

陈闯峰, 汤德元, 罗柳, 等. 日本脑炎病毒感染睾丸间质细胞对干扰素调节因子 3 相关信号通路的影响 [J]. 畜牧与兽医, 2024, 56 (2): 104-109.

CHEN C Z, TANG D Y, LUO L, et al. Effect of Japanese encephalitis virus infection on the IRF3 related signal pathway in leydig cells [J]. Animal Husbandry & Veterinary Medicine, 2024, 56 (2): 104-109.

## 日本脑炎病毒感染睾丸间质细胞对干扰素调节因子 3 相关信号通路的影响

陈闯峰, 汤德元\*, 罗柳, 廖正波, 袁盛林, 陈旭

(贵州大学动物科学学院, 贵州 贵阳 550025)

**摘要:** 旨在探究日本脑炎病毒 (JEV) 感染睾丸间质细胞后通过激活视黄酸诱导基因 I 型 (RIG-I) 和 Toll 样受体 3 (TLR3) 等模式识别受体后引发的先天免疫机制。建立 JEV 感染睾丸间质细胞模型, 利用荧光定量 PCR 和 Western blot 技术检测不同感染时段细胞的 RIG-I、TLR3 和干扰素调节因子 3 (IRF3) 的转录和蛋白表达、IRF3 的磷酸化以及干扰素  $\beta$  (IFN- $\beta$ ) 的转录情况。结果显示: JEV 感染后细胞中 RIG-I 和 IRF3 的 mRNA 和蛋白表达水平均有显著升高 ( $P < 0.05$ ), TLR3 蛋白表达水平极显著上调 ( $P < 0.01$ ), IRF3 磷酸化水平极显著上调 ( $P < 0.001$ ), IFN- $\beta$  转录水平显著升高 ( $P < 0.05$ )。结果表明: JEV 感染可激活睾丸间质细胞的 RIG-I 和 TLR3 受体, 进而激活 IRF3 磷酸化, 启动 IFN- $\beta$  的分泌, 启动机体的先天性免疫抗病毒反应。

**关键词:** 日本脑炎病毒; 模式识别受体; 干扰素调节因子 3; 先天免疫

中图分类号: S852.6 文献标志码: A 文章编号: 0529-5130(2024)02-0104-06

## Effect of Japanese encephalitis virus infection on the IRF3 related signal pathway in leydig cells

CHEN Changzheng, TANG Deyuan\*, LUO Liu, LIAO Zhengbo, YUAN Shenglin, CHEN Xu

(College of Animal Sciences, Guizhou University, Guiyang 550025, China)

**Abstract:** The aim of the study was to investigate the innate immune mechanism triggered by Japanese encephalitis virus (JEV) infection of testicular interstitial cells by activating pattern recognition receptors, such as Retinoic acid inducible gene I like receptors (RIG-I) and Toll like receptor-3 (TLR3). A model of JEV infection in testicular interstitial cells was constructed, and cellular lesions at different time periods after JEV infection were observed. Then, fluorescence quantitative PCR and Western Blot techniques were used to observe the transcription and protein expression of RIG-I, TLR3, and IRF3 in cells at different infection stages, and the phosphorylation of IRF3 and the transcription status of IFN- $\beta$  transcription status were detected. The results showed that, after JEV infection with testicular interstitial cells, the mRNA and protein expression levels of RIG-I and IRF3 were significantly increased ( $P < 0.05$ ), the TLR3 protein expression level was significantly upregulated ( $P < 0.01$ ), the IRF3 phosphorylation level was significantly upregulated ( $P < 0.001$ ), and the transcription level of IFN- $\beta$  significantly increased ( $P < 0.05$ ). The results indicated that JEV infection activated the RIG-I and TLR3 receptors in the testicular interstitial cells, thereby activating IRF3 phosphorylation and initiating the secretion of IFN- $\beta$ , and triggered the innate immune antiviral immune response in the body.

**Keywords:** Japanese encephalitis virus; pattern recognition receptors; interferon regulatory factors 3; innate immunity

日本脑炎 (Japanese encephalitis, JE) 是由日本脑炎病毒 (Japanese encephalitis virus, JEV) 感染引

起的一种人畜共患病, 因其于 1934 年首次于日本被分离而得名<sup>[1]</sup>, 在自然界中主要以人-蚊-猪的循环模式进行传播<sup>[2]</sup>。感染 JEV 后临床上主要表现出脑炎、脑膜炎和脊髓炎等神经系统症状<sup>[3]</sup>, 病死率高达 30%, 30%~50% 的患者存在永久性的中枢神经系统损伤后遗症<sup>[4]</sup>。猪是 JEV 最重要的自然增殖宿主, 当猪感染 JEV 后, 母猪会出现流产、产死胎, 公猪出现睾丸单侧或双侧肿大, 精液带毒、丧失种用

收稿日期: 2022-11-12; 修回日期: 2023-12-25

基金项目: 贵州省科技支撑计划项目 (黔科合支撑 [2021] 一般 162); 贵州省科技支撑计划项目 (黔科合支撑 [2018] 2265)

第一作者: 陈闯峰, 男, 硕士

\* 通信作者: 汤德元, 博士, 教授, 主要从事动物传染病病原分子生物学研究, E-mail: tdyuan@163.com。

能力<sup>[5]</sup>。

模式识别受体 (pattern recognition receptors, PRRs) 家族能够识别来自细菌或真菌、病毒和原生动物的病原体相关分子模式 (PAMPs), 是宿主构成先天免疫系统的第一道防线<sup>[6]</sup>。病原体被先天免疫受体结合的配体识别并触发不同的先天信号通路, 从而启动一系列宿主防御机制。先天免疫受体家族包括视黄酸诱导基因 I 型 (retinoic acid-inducible gene I like receptors, RIG-I), Toll 样受体 (Toll-like receptors, TLRs), NOD 样受体 (NOD-like receptors, NLRs) 和 C 型凝集素受体 (C-type lectin receptors, CLR<sup>s</sup>)<sup>[7]</sup>, 作为识别 PAMPs 的进化保守蛋白, 它们是先天免疫反应的关键, 也是先天和适应性免疫反应的关键调节因子<sup>[8]</sup>。

干扰素调节因子 3 (interferon regulatory factors 3, IRF3) 是调节干扰素 (IFN) 基因表达的重要蛋白质分子, 作为 PRRs 多个通路下游的信号调节因子和转录因子发挥作用, 在 I 型 IFN 以及多种 IFN 刺激基因 (ISG) 的产生中起关键作用<sup>[9]</sup>。IRF3 在不同来源的细胞中普遍表达, 并以静止状态存在于细胞质中。在 PRRs 感知病原体后, IRF3 通过 TANK 结合激酶 1 (TANK binding kinase 1, TBK1) 或核因子  $\kappa$ B 抑制物激酶  $\epsilon$  (inhibitor of nuclear factor  $\kappa$ B kinase subunit epsilon, IKK $\epsilon$ ) 的羧基末端磷酸化被激活, 从而动员 IRF3 进行二聚化和核转位<sup>[10]</sup>。

有研究表明, JEV 感染后可激活 RIG-I 和 TLR3 受体, 但有关其在 JEV 感染过程中引发的先天免疫的作用机制研究尚不清楚。因此, 本研究通过建立 JEV 感染睾丸间质细胞的模型, 探讨 JEV 对 IRF3 相关信号通路的影响, 为研究 JEV 的致病机制提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 病毒与细胞

JEV GZ 株由本实验室分离鉴定并保存, 小鼠睾丸间质细胞 TM3 购自武汉普诺赛生物技术公司。

### 1.2 主要试剂

DMEM/F12 培养基、胎牛血清均购于 Gibco 公司; RIG-I、IRF3、p-IRF3 单克隆抗体购于 CST 公司; TLR3 多克隆抗体购于 Abcam 公司; 兔抗 GAPDH 单克隆抗体、HRP 标记山羊抗兔二抗购于生工生物工程 (上海) 有限公司; TRNzol Universal 总 RNA 提取试剂购于天根生化科技 (北京) 有限公司; 1st Strand cDNA Synthesis Kit、One Step RT-PCR Kit 购于宝生物公司; FastSYBR Mixture 购于江苏康为世纪生物科技股份有限公司。

### 1.3 细胞培养及感染

用含 10% 胎牛血清、1% 青链霉素双抗的 DMEM/F12 完全培养基, 于 37 °C, 5% CO<sub>2</sub> 条件下培养 TM3 细胞, 待细胞生长到布满细胞瓶 80% 时, 将细胞转移至 6 孔板内进行培养, 每孔约 2.5×10<sup>5</sup> 个细胞。

待细胞贴壁后, 每孔按感染复数 (MOI) = 1 加入病毒液, 37 °C 培养箱内吸附 1 h 后弃去上清液, 用 PBS 清洗 3 次后, 重新加入含 2% 胎牛血清的 DMEM/F12 维持液于 37 °C 培养箱内继续培养, 观察细胞病变情况于不同时间段收集各组细胞上清液, 使用病毒 RNA 提取试剂盒提取上清液中的病毒 RNA。使用实验室前期根据 JEV NS1 基因设计的相关引物 (F: 5'-GGAAGCGGCTGGATAGGT-3'; R: 5'-GTACTG-GTGACCGAAGGG-3')<sup>[11]</sup>, 进行一步法 RT-PCR 检测 JEV 核酸。反应条件为: 50 °C, 40 min 反转录; 95 °C, 5 min 预变性; 95 °C 45 s, 56 °C 45 s, 72 °C 45 s, 共 40 个循环; 72 °C 10 min。产物使用 1% 琼脂糖凝胶进行 TAE 电泳, 验证 JEV 能否感染 TM3 细胞。

### 1.4 荧光定量 PCR 检测

使用 12 孔板铺板 TM3 细胞, 分为对照组以及 12 h、24 h、48 h 攻毒组, 每组 3 孔, 攻毒组按相应时间每孔加入 MOI = 1 的病毒液, 对照组加入 DMEM。达到接毒时间后, 将不同接毒时间组细胞弃去上清液, PBS 清洗 3 次, 加入 TRNzol 试剂, 提取细胞总 RNA, 并使用 1st Strand cDNA Synthesis Kit 试剂盒反转录为 cDNA, 用于进行荧光定量 PCR 检测。荧光定量 PCR 反应的引物序列如表 1。荧光定量 PCR 反应条件如下: 预变性 95 °C 20 s; 95 °C 3 s, 60 °C 30 s, 共 40 个循环。熔解曲线分析: 95 °C 15 s, 60 °C 1 min, 95 °C 15 s, 60 °C 15 s。以 GAPDH 的 mRNA 水平为基准, 采用 2<sup>- $\Delta\Delta C_t$</sup>  分析法计算各样本中目的基因的相对表达水平。

表 1 荧光定量 PCR 引物序列

基因名称	引物序列 (5'→3')
RIG-I	F: ATTGTCGGCGTCCACAAAG
	R: GTGCATCGTTGTATTTCCGCA
IRF3	F: GAGAGCCGAACGAGGTTACAG
	R: CTTCCAGGTTGACACGTCCG
TLR3	F: CTCTGGGCTGAAGTGACAAAT
	R: GAGAAGGAACCGTTGCCGACATC
GAPDH	F: CCTCGTCCCGTAGACAAAATG
	R: TGAGGTCAATGAAGGGGTCTGT
IFN- $\beta$	F: CAGCTCAAGAAAGGACGAAC
	R: GGCAGYGYAACTCTTCTGCAT
JEV NS1	F: GGAAGCCTGGGTGGATAGGT
	R: GTAGTGTTTCTGACCGAAGGG

### 1.5 Western blot 检测

使用6孔板铺板 TM3 细胞，分为对照组和 JEV 攻毒组，共4组，每组3孔，攻毒组每孔加入 MOI=1 的病毒液，对照组加入 DMEM。达到接毒时间后，将不同接毒时间组细胞弃去上清液，PBS 清洗3次，加入蛋白裂解液进行裂解，离心取上清液，反应于冰上进行，并用 BCA 法测定蛋白浓度。用 SDS-PAGE 分离蛋白质，并转移到 PVDF 膜上。将膜在 5% 脱脂奶中封闭 1.5 h，加入抗体 4 ℃ 孵育过夜。用 TBST 缓冲液洗膜 3 次，室温孵育二抗 1 h，再次用 TBST 缓冲液洗膜 3 次。用 ECL 显色剂显影。

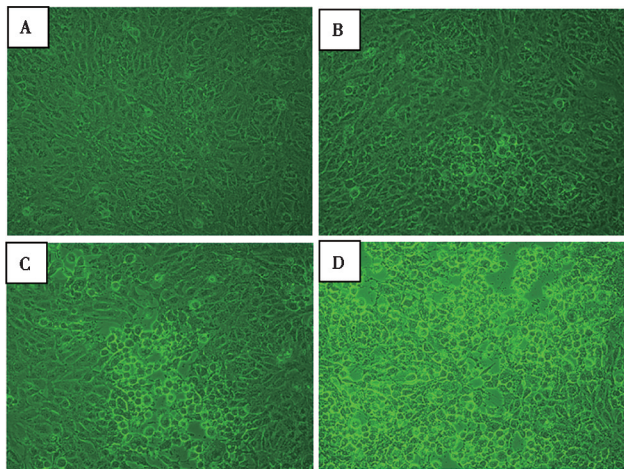
### 1.6 统计分析

应用统计分析软件 Graphpad Prism 8 进行分析，多组间比较使用单因素方差分析 (One-way ANOVA)。数据用“平均值±标准差”表示。

## 2 结果与分析

### 2.1 细胞培养及感染

将 JEV 接种 TM3 细胞后每隔 12 h 观察细胞状态，见图 1。观察到病毒接种 12 h 后细胞开始出现病变，少量细胞出现变圆和空泡样病变；随着接种时间延长大量细胞皱缩，裂解死亡，死亡细胞从壁上脱落，细胞之间出现空隙，连接松散。连续传代后 JEV 依然能稳定的引起 TM3 细胞病变。



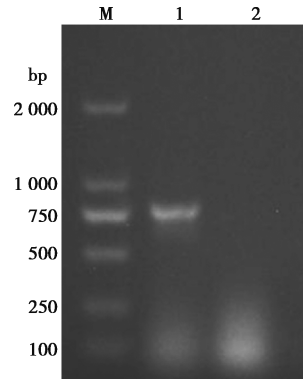
A. 对照组; B. 12 h; C. 24 h; D. 48 h。

图 1 JEV GZ 株感染 TM3 细胞引起的细胞病变 (100×)

### 2.2 RT-PCR 扩增 JEV NS1 基因

用病毒核酸提取试剂盒提取感染细胞上清液中病

毒核酸，使用本实验室前期设计的 JEV NS1 引物，进行一步法 RT-PCR 扩增。结果可见在 831 bp 出现目的条带 (图 2)，阴性对照无条带，证明在睾丸间质细胞中检出 JEV 核酸，与预期相符。

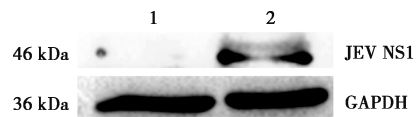


M. DL2000 Marker; 1. JEV NS1 基因; 2. 阴性对照。

图 2 JEV NS1 基因一步法 RT-PCR 检测

### 2.3 JEV 感染 TM3 细胞 NS1 蛋白鉴定

Western blot 检测结果如图 3 所示，在 JEV 感染后的 TM3 细胞样品中可检测到 NS1 蛋白条带，而对对照组无条带，说明 JEV 已感染 TM3 细胞。

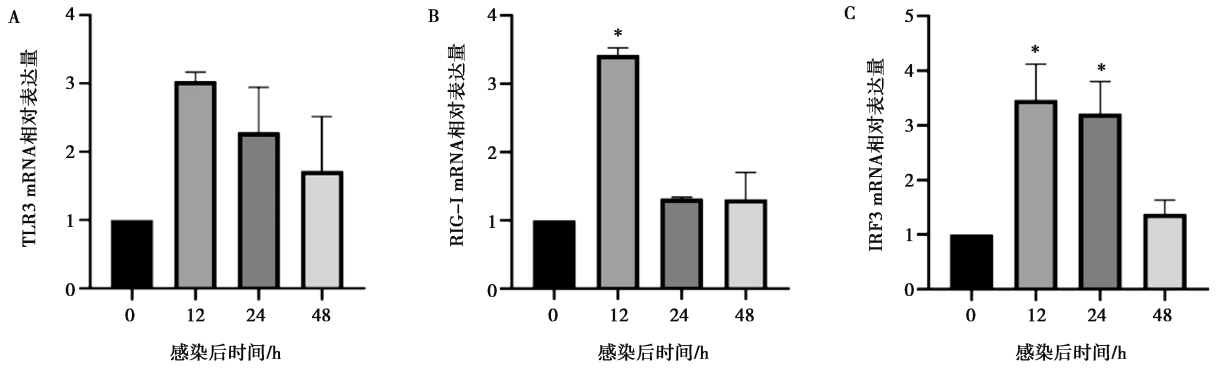


1. 对照组; 2. 攻毒组。

图 3 JEV NS1 蛋白的 Western blot 检测

### 2.4 IRF3 通路相关因子的 mRNA 表达水平检测

如图 4 可见，各引物扩增曲线 Ct 值均在 15~35 范围内；熔解曲线均为单峰，证明扩增特异性良好。荧光定量 PCR 结果如图 5 所示。RIG-I 的 mRNA 水平在感染后 12 h 时表达显著上升 ( $P < 0.05$ )，24 和 48 h 有所回落，但与对照组相比无显著差异；TLR3 的 mRNA 水平在感染后均出现明显增加，随着感染时间增加呈现下降趋势，但无显著性差异；IRF3 的 mRNA 水平在感染后 12 和 24 h 出现显著升高 ( $P < 0.05$ )，但 48 h 时出现下降。因此，选择 12 h 作为后续试验的细胞感染时间。



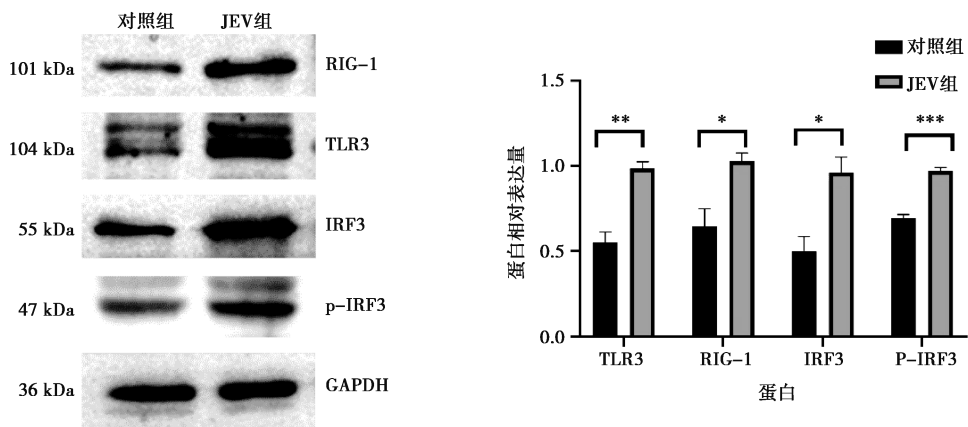
\*表示与对照组相比差异显著 ( $P < 0.05$ )。下同。

图4 JEV感染后不同时间IRF3通路相关因子mRNA表达情况

### 2.5 IRF3通路相关因子的蛋白表达水平检测

Western blot 检测 JEV 感染 TM3 细胞后 12 h 的蛋白表达水平变化。由图 5 可见，与对照组相比，TLR3、RIG - I、IRF3 蛋白表达水平均上调，与 TLR3、RIG - I、IRF3 的 mRNA 转录水平变化一致，其中 RIG - I 和 IRF3 蛋白表达量显著上调 ( $P <$

0.05)，TLR3 蛋白表达量极显著上调 ( $P < 0.01$ )；而 IRF3 的磷酸化水平也出现显著上调，与对照组相比有极显著差异 ( $P < 0.001$ )。可见 JEV 入侵细胞能够激活 RIG - I 和 TLR3 并诱导 IRF3 蛋白表达和磷酸化水平显著上升。



\*表示  $P < 0.05$ ，\*\*表示  $P < 0.01$ ，\*\*\*表示  $P < 0.001$ 。

图5 Western blot 检测 IRF3 通路相关因子蛋白表达情况

### 2.6 IFN-β 的 mRNA 表达水平检测

通过荧光定量 PCR 方法分别检测 JEV 感染 TM3 细胞后对照组与攻毒组中 IFN-β 的 mRNA 转录水平，引物扩增曲线 Ct 值均在 15~35 范围内；熔解曲线均为单峰，证明扩增特异性良好。结果如图 6 所示，与对照组相比，感染 JEV 后 IFN-β 的转录水平出现显著升高 ( $P < 0.05$ )，证明 JEV 感染 TM3 细胞后可激活 IRF3 的磷酸化，而 p-IRF3 入核后调控 IFN-β 基因，上调 IFN-β 的表达。

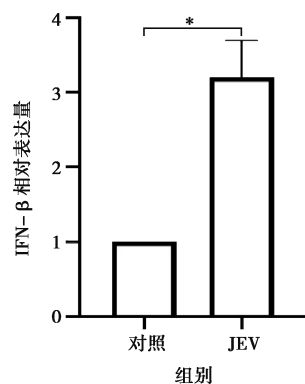


图6 JEV感染后IFN-β的mRNA表达情况

### 3 讨论

JEV 感染一直困扰我国生猪养殖业,会导致公猪出现睾丸肿胀,严重的充血和炎症反应,临床上多见为感染猪单侧或双侧睾丸肿胀。目前关于 JEV 的致病机制研究主要围绕在于其引发的中枢神经系统炎症,而关于生殖系统的研究相对较少<sup>[12]</sup>。睾丸防御病毒进入血液的第一道防线是睾丸间质细胞和睾丸巨噬细胞。因此,本研究以睾丸间质细胞为研究对象,探究感染 JEV 后睾丸间质细胞内的抗病毒相关通路激活情况。

目前为止,对于病毒的致病机制和信号转导方面的研究多是通过体外细胞模型来开展的,而 JEV 对某些细胞如小鼠小胶质细胞的感染能力较弱,因此选择合适的细胞系对于 JEV 致病机制的研究至关重要。王子畅<sup>[13]</sup>通过建立 UBE2J1 敲除的 PK-15 细胞系开展研究,发现敲除 UBE2J1 基因后能够抑制 JEV 的复制,为 JEV 的防治提供理论基础。本试验使用 TM3 细胞为细胞模型,以 MOI = 1 剂量接种后,在感染 12 h 可观察到细胞病变,并通过 RT-PCR 和 Western blot 技术,检出 JEV NS1 基因和蛋白条带。NS1 是 JEV 中高度保守的非结构蛋白,其在 JEV 病毒粒子的组装和释放及 JEV 免疫逃避方面均有重要作用<sup>[14]</sup>,说明 JEV 可感染 TM3 细胞并在其中复制,可以开展后续试验。

先天免疫是当人体遭受病毒侵害时抵抗病毒的第一道防线,而其能够快速发挥作用的原因就在于机体内多样的 PRRs<sup>[15]</sup>。在 JEV 感染的免疫反应中,主要依赖于细胞质中的 RIG-I 和 TLR3,通过识别并结合 JEV 在复制过程中产生的 dsRNA 激活<sup>[16]</sup>,引发下游系列信号转导级联反应,激活 IRF3、NF- $\kappa$ B 等信号转导分子,最终诱导 I 型 IFN、炎症因子等细胞因子的产生,抑制病毒的复制和传播<sup>[17]</sup>。本研究通过 JEV 感染 TM3 细胞后,检测出 RIG-I 和 TLR3 的 mRNA 和蛋白表达水平均有显著上调,表明 JEV 在感染 TM3 细胞后成功激活了 RIG-I 和 TLR3。

IRF3 是激活 I 型 IFN 的重要启动子,通常在细胞内并不表现出活性,当被 RIG-I 和 TLR3 激活后,C 端中丝氨酸 (Ser) 和苏氨酸 (Thr) 残基发生磷酸化,并转入细胞核内,启动 IFN- $\beta$  的分泌<sup>[18-19]</sup>。已有研究表明,在使用 JEV 感染猪睾丸细胞后,通过 miRNA 的表达谱系差异分析,发现 miR-23a 的表达量有显著升高<sup>[20]</sup>。miR-23a 是一种细胞内部的小型非编码 RNA,在先天免疫中通过靶向增强 IRF3 的激活,来实现 IFN- $\beta$  的诱导表达,达到抑制病毒复制作用<sup>[21]</sup>。本试验结果与之类似,证明 JEV 感染 TM3

细胞可激活 RIG-I/TLR3-IRF3 信号通路,引起 IRF3 的 mRNA 转录水平上调,IRF3 和 p-IRF3 的蛋白表达上调,并最终诱导 IFN- $\beta$  的表达上调。

### 4 结论

通过建立 JEV 感染 TM3 细胞的体外感染模型,发现 JEV 感染后可激活 RIG-I/TLR3-IRF3 通路,引起 IRF3 磷酸化,诱导细胞 IFN- $\beta$  表达上调,启动了 TM3 细胞先天性抗病毒反应,抑制病毒的复制。

### 参考文献:

- [1] HILLS S L, PHILLIPS D C. Past, present, and future of Japanese encephalitis [J]. *Emerg Infect Dis*, 2009, 15 (8): 1333.
- [2] MISRA U K, KALITA J. Overview: Japanese encephalitis [J]. *Prog Neurobiol*, 2010, 91 (2): 108-120.
- [3] SOLOMON T. Flavivirus encephalitis [J]. *N Engl J Med*, 2004, 351 (4): 370-378.
- [4] PARK S L, HUANG Y S, LYONS A C, et al. North American domestic pigs are susceptible to experimental infection with Japanese encephalitis virus [J]. *Sci Rep*, 2018, 8 (1): 7951.
- [5] 汤德元. 乙脑病毒的分离鉴定和全长基因克隆的研究 [D]. 成都: 四川农业大学, 2004.
- [6] MOGENSEN T H. Pathogen recognition and inflammatory signaling in innate immune defenses [J]. *Clin Microbiol Rev*, 2009, 22 (2): 240-273.
- [7] BRUBAKER S W, BONHAM K S, ZANONI I, et al. Innate immune pattern recognition: a cell biological perspective [J]. *Annu Rev Immunol*, 2015, 33: 257-290.
- [8] KUMAR H, KAWAI T, AKIRA S. Pathogen recognition by the innate immune system [J]. *Int Rev Immunol*, 2011, 30 (1): 16-34.
- [9] WU J, CHEN Z J. Innate immune sensing and signaling of cytosolic nucleic acids [J]. *Annu Rev Immunol*, 2014, 32: 461-488.
- [10] FITZGERALD K A, MCWHIRTER S M, FAIA K L, et al. IKK $\epsilon$  and TBK1 are essential components of the IRF3 signaling pathway [J]. *Nat Immunol*, 2003, 4 (5): 491-496.
- [11] 张森, 石远菊, 汤德元, 等. 猪呼吸和繁殖障碍类病毒性疫病多重 PCR 检测方法的建立及应用 [J]. *中国兽医学报*, 2020, 40 (1): 32-37.
- [12] 韩超逸, 汤德元, 曾智勇, 等. 日本乙型脑炎病毒感染中枢神经系统研究进展 [J]. *中国兽医学报*, 2021, 41 (4): 803-807.
- [13] 王子畅. 敲除猪 UBE2J1 抑制乙型脑炎病毒复制的功能研究 [D]. 武汉: 华中农业大学, 2021.
- [14] 韩超逸, 汤德元, 廖少山, 等. 日本脑炎病毒非结构蛋白功能的研究进展 [J]. *畜牧与兽医*, 2021, 53 (7): 136-140.
- [15] LIU G, GACK M U. Distinct and orchestrated functions of RNA sensors in innate immunity [J]. *Immunity*, 2020, 53 (1): 26-42.
- [16] CHANG T H, LIAO C L, LIN Y L. Flavivirus induces interferon- $\beta$  gene expression through a pathway involving RIG-I-dependent IRF-3 and PI3K-dependent NF- $\kappa$ B activation [J]. *Microbes Infect*, 2006, 8 (1): 157-171.

- [17] THONGTAN T, THEPPARIT C, SMITH D R. The involvement of microglial cells in Japanese encephalitis infections [J]. *Clin Dev Immunol*, 2012, 2012: 890586.
- [18] SERVANT M J, GRANDVAUX N, TENOEVEVER B R, et al. Identification of the minimal phosphoacceptor site required for *in vivo* activation of interferon regulatory factor 3 in response to virus and double-stranded RNA [J]. *J Biol Chem*, 2003, 278 (11): 9441-9447.
- [19] WOO S R, FUERTES M B, CORRALES L, et al. STING-dependent cytosolic DNA sensing mediates innate immune recognition of immunogenic tumors [J]. *Immunity*, 2014, 41 (5): 830-842.
- [20] 张元鹏, 杨占娜, 杨利, 等. 乙型脑炎病毒感染猪睾丸细胞的 miRNA 表达谱差异分析 [J]. *南京农业大学学报*, 2019, 42 (4): 734-739.
- [21] ZHANG Q, GUO X K, GAO L, et al. MicroRNA-23 inhibits PRRSV replication by directly targeting PRRSV RNA and possibly by upregulating type I interferons [J]. *Virology*, 2014, 450-451: 182-195.

· 广告 ·

## 倡导健康养殖新理念 解读疫病防控新技术 欢迎订阅 2024 年《畜牧与兽医》

ISSN 0529-5130, CN 32-1192/S

《畜牧与兽医》月刊由教育部主管、南京农业大学主办。1935年创刊，由原中央大学畜牧兽医系编辑出版，著名兽医学家罗清生教授任主编，至今已有89年的办刊历史。始终遵循“为社会服务，为畜牧生产服务”和“理论与实践相结合，普及与提高并举”的办刊宗旨。本刊连续入选中国科技核心期刊（中国科技论文统计源期刊）、《中文核心期刊要目总览》，先后荣获华东地区优秀期刊、江苏期刊方阵双效期刊、江苏省优秀科技期刊、全国高校优秀期刊、全国畜牧兽医类优秀期刊等。

**读者对象：**畜牧、兽医科技工作者和大专院校师生等。

**主要内容：**主要刊登畜牧、兽医两学科各领域的研究报告、文献综述等。主要栏目有遗传繁育、动物营养、环境卫生、基础兽医、预防兽医、临床兽医和专题综述等。

**征订办法：**本刊为月刊，大16开，定价：28.00元，全年12期共336.00元。邮发代号：28-42，全国各地邮局均可订阅。邮局漏订者可直接汇款至本刊杂志社补订。

地 址：江苏省南京市卫岗1号南京农业大学内 邮 编：210095

电话：025-84395701（编辑部） E-mail: muyizz@njau.edu.cn