

鹿茸干细胞 MSAP 分析技术体系的建立及引物筛选^{*}

杨 春, 刘 振, 路 晓, 李春义^{**}

中国农业科学院特产研究所, 吉林省特种动物分子生物学省部共建国家重点实验室, 长春 130012

摘 要: 利用甲基化敏感扩增多态性 (Methylation sensitive amplified polymorphism, MSAP) 技术进行鹿茸干细胞基因组 DNA 甲基化研究, 建立并优化鹿茸干细胞 MSAP 技术分析的体系。对 MSAP 技术中的关键步骤 DNA 提取、酶切、预扩增反应中连接产物稀释倍数、选择性扩增反应中预扩增产物稀释倍数等条件进行了优化。同时, 利用优化条件, 应用 ABI3730xl 测序仪对 64 对引物进行筛选。结果表明: 优化后的反应体系得到条带清晰、重复好和特异性强的选择扩增产物。建立的 MSAP 反应体系保证了 MSAP 图谱的稳定性和多态性, 筛选出来的 32 对引物组合满足鹿茸干细胞以及后续鹿相关基因组 DNA 甲基化研究。

关键词: 鹿茸干细胞; 甲基化敏感扩增多态性; 引物筛选

中图分类号: S829.9 文献标识码: A 文章编号: 1000-5684(2015)04-0463-06

DOI: 10.13327/j.jjlau.2015.2625

引文格式: 杨春, 刘振, 路晓, 等. 鹿茸干细胞 MSAP 分析技术体系的建立及引物筛选[J]. 吉林农业大学学报, 2015, 37(4): 463-468.

Establishment of MSAP Analysis System and Selection of Primers for Antler Stem Cell

YANG Chun, LIU Zhen, LU Xiao, LI Chunyi

State Key Laboratory for Molecular Biology of Special Economic Animals, Institute of Special Animal and Sciences, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Changchun 130112, China

Abstract: In this study, we investigated genome-wide DNA methylation in antler stem cells, and established methylation sensitive amplified polymorphism (MSAP) system. The key factors influencing the results of MSAP system were comparatively analyzed. DNA extraction, reaction time of restricted enzymes, diluted multiples of adapter-ligation DNA for pre-amplification products, and diluted factor of pre-amplification products for selective amplification were optimized. Meanwhile, the established MSAP conditions were used to conduct a preliminary polymorphism screening on 64 pairs of primers. The results showed the clear bands, specificity and polymorphism of selective amplification product could be obtained in the established MSAP system. Clear and stable MSAP patterns were achieved, and 32 pairs of primers were selected for MSAP analysis. These results provide fundamental reference for further analysis of genome-wide DNA methylation on antler stem cells and deer.

Key words: antler stem cell; MSAP; primer screening

^{*} 基金项目: 国家自然科学基金青年基金项目(31402059)

作者简介: 杨春, 男, 博士, 助理研究员, 研究方向: 鹿茸生物学和分子遗传学。

收稿日期: 2015-04-15

^{**} 通讯作者

在动植物中,胞嘧啶 DNA 甲基化是一种重要的表观遗传学修饰方式。DNA 甲基化在生物界基因组中广泛存在,在生物生命活动中起重要作用,如基因的表达调控、细胞增殖、分化和多能性等^[1-3]。近年来,DNA 甲基化在再生医学领域成为了研究热点。研究表明:基因和基因组 DNA 甲基化状态的变化能够影响相关组织和器官的再生,如爪蟾尾部再生^[4]、啮齿类脊髓再生^[5]、斑马鱼鳍再生^[6]、斑马鱼视网膜再生^[7]、肌肉再生^[8]和人毛囊再生^[9]等。这些研究表明:DNA 甲基化能够影响哺乳动物组织和器官的再生。

断肢再生是人类的梦想,是再生医学的研究热点。目前,断肢再生的研究还仅局限于低等脊椎动物(特别是两栖类,如蝾螈)。鹿茸是目前已知的唯一能够完全周期再生的哺乳动物附属器官^[10-12],因此将鹿茸作为哺乳动物断肢再生研究的动物模型更具有针对性,将为人类断肢再生梦想的早日实现提供可靠科学依据。鹿茸每年春季由雄鹿的角柄上再生,角柄骨膜是鹿茸再生的关键组织^[13-16]。研究表明:鹿茸角柄骨膜细胞具有干细胞特性,不仅能够表达胚胎干细胞特征基因(如 Oct4、Nanog 和 Sox2),还能够分化成为多种细胞类型,如软骨、脂肪、肌纤维和神经样细胞等^[17]。因此,鹿茸角柄骨膜细胞又被称为鹿茸干细胞,而鹿茸的再生是基于鹿茸干细胞的再生。目前,鹿基因组还未测定,所以鹿茸再生的分子调控机制还不明了,尤其是表观遗传学调控机制。

DNA 甲基化敏感性扩增片段多态性(Methylation sensitive amplified polymorphism, MSAP)是在 AFLP 技术的基础上建立起来的一种检测基因组 DNA 甲基化的方法^[18]。MSAP 技术能够在无基因组背景条件下对基因组 DNA 甲基化进行分析,目前已广泛应用在动植物基因组 DNA 甲基化水平的检测上,如鸡^[19]、猪^[20]、玉米^[21]、西瓜^[22]等。MSAP 方法使用 *Hpa* II 和 *Msp* I 检测基因组 CCGG 位点中的胞嘧啶甲基化状态。*Hpa* II 和 *Msp* I 是一组同裂酶,能够识别相同的 CCGG 位点。但是,它们对胞嘧啶甲基化状态具有不同敏感性,通过它们对基因组酶切,将产生不同的甲基化片段,最后通过对片段的统计分析出基因组胞嘧啶 DNA 甲基化程度。本研究以鹿茸干细胞为试验材料,通过优化酶切、预扩增和选择性扩增条件建立适合检测鹿茸干细胞的 MSAP 方法,最后

通过利用 ABI3730xl 测序仪进行引物筛选。所建立的 MSAP 方法将为今后研究鹿茸再生与 DNA 甲基化调控机制间关系奠定基础。

1 材料与方法

1.1 鹿茸干细胞基因组 DNA 提取

鹿茸干细胞为吉林省特种动物分子生物学省部共建国家重点实验室冻存样品。将鹿茸干细胞分别按照细胞基因组 DNA 提取试剂盒(QIAGEN)操作手册和酚氯仿抽提的方法进行 DNA 提取及纯化,用 0.8% 琼脂糖凝胶电泳检测其完整性,Biophotometer 分光光度计(Eppendorf)检测浓度。

1.2 鹿茸干细胞基因组 DNA 的 MSAP 分析及引物筛选

MSAP 技术主要由 3 部分组成,DNA 酶切、预扩增和选择性扩增。其中,接头序列、预扩增引物序列和选择性引物序列分别参照 Xu 等^[23]的方法设计。分别取等量的 E 和 H-M 接头上下游引物混匀,在 95 ℃ 10 min,85 ℃ 10 min,55 ℃ 10 min,16 ℃ 10 min 条件下进行退火反应,获得双链 E 和 H-M 接头。另外,选择性扩增引物使用 FAM 荧光标记,接头和引物见表 1。

1.2.1 DNA 酶切体系建立 分别选取 250, 500,1 000 ng 鹿茸干细胞基因组 DNA,同时进行 *Hpa* II/*Eco* R I 和 *Msp* I/*Eco* R I 双酶切,体系:3 组基因组 DNA,*Eco* R I 和 *Hpa* II 各 10 U,*Msp* I 为 20 U,37 ℃ 水浴 8 h,65 ℃ 灭活 20 min;酶切产物用 0.8% 琼脂糖凝胶电泳检测,选择效果最佳的双酶切反应条件。按照 DNA T₄ Ligation Kit (Thermo)要求,16 ℃ 连接过夜,65 ℃ 灭活 20 min,加水分别稀释 5,10,15,20 倍,稀释后的产物作为预扩增模板备用。

1.2.2 预扩增体系建立 选取 2 μL 不同稀释倍数的酶切连接产物作为模版进行预扩增,预扩增引物见表 1。预扩增反应条件:94 ℃ 5 min;94 ℃ 30 s,56 ℃ 1 min,72 ℃ 1 min,30 个循环;72 ℃ 7 min,16 ℃ 保存。预扩增产物 0.8% 琼脂糖凝胶电泳检测。确定最佳连接产物浓度。将预扩增产物再次分别加水稀释 5,10,15,20 倍作为选择性扩增模板备用。

表 1 引物和接头
Table 1. Primers and adapters

引物/接头	序列
<i>Eco</i> R I 接头	5'-CTCGTAGACTCGTACC-3'
	3'-CATCTGACGCATGGTTAA-5'
E+1 预 扩增引物	5'-GACTGCGTACCAATTC+A-3'
	5'-GACTGCGTACCAATTC+AAC-3'
	5'-GACTGCGTACCAATTC+AAG-3'
	5'-GACTGCGTACCAATTC+ACA-3'
	5'-GACTGCGTACCAATTC+AGT-3'
E+3 选择性 扩增引物	5'-GACTGCGTACCAATTC+ATC-3'
	5'-GACTGCGTACCAATTC+ACT-3'
	5'-GACTGCGTACCAATTC+AGA-3'
	5'-GACTGCGTACCAATTC+ATG-3'
	5'-GACGATGAGTCTAGAA-3'
	3'-CTACTCAGATCTTGC-5'
Hpa II / <i>Msp</i> I 接头	5'-GATGAGTCTAGAACGG+T-3'
	5'-FAM-GATGAGTCTAGAACGG+TAC-3'
	5'-FAM-GATGAGTCTAGAACGG+TAG-3'
	5'-FAM-GATGAGTCTAGAACGG+TAT-3'
	5'-FAM-GATGAGTCTAGAACGG+TAA-3'
HM+3 选择性 扩增引物	5'-FAM-GATGAGTCTAGAACGG+CAC-3'
	5'-FAM-GATGAGTCTAGAACGG+CAG-3'
	5'-FAM-GATGAGTCTAGAACGG+CAT-3'
	5'-FAM-GATGAGTCTAGAACGG+CAA-3'
	5'-FAM-GATGAGTCTAGAACGG+TAA-3'
	5'-FAM-GATGAGTCTAGAACGG+TAC-3'

1.2.3 选择扩增体系建立 不同稀释倍数的预扩增产物 2 μL, FAM 标记的 H-M + 3 引物 20 pmol, E+3 引物 10 pmol, dNTP Mixture 1.2 μL, 10 倍PCR buffer 2 μL, Ex*Taq* 酶 0.1 μL。PCR 扩增条件: 94 ℃ 5 min; 94 ℃ 30 s, 65 ℃ (每循环 -0.7 ℃) 30 s, 72 ℃ 1 min, 共 13 个循环; 继续 94 ℃ 30 s, 56 ℃ 30 s, 72 ℃ 1 min, 进行 23 个循环, 最后 72 ℃ 7 min。PCR 扩增试剂购自 TaKaRa 公司。选择扩增产物通过 ABI3730xl 测序仪上进行毛细管电泳检测, 最终选择出最佳预扩增产物浓度。

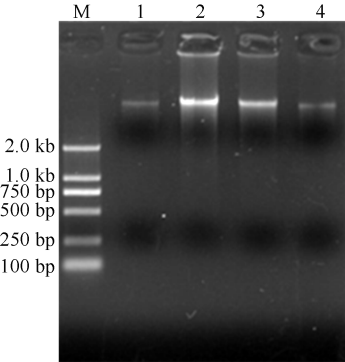
1.2.4 引物筛选 利用优化好的 MSAP 方法, 对由 *Eco*R I 引物 8 个, H-M 引物 8 个, 共计 64 对引物进行筛选, 引物序列见表 1。所有 FAM 荧光标记好的选择性扩增产物在 ABI3730xl 测序仪上进行毛细管电泳检测。具体步骤: 将 5 μL 选择扩增样品分别加入 96 孔板中, 6.5 μL 甲酰胺, 0.25 μL ROX500 分子量内标, 95 ℃ 变性 10 min

后冰上放置 10 min, 进行毛细管电泳。数据结果通过 GeneScan3.0 进行输出, 最后通过自主开发的 MSA 分析软件对荧光图谱进行数据统计, 选择出重复性好和多态性强的引物对组合。

2 结果

2.1 基因组 DNA 提取

由于 MSAP 方法对 DNA 模版质量要求非常高, 试验使用细胞及组织 DNA 提取试剂盒进行 DNA 的提取与纯化 (QIAGEN), 所得 DNA 通过 0.8% 琼脂糖电泳检测并进行浓度测定。结果 (图 1) 显示, 样品 1 为使用试剂盒所提取 DNA, 其主带清晰, 没有发生降解, 胶孔处没有蛋白质残留和 RNA 残留。样品 2、3、4 为采用酚氯仿手提 DNA, 虽然主带清晰, 但是有部分蛋白残留, 这将影响后续酶切试验和毛细管电泳结果。样品 1 符合 MSAP 技术对 DNA 质量的要求。



M. Marker DL2000; 1~4. 基因组 DNA
图 1 鹿茸干细胞基因组 DNA
Fig.1. DNA of antler stem cell

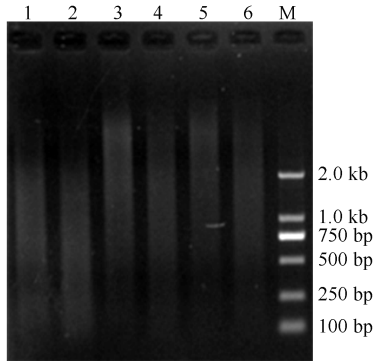
2.2 酶切结果

基因组 DNA 的用量和 DNA 酶切效果将直接影响预扩增结果。试验发现酶切模版量为 250 ng, 酶切 8 h 条件下, DNA 酶切最完全 (图 2), 基因组酶切呈涂抹带。而其他浓度 DNA 样品在 8 h 还不能够完全酶切。酶切时间过长会导致 DNA 降解, 在 MSAP 过程中影响预扩增产物质量, 导致预扩增片段上移。

2.3 预扩增结果

依据预扩增产物片段范围应集中在 100 ~ 1 000 bp 呈弥散状分布的原则, 对不同稀释倍数连接产物为模板进行预扩增, 确定连接产物稀释倍数。结果表明: 连接产物在稀释 20 倍时, 预扩增结果最好, 条带在 100 ~ 1 000 bp (图 3)。其他

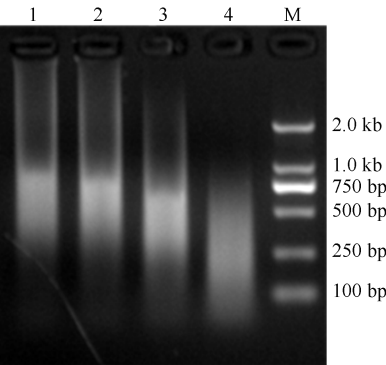
预扩增结果可能由于模板浓度过高,条带范围均超过规定范围,而且扩增片段在 250~1 000 bp 富集。最能够符合预扩增标准,最终确定连接产物稀释 20 倍为最佳稀释倍数,预扩增效果最佳。



M. Marker DL2000; 1, 3, 5. *Hpa* II/*Eco*R I 酶切 250, 500, 1 000 ng DNA; 2, 4, 6. *Msp* I/*Eco*R I 酶切 250, 500, 1 000 ng DNA

图 2 不同浓度 DNA 酶切

Fig.2. Restriction enzyme reaction of DNA of different concentration



M. Marker DL2000; 1~4. 模板稀释 5, 10, 15, 20 倍

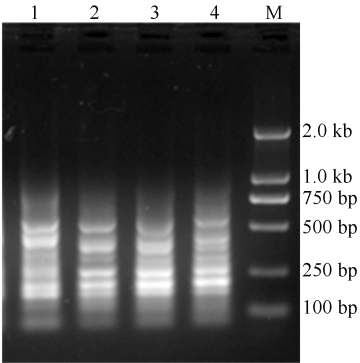
图 3 预扩增结果

Fig.3. Results of pre-amplification

2.4 选择扩增结果

预扩增产物进行稀释后作为选择性扩增模板,通过分别比较预扩增产物稀释 5, 10, 15, 20 倍的选择性扩增。结果表明:当预扩增产物稀释为 5, 10, 15, 20 倍时,选择扩增条带均集中在 100~500 bp,由于选择性扩增引物比预扩增引物多 3 个选择碱基,对甲基化片段具有更高的特异性,能够看到明显条带(图 4),这表明所选择的引物特异性和多态性强的特点。另外,通过对条带分布可以清晰的看出,5 倍稀释的选择扩增产物浓度偏高不利于后续试验,而且在 500~750 bp 有集中条带。10 倍、15 倍稀释选择扩增结果与 20 倍稀

释结果比较,部分条带分离特异性不强,分离不明显、集中。20 倍稀释结果与前 3 种结果比较来看,条带分布和条带分离比较平均,特异性条带非常清晰,能够通过肉眼辨别,最终确定预扩增产物稀释 20 倍为最佳条件。



M. Marker DL2000; 1~4. 模板稀释 5, 10, 15, 20 倍

图 4 选择扩增结果

Fig.4. Results of selective amplification

2.5 引物筛选

利用优化后的 MSAP 反应体系,使用 ABI 3730xl 测序仪对所有 64 对引物的选择性扩增产物进行毛细管电泳检测,选择扩增引物的筛选决定了 MSAP 后续数据的可信性。而选择扩增引物的原则为扩增条带清晰、特异性强、多态性强。最后从 64 对引物组合中初步筛选出具有多态性强特点的引物组合 32 对,部分引物筛选结果见图 5。由图 5 可见,1, 2, 5, 7, 8 这 5 对引物条带分布均匀、多态性高和扩增条带多。相比而言,3, 4, 6 这 3 对引物在扩增条带、条带分布和多态性上都弱于上面 5 对引物。所以通过对所有 64 对引物筛选后,最终筛选出 32 对选择扩增引物。

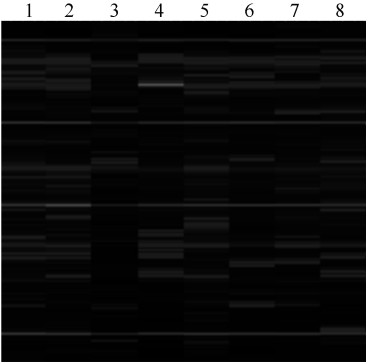


图 5 引物的筛选

Fig.5. Primer screening of MSAP

3 讨论

MSAP 方法是一种基于 AFLP 技术的检测基因组 DNA 甲基化状态的方法。其主要是通过同裂酶 *Hpa* II 和 *Msp* I 对基因组进行酶切,由于同裂酶对 CCGG 位点中胞嘧啶甲基化程度不同的敏感性将产生不同的酶切片段,从而通过所产生片段的类型和数量统计出基因组 DNA 甲基化状态。近年来,MSAP 方法已经应用到了很多动植物 DNA 甲基化研究中,并且被广泛认为最经济和最快捷的检测基因组 DNA 甲基化的方法,并且不需要基因组背景,这对于很多没有基因组数据的物种来说是唯一的基因组 DNA 甲基化检测方法,为无基因组数据物种的表观遗传学研究提供了便利途径。通过 MSAP 方法可对鹿茸干细胞中 DNA 甲基化状态进行分析,为深入了解鹿茸再生机制奠定基础,提供研究思路。MSAP 技术体系由 DNA 酶切、连接、预扩增和选择扩增 4 部分组成。其对 DNA 模板质量的要求非常高,DNA 的提取过程不仅要保证 DNA 的完整性,而且还要保证 DNA 中没有糖、蛋白质和 RNA 的残留。本试验在 DNA 提取时对不同方法做了相关比较,发现用酚氯仿抽提的方法虽然能够节约成本,但是会造成 DNA 的污染、降解、蛋白质残留等。所以,在进行 DNA 提取时使用高质量的 DNA 提取试剂盒对于 MSAP 至关重要,不仅能够保证 DNA 的质量,而且所提取的 DNA 浓度也符合 MSAP 所要求的标准,无需过多的稀释而造成 DNA 浓度出现误差。

预扩增反应产物主要集中在 100~1 000 bp 区间,条带呈弥散状态,无清晰可见条带。预扩增反应体系优化中,发现对 PCR 反应影响比较大的是预扩增模板量和 *ExTaq* 酶的用量。模板量过高会导致条带区间超过 1 000 bp,而 *ExTaq* 酶的用量过高会导致片段低于 250 bp。这可能是因为 *ExTaq* 酶用量过多,酶的活性过高导致了片段背景过高,从而使人产生错觉。所以,在 MSAP 扩增过程中由于模板用量非常小,另外需要 2 轮扩增。虽然预扩增模板通过稀释而作为选择性扩增模板,但是里面也会残留 *ExTaq* 酶。

在引物筛选过程中,通过 ABI3730xl 测序仪来完成引物的筛选,节约时间,省去繁琐的步骤,提高检测效率,减少人为操作的误差,增强结果的

准确性和稳定性。另外,测序仪可对 96 个样品同时进行分析,不仅节约时间而且满足大量样品检测的高通量需要^[24-25]。比较而言,FAM 标记的毛细管电泳不但包括基于聚丙烯酰胺凝胶电泳的 MSAP 方法的所有步骤,还包括了荧光检测特有的内标,大大提高了数据统计过程的可靠性。

鹿茸是唯一可以周期再生的哺乳动物附属器官,对鹿茸再生过程进行深入研究对实现人类断肢再生研究具有参考价值。本试验以鹿茸再生的基础——鹿茸干细胞为材料,通过对基因组 DNA 用量、酶切体系优化、预扩增和选择性扩增优化建立了适合检测鹿基因组的 MSAP 方法,并且通过毛细管电泳对引物进行了筛选。建立了能够适用于毛细管电泳检测的 MSAP 方法,节约了时间,提高了结果的准确性,为鹿茸再生表观遗传学调控机制的研究奠定基础。

参考文献:

- [1] Wu S C, Zhang Y. Active DNA demethylation: many roads lead to Rome [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2010, 11:607-620.
- [2] Cedar H, Bergman Y. Programming of DNA methylation patterns [J]. *Annu Rev Biochem*, 2012, 81:97-117.
- [3] Franchini D M, Schmitz K M, Petersen-Mahrt S K. 5-methylcytosine DNA demethylation: more than losing a methyl group [J]. *Annu Rev Bioche*, 2012,46:419-441.
- [4] Yakushiji N, Suzuki M, Satoh A, et al. Correlation between Shh expression and DNA methylation status of the limb-specific Shh enhancer region during limb regeneration in amphibians [J]. *Developmental Biology*, 2007, 312: 171-182.
- [5] Iskandar B J, Rizk E, Meier B, et al. Folate regulation of axonal regeneration in the rodent central nervous system through DNA methylation [J]. *Journal of Clinical Investigation*, 2010, 120: 1603-1616.
- [6] Hirose K, Shimoda N, Kikuchi Y. Transient reduction of 5-methylcytosine and 5-hydroxymethylcytosine is associated with active DNA demethylation during regeneration of zebrafish fin [J]. *Epigenetics*, 2013, 8:899-906.
- [7] Powell C, Elsaedi F, Goldman D. Injury-dependent Muller glia and ganglion cell reprogramming during tissue regeneration requires Apobec2a and Apobec2b [J]. *J Neurosci*, 2012, 32: 1096-1109.
- [8] Tyaqi S C, Joshua I G. Exercise and nutrition in myocardial matrix metabolism, remodeling, regeneration, epigenetics, microcirculation, and muscle [J]. *Can J Physiol Pharmacol*, 2014, 92:521-523.
- [9] Qi Shen, Hongchuan Jin, Xian Wang. Epidermal stem cells and their epigenetic regulation [J]. *Int J Mol Sci*, 2013, 14: 17861-17880.

[10] 肖宇奇.鹿茸研究进展[J].经济动物学报, 2011, 15(4): 221-224.

[11] 孙红梅,杨福合,邢秀梅,等.鹿茸再生干细胞成骨诱导(微粒体)培养体系的建立[J].吉林农业大学学报,2010,32(6):680-683.

[12] 张晨,曹航,李当当,等.细胞周期蛋白 D1 在梅花鹿茸角中的表达[J].中国兽医学报,2014,34(7):1153-1156.

[13] Li C Y, Mackintosh C G, Martin S K, et al. Identification of key tissue type for antler regeneration through pedicle periosteum deletion [J]. Cell and Tissue Research, 2007, 328: 65-75.

[14] 张传奇,郑毅男,张成中,等.鹿茸多糖的研究概况[J].经济动物学报, 2013, 17(1):45-48.

[15] 郭倩倩,王大涛,褚文辉,等.利用慢病毒表达载体干扰梅花鹿角柄骨模细胞 P21 基因[J].吉林农业大学学报, 2014, 36(1):116-121.

[16] 尹春洋,李有宝,张美然,等.吉林省梅花鹿生产效益影响因素分析[J].吉林农业大学学报, 2014, 36(1):122-126.

[17] Li C Y, Yang F H, Sheppard A. Adult stem cells and mammalian epimorphic regeneration-insights from studying annual renewal of deer antlers [J]. Current Stem Cell Research & Therapy, 2009, 4: 237-251.

[18] Reyna-Lopez G E, Simpson J, Ruiz-Herrera J. Differences in DNA methylation patterns are detectable during the dimorphic transition of fungi by amplification of restriction polymorphisms [J]. Mol Gen Genet, 1997, 253: 703-710.

[19] 李金龙,唐韶青,赵萌,等.北京油鸡肌肉和卵巢组织基因组 DNA 甲基化状态检测与分析 [J]. 畜牧兽医学报, 2014,45(11):1784-1792.

[20] Yang C, Zhang M J, Niu W P, et al. Analysis of DNA methylation in various swine tissues [J]. Plos One, 2011, 6(1):1-9.

[21] Lu Y L, Rong T Z, Cao M J. Analysis of DNA methylation in different maize tissues [J]. J Genet Genomics, 2008, 35(1):41-48.

[22] 朱红菊,刘文革,赵胜杰,等. NaCl 胁迫下二倍体和同源四倍体西瓜幼苗 DNA 甲基化差异分析 [J]. 中国农业科学, 2014,47(20):4045-4055

[23] Xu Q, Zhang Y, Sun D X, et al. Analysis on DNA methylation of various tissues in chicken [J]. Anim Biotechnol, 2007, 18(4):231-241.

[24] Dresler-Nurmi A, Terefework Z, Kaijalainen S, et al. Silver stained polyacrylamide gels and fluorescence-based automated capillary electrophoresis for detection of amplified fragment length polymorphism patterns obtained from white-rot fungi in the genus Trametes [J]. J Microbiol Meth, 2000, 41(2): 161-172.

[25] 区炳明,陈琳,宋玉洁,等.临床 16S rRNA 甲基化酶的研究新进展[J].中国兽医学报,2014,34(4):669-684.

(责任编辑:林海涛)

欢迎订阅《经济动物学报》

《经济动物学报》是吉林农业大学主办的专业性学术期刊,主要刊登毛皮动物、药用动物、野生动物和具有特殊经济价值动物的组织解剖、遗传育种、生理生化、良种繁育、饲养管理、疾病防治、饲料与营养、产品与副产品加工利用等方面的研究论文、研究简报、文献综述等。其宗旨主要是反映经济动物学科最新科研成果与发展动向,促进学术交流与合作;注重理论指导生产实践,加速科研成果转化,为我国经济动物养殖业现代化服务。

本刊为季刊,季末月出版,A4 开本,每期 64 页,定价 15.00 元,全年 60.00 元(2006 年以前出版的刊物全年仍为 24.00 元;2007—2008 年出版的刊物全年为 32.00 元;2009 年出版的刊物全年为 40.00 元)。可通过全国非邮发报刊联合发行部订阅(地址:天津市大寺泉集北里别墅 17 号联合征订服务部;邮编:300385),也可直接向本刊编辑部订阅。

编辑部地址:吉林省长春市新城大街 2888 号 吉林农业大学《经济动物学报》编辑部
邮 编:130118 电 话:0431-84533130 E-mail:jjdwx@163.com
网 址: http://jdx.jlau.edu.cn