微生物学通报
Microbiology China
tongbao@im.ac.cn

OCT 20, 2011, 38(10): 1554–1560
© 2011 by Institute of Microbiology, CAS

简报

NaCl 刺激对乳杆菌冻干存活率及胞内磷酸果糖激酶的影响

张中青[1] 李春[1*] 刘宁[1,2*]

(1. 东北农业大学 乳品科学教育部重点实验室 食品学院 黑龙江 哈尔滨 150030)
(2. 国家乳业工程技术研究中心 黑龙江 哈尔滨 150086)

摘 要: NaCl 刺激影响保加利亚乳杆菌磷酸果糖激酶(PFK)活性及其冻干存活率。在对数期末期保加利亚乳杆菌液中添加 2% (*W/V*) NaCl 刺激 2 h 后，收获菌体，其冻干存活率明显提高。同时采用反相高效液相色谱法(RP-HPLC)对 NaCl 刺激后的保加利亚乳杆菌胞内 PFK 活性变化进行测定，NaCl 刺激使 PFK 活性显著增加。利用半定量 RT-PCR 法对 NaCl 刺激后 PFK 基因 mRNA 表达水平进行了比较和分析，NaCl 刺激后冻干前 PFK 基因的表达量增加，冻干后表达量基本无变化。NaCl 刺激能够提高保加利亚乳杆菌的冻干存活率，PFK 可能影响保加利亚乳杆菌的存活。

关键词: 保加利亚乳杆菌，冷冻干燥，NaCl 刺激，磷酸果糖激酶，半定量 RT-PCR

Effect of NaCl stimulation on the survival rate of freeze-dried cells and intracellular phosphofructokinase in *Lactobacillus*

ZHANG Zhong-Qing[1] LI Chun[1*] LIU Ning[1,2*]

(1. *Key Laboratory of Dairy Science, Ministry of Education, College of Food Science, Northeast Agricultural University, Harbin, Heilongjiang* 150030, *China*)
(2. *National Dairy Engineering & Technical Research Center, Harbin, Heilongjiang* 150086, *China*)

Abstract: NaCl stimulation affects the activity of phosphofructokinase (PFK) and survival rate of freeze-dried *Lactobacillus bulgaricus*. In the late logarithmic phase, adding 2% (*W/V*) NaCl to the growth medium markedly increased the survival rate of freeze-dried *L. bulgaricus*. Meanwhile, the activity of PFK in *L. bulgaricus* after NaCl stimulation was determined by reversed phase high performance liquid chromatography (RP-HPLC). The results showed that PFK activity was increased significantly by NaCl stimulation. In addition, a semi-quantitative RT-PCR method was applied to detect the

基金项目：国家教育部长江学者和创新团队发展计划项目(No. IRT0959); 东北农业大学博士启动基金项目(No. 2010RCB59)
*通讯作者：李春: Tel: 86-451-55190459; ✉: spxylch@126.com
刘宁: Tel: 86-451-55191827; ✉: ningliu6666@yahoo.com.cn
收稿日期：2011-03-28; 接受日期：2011-05-31

PFK gene expression in different condition. The results indicated that the PFK gene expression was increased before freeze-drying and almost unchanged after freeze-drying. NaCl stimulation could enhance the survival rate of freeze-dried cells, and PFK might affect the survival of *Lactobacillus bulgaricus*.

Keywords: *Lactobacillus bulgaricus*, Freeze-drying, NaCl stimulation, Phosphofructokinase, Semi-quantitative RT-PCR

利用真空冷冻干燥技术生产活菌制剂是多种保藏方法中较为理想的一种。针对乳酸菌冷冻干燥后活力低下问题，国内外进行了大量研究，但利用盐刺激提高乳酸菌胁迫抗性的研究还处于起步阶段。有研究表明[1]向培养基中添加电解质(氯化钠)或非电解质(蔗糖)，保加利亚乳杆菌在干燥状态保存时的存活率明显不同，含有 NaCl 的 MRS 培养基中生长的细胞在储藏过程中有更高的存活率。在德氏乳杆菌生长环境中添加 2.5% (*W/V*) NaCl，冻干前后活菌数均增加，且冻干存活率也增加[2]。而磷酸果糖激酶(Phosphofructokinase，PFK，EC2.7.1.11)可能会直接影响细胞存活[3]。PFK 是糖酵解途径中起决定作用的限速酶，以 ATP 作为磷酸基供体，催化 6-磷酸果糖(F-6-P)的磷酸化，生成 1,6-二磷酸果糖(F-1,6-P)[4−6]。

因此，本研究探讨NaCl短暂刺激对保加利亚乳杆菌 ATCC 11842 冻干存活率的影响，同时检测糖酵解限速酶 PFK 在冻干前后酶活性的变化，比较和分析 PFK 基因 mRNA 的表达水平，为乳杆菌冷冻干燥后活力低下问题提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

保加利亚乳杆菌(*Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* ATCC 11842)为本研究用菌株。

MRS 培养基(g/L): 胰蛋白胨 10，牛肉膏 8，酵母粉 4，葡萄糖 20，硫酸镁 0.2，乙酸钠 5，柠檬酸三铵 2，磷酸氢二钾 2，硫酸锰 0.05，吐温-80 1。调 pH 6.2±0.2, 1×10^5 Pa 灭菌 15 min，待用。

BCA 试剂盒购自碧云天公司；2,5′-三磷酸腺苷二钠(ATP Na)、2,5′-二磷酸腺苷二钠(ADP Na)购自 Amresco 公司；果糖-6-磷酸购自 Sigma 公司；磷酸二氢钾、氢氧化钠、氯化镁、EDTA 和 Tris 等为国产分析纯。

高效液相色谱仪(Waters 2695 泵，Waters 2487 紫外检测器，美国 Waters)，真空冷冻干燥机(北京思达兴业)。

1.2 NaCl 刺激对保加利亚乳杆菌冻干存活率的影响

1.2.1 生长曲线的确定：将保加利亚乳杆菌在 MRS 培养基中 37 °C 培养过夜，4 000×*g* 离心 10 min，弃上清液，用 0.9% (*W/V*)的灭菌生理盐水洗涤菌体，随后离心(4 000×*g*, 10 min)，重复 3 次，收集菌体并用生理盐水稀释至 OD_{600} 为 0.8−0.9。以 2% (*V/V*)的接种量加入 MRS 液体培养基中，37 °C 培养 36 h，期间每隔 3 h 取样，以不含菌液的培养基为对照，测量 600 nm 处的吸光值，设 3 个平行样，取平均值。以 OD_{600} 为纵坐标，培养时间为横坐标，绘制生长曲线。

1.2.2 NaCl 刺激处理：保加利亚乳杆菌在 37 °C 恒温培养箱中培养到对数期末期，向菌液中添加 2% (*W/V*) NaCl，继续培养 2、4 和 6 h 后取样，测定冻干前活菌数。

1.2.3 冷冻干燥处理：取样乳酸菌发酵液经 11 000×g、15 min、4 °C 条件下离心浓缩，然后悬浮到 3 倍体积的冷冻保护剂中。保护剂的组成为: 12% (*W/V*)脱脂乳，5% (*W/V*)蔗糖和 5% (*V/V*)甘油。菌泥和保护剂的混合物(3:1)在−80 °C 超低温冰箱中预冻 12 h，然后在冻干机中进行冷冻干燥，测定冻干后活菌数。

1.2.4 存活率测定：冻干后样品用生理盐水补充至冻干前体积，取 100 μL 重悬液，以不同的稀释度涂布于 MRS 固体培养基上。将平板放置在 37 °C 培养 48 h，对平板上的菌落进行计数，设 3 个平行样。计算平均值和标准偏差。

$$干存活率(\%)=\frac{干后活菌}{干前活菌}\times100\%$$

1.3 磷酸果糖激酶活性测定

1.3.1 蛋白质提取及定量：配制裂解液: 50 mmol/L

Tris-HCl; 2 mmol/L EDTA; 100 mmol/L NaCl; 0.5% TritonX-100, 调 pH 至 8.5−9.0 备用。用前加入 100 mg/L 溶菌酶, 1 μL/mL 的蛋白酶抑制剂 PMSF。将 40 mL 菌液在 12 000×g、4 °C 离心 15 min 收集菌体, 沉淀用 PBS 悬浮洗涤 2 遍, 最后加入 1 mL 裂解液悬浮菌体。在冰浴中用超声波破碎仪破壁(工作时间:间歇时间=1:3), 超声 15 min, 随即离心(12 000×*g*, 10 min, 4 °C)去除细胞碎片, 得到无细胞提取物。并用 BCA 试剂盒测定蛋白质浓度。

1.3.2 色谱条件: 色谱柱为 SHISEIDO CAPCELL PAK C_{18} (5 μm×4.6 mm×150 mm)柱; 流动相是 50 mmol/L 的磷酸钾缓冲液(pH 6.5), 流速 0.7 mL/min, 柱温为室温, 检测波长为 254 nm, 进样量 20 μL[7]。采用标准曲线法, 以峰面积计算含量。

1.3.3 酶活性测定: 50 mmol/L Tris-HCl (pH 8.0), 5 mmol/L $MgCl_2$, 1 mmol/L EDTA, 1 mmol/L 果糖-6-磷酸(F-6-P), 0.2 mmol/L ATP, 体积为 1 mL。加无细胞提取物 0.5 mL 启动反应, 反应体系总体积为 1.5 mL。置于 30 °C 水浴中反应 15 min, 沸水浴 3 min 终止反应。一个酶活单位定义为 30 °C 恒温下每分钟生成 1 μg ADP 所需要的酶量。

1.4 磷酸果糖激酶基因(pfk1) mRNA 表达水平

1.4.1 PCR 引物设计与合成: PCR 引物根据 GenBank 提供的相关序列(NC_008054.1)采用 Primer Premier 5.0 设计, 由北京三博远志生物技术有限责任公司合成。PFK-1 酶基因(*pfk1*) PCR 引物: F1: 5′-GCTTCTAGCCACCACCG-3′; R1: 5′-ACGCCTTCAGCAACAACT-3′。GAPDH 基因 PCR 引物: F2: 5′-TATGTTGGCTCACCTGTT-3′; R2: 5′-GCAGTGTAAGCGTGGAT-3′。

1.4.2 总 RNA 提取: 取样品保加利亚乳杆菌 1 mL 在 2%溶菌酶中作用 20 min 后, 短暂离心收集菌体沉淀。总 RNA 提取采用 Trizol 法。在生物分光光度计上测 *OD* 值调整各样品总 RNA 浓度。备用总 RNA 于−70 °C 保存。

1.4.3 RT-PCR 扩增: 按照反转录试剂盒 Quantscript RT Kit (天根)要求进行反转录。反转录反应体系组成: 2 μL 10×RT mix, 2 μL dNTP 混合液(2.5 mmol/L), 2 μL Oligo-dT_{15} (10 μmol/L), 1 μL Quant Reverse Transcriptase, 3 μL RNase-free 水, 10 μL 模板 RNA, 总体系为 20 μL。37 °C 孵育 60 min。逆转录产物于−20 °C 保存。PCR 扩增条件: 95 °C 5 min; 95 °C 30 s, 57 °C 30 s, 72 °C 30 s, 30 个循环; 72 °C 10 min。PCR 产物于−20 °C 保存。

1.4.4 琼脂糖凝胶电泳检测: 取每个样品的目的基因 RT-PCR 产物 5 μL, 对照 GAPDH 基因 RT-PCR 产物 5 μL, 同 l μL 上样缓冲液混合均匀, 分别点样于 1%琼脂糖凝胶孔中, 在另一孔中加入 6 μL DL2000 Marker, 4 V/cm 电压下电泳。电泳结束后, 在凝胶成像系统上留取照片。应用灰度分析软件 Image J 进行吸光值比较分析, 确定目的基因在样品中表达量的相对值。

1.5 统计学分析

结果用均值±标准差(x±s)形式表示。采用 One-way ANOVA 方法分析各组之间差异显著性。P<0.05 表示差异显著, P<0.01 表示差异极显著。

2 结果与分析

2.1 NaCl 刺激对保加利亚乳杆菌冻干存活率的影响

为确定 NaCl 添加时间, 测定了保加利亚乳杆菌在 MRS 下的吸光值, 并绘制了生长曲线, 结果如图 1 所示, 在 12 h 左右进入对数生长末期, 16 h 左右进入稳定期。实验采用对数末期 13.5 h 作为 NaCl 刺激时间点(图 1)。

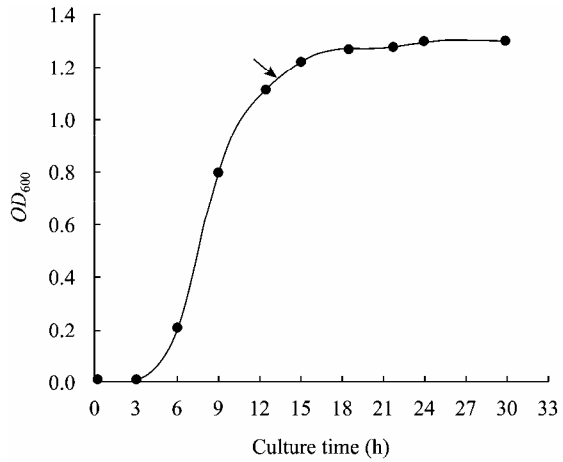

图 1 保加利亚乳杆菌生长曲线

Fig. 1 The growth curve of *Lactobacillus bulgaricus*

为研究 NaCl 刺激对保加利亚乳杆菌抗冻干性能的影响，选取亚致死剂量 2% (*W*/*V*)作为外源 NaCl 浓度。菌体培养到 13.5 h 时，向菌液中添加 NaCl 继续培养 2、4 和 6 h，测定其冻干存活率，如图 2 所示，NaCl 刺激后保加利亚乳杆菌的冻干存活率显著增加，且存活率分别是对照组(直接预冻并冷冻干燥)细胞的 1.43 倍(2 h)、1.33 倍(4 h)和 1.28 倍(6 h)。表明 NaCl 刺激的确是提高乳酸菌冻干存活率的有效手段。但随着 NaCl 刺激时间增加存活率降低，这说明刺激时间不宜过长，选择合适的添加时间点和刺激持续时间才能达到良好的效果。为了研究 NaCl 刺激对糖酵解限速酶 PFK 活性的影响，实验选取效果最为显著的刺激时间 2 h 考察冻干前后 PFK 活性的变化。

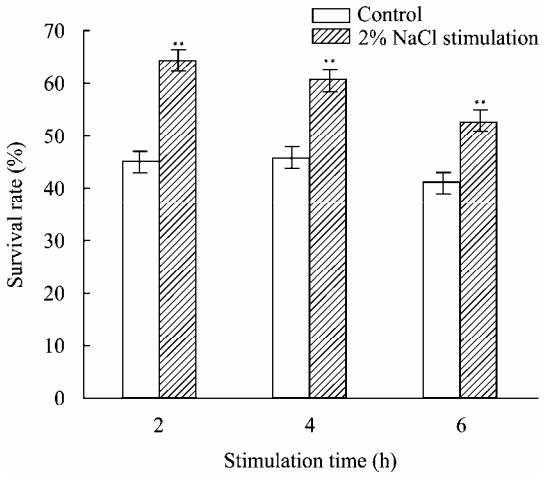

图 2 NaCl 刺激后冻干存活率

Fig. 2 The survival rate of freeze-dried cells after NaCl stimulation

注: **: 实验数据在 $P<0.01$ 水平上的显著性差异.

Note: **: The results are significantly different ($P<0.01$).

2.2 磷酸果糖激酶活性

2.2.1 ATP 和 ADP 分离效果: 取 20 μL 0.05 g/L ATP 和 0.05 g/L ADP 混合标准品溶液进行色谱分析。如图 3 所示，ATP 和 ADP 在短时间内达到较好的分离效果。流动相的选择较为重要，实验选用 50 mmol/L 的磷酸钾缓冲液(pH 6.5)作为洗脱的流动相，分离效果较好。ATP 和 ADP 的保留时间分别为 6.417 min 和 7.045 min。

2.2.2 ADP 工作曲线: 配制一系列浓度的 ADP 标准溶液(0.01、0.02、0.03、0.04 和 0.05 g/L)，按照所建立的方法处理后进行分析。记录 ADP 的峰面积，以峰面积对浓度进行线性回归得回归方程。每一个浓度水平的标准液各进样 3 次，计算得 ADP 的线性回归方程为: $y=34.8x+0.005\ 6$, $R^2=0.999\ 7$, 在 0.01−0.05 g/L 范围内具有良好的线性关系。

2.2.3 磷酸果糖激酶的活性: 目前 PFK 酶活测定方法主要是采用酶法[8]，但这种方法需要通过其它 3 种酶相偶联，操作复杂，分析成本高。采用 RP-HPLC 法对生成物 ADP 进行检测，通过检测 ADP 的含量来反映 PFK 活性的变化，如图 3 所示。该方法在酶反应终止后 13 min 内即可检测出 PFK 活性，可消除因 ATP 和 ADP 不稳定造成的影响，更加简便、快速、准确。糖代谢是细菌产生能量的主要途径，在外界不利环境下能量的代谢必然加快，所以糖代谢途径中的某些酶类在外界环境压力下会发生变化[9]。表 1 结果显示，冻干前 PFK 活性为 1.409 5 U/mg, NaCl 刺激后酶活提高 37.4% ($P<0.01$); 冻干后活性降低为 0.968 5 U/mg, NaCl 刺激使 PFK 活性增加 31.4% ($P<0.01$)。冷冻干燥影响了保加利亚乳杆菌正常生理代谢所需关键酶 PFK 的活性，NaCl 刺激能有效地减少冻干过程对 PFK 酶活的影响，起到保护细胞的作用。

2.3 PFK-1 酶基因(*pfk*1)的表达

为了确保 PCR 扩增产物的特异性，实验将 PCR 产物回收后进行了克隆测序，其中目的基因 PFK 1 203 bp，参比基因 GAPDH 432 bp (图 4)。测序结果表明 PCR 扩增产物确实为 PFK-1 基因片段。根据图 4 所示电泳条带的吸光值比较，绘制柱状图。将对照组中冻干前与冻干后灰度值做显著性分析发现 $P<0.05$，冷冻干燥后 *pfk1* 表达量显著增加; NaCl 刺激后胞内 *pfk1* 在冻干前的表达量增加，比对照组增加 25.89%; 但是 NaCl 刺激对 *pfk1* 在冻干后的表达量影响不大。

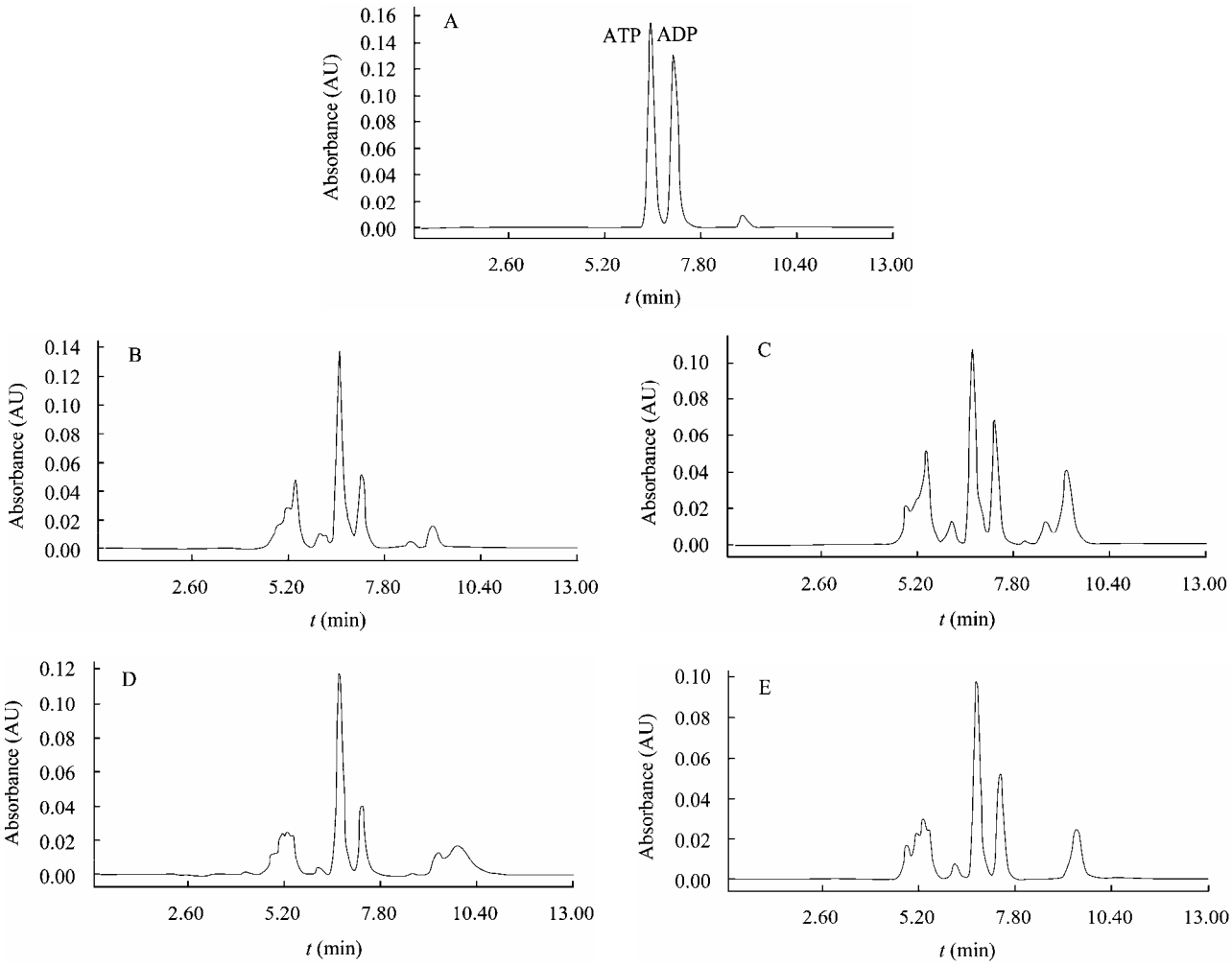

图 3 色谱图

Fig. 3 RP-HPLC chromatograms

注: A: ATP 和 ADP 样品色谱图; B: 冻干前对照组; C: 冻干前处理组; D: 冻干后对照组; E: 冻干后处理组.

Note: A: RP-HPLC chromatograms of ATP and ADP mixture; B: Control group before freeze-drying; C: Treatment group before freeze-drying; D: Control group after freeze-drying; E: Treatment group after freeze-drying.

表 1 磷酸果糖激酶活性

Table 1 Phosphofructokinase activity

	PFK 酶活 PFK activity (U/mg)	
	冻干前 Before freeze-drying	冻干后 After freeze-drying
对照组 Control group	1.409 5±0.015 5	0.968 5±0.012 6
处理组 Treatment group	1.936 3±0.040 6**	1.272 6±0.025 9**

注: **: 实验数据在 $P<0.01$ 水平上的显著性差异.

Note: **: The results are significantly different ($P<0.01$).

3 结论与讨论

乳酸菌经过亚致死处理可以提高其冻干存活率，在变化的环境中能通过改变自身的代谢增强对外界条件的抵抗力。本研究在预冻前对保加利亚乳杆菌进行短暂 NaCl 刺激，结果发现在对数末期 13.5 h 时添加 NaCl 刺激，冻干存活率增加；但随着 NaCl 刺激时间增加存活率降低，这说明刺激时间不宜过长，选择合适的添加时间和刺激持续时间才能达到良好的效果。

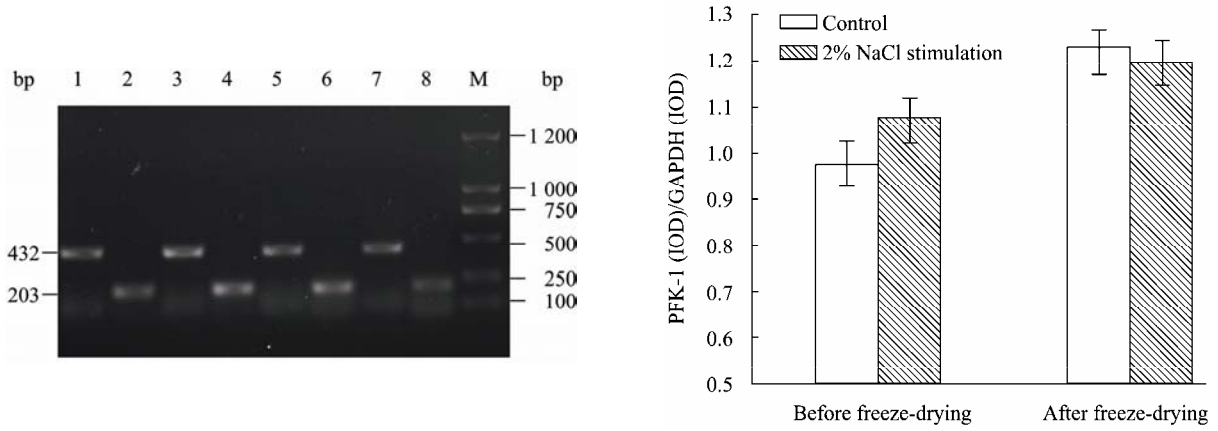

图 4 保加利亚乳杆菌 PFK-1 激酶表达(*n*=3)

Fig. 4 PFK-1 kinase express in *Lactobacillus bulgaricus* (*n*=3)

注: M: DNA marker; 1、3、5、7: GAPDH; 2、4、6、8: PFK-1; 1、2: 冻干前对照组; 3、4: 冻干前处理组; 5、6: 冻干后对照组; 7、8: 冻干后处理组.

Note: M: DNA marker; 1,3,5,7: GAPDH; 2,4,6,8: PFK-1; 1,2: Control group before freeze-drying; 3,4: Treatment group before freeze-drying; 5,6: Control group after freeze-drying; 7,8: Treatment group after freeze-drying.

乳酸菌在不良环境下的自我保护，会使细胞产生某些生理变化，比如在酸耐受反应中乳酸乳球菌 MG1363 的丙酮酸激酶、磷酸甘油酸激酶和乳酸脱氢酶等糖代谢相关酶类会发生变化[10]。糖在糖酵解中, PFK 是调控关键酶[11]，限制糖酵解的速率。冷冻干燥影响了保加利亚乳杆菌正常生理代谢所需关键酶 PFK 的活性，可能是由于冻干过程中细胞膜受到破坏，胞内部分酶泄漏到细胞外使细胞内的 PFK 活性降低[12]。经 NaCl 刺激冻干后 PFK 酶活是对照组的1.31倍，说明NaCl刺激能够有效地减少冻干过程中对 PFK 酶活的影响，起到保护细胞的作用。PFK 活性增加，可能是由于添加NaCl改变了细胞内辅因子水平[13]。

本研究对 NaCl 刺激下保加利亚乳杆菌 *pfk1* 表达的研究显示，冻干后 *pfk1* 表达量增加，这与有无 NaCl 刺激无关，说明保加利亚乳杆菌可以通过调控基因的转录水平抵抗不利环境。NaCl 刺激后，*pfk1* 的表达量在冻干前增加，但是在冻干后表达基本没有变化。可以推测，在保加利亚乳杆菌中 PFK 酶与其存活是有一定关联的，这与 Marceau 的结论一致[3]。

综上所述，NaCl 刺激能显著提高保加利亚乳杆菌的冻干存活率，同时胞内 PFK 的活性增强，PFK 可能与细胞的存活有关。但糖代谢是多酶共同调节型，仅仅研究一种酶是片面的，在今后的实验中结合研究其它糖代谢关键酶来共同阐述此机理，为乳酸菌冷冻干燥后存活率和活力低下的问题提供理论依据。

参 考 文 献

[1] Carvalho AS, Silva J, Ho P, et al. Effects of addition of sucrose and salt, and of starvation upon thermotolerance and survival during storage of freeze-dried *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*[J]. J Food Sci, 2003, 68(8): 2538−2541.

[2] Koch S, Oberson G, Eugster-Meier E, et al. Osmotic stress induced by salt increases cell yield, autolytic activity, and survival of lyophilization of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis*[J]. Int J Food Microbiol, 2007, 117(1): 36−42.

[3] Marceau A, Zagorec M, Chaillou S, et al. Evidence for involvement of at least six proteins in adaptation of Lactobacillus sakei to cold temperatures and addition of NaCl[J]. Appl Environ Microbiol, 2004, 70(12): 7260−7268.

[4] Fraenkel DG. Genetics and intermediary metabolism[J]. Annu Rev Genet, 1992, 26: 159−177.

[5] Kandler O. Carbohydrate metabolism in lactic acid bacteria[J]. Antonie van Leeuwenhoek, 1983, 49(3): 209−224.

[6] Deutscher J, Saier MH Jr. ATP-dependent protein kinase-catalyzed phosphorylation of a seryl residue in HPr, a phosphate carrier protein of the phosphotransferase

system in *Streptococcus pyogenes*[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1983, 80(22): 6790−6794.

[7] 管玉霞, 张红秀, 刑莉丽. 反相高效液相色谱法测定磷酸果糖激酶的活性[J]. 分析科学学报, 2009, 25(2): 211−213.

[8] Ruijter GJG, Panneman H, Visser J. Overexpression of phosphofructokinase and pyruvate kinase in citric acid-producing *Aspergillus niger*[J]. BBA, 1997, 1334(2/3): 317−326.

[9] Kullen MJ, Klaenhammer TR. Identification of the pH-inducible, proton-translocating F1F0-ATPase (atpBE-FHAGDC) operon of *Lactobacillus acidophilus* by differential display: gene structure, cloning and characterization[J]. Mol Microbiol, 1999, 33(6): 1152−1161.

[10] Budin-Verneuil A, Pichereau V, Auffray Y, et al. Proteomic characterization of the acid tolerance response in *Lactococcus lactis* MG1363[J]. Proteomics, 2005, 5(18): 4794−4807.

[11] Viana R, Pérez-Martínez G, Deutscher J, et al. The glycolytic genes pfk and pyk from *Lactobacillus casei* are induced by sugars transported by the phosphoenolpyruvate: sugar phosphotransferase system and repressed by CcpA[J]. Arch Microbiol, 2005, 183(6): 385−393.

[12] 刘振民, 骆承庠. 乳酸菌冷冻损伤研究[J]. 食品与发酵工业, 2002, 28(10): 18−21.

[13] 刘立明, 邓禹, 李寅, 等. 营养和环境条件对光滑球拟酵母葡萄糖代谢速度的影响[J]. 应用和环境生物学报, 2006, 12(5): 688−692

编辑部公告

中国科学院微生物研究所期刊广告部简介

中国科学院微生物研究所期刊广告部于 2007 年 3 月正式成立，已取得北京市工商管理局正式批准的广告经营许可证(京朝工商广字第 8154 号)。广告部代理《生物工程学报》、《微生物学报》、《微生物学通报》、《菌物学报》四个期刊的广告经营业务，此四种期刊均为中国自然科学核心期刊，国内外公开发行，主要报道微生物学和生物技术领域的最新研究成果和研究动态，已被美国化学文摘(CA)、生物学文摘(BA)、医学索引(MEDLINE)、俄罗斯文摘杂志(AJ)及《中国学术期刊文摘》、《生物学文摘》等国内外著名数据库和检索期刊收录，是促进国内外学术交流的重要科技期刊。

广告刊登内容主要包括大型生化仪器(如显微镜、离心机、色谱仪、无菌操作台、大、中、小型发酵罐)、设备耗材(如 PCR 仪、细胞生物反应器、微量移液器、离心管、杂交膜)及生化试剂(如各种酶、载体、试剂盒)等的产品宣传信息，也可以发布生物技术人才招聘信息、会议消息、以及与生命科学有关的各类服务信息。广告部以严谨、诚信为原则，愿与从事生物技术产品生产与销售的各类厂商和公司精诚合作，共同发展。如有刊登广告的需要，欢迎与我们电话或 E-mail 联系获取各刊版位及报价信息！也可以登陆各刊网站，了解更多详情。

提示：各公司与此四刊签订的广告费用请汇入以下账号：

收款单位：中国科学院微生物研究所

开户银行：中国工商银行北京分行海淀西区支行

帐　　号：0200004509089117425

中国科学院微生物研究所·期刊广告部

联系电话: 010-64807336; 010-64806142

联系人：武文　王闵

电子信箱: gg@im.ac.cn

网　址: http://journals.im.ac.cn