

工业酶改造与应用

双酶偶联转化果糖制备含有稀少糖的混合糖液

韩文佳^{1,2}, 朱玥明², 柏玮², 何森健², 张同存¹, 孙媛霞²

1 天津科技大学生物工程学院, 天津 300457

2 中国科学院天津工业生物技术研究所 工业酶国家工程实验室, 天津 300308

韩文佳, 朱玥明, 柏玮, 等. 双酶偶联转化果糖制备含有稀少糖的混合糖液. 2014, 30(1): 90-97.

Han WJ, Zhu YM, Bai W, et al. Production of sugar syrup containing rare sugar using dual-enzyme coupled reaction system. Chin J Biotech, 2014, 30(1): 90-97.

摘要: 酶转化法是功能性稀少糖生产的重要途径, 但单一稀少糖转化酶的转化率普遍较低。文中提出构建双酶偶联转化系统提高转化效率的思路, 即利用 D-阿洛酮糖 3-差向异构酶 (D-psicose 3-epimerase, DPE) 和 L-鼠李糖异构酶 (L-rhamnose isomerase, L-RhI) 双酶偶联反应, 催化 D-果糖生成 D-阿洛酮糖和 D-阿洛糖等功能性稀少糖。DPE 和 L-RhI 加酶量的比例为 1:10, 其中 DPE 的浓度为 0.05 mg/mL; 转化反应的最佳温度为 60 °C, 最适 pH 为 9.0。当 D-果糖浓度为 2%时, 反应 10 h 达到平衡, 此时 D-阿洛酮糖和 D-阿洛糖的产量分别为 5.12 和 2.04 g/L。利用文中提出的双酶偶联系统可以将果葡糖浆等富含果糖的低附加值原料转化为含有功能性稀少糖的高附加值混合糖液。

关键词: 稀少糖, 双酶偶联, D-阿洛酮糖 3-差向异构酶, L-鼠李糖异构酶

Production of sugar syrup containing rare sugar using dual-enzyme coupled reaction system

Wenjia Han^{1,2}, Yueming Zhu², Wei Bai², Ken Izumori², Tongcun Zhang¹, and Yuanxia Sun²

1 College of Biotechnology, Tianjin University of Science and Technology, Tianjin 300457, China

2 National Engineering Laboratory for Industrial Enzymes, Tianjin Institute of Industrial Biotechnology, Chinese Academy of Sciences, Tianjin 300308, China

Abstract: Enzymatic conversion is very important to produce functional rare sugars, but the conversion rate of single

Received: July 24, 2013; **Accepted:** September 25, 2013

Supported by: National High Technology Research and Development Program of China (863 Program) (No. 2013AA102102), Knowledge Innovation Program of The Chinese Academy of Sciences (No. KSCX2-EW-G-5), Science and Technology Projects of Tianjin (No. 10ZCZDSY06900).

Corresponding author: Yuanxia Sun. Tel: +86-22-84861960; Fax: +86-22-84861961; E-mail: syx0430@hotmail.com

国家高技术研究发展计划(863 计划)(No. 2013AA102102), 中国科学院知识创新工程重要方向项目 (No. KSCX2-EW-G-5), 天津市科学技术委员会工业生物专项 (No. 10ZCZDSY06900)资助。

网络出版时间: 2013-11-05

网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.1998.Q.20131105.1014.004.html>

enzymes is generally low. To increase the conversion rate, a dual-enzyme coupled reaction system was developed. Dual-enzyme coupled reaction system was constructed using D-psicose-3-epimerase (DPE) and L-rhamnose isomerase (L-RhI), and used to convert D-fructose to D-psicose and D-allose. The ratio of DPE and L-RhI was 1:10 (W/W), and the concentration of DPE was 0.05 mg/mL. The optimum temperature was 60 °C and pH was 9.0. When the concentration of D-fructose was 2%, the reaction reached its equilibrium after 10 h, and the yield of D-psicose and D-allose was 5.12 and 2.04 g/L, respectively. Using the dual-enzymes coupled system developed in the current study, we could obtain sugar syrup containing functional rare sugar from fructose-rich raw material, such as high fructose corn syrup.

Keywords: rare sugar, dual-enzyme coupled reaction, D-psicose-3-epimerase, L-rhamnose isomerase

稀少糖是自然界中存在但含量极少的一类单糖及其衍生物。作为一种功能性甜味剂,稀少糖具有低热量、低吸收、抗龋齿、降血糖、改善肠道菌群等理化性质^[1-4]。例如,D-阿洛酮糖可以改善肠道菌群、降低血糖、抗龋齿等^[5-8],D-阿洛糖具有抑制活性氧、抑制癌细胞增殖等功能^[9-12]。因此,功能性稀少糖在膳食、保健、医药等领域拥有广阔的应用前景。

2002年,Izumori教授建立了稀少糖的生物转化生产策略——Izumoring方法^[13-14]。根据该方法利用酮糖差向异构酶、醛糖异构酶和多元醇脱氢酶可实现单糖与糖醇之间的相互转化^[15-18]。前期工作中,本实验室建立了稀少糖转化酶的筛选平台,从各类环境样品中筛选得到含有不同稀少糖转化酶的微生物,并成功对其稀少糖转化酶进行克隆、异源表达和性质研究。例如,来源于瘤胃菌 *Ruminococcus* sp.的D-阿洛酮糖3-差向异构酶(D-psicose 3-epimerase, DPE),可以将D-果糖转化为D-阿洛酮糖^[19];来源于枯草芽胞杆菌 *Bacillus subtilis* 168的L-鼠李糖异构酶(L-rhamnose isomerase, L-RhI),可以将D-阿洛酮糖转化为D-阿洛糖^[20]。

但是,DPE的转化率普遍较低^[19,21-24],因此本研究提出利用双酶偶联转化系统提高转化效率的思路。即以D-果糖作为底物,利用DPE和

L-RhI同时生产D-阿洛酮糖和D-阿洛糖。由于D-阿洛糖的生成会消耗部分D-阿洛酮糖,从而促进整个反应向生成功能性稀少糖的方向进行,提高了底物的转化率(图1)。

果葡糖浆、菊芋提取物中含有较高浓度的果糖,利用DPE、L-RhI双酶偶联转化方法,以这些低附加值原料为底物,可以获得含有D-阿洛酮糖和D-阿洛糖等功能性稀少糖的高附加值混合糖液,为利用酶法获得含有功能性稀少糖的果糖高附加值产物的开发应用提供了新的思路。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 生化试剂

D-果糖、D-阿洛酮糖、D-阿洛糖等稀少糖

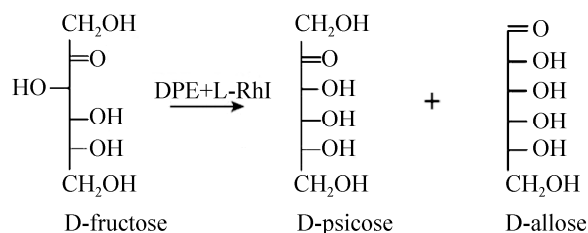


图1 双酶偶联转化系统的反应

Fig. 1 Reaction of dual enzyme-coupled system.

购自 Sigma Aldrich。蛋白胨、酵母粉、琼脂及其他试剂均为分析纯。

1.1.2 菌种

异源表达 DPE 的菌种为 *E. coli* BL21 pET-RDPE, 异源表达 L-RhI 的菌种为 *E. coli* BL21 pET-21a-L-RhI, 均为实验室前期构建。

E. coli 的培养基为 Luria-Bertani (LB) 培养基。

1.2 方法

1.2.1 酶的表达与纯化

分别将携带 DPE 和 L-RhI 基因的重组大肠杆菌接入含有终浓度为 100 mg/L 氨苄青霉素的 LB 培养基中, 37 °C、200 r/min 培养至 OD_{600} 为 0.8–1.0 后, 加入终浓度为 0.5 mmol/L 的 IPTG, 20 °C、100 r/min 继续培养过夜。

培养结束后, 10 000 r/min 离心 5 min 收集菌体, 弃去上清, 菌体沉淀用破碎缓冲液 (50 mmol/L Tris-HCl, pH 8.0) 悬浮, 并在冰上超声破碎细胞, 然后于 4 °C、12 000 r/min 离心 30 min, 上清即为粗酶液。

将粗酶液经过镍离子亲和层析柱纯化目标蛋白, 所用纯化系统为 ÄKTA Purifier™ 100 (GE Healthcare Biosciences)。将粗酶液经 0.45 μm 的膜过滤后, 上样 His-Trap 镍离子螯合柱 (结合缓冲液: 20 mmol/L Tris-HCl, 0.5 mol/L NaCl, 40 mmol/L 咪唑, pH 8.0), 以高咪唑含量的缓冲液进行线性洗脱 (洗脱缓冲液: 20 mmol/L Tris-HCl, 0.5 mol/L NaCl, 0.5 mol/L 咪唑, pH 8.0)。收集目的蛋白洗脱峰, 对于 DPE 用 50 mmol/L Tris-HCl 缓冲液 (pH 8.0) 进行脱盐和浓缩, 对于 L-RhI 用 50 mmol/L Glycine-NaOH 缓

冲液 (pH 9.0) 进行脱盐和浓缩, SDS-PAGE 检测纯化所得蛋白的纯度。

1.2.2 酶最佳比例的摸索

DPE、L-RhI 双酶偶联系统转化 D-果糖的标准反应体系为: 以 50 mmol/L Glycine-NaOH (pH 9.0) 作为缓冲液, 并添加 1 mmol/L Mn^{2+} , 以 2% D-果糖作为底物。DPE 的加酶量为 0.05 mg/mL, L-RhI 的加酶量分别为 0.1、0.25、0.5 mg/mL, 即两酶的质量比分别为 1:2、1:5、1:10。60 °C 下反应至平衡。

1.2.3 最佳反应温度的摸索

以 2% D-果糖作为底物, DPE 和 L-RhI 的加酶量分别为 0.05 mg/mL 和 0.5 mg/mL。在含有 1 mmol/L Mn^{2+} 的 50 mmol/L Glycine-NaOH 缓冲液 (pH 9.0) 中, 不同温度 (30–70 °C) 下反应 5 h, 沸水浴 5 min 终止反应, 检测 D-阿洛酮糖和 D-阿洛糖的产率。

1.2.4 最佳反应 pH 的摸索

以 2% D-果糖作为底物, DPE 和 L-RhI 的加酶量分别为 0.05 mg/mL 和 0.5 mg/mL。在含有 1 mmol/L Mn^{2+} 的不同 pH (5.0–10.0) 的缓冲液中 (pH 5.0、6.0 使用醋酸-醋酸钠缓冲液, pH 7.0、8.0 使用 Tris-HCl 缓冲液, pH 9.0、10.0 使用甘氨酸-氢氧化钠缓冲液), 60 °C 下反应 5 h, 沸水浴 5 min 终止反应, 检测 D-阿洛酮糖和 D-阿洛糖的产率。

1.2.5 反应进程的测定

采用 DPE、L-RhI 双酶偶联系统转化 D-果糖的标准反应体系: 利用甘氨酸-氢氧化钠缓冲液 (pH 9.0), 以 2% D-果糖作为底物, DPE 和 L-RhI 的加酶量分别为 0.05 mg/mL 和 0.5 mg/mL, 60 °C

条件下反应至平衡。以 HPLC 测定 D-果糖、D-阿洛酮糖和 D-阿洛糖随时间的变化趋势，绘制反应进程曲线。

1.2.6 糖的检测

仪器为安捷伦高效液相色谱仪 1200，分析柱：日立 GL-C611 糖分析柱，流动相： 10^{-4} mol/L NaOH，流速：0.7 mL/min，柱温：60 °C，检测器：示差折光检测器。以 Sigma 公司生产的 D-果糖、D-阿洛酮糖和 D-阿洛糖纯品为标准品，将上例得到的样品进行分析，上样量为 10 μ L。

2 结果与分析

2.1 酶的表达与纯化

携带 DPE 和 L-RhI 基因的重组菌经 IPTG 诱导后，均有蛋白表达，并且将菌体破碎后，发现表达产物几乎全部为可溶性蛋白，包涵体很少。

重组 DPE 和 L-RhI 蛋白经过 His Trap HP 亲和色谱一步纯化后，即得到纯度 $\geq 95\%$ 的电泳纯的重组蛋白质 (图 2)。重组 DPE 和 L-RhI 蛋白的理论分子量分别约 33 kDa 和 49 kDa，12% 聚丙烯酰胺凝胶电泳的结果显示，目的蛋白条带大小符合预期。

RDPE 的产量较高，每升发酵液产纯酶约为 150 mg，该酶对 D-果糖的酶活为 8.95 U/mg^[19]；但 L-RhI 的产量较低，每升发酵液产纯酶只有大约 10 mg，该酶对 D-阿洛酮糖的酶活为 0.32 U/mg^[20]。

2.2 酶最佳比例的摸索

采用 DPE、L-RhI 双酶偶联系统转化 D-果糖的标准反应体系，DPE 和 L-RhI 的加酶质量比分别为 1 : 2、1 : 5、1 : 10。以 HPLC 测定产物的组分以及各组分的含量，结果如表 1 所示。

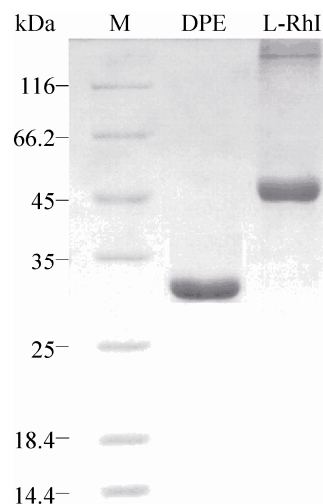


图 2 DPE 与 L-RhI 的纯酶电泳图

Fig. 2 SDS-PAGE analysis of DPE and L-RhI pure enzyme.

表 1 不同加酶量时反应液中各组分的含量

Table 1 Content of sugars in reaction solution at different enzyme dosage

| RDPE:L-RhI (W/W) | D-fructose (%) | D-allose (%) | D-psicose (%) |
|------------------|----------------|--------------|---------------|
| 1:2 | 66.8 | 8.1 | 25.1 |
| 1:5 | 65.8 | 9.9 | 24.3 |
| 1:10 | 64.2 | 12.1 | 23.7 |

双酶偶联转化系统中，L-RhI 的加入转化了部分的 D-阿洛酮糖，使得 DPE 催化的反应向生成 D-阿洛酮糖的方向移动，从而提高了 D-果糖的转化率。另外，由于在反应体系中，DPE 酶活较高，而 L-RhI 酶活较低，因此 L-RhI 是双酶偶联转化系统中的限速酶，其加入量较低时需要很长的时间反应才能达到平衡。

通过增加 L-RhI 的酶量，有助于 D-阿洛糖的生成，当 DPE : L-RhI=1 : 10 (W/W)，双酶偶联转化系统达到平衡时，此时 D-果糖与 D-阿洛酮

糖的质量比约为 3 : 1, D-阿洛酮糖与 D-阿洛糖的质量比约为 2 : 1, 分别为两个酶催化反应平衡时的底物与产物的比例。

根据以上实验结果可以看出, 通过提高 L-RhI 添加的比例, 可以弥补该酶活性和稳定性较差的缺点。最终确定 DPE 和 L-RhI 加酶量的比例为 1 : 10 (反应体系中 RDPE 的终浓度为 0.05 mg/mL)。此时, 产物的组成如图 3 所示, 除 D-阿洛酮糖、D-阿洛糖以外, 还有少量副产物出现。根据出峰时间推测该副产物应为 D-葡萄糖, 是因为反应时间过长, D-果糖在 L-RhI 催化作用下发生异构化, 转化为 D-葡萄糖。

2.3 双酶偶联转化系统最佳条件的探索

2.3.1 反应温度对转化效率的影响

实验结果如图 4 所示, 随着温度的升高, D-阿洛酮糖和 D-阿洛糖的含量逐渐增加。这是因为随着温度的升高, DPE 和 L-RhI 的活性逐渐增强, 在相同的反应时间内, 果糖的转化效率也随之提高。但继续提高反应温度会加速酶的失活, 使反应难以达到真正的平衡。实验表明: 温度大于 60 °C 时, DPE 的活性会逐渐下降, 并且酶的热稳定性也逐渐降低^[19]; 而当温度分别为 60 °C、65 °C、70 °C 和 75 °C 时, 反应 1 h, L-RhI 的相对酶活比为 100:91:35:30。因此该反应体系的最适反应温度确定为 60 °C。

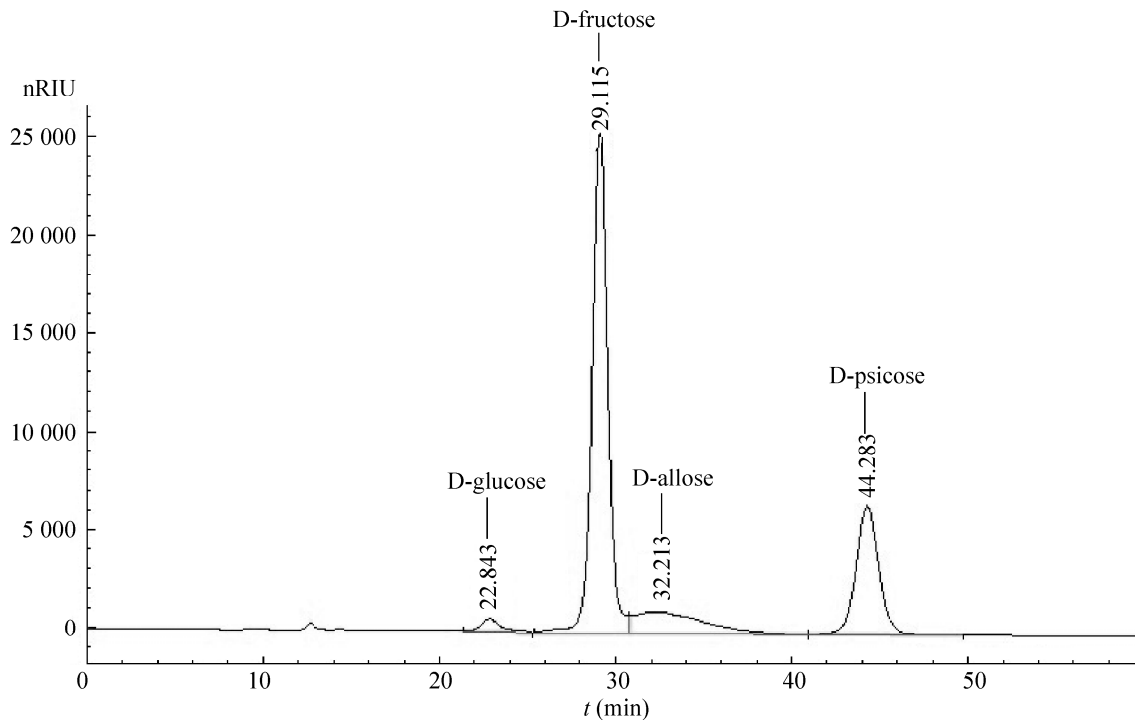


图 3 反应平衡时反应液中各组分的 HPLC 分析

Fig. 3 HPLC analysis of sugars in reaction solution at reaction equilibrium.

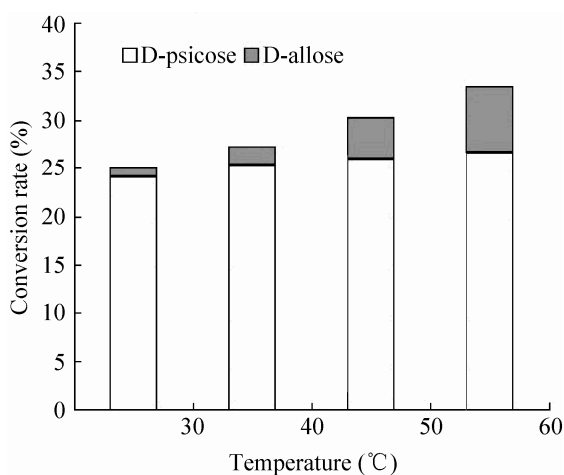


图4 温度对转化率的影响

Fig. 4 Effect of temperature on the conversion rate.

2.3.2 反应 pH 对转化效率的影响

实验结果如图 5 所示,随着反应体系 pH 的升高,果糖转化率逐渐提高,稀少糖的总量和 D-阿洛糖的含量明显增加。当 pH 为 9.0 和 10.0 时,生成的 D-阿洛酮糖和 D-阿洛糖的含量基本一致,且高于其他 pH 下的产量。但是,当 pH 为 10.0 时有副产物出现,而其他 pH 下几乎没有副产物出现。HPLC 检测和标样对比显示该副产物可能为 D-葡萄糖;Leang 等报道来源于施氏假单胞菌 *Pseudomonas stutzeri* 的 L-RhI 可以催化

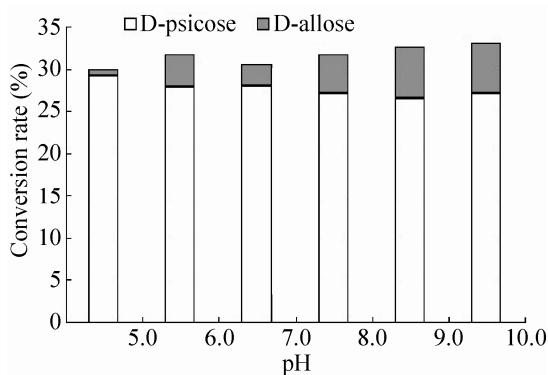


图5 pH对转化率的影响

Fig. 5 Effect of pH on the conversion rate.

D-葡萄糖和 D-果糖的相互转化^[25],故推测 pH 较高时, L-RhI 对 D-果糖的活性变高,可以将 D-果糖转化为 D-葡萄糖。综上所述,该反应体系的最适 pH 确定为 9.0。

2.4 双酶偶联系统转化反应进程

以 2%果糖作为底物测定 DPE、L-RhI 双酶偶联系统转化反应的进程曲线,结果如图 6 所示。可见 DPE 催化的 D-果糖转化为 D-阿洛酮糖的反应在很短的时间内就达到平衡,1 h 后 D-阿洛酮糖的含量基本没有明显变化。而 L-RhI 的催化活性较低,反应需经历较长的时间达到平衡。随反应进行, D-阿洛糖的含量逐渐增加, D-果糖的含量小幅下降,大约 10 h 后反应达到平衡。此时, D-果糖的含量约为 64%,比 DPE 单酶反应平衡时的转化率有了较明显的增加。

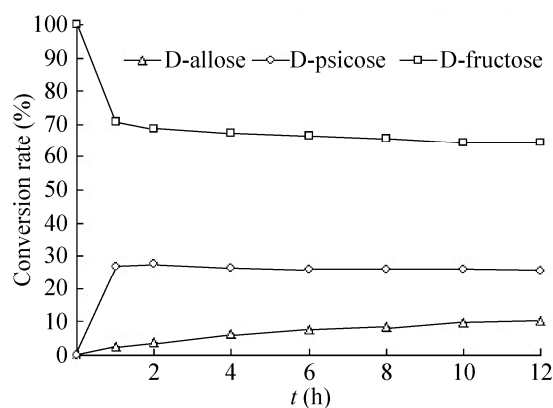


图6 双酶偶联系统的反应进程

Fig. 6 Reaction process of dual enzyme-coupled system.

3 结论

文中利用 DPE 和 L-RhI 构建双酶偶联反应体系,催化 D-果糖生成 D-阿洛酮糖和 D-阿洛糖等

功能性稀少糖。通过实验确定 DPE 和 L-RhI 加酶量的比例为 1 : 10, 其中 DPE 的浓度为 0.05 mg/mL; 转化反应的最佳温度为 60 °C, 最佳 pH 为 9.0。当 D-果糖浓度为 2%时, 经过 10 h 反应达到平衡, 此时 D-阿洛酮糖和 D-阿洛糖的产量分别为 5.12 和 2.04 g/L。实验证明, 多级反应生物转化, 如酶的偶联反应, 能够更有效地将廉价底物单糖转化为高附加值的稀少糖, 可以作为功能性稀少糖开发应用的研究基础。

REFERENCES

- [1] Izumori K. Bioproduction strategies for rare hexose sugars. *Naturwissenschaften*, 2002, 89(3): 120–124.
- [2] Mu W, Zhang W, Feng Y, et al. Recent advances on applications and biotechnological production of D-psicose. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2012, 94(6): 1461–1467.
- [3] Lu Y, Levin GV, Donner TW. Tagatose, a new antidiabetic and obesity control drug. *Diabetes Obes Metab*, 2008, 10(2): 109–134.
- [4] Zeng Y, Zhang X, Guan Y, et al. Characteristics and antioxidant activity of Maillard reaction products from psicose-lysine and fructose-lysine model systems. *J Food Sci*, 2011, 76(3): C398–403.
- [5] Chung MY, Oh DK, Lee KW. Hypoglycemic health benefits of D-psicose. *J Agric Food Chem*, 2012, 60(4): 863–869.
- [6] Hossain MA, Kitagaki S, Nakano D, et al. Rare sugar D-psicose improves insulin sensitivity and glucose tolerance in type 2 diabetes Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty (OLETF) rats. *Biochem Biophys Res Commun*, 2011, 405(1): 7–12.
- [7] Hayashi N, Iida T, Yamada T, et al. Study on the postprandial blood glucose suppression effect of D-psicose in borderline diabetes and the safety of long-term ingestion by normal human subjects. *Biosci Biotechnol Biochem*, 2010, 74(3): 510–519.
- [8] Ochiai M, Nakanishi Y, Yamada T, et al. Inhibition by dietary D-psicose of body fat accumulation in adult rats fed a high-sucrose diet. *Biosci Biotechnol Biochem*, 2013, 77(5): 1123–1126.
- [9] Lim YR, Oh DK. Microbial metabolism and biotechnological production of D-allose. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2011, 91(2): 229–235.
- [10] Ishihara Y, Katayama K, Sakabe M, et al. Antioxidant properties of rare sugar D-allose: effects on mitochondrial reactive oxygen species production in Neuro2A cells. *J Biosci Bioeng*, 2011, 112(6): 638–642.
- [11] Tanaka S, Sakamoto H. Effects of D-allose on the endocytic activity of dendritic cells and the subsequent stimulation of T cells. *Cell Immunol*, 2011, 271(1): 141–146.
- [12] Murata A, Sekiya K, Watanabe Y, et al. A novel inhibitory effect of D-allose on production of reactive oxygen species from neutrophils. *J Biosci Bioeng*, 2003, 96(1): 89–91.
- [13] Izumori K. Izumoring: a strategy for bioproduction of all hexoses. *J Biotechnol*, 2006, 124(4): 717–722.
- [14] Granström TB, Takata G, Tokuda M, et al. Izumoring: a novel and complete strategy for bioproduction of rare sugars. *J Biosci Bioeng*, 2004, 97(2): 89–94.
- [15] Poonperm W, Takata G, Okada H, et al. Cloning, sequencing, overexpression and characterization of L-rhamnose isomerase from *Bacillus pallidus* Y25 for rare sugar production. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2007, 76(6): 1297–1307.
- [16] Uechi K, Takata G, Fukai Y, et al. Gene cloning and characterization of L-ribulose 3-epimerase from *Mesorhizobium loti* and its application to rare sugar production. *Biosci Biotechnol Biochem*, 2013, 77(3): 511–515.
- [17] Li Y, Zhu Y, Liu A, et al. Identification and characterization of a novel L-arabinose isomerase from *Anoxybacillus flavithermus* useful in D-tagatose production. *Extremophiles*, 2011, 15(3): 441–450.
- [18] Menavuvu BT, Poonperm W, Takeda K, et al. Novel substrate specificity of D-arabinose isomerase from *Klebsiella pneumoniae* and its application to production of D-altrose from D-psicose. *J Biosci Bioeng*, 2006, 102(5): 436–441.
- [19] Zhu Y, Men Y, Bai W, et al. Overexpression of D-psicose 3-epimerase from *Ruminococcus* sp. in *Escherichia coli* and its potential application in D-psicose production. *Biotechnol Lett*, 2012, 34(10): 1901–1906.
- [20] Bai W, Zhu Y, Men Y, et al. Bioconversion of

- D-fructose to D-allose by novel isomerases. *Chin J Biotech*, 2012, 28(4): 457–465 (in Chinese).
柏玮, 朱玥明, 门燕, 等. 以 D-果糖为原料利用新型异构酶转化生产 D-阿洛糖. *生物工程学报*, 2012, 28(4): 457–465.
- [21] Mu W, Chu F, Xing Q, et al. Cloning, expression, and characterization of a D-psicose 3-epimerase from *Clostridium cellulolyticum* H10. *J Agric Food Chem*, 2011, 59(14): 7785–7792.
- [22] Zhang L, Mu W, Jiang B, et al. Characterization of D-tagatose-3-epimerase from *Rhodobacter sphaeroides* that converts D-fructose into D-psicose. *Biotechnol Lett*, 2009, 31(6): 857–862.
- [23] Kim HJ, Hyun EK, Kim YS, et al. Characterization of an *Agrobacterium tumefaciens* D-psicose 3-epimerase that converts D-fructose to D-psicose. *Appl Environ Microbiol*, 2006, 72(2): 981–985.
- [24] Ishida Y, Kamiya T, Itoh H, et al. Cloning and characterization of the D-tagatose 3-epimerase gene from *Pseudomonas cichorii* ST-24. *J Ferment Bioeng*, 1997, 83(6): 529–534.
- [25] Leang K, Takada G, Fukai Y, et al. Novel reaction of L-rhamnose isomerase from *Pseudomonas stutzeri* and its relation with D-xylose isomerase via substrate specificity. *Biochim Biophys Acta*, 2004, 1674(1): 68–77.

(本文责编 郝丽芳)

科学出版社书讯

新生物学年鉴 2013

作者:《新生物学年鉴 2013》编委会

定价: 118

装帧: 圆脊精装 页码: 324

初版时间: 2014-1-1

内容介绍

《新生物学年鉴 2013》为一本由《新生物学丛书》10 位编委组稿并把关、各地大学及研究所骨干研究人员撰写,反映近年来分子生物学、生物化学、细胞生物学等最前沿领域的 10 篇文章组成的文集。这些文章的内容均为撰写者的最新研究成果,因此年鉴可以在一定程度上体现出我国生物学领域的发展现状。去年的《新生物学年鉴 2012》在社会上引起了较好的反响。今年的《年鉴 2013》秉承了去年的制作理念,并扩充了涉及的生物学子学科,有更多的中国生物科学研究领域的中坚力量参与撰写,务求使相关领域的研究人员获得第一手权威的综述性文章。

购书指南

订购方式 1: 网上购书

淘宝商城科学出版社旗舰店: <http://kxcbs.tmall.com/> 卓越亚马逊: <http://www.amazon.cn/>当当网: <http://www.dangdang.com/> 京东图书: <http://book.360buy.com/>

订购方式 2: 电话购书

联系人: 科学出版社 贾海涛 13501022258 010-64017321

订购方式 3: 邮件购书

生物分社: lifescience@mail.sciencep.com 贾海涛: jiahaitao@mail.sciencep.com