

利用嗜盐菌 *Salinivibrio* YS 生产 2,3-丁二醇和琥珀酸

薛源生¹, 古丽斯玛依·艾拜都拉², 陈国强¹

1 清华大学生命科学学院 蛋白质科学教育部重点实验室, 北京 100084

2 新疆大学生物科学与技术学院, 乌鲁木齐 830046

摘要: 以从新疆艾丁湖采集的土样中分离出的中度嗜盐菌 *Salinivibrio* YS 为研究对象, 利用该菌在厌氧条件下生产 2,3-丁二醇和琥珀酸, 在单因素摇瓶实验基础上, 确定影响产物积累的各因素及其相应条件, 再利用正交试验确定这些参数的最佳水平, 即温度 33 °C, 起始 pH 为 8.0, 发酵过程 pH 为 7.0, 乙酸添加量为 3 g/L, NaCl 浓度为 10 g/L。利用优化条件进行 3 L 体系的发酵放大实验, 经过 108 h 的无氧发酵, 2,3-丁二醇的产量可达 35.05 g/L, 而琥珀酸的含量则高达 22.46 g/L, 且其糖的总转化率高达约 50%。首次利用嗜盐菌在厌氧条件下生产 2,3-丁二醇和琥珀酸, 拓展了嗜盐菌的应用, 同时也为生产 2,3-丁二醇和琥珀酸提供了新的思路。

关键词: 嗜盐菌, 厌氧, 2,3-丁二醇, 琥珀酸

Production of 2, 3-butanediol and succinic acid by *Salinivibrio* YS

Yuansheng Xue¹, Gulsimay Aibaidula², and Guoqiang Chen¹

1 MOE Key Laboratory of Protein Sciences, School of Life Sciences, Tsinghua University, Beijing 100084, China

2 School of Biological Sciences and Biotechnology, Xinjiang University, Urumchi 830046, China

Abstract: The production of 2, 3-butanediol and succinic acid by a moderate halophile under anaerobic condition was investigated. This halophile, termed *Salinivibrio* YS, was isolated from the solid samples collected from Aydingkol Lake. Based on the single factor experiment, the parameters and their values for the production were obtained. Then, the optimum values of these parameters by the orthogonal experiments were obtained: temperature, 33 °C; initial pH of fermentation, 8.0; the pH during fermentation, 7.0; the concentration of acetic acid was 3 g/L and NaCl was 10 g/L. Finally, a 3-L fermentation based on these conditions was carried out. After 108 h of fermentation under anaerobic condition, 35.05 g/L of 2, 3-butanediol and 22.46 g/L of succinic acid were obtained. About 50% of total glucose conversion was achieved. The study on 2, 3-butanediol and succinic acid by a halophile under anaerobic condition will expand the applications of halophiles and open a new area of production of 2, 3-butanediol and succinic acid.

Received: May 20, 2011; **Accepted:** June 9, 2011

Supported by: National Basic Research Program of China (973 Program) (No. 2007CB707807).

Corresponding author: Guoqiang Chen. Tel: +86-10-62773844; Fax: +86-10-62788784; E-mail: chengq@mail.tsinghua.edu.cn

国家重点基础研究发展计划 (973 计划) (No. 2007CB707807) 资助。

Keywords: halophile, anaerobic, 2,3-butanediol, succinic acid

琥珀酸 (Succinic acid) 又名丁二酸, 是三羧酸循环的中间产物, 也是厌氧代谢的发酵产物之一^[1-2]。作为一种重要的化工原料, 琥珀酸在医药、食品以及表面活性剂等行业有着广泛的用途^[2-3]。目前, 工业级琥珀酸主要是通过石化法生产, 但这一方法会产生污染, 同时考虑到石油资源越来越紧缺, 因此需要研究一种可利用再生资源且污染较少的生产方法^[4]。近年来微生物发酵法生产琥珀酸已成为有机酸发酵研究的热门课题。琥珀酸放线菌 *Actinobacillus succinogenes*^[5]、产琥珀酸曼海姆菌 *Mannheimia succiniciproducens*^[6]、产琥珀酸厌氧螺菌 *Anaerobiospirillum succiniciproducens*^[7] 和大肠杆菌 *Escherichia coli*^[8] 是目前研究最多的琥珀酸生产菌。然而, 目前我国发酵法生产琥珀酸尚未取得成功, 仍处于实验室研究阶段。

2,3-丁二醇 (2,3-butanediol, 2,3-BD) 广泛用于化工、食品、航空航天燃料等领域^[9]。2,3-丁二醇的脱水产物甲乙酮可作树脂、油漆等的溶剂; 酯化后的脱水产物 1,3-丁二烯可用于合成橡胶、聚酯和聚亚胺酯; 热值较高可作为燃料添加剂^[10]; 与甲乙酮脱氢形成辛烷异构体可生产高级航空用油^[10]; 2,3-丁二醇还可制备油墨、香水、熏蒸剂、增湿剂、软化剂、增塑剂、炸药及药物手性载体等^[11]。

近几年 2,3-丁二醇国内市场需求大约是每年 500 t, 其中需进口 100~200 t。目前, 国内用微生物发酵法生产 2,3-丁二醇还处于试生产阶段, 规模也较小。但生物法制备 2,3-丁二醇将具有可观的经济效益和社会效益, 也符合可持续性发展战略。因此, 发酵法生产 2,3-丁二醇成本的降低、发酵水平的提高, 是现有研究的努力方向。

嗜盐微生物 (Halophiles) 是一类在一定浓度盐 (NaCl) 中可正常生长, 且高浓度盐是生长必需条件的微生物^[12-13], 一般生活在含 10%~20% 盐成分的天然碱湖中^[14]。中度嗜盐微生物的最适生长 NaCl

浓度是 0.5~2.5 mol/L, 从许多含盐浓度较高的环境中都可以分离得到这一类群的微生物。极端微生物由于其独特的生理特点和生化特性, 在工业、化工、食品以及基础研究等领域具有巨大的应用价值^[15-16]。作为一个较新的领域, 嗜盐菌可能为生产 2,3-丁二醇和琥珀酸, 以及解决微生物法生产过程中的成本等问题提供了一种新的思路。

本研究首次利用一株可积累 PHB 的中度嗜盐菌 *Salinivibrio* YS, 在厌氧条件下积累 2,3-丁二醇和琥珀酸, 拓展了嗜盐微生物的应用, 为微生物发酵生产 2,3-丁二醇和琥珀酸提供新的思路。

1 材料与方法

1.1 菌株及培养基

1.1.1 菌株

本研究所用菌株为本实验室从新疆艾丁湖采集的土样中分离出的一株可积累 PHB 的中度嗜盐菌, 经鉴定属于 *Salinivibrio* 属, 命名为 *Salinivibrio* YS。该菌的最适生长温度为 30 °C, pH 为 8.0, NaCl 浓度为 60 g/L, 可耐受的盐浓度为 10~250 g/L。

1.1.2 摇瓶和种子培养基

改进的 LB 培养基成分 (g/L) 如下: NaCl 50, 酵母提取物 5, 蛋白胨 10, pH 为 8.0。摇瓶和发酵实验的种子培养基均为改进 LB 培养基, 在 37 °C 摇床中 200 r/min 培养 12 h。

MM-G 培养基 (g/L): NaCl 60, 酵母提取物 1, 葡萄糖 30, (NH₄)₂SO₄ 2, MgSO₄ 0.2, KH₂PO₄ 1.5, Na₂HPO₄·12H₂O 9.65, 微量元素 I 10 mL/L 和微量元素 II 1 mL/L。其中, 微量元素 I 包含 (g/L): Fe (III)-NH₄-citrate 5, CaCl₂ 2, HCl 1 mol/L; 微量元素 II 包含 (mg/L): ZnSO₄·7H₂O 100, MnCl₂·4H₂O 30, H₃BO₃ 300, CoCl₂·6H₂O 200, CuSO₄·5H₂O 10, NiCl₂·6H₂O 20, NaMoO₄·2H₂O 30, HCl 1 mol/L。

1.2 生产 2,3-丁二醇和琥珀酸条件优化

1.2.1 单因子变量试验

以 MM-G 培养基为培养基, 设置各参数梯度, 检测各条件下产物浓度, 以研究厌氧条件下菌株生产 2,3-丁二醇和琥珀酸的最适条件。选择参数并设置梯度 (表 1), 每个条件设置 3 个平行样, 摇瓶体系为 100 mL, 分装在 500 mL 三角烧瓶中, 接种量为 5% (V/V); 培养条件为 37 °C (温度梯度除外) 摇床静置培养 72 h。

1.2.2 正交试验

以 pH 值、NaCl 浓度、葡萄糖浓度及添加剂乙酸作为因素, 设置各因素位级 (表 2), 进行正交试验 (表 3), 研究各因素对 2,3-丁二醇和琥珀酸生产的影响, 以确定最终的最适条件。以 MM-G 为培养基, 在 33 °C 条件下静置培养 72 h。

1.3 发酵培养基及发酵流程

根据摇瓶实验摸索出的条件, 利用 6 L 发酵罐 (Bioflo 3 000, NBS, 美国) 进行批量补料发酵放大生产 2,3-丁二醇和琥珀酸。发酵体系为 3 L, 发酵初始培养基为改进的 MM-G 培养基: 乙酸 3 g/L, 酵母提取物 2 g/L, NaCl 10 g/L, 葡萄糖浓度为 80 g/L, 其余成分与 MM-G 培养基相同; 种子液为改进 LB 培养基, 接种量为 10% (V/V)。发酵条件为: 温度 33 °C, 起始 pH 调节至 8.0, 而发酵期间 pH 设定为 7.0, 溶氧 (Dissolved oxygen, DO) 设置为 10%, 转速根据溶氧调节, 最低 50 r/min, 最高 200 r/min, 不通气。补料培养基为 100 mL 600 g/L 的葡萄糖, 当发酵液中葡萄糖浓度低于 20 g/L 时进行补料。

1.4 检测方法

1.4.1 细胞干重(CDW)的测定

摇瓶培养结束或者发酵期间, 取 25 mL 菌液于 50 mL 离心管中, 8 000 r/min 离心 10 min 收集菌体, 然后用去离子水洗涤 1 次, 再次离心。将得到的细胞在 -80 °C 冰箱中冷冻 1 h, 然后在抽真空条件下冰冻干燥至恒重, 测定细胞干重。

1.4.2 高效液相色谱(HPLC)检测葡萄糖和有机酸

采用美国 tsp 公司 Spectra 系列 HPLC 仪器系统, 利用有机酸离子柱分离检测葡萄糖和各种有机酸。色谱条件: Bio-Rad Aminex® HPX-87H (7.8 mm×300 mm) 分离柱; 流速 0.50 mL/min; 柱温设置为 40 °C; RI 检测条件 Range=4; 进样量为 10 µL; 流动相: 5 mmol/L H₂SO₄ 溶液。

表 1 摇瓶试验参数及其梯度

Table 1 Factors and their gradients in shake flask experiments

Factors	Gradients
Temperature (°C)	30, 33, 37
Initial pH	6.0, 7.0, 8.0, 9.0
NaCl concentration (g/L)	20, 40, 60
Acetic acid (g/L)*	3, 5
Glucose (g/L)	30, 60, 90

*Acetic acid was used as a co-factor to enhance the production of 2, 3-BD and succinic acid^[17].

表 2 正交试验因素位级表

Table 2 Factors and levels of orthogonal experiment

Factor	Initial pH	Acetic acid (g/L)	NaCl (g/L)	Glucose (g/L)
	A	B	C	D
1	6.0	2.0	10	60
2	7.0	4.0	20	80
3	8.0	6.0	30	100

表 3 正交试验计划表

Table 3 The assignment of orthogonal experiment

		Initial pH	Acetic acid (g/L)	NaCl (g/L)	Glucose (g/L)
		A	B	C	D
1	1	6.0	1 2.0	3 30	2 80
2	2	7.0	1 2.0	1 10	1 60
3	3	8.0	1 2.0	2 20	3 100
4	1	6.0	2 4.0	2 20	1 60
5	2	7.0	2 4.0	3 30	3 100
6	3	8.0	2 4.0	1 10	2 80
7	1	6.0	3 6.0	1 10	3 100
8	2	7.0	3 6.0	2 20	2 80
9	3	8.0	3 6.0	3 30	1 60

2 结果与分析

2.1 摇瓶试验优化菌株 YS 生产 2,3-丁二醇和琥珀酸条件

30 °C 条件下静置培养过程中, MM-G 培养基 pH 急剧下降, 经 HPLC 检测上清中含有 2,3-丁二醇和琥珀酸, 表明 *Salinivibrio* YS 在厌氧条件下可积累 2,3-丁二醇和琥珀酸。

根据表 1 中各因素及其梯度设计单因子变量摇瓶实验, 静置培养 72 h, 表 4 为实验结果, 其中实验组 2~12 除表中所列条件外, 其余条件均与实验组 1 一致。从结果可知琥珀酸产量与 2,3-丁二醇产量的变化趋势一致。

2.1.1 温度对 2,3-丁二醇和琥珀酸生产的影响

30 °C 到 37 °C, 菌株 CDW 基本一致 (实验组 1、2、3); 33 °C 时, 琥珀酸和 2,3-丁二醇积累浓度最高, 最适合产物的积累 (实验组 2)。

2.1.2 起始 pH 偏碱有利于 2,3-丁二醇和琥珀酸积累

当起始 pH 为 8.0 时, 目的产物含量最高 (实验组 1)。而有文献报道, 一般情况下, 发酵液偏碱时比较容易生成有机酸, 而偏酸时有机酸含量急剧下降, 同时 2,3-丁二醇产量提高^[9,18]。因此, 发酵起始培养基 pH 调节至 8.0, 发酵过程中则设置为 7.0。

2.1.3 低浓度 NaCl 有利于目的产物的生产

降低 NaCl 浓度, CDW 逐渐降低; 而琥珀酸和 2,3-丁二醇积累量逐渐增大 (实验组 1、9、10), 表明低渗透压有利于 2,3-丁二醇和琥珀酸的积累。

2.1.4 添加乙酸有助于目的产物产量的提高

根据相关文献, 添加一些营养因子或乙酸有利于 2,3-丁二醇的积累^[18]。在 MM-G 培养基中添加乙酸, 与不添加乙酸的对照组 (实验组 1) 相比, 琥珀酸和 2,3-丁二醇产量均显著提高, 表明添加乙酸有助于该菌目的产物的积累, 且添加 3 g/L 丙酸时产量略高于添加 5 g/L 丙酸。

表 4 摇瓶实验优化 2,3-丁二醇和琥珀酸生产条件结果

Table 4 Optimization of the production condition of 2,3-BD and succinic acid in shake flask experiments

Assay No.	Conditions	Cell dry weight (g/L)	Succinic acid (g/L)	2,3-BD (g/L)
1	30 °C, initial pH 8.0, NaCl 60 g/L, Glucose 30 g/L,	1.71±0.09	2.50±0.19	6.75±0.31
2	33 °C	1.75±0.03	3.39±0.03	9.15±0.43
3	37 °C	1.74±0.05	3.18±0.29	7.74±0.13
4	Initial pH 6.0	1.58±0.05	1.79±0.03	5.67±0.15
5	Initial pH 7.0	1.64±0.04	2.23±0.11	6.65±0.24
6	Initial pH 9.0	1.39±0.02	2.20±0.01	5.80±0.17
7	Acetic acid 3 g/L	1.73±0.12	3.06±0.08	8.08±0.13
8	Acetic acid 5 g/L	1.69±0.22	2.99±0.14	7.94±0.09
9	NaCl 20 g/L	1.49±0.16	3.09±0.21	8.88±0.50
10	NaCl 40 g/L	1.65±0.08	3.01±0.03	7.96±0.07
11	Glucose 60 g/L	2.03±0.06	4.21±0.32	9.12±0.21
12	Glucose 90 g/L	1.91±0.16	3.19±0.05	8.32±0.27

*Ace is acetic acid

2.1.5 葡萄糖对 2,3-丁二醇和琥珀酸生产的影响

加大培养基中葡萄糖含量 (实验组 1、11、12), 当葡萄糖浓度为 60 g/L 时, CDW、琥珀酸和 2,3-丁二醇浓度均最高。经 HPLC 检测上清, 葡萄糖浓度为 30、60 g/L 时均已消耗完, 而葡萄糖浓度 90 g/L 时还有大量残余的葡萄糖。表明葡萄糖浓度过高增大培养基渗透压, 抑制了 2,3-丁二醇和琥珀酸的积累, 这进一步验证了 NaCl 浓度试验的结论, 因此, 可降低 NaCl 浓度同时增大葡萄糖浓度以保持一定的渗透压。例如, 降低 NaCl 浓度至约 10~20 g/L, 而提高葡萄糖浓度至约 100 g/L, 增大培养时间, 可提高目的产物产量。

2.1.6 正交试验确定最终优化生产条件

经过 72 h 静置培养, 当 pH 为 6.0 时, *Salinivibrio* YS 并未生长 (表 5), 且极差很大, 表明 pH 对菌株生长及其产物的合成有很大的影响。而添加剂乙酸和

NaCl 浓度为一般因素, 乙酸浓度约为 2~4 g/L, NaCl 浓度为 10~20 g/L, 葡萄糖对产量影响最小 (表 5)。

综合单因素摇瓶试验结果以及正交试验结果, 菌株 *Salinivibrio* YS 积累 2,3-丁二醇和琥珀酸的条件为: 温度 33 °C, NaCl 10 g/L, 起始 pH 为 8.0, 生产时 pH 设置为 7.0, 葡萄糖浓度约为 100 g/L。

2.2 发酵放大实验生产 2,3-丁二醇和琥珀酸

利用优化条件, 进行 3 L 体系放大发酵实验, 在厌氧条件下发酵 108 h。随着发酵时间的推移, CDW 基本维持在 2~3 g/L, 而琥珀酸和 2,3-丁二醇的含量逐渐上升, 但到 80 h 后, 产量增加缓慢, 可能是产物的大量积累抑制了菌株进一步的积累 (图 1)。108 h 后, 琥珀酸含量高达 22.5 g/L, 而 2,3-丁二醇含量为 35.1 g/L (图 1), 葡萄糖转化为 2,3-丁二醇和琥珀酸的总转化率约为 50%。

菌株 *Salinivibrio* YS 在无氧发酵条件下可积累琥珀酸和 2,3-丁二醇, 但同时积累两种产物不利于后期的提取过程。因此, 后续的研究可利用该菌提高某一种化合物的产量, 例如降低琥珀酸产量, 而提高其 2,3-丁二醇的产量。

3 结论

本研究首次利用嗜盐菌在厌氧条件下生产 2,3-丁二醇和琥珀酸, 对中度嗜盐菌 *Salinivibrio* YS 生产 2,3-丁二醇和琥珀酸的条件进行了优化, 确定各因素的最佳水平, 即温度 33 °C, 起始 pH 为 8.0, 发酵过程 pH 为 7.0, 乙酸添加量为 3 g/L, NaCl 浓度为 10 g/L。基于这些条件进行 3 L 体系的发酵放大试验, 经过 108 h 的无氧发酵, 2,3-丁二醇的产量可达 35.05 g/L, 尤其是琥珀酸的含量高达 22.46 g/L, 且其总的转化率高达约 50%。本研究拓展了嗜盐菌的应用, 为微生物发酵生产 2,3-丁二醇和琥珀酸提供了新的思路。

表 5 正交实验结果及分析

Table 5 The results of the orthogonal experiment

Assay No.	A	B	C	D	Analysis
	pH	Acetic acid	NaCl	Glucose	
1	1	1	3	2	0.00
2	2	1	1	1	13.55
3	3	1	2	3	17.51
4	1	2	2	1	0.00
5	2	2	3	3	8.27
6	3	2	1	2	17.82
7	1	3	1	3	0.00
8	2	3	2	2	6.15
9	3	3	3	1	13.05
k1	0	31.06	31.38	26.60	Total 76.35
k2	27.97	26.09	23.66	23.97	
k3	48.38	19.20	21.32	25.78	

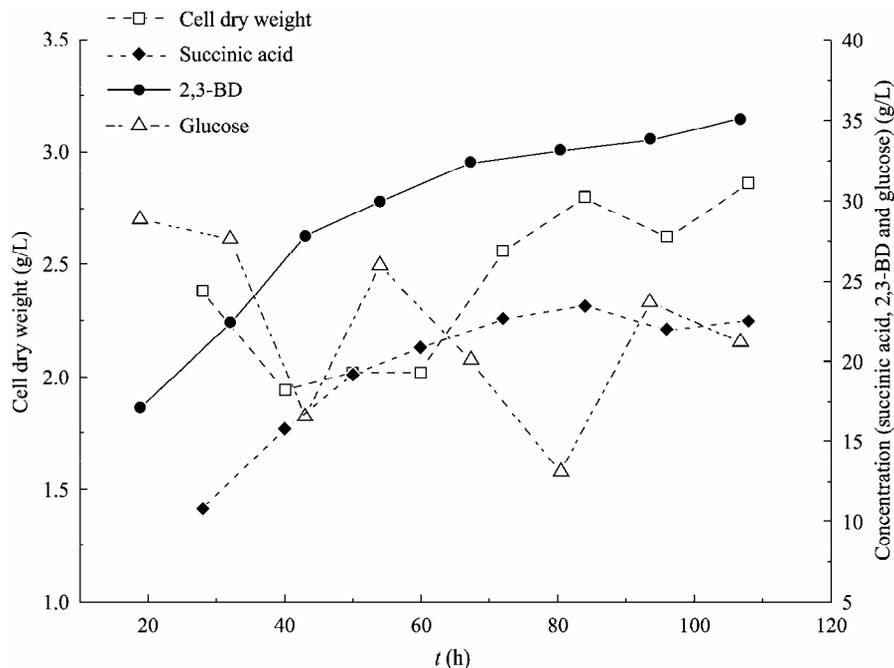


图 1 *Salinivibrio* YS 厌氧发酵放大实验结果

Fig. 1 Results of fermentation by *Salinivibrio* YS under anaerobic condition.

REFERENCES

- [1] Zeikus JG, Jain MK, Elankovan P. Biotechnology of succinic acid production and market for derived industrial products. *Appl Microbiol Biotechnol*, 1999, 51(5): 545–525.
- [2] Zhan XB, Chen S, Zheng ZY. Recent development in metabolic engineering for production of succinic acid by *Escherichia coli*. *Chin J Proc Engin*, 2007, 7(4): 840–846.
詹晓北, 陈设, 郑志永. 大肠杆菌生产琥珀酸的代谢工程研究进展. *过程工程学报*, 2007, 7(4): 840–846.
- [3] Zhang HX, Luo HF, Zhuang XL. Research process in production of succinic acid by fermentation. *Microbiol China*, 2003, 30(5): 102–106.
张洪勋, 罗海峰, 庄绪亮. 琥珀酸发酵研究进展. *微生物学通报*, 2003, 30(5): 102–106.
- [4] Wang QZ, Wu W, Zhao XM. Market analysis for bioconversion of succinic acid and its derivatives. *Chem Ind Eng Prog*, 2004, 23(7): 794–798.
王庆昭, 吴巍, 赵学明. 生物转化法制取琥珀酸及其衍生物的前景分析. *化工进展*, 2004, 23(7): 794–798.
- [5] Mckinlay JB, Zeikus JG, Vieille C. Insights into *Actinobacillus succinogenes* fermentative metabolism in a chemically defined growth medium. *Appl Environ Microbiol*, 2005, 71(11): 6651–6656.
- [6] Lee SW, Lee SY, Song H, et al. The proteome of *Mannheimia succiniciproducens*, a capnophilic remen bacterium. *Proteomics*, 2006, 6(12): 3550–3566.
- [7] Cotelesage JJ, Prasad L, Zeikus JG, et al. Crystal structure of *Anaerobiospirillum succiniciproducens* PEP carboxykinase reveals an important active site loop. *Int J Biochem Cell Biol*, 2005, 37(9): 1829–1837.
- [8] Vemuri GN, Aristidou AA. Metabolic engineering in the -omics era: elucidating and modulating regulatory networks. *Microbiol Mol Biol Rev*, 2005, 69(2): 197–216.
- [9] Zhang G, Yang G, Li C, et al. Research progress of 2,3-butanediol production by biological method. *China Biotechnol*, 2008, 28(6): 133–140.
张刚, 杨光, 李春, 等. 生物法生产 2,3-丁二醇研究进展. *中国生物工程杂志*, 2008, 28(6): 133–140.
- [10] Syu MJ. Biological production of 2,3-butanediol. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2001, 55(1): 10–18.
- [11] Ma CW, Du T, Sun YQ, et al. Study on production of

- 2,3-butanediol by bioconversion method. *Fine Special Chem*, 2006, 14(15): 15-18.
- 马成伟, 杜彤, 孙亚琴, 等. 生物转化法生产 2,3-丁二醇的研究. *精细与专用化学品*, 2006, 14(15): 15-18.
- [12] Quillaguamán J, Guzmán H, van-Thuoc D, et al. Synthesis and production of polyhydroxyalkanoates by halophiles: current potential and future prospects. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2010, 85(6): 1687-1696.
- [13] Pei LP, Luo HP. Extremophiles. *J Capit Norm Univ: Nat Sci Ed*, 2003, 24(1): 48-54.
- 裴凌鹏, 骆海朋. 极端微生物浅谈. *首都师范大学学报: 自然科学版*, 2003, 24(1): 48-54.
- [14] Liu HQ, Zhang LF, Han B, et al. A review on new progress in the studies of halophilic bacteria. *J Xinjiang Norm Univ: Nat Sci*, 2005, 24(3): 84-88.
- 刘会强, 张利峰, 韩彬, 等. 嗜盐菌的研究新进展. *新疆师范大学学报: 自然科学版*, 2005, 24(3): 84-88.
- [15] Liu TH, Zhou PJ. Halophiles. *Microbiol China*, 1999, 26(3): 232.
- 刘铁汉, 周培瑾. 嗜盐微生物. *微生物学通报*, 1999, 26(3): 232.
- [16] Wolfe RS. *Microbiology and biochemistry of methanogens*. Experientia. Basel: Birkhäuser Verlag, 1980, 36: 1434-1446.
- [17] Ji XJ, Zhu JG, Gao Z, et al. Research progress in production of 2,3-butanediol by fermentation. *Modern Chem Ind*, 2006, 26(8): 23-27.
- 纪晓俊, 朱建国, 高振, 等. 微生物发酵法生产 2,3-丁二醇的研究进展. *现代化工*, 2006, 26(8): 23-27.
- [18] Garg SK, Jain A. Fermentative production of 2,3-butanediol: a review. *Bioresour Technol*, 1995, 51(2/3): 103-109.



本 期 广 告 索 引

企 业	版 位	企 业	版 位
GE Healthcare 公司	封 底	生物谷网站	内 页
宝生物工程(大连)有限公司	封 二	镇江东方生物工程公司	内 页
北京鼎国昌盛生物技术有限责任公司	内 页	安琪酵母股份有限公司	内 页
上海开放生物科技有限公司	内 页		