

研究报告

携带 FMDV 前导蛋白基因逆转录病毒载体的构建及其在牛肾细胞中的表达

丛国正, 周建华, 高闪电, 独军政, 邵军军, 林彤, 常惠芸, 谢庆阁

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开放实验室 国家口蹄疫参考实验室, 兰州 730046

摘要: 以口蹄疫病毒株 OA/58 RNA 为模板, 反转录并扩增目的 cDNA。通过分子克隆技术将前导蛋白编码序列 *Lab* 与逆转录病毒载体 pBPSTR1 连接, 将构建正确的重组载体命名为 pBPSTR1-*Lab*。通过分别利用不同浓度的嘌呤霉素和四环素来确定最佳筛选浓度和最佳调控浓度, 结果显示嘌呤霉素的最佳筛选浓度为 3 $\mu\text{g/mL}$, 四环素的最佳调控浓度为 1 $\mu\text{g/mL}$ 。利用 pBPSTR1-*Lab* 和包装质粒 pVSV-G 双质粒瞬时转染 Gp2-293 包装细胞来获得重组逆转录病毒。利用重组逆转录病毒来感染牛肾细胞, 并连续筛选 12 天来获得阳性克隆。通过除去四环素来诱导目的基因在牛肾细胞中表达, 发现牛肾细胞病变死亡。经过 PCR 和蛋白质免疫印迹证实稳定表达前导蛋白的牛肾细胞系已经建立, 为今后研究前导蛋白致病机理提供了平台。

关键词: 口蹄疫病毒, 前导蛋白, 嘌呤霉素, 四环素, 逆转录病毒载体

Construction of Recombinant Retroviral Vector Carrying *Lab* Gene of Foot-and-mouth Disease Virus and Its Expression in Bovine Kidney (MDBK) Cells

Guozheng Cong, Jianhua Zhou, Shandian Gao, Junzheng Du, Junjun Shao, Tong Lin, Huiyun Chang, and Qingge Xie

State Key Laboratory of Veterinary Etiological Biology, Key Laboratory of Animal Virology of Ministry of Agriculture, National Foot-and-mouth Disease MD Reference Laboratory, Chinese Academy of Agriculture Science, Lanzhou 730046, China

Abstract: In this study, foot-and-mouth disease virus (FMDV) strain OA/58 RNAs were used as templates for RT-PCR. By the molecular cloning, the *Lab* gene encoding leader protease called L^{pro} were cloned in retroviral vector pBPSTR1 to obtain reconstruction retroviral vector termed pBPSTR1-*Lab*. At different concentrations of puromycin and tetracycline respectively in the cell culture mediums, the growth of bovine kidney cells (MDBK) showed that the optimal puromycin resistant selection concentration was 3 $\mu\text{g/mL}$ and tetracycline regulatory concentration was 1 $\mu\text{g/mL}$. Pseudotyped retroviral virus particles were produced by transiently co-transfecting GP2-293 cells with a retroviral vector DNA and VSV-G plasmid. Then MDBK cells were infected by pseudotyped retroviral virus and were continually seeded in the medium at the optimal tetracycline regulatory concentration and puromycin selection concentration for 12 days to obtain puromycin resistant colonies whose genomes contained the *Lab* gene. After tetracycline removal,

Received: October 22, 2007; **Accepted:** November 27, 2007

Supported by: the National Key Technology R&D Program (No. 2006BAD06A14).

Corresponding author: Huiyun Chang. Tel: +86-931-8342587; E-mail: changhuiyun@126.com

国家科技支撑计划(No. 2006BAD06A14)资助。

synthesis of L^{pro} induced severe morphological changes in the puromycin resistant MDBK cells. PCR and Western blotting proved that a stable MDBK cell line inducibly expressing the *Lab* gene under the control of tetracycline was obtained. The experiment might provide a basis for studying that L^{pro} of FMDV plays an important role in MDBK cell pathogenesis.

Keywords: Foot-and-mouth disease virus, L^{pro}, puromycin; tetracycline, pBPSTR1

FMDV 属于微 RNA 病毒科, 口疮病毒属, 其基因组为正链单股 RNA, 它既是转录中的 mRNA, 又是负链合成的模板, 长度约为 8500 个核苷酸。当 FMDV 侵入宿主细胞内, FMDV 基因组中唯一的开放阅读框翻译一多聚蛋白质。这一多聚蛋白质经过前导蛋白(leader protease, L^{pro})、2A 和 3C^{pro} 三次裂解, 最终裂解为四种结构蛋白和若干非结构蛋白。前导蛋白是 FMDV 基因组编码的第一个蛋白质, 前导蛋白具有自我剪切功能, 可从多聚蛋白中自动裂解下来, 形成具有活性的蛋白酶^[1]。在七个血清型 FMDV 基因组中对应的前导蛋白编码区均存在两个内部起始密码子(AUG), 它们起始编码的多聚蛋白裂解后形成两种前导蛋白, 分别是 Lab 和 Lb。虽然两种前导蛋白已经在体外感染的细胞中检测到, 但体内试验证实 Lb 是被首选合成的。在对其定性的研究过程中, 前导蛋白被鉴定为一种木瓜蛋白酶类家族中的巯基蛋白酶^[2]。前导蛋白是以二聚体复合物的形式存在并发挥功能的, 它利用二聚体复合物中的 Cys-His 基序来切宿主细胞的翻译起始因子 eIF4G, 发挥其封闭宿主蛋白合成的生物学功能^[3-5]。

目前, 国外针对 FMDV 前导蛋白的研究主要依靠反向遗传学技术来使 FMDV 基因组中缺失编码前导蛋白的核苷酸序列来间接证明前导蛋白是 FMDV 毒力的重要决定因素^[6]。国内, 马江涛等^[7]已将 FMDV 3ABC 非结构蛋白利用基因重组技术成功地在昆虫细胞中实现了表达, 这表明已有科研人员的眼光集中到 FMDV 的各种结构成份和相应的生物学功能上来。但对前导蛋白与宿主细胞病变之间关系的研究, 还没有相关技术平台建立的报道。本研究将 FMDV OA/58 毒株的前导蛋白编码序列定向插入逆转录病毒载体 pBPSTR1, 借助这一逆转录病毒载体 pBPSTR1 中的四环素调控系统^[8]和嘌呤霉素筛选系统^[9]来获得了稳定可诱导表达前导蛋白的牛肾细胞(MDBK)。这将为体外研究 FMDV 前导蛋白对宿主细胞的毒理作用奠定了基础。

1 材料和方法

1.1 病毒、转化菌、载体与试剂

FMDV OA/58 株由国家口蹄疫参考实验室种毒保藏中心保存。逆转录病毒载体 pBPSTR1、包装载体 pVSV-G、包装细胞 Gp2-293 及猪口蹄疫标准品阳性血清由本室保存。小型质粒提取试剂盒和大量质粒超纯提取试剂盒购自博大泰克公司, pGEM-T easy 载体及连接酶购自 Promega 公司。*E. coli* JM109 转化菌、RNA PCR Kit (AMV) Ver. 3.0、*EcoR* I 酶、*Bam*HI 酶、*Not* I 酶、*Ex Taq*TM、PCR 片段凝胶回收试剂盒和组织基因组提取试剂盒均购自大连宝生物工程有限公司。RNeasy Mini Kit 购自 Qiagen 公司。脂质体转染试剂盒 Lipofection Reagent 2000 购自 GIBCO 公司。嘌呤霉素、无水四环素和 Polyberne 购自 Sigma 公司。低分子量预染蛋白质 Marker 和 HRP 标记羊抗猪 IgG 购自北京鼎国生物科技有限公司产品。其它试剂均为国产和进口分析纯。

1.2 方法

1.2.1 引物的设计与合成

以 FMDV OA/58 前导蛋白编码序列为参考, 借助 Oligo 6 引物设计软件设计了引物 L1 和 L2。在上游引物 L1 的 5'端引入 *Not* I 酶切位点(*Lab* 基因带有起始密码子和 Kozak 序列); 下游引物 L2 中引入了 *Bam*HI 酶切位点(两酶切位点由下划线标注)。L1、L2 由大连宝生物工程有限公司合成。

L1: ACGCGGCCGCCATGGACACAACCTGATTG

L2: AAGGATCCTCACTTGAGCCGCTTCTGAAC

1.2.2 FMDV OA/58 RNA 的提取和 *Lab* 基因的克隆与鉴定

含有 FMDV OA/58 病毒株的病理组织经研磨后, 参考 RNeasy Mini Kit 操作说明提取总 RNA, 所有器皿和试剂均经 0.1%的 DEPC(焦碳酸二乙酯)水溶液去 RNase 处理。参考大连宝生物公司 RNA PCR Kit (AMV) Ver. 3.0 说明书操作。采用 PCR 技术从 cDNA 中扩增 *Lab* 基因, 其中扩增程序为 94°C 5 min, 94°C 1 min, 55°C 1.5 min, 72°C 1 min, 循环 30 次, 72°C 延

伸 10 min。1%琼脂糖电泳回收 PCR 产物。将纯化的 PCR 产物和 pGEM-T easy 载体于 16°C 水浴进行过夜连接反应,转化感受态细胞 *E. coli* JM109, 均匀涂布于含有 X-gal, Amp 和 IPTG 的 LB 琼脂平板上,挑取白色单菌落。按照小型质粒试剂盒说明书提取质粒,并进行酶切和 PCR 鉴定,将初步鉴定为阳性的重组质粒(pGEM-T easy-Lab)送往上海生工测序。

1.2.3 Lab 基因逆转录病毒载体的构建

分别利用 *Not* I 和 *Bam*H I 分步单酶切含有 OA/58 Lab 编码序列的 pGEM-Teasy-Lab 重组质粒和逆转录病毒载体 pBPSTR1。通过两次琼脂糖凝胶 DNA 提取试剂盒回收得到目的片段和线性化的 pBPSTR1。将纯化的 OA/58 Lab 编码序列回收产物与具有 *Not* I 和 *Bam*H I 粘性末端的 pBPSTR1 载体于 16°C 水浴进行过夜连接反应,转化感受态细胞 *E. coli* JM109, 均匀涂布于含有 X gal, Amp 和 IPTG 的 LB 琼脂平板上,挑取白色单菌落。将初步鉴定为含有阳性质粒的大肠杆菌菌液利用小型质粒提取试剂盒提取质粒。利用 *Not* I 和 *Bam*H I 双酶切和 PCR 的方法进行鉴定。若符合设计要求则将其送往大连宝生物公司进行测序,并将测序正确的重组载体命名为 pBPSTR1-Lab。

1.3 嘌呤霉素筛选浓度及四环素调控浓度的测定

将细胞汇合度达到 80% 的 MDBK 细胞分别利用 1 μ g/mL、2 μ g/mL、3 μ g/mL、4 μ g/mL、5 μ g/mL、6 μ g/mL、7 μ g/mL、8 μ g/mL、9 μ g/mL 和 10 μ g/mL 的嘌呤霉素连续进行 12 d 的筛选,将在规定时间内的能将 MDBK 细胞全部杀死的最小浓度确定为最佳筛选浓度。此外,通过脂质体 2000 将质粒 pBPSTR1-Lab 转染入细胞汇合度达到 80% 的 MDBK 细胞中,并分别利用 0.25 μ g/mL、0.5 μ g/mL、0.75 μ g/mL 和 1 μ g/mL 的四环素来调控转染后的 MDBK 细胞以确定最佳调控浓度。

1.4 双质粒瞬时转染包装细胞 Gp2-293 及重组逆转录病毒的收获

将生长状态好的包装细胞 Gp2-293 按照 10^6 个细胞的规模培养于 100 mL 细胞瓶中,使其在含 5% CO₂、37°C 的环境中培养 24 h 后,将汇合度达到 80% 的 GP2-293 包装细胞用于转染。各取 5 μ g pVSV-G 和 pBPSTR1-Lab, 20 μ L 脂质体分别利用优化培养基

溶解 5 min,然后将它们混合共同作用 20 min。将 1 mL 混合物铺于 GP2-293 包装细胞上作用 6 h。将此混合液从 GP2-293 包装细胞上清除并填充无抗性完全培养液 20 mL 连续培养 72 h,然后收获含重组逆转录病毒的上清液置于 -80°C 冻存备用。

1.5 重组逆转录病毒感染 MDBK 细胞及抗性筛选阳性细胞

取生长良好的 MDBK 细胞以 10^6 个细胞数接种于 100 mL 细胞瓶,按照常规细胞培养的方法培养 18 h,此时细胞汇合度达到 60%。将适量 Polyberne 和 10 mL 含有重组逆转录病毒的液体加入 MDBK 细胞中持续感染 6~8 h 后更换含有四环素的完全培养基,并且在 24 h 后加入嘌呤霉素进行抗性筛选。此后每天更换一次含有嘌呤霉素和四环素的完全培养液,持续 12 d 来筛出阳性细胞。同时将未被重组逆转录病毒感染的 MDBK 细胞作为阴性对照一同筛选。待 12 d 左右出现抗性克隆后,利用有限稀释法挑取单克隆。当单克隆扩大增殖后,将部分冻存,其余继续传代以备检测。

1.6 稳定细胞系的相关检测

1.6.1 Lab 基因整合的 PCR 检测

利用组织 DNA 提取试剂盒提取由单克隆扩大培养的 MDBK 细胞 DNA(具体方法参考试剂盒的操作说明进行),用 FMDV OA/58 Lab 基因的特异性引物扩增 Lab 基因,同时设未感染重组逆转录病毒的 MDBK 细胞作为阴性对照。扩增引物参照 1.2.1,扩增条件参照 1.2.2,扩增模板为提取的 MDBK 细胞基因组。

1.6.2 诱导前导蛋白表达的显微镜观察

将培养液中的四环素去掉,以 10^6 个细胞置于 100 mL 细胞瓶中培养,并每隔 12 h 显微镜观察 1 次。同时,将正常未感染的 MDBK 细胞作为阴性对照。

1.6.3 Lab 基因转录水平的检测

将 1.6.2 中死亡的细胞收集起来,参考 RNeasy Mini Kit 操作说明提取总 RNA,并反转录成 cDNA,参考 1.2.1 和 1.2.2 进行操作。同时,将正常未感染的 MDBK 细胞作为阴性对照。

1.6.3 诱导表达前导蛋白的 Western blotting 鉴定

将诱导表达前导蛋白而死亡的细胞收集并裂解收集蛋白,参考分子克隆实验指南的相关要求和步骤进行 Western blotting 鉴定。

1.6.4 *Lab* 基因在 MDBK 细胞中整合稳定性的 PCR 检测

利用组织 DNA 提取试剂盒提取重组 MDBK 细胞 DNA(具体方法参考该试剂盒的操作说明进行), 用 *Lab* 基因的特异性引物扩增 *Lab* 基因, 同时设未感染细胞作为阴性对照。扩增所需的模板为不同代次的重组 MDBK 细胞, 即第 1、5、10、20、30 代细胞。同时, 将第 30 代细胞除去四环素诱导表达前导蛋白, 而后收集死亡的细胞进行进行前导蛋白的 Western blotting 检测。

2 结果

2.1 FMDV OA/58 *Lab* 基因的 PCR 扩增

FMDV OA/58 *Lab* 基因的 PCR 扩增产物在 1% 琼脂糖凝胶中可见到一条 600 bp 的特异性条带, 这与预期大小一致(图略)。

2.2 重组质粒 pBPSTR1-*Lab* 的鉴定

重组质粒 pBPSTR1-*Lab* 的 PCR 及双酶切鉴定结果表明: PCR 可以扩增 600 bp 的片段(图略); 双酶切可以从载体中切出 600 bp 的片段(图略)。这些结

果与预期结果吻合。同时测序结果证明 *Lab* 基因插入的位置、大小、碱基序列及开放阅读框都无误。

2.3 筛选浓度及调控浓度的确定

通过连续 12 天的嘌呤霉素筛选, 发现 3 $\mu\text{g/mL}$ 为 MDBK 的最小致死浓度。通过利用不同浓度的四环素抑制 pBPSTR1-*Lab* 在 MDBK 细胞中的瞬时表达发现 0.25 $\mu\text{g/mL}$ 、0.5 $\mu\text{g/mL}$ 和 0.75 $\mu\text{g/mL}$ 的细胞均有不同程度的细胞死亡, 而 1 $\mu\text{g/mL}$ 的细胞正常生长无细胞死亡, 由此可以确定 1 $\mu\text{g/mL}$ 的四环素可以有效抑制 pBPSTR1-*Lab* 的表达。

2.4 *Lab* 基因整合的 PCR 检测结果

从单克隆扩大培养的细胞中可以扩增出与 600 bp 大小相符的片段, 但设立的阴性对照没有扩增出条带(图略)。

2.5 诱导前导蛋白表达的显微镜观察结果

在除去四环素培养重组 MDBK 细胞的 24 h 后, 细胞开始发生病变, 48 h 后细胞全部脱落, 而阴性对照形态正常(见图 1)。

2.6 *Lab* 基因转录水平的检测结果

从死亡细胞中所提取的 RNA 经过反转录为 cDNA 后, 可以扩增出大约 600 bp 的目的片段(见图 2)。

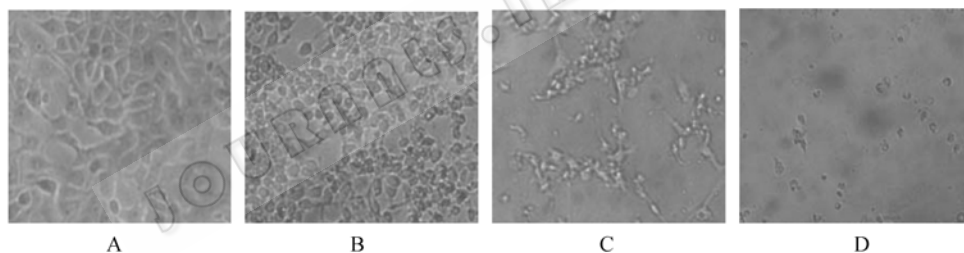


图 1 MDBK 细胞的形态变化($\times 400$)

Fig. 1 Shape change of MDBK cells

A: negative control; B, C, D: the shape changes of reconstruction MDBK cells at 24 h, 36 h and 48 h

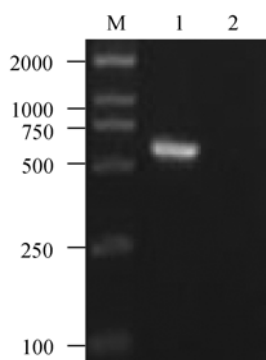


图 2 RT-PCR 检测 *Lab* 在 MDBK 细胞中的稳定表达

Fig. 2 Identification of *Lab* stable expression in MDBK cells by RT-PCR

M: DNA marker DL2000; 1: result of *Lab* gene transcription in

integration MDBK cells; 2: negative control

2.7 *Lab* 基因表达产物的 Western blotting 检测

Western blotting 检测结果显示, *Lab* 表达产物能与猪口蹄疫标准品阳性血清结合, 并在 NC 膜上产生特异性反应条带(图 3)。这能进一步证实, 在 MDBK 细胞中表达的 *Lab* 蛋白具有免疫活性。

2.8 *Lab* 基因在 MDBK 细胞中整合的稳定性

筛选出的第 1、5、10、20、30 代整合的 MDBK 细胞均可扩增出 600 bp 大小相符的条带, 而所设同批次对照没有扩增出条带(图 4)。同时, 将第 30 代整合和 MDBK 细胞除去四环素诱导表达前导蛋白时, 细胞发生病变。将死亡的第 30 代细胞收集, 并参考

2.7 的方法进行 *Lab* 基因表达产物的 Western blotting 检测(图 5)。

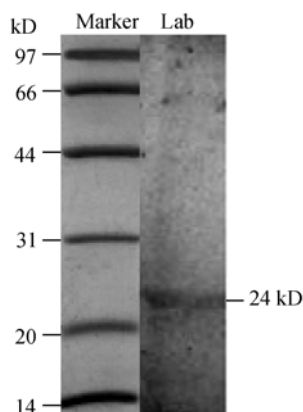


图 3 Western blotting 检测 *Lab* 表达产物
Fig. 3 Analysis of *Lab* expression products by Western blotting

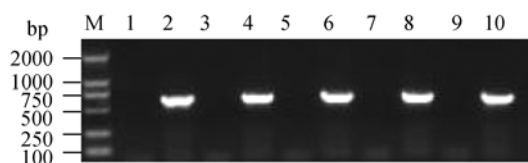


图 4 *Lab* 的整合鉴定结果

Fig. 4 Analysis of *Lab* integration

M: DNA marker DL2000; 2: the first generation of integration MDBK cells; 4: the 5th generation of integration MDBK cells; 6: the 10th generation of integration MDBK cells; 8: the 20th generation of integration MDBK cells; 10: the 30th generation of integration MDBK cells; 1, 3, 5, 7, 9: negative control

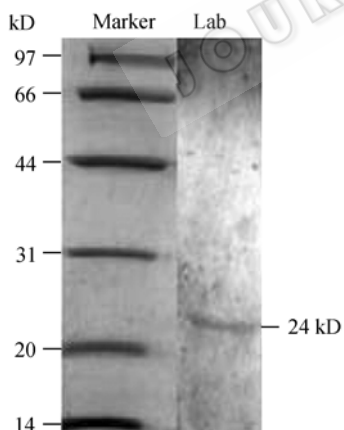


图 5 Western blotting 检测 *Lab* 表达产物
Fig. 5 Analysis of *Lab* expression products by Western blotting

3 讨论

目前, 对于外源基因的表达以原核细胞表达相对比较成功, 但该表达系统存在一些缺点, 即表达

具有生物活性的蛋白酶类(如前导蛋白等)更是存在着表达产物与天然蛋白分子结构的差异性, 这显然不利于对 FMDV 前导蛋白功能、活性、作用机制等方面的研究。因此, 在哺乳动物细胞中表达外源基因就应运而生, 而利用真核表达载体表达外源基因又是一种新思路。当前使用的多数真核表达载体(如 pEGFP、pcNDA3.1 等)转染细胞后是以附加体的形式存在, 随着细胞系的传代可能丢失。逆转录病毒载体因其具有传统载体所不具有的独特魅力已经成为哺乳动物细胞表达领域研究的热点。逆转录病毒载体借助包装载体表达形成的蛋白衣壳进入靶细胞后能够随机整合到细胞染色体中, 可以在宿主细胞自身的调控下稳定传代, 从而建立起的细胞系能稳定地分泌表达外源基因。本实验运用的外源基因转移技术是在包装细胞系 GP2-293、逆转录病毒表达载体 pBPSTR1 和包装载体 pVSV-G 的基础上设计的。此项技术产生的重组逆转录病毒能扩大所感染宿主细胞的范围, 这是由于假病毒衣壳表面糖蛋白 VSV-G 通过与细胞膜上的脂偶联和细胞膜融合调控病毒的进入^[10]。重组逆转录病毒可感染 MDBK 细胞, 同时 *Lab* 基因在该细胞中通过诱导可以稳定表达, 表达的前导蛋白作用细胞后使细胞整体出现相对比较一致的病变状态, 并且其表达产物可被猪口蹄疫标准阳性血清所识别。这说明该表达系统在哺乳动物细胞中表达 *Lab* 基因是切实可行的。

由于前导蛋白是一种毒性蛋白酶, 能将瞬时转染后过量表达前导蛋白 MDBK 细胞率先杀死, 常量表达前导蛋白的细胞只是形态发生明显病理变化并不致死, 而低量表达前导蛋白的细胞形态正常。这显然无法满足研究前导蛋白对细胞致死机制的要求。这就需要给 MDBK 细胞安装上一个可以调控前导蛋白表达的开关系统。逆转录病毒载体 pBPSTR1 是一种可由四环素调控的质粒, 它可通过细胞培养液中四环素的有无使整合到 MDBK 细胞染色体中 *Lab* 基因的表达随研究人员的意志而表达。当细胞培养液中存在四环素时, 四环素通过被动运输进入细胞内作用于外源基因上游的四环素调控元件, 这使得 *Lab* 基因无法表达。反之, 当四环素不存在于细胞培养液中, 四环素调控元件正常转录, 使处其下游的 *Lab* 基因也能正常转录, 最终翻译为有功能活性的前导蛋白。因为表达前导蛋白的 MDBK 细胞

源于一个单克隆细胞的扩大培养, 所以全部细胞的转录活性、表达活性等方面基本相同, 可相对比较一致地表现出被前导蛋白作用后的细胞状态。这为下一步利用不同检测手段来揭示前导蛋白的毒性机理奠定了基础。

REFERENCES

- [1] Skern T, Fita I, Guarne A. A structural model of picornavirus leader proteinases based on papain and bleomycin. *J Gen Virol*, 2001, **79**: 301–307.
- [2] Guarne A. Structure of the foot-and-mouth disease virus leader protease: a papain-like fold adapted for self-processing and eIF4G recognition. *EMBO*, 1998, **17**: 7469–7479.
- [3] George M. The non-structural leader protein gene of foot-and-mouth disease virus is highly variable between serotypes. *Virus Genes*, 2001, **22**: 271–278.
- [4] Medina M. The tow species of the foot-and-mouth disease virus leader protein, expressed individually, exhibit the same activities. *Virology*, 1993, **194**: 355–359.
- [5] Kirchweyer R. Foot-and-mouth disease virus leader protein: purification of the Lb form and determination of its cleavage site on eIF4 gamma. *J Virol*, 1994, **68**: 5677–5684.
- [6] Zhou JH, Cong GZ, Gao SD, *et al.* Advances in leader protein of foot-and-mouth disease virus. *Biotechnology Bulletin*, 2007, **3**: 63–66.
周建华, 丛国正, 高闪电, 等. 口蹄疫病毒前导蛋白的研究进展. *生物技术通报*, 2007, **3**: 63–66.
- [7] Ma JT, Lu ZJ, Cao YM, *et al.* Secreted expression of nonstructural protein gene 3ABC of Foot-and-mouth disease virus in sf9 cells and activity analysis. *Chinese Journal of Biotechnology*, 2007, **23**(3): 540–545.
马江涛, 卢曾军, 曹轶梅, 等. 口蹄疫病毒 NSP 3ABC 基因在昆虫细胞中的分泌表达及其活性检测. *生物工程学报*, 2007, **23**(3): 540–545.
- [8] Manfred G, Hermann B. Anhydrotetracycline, a novel effector for tetracycline controlled gene expression system in eukaryotic cells. *Nucleic Acids Research*, 1993, **21**: 4411–4412.
- [9] Werner P, Inge B, Frederick MB, *et al.* Self-contained, tetracycline-regulated retroviral vector system for gene delivery to mammalian cells. *Journal of virology*, 1996, **70**: 62–67.
- [10] William C, Scott K, Mary W, *et al.* Enumeration of the simian virus 40 early region elements necessary for human cell transformation. *Molecular and Cellular Biology*, 2002, **22**(7): 2111–2123.

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, 具有北京市工商管理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>