

# 食品中产气荚膜梭菌 LAMP 快速检测方法的建立

姜侃 张东雷\* 陈小珍 金燕飞

(浙江省质量技术监督检测研究院 浙江 杭州 310013)

**摘要:** 应用环介导等温扩增技术(Loop-mediated isothermal amplification, LAMP), 针对产气荚膜梭菌特有的  $\alpha$  毒素(CPa)基因序列分析设计特异性引物, 建立食品中产气荚膜梭菌特异性快速检测方法。研究表明, 所设计的引物具有良好的特异性, 5 株产气荚膜梭菌均能扩增出特异性片段, 而 13 株非产气荚膜梭菌均未扩增出相应片段, 无假阴性或假阳性情况出现。同时, 该方法可在 1 h 内完成反应, 且检测灵敏度达到 10 fg/ $\mu$ L。该方法为产气荚膜梭菌的快速检测提供了一种重要的技术手段。

**关键词:** 产气荚膜梭菌, LAMP, 快速检测, 食品

## The establishment of LAMP rapid detection method for *Clostridium perfringens* in food

JIANG Kan ZHANG Dong-Lei\* CHEN Xiao-Zhen JIN Yan-Fei

(Zhejiang Test Academy of Quality and Technical Supervision, Hangzhou, Zhejiang 310013, China)

**Abstract:** LAMP (Loop-mediated isothermal amplification, LAMP) rapid detection method for *Clostridium perfringens* in food was established, with the specific primers designed on the CPa gene. The results of the study indicated that the method had perfect specificity, as 5 strains of *Clostridium perfringens* were able to amplify specific fragments, while 13 strains of non-*Clostridium perfringens* were not, and no false positive or false negative results occurred. The test could be done within 1 hour with the sensitivity low to 10 fg/ $\mu$ L. The established method provides a better choice for rapid detection of *Clostridium perfringens*.

**Keywords:** *Clostridium perfringens*, LAMP, Rapid detection, Food

产气荚膜梭菌(*Clostridium perfringens*)是一种能引起人类食物中毒和抗生素相关性腹泻等疾病的重要食源性致病菌, 该菌为革兰氏阳性产芽胞专性

厌氧杆菌, 广泛存在于自然界的土壤、水源及人和动物肠道中。目前根据产气荚膜梭菌产生的 4 种重要的致病性毒素( $\alpha$ 、 $\beta$ 、 $\epsilon$ 、 $\iota$ 毒素)能力, 可将其分为

A( $\alpha$ )、B( $\alpha$ 、 $\beta$ 、 $\epsilon$ )、C( $\alpha$ 、 $\beta$ )、D( $\alpha$ 、 $\epsilon$ )和 E( $\alpha$ 、 $\iota$ )型, 各型产气荚膜梭菌均含有  $\alpha$ -毒素(CPa)基因, 产生  $\alpha$ -毒素, 因此  $\alpha$ -毒素被认为是最基本、最重要的致病因子<sup>[1]</sup>。在我国, 随着饮食习惯的改变, 产气荚膜梭菌对食品的污染逐渐成为引起人食物中毒和腹泻的重要原因之一。目前食品检测过程中主要以平板分离鉴定为主对该菌进行检测, 操作复杂, 检测周期长。同时, 由于该菌为厌氧菌, 复杂的检测环节会影响到检测结果的准确性。随着分子生物学技术的快速发展, 一种新颖的环介导等温扩增技术(Loop-mediated isothermal amplification, LAMP)已逐步应用于食源性致病菌的检测<sup>[2-4]</sup>。该技术主要利用 4 种不同的特异性引物识别靶 DNA 上 6 个特定区域, 利用一种具有链置换活性的 DNA 聚合酶(*Bst* DNA), 在恒温条件下快速扩增核酸, 并保证了扩增的高特异性和高效率<sup>[5]</sup>。

本研究针对产气荚膜梭菌 CPa 基因设计了 LAMP 检测引物组, 对产气荚膜梭菌进行检测, 优化反应条件, 验证方法的特异性和灵敏度, 并应用

该方法实际检测食品样品。

## 1 材料与方法

### 1.1 菌株

详见表 1。

### 1.2 试剂

培养基均为青岛海博生物技术有限公司产品, 细菌基因组 DNA 抽提试剂盒为 Qiagen 产品, *Bst* DNA 聚合酶及其 10×buffer 为 New England Biolabs 公司产品, MgSO<sub>4</sub>、dNTP 为 Promega 公司产品, 甜菜碱为 Sigma 公司产品, SYBR Green I 为 Invitrogen 公司产品。DNA Marker DL2000 和 *Premix Ex Taq* 为 TaKaRa 公司产品, 琼脂糖为 Biowest 公司产品。

### 1.3 仪器

智能厌氧系统为 Mart 公司产品, 电泳仪、自动凝胶电泳成像系统均为 Bio-Rad 产品, Veriti 梯度 PCR 仪为 AB 公司产品, 恒温水浴锅为德国劳达公司产品。

表 1 实验菌株  
Table 1 Strains for test

菌株名称 Strain names	菌株号 Strain number	来源 Sources
产气荚膜梭菌 <i>Clostridium perfringens</i>	ATCC 13124	上海汉尼生物技术有限公司
产气荚膜梭菌 <i>Clostridium perfringens</i>	CICC 22949	中国工业微生物菌种保藏中心
产气荚膜梭菌 <i>Clostridium perfringens</i>	/	本实验室分离保存
产气荚膜梭菌 <i>Clostridium perfringens</i>	/	杭州市疾病预防控制中心
产气荚膜梭菌 <i>Clostridium perfringens</i>	/	杭州市疾病预防控制中心
金黄色葡萄球菌 <i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 6538	上海汉尼生物技术有限公司
鼠伤寒沙门氏菌 <i>Salmonella typhimurium</i>	CMCC 50115	中国医学细菌菌种保藏管理中心
福氏志贺氏菌 <i>Shigella flexneri</i>	ATCC 12022	上海汉尼生物技术有限公司
痢疾志贺氏菌 <i>Shigella dysenteriae</i>	ATCC 51252	上海汉尼生物技术有限公司
宋内志贺氏菌 <i>Shigella sonnei</i>	ATCC 25931	上海汉尼生物技术有限公司
单增李斯特菌 <i>Listeria monocytogenes</i>	ATCC 19114	上海汉尼生物技术有限公司
英诺克李斯特菌 <i>Listeria innocua</i>	ATCC 33090	杭州市疾病预防控制中心
副溶血弧菌 <i>Vibrio parahaemolyticus</i>	/	本实验室分离保存
溶血性链球菌 <i>Streptococcus hemolyticus</i>	CMCC 32210	中国医学细菌菌种保藏管理中心
铜绿假单胞菌 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 15442	上海汉尼生物技术有限公司
大肠埃希氏菌 <i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922	上海汉尼生物技术有限公司
蜡样芽孢杆菌 <i>Bacillus cereus</i>	/	本实验室分离保存
阪崎肠杆菌 <i>Enterobacter sakazakii</i>	ATCC 51329	上海汉尼生物技术有限公司

表2 产气荚膜梭菌 LAMP 检测引物组  
Table 2 Specific primer sequences for LAMP

引物名称 Primer names	序列 Sequence (5'→3')	所在位置 Position	碱基数 Length (bp)
CPa-F3	TTTCTCAAAGGATAAT AGTTGGT	316-338	23
CPa-B3	ATGTCCTGCGCTATCA AC	529-512	18
CPa-FIP	TTGCCATTCATATCTA GCTAATGCTCTATACC TGACACAGGGGA	(415-395) (351-369)	44
CPa-BIP	CAAGCTACATTCTATC TTGGAGAGGATTAGCA GGATGATATGGAGTA	(431-455) (481-502)	47

#### 1.4 引物

产气荚膜梭菌引物设计参考 GenBank NC\_003366.1 基因序列, 具体引物序列详见表 2, 引物序列均经 BLAST 验证。所有引物均由 Invitrogen 公司合成。

## 2 方法

### 2.1 菌种纯化

产气荚膜梭菌接种于庖肉肉汤培养基, 经智能厌氧系统厌氧 36 °C 培养 24 h, 培养物接种于 SPS 培养基, 36 °C 厌氧培养 24 h, 挑取黑色菌落再次接种庖肉肉汤培养基进行纯培养, 培养液提取细菌 DNA。其余菌种以营养肉汤增菌活化, 培养液分别提取细菌 DNA。

### 2.2 细菌 DNA 提取

细菌 DNA 提取采用 Qiagen 细菌 DNA 提取试剂盒, 操作步骤严格按照试剂盒说明书。

### 2.3 引物工作液配制

将各引物配制成浓度为 50 μmol/L 的溶液, 备用。

### 2.4 LAMP 反应

LAMP 反应体系为 25 μL, 组分详见表 3。将反应液置于恒温水浴锅中, 61 °C 反应 60 min。

### 2.5 PCR 方法的建立

PCR 引物采用 CPa-F3 和 CPa-B3, 反应体系详见表 4, 目的片段长度为 214 bp。反应条件为: 95 °C 5 min; 95 °C 30 s, 55 °C 30 s, 72 °C 30 s, 30 个循环; 72 °C 5 min。

表3 LAMP 反应体系组成  
Table 3 LAMP reaction

组份 Components	体积 Volume
CPa-F3 and CPa-B3 (50 μmol/L)	0.1 μL each
CPa-FIP and CPa-BIP (50 μmol/L)	0.4 μL each
DNA template	1.0 μL
<i>Bst</i> DNA polymerase (8 U/μL)	1.0 μL
10× <i>Bst</i> buffer	2.5 μL
Mg <sup>2+</sup> (100 mmol/L)	1.4 μL
dNTPs mix (10 mmol/L)	2.0 μL
Betaine (8 mol/L)	2.0 μL
Sterile ultrapure water	Up to 25.0 μL

表4 PCR 反应体系组成  
Table 4 PCR reaction

组分 Components	体积 Volume
Premix <i>Ex Taq</i> (Loading dye mix)	12.5 μL
Primer F3/B3 (50 μmol/L)	0.2 μL each
DNA template	1.0 μL
Sterile ultrapure water	Up to 25.0 μL

### 2.6 LAMP 特异性验证

提取 5 株产气荚膜梭菌和 13 株非产气荚膜梭菌基因组 DNA 进行 LAMP 检测, 分别用电泳(琼脂糖凝胶电泳, 电泳条件为 0.5×TBE、2.0%琼脂糖凝胶、150 V 电压条件下电泳 30 min)、离心 (6 000 r/min 以上离心 5 min)或加荧光显色剂(加入 SYBR Green I)后观察扩增结果, 验证该方法检测产气荚膜梭菌的种属特异性。

### 2.7 LAMP 和 PCR 方法的灵敏度比较

以产气荚膜梭菌标准菌株 ATCC 13124 为参考菌株, 对本 LAMP 检测方法和 PCR 检测方法分别进行灵敏度测定, 并对二者灵敏度进行比较。具体操作步骤为: 将产气荚膜梭菌 DNA 提取液进行 10 倍梯度稀释, 使 DNA 浓度约为 10 ng/μL、1 ng/μL、100 pg/μL、10 pg/μL、1 pg/μL、100 fg/μL、10 fg/μL、1 fg/μL、0.1 fg/μL, 用以上 DNA 模板分别进行 LAMP 检测和 PCR 检测, 电泳观察结果, 判断并比较二者的检测灵敏度。

## 2.8 模拟样品的比对试验

**2.8.1 模拟样品的制备:** 食品基质分别采用饮用水和乳粉。将产气荚膜梭菌标准菌株 ATCC 13124 接种于庖肉培养液, 厌氧培养 24 h。以产气荚膜梭菌培养液均匀混合于液体和固体模拟样品, 使样品中的污染量达到  $10^3/\text{mL}(\text{g})$ 。另将金黄色葡萄球菌、沙门氏菌和志贺氏菌培养液均匀混合于其它食品样品中, 作为模拟阴性样品。

**2.8.2 模拟样品的检测:** 将模拟样品分别以 2 种方法检测。第 1 种方法中, 将 25 g 模拟样品加入 225 mL 庖肉培养液中, 厌氧培养 8 h 后, 用试剂盒提取培养液中细菌 DNA, 采用 LAMP 方法进行检测; 第 2 种方法中, 将模拟样品按照国家标准<sup>[6]</sup>的方法进行定性检测, 并对两组检测结果进行比对。

**2.9 真实样品的检测:** 应用 LAMP 方法, 对本实验室在检的 34 批次水果罐头、22 批次饮用天然矿泉

水和 20 批次真空包装熟肉制品进行产气荚膜梭菌检测, 具体检测方法为: 将 25 mL(g) 模拟样品加入 225 mL 庖肉培养液中, 厌氧培养 8 h 后, 用试剂盒提取培养液中细菌 DNA, 采用 LAMP 方法进行检测; 同时将这 76 批次样品按照国家标准<sup>[6]</sup>的方法进行定性检测, 并对两组检测结果进行比较。

## 3 结果

### 3.1 LAMP 扩增

用该方法对 5 株产气荚膜梭菌基因组 DNA 进行 LAMP 扩增。扩增产物电泳检测结果如图 1 所示, 5 株产气荚膜梭菌均有明亮阶梯状目的条带; 扩增产物离心结果如图 2 所示, 5 株产气荚膜梭菌均呈现明显沉淀; 扩增产物荧光显色结果如图 3 所示, 5 株产气荚膜梭菌均呈现强荧光。同时, 检测结果(图 1)显示, 13 株非产气荚膜梭菌菌株 DNA 均未扩增出相应产物, 说明本方法具有良好的特异性。

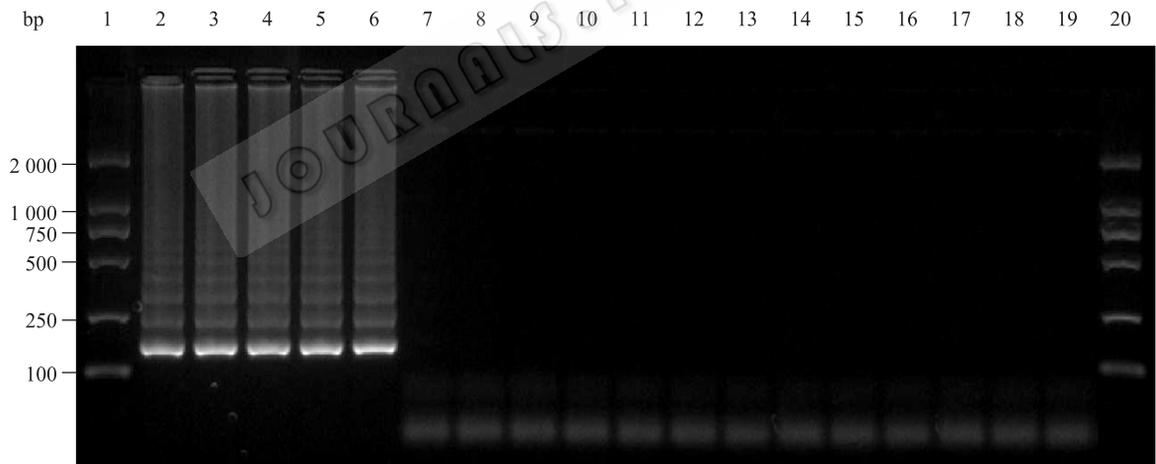


图 1 产气荚膜梭菌及非产气荚膜梭菌 LAMP 反应产物电泳结果

Fig. 1 Electrophoresis of LAMP products of *Clostridium perfringens* and non-*Clostridium perfringens*

注: 1、20: DNA marker; 2-6: 产气荚膜梭菌 LAMP 扩增结果; 7-19: 非产气荚膜梭菌 LAMP 扩增结果, 依次为金黄色葡萄球菌、鼠伤寒沙门氏菌、福氏志贺氏菌、痢疾志贺氏菌、宋内志贺氏菌、单增李斯特菌、英诺克李斯特菌、副溶血弧菌、溶血性链球菌、铜绿假单胞菌、大肠埃希氏菌、蜡样芽孢杆菌和阪崎肠杆菌。

Note: 1,20: DNA marker; 2-6: *Clostridium perfringens*; 17-19: *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium*, *Shigella flexneri*, *Shigella dysenteriae*, *Shigella sonnei*, *Listeria monocytogenes*, *Listeria innocua*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Streptococcus hemolyticus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Enterobacter sakazakii*, respectively.

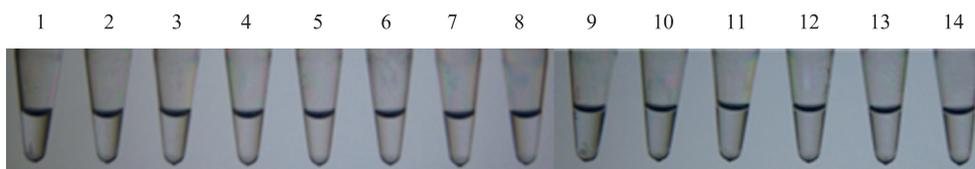


图 2 产气荚膜梭菌和非产气荚膜梭菌 LAMP 反应产物离心后结果

Fig. 2 The LAMP production of *Clostridium perfringens* and non-*Clostridium perfringens* after centrifugation

注: 1 号和 9 号管为产气荚膜梭菌标准菌株; 其余 12 个反应管为非产气荚膜梭菌菌株, 依次为金黄色葡萄球菌、鼠伤寒沙门氏菌、福氏志贺氏菌、痢疾志贺氏菌、宋内志贺氏菌、单增李斯特菌、英诺克李斯特菌、溶血性链球菌、铜绿假单胞菌、大肠埃希氏菌、蜡样芽孢杆菌和阪崎肠杆菌。

Note: 1 and 9 were *Clostridium perfringens*; The rest tubes were *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium*, *Shigella flexneri*, *Shigella dysenteriae*, *Shigella sonnei*, *Listeria monocytogenes*, *Listeria innocua*, *Streptococcus hemolyticus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Enterobacter sakazakii* from left to right, respectively.

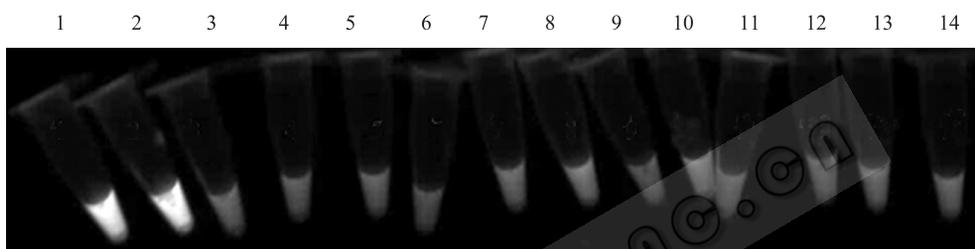


图 3 产气荚膜梭菌和非产气荚膜梭菌 LAMP 产物荧光染色结果

Fig. 3 The LAMP products of *Clostridium perfringens* and non-*Clostridium perfringens* after adding fluorescent dye

注: 1 号和 2 号管为产气荚膜梭菌标准菌株; 其余 12 个反应管为非产气荚膜梭菌菌株, 依次为金黄色葡萄球菌、鼠伤寒沙门氏菌、福氏志贺氏菌、痢疾志贺氏菌、宋内志贺氏菌、单增李斯特菌、英诺克李斯特菌、溶血性链球菌、铜绿假单胞菌、大肠埃希氏菌、蜡样芽孢杆菌和阪崎肠杆菌。

Note: Tube 1 and 2 were *Clostridium perfringens*, the rest tubes were *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium*, *Shigella flexneri*, *Shigella dysenteriae*, *Shigella sonnei*, *Listeria monocytogenes*, *Listeria innocua*, *Streptococcus hemolyticus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Enterobacter sakazakii* from left to right, respectively.

### 3.2 灵敏度试验

以不同的产气荚膜梭菌 DNA 模板浓度对 LAMP 方法(图 4)和普通 PCR 方法(图 5)的检测灵敏度进行测试。其中 LAMP 方法检测时, 当 DNA 模板浓度降至 10 fg/ $\mu$ L 时仍可见较为明亮的梯状扩增产物, 故 LAMP 法灵敏度达到 10 fg/ $\mu$ L; PCR 法检测时, 当 DNA 模板浓度降至 10 pg/ $\mu$ L 时仍可见较为明亮的目的扩增片段, 故 PCR 法检测灵敏度约为 10 pg/ $\mu$ L。在本实验中, LAMP 检测方法的灵敏度较普通 PCR 方法高 3 个数量级, 体现出更好的检测灵敏度。

### 3.3 模拟样品检测比对试验

对模拟样品 LAMP 检测结果与预期完全一致, 且与国家标准方法的检测结果完全吻合, 无假阳

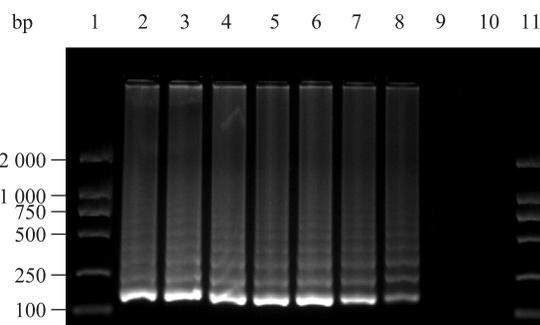


图 4 产气荚膜梭菌 LAMP 检测灵敏度

Fig. 4 Sensitivity of LAMP for *Clostridium perfringens*

注: 1、11: DNA marker; 2-10 泳道分别为 10 ng/ $\mu$ L、1 ng/ $\mu$ L、100 pg/ $\mu$ L、10 pg/ $\mu$ L、1 pg/ $\mu$ L、100 fg/ $\mu$ L、10 fg/ $\mu$ L、1 fg/ $\mu$ L、0.1 fg/ $\mu$ L 模板 DNA 浓度的 LAMP 反应产物。

Note: Lane 1 and 20 were DNA marker; lane 2-11 were the LAMP production of *Clostridium perfringens* with the DNA concentration of 10 ng/ $\mu$ L, 1 ng/ $\mu$ L, 100 pg/ $\mu$ L, 10 pg/ $\mu$ L, 100 fg/ $\mu$ L, 10 fg/ $\mu$ L, 1 fg/ $\mu$ L and 0.1 fg/ $\mu$ L, respectively.

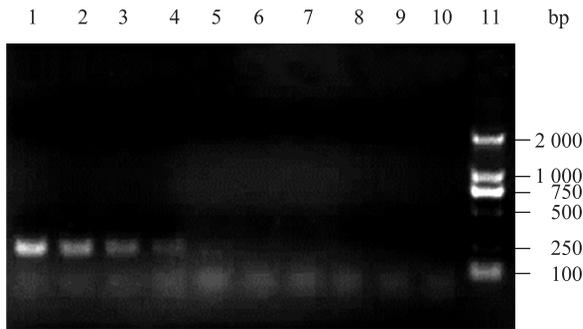


图5 产气荚膜梭菌 PCR 检测灵敏度测试

Fig. 5 Sensitivity of PCR for *Clostridium perfringens*

注: 11: DNA marker; 10: 阴性对照; 1-9 泳道分别为 10 ng/μL、1 ng/μL、100 pg/μL、10 pg/μL、1 pg/μL、100 fg/μL、10 fg/μL、1 fg/μL、0.1 fg/μL 模板 DNA 浓度的 LAMP 反应产物。

Note: Lane 11 was DNA marker, lane 10 was negative control, lane 1-9 were the LAMP products of *Clostridium perfringens* with the DNA concentration of 10 ng/μL, 1 ng/μL, 100 pg/μL, 10 pg/μL, 1 pg/μL, 100 fg/μL, 10 fg/μL, 1 fg/μL and 0.1 fg/μL, respectively.

性或假阴性结果出现,说明该方法具有良好的特异性和实用性。同时,LAMP 检测方法的检测周期仅为 10 h,较国家标准分析方法 3 d 的检测周期有明显改善。

### 3.4 真实样品检测比对试验

应用 LAMP 方法对 34 批次水果罐头、22 批次饮用天然矿泉水和 20 批次真空包装熟肉制品进行产气荚膜梭菌检测,在真空包装熟肉制品中检出 1 批次样品存在产气荚膜梭菌污染,其余样品中未检出产气荚膜梭菌。LAMP 方法检测结果与国家标准方法检测结果一致。

## 4 讨论

产气荚膜梭菌广泛分布于自然界,该菌的芽胞抵抗力极强,是一种很重要的引起人和动物发病的病原微生物。当食入每克含菌量达  $10^5$  以上的污染食品时,即可引起食物中毒。目前有多个国家对食品中产气荚膜梭菌有限量要求,而我国也逐渐重视食品中产气荚膜梭菌检测,并首先在 2008 版的饮用天然矿泉水国家标准中增加了该菌的检测要求。长期以来,食品中产气荚膜梭菌的检测主要采用平板培养分离鉴定法,但该方法检测周期长达 3 d,且检测过程较为复杂,无法及时提供检测数据。近年来,

有关产气荚膜梭菌的检测技术及分型研究已进入分子水平<sup>[7-9]</sup>,PCR 和多重 PCR 等方法逐渐应用于检测,这为产气荚膜梭菌所致食物中毒的防控提供重要的技术指导。

PCR 方法尽管操作起来比较简单易行,但是操作过程必须有高精密度的温度循环装置,从而使得这种方法不能在实地现场广泛应用。LAMP 技术无需高精密度温控设备,可在恒定温度条件下,1 h 内扩增出  $10^9$  靶序列拷贝,扩增产物是一系列反向重复的靶序列构成的茎环结构和多环花椰菜样结构的 DNA 片段的混合物,可通过电泳观察是否显现阶梯式图谱,或离心观察是否出现沉淀,或加入荧光显色剂观察是否呈现荧光来判断检测结果。LAMP 技术以其特异性强、等温灵敏、操作简单、产物易检测等优点在食品安全检测和其它领域得到了日益广泛的应用。

本实验研究结果显示,所建 LAMP 检测方法特异性强,稳定性好,检测灵敏度达到 10 fg/μL,较 PCR 方法灵敏度提高 1 000 倍。因此,对于污染率较高的样本,如食物中毒样本,乃至医学上创伤性气性坏疽组织样本,可以无需增菌而通过直接制备菌悬液提取 DNA 的方式获得模板,本 LAMP 检测方法的灵敏度完全能够满足检测要求;对于污染程度较低的样品,可通过使用庖肉培养液对样品在 36 °C 条件下厌氧增菌 6-8 h,细菌浓度即可满足 LAMP 检测要求。同时,LAMP 检测结果观察方式简便多样,检测设备要求不高,具有广阔应用前景,特别适用于基层单位及食品安全突发事件的现场检测,有利于从源头控制食品安全事件的发生。

## 参考文献

- [1] Keyburn AL, Boyce JD, Vaz P, et al. Net B, a new toxin that is associated with avian necrotic enteritis caused by *Clostridium perfringens*[J]. PLoS Pathog, 2008, 4(2): 26-29.
- [2] Yamazaki W, Seto K, Taguchi M, et al. Sensitive and rapid detection of cholera toxin-producing *Vibrio cholerae* using a loop-mediated isothermal amplification[J]. BMC Microbiology, 2008, 8: 94.

- [3] Hara-Kudo Y, Nemoto J, Ohtsuka K, et al. Sensitive and rapid detection of Vero toxin-producing *Escherichia coli* using loop-mediated isothermal amplification[J]. *J Med Microbiol*, 2007, 56(3): 398-406.
- [4] Wang DG, Liu F, Huo GC, et al. Development and evaluation of a loop-mediated isothermal amplification method for detecting *Escherichia coli* O157 in raw milk[J]. *J Rapid Methods Autom Microbiol*, 2009, 17(1): 55-66.
- [5] Notomi T, Okayama H, Masubuchi H, et al. Loop-mediated isothermal amplification of DNA[J]. *Nucleic Acids Res*, 2000, 28(12): e63.
- [6] 卫生部. GB/T 4789.13-2003, 食品卫生微生物学检验产气荚膜梭菌检验[S]. 北京: 中国标准出版社.
- [7] 赵耘, 杜昕波, 李伟杰, 等. 多重 PCR 鉴定不同毒素型的产气荚膜梭菌菌落[J]. *微生物学通报*, 2008, 35(6): 989-993.
- [8] 曾东, 郑晓丽, 倪学勤. 四川地区鸡场产气荚膜梭菌的扩增片段长度多态性分析[J]. *中国人兽共患病学报*, 2009, 25(11): 1103-1106.
- [9] 邓志爱, 李孝权, 李钊华, 等. 食品中产气荚膜梭菌的分离鉴定与基因分型[J]. *热带医学杂志*, 2006, 6(6): 682-690.

## 征订启事

### 欢迎订阅 2011 年《基因组学与应用生物学》

《基因组学与应用生物学》是由广西大学主管和主办, 公开发行的双月刊科学期刊。广西大学聘请中国农业大学李元院士任主编, 北京大学教授朱玉贤博士和海南省热带农业资源研究所所长方宣钧博士任执行主编, 国内众多的著名学者出任编委。

《基因组学与应用生物学》主要刊登现代生物技术的前沿学科和基础学科如基因组学、分子细胞遗传学、生化与分子生物学、应用生物学等相关的原始研究成果。刊登植物、动物及微生物领域的生物在组织、器官、细胞、染色体、蛋白质、基因、酶、发酵工程等不同水平上的现代生物技术等基础与应用基础研究的成果。本刊按国际标准编排, 题目摘要、图表、引用文献等均实行中英文对照, 实现网上领先发表模式。

《基因组学与应用生物学》, 前身是原《广西农业大学学报》, 创刊于 1982 年。广西农业大学合并入广西大学以后更名为《广西农业生物科学》。《广西农业生物科学》已入编《中文核心期刊要目总览》2008 年版(即第五版)之综合性农业科学类的核心期刊, 是中国科学引文数据库(CSCD)来源期刊, 也是中国科技核心期刊即中国科技论文统计源期刊。2001 年入选国家新闻出版总署“中国期刊方阵”, 先后被国际知名检索系统——英国国际农业与生物科学研究中心(CABI)、美国《化学文摘》(CA)、美国《剑桥科学文摘: 自然科学》(CSA: NS)、英国《动物学记录》(ZR)、俄罗斯《文摘杂志》(AJ)等收录。

承载着《广西农业生物科学》的历史与荣誉, 《基因组学与应用生物学》将在新的高度开拓奋进, 为现代生命科学和应用生物学的研究与发展提供学术交流的平台, 使之成为中国科学家走向世界的桥梁。

《基因组学与应用生物学》《Genomics and Applied Biology》, ISSN1674-568X, CN45-1369/Q, 双月刊, 双月 28 日出版, 国内定价: 人民币 ¥40.00/期, 人民币 ¥240.00/年; 国际定价: 美元\$40.00/期, 美元\$240.00/年。

邮局汇款

地址: 广西南宁市大学东路 100 号广西大学西校园榕江路《基因组学与应用生物学》编辑部

收款单位: 《基因组学与应用生物学》编辑部

邮编: 530004

联系电话: 0771-3239102, 0771-3232621

传真: 0771-3232621

E-mail: gab@hibio.org; gab@genoapplbiol.org

网址: www.genoapplbiol.org