

锗对霍山石斛类原球茎悬浮培养细胞生长和多糖合成及氧化还原态的影响

魏明¹, 杨超英¹, 姜绍通²

1 安徽工程科技学院生化系, 芜湖 241000

2 合肥工业大学生物与食品工程学院, 合肥 230009

摘要: 为解决霍山石斛类原球茎液体培养细胞生长缓慢和代谢水平低下的问题, 研究了不同浓度的锗(GeO₂) 对霍山石斛类原球茎增殖、多糖合成及碳氮利用的影响, 分析了类原球茎细胞内还原糖、可溶性蛋白质含量、抗氧化酶活性以及细胞氧化还原态的变化。结果表明, 适当浓度的二氧化锗 (4.0 mg/L) 显著促进霍山石斛类原球茎的增殖和多糖的积累, 最大细胞干重为 32.6 g/L, 最大多糖产量为 3.78 g/L; 显著提高胞内还原糖和可溶性蛋白质含量, 超氧化物歧化酶和过氧化氢酶的活性明显升高, 而过氧化物酶的活性则有所降低; 氧化还原态分析发现, 二氧化锗处理的细胞内还原型谷胱甘肽/氧化型谷胱甘肽的比值明显提高, 谷胱甘肽还原酶活性升高。添加适量的二氧化锗有利于细胞生长和多糖合成。

关键词: 霍山石斛, 类原球茎, 锗, 多糖, 氧化还原态

Effects of germanium on cell growth, polysaccharide production and cellular redox status in suspension cultures of protocorm-like bodies of *Dendrobium huoshanense*

Ming Wei¹, Chaoying Yang¹, and Shaotong Jiang²

1 Department of Biology and Chemistry, Anhui University of Technology and Science, Wuhu 241000, China

2 School of Biotechnology and Food Engineering, Hefei University of Technology, Hefei 230009, China

Abstract: To solve the problem of low growth rate and metabolism level in suspension cultures of protocorm-like bodies (PLBs) of *Dendrobium huoshanense*. The effects of germanium on PLB proliferation and accumulation of polysaccharides together with nutrient utilization were investigated and the contents of reducing sugars, soluble proteins, the activities of antioxidant enzymes and redox status of the cells of PLB were analyzed. The results indicated that the optimum concentration of germanium dioxide (4.0 mg/L) significantly enhanced the cell growth and accumulation of polysaccharides, greatly improved contents of reducing sugars and soluble proteins, increased the activities of superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT) but decreased the activity of peroxidase(POD). The cell dry weight and production of polysaccharides were 32.6 g/L and 3.78 g/L, respectively. The analysis of cellular redox status showed that the ratio of reduced glutathione (GSH) to oxidized glutathione (GSSG) in cells and the activity of

Received: October 18, 2009; **Accepted:** January 13, 2010

Supported by: Key Project for Science and Technology Research from Ministry of Education of China (No. 03098).

Corresponding author: Ming Wei. E-mail: wmrainbow@yahoo.com.cn

教育部科学技术研究重点项目 (No. 03098) 资助。

glutathione reductase were significantly increased by the addition of germanium dioxide. The suitable concentration of germanium dioxide was beneficial to the cell growth and the accumulation of polysaccharides.

Keywords: *Dendrobium huoshanense*, protocorm-like bodies, germanium, polysaccharides, redox status

霍山石斛 (*Dendrobium huoshanense* C.Z.J.cheng) 属于兰科石斛属, 是名贵中草药, 产于安徽霍山及临近地区, 具有滋阴、清热、生津、润肺、止咳、清音明目等功效^[1]。现代药理研究证明, 石斛多糖具有调节机体免疫功能^[2]、抗白内障活性^[3]。由于霍山石斛自然繁殖能力很低, 在自然条件下生长缓慢、生长周期长, 加上人工大量采集, 其自然资源已濒临灭绝。类原球茎是霍山石斛离体繁殖过程的中间形态, 可由植株的不同部位诱导产生, 具有和植株同样的物质代谢和形态发育潜能^[4], 类原球茎本身可以增殖。由于霍山石斛类原球茎悬浮培养周期较长, 在培养过程中, 培养物常常发生褐变, 导致细胞生长缓慢。提高霍山石斛类原球茎的细胞活力, 加快其增殖是实现霍山石斛类原球茎大规模培养的基础。

锗可以调节植物的生长, 保护细胞膜不受损伤, 提高细胞的抗氧化能力^[5]。通过研究二氧锗对霍山石斛类原球茎悬浮培养细胞生长和多糖合成的影响, 分析细胞中还原糖和可溶性蛋白质含量、SOD、CAT 和 POD 等酶的活性变化以及细胞的氧化还原态变化与细胞生长、产物合成的关系, 为解决霍山石斛类原球茎增殖缓慢问题奠定基础。

1 材料和方法

1.1 试验材料

霍山石斛类原球茎由本实验室诱导保存, 在无激素固体 MS 培养基中继代培养, 继代周期为 30 d, 生长培养基为改良的 MS 培养基, 其中微量元素、有机元素减半, 大量元素: KNO₃ 30 mmol/L、KH₂PO₄ 1.25 mmol/L、MgSO₄·7H₂O 1.5 mmol/L 和 CaCl₂·2H₂O 4.5 mmol/L, 蔗糖浓度为 3%。

1.2 类原球茎悬浮培养条件

依据文献[6]和[7], 取生长 30 d 的类原球茎接种于装有 60 mL 液体培养基 (pH 为 5.8) 的 250 mL 三角瓶中, 接种量为 100 g (鲜重)/L; 分别添加终浓度

为 0、1.0、3.0、4.0、5.0、7.0、10.0 mg/L 的二氧化锗, 置于摇床上 (110 r/min), 25℃±2℃下悬浮培养, 光照周期为 14 h/d, 日光灯光强为 40 μmol/m²·s。

1.3 细胞生长量和多糖测定

每隔 6 d 随机取样 1 次, 用蒸馏水洗 2 次, 再用滤纸吸干类原球茎表面的水分后称重为湿重, 把类原球茎置于 60℃烘箱中烘至恒重为干重。提取多糖前, 类原球茎先用蒸馏水洗 2 次, 然后研碎用蒸馏水在 50℃~60℃水浴中提取 3 次, 收集水提液, 加 95% 乙醇至乙醇浓度为 80% 过夜沉淀, 最后收集沉淀。沉淀溶于蒸馏水中用 savage 法脱蛋白, 并用苯酚-硫酸测定多糖^[8] (采用 723 分光光度计测定)。培养基中的多糖提取方法同上, 总多糖为胞内和胞外多糖之和。

类原球茎生物量=收获类原球茎的总干重/接种时培养基体积 (g/L); 类原球茎的比生长速率

$$\mu = \frac{1}{X} \frac{dX}{dt} \quad (\text{d}^{-1}) \quad (X \text{ 为生物量, } t \text{ 为培养时间, } dX/dt$$

为类原球茎增殖速率); 多糖总产量=多糖总提取量/接种时培养基体积 (g/L); 细胞得率 $Y_{C/S}$ =细胞增殖量 (干重)/蔗糖消耗量; 多糖得率 $Y_{P/S}$ =多糖增加量/蔗糖消耗量。

1.4 培养基中残糖、硝酸盐、细胞内还原糖和可溶性蛋白质测定

培养基中的残糖用苯酚-硫酸法测定^[8], 硝酸根离子用水杨酸-浓硫酸法测定^[9] (考虑到培养过程中水分的蒸发对测定的影响, 在测定培养基中的各种成分时, 保持培养基的体积为接种时的体积)。可溶性还原糖用还原糖法测定^[10], 可溶性蛋白质用 Bradford 法测定^[11]。

1.5 抗氧化酶活性测定

超氧化物歧化酶(SOD) 的活性采用 SOD 试剂盒测定, 单位 U/g; 过氧化氢酶(CAT) 的活性采用 CAT 试剂盒测定, 单位 U/g; SOD 和 CAT 试剂盒由南京建成生物研究所提供。过氧化物酶(POD) 活性

以愈创木酚法测定: 取 5 g 类原球茎(鲜重) 在冰浴中研碎, 然后加 0.05 mol/L 磷酸盐缓冲液 (pH 6.8) 提取粗酶液。反应总体积为 3 mL, 其中底物为 0.05 mol/L 愈创木酚 1.0 mL, H_2O_2 (2%) 1.0 mL, 粗酶液 0.1 mL, pH 6.8 磷酸盐缓冲液 0.9 mL, 在 470 nm 下测定吸光值的变化。酶活力定义为: 以每分钟每克鲜重吸光度的变化 0.01 为一个酶活单位 (U/g)。

1.6 还原型谷胱甘肽 (GSH) 和氧化型谷胱甘肽 (GSSG) 及谷胱甘肽还原酶 (GR) 活性测定

每隔 6 d 取样, 样品 (5 g) 在液氮中研磨, 然后加入碘基水杨酸, 混合物在 $12\ 000\times g$ 下离心 5 min, 上清液用来测定 GSH 和 GSSG 的含量及谷胱甘肽还原酶活性; GSH 和 GSSG 的测定均采用碧云天生物技术研究所 (江苏海门) 的 GSH 和 GSSG 检测试剂盒; 谷胱甘肽还原酶 (GR) 活性根据 Papanastasiou

等的方法测定^[12]。

所有实验至少重复 2 次, 每个水平 5 个重复, 实验结果以平均值附标准差表示。

2 结果与分析

2.1 锗对霍山石斛类原球茎增殖和多糖合成的影响

表 1 表示添加不同浓度的二氧化锗时, 霍山石斛类原球茎增殖和多糖积累情况, 适当浓度的二氧化锗能够促进类原球茎增殖和多糖积累。当二氧化锗浓度为 4.0 mg/L 时, 类原球茎的增殖速率最大, 培养 30 d 时, 细胞干重、细胞得率 Y_{CS} 、多糖产量以及多糖得率 Y_{PS} 都最大, 高浓度的锗对类原球茎的增殖和多糖合成具有抑制作用, 可能是高浓度的锗对细胞具有毒害作用。

表 1 锗对霍山石斛类原球茎增殖和多糖合成的影响

Table 1 Effects of germanium on the PLB proliferation and polysaccharide synthesis in suspension cultures of *D. huoshanense*

GeO_2 (mg/L)	μ (d^{-1})	Biomass (g/L)	Y_{CS}	Polysaccharides (g/L)	Y_{PS}
0.0	0.042±0.001 ^{cd}	23.2±0.14 ^d	0.67±0.02 ^d	2.32±0.08 ^d	0.078±0.002 ^d
1.0	0.046±0.001 ^c	26.2±0.10 ^c	0.73±0.01 ^c	2.96±0.14 ^c	0.089±0.001 ^c
3.0	0.053±0.001 ^{ab}	30.9±0.25 ^{ab}	0.83±0.02 ^{ab}	3.19±0.12 ^b	0.094±0.003 ^b
4.0	0.056±0.002 ^a	32.6±0.34 ^a	0.88±0.01 ^a	3.78±0.16 ^a	0.117±0.004 ^a
5.0	0.054±0.002 ^{ab}	31.8±0.28 ^{ab}	0.85±0.01 ^{ab}	3.62±0.06 ^{ab}	0.108±0.001 ^{ab}
7.0	0.049±0.001 ^b	28.4±0.32 ^b	0.78±0.03 ^b	3.16±0.24 ^b	0.093±0.002 ^b
10.0	0.040±0.001 ^d	20.2±0.42 ^c	0.57±0.02 ^c	2.12±0.18 ^c	0.073±0.003 ^c

Note: the same letters in the same row indicated that the difference was not significant at $P<0.05$.

2.2 锗对碳、氮吸收和利用的影响

在培养过程中, 营养物质的消耗主要用于细胞自身的增殖和产物的合成; 培养基中主要的营养物质是碳源和氮源。图 1A、B 分别表示了锗在最适浓度下, 霍山石斛类原球茎培养过程中培养基中糖和硝酸盐的消耗动态。

在植物细胞培养过程中, 碳源主要为蔗糖, 其作用是提供细胞代谢过程中所需要的能量及细胞组分与代谢物的碳骨架。由图 1A 可以看出, 锗对碳源的利用影响显著 ($P<0.05$), 在 4.0 mg/L 二氧化锗浓度下, 类原球茎增殖速度快, 糖的吸收快, 糖的利用率也高, 培养 30 d 时, 培养基中的糖几乎被耗尽;

而不加二氧化锗时, 类原球茎对糖的吸收较慢, 培养 30 d 时, 培养基中的糖浓度为 8 g/L 左右。

氮源在培养基中的作用是合成蛋白质和核酸等细胞物质, 蛋白质是细胞膜等结构组分的重要成分。图 1B 表示了培养基中硝酸盐的吸收情况, 锗对氮源的利用影响显著 ($P<0.05$), 添加 4.0 mg/L 二氧化锗时, 类原球茎吸收氮源的速度最快, 且利用率也最高, 而不加二氧化锗时, 类原球茎吸收氮源的速度最慢, 利用率也最低。

2.3 锗对胞内还原糖和可溶性蛋白质含量的影响

胞内还原性糖和蛋白质的含量与细胞生理活性有一定的关系。细胞生长快, 胞内可溶性蛋白质含

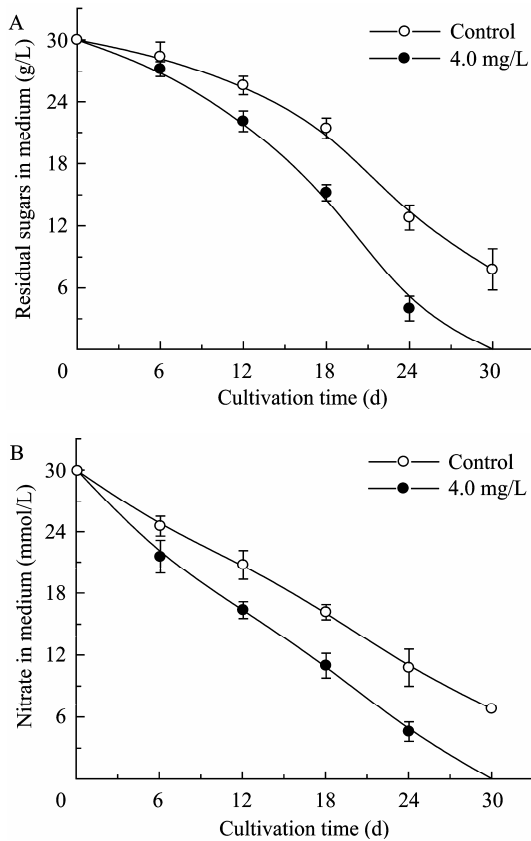


图1 锗对碳(A)、氮(B)利用的影响

Fig. 1 Effects of germanium on the utilization of sugars(A) and nitrate(B) in suspension cultures of PLBs of *D. huoshanense*.

量高；胞内可溶性还原糖在细胞的整个代谢中起着重要作用^[13]，胞内可溶性还原糖一方面提供细胞生长，另一方面用来合成多糖，胞内可溶性还原糖含量高，细胞生长快，多糖积累也多。从图 2A、B 可以看出，锗对胞内还原糖和可溶性蛋白质含量的影响显著($P<0.05$)，添加 4.0 mg/L 的二氧化锗时，胞内可溶性还原糖、可溶性蛋白质的含量均高于对照组，所以，锗可以提高霍山石斛类原球茎的生理活性，促进细胞生长及代谢产物的合成。

2.4 锗对抗氧化酶系统活性的影响

超氧化物歧化酶是活性氧清除系统中重要抗氧化酶。由图 3A 可知，用 4.0 mg/L 的二氧化锗处理后，霍山石斛类原球茎细胞内 SOD 活性明显高于对照组 ($P<0.05$)。由图 3B 可以看出，锗也能显著提高 CAT 的活性 ($P<0.05$)，但对 POD 的活性 (图 3C) 影响不大 ($P>0.05$)，甚至有抑制作用，可能是 SOD 和 CAT 活性的提高而抑制了 POD 的活性。

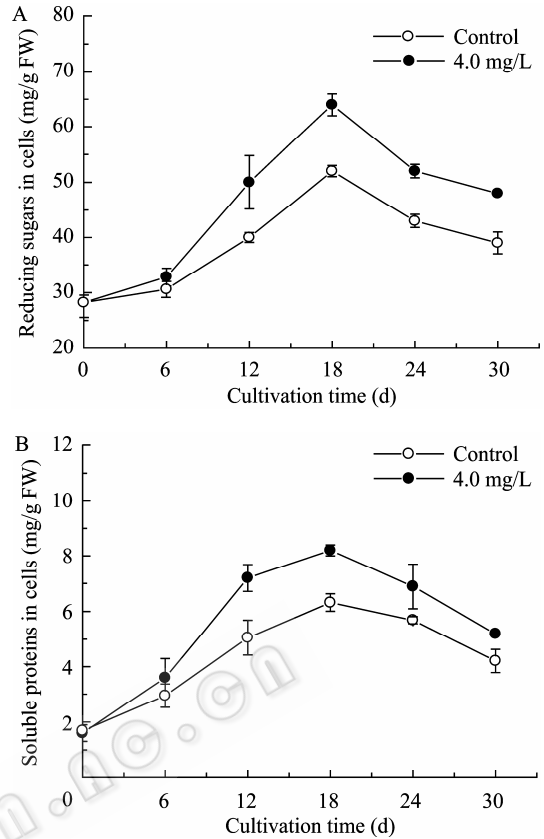


图2 锗对胞内还原糖(A)和蛋白质(B)含量的影响

Fig. 2 Effects of germanium on the contents of intracellular reducing sugars(A), proteins(B) in suspension cultures of PLBs of *D. huoshanense*.

2.5 锗对细胞氧化还原态和谷胱甘肽还原酶活性的影响

细胞内 GSH 和 GSSG 的含量反映了细胞的氧化还原状态。锗诱导霍山石斛类原球茎细胞氧化还原态变化与对照组具有相似的变化趋势。锗对细胞氧化还原态和谷胱甘肽还原酶活性影响显著 ($P<0.05$)，处理组相对于对照组 GSH 的含量显著提高 (图 4A)，而 GSSG 的含量显著降低 (图 4B)；GSH/GSSG 值的变化见图 4C，锗处理组一直高于对照组；谷胱甘肽还原酶(GR) 活性 (图 4D) 分析表明，锗处理组的 GR 活性明显高于对照组。

3 讨论

霍山石斛类原球茎转接到新的培养基中，细胞生长快慢和代谢水平与其生理状态有关。在植物细胞培养过程中，细胞活力与其继代周期、继代次数以及培养过程中细胞褐变有关^[6]。碳和氮是植物细

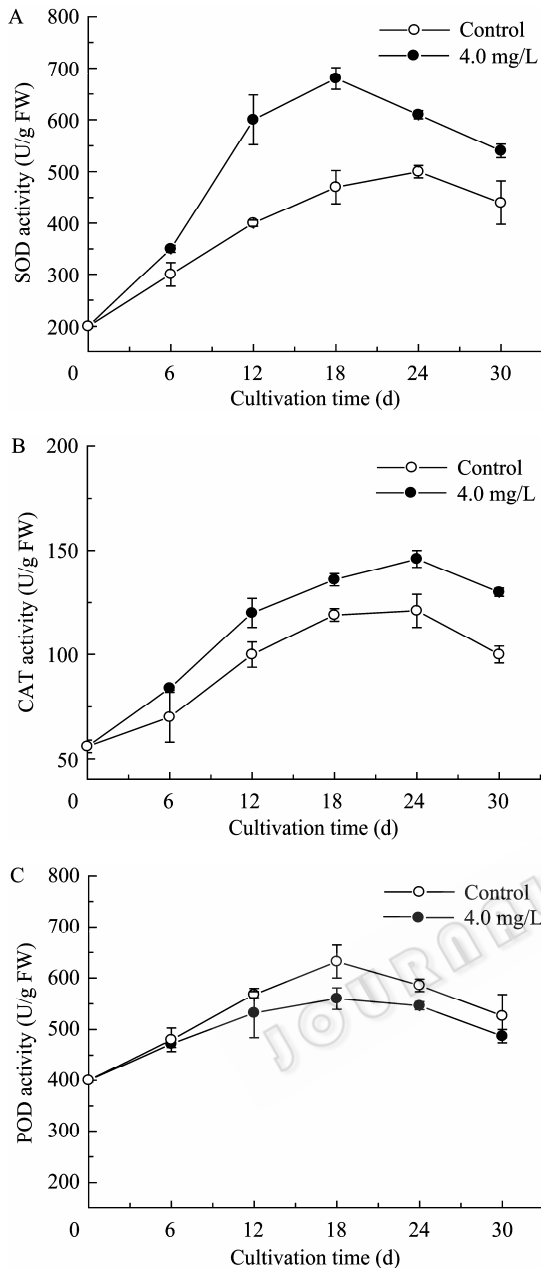


图3 锗对 SOD(A)、CAT(B) 和 POD(C) 活性的影响
 Fig. 3 The effects of germanium on the activities of SOD (A), CAT (B) and POD (C) in suspension cultures of PLBs of *D. huoshanense*.

胞生长的主要营养成分, 它们的吸收和利用直接影响细胞生长和产物合成。在霍山石斛类原球茎的悬浮培养过程中, 多糖的合成不仅与细胞的生长有关, 而且还与细胞内的还原糖浓度有关^[7]。培养基中的碳被吸收到细胞内, 一方面供应细胞生长, 另一方面用来合成多糖。蛋白质是植物生长发育的物质基础, 适当浓度的锗处理植物细胞可以加快蛋白质的合成, 从而为类原球茎的增殖分化提供了物质基础。

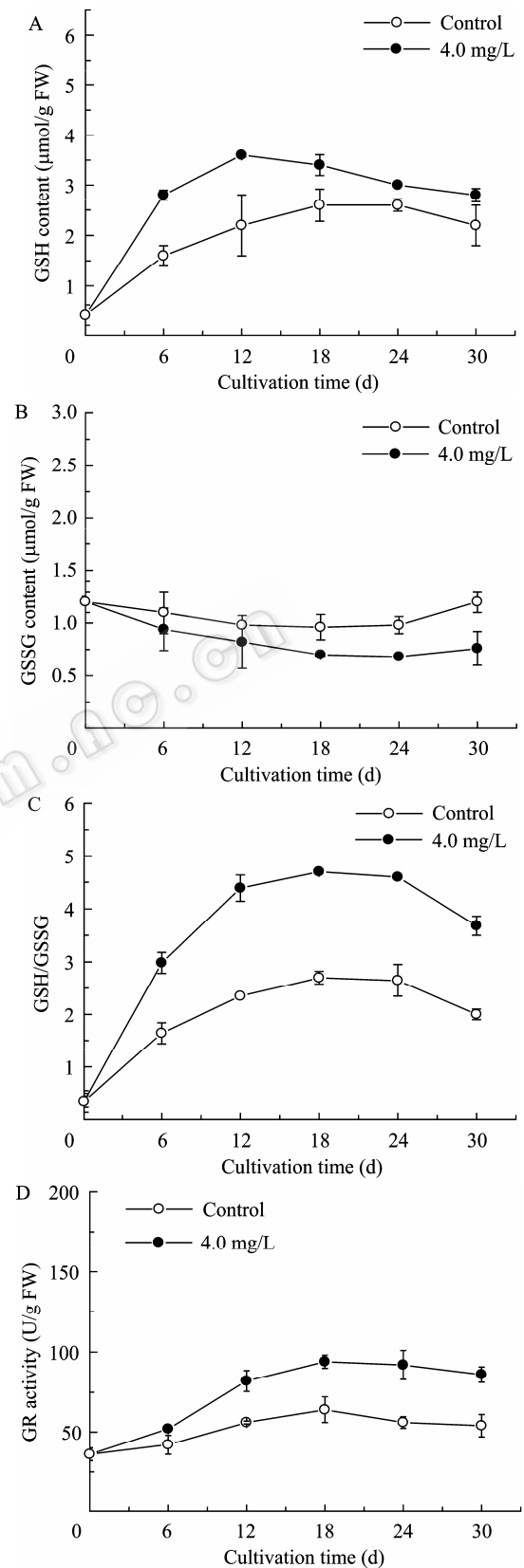


图4 锗对细胞内 GSH(A)、GSSG(B)、GSH/GSSG(C) 和谷胱甘肽还原酶活性(D) 的影响
 Fig.4 The effects of germanium on the contents of GSH(A), GSSG(B), GSH/GSSG(C) and activity of glutathione reductase(D) in suspension cultures of PLBs of *D. huoshanense*.

添加适当浓度的二氧化锆可以提高细胞的生理活性, 促进碳氮的吸收和利用, 从而促进类原球茎的增殖和多糖的合成。

植物在生长过程中会产生很多活性氧和自由基, 它们参与重要的生理生化反应, 然而高浓度的活性氧和自由基对细胞有毒害作用, 引起细胞褐变而死亡。植物体内有活性氧和自由基清除系统 SOD、CAT 和 POD 等酶, 这些酶协调作用, 使活性氧和自由基的产生与清除处于平衡状态。霍山石斛类原球茎在培养过程中经常会发生褐变而抑制细胞生长。与对照相比, 适当浓度的二氧化锆可以提高霍山石斛类原球茎细胞内 SOD 和 CAT 的活性, 降低细胞褐变, 提高了类原球茎细胞的生理活性, 促进类原球茎的增殖和多糖的合成。

细胞中谷胱甘肽氧化还原态的水平对细胞生长和代谢物的合成具有重要影响^[14]。Papanastaiou 等发现, 在咖啡愈伤组织培养过程中谷胱甘肽氧化还原态的变化影响愈伤组织的增殖和体细胞胚胎的发育^[12]。Belmonte 等在研究云杉体胚发育过程中发现 GSH 含量的提高促进体胚发育^[15]。另外, GSH/GSSG 的值与基因表达有关^[16]。本研究显示, 适当浓度的锆能够提高谷胱甘肽还原酶的活性, 细胞内 GSH 的含量高于对照组, 在培养 12 d 时, GSH 含量达到最高值, 是同期对照组的 1.5 倍; GSH/GSSG 的比值在培养的第 6 天迅速提高, 在培养的 12 d 至 24 d 始终保持较高的比值, 是对照组的 2.2 倍, 与之相对应类原球茎增殖量 and 多糖积累量都高于对照组, 实验结果表明, 适量的锆改变了细胞的氧化还原态, 而氧化还原态的变化可以促进细胞生长和多糖合成。

REFERENCES

- [1] Bi ZM, Wang ZT, Xu LS. Chemical constituents of *Dendrobium monili* forme. *Acta Bot Sin*, 2004, **46**(1): 124–126.
- [2] Zha XQ, Luo JP, Jiang ST. Induction of immunomodulating cytokines by polysaccharides from *Dendrobium huoshanense*. *Pharm Biol*, 2007, **45**(1): 1–6.
- [3] Luo JP, Deng YY, Zha XQ. Mechanism of polysaccharides from *Dendrobium huoshanense* on streptozotocin-induced diabetic cataract. *Pharm Biol*, 2008, **46**(4): 243–249.
- [4] Gao JP, Jin RM, Wu YP, et al. Comparative study of tissue cultured *Dendrobium protocorm* with natural *Dendrobium candidum* on immunological function. *J Chin Med Matr*, 2002, **25**(7): 487–489.
高建平, 金若敏, 吴耀平, 等. 铁皮石斛原球茎与原药材免疫调节作用的比较. *中药材*, 2002, **25**(7): 487–489.
- [5] Qin XQ, Jia SR. Genetic engineering of plants tolerant to oxidative stress. *J Agri Biotech*, 1997, **5**(1): 14–24.
秦晓琼, 贾士荣. 植物的抗氧化逆境的基因工程. *农业生物技术学报*, 1997, **5**(1): 14–24.
- [6] Wei M, Yang CY, Jiang ST, et al. Effect of subculture cycle on kinetics of suspension cultures of protocorm-like bodies from *Dendrobium huoshanense*. *Chin Agri Sci Bull*, 2008, **24**(9): 43–47.
魏明, 杨超英, 姜绍通, 等. 继代周期对霍山石斛类原球茎悬浮培养动力学的影响. *中国农学通报*, 2008, **24**(9): 43–47.
- [7] Jiang ST, Wei M, Luo JP. Effect of phosphate on growth and polysaccharide production by suspension cultures of protocorm-like bodies of *Dendrobium huoshanense*. *Chin J Biotech*, 2006, **22**(4): 613–618.
姜绍通, 魏明, 罗建平. 磷对霍山石斛类原球茎悬浮培养细胞生长和多糖合成的影响. *生物工程学报*, 2006, **22**(4): 613–618.
- [8] Zhong JJ, Wang DJ. Improvement of cell growth and production of ginseng sapoin and polysaccharide in suspension cultures of *Panax notoginseng*: Cu⁺ effect. *J Biotechnol*, 1996, **46**(1): 69–72.
- [9] Liu S, Zhong JJ. Effect of potassium ion on cell growth and production ginseng saponin and polysaccharide in suspension cultures of *Panax ginseng*. *J Biotechnol*, 1996, **52**(2): 121–126.
- [10] Zhang ZL. Experiment Guide of Plant Physiology. Beijing: Higher Education Press, 1993: 160–162.
张志良. 植物生理学实验指导. 北京, 高等教育出版社, 1993: 160–162.
- [11] Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantity of protein dye binding. *Anal Biochem*, 1976, **72**(5): 248–254.
- [12] Papanastaiou I, Soukoulis K, Moschopoulou G, et al. Effect of liquid pulses with 6-benzyladenine on the induction of somatic embryogenesis from coffee (*Coffea arabica* L.) callus cultures. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 2008, **92**(2): 215–225.
- [13] Schalamann JE, Koolchaas CMA, Vinke JL. The role of glucose in ajmalicine production by *catharanthus roseus* cell cultures. *Biotechnol Bioeng*, 1995, **47**(5): 525–534.

- [14] Shohael AM, Ali MB, Hahn EJ, *et al.* Glutathione metabolism and antioxidant responses during *Eleutherococcus senticosus* somatic embryo development in a bioreactor. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 2007, **89**(2): 121–129.
- [15] Belmonte MF, Macey T, Yeung EC, *et al.* The effect of osmoticum on ascorbate and glutathione metabolism during white Spruce (*Picea glauca*) somatic embryo development. *Plant Physiol Biochem*, 2005, **43**(4): 337–346.
- [16] Noriega GO, Balestrasse KB, Batlle A, *et al.* Cadmium induced oxidative stress in soybean plants also by the accumulation of δ -aminolevulinic acid. *Biometals*, 2007, **20**(6): 841–851.

《生物工程学报》2010年“代谢工程”专刊征稿通知

代谢工程自1991年诞生以来,在改造植物、动物、微生物的代谢功能方面得到了广泛的应用。为了展现代谢工程科研工作者取得的最新进展,促进我国代谢工程研究的进步和发展,本刊2009年第9期设立了“代谢工程与细胞工厂”专栏,国内该领域著名学者对代谢工程的技术发展进行了总结,介绍了合成生物学等新理论和新技术,并发表了一些最新的研究成果。此专栏出版后,推动了代谢工程领域国内外同行的交流,并因刊出周期短和内容质量高得到了广大作者和专家的一致好评。代谢工程是一门快速发展的新兴学科,创新成果不断涌现,为及时、集中反映该领域的最新研究进展,我刊编辑部计划于2010年9月继续出版“代谢工程”专刊。

为缩短审稿时间、加快专刊稿件的出版速度,本刊将专门组织6~10人的专家评委会,严格按照《生物工程学报》评审要求对稿件进行认真评审。对所收稿件进行快速处理,最终择优筛选出一定数量的稿件以专刊出版,具体安排如下:

一、征文范围

本专刊收录代谢工程领域所取得的最新研究成果和技术成果,包括研究论文和综述,但不限于此:

1. 基因组学和基因组尺度的代谢网络模型;
2. 代谢组学和代谢控制分析;
3. 生物转运系统工程;
4. 代谢途径工程;
5. 进化代谢工程;
6. 生理功能工程;
7. 系统生物技术和系统代谢工程;
8. 菌株改造的新技术和新方法;
9. 用于代谢工程的遗传工具;
10. 合成生物学技术

二、投稿要求

1. 投稿方式:通过《生物工程学报》投稿系统在线投稿,详见主页(<http://journals.im.ac.cn/cjbcn/ch/index.aspx>) /投稿须知/投稿方式。

注意事项:投稿时,请在稿件标题栏注明“代谢工程专刊”字样,否则将以普通稿件进行处理。

2. 稿件格式:参照《生物工程学报》论文格式,详见主页/投稿须知/书写要求。
3. 投稿文章应未在正式出版物上发表过,也不在其他刊物或会议的审稿过程中,不存在一稿多投现象;应保证投稿文章的合法性(无抄袭、剽窃、侵权等不良行为)。

三、本专刊几个关键的时间

1. 收稿截止日期:2010年4月30日
2. 决定是否录用日期:2010年6月20日
3. 录用后作者修回截止日期:2010年7月10日
4. 出版日期:2010年9月25日

四、特别说明

1. 本专刊不是增刊,而是在2010年第9期《生物工程学报》正刊上刊出。
2. 由主编邀请的专刊投稿文章免收审理费;录用后正式刊发的文章将请作者提交版权转让协议,并按照《生物工程学报》相关规定收取版面费和支付作者稿酬,同时赠送样刊及单行本。

五、联系方式

电话:010-64807509 传真:010-64807327 E-mail: cjb@im.ac.cn

邮寄地址:北京市朝阳区北辰西路1号院3号中科院微生物研究所B401《生物工程学报》编辑部(邮编:100101)

如果您还有什么问题,欢迎随时与我们联系,我们将在第一时间给您答复。

欢迎您的来稿!

《生物工程学报》编辑部

2009-12-30