

化脓性链球菌脂蛋白 FtsB 的基因克隆、 表达、纯化与功能研究

李慧[△] 吕洁[△] 王红翠 王南杰 李楠 詹胜 阳小燕 孙雪松^{*}

(暨南大学 生命与健康工程研究院 广东 广州 510632)

摘要: 体外克隆化脓性链球菌 5005 的 *ftsB* 基因, 表达并纯化 FtsB 蛋白, 并对其铁色素结合特性进行初步研究。首先通过 PCR 方法从基因组中扩增 *ftsB* 基因, 将其连接到 pGEX4T-1 载体上, 转入大肠杆菌 DH5 α 中大量扩增, 将测序正确的重组载体转化到表达宿主大肠杆菌 BL21 进行表达, 优化诱导表达条件。利用亲和层析方法纯化表达产物, 并对 FtsB 的铁色素结合特性进行研究, 同时通过 DEPC 封闭组氨酸实验对其结合位点进行初步研究。成功构建原核表达载体 pGEX-*ftsB*, 获得分子量约 33 kD 的野生型 FtsB 蛋白, 产率为 30 mg/L。紫外-可见光谱研究表明 FtsB 和铁色素结合后在 450 nm 处出现紫外吸收峰, DEPC 封闭组氨酸实验证明 FtsB 中组氨酸不参与铁色素的结合。对 FtsB 蛋白进行铁色素结合特性和结合位点进行研究, 为进一步研究细菌中的铁色素转运机理及开发疫苗候选物和药靶奠定一定的理论基础。

关键词: 化脓性链球菌, FtsB 蛋白, 铁色素, DEPC

Cloning, expression, purification and functional study of lipoprotein FtsB from *Streptococcus pyogenes*

LI Hui[△] LÜ Jie[△] WANG Hong-Cui WANG Nan-Jie LI Nan ZHAN Sheng
YANG Xiao-Yan SUN Xue-Song^{*}

(Institute of Life and Health Engineering, Jinan University, Guangzhou, Guangdong 510632, China)

Abstract: This study aims to clone *ftsB* gene from *Streptococcus pyogenes* 5005, to express and purify FtsB, and to characterize its ferrichrome binding properties *in vitro*. DNA fragments encoding *ftsB* was obtained by PCR and inserted into plasmid pGEX4T-1, followed by transformation into *Escherichia coli* DH5 α . The constructed recombinant plasmid was transformed into *Escherichia coli* BL21 to express FtsB. The conditions used to induce expression were optimized. The protein was purified using affinity chromatography. The ferrichrome binding property was initially characterized, and the binding

site was investigated by blocking histidine residues. with DEPC. The 33 kD FtsB was successfully expressed and purified, and the yield was 30 mg/L. The UV-visible spectra showed the FtsB had a visible absorption peak at 425 nm with ferrichrome and that histidine didn't participate in ferrichrome binding. This approach reports the ferrichrome binding properties and binding site of FtsB, providing theoretical foundations for the further study of ferrichrome transport mechanism in bacteria and the development of drug target and vaccine candidate.

Keywords: *Streptococcus pyogenes*, FtsB, Ferrichrome, DEPC

铁离子是细胞代谢过程中许多蛋白或酶的辅助因子,是大多数细菌生存以及形成感染的必需元素^[1-3]。相对而言,细菌从人体获得铁离子相当艰难,因为人体中的铁离子在生理环境下是极度难溶的,人体细胞内外游离存在的铁离子非常有限^[2-3]。于是许多细菌分泌出低分子量的铁载体(Siderophore)从宿主环境中螯合铁离子。ABC 转运系统是大多数细菌所含有的铁摄取系统,在化脓性链球菌中具有高度的保守性。它由一个脂蛋白、一个膜蛋白和一个 ATP 酶组成。脂蛋白作为配体与金属离子、血红素或铁色素结合,并依靠 ATP 结合蛋白提供能量,与膜蛋白相互作用,导致铁离子或铁化合物的释放并转运到菌体内。其中的脂蛋白暴露在细胞膜外,因此可以成为这些细菌引发的感染性疾病的疫苗候选物和药靶^[4-6]。

化脓性链球菌(*Streptococcus pyogenes*)是一类革兰氏阳性致病球菌,是致病力最强的一种链球菌,能产生多种毒素(链球菌溶素 O 和 S、红疹毒素)、M 蛋白、脂磷壁酸和链激酶、链道酶、透明质酸酶等致病因子,可引起急性咽炎、呼吸道感染、丹毒、脓疱病、软组织感染、心内膜炎和脑膜炎等,产毒株还可引起猩红热等^[7]。在化脓性链球菌中,至今报导了 3 种摄取铁离子的 ABC 系统,分别是 MtsABC、HtsABC 和 FtsABCD^[8-9]。在这 3 种 ABC 转运系统中,MtsABC 中的脂蛋白 MtsA 能直接结合铁离子^[10-11];HtsABC 中的 HtsA 结合含铁血红素 Heme;FtsABCD 中的 FtsB 结合含铁的铁色素^[12-13]。

化脓性链球菌中 FtsABCD 系统主要负责铁色素的摄取,其中 *ftsA* 编码 ATP 结合蛋白,*ftsB* 编码脂蛋白,*ftsCD* 编码膜蛋白。当 MtsA 和 HtsA 在细胞

中失去活性及培养基缺铁时,FtsB 的表达水平及铁色素含量同时增加^[13]。除了上述这些研究结果,对 FtsB 在铁色素结合、转运及其结构与功能的关系等更多的化学和生化性质上,我们知之甚少。本实验通过 PCR 扩增 *ftsB* 基因,以 pGEX4T-1 为载体,构建重组质粒,大量表达目的蛋白并纯化,对纯化的 FtsB 蛋白进行铁色素结合特性研究,初步探究了其铁色素结合位点,为研究疫苗候选物和药靶提供了一定的理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 菌株与载体: 化脓性链球菌(*Streptococcus pyogenes*) 5005 为本实验室保存;大肠杆菌(*Escherichia coli*) DH5 α 、BL21(DE3) star 菌株和质粒 pGEX4T-1 购自 Invitrogen。

1.1.2 培养基与抗生素: *E. coli* 培养基为 LB 培养基,化脓性链球菌 5005 培养基为含 0.5%酵母浸出液的 Todd-Hewitt 培养基(THY)。氨苄青霉素(Amp)使用浓度为 100 mg/L。

1.1.3 主要试剂: 铁色素、异丙基- β -D-硫代半乳糖苷(IPTG)、还原性谷胱甘肽、Thrombin 外切酶、焦碳酸二乙酯(DEPC)购自 Sigma 公司;DNA 聚合酶 Primer Star、限制性内切酶 *Bam*H I、*Sal* I、T4 DNA 连接酶和胶回收试剂盒、质粒提取试剂盒购自 TaKaRa 生物公司;引物合成由上海生物工程有限公司完成;GST 亲和层析树脂,PD-10 脱盐柱购自 GE 公司。

1.2 方法

1.2.1 化脓性链球菌基因组 DNA 提取: 将培养过夜的化脓性链球菌菌体重悬后,加入溶菌酶和变酶

菌素在 TE 缓冲液中 37 °C 裂解过夜, 采用蛋白酶 K 和 SDS 在 TE 缓冲液中充分使蛋白变性降解; 经 Tris 饱和酚抽提水相蛋白, 于预冷的无水乙醇沉淀基因组 DNA, 最后保存于无菌的 TE 缓冲液中。

1.2.2 *ftsB* 基因的扩增: 根据 NCBI 中化脓链球菌 5005 基因序列, 去掉前 60 个信号肽序列, 用 Primer 5.0 软件设计引物, 上下游分别含有 *Bam*H I 和 *Sal* I 酶切位点(下划线部分)。上游引物(Upper): 5'-CGCGGATCCGGTAATCAAGCAACTAATC-3', 下游引物(Lower): 5'-CGCGTCGACTTAGTTTTCAC TTGATAAGATTG-3'。以化脓性链球菌 5005 基因组为模板, 进行 PCR 扩增反应。反应总体积 50 μ L: dd H₂O 21.5 μ L, 5 \times Prime STAR 缓冲液 10 μ L, dNTPs (2.5 mmol/L) 4 μ L, 模板 2.0 μ L, 上、下游引物各 1 μ L (10 nmol/L), Prime STAR HS DNA 聚合酶 (2.5 U/ μ L) 0.5 μ L。PCR 扩增反应条件: 95 °C 2 min; 95 °C 45 s, 60 °C 2 min, 72 °C 1 min, 30 个循环; 72 °C 10 min。PCR 产物用 1%的琼脂糖凝胶电泳进行鉴定; PCR 产物的回收按大连 TaKaRa 试剂盒使用说明操作。

1.2.3 克隆 PCR 产物及重组转化子的鉴定: 纯化回收的 *ftsB* 基因片段和抽提并经胶回收的 pGEX4T-1 质粒同时经 *Bam*H I、*Sal* I 两种限制性内切酶 37 °C 酶切 3 h, 用 T4 DNA 连接酶 16 °C 连接过夜, 转化大肠杆菌 DH5 α 感受态细胞, 涂布 Amp 抗性平板进行培养, 挑取单菌落依次进行质粒的提取、酶切及测序。测序由广州 Invitrogen 完成。

1.2.4 FtsB 融合蛋白的表达: 用测序正确的重组质粒转化 *E. coli* BL21 感受态细胞, 涂在含有 Amp 抗性的平板进行培养。挑取单菌落, 接种于 5 mL 有 Amp 抗性的 LB 培养液中, 37 °C 摇床培养过夜进行活化。按 1:100 的接种量转入 10 mL 有 Amp 抗性的 LB 培养液中。37 °C、200 r/min 摇床培养分别至 OD₆₀₀ 值 0.6、0.8、1.0, 分别加入终浓度为 0.2、0.5 mmol/L 的 IPTG。37 °C、200 r/min 进行梯度诱导表达, 分别于 2、4、6 h 4 °C 离心收集菌体。菌体沉淀用 1 \times SDS loading buffer 煮沸裂解, 离心 2 min, 取上清进行 SDS-PAGE。根据

SDS-PAGE 结果选择梯度诱导目的蛋白表达量最好的条件进行大量诱导表达。

1.2.5 FtsB 蛋白的纯化: 将诱导表达的菌液于 10 000 r/min、4 °C 离心 30 min, 收集菌体, 菌体沉淀溶解于 PBS 缓冲液中, 采用超声波细胞破碎法, 10 000 r/min 离心 30 min 除去细胞碎片和杂质, 收集含有 FtsB 的上清液, 用 1 \times PBS (pH 7.4) 稀释 10 倍后上 GST 亲和层析柱; 用 10 倍柱体积的 PBS 洗下杂蛋白后, 再用 5 倍柱体积的 10 mmol/L 还原性谷胱甘肽洗脱, 得到融合蛋白 GST-FtsB。融合蛋白用 Thrombin 外切酶(每单位切 1 mg 融合蛋白) 4 °C 酶切过夜, 酶切产物再次过 GST 亲和层析柱, 收集直接从柱子上流出的 FtsB 蛋白。

1.2.6 FtsB 蛋白的铁色素结合特性: 向纯化的 FtsB 蛋白加入 2 倍当量的铁色素, 室温孵育 2 h, 多余的铁色素用 PD-10 脱盐柱除去, FtsB 蛋白和铁色素饱和的 FtsB 蛋白(30 μ mol/L, 20 mmol/L Tris-HCl, pH 7.4) 分别用紫外可见分光光度计(Thermo Evolution 300)从 200–600 nm 波段进行扫描。用相应的缓冲液进行基线调零。

1.2.7 焦碳酸二乙酯(DEPC)修饰组氨酸: 将 FtsB 溶在 PBS (pH 7.4)中, 加入 DEPC (5 mmol/L) 孵育 2 h^[14]。将用 DEPC 处理的和未经 DEPC 处理的 FtsB (3 μ mol/L) 分别在 PBS 中滴加不同摩尔当量的铁色素(直到 5 倍), 每次滴加后蛋白质产生的荧光值用荧光分光光度计(Hitachi F4500)进行扫描。激发波长为 280 nm, 扫描范围为 295–450 nm, 狭缝宽度为 5 nm。结果用 Origin 7.2 中的 Hill 方程拟合得出结合常数。

2 结果

2.1 *ftsB* 基因的扩增

以化脓性链球菌 5005 基因组 DNA 为模板进行 PCR 扩增, PCR 产物经 1%琼脂糖凝胶电泳在 873 bp 处出现 1 条特异性很强的条带(图 1), 与预期的结果相符。

2.2 重组质粒的构建及鉴定

将 pGEX4T-1 载体和 PCR 产物分别经 *Bam*H I

和 *Sal* I 进行双酶切, 连接产物转化 *E. coli* DH5 α 感受态菌。在 Amp 抗性平板上挑选菌落, 抽提质粒 DNA 经 *Bam*H I 和 *Sal* I 双酶切后, 进行 1% 琼脂糖凝胶电泳, 分别在 5 000 bp (pGEX4T-1) 和 900 bp 左右 (*fts*b) 出现两条电泳条带(图 2)。重组质粒经广州 Invitrogen 公司测序, 结果正确。

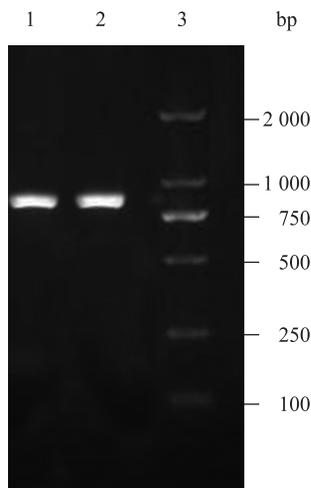


图 1 *fts*b 基因的 PCR 扩增电泳图

Fig. 1 Electrophoresis result of *fts*b PCR

Note: 1,2: PCR product of *fts*b; 3: Marker.

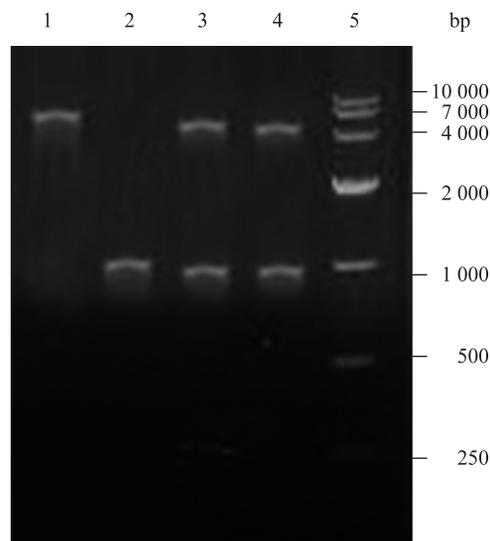


图 2 重组质粒 pGEX-*fts*b 双酶切鉴定电泳图

Fig. 2 Electrophoresis result of recombinant plasmid pGEX-*fts*b digested by *Bam*H I and *Sal* I

Note: 1: Plasmid pGEX4T-1; 2: *fts*b; 3,4: Digested-recombinant plasmid; 5: Marker.

2.3 FtsB 重组蛋白在 BL21 菌株中的表达及纯化

利用 IPTG 进行诱导将含有外源基因的 *E. coli* BL21 菌体, 在 1 \times SDS loading buffer 中煮沸裂解后取上清进行 SDS-PAGE, SDS-PAGE 的结果可以看出在 OD_{600} 约为 0.6 时没有蛋白的表达(结果未给出), 在 OD_{600} 约为 0.8 时有少量融合蛋白的表达(图 3), OD_{600} 约为 1.0 时有大量融合蛋白(60 kD)的表达(图 4), 同预计的重组蛋白的分子量大小一致, 说明 FtsB 融合蛋白为后表达蛋白。同时诱导的空质粒转化菌在 26 kD 处出现 GST 的过表达。图 3 和图 4 实验结果表明 0.5 mmol/L 浓度的 IPTG 诱导 6 h 的重组蛋白的表达量最高。本实验选用的表达载体 pGEX4T-1 中含有 GST Tag 编码序列, 可用 GST 亲和层析柱纯化 GST-FtsB 融合蛋白。纯化后的融合蛋白和经 Thrombin 外切酶酶切掉 GST 标签的 FtsB 蛋白经 SDS-PAGE 分析, 可看出经过纯化后得到单一的融合蛋白(60 kD)和 FtsB (33 kD) 蛋白条带, 纯度在 95% 以上(图 5)。纯化后的 FtsB 蛋白进行质谱鉴定, 与理论预期的蛋白大小 33.66 kD 完全一致。

2.4 FtsB 和铁色素结合的紫外光谱

将未结合铁色素的 FtsB 蛋白(FtsB)和饱和铁色素的 FtsB 蛋白(经脱盐柱去除未结合的铁色素)进行紫外分光光度计扫描后, 谱图显示未结合铁色素的 FtsB 蛋白只在 280 nm 处有一蛋白吸收峰, 铁色素饱和的 FtsB 蛋白除了在 280 nm 的蛋白吸收峰外, 还在 425 nm 处有一铁色素吸收峰, 和等摩尔量的铁色素(Fch)的吸收峰一致(图 6), 证明 FtsB 蛋白具有铁色素结合能力。

2.5 DEPC 处理 FtsB

DEPC 可以在组氨酸咪唑环上加一个乙基产生一个乙酰基组氨酸衍生物从而修饰蛋白质中的组氨酸残基^[15-16]。DEPC 常用来检测参与金属结合的蛋白质中的组氨酸残基的数量。在 FtsB 中加入铁色素, 由于蛋白局部的构象发生改变, 可导致荧光淬灭的发生, 可用来检测 FtsB 与铁色素的结合特性。在 FtsB 中加入 DEPC 后, 用荧光分光光度计进行铁色素滴定, 发现滴定曲线并没有发生大的改变(图 7),

结合常数 K 值为 5.4×10^5 L/mol, 和野生型 FtsB 的结合常数 (6.0×10^5 L/mol) 相似。由此可以看出 FtsB 中组氨酸残基不参与铁色素结合。

3 讨论

化脓性链球菌分布广、致病力强, 是咽炎、猩红热和小脓疱疹等疾病的主要病原体, 其生存和形成感染必须依靠铁离子或铁复合物一系列铁源。铁

载体主要存在于微生物中(细菌、真菌)。铁载体依据其化学结构可分为多种类型^[17], 包括氧肟酸盐、儿茶酚盐等。真菌往往合成铁色素(Ferrichrome), 是氧肟酸盐的一种, 它和铁离子 1:1 螯合, 6 个配位氧包围铁离子形成正八面体的化合物。本研究从化脓性链球菌 5005 中扩增得到编码 FtsABCD 转运体中的脂蛋白基因 *ftsB* (不含信号肽), 将其和 pGEX4T-1 载体连接, 成功构建了高效表达质粒 pGEX-*ftsB*, 转

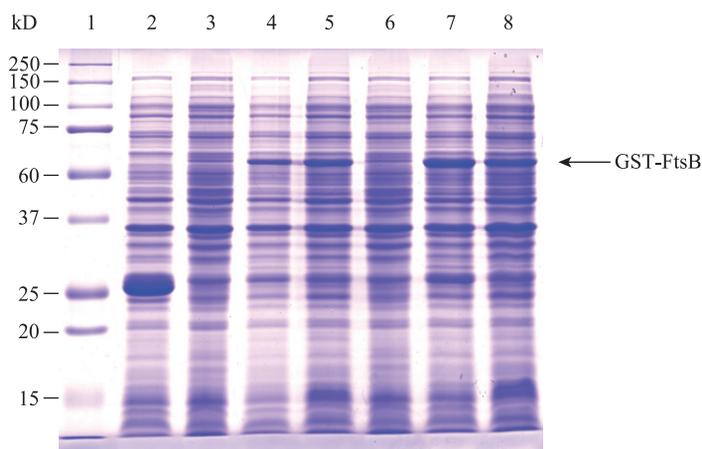


图3 $OD_{600} \approx 0.8$ 时 IPTG 诱导蛋白表达的结果

Fig. 3 The result of induction and expression by IPTG at $OD_{600} \approx 0.8$

Note: 1: Marker; 2: Induced *E. coli* BL21 with pGEX4T-1; 3,6: Uninduced *E. coli* BL21 with recombinant plasmid pGEX-*ftsB* at 4, 6 h; 4,5: Induced *E. coli* BL21 with recombinant plasmid pGEX-*ftsB* at 4 h by 0.2 mmol/L and 0.5 mmol/L IPTG; 7,8: Induced *E. coli* BL21 with recombinant plasmid pGEX-*ftsB* at 6 h by 0.2 mmol/L and 0.5 mmol/L IPTG.

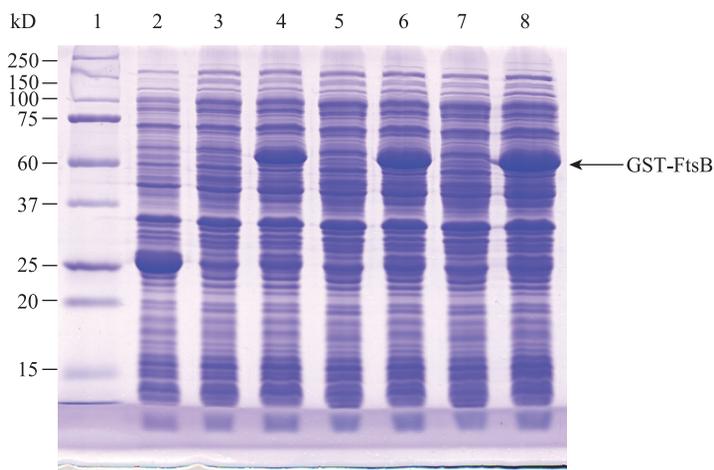


图4 $OD_{600} \approx 1.0$ 时 IPTG 诱导蛋白表达的结果

Fig. 4 The result of induction and expression by IPTG at $OD_{600} \approx 1.0$

Note: 1: Marker; 2: Induced *E. coli* BL21 with pGEX4T-1; 3,5,7: uninduced *E. coli* BL21 with recombinant plasmid pGEX-*ftsB* at 2, 4, 6 h; 4, 6,8: Induced *E. coli* BL21 with recombinant plasmid pGEX-*ftsB* at 2, 4, 6 h.

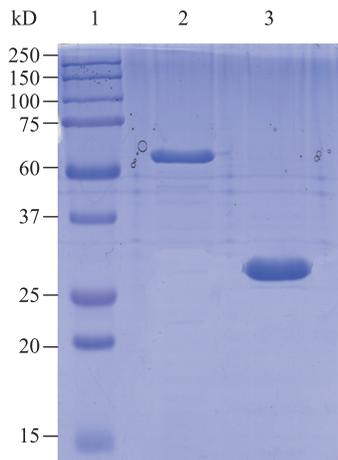


图5 蛋白纯化结果

Fig. 5 The purification result of protein

Note: 1: Marker; 2: GST-FtsB; 3: FtsB.

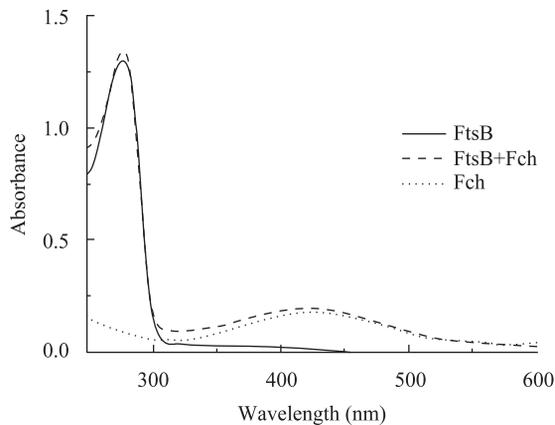


图6 UV-Vis 光谱检测 FtsB 铁色素结合特性

Fig. 6 UV-Vis absorption spectra of FtsB with (FtsB+Fch) and without (FtsB) ferrichrome.

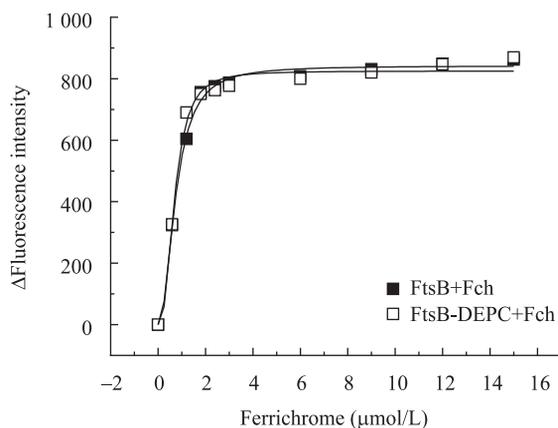


图7 DEPC 处理的和未处理的 FtsB 的铁色素结合能力比较结果

Fig. 7 The comparison of ferrichrome-binding properties of FtsB treated with (FtsB-DEPC+Fch) and without (FtsB+Fch) DEPC

化至相应宿主菌 BL21 (DE3) 中。重组菌在 $OD_{600} \approx 1.0$ 时经 IPTG 诱导后融合蛋白大量表达, 可见化脓性链球菌 5005 中的 GST-FtsB 为后表达蛋白。利用 GST 树脂亲和层析法将重组菌中融合蛋白进行纯化, 并用 Thrombin 外切酶切掉 GST 标签得到较纯的 FtsB 蛋白。进一步对其铁色素结合特性进行研究, 发现 FtsB 和铁色素结合后在紫外可见光区 425 nm 处出现吸收峰, 和单纯的铁色素紫外吸收峰一致, 说明 FtsB 具有铁色素结合特性。

ABC 转运蛋白在结构和基因序列上大多具有高度的同源性, 但是通过 BLAST 序列比对发现 FtsB 和其他铁色素转运蛋白的同源性都不高, 因此对其铁色素结合位点的研究有一定的困难。本研究将 FtsB 用 DEPC 处理封闭组氨酸后, 发现其铁色素结合能力没有改变, 说明组氨酸没有参与铁色素的结合, 对其结合位点进行了初步判断。

本课题以化脓链球菌摄铁系统为对象深入研究铁蛋白介导的细菌铁转运机理, 有利于阐明革兰氏阳性病原菌在宿主中适应性生长的分子机制, 为开发基于转铁蛋白的疫苗和抑菌剂提供理论基础, 为解决目前存在的细菌对广谱抗生素的耐药性的问题提供新思路。

参考文献

- [1] Zimmermann MB, Hurrell RF. Nutritional iron deficiency[J]. Lancet, 2007, 370(9586): 511-520.
- [2] Chua AC, Graham RM, Trinder D, et al. The regulation of cellular iron metabolism[J]. Crit Rev Clin Lab Sci, 2007, 44(5/6): 413-459.
- [3] Ratledge C. Iron metabolism and infection[J]. Food Nutr Bull, 2007, 28(Suppl 4): 515-523.
- [4] Rees DC, Johnson E, Lewinson O. ABC transporters: the power to change[J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2009, 10(3): 218-227.
- [5] Seeger MA, van Veen HW. Molecular basis of multidrug transport by ABC transporters[J]. Biochim Biophys Acta, 2009, 1794(5): 725-737.
- [6] Hutchings MI, Palmer T, Harrington DJ, et al. Lipoprotein biogenesis in Gram-positive bacteria: knowing when to hold 'em, knowing when to fold' em[J]. Trends Microbiol, 2009, 17(1): 13-21.
- [7] Cunningham MW. Pathogenesis of group A streptococcal

- infections[J]. Clin Microbiol Rev, 2000, 13(3): 470–511.
- [8] Brown JS, Holden DW. Iron acquisition by Gram-positive bacterial pathogens[J]. Microbes Infect, 2002, 4(11): 1149–1156.
- [9] Ge RG, Sun XS, He QY. Iron acquisition by Streptococcus species: an updated review[J]. Front Biol China, 2009, 4(4): 392–401.
- [10] Janulczyk R, Ricci S, Björck L. MtsABC is important for manganese and iron transport, oxidative stress resistance, and virulence of *Streptococcus pyogenes*[J]. Infect Immun, 2003, 71(5): 2656–2664.
- [11] Hanks TS, Liu MY, McClure MJ, et al. Differential regulation of iron- and manganese-specific MtsABC and heme-specific HtsABC transporters by the metalloregulator MtsR of group A *Streptococcus*[J]. Infect Immun, 2006, 74(9): 5132–5139.
- [12] Ran YC, Zhu H, Liu MY, et al. Bis-methionine ligation to heme iron in the streptococcal cell surface protein Shp facilitates rapid heme transfer to HtsA of the HtsABC transporter[J]. J Biol Chem, 2007, 282(43): 31380–31388.
- [13] Hanks TS, Liu MY, McClure MJ, et al. ABC transporter FtsABCD of *Streptococcus pyogenes* mediates uptake of ferric ferrichrome[J]. BMC Microbiol, 2005, 5(1): 62–72.
- [14] Zeng YB, Yang N, Sun HZ. Metal-binding properties of an Hpn-like histidine-rich protein[J]. Chem Eur J, 2011, 17(21): 5852–5860.
- [15] Narindrasorasak S, Kulkarni P, Deschamps P, et al. Characterization and copper binding properties of human COMMD1 (MURR1)[J]. Biochemistry, 2007, 46(11): 3116–3128.
- [16] Jois PS, Madhu N, Rao DN. Role of histidine residues in EcoP151 DNA methyltransferase activity as probed by chemical modification and site-directed mutagenesis[J]. Biochem J, 2008, 410(3): 543–553.
- [17] Neilands JB. Microbial iron compounds[J]. Ann Rev Biochem, 1981, 50(1): 715–731.

征订启事

欢迎订阅 《微生物学通报》

《微生物学通报》创刊于 1974 年, 是中国科学院微生物研究所和中国微生物学会主办, 国内外公开发行人, 以微生物学应用基础研究及技术创新与应用为主的综合性学术期刊。刊登内容包括: 基础微生物学研究, 农业微生物学研究, 工业微生物学研究, 医学微生物学研究, 食品微生物学研究, 环境微生物学研究, 微生物功能基因组研究, 微生物蛋白组学研究, 微生物模式菌株研究, 微生物工程与药物研究, 微生物技术成果产业化及微生物教学研究改革等。

本刊为中国生物科学类核心期刊。曾获国家级优秀科技期刊三等奖, 中国科学院优秀科技期刊三等奖, 北京优秀科技期刊奖, 被选入新闻出版总署设立的“中国期刊方阵”并被列为“双效”期刊。

自 2008 年本刊已经全新改版, 由双月刊改为月刊, 发表周期缩短, 内容更加丰富详实。**欢迎广大读者到邮局订阅或直接与本刊编辑部联系购买**, 2012 年每册定价 58 元, 全年 696 元, 我们将免邮费寄刊。

另, 本编辑部现存有少量过刊, 如有需要者可直接与编辑部联系。(请事先与编辑部联系, 获悉每册售价。敬请在汇款单上注明所购刊物的年代、卷、期和数量)

邮购地址: (100101)北京朝阳区北辰西路 1 号院 3 号中国科学院微生物研究所《微生物学通报》编辑部

Tel: 010-64807511; E-mail: bjb@im.ac.cn, tongbao@im.ac.cn

网址: <http://journals.im.ac.cn/wswxtbcn>

国内邮发代号: 2-817; 国外发行代号: BM413