

## 抑制素基因免疫诱导单胎绵羊孪生的研究

张德坤<sup>1</sup> 杨利国<sup>1</sup> 张红琳<sup>1</sup> 王文<sup>2</sup> 乌娜尔汗<sup>2</sup> 纪平<sup>3</sup> 古武昌<sup>3</sup>

(1. 南京农业大学 动物遗传与育种教研室,南京 210095; 2. 新疆动物防疫监督总站,乌鲁木齐 830017;  
3. 新疆阿克苏市动物防疫监督站,新疆 阿克苏 843000)

**摘要** 应用抑制素基因免疫重组质粒(PCIS)免疫绵羊,首次免疫后,绵羊能够产生抗抑制素抗体,加强免疫后抗体增加显著( $P < 0.05$ ),免疫羊的抗体阳性率可达46.7%。免疫组与对照组促卵泡素(follicle stimulating hormone, FSH)的含量在加强免疫第45天时差异显著( $P < 0.05$ )。在首次免疫第20天与加强免疫第45天,抗体阳性羊的促卵泡素含量显著高于抗体阴性羊( $P < 0.05$ )。免疫羊的双羔率达39.2%,显著高于对照组( $P < 0.05$ ),比对照组提高29.2%。

**关键词** 抑制素基因免疫;促卵泡素(FSH);双羔率

**中图分类号** S814.8

**文章编号** 1007-4333(2004)04-0040-06

**文献标识码** A

### Inhibin gene immunization to induce sheep twinning

Zhang Dekun<sup>1</sup>, Yang Ligu<sup>1</sup>, Zhang Honglin<sup>1</sup>, Wang Wen<sup>2</sup>, Wunarhan<sup>2</sup>, Ji Ping<sup>3</sup>, Gu Wuchang<sup>3</sup>

(1. Nanjing Agricultural University Animal Breeding and Reproduction Laboratory, Nanjing 210095, China;

2. Xinjiang Supervision of Animal Epidemic Prevention and Control Center, Wulumuqi 830017, China;

3. Akesu Supervision of Animal Epidemic Prevention and Control Center, Akesu 843000, China)

**Abstract** The fusion expressing plasmid of inhibin was used to immunize the sheep. The results showed that the plasmid of inhibin could be expressed in the sheep after first immunization. The value of antibody of immunized group was remarkably higher than the control ( $P < 0.05$ ) after primary immunization. The rate of positive antibody of immunized group was 46.7%. The content of FSH of the immunized group was remarkably higher than the control on 45 day after primary immunization ( $P < 0.05$ ). The content of FSH of positive antibody was remarkably higher than that of negative antibody ( $P < 0.05$ ). The twinning rate of the immunized group was 39.2%, 25.7% higher than that of the control.

**Key words** inhibin gene immunization; FSH; twinning

抑制素(inhibin, INH)是一种性腺分泌的糖蛋白质激素,其生理功能是选择性地降低血循环中FSH(促卵泡素)的水平<sup>[1,2]</sup>。抑制素免疫产生的抗体可以中和内源性抑制素,从而解除对FSH的抑制作用,使FSH分泌增加。母畜用抑制素制剂免疫后,排卵数增加,繁殖力提高<sup>[3]</sup>。基因免疫是用一定的方法将带有目的基因的表达载体转化到动物活体细胞内,其表达产物经抗原递呈激活免疫系统,诱导机体产生特异性的抗体并引起相应免疫应答的技术。pCIS是抑制素F(1~32)基因片段与乙肝表面抗原S基因串联所构建的重组质粒,在大鼠体内

能够表达,并能够产生抗抑制素抗体,调节大鼠体内的FSH促进大鼠的卵泡发育<sup>[4,5]</sup>;所以应用抑制素基因免疫技术可以促进动物卵泡的发育和成熟,促使其排卵,从而提高其繁殖能力。

影响基因免疫效果的因素很多,同一基因免疫源在不同遗传背景的动物体内的免疫效果相差很大<sup>[6]</sup>。研究不同动物的抑制素基因免疫对抗抑制素抗体产生的影响,对于探讨抑制素基因免疫的作用机理,进一步提高抑制素基因免疫效果具有重要作用。目前,用抑制素基因免疫诱导绵羊孪生还未见报道,本实验通过抑制素基因免疫绵羊的免疫反

收稿日期:2004-05-21

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30270959)

作者简介:张德坤,博士研究生;杨利国,教授,博士生导师,主要从事动物遗传育种的研究。

应性、抑制素基因免疫对 FSH 的影响及诱导单胎绵羊孪生的研究,为建立应用抑制素基因免疫技术提高绵羊繁殖率,为进一步开发抑制素基因疫苗奠定基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

1)主要试剂。柱式大量质粒抽提试剂盒(U-NIQ-200 NO. SK1242)、*EcoR* 和 *Hind* 限制性内切酶、Maker (GeneRuler DL-15000 + DL- 2000)、购自上海申工生物公司。pCIS 重组质粒由南京农业大学动科院茆达干博士等<sup>[5]</sup>构建,大连宝生物公司鉴定。抑制素抗原肽 (1~26 Tyr. Gly) 由中科院上海生化所崔大敷研究员合成<sup>[7]</sup>。驴抗羊酶标二抗为 Sigma 公司产品。酶标板为 GIBCOBRL 公司产品。FSH 检测试剂盒为北京市福瑞生物工程有限公司产品(FR-FJ-033)。

2)实验动物。从托海牧场农户饲养的 176 只羊群中选择 40 只 2~8 岁、无疾病史,并进行定期接种抗病疫苗和驱虫的生产母羊。这些羊在 2002 年的繁殖率为 98.5%;分别于 2002 年 10 月用螨净药浴、2003 年春季口服吡喹酮驱虫;于 2003 年春季接种羊三联、羊痘、炭疽、口蹄疫疫苗;于 2003 年春季布病平板凝集实验检测为阴性。

### 1.2 方法与步骤

1)质粒的抽提与纯化及目的基因的鉴定。

将含有质粒 pCIS 的载体大肠杆菌接种于含氨苄青霉素的 LB 培养基扩增,按 UNIQ-200 柱式大量质粒抽提试剂盒说明抽提并纯化 pCIS 质粒。

pCIS 质粒中的乙肝表面抗原的 S 基因与抑制素 F 1~32 基因的融合片段是目的基因,其大小为 793 bp,酶切位点为 *EcoR* 和 *Hind*。用 *EcoR* 和 *Hind* 双酶切提取的 PCIS 质粒,凝胶电泳观察是否存在目的基因片段。

2)实验动物的分组。

40 只试验羊共分为 4 个组。0.2 mg·只<sup>-1</sup>免疫组(T1)、0.4 mg·只<sup>-1</sup>免疫组(T2)、0.8 mg·只<sup>-1</sup>免疫组(T3)、对照组:CK。在试验羊的右耳做标记。

3)免疫的剂量、方式及免疫程序。

pCIS 用生理盐水稀释后,用于免疫。T1、T2 和 T3 组主动免疫时每次免疫含 pCIS 免疫原量分别为 0.2、0.4 和 0.8 mg。对照组注射 4 mL·只<sup>-1</sup>生理盐水。免疫采取多点肌肉注射。注射部位共 4 处:前

两侧的颈部肌肉及后两侧的臀部肌肉。

免疫及采血程序为 2 次免疫。配种前 20 d 初次免疫,20 d 后同剂量加强免疫一次。第 1 次免疫前采血 1 次,免疫后第 1 个月内每 7~10 d 采 1 次血;第 1 个月每月采血 1 次,至试验羊妊娠中期停止采血。所采血分离血清,-20℃ 保存。

4)抗体及促卵泡素检测的方法。

抗体检测采用本实验室建立的酶联免疫法测定。以人工合成的抑制素 亚基(1~26)为包被抗原,羊血清稀释 100 倍,以  $P/N > 2$  判为阳性<sup>[8]</sup>,其中  $P$  为待测血样的吸光值, $N$  为阴性对照血样吸光值。FSH 采用放射免疫双抗法测定。

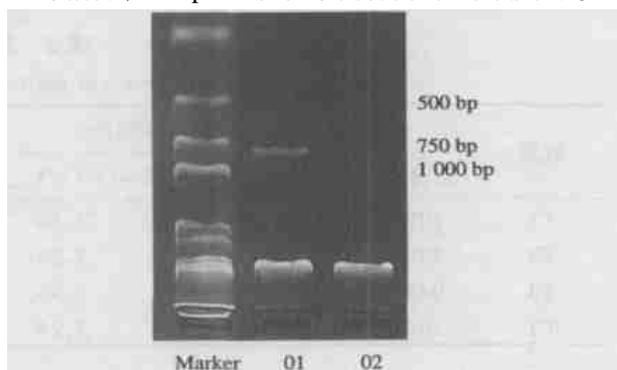
5)数据分析。

采用 SPSS 进行统计分析,所有数据均以平均数 ± 标准差表示。组间抗体  $P/N$  值采用方差分析法,阳性率采用卡方检验。

## 2 结果与分析

### 2.1 质粒目的基因鉴定

用 *EcoR*、*Hind* 双酶切提取的 pCIS,电泳观察。可以看到在 793 bp 处有一条特异性条带,与设计相符,说明 pCIS 质粒中含有目的基因(图 1)。



Maker: DL-15000 + DL-2000; 01:pCIS/*EcoR* + *Hind*; 02:pCIS。

图 1 pCIS 质粒中目的基因鉴定结果

Fig. 1 Identification of pCIS restriction endonuclease digestion

### 2.2 抗体检测结果

1)抑制素基因免疫各组的抗体  $P/N$  值。首次免疫第 10 天后产生了一定的抗抑制素抗体,免疫组的  $P/N$  值均高于对照组,但各组  $P/N$  值与对照组相比差异不明显( $P > 0.05$ );第 20 天,抗体  $P/N$  值呈上升趋势,T2 组  $P/N$  值与对照组相比有明显差异( $P < 0.05$ )。加强免疫第 14 天后,各免疫组的  $P/N$  值比首次免疫进一步提高, $P/N$  值与对照组相比有显著差异( $P < 0.05$ );第 45 天后各免疫组的

$P/N$  值与加强免疫第 14 天相比差异不明显 ( $P > 0.05$ ), 并呈下降的趋势; 第 80 天后各免疫组的  $P/N$  值下降, 抗体的  $P/N$  值与对照组比差异不明显 ( $P > 0.05$ ) (表 1)。

表 1 1 个免疫组的抗体  $P/N$  值(平均数  $\pm$  标准差)

Table 1 The  $P/N$  value of Ab against inhibin in different groups (mean  $\pm$  standard error)

组别	样本数	PM10	PM20	BM14	BM45	BM80
T1	10	1.56 $\pm$ 0.14	1.84 $\pm$ 0.22	2.31 $\pm$ 0.23	1.78 $\pm$ 0.23	1.58 $\pm$ 0.22
T2	10	1.71 $\pm$ 0.29	2.19 $\pm$ 0.28	3.09 $\pm$ 0.42	2.36 $\pm$ 0.19	1.94 $\pm$ 0.28
T3	10	1.52 $\pm$ 0.21	1.79 $\pm$ 0.42	2.11 $\pm$ 0.35	1.99 $\pm$ 0.79	1.68 $\pm$ 0.39
CK	10	1.06 $\pm$ 0.17	1.10 $\pm$ 0.13	0.97 $\pm$ 0.08	1.11 $\pm$ 0.06	1.02 $\pm$ 0.13
TT	30	1.66 $\pm$ 0.12	1.97 $\pm$ 0.18	2.50 $\pm$ 0.20	2.06 $\pm$ 0.25	1.73 $\pm$ 0.17

注: PM10 为首次免疫后第 10 天; PM20 为首次免疫后第 20 天; BM14 为加强免疫第 14 天; BM45 为加强免疫第 45 天; BM80 为加强免疫第 80 天。T1 为 0.2 mg  $\cdot$ 只<sup>-1</sup> 免疫组; T2 为 0.4 mg  $\cdot$ 只<sup>-1</sup> 免疫组; T3 为 0.8 mg  $\cdot$ 只<sup>-1</sup> 免疫组; CK 为对照组; TT 为免疫组合计。下同。

2) 抑制素基因免疫各组阳性率及最大  $P/N$  值。首次免疫第 10 天及第 20 天最大抗体  $P/N$  值均在 T2 组。加强免疫第 14 天, 最大值  $P/N$  值在 T2 组; 第 45 天, 最大  $P/N$  值在 T3 组; 第 80 天, 最大  $P/N$  值在 T2 组。首次免疫第 10 天 T1 组有 1 只抗体阳性羊 ( $P/N > 2$ ), T2 组有 2 只抗体阳性羊, T3 组没有抗体阳性羊; 第 20 天, T1 组有 2 只抗体阳性羊, T2 组有 3 只抗体阳性羊, T3 组有 1 只抗体阳性羊。加强免疫第 14 天后, T1 组的阳性数量

由 2 只增加到 6 只, 阳性率由 20% 提高到 60%, 阳性率上升显著 ( $P < 0.05$ )。T2 组的抗体阳性数由 3 只增加到 5 只, 阳性率由 30% 提高到 50%。T3 组的抗体阳性数由 1 只增加到 3 只, 阳性率由 10% 提高到 30%。各免疫组平均抗体阳性率由 20% 提高到 46.7%, 差异显著 ( $P < 0.05$ ); 第 45 天后, 抗体阳性数下降, 平均抗体阳性率下降至 30%; 第 80 天后, 平均抗体阳性率下降至 16.7% (表 2)。

表 2 免疫各组的阳性率

Table 2 Comparison of positive rates against inhibin in different groups

组别	PM10		PM20		BM14		BM45		BM80	
	阳性率	( $P/N$ ) <sub>max</sub>	阳性率	( $P/N$ ) <sub>max</sub>	阳性率	( $P/N$ ) <sub>max</sub>	阳性率	( $P/N$ ) <sub>max</sub>	阳性率	( $P/N$ ) <sub>max</sub>
T1	10%	2.24	20%	2.56	60%	2.73	40%	2.29	10%	2.12
T2	20%	2.47	30%	3.25	50%	4.84	40%	4.42	30%	3.53
T3	0/10	1.71	10%	2.96	30%	4.00	10%	6.13	10%	2.63
TT	10%	2.47	20%	3.25	46.7%	4.84	30%	6.13	16.7%	3.53

3) 抗体  $P/N$  值与抗体阳性率的相关性。分析各免疫组抗体  $P/N$  值与抗体阳性率的相关性, 表明两者之间极具相关 ( $P < 0.05$ ) (表 3)。

表 3 抗体  $P/N$  值与抗体阳性率的相关性

Table 3 Correlation coefficients of antibody against inhibin in different groups

	T1	T2	T3	TT
T1	0.881*			
T2		0.983**		
T3			0.688	
TT				0.935**

注: \*表示  $P < 0.05$ , \*\*表示  $P < 0.01$

### 2.3 抑制素基因免疫对绵羊促卵泡素的影响

首次免疫第 10 天, 免疫组的 FSH 均值有所上升, 与免疫前及对照组同期相比差异不显著 ( $P > 0.05$ ); 第 20 天, 免疫组的 FSH 含量与首次免疫第 10 天比有所下降 ( $P > 0.05$ ), 与对照组同期相比略低 ( $P > 0.05$ )。加强免疫第 14 天免疫组的 FSH 含量略有上升 ( $P > 0.05$ ), 与对照组同期相比低于对照组 ( $P > 0.05$ ); 第 45 天免疫组的 FSH 含量高于加强免疫第 14 天, 与对照组相比差异显著 ( $P < 0.05$ ); 第 80 天 FSH 的含量与第 45 天相差不大 ( $P > 0.05$ ), 与对照组同期相比高于对照组, 但无统计差异 ( $P > 0.05$ ) (表 4)。

表 4 抑制素基因免疫前后血清中 FSH(平均数 ±标准差)

U L<sup>-1</sup>

Table 4 The FSH level in blood sera of ewes in different groups before and after immunization(mean ±standard error)

组别	样本数	PM0	PM10	PM20	BM14	BM45	BM80
T1	10	0.18 ±0.11	0.29 ±0.07	0.44 ±0.13	0.10 ±0.06	0.43 ±0.23	0.26 ±0.15
T2	10	0.34 ±0.10	0.28 ±0.11	0.13 ±0.09	0.20 ±0.11	0.32 ±0.15	0.28 ±0.14
T3	10	0.41 ±0.20	0.52 ±0.19	0.15 ±0.09	0.49 ±0.13	0.49 ±0.40	0.62 ±0.23
TT	30	0.31 ±0.09	0.35 ±0.10	0.24 ±0.07	0.26 ±0.06	0.42 ±0.15	0.48 ±0.19
C	10	0.27 ±0.08	0.26 ±0.08	0.30 ±0.16	0.39 ±0.20	0.11 ±0.05	0.22 ±0.14

注:PM0 为免疫前

首次免疫后第 10 天,抗体阳性羊的 FSH 含量略高于抗体阴性羊 ( $P > 0.05$ );第 20 天,抗体阳性羊的 FSH 含量显著高于抗体阴性羊 ( $P < 0.05$ )。加强免疫后第 14 天,虽然抗体阳性羊的 FSH 含量高于抗体阴性羊,但统计差异不显著 ( $P > 0.05$ );第 45 天,抗体阳性羊的 FSH 含量显著高于抗体阴性羊 ( $P < 0.05$ );第 80 天,抗体阳性羊的 FSH 含量虽然高于抗体阴性羊,但统计差异不显著 ( $P > 0.05$ ) (图 2)。

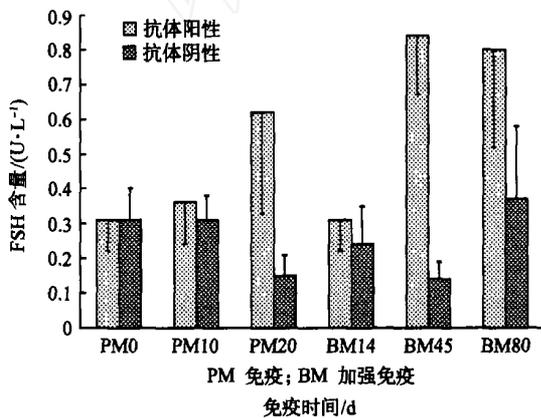


图 2 免疫组抗体阳性羊与抗体阴性羊的 FSH 含量 (平均数 ±标准差)

Fig. 2 The positive and negative level of FSH after twice immunization

### 2.4 产羔结果

1)抑制素基因免疫诱导双胞胎结果(表 5)。试验羊共产羔 38 胎次,其中双羔 12 胎,单羔 26 胎。用卡方检验,各免疫组的双羔次数与对照组比差异显著 ( $P < 0.05$ ),双羔率显著增高,比对照组高 29.2%。各免疫组间双羔次数差异不显著 ( $P > 0.05$ )。

2)抗体阳性羊与产双羔羊的相关性分析(表 6)。抗体阳性羊与产双羔羊之间呈显著相关 ( $P < 0.05$ ,相关系数为 0.966)。

表 5 免疫羊的繁殖率

Table 5 The reproduction rate of sheep in different groups after twice immunization

组别	双羔/胎次	单羔/胎次	合计/胎次	产羔数/只	双羔率/%
T1	5	5	10	15	50.0
T2	4	6	10	14	40.0
T3	2	6	8	10	25.0
CK	1	9	10	11	10.0
TT	11	17	28	39	39.2

表 6 抗体阳性羊的双胎数

Table 6 The data of positive twin lambs after twice immunization

组别	抗体阳性数	双胎数	阳性 + 双胎
T1	6	5	4
T2	5	4	4
T3	3	2	2
CK	0	1	0
TT	14	11	10

## 3 讨论

### 3.1 抑制素基因免疫绵羊的免疫反应性

1)抑制素的常规免疫中,免疫原性与免疫源的结构有关,天然免疫源的免疫原性最好<sup>[9]</sup>。基因免疫中载体、靶抗原、多价抗原的表达,质粒传递途径都会影响其免疫原性。抑制素基因免疫 pCIS 质粒所选用的乙肝表面抗原基因作为一种载体蛋白基因,已与许多目的基因融合成多种杂合肽,并且使目的基因表达产物获得了很好的免疫原性<sup>[10]</sup>。pCIS 在鼠体内的表达产物能够引起鼠的免疫应答,这说明融合到乙肝表面抗原上的抑制素基因的表达产物能够暴露在它的表面,抑制素融合表达质粒具有一

定的抑制素免疫学活性<sup>[4,5]</sup>,但由于基因免疫在不同的动物体内所引起的免疫反应差异较大,所以不能说明 pCIS 质粒对不同遗传背景的动物提供同样的免疫应答。本研究用抑制素 (1~32) 基因与乙肝表面抗原基因的融合表达质粒 pCIS 免疫绵羊,成功地检测到抗抑制素抗体,阳性率可达 46.7%(14/30)。这说明融合到乙肝表面抗原上的抑制素基因的表达产物同样能够在绵羊体内表达且表达产物具有抑制素免疫学活性。

2) 抑制素的常规免疫中,在一定的免疫原剂量内,免疫的效果与免疫的剂量呈正相关。剂量不足不能引起反应。基因免疫中影响免疫效果的因素比较复杂,质粒的大小、免疫接种途径和方法,接种局部细胞摄取 DNA 和抗原递呈能力等都对免疫有影响。周永兴<sup>[11]</sup>等给小鼠注射不同剂量(50,100,150 和 200 μg)的 HCV 基因疫苗,免疫 2 周后均产生了特异性的抗体,且与免疫剂量相关。张梦华<sup>[12]</sup>等对汉滩病毒 S 基因免疫的结果表明:50~250 μg 的免疫反应不呈剂量依赖关系。本次试验结果看到,免疫的效果并没有完全随着剂量的增加而提高。通过对抗体 P/N 值、抗体阳性率的比较及抗体 P/N 值与抗体阳性率相关性的分析,可以看出抑制素基因免疫的效果在一定范围内与剂量呈正相关,免疫剂量过大反而会造成免疫效果下降。由于本次试验剂量设置上的限制,不能说明最佳免疫剂量,但在以上的免疫剂量中 0.4 mg·只<sup>-1</sup>是最佳免疫剂量。

在基因免疫中加强免疫可以提高免疫效果,特别是大型哺乳动物,结缔组织丰富,影响了基因免疫的转染效率。冯志华<sup>[13]</sup>等用丙型肝炎病毒核心基因免疫小鼠,发现 2 次免疫的抗体 OD 值明显高于初次免疫,其 OD 值与免疫次数成正相关。本试验在首次免疫 20 d 后加强免疫一次,加强免疫后抗抑制素阳性抗体 P/N 值明显上升(1.97~2.50),抗体阳性羊的比例明显上升(20%~46.7%);因此增加抑制素基因免疫绵羊的次数可增强抑制素基因免疫的效果。

### 3.2 抑制素基因免疫对绵羊孪生的影响

抑制素免疫可中和体内的抑制素,降低有生物活性的抑制素水平,削弱其对 FSH 的抑制作用,提高基体 FSH 的水平,增加动物排卵数,提高动物繁殖率。姜勋平、茆达干<sup>[4,5]</sup>用抑制素真核表达质粒(pcINH)和抑制素基因融合表达质粒(pCIS),免疫大鼠,大鼠的 FSH 水平呈上升,大鼠排卵数显著增

加( $P < 0.05$ )。Cummins<sup>[14]</sup>从牛卵泡液中分离纯化抑制素主动免疫美利奴母羊,结果表明,免疫绵羊的平均排卵数增高(从 1 个提高到 23 个, $P < 0.01$ )。Wrathall 等报道,用合成牛-亚单位片断免疫绵羊,排卵数增加了 2 倍,FSH 水平在第 2 次加强免疫后比对照组提高 25%,双羔数比对照组提高 37%<sup>[15]</sup>。本试验中,抑制素基因首次免疫后第 10 天,免疫组的 FSH 水平有所上升,而在加强免疫第 45 天时免疫组的 FSH 水平显著高于对照组( $P < 0.05$ )。免疫组内相比,首次免疫第 20 天与加强免疫第 45 天,抗体阳性羊的 FSH 水平显著高于抗体阴性羊( $P < 0.05$ )。表明抑制素基因免疫中和了免疫羊体内抑制素,使 FSH 含量增高。免疫组的双羔数、双羔率与对照组存在显著差异( $P < 0.05$ ),双羔率比对照组高 29.2%。免疫羊的抗体阳性与免疫羊的双羔显著相关( $P < 0.05$ )。由此可见抑制素基因免疫能够调节绵羊体内的 FSH,促进卵泡发育和成熟,促使其排卵,诱导绵羊孪生。

### 参 考 文 献

- [1] McCullagh D R. Dual endocrine control of testes[J]. Science, 1932, 76: 19~20
- [2] William L M. Secretin of ovine Luteinizing hormone in vitro: different tial positive control by 17-E2 and apreparation of porcine ovarian inhibin [J]. J Endovr, 1985, 117: 907~911
- [3] 杨利国,等. 动物繁殖学[M]. 北京:中国农业出版社, 2003. 283
- [4] 姜勋平,杨利国,刘桂琼,等. 抑制素基因免疫对小鼠生殖的影响[J]. 中国兽医学报, 2002, 22(4): 368~370
- [5] 茆达干,杨利国,曹少先,等. 抑制素与乙肝表面抗原融合质粒的构建及表达[J]. 中国免疫学杂志, 2003, (11): 775
- [6] Uter M, Lew A M, Grob P, et al. BAC-VAC, a novel generation of DNA vaccines: bacterial artificial chromosome (BAC) containing a replication-competent, packaging-defective virus genome induces protective immunity against herpes[J]. Proc Natl Acad Sci, 1999, 96(22): 12697~12702
- [7] 沈维雄,魏徽,崔大敷,等. 人抑制素亚基片段的合成及抗体的制备[J]. 生殖与避孕, 1993, 13(2): 90~93
- [8] 杨利国,胡少昶,魏平华,等. 酶免疫测定技术[M]. 南京:南京大学出版社, 1998
- [9] Anderson S T, Bindon B M, Hillard M A, O'Shea T. Increased ovulation rate in Merino ewes immunized a-

- gainst small synthetic peptide fragments of the inhibin alpha subunit[J]. *Reprod Fertil Dev*, 1998, 10(5): 421 ~ 431
- [10] 徐文忠,杜念兴,李光地,等. 一种基因工程多价疫苗的抗原载体——人乙型肝炎病毒多聚体颗粒性抗原[J]. *病毒学报*, 1991, 7(4): 383 ~ 386
- [11] 周永兴,冯志华,贾战生. 丙型肝炎病毒核心基因免疫研究[J]. *华人消化杂志*, 1998, 6(11): 966 ~ 968
- [12] 张梦华,杨为松,黄长形,等. 汉滩病毒 S 基因真核表达载体的构建及免疫小鼠的初步研究[J]. *中华微生物学和免疫学杂志*, 1999, 19(1): 35 ~ 37
- [13] 冯志华,周永兴,贾战生. 丙型肝炎病毒核心基因免疫诱导细胞免疫应答研究[J]. *中华内科杂志*, 1999, 38(7): 462 ~ 464
- [14] Cummins L J. Increase in ovulation rate after immunization of Merino ewes with a fraction of bovine follicular fluid containing inhibin activity[J]. *J Reprod Fert*, 1986, 77: 365 ~ 372
- [15] 王根林. 抑制素对动物排卵的免疫调节[J]. *国外畜牧科技*, 1997, 24(2): 37 ~ 39

## · 成果介绍 ·

我校主持的国家“十五”科技攻关计划项目“生态农业技术体系研究与示范”中的“区域生态农业技术规范与保障体系研究”课题于 2004 年 5 月通过了农业部科技教育司组织的验收

该课题由资源与环境学院吴文良教授主持。课题完成了全国生态农业类型的分区,提出了区域生态农业发展战略目标和对策建议;在全国选择 8 个典型区域和 10 多个生态工程模式进行系统分析和总结,提出了相应的关键技术和保障条件;初步建立了区域生态农业管理信息系统及决策支持系统的基本框架,完成了主要功能模块的设计;提出了生态农业区主导产业整体发展战略、龙头企业培育、技术经济一体化途径、生态经济协调机制、调控措施与配套政策;建立了区域 CN 平衡模型方法和区域农业环境成本评估方法,并进行了实证研究。课题有关研究成果和农产品环境质量安全标准体系框架可以作为国家制定、调整和规范相关标准和规范的依据。

我校主持的国家“十五”科技攻关计划项目“生态农业技术体系研究与示范”中的“高效有机肥与缓释复合肥产业化技术与开发”课题于 2004 年 5 月通过了农业部科技教育司组织的验收

该课题由资源与环境学院李国学教授主持。课题围绕畜禽粪便等有机废弃物资源化和提高化肥养分利用率为目标,提出了实用新型的千吨、万吨槽式动态和仓式静态发酵堆肥技术及关键设备,以及配套的堆肥有机碳测定适用新方法,构建了木质纤维素快速分解菌群及发酵工艺,提出了减少氮素损失的原位控制新技术和控制新材料;研制出可供加工生产高浓度有机无机复混肥的新型有机粘结剂;研制出养殖污水制备活性液肥技术;提出了利用蚯蚓自身蛋白水解酶制备蚯蚓氨基酸液的加工工艺和氨基酸-微量元素螯合调控技术;建立了一套包膜肥料的研制、评价方法,创新研制出连续化肥料包衣设备和技术。课题形成 20 余个肥料新产品、4 种新材料(氮素损失控制材料、粘结剂和包膜材料)、7 项新工艺(槽式堆肥、原位氮素控制、有机复混肥造粒、畜禽污水液肥、连续化包衣等);建立了 2 个标准方法(堆肥有机碳测定和评价方法)、21 处试验基地、中试线和示范点(有机肥和有机复混肥、高值化生物有机肥料、液肥生产和尿素包衣等)。

(科学技术处供稿)