

FMDV 非结构蛋白 2C 主要表位区与 3AB 基因的组合表达与活性分析

张小丽^{1,2}, 田美娜¹, 卢曾军¹, 付元芳^{1,2}, 马小军², 刘在新¹, 谢庆阁¹

1 中国农业科学院兰州兽医研究所 家畜疫病病原生物学国家重点实验室 农业部畜禽病毒学重点实验室 国家口蹄疫参考实验室, 兰州 730046

2 甘肃农业大学动物医学院, 兰州 730070

摘要: 近年的研究表明, 口蹄疫病毒(FMDV)非结构蛋白(NSP)2C 在区分灭活疫苗免疫动物与自然感染动物方面具有潜在的价值, 为了建立敏感性更高的鉴别诊断方法, 将截取了 2C 蛋白 N-端和 C-端的主要 B 细胞表位区和完整 3AB 蛋白基因组合后, 进行了原核表达, 得到了分子量约为 47.6 kD 的目的蛋白 2C'3AB。通过 Western blotting 分析证明, 表达产物能被 FMDV 感染动物阳性血清识别, 具有很好的反应性。以通过电泳纯化的目的蛋白作抗原进行间接 ELISA 检测不同来源的动物血清, 结果表明, 该抗原仅与感染动物血清具有很好的反应活性, 而与健康动物与免疫动物血清无反应, 说明重组蛋白 2C'3AB 可作为区分灭活疫苗免疫动物与感染动物的鉴别诊断抗原。用 2C'3AB 和 3ABC 为抗原进行间接 ELISA, 对比检测田间血清样品, 结果显示 2C'3AB-ELISA 敏感性比 3ABC-ELISA 高。说明以重组蛋白 2C'3AB 作为鉴别诊断抗原, 能进一步提高对临界值血清的检出率, 这对区分灭活疫苗免疫动物与 FMDV 隐性感染动物与带毒动物具有非常重要的意义。

关键词: FMDV, 非结构蛋白, 2C'3AB, 原核表达, 活性分析

Prokaryotic expression and bioreactivity analysis of a major epitope region of 2C with 3AB within non-structural protein of foot-and-mouth disease virus

Xiaoli Zhang^{1,2}, Meina Tian¹, Zengjun Lu¹, Yuanfang Fu^{1,2}, Xiaojun Ma², Zaixin Liu¹, and Qingge Xie¹

1 State Key Laboratory of Veterinary Etiological Biology, National Foot-and-mouth Disease Reference Laboratory, Lanzhou Veterinary Research Institute of Chinese Academy of Agriculture Science, Lanzhou 730046, China

2 Veterinary College of Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, China

Abstract: In recent years, the potential value of nonstructural protein (NSP) 2C was well documented for distinguishing foot-and-mouth disease virus (FMDV) in infected animals and vaccinated animals. In order to develop a more sensitive approach to detect natural infected FMDV while there is no interact with vaccinated FMDV, we incorporated a major epitope region of 2C with

Received: April 10, 2008; **Accepted:** November 13, 2008

Supported by: the National Key Technology R&D Program (No. 2006BAD06A12) and the Major State Basic Research Development Program of China (973 Program) (No. 2005CB523201).

Corresponding author: Zaixin Liu. Tel: +86-931-8342587; Fax: +86-931-8342587; E-mail: liukey@public.lz.gs.cn

国家支撑计划(No. 2006BAD06A12), 国家“973 项目”(No. 2005CB523201)资助。

whole 3AB coding region within NSP and expressed in *Escherichia coli*. We got a 47.6 kD fusion protein named 2C'3AB. The product showed a specific reactivity with FMDV from serum of infected animal by using Western blotting analysis. This suggests that this protein could be applied to distinguish infected FMDV and vaccinated FMDV. We further compared 2C'3AB protein with 3ABC fusion protein, another available protein used for detecting infected FMDV, using indirect ELISA assay. The results showed that 2C'3AB-ELISA had higher sensitivity than that of 3ABC-ELISA for distinguishing infected FMDV and vaccinated FMDV of sera from epidemic region. Therefore, this recombinant protein 2C'3AB is a good candidate protein to develop more sensitive method to differentiate infected FMDV and vaccinated FMDV from vaccinated animals. This finding will increase our capability to check the infectious virus carrier and finally improve FMDV infection control.

Keywords: foot-and-mouth disease virus, NSP, 2C'3AB, prokaryotic expression, reactivity

口蹄疫(Foot-and-mouth disease, FMD)是由口蹄疫病毒(Foot-and-mouth disease virus, FMDV)引起的偶蹄动物的急性、热性、高度接触性传染病。FMD 暴发是灾难性的,不但对发生国的经济造成严重打击,并且产生严重的社会政治和环境影响。2001 年英国口蹄疫发生,造成经济损失达 200 亿英镑,销毁动物达 1000 万头;2007 年英国再次发生口蹄疫造成全国人心惊慌,足见其影响之大。FMD 的防制与国家的经济实力有关,发达国家多采用扑杀销毁的政策,很少采用疫苗;而多数发展中国家,大多也是该病流行的国家,则采用接种灭活疫苗为主的综合防控措施。由于 FMDV 血清型多,病毒变异范围较大,免疫原性较弱,免疫持续期较短,目前使用的疫苗只能保护免疫动物不发病,不能防止免疫动物发生再次感染,这就使疫区的免疫动物群中,有一定数量的动物因自然感染而成为病毒携带者,这些隐性感染动物不但可能引发新的疫情,也为病毒变异、产生新毒株提供了环境;同时,由于病毒嗜性的差异,新传入毒株也可能造成某些动物的隐性感染,这些隐性带毒动物一旦接触到更易感的动物,就有引发新疫情的危险。在疫苗免疫的情况下,一些不依赖于血清型的诊断检测方法的敏感性有所下降,这也为免疫群体中病毒携带者的筛查带来了困难,造成了 FMD 防制形势的复杂化,这也是发达国家为什么不愿意使用 FMD 灭活疫苗的原因。因此,在采取疫苗防控策略的国家建立敏感性高的检测所有血清型病毒感染和隐性带毒动物、且能区分疫苗免疫动物与自然感染动物的诊断方法,已成为 FMD 防治的一项重要技术。近年来,国内外学者陆续建立了许多基于检测非结构蛋白(NSP)3A、3AB、3ABC、2C 和 3D 抗体的 ELISA 鉴别诊断方法,其中检测 3ABC 抗体被认为是发现

隐性感染动物与持续感染动物的最有效方法^[1-4],但仍然仅有不到 70%的带毒牛能够被检测为阳性^[5],而且在用 3ABC 蛋白抗体在确认单个动物的血清时,仍存在不确定性,造成隐性感染动物的漏检^[6]。现在越来越多的研究者认为血清中一种 NSP 抗体并不能正确反映动物的带毒状况,所以许多实验室开始探索同时检测几种 NSP 抗体的方法来筛查感染及隐性带毒的动物。根据 Höhlich 等^[7]和 Oem 等^[8]的研究, FMDV NSP 2C 中也存在具有鉴别诊断意义的表位,这些线性的 B 淋巴细胞表位主要分布于 2C 的 N 端和 C 端,本研究将 2C 蛋白中 B 细胞表位稀少的编码区截去后和 3AB 蛋白编码区连接起来构建成 2C'3AB 基因进行原核表达,旨在实现多个 NSP 中 B 细胞表位的富集,以期提高鉴别诊断方法的敏感性,为筛查隐性感染动物与持续感染动物、鉴别免疫动物与感染动物找到一种更为敏感的方法。

1 材料与方法

1.1 菌株、质粒与工具酶

含 O/China/99 株 FMDV 2C 主要表位区及 3AB 基因的重组质粒 pGEM-2C'3AB (包括 2C 的 1~174、681~954 位核苷酸序列及 3AB 的全部核苷酸序列)为本实验室构建并保存。

大肠杆菌 BL21(DE3) pLys 菌株和 pET-30a-c(+) 表达载体均购自 Novagen 公司;各种限制性内切酶、T4 DNA 连接酶、EX-Taq 酶、dNTP 及 DNA 回收试剂盒购自 TaKaRa 公司;小剂量质粒提取试剂盒为博大泰克公司产品。

FMDV NSP 3ABC 抗体检测间接 ELISA 试剂盒为中国农业科学院兰州兽医研究所研制,已获得农业部颁发的新兽药证书。

1.2 试验血清

1) 对照血清, 阳性对照血清为分别用 O 型 FMDV 攻毒后, 第 3 个月采血分离的发病牛、羊和猪血清, 经 FMDV 146S 抗原液相阻断 ELISA 检测结构蛋白抗体阳性, 3ABC 抗体阳性; 对照阴性血清, 采自非疫区的临床健康动物, 经检测结构蛋白抗体、3ABC 抗体均为阴性。2) 未进行任何 FMD 疫苗免疫的临床健康动物血清(牛血清 40 份, 羊血清 37 份, 猪血清 43 份), 经检测 O 型和 Asia 1 型结构蛋白抗体为阴性, 3ABC 抗体阴性。3) 灭活疫苗免疫 2~3 次以上临床健康动物血清(牛血清 40 份, 羊血清 30 份, 猪血清 39 份), 3ABC 抗体阴性。4) 试验感染的动物血清样品, 用 O 型 FMDV 攻毒后 90 d 采集的牛血清 54 份、用 Asia I 型 FMDV 攻毒后 30 d 采集的猪血清 20 份。5) 从 Asia I 型 FMD 疫区采集的临床健康的田间羊血清 134 份。以上血清均由国家口蹄疫参考实验室保存。

1.3 重组表达质粒的构建

将重组质粒 pGEM-T-2C'3AB 用 *Nco* I 和 *Sal* I 酶切消化, 回收目的片段 2C'3AB。用 *Nco* I 和 *Sal* I 对表达载体 pET-30a 进行消化, 使其产生 2 个与目的片段相同的粘性末端。用 T4 DNA Ligase 连接, 转化大肠杆菌 DH5 α , 挑选单克隆鉴定出阳性质粒, 命名为 pET30a-2C'3AB。

1.4 重组表达质粒的诱导表达

将构建好的重组质粒 pET30a-2C'3AB 转化 BL21(DE3)pLys 菌株, 挑取阳性克隆接种于 3 mL 含 10 g/L 葡萄糖的 LB 培养基(含 50 μ g/mL 卡那霉素)中, 37 $^{\circ}$ C 220 r/min 培养过夜。第 2 天以 1/100 的接种量, 将重组菌接种到含 10 g/L 葡萄糖的 LB 培养液(含 50 μ g/mL 卡那霉素)中, 37 $^{\circ}$ C 250 r/min 摇至 OD_{600} 达 0.5~1.0 左右, 取 2 mL 作为未诱导的对照, 其余的加入 IPTG 至终浓度 1 mmol/L, 37 $^{\circ}$ C 诱导表达, 分别在诱导后 1~5 h 收集菌液进行检测。

1.5 表达产物 SDS-PAGE 电泳

收集的菌液 12 000 r/min 离心 3 min, 用 100 μ L pH 7.4 的 PBS 悬浮, 加入等体积的 2 \times SDS 上样缓冲液, 混匀, 水浴煮沸 5 min, 用 120 g/L 的分离胶进行电泳。

1.6 Western blotting 分析

将 SDS-PAGE 的蛋白带转移至硝酸纤维素膜, 用含 50 g/L 脱脂奶粉的 PBST 封闭, 以 O 型 FMDV

感染牛血清为一抗, 兔抗牛 IgG-HRP 为二抗, 二氨基联苯胺(DAB)染色, 3~5 min 后水洗终止。

1.7 ELISA 检测

1.7.1 检测已知背景的动物血清

2C'3AB 融合蛋白经 SDS-PAGE 电泳纯化后, 作为抗原包被酶标板, 参考本实验室已建立的 3ABC 间接 ELISA 方法的反应条件(一抗 1:21 稀释, 酶标二抗 1:10 000 稀释)^[9], 确定纯化的 2C'3AB 抗原适宜的工作浓度后, 用间接 ELISA 法检测 FMDV 感染动物血清、健康免疫动物血清与非疫苗免疫动物血清中的 2C'3AB 抗体。

采用与 3ABC-ELISA 相同的判定标准, 来确定被检血清的效价值, 即被检血清的效价=(被检血清 OD_{450} -阴性对照 OD_{450})/(阳性对照 OD_{450} -阴性对照 OD_{450}), 如果血清效价介于 0.2~0.3 之间判为可疑, ≥ 0.3 判为阳性, <0.2 判为阴性。

1.7.2 检测田间动物血清

电泳纯化得到的 2C'3AB 融合蛋白作为抗原, 用间接 ELISA 法检测 134 份羊血清, 并将检测结果与 FMD 3ABC-I-ELISA 试剂盒检测的结果进行比较。

2 结果与分析

2.1 重组质粒 pET30a-2C3AB 的鉴定

重组质粒 pET30a-2C'3AB 用 *Noc* I 和 *Sal* I 双酶切, 切出大小为 1155 bp 左右的条带, 用 PCR 方法也可扩增出一条 1155 bp 左右的带, 说明目的片段已正确插入表达载体(图 1)。

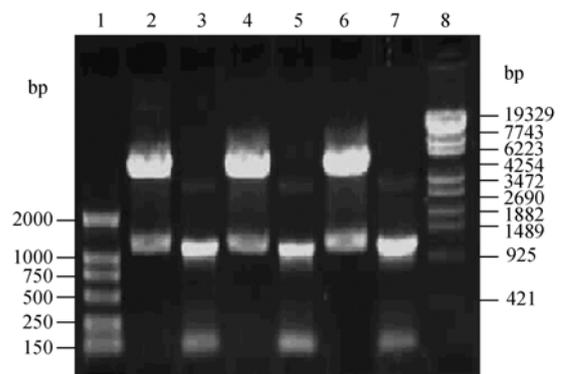


图 1 重组质粒酶切 PCR 鉴定图

Fig. 1 PCR and restriction enzyme digestion analysis of recombinant plasmid pET-30a-2C3AB. 1, 8: DNA marker; 2, 4, 6: products from pET-30a-2C3AB digested with *Noc* I and *Sal* I; 3, 5, 7: PCR products.

2.2 表达产物 SDS-PAGE 电泳

SDS-PAGE 电泳结果显示, 与未诱导的阴性对照相比诱导后的菌体裂解液中有明显的融合蛋白表达, 且再诱导 4 h, 目的蛋白表达量即可达最大, 表达产物分子质量约为 47.6 kD (图 2A), 与预期的融合蛋白分子质量大小相符, 其中 2C'3AB 蛋白分子量为 43.3 kD。

2.3 Western blotting 分析

表达的融合蛋白经 SDS-PAGE 电泳后转移至硝酸纤维素膜上进行免疫学反应, 结果显示, 牛抗 FMDV 阳性血清与诱导菌在约 47.6 kD 处出现一条特异性反应带, 未诱导菌无特异性反应带(图 2B)。证明表达的融合蛋白能与 FMDV 感染动物阳性血清发生反应。

2.4 ELISA 检测

2.4.1 检测已知背景的动物血清

方阵滴定测得纯化抗原 2C'3AB 的最佳工作浓度为稀释度 1:1500。抗原 1:1500 稀释后包被 ELISA

板检测已知背景的感染动物血清、免疫动物和健康非免疫动物血清。结果表明 2C'3AB 抗原能与 FMDV 感染动物血清中发生特异性反应, 与 3ABC-ELISA 方法检测结果符合率在 90%以上(表 1), 3 种血清用 2 种方法检测结果符合率为 96.7%, 证明所表达的抗原具有良好的活性和特异性, 可用于建立鉴别感染动物与疫苗免疫动物的 ELISA 方法。

2.4.2 检测田间动物血清

纯化抗原 1:1500 稀释后包被 ELISA 板, 对经 3ABC 检测为阳性及可疑的 134 份田间羊血清进行检测, 结果见表 2。

从上表可以看出 2 种 NSP 为抗原检测结果——对应的符合率为 80.6%, 部分 3ABC-ELISA 检测可疑的血清 2C'3AB-ELISA 检测为阳性, 说明以 2C'3AB 为抗原对部分可疑血清的检测信号更强, 说明这部分血清中针对 2C 和 3AB 蛋白的抗体的反应信号具有叠加效应, 所以 2C'3AB-ELISA 的敏感性高于 3ABC-ELISA。

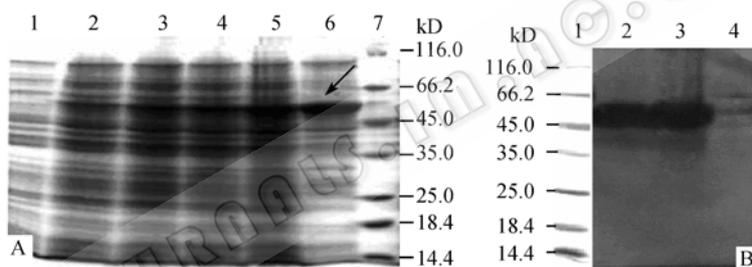


图 2 表达产物 SDS-PAGE 及 Western blotting 分析

Fig. 2 Results of SDS-PAGE (A) and Western blotting analysis (B) of expressed product. (A) 1: sample before being induced; 2-6: samples after being induced for 1-5 h; 7: molecular weight protein marker. (B) 1: molecular weight protein marker; 2-3: samples after being induced for 4 h; 4: sample before being induced.

表 1 2C'3AB-ELISA 与 3ABC-ELISA 对比检测已知背景动物血清的结果

Table 1 Comparative results of 2C'3AB-ELISA with 3ABC-ELISA for detection of sera of different origins

	Sera of bovine				Sera of ovine				Sera of swine			
	Total	Positive	Suspicious	Negative	Total	Positive	Suspicious	Negative	Total	Positive	Suspicious	Negative
Unvaccinated	40	0/0	0/0	40/40	37	0/0	1/0	36/37	43	1/0	2/0	40/43
Vaccinated	40	0/0	1/0	39/40	30	0/0	0/0	30/30	39	0/0	2/0	37/39
Experimentally infected	54	37/35	8/10	9/9	/	/	/	/	20	18/17	2/3	0/0
Consistent rate	97.76% (131/134)				98.51% (66/67)				94.12% (96/102)			

The numerator is results of 2C'3AB-ELISA, the denominator is results of 3ABC-ELISA.

表 2 2C'3AB-ELISA 及 3ABC-ELISA 板检测田间羊血清结果

Table 2 Detected results of ELISA with antigen 2C'3AB and 3ABC in ovine

Antigen	Total	Positive	Suspicious	Negative	Consistent rate (%)
2C'3AB	134	79	54	1	80.6
3ABC	134	54	80	0	/

3 讨论

最早用于鉴别 FMD 感染与免疫动物的方法是病毒感染相关抗原(VIAA, 3D 蛋白)琼扩试验, 后来的研究表明, 3D 蛋白会嵌合在部分病毒粒子的表面, 在灭活疫苗的生产过程中无法去除, 而引起部分免疫动物产生 VIAA 抗体。后续的研究主要集中在 3A、3B、2C 等 NSP 及其前体蛋白。检测 NSP 3ABC 抗体的鉴别诊断技术被认为是目前可信度最高的, 已有许多商品化的试剂盒, 而且该方法也是目前检测持续感染带毒牛的最好方法^[5], 但是, 仍然有很大一部分的持续感染或早期感染动物没有产生可以检测到的 3ABC 抗体, 这就需要进一步提高 NSP 抗体检测方法的敏感性。近年来, 越来越多的研究者认为动物血清中的 2C 抗体也是鉴别诊断较为可靠的指标之一, 应用合成肽表位筛查技术发现, 在 2C 蛋白中存在具有鉴别诊断意义的抗原表位, 这些表位主要集中在 2C 蛋白的 N-端和 C-端^[10-13], 然而, 原核表达的完整 2C 蛋白却不能作为鉴别诊断的抗原^[14,15], 本研究组用原核表达的 2C 蛋白的主要表位区却具有很好的鉴别诊断效果^[16], 这可能与原核表达的完整 2C 蛋白未能充分展示其两端的 B 细胞表位有关。而在聚蛋白 3ABC 中 3AB 抗原性强, 且不同毒株间基因变异小, 而 3C 蛋白抗原性弱, 且 3C 蛋白的存在, 会造成目的蛋白的不稳定性。本研究将 2C 蛋白中主要表位区与完整的 3AB 蛋白编码区连接起来, 以期表达一种能同时检测 2C 及 3AB 抗体的重组蛋白。用这种重组蛋白作为抗原, 一方面实现了 B 细胞表位的富集, 提高反应的敏感性; 另一方面可降低由融合蛋白太长、包含的表位过多而引起的与其他小 RNA 病毒的 NSP 抗体发生的非特异反应性。检测结果也证明了这种抗原表位的优化组合可进一步提高 NSP 抗体检测方法的敏感性。

对于已知背景 3 种动物血清的检测表明, 2C'3AB-ELISA 与 3ABC-ELISA 两种方法的总符合率达 96%以上, 仅个别 3ABC-ELISA 检测阴性的血清, 用 2C'3AB-ELISA 检测为可疑或阳性, 但这是否说明后者的非特异性反应较多, 还需要进一步扩大检测数据来进行评价。对来自疫区的田间羊血清样品的检测结果表明, 用重组蛋白 2C'3AB 作为抗原检测 FMDV 非结构蛋白抗体, 与 3ABC-ELISA 检

测的结果符合率为 80.6%, 其中不符合的血清主要集中在可疑部分, 3ABC-ELISA 试剂盒检测为可疑的部分血清, 2C'3AB-ELISA 检测为阳性, 这进一步反映出 2C'3AB-ELISA 方法的敏感性高于 3ABC-ELISA 方法, 说明优化的 2C'3AB 抗原组合, 既可以检出 2C 抗体又可以检出 3AB 抗体, 检测的阳性信号更强, 提高了对部分可疑血清的检测效果, 从而提高了对一些可疑血清的检出率, 这不仅对鉴别诊断 FMDV 感染动物与免疫动物有很好的作用, 而且对于筛查隐性感染动物、持续感染动物以及早期发现疫情有非常重要的意义。

REFERENCES

- [1] Mackay DKJ, Forsyth MA, Davies PR, *et al.* Differentiation of infection from vaccination in foot-and-mouth disease using a panel of recombinant non-structural proteins in ELISA. *Vaccine*, 1998, **16**: 446-459.
- [2] Sorensen KJ, Madsen KA, Madsen ES, *et al.* Differentiation of infection from vaccination in foot-and-mouth disease by the detection of antibodies to the non-structural proteins 3D, 3AB and 3ABC in ELISA using antigens expressed in baculovirus. *Arch Virol*, 1998, **143(8)**: 1461-1467.
- [3] Diego DM, Brocchi E, Mackay D, *et al.* The non-structural poly protein 3ABC of foot-and-mouth disease virus as a diagnostic antigen in ELISA to differentiate infected from vaccinated cattle. *Arch Virol*, 1997, **142(10)**: 2021-2033.
- [4] Chung WB, Karl JS, Liao PC, *et al.* Differentiation of foot-and-mouth disease virus infected from vaccinated pigs by enzyme-linked immunosorbent assay using nonstructural protein 3AB as the antigen and application to an eradication program. *J Clin Microbiol*, 2002, **40(8)**: 2843-2848.
- [5] Brocchi E, Bergmann IE, Dekker A, *et al.* Comparative evaluation of six ELISAs for the detection of antibodies to the non-structural proteins of foot-and-mouth disease virus. *Vaccine*, 2006, **24(47-48)**: 6966-6979.
- [6] Mackay DK, Forsyth MA, Davies PR, *et al.* Antibody to the nonstructural proteins of foot-and-mouth disease virus in vaccinated animals exposed to infection. *Vet Q*, 1998, **20(2)**: 9-11.
- [7] Höhlich BJ, Wiesmüller KH, Schlapp T, *et al.* Identification of foot-and-mouth disease virus-specific linear B-Cell epitopes to differentiate between infected and vaccinated cattle. *J Virol*, 2003, **77(16)**: 8633-8639.
- [8] Oem JK, Kye SJ, Lee KN, *et al.* Development of synthetic peptide ELISA based on nonstructural protein 2C of foot and mouth disease virus. *J Vet Sci*, 2005, **6(4)**: 317-325.
- [9] Cao YM, Lu ZJ, Liu ZX, *et al.* Development of a

- differentiating ELISA based on 3ABC of foot-and-mouth disease virus expressed in *E. coli*. *Acta Vet Zootech Sin*, 2005, **36**(4): 381-386.
- 曹轶梅, 卢曾军, 刘在新, 等. 用大肠杆菌表达 FMDV NSP 3ABC 鉴别感染与注苗动物 ELISA 方法的建立. 畜牧兽医学报, 2005, **36**(4): 381-386.
- [10] Lubroth J, Brown F. Identification of native foot-and-mouth disease virus non-structural protein 2C as a serological indicator to differentiate infected from vaccinated livestock. *Res Vet Sci*, 1995, **59**(1): 70-78.
- [11] Lubroth J, Grubman MJ, Burrage TG, *et al*. Absence of protein 2C from clarified foot-and-mouth disease virus vaccines provides the basis for distinguishing convalescent from vaccinated animals. *Vaccine*, 1996, **14**(5): 419-427.
- [12] Meyer RF, Babcock GD, Newman FE, *et al*. Baculovirus expressed 2C of foot-and-mouth disease virus has the potential for differentiating convalescent from vaccinated animals. *J Virol Methods*, 1997, **65**(1): 446-459.
- [13] Mezencio JM, Babcock GD, Meyer RF, *et al*. Differentiating foot-and-mouth disease virus infected from vaccinated animals with baculovirus-expressed specific proteins. *Vet Q*, 1998, **20**(2): 11-13.
- [14] Bergmann IE, Malirat EV, Neitzert E, *et al*. Improvement of a serodiagnostic strategy for foot-and-mouth disease virus surveillance in cattle under systematic vaccination: a combined system of an indirect ELISA-3ABC with an enzyme-linked immunoelectro transfer blot assay. *Arch Virol*, 2000, **145**(3): 473-489.
- [15] Rodríguez A, Dopazo J, Sáiz JC, *et al*. Immunogenicity of non-structural protein of foot-and-mouth disease virus: Differences between infected and vaccinated swine. *Arch Virol*, 1994, **136**: 123-131.
- [16] Fu YF, Lu ZJ, Cao YM, *et al*. Purification and reactivity of foot-and-mouth disease virus non-structural protein 3A, 3B and 2C expressed in *E. coli*. *Acta Microbiol Sin*, 2008, **48**(6): 790-795.
- 付元芳, 卢曾军, 曹轶梅, 等. 口蹄疫病毒非结构蛋白 3A、3B 和 2C 基因的表达及产物纯化与活性检测. 微生物学报, 2008, **48**(6): 790-795.

中国科学院微生物研究所期刊广告部成立

中科院微生物研究所期刊广告部于 2007 年 3 月正式成立, 具有北京市工商局正式批准的广告经营许可证(京海工商广字第 8107 号)。广告部代理《生物工程学报》、《微生物学报》、《微生物学通报》、《菌物学报》四个期刊的广告经营业务, 此四种期刊均为中国自然科学核心期刊, 国内外公开发行, 主要报道微生物学、菌物学和生物技术领域的最新研究成果和研究动态, 已被美国化学文摘(CA)、生物学文摘(BA)、医学索引(MEDLINE)、俄罗斯文摘杂志(AJ)、Abstracts of Mycology(美国“菌物学文摘”)、Index of Fungi(英国“菌物索引”)、Review of Plant Pathology(英国“植物病理学文摘”)、Bibliography of Systematic Mycology(英国“系统菌物学文献目录”)、Bibliographie der Pflanzenschutz literature(德国“植物保护文献目录”)、《中国学术期刊文摘》、《生物学文摘》等等国内外著名数据库和检索期刊收录, 是促进国内外学术交流的重要科技期刊。

广告刊登内容主要包括大型生化仪器(如显微镜、离心机、色谱仪、无菌操作台、大、中、小型发酵罐)、设备耗材(如 PCR 仪、细胞生物反应器、微量移液器、离心管、杂交膜、)及生化试剂(如各种酶、载体、试剂盒)等的产品宣传信息, 也可以发布生物技术人才招聘信息、会议消息、以及与生命科学有关的各类服务信息。广告部以严谨、诚信为原则, 愿与从事生物技术产品生产与销售的各类厂商和公司精诚合作, 共同发展。如果您有刊登广告的需要, 欢迎与我们电话或 email 联系获取各刊版位及报价信息! 也可以登陆各刊网站, 了解更多详情。

提示: 从 2007 年起, 各公司与此四刊签订的广告费用请通过新地址汇款(收款单位: 中国科学院微生物研究所, 开户银行: 中国工商银行北京分行海淀镇支行, 帐号: 0200004509089117425)。

中国科学院微生物研究所·期刊广告部

联系电话: 010-64807336; 010-64807521 电子信箱: gg@im.ac.cn 联系人: 武文 王闵

网址: <http://journals.im.ac.cn>