

# 抗 J 亚群禽白血病病毒囊膜糖蛋白特异性单克隆抗体的研制及其特性

秦爱建<sup>1</sup>, 崔治中, LEE LUCY<sup>2</sup>, FADLY ALY

(1. 扬州大学动物医学系, 扬州 225009; 2. Avian Disease and Oncology Laboratory, USDA, East Lansing, MI 48823 USA)

**摘要:** J 亚群禽白血病病毒(ALV-J)是一种主要感染肉用型鸡的反转录病毒。本研究用表达 ALV-J 囊膜蛋白基因产物的 Sf9 细胞免疫 Balb/c 小鼠, 取其脾脏细胞与骨髓瘤细胞 NS1 进行融合, 获得了 4 株特异性抗 ALV-J 的单克隆抗体。免疫荧光分析结果表明, 3 株单克隆抗体仅与所试验的 ALV-J 毒株反应, 而不能与 ALV 的 A、B、C、D 和 E 亚群的毒株反应。有趣的是, 有一株单克隆抗体可以与所有试验的外源性 ALV 毒株反应, 但不与内源性的 E 亚群反应。Western Blot 和免疫沉淀试验结果表明, 单克隆抗体识别的 ALV-J 囊膜糖蛋白的分子量为 90- 94 kD, 识别未糖基化的囊膜蛋白分子量约为 53 kD。用这些单克隆抗体能检测出 ALV-J 病毒感染鸡胚成纤维细胞中的病毒抗原。这些结果提示这些单克隆抗体可用于 ALV-J 疾病的诊断和流行病学调查。

**关键词:** 禽白血病病毒; J 亚群; 囊膜蛋白; 单克隆抗体

**中图分类号:** S852. 65    **文献标识码:** A    **文章编号:** 0366- 6964(2001)06- 0556- 07

鸡群中引起肿瘤的禽白血病病毒(ALV)可分为 A、B、C、D、E 和 J 亚群, 其中 J 亚群是 90 年代鉴定出来的新的病毒亚群, 在商品肉用型鸡中 ALV 呈现流行趋势。由于肿瘤死亡、胴体废弃等而造成严重的经济损失<sup>[1,2]</sup>。在 ALV-J 特异的蛋白质中, 病毒子的表面囊膜糖蛋白是主要的亚群特异性决定因素<sup>[3]</sup>, 这些新毒株作为一种新的独立的囊膜亚群已得到其核酸序列的验证<sup>[2,4]</sup>, 然而, 有关 J 亚群病毒的快速检测方法目前尚未建立, ELISA 检测病毒群特异性抗原(gsa)<sup>[5]</sup>虽然可以检测 ALV-J gsa, 但这种试验同时也能检测出某些样品中的内源性的病毒 gsa。PCR 方法受到 ALV-J 的 *env* 基因序列和正常鸡群中同源基因的干扰<sup>[6]</sup>, 另外还受到抗原变异性的困扰<sup>[7]</sup>。单克隆抗体在分子生物学和临床诊断中是非常有用的工具, 本研究试图通过研制抗 ALV-J 特异性单克隆抗体以用于 ALV-J 分子生物学上更深入的研究, 同时为临床诊断提供高质量的检测试剂。

## 1 材料与方 法

**1.1 病毒** ADOL-Hc1, ADOL-6803, ADOL-4817, ADOL-5701, ADOL-0661 株病毒分离于美国鸡场, 并已鉴定为 ALV-J 亚群的成员<sup>[8]</sup>。HPRS103 由英国动物健康研究所 Payne 和 Vanugopal 博士赠送, 并仅用于体外实验。RAV-1、RAV-2、RAV-49、RAV-50、RAV-

收稿日期: 2000-04-16

基金项目: 江苏省教委留学回国基金; 扬州大学博士启动基金

作者简介: 秦爱建(1961-), 男, 江苏通州人, 副教授, 博士, 主要研究方向是动物分子病毒学和免疫学。

0 株均由 Avian Disease and Oncology Lab, USDA, East Lansing MI 保存, 分别代表 ALV 亚群 A B C D 和 E。

**1.2 细胞** DF1 细胞系<sup>[9]</sup> 和能抵抗 E 亚群 ALV(C/E) 的 O 系鸡胚成纤维细胞(CEF), 以及对所有 ALV 亚群都易感的 15B1 系 CEF 用于病毒的传代和扩增, 培养基为 Leibowitz-McCoy's 培养基(GIBCO Laboratories, Grand Island, NY), 含有 5% 犊牛血清(CFS) 作为生长培养基, 或 1% CFS 作为维持生长培养基。

NS1 小鼠骨髓瘤细胞生长于 HT 完全培养基, 融合筛选培养基为 HAT 培养基。

**1.3 免疫和融合** 用于研制抗 ALV-J 特异性单克隆抗体的免疫原为重组杆状病毒感染并表达 *env* 基因产物的 Sf9 细胞<sup>[2]</sup>, 根据计算机分析, 该基因产物有很好的抗原性, 用这些破碎的含有重组基因产物的细胞按常规方法免疫 10 周龄的 Balb/C 小鼠, 取其小鼠的脾脏细胞和 NS1 骨髓瘤细胞进行融合, 融合试剂为 40% 的 PEG1450(Sigma Chemical, St Louis, MO)。

**1.4 间接免疫荧光试验(IFA)** 间接免疫荧光试验的基本方法参照我们过去已报道的方法进行<sup>[10]</sup>。

**1.5 协同 ELISA** 协同 ELISA 的方法按 Allaway 等报道的进行<sup>[11]</sup>。

**1.6 <sup>35</sup>S 甲硫氨酸同位素标记 ALV-J 囊膜糖蛋白和免疫沉淀** 按文献报道的进行<sup>[12]</sup>。

**1.7 Western blot** Western blot 的操作过程按文献报道的进行<sup>[13]</sup>。

**1.8 ALV-J TCID<sub>50</sub>的测定** 对于 ALV-J 毒株的感染剂量测定我们采用了有限稀释法, 结合 IFA 方法进行检测, 经计算后得出病毒的 TCID<sub>50</sub>。

**1.9 中和试验** 首先将 1000 个 TCID<sub>50</sub>/ml 的 ADOL-Hcl 株分散于 96 孔细胞培养板, 每孔 50  $\mu$ l, 然后各加入 50  $\mu$ l 不同稀释度的单克隆抗体, 在 37  $^{\circ}$ C 作用 30 min, 同时设阳性血清和阴性血清对照, 最后加入 100  $\mu$ l 10<sup>5</sup>/ml CEF 细胞, 37  $^{\circ}$ C 培养过夜, 次日更换新鲜 1% CFS McCoy 培养基, 37  $^{\circ}$ C 培养 7 d, 冻融细胞, 以 ALV 的 P27 抗原 ELISA 检测病毒的复制情况。

## 2 结果

**2.1 杂交瘤融合和筛选效果** 采用上述的免疫和融合方法, 我们在两次融合中融合率均为 100%, 在第 1 次融合所用 10 块 96 孔细胞培养板, 每孔出现多个杂交瘤细胞克隆, 然而仅筛选出一株抗 ALV-J 阳性的单克隆细胞株。第 2 次融合用 17 块 96 孔细胞培养板, 每孔几乎为单个或 2~3 个杂交瘤细胞克隆, 经免疫荧光筛选后获得多株分泌抗体阳性的杂交瘤细胞, 经单克隆筛选, 最后共获得 4 株能稳定分泌抗体的杂交瘤细胞株, 分别命名为 J47、JE9、G2 和 I45。

**2.2 单抗的特异性** 用荧光染色的方法对试验所获得的 4 株单克隆抗体的特异性进行了鉴定, 结果证明, 单抗 JE9、G2 和 I45 是特异性抗 ALV-J 的单克隆抗体, 它们均与试验的所有 ALV-J 分离株发生反应(图 1, 表 1), 而不与试验的 ALV-A、B、C、D 和 E 亚群的成员发生反应, 有趣的是单抗 J47, 不仅能与所试的所有 ALV-J 发生反应, 而且还能与 ALV-A、B、C 和 D 亚群的成员发生反应, 但不能与内源性的 ALV-E 病毒发生反应, 这说明, 单抗 J47 是特异性抗外源性 ALV 的单抗。

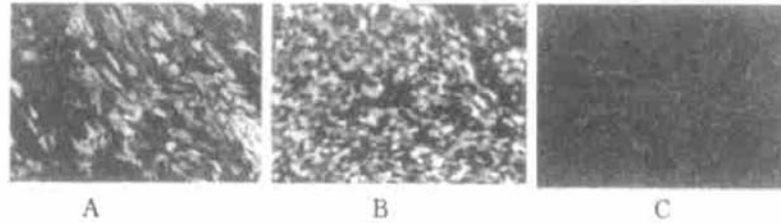


图1 单抗与ALV-J感染CEF细胞的免疫荧光反应结果

Fig. 1 FA result of Mabs reacted with ALV-J infected CEF

A. 为单抗JE9与ADOL-Hcl感染CEF细胞反应阳性; B. 为单抗J47与ADOL-Hcl感染CEF细胞反应阳性; C. 为单抗JE9与正常CEF细胞反应阴性。

A. Mab JE9 reacted with ADOL-Hcl infected CEF, FA positive; B. Mab J47 reacted with ADOL-Hcl infected CEF, FA positive; C. Mab JE9 reacted with normal CEF, FA negative.

表1 4株单克隆抗体与不同ALV毒株的IFA反应结果

Table 1 IFA results of monoclonal antibodies reacted with different ALV strains

| 病毒株          | JE9 | G2 | I45 | J47 | 病毒株        | JE9 | G2 | I45 | J47 |
|--------------|-----|----|-----|-----|------------|-----|----|-----|-----|
| DF1- Hcl     | +   | +  | +   | +   | DF1- RAV1  | -   | -  | -   | +   |
| DF1- 0661    | +   | +  | +   | +   | DF1- RAV2  | -   | -  | -   | +   |
| DF1- 4817    | +   | +  | +   | +   | DF1- RAV49 | -   | -  | -   | +   |
| DF1- 5701    | +   | +  | +   | +   | DF1- RAV50 | -   | -  | -   | +   |
| DF1- 6803    | +   | +  | +   | +   | CEF- RAV0  | -   | -  | -   | -   |
| DF1- HPRS103 | +   | +  | +   | +   | CEF        | -   | -  | -   | -   |
|              |     |    |     |     | DF1        | -   | -  | -   | -   |

注:“+”反应阳性;“-”反应阴性;单克隆抗体1:500稀释;

Note:“+” positive;“-” negative. Mabs were diluted 1:500 in PBS

表2 单克隆抗体的部分生物学特性

Table 2 Partial biological characterization of monoclonal antibodies to ALV- J

| 单克   | 上清 IFA | 腹水 IFA  | ELISA | Western blot | 中和试验 |
|------|--------|---------|-------|--------------|------|
| JE9  | 1:160  | 1:12800 | +     | +            | -    |
| G2.3 | 1:160  | 1:6400  | +++   | +            | -    |
| I45  | 1:10   | 1:6400  | +     | +            | -    |
| J47  | 1:32   | 1:25600 | +     | +            | -    |

注:“+”反应阳性;“+++”反应强阳性;“-”反应阴性。试验所用病毒为ADOL-Hcl。

Note:“+” Positive;“+++” Strong positive;“-” Negative. Virus used in this test was ADOL-Hcl.

**2.3 单克隆抗体的部分生物学特性** 为了了解这些单克隆抗体的生物学特性,我们首先用免疫荧光的方法对他们的抗体效价进行了测定,结果见表2。从试验结果可以看出这些抗体对ADOL-Hcl的效价很高,细胞培养上清抗体效价可达1:160,腹水效价可高达1:25600。然而这些单克隆抗体在其它试验中的反应性却有明显不同,在ELISA试验中,仅有G2单克隆抗体具有良好的反应性,而其它3株单克隆抗体的ELISA反应则比较弱,另外J47单抗在Western blot试验中呈现阴性反应,其它3株单克隆抗体在Western blot试验中呈现出阳性反应。但所有单克隆抗体在中和试验中均未能表现出对ALV-J毒株感染的中和能力。用IFA对

不同单克隆抗体在不同 ALV-J 毒株感染的 DF1 细胞进行效价测定发现, 这些单克隆抗体均能与所试验的美国和欧洲的 ALV-J 毒株产生良好的反应, 除了一株单克隆抗体 I45 的 IFA 效价较低外, 其他 3 株单克隆抗体的效价都比较高, 最高的抗体效价高达 1: 40 000。从不同毒株对同一单克隆抗体的效价比较来看, 单抗的反应性比较稳定。

**2.4 单克隆抗体针对的蛋白质多肽测定结果** 为了弄清单抗所针对的蛋白质多肽, 我们用 Western blot 的方法进行了研究测定。试验结果表明, 除了 J47 单抗外, 其它 3 株单抗均能识别一条分子量约为 90-94 kDa 的蛋白质多肽(图 2), 部分毒株还出现了一些弱的分子量为 35 kDa 左右的条带; 不同毒株都能表现良好的反应, 然而, 不同毒株在反应的蛋白质多肽带型上存在一些差异, 主要表现为 ADOL-4817 和 ADOL-0661 及 ADOL-6803 毒株, 除了上述的主要蛋白质条带外, 还出现了一小分子量的反应带, 分子量约为 35 kDa。在 Western blot 研究中还发现了 HPRS103 和 Hcl 毒株在与单抗 I45 反应时出现了不同反应带型, 其中 ADOL-Hcl 的 *env* 糖蛋白似乎存在 2 条分子量相近的蛋白质条带, 而 HPRS103 毒株的 *env* 糖蛋白仅有一条蛋白质带, 这一结果提示, 不同 ALV-J 毒株在 *env* 糖蛋白的加工过程中可能有所差异, 为了进一步地证明单抗所针对的蛋白质多肽, 用免疫沉淀反应做了进一步试验研究, 结果

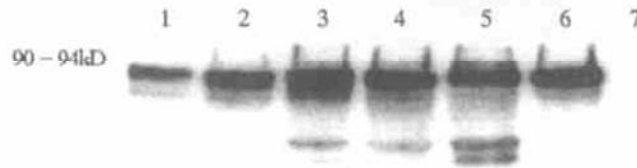


图 2 单克隆抗体 G2.3 检测不同 ALV-J 毒株的免疫印迹结果

Fig. 2 Western blot analysis result of Mab G2.3 reacted with different ALV-J strains. Lane 1, DF1-Hcl; lane 2, DF1-HPRS103; lane 3, DF1-4817; lane 4, DF1-0661; lane 5, DF1-6803; lane 6, DF1-5701; lane 7, normal DF1 cells. Mab G2.3 could reacted with a main band of 90-94 kDa of ALV-J envelope protein.

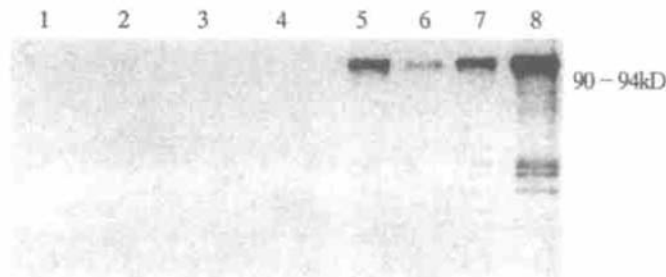


图 3 抗 ALV-J 囊膜蛋白特异性单抗免疫沉淀重组基因产物

Fig. 3 Immunoprecipitation analysis results of recombinant *env* gene products of ALV-J with Mabs JE9、I45、G2 和 J47 为抗 ALV-J 的单克隆体, 在免疫沉淀中均可以沉淀出重组杆状病毒 rBacHc-env 表达的 ALV-J 囊膜蛋白重组基因产物(5-8 泳道), 分子量为 90-94kDa, 对照相应的野生型杆状病毒, 没有任何非特异性带(1-4 泳道)。Mabs JE9、I45、G2 和 J47 could immunoprecipitated a 90-94 kDa protein with Sf9 cells infected with recombinant baculovirus rBac-Hc-env(lane 5-8); However they were negative to control Sf9 cells infected with wild type baculovires (lane1-4).

表明单抗针对的蛋白质多肽的分子量仍然主要为 90~ 94 kDa 左右(图 3),这一结果与 Western blot 所得到的结果相吻合。

**2.5 单抗对 *env* 基因表达产物表位的差异性** 为了了解单抗所针对的抗原表位,我们用 ELISA 方法进行了单抗相互协同试验,试验结果显示,JE9、G2 和 J47 分别针对 *env* 糖蛋白不同表位(表 3),单克隆抗体对片段 *env*-GST 融合蛋白的不同反应性也证明了这一点<sup>[4]</sup>,其中 J47 可能是针对 *env* 糖蛋白的立体构象,在经过 SDS 变性后即丧失了原有的反应性,在反应性上 JE9 的荧光染色效果最好,在 ELISA 试验中,以 G2 的反应最好。

表 3 单抗相互协同 ELISA 试验结果  
Table 3 Result of synergistic ELISA of monoclonal antibodies to ALV-J

|                  | Mab Dilution |          |          |          |           |
|------------------|--------------|----------|----------|----------|-----------|
|                  | 1: 800       | 1: 1 600 | 1: 3 200 | 1: 6 400 | 1: 12 800 |
| G2. 3            | 2. 248       | 2. 232   | 1. 699   | 1. 081   | 0. 705    |
| JE9. 46          | 0. 376       | 0. 305   | 0. 258   | 0. 169   | 0. 121    |
| J47. 50          | 0. 283       | 0. 244   | 0. 188   | 0. 183   | 0. 155    |
| JE9. 46+ G2. 3   | 1. 510       | 1. 714   | 1. 475   | 1. 140   | 0. 871    |
| J47. 50+ G2. 3   | 1. 735       | 1. 731   | 1. 441   | 1. 074   | 0. 742    |
| J47. 50+ JE9. 46 | 0. 420       | 0. 406   | 0. 324   | 0. 258   | 0. 217    |

### 3 讨 论

目前出现于鸡的 ALV/ALSV 可以分为 6 个亚群, A 和 B 亚群是鸡群中流行的外源性 ALVS 中最常见的亚群,它们主要引起 B 细胞来源的细胞肿瘤(如淋巴白血病)。C 和 D 亚群在田间很少发现, E 亚群是内源性 ALV,实际上在所有鸡群都存在。在过去几年中,Payne 及其同事<sup>[1]</sup>和 Fadly 等<sup>[8]</sup>报道了一种新的外源性 ALV 即 ALV-J 亚群。ALV-J 是近年来流行于肉用型鸡群中的一种病毒性肿瘤的病原,对于该病的控制和消灭依靠迅速准确的诊断方法和检测试剂。本研究我们成功地用杂交瘤技术研制出抗 ALV-J 囊膜糖蛋白的特异单克隆抗体。特异性试验结果表明,单抗 G2、JE9 和 I45 能与所有试验的 ALV-J 的欧美分离毒株呈阳性反应,而不与试验的 ALV-A、B、C、D 和 E 亚群的成员反应,因为它们是特异性抗 ALV-J 的抗体,其中 JE9 在鉴定中国分离物时也能与大多数中国分离物反应<sup>[2]</sup>,表明我国已存在着 ALV-J 流行毒株。

有趣的是,在试验中我们还获得了一株 J47 单克隆抗体,它既能与 ALV-J 毒株发生反应,还同时能与 ALV 的 A、B、C 和 D 亚群的毒株反应,然而不能与 ALV 的内源性病毒 E 亚群发生反应,因此, J47 是一株对鸡外源性 ALV 特异的单克隆抗体。这一结果同时也提示, ALV-J 亚群的囊膜糖蛋白与其它外源性 ALV 亚群存在至少一种共同的抗原表位。J47 可能在外源性和内源性白血病病毒的鉴别诊断上有良好的应用价值。

本研究我们用 Western blot 试验证明了单克隆抗体 G2、JE9 和 I45 对所试验的不同 ALV-J 毒株均能识别一条分子量为 90~ 94 kDa 的蛋白质条带,这一结果与 ALV-J 的 *env* 基因表达产物所获得的结果相吻合<sup>[2]</sup>,也与 ALV 其它亚群的囊膜糖蛋白的分子量相近。然而, J47 单克隆抗体在 Western blot 试验中表现无反应性,在免疫沉淀实验中却能共沉淀出一条分子

量在 90~ 94 kDa 的蛋白质条带, 并且在免疫荧光实验中也表现出很好的反应性。这一单抗的特点类似于抗 MDV pp38 和 pp24 的单克隆抗体 M 21<sup>[14]</sup>, J47 可能是针对 *env* 糖蛋白的立体构象, 在经过 SDS 变性后即丧失了原有的反应性。

在 ALV-J 抗原检测时, 本研究研制的单克隆抗体不仅可以用于 ALV-J 感染 CEF 细胞中的抗原的检测和鉴定, 同时也能检测出组织中 ALV-J 的特异抗原(将另文发表), 这些单克隆抗体将在 ALV-J 的控制和消灭过程中发挥重要的作用。

#### 参考文献:

- [ 1 ] Payne LN, Brown S R, Bumstead N, et al. A novel subgroup of exogenous avian leukosis virus in chickens[ J ]. *J Gen Virol*, 1991, 72: 801~ 807.
- [ 2 ] 秦爱建. 禽白血病病毒 J 亚群囊膜糖蛋白 *env* 基因的生物学和生物化学特性[ D ]. 扬州大学博士论文, 1999.
- [ 3 ] Sambrook J E, Fritsch F, Maniatis T. *Molecular Cloning, a laboratory manual, second edition*[ M ], Cold Spring Harbor Laboratory Press. 1989.
- [ 4 ] Bai J, Howes K, Payne L, et al. Sequence of host- range determinants in the *env* gene of a full- length, infections proviral clone of exogenous avian leukosis virus HPRS- 103 confirms that it represents a new subgroup ( designated ) [ J ]. *J Gen Virol*, 1995, 76: 181~ 187.
- [ 5 ] Smith E J, Fadly A, Okazaki W. An enzyme- linked immunosorbent assay for detecting avian leukosissarcoma viruses[ J ]. *Avian Dis*, 1979, 23( 3 ): 698~ 707.
- [ 6 ] Ruis B L, Benson SJ, Conklin K F. Genome structure and expression of the ev/J family of avian endogenous viruses[ J ]. *J Virol*, 1999, 73( 7 ): 5345~ 5355.
- [ 7 ] Venugopal K K, Smith L M, Howes K, et al. Antigenic variants of J subgroup J avian leukosis virus: sequence analysis reveals multiple changes in the *env* gene[ J ]. *J Gen Virol*, 1998, 79( 4 ): 757~ 766.
- [ 8 ] Fadly AM, Smith EJ. Isolation and some characteristics of a subgroup J- like avianleukosis virus associated with myeloid leukemia in meat- type chickens in the United States[ J ]. *Avian Dis*, 1999, 43( 3 ): 391~ 400.
- [ 9 ] Himly M, Foster DN, Bottoli I, Iacovoni JS, Vogt PK. The DF- 1 chicken fibroblast cell line: transformation induced by diverse oncogenes and cell death resulting from infection by avian leukosis viruses[ J ]. *Virology*, 1998, 248( 2 ): 295~ 304.
- [ 10 ] 秦爱建, 崔治中, 段玉友. 抗马立克氏病毒 pp38 血清与不同血清型病毒的免疫交叉反应[ J ]. *微生物学报*, 1994, 34( 5 ): 393~ 397.
- [ 11 ] Allaway G P, Ryder A M, Beaudry G A, et al. Synergistic inhibition of HIV- 1 envelope- mediated cell fusion by CD4- based molecules in combination with antibodies to gp120 or gp41[ J ]. *AIDS Res Hum Retroviruses*, 1993, 9( 7 ): 581~ 587.
- [ 12 ] Silva R F, Lee L F. Monoclonal antibody- mediated immunoprecipitation of proteins from cells infected with Marek's disease virus or turkey herpesvirus[ J ]. *Virology*, 1984, 136( 2 ): 307~ 320.
- [ 13 ] Qin A, Cui Z. Purification of recombinant 38 kd phosphorylated protein of Marek's disease virus from insect cells through an affinity column[ J ]. *Chinese Journal of Biotechnology ( published in Sanfrancisco in English )* 1994, 10( 3 ): 195~ 201.
- [ 14 ] Zhu Gengsheng, Akira Iwata, Min Gong, et al. Marek's disease virus type- 1 specific phosphorylated proteins pp38 and pp24 with common amino acid termini are encoded from the opposite junction regions between the long unique and inverted repeat sequences of viral genome[ J ]. *Virology*, 1994, 200: 816~ 820.

**DEVELOPMENT AND CHARACTERIZATION OF  
MONOCLONAL ANTIBODIES TO SUBGROUP J AVIAN LEUKOSIS VIRUS**

QIN Arjian, CUI Zhizhong<sup>1</sup>, Lee Lucy<sup>2</sup>, Fadly Aly<sup>2</sup>

(1. Department of Veterinary Medicine, Yangzhou University, Jiangsu,  
China 225009; 2. Avian Disease and Oncology laboratory,  
USDA, East Lansing, MI 48823 USA)

**Abstract:** Avian leukosis virus subgroup J (ALV-J) is a retrovirus which infects meat-type chickens. A panel of monoclonal antibodies (Mabs) to ALV-J was developed by fusion between NS1 and spleen cells from mice immunized with Sf9 cells infected with recombinant baculovirus Hcl-env. Using immunofluorescence assay (IFA), three of four Mabs reacted with ALV-J, but not with subgroups A, B, C, D or E of ALV. Interestingly, one of the four Mabs reacted with all exogenous subgroups of ALV but not with endogenous subgroup E. Western Blot and immunoprecipitation tests showed that molecular weight of ALV-J envelope glycoprotein or unglycosylated envelope protein recognized by Mabs was about 90 kD and 53 kD respectively. Using these Mabs we can detect the ALV-J antigen in CEF infected with ADOL-Hcl. These Mabs can be used for diagnosis and epidemiology of ALV-J.

**Key words:** Avian leukosis virus; Subgroup J; Envelope protein; Monoclonal antibody

**2002 年征订启事**

| 刊名             | 邮发代号    | 刊期  | 全年定价    | 编辑部地址及邮编                   | 联系电话           |
|----------------|---------|-----|---------|----------------------------|----------------|
| 乳业科学与技术(原上海奶牛) | 自办发行    | 季刊  | 30.00   | 上海市彭联路 101 号 200072        | 021- 36030471  |
| 甘肃畜牧兽医         | 54- 49  | 双月刊 | 15.00   | 甘肃省平凉市崆峒东路 143 号<br>744000 | 0933- 8635625  |
| 浙江畜牧兽医         |         | 季刊  | 15.00 元 | 杭州市浙江农大动物科学院<br>310029     | 0571- 86971701 |
| 江西畜牧兽医杂志       |         | 双月刊 | 21.00   | 江西省南昌市蛟桥省畜牧技术推广站内 330044   | 0791- 3811707  |
| 云南畜牧兽医         | 自办发行    | 季刊  | 20.00   | 昆明金殿云南省畜牧兽医科学研究所内 650224   | 0871- 5017073  |
| 吉林畜牧兽医         | 12- 75  | 月刊  | 48.00   | 吉林省长春市西安大路 52 号<br>130062  | 0431- 7973130  |
| 上海畜牧兽医通讯       | 4- 393  | 双月刊 | 21.00   | 上海市北翟路 2901 号 201106       | 021- 62206294  |
| 贵州畜牧兽医         | 66- 58  | 双月刊 | 27.00 元 | 贵州省贵阳市龙洞堡                  | 0851- 5400593  |
| 动物医学进展         | 52- 60  | 双月刊 | 30.00 元 | 陕西杨陵西北农林科技大学(西农校区)712100   | 029- 7092806   |
| 养殖技术顾问         | 14- 304 | 月刊  | 43.20 元 | 哈尔滨南岗区官西小区 70 栋<br>150008  | (0451)2341195  |