

液体环境单分子免疫球蛋白 G 的原子力显微镜高分辨成像

赵志杰¹ 张萍² 杨家香³ 郝长春³ 周星飞¹ 李宾^{*4}

¹(宁波大学理学院, 宁波 315211) ²(内蒙古农业大学生命科学研究院, 内蒙古 010018)

³(陕西师范大学, 物理学与信息技术学院, 西安 710062)

⁴(中国科学院上海应用物理研究所物理生物研究室, 中国科学院微观界面物理与探测重点实验室, 上海 201800)

摘要 原子力显微镜技术 (AFM) 具有纳米级高分辨成像能力, 是研究生物大分子结构和功能的重要工具之一。制备合适的样品是获取高分辨成像的关键要素。本研究结合 DNA 折纸技术, 将抗原分子修饰在 DNA 折纸上, 通过分子识别作用, 抗体分子与抗原分子特异性结合, 形成由 DNA 折纸和抗原抗体复合物构成的纳米结构。利用 DNA 折纸在云母表面上的吸附特点, 使得抗体分子选择性地吸附在衬底表面上, 由此获得了液体环境中的单个地高辛抗体免疫球蛋白 G (IgG) 分子的“Y”超微结构形貌。本方法简单、方便, 为 AFM 在单分子水平上检测和表征生物分子结构和功能提供帮助。

关键词 原子力显微术; 单分子; 高分辨成像; 免疫球蛋白 G; DNA 折纸技术

1 引言

原子力显微镜技术 (Atomic force microscopy, AFM) 具有纳米级分辨水平, 且具有在近生理的液体条件下成像的能力, 已经成为研究生物分子, 特别是研究单个生物分子不可缺少的重要工具之一^[1~3]。要获得高质量的生物大分子图像和数据, 制备出好样品是先决条件和关键步骤。然而, 由于生物分子的多样性和复杂性, 到目前为止, 还没有简便、可靠的通用样品制备方法, 这在很大程度上限制了纳米水平上对生物分子结构和功能的研究, 制约了 AFM 检测分析方法在生物大分子领域中的快速发展。目前, 形态单一的生物分子如 DNA, 其分子的长宽比较大, AFM 对其有较好的识别能力, 可为其结构和功能研究提供诸多可靠信息^[4,5]。而对于结构复杂、形态千差万别的生物大分子如蛋白质分子的成像和表征就相对困难。目前, 最常用的样品制备方法是样品干燥后在云母表面上的自然吸附, 这种方法无法保证蛋白质分子在衬底表面上的分散均匀程度和构象^[6~9]。另外一种方法是将蛋白质排列成对, 制备成膜状结构, 由此来获取其高分辨的分子图像^[10]。但是, 有些蛋白质在衬底表面上无法自组装成膜状结构或限制条件较多, 也就难于获得其纳米水平的高分辨图像。对于单个蛋白质分子, 尤其是在液体环境下, 就更加困难。其难点在于无法控制蛋白质分子在衬底表面上的吸附程度、吸附取向以及吸附方向, 导致无法成像或成像十分困难。同时, 也带来了图像数据解读的一些复杂问题。本研究利用 DNA 折纸技术^[11], 发展了一种简单、方便、易行的应用于 AFM 的蛋白质制样方法。利用 DNA 折纸的程序化编程特点来调控蛋白质在衬底表面上的吸附数量和吸附状态, 由此获取蛋白质分子的功能状态和结构信息。

抗体是一类重要的蛋白质, 它在机体的免疫系统中起着十分重要的作用, 担负着抵抗外来物入侵的任务。抗体可分为 IgA, IgM, IgG, IgD 和 IgE 五种, 其中 75% 是 IgG, 是体液免疫应答中发挥免疫功能最主要的免疫分子。IgG 分子呈“Y”型结构, 可分为两个 Fab 片段和一个 Fc 片段^[12,13]。Fab 片段具有与抗原特异性结合能力, Fc 片段具有激活补体、结合组织细胞等生物学活性。早在 20 世纪 90 年代, 采用冷冻 AFM 的方法, 人们就获得了单个 IgG 的高分辨图像, 首次观察到了分散的单个 IgG 抗体分子^[14,15]。但由于是在冷冻 AFM 中获得的, 制样和实际操作难度较高, 随后的进展比较缓慢。Paulo 等^[16]采用 AFM 吸引力区成像模式, 得到了空气条件下吸附在云母表面上的“Y”形抗体结构图像。Shinichiro 等^[17]在液体环境下, 观察到了组装在界面上的 IgG 聚集体, 为 IgG 结构研究提供了新方法。

2016-02-09 收稿; 2016-05-12 接受

本文系科技部 973 项目 (Nos. 2013CB932800, 2012CB932600), 国家自然科学基金 (Nos. 11375253, 11474173, U1532260), 中国科学院知识创新项目 (KJXC2-EW-N03) 资助

* E-mail: libin@sinap.ac.cn

但是,如何获得液体下的单个 IgG 分子的高分辨成像,依然是一个挑战。

“DNA 折纸”是一种新颖的纳米结构,其最大特点在于利用了 DNA 生物分子碱基配对原理,实现了通过 DNA 的程序化的自组装途径来制备纳米结构。自从 2006 年 DNA 折纸技术发明以来,已构建出一维、二维、三维等多种不同的 DNA 折纸纳米结构。同时,随着这一技术的出现,将 DNA 折纸做为反应“平台”进行数学运算、纳米器件、分子马达、单分子反应、载药、以及生物检测等研究也有了很大的进展^[18~20]。目前,基于 DNA 纳米结构的研究依然以 AFM 为主要的检测和表征手段,通过检测 DNA 折纸纳米结构上的形貌特征,区分和判别在 DNA 折纸所发生的变化。实际上,这种精细的形貌变化也为研究生物分子结构和形貌带来了独特的优势,可为生物大分子的结构表征提供一种纳米水平的检测新方法。

本研究利用 DNA 折纸纳米结构,解决抗体难以在液体环境中成像的难题。DNA 折纸是由一条单链 M13mp18 viral DNA 链为主,200 多条“订书钉”链分别与其配对形成的不同 DNA 结构。设计不同的订书钉链,就可获得不同纳米结构特征。我们将地高辛修饰在选定订书钉链的位置,通过抗原抗体特异性分子识别反应,获得由 DNA 折纸和抗原-抗体组成的一种“超级纳米结构”。在含有一定镁离子浓度的缓冲体系中,这种 DNA 纳米结构携带较多的负电荷,通过静电作用,DNA 折纸在云母衬底表面产生较强的吸附效果。由于抗体与 DNA 折纸是连接在一起的,借此,抗体也固定于云母表面上。这样,即使在液体环境下,抗体依然能够吸附在云母表面,为获取高分辨抗体分子图像提供了可能。

2 实验部分

2.1 仪器和试剂

脚手架链 M13mp18 single-stranded DNA(NEB 公司),订书钉链和地高辛修饰的订书钉链购于生工生物工程(上海)股份有限公司,订书钉链序列分别与参考文献[21,22]一致。其中,地高辛修饰的 5' 端订书钉链替代相应位置的订书钉链。地高辛修饰的三角形折纸订书钉链包括 A28, A31, A08, A37, A65, A63, B28, B 31, B08, B37, B65, B63, C28, C31, C08, C37, C65 和 C63。地高辛修饰的长方形折纸订书钉链包括 1, 132, 52, 76, 75, 99, 181, 205, 204 和 180。地高辛抗体(Sigma-Aldrich, 英国), 100KD 超滤管(Millipore, 美国)。Mastercycler Personal Machine PCR 仪(Eppendorf, 德国); F-4500 紫外可见分光光度计(Hitachi, 日本); NANOScope III a AFM 系统(Digital Instrument, 美国); 原子力显微镜探针氮化硅探针(SNL, 弹性系数 0.35 N/m, Bruke, 德国)。

2.2 实验方法

2.2.1 DNA 折纸和地高辛抗原位点的设计 利用 M13mp18DNA 为脚手架链,200 多条寡核苷酸链为订书钉链,通过自组装方式组装。为了便于检测,DNA 折纸设计为两种图案,分别是边长为 120 nm 的等边三角形和长宽分别为 100 nm 和 70 nm 的长方形^[11],并且控制抗原的位置在几何图形的边缘上。如图 1 所示,等边三角形的三条边上每边设计了三对抗原位点,使每对抗原间距离均匀分布,并且控制两个抗原距离为 8~18 nm。与单纯 DNA 折纸不同的是,根据抗原设计位置,将 5' 端修饰有抗原分子的订书钉链替换掉原来序号的订书钉链,其他订书钉链数目和序列不变。与三角形图形类似,长方形的两条长边上也设计了类似的三对抗原分子位点,与相应抗体结合。简便起见,本研究采用地高辛为抗原,常规标记手段可将地高辛标记在 DNA 链的末端,便于观测地高辛抗体。

2.2.2 DNA 折纸的自组装和纯化 DNA 折纸自组装和纯化参考 Rothmund 和我们先前实验的方法^[11,23],简单如下:将 M13mp18 DNA 与订书钉链以摩尔比为 1:10 的比例混合后,在 1×TAE/Mg²⁺ (40 mmol/L Tris-乙酸、1 mmol/L EDTA、12.5 mmol/L MgCl₂, pH 8.0)缓冲液体体系中,置于 PCR 仪上从 95℃退火至 20℃即可,退火速度为 0.1℃/10 s。

将合成好的 DNA 折纸吸入超滤管内,加 1×TAE/Mg²⁺ 缓冲液定容到最大容积 400 μL,于冷冻离心机中 15℃, 3000 g 超滤 15 min。将含有多余短链的滤液倒掉,再向滤管中加入 1×TAE/Mg²⁺ 缓冲液定容到最大容积 400 μL,将超滤膜倒置在一个新的管子中,15℃, 1000 g, 10 min 超滤,将所需要的样品滤出后用 1×TAE/Mg²⁺ 缓冲液稀释,紫外定量,得到 DNA 折纸的浓度约 2 nmol/L, 4℃保存备用。

2.2.3 地高辛与地高辛抗体反应 抗原抗体反应条件:抗体原液用 PBS 缓冲液(100 mmol/L NaCl,

10 mmol/L Na_2HPO_4 , 2 mmol/L NaH_2PO_4 , pH 7.4) 稀释至 1000 倍后,将抗体与修饰有抗原的 DNA 折纸(浓度约 2 nmol/L)按照体积比 1:1 混合均匀, 25℃ 温育 30 min 后,可制备 AFM 样品。

2.2.4 AFM 样品的制备 将 5 μL 抗原抗体反应混合液滴加在新解离的云母片上,吸附 3 min 后,安装在扫描管上,将液体池固定后,加入 30 μL 的 TAE 缓冲液后,AFM 成像。

2.2.5 AFM 成像和分析 AFM 成像参数、数据处理与常规操作相同。简单如下:采用“J”扫描头,以 TAPPING 模式或 PEAKING FORCE 模式扫描成像。选择合适扫描范围,扫描速率控制在 2 Hz 以下。调整扫描参数,优化成像条件,获取高分辨单个抗体分子 IgG 的 AFM 图像,收集的图像使用 AFM 自带软件平滑处理后进行分析。

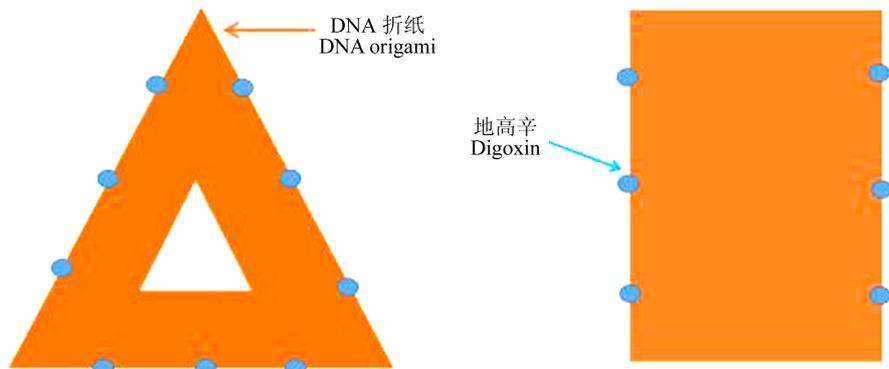


图1 DNA 折纸图形上地高辛分子(Digoxin)位点示意图。左边 DNA 折纸形状为三角形,每边的外缘修饰有 6 个地高辛分子,每两个邻近分子为一组,共三组。右边为长方形,两边分别修饰有类似的三组地高辛分子。一个蓝色圆点表示两个距离 8 ~ 18nm 的地高辛分子。

Fig.1 Schematic presentation of positions of digoxin molecules modified on DNA origami nanostructures. There were 6 digoxin molecules fixed on one side of DNA origami. Two digoxin molecules formed a couple binding site within a distance of 8–18 nm. Left: positions of digoxin molecules on the triangular-shaped DNA origami; Right: positions of digoxin molecules on the rectangular-shaped DNA origami

3 结果和讨论

3.1 修饰地高辛的 DNA 折纸的 AFM 检测

为了获取单个抗体的 AFM 图像,首先对无抗体的 DNA 折纸样品进行了成像,考察 DNA 折纸的自组装情况,结果(图 2)显示,吸附在云母表面上的三角形和长方形 DNA 折纸图形完整而清晰。图 2a 和图 2b 分别为等边三角形和长方形折纸的 AFM 图像,三角形边长约 120 nm,长方形的长和宽约为 100 nm 和 70 nm,与设计的尺度相符合^[10]。地高辛分子量较小,在图像上无法显示。从图像中可以看出,常规使用的三角形和长方形折纸,其长度为 70 ~ 120 nm 的 DNA 折纸边缘平整而整齐,适合对纳米级抗体分子的成像研究。

3.2 地高辛 IgG 的 AFM 高分辨成像

在对修饰有抗原分子 DNA 折纸成像的基础上,分别对与抗体反应后的三角形折纸和长方形 DNA 折纸进行检测和表征。图 3 为三角形折纸与抗体反应后的 AFM 图像。图 3a 中,共有 5 个抗体分子,其中的两个结合在了一个 DNA 折纸的一边上,两个分别结合在两个三角形一边上,另外一个抗体分别结合了两个折纸的两个边上(白色框)。图像放大后(图 3b)可以清楚地看到,呈现出清晰的“三叶草”形状,与 Y 形类似,为典型的 IgG 抗体分子结构形貌。

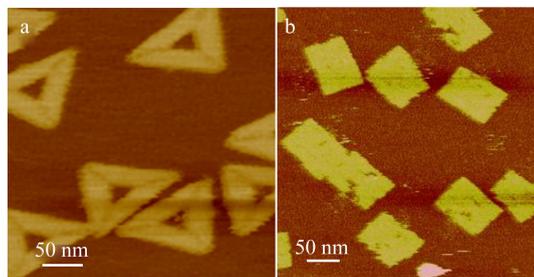


图2 液体环境下,DNA 折纸的 AFM 图像。(a) 三角形折纸的 AFM 图像。(b) 长方形折纸的 AFM 图像。
Fig.2 Atomic force microscopic (AFM) images of (a) triangular-shaped DNA origami and (b) rectangular-shaped DNA origami in aqueous environment.

图 4 为长方形折纸与抗体反应后的 AFM 图像。图 4a 中,每个 DNA 折纸上分别结合有 1~4 个抗体,抗体所体现出的状态各不相同。图 4b 中,可以清晰地看到“Y”形(蓝色)和多角形(红色)。从抗体的投影图形上可以判断出,两种形态的抗体都是由 3 部分组成。(b) 下部分图像的左侧和中间为上图中抗体的投影图。右侧为图 3 中抗体的投影图。3 个投影图像都显示出了 3 个部分组成的抗体分子,其测量尺度在 10~15 nm 之间,与 IgG 的 X-RAY 所获得的抗体分子尺度的数据值大小近似,两个 Fab 片段伸展可达到约 15 nm^[11,12]。

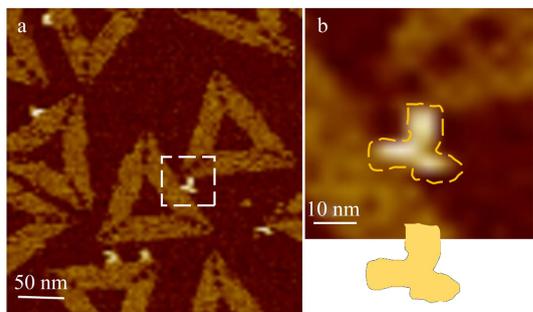


图 3 单个 IgG 分子图像。(a) 结合在三角形 DNA 折纸上的单个 IgG 的 AFM 图像。(b) 为(a)中,白色方框中抗体的放大图像,上方为 AFM 图像,下方为黄色框中 IgG 的投影图。

Fig. 3 Images of individual IgG molecules. (a) AFM image of single IgG molecule binding to the triangular-shaped DNA origami; (b) enlarged AFM image in (a) marked with white square. The top: AFM image of single IgG molecule; the bottom, the project image of the IgG in (b) marked in yellow.

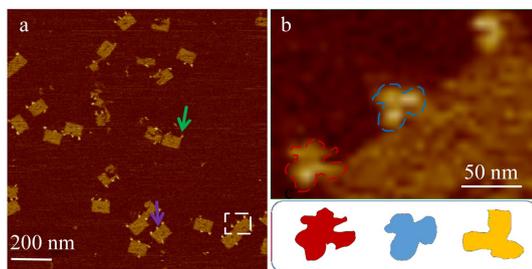


图 4 单个 IgG 抗体分子图像。(a) 结合在长方形 DNA 折纸上的单个 IgG 抗体分子的 AFM 图像。(b) 为(a)中白色方框中的放大图像。上方为 AFM 图像,下方左侧和中间为图 4(b)中两个抗体的投影图,下方右侧为图 3(b)的抗体投影图。

Fig. 4 Images of individual IgG molecules. (a) AFM image of single IgG molecule binding to the rectangular-shaped DNA origami; (b) enlarged AFM image in (a) marked with white square. The up: AFM image of single IgG molecule; The bottom left and middle, the projected images of IgG in (b) marked in red and blue; The bottom right, the projected image (yellow) of IgG in (b) of Fig 3.

从图 3 和图 4 中可以清晰观察到,由 3 个片段组成的单个抗体分子,形状多为典型的“Y”型,沿着 DNA 折纸的边缘整齐排列。其中也呈现出“V”和“I”字母形状(图 4 a 中,分别由紫色和绿色箭头所示)。Fab 片段是通过特异性结合方式与 DNA 折纸相连接的,相对于 Fab 片段来说,Fc 片段与衬底的吸附能力相对较差,有时是漂浮在溶液的状态,探针扫描时,就无法获取这部分状态的准确信息,呈现出 Fc 端缺失的假象。所以,此时只是 Fab 片段的形貌,两个 Fab 片段形成了“V”型结构。“I”字型结构较少见,可能是抗体一个 Fab 片段结合在 DNA 折纸边缘上的结果;探针扫描时有可能使得 Fab 的一端脱落下来;也可能是地高辛标记或 DNA 折纸组装时的缺陷原因,造成设计有地高辛的某些位点上并没有地高辛抗原分子。当只有一个片段 Fab 连接在 DNA 折纸的边缘上时,其余两个片段有可能远离折纸的边缘,但依然与衬底表面有吸附,此时,探针扫描时就会呈现出不同状态。“I”字形可能是未与抗原结合的 Fab 和 Fc 片段比较靠近,或并拢在一起,而与衬底吸附程度较差所造成;或者只是一个片段吸附在云母表面上,此时,无法分清楚是 Fab 片段还是 Fc 片段,或者是两者叠加结果。

液相环境中 AFM 的高分辨的单个抗体分子图像避免了由于空气环境成像制样时,蛋白质分子脱水对形貌特征所造成的影响,因此可获得真实的抗体分子图像;而由于折纸辅助下的抗体分子能够比较稳定地固定于云母表面上,为获取高清晰度的单个抗体分子图像提供了必要条件;此外,在液体环境下,由于避免了固液界面毛细力作用在抗体分子上,使得抗体分子在成像时受到的作用力可降低到极小的水平,由此也减少了针尖效应对抗体分子结构的影响,使得测定的数据更加准确,与其实际形貌特征相符性更好^[6]。

4 结论

本研究将DNA折纸技术与AFM成像技术相结合,发展了一种简单、方便的单个生物大分子的成像方法,获得了高分辨的单个抗体IgG的亚分子结构形貌图像,为免疫蛋白结构和功能研究提供了新方法。与地高辛类似,其它小分子如荧光分子、生物素、多肽等可通过订书钉链定位修饰在DNA折纸结构上,本方法可为研究相关配体受体相关结构和功能提供反应平台。同时,随着“点击”化学的发展和完善,本方法有望为其它生物大分子,特别是难于结晶的生物大分子的纳米级高分辨成像提供条件。

References

- 1 Müller D J, Anderson K. *Trends Biotechnol.*, **2002**, 20(8): S45-S49
- 2 YUAN Wen-Jing, ZHONG Tong, YAN Jing, XUE Zhong-Yuan, QI Wei, WANG Hua. *Chinese J. Anal. Chem.*, **2015**, 43(11): 1728-1734
袁文静, 钟彤, 闫晶, 薛中原, 齐伟, 王桦. *分析化学*, **2015**, 43(11): 1728-1734
- 3 Billingsley D J, Bonass W A, Crampton N, Kirkham J, Thomson N H. *Phys. Biol.*, **2012**, 9(9): 61-73
- 4 Allen M J, Bradbury E M, Balhorn R. *Nucleic Acids Res.*, **1997**, 25(11): 2221-2226
- 5 Lyubchenko Y L, Shlyakhtenko L S. *Methods*, **2008**, 47(3): 206-213
- 6 Thomson N H. *Ultramicroscopy*, **2005**, 105(1-4): 103-110
- 7 Quist A P, Bergman A A, Reimann C T, Oscarsson S O, Sundqvist B U R. *Scanning Microscopy*, **1995**, 9(2): 395-400
- 8 Martinez N F, Lozano J R, Herruzo E T, Garcia F, Richter C, Sulzbach T, Garcia R. *Nanotechnology*, **2008**, 19(38): 384011-384011
- 9 GUO Li-Qiu, WANG Xiu-Feng, CHEN Hao-Ming, LIANG Ji. *Journal of Tsinghua University*, **2005**, 45(11): 1443-1445
国立秋, 王秀凤, 陈皓明, 梁吉. *清华大学学报*, **2005**, 45(11): 1443-1445
- 10 Müller D J, Janovjak H, Lehto T, Kuerschner L, Anderson K. *Prog. Biophys. Mol. Biol.*, **2002**, 79(1-3): 1-43
- 11 Rothmund P W K. *Nature*, **2006**, 440(7082): 297-302
- 12 Silvertown E W, Navia M A, Davies D R. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, **1977**, 74(11): 5140-5144
- 13 Harris L J, Skaletsky E, McPherson A. *J. Mol. Biol.*, **1998**, 275(5): 861-872
- 14 Zhang Y, Sheng J, Shao Z F. *Biophys. J.*, **1996**, 71(4): 2168-2176
- 15 Han W, Mou J, Sheng J, Yang Y, Shao Z F. *Biochemistry*, **1995**, 34(26): 8215-8220
- 16 Paulo A S, Garcia R. *Biophys. J.*, **2000**, 78(3): 1599-1605
- 17 Shinichiro I, Hirokazu K, Kei K, Hiroaki K, Kazumi M, Hirofumi Y. *Nat. Mater.*, **2014**, 13(3): 264-270
- 18 Liu H J, Wang J B, Song S P, Fan C H, Gothelf K V. *Nat. Commun.*, **2015**, 6: 10089
- 19 Kuzuya A, Ohya Y. *Acc. Chem. Res.*, **2014**, 47(6): 1742-1749
- 20 Krissanaprasit A, Madsen M, Knudsen J B, Gudnason D, Surareungchai W, Birkedal V, Gothelf K V. *ACS Nano*, **2016**, 10(2): 2243-2250
- 21 Ding B Q, Deng Z D, Yan H, Cabrini S, Zuckermann R N, Bokor J. *J. Am. Chem. Soc.*, **2010**, 132(10): 3248-3249
- 22 Ke Y G, Lindsay S, Chang Y, Liu Y, Yan H. *Science*, **2008**, 319(5860): 180-183
- 23 Wu N, Czajkowsky D M, Zhang J J, Qu J X, Ye M, Zeng D D, Zhou X F, Hu J, Shao Z F, Li B, Fan C H. *J. Am. Chem. Soc.*, **2013**, 135(33): 12172-12175

High-Resolution Imaging of Single-Molecule Immunoglobulin G Antibodies with Atomic Force Microscopy in Liquid

ZHAO Zhi-Jie¹, ZHANG Ping², YANG Jia-Xiang³, HAO Chang-Chun³, ZHOU Xing-Fei¹, LI Bin*⁴

¹(Ningbo University's Faculty of Science, Ningbo University, Ningbo 315211, China)

²(School of Life Science, Inner Mongolia Agricultural University, Hohhot 010018, China)

³(School of Physics and Information Technology, Shaanxi Normal University, Xi'an 710062, China)

⁴(Division of Physical Biology & Bioimaging Center, Shanghai Synchrotron Radiation Facility,

Chinese Academy of Sciences, Key Laboratory of Interfacial Physics and Technology, Shanghai Institute of Applied Physics,

Chinese Academy of Sciences, Shanghai 201800, China)

Abstract Atomic force microscopy (AFM) is one of important tools for studying the structure and function of biomolecules due to its nanoscale capability. A well prepared sample was the primary key issue for high-resolution imaging macromolecules. Here, by using self-assembly technology of DNA origami, antigens were modified on DNA origami. Afterward, antibodies reacted specifically with antigens by a molecular recognition way. Then, a nanostructure formed from DNA origami and antigen-antibody complexes. By the aid of adsorption character of DNA origami, individual antibodies could selectively adsorb on mica surface. As a result, the ultrastructural morphology image of a single IgG molecule, the characteristic "Y-shaped" domains, was resolved in liquid. The way for adsorbing biomolecules on the mica surface in a liquid environment was simple and convenient, and it may be useful to detect and measure biomolecules at the single-molecule level with AFM.

Keywords Atomic force microscopy; Single-molecule; High-resolution imaging; Immunoglobulin G; DNA origami

(Received 9 February 2016; accepted 12 May 2016)

《冶金分析》2017 年征订启事

国内统一刊号: CN11-2030/TF

国外代号: 1579M

邮发代号: 82-157

国际 CODEN: YEFEET

国际标准刊号: ISSN1000-7571

京海工商广字第 8276 号

作为冶金领域中权威的分析技术专业期刊,《冶金分析》的办刊宗旨是为广大冶金分析测试工作者搭建学术交流平台。《冶金分析》由中国钢研科技集团有限公司和中国金属学会主办,国际钢铁工业分析委员会(ICASI)支持。自1981年创刊以来,《冶金分析》以高度的创新精神和严谨的科学态度,动态反映冶金领域分析测试新技术、新方法、先进经验,报导研究成果,发表综述文章,并介绍国内外冶金分析动态等。适合于冶金、矿山、石油、化工、机械、地质、环保、商检等部门技术人员和大专院校师生参考。《冶金分析》是中国科技论文统计源期刊、中国科学引文数据库的核心库期刊、全国中文核心期刊、美国“CA”千种表中国化工类核心期刊,并为荷兰 SCOPUS 数据库、美国《剑桥科学文摘》、英国《皇家化学学会系列文摘》、中国知网(CNKI)、万方数据资源系统、中文科技期刊数据库等国内外知名数据库所收录。

多年来《冶金分析》的影响因子等重要学术评价指标在冶金工程技术类及分析测试技术类期刊中一直居于前列。据2015年版《中国科技期刊引证报告》(核心版),本刊2014年度影响因子为1.033,在“冶金工程技术”类期刊中名列第1;在1998种中国科技核心期刊中,本刊综合评价总排名第218。

《冶金分析》为月刊,大16开,单期页码为80页,定价15.00元,全年12期,180.00元。全国各地邮局发行,如有漏订的单位和读者,请直接与编辑部联系。

欢迎订阅! 欢迎投稿! 欢迎刊登广告!

电话: 010-62182398 地址: 北京海淀区学院南路76号 邮编: 100081

网址: <http://journal.yejinfenxi.cn>; <http://www.chinamet.cn>

E-mail: yjfx@analysis.org.cn; yjfx@chinajournal.net.cn