标准 DL2000 购自宝生物工程(天津)有限公司(Takara). 蛋白质分子质量标准购自北京原平皓生物有限公司. SDS, Tris 碱为 Gibco 公司产品. 丙烯酰胺, 甘氨酸为 Sigma 公司产品. 按照 GCRG224 的 cDNA 序列设计了一对引物, 并根据表达载体要求在上游引物 5' - 端加入 CACC 序列, 以便于后续的定向克隆. 引

物由中国科学院微生物所合成. 引物序列如下: P1: 5' - C ACC ATT CCT GGT AAC CCA AGT CC -3'; P2: 5' - GAG AGA AGG AAC TTA TCT ACG GC -3'.

1.2 方法 以 pGEM-T 质粒为模板, 以 P1, P2 为引物, 用 Pfx DNA 聚合酶扩增出含完整 ORF 的 GCRG224 cDNA 序列. PCR 扩增的条件是: 94 °C 变性 30 s, 55 °C 退火 30 s, 68 °C 延伸 1 min, 25 次循环反应后, 于 68 °C 继续延伸 10 min. 表达载体的构建按产品说明将 PCR 产物与 pET102/D-TOPO 载体连接, 转化 TOP10 感受态菌, 随机挑取 10 个菌落, 进行 PCR 鉴定. 选取经过 PCR 初步鉴定的阳性菌落, 送上海博亚生物工程公司测序. 将质粒 DNA 转化 BL21 Star™(DE3) 感受态菌, 接种于 10 mL 含氨苄青霉素(100 mg/L)的 LB 液体培养基中, 37 °C 过夜培养后按 1:50 放大培养至 OD<sub>600</sub> 达 0.5-0.6, 加入 IPTG 至浓度为 1 mmol/L, 诱导培养 3-4 h. 收集菌体进行 SDS-PAGE 凝胶电泳检测. 离心收集诱导培养的工程菌菌体, 悬浮于裂解缓冲液中, 经反复冷融或超声破碎后离心, 沉淀不溶解蛋白, 上清即为可溶组分, 再进行 SDS-PAGE 凝胶电泳. 根据上清组分与沉淀组分中的蛋白的含量, 判断其表达形式.

## 2 结果

2.1 目的基因片段的扩增及序列分析 PCR 扩增产物经琼脂糖凝胶电泳后, 可见 1 条清晰、单一、大小约 214 bp 的特异性扩增条带(图 1), 其大小与预计的相吻合. 序列测定结果与理论预期一致.

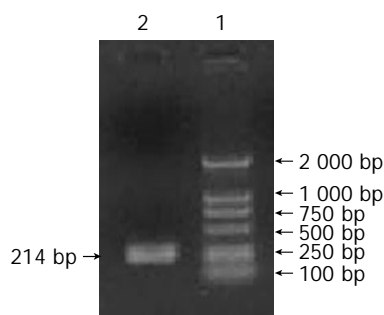


图 1 GCRG224 PCR 扩增片段. 1: DNA marker; 2: PCR product.

2.2 融合蛋白表达的鉴定 SDS-PAGE 分析表明, 工程菌经 IPTG 诱导后, 在相对分子质量约 16 800 处出现了 1 条明显的新蛋白带, 其大小与理论推算的融合蛋白相对分子质量相符合, 未诱导的工程菌中未见此带. 在诱导后 1 h 该蛋白即开始表达, 3-4 h 达高峰. 凝胶薄层扫描分析显示其表达量约占菌体总蛋白的 22.3%. 将菌体进行冻融裂解或超声破碎、离心后分别取其上清和沉淀进行 SDS-PAGE 凝胶电泳检测, 发现无论诱导时间长短, thioredoxin/GCRG224 融合蛋白均主要以包涵体形式存在于沉淀中, 菌体裂解物上清在相应位置没有明确条带出现(图 2, 3).

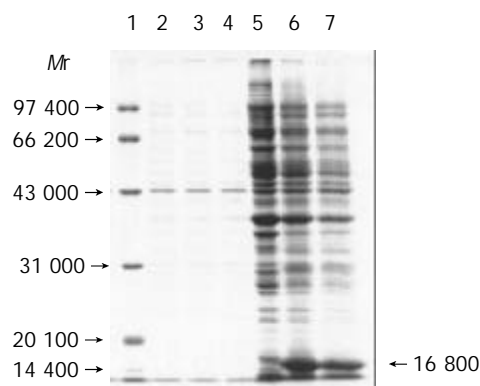


图 2 GCRG224 蛋白表达形式的确定. 1: Marker; 2, 5: Supernatant and precipitation without induction; 3, 6: Supernatant and precipitation after induction with IPTG for 3 h; 4, 7: Supernatant and precipitation after induction with IPTG for 4 h.

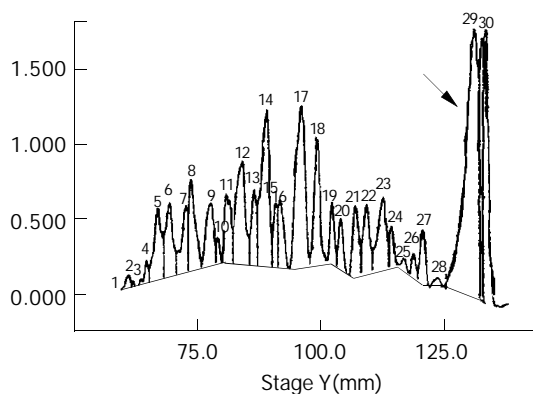


图 3 GCRG224 融合表达蛋白的 SDS-PAGE 凝胶薄层扫描图谱.

## 3 讨论

癌基因和抑癌基因以及与肿瘤发生相关的其他因素的研究一直是近年来肿瘤研究的焦点<sup>[16-19]</sup>. 在胃癌的发生发展过程中涉及到 HER2/neu, met, k-sam, ras, c-myc, Bcl-2, APC, E-Cadherin, p53, Rb, cyclin 等多种基因<sup>[20-29]</sup>. 但这些基因在胃癌组织中变异的特异性不强, 仍很难用作胃癌的监测指标. 至今为止, 国内外缺乏对人胃癌组织特异性基因的了解和研究. GCRG224 是本实验室应用荧光标记的 mRNA 差异显示技术(DDRT-PCR)从我国人胃窦部进展期腺癌组织、癌旁组织和正常胃黏膜组织中筛选并克隆出的 1 条差异表达基因序列. GCRG224 在非癌组织的表达高于肿瘤组织; 原位杂交表明其在 5/30 例腺癌, 3/18 例不典型增生和 6/18 例肠上皮化生表达高于正常胃腺体, 而在 26/30 例正常胃黏膜上皮有显著过表达<sup>[15]</sup>.

为了进一步弄清楚 GCRG224 在胃癌发生发展中的作用及在胃癌诊断中的意义. 我们以获得的含完整开放阅读框架的 GCRG224 cDNA 片段为切入点, 利用大肠杆菌高密度生长的优势和易于表达蛋白、纯化简单, 尤其是以融合蛋白表达的形式等特点, 进行了 GCRG224 cDNA 片段在原核系统中的表达, 为后续的功能研究、蛋白制备及其抗体研制提供了良好的实验材料. 可以预期, 对 GCRG224 的深入研究, 不仅有助于阐明胃

癌的发病机制, 也将为胃癌的诊断、治疗和预后判断提供新的思路 and 手段. 通常 PCR 产物与载体的直接连接效率不高, 并且有非特异性背景菌落产生, 造成后续的筛选困难. 而拓朴异构酶 I 却能高效且快速地将 PCR 产物与载体相连, 同时我们使用的 TOPO 平端克隆方法主要是载体进行了改良设计, 含有 ccdB (control of cell death) 基因<sup>[30-32]</sup>, 可降低非特异性背景菌落, 也易于筛选. 在原核细胞表达时, 为获得产量高、利于基因工程下游纯化的工作, 目前多主张选用以融合蛋白表达形式的载体, 这样既能解决表达蛋白的纯化, 又可防止宿主菌蛋白酶对融合蛋白的降解, 有利于保护目的蛋白的生物活性. 我们选用 pET102/D-TOPO 表达载体, 是近年构建的新型载体, 带有强大的 T7 表达启动子, 给实验操作带来极为有利的方便.

我们以 pET102/D-TOPO 载体高水平地表达了人 thioredoxin/GCRG224 融合蛋白, 产物表达量占菌体总蛋白的 22.3%. 我们选用 pET102/D-TOPO 载体除了希望得到高水平表达的重组融合蛋白, 同时还希望获得可溶性蛋白, 但其表达仍主要以包涵体的形式存在. 究其形成包涵体的原因, 可能有以下几个方面: (1) 重组蛋白的高水平表达. 一般而言, 包涵体的形成是外源蛋白在大肠杆菌中高效表达时的普遍现象. (2) 大肠杆菌胞质与真核细胞胞质环境的差异使重组的外源蛋白不能在大肠杆菌中进行正常的折叠<sup>[33-34]</sup>. (3) 包涵体的形成虽与所表达蛋白的分子无关, 但却受肽链氨基酸组成的影响, 大量疏水氨基酸的存在易促进蛋白的聚集<sup>[35]</sup>. (4) 细菌培养温度、pH 等也可能影响包涵体的形成<sup>[36-38]</sup>. 包涵体蛋白虽然往往无生物活性, 需要重新溶解和复性, 但也为重组蛋白纯化带来了极大的方便, 此外, 包涵体的形成有利于防止蛋白酶对表达蛋白的降解, 增加了产物的稳定性.

#### 4 参考文献

- 1 Tamura G. Genetic and epigenetic alterations of tumor suppressor and tumor-related genes in gastric cancer. *Histol Histopathol* 2002;17:323-329
- 2 Yasui W, Yokozaki H, Fujimoto J, Naka K, Kuniyasu H, Tahara E. Genetic and epigenetic alterations in multistep carcinogenesis of the stomach. *J Gastroenterol* 2000;35:111-115
- 3 Tahara E. Genetic alterations in human gastrointestinal cancers. The appliction to molecular diagnosis. *Cancer* 1995;75(6 Suppl):1410-1417
- 4 Xu AG, Li SG, Liu JH, Gan AH. Function of apoptosis and expression of the proteins Bcl-2, P53 and C-myc in the development of gastric cancer. *World J Gastroenterol* 2001;7:403-406
- 5 潘传敬, 刘宽宇. 胃癌增生凋亡与调节基因的表达. *世界华人消化杂志* 2003;11:526-530
- 6 郝冬梅, 孙秀菊, 郑志红, 贺光, 马鸣超, 徐惠绵, 王梅先, 孙开来. 胃癌癌前病变相关基因的筛查及表达研究. *世界华人消化杂志* 2003;11:6-9
- 7 吴云林, 陈颖. 早期胃癌的临床筛选研究. *世界华人消化杂志* 2002;10:1372-1375
- 8 黄海力, 吴本俨, 尤纬缔, 申明识. 进展期胃癌病理和预后影响因素的关系. *世界华人消化杂志* 2003;11:1297-1301
- 9 Zhou YN, Xu CP, Han B, Li M, Qiao L, Fang DC, Yang JM. Expression of E-cadherin and beta-catenin in gastric carcinoma and its correlation with the clinicopathological features and patient survival. *World J Gastroenterol* 2002;8:987-993
- 10 Fang DC, Luo YH, Lu R, Liu WW. Studies on the relationship between the point mutation of ras oncogenes and the prognosis of patients with gastric cancer. *China Nati J New Gastroenterol* 1997;3:19-21
- 11 Zuo DS, Dai J, Bo AH, Fan J, Xiao XY. Significance of expression of heat shock protein90alpha in human gastric cancer. *World J Gastroenterol* 2003;9:2616-2618
- 12 王孟薇, 杨少波, 张子其, 祝庆孚, 王刚石, 李晖, 姚晨, 吴本俨, 尤纬缔. 老年人胃癌前黏膜癌变的胃镜随访. *世界华人消化杂志* 2003;11:1279-1281
- 13 Lu JB, Sun XB, Dai DX, Zhu SK, Chang QL, Liu SZ, Duan WJ. Epidemiology of gastroenterologic cancer in Henan Province, China. *World J Gastroenterol* 2003;9:2400-2403
- 14 Wang GS, Wang MW, You WD, Li H. Cloning and primary expression analyses of down-regulated cDNA fragment in human gastric cancer. *Chin J Med Genet* 2001;18:43-47
- 15 Wang GS, Wang MW, Wu BY, You WD, Yang XY. A novel gene, GCRG224, is differentially expressed in human gastric mucosa. *World J Gastroenterol* 2003;9:30-34
- 16 Becker KF, Keller G, Hoefler H. The use of molecular biology in diagnosis and prognosis of gastric cancer. *Surg Oncol* 2000;9:5-11
- 17 Boussioutas A, Taupin D. Towards a molecular approach to gastric cancer management. *Intern Med J* 2001;31:296-303
- 18 Yasui W, Oue N, Kuniyasu H, Ito R, Tahara E, Yokozaki H. Molecular diagnosis of gastric cancer: present and future. *Gastric Cancer* 2001;4:113-121
- 19 Yokozaki H, Yasui W, Tahara E. Genetic and epigenetic changes in stomach cancer. *Int Rev Cytol* 2001;204:49-95
- 20 Ross JS, McKenna BJ. The HER-2/ neu oncogene in tumors of the gastrointestinal tract. *Cancer Invest* 2001;19:554-568
- 21 Amemiya H, Kono K, Itakura J, Tang RF, Takahashi A, An FQ, Kamei S, Iizuka H, Fujii H, Matsumoto Y. C-Met expression in gastric cancer with liver metastasis. *Oncology* 2002;63:286-296
- 22 Hattori Y, Itoh H, Uchino S, Hosokawa K, Ochiai A, Ino Y, Ishii H, Sakanoto H, Yamaguchi N, Yanagihara K, Hirohashi S, Sugimura T, Terada M. Immunohistochemical detection of K-sam protein in stomach cancer. *Clin Cancer Res* 1996;2:1373-1381
- 23 Yoo J, Park SY, Robinson RA, Kang SJ, Ahn WS, Kang CS. Ras gene mutations and expression of Ras signal transduction mediators in gastric adenocarcinomas. *Arch Pathol Lab Med* 2002;126:1096-1100
- 24 Lee JH, Abraham SC, Kim HS, Nam JH, Choi C, Lee MC, Park CS, Juhng SW, Rashid A, Hamilton SR, Wu TT. Inverse relationship between APC gene mutation in gastric adenomas and development of adenocarcinoma. *Am J Pathol* 2002;161:611-618
- 25 Ishii HH, Gobe GC, Pan W, Yoneyama J, Ebihara Y. Apoptosis and cell proliferation in the development of gastric carcinomas: associations with c-myc and p53 protein expression. *J Gastroenterol Hepatol* 2002;17:966-972
- 26 Fricke E, Keller G, Becker I, Rosivatz E, Schott C, Plaschke S, Rudelius M, Hermannstadter C, Busch R, Hofler H, Becker KF, Luber B. Relationship between E-cadherin gene mutation and p53 gene mutation, p53 accumulation, Bcl-2 expression and Ki-67 staining in diffuse-type gastric carcinoma. *Int J Cancer* 2003;104:60-65
- 27 Ougolkov A, Yamashita K, Bilim V, Takahashi Y, Mai M, Minamoto T. Abnormal expression of E-cadherin, beta-catenin, and c-erbB-2 in advanced gastric cancer: its association with liver metastasis. *Int J Colorectal Dis* 2003;18:160-166
- 28 Zhou Y, Gao SS, Li YX, Fan ZM, Zhao X, Qi YJ, Wei JP, Zou JX, Liu G, Jiao LH, Bai YM, Wang LD. Tumor suppressor gene p16 and Rb expression in gastric cardia precancerous lesions from subjects at a high incidence area in northern China. *World J Gastroenterol* 2002;8:423-425
- 29 Chetty R, Sitti CW. Cyclin E immunoexpression in gastric

- cancer does not correlate with clinicopathological parameters. *Histopathology* 2003;42:66-69
- 30 Van Melder L. Molecular interactions of the CcdB poison with its bacterial target, the DNA gyrase. *Int J Med Microbiol* 2002;291:537-544
- 31 Lew BM, Paulus H. An in vivo screening system against protein splicing useful for the isolation of non-splicing mutants or inhibitors of the RecA intein of *Mycobacterium tuberculosis*. *Gene* 2002;282:169-177
- 32 Dao-Thi MH, Charlier D, Loris R, Maes D, Messens J, Wyns L, Backmann J. Intricate interactions within the ccd plasmid addiction system. *J Biol Chem* 2002;277:3733-3742
- 33 Carrio MM, Villaverde A. Role of molecular chaperones in inclusion body formation. *FEBS Lett* 2003;537:215-221
- 34 Middelberg AP. Preparative protein refolding. *Trends Biotechnol* 2002;20:437-443
- 35 Zhu H, Liu W, Shi W, Xue Y, Kuai L, Ma Z. In vitro renaturation of recombinant human pro-urokinase expressed in *Escherichia coli*. *Chin Med J (Engl)* 2001;114:186-190
- 36 Chalmers JJ, Kim E, Telford JN, Wong EY, Tacon WC, Shuler ML, Wilson DB. Effects of temperature on *Escherichia coli* overproducing beta-lactamase or human epidermal growth factor. *Appl Environ Microbiol* 1990;56:104-111
- 37 Gavit P, Better M. Production of antifungal recombinant peptides in *Escherichia coli*. *J Biotechnol* 2000;79:127-136
- 38 Yang Q, Xu J, Li M, Lei X, An L. High-level expression of a soluble snake venom enzyme, glosheobin, in *E. coli* in the presence of metal ions. *Biotechnol Lett* 2003;25:607-610

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2004 年版权归世界胃肠病学杂志社

• 消息 •

## World Journal of Gastroenterology 编辑

经《World Journal of Gastroenterology, WJG》编委审稿后, 非常优秀的论文可直接录用, 通知作者按照编委审稿意见及本刊的书写格式进行修改, 符合本刊要求的论文经第一和第二编辑语言处理后方可进行排版。排版后校样由责任编辑审读全文, 无语法及拼写错误方可付印。WJG 为了确保其出版的每篇论文的编辑质量, 特制定了编辑要点。

### 1 题名

应简明扼要有特色, 突出主题, 不宜过长; 应直入主题, 避免使用“探讨、研究、分析、观察、调查、探索”等词语; 不用定冠词 The, 一般不使用缩写字(常用缩写字例外)。具体写作的要求见《科技论文英文题名的撰写》<http://www.wjgnet.com/1009-3079/new/26.asp>。

### 2 摘要

采用结构式摘要。目的部分应直入主题, 如 To investigate the, 可简要交代背景或该课题目前开展情况; 方法(包括材料)和结果(包括重要数据)部分使用过去时, 结论部分使用一般现在时。人称和语态使用应自然, 避免使用“悬垂分词”。摘要的第一句不要重复文章题名, 应增加变化, 补充一些细节。具体写作要求见《科技论文英文摘要的撰写》<http://www.wjgnet.com/1009-3079/new/25.asp>。

### 3 正文

(1) 短句子: 提倡使用短句子, 尽量避免一个句子使用多个从句。拼写正确, 时态一致、准确。方法及结果部分一般使用过去时。讨论部分, 引用文献叙述一般使用过去时, 结论性语言使用一般现在时。要注意主句和从句的时态呼应及文中上下文含意的呼应; 应尽量对照其中文稿以求如实表达其原意; 使用分词短语作状语和定语时, 一定要注意其语态的正确使用, 以求其前后呼应; 应注意用词的对照一致及词语的固定搭配等; 在编辑过程中, 一定要核对各基本数据及其百分比。此外, 还应注意标点符号的正确使用与拉丁语名词的单复数。(2) 数字: 出现在句首的数字应写为: Sixteen cases...或 A total number of 16 cases 而不能写为: 16 cases, 100 patients, 等。(3) 缩略词: 首次使用词语时, 应先写出全称然后在括号内写出其缩写词。(4) 斜体: 细菌、病毒、动植物的拉丁学名、统计学符号、基因符号、内切酶(前 3 个字符)、量符号、拉丁词如 *in vivo*, *in situ*, *et al* 等及参考文献中的刊名应使用斜体。(5) 图表: 不要重复使用, 已用图表示的内容不再使用表格。表和图题的说明应与正文的文题一样, 文内图表的标注使用句子表示时应使用一般现在时而不使用过去时, 如 The data are shown in Table 1. 图表置正文内, 图表内注解首字母大写, 其余小写。

### 4 参考文献

应按先后顺序在正文内标出。参考文献全体作者是否与首页一致, 题名与首页是否一致, 刊名与首页是否一致, 年与首页是否一致, 卷号与首页是否一致, 起页 - 止页与首页是否一致, PMID 号是否与首页一致。

5 其他 (1) 注意字符间空格, 文稿要隔行打印。(2) 使用正式文体, 不用口语体和非规范缩写词。如 isn't, aren't, hasn't, hadn't, haven't, don't, can't, wouldn't, a lot of, a bit, too (also), thru (through), exam (examination), lab (laboratory) 等。(3) 要客观地叙述方法和结果, 用词要质朴无华, 避免使用带感情色彩或广告式宣传的词语。(4) 可用动词时应尽量避免使用动词的名词形式。(5) 正确使用冠词, 对可数词应尽量使用复数形式。(6) 应多用预置短语分开或用连字符断开名词词组, 避免使用长系列形容词或名词修饰名词。(7) 尽量应用重要的事实开头, 避免短语或从句开头。(8) 涉及他人的工作或研究成果时, 尽量列出其姓名, 两名以上的作者一定要用“et al”。具体写作要求见《科技论文的写作要点》<http://www.wjgnet.com/1009-3079/new/31.asp>。