

## 串联重复序列及其在鼠疫菌基因分型中的应用

付秀萍 俞东征 海荣

串联重复序列广泛的存在于真核生物和原核生物基因组中,早在 1960 年后人们就在真核生物基因组中得到了大量的串联重复 DNA 序列<sup>[1]</sup>,但直到最近 20 年才得到越来越广泛的应用<sup>[2]</sup>。在真核生物基因组中串联重复分为以下三种:卫星 DNA(核心序列长度在几百个 bp 之间)、小卫星 DNA(核心序列长度在 10~100 bp 之间)、微卫星 DNA(核心序列长度 < 10 bp)。很多地方又把小卫星 DNA 称作可变量目串联重复序列(VNTR),将微卫星 DNA 称作短串联重复序列(STR)<sup>[3]</sup>。在真核基因组中,串联重复 DNA 大多并不不同编码区域相接近,主要位于基因外区域<sup>[4]</sup>。重复 DNA 可以由单个的核苷酸组成,也可以由大量或少量的多核苷酸重复而成。大多数甚至全部的高等真核生物中分布着几个或数千个的短串联重复序列拷贝<sup>[5]</sup>,这些序列元件在不同的个体中呈现出高度的多样性,这些串联重复序列最初由 Nakamura 等定义为 STR 或微卫星和小卫星 DNA 这一术语,但其中的一些重复,特别是代表一个单独的基因座并且在个体之间存在长度多样性的重复也被称做 VNTR 基因座。VNTR 和 STR 作为重要的遗传标记系统,现在已经广泛应用于肿瘤生化研究、法医学个体识别、亲权鉴定和群体遗传学分析等领域。

随着研究工作的深入开展,人们在原核生物基因组中也发现了一些 VNTR 基因座<sup>[6-9]</sup>。在还不了解某种细菌的全基因组时,可以用限制性内切酶对这种细菌的基因组进行酶切消化,形成带有黏性末端的酶切片段。然后人为地设计带有同样黏性末端的 DNA 接头,通过连接酶将接头与酶片段连接起来,这样就形成了一些两端为已知序列的片段。人们可以根据这些已知序列设计引物,进行 PCR 扩增。如果我们在设计引物时,将引物的 3' 端延长,随意的超出已知的接头序列和酶切位点 1 至若干个核苷酸,那么只有那些末端序列与引物序列刚好吻合的酶切片段才能被扩增,而那些不能吻合的片段就从扩增图谱中消失了。从而使本来密密麻麻的条带变得清晰。这样利用低价的普通限制酶和恒定电场电泳就可以取得昂贵的长片段限制酶和脉冲场电泳的效果。这就是扩增片段长度多态性分析(AFLP)技术<sup>[10]</sup>。人们在利用 AFLP 对原核生物进行基因分析时,发现一些扩增出来的片段其长度差异以某一基数成倍的增加或减少。测序分析发现,这些片段中都含有一些相同的序列(核心序

列),其长度不同是因为此核心序列重复数的不同而造成的,从而在原核生物基因组中也发现了串联重复序列。但一直到 1998 年,Richard 等<sup>[11]</sup>才系统的报道了结核分枝杆菌复合物中的 VNTR,认为 VNTR 在细菌的流行病学调查、菌株鉴别、认识交叉污染文库等方面都有潜在的巨大的应用价值;特别是在菌株分型方面具有重大意义。

### 一、串联重复序列的形成机制

一般认为 DNA 复制修复过程中“滑链错配”(slipped-strand mispairing)是引发串联重复序列多态性的主要机制。这可以发生在不恰当的 DNA 错配修复路径中。重复 DNA 特殊的三级结构允许相邻重复之间发生错配,使得在 DNA 复制过程中可以发生插入或缺失,引起重复数不同<sup>[12-14]</sup>。另外,重复数目多样性也可以由含有同一重复 motifs 的多基因座重组来解释。高度重复 DNA 拷贝数的扩增或减少可能是由于 DNA 的不均等交换引起的<sup>[15]</sup>。例如,细胞分裂时,染色体的同源重组十分严格,只能在同源序列之间进行。然而由于卫星 DNA 的高度串联重复,一个重复序列可能和另一条 DNA 分子上的不等位的相同重复序列配对并发生交换。这种不均等交换使得用限制酶切割卫星 DNA 时,除了产生单体重复单位和多聚体重复单位这样的整数倍重复单位以外,还产生了 1/2 倍等非整数倍的重复单位。如果提高分辨率,还会发现 1/4 和 3/4 等非整数倍重复单位<sup>[16]</sup>。

任何串联重复的 DNA 序列,不管其中是否含有编码的遗传信息,都将经受均一化作用。尽管这种均一化机制仍然众说纷纭,但其存在却是公认的。使串联重复的 DNA 序列保持均一化,目前一般认为有两种机制:一是交换固定;二是基因转换。这两种机制与基因扩增一起维持了串联重复序列的均一化。交换固定是由相外同源重组而引起的。也就是说在姊妹染色体上的非等位重复序列之间发生了同源重组,结果产生了非均等交换。对于无编码功能的串联重复序列来说,非均等交换的两种产物均可能传递下去。因此突变序列要么被淘汰,要么迅速占据整个重复序列。而对于串联重复基因来说,在大多数情况下突变基因将被淘汰;但有功能的突变基因序列亦有可能迅速扩展。在非均等交换中拷贝数较少的重复序列可以在后代中通过基因扩增恢复原有的拷贝数。基因转换也是通过同源序列之间的重组而实现的<sup>[16]</sup>。

### 二、串联重复序列的功能

1. 在真核细胞中的串联重复序列:在真核细胞中,串联重复序列同调节功能有关。例如在成纤维细胞中,重复序列

多样性可以作为细胞裂解精确性的决定机制。很多人类串联重复序列特别是那些三核苷酸重复同人类的基因性疾病有关。1991 年 Verkerk 等首次发现人的脆性 X 综合征和 X 连锁脊髓肌肉萎缩 (SBMA) 是 VNTR 长度异常引起的, 这种异常称为动态突变。迄今已发现 13 种由 VNTR 的长度异常引起的遗传性疾病。除少数为良性结果外, 大部分的 VNTR 扩增都会导致诸如脆性综合征、强直性肌营养不良、SBMA、Huntington 病 (HD) 脊髓小脑共济失调 I 型、齿状核红核苍白球丘脑下部萎缩、MJD 病和多指 (趾) 症等遗传病的发生<sup>[17]</sup>。在对 HD 病的研究中, 发现 (CAG)<sub>n</sub> 多样性同神经学表现型有关<sup>[18]</sup>。在一些例子中, 重复多样性可以确定遗传性疾病的倾向。而且, 已经证明重复中的“滑链错配”同癌症的发展有关系<sup>[19, 20]</sup>。大约 30% 的直肠癌细胞 DNA 中的 (CA)<sub>n</sub> STR 与相同个体的正常细胞相比其长度具有明显差异。串联重复序列的多样性同病例预后相关, 而且可以作为疾病严重程度的一个指标<sup>[21]</sup>。

有人认为表皮分化复合体基因族与串联重复序列有关, 因为表皮分化复合体基因族有相同的基因结构。这个复合物的所有基因可能都起源于同一个祖先基因。尽管他们的基因序列并不相似, 但是这个复合物的连锁基因具有同样的一般结构。编码区主要由单个外显子和大量不同的 STR 组成。故推测可能的进化机制是: 首先单一的 CAG 序列重复生成了表皮分化复合体基因族的古老基因编码区, 随后整个祖先基因成倍复制。在短序列复制过程中, 有些位点被其他的核苷酸替代并且受自然选择作用的影响, 形成多态性序列, 这些不同序列扩增形成了多种不同的有关表皮分化复合体的基因<sup>[22]</sup>。

2. 在原核细胞中的串联重复序列: 在原核细胞中, 串联重复序列经常出现在基因编码区, 其重复长度大多为 3 bp 或 3 bp 的倍数, 其多态性可以改变表达蛋白质中的氨基酸序列, 导致特殊的表现型。1989 年人们在做嗜血流感杆菌的单克隆抗体时, 发现脂多糖 (LPS) 有多个不同的表现型, 其表现型的不同依赖于 LIC mRNA 的翻译能力。经研究发现, 在基因座 *lic1* 中存在一个 5'-CAAT-3' 串联重复序列, 其重复数的不同可以使得三个 ATG 密码子中的一个位于蛋白质合成读码框之内或之外。这直接影响到蛋白质的合成和主要的氨基酸序列<sup>[23]</sup>。后来, 在基因组另外的区域也证实了有 5'-CAAT-3' 重复。相同的开关信息在 *lic2* 和 *lic3* 基因中也被证实, 他们也参与 LPS 的生物合成<sup>[23-25]</sup>。另外证明, 在 *Nesseria* 和 *Moraxella catarrhalis* 中也存在同 *lic2* 基因相同的同源重复序列<sup>[26]</sup>。

VNTR 也可以位于基因间隔区, 其多态性可能会影响下游基因的表达。串联重复序列可以位于开放式读码框 (ORF) 的上游或下游。在原核生物中, 很多功能上相关的基因前后相连成串, 由一个共同的转录区进行转录的控制。包括结构基因和控制区以及调节基因的整个核苷酸序列叫做操纵元。从结构基因溯流而上紧靠结构基因的部分叫做操

纵子, 从操纵子再溯流而上就是另一个结构区域, 叫做启动子。发生在启动子上的转录过程可以分为三步: ① RNA 聚合酶结合到识别位点上; ② 移动到一个识别位点; ③ 建立一个所谓开放性启动子复合物。人们发现启动子 -10 左右的一段核苷酸序列称作 Pribnow 框的是 RNA 聚合酶的牢固结合位点, 由于 RNA 聚合酶的诱导作用, 富含 A、T 的 Pribnow 框内的 DNA 双螺旋首先溶解, 这个泡状物扩大到 17 个核苷酸左右, 与 RNA 聚合酶形成开放性启动子复合物。从而使 RNA 聚合酶定向, 按顺流方向移动行使转录功能。对于大多数启动子来说, 在 RNA 聚合酶覆盖的部分还有一个重要的区域, 叫做 Sextama 框, 其位置在 -35 附近, 又称作 -35 序列。-35 序列是 RNA 聚合酶初始结合位点, RNA 聚合酶依靠其  $\delta$  亚基识别该位点, 因此又称 RNA 聚合酶识别位点。RNA 聚合酶先结合于 -35 序列, 然后才结合于 -10 序列。值得注意的是在 Pribnow 和 Sextama 框之间的碱基序列并不特别重要, 因为这个序列的碱基替代突变对转录效率影响不大。然而这两个序列之间的距离却十分重要, 距离的大小是决定启动子强度的重要因素之一。若串联重复序列位于这两个序列之间, 则其重复数目的多少会对转录活性造成重要的影响。串联重复数目的多态性, 可以改变上游起始因子同 ORF 复合物的结合, 从而调控下游基因的翻译<sup>[16]</sup>。例如由 *proA* 基因编码的 *Neisseria meningitidis* 的外膜蛋白 class 1 有三个不同的表达水平, 研究发现其多样性是在转录水平上进行调节。它的转录起始位点位于翻译起始密码子上游 59 bp 处, 序列分析表明在启动子区域 -10 至 -35 处存在一个核心序列为 G 的重复序列。当鸟嘌呤为 11、10 和 9 个时, 这个外膜蛋白分别表现为高表达、中等表达和不表达<sup>[27]</sup>。

### 三、串联重复序列在鼠疫菌基因分型中的应用

串联重复序列的多态性一般是指由于核心序列重复次数不同而构成的长度多态性, 但测序研究结果证明 STR 也存在着序列多态性。在实际应用中序列多态性的检测手段繁琐, 对仪器、设备要求高, 所以较少采用。而长度多态性检验只需要简单的 PCR 扩增和电泳技术即可完成, 所以越来越多的得到人们的应用。

分子生物学技术的发展为细菌菌株的鉴别提供了很大的便利, 这些技术加速了细菌群体基因的研究, 并且使一些全球性分布细菌的菌株鉴定成为可能。其中 DNA 扩增技术越来越多的应用于细菌的基因分型。由于串联重复序列的片段长度较短, 一般在几个到几十个碱基之间, 又很容易通过 PCR 扩增、电泳分型。PCR 扩增串联重复序列基因座时仅需要少量模板 DNA, 灵敏度比传统的分型方法高的多。另外串联重复序列在细菌基因组中广泛分布, 与传统的遗传标记相比, 等位基因多, 杂合度高, 特别是多个串联重复序列基因座联合监测时, 个体识别率很高。而且利用 PCR 对串联重复序列多样性进行检测, 其大小可以用简单的数字来表示, 比其他的分型方法具有更好的重复性。该技术的一个重要缺陷是流行病学研究时, 串联重复序列周围区域可能会因

为环境的压力而产生高突变性 这就使得我们不能利用此区域来鉴定菌株。此时只能重新设计引物或选择更优化的遗传标记。

现行的鼠疫菌分型方法有基因型和表现型两种,主要有以下不同类型的指标:糖醇酵解能力,形成亚硝酸盐的能力,氨基酸需求,鼠疫菌素的产生及其敏感性色素沉着特征稳定性,内毒素含量,蛋白质电泳图形等。另外,鼠疫菌分子量不等的质粒之间的差异,也是一种潜在的分型指标。

前苏联的学派认为,鼠疫菌既然是一种寄生性细菌,宿主机体内的环境,就是鼠疫菌生存的直接环境。因此,鼠疫菌的分型理所当然的应与其宿主相联系。鼠疫菌的生物型采取鼠李糖、甘油、麦芽糖、阿拉伯胶糖、蜜二糖酵解和脱氮反应 6 种生化特征为分型指标,将中国的鼠疫菌划分为 16 型。但是在这个分型系统中,不同宿主中分离的鼠疫菌,可能有完全一致的生化特征。因此,宿主的机体内环境,不能完全解释鼠疫菌种下型的形成。经过系统的全国性协作研究,提出了一个新的观念:鼠疫菌的种下型的分布,并非与其宿主动物有关,而与其分布的地理地域有关。也就是说,鼠疫的自然疫源地决定了鼠疫菌的特征,称为生态型。鼠疫菌的生态分型对整个鼠疫科学和鼠疫的防治都产生了重大影响。可以说,这一分型系统的提出,是中国鼠疫研究中最重要成果之一,也是对世界鼠疫研究的重要贡献。但是从这个分型系统中,还难以判定不同型别的鼠疫菌之间的亲缘关系。鼠疫菌的进化树,还需要通过更深入的研究才能得以绘制。而这只能依靠鼠疫菌基因型的研究来确定。

如果不同鼠疫菌株在基因结构方面的差异是稳定的,在鼠疫的流行过程中,这些特征会遗传给它的后代,这就是鼠疫菌的基因型。在当今世界的鼠疫菌研究中,鼠疫菌的基因分型是最重要的研究方向之一。利用基因进行研究,可以向我们揭示许多在鼠疫的流行和变迁中一些重要的规律性。从方法学的角度,鼠疫菌的基因分型有限制酶图谱分析、指纹图分析、扩增图分析和序列分析等。这些方法都具有自己本身的优点,但又都有各自所无法避免的缺陷,距建立一个完整的,可以据此判断全世界鼠疫菌株之间亲缘关系的分型系统,还有相当的距离。

虽然鼠疫菌要适应各种不同的宿主和传播媒介,并且要在不同的气候条件和地理环境下生存,但鼠疫耶尔森菌是一种遗传关系非常紧密的细菌,其血清型和噬菌体型只有一个,在序列比较研究中各菌株之间的核苷酸变异很少<sup>[28]</sup>。研究发现在鼠疫菌基因组中存在着大量的串联重复序列。2000 年 Adair 等<sup>[29]</sup>在鼠疫基因组中测定到一个四核苷酸串联重复序列(CAAA)<sub>n</sub>。在不同的菌株存在不同的等位基因。在实验室条件下,重复培养细菌后测定,其 VNTR 等位基因的类型没有改变。这个(CAAA)<sub>n</sub>重复序列紧挨一个 OFR 的转录启动子,可能会影响其功能。此重复序列的发现可能为鼠疫菌的流行病学研究提供了一个有力的工具。2001 年, Alexandra 等<sup>[30]</sup>利用 software designed by Gur-Arie, et al. (可

以检出的串联重复序列重复长度为 1~8 个碱基)和 Genequest software program(可以检出的串联重复序列重复长度大于 8 个碱基)对 CO92 菌株的全基因组进行了分析,(其中 CO92 的染色体序列是从 Sanger Center Microbial Genomes 网站(<http://sanger.ac.uk/projects/Y-pestis>)下载的 pCD1 和 PMT1 质粒是从 NCBI 网站(GenBank accession numbers NC-001976 and NC-001976 for PMT1)下载的。然后对 12 株全球分布的鼠疫菌进行分析,从中挑选出了 42 个有效的串联重复基因座。以这 42 个串联重复序列基因座作为分子标记对 24 株鼠疫菌进行了测定,将其成功的分组。这些串联重复序列在不同的菌株间存在高度的多态性,且经常位于基因编码区。分布在整个的鼠疫菌基因组和两个毒力质粒 pCD1 和 pPMT1 上,平均每 10 bp 就有 2.18 个方阵,对细菌的种系分析很有用处。多基因座 VNTR 分析可以区分关系相对紧密的菌株,而且可以成功的将一些亲缘关系较远的鼠疫菌进行分类<sup>[30]</sup>。

近几年来人们得到了一系列的完整细菌基因组,并且发展了大规模测定重复序列的方法,在整个基因组水平上对这些重复序列进行比较描述成为可能。鼠疫菌全基因组序列的测定以及检测重复序列软件的,使得我们可以方便的利用串联重复序列对其进行基因分型。建立一个鼠疫菌串联重复序列等位基因的分型标准,需要大量的菌种资源和基础研究。中国具有的丰富的鼠疫菌种资源是研究鼠疫菌分型的一个重要的优势,可以在现有研究的基础上,利用已探测出的引物对中国的鼠疫菌株进行检测,为分型标准的建立积累丰富的经验和大量的数据。

## 参 考 文 献

- Britten RJ, Kohne DE. Repeated sequences in DNA: hundreds of thousands of copies of DNA sequences have been incorporated into the genomes of higher organisms. *Science*, 1968, 161: 529-540.
- Keim P, Klevytska A, Price LB, et al. Molecular diversity in *Bacillus anthracis*. *J Appl Microbiol*, 1999, 87: 215-217.
- Jeffreys AG, Neumann R, Wilson V. Repeat unit sequence variation in minisatellites: a novel source of DNA polymorphism for studying variation and mutation by single molecule analysis. *Cell*, 1990, 60: 473-485.
- Cox R, Mirkin SM. Characteristic enrichment of DNA repeats in different genomes. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1997, 94: 5237-5242.
- Jeffreys AJ, Wilson V, Thein SL. Hypervariable "minisatellite" regions in human DNA. *Nature*, 1985, 314: 67-73.
- Andersen GL, Simchock JM, Willson KH. Identification of a region of genetic variability among *Bacillus anthracis* strains and related species. *J Bacteriol*, 1996, 178: 377-384.
- Frenay HME, Theelen JPG, Schouls LM. Discrimination of epidemic and non epidemic methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains on the basis of protein A gene polymorphism. *J Clin Microbiol*, 1994, 32: 846-847.
- Frothingham R. Differentiation of strains in *Mycobacterium tuberculosis* complex by DNA sequence polymorphisms, including rapid identification of *M. bovis* BCG. *J Bacteriol*, 1995, 175: 2818-2825.
- Goyal M, Young D, Zhang Y, et al. PCR amplification of variable sequence upstream of katG gene to subdivide strains of

*Mycobacterium tuberculosis* complex. J Clin Microbiol, 1994, 32: 3070-3071.

10 Vos P, Hogers R, Bleeker M. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. Nucleic Acids Res, 1995, 23:4407-4424.

11 Richard F, Winifred A, Meeker-O'Connell. Genetic diversity in the *Mycobacterium tuberculosis* complex based on variable numbers of tandem DNA repeats. Microbiology, 1998, 144:1189-1196.

12 Chiurazzi P, Kozak L, Neri G. Unstable triplets and their mutational mechanism: size reduction of the CGG repeat versus germline mosaicism in the fragile X syndrome. Am J Med Genet, 1994, 51:517-521.

13 Coggins LW, O'Prey M. DNA tertiary structures formed in vitro by misaligned hybridization of multiple tandem repeat sequences. Nucleic Acids Res, 1989, 17:7417-7426.

14 Hauge XY, Litt M. A study of the origin of "shadow bands" seen when typing dinucleotide repeat polymorphisms by the PCR. Nucleic Acids Res, 1993, 21:411-415.

15 Pearson CE, Eichler EE, Lorenzetti D, et al. Interruptions in the triplet repeats of SCA1 and FRAXA reduce the propensity and complexity of slipped strand DNA (S-DNA) formation. Biochemistry, 1998, 37:2701-2708.

16 王琳芳, 杨克恭 编. 医学分子生物学原理. 北京: 高等教育出版社, 2001. 7.

17 Collins FS, Patrinos A, Jordan E. New goals for the US human genome project: 1998-2003. Science, 1998, 282:682-689.

18 Mangiarini L, Sathasivam K, Seller M, et al. Exon 1 of the HD gene with an expanded CAG repeat is sufficient to cause a progressive neurological phenotype in transgenic mice. Cell, 1996, 87:493-506.

19 Leach FS, Nicolaides NC, Papadopoulos N, et al. Mutations of a muts homolog in hereditary nonpolyposis colorectal cancer. Cell, 1993, 75:1215-1225.

20 Rosche WA, Jaworski A, Kang S. Single-stranded DNA-binding protein enhances the stability of CTG triplet repeats in *Escherichia coli*. J Bacteriol, 1996, 178:5042-5044.

21 Thibodeau SN, Bren G, Schaid D. Microsatellite instability in cancer of the proximal colon. Science, 1993, 260:816-819.

22 Philippe D. Evolution of simple repeats in DNA and their relation to human disease. Cell, 1998, 94:155-160.

23 Weiser JN, Maskell DJ, Butler PD, et al. Characterization of repetitive sequences controlling phase variation of *Haemophilus influenzae* lipopolysaccharide. J Bacteriol, 1990, 172:3304-3309.

24 Roche RJ, Moxon ER. Phenotypic variation in *H. influenzae*: the interrelationship of colony opacity, capsule and lipopolysaccharide. Microb Pathog, 1995, 18:129-140.

25 Roche RJ, High NJ, Moxon ER. Phase variation in *H. influenzae* lipopolysaccharide: characterization of lipopolysaccharide from individual colonies. FEMS Microbiol Lett, 1994, 120:279-284.

26 Peak IRA, Jennings MP, Hood DW, et al. Tetrameric repeat units associated with virulence factor phase variation in *Haemophilus* also occur in *Neisseria spp.* and *Moraxella catarrhalis*. FEMS Microbiol Lett, 1996, 137:109-114.

27 Arie VDE, Carla TP, Hopman SZ, et al. Variable expression of class 1 outer membrane protein in *Neisseria meningitidis* is caused by variation in the spacing between the -10 and -35 regions of the promoter. J Bacteriol, 1995, 175:2475-2480.

28 Devignat R. Varietes de l'espece *Pasteurella pestis*. Nouvelle hypothese. Bull OMS, 1951, 4:247-263.

29 Adair DM, Worsham PL, Hill KK. Diversity in a variable-number tandem repeat from *Yersinia pestis*. J Clin Microbiol, 2000, 38:1516-1519.

30 Alexandra MK, Lance B, Price JMS. Identification and characterization of variable-number tandem repeats in the *Yersinia pestis* genome. J Clin Microbiol, 2001, 39:3179-3185.

(收稿日期: 2003-06-05)  
(本文编辑: 尹廉)

· 会讯 ·

第三届全国伤害预防控制学术会议征稿通知

第三届全国伤害预防控制学术会议定于 2004 年 10 月 9~12 日在广州市召开。会议主题: 伤害与暴力——不可忽视的公共卫生问题。会议内容: (1) 道路交通伤害、青少年伤害、老年伤害、跌倒、烧伤、溺水与窒息 (2) 自杀、他杀、家庭暴力、工作场所暴力、学校暴力、虐待与疏忽 (3) 职业伤害、职业中毒、旅行伤害、休闲娱乐伤害、消费品与玩具伤害 (4) 急救、院前救治、社区卫生服务的伤害防治与康复 (5) 社区安全、安全教育与安全促进 (6) 伤害的预防控制策略、突发伤害事件的应急措施; (7) 伤害的界定标准、心理伤害的内涵与测量 (8) 伤害监测、干预效果评价、疾病负担、敏感问题的定性访谈等。

征稿要求: (1) 格式: 题目、作者、单位、摘要、关键词、材料与方法、结果、讨论、参考文献(不超过 10 条); (2) 摘要: 论著写“结构性摘要”按目的、方法、结果、结论四段式撰写, 综述写“指示性摘要”; (3) 作者: 姓名、出生年、性别、籍贯、学位、职称、主要研究方向; (4) 论著: 4000 字以内, 题目、作者、单位、摘要、关键词和图表需中英文, 专论、综述和方法学 5000 字以内(参考文献 15 条以内); 短篇论著 2000 字以内, 经验交流 1000 字左右; (5) 稿件将经学术组审定并选择在杂志上刊出(按规定另外收取发表版面费), 已发表或不发表的稿件请注明“只交流不刊出”; (6) 投稿时请汇稿件审理费 30 元。

截稿日期: 2004 年 6 月 30 日(只交流不发表的稿件 2004 年 8 月 31 日)。稿件交送王声教授, 邮寄地址: 510632 广州市暨南大学医学院, Email: wangshengyong@tom.com 或 twshy@jnu.edu.cn 电话: (020) 85220831(伤害预防控制中心), (020) 85220258(流行病学教研室), 传真: (020) 85221343 请登录 www.injurycontrol.net

参加会议的代表可获得国家继续教育项目 10 学分。

第三届全国伤害预防控制学术会议筹备组