

柔嫩艾美耳球虫 BJ 株 TA4 基因的表达及电泳分析

吴绍强^{1, 2}, 蒋金书¹, 刘 群¹, 朱引洁¹

(¹ 中国农业大学动物医学院, 北京 100094; ² 华南农业大学兽医学院, 广州 510642)

摘要: 球孢子子表面抗原 TA4 (25 kD) 是通过二硫键连接 8 和 17 kD 2 条多肽形成的, 在孢子化后期合成。*E. tenella* BJ 株的 TA4 基因同国外株的同源性为 99%。本试验进行了 TA4 基因的原核融合表达, 并对表达蛋白的 SDS-PAGE 电泳特性进行探究。试验发现, 以 pGEX-KG 为载体, 用 IPTG 可诱导 TA4 基因在 *E. coli* BL21 (DE3) 中的表达。SDS-PAGE 表明, 融合蛋白大小约 43 kD, 而非推测的 51 kD, 诱导 6 h 的蛋白表达量即可达到较高水平, 表达量约为 31%。采用抗 GST 抗体进行 Western blotting, 成功检测到了特异性条带。说明 SDS-PAGE 前的样品煮沸处理可使连接 TA4 2 条多肽的二硫键断裂, 只有 17 kD 的多肽可与 26 kD GST 蛋白结合。样品采用反复冻融法处理, 加入还原型谷胱甘肽后, 采用 GST 凝胶回收柱 Sepharose 4B 纯化的融合蛋白主要为 51 kD 的单一一条带, 煮沸变性后电泳, 则 43 kD 带含量增加。说明纯化过程可影响 GST-TA4 融合蛋白的特性。

关键词: 柔嫩艾美耳球虫; 抗原; TA4; SDS-PAGE; Western blotting

Expression and Electrophoretic Analysis of the TA4 Protein of *Eimeria tenella* BJ Strain

WU Shao-qiang^{1,2}, JIANG Jin-shu¹, LIU Qun¹, ZHU Yin-jie¹

(¹ College of Veterinary Medicine, China Agricultural University, Beijing 100094;

² College of Veterinary Medicine, South China Agricultural University, Guangzhou 510642)

Abstract: The antigen TA4 is a 25 kD protein that is composed of 2 polypeptides of 17 and 8 kD respectively, linked by a disulfide bond. It is located on the surface of sporozoites and synthesized throughout the latter half period of sporulation. The TA4 gene of *Eimeria tenella* BJ strain has a 99% homology with the published data. In this study, the gene TA4 of *E. tenella* BJ strain was ligated to the prokaryotic expression vector pGEX-KG and induced to express in *E. coli* BL21 (DE3). The results indicated that the fusion GST-TA4 protein is about 43 kD instead of 51 kD shown from SDS-PAGE result. This means that the disulfide bond linking the 17 and 8 kD polypeptides would be broken during the boiling pre-treatment of samples before SDS-PAGE, and only the 17 kD polypeptide was linked to the 26 kD GST protein. In the large-scale purification of the fusion protein, the cells were lysed with repeated freeze-melt; the inclusion bodies were denatured and dissolved in 8mol·L⁻¹ urine solution containing reduced glutathione. The recombinant protein purified with glutathione Sepharose 4B showed 2 bands of 51 kD (primary) and 43 kD (secondary) respectively in SDS-PAGE. This means that the disulfide bond would not break completely in purifying conditions of this experiment. In the further investigation, when the purified protein was treated boiledly, the ratio of 51 kD protein decreased while that of 43 kD protein increased simultaneously. This means that the purifying conditions will affect the structure of GST-TA4 protein. Further investigation should be done to compare the immune-protective effects of different kinds of fusion proteins.

Key words: *Eimeria tenella*; Antigen; TA4; SDS-PAGE; Western blotting

鸡球虫病是严重危害养禽业的一种寄生虫病, 每年给世界各国造成严重的经济损失^[1]。由于球虫耐药

收稿日期: 2003-09-05

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30170695), 国家“863”计划资助项目 (2002AA241331)

作者简介: 吴绍强 (1970), 男, 山东临沭人, 博士, 主要从事分子寄生虫学研究。E-mail: sqwu@sina.com。蒋金书为通讯作者, Tel: 010-62891852

性普遍存在,加之消费者对禽产品药物残留的担忧,发展疫苗防治球虫病为当务之急。活苗免疫所用卵囊需用球虫人工感染鸡后获得,故成本较高;强毒苗免疫时要确保均匀;弱毒苗经鸡体反复传代后,还有复壮的可能,故活苗的实际应用难度较大。分子疫苗的研究日渐引起人们的关注^[2]。球孢子孢子表面抗原TA4(25 kD)是通过二硫键连接8和17 kD 2条多肽形成的,在孢子化16~24 h期间合成。File等采用寡聚核苷酸探针从基因文库中筛选出了TA4基因,发现该基因具有典型的信号肽序列及4个外显子、2个内含子和3个多余的精-精-亮氨酸密码子。Brothers等克隆了该基因的全长cDNA,cDNA的序列说明了内含子在mRNA成熟时被剪切掉,合成的多肽在跨膜时切去3个多余的精-精-亮氨酸,再以二硫键连接8和17 kD 2条多肽形成完整的TA4抗原^[3]。

李安兴等克隆了*E. tenella* BJ株的TA4基因,全长1227 bp,有一个含230个密码子的ORF,编码分子量为25 kD的多肽,同国外株的同源性为99%^[4]。丁熙成等^[5]进行了*E. tenella* BJ株TA4基因在原核表达载体pET28中的表达,但没有进行Western blotting检测,缺乏抗原特异性的证据,且表达产物电泳特性与Brothers等所报道不符。

本试验目的是进行TA4抗原的原核表达,并进行融合蛋白纯化,观察其电泳特性,以利于进一步进行重组蛋白的免疫原性研究及动物保护性试验。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 pGEX-KG载体 中国农业大学的动物医学院寄生虫病学实验室保存,由pGEX-2T改造而成,在原酶切位点EcoR I处插入一段58 bp的寡聚核苷酸,增加可利用的酶切位点的数量,方便连接。

1.1.2 抗TA4蛋白血清 采用吴绍强^[6]构建的pCT核酸疫苗间隔1周2次免疫鸡后,采血分离得到。

1.1.3 GST Detection Module GST融合蛋白检测试剂盒,Amersham Pharmacia Biotech产品,批号:189075。

1.1.4 GST纯化柱 Glutathione Sepharose™ 4B,Amersham Bioscience产品,批号:291477。

1.1.5 DNA Ligation Kit Ver.2 宝生物工程(大连)有限公司产品,批号:BK3501。

1.1.6 DNA片段玻璃奶纯化回收试剂盒 北京博大泰克生物基因技术公司。

1.1.7 仪器 PCR仪(Singapore NJ DNA Thermal Cycler 4800)等。

1.2 试验方法

1.2.1 TA4基因原核表达载体的构建 以李安兴等^[4]克

隆的pGEM-T-TA4为模板,重新按照融合表达载体pGEX-KG特点设计引物,上游加EcoR I、下游加Xho I酶切位点,预期扩增片段大小为864 bp,引物序列如下:

TA4UP: 5' -CCCGAATT \underline{C} AGGATTACCCAACAG

TA4LP: 5' -CCCTCGA \underline{G} GATTCCTACTCAGG

PCR反应体系(μ l)为:10×Buffer(5)、pGEM-T-TA4(2)、TA4UP(1)、TA4LP(1)、dNTP(4)、Taq(0.5)、H₂O(36.5)。

扩增产物经1%琼脂糖凝胶电泳检测后,玻璃奶法回收,用BamH I和EcoR I双酶切后,按照DNA Ligation Kit Ver.2推荐方法与同酶切的pGEX-KG在4℃连接过夜。次日,取连接产物转化*E. coli*感受态BL21(DE3),挑选重组子,摇菌后,碱裂解法提取质粒,酶切鉴定并测序。

1.2.2 TA4蛋白的诱导表达及SDS-PAGE分析 按照郭尧君等方法进行^[7]。将鉴定正确的pGK-TA4转化菌加入含Amp的LB培养基中,在37℃摇床培养,待OD₆₀₀达到0.7~0.8时,加入2 mmol·L⁻¹的IPTG诱导表达,间隔2 h取样,直到诱导12 h以上为止。诱导不同时间的菌液经离心后,加入40 μ l的0.1 mol·L⁻¹PB(pH 7.3)混匀,加入等体积的上样缓冲液,100℃加热煮沸5 min后,离心,取上清,按照文献^[8]的方法进行SDS-PAGE,同时加蛋白Marker和空菌对照。

1.2.3 TA4融合蛋白的收获 按如下方法进行:取IPTG诱导菌液,8000 r/min离心10 min后,用STE溶液洗涤菌体沉淀,离心去上清后,按3 ml·g⁻¹加入裂解液,-20℃反复冻融后,冰浴超声裂解;每克菌体沉淀加入8 μ l PMSF和80 μ l溶菌酶,37℃作用20 min并不断搅拌;按照4 mg·g⁻¹菌块比例加入脱氧胆酸,继续搅拌至裂解液粘稠;室温放置至裂解液不再粘稠;4℃、12000 r/min离心15 min;弃上清,将沉淀重悬于9×体积的含0.5%TritonX-100和10 mmol·L⁻¹EDTA(pH 8.0)的裂解缓冲液中,室温放置5 min;4℃、12000 r/min离心5 min;将沉淀重悬于9×体积的含8 mol·L⁻¹尿素、2 mmol·L⁻¹还原型谷胱甘肽、0.2 mmol·L⁻¹氧化型谷胱甘肽和0.1 mmol·L⁻¹ PMSF的工作缓冲液中,室温放置60 min;每毫升脲-蛋白溶液缓慢滴加9 ml的50 mmol·L⁻¹KH₂PO₄(pH10.7)、1 mmol·L⁻¹ EDTA(pH 8.0)、50 mmol·L⁻¹ NaCl,室温放置30 min,用KOH保持溶液的pH为10.7,以打开二硫键,使蛋白缓慢溶解;再加入1 mol·L⁻¹的HCl调pH为8.0,室温放置30 min,使蛋白复性并沉淀;室温12000 r/min离心30 min;将沉淀重溶于0.1 mol·L⁻¹的PBS中,-20℃放置。

1.2.4 TA4融合蛋白的Western blotting检测 SDS-PAGE后,取下凝胶,装配好电转设备,4℃30V电转过夜;次日,取下NC膜,用1×PBST洗涤3次,每次5 min;将NC膜放于10%小牛血清中,室温封闭

30 min, 然后用 $1 \times$ PBST 洗涤 5 次, 每次 5 min; 将 NC 膜置于 $1:1000$ 稀释的抗 GST 抗体中, 37°C 作用 1 h 后, PBST 洗涤 5 次, 每次 5 min; 加入 $1:500$ 稀释的 HRP-兔抗羊 IgG, 37°C 作用 1 h 后, PBST 洗涤 5 次, 每次 5 min; 加入底物溶液作用 10 min, 待显色完全后用 $2 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1} \text{H}_2\text{SO}_4$ 终止反应, 拍照保存。

1.2.5 TA4 融合蛋白的纯化 按照如下操作步骤进行: 在直径 1 cm 的柱中加入 1 cm 高 Glutathione Sepharose™ 4B 保存液, 4°C 沉积后, 用 10 倍体积的 $1 \times$ PBS 洗涤, 再用 3 倍体积的 $1 \times$ PBS 平衡过夜; 次日, 滤出 PBS 后, 加入含有大约 10 mg GST 融合蛋白的重组蛋白液, 4°C 静置 30 min 后, 让滤液以大约 1 滴/2s 的速度流出; 液体全部滤出后, 加入 $3\sim 5 \times$ 体积的 PBS 洗涤柱; 然后用 $3\sim 5 \times$ 体积的的谷胱甘肽洗脱液以 1 滴/4s 的流速缓缓洗脱下结合的融合蛋白, -20°C 保存备用; 凝胶柱用 $5 \times$ 体积的高盐洗柱液和低盐洗柱液交替洗涤 4 次; 立即用 5 倍体积的 $1 \times$ PBS 冲洗后, 置于 $1 \times$ PBS 中, 4°C 放置备用。

2 结果与分析

2.1 TA4 基因的 PCR 扩增及融合表达载体的构建

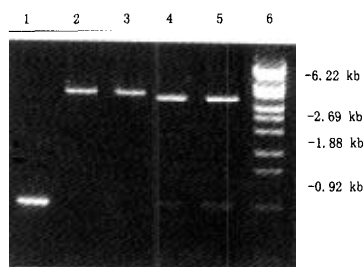
电泳表明, PCR 扩增产物约 900 bp, 与实际大小相符合。与载体连接后, 单酶切大小及双酶切释放的片段均与预期大小一致, 测序结果也表明 TA4 基因插入正确(图 1)。

2.2 TA4 融合蛋白 SDS-PAGE 及 Western blotting 结果

SDS-PAGE 结果见图 2。结果表明, 采用 $2 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ IPTG 可诱导 TA4 融合蛋白的表达, 融合蛋白大小约 43 kD, 比载体蛋白与目的抗原分子量的相加值 51 kD 小, 诱导 6 h 的蛋白表达量即可达到较高水平, 凝胶成像系统分析表达量约为 31%。随时间延长, 表达量亦无明显增加。融合蛋白的 Western blotting 结果见图 3, 采用抗 GST 抗体, 成功检测到了特异性条带, 说明表达产物为 GST 融合蛋白。

2.3 TA4 融合蛋白的纯化及 SDS-PAGE

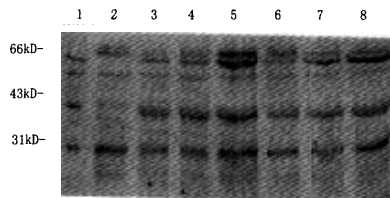
纯化 TA4 融合蛋白的 SDS-PAGE 结果见图 4。从图中可以看出, 蛋白经变性、复性后, 变性电泳表现大小主要为 43 kD (带 1), 但煮沸变性后电泳, 则呈现 43 和 34 kD 2 条带 (带 2); 加入还原型谷胱甘肽后, 采用 GST 凝胶回收柱纯化的融合蛋白主要为 51 kD 的单一一条带 (带 5), 而 43 kD 带较淡; 柱纯化的融合蛋白煮沸变性后电泳, 则 43 kD 条带含量增加 (带 3, 4)。TA4 融合蛋白经 SDS-PAGE 后, 用插入 TA4 基因的核酸疫苗所诱导的鸡抗血清进行 western blotting 检测, 在 34 和 43 kD 处均有特异性染色, 但 43 kD 处染色较浅 (图 5)。



1. pTA4 扩增产物; 2. pGKG-TA4 EcoR I 单酶切; 3. pGKG-TA4 Xho I 单酶切; 4. pGKG-TA4 EcoR I / Xho I 双酶切; 5. pGKG-TA4 EcoR I / Hind III 双酶切; 6. λ EcoT14 marker
Lane 1. pTA4; Lane 2. pGKG-TA4 digested with EcoR I; Lane 3. pGKG-TA4 digested with Xho I; Lane 4. pGKG-TA4 digested with EcoR I / Xho I; Lane 5. pGKG-TA4 digested with EcoR I / Hind III; Lane 6. λ -EcoT14 marker

图 1 pGKG-TA4 融合表达载体的酶切鉴定

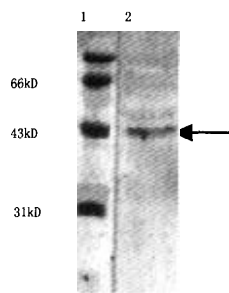
Fig.1 Identification of pGKG-TA4 with endonuclease digestion



1. 低分子量蛋白 marker; 2. BL21 空菌; 3~8. 分别为诱导表达 2~12 h 的结果
Lane 1. Low molecular weight protein marker; Lane 2. BL21 (DE3); Lane 3-8. The recombinant GST-TA4 protein induced for 2-12 h

图 2 TA4 融合蛋白 SDS-PAGE 结果

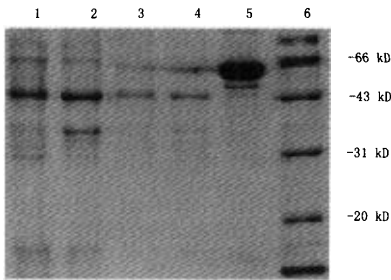
Fig.2 SDS-PAGE result of TA4 fusion protein



1. 分子量蛋白 marker; 2. GST-TA4 融合蛋白 (箭头所指)
Lane 1. Low molecular weight protein marker; Lane 2. GST-TA4 fusion protein (marked with arrow)

图 3 融合蛋白用抗 GST 进行 Western blotting 检测结果

Fig.3 Western blotting analysis of TA4 fusion protein with anti-GST antibody

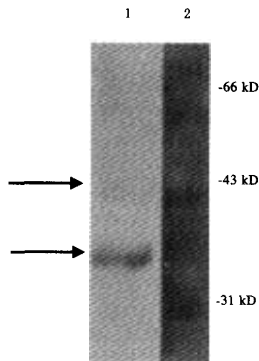


1. 融合蛋白粗提物; 2. 融合蛋白粗提物 (煮沸变性); 3. 纯化融合蛋白; 4. 柱纯化融合蛋白 (煮沸变性); 5. 柱纯化融合蛋白; 6. 低分子量蛋白 marker

Lane 1. The TA4 fusion protein; Lane 2. The fusion protein denatured with boiling; Lane 3. TA4 fusion protein purified with GST affinity column; Lane 4. The purified fusion protein denatured with boiling; Lane 5. TA4 fusion protein purified with GST affinity column; Lane 6. Low molecular weight protein marker

图4 纯化TA4融合蛋白SDS-PAGE结果

Fig.4 SDS-PAGE result of the purified TA4 fusion protein



1. 融合蛋白 (箭头所指); 2. 低分子量蛋白 marker
Lane 1. GST-TA4 fusion protein (marked with arrows);
Lane 2. Low molecular weight protein marker

图5 融合蛋白用TA4抗血清进行western blotting结果

Fig.5 Western blotting analysis of TA4 fusion protein with serum separated from chicken immunized with pCT vaccine

3 讨论

pGEX-2T 为 Pharmacia 公司生产的融合表达载体, 在 244 位有核糖体识别位点 (SD 序列) —AGGA, 与起始密码子的距离为 10 bp, 可与核糖体 16S rRNA 特异配对, 利于转录的 mRNA 模板与核糖体的结合, 从而提高了蛋白质的表达水平^[9]。本文采用的 pGKG 载体是

由 pGEX-2T 改造而成的, 在原酶切位点 EcoR I 处插入一段 58 bp 的寡聚核苷酸, 增加了可利用的酶切位点的数量^[10]。表达产物为 26 kD 的谷胱甘肽巯基转移酶 (GST) 同目的蛋白的融合蛋白。

TA4 抗原大小约为 25 kD, 预测融合蛋白大小为 51 kD, 而本试验表达的 TA4 融合蛋白分子量约为 43 kD, 且 Western blotting 证实为 pGKG-TA4 融合表达产物, 这与本试验采用的 SDS-PAGE 条件有关。TA4 抗原是由二硫键连接 8 和 17 kD 2 条多肽形成的, 而在变性电泳的情况下, 连接 2 条多肽链的二硫键发生断裂, 从而只有 17 kD 的多肽链与 GST 蛋白结合, 表现分子量大小为 43 kD, 这与 Brothers 等的报道也是一致的。用离子交换层析及预电泳研究发现, 变性后的 TA4 抗原降解为 17 和 8 kD 2 条多肽, 故电泳时与单抗 Ptn9.9D12 结合的 TA4 抗原分子量只有 17 kD。本试验中还发现, 表达菌液经液氮反复冻融, 在采用连续非变性电泳时, GST-TA4 融合蛋白大小则表现为 51 kD, 即在非变性条件下, 二硫键不会断裂。

根据表达载体的特点, 本试验表达的 GST-TA4 融合蛋白是以包涵体的形式存在, 包涵体的形成有利于使对宿主细胞有害的蛋白得到高效表达及表达产物的纯化, 但需经变性、复性后才能得到可溶性蛋白质^[11]。本试验诱导表达的融合蛋白经变性、复性处理后, 采用 Sepharose 4B 过柱纯化后电泳, 发现大小为 51 kD, 与预测大小相吻合, 说明在本试验所采用的蛋白纯化条件下, 样品不经加热煮沸变性处理, 则二硫键不会断裂, 纯化蛋白煮沸后电泳, 蛋白则以 43 kD 和 34 kD 为主, 进一步证明煮沸可使二硫键断裂而致蛋白变性。对于纯化煮沸后 43 kD 和 34 kD 两条蛋白的出现, 笔者推测可能是纯化过程导致 GST 与 TA4 蛋白之间的作用力变得脆弱, 进一步煮沸则导致 26 kD GST 蛋白断裂下来, 可以和 17 或 8 kD 中的任意一条结合, 从而表现相应大小。用 pCT 核酸疫苗诱导的抗血清进行 Western blotting 检测时, 34 kD 多肽着色较深 (图 5), 说明 TA4 蛋白中 8 kD 多肽的抗原表位较好, 可诱导较强的体液免疫反应。而 17 kD 诱导体液免疫的能力则相对较低, 故图 5 中的 43 kD 处虽有着色, 却很淡。

References

- [1] Williams R B. A compartmentalized model for the estimation of the cost of coccidiosis to the world's chicken production industry. *International Journal for Parasitology*, 1999, 29: 1 209-1 229.
- [2] 蒋金书. 动物原虫病学. 北京: 中国农业大学出版社, 2000: 165-174. Jiang J S. *Animal Protozoiasis*. Beijing: China Agricultural University Press, 2000: 165-174. (in Chinese)
- [3] Brothers V M, Kuhn I, Paul L S, Gube J D, Andrew W H, Sias S R, Mccaman M T, Dragon E A, Files J G. Characterization of a surface antigen of *Eimeria tenella* sporozoites and synthesis from a cloned cDNA in

- Escherichia coli*. *Molecular Biochemistry Parasitology*, 1988, 28:235-248.
- [4] 李安兴, 秦泽荣, 张欣萍, 黄琦. 柔嫩艾美耳球虫(*E. tenella*) BJ 株 TA4 基因的克隆和序列分析. 寄生虫与医学昆虫学报, 1999, 6:146-152.
Li A X, Qin Z R, Zhang X P, Huang Q. Cloning and sequencing analysis of the gene TA4 of *Eimeria tenella* BJ strain. *Chinese Journal of Parasitology and Medical Entomology*, 1999, 6:146-152. (in Chinese)
- [5] 丁熙成. 鸡球虫基因工程疫苗的研究. 北京: 中国农业大学博士学位论文, 2001.
Ding X C. Research on recombinant vaccine against chicken coccidiosis. Beijing: Ph. D Thesis of China Agricultural University, 2001. (in Chinese)
- [6] 吴绍强. 鸡球虫核酸疫苗的研究. 北京: 中国农业大学博士学位论文, 2003.
Wu S Q. Research on DNA vaccine against chicken coccidiosis. Beijing: Ph. D Thesis of China Agricultural University, 2003. (in Chinese)
- [7] 郭尧君. 蛋白质电泳实验技术. 北京: 科学出版社, 1999: 123-146.
Guo Y J. *Experimental Techniques in Protein Electrophoresis*. Beijing: Science Press, 1999:123-146 (in Chinese).
- [8] 萨姆布鲁克 J, 弗里奇 E F, 曼尼阿蒂斯 T. 分子克隆实验指南, 金冬雁, 黎孟枫等译. 北京: 科学出版社, 1999:16-455.
Sambrook J, Fritsch E F, Maniatis T. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* (2nd). Translated by Jin D Y, Li M F. Beijing: Science Press, 1999:16-455. (in Chinese)
- [9] 彭秀玲, 袁汉英, 谢毅, 王洪海. 基因工程实验技术. 长沙: 湖南科学技术出版社, 1998: 213-215.
Peng X L, Yuan H Y, Xie Y, Wang H H. *Experimental Methods in Genetic Engineering*. Changsha: Science and Technology Press of Hunan Province of China, 1998: 213-215. (in Chinese)
- [10] 李安兴. *E. tenella* BJ 株 S07 基因的克隆与表达. 北京: 中国农业大学博士学位论文, 1998.
Li A X. Clone and expression of gene S07 of *Eimeria tenella* BJ strain. Beijing: Ph. D Thesis of China Agricultural University, 1998. (in Chinese)
- [11] 汪家政, 范明. 蛋白质技术手册. 北京: 科学出版社, 2002.
Wang J Z, Fan M. *Manual of Protein Skills*. Beijing: Science Press, 2002. (in Chinese)

(责任编辑 林鉴非)

欢 迎 订 阅

《畜牧兽医学报》是中国畜牧兽医学会主办,《畜牧兽医学报》编委会、中国农业科学院畜牧研究所编辑出版的全国性畜牧兽医学学术刊物。读者对象为大专院校师生和各级畜牧兽医生产、科研工作者等。刊登较高水平的学术论文和专业研究报告以及对生产实践具有指导性、启发性的文章。本刊为全国中文核心期刊、中国自然科学核心期刊,并被国内外重要引文数据库及文摘性期刊收录。本刊连续三届获全国畜牧兽医优秀期刊奖。月刊,104页,每期定价20.00元。全国各地邮局均可订阅,邮发代号:82-453;国内统一刊号:CN11-1985/S;国外代号:BM446;广告经营许可证:京海工商广字第0324号。编辑部地址:北京市海淀区圆明园西路2号中国农业科学院畜牧研究所内;邮政编码:100094;电话:010-62815987;E-mail:xmsyxb@263.net。

《中兽医医药杂志》是经国家科技部批准、由中国农业科学院中兽医研究所编辑出版并公开发行的中兽医学和兽医药理学综合性科技刊物。设有调查研究、综述专论、学术讨论、诊疗经验、医案医话、临床集锦、大家验证、专题讲座、古籍整理、资料、新书评介及读者论坛等栏目。适合于从事兽医科研和防治的中西兽医、农业院校畜牧兽医专业师生、相关部门的管理人员及其广大城乡养禽专业户阅读。双月刊,逢双月10日出版,大16开本,64页,铜版纸彩色封面,每册定价4.00元,全年6期,共计24.00元。由兰州市邮政局发行,邮发代号54-55,国外代号BM5574。国内统一刊号:CN62-1063,全国各地邮局(所)均可订阅。如订不到或错过订期可直接汇款至兰州市小西湖硷沟沿211号《中兽医医药杂志》编辑部补订,若需挂号请每册另加挂号费3.00元。邮政编码:730050;电话:(0931)2656034;E-mail:zsyzyz@priodiacals.net.cn。