

犬瘟热病毒 H、F、N 基因试验免疫研究

闫芳^{1,2}, 夏咸柱^{1*}, 扈荣良¹, 谢之景^{1,3}, 赵忠鹏¹, 高玉伟¹, 黄耕¹

(1. 解放军军需大学军事兽医研究所, 长春 130062; 2. 山西农业大学动物科技学院,

太谷 030801; 3. 山东农业大学动科院, 泰安 271018)

摘要: 以构建的真核表达载体 pVAXLPH、pVAXLPF 和 pVAXLPN 为基因疫苗, 分组进行了免疫小鼠试验, 对免疫鼠体内免疫应答水平进行了检测。结果显示: 所构建的基因疫苗可以诱导小鼠产生特异性免疫应答反应, pVAXLPH+pVAXLPF+pVAXLPN 3 个基因混合免疫小鼠诱导产生了较强的体液免疫和细胞免疫应答, 免疫 3 次后血清中抗 CDV ELISA 抗体效价为 0.332, 而免疫前为 0.158; 抗 CDV 中和抗体效价为 1:(4~16); CD4⁺T/CD8⁺T 比值为 2.05±0.38, 而对照组为 1.99±0.56; 免疫小鼠脾细胞对 CDVLP 及 ConA 刺激的增殖反应值分别为 0.384 和 0.356。基因疫苗免疫犬试验中, 进行了单用基因疫苗免疫和基因疫苗与 CDV 弱毒疫苗联合免疫效果的比较研究。结果显示, 基因疫苗免疫 3 次后, 血清中抗 CDV ELISA 抗体效价为 0.296, 抗 CDV 中和抗体效价为 1:(8~32)。基因疫苗免疫 2 次, 再使用弱毒疫苗加强免疫 1 次, 血清中抗 CDV ELISA 抗体效价为 0.433, 抗 CDV 中和抗体效价为 1:(16~64)。

关键词: 犬瘟热; 基因疫苗; 犬瘟热病毒 H 基因; 犬瘟热病毒 F 基因; 犬瘟热病毒 N 基因

中图分类号: S858.2925.2; S852.5⁺2

文献标识码: A

文章编号: 0366-6964(2006)01-0050-06

Experimental Study on Immunity of Canine Distemper Virus Structural Protein Gene H, F and N

YAN Fang^{1,2}, XIA Xian-zhu^{1*}, HU Rong-liang¹, XIE Zhi-jing^{1,3},

ZHAO Zhong-peng¹, GAO Yu-wei¹, HUANG Geng¹

(1. *The Military Veterinary Institute, Quartermaster University of PLA, Changchun 130062, China*;

2. *College of Animal Science and Technology, Shanxi Agricultural University, Taigu 030801, China*;

3. *College of Animal Science and Technology, Shandong Agricultural University, Taian 271018, China*)

Abstract: Firstly, the mice were immuned with the expression plasmids by intramuscular injection. The first group was inoculated with pVAXLPH, the second group was inoculated with pVAXLPF, the third group was inoculated with pVAXLPH and pVAXLPF, the fourth group was inoculated with pVAXLPH, pVAXLPF and pVAXLPN, the fifth group was inoculated with empty vector DNA pVAX1 as negative control, and the sixth was inoculated with attenuated CDV vaccine as positive control. A total of three inoculations were performed at biweekly intervals. Indirect ELISA, neutralization and lymphocyte transformation assays were employed to determine the immunological response. As a result, the mice inoculated with these plasmids developed humoral and cellular immune responses against CDV. pVAXLPN did induce cell-mediated immunity, at high level. Tow weeks after the last injection, the ELISA titers against CDV of the fourth group is 0.332, and SN titers against CDV of the fourth group is 1:(4-16), the OD₅₇₀ of lympho-

收稿日期: 2005-01-27

基金项目: “十五”军队医药卫生重点项目(Z20011095)

作者简介: 闫芳(1966-), 女, 山西平遥人, 博士, 副教授, 主要从事分子病毒学研究

* 通讯作者: 夏咸柱

spleenocytes proliferation against CDV and ConA stimulation of the the fourth group is 0.384 and 0.356, respectively, the results of CD4⁺/CD8⁺ of the the fourth group is 2.05±0.38. Secondly, twenty 45—60 day-old CDV seronegative dogs were divided into four groups. All dogs in each group were immunized for 3 times. The first group was injected with a mixture of 200 μg of all the three plasmids containing the H, F and N gene, three times at biweekly intervals, the second group was injected with a mixture of 200 μg of all the three plasmids two times and with attenuated CDV vaccine once, the third group were injected with pVAX1 plasmid as negative control, and the fourth group was injected with attenuated CDV vaccine as positive control. Indirect ELISA, neutralization and lymphocyte transformation assays were employed to determine the immunological response. Two weeks after the last injection, the ELISA titers and SN titers against CDV of the first group is 0.296 and 1:(8—32), respectively; And the ELISA titers and SN titers against CDV of the second group is 0.433 and 1:(16—64), respectively. As a result, the dogs inoculated with these plasmids developed humoral and cellular immune responses against CDV. The induced immune response in second group was higher than that in the first group.

Key words: CDV; DNA vaccine; CDV H; CDV F; CDV N

犬瘟热(Canine Distemper, CD)是由犬瘟热病毒(Canine Distemper Virus, CDV)感染引起的一种急性、高度接触性传染病,该病广泛存在并流行于世界各地,严重地影响着养犬业、毛皮动物养殖业和野生动物保护的发展,因此一直是犬病研究的热点之一。同其它病毒病的防制一样,CD的防制也主要以免疫预防为主。目前用于CD病的疫苗主要是弱毒疫苗。尽管弱毒疫苗已在国内外得到了普遍应用并取得了较好的效果,但寻找更为安全、有效、实用的新型疫苗仍是CD免疫预防研究的主要方向。核酸疫苗是20世纪90年代诞生的新型疫苗,被认为是继减毒、灭活疫苗和基因工程亚单位疫苗之后的第三代疫苗。本研究用pVAX1为载体构建的分别表达CDV H、F和N蛋白的真核表达载体为基因疫苗,首先进行了小鼠免疫试验,检测表达质粒在鼠体内的免疫力,结果表明3种基因疫苗混合免疫小鼠产生了较强的体液免疫和细胞免疫应答。随后进行了基因疫苗免疫犬和基因疫苗与CDV弱毒疫苗联合免疫犬试验,对基因疫苗在犬体内的免疫效果进行深入研究。

1 材料与方法

1.1 病毒、细胞、菌株、质粒

CDV LP株,由笔者实验室分离;DK传代细胞,本实验室保存;真核表达载体pVAXLPH、pVAXLPF和pVAXLPN,本实验室构建^[1]。

1.2 动物

120只16~18g昆明鼠,购自长春生物制品所;20只45~50日龄犬(抗CDV中和抗体小于1:2),长春高新医学动物实验研究中心提供。

1.3 试剂

辣根过氧化物酶标记的山羊抗鼠IgG(进口分装)购自北京中山生物技术有限公司;RPMI 1640、DMEM培养基购自GIBCO美国生命技术公司;MTT(用RPMI 1640培养基配制成5mg/mL的工作浓度,过滤除菌,-20℃保存)、辣根过氧化物酶标记的兔抗犬IgG、FITC标记大鼠抗小鼠CD4⁺和CD8⁺单克隆抗体,均为Sigma公司产品;CDV阳性血清,本室制备。

1.4 基因疫苗免疫小鼠试验

1.4.1 免疫小鼠的分组与免疫 120只16~18g健康昆明系雌性小鼠,随机分为6组,每组20只,各组分别为①pVAXLPH、②pVAXLPF、③pVAXLPH和pVAXLPF、④pVAXLPH、pVAXLPF和pVAXLPN、⑤pVAX1空载体和⑥CDV弱毒苗组分别作为阴性和阳性对照组。免疫前剪鼠尾采血,分离血清,-20℃贮存。注射方式为后肢肌肉注射,质粒的接种剂量为:每种质粒100 μg/只(质粒浓度为1 μg/μL),CDV弱毒疫苗的接种剂量为1×10⁴TCID₅₀/只,各组均免疫3次,每次间隔15d,免疫前及每次免疫后2周剪鼠尾采血,分离血清,分别检测CDV血清ELISA抗体和CDV血清中和抗体,最后一次免疫2周后扑杀小鼠,摘眼球取血,每只鼠分抗凝血(以20 IU/mL肝素抗凝)和凝血2份,无菌取脾用于细胞

免疫检测。

1.4.2 基因疫苗免疫小鼠 ELISA 抗体测定 用 DK 细胞培养的 CDV LP 毒为抗原包被酶联免疫反应板,以待检鼠血清 200 倍稀释作为一抗,辣根过氧化物酶标记山羊抗鼠 IgG 作为二抗,进行间接 ELISA 检测。用酶标仪于 490 nm 的波长,测定各反应孔的 OD 值。

1.4.3 基因疫苗免疫小鼠血清中和抗体测定 采用固定病毒一稀释血清法,在 96 孔微量细胞培养板上进行。具体参考文献[2]操作。

1.4.4 脾细胞对 ConA 和 CDV 的增殖应答测定 采用 MTT(四氮甲唑蓝)比色法,参照薛彬^[3]报道的方法进行,将脾细胞稀释成 2.5×10^6 /mL,制成单细胞悬液。取 100 μ L 淋巴细胞悬液加于 96 孔培养板内,每只小鼠 12 孔,其中 4 孔为 ConA(终浓度为 2.5 μ g/mL)刺激组;4 孔为 CDV 刺激组,加入 1:100 稀释的灭活 CDV 病毒液 10 μ L(灭活前毒力效价为 1×10^4 TCID₅₀);4 孔为正常脾细胞组。将培养板置于 5% CO₂、37 $^{\circ}$ C 培养 68 h 后,加入 10 μ L MTT(5 mg/mL),混匀后继续培养 4 h,取出培养板,每孔加入 100 μ L DMSO,室温避光放置 15 min,用酶标仪测定 OD₅₇₀ 的吸光值。

1.4.5 基因疫苗免疫小鼠 T 淋巴细胞亚类检测 将抗凝血加于 2 个离心管中,每管加入 0.1 mL 后,加 8 mL 红细胞裂解液,室温作用 10 min,1 500 r/min 离心 10 min,弃上清,加 5 mL PBS,混匀悬浮,1 500 r/min 离心 10 min,重复 2 次,最后加入 0.20 mL PBS 悬浮。

将 FITC 标记大鼠抗小鼠 CD4⁺ 和 CD8⁺ 单克隆抗体(0.1 mg/mL)均稀释 10 倍(0.01 mg/mL),分别加于来源于同 1 份血的两个离心管中,每管加稀释单抗 10 μ L(0.1 μ g),混匀后 4 $^{\circ}$ C 作用 1 h,用 PBS 离心洗涤 2 遍,将管底细胞用 0.3 mL PBS 悬浮,用 FACS 检测。

1.5 基因疫苗犬免疫试验

1.5.1 试验犬的分组与免疫 20 只抗 CDV 中和抗体效价小于 1:2 的 45~60 日龄健康幼犬,随机分为 4 组,每组 5 只,各组分别为:pVAXLPH + pVAXLPF + pVAXLPN 免疫组;pVAXLPH + pVAXLPF + pVAXLPN 与 CDV 弱毒疫苗联合免疫组,即先用基因疫苗免疫 2 次,然后用 CDV 弱毒疫苗加强免疫;pVAX1 空载体和 CDV 弱毒疫苗分别作为阴性和阳性对照组。接种剂量:每种质粒

200 μ g/只(质粒浓度为 1 μ g/ μ L),CDV 弱毒疫苗的接种剂量为 1×10^4 TCID₅₀/只,股四头肌注射接种,共免疫 3 次,间隔 2 周 1 次,每次免疫前及最后一次免疫 2 周后采血,分离血清,分别检测 CDV 血清 ELISA 抗体和 CDV 血清中和抗体,最后一次免疫 2 周后分离外周血淋巴细胞,检测细胞免疫水平。

1.5.2 基因疫苗免疫犬 CDV 血清 ELISA 抗体的检测 操作方法同免疫鼠 CDV 血清 ELISA 抗体。

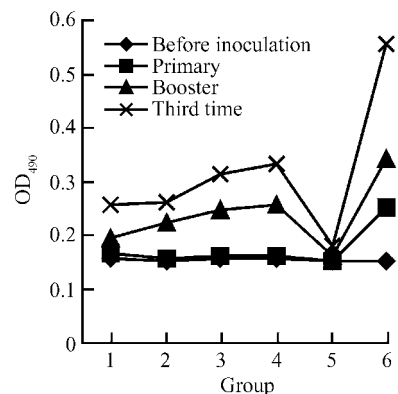
1.5.3 基因疫苗免疫犬 CDV 血清中和抗体的检测 操作方法同免疫鼠 CDV 血清中和抗体的检测。

1.5.4 基因疫苗免疫犬外周血淋巴细胞转化试验 采用 MTT 比色法,参照薛彬^[3]报道的方法进行,淋巴细胞的诱导培养和检测,操作方法同鼠脾细胞增殖试验。

2 结果与分析

2.1 基因疫苗免疫小鼠体液免疫检测结果

基因疫苗免疫后各试验组小鼠血清中抗 CDV ELISA 抗体和抗 CDV 中和抗体检测结果见图 1 和表 1,结果显示,除阴性对照组检测不到抗体外,基因疫苗免疫 1 次后,抗体水平并未上升,而免疫两次后,抗体水平开始上升,免疫第 3 次后小鼠血清中抗 CDV ELISA 抗体和中和抗体水平与免疫前和阴性对照相比明显增高($P < 0.01$),另第 3 组与第 4 组 CDV ELISA 抗体滴度高于第 1 组与第 2 组,但低于 CDV 弱毒疫苗免疫组。



1. pVAXLPH; 2. pVAXLPF; 3. pVAXLPH + pVAXLPF; 4. pVAXLPH + pVAXLPF + pVAXLPN; 5. pVAX1; 6. Attenuated CDV vaccine. The same in Fig. 2

图 1 基因疫苗免疫小鼠血清 ELISA 抗体检测结果

Fig. 1 The ELISA titers of the mice immunized with CDV genetic vaccines

表 1 基因疫苗免疫小鼠的血清中和抗体检测结果

Table 1 CDV serum neutralizing antibody titers of the mice immunized with CDV genetic vaccines

Groups	1	2	3	4	5	6
Before inoculation	<1 : 2	<1 : 2	<1 : 2	<1 : 2	<1 : 2	<1 : 2
Primary	<1 : 2	<1 : 2	<1 : 2	<1 : 2	<1 : 2	1 : (4~8)
Booster	1 : (2~4)	1 : (2~4)	1 : (4~8)	1 : (4~8)	<1 : 2	1 : (4~16)
Third time	1 : (4~8)	1 : (4~8)	1 : (4~16)	1 : (4~16)	<1 : 2	1 : (64~128)

1. pVAXLPH;2. pVAXLPF;3. pVAXLPH + pVAXLPF;4. pVAXLPH + pVAXLPF + pVAXLPN;5. pVAX1;6. Attenuated CDV vaccine. The same in table 2

2.2 基因疫苗免疫小鼠细胞免疫检测结果

2.2.1 基因疫苗免疫小鼠的淋巴细胞转化试验结果

基因疫苗免疫小鼠脾细胞对 CDV LP 及 ConA 刺激的增殖反应结果,见图 2。与阴性对照组相比,各组免疫小鼠脾细胞对特异性和非特异性的刺激都有明显的增殖,对非特异性刺激反应比对特异性刺激反应略强,另 3 个基因联合免疫组较单基因和双基因免疫组对 CDVLP 及 ConA 刺激的反应明显增强,但达不到弱毒疫苗组的水平。

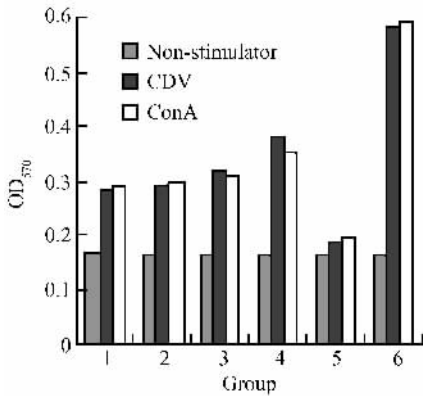


图 2 基因免疫鼠脾细胞对 CDV LP 及 ConA 的增殖反应

Fig. 2 The OD₅₇₀ of lympho-spleocytes proliferation against CDV and ConA stimulation of the mice immunized with genetic vaccines

表 2 免疫鼠外周血 CD4⁺ 和 CD8⁺ 的检测结果

Table 2 The results of CD4⁺ and CD8⁺ detection the PBMC of the immunized mice

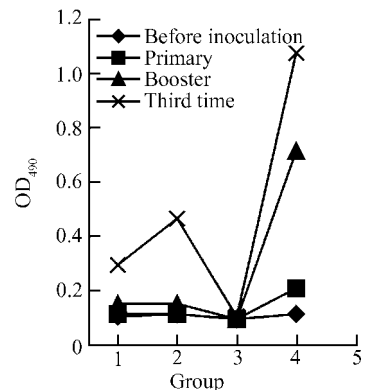
Group	T lymphocyte subgroups/%		
	CD4 ⁺	CD8 ⁺	CD4 ⁺ /CD8 ⁺
1	38.9 ± 1.46	19.6 ± 2.32	2.01 ± 0.51
2	40.8 ± 2.63	19.8 ± 2.66	2.00 ± 0.30
3	44.1 ± 3.13	22.5 ± 2.36	1.92 ± 0.52
4	45.8 ± 2.45	22.6 ± 3.21	2.05 ± 0.38
5	36.3 ± 2.23	18.2 ± 3.32	1.99 ± 0.56
6	52.6 ± 3.23	25.3 ± 3.19	2.05 ± 0.43

2.2.2 基因疫苗免疫鼠外周血 CD4⁺、CD8⁺ 的检测

结果 以流式细胞仪检测各试验组第 3 次免疫 14 d 后鼠外周血 CD4⁺ T 细胞和 CD8⁺ T 细胞的百分含量,结果见表 2,第 3 次免疫 14 d 后 CD4⁺ T、CD8⁺ T 淋巴细胞的数量均显著高于空质粒对照组 ($P < 0.01$),表明 T 淋巴细胞进行了有效的增殖。3 个基因混合免疫组其 CD4⁺ T 细胞和 CD8⁺ T 细胞的百分含量明显高于单基因和双基因免疫组,但达不到弱毒疫苗组 CD4⁺ T 细胞和 CD8⁺ T 细胞的百分含量。

2.3 基因疫苗免疫犬体液免疫检测结果

基因免疫犬各试验组犬血清中 CDV ELISA 抗体和抗 CDV 中和抗体测定结果见图 3 和表 3,除阴性对照组检测不到抗体外,基因疫苗免疫 1 次后,抗体水平并未上升,而免疫 2 次后,抗体水平开始上升,免疫第 3 次后 ELISA 抗体水平和 CDV 中和抗体水平明显升高 ($P < 0.01$),联合免疫组抗体水平明显高于单用基因疫苗免疫组,但远不及弱毒疫苗免疫组。



1. pVAXLPH + pVAXLPF + pVAXLPN;2. pVAXLPH + pVAXLPF + pVAXLPN + attenuated CDV vaccine;3. pVAX1;4. Attenuated CDV Vaccine. The same in Fig. 4

图 3 基因疫苗免疫犬的血清 ELISA 抗体检测结果

Fig. 3 The OD₅₇₀ of lympho-spleocytes proliferation against CDV and ConA stimulation of the mice immunized with genetic vaccines

表 3 基因疫苗免疫小鼠的血清中和抗体检测结果

Table 3 SN titers of immunized dogs by CDV genetic vaccines

Groups	1	2	3	4
Before inoculation	<1:2	<1:2	<1:2	<1:2
Primary	<1:2	<1:2	<1:2	1:(4~16)
Booster	1:(2~4)	1:(2~4)	<1:2	1:(16~32)
Third time	1:(8~32)	1:(16~64)	<1:2	1:(128~516)

1. pVAXLPH+pVAXLPF+pVAXLPN; 2. pVAXLPH+pVAXLPF+pVAXLPN+attenuated CDV vaccine; 3. pVAX1; 4. Attenuated CDV vaccine

2.4 基因疫苗免疫犬的淋巴细胞转化试验结果

各组犬外周血淋巴细胞对 CDV LP 及 ConA 刺激的增殖反应结果见图 4。与阴性对照组相比, 各组免疫犬对特异性和非特异性的刺激都有增殖 ($P < 0.01$), 对非特异性刺激反应比对特异性刺激反应略强, 联合免疫组高于单用基因疫苗免疫组, 但低于弱毒疫苗组。

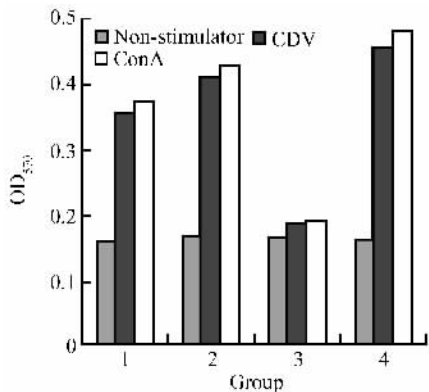


图 4 免疫后外周血淋巴细胞对病毒及 ConA 刺激的增殖反应结果

Fig. 4 The OD₅₇₀ of PBMC against CDV and ConA stimulation of the dog immunized with genetic vaccines

3 讨论

3.1 基因疫苗免疫小鼠试验

CDV 结构蛋白中, F、H 蛋白是产生中和抗体的重要抗原, 在病毒免疫中占有重要地位, N 蛋白在病毒感染时可引起强烈的抗体反应, 此外, N 蛋白上含有 T 细胞表位, 在细胞免疫方面发挥着重要的作用, CDV 的新型疫苗主要是针对这三个编码基因构建的^[4~11]。本研究以构建的真核表达载体 pVAXLPH、pVAXLPF 和 pVAXLPN 为基因疫苗, 分组

进行了小鼠免疫试验, 表达质粒在鼠体内均可诱导产生免疫力, 3 种表达质粒在小鼠体内分别表达了 CDV H、N 和 F 蛋白, 并且进行了正确的折叠, 形成了 CDV H 和 F 和 N 蛋白天然的抗原表位。pVAXLPH 和 pVAXLPF 双基因联合免疫组与 pVAXLPH、pVAXLPF 和 pVAXLPN 3 基因联合免疫组免疫应答水平明显高于单基因免疫组, 说明抗原位点增多, 诱导的免疫应答水平相应提高。另 3 基因联合免疫组诱导的细胞免疫应答明显高于其它免疫组, 说明 N 基因在诱导细胞免疫应答时起了决定性的作用。然而基因疫苗诱导的免疫反应比 CDV 弱毒疫苗诱导的免疫反应弱, 推测可能的原因是接种后载体的转染率或(和)在宿主细胞内的表达水平低, 另一个可能的原因是尽管载体所表达的蛋白在体内能够进行正常的折叠形成较多的抗原位点, 但是与完整病毒粒子相比仍然较少。

3.2 基因疫苗免疫犬试验

无母源抗体小于 6 周龄的幼犬, 对 CD 非常易感, 然而由于 3 周龄之前犬的抗体反应和细胞介导的反应还没有完全彻底地起作用, 此时进行免疫接种效果不好, 不能产生较好的免疫应答, 直到 6 周龄免疫系统才健全, 因此, 小于 6 周龄的幼犬只能依靠母源抗体得到保护, 当母源抗体下降到不能提供保护的水平, 同时对弱毒疫苗的使用产生干扰作用时, 这一时期的犬处于“易感关键期”。DNA 疫苗在使用过程中不受母源抗体的干扰, 在体内稳定表达, 维持时间长, 客观上达到了不断加强免疫的效果, 可以诱导机体产生较强的免疫记忆应答, 本研究在基因疫苗犬免疫试验中, 对单用基因疫苗免疫与基因疫苗和 CDV 弱毒疫苗联合免疫的效果进行了比较。检测结果显示, 基因疫苗免疫 3 次后机体体液免疫和细胞免疫水平与阴性对照组相比有明显的增殖, 但达不到弱毒疫苗水平。采用基因疫苗免疫两次后, 再使用弱毒疫苗加强免疫, 其应答水平明显高于单用基因疫苗免疫组, 推测弱毒疫苗免疫后激活了机体的记忆应答反应, 而使应答水平迅速上升。本试验结果表明, 基因疫苗免疫犬可以诱导机体产生体液和细胞免疫应答, 可作为使用弱毒疫苗不安全的其它动物 CDV 免疫预防的候选疫苗; 肌肉接种 DNA 疫苗作基础免疫, 弱毒疫苗加强免疫, 有效匹配能迅速诱导机体产生较高水平的体液和细胞免疫应答, 基因疫苗可以作为有效的基础免疫, 与弱毒疫苗联合使用可以排除母源抗体的干扰。

参考文献:

- [1] 闫 芳. 犬瘟热病毒 F1 基因的原核表达及基因疫苗和重组疫苗的实验研究[D]. 长春:解放军军需大学, 2004.
- [2] 闫 芳, 夏咸柱, 李德生, 等. 犬瘟热减毒疫苗对小熊猫安全性与免疫原性研究[J]. 病毒学报, 2000, 17(3): 238~241.
- [3] 薛 彬. 免疫毒理学实验技术[M]. 北京:北京医科大学和中国协和医科联合出版社, 1995. 19~21.
- [4] Fischer L, Tronel J P, Minke J, *et al.* Vaccination of puppies with a lipid-formulated plasmid vaccine protects against a severe canine distemper virus challenge [J]. *Vaccine*, 2003, 21(11-12): 1 099~1 102.
- [5] Fischer L, Tronel J P, Pardo-David C, *et al.* Vaccination of puppies born to immune dams with a canine adenovirus-based vaccine protects against a canine distemper virus challenge[J]. *Vaccine*, 2002, 20(29-30): 3 485~3 497.
- [6] Welter J, Taylor J, Tartaglia J, *et al.* Vaccination against canine distemper virus infection in infant ferrets with and without maternal antibody protection, using recombinant attenuated poxvirus vaccines[J]. *J Virol*, 2000, 74(14): 6 358~6 367.
- [7] Cherpillod P, Tipold A, Griot-Wenk M, *et al.* DNA vaccine encoding nucleocapsid and surface proteins of wild type canine distemper virus protects its natural host against distemper[J]. *Vaccine*, 2000, 18(26): 2 927~2 936.
- [8] Welter J, Taylor J, Tartaglia J, *et al.* Mucosal vaccination with recombinant poxvirus vaccines protects ferrets against symptomatic CDV infection[J]. *Vaccine*, 1999, 17(4): 308~318.
- [9] Pardo M C, Bauman J E, Mackowiak M. Protection of dogs against canine distemper by vaccination with a canarypox virus recombinant expressing canine distemper virus fusion and hemagglutinin glycoproteins[J]. *Am J Vet Res*, 1997, 58(8): 833~836.
- [10] Jones L, Tenorio E, Gorham J, *et al.* Protective vaccination of ferrets against canine distemper with recombinant pox virus vaccines expressing the H or F genes of rinderpest virus[J]. *Am J Vet Res*, 1997, 58(6): 590~593.
- [11] Sixt N, Cardoso A, Vallier A, *et al.* Canine distemper virus DNA vaccination induces humoral and cellular immunity and protects against a lethal intracerebral challenge[J]. *J Virol*, 1998, 72(11): 8 472~8 476.

陈化兰研究员获中国青年女科学家奖

由中华全国妇女联合会、中国科学技术协会、中国联合国教科文组织全国委员会、欧莱雅(中国)有限公司共同设立的中国青年女科学家奖,旨在表彰奖励在科学领域取得重大和创新性科技成果的女性青年科技工作者,激励广大女性青年科技工作者为实现全面建设小康社会奋斗目标贡献力量,鼓励引导更多的女性从事自然科学工作。根据《中国青年女科学家奖条例(试行)》,第二届中国青年女科学家奖设中国青年女科学家奖 5 名,中国青年女科学家提名奖 5 名。中国畜牧兽医学学会推荐的陈化兰研究员荣获中国青年女科学家奖,另外,西藏农牧科学院畜牧兽医研究所姬秋梅副研究员通过西藏藏族自治区科学技术协会推荐获得提名奖。

2005 年 11 月 9 日在全国妇女联合会举行了颁奖典礼。全国人大常委会副委员长、全国妇联主席顾秀莲,全国妇联副主席、书记处第一书记黄晴宜,中国科协副主席、书记处第一书记邓楠,中国科协副主席、中国工程院院士韦钰,全国妇联书记处书记洪天慧,中国科协书记处书记程东红等领导出席了典礼。在此向陈化兰研究员、姬秋梅副研究员表示热烈地祝贺!