

梅毒螺旋体外膜蛋白 *Gpd* 基因的克隆、表达及其免疫活性研究

赵飞骏¹ 吴移谋^{1*} 张晓红² 刘双全¹ 余敏君³

(南华大学 ¹ 病原生物学研究所 ² 组胚学教研室 ³ 病原学实验中心 衡阳 421001)

摘 要 利用 PCR 技术从 *Tp* Nichols 株基因组模板中扩增梅毒螺旋体 (*Treponema pallidum*, *Tp*) 外膜蛋白 *Gpd* 基因,定向克隆构建真核表达重组体 pcDNA3.1(+)-*Gpd*,免疫印迹和免疫组化技术检测 pcDNA3.1(+)-*Gpd* 在 HeLa 细胞中的表达,同时将真核表达重组体 pcDNA3.1(+)-*Gpd* 免疫新西兰兔,检测其在兔体内的免疫应答效果。免疫印迹和免疫组化鉴定均显示重组体在 HeLa 细胞中能表达一个 41kD 的 *Gpd* 融合蛋白。新西兰兔接种核酸疫苗后,能产生特异性抗体,第 3 次免疫后 2 周抗体最高滴度可达 1:1024,免疫后兔脾细胞受 *Gpd* 蛋白刺激有明显增殖反应。所诱导的抗体水平和脾淋巴细胞增殖情况均显著高于空质粒对照组和空白对照组 ($p < 0.05$)。 *Tp* 真核表达重组体 pcDNA3.1(+)-*Gpd* 的成功构建及能刺激新西兰兔产生较强特异的免疫应答,为 *Gpd* 蛋白生物学功能及梅毒 DNA 疫苗的深入研究奠定了一定的实验基础。

关键词 梅毒螺旋体, *Gpd* 基因, 真核表达, 免疫

中图分类号: Q78 文献标识码: A 文章编号: 0001-6209(2005)05-0767-05

梅毒螺旋体 (*Treponema pallidum*, *Tp*) 是引起人类性传播疾病 (STD) 梅毒的病原体, 国内外梅毒的发病率近年一直居高不下^[1,2]; 此外, 梅毒与艾滋病 (AIDS) 的传播途径相同, 可大大增加感染和传播 AIDS 的危险性^[3], 因此梅毒仍然是一个全球关注的公共卫生问题。对于梅毒的有力控制就迫切需求发展一种能对 *Tp* 各亚种^[4,7] 均有完全保护作用的有效疫苗来预防。但到目前为止, 国内外尚没有切实有效的疫苗来预防 *Tp* 的感染。为了有效控制和预防梅毒, 国内外对 *Tp* 的一些主要抗原分子进行了深入研究, 通过筛选 *Tp* 的基因组文库并对其重组抗原进行了定位、结构和功能的研究, 发现 *Gpd*^[5-9]、*TprK* 和 *Tp92* 等几个基因可作为 *Tp* DNA 疫苗的理想基因^[10,11], 而 *Gpd* 基因因其不仅存在于所有 *Tp* 各亚种基因组中, 而且其序列高度保守^[7], 抗原性强, 而被认为是更合适的 *Tp* 疫苗候选基因。对性传播疾病病原体核酸疫苗的研究, 目前仅见于 HIV、HPV、HBV、CT 等, 国内外尚未见用 *Tp* 抗原基因直接构建真核表达重组体免疫动物的研究报道。因此本研究将 *Tp Gpd* 作为研究对象, 利用基因工程技术钓取该基因并将其定向克隆至真核表达载体 pcDNA3.1(+), 构建真核表达重组体 pcDNA3.1(+)-*Gpd*。将重组体 pcDNA3.1(+)-*Gpd* 免疫新西兰兔研究其免

疫活性, 以期为进一步研究 *Tp* DNA 疫苗及建立梅毒抗感染动物模型提供一定实验依据。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 菌株和质粒 *Tp* Nichols 株由新疆疾病预防控制中心董永惠教授惠赠。所用宿主菌大肠杆菌 (*Escherichia coli*) JM109 及 HeLa 细胞株由本研究所保存。真核表达质粒 pcDNA3.1(+), RPMI-1640 培养基及脂质体 LipofectamineTM2000 为 Invitrogen 公司产品。

1.1.2 试剂 T4 DNA 连接酶、限制性内切酶、DNA marker λ DNA/*Hind* III + *Eco*R I 和 200bp DNA marker 等购自洛阳华美生物工程公司, 高保真酶 pyrobestTM DNA Polymerase 购自大连 TaKaRa 公司, 梅毒阳性标准血清为本所保存, HRP 标记山羊抗人/兔 IgG 二抗购自北京鼎国生物技术发展中心。DAB 显色试剂盒为武汉博士德生物工程有限公司产品。免疫用新西兰兔由校实验动物部提供。

1.2 PCR 扩增 *Tp Gpd* 基因

根据 GenBank 基因序列 AF004286, 设计一对引物, 引物 1 和 2 分别引入 *Hind* III 和 *Bam*H I 酶切序列, 引物 1: 5'-CCCAAGCTTATGCGGGGAACATA

基金项目: 湖南省教育厅重点资助项目(002A046), 湖南省卫生厅科研基金(B2003-085)

* 通讯作者。Tel/Fax 86-734-8282907, E-mail: yimowu@sina.com

作者简介: 赵飞骏(1973-)男, 湖南人, 硕士研究生, 讲师, 主要从事梅毒的诊断与防治研究。E-mail: hengyangzhf@yahoo.com.cn

收稿日期: 2005-02-05, 修回日期: 2005-05-10

TTGTGTG-3';引物 2:5'-CGGGATCCGGGTTTCCCCAGAAACTTTAG-3',引物由上海 Sangon 公司合成。100 μ L 反应体系:Tp Nichols 株基因组 DNA 模板 2 μ L,引物(50 μ mol/L)各 1 μ L,2.5mmol/L dNTPs 8 μ L,10 \times pyrobest Buffer 10 μ L,Pyrobest DNA Polymerase (5U/ μ L)0.5 μ L,加水至总体积。PCR 反应条件:94 $^{\circ}$ C 5min,94 $^{\circ}$ C 1min,58 $^{\circ}$ C 1min,72 $^{\circ}$ C 2min,35 个循环;72 $^{\circ}$ C 10min。反应结束后琼脂糖凝胶电泳鉴定结果,琼脂糖 DNA 纯化系统回收 PCR 产物。

1.3 真核表达重组体 pcDNA3.1(+)-Gpd 的构建及鉴定

将回收的 PCR 产物和质粒 pUCm-T 以 2:1 的比例在 T4 DNA 连接酶作用下 16 $^{\circ}$ C 连接约 12h,转化至宿主菌 JM109,经蓝白斑筛选、PCR 鉴定,Hind III 和 BamH I 双酶切确认后将回收克隆载体上切下的 Gpd 基因片段,插入同样以 Hind III 和 BamH I 双酶切的真核表达载体 pcDNA3.1(+),构建 pcDNA3.1(+)-Gpd 重组质粒,双酶切鉴定及测序确认后提取重组质粒备用。

1.4 免疫组化技术鉴定重组质粒的表达

在 6 孔细胞培养板中接种适量(5×10^5)对数期生长的 HeLa 细胞(3mL/孔),使每孔细胞在次日贴壁形成约 80% 单层。换新鲜 RPMI-1640 无血清培养基。在 Eppendorf 管中配制 DNA(pcDNA3.1(+)-Gpd)脂质体复合物(4 μ g:10 μ L)按 Invitrogen 公司提供的脂质体 LipofectamineTM2000 转染程序进行。同时采用 pcDNA3.1(+)-脂质体复合物(4 μ g:10 μ L)脂质体悬液(10 μ L)HeLa 细胞空白作为对照。转染 30h 后将板内培养液弃去,按照免疫组化技术操作流程固定、洗涤、封闭后,加一抗(1:100 稀释的梅毒阳性标准血清)4 $^{\circ}$ C 孵育过夜;充分孵育后用预冷的 PBS 洗涤 3 次,加入二抗(1:1000 稀释 HRP 标记的山羊抗人 IgG)室温孵育 1h,最后 DAB 显色。在荧光倒置显微镜可见光源下观察结果。

1.5 免疫印迹检测转染细胞中表达的 Gpd 融合蛋白

收集转染后的细胞,加入 1 \times SDS 加样缓冲液,煮沸 10min 后离心取上清进行 SDS-PAGE,将 PAGE 胶上的蛋白经 60mA 3h 转至 NC 膜上,以梅毒阳性标准血清为一抗,HRP 标记的山羊抗人 IgG 为二抗,进行 Western blot 来鉴定 Gpd 重组蛋白。

1.6 DNA 疫苗 pcDNA3.1(+)-Gpd 及质粒 pcDNA3.1(+)-Gpd 的大量制备

以碱裂解法大量抽提质粒。将抽提好的质粒纯化后溶于 pH7.3 的无菌 PBS 溶液中,浓度调整为

0.2 mg/mL 备用。

1.7 实验动物分组及处理方法

新西兰兔随机分为 3 组,每组 6 只。第一组为空白对照组:注射 0.5mL 的 PBS 溶液;第二组为空载体对照组:注射 0.5mL 的质粒;第三组为疫苗组:注射疫苗 pcDNA3.1(+)-Gpd 0.5mL;免疫方法是股四头肌多点注射 0.5mL 质粒溶液,每 2 周加强免疫 1 次,共免疫 4 次。

1.8 免疫血清的采集及特异性抗体的检测

初次免疫的当天以及其后的第 2、4、6 和 8 周分别采集兔心脏血 2mL 4 $^{\circ}$ C 放置过夜,离心后,将血清保存于 -20 $^{\circ}$ C 待用。间接 ELISA 法检测特异性抗体,取纯化蛋白 1:50 稀释后,4 $^{\circ}$ C 包被 96 孔酶标板过夜,10% BS-PBS 37 $^{\circ}$ C 封闭 1h,PBST 洗涤,加入倍比稀释的不同浓度的待测免疫血清,用梅毒阳性血清做阳性对照,37 $^{\circ}$ C 孵育 1h,PBST 充分洗涤后,加相应的 HRP 标记的羊抗兔/人 IgG 作为二抗,37 $^{\circ}$ C 再孵育 1h,PBST 充分洗涤后加入显色液和终止液。用酶标仪于 450nm 读取结果。

1.9 MTT 法检测兔脾细胞增殖情况

第 4 次免疫后 2 周,用空气栓塞法处死各组兔,无菌取脾脏,制备脾细胞悬液,以纯化的 Gpd 蛋白为刺激抗原,检测新西兰兔 T 细胞增殖反应,结果以刺激指数(Stimulation index, SI)表示。

1.10 统计学分析

采用 *t* 检验, $P < 0.05$ 为差异有显著性。

2 结果

2.1 Tp PCR 扩增结果和 DNA 疫苗 pcDNA3.1(+)-Gpd 的酶切鉴定

经 PCR 法扩增的 Gpd 基因片段大小约为 1059bp,与预期值相符。将重组质粒 pcDNA3.1(+)-Gpd 用 BamH I + Hind III 双酶切后,得到两个 DNA 片段,分别约为 5.4kb 和 1.06kb 左右,小片段迁移率与 PCR 扩增产物一致,大片段迁移率与 pcDNA3.1(+)-空质粒双酶切后的片段一致,这些均与预期值相符。

2.2 pcDNA3.1(+)-Gpd 的测序鉴定和同源性比较

DNA 测序显示重组质粒含有 1059bp 的目的基因片段,读码框架正确,无碱基错配及移码突变,测序后结果与 GenBank 登录的序列做 Blast 比较,载体上所连目的基因片段序列与 GenBank 登录的 Nichols 株 Gpd 基因序列完全一致,同其他病原性密螺旋体菌株登陆序列比较同源性为 98% ~ 100%。

2.3 免疫印迹检测 Gpd 重组蛋白的免疫反应性

提取转染细胞总蛋白进行 SDS-PAGE 后发现重组质粒 pcDNA3.1(+)-Gpd/脂质体复合物转染组的样品在分子量约为 41kD 处出现一新的蛋白带,与预期值相符。pcDNA3.1(+)-脂质体复合物转染组、脂质体悬液(6 μ L)转染组、HeLa 细胞空白对照组在相应位置未见蛋白条带(图 1-A),进一步以梅毒阳性血清做 Western blot 后暗室显影显示,在此蛋白位置出现免疫反应带,而空质粒 pcDNA3.1(+)-转染组及细胞空白对照组未见免疫印迹带(图 1-B)。

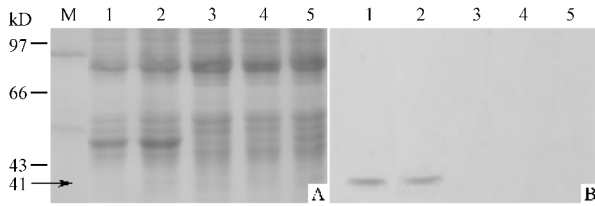


图 1 转染细胞总蛋白 SDS-PAGE(A)和重组蛋白 Gpd 的 Western blot 分析(B)

Fig.1 SDS-PAGE analysis(A) of total proteins of HeLa cells transfected and Western blot analysis(B) of expressed Gpd protein from HeLa cells transfected

M. Protein marker; HeLa cells transfected with 1, 2. pcDNA3.1(+)-Gpd/liposome 3. pcDNA3.1(+)-liposome 4. Liposome 5. HeLa cells untransfected.

2.4 免疫组化检测 Gpd 基因在 HeLa 细胞中的表达

将 pcDNA3.1(+)-Gpd 真核表达质粒转染 HeLa 细胞 30h 后,免疫酶标显色结果显示细胞内有棕褐色的阳性反应产物,而空质粒 pcDNA3.1(+)-脂质体复合物转染 HeLa 细胞、脂质体悬液(6 μ L)转染

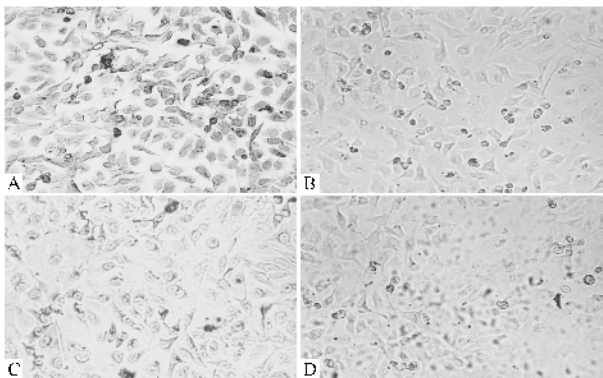


图 2 脂质体介导转染 HeLa 细胞后免疫酶标显色结果

Fig.2 Immunocytochemistry stain results of HeLa cells transfected with liposome

A: HeLa cells transfected with pcDNA3.1(+)-Gpd; B: Background control of HeLa cells; C: HeLa cells transfected with pcDNA3.1(+)-liposome; D: HeLa cells transfected with liposome.

HeLa 细胞、HeLa 细胞空白对照均未见棕褐色的阳性反应产物(图 2)。

2.5 pcDNA3.1(+)-Gpd 诱发抗原特异性抗体

采用间接 ELISA 法检测兔血清中 Gpd 特异性抗体水平(图 3),pcDNA3.1(+)-Gpd 免疫组特异性抗体增长显著,明显高于 pcDNA3.1(+)-免疫组和 PBS 对照组(*t* 检验, $P < 0.05$),第 3 次免疫后 2 周,pcDNA3.1(+)-Gpd 免疫组血清特异性抗体滴度达到最高 1:1024。

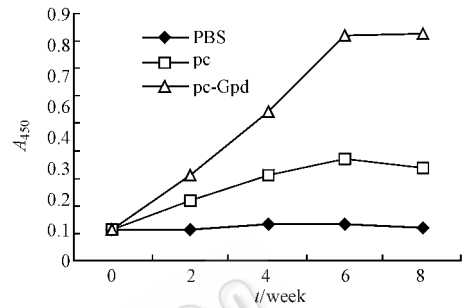


图 3 各免疫组在不同免疫时间的特异性抗体 A 值比较

Fig.3 Comparison of the antibody A value at different times after immunization

2.6 新西兰兔免疫后 T 细胞增殖反应结果

从表 1 可看出,用纯化 Gpd 蛋白刺激后,与 pcDNA3.1(+)-免疫组及 PBS 对照组相比较,pcDNA3.1(+)-Gpd 免疫组的兔脾细胞发生明显的增殖反应(*t* 检验, $p < 0.05$)。

表 1 不同免疫组兔脾细胞对于 Gpd 蛋白刺激的增殖反应

Table 1 The spleen lymphocyte proliferative response of immunized rabbits by recombinant Gpd protein *in vitro*(SI)

Groups	Number of rabbits	Stimulation index
PBS	6	1.44 ± 0.26
PcDNA3.1(+)	6	1.57 ± 0.28
pcDNA3.1(+)-Gpd	6	2.58 ± 0.46

3 讨论

影响 DNA 免疫效果的因素包括调控元件,免疫途径以及细胞因子等。其中,启动子的强弱直接影响质粒 DNA 在机体内表达外源蛋白水平,因而是 DNA 免疫应答的主要影响因素。本研究用于构建核酸疫苗的质粒 pcDNA3.1(+)-是一种带有巨细胞病毒(CMV)强启动子的真核表达载体,可使外源基因在哺乳动物细胞中高效表达,载体上的氨苄青霉素抗性基因中含 CPG 序列,是具有较强活性的免疫刺激序列(ISS),在 DNA 的免疫中具有免疫佐剂作用,可有效地激活免疫效应细胞增强免疫反应。通

通过对重组质粒的双酶切及测序显示,载体上所连目的基因序列与 GenBank 登录的 Nichols 株 *Gpd* 基因序列完全一致,同其他病原性密螺旋体菌株登陆序列比较同源率为 98% ~ 100%,如以 *Gpd* 抗原作为梅毒疫苗候选基因,由于其良好的抗原性和序列高度的保守性和同源性,不仅可能获得对 Tp Nichols 株的抗感染保护作用,还可能同时获得对多种病原性密螺旋体株的交叉保护作用。研究中我们将 pcDNA3.1(+)-*Gpd* 转染 HeLa 细胞后进行免疫印迹和免疫酶标鉴定,结果均显示构建在载体上的 *Gpd* 基因片段在真核细胞内能有效表达一个 41kD 的融合蛋白与梅毒阳性标准血清中相应特异性抗体特异性结合,这表明该融合蛋白具有良好的抗原性。

免疫途径是影响 DNA 免疫应答和免疫效果的又一重要因素,因免疫途径和免疫方式不同,所涉及的抗原提呈细胞、抗原提呈方式均不同,故可产生不同类型、不同强度的免疫应答,大量研究证明经肌肉注射 DNA,诱生的抗体以 IgG2a 升高为主,并可测得高水平的 IFN- γ 及 CTL 活性^[2],而且由于骨骼肌是多个核细胞,以及其所有的一些如肌浆网、横向微管系统等特殊结构,使它摄取、表达 DNA 能力要比其它组织高 100 ~ 1000 倍,并且进入肌纤维的外源基因表达持续的时间较长,可达 60 天以上;在 DNA 疫苗的免疫活性研究中我们就采用肌肉多点注射方式免疫新西兰兔,在初次免疫后 2 周和每次加强免疫后 2 周,收集兔血清检测特异性抗体产生情况,结果显示 pcDNA3.1(+)-*Gpd* 免疫组 IgG 特异性抗体在第一次免疫后有一定程度升高,但 pcDNA3.1(+)-免疫组 IgG 抗体 A 值也有一定升高,两组差异并不是很明显,这在一定程度上反应了 pcDNA3.1(+)-载体确实具有一定免疫佐剂效应;第二次加强免疫后 pcDNA3.1(+)-*Gpd* 免疫组 IgG 特异性抗体 A 值升高则极为显著,达到 0.82,远远高于 pcDNA3.1(+)-免疫组(0.37)和空白对照组(0.13),且特异性抗体效价达到 1:1024,在兔体内持续时间也较长,表明 pcDNA3.1(+)-*Gpd* DNA 疫苗能够在兔体内诱导较强特异性体液免疫应答。细胞介导的免疫反应是核酸疫苗诱导机体抵抗病原攻击的主要机制,淋巴细胞增殖反应是测定细胞免疫反应功能的综合性指标,在一定的程度上可以反应机体的特异性细胞免疫功能,本实验中采用 MTT 法发现 *Gpd* 核酸疫苗组经相应特异性抗原刺激后刺激指数为 2.58 ± 0.46 ,明显高于对照组(1.57 ± 0.28)($P < 0.05$),说明核酸疫苗免疫组脾淋巴细胞受特异性抗原刺激后能引起

特异性淋巴细胞增殖。

本实验证实 Tp pcDNA3.1(+)-*Gpd* 核酸疫苗经肌肉注射法可诱生较强的体液免疫和细胞免疫应答,这在一定程度上为梅毒性疾病的预防带来了新的希望,为进一步研究 Tp DNA 疫苗的保护性及其相关蛋白在动物体内的生物学功能,最终建立能完全有效抗梅毒感染的动物模型提供实验依据,为研制人用的高效核酸疫苗打下一定基础。对于梅毒感染的抵抗虽然主要依赖于 CD4⁺ Th1 细胞因子反应,但抗体(尤其是调理素抗体)的作用在梅毒感染早期也起着重要作用,因此怎样诱导 Th1 型细胞优势反应?又怎样诱导调理素抗体的大量产生?以及如何选择最有效的免疫部位和有效佐剂,减少疫苗免疫剂量并加以优化组合使该疫苗的保护作用发挥最佳水平?我们将在后续的实验中进一步研究。

参 考 文 献

- [1] Stephenson J. Medical news & perspectives: syphilis outbreak sparks concerns. *JAMA* 2003, **289**(8):974.
- [2] 李凤兰,韩宇,孙学臣等.梅毒在我国的流行状况及防治措施.内蒙古民族大学学报(自然科学),2001, **16**(2):196-198.
- [3] Erbeling E. 2001 syphilis rates show increase: does this portend a new wave of HIV infection? *Hopkins HIV Rep* 2003, **15**(1):15.
- [4] 曾铁兵,吴移谋,黄澍杰等.衡阳和江门地区梅毒螺旋体基因分型的初步研究.中华皮肤科杂志 2004, **37**:692-694.
- [5] Cameron C E, Castro C, Lukehart S A, et al. Sequence conservation of glycerophosphodiester phosphodiesterase among *Treponema pallidum* strains. *Infect Immun*, 1999, **67**(6):3168-3170.
- [6] Stebeck C E, Shaffer J M, Arroll T W, et al. Identification of the *Treponema pallidum* subsp. *pallidum* glycerophosphodiester phosphodiesterase homologue. *FEMS Microbiol Lett*, 1997, **154**:303-310.
- [7] Cameron C E, Castro C, Lukehart S A, et al. Function and protective capacity of *Treponema pallidum* subsp. *pallidum* glycerophosphodiester phosphodiesterase. *Infect Immun*, 1998, **66**:5763-5770.
- [8] Van Voorhis W C, Barrett L K, Lukehart S A, et al. Serodiagnosis of syphilis: antibodies to recombinant Tp0453, Gpd, and Gpd proteins are sensitive and specific indicators of infection by *Treponema pallidum*. *Clin Microbiol* 2003, **41**(8):3668-3674.
- [9] Cameron C E, Castro C, Lukehart S A, et al. Opsonic potential, protective capacity, and sequence conservation of the *Treponema pallidum* subsp. *pallidum* Gpd. *J Infect Dis*, 2000, **181**:1401-1413.
- [10] Sun E S, Molini B J, Barrett L K, et al. Subfamily I *Treponema pallidum* repeat protein family: sequence variation and immunity. *Microbes Infect* 2004, **6**(8):725-737.

- [11] Norris S J, Weinstock G M. The genome sequence of *Treponema pallidum*, the syphilis spirochete: will clinicians benefit? *Curr Opin Infect Dis* 2000, **13**(1) 29 - 36.
- [12] de Rosbo NK, Ben-Nun A. T-cell responses to myelin antigens in multiple sclerosis; relevance of the predominant autoimmune reactivity to myelin oligodendrocyte glycoprotein. *J Autoimmun*, 1998, **11**(4) 287 - 299.

Cloning and expression of outer membrane protein gene *Gpd* from *Treponema pallidum* and preliminary studies on its immunogenicity in rabbits

ZHAO Fei-jun WU Yi-mou* ZHANG Xiao-hong LIU Shuang-quan YU Min-jun

(¹ Institute of Pathogenic Biology, ² Department of Histology & Embryology, ³ Experimental Teaching Center for Pathogenic Subjects, Nanhua University, Hengyang 421001, China)

Abstract: To construct the recombinant plasmid of Eukaryotic expression containing *Gpd* gene from *Treponema Pallidum* and study its immunogenicity in New Zealand White rabbits. *Gpd* gene was amplified from the genomic DNA of *T. pallidum* and cloned into appropriate site of pcDNA3.1(+) vector. After verified that the Gpd antigen gene could be expressed in HeLa cells by Western blot and immunocytochemistry, recombinant plasmids pcDNA3.1(+)Gpd, control plasmid pcDNA3.1(+) or PBS buffer were administered in three groups of New Zealand White rabbits. Booster immunizations were employed at 2-week interval for three times. ELISA was used for the quantitative detection of the specific antibody in the sera of rabbits. The proliferation response of spleen cells was detected by MTT assay. The results of the Western blot and immunocytochemistry showed that *Gpd* gene constructed in pcDNA3.1(+) vector could express a fusion protein with a calculated molecular mass of 41kD in HeLa cells and react with positive blood serum from syphilis patients. The significant specific antibody IgG titers were observed and the highest titer was 1:1024 in rabbits after three times with pcDNA3.1(+)Gpd. The proliferation response of spleen cells were significantly higher than that of rabbits injected with pcDNA3.1(+) ($p < 0.05$). All above results establish a solid basis for future studying the biological activities of Gpd and benefit the development of the Syphilis DNA vaccine.

Key words: *Treponema pallidum*, *Gpd* gene, Eukaryotic expression, Immune response

Foundation item: Key Foundation of Hunan Provincial Education Department (002A046); Research Fund of Hunan Provincial Health Department (B2003-085)

* Corresponding author. Tel/Fax 86-734-8282907; E-mail yimouwu@sina.com

Received date 02-05-2005

《微生物学报》2006年征稿计划

为了适应我国生物科技飞速发展的需要,促进国内外学术交流,本刊2006年征稿的主要内容如下:

1. 国家高技术研究发展计划项目(即国家“863计划”)和国家基础研究发展规划项目(即国家“973项目”);
2. 国家自然科学基金资助的重点基金项目、青年基金资助项目、杰出青年基金项目、地区基金项目和面上资助项目以及省部级基金资助项目。
3. 国家科技攻关项目及省部级科技攻关项目。
4. 国际合作项目。
5. 具创新性或有重大突破的基础和应用基础研究成果,对我国西部大开发具有重要学术价值和应用价值的研究成果。

对于高水平的论文本刊将优先发表。

欢迎投稿!欢迎订阅!欢迎提出宝贵意见!