

Asia I 口蹄疫 vp2 蛋白单克隆抗体的制备及单抗竞争 ELISA 方法的建立

向敏, 张克山, 卢顺, 蔡利军, 罗勇, 张建民, 何华, 王勤刚, 吴斌

华中农业大学动物医学院 农业微生物学国家重点实验室, 武汉 430070

摘要: 制备 Asia I 口蹄疫病毒 vp2 单克隆抗体(mAb)并建立了单抗竞争 ELISA 方法。用纯化的 Asia I 型口蹄疫病毒 vp2 重组蛋白免疫 BALB/c 小鼠, 将免疫小鼠的脾细胞与骨髓瘤 SP2/0 细胞融合, 采用间接 ELISA 和有限稀释法筛选杂交瘤细胞。分别用 ELISA、Western blotting 检测 mAb 腹水的效价及其特异性。筛选到杂交瘤细胞 2 株, 腹水效价均在 100×2^9 以上; 以纯化后的 Asia I 型口蹄疫病毒 vp2 重组蛋白作为抗原, 利用 Asia I 型口蹄疫病毒 vp2 单抗酶标物建立了竞争 ELISA 方法用来检测 Asia I 型口蹄疫抗体。临床应用表明, 该方法与 UBI 公司的口蹄疫全病毒抗体检测试剂盒总符合率达 89.0%, 和荷兰赛迪公司的口蹄疫病毒 LPB-ELISA 抗体检测试剂盒总符合率达 86.5%。

关键词: 口蹄疫, 单抗竞争 ELISA, 单克隆抗体, vp2 蛋白

Preparation of Monoclonal Antibodies Against VP2 Protein of Asia I Type Foot-and-mouth Disease Virus and Establishment of a Competitive ELISA for the Detection of Antibodies

Min Xiang, Keshan Zhang, Shun Lu, Lijun Cai, Yong Luo, Jianmin Zhang, Hua He, Qingang Wang, and Bin Wu

State Key Laboratory of Agriculture Microbiology, College of Veterinary Medicine, Huazhong Agriculture University, Wuhan 430070, China

Abstract: Monoclonal antibodies against FMDV vp2 protein were prepared and a competitive ELISA based on the monoclonal antibodies and vp2 protein was established. Balb/c mice were immunized with *Escherichia coli* expressed fusion protein. The splenocytes from immunized mice were fused with myeloma cells SP2/0. The hybridism cells were screened by indirect ELISA and limited dilution method. Two hybridoma cell lines secreting mAbs against Asia I type foot-and-mouth disease were obtained. The titer and relative affinity of mAbs were determined by ELISA. Specificity of mAbs was analyzed by Western blotting. The ELISA titers of the ascites induced by the two hybridism cells were above 100×2^9 . A competitive ELISA for the use of FMDV antibody detection was established using *E. coli* expressed fusion protein as coating antigen and HRP-labeled mAb as detecting antibody. Clinical tests showed the method had 89.0 percent agreement with UBI Kit to detection of FMDV antibodies and 86.5 percent agreement with LPB-ELISA kit (Ceditest kit) for detection of antibodies against Foot-and-Mouth Disease Virus respectively.

Keywords: foot-and-mouth disease virus (FMDV), vp2 protein, monoclonal antibodies (mAb), competitive ELISA(C-ELISA)

Received: January 9, 2008; **Accepted:** May 5, 2008

Supported by: the National Science & Technology Pillar Program (No. 2006BAD06A18).

Corresponding author: Bin Wu. Tel: +86-27-87283005-6209; E-mail: wub@mail.hzau.edu.cn

国家科技支撑计划项目(No. 2006BAD06A18)资助。

口蹄疫(Foot-and-mouth disease, FMD)是由口蹄疫病毒(Foot-and-mouth disease virus, FMDV)感染引起的偶蹄动物的急性、热性、接触性传染病,该病在世界分布很广。口蹄疫对畜牧业生产,人民生活 and 国民经济危害性极大,被国际兽医局(OIE)和联合国粮农组织(FAO)列为 A 类一号烈性传染病。

口蹄疫病毒现有 A、O、C 型(欧洲型)、SAT1、SAT2、SAT3(非洲型)和 Asia I 型(亚洲型等)7 个互无交叉免疫的血清型。在长期进化过程中,产生了许多突变株,目前已有 80 多种亚型,同一血清型内的不同亚型或分离株的抗原性皆有不同程度的差别,血清学交叉反应的程度也各不相同,这种特性给口蹄疫的诊断和防治带来极大的困难。

口蹄疫基因组 RNA 约 8500 个碱基,仅有 1 个开放阅读框;衣壳由 VP1、VP2、VP3、VP4 四种结构蛋白组成,VP1、VP2、VP3 位于病毒的表面,VP4 位于衣壳的内部。目前,关于 FMDV 蛋白的研究主要集中在 VP1、2C、3A、3B、3C、3D 等蛋白上,而对 vp2 报道比较少。但已有国外学者研究表明 VP2 蛋白具有免疫原性^[1-3],因此动物体内的 FMDV 抗体能够与 VP2 蛋白发生特异性反应^[4]。

另外,从 4 种结构蛋白的变异顺序看:VP1>VP3>VP2>VP4,VP1 变异性最大,vp4 位于病毒衣壳的内部,动物机体很少产生针对 VP4 蛋白的抗体,而 vp2 相对保守。因此,vp2 蛋白作为抗原来检测动物机体内的口蹄疫抗体有其自身的优点。

近年来,我国多个省市相继报告 Asia I 型口蹄疫疫情,其严重威胁畜牧业的健康发展和正常的畜产品贸易。控制口蹄疫主要途径之一是采用疫苗免疫的方法,因此有必要建立疫苗免疫后抗体水平检测的方法。而单克隆抗体具有高度均质性和高度特异性的特点,在生物医学领域得到广泛的应用。本研究制备了 Asia I 型口蹄疫病毒结构蛋白 vp2 基因单克隆抗体,旨在建立一种敏感、特异的方法来进行疫苗免疫后的抗体水平评价,并为进一步研究 VP2 蛋白其它特性奠定基础。

1 材料和方法

1.1 菌株、载体、酶类试剂和实验动物和细胞

大肠杆菌(*E. coli*)BL21(DE3)由本室保存。SP2/0 多发性骨髓瘤细胞、BHK-21 细胞由本室保存。4~6

周龄雌性 Balb/c 小鼠购自湖北省疾病控制中心。RPMI-1640 培养基、DMEM 培养基、HAT 盐(100×)和 HT 盐(100×)购自 Gibco 公司。完全弗氏佐剂与不完全弗氏佐剂均购自 Sigma 公司。超级新生牛血清购自杭州四季青生物工程材料有限公司。融合剂(PEG4000)、羊抗鼠 IgG-HRP 和 8-杂氮鸟嘌呤为 Sigma 公司产品。青、链霉素为华北制药厂产品。Taq 酶、dNTP、限制性内切酶 *Bam*H I 和 *Hind* III、DL2000 DNA Marker、DL15000 DNA Marker、pMD18-T 载体、T4 DNA 连接酶均为大连宝生物工程有限公司产品。质粒抽提试剂盒和胶回收试剂盒均购自上海生工生物有限公司。

1.2 VP2 蛋白的获得和纯化

根据 GenBank 公布的参考序列利用 Primer5.0 软件设计了一对包含 vp2 全基因的引物,引入了 *Bam*H I 和 *Hind* III 酶切位点,命名为 P1、P2。

P1: 5'-AAAGGATCCATGGACAAGAAAACGG AAG-3'

P2: 5'-AAAAAGCTTTTACTCTTTCGAGGGCA GC-3'

上述引物由上海生工生物有限公司合成。

按常规方法获得重组质粒 KG-VP2,把重组质粒分别转化 *E. coli* BL21(DE3),挑取单菌落于含有氨苄青霉素(终浓度为 50 μg/mL)的 LB 培养基中,37°C、225 r/min 摇床培养至对数生长期($OD_{600}=0.6\sim 1.0$)时,加入 IPTG 诱导表达 3.5 h,表达的重组蛋白 KG-VP2 用 g-200 分子筛过柱进行纯化。

1.3 单克隆抗体的制备

1.3.1 间接 ELISA 检测方法的建立

采用方阵滴定法确定间接 ELISA 所用包被抗原和抗体的最适工作浓度。将纯化的 KG-VP2 抗原、BALB/c 小鼠阳性血清和阴性血清均作倍比稀释,同时设立 sp2/0 细胞培养上清及空白对照,选择 OD_{630} 值在 1.0 左右,P/N 比值最大的抗原稀释浓度为最适工作浓度。

1.3.2 动物免疫

用重组抗原 KG-VP2 和灭活疫苗免疫 4~6 周龄的雌性 Balb/c 小鼠各 5 只,按照 A. Sanyal 等^[5]免疫程序方法进行免疫。在融合前的第 3 天选择抗体滴度高的 Balb/c 小鼠腹腔注射重组抗原 KG-VP2 各 200~300 μg/只进行加强免疫。用间接 ELISA 测定血清效价,效价达到后即可取脾进行细胞融合。

1.3.3 细胞融合

采用常规方法进行细胞融合^[6]。

1.3.4 杂交瘤细胞的筛选与腹水的制备

融合后,待细胞集落生长到培养板的孔面积的1/5时,用间接ELISA方法对其进行筛选,同时用空载体转化的*E. coli* BL21(DE3)的诱导产物作对照对细胞培养上清进行检测,只选用对重组抗原为阳性,而对照为阴性的杂交瘤细胞。之后用有限稀释法对阳性细胞进行克隆,经多次克隆至细胞生长孔100%为阳性为止。纯化后的杂交瘤细胞腹腔注射经不完全弗氏佐剂处理的Balb/c小鼠制备腹水。腹水中的mAb用辛酸-硫酸铵法纯化^[7]。

1.3.5 腹水 mAb 的效价及 Ig 亚型的测定

①腹水 mAb 的效价测定:采用间接ELISA法。

②mAb Ig 亚型的鉴定:用表达蛋白包被ELISA板,mAb 做一抗,HRP 标记的羊抗鼠各型 Ig 作为二抗,做ELISA鉴定。

1.4 酶标抗体的制备及抗原包被浓度和酶标抗体浓度的确定

用改良过碘酸钠标记法^[8]略加修改,获得所需酶标单抗。再采用方阵法,测酶标抗体的工作浓度和表达蛋白的最佳包被浓度。

1.5 血清最适稀释度的选择

选取4份标准阳性血清,4份标准阴性血清分别稀释2、4、8、16倍测定阴阳性血清的抑制率,确定合适的血清稀释度。血清抑制率(1%)=(阴性对照 OD_{630} 值-被检血清 OD_{630} 值)/(阴性对照 OD_{630} 值-阳性对照 OD_{630} 值) $\times 100\%$ ^[9]。

1.6 最佳竞争反应时间

按常规法作竞争ELISA实验,测定OD值,计算抑制率,确定血清的最佳反应时间。

1.7 阴阳界线的确定

用竞争ELISA对10份FMDV阳性猪血清,146份FMDV阴性猪血清进行检测,计算血清抑制率,根据阴阳性血清的抑制率分布确定阴阳性临界值。

1.8 封闭液的选择

分别用含0.5%BSA、1%BSA、5%脱脂乳、10%小牛血清的PBST洗涤液作为封闭液。均按2倍稀释测定阴阳性血清的抑制率,确定合适的封闭液。

1.9 竞争 ELISA 反应程序

将表达蛋白用0.05 mol/L、pH 9.6的碳酸盐缓冲

液(PBS)稀释至最适包被浓度,包被酶标板,每孔100 μ L,每次操作均设一调零孔,该孔中只加入底物和终止液,用以读数时调零。加入抗原后,轻振酶标板,使抗原在孔底均匀铺开,37 $^{\circ}$ C 1 h后转4 $^{\circ}$ C过夜。次日用PBST洗涤2次,每次2 min;然后以5%脱脂牛奶封闭酶标板,每孔加入150 μ L,37 $^{\circ}$ C作用1 h后以PBST洗涤,方法同前。然后将每份待检猪血清取50 μ L加入酶标孔中,随即加入稀释到工作浓度的酶标单抗,同时设立标准阳性、标准阴性血清对照。37 $^{\circ}$ C作用60 min,洗涤3次后,加入底物液显色10 min,0.25% HF终止。用酶标仪测 OD_{630} 值并计算血清抑制率。

1.10 特异性鉴定

用竞争ELISA方法分别检测猪传染性胸膜肺炎放线杆菌、链球菌、副猪嗜血杆菌、蓝耳病毒、乙脑病毒、口蹄疫阳性血清和口蹄疫阴性血清,测定血清的抑制率。

1.11 重复性试验

不同操作者检测同一样品的重复性试验:3位不同操作者分别对口蹄疫抗体阳性血清和阴性血清进行检测,比较不同操作者之间的结果差异。

2 结果

2.1 VP2 蛋白的获得和纯化

经琼脂糖凝胶电泳检测,扩增到了大约650 bp的vp2片段与预期大小相符。经测序证明,该片段为vp2基因。再经PCR和酶切鉴定,重组质粒PGEX-VP2的基因片段与预期长度符合。

重组原核表达质粒KG-vp2分别转化*E. coli* BL21(DE3)后,经IPTG诱导获得表达。SDS-PAGE显示表达蛋白的分子量为49 kD与理论大小相符。结果见图1、2。

2.2 间接 ELISA 方法的建立

采用方正滴定,横排稀释纯化的vp2抗原,纵排稀释血清。抗原稀释倍数分别是20、40、80、160、320、640。最后确定蛋白最佳稀释度1:800(蛋白终浓度为3.2 μ g/mL)。

2.3 单克隆抗体细胞株筛选

进行有限稀释法克隆,直至阳性克隆率达100%,获稳定分泌抗单克隆抗体的2F₁₂、5F₅2个细胞株。

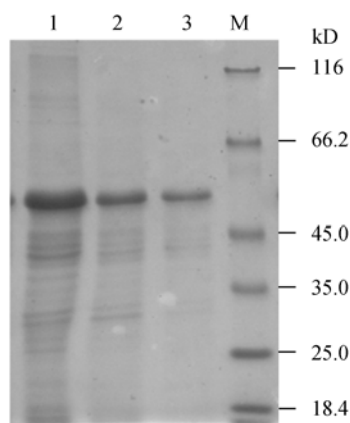


图 1 大肠杆菌表达蛋白 KG-*vp2* 的 SDS-PAGE 鉴定
Fig. 1 SDS-PAGE analysis of *E. coli* expressed protein KG-VP2

1~3: expression of KG-*vp2* in *E. coli* BL21; M: protein marker

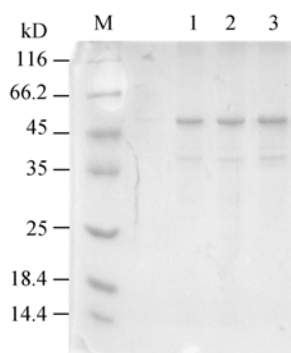


图 2 大肠杆菌表达蛋白 KG-*vp2* 的纯化及 Western blotting

Fig. 2 Purified product of KG-*vp2* protein and Western blotting

1~3: purified KG-*vp2* protein; M: protein marker

2.4 单克隆抗体效价测定

用间接 ELISA 鉴定单克隆抗体的亚类, 结果表明两株单抗都属于 IgG1, 杂交瘤细胞经液氮保存 3、6、9 个月后复苏仍具有稳定的分泌能力, 其小鼠腹水效价未见明显降低。其上清和腹水的 ELISA 效价如表 1。

表 1 单克隆抗体效价
Table 1 The titers results of McAbs

mAb	2F ₁₂	5F ₅
Titer of supernatant	2 ⁷	2 ⁹
Titer of acite	2 ⁹ ×100	2 ¹² ×100

2.5 酶标抗体的建立及效价的测定

通过上述步骤把 5F5 进行酶标共标记 3 次, 用间接 ELISA 方法测定其效价, 第 3 次酶标单抗稀释度为 1:12800 时, OD₆₃₀ 值为 1.054, 因此选取第 3 次酶标效价的结果, 最后确定蛋白最佳稀释度为

1:800(蛋白终浓度为 3.2 μg/mL), 酶标单抗最佳稀释度为 1:12 800。

2.6 血清最适稀释度的选择

如表 2 所示, 确定血清稀释 2 倍为合适的血清稀释度。

表 2 血清最适稀释度的选择

Table 2 Determination of working dilution of serum sample

Serum sample	Inhibition rate (I%)			
	2-fold diluted	4-fold diluted	8-fold diluted	16-fold diluted
1(+)	97	87	75	64
2(+)	95	90	90	78
3(+)	87	79	66	57
4(+)	82	70	70	60
5(-)	23	21	17	20
6(-)	22	22	21	19
7(-)	21	20	21	20
8(-)	20	18	20	18

2.7 最佳竞争反应时间

经上述方法测得血清最佳竞争反应时间为 60 min。

2.8 阴阳界限的确定

10 份阳性血清 I>50%, 146 份阴性血清中 103 份血清 I≤50%, 2 份血清 40%<I≤60%, 确定 I>60%为阳性, I≤40%为阴性, 40%<I≤60%为可疑血清。

2.9 封闭液的选择

5%脱脂乳组阳性血清抑制率最大, 封闭效果最好, 确定为封闭液。

2.10 最佳竞争反应时间

应用常规方法最后确定 37°C 作用 60 min 为血清的最佳反应时间。

2.11 特异性鉴定结果

根据方法 1.8, 计算血清抑制率 I, 均小于 50%, 判定为阴性血清。

2.12 敏感性实验

用竞争 ELISA 检测 8 份口蹄疫强阳性血清, 8 份弱阳性血清, 8 份口蹄疫强阳性血清 I 均>80%, 8 份弱阳性血清中有 7 份血清 I 均>60%, 1 份血清 50%<I≤60%。

2.13 重复性试验结果

3 位操作者对 4 份血清的检测结果基本一致。表明本方法具有良好的稳定性和重复性^[11]。

2.14 抗体检测

用竞争 ELISA 共检测了湖北的 3 个猪场送检的 540 份血清。其中 A, B 两猪场主要送检哺乳仔猪, 保育猪, 生长猪, 母猪, C 猪场主要送检 60~80 日龄的

小猪,结果如图和各猪场打苗情况相符。

C 猪场 60~80 日龄抗体效价检测全阴性,经询问该猪场没打口蹄疫疫苗,跟口蹄疫全病毒间接 ELISA 试剂盒(UBI 公司),以及荷兰赛迪公司的口蹄疫 LPB-ELISA 试剂盒符合率达 100%。A, B 两猪场检测结果和 UBI 公司的口蹄疫全病毒试剂盒总符合率达 89.0%,和荷兰赛迪公司的口蹄疫试剂盒符合率达 86.5%。

3 讨论

口蹄疫仍然是世界各国密切关注的最重要的动物传染病之一。发展中国家多采用常规疫苗免疫的方法控制该病的流行。坚持实施疫苗注射是我国预防口蹄疫的长期策略。因此应全面普遍实施疫苗预防接种。其中最常用于检测 FMDV 抗体的方法是病毒中和试验和 ELISA 方法,这两种方法也是国际贸易中指定的使用方法^[10,11]。

FMDV 结构蛋白 VP2 位于病毒粒子的表面,是 FMDV 重要的结构蛋白之一。目前已经研究表明 FMDV 的 VP2 蛋白具有抗原性, Crowther 和 Kitson 等在研究过程中,用单克隆抗体(McAb)证实了 VP2 的 70~80 和 131~134 氨基酸残基为抗原表位;有关学者也报道 A 型 FMDVA5 亚型的 VP2 蛋白上有由 2 个线性表位组成中和抗原位点,包括第 72 和 79 位的氨基酸。因此,动物体内 FMDV 抗体均可以与 VP2 蛋白发生特异性反应^[12,13]单克隆抗体具有高度均质性和高度特异性的特点^[14]。运用单克隆抗体能有效提高诊断的灵敏性和特异性。另外,抗原的纯度在免疫反应中十分重要,在本实验过程中,免疫的蛋白经过过柱纯化,因此免疫效果较好。

本研究主要运用竞争 ELISA 方法可以避免表达蛋白中含有大肠杆菌杂蛋白的影响,同时因为使用的是酶标单抗,可以用来检测多宿主动物样品。本次实验中制备的单抗 5F₅ 效价高,亲和力强,为方法的建立打下了良好的基础。通过大量实验证明该株单抗符合率较好,但由于单抗结合位点单一,且亲和力不同,如果多株单抗进行叠加包被,用于竞争法是否会取得更好的效果,还有待进一步的研究。

在竞争 ELISA 试验中,参与反应的成分较多,需要多重反应步骤,因此降低非特异性反应尤为重要,本实验最终采用了 5%脱脂乳作为封闭液,取得了较好的效果。阴阳性界限的确定也是检测技术准确

性的关键。通常应检测大量确定阴性的临床血清,根据其检测值的分布图取最高值,以排除非特异性反应。本实验使用了 146 份被口蹄疫全病毒间接 ELISA 试剂盒(UBI 公司)检测是阴性血清的作为阴性样品。

传统的口蹄疫诊断和检疫方法主要有补体结合试验、琼脂扩散试验、中和试验、间接血凝试验等。这些方法虽然在实践中也有运用,但仍然存在诊断周期较长等不足之处。近年来,也有些分子生物学方法运用于口蹄疫诊断,但仪器较贵,成本较高^[14]。也不利于基层推广。ELISA 方法用于口蹄疫的检测特异性与 CFT(补体结合实验)相同,但重复性好!快速!灵敏度更高,且节省试剂。因此被广泛推广运用本研究中制备了 Asia I 型口蹄疫毒株的单克隆抗体及检测方法,并具备高度特异性,可作为口蹄疫抗体检测试剂,为口蹄疫抗体的普查奠定了基础。

REFERENCES

- [1] Crowther JR. Identification of a fifth neutralizable site on type O FMDV following characterization of single and quintuple monoclonal antibody escape mutants. *J Gen Virol*, 1993, **74**: 2547-2553.
- [2] Kitson JD. Sequence analysis of monoclonal antibody resistant mutant of type O FMDV: evidence for the involvement of the three surface exposed capsid proteins in four antigenic sites. *Virology*, 1990, **179**: 26-34.
- [3] Aggarwal N, Barnett PV. Antigenic sites of foot-and-mouth disease virus (FMDV): an analysis of the specificities of anti-FMDV antibodies after vaccination of naturally susceptible host species. *J Gen Virol*, 2002, **83**: 775-782.
- [4] Qu ZH, Wang JW, Li G, et al. Prokaryotic expression and antigenicity characterization of foot-and-mouth disease virus VP2 gene. *Chin J Preva Veter Med*, 2007, **29**(2): 91-95. 曲哲会, 王君伟, 李刚. 口蹄疫病毒 VP2 基因的原核表达及抗原性检测. *中国预防兽医学报*, 2007, **29**(2): 91-95.
- [5] Sanyal A, Venkataramanan R, Pattnaik B. Antigenic features of foot and mouth disease viruser O type Asia I as revealed by monoclonal antibodies and neutralization escape mutants. *Virus Res*, 1997, **4**: 168-173.
- [6] Shi LR. Hybridoma Technique—Preparation of monoclonal antibody. Wuhan: Wuhan Institute of Bioproduct, 1984. 史良如. 杂交瘤技术——单克隆抗体的制造. 卫生部武汉生物制品所, 1984.
- [7] Liu XB, Cai MY, Wang X, et al. One simple and efficient method for purification of IgG McAb from mice ascites: caprylic acid/ammonium sulfate precipitation. *J West China Unive Med Sci*, 1999, **30**(4): 455-456. 刘晓波, 蔡美英, 王霞, 等. 一种简单实用纯化腹水 McAb 方法: 辛酸/硫酸铵法. *华西医科大学学报*, 1999, **30**(4): 455-456.

- [8] Shen GX, Zhou RL. Modern Experimental Immunotechnology. Wuhan: Hubei Science and Technology Press, 1998, 112-119.
沈关心, 周汝麟, 主编. 现代免疫学实验技术. 武汉: 湖北科学技术出版社, 1998, 112-119.
- [9] Yang M, Clavijo A, Li M, *et al.* Identification of a major antibody binding epitope in the non-structural protein 3D of foot-and-mouth disease virus in cattle and the development of a monoclonal antibody with diagnostic applications. *J Immunol Methods*, 2007, **321**(1-2): 174-181.
- [10] Yin Z, Liu JH. Animal Virology, 2nd ed. Beijing: Sciences Press, 1997.
殷震, 刘景华. 动物病毒学(第二版). 北京: 科学出版社, 1997.
- [11] Mackay DK, Forsyth MA, Davies PR, *et al.* Differentiating infection from vaccination in foot-and-mouth disease using a panel of recombinant non-structural proteins in ELISA. *Vaccine*, 1997, **16**: 446-459.
- [12] Armstrong RM. The detection of antibodies against foot-and-mouth disease virus in sheep milk. *J Virol Methods*, 1997, **69**(1-2): 45-51.
- [13] Etteradossi N, Toquin D, Rivallan G, *et al.* Modified activity of a VP2-located neutralizing epitope on various vaccine, pathogenic and hypervirulent strains of infectious bursal disease virus. *Arch Virol*, 1997, **142**: 255-270.
- [14] Yu XL, Xiao SB, Fang LR, *et al.* High expression of the foot-and-mouth disease structural protein P1 in *Escherichia coli* and analysis of its biology activity. *Chin J Biotech*, 2005, **21**(1): 163-166.
余晓岚, 肖少波, 方六荣. 口蹄疫病毒 P1 基因在大肠杆菌中的高效表达及其生物活性的初步分析. 生物工程学报, 2005, **21**(1): 163-166.

科学出版社科学出版中心生命科学分社新书推介

农业定量遥感基础与应用 (精装)

王纪华 赵春江 黄文江 等著

978-7-03-022434-7 ¥88.00 2008年8月31日出版

本书是作者多年来从事农业定量遥感研究与应用的成果,书中涉及的内容主要反映了近年来北京市农林科学院国家农业信息化工程技术中心在国家“973”、“863”、国家自然科学基金、农业部“948”、北京市科技计划等项目的支持下,与多家科研教学单位的同行通力合作取得的科研成果。

本书系统地介绍了农业定量遥感基础、农业定量遥感数据获取方法、农业定量遥感数据处理方法、作物信息定量遥感理论与模型以及定量遥感技术在农业中的应用。



中国食品安全控制研究

魏益民 刘为军 潘家荣 著

978-7-03-021909-1 ¥29.00 2008年8月30日出版

本书在有关食品安全控制理论分析的基础上,借鉴国际组织和发达国家食品安全控制的基本经验,对中国食品安全的历史变迁进行了系统研究,通过深入分析中国各阶段食品安全控制的变迁特征、变迁规律以及存在的问题,从国际和国内两个视角总结了食品安全系统化、综合化控制的总体趋势,提炼了食品安全控制的关键影响因素,最终提出了新型食品安全“网链控制”模式,从理论和实践两方面为解决中国的食品安全问题提供了一种新的思路。

作为一部食品安全管理领域的学术论著,本书适合于从事食品安全研究的科研人员、负责食品安全监管的行政管理人员及食品企业管理人员阅读,也可作为食品质量与安全专业的高校教师、本专科学生及硕士研究生的参考书。



海洋生物资源保护与管理

傅秀梅 王长云 编著

978-7-03-022090-5 ¥55.00 2008年8月25日出版

在对海洋生物资源及栖息环境特性分析的基础上,综合运用可持续发展理论、系统动力学理论、生态系统理论、生态经济学理论、生态足迹理论和循环经济理论,对海洋生物资源、海洋环境、海洋生态系统、海洋经济及其关系进行了理论分析;对我国海洋生物资源、海洋环境、生态系统、物种多样性状况和开发利用中存在的问题及原因进行了剖析;依据可持续发展等理论,参照国外海洋生物资源开发利用、管理与保护模式,构建海洋生物资源科学管理系统,提出我国海洋生物资源适度开发利用主张,设计综合、系统、整体保护与管理策略,以实现海洋生物资源的可持续利用。

本书可作为海洋生物、海洋生态、海洋渔业、海洋水产、海洋环境、海洋经济、海洋管理等领域的科研人员和从事海洋资源环境开发、规划、管理、保护的政府管理部门及管理者的参考书;可作为海洋生物学、海洋生态学、海洋环境科学、海洋经济学、海洋渔业、海洋管理等学科方向的本科生、研究生的学习参考书。



欢迎各界人士邮购科学出版社各类图书(免邮费)

邮购地址:北京东黄城根北街16号 科学出版社 科学出版中心 生命科学分社 邮编: 100717

联系人:阮芯 联系电话:010-64034622(带传真)

更多精彩图书请登陆网站 <http://www.lifescience.com.cn>