

以减毒沙门氏菌运送的 H5 亚型禽流感病毒 DNA 疫苗的构建及其对小鼠的免疫原性

张小荣 焦新安* 潘志明 张晓明 刘秀梵

(扬州大学农业部畜禽传染病学重点开放实验室 扬州 225009)

摘 要 根据 GenBank 中已发表的 H5 亚型禽流感病毒 HA 基因序列,设计一对引物,通过 RT-PCR 扩增鹅源 H5 亚型高致病力禽流感病毒 HA 基因,测序确认后,将其克隆入真核表达载体 pVAX1 和 asd-pVAX1 得到重组表达载体 pVAX1-HA 和 asd-pVAX1-HA。将重组质粒转染 P815 细胞,经间接免疫荧光试验证实,HA 基因在细胞内得到了瞬时表达。进一步将重组质粒转化减毒鼠伤寒沙门氏菌 X4550 得到两种运送 DNA 疫苗的重组沙门氏菌 X4550(pVAX1-HA)和 X4550(asd-pVAX1-HA),以 1×10^9 CFU/只的剂量两次口服免疫 BALB/c 小鼠,免疫小鼠不仅可以检测到 HA 特异性的血清抗体应答,而且还能抵抗稳定表达 H5 亚型禽流感病毒 HA 基因的 P815 肥大细胞瘤的攻击,说明该运送 DNA 疫苗的减毒沙门氏菌系统在体内能够成功释放所携带的质粒,并且能够刺激机体产生保护性免疫应答。

关键词 减毒沙门氏菌, DNA 疫苗, H5 亚型禽流感病毒, 免疫原性

中图分类号 Q78 **文献标识码** A **文章编号** 0001-6209 (2004) 02-0157-05

DNA 疫苗是 20 世纪 90 年代兴起的一种新型疫苗,从诞生以来就显示出良好的应用前景^[1],被称之为“第三代疫苗”。近年来,尝试将 DNA 疫苗技术应用于兽医领域的研究越来越多^[2],但是由于传统 DNA 疫苗的免疫方法(主要有肌肉注射、皮下注射、基因枪免疫等)存在 DNA 摄取效率低或需要特殊设备等缺点,因而成本相对较高,且不适于集约化养殖中的大群免疫,大大制约了 DNA 疫苗在畜牧业领域的实际应用。而用重组减毒胞内菌[如沙门氏菌(*Salmonella*)、志贺氏菌(*Shigella*)、单核细胞增生症李斯特菌(*Listeria monocytogenes*)等]通过粘膜自然感染途径运送 DNA 疫苗则是一种很有希望的方法^[3]。这些细菌可将 DNA 疫苗直接运送给 APCs,具有运送效率高,免疫方法简便、免疫效果好、能同时激发粘膜免疫和全身免疫,并可获得对载体菌的免疫等优点。沙门氏菌是一种重要的人兽共患病原菌,目前对它的研究已很详尽,遗传背景清楚,易于操作和控制,利用它作为载体原核表达多种外源性抗原已得到广泛的研究并取得了良好的免疫效果^[4]。而利用沙门氏菌作为 DNA 疫苗运送载体的研究也是方兴未艾,显示出诱人的前景^[5]。高致病性禽流感(Highly pathogenic avian influenza, HPAI)是由特定亚

型的 A 型流感病毒引起的一类禽类病毒性传染病,被国际兽疫局(OIE)列为 A 类疾病。常用的禽流感疫苗是全病毒灭活油佐剂疫苗,制备方便、效果确实,但是也存在一些难以克服的缺点,如生产成本高、应激大、生产过程中存在散毒的危险、干扰免疫学监测、不能激发局部粘膜免疫等。因此有必要研究开发出一些新型的疫苗克服油苗的以上不足。而以减毒沙门氏菌运送的 DNA 疫苗从理论上可以克服油苗的这些缺点。本研究构建了以减毒鼠伤寒沙门氏菌 X4550 作为运送载体的 H5 亚型禽流感病毒 DNA 疫苗,为家禽口服 DNA 疫苗的研制开辟了新的途径。

1 材料和方法

1.1 质粒、菌株、毒株、细胞株

pGEM® T easy Vector System 购自 Promega 公司;真核表达质粒 pVAX1 购自 Invitrogen 公司;pVAX1 的衍生质粒 asd-pVAX1(将 pVAX1 的卡那霉素抗性基因替换为 asd 基因)由本室构建;大肠杆菌(*Escherichia coli*) DH5 α 由本室保存;大肠杆菌 X6212 (Asd⁻ Lac⁻ NaI⁺ Tel⁺)、减毒鼠伤寒沙门氏菌(attenuated *Salmonella typhimurium*) X3730 (GalE⁻ Hsd⁻ Asd⁻

基金项目 国家“863 计划”(2002AA245051) 国家自然科学基金资助项目(30170700) 江苏省高校自然科学研究计划项目(J0209078)

* 通讯作者。Tel 86-514-7979233 Fax 86-514-7991747 E-mail jiao@yzu.edu.cn

作者简介 张小荣(1978-),男,江苏泰兴人,硕士,主要从事新型畜禽基因工程疫苗的研究。E-mail zhangxrcn1@126.com

其他作者 黄金林,张如宽

收稿日期 2003-07-08,修回日期 2003-10-27

$\text{Nal}^+ \text{R}^- \text{M}^+$) 和 X4550($\text{Cya}^- \text{Crp}^- \text{Asd}^- \text{Nal}^+ \text{R}^+ \text{M}^+$) 均由美国 Roy Curtiss III 教授惠赠。鹅源 H5N1 亚型禽流感病毒(*Avian influenza virus*, AIV) G5 株由本室保存。P815 细胞系购自中国科学院上海生物化学与细胞生物研究所。稳定表达 H5 亚型禽流感病毒 HA 基因的 P815 细胞系 P815-HA 由本室构建。

1.2 工具酶和试剂盒

限制性内切酶 *EcoR* I、*Hind* III、*Bam* H I 购自上海华美生物工程公司; T4 DNA 连接酶、Expand High Fidelity PCR System、Agarose Gel DNA Extraction kit 和 High Pure Plasmid Isolation kit 购自 Roche 公司; Poly-Fect® Transfection Reagent 购自 Qiagen 公司; AMV 反转录酶和 Rnasin 购自 Promega 公司。

1.3 生化试剂

二氨基庚二酸(DAP)和萘啶酮酸(Nalidixic acid) 购自 Sigma 公司; 5-溴-4-氯-β-D-半乳糖苷(X-gal)、异丙基硫代-β-D-半乳糖苷(IPTG)和 G418 购自 Promega 公司; 酵母抽提物、蛋白胨购自 Oxoid 公司; 新生犊牛血清购自兰州民海生物工程有限公司; FITC 标记兔抗鸡 IgG 荧光二抗、HRP 标记羊抗鼠 IgG、IgM 酶标二抗均购自 Sigma 公司; 鸡抗 H5N1 亚型 AIV 高免血清由本室用 SPF 鸡制备; DMEM 培养基购自 Sigma 公司, 生长液含 10% 灭能 FCS、100U/mL 青霉素和 100μg/mL 链霉素, 培养 P815-HA 细胞时再额外添加 400μg/mL G418。

1.4 试验动物

6 周龄 BALB/c 小鼠购自扬州大学实验动物中心。

1.5 H5N1 亚型禽流感病毒血凝素(HA)基因的克隆

1.5.1 引物的设计和合成 参照 GenBank 中已发表的 H5 亚型禽流感病毒 HA 基因全序列, 用 Primer Premier 5.0 软件辅助设计一对引物, 由上海生工生物工程技术服务有限公司合成。引物序列为: P1(上游引物): 5'-CCAAGCTTAAAATGGAGAAAATAGTGC-TT-3'; P2(下游引物): 5'-ACGGATCCCCCTACAATCT-GAACTCACA-3'; 上、下游引物中分别引入了 *Hind* III 和 *Bam* H I 限制性酶切位点, 这对引物能够覆盖 HA 基因的完整阅读框架, 预期扩增出的目的条带大小为 1748bp。

1.5.2 HA 基因的 RT-PCR 扩增 鹅源 H5N1 亚型禽流感病毒 G5 株在鸡胚上增殖后, 参照吴艳涛等^[6] 的酚-SDS 法提取病毒基因组 RNA, 反转录按 Promega 公司 AMV 反转录酶说明书进行, PCR 反应体系为:

10×PCR 缓冲液 5μL, dNTP(5mmol/L) 2μL, 上游引物(50μmol/L) 1μL, 下游引物(50μmol/L) 1μL, 反转录产物 6μL, 高保真 DNA 聚合酶 0.5μL, 灭菌超纯水 34.5μL, 总体积 50μL。采用热启动 PCR, 共进行 30 个循环, 前 5 个循环的条件为 94℃ 45s, 40℃ 45s, 72℃ 2min; 后 25 个循环的条件为 94℃ 45s, 50℃ 45s, 72℃ 2min; 72℃ 10min, 4℃ 保存。反应结束后, 取 10μL 扩增产物于 0.8% 琼脂糖凝胶中电泳鉴定。

1.5.3 PCR 产物的克隆和序列测定 将 PCR 产物与 pGEM® T easy Vector 进行 T-A 克隆, 具体操作参照说明书进行。连接产物转化与重组克隆的酶切鉴定均参考文献[7] 进行, 重组质粒命名为 pGEM-THA, 由上海生工生物工程技术服务有限公司进行序列测定。

1.6 重组真核表达载体的构建

将 HA 基因用 *Hind* III 和 *Bam* H I 从 pGEM-THA 中切出, 分别克隆入真核表达载体 pVAX1 和 asd-pVAX1 的相应位点之间, 构建成重组真核表达质粒 pVAX1-HA 和 asd-pVAX1-HA。

1.7 重组真核表达质粒转染 P815 细胞

用 High Pure Plasmid Isolation Kit 小量制备重组真核表达质粒 pVAX1-HA 和 asd-pVAX1-HA, 具体操作按说明书进行。提取的质粒用乙醇沉淀除菌, 溶于灭菌 TE 中, 电泳定量后用 PolyFect® Transfection Reagent 试剂盒, 参照说明书提供的 Hela 细胞的转染程序转染 P815 细胞。转染后 48h, 通过间接免疫荧光试验检测 HA 基因的表达, 具体操作参考文献[8] 进行。

1.8 重组真核表达质粒导入减毒沙门氏菌

按文献[7] 方法用 CaCl_2 法制备减毒沙门氏菌 X3730($\text{R}^- \text{M}^+$) 和 X4550($\text{R}^+ \text{M}^+$) 感受态细胞。其中 X4550 是用于运送 DNA 疫苗的终末宿主菌, 由于 X4550 具有很强的宿主限制性, 因此 pVAX1-HA 和 asd-pVAX1-HA 在导入 X4550 之前均需要先转化中间宿主 X3730, 使其获得鼠伤寒沙门氏菌的甲基化模式, 然后再提取质粒转化 X4550。所获得的阳性转化子分别命名为 X4550(pVAX1-HA) (asd 缺陷型) 和 X4550(asd-pVAX1-HA) (asd 互补型)。相应的不含 HA 基因的阴性对照菌 X4550(pVAX1) 和 X4550(asd-pVAX1) 通过同样的方法转化获得。

1.9 对 BALB/c 小鼠的免疫原性试验

1.9.1 疫苗准备 取 X4550(pVAX1-HA) 和 X4550(asd-pVAX1-HA) 分别接种相应的选择性液体 LB 培养基, 37℃、150r/min 振荡培养 18h, 4℃ 1500g 离心

10min,弃上清,用灭菌的 PBS 调整细菌浓度至 10^{10} CFU/mL,备用。

1.9.2 免疫和样品采集 试验共分为 5 组,分别为 X4550(pVAX1-HA)免疫组、X4550(pVAX1)免疫组、X4550(asd-pVAX1-HA)免疫组、X4550(asd-pVAX1)免疫组和空白对照组,免疫剂量为 10^9 CFU/只,分别于 6 周龄和 10 周龄分别进行两次口服免疫。于首免后 4 周(二免前)和二免后 4 周对试验鼠通过眼眶采血,分离血清。

1.9.3 血清抗体效价的测定 通过间接 ELISA 方法测定 HA 特异的血清抗体效价。ELISA 方法参照文献[9]方法进行,以 $P/N \geq 2.1$ 判为阳性,以能满足 $P/N \geq 2.1$ 的抗体最大稀释度的倒数作为抗体的效价。

1.9.4 肿瘤细胞攻击 P815-HA 肿瘤细胞用 DMEM 培养基(含 10% FCS 和 $400 \mu\text{g/mL}$ G418)培养,于二免后 4 周采血,再对试验鼠经腹部皮下接种 5×10^6 P815-HA 细胞,定期观察肿瘤形成情况。

2 结果

2.1 H5N1 AIV 毒株 HA 基因的 RT-PCR 扩增结果

2.1.1 RT-PCR 产物的鉴定结果 PCR 产物以 0.8% 琼脂糖凝胶电泳,溴化乙啶染色后呈现约 1.7kb 的条带,与预期大小相符。

2.1.2 重组质粒 pGEM-T HA 的筛选和酶切鉴定结果 重组质粒经 *EcoR* I 酶切后,得到 1.7kb 的插入片段和 3.0kb 的载体条带,证明所挑取的克隆为正确的重组转化子,将得到的重组质粒命名为 pGEM-THA。

2.1.3 HA 基因的序列测定结果 根据序列测定结果,扩增出的 1748 个核苷酸中包含 HA 基因的完整阅读框架,共编码 568 个氨基酸,其中包括信号肽 16 个氨基酸,HA1 329 个氨基酸和 HA2 233 个氨基酸。该序列与 A/Goose/Guangdong/1/96(H5N1)毒株和 A/Hong Kong /156/97(H5N1)毒株之间核苷酸序列同源性分别为 97.9% 和 97.6%,裂解位点的氨基酸序列亦完全一致,为 6 个连续的碱性氨基酸插入,序列为 -RRRKKR-,符合强毒株的特征。

2.2 重组表达载体 pVAX1-HA 和 asd-pVAX1-HA 的构建结果

重组质粒 pVAX1-HA 和 asd-pVAX1-HA 经 *Hind* III 和 *Bam* H I 双酶切后电泳,出现 1.7kb 的插入片段和 3.0kb/4.5kb 的载体,与预期结果相符,说明 HA 基因已被正确插入表达载体 pVAX1 和 asd-pVAX1。

2.3 重组表达质粒转染 P815 细胞的结果

间接免疫荧光试验结果表明 pVAX1-HA 和 asd-pVAX1-HA 转染的细胞均可见大量黄绿色荧光(图 1),而对照组未见有黄绿色荧光(图片未给出),说明 HA 基因在转染细胞中得到表达。

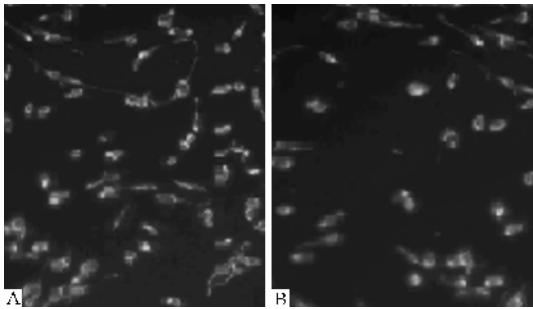


图 1 pVAX1-HA 和 asd-p VAX1-HA 转染 P815 细胞的间接免疫荧光试验结果

Fig.1 The results of indirect immunofluorescent assay for P815 cells transfected with pVAX1-HA and asd-pVAX1-HA
A. P815 cells transfected with pVAX1-HA ;
B. P815 cells transfected with asd-pVAX1-HA .

2.4 重组表达质粒 pVAX1-HA 和 asd-pVAX1-HA 转化减毒沙门氏菌的结果

重组质粒转入沙门氏菌中间宿主 X3730 和终末宿主 X4550 后,分别挑取单个菌落抽提质粒,*Hind* III 和 *Bam* H I 双酶切结果(图 2)表明,所有抽提质粒的酶切电泳图谱均与预期相符,表明重组质粒已被成功地导入减毒沙门氏菌中。

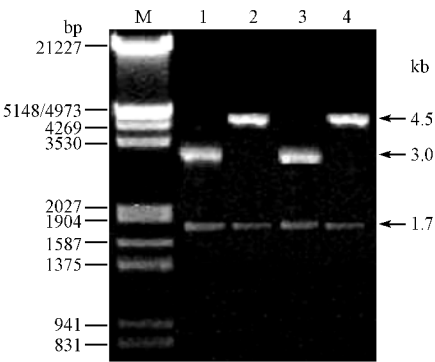


图 2 减毒鼠伤寒沙门氏菌 X3730 和 X4550 转化子酶切鉴定

Fig.2 Restriction enzyme analysis of positive transformants of attenuated *S. typhimurium* X3730 and X4550

M. λ DNA/*EcoR* I + *Hind* III Markers ; 1. pVAX1-HA in X3730/*Hind* III and *Bam* H I ; 2. asd-pVAX1-HA in X3730/*Hind* III and *Bam* H I ; 3. pVAX1-HA in X4550/*Hind* III and *Bam* H I ; 4. asd-pVAX1-HA in X4550/*Hind* III and *Bam* H I .

2.4 免疫原性试验结果

在 BALB/c 小鼠免疫原性试验中,免疫组部分

小鼠在二免之前就可以检测出血清抗体应答,二免后血清抗体阳性的小鼠数量进一步增加,免疫组小鼠不管是否检测到血清抗体应答,均能抵抗 P815-HA 肿瘤细胞攻击,而对照组既没有检测出血清抗体应答,也不能抵抗肿瘤细胞攻击,于肿瘤细胞攻击后 2 周在接种部位形成直径约为 0.5cm 的实体瘤(表 1)。

表 1 运送 DNA 疫苗的减毒鼠伤寒沙门氏菌对 BALB/c 小鼠的免疫原性试验结果

Vaccine	ELISA antibody titres		Tumour forming
	Preboosting	4 weeks postboosting	
X4550(p VAX1-HA)	—	1/30	0/3
X4550(p VAX1)	—	—	3/3
X4550(Δsd-p VAX1-HA)	1/40	1/30	0/3
X4550(Δsd-p VAX1)	—	—	3/3
CK	—	—	3/3

3 讨论

沙门氏菌是一种侵袭性胞内菌,不仅可以用作原核表达的宿主菌,还可以作为 DNA 疫苗的运送载体,由于其可以通过口服途径进行免疫,因而可以激发机体产生粘膜免疫应答^[3]。AIV 天然感染途径是呼吸道和消化道等粘膜途径,因而应用基于沙门氏菌运送的 DNA 疫苗系统开发 AIV 口服疫苗具有很好的应用前景。

X4550 是一株 *Δsd* 基因缺失的减毒鼠伤寒沙门氏菌,由于 *Δsd* 是 DAP(G⁻ 菌细胞壁的主要组成成分)生物合成途径中必需的酶,该基因的缺失导致该突变株在无外源 DAP 的培养条件下溶菌死亡^[10]。Nakayama 等^[11]以携带链球菌 *Δsd* 基因的质粒与该菌互补建立了不依赖于抗生素筛选的原核表达系统,称为平衡致死宿主-载体表达系统(Balanced lethal host-vector expression system)^[12]。但是,以此系统运送 DNA 疫苗的研究尚未见有报道。本试验中以不携带 *Δsd* 基因的真核表达载体 pVAX1 和携带 *Δsd* 基因的真核表达载体 *Δsd*-pVAX1 为基础,成功构建通过 X4550 运送的自杀型和平衡致死型 H5 亚型禽流感病毒 DNA 疫苗系统,在小鼠模型中证实它们可诱导具有保护性的免疫应答,这表明沙门氏菌平衡致死宿主-载体表达系统在 DNA 疫苗研发中亦具有

重要应用价值。

P815 细胞是 DBA/2 小鼠(H₂^d)来源的肥大细胞瘤系,通过使用包含 CTL 表位的某种多肽致敏或稳定转染并表达某种外源基因后,即可作为相应的 CTL 试验的靶细胞^[13]。在对 BALB/c 小鼠的免疫原性试验中,与对照组相比,X4550(pVAX1-HA)免疫组和 X4550(Δsd-pVAX1-HA)免疫组小鼠既能检测到血清抗体反应,又能抵抗 P815-HA 肿瘤细胞的攻击,这说明无论是自杀型还是互补型的运送系统在体内都能成功地释放所携带的 DNA 疫苗,同时激发机体产生 HA 特异的体液免疫应答和 CTL 反应,显示出这一新型 DNA 疫苗优越性,并且后续的商品鸡免疫保护效力试验的结果同样也证明本文所构建的 DNA 疫苗系统能够产生较好的免疫效果(结果另文发表)。

参 考 文 献

[1] Wolff J A, Malone R W, Williams P, et al. Direct gene transfer into mouse muscle *in vivo*. *Science*, 1990, **247**: 1465–1468.

[2] Krishnan B R. Current status of DNA vaccines in veterinary medicine. *Adv Drug Delivery Rev*, 2000, **43**: 3–11.

[3] Dietrich G, Spreng S, Gentschev I, et al. Bacterial systems for the delivery of eukaryotic antigen expression vectors. *Antisense Nucleic Acid Drug Dev*, 2000, **10**(5): 391–399.

[4] Sirard J C, Niedergang F, Kraehenbuhl J P. Live attenuated salmonella, a paradigm of mucosal vaccines. *Immunol Rev*, 1999, **171**: 5–26.

[5] Paglia B P, Medina E, Arioli I, et al. Gene transfer in dendritic cells, induced by oral DNA vaccination with *Salmonella typhimurium*, results in protective immunity against a Murine Fibro sarcoma. *Blood*, 1998, **92**(9): 3127–3176.

[6] 吴艳涛,陈丽君,刘秀梵,等.新城疫病毒 F4E8 株 cDNA 文库的构建. *江苏农学院学报*, 1996, **17**(4): 1–5.

[7] 萨姆布克 J, 弗里奇 E F, 曼尼阿蒂斯 T. 金冬雁, 黎孟枫, 译. 分子克隆实验指南(第二版). 北京: 科学出版社, 1992.

[8] 邵红霞,秦爱建,钱 琨,等. 抗禽流感病毒 H5 亚型血凝素特异性单克隆抗体的研制. *中国动物检疫*, 2002, **19**(8): 21–23.

[9] Larsen D L, Karasin A, Olsen C W. Immunization of pigs against influenza virus infection by DNA vaccine priming followed by killed-virus vaccine boosting. *Vaccine*, 2001, **19**(20–22): 2842–2853.

[10] Schleifer K H, Kandler O. Peptidoglycan types of bacterial cell walls and their taxonomic implications. *Bacteriol Rev*, 1972, **36**: 407–427.

[11] Nakayama K, Kelly S M, Curtiss R III. Construction of an expression-cloning vector: stable maintenance and high level expression of cloned genes in a *Salmonella* vaccine strain. *Biotechnol*, 1988, **6**: 100–104.

© 中国科学院微生物研究所期刊联合编辑部 <http://journals.im.ac.cn>

693 – 697.

- [12] Sigemore D R, Branstrom A A, Sadoff J C. Attenuated *Shigella* as a DNA delivery vehicle for DNA-mediated immunization. *Science*, 1995, **270** 299 – 302.

- [13] Schafer H, Schafer A, Kiderlen A F, *et al.* A highly sensitive cytotoxicity assay based on the release of reporter enzymes, from stably transfected cell lines. *J Immunol Methods*, 1997, **204**(1) 89 – 98.

DNA Vaccines Against H5 Subtype of Avian Influenza Virus Delivered by Attenuated *Salmonella* and Their Immunogenicity in Mice

ZHANG Xiao-Rong JIAO Xin-An* PAN Zhi-Ming ZHANG Xiao-Ming LIU Xiu-Fan
(Animal Infectious Disease Laboratory of Chinese Ministry of Agriculture, Yangzhou University, Yangzhou 225009, China)

Abstract : A pair of primers specific for hemagglutinin (HA) gene of H5 subtype Avian influenza virus (AIV) were designed according to published sequences. The HA gene was amplified by reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) from a H5 subtype AIV strain G5 isolated from goose. The RT-PCR product was recovered and sequenced, and then inserted into eukaryotic expression vector pVAX1 and asd-pVAX1. The recombinant plasmid pVAX1-HA and asd-pVAX1-HA were transfected into mouse mastocytoma P815 cells. It was shown that transfected P815 cells transiently expressed the HA gene in indirect immunofluorescent assay. Furthermore, the recombinant pVAX1-HA and asd-pVAX1-HA were transformed into an attenuated *S. typhimurium* strain X4550, the transformants were screened, identified and named as X4550(pVAX1-HA) and X4550(asd-pVAX1-HA), respectively. After administered into BALB/c mice orally, both X4550(pVAX1-HA) and X4550(asd-pVAX1-HA) induced HA-specific serum antibodies, and supplied effective protection against the challenge of transfected P815 cells stably expressing HA gene of AIV H5 subtype. These results demonstrated that two *Salmonella*-based delivering systems can release harboured DNA vaccines *in vivo*, and elicit protective immune responses.

Key words : Attenuated *Salmonella*, DNA vaccine, H5 subtype of Avian influenza virus, Immunogenicity

Foundation item : Chinese National Programs for High Technology Research and Development (2002AA245051) ; Chinese National Natural Science Foundation (30170700) ; Jiangsu Higher Educational Programs for Natural Science Research (J0209078)

* Corresponding author. Tel 86-514-7979233 ; Fax 86-514-7991747 ; E-mail : jiao@yzu.edu.cn

Other authors : HUANG Jin-Lin, ZHANG Ru-Kuan

Received date : 07-08-2003

《微生物学报》真诚欢迎刊登广告

《微生物学报》(双月刊)创刊于 1953 年,由中国微生物学会和中国科学院微生物研究所主办,是我国微生物学领域唯一的综合性学报级期刊和国家自然科学基金核心期刊,被国内外多家重要的文摘刊物和数据库收录。曾多次被评为优秀科技期刊。

本刊历史悠久,发行量大,内容涵盖面广,主要报道我国普通微生物学,工业、农业、医学和兽医微生物学,病毒学,免疫学以及生物工程等方面的研究成果和科研进展。一直受到国内外科研工作者、高等院校师生和相关企业界的欢迎。

本刊可以为您定期发布与微生物学相关的试剂、药品、仪器、设备及生物技术等方面的产品信息,可为您开拓在微生物学领域新的发展空间。本刊科学严谨,信守协议,由中国科学院科学出版社广告部代理广告业务(广告经营许可证:京东工商广字第 0034 号),编辑部备有最新的期刊简介和报价单,欢迎与我们联系。

通讯地址 : 100080 北京海淀中关村 中国科学院微生物研究所内

《微生物学报》编辑部

电 话 : (010) 62630422 62554303 传 真 : (010) 62554303 电子信箱 : actamicro@sun.im.ac.cn

联 系 人 : 王晋芳 王 敏