

合成生物聚合物的重要微生物资源-鞘氨醇单胞菌

黄海东^{1,2}, 刘云¹, 刘如林^{1*}

(¹南开大学生命科学学院, 分子微生物学与技术教育部重点实验室, 天津 300071)

(²天津农学院农学系, 天津 300384)

摘要 鞘氨醇单胞菌属的许多菌株能够合成结冷胶、沃仑胶、迪特胶等多种结构相似, 物理性能多样的生物聚合物, 统称为鞘氨醇胶。目前, 结冷胶已经大规模的生产和应用, 由于鞘氨醇单胞菌属的提出仅有十几年的历史, 其他种类鞘氨醇胶的研究和开发才刚刚起步。本文综述了鞘氨醇单胞菌属分类研究的最新进展, 以及鞘氨醇胶的结构、特性、生物合成途径、分子遗传学和基因工程的研究现状, 并对今后的研究重点和方向进行了展望。

关键词: 鞘氨醇单胞菌, 鞘氨醇胶, 合成途径, 基因工程

中图分类号: Q93 文献标识码: A 文章编号: 0001-6209(2009)05-0560-07

鞘氨醇单胞菌属(*Sphingomonas* sp.)是一种能够合成生物聚合物的重要微生物菌种资源, 近年来研究者发现, 除结冷胶(gellan gum, S-60)外, 鞘氨醇单胞菌属的某些菌株还能够合成多种其他聚合物, 例如沃仑胶(welan gum, S-130)、鼠李胶(rhamsan gum, S-194)、迪特胶(diutan gum, S-657)、S-88、S-198和NW-11等^[1-3]。这些生物高分子聚合物主要由多糖组成, 具有相似的主链结构, 被统称为鞘氨醇胶(sphingans)。其中结冷胶是继黄原胶之后又一得到广泛应用的微生物代谢胶, 而沃仑胶、鼠李胶和迪特胶也已经逐步得到商业化生产和应用。本文综述了合成生物聚合物的重要微生物资源——鞘氨醇单胞菌的研究进展, 包括菌属分类、鞘氨醇胶的结构、合成基因、发酵生产和应用。

1 鞘氨醇单胞菌的分类研究

1990年, 日本学者 Yabuuchi 等人根据 16S rRNA 序列、呼吸醌种类和细胞极性脂模式等特征, 首次提

出一类新的细菌属——鞘氨醇单胞菌属(*Sphingomonas*), 并将原先的伊乐藻假单胞菌(*Pseudomonas elodea*)重新命名为少动鞘氨醇单胞菌(*Sphingomonas paucimobilis*), 作为鞘氨醇单胞菌属的模式菌株^[4]。该菌属的共同分类特征为: 革兰氏阴性、杆状、好氧、无芽孢、多呈黄色、过氧化氢酶阳性, 细胞脂肪酸模式中有 2-羟基脂肪酸, 而缺乏 3-羟基脂肪酸, 细胞膜组分中不含脂多糖, 而含有一种特殊的脂质成分——鞘糖脂。

由于鞘氨醇单胞菌属菌株代谢的多样性, 特别是能够降解复杂的芳香族污染物, 耐受极端贫营养条件, 并产生有价值的高分子聚合物, 故针对该菌属的研究一直非常活跃。之后的十几年中, 假单胞菌属(*Pseudomonas*)、产碱菌属(*Alcaligenes*)和拜叶林克氏菌属(*Beijerinckia*)的许多菌株被重新鉴定和分入鞘氨醇单胞菌属, 该菌属中的一些新菌株也不断被发现^[5-6]。随着鞘氨醇单胞菌属所包含菌株数量的不断扩大, 这些菌株在生理、生态和系统进化上的多

基金项目: 国家自然科学基金(50674058)

* 通信作者。Tel: +86-22-23505967; E-mail: meor@nankai.edu.cn

作者简介: 黄海东(1972-)男, 浙江台州人, 副教授, 博士研究生, 研究方向资源细菌及工程。E-mail: haidong@126.com

收稿日期: 2008-12-04; 修回日期: 2009-02-06

样性也越来越丰富,是否应该对该菌属重新进行划分引发了一些争议^[7]。根据 16S rDNA 序列比对和系统进化分析(图 1),鞘氨醇单胞菌属可以被清晰地分为 4 个簇,且同一簇的菌株序列同源性均大于 95.8%,而不同簇间的序列同源性较低,在 92.6%~96.5%之间。而且每个簇的 16S rDNA 序列都有一些可以与其他簇相区别的特异性碱基序列,例如:第一簇的第 593 个碱基为 G,第二簇的 52:359 碱基为 U:A,第三簇的 990:1215 碱基为 U:A,第四簇的 987:1218 碱基为 G:C。另一个重要区别是细胞多胺模

式,第一簇的多胺类型为类精脒,第二簇含有大量的亚精胺和微量的胍丁胺,第三和第四簇含有大量的亚精胺以及微量的腐胺和胍丁胺^[8]。

根据系统进化分析、16S rDNA 特异性碱基位点和多胺模式的研究,2001 年 Takeuchi 等人对鞘氨醇单胞菌属进行了重新分类,进一步细分为 4 个属^[9]: *Sphingomonas sensu stricto*, *Sphingobium*, *Novosphingobium* 和 *Sphingopyxis*,这一分类观点已被广泛接受。目前,这 4 个属中正式命名的种分别有 39、14、14 和 11 个。

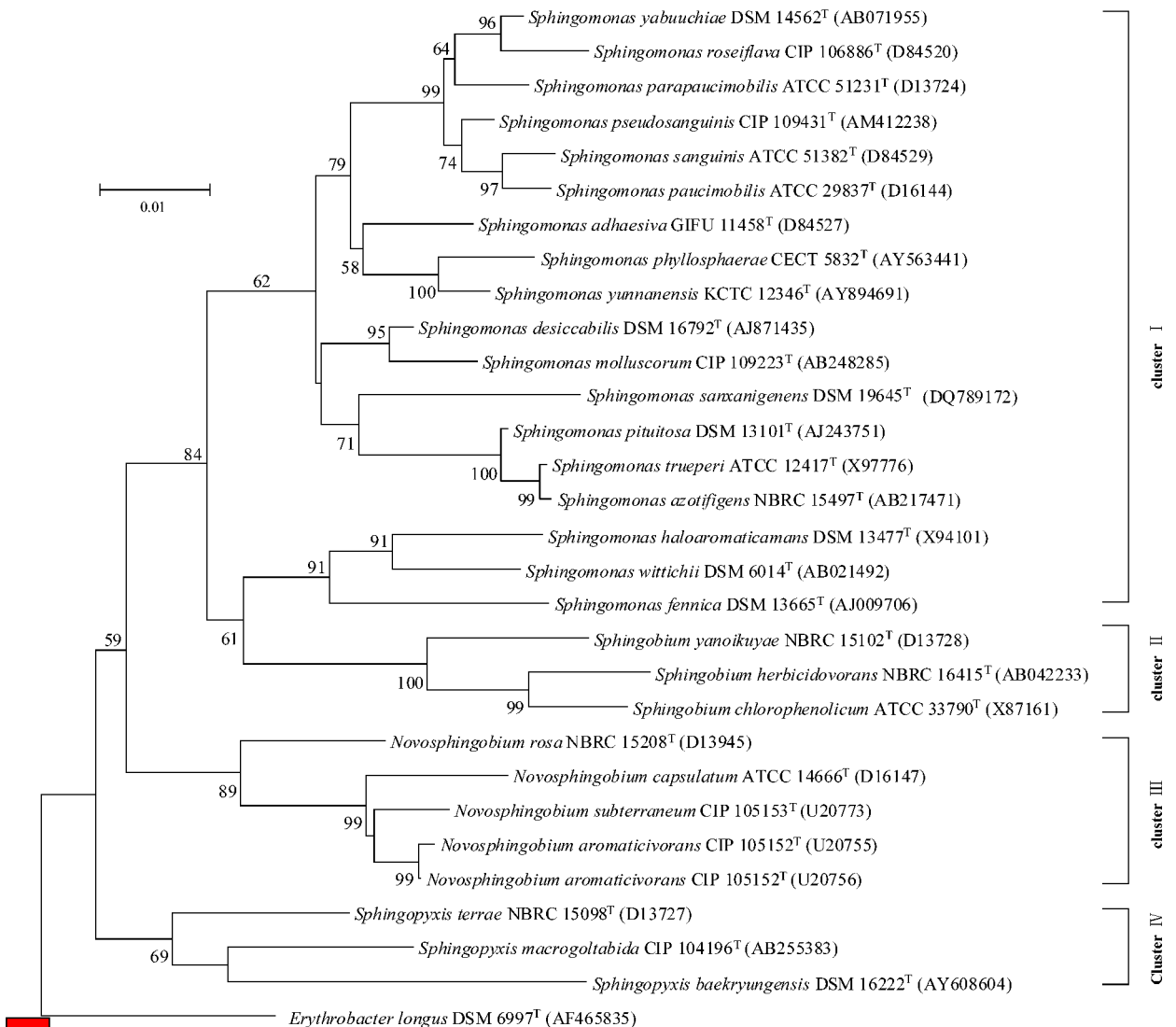


图 1 鞘氨醇单胞菌属的系统发育树

Fig.1 Phylogenetic tree of *Sphingomonas*.

2 鞘氨醇胶的结构、特性和应用

鞘氨醇胶是鞘氨醇单胞菌属某些菌株合成胞外聚合物的统称,包括:*S. paucimobilis* ATCC 31461 合成的结冷胶, *Sphingomonas* sp. ATCC 31555 (原

Alcaligenes sp. ATCC 31555) 合成的沃仑胶, *Sphingomonas* sp. ATCC 31961 (原 *Alcaligenes* sp. ATCC 31961) 合成的鼠李胶, *Sphingomonas* sp. ATCC 53159 合成的迪特胶, *Sphingomonas* sp. ATCC 31554 (原 *Pseudomonas* sp. ATCC 31554) *Sphingomonas* sp.

结冷胶在生物医疗领域也被广泛应用,用其制成的胶状薄膜可用作许多药物的赋形剂和缓释剂,它是胰岛素体内输送的理想载体,也是医学组织工程中理想的三维框架材料^[14-16]。沃仑胶能够形成对高温稳定的粘稠液体,且与水泥有良好的相容性,主要作为胶黏材料用于混凝土、干混砂浆领域,也可以用作油井开采的钻井泥浆^[17]。鼠李胶能耐受高浓度磷酸铵和盐溶液,因此可以作为肥料和杀虫剂的悬浮剂^[18]。迪特胶具有比黄原胶和沃仑胶更高的粘度和抗热性能,是最具应用前景的新一代增稠剂、超塑化剂和石油钻井泥浆添加剂。

3 鞘氨醇胶的合成途径与分子遗传学研究

鞘氨醇胶的合成途径主要包括糖核苷酸前体的合成、四糖重复单位的组装、聚合和分泌等4个步骤。目前已知的鞘氨醇胶合成基因簇全序列有3个,分别是 *Sphingomonas* sp. ATCC 31554 合成 S-88 的 *sps* 基因簇; *S. paucimobilis* ATCC 31461 合成结冷胶的 *gel* 基因簇, *Sphingomonas* sp. ATCC 53159 合成迪特胶的 *dps* 基因簇^[10,19-20]。这些基因簇有共同的核心基因区,包括 *spsQ/gelQ/dpsQ* 和 *rmlD* 间的所有基因,其编码产物为:dTDP-鼠李糖前体合成酶,装配四糖重复单元骨架的糖基转移酶,聚合酶和多糖分泌相关的酶。而其他3种糖基-核苷酸前体:UDP-葡萄糖、UDP-葡萄糖醛酸和 UDP-甘露糖的合成酶编码基因在这3株菌染色体上的其他位置。

在聚合物结构组成上,迪特胶、结冷胶和鞘氨醇胶 S-88 的四糖骨架相同,但侧链基团不同,结冷胶没有糖基侧链、S-88 有一个鼠李糖、迪特胶有两个鼠李糖。这个差别也表现在合成糖重复单位所需的糖基转移酶编码基因数量上,结冷胶有四个相关基因 *gelB*、*gelK*、*gelL* 和 *gelQ*,鞘氨醇胶 S-88 的相关编码基因为 *SpsB*、*SpsK*、*SpsL*、*SpsQ* 和一个可能编码鼠李糖转移酶的 *urf31* 基因,迪特胶的相关基因为 *DpsB*、*DpsK*、*DpsL*、*DpsQ*、*urf31* 和一个仍然未知的糖基转移酶编码基因^[21-23]。这三种鞘氨醇胶合成基因簇的另一个显著差别在于:聚合酶编码基因 *spsG/gelG/dpsG*、裂解酶编码基因 *spsR/gelR/dpsR* 和聚合物分泌相关基因 *spsS/gelS/dpsS*。在 S-88 和迪特胶基因簇中,*spsG/spsS/spsR* 和 *dpsG/dpsS/dpsR* 都位于糖基转移酶编码基因 *spsQ/dpsQ* 附近,在基因的排列方式和方向不尽相同;而结冷胶的 *gelS/gelG/gelR* 基因位于染色体上的另一个区域,基因的排列和方

向与 S-88 的 *sps* 基因簇相同。

对比 *sps*、*gel* 和 *dps* 三个基因簇相对应的氨基酸序列,表明 *sps* 基因簇与 *dps* 基因簇同源性更高。这可能也反映出—个事实:与结冷胶相比,迪特胶与 S-88 在结构上更加相似,而且在系统发育关系上, *Sphingomonas* sp. ATCC 31554 与 *Sphingomonas* sp. ATCC 53159 也更接近。目前,沃仑胶、鼠李胶、S-198、NW-11 等多种鞘氨醇胶的合成基因还未研究,根据 *sps*、*gel* 和 *dps* 的氨基酸保守序列设计简并引物对这些基因进行扩增的成功率很低,仍需要通过代表型为 *Sps* (Sphingon polysaccharide synthesis) 突变株的研究来获得目的基因的信息。

4 鞘氨醇胶的发酵生产与基因工程

与黄原胶相比,鞘氨醇胶的碳源转化率较低,因而生产成本较高。为了在单位体积中获得更高产量的聚合物以及底物到产物的最高转化率,发酵培养基、溶氧、温度、pH 等因素都需要根据不同的菌株进行优化^[24-25]。发酵优化经验表明,控制一个高碳氮比的营养条件,会有利于鞘氨醇胶的发酵合成,但这种发酵条件同样有利于胞内贮藏物质 PHB 的合成,因而与目的产物的合成发生竞争。Baird 等人用随机突变的策略,使 PHB 的合成被阻断,但仍然没有观察到结冷胶合成量的明显提高^[26]。代谢工程是一个改良鞘氨醇胶性能和提高产量的非常有前途的策略。为提高合成结冷胶的糖转化率,Vartak 等人将 *S. paucimobilis* ATCC 31461 中编码 6-磷酸-葡萄糖脱氢酶的 *zwf* 基因失活,意图通过减弱碳源进入磷酸戊糖途径的代谢流,从而将更多碳源代谢流量转移到结冷胶的合成上,然而,突变菌株并没有表现出结冷胶合成的显著增加^[27]。

由于结冷胶合成基因方面的研究已经比较透彻,越来越多的研究者尝试利用基因工程的方法控制结冷胶的产量、化学组成和特性。过量表达个别基因,例如:编码葡萄糖磷酸变位酶的 *pgmG* 基因,或编码 UDP-葡萄糖焦磷酸化酶的 *ugpG* 基因,都可以使 *S. elodea* ATCC 31461 的 UDP-葡萄糖合成酶的活力提高,但不能导致结冷胶合成量的显著增加;然而同时过量表达 *S. elodea* ATCC 31461 的 *pgmG* 基因和 *ugpG* 基因可以使结冷胶的产量提高 20%,聚合物的粘度也明显增加。过量表达糖基前体合成酶,在 *Sphingomonas* sp. ATCC 21423 合成鞘氨醇胶 S-7 的研究中也得到了相似的结果。目前的研究表

明,提高糖基-核苷酸前体的合成量是增加鞘氨醇胶产量的一种方法,除此以外,其他代谢工程方面的研究也被尝试。Thorne 将鞘氨醇胶 S-7 中,负责四糖单位组装和聚合物分泌的基因簇同时过量表达,结果鞘氨醇胶 S-7 的产量提高 20%,同时发酵液的粘度大幅度增加^[28]。Coleman 构建了 *Sphingomonas* ATCC 53159 的重组菌株,该菌株的质粒中含有迪特胶 24 个合成基因中的 20 个,结果发酵液的粘度显著增加,但迪特胶的合成量仅有少量提高^[29]。虽然这些结果令人鼓舞,但成功的例子并不多,由于对鞘氨醇胶合成途径的瓶颈步骤,以及鞘氨醇胶合成与其它糖代谢的关系和调控仍然了解很少,鞘氨醇胶的基因工程改造还面临很多问题,需要进一步深入研究。

5 问题和展望

在过去的十几年中,鞘氨醇胶的研究和开发取得了重要的进展,其中结冷胶是细菌合成的具有成凝胶性能的少数微生物合成胶之一,也是鞘氨醇胶中开发最为成功的一种。与黄原胶相比,鞘氨醇单胞菌合成鞘氨醇胶的产率较低,通常仅为前者的 50%~75%,由于生产成本较高,限制了这类聚合物的广泛应用。但鞘氨醇胶种类和结构的多样性,使其能产生丰富有用的物理学性质,作为控制水溶液流变学性质的产品,其应用领域不断扩大,并得到重视。目前,国内对于结冷胶以外其他鞘氨醇胶的研究较少,据报道,郭建军、陈芳等对沃仑胶以及与黄原胶复配后的溶液流变学特性进行了研究^[30-31],本实验室鉴定了一株鞘氨醇单胞菌属的新种^[11],该菌株能合成一种具有增稠和成凝胶性能的新型鞘氨醇胶,具有很好的应用前景^[32-33]。建议国内加强鞘氨醇胶的研究和开发,重点应包括以下几方面(1)鞘氨醇单胞菌属菌种资源的筛选和开发,获得更多新型的鞘氨醇胶类聚合物(2)系统研究鞘氨醇胶的生物合成途径,从分子水平阐明这类聚合物合成的关键调控步骤和代谢瓶颈(3)通过基因工程的方法改变鞘氨醇胶的生物合成途径,提高聚合物的产率,或从基因水平上控制聚合物的糖构架和取代基团,从而生产出具有不同性质的产物(4)改进鞘氨醇胶的下游提取工艺,高效获得不含细胞和蛋白杂质的澄清产物(5)通过化学修饰来改进鞘氨醇胶的性质,开发组织工程等新的医疗应用领域。

参考文献

- [1] Denner EBM, Paukner S, Kämpfer P, et al. *Sphingomonas pituitosa* sp. nov., an exopolysaccharide-producing bacterium that secretes an unusual type of sphingane. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 2001 51: 827-841.
- [2] Banik RM, Kanari B, Upadhyay S. Exopolysaccharide of the gellan family: prospects and potential. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 2000, 16: 407-414.
- [3] Pollock TJ. Gellan-related polysaccharides and the genus *Sphingomonas*. *Journal of General Microbiology*, 1993, 139: 1939-1945.
- [4] Yabuuchi E, Yano I, Oyaizu H, et al. Proposals of *Sphingomonas paucimobilis* gen. nov. and comb. nov., *Sphingomonas parapaucimobilis* sp. nov., *Sphingomonas yanoikuyae* sp. nov., *Sphingomonas adhaesiva* sp. nov., *Sphingomonas capsulata* comb. nov., and two genospecies of the genus *Sphingomonas*. *Microbiology and Immunology*, 1990 34: 99-119.
- [5] Reddy GSN, Garcia PF. *Sphingomonas mucosissima* sp. nov. and *Sphingomonas desiccabilis* sp. nov., from biological soil crusts in the Colorado Plateau, USA. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 2007 57: 1028-1034.
- [6] Seo EJ, Yoo SH, Oh KW, et al. Isolation of an exopolysaccharide-producing bacterium, *Sphingomonas* sp. CS101, which forms an unusual type of sphingane. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry* 2004 68: 1146-1148.
- [7] Yabuuchi E, Kosako Y, Fujiwara N, et al. Emendation of the genus *Sphingomonas* Yabuuchi et al. 1990 and junior objective synonymy of the species of three genera, *Sphingobium*, *Novosphingobium* and *Sphingopyxis*, in conjunction with *Blastomonas ursincola*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2002, 52: 1485-1496.
- [8] Busse HJ, Kämpfer P, Denner EBM. Chemotaxonomic characterisation of *Sphingomonas*. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 1999 23: 242-251.
- [9] Takeuchi M, Hamana K, Hiraishi A. Proposal of the genus *Sphingomonas sensu stricto* and three new genera, *Sphingobium*, *Novosphingobium* and *Sphingopyxis*, on the basis of phylogenetic and chemotaxonomic analyses. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 2001 51: 1405-1417.
- [10] Fialho A, Moreira L, Granja A, et al. Occurrence, production, and applications of gellan: current state and perspectives. *Applied Microbiology and Biotechnology* 2008, 79: 889-900.

- [11] Haidong H , Wei W , Ting M , et al. *Sphingomonas sanxanigenens* sp. nov. , isolated from soil. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* ,2009 , 59 :719 – 723.
- [12] Kang KS ,Veeder GT. Polysaccharide S-60 and bacterial fermentation process for its preparation. US Patent : 4326053 ,April 20 ,1982.
- [13] Peik JA ,Steenbergen SM ,Hayden HR. Heteropolysaccharide S-198. US Patent #529797 July 16 ,1985.
- [14] Agnihotri SA ,Jawalkar SS ,Aminabhavi TM. Controlled release of cephalixin through gellan gum beads :effect of formulation parameters on entrapment efficiency ,size ,and drug release. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 2006 63 :249 – 261.
- [15] Li J ,Kamath K ,Dwivedi C. Gellan film as an implant for insulin delivery. *Journal of Biomaterials Applications* 2001 , 15 :321 – 343.
- [16] Smith AM ,Shelton RM ,Perrie Y ,et al. An initial evaluation of gellan gum as a material for tissue engineering applications. *Journal of Biomaterials Applications* 2007 22 : 241 – 254.
- [17] Kang KS ,Veeder GT. Heteropolysaccharide S-130. US Patent #4342866 ,August 3 ,1982.
- [18] Peik JA , Steenbergen SM , Hayden HR. Heteropolysaccharide S-194. US Patent : 4401760 , August 30 ,1983.
- [19] Sá-Correia I ,Fialho AM ,Videira P ,et al. Gellan gum biosynthesis in *Sphingomonas paucimobilis* ATCC 31461 : genes , enzymes and exopolysaccharide production engineering. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology* 2002 29 :170 – 176.
- [20] Moreira LM ,Hoffmann K ,Albano H ,et al. The gellan gum biosynthetic genes *gelC* and *gelE* encode two separate polypeptides homologous to the activator and the kinase domains of tyrosine autokinases. *Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology* 2004 8 :43 – 57.
- [21] Tocilj A , Munger C , Proteau A , et al. Bacterial polysaccharide co-polymerases share a common framework for control of polymer length. *Nature Structural & Molecular Biology* 2008 ,15 :130-138.
- [22] Videira P ,Fialho AM ,Geremia RA ,et al. Biochemical characterization of the beta-1 ,4 -glucuronosyltransferase GelK in the gellan gum-producing strain *Sphingomonas paucimobilis* A. T. C. C. 31461. *Biochemical Journal* , 2001 358 :457 – 464.
- [23] Yamazaki M ,Thorne L ,Mikolajczak M ,et al. Linkage of genes essential for synthesis of a polysaccharide capsule in *Sphingomonas* strain S88. *Journal of Bacteriology* ,1996 , 178 :2676 – 2687.
- [24] Banik RM ,Santhiagu A ,Upadhyay SN. Optimization of nutrients for gellan gum production by *Sphingomonas paucimobilis* ATCC-31461 in molasses based medium using response surface methodology. *Bioresource Technology* , 2007 98 :792 – 797.
- [25] Banik RM ,Santhiagu A. Improvement in production and quality of gellan gum by *Sphingomonas paucimobilis* under high dissolved oxygen tension levels. *Biotechnology Letters* , 2006 28 :1347 – 1350.
- [26] Baird JK ,Cleary JM. PHB-Free gellan gum broth. US Patent #5300429 ,April 5 ,1994.
- [27] Vartak NB ,Lin CC ,Cleary JM ,et al. Glucose metabolism in *Sphingomonas elodea* :pathway engineering via construction of a glucose-6-phosphate dehydrogenase insertion mutant. *Microbiology* ,1995 ,141 :2339 – 2350.
- [28] Thome L ,Mikolajczak MJ ,Armentrout RW ,et al. Increasing the yield and viscosity of exopolysaccharides secreted by *Sphingomonas* by augmentation of chromosomal genes with multiple copies of cloned biosynthetic genes. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology* ,2000 ,25 :49 – 57.
- [29] Coleman RJ ,Patel YN ,Harding NE. Identification and organization of genes for diutan polysaccharide synthesis from *Sphingomonas* sp. ATCC 53159. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology* 2008 35 :263 – 274.
- [30] 陈芳 ,李建科 ,徐昶. 新型微生物多糖-韦兰胶的流变特性影响因素研究. *食品科学(Food Science)* ,2007 28 (9) :49 – 52.
- [31] 郭建军 ,李建科 ,陈芳 ,等. 黄原胶和韦兰胶混胶黏度的影响因素研究. *食品科学(Food Science)* ,2007 28 (10) :96 – 99.
- [32] 黄海东 ,王薇 ,马挺 ,等. 一种新型生物聚合物的分子组成及特性研究. *高等学校化学学报(Chemical Journal of Chinese Universities)* ,2009 30(2) :324 – 327.
- [33] 王薇 ,黄海东 ,张禹 ,等. 一种新型生物聚合物 S_s 的流变学性质及成胶特性. *微生物学通报(Microbiology)* , 2008 35(6) :866 – 871.

Spingomonas sp. :An important microbial resource for biopolymer synthesis

Haidong Huang^{1,2}, Yun Liu¹, Rulin Liu^{1*}

(¹ Key Laboratory of Molecular Microbiology Technology, Ministry of Education, College of Life Sciences, Nankai University, Tianjin 300071, China)

(² Department of Agronomy, Tianjin Agricultural University, Tianjin 300384, China)

Abstract: The genus *Spingomonas* was established in 1990. *Spingomonas* spp. synthesize sphingans, structurally related biopolymers such as gellan, welan and diutan. At present, only gellan is applied widely in foods and pharmaceuticals. The economic value of other sphingans has not been well explored, and related research of sphingans still remains limited. In the present review, we address the latest taxonomy developments of *Spingomonas*, details about structure, characteristics and biosynthetic pathway of sphingans, current knowledge on the molecular genetics and genetic engineering of sphingans. In addition, we indicate future research needs.

Keywords: *Spingomonas* sp.; sphingans; biosynthetic pathway; genetic engineering

(本文责编: 张晓丽, 谷志静)

Supported by the National Natural Science Foundation of China (50674058)

* Corresponding authors. Tel: +86-21-23505967; E-mail: meor@nankai.edu.cn

Received 4 December 2008/Revised 6 February 2009

1953年创刊以来所有文章全文上网

2008年1月中旬,《微生物学报》自1953年创刊以来的文章全文上网啦!欢迎广大读者登陆本刊主页(<http://journals.im.ac.cn/actamicrocn>)浏览、查询、免费下载全文!

建立全文数据库的工作是从2007年初开始的,经过多方人员的共同努力,历经半年多时间成功完成。由于《微生物学报》历史悠久,其间经历了期刊的变化,变化情况统计如下,以供读者查阅参考。

《微生物学报》刊、期统计表

2009年2月统计

时间	刊期	卷号	期号
1953~1956	半年刊	1~4	1~2
1957~1958	季刊	5~6	1~4
1959	季刊	7	1~2
1959~1962	停刊3年		
1962	季刊	8	3~4
1963~1965	季刊	9~11	1~4
1966	季刊	12	1~2
1966~1972	停刊6年半		
1973~1988	季刊	13~28	1~4
1989~2007	双月刊	29~47	1~6
2008	月刊	48	1~12
2009	月刊	49	1~4