

本期主要选择动物及兽医生物技术、农业生物技术等文章进行导读。

## 动物及兽医生物技术

现代生物技术发展迅速,已广泛应用于畜牧兽医领域的动物品种改良与培育、新型疫苗创制与诊断技术研发以及动物病原致病及免疫机制的研究,推动了动物分子育种与抗病育种、动物用生物制品的更新换代,极大地促进了畜牧兽医领域基础研究的创新。

细胞免疫(cell-mediated immunity)是机体适应性免疫的重要方面,在抵抗病原体感染、清除病原体感染细胞和肿瘤细胞以及组织器官移植排斥等机体防御中举足轻重。因此,评价细胞免疫应答水平对于癌症诊断与治疗、组织器官移植后免疫状态监测、病毒性疾病诊断与预防以及疫苗免疫效果评价等方面具有重要的意义和价值。近年来,一些新的细胞免疫检测与分析技术发展迅速。陆战豪等<sup>[1]</sup>综述了细胞免疫应答评价方法的研究进展,从机体整体水平、组织器官水平、免疫细胞水平以及免疫分子水平,对细胞免疫应答的检测技术与评价方法进行了系统的整理和比较分析,特别是归纳了近年来新发展的检测技术,为细胞免疫检测技术与评价方法在癌症诊断与治疗、组织器官移植排斥反应的调控以及疫苗免疫效力评估中的选择与应用提供了重要参考。

固有免疫应答在机体抵抗细菌、病毒、真菌等病原体感染中发挥重要作用。猪支原体肺炎是一种严重影响养猪生产的慢性消耗性

呼吸系统传染病,其病原为猪肺炎支原体(*Mycoplasma hyopneumoniae*)。深入了解猪肺炎支原体感染诱导的固有免疫应答对于疾病的防治具有重要的科学意义。赖加翠等<sup>[2]</sup>较为全面地综述了猪肺炎支原体感染诱导的固有免疫应答研究进展,涉及猪肺炎支原体感染所致的炎症反应、固有免疫系统对猪肺炎支原体的识别、髓样细胞在清除猪肺炎支原体中的作用、补体系统、抗菌肽、猪肺炎支原体与自噬以及猪肺炎支原体诱导的细胞凋亡,并指出了今后开展猪肺炎支原体感染的固有免疫应答的研究方向。

干扰素(interferon, IFN)作为一种重要的细胞因子,具有抗病毒、抗肿瘤、抗寄生虫和免疫调节等生物学功能。通过基因工程技术制备的重组人干扰素已实现商品化,并广泛应用于医学领域多种疾病的预防和治疗,但在兽医领域的应用相对迟缓。王凌云等<sup>[3]</sup>利用中国仓鼠卵巢(Chinese hamster ovarian, CHO)细胞表达系统制备出重组猪 IFN- $\gamma$  (rPoIFN- $\gamma$ ),并分析了rPoIFN- $\gamma$ 的体外抗病毒活性。结果显示,制备的rPoIFN- $\gamma$ 对细胞无毒性,VSV/PK-15系统检测的活性效价为 $5.59 \times 10^7$  U/mg,可诱导细胞内多种干扰素刺激基因(interferon-stimulated genes, ISGs)和细胞因子的表达,并显著抑制塞内卡病毒A型(Seneca virus A, SVA)的复制,为分析rPoIFN- $\gamma$ 的功能以及研发抗病毒制剂提供了试验材料。

非洲猪瘟病毒(African swine fever virus,

ASFV)是目前严重危害我国生猪产业健康发展的重要病原,尚无安全有效的疫苗。ASFV 的结构复杂,其基因组编码的大多数蛋白的生物学功能尚不清楚。因此,研究 ASFV 编码蛋白的功能及其相关免疫逃逸机制具有重要意义。ASFV 的 *I226R* 基因可能与病毒毒力和复制有关。李亚波等<sup>[4]</sup>分析了 ASFV *I226R* 蛋白抑制 cGAS-STING 信号通路的分子机制。结果显示, pI226R 显著抑制 cGAS-STING 通路介导的 I 型干扰素及干扰素刺激相关基因的产生; pI226R 与 cGAS 蛋白可相互作用,并通过自噬-溶酶体途径促进 cGAS 蛋白的降解;同时, pI226R 阻碍了 cGAS 与 E3 泛素连接酶 TRIM56 的结合,导致 cGAS 的单泛素化减弱,从而抑制了 cGAS 的活化和 cGAS-STING 通路的激活,表明 ASFV pI226R 通过拮抗 cGAS 进而抑制宿主的抗病毒天然免疫反应。研究结果有助于对 ASFV 免疫逃逸机制的理解,对于疫苗的研发工作具有启示作用。

猪繁殖与呼吸综合征病毒(porcine reproductive and respiratory syndrome virus, PRRSV)引起妊娠母猪繁殖障碍和不同生长阶段猪的呼吸道疾病,对养猪生产影响巨大。现有商品化 PRRSV 减毒活疫苗存在安全性风险,灭活疫苗效力低下。娄慧聪等<sup>[5]</sup>针对近年来 PRRSV 的流行谱系毒株(谱系 1 的类 NADC30),并经优化毒株的 GP5 和 M 蛋白的基因序列,与干扰素和免疫球蛋白 Fc 区串联后,构建真核表达质粒 pCDNA3.4-IFN $\alpha$ -GP5-Fc 和 pCDNA3.4-IFN $\alpha$ -M-Fc,利用 HEK293T 真核表达系统表达出重组蛋白 IFN $\alpha$ -GP5-Fc 和 IFN $\alpha$ -M-Fc。进一步将 2 种重组蛋白与 ISA206VG 佐剂混匀免疫断奶仔猪,结果显示,IFN $\alpha$ -GP5-Fc 和 IFN $\alpha$ -M-Fc

组合免疫仔猪可诱导高水平的抗体和细胞免疫,为制备更为安全有效的新型 PRRSV 亚单位疫苗奠定了基础。

猪流行性腹泻病毒(porcine epidemic diarrhea virus, PEDV)是导致猪急性肠道传染病的重要病原体,对哺乳仔猪危害极大,可致 100%的病死率。PEDV 基因组编码的非结构蛋白 9 (nsp9)在冠状病毒家族中高度保守,并能够与单链 RNA 结合,但其确切功能尚不清楚。施朱桂等<sup>[6]</sup>通过免疫沉淀联合蛋白质谱分析,筛选出与 PEDV nsp9 潜在的宿主互作蛋白,并确认 nsp9 与热休克蛋白 HSPA8、Toll 相互作用蛋白 Tollip、热休克蛋白 HSPA9、线粒体外膜蛋白 TOMM70 互作。过表达 HSPA8 可引起 nsp9 的表达量先上调而后下调,并促进 PEDV 的增殖;过表达 Tollip 可显著上调 nsp9 的表达量,并抑制 PEDV 的增殖;过表达 TOMM70 可致 nsp9 的表达量显著下调,但对 PEDV 的增殖无明显影响;过表达 HSPA9 对 nsp9 的表达以及 PEDV 的增殖均无明显影响。研究结果为分析 nsp9 互作蛋白在 PEDV 感染过程中的生物学功能提供了重要信息。

口蹄疫(foot-and-mouth disease, FMD)是由口蹄疫病毒(foot-and-mouth disease virus, FMDV)引起的一种重要经济性动物疫病。目前,疫苗仍是防控 FMD 的有效手段之一,新型疫苗研发受到广泛关注。李家俊等<sup>[7]</sup>为进一步提高 FMD 病毒样颗粒(virus-like particles, VLPs)疫苗的免疫效果,采用仿生矿化方法,将 Zn<sup>2+</sup>和 2-甲基咪唑按照不同浓度配比制备了不同粒径的 FMDV VLPs-金属有机框架-8 (FMDV VLPs-ZIF-8)复合物,以分析尺寸效应对免疫效果的影响。结果显示,制备出 3 种不同粒径的 FMDV VLPs-ZIF-8

具有良好的生物安全性, 均能明显提高免疫小鼠的中和抗体和特异性抗体水平, 并且随着复合物体积的减小, 其免疫效果也随之增强。由此表明, ZIF-8 封装 FMDV VLPs 可显著增强其免疫效果, 且具有尺寸依赖性, 为提高 FMD VLPs 疫苗的免疫效果提供了重要试验数据。

工艺优化对于口蹄疫病毒 VLPs 疫苗的规模化生产十分重要。谭书桢等<sup>[8]</sup>构建出 piggyBac(PB) 转座-组成型表达、PB 转座-四环素(tetracycline, Tet)诱导型两套质粒, 通过抗生素筛选获得组成型表达 P12A3C (WT/L127P)基因的 BHK-21 细胞池(C-WT、C-L127P)和诱导型表达 P12A3C (WT/L127P)基因的 BHK-21 细胞池(I-WT、I-L127P), 并进一步证实细胞池 I-L127P 具有更强的衣壳蛋白和 VLPs 生产能力, 首次实现了哺乳动物细胞染色体诱导表达 FMDV 衣壳蛋白, 有助于推动哺乳动物生产 FMDV VLPs 疫苗的技术工艺, 也为构建其他蛋白的哺乳动物细胞诱导型表达系统提供了技术参考。

牛病毒性腹泻(bovine viral diarrhea, BVD)是由牛病毒性腹泻病毒(bovine viral diarrhea virus, BVDV)引起的一种急性、热性、高度接触性传染病, 对养牛业影响较大, 新型基因工程亚单位疫苗是 BVDV 疫苗的重要研发方向。李亚军等<sup>[9]</sup>利用中华仓鼠卵巢(CHO)细胞表达系统制备出 BVDV E<sup>ms</sup> 蛋白, 并分析了重组蛋白的免疫原性。结果显示, 重组蛋白可分泌表达至培养细胞上清; 重组蛋白具有良好的免疫原性, 免疫家兔后第 7 天血清抗体呈阳性, 并持续至免疫后第 28 天, 血清抗体效价水平可达 1:128 000; 并可诱导家兔产生中和抗体(中和效价为  $10^{2.71}$ ), 研究结果为 BVD 诊断及新型亚单位疫苗的研制奠定了相应基础。

山羊支原体山羊肺炎亚种(Mccp)是山羊传染性胸膜肺炎的病原, 尽管灭活疫苗可用于山羊传染性胸膜肺炎的免疫预防, 荚膜多糖(CPS)间接血凝试剂可用于山羊传染性胸膜肺炎的血清学检测, 但培养成本高昂和抗原定量复杂, 其应用受到限制。葛家振等<sup>[10]</sup>基于 Mccp 代谢组学, 初步筛选出初始 pH 值为 7.8 的可以同时提高 2 种抗原产量的糖发酵培养基; 利用紫外可吸收光谱可识别酚红, 以及十六烷基三甲基溴化铵(hexadecyl trimethyl ammonium bromide, CTAB)可与阴离子荚膜多糖结合的理论依据, 建立了利用紫外光谱分析 Mccp 达到的培养阶段, 以及利用 CTAB 沉淀法相对定量发酵液荚膜多糖抗原产量的方法, 可在 5 h 内完成对 CPS 含量的监测。研究结果为进一步改进 Mccp 灭活疫苗和荚膜多糖的生产工艺以及快速定量提供了试验依据。

MicroRNAs (miRNAs)是物种间保守的内源性表达的非编码小分子 RNA, 具有多种作用方式。已有的研究表明, miRNAs 是脂肪形成和脂质代谢的重要调控因子, 已鉴定的 miR-23b-3p 在山羊肌内脂肪细胞分化前后存在表达差异, 对山羊肌内脂肪细胞分化可能具有重要的调控效应。张力懿等<sup>[11]</sup>分析了 miR-23b-3p 在山羊肌内前体脂肪细胞分化过程中的表达模式、miR-23b-3p 对脂肪分化及脂肪分化标志基因的影响以及与预测靶标基因的靶向关系。结果显示, 过表达 miR-23b-3p 后山羊肌内脂肪细胞脂滴积聚减少, 成脂标志基因 AP2、C/EBP $\alpha$ 、FASN、LPL 表达水平极显著下调( $P < 0.01$ ), C/EBP $\beta$ 、DGAT2、GLUT4 和 PPAR $\gamma$  的表达水平显著下调( $P < 0.05$ ); 干扰 miR-23b-3p 表达后, 山羊肌内脂肪细胞中脂滴积聚增多, ACC、

ATGL、AP2、DGAT2、GLUT4、FASN 和 SREBP1 表达水平极显著上调( $P<0.01$ ), C/EBP $\beta$ 、LPL 和 PPAR $\gamma$  的表达水平显著上调( $P<0.05$ )。经生物信息学分析预测, PDE4B 可能为 miR-23b-3p 的靶标基因, 且过表达 miR-23b-3p 后极显著降低 PDE4B 的 mRNA 表达水平( $P<0.01$ ), 干扰 miR-23b-3p 后 PDE4B 的 mRNA 水平得到了显著提升( $P<0.05$ ); miR-23b-3p 与 PDE4B 基因存在靶向关系。由此表明, miR-23b-3p 通过靶向 PDE4B 基因调控山羊肌内前体脂肪细胞的分化。

布鲁氏菌病可致成年母羊流产、产弱胎, 公羊睾丸肿大、性功能降低。通过基因编辑技术快速选育山羊品系, 对于抗布鲁氏菌病育种具有重要意义。精原干细胞(spermatogonial stem cells, SSCs)是一类通过自我更新保持其数量稳定并且能够分化变形为精子的一类原始生殖细胞, 以 SSCs 作为种子细胞开展羊的遗传育种以及转基因克隆是目前的研究热点。溶酶体相关细胞器生物合成复合体 1 亚基 1 (BLOC1S1)具有抗布鲁氏菌的潜能。万仕成等<sup>[12]</sup>通过同源重组构建 BLOC1S1 过表达载体, 采用慢病毒包装、转染与嘌呤霉素筛选成功构建了山羊精原干细胞 BLOC1S1 过表达细胞株。结果显示, BLOC1S1 能显著增加山羊 SSCs 的增殖活性, 与增殖相关基因(PCNA、CDK2、CCND1)上调, 同时调控精原干细胞增殖的关键基因 EIF2S3Y 的表达量也上调, 为探讨 BLOC1S1 对山羊精原细胞的调控作用、分析 BLOC1S1 的生物学功能以及培育 BLOC1S1 修饰抗病山羊奠定了基础。

轻简化的诊断检测技术是动物疫病诊断的方向之一。小反刍兽疫(peste des petits ruminants, PPR)是由小反刍兽疫病毒(peste des petits ruminants virus, PPRV)引起的一种家养和野生

小反刍动物的病毒性疾病, 快速的 PPRV 抗体检测方法对于 PPRV 感染的诊断具有应用价值。董帅等<sup>[13]</sup>在制备 PPRV N 蛋白单克隆抗体的基础上, 利用 PPRV N 蛋白组装出检测 PPRV N 蛋白抗体的胶体金免疫层析试纸条。对 122 份临床血清的检测结果显示, PPRV 抗体检测试纸条与 ELISA 试验的符合率为 97.6%, 具有良好的特异性、重复性和敏感性, 可用于 PPRV 抗体的快速检测。

瘤胃厌氧真菌约占瘤胃微生物总量的 5%–20%。已有研究表明, 以秸秆作为底物进行厌氧真菌的体外发酵或直接与甲烷菌共培养后可获得更高的甲烷产量<sup>[14-15]</sup>, 但是目前不同碳源底物对厌氧真菌的诱导效果及其产酶机制尚不清楚。杜雪儿等<sup>[16]</sup>利用厌氧培养管在基础培养基中分别添加不同碳源复杂度的葡萄糖(Glu)、滤纸(Flp)、微晶纤维素(Avi)作为唯一碳源进行体外发酵, 检测了发酵液中的纤维降解酶活性和挥发性脂肪酸, 并利用转录组学分析了 *Orpinomyces* sp. YF3 的产酶机制。结果显示, 葡萄糖诱导下的发酵液中羧甲基纤维素酶、微晶纤维素酶、滤纸酶和木聚糖酶的活性以及乙酸的比例显著升高( $P<0.05$ ), 丙酸、丁酸、异丁酸的比例显著降低( $P<0.05$ ); 与纤维降解酶相关的差异表达基因(DEGs)在 Glu 组中显著上调, DEGs 主要集中在木聚糖酶、纤维素酶、葡萄糖和碳水化合物等的分解代谢过程及相关酶活性, KEGG 通路分析富集到的纤维降解酶相关的差异通路主要是淀粉和蔗糖代谢途径以及其他聚糖降解途径。由此表明以葡萄糖为碳源底物的 *Orpinomyces* sp. YF3 可增加纤维素降解酶活, 提高乙酸比例, 并通过调控纤维降解酶基因的表达及参与相关代谢通路提高对底物的降

解能力,提高能量利用效率,为 *Orpinomyces* sp. YF3 在实际生产中的应用提供了科学依据。

蜡样芽孢杆菌分布广泛,具有一定的致病性。不同的蜡样芽孢杆菌携带有不同的毒力因子,决定了蜡样芽孢杆菌株致病性的差异。陈云娇等<sup>[17]</sup>通过原核表达系统将溶血素 BL 三亚基重组表达,并对表达蛋白进行了纯化和部分生物学活性的检测。结果显示,牛源致病性蜡样芽孢杆菌溶血素 BL 可以在原核表达系统中实现表达和纯化,表达的 BL 具有溶血性、细胞毒性和良好的免疫原性,为进一步揭示蜡样芽孢杆菌溶血素 BL 的致病机制以及建立相应的检测方法奠定了基础。

蜕皮是许多变态发育昆虫的一种重要生理现象,昆虫通过蜕皮液中的酶对新旧表皮进行分离。已有研究表明,家蚕蜕皮液中具有一种含量丰富的羧肽酶 A (Bm-CPA),但其功能尚不清楚。张育浩等<sup>[18]</sup>通过生物信息学分析、实时荧光定量 PCR、抗体制备、免疫荧光染色和毕赤酵母表达等方法对 Bm-CPA 进行了分析。结果显示, Bm-CPA 具有保守的 M14 锌羧肽酶结构域和糖基化位点,并且受蜕皮激素(20E)调控,可在眠期和上簇期的表皮中大量表达; Bm-CPA 在眠期的表皮中富集, Bm-CPA 抑制剂会导致幼虫因无法蜕皮而死亡;成功获得大量的重组 Bm-CPA 蛋白,为深入了解家蚕蜕皮发育过程奠定了前期基础。

## 农业生物技术

丙酮酸脱氢酶 E1 组分  $\beta$  亚基-1 (pyruvate dehydrogenase E1 component subunit beta-1, *PDHB-1*) 基因是编码丙酮酸脱氢酶复合物 E1 酶  $\beta$  亚基的基因,在果实酸度积累过程中具有重要

作用。杨菁华等<sup>[19]</sup>利用 NCBI、Pfam 等数据库和 ClustalX、MEGA、TBtools 等软件进行生物信息学分析,通过结合可滴定酸含量测定与实时荧光定量 PCR (qRT-PCR),分析了 PDHB-1 家族基因在‘艾斯达’和‘成纪一号’2个不同酸含量的苹果中的表达情况。结果显示, PDHB-1 家族主要定位于叶绿体、细胞质和线粒体中,  $\alpha$ -螺旋和不规则卷曲是该家族二级结构形成的主要因素;大部分成员的表达量在果实中高于其他组织,表达量变化趋势与可滴定酸含量变化趋势一致;在果皮中,有 14 个成员的表达水平在酸含量较高的‘艾斯达’苹果中显著高于酸含量较低的‘成纪 1 号’,其中 MdPDHB1-15 差异最显著;在果肉中,17 个成员的表达水平在‘艾斯达’苹果中显著高于‘成纪 1 号’,MdPDHB1-01 表达量最高。由此推测苹果 PDHB-1 基因家族在苹果果实酸度积累过程中有重要调控作用。

醛酮还原酶超家族 (aldo-keto reductase super family, AKRs) 具有广泛的底物特异性,目前尚欠缺对昆虫 AKR 基因家族成员的系统鉴定。龚竞等<sup>[20]</sup>采用生物信息学手段,预测了家蚕 AKR (BmAKR) 基因系统进化、理化性质、染色体定位、保守基序和基因结构,并通过转录组数据和实时荧光定量 PCR 分析了不同组织时期及不同发育状态蚕卵中 BmAKR 基因的表达水平,检测了蚕卵中该蛋白的表达量。结果显示,共鉴定出 11 个 BmAKR 基因,分布于 4 条不同的染色体上,均具有 AKR 家族特有的 ( $\alpha/\beta$ ) 8 桶保守结构,理化特征较为相似;可分为 2 个家族 (AKR1 和 AKR2); 家族成员基因在不同组织时期中的表达差异较大,一部分 BmAKR 基因在非滞育卵的表达量显著高于滞育卵,但 BmAKR1-1 在滞育卵中的表达量却显

著高于非滞育卵；BmAKR1-1 在滞育卵和非滞育卵的差异变化趋势与 qRT-PCR 结果一致。

跨膜 p24 蛋白(TMED)基因与哺乳动物的免疫反应、信号传导、生长发育和疾病发展等密切相关,但在昆虫中仅有果蝇 TMED 的报道。王春阳等<sup>[21]</sup>鉴定了家蚕、赤拟谷盗、烟草天蛾和意大利蜂的 TMED 家族基因,并发现 1 个  $\alpha$  类、1 个  $\beta$  类、1 个  $\delta$  类和多个  $\gamma$  类的 TMED 家族基因成员构成模式产生于膜翅目分化前昆虫的共同祖先,而果蝇类 TMED 家族成员构成在进化中形成了独特模式。昆虫 TMED 家族  $\gamma$  类基因进化速度较快,分化成 TMED6-like、TMED5-like 和 TMED3-like 3 个独立的亚类。TMED5-like 基因在膜翅目昆虫发生了丢失,在鳞翅目昆虫祖先中发生了复制,在果蝇类发生了重复。昆虫 TMED 蛋白除具有典型的 TMED 结构特征外,还有明显的信号肽。家蚕 7 个 TMED 基因分布在 6 条染色体上,1 个基因为单外显子,6 个基因为多外显子。BmTMED1、BmTMED2 和 BmTMED6 在家蚕各个时期和组织中均可表达,所有基因都在家蚕 4 龄、5 龄和丝腺组织中表达,为进一步研究家蚕以及其他昆虫 TMED 基因奠定了基础。

## 高校生物学教学

近年来生物制药产业飞速发展,对高素质、创新应用型人才需求日益迫切。在“一流本科教育”背景下,进行生物制药课程混合式教学模式的改革探索,对培养适应产业发展的专业人才具有重要意义。蔡文涛等<sup>[22]</sup>总结了湖北大学生物制药课程基于专属在线课程(small private online course, SPOC)和超星平台开展混合式教学及其成效。瞄准一流课程“两性一度”的要求,

围绕课程目标的达成,夯实课前、课中和课后 3 个阶段,积极创新教学方法,并有机融入典型案例。通过加强课程的形成性评价,来提升考评分辨率;通过调研学生的学习行为,并利用边际效用曲线分析小组活动特点,以指导学生如何提高学习效率;结合职业生涯规划,给予学生个性化学习指导,为相关课程教学改革和研究工作提供了有益借鉴。

## REFERENCES

- [1] 陆战豪, 罗瑞, 王涛, 钟代浪, 仇华吉, 孙元. 细胞免疫应答评价方法的研究进展[J]. 生物工程学报, 2023, 39(12): 4759-4772.  
LU ZH, LUO R, WANG T, ZHONG DL, QIU HJ, SUN Y. Advances in methodologies for evaluating cell-mediated immune responses[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2023, 39(12): 4759-4772 (in Chinese).
- [2] 赖加翠, 何佳蔚, 丁红雷. 猪肺炎支原体感染诱导的固有免疫应答研究进展[J]. 生物工程学报, 2023, 39(12): 4773-4783.  
LAI JC, HE JW, DING HL. Advances in innate immune responses induced by *Mycoplasma hyopneumoniae* infection[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2023, 39(12): 4773-4783 (in Chinese).
- [3] 王凌云, 郝荣增, 杨洋, 李亚军, 卢炳州, 毛玉涵, 张越, 龚真莉, 刘艳红, 齐萌, 茹毅, 郑海学. CHO 细胞表达重组猪干扰素- $\gamma$  及其抗病毒活性[J]. 生物工程学报, 2023, 39(12): 4784-4795.  
WANG LY, HAO RZ, YANG Y, LI YJ, LU BZ, MAO YH, ZHANG Y, GONG ZL, LIU YH, QI M, RU Y, ZHENG HX. Recombinant porcine interferon-gamma expressed in CHO cells and its antiviral activity[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2023, 39(12): 4784-4795 (in Chinese).
- [4] 李亚波, 娄慧聪, 赵雨娜, 范文辉, 焦鹏涛, 孙蕾, 罗廷荣, 刘文军. 非洲猪瘟病毒 I226R 蛋白抑制 cGAS-STING 通路介导的天然免疫应答[J]. 生物工程学报, 2023, 39(12): 4796-4808.  
LI YB, LOU HC, ZHAO YN, FAN WH, JIAO PT, SUN L, LUO TR, LIU WJ. The I226R protein of African swine fever virus inhibits the cGAS-STING-mediated

- innate immune response[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2023, 39(12): 4796-4808 (in Chinese).
- [5] 娄慧聪, 林润山, 李亚波, 赵雨娜, 焦鹏涛, 罗廷荣, 刘文军. 猪繁殖与呼吸综合征病毒 GP5 和 M 蛋白的真核表达及免疫原性评价[J]. 生物工程学报, 2023, 39(12): 4809-4823.  
LOU HC, LIN RS, LI YB, ZHAO YN, JIAO PT, LUO TR, LIU WJ. Eukaryotic expression of GP5 and M protein of porcine reproductive and respiratory syndrome virus and immunogenicity evaluation[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2023, 39(12): 4809-4823 (in Chinese).
- [6] 施朱桂, 吴佳瑜, 朱雅, 周继勇, 胡伯里. 猪流行性腹泻病毒非结构蛋白 nsp9 互作宿主蛋白对病毒复制的影响[J]. 生物工程学报, 2023, 39(12): 4824-4836.  
SHI ZG, WU JY, ZHU Y, ZHOU JY, HU BL. Effects of host proteins interacting with non-structural protein nsp9 of porcine epidemic diarrhea virus on viral replication[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2023, 39(12): 4824-4836 (in Chinese).
- [7] 李家俊, 王俊, 张韵, 滕志东, 董虎, 郭慧琛, 孙世琪. 不同粒径口蹄疫病毒样颗粒-ZIF-8 复合物诱导小鼠的体液免疫效果分析[J]. 生物工程学报, 2023, 39(12): 4837-4848.  
LI JJ, WANG J, ZHANG Y, TENG ZD, DONG H, GUO HC, SUN SQ. Evaluation of the humoral immunity in mice induced by foot-and-mouth disease virus-like particles-ZIF-8 complexes with different sizes[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2023, 39(12): 4837-4848 (in Chinese).
- [8] 谭书楨, 董虎, 孙世琪, 郭慧琛. 口蹄疫病毒样颗粒诱导表达型载体的构建及其 BHK-21 细胞池的筛获[J]. 生物工程学报, 2023, 39(12): 4849-4860.  
TAN SZ, DONG H, SUN SQ, GUO HC. Construction of foot-and-mouth disease virus like particles-induced expression vectors and screening of BHK-21 cell pools[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2023, 39(12): 4849-4860 (in Chinese).
- [9] 李亚军, 茹毅, 郝荣增, 秦晓东, 卢炳州, 杨洋, 刘华南, 张越, 龚真莉, 刘艳红, 余四九, 郑海学. 牛病毒性腹泻病毒 E<sup>ms</sup> 蛋白的中华仓鼠卵巢细胞表达及免疫原性分析[J]. 生物工程学报, 2023, 39(12): 4861-4873.  
LI YJ, RU Y, HAO RZ, QIN XD, LU BZ, YANG Y, LIU HN, ZHANG Y, GONG ZL, LIU YH, YU SJ, ZHENG HX. Bovine viral diarrhea virus E<sup>ms</sup> protein expressed in Chinese hamster ovary cells and its immunogenicity analysis[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2023, 39(12): 4861-4873 (in Chinese).
- [10] 葛家振, 高鹏程, 田彤彤, 吴晓妮, 李倩倩, 田可昕, 宋国栋, 郑福英, 储岳峰. 基于可见光测定的山羊支原体山羊肺炎亚种抗原定量[J]. 生物工程学报, 2023, 39(12): 4874-4886.  
GE JZ, GAO PC, TIAN TT, WU XN, LI QQ, TIAN KX, SONG GD, ZHENG FY, CHU YF. Quantification of antigen of *Mycoplasma capricolum* subsp. *capripneumoniae* by optical assay[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2023, 39(12): 4874-4886 (in Chinese).
- [11] 张力懿, 李鑫, 许晴, 黄心竹, 李艳艳, 刘伟, 王友利, 林亚秋. miR-23b-3p 通过靶向 *PDE4B* 基因调控山羊肌内前体脂肪细胞的分化[J]. 生物工程学报, 2023, 39(12): 4887-4900.  
ZHANG LY, LI X, XU Q, HUANG XZ, LI YY, LIU W, WANG YL, LIN YQ. miR-23b-3p regulates the differentiation of goat intramuscular preadipocytes by targeting the *PDE4B* gene[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2023, 39(12): 4887-4900 (in Chinese).
- [12] 万仕成, 张梦菲, 陈文博, 韩苗, 杨栋慧, 王聪亮, 吴文萍, 王瑜琪, 李娜, 朱海鲸, Ahmed Hamed Arisha, 华进联. *BLOC1S1* 促进山羊精原干细胞增殖[J]. 生物工程学报, 2023, 39(12): 4901-4914.  
WAN SC, ZHANG MF, CHEN WB, HAN M, YANG DH, WANG CL, WU WP, WANG YQ, LI N, ZHU HJ, Ahmed Hamed Arisha, HUA JL. *BLOC1S1* promotes proliferation of goat spermatogonial stem cells[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2023, 39(12): 4901-4914 (in Chinese).
- [13] 董帅, 孟卫芹, 莫玲, 陈金龙, 石竞楠, 杨哲, 李通, 徐倩倩, 沈志强, 刘建钊, 王金良. 基于 N 蛋白单克隆抗体的小反刍兽疫病毒抗体检测胶体金试纸条的研制[J]. 生物工程学报, 2023, 39(12): 4915-4926.  
DONG S, MENG WQ, MO L, CHEN JL, SHI JN, YANG Z, LI T, XU QQ, SHEN ZQ, LIU JC, WANG JL. Preparation of colloidal gold test strips for the detection of antibodies to peste des petits ruminants based on monoclonal antibodies to N protein[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2023, 39(12): 4915-4926 (in Chinese).

- [14] AYDIN S, YILDIRIM E, INCE O, INCE B. Rumen anaerobic fungi create new opportunities for enhanced methane production from microalgae biomass[J]. *Algal Research*, 2017, 23: 150-160.
- [15] YILDIRIM E, INCE O, AYDIN S, INCE B. Improvement of biogas potential of anaerobic digesters using rumen fungi[J]. *Renewable Energy*, 2017, 109(8): 346-353.
- [16] 杜雪儿, 周琳琳, 张帆, 李永, 赵聪聪, 王腊梅, 姚军虎, 曹阳春. 不同碳源诱导下牦牛瘤胃厌氧真菌 *Orpinomyces* sp. YF3 的产酶机制[J]. *生物工程学报*, 2023, 39(12): 4927-4938.
- DU XE, ZHOU LL, ZHANG F, LI Y, ZHAO CC, WANG LM, YAO JH, CAO YC. Enzyme production mechanism of anaerobic fungus *Orpinomyces* sp. YF3 in yak rumen induced by different carbon source[J]. *Chinese Journal of Biotechnology*, 2023, 39(12): 4927-4938 (in Chinese).
- [17] 陈云娇, 何云江, 孟庆磊, 刘志林, 张鑫, 贾泽林, 崔佳宇, 王学理. 牛源致病性蜡样芽孢杆菌溶血素 BL 亚基的原核表达及其生物学活性分析[J]. *生物工程学报*, 2023, 39(12): 4939-4949.
- CHEN YJ, HE YJ, MENG QL, LIU ZL, ZHANG X, JIA ZL, CUI JY, WANG XL. Prokaryotic expression and biological activities of the hemolysin BL subunit of a pathogenic *Bacillus cereus* of cattle origin[J]. *Chinese Journal of Biotechnology*, 2023, 39(12): 4939-4949 (in Chinese).
- [18] 张育浩, 程悦静, 杨领振, 王清浪, 龚竞, 侯勇. 家蚕蜕皮液羧肽酶 A 的表征及免疫荧光定位分析[J]. *生物工程学报*, 2023, 39(12): 4950-4964.
- ZHANG YH, CHENG YJ, YANG LZ, WANG QL, GONG J, HOU Y. Characterization and immunofluorescence localization analysis of carboxypeptidase A in molt fluid of silkworm[J]. *Chinese Journal of Biotechnology*, 2023, 39(12): 4950-4964 (in Chinese).
- [19] 杨菁华, 高举, 李文芳, 刘骥, 霍嘉兴, 任振硕, 李龙, 陈佰鸿, 毛娟, 马宗桓. 苹果 *PDHB-1* 基因家族的鉴定与表达分析[J]. *生物工程学报*, 2023, 39(12): 4965-4981.
- YANG JH, GAO J, LI WF, LIU J, HUO JX, REN ZS, LI L, CHEN BH, MAO J, MA ZH. Identification and expression analysis of apple *PDHB-1* gene family[J]. *Chinese Journal of Biotechnology*, 2023, 39(12): 4965-4981 (in Chinese).
- [20] 龚竞, 张伟, 王清浪, 朱子健, 庞家欣, 侯勇. 家蚕 *BmAKR* 基因家族的鉴定及在蚕卵中的表达分析[J]. *生物工程学报*, 2023, 39(12): 4982-4995.
- GONG J, ZHANG W, WANG QL, ZHU ZJ, PANG JX, HOU Y. Genome-wide identification of the *BmAKR* gene family in the silkworm (*Bombyx mori*) and their expression analysis in diapause eggs and nondiapause eggs[J]. *Chinese Journal of Biotechnology*, 2023, 39(12): 4982-4995 (in Chinese).
- [21] 王春阳, 郭雨, 李海银, 陈萍. 昆虫 *TMED* 基因进化及家蚕 *TMED* 基因表达模式分析[J]. *生物工程学报*, 2023, 39(12): 4996-5013.
- WANG CY, GUO Y, LI HY, CHEN P. Analyzing the evolution of insect *TMED* gene and the expression pattern of silkworm *TMED* gene[J]. *Chinese Journal of Biotechnology*, 2023, 39(12): 4996-5013 (in Chinese).
- [22] 蔡文涛, 雷骏雨, 董衍明, 梁继超, 赵晶, 李路军, 陈勇. “一流本科教育”背景下生物制药混合式教学模式的改革探索[J]. *生物工程学报*, 2023, 39(12): 5014-5023.
- CAI WT, LEI JY, DONG YM, LIANG JC, ZHAO J, LI LJ, CHEN Y. Reform and exploration of biopharmaceutics blended teaching in the context of “first-class undergraduate education”[J]. *Chinese Journal of Biotechnology*, 2023, 39(12): 5014-5023 (in Chinese).

(本文责编 郝丽芳)