

口蹄疫病毒前导蛋白(L^{pro})致牛肾细胞(MDBK)作用的形态学观察

郝峰强^{1,2}, 丛国正¹, 高闪电¹, 林彤¹, 独军政¹, 邵军军¹, 常惠芸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 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: 为探讨口蹄疫病毒 L^{pro} 致 MDBK 细胞病变效应中的形态学变化, 本实验在成功构建可稳定表达口蹄疫病毒 L^{pro} 目的基因的 MDBK 细胞系的基础上, 人工诱导 L^{pro} 表达后, 采用光学显微镜观察、Hoechst 33258 染色、AO-EB 染色、DNA Ladder 等进行检测, 研究口蹄疫病毒 L^{pro} 致 MDBK 细胞的病变效应。结果显示, MDBK 细胞系在诱导表达口蹄疫病毒 L^{pro} 24 h 后, 光学显微镜下细胞形态表现为细胞体积缩小、核浓缩、细胞周围出现透明圈等现象; Hoechst 33258 染色检测呈现典型的细胞核浓缩和梅花状核碎裂; 诱导表达 L^{pro} 36 h 后, AO-EB 染色显示早期病变细胞核染亮绿色呈致密斑块或碎片状, 晚期病变细胞核染橘黄色呈致密斑块; DNA 凝胶电泳显示可见的 DNA Ladder “梯状” 条带。证明口蹄疫病毒 L^{pro} 在体外可诱导 MDBK 细胞发生凋亡。

关键词: 口蹄疫病毒, L^{pro}, MDBK, 细胞凋亡

Morphological observation of Bovine Kidney (MDBK) cells effected by foot-and-mouth disease virus L^{pro}

Fengqiang Hao^{1,2}, Guozheng Cong¹, Shandian Gao¹, Tong Lin¹, Junzheng Du¹, Junjun Shao¹, and Huiyun Chang¹

1 State Key Laboratory of Veterinary Etiological Biology, Key Laboratory of Animal Virology of Ministry of Agriculture, National Foot-and-Mouth Disease Reference Laboratory, Lanzhou Veterinary Research Institute, Chinese Academy of Agriculture Sciences, Lanzhou 730046, China

2 Animal Medical College, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, China

Abstract: In order to explore the morphological changes of Bovine Kidney (MDBK) cells induced by foot-and-mouth disease virus (FMDV) L protease, we induced the expression of FMDV L protease in bovine kidney cells (MDBK) artificially. All work is carried out on the basis of a stable MDBK cell line inducibly expresses the *Lab* gene under the control of tetracycline. We use cell morphology, Hoechst 33258 staining, AO-EB staining, and DNA Ladder abstraction to research the morphological changes of MDBK cells. 24 hours after FMDV L protease were induced and expressed in MDBK cells, cells shown the diminish of cell size, nuclear enrichment and the appearance of transparency circle under the light microscope. Apoptosis characteristics of nuclear condensation, fragmentation, accompanied by apoptotic bodies formation (Hoechst 33258 staining). 36 hours after the expression, nuclear staining of early lesions showed bright green plaque or debris-like dense, and advanced lesions showed Orange and dense

Received: July 16, 2009; **Accepted:** October 10, 2009

Supported by: National Key Technology Research and Development 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。

plaques (AO-EB staining). 48 hours after the expression, DNA gel electrophoresis showed visible DNA ladder. Results indicate that FMDV L protease can induce apoptosis of MDBK and apoptosis plays an important role in the cytopathogenicity effect of FMDV.

Keywords: foot-and-mouth disease virus, L protease, morphological changes of Bovine Kidney, apoptosis

口蹄疫(Foot-and-mouth disease, FMD)是由口蹄疫病毒(Foot-and-mouth disease virus, FMDV)感染引起的偶蹄动物共患的急性、热性、接触性传染病, 口蹄疫病毒前导蛋白 L^{pro} 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 7 个血清型 FMDV 基因组中对应的前导蛋白编码区均存在 2 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 2 种前导蛋白, 分别是 Lab 和 Lb。虽然 2 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^[2]。此外, 前导蛋白不仅能剪切病毒编码的多聚蛋白, 而且能降解宿主细胞中特定的蛋白质, 由此极大提高了病毒的毒力。前导蛋白可以抑制 I 型干扰素的分泌, 降低免疫监视系统对 FMDV 的监视能力, 以此逃避宿主的非特异性免疫系统的攻击^[3]。本实验即是在已经建立的真核调控表达 FMDV L^{pro} 酶的稳定 MDBK 细胞系基础上^[4], 对 FMDV L^{pro} 在 MDBK 细胞内进行调控表达, 通过光学显微镜观察、荧光染色和 DNA 凝胶电泳等方法来阐明口蹄疫病毒 L^{pro} 致 MDBK 细胞病变的形态学变化及致死方式, 并最终证实了口蹄疫病毒 L^{pro} 可以在体外诱导宿主 MDBK 细胞发生凋亡, 这也为阐明口蹄疫病毒的致病机制提供了有力的实验依据。

1 材料与方法

1.1 材料

可诱导表达 FMDV L^{pro} 蛋白酶的 MDBK 细胞系 MDBK-L, 由国家口蹄疫参考实验室构建保存。总 RNA 提取试剂盒为 Qiagen 公司产品; AMV 转录酶、Taq DNA 聚合酶、dNTPs、X-gal、IPTG、DEPC、琼脂糖均为 Promega 公司产品; Hoechst33258、嘌呤霉素、无水四环素、AO、EB 购自 Sigma 公司; 低分子量蛋白质 Marker 购自联科生物技术有限公司; 胎牛血清、D-MEM 和胰酶均购自 Hyclone 公司; 其

他试剂均为国产和进口分析纯。

1.2 方法

1.2.1 细胞系复苏与培养

运用脂质体转染法将含有 Lab 基因的重组质粒与 pVSV-G 质粒共转染于包装细胞中后收集假病毒, 感染牛肾细胞, 经嘌呤霉素抗性筛选获得的可诱导表达 FMDV L^{pro} 蛋白酶的 MDBK-L 阳性细胞迅速复壮后培养于 DMEM, 含 10%胎牛血清、1.2 μg/mL 的四环素。37°C、5% CO₂ 培养箱中培养并连续传代。需要进行诱导的细胞, 在培养 12~24 h 后单层达 70%时弃去培养基, 换上不含四环素的完全培养基继续诱导培养并进行检测, 同时复苏培养空载体 MDBK 细胞作为阴性对照。

1.2.2 L 基因在 MDBK-L 细胞系中整合的稳定性鉴定

根据 L 基因序列设计特异性引物 L(+)5'-TAG GATCCATGAACACAACCTGATTG-3' 和 L(-)5'-ACT-CGAGACTTGAGCCGCTTCTGAAC-3'。采用 TaKaRa 的基因组提取试剂盒说明操作提取用四环素抑制培养的 MDBK 细胞系的基因组 DNA(分别取第 1 代、第 5 代、第 10 代、第 20 代、第 30 代细胞基因组), 以此为模板进行 PCR 检测, 同时提取空载体细胞 MDBK 细胞基因组进行 PCR 作为阴性对照。

1.2.3 诱导表达 L^{pro} 的显微镜形态学观察

在稳定传代培养 MDBK-L 细胞系的基础上, 将细胞转入六孔细胞培养板, 去除四环素培养, 诱导 L 蛋白表达, 在诱导培养 12、24、36、48 h 后分别进行显微镜观察, 观察细胞病变效应, 并设置空载体与未诱导细胞对照组。

1.2.4 Hoechst 33258 染色

在稳定传代培养 MDBK 细胞系的基础上, 将细胞转入六孔细胞培养板, 并植入载玻片, 去除四环素培养 12、24、36、48 h 后, 吸尽培养液, 加入 0.5 mL 固定液, 固定 10 min, 用 PBS 洗 2 遍, 每次 3 min, 吸尽液体, 加入 0.5 mL Hoechst 33258 染色

液, 染色 5 min。用 PBS 洗 2 遍, 每次 3 min, 吸尽液体。滴一滴抗荧光淬灭封片液于载玻片上, 盖上贴有细胞的盖玻片, 让细胞接触封片液, 尽量避免气泡, 荧光显微镜观察细胞核变化, 并设置空载体与未诱导细胞对照组。

1.2.5 AO-EB 染色

取 AO(100 $\mu\text{g/mL}$)和 EB(100 $\mu\text{g/mL}$)等体积混匀制成 AO-EB 荧光染液, 收集病变细胞, PBS 离心洗涤 2 次后, 稀释至 $10^6/\text{mL}$, 取 1 mL 细胞悬液(10^6 细胞)离心收集细胞, 加入 25 μL PBS 重新悬浮细胞, 与 1 μL AO-EB 荧光染液混合, 取 10 μL 点片, 荧光显微镜下观察。并设置空载体与未诱导细胞为对照组。

1.2.6 DNA Ladder 条带检测

去除四环素诱导表达 36 h 后细胞经消化与上清合并, 800 r/min 离心 10 min 后收集细胞, PBS 洗涤, 4 μL RNase A 37 $^{\circ}\text{C}$ 消化 3 min, 加入 20 μL 蛋白酶 K 消化 2 min, 加 200 μL 细胞裂解液(10 mmol/L Tris-HCl, pH 8.0、10 mmol/L NaCl、10 mmol/L EDTA(Na)₂、100 $\mu\text{g/mL}$ Protease K、0.5% SDS), 70 $^{\circ}\text{C}$ 保温 10 min, 酚法去蛋白, 1/10 体积 3 mol/L NaAc、2 倍体积无水乙醇沉淀 DNA, 4 $^{\circ}\text{C}$ 、8000 r/min 离心 1 min 收集沉淀, 洗涤后加 50 μL 洗脱液洗脱, 取适量洗脱样品 1.5% 琼脂糖凝胶(5 V/cm)电泳 1 h, UV 灯下观察、拍照。

2 结果

2.1 目的基因的 PCR 鉴定

从体外反复传代细胞系基因组中扩增到 600 bp 左右基因片段, 与预期扩增的 L 基因片段大小相符, 设立的阴性对照没有扩增出条带。表明此细胞系能持续稳定地携带外源基因传代, 具有良好的遗传稳定性(图 1)。

2.2 L^{pro} 诱导 MDBK 细胞系死亡的形态学特征

MDBK 细胞系在诱导表达口蹄疫病毒 L^{pro} 24 h 后开始出现细胞体积缩小、核浓缩、细胞周围出现透明圈等现象, 但核膜仍保持完整。在诱导表达 36 h 后, 一些细胞核则形成较为分散的核体。空载体细胞与未诱导细胞形态稳定(图 2A, B)。

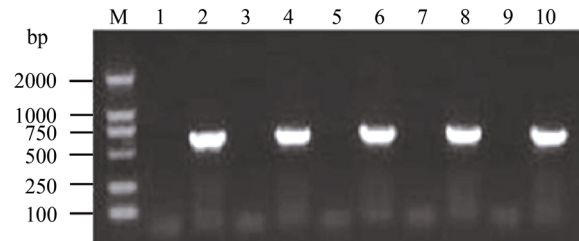


图 1 L 基因的整合鉴定结果

Fig. 1 Analysis of *Lab* gene 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: the blank control.

2.3 L^{pro} 诱导 MDBK 细胞系死亡的 Hoechst 33258 染色

去除四环素诱导表达 L^{pro} 24 h 后, 刮取细胞与悬浮细胞混合后进行 Hoechst33258 染色。荧光显微镜观察发现典型的凋亡特征, 凋亡细胞变小、发白并致浓染, 呈现典型的核浓缩和核碎裂, 多数碎裂核具有明显的区域性, 核膜仍完整, 表现为细胞凋亡早期现象(图 3C, D)。在诱导表达 36 h 后, 有的细胞核形成较为分散的核体, 则是凋亡晚期形成的凋亡小体(图 3E, F)。空载体细胞与未诱导细胞形态稳定呈现均匀的核荧光(图 3A, B)。

2.4 L^{pro} 诱导 MDBK 细胞系死亡的 AO-EB 染色

去除四环素诱导 L^{pro} 36 h 后, 荧光显微镜观察发现典型的凋亡特征, 早期凋亡细胞染亮绿色呈致密斑块或碎片状, 晚期凋亡细胞核染橘黄色呈致密斑块(图 4C); 空载体细胞与未诱导细胞 AO-EB 染色可见正常细胞核染色质结构正常, 胞膜完整, 着均匀的绿色(图 4A, B)。

2.5 L^{pro} 诱导 MDBK 细胞系死亡的 DNA Ladder 条带检测

去除培养基中四环素诱导培养 12 h、24 h、36 h、48 h、60 h 后, 提取细胞 DNA 进行琼脂糖凝胶电泳, 结果发现在诱导表达 L^{pro} 12 h、24 h、36 h 后电泳出现“拖尾”现象(图 5-2, 3, 4), 在诱导 48 h 后出现较为明显的 DNA Ladder 条带(图 5-5), 对照未去除四环素的 MDBK-L 细胞则仅见 DNA 基因组条带(图 5-1)。

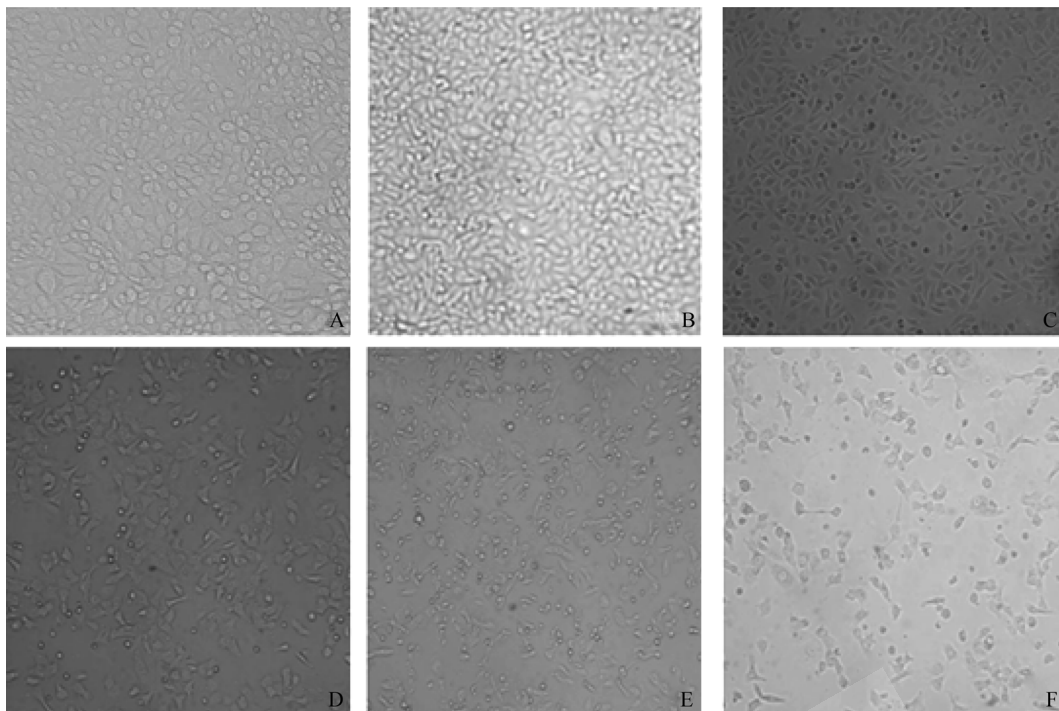


图2 MDBK细胞的形态学变化(400×)

Fig. 2 Shape changes of MDBK cells. (A) Blank control. (B) Negative control. (C—F) Shape changes of reconstruction MDBK cells at 12 h, 24 h, 36 h, 48 h.

3 讨论与展望

目前,国际上开展的针对 L^{pro} 毒理研究主要是以感染性 cDNA 这一技术平台为依托,通过敲除 L^{pro} 对应的编码基因 *Lab* 获得突变病毒株。利用突变株与野生毒株对于易感动物或体外培养细胞系致病力差异来分析判断 L^{pro} 的毒理特点。但是,这是一种类似于“黑箱”试验的研究思路,这一方法只能揭示 L^{pro} 某些毒理特点,而对于深入探寻 FMDV L^{pro} 自身对宿主细胞的作用机理还是有所欠缺的。

随着对病毒感染宿主细胞研究的不断深入,人们发现宿主细胞凋亡是抗击病毒感染的有效防御机制。Lisa 等^[5]报道了 L^{pro} 与胱冬酶剪切 eIF4G 的酶切位点不同,并且在 FMDV 感染的细胞内,切割 eIF4G 的蛋白酶是 L^{pro} ,在此过程中,胱冬酶不参与 eIF4G 的剪切反应。此外,在小 RNA 病毒科中的脊髓灰质炎病毒感染的细胞中发现了凋亡现象^[6]。此后,人们就将注意力集中在了同属于小 RNA 病毒科的口蹄疫病毒感染细胞后是否会引起宿主细胞凋亡的问题上来。前导蛋白 L^{pro} 是口蹄疫病毒基因组编

码的第一个蛋白质, L^{pro} 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。在对其定性的研究过程中, L^{pro} 被鉴定为一种木瓜蛋白酶类蛋白酶^[2]。 L^{pro} 是以二聚体复合物存在于宿主细胞中的,它利用二聚体复合物中的 Cys-His 基序来发挥其封闭宿主蛋白合成的生物学功能^[7]。 L^{pro} 凭借着具有降解宿主细胞中关键蛋白因子的能力,极大地提高了 FMDV 的毒力,成功侵染宿主细胞的 FMDV 可以抑制 I 型干扰素的分泌,降低免疫监视系统对 FMDV 的监视能力,以此逃避宿主的非特异性免疫系统的攻击^[3]。已证实 L^{pro} 可以裂解宿主细胞中的真核翻译起始因子来抑制病毒蛋白的合成,而由 Caspase-3 介导的细胞凋亡过程中也伴随有真核翻译起始因子的裂解,这其中是否有某种联系,是不是在病毒感染宿主细胞的过程中凋亡方式起到了主要的作用呢?本试验选用已构建的能够稳定表达 O 型 FMDV L^{pro} 的 MDBK 细胞系^[4],通过诱导 L^{pro} 在宿主细胞系中的表达,来研究 L^{pro} 对宿主细胞的毒性作用,从而研究 L^{pro} 对 MDBK 细胞的致病变效应。

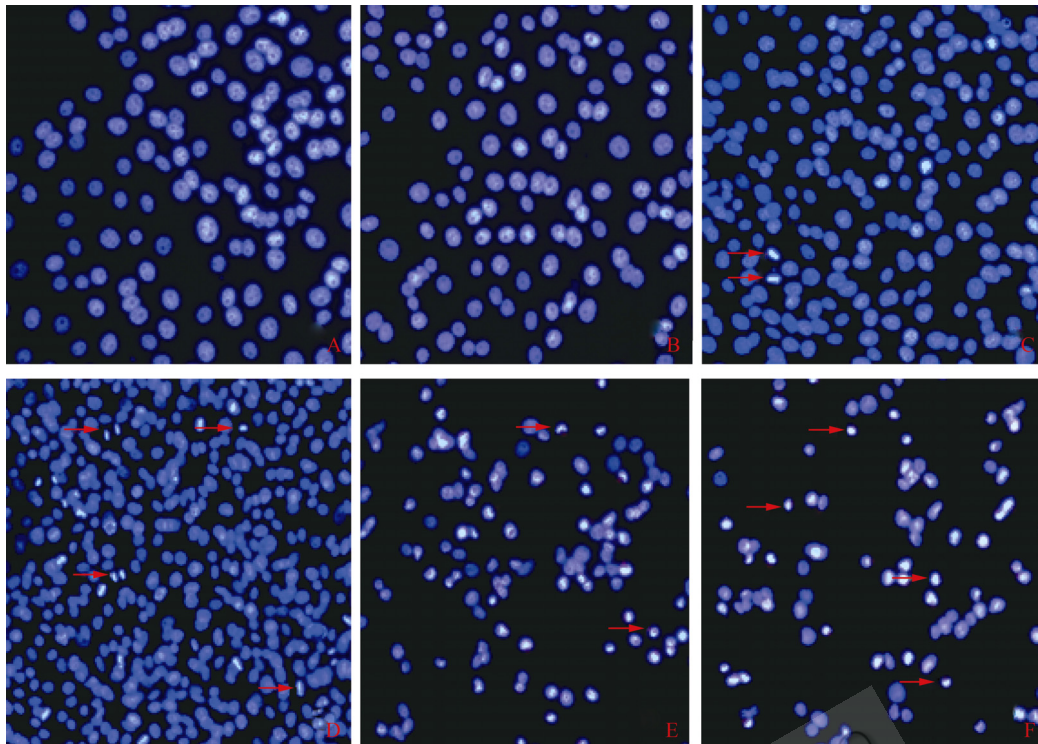


图3 Hoechst 33258 染色

Fig. 3 Hoechst 33258 staining. (A) Blank control. (B) Negative control. (C—F) The Hoechst 33258 staining of MDBK cells at 12 h, 24 h, 36 h, 48 h.

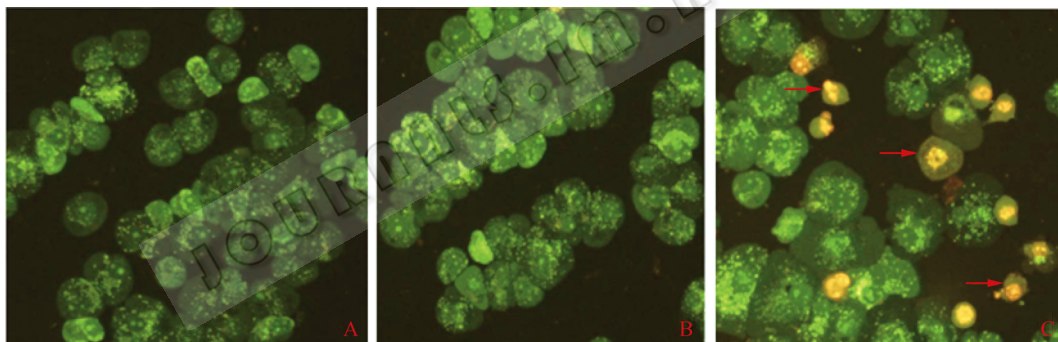


图4 AO-EB 染色

Fig. 4 AO-EB staining. (A) Blank control. (B) Negative control. (C) The AO-EB staining of MDBK cells at 36 h.

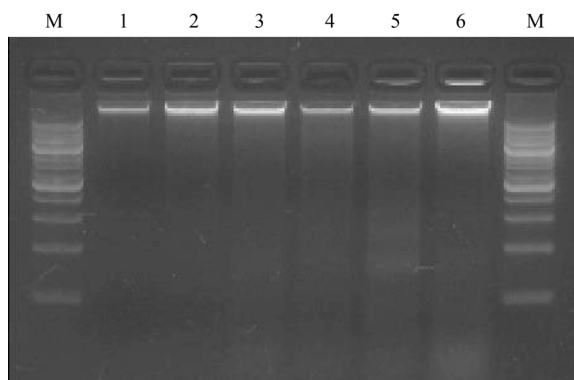


图5 DNA Ladder 条带检测

Fig. 5 DNA Ladder detection. M: DNA marker DL200; 1: negative control; 2–6: expression of L^{pro} for 12 h, 24 h, 36 h, 48, 60 h.

吴海祥等^[8]较早报道了口蹄疫病毒诱导宿主细胞凋亡的研究,之后 Blondel 等^[9]和 Eric 等^[10]指出小 RNA 病毒具有直接诱导宿主细胞死亡的能力。Delhaye 等^[11]指出虽然 Theiler 病毒的前导蛋白不具有 FMDV L^{pro} 的酶学功能,但它与宿主细胞凋亡有关。这些都应为科研工作者研究 FMDV L^{pro} 与宿主细胞凋亡的关系提供一定的线索。在本实验中,通过已经建立的真核调控表达 FMDV L^{pro} 酶的稳定 MDBK 细胞系,对 FMDV L^{pro} 在 MDBK 细胞内进行了调控表达,分析了 L^{pro} 在致宿主细胞病变中的作用方式。通过形态学观察,宿主细胞在诱导表达后

的 24 h 开始出现部分细胞的变圆、聚集、折光性增强、细胞间隙增大等病变, 36 h 时大约有 30% 细胞出现病变, 至 48 h 大部分细胞已经出现脱落。这些病变特征与病毒感染的过程极为相似。进一步的 Hoechst 33258 细胞染色和 AO-EB 染色发现在 L^{pro} 酶诱导表达后的 24~36 h 开始, 宿主细胞核具有典型凋亡的形态学特征, 包括核浓缩、边缘化、核破裂等, 从而证实 FMDV L 蛋白酶可以在体外诱导 MDBK 细胞发生凋亡。

然而, 在诱导表达 FMDV L^{pro} 酶 48 h 时的 DNA Ladder 现象却并不十分明显。分析其中的原因可能有两点: 首先, FMDV L^{pro} 酶在细胞内表达后其致细胞凋亡是一个复杂的作用过程, 可能受到多种因素的影响; 其次, 通过 Hoechst 33258 与 AO-EB 的染色结果发现, FMDV L^{pro} 酶致 MDBK 细胞的凋亡率肉眼观察在 10%~15% 之间, 此凋亡率通过 DNA Ladder 进行检测也只可能是出现微弱的“梯状”条带。因此, 通过流式细胞术等凋亡定量检测来进一步定量研究 FMDV L^{pro} 酶对宿主 MDBK 细胞的致凋亡作用是必需的。细胞凋亡的两条主要通路分别是死亡受体介导凋亡途径(Death receptor-mediated pathway or extrinsic pathway)和线粒体凋亡途径(Mitochondrial pathway or intrinsic pathway)。虽然两种凋亡通路的上游事件(Up-stream activation)不同, 但是它们最终都要激活共同的凋亡效应物, 即特异的胱冬酶(Caspase)^[12]。目前研究认为, caspase-2、caspase-8、caspase-9 和 caspase-10 参与细胞凋亡的起始; 参与凋亡执行的是 caspase-3、caspase-6 和 caspase-7^[13]。Peng 等报道了 FMDV VP1 蛋白致 BHK-21 细胞凋亡的研究, 并证实其致凋亡途径为 Akt 信号通路^[14]。而在经典的致凋亡过程中, caspase-3 可以裂解真核翻译起始因子 eIF4GI(Eukaryotic translation initiation factor 4GI)和 eIF4GII(Eukaryotic translation initiation factor 4GII), 从而抑制宿主的帽依赖性的翻译^[15]。细胞凋亡受到严格调控, 在正常细胞中胱冬酶处于非活化的酶原状态, 凋亡程序一旦开始, 胱冬酶被活化, 随后发生凋亡蛋白酶的层叠级联反应, 发生不可逆的凋亡。通过细胞形态学、细胞染色法和细胞核检测等

方法确定 FMDV L^{pro} 可以在体外诱导 MDBK 细胞发生凋亡, 今后的工作重点将围绕 FMDV L^{pro} 致宿主 MDBK 细胞凋亡的信号通路研究。所有这些对 FMDV 蛋白的研究表明, 病毒感染对宿主细胞凋亡和信号转导是一个复杂的调控过程。而在 FMDV L^{pro} 致宿主 MDBK 细胞凋亡过程中, 在不同的作用阶段中不同的基质蛋白可能对宿主细胞的凋亡起到不同的调控作用, 其机制尚需进一步研究。

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] Gorbalenya AE. Putative papain-related thiol proteases of positive-strand RNA viruses. *FEBS Lett*, 1991, **288**(1/2): 201-205.
- [3] Hinton TM. Conservation of L and 3C proteinase activities across distantly related aphthoviruses. *J Gen Virol*, 2002, **83**: 3111-3121.
- [4] Cong GZ, Zhou JH, Gao SD, et al. Construction of recombinant retroviral vector carrying leader protease gene of FMDV and its expression in bovine kidney (MDBK) cells. *Chin J Biotech*, 2008, **24**(5): 740-745.
丛国正, 周建华, 高闪电, 等. 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. *生物工程学报*, 2008, **24**(5): 740-745.
- [5] Roberts LO, Lewis LJ, Belsham GJ, et al. Caspases are not involved in the cleavage of translation initiation factor eIF4GI during picornavirus infection. *J Gen Virol*, 2000, **81**: 1703-1707.
- [6] Romanova LI, Belov GA, Lidsky PV. Variability in apoptotic response to poliovirus infection. *Virology*, 2005, **331**: 292-306.
- [7] George M. The non-structural leader protein gene of foot-and-mouth disease virus is highly variable between serotypes. *Virus Genes*, 2001, **22**(3): 271-278.
- [8] Wu HX, Zheng CY, Qu SF, et al. Studies on apoptosis of host cells induced by foot and mouth disease virus. *Virol Sin*, 2001, **16**(2): 175-178.
吴海祥, 郑从义, 屈三甫, 等. 口蹄疫病毒诱导宿主细胞凋亡的研究. *中国病毒学*, 2001, **16**(2): 175-178.
- [9] Blondel B. Poliovirus, pathogenesis of poliomyelitis, and apoptosis. *Curr Top Microbiol Immunol*, 2005, **289**: 25-56.
- [10] Buenz EJ, Howe CL. Picornaviruses and cell death. *Trends Microbiol*, 2006, **14**: 28-32.
- [11] Delhaye S. The leader protein of Theiler's virus interferes with nucleocytoplasmic trafficking of cellular proteins. *J Virol*, 2004, **78**: 4357-4362.

- [12] Ferrington DA, Tran TN, Lew KL. Different death stimuli evoke apoptosis via multiple pathways in retinal pigment epithelial cell. *Exp Eye Res*, 2006, **83**: 638–650.
- [13] Peng JM, Liang SM, Liang CM. VP1 of foot-and-mouth disease virus induces apoptosis via the Akt signaling pathway. *J Biol Chem*, 2004, **297**(50): 52168–52174.
- [14] Sahvesen GS, Dixit VM. Caspase: intracellular signaling by proteolysis. *Cell*, 1997, **91**(4): 443–446.
- [15] Marissen WE. Identification of caspase 3-mediated cleavage and functional alteration of eukaryotic initiation factor 2a in apoptosis. *J Biol Chem*, 2000, **275**: 9314–9323.

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>