

温度对谷胱甘肽分批发酵的影响及动力学模型

卫功元 李寅 堵国成 陈坚*

(江南大学工业生物技术教育部重点实验室, 无锡 214036)

摘 要 研究了 24~32℃ 范围内产朊假丝酵母生产谷胱甘肽的分批发酵过程, 发现较高温度对细胞生长有促进作用, 而较低温度则更有利于谷胱甘肽产量的提高。应用改进的 Logistic 和 Luedeking-Piret 方程分别对细胞生长动力学和谷胱甘肽合成动力学进行了模拟, 得到不同温度下各种动力学参数。在此基础上, 进一步研究了温度同细胞生长动力学参数之间的内在联系, 得到谷胱甘肽分批发酵过程中细胞浓度的变化同温度以及底物浓度之间的一般关系式: $\frac{dX}{dt} =$

$$\frac{[0.0224(T+1.7)]^2 X(1-X/X_{\max})}{1+S/\{8.26 \times 10^6 \times \exp[-31477/R(T+273)]\}}$$

验证实验结果表明, 该模型具有很好的适用性。

关键词 谷胱甘肽, 产朊假丝酵母, 分批发酵, 温度, 动力学模型

中图分类号 TQ464.7; Q939.97 文献标识码 A 文章编号 1000-3061(2003)03-0358-06

谷胱甘肽(Glutathione, GSH)是一种广泛存在于生物体内的同时具有 γ -谷氨酰基和巯基的活性三肽, 临床上在解毒、抗辐射、肿瘤、癌症、氧化衰老^[1,2]和协调内分泌^[3]的治疗中效果明显且无副作用。自 1921 年 Hopkins 首先发现 GSH 以来, 科学家们一直研究它在各种生物体内的生理作用, 其中 GSH 在人体各种组织细胞中的含量以及同各种疾病、组织损伤的关系至今仍然是研究的热点^[4]。GSH 作为一种重要的生理活性物质, 随着更多功能和性质的发现, 人们对其在食品添加剂、临床医学和运动营养学上的兴趣将日益增长, 对其需求量也将不断增加。

GSH 的制备方法包括化学法、酶法和发酵法, 其中发酵法是最具潜力的方法^[5]。对于 GSH 的发酵法生产, 国内外学者开展了许多研究, 发酵条件优化、前体氨基酸的影响及添加策略等工作都已涉及并被解决^[6-8]。环境条件(如温度、pH 等)是影响工业发酵的重要因素之一, 但有关环境条件对 GSH 发酵影响的研究非常少。而事实上, 考察环境因素对 GSH 发酵的影响, 是对发酵过程进行优化的先决条件^[9]。本文在前期研究的基础上^[10], 考察不同温度对产朊假丝酵母分批发酵生产 GSH 动力学的影响, 并且对温度与细胞生长动力学参数的内在联系进行模拟。

1 材料与方法

1.1 菌种

产朊假丝酵母(*Candida utilis*) WSH 02-08, GSH 积累株, 本研究室保藏。

1.2 培养基及种子制备

培养基及种子制备方法参见文献 [10]。

1.3 发酵罐培养

全自动发酵罐 KFT-7 I (KoBio Techco., Ltd 韩国) 中装液量 4 L, 接种量 10%, 搅拌转速 300 r/min, 通气量 5.0 L/min, 温度根据实验要求分别进行控制, pH 值采用 pH 电极自动控制, 在 5.5 左右。

1.4 葡萄糖及细胞干重(DCW)的测定

参见文献 [10]。

1.5 胞内谷胱甘肽的提取

从 10 mL 发酵液中获得的新鲜酵母用蒸馏水洗涤 3 次后, 30℃ 下在 40% 乙醇溶液中处理 2 h, 离心取上清液作为待测样品。

1.6 谷胱甘肽的测定

DTNB [5,5'-二硫双(2-硝基苯甲酸)]-谷胱甘肽还原酶循环法^[11]。在 2 mL 比色皿中顺序加入 100 μ L 6 mmol/L DTNB, 700 μ L 0.3 mmol/L NADPH 和 200 μ L 适当浓度的样品, 室温下加入 100 μ L 50 u/mL 谷胱甘肽还原酶启动反应, 测定 412 nm 处反应体系的起始 OD 值以及 5 min 后的 OD 值, 根据 OD 值的变化速率与 GSH 浓度的关系计算出样品中 GSH 的含量。其中谷胱甘肽还原酶、NADPH 和 DTNB 均购自 Sigma 公司。

1.7 动力学参数计算

不同温度下葡萄糖比消耗速率(q_s)、细胞比生长速率

(μ) 和 GSH 比合成速率(q_p) 分别根据式 $q_s = \frac{1}{X} \frac{dS}{dt} = \frac{1}{X} \lim_{\Delta t \rightarrow 0} \frac{\Delta S}{\Delta t}$ 和 $q_p = \frac{1}{X} \frac{dP}{dt} = \frac{1}{X} \lim_{\Delta t \rightarrow 0} \frac{\Delta P}{\Delta t}$ 计算而得。用 Graghtool 绘图软件对实验数据进行插值计算(时间间隔为 0.1 h),再用 Excel 软件求解不同时刻的 q_s 、 μ 和 q_p 。模型参数的求解采用 Statistica 软件,对不同温度下 GSH 间歇发酵过程数据进行非线性估计与拟合,运用 Quasi-Newton 方法获得动力学参数。

2 结果与讨论

2.1 温度对 GSH 发酵过程的影响及分析

温度对微生物细胞生长、产物合成及代谢的影响是多方面的,不仅可以改变培养基的性质,而且会影响细胞代谢过程中各种关键酶的活性。温度对发酵的影响是各种因素综合表现的结果,因此在发酵过程中必须保证稳定而合适的温度环境。图 1 所示的是在 24 ~ 32 °C 范围内,*C. utilis* WSH 02-08 分批发酵生产 GSH 过程中葡萄糖消耗(A)、细胞生长(B)、GSH 合成(C)、葡萄糖比消耗速率(D)、细胞比生长速率(E)和 GSH 比合成速率(F)的变化情况。

结果表明,温度对葡萄糖消耗、细胞生长特别是 GSH 合成有着很大的影响。

随着温度的升高,葡萄糖消耗速度明显加快,细胞生长速度增加,进入生长稳定期的时间明显缩短。当葡萄糖利用完毕,细胞干重达到最大值。尽管不同温度下细胞生长速率各不相同,但细胞干重基本上都在 16 g/L 左右。在间歇培养前期,GSH 的浓度随着细胞的生长而逐渐提高,但进入生长稳定期后,细胞仍然合成部分 GSH 并在胞内积累。温度的升高虽然可以提高细胞生长速率,但过高的温度却严重影响了 GSH 的产量,其中 32 °C 时 GSH 产量为 235 mg/L,仅相当于 24°C 和 30°C 时的 64% 和 75%。因此,较高的温度有利于细胞的生长,而相对较低的温度更加适合于 GSH 的合成。

不同温度对葡萄糖比消耗速率(q_s)、细胞比生长速率(μ) 和 GSH 比合成速率(q_p) 的影响也有很大区别。温度越高,越早获得最大葡萄糖比消耗速率(q_{smax})、最大细胞比生长速率(μ_{max}) 和最大 GSH 比合成速率(q_{pmax})。将图 1 中实验数据进行整理,得到不同温度下 GSH 分批发酵过程参数,如表 1 所示。在整个发酵过程中,温度对不同参数的影响是

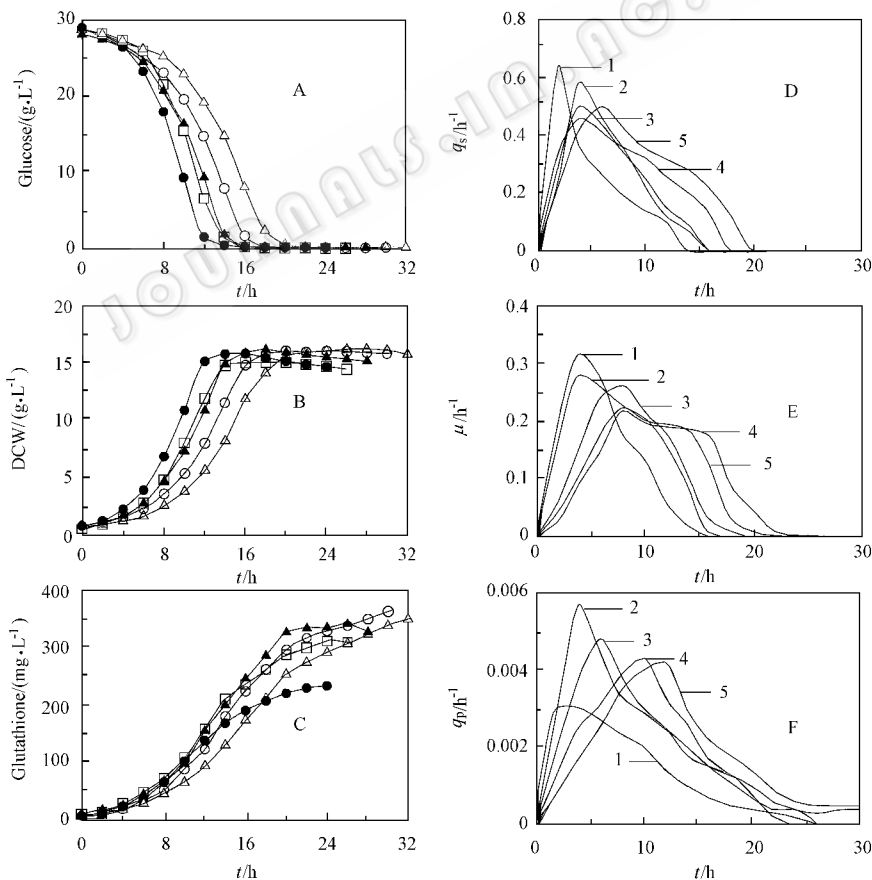


图 1 不同温度下葡萄糖消耗、细胞生长、GSH 合成、葡萄糖比消耗速率、比生长速率和 GSH 比合成速率的变化情况

Fig. 1 Time-courses of glucose consumption (A), cell growth (B), glutathione production (C), specific glucose consumption rate (D), specific growth rate (E) and specific glutathione production rate (F) under different temperatures

● and curve 1. 32 °C; □ and curve 2. 30 °C; ▲ and curve 3. 28 °C; ○ and curve 4. 26 °C; △ and curve 5. 24 °C

有差异的,甚至是相反的。其中,细胞平均比生长速率和 GSH 平均比合成速率在 30℃时达到最大值(分别为 0.13 h^{-1} 和 2.1 h^{-1}),而胞内 GSH 含量只有在 26℃时达到最高值 2.3%。由此可见,细胞生长和 GSH 形成需要不同的最适温

度。因此,在分批发酵过程中始终维持单一的温度是不够的,还需要采用一定的温度变化和控制策略来实现各种因素的统一。

表 1 不同温度下 GSH 分批发酵过程参数比较

Table 1 Comparison of parameters within the batch glutathione fermentation under different temperatures

Parameters	T/°C				
	32	30	28	26	24
Initial glucose concentration($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	28.9	28.6	28.0	28.6	28.6
Residual glucose concentration($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	0.2	0.2	0.2	0.3	0.3
(NH_4) ₂ SO ₄ consumption($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	4.8	4.8	5.1	5.2	5.0
Culture time/h	24	26	28	30	32
Dry cell weight($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	15.8	15.2	16.1	16.0	16.6
Glutathione production($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	235	312	343	366	353
Intracellular glutathione content/%	1.5	2.1	2.1	2.3	2.1
Glucose consumption rate($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$)	2.05	1.78	1.74	1.58	1.42
Average specific glucose consumption rate(h^{-1})	0.22	0.20	0.19	0.20	0.19
Average specific growth rate(h^{-1})	0.12	0.13	0.10	0.10	0.10
Average specific glutathione production rate($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$)	1.4	2.1	1.8	1.9	1.9
Biomass yield on glucose($\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	0.55	0.53	0.58	0.56	0.58
Glutathione yield on glucose($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)	8.2	11.0	12.3	12.9	12.5
Biomass productivity($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$)	0.66	0.58	0.58	0.53	0.52
Glutathione productivity($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$)	9.8	12.0	12.2	12.2	11.0

2.2 细胞生长动力学模型及其参数估计

微生物细胞生长动力学可由很多模型来进行描述,其中 Monod 及 Logistic 方程最为简单和常用^[12]。Monod 方程主要用来描述非抑制性单一底物限制情形下的细胞生长,事实上在间歇发酵过程中,菌体浓度的增加对自身生长也会产生抑制作用,此时细胞的生长可以用 Logistic 方程较好地进行描述。考虑到较高浓度底物对 *C. utilis* WSH 02-08 生长的部分抑制作用(数据未列出),对 Logistic 方程进行改进,形式如下^[9]:

$$\frac{dX}{dt} = \mu_{\max} X \left(1 - \frac{X}{X_{\max}} \right) \left(\frac{1}{1 + S/K_i} \right) \quad (1)$$

其中 μ_{\max} 为最大比生长速率, X_{\max} 为理论最大细胞干重, K_i 为底物抑制常数。

对图 1(A 和 B)中的数据按式(1)进行非线性曲线拟合,得到不同温度下的细胞生长动力学参数,如表 2。从相关性系数 R^2 的结果可以看出,该模型对于不同温度下细胞生长的模拟均具有很好的适用性。

2.3 GSH 合成动力学模型及其参数估计

微生物的产物形成非常复杂,从产物形成与细胞生长的关系出发, Gaden^[13]将产物形成分为 3 种类型(Ⅰ)产物形成与细胞生长相耦联(Ⅱ)产物形成与细胞生长部分耦联;

表 2 不同温度下细胞生长动力学参数模拟结果

Table 2 Kinetic parameters of cell growth estimated under different temperatures

T/°C	X_{\max} ($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	μ_{\max} (h^{-1})	K_i ($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	R^2 value
24	16.3	0.34	25.0	0.999
26	16.2	0.37	25.8	0.999
28	16.0	0.45	26.4	0.998
30	15.1	0.51	32.6	0.998
32	15.6	0.57	34.3	0.997

(Ⅲ)产物形成与细胞生长没有联系。Luedeking 等人^[14]对此进行了总结,得到著名的 Luedeking-Piret 方程:

$$\frac{dP}{dt} = \alpha \frac{dX}{dt} + \beta X \quad (2)$$

式中 $\alpha \neq 0, \beta = 0$ 表示 I 类发酵; $\alpha \neq 0, \beta \neq 0$ 表示 II 类发酵; $\alpha = 0, \beta \neq 0$ 则表示 III 类发酵。

根据图 1(B 和 C)的数据,按式(2)进行非线性曲线拟合与估计,结果如表 3。由此可见, *C. utilis* WSH 02-08 在不同温度下分批发酵生产 GSH 的过程属于 II 类发酵,即 GSH 合成与细胞生长部分耦联。由于 GSH 是胞内代谢产物,因此提高生物量对进一步增加 GSH 的产量将是非常有利的。

表 3 不同温度下 GSH 合成动力学参数模拟结果

Table 3 Kinetic parameters of GSH production estimated under different temperatures

$T/^\circ\text{C}$	α	β	R^2 value
24	0.0144	0.00037	0.94
26	0.0138	0.00048	0.94
28	0.0131	0.00044	0.94
30	0.0126	0.00048	0.92
32	0.0079	0.00044	0.96

2.4 温度与细胞生长动力学参数的关系

温度作为微生物培养过程中的关键参数之一,对细胞生长动力学有着重要的影响。二者之间的关系,已有许多模型^[15]可以用来进行模拟,其中最为简单和常用的有 Arrhenius 模型、Ratkowsky 模型和 Hinshelwood 模型。将三种模型运用于 *C. utilis* WSH 02-08 细胞生长中,则细胞生长动力学参数 μ_{\max} 和 K_1 可以用表 4 中所列的形式表示出来。应用表 2 中所得到的动力学数据对这些模型中的参数进行拟合与估计,结果如表 5。

表 4 温度与细胞生长动力学参数关系及模型表示

Table 4 The relationship of temperature and cell growth kinetic parameters

Models	Parameters	Equations	Formula
Arrhenius model (A)	μ_{\max}	$\mu_{\max} = A \exp(-Ea/RT)$	(3)
	K_1	$K_1 = A_1 \exp(-Ea_1/RT)$	(4)
Ratkowsky model (R)	μ_{\max}	$\mu_{\max} = [K(T - T_{\min})]^2$	(5)
	K_1	$K_1 = [B(T - T_{\min})]^2$	(6)
Hinshelwood model (H)	μ_{\max}	$\mu_{\max} = k_1 \exp(-\frac{E_1}{RT}) - k_2 \exp(-\frac{E_2}{RT})$	(7)
	K_1	$K_1 = k_1 \exp(-\frac{E_{11}}{RT}) - k_2 \exp(-\frac{E_{21}}{RT})$	(8)

表 5 模型参数拟合与估计结果

Table 5 Results of the parameters estimated from the models

Parameters	Estimated								R^2 value	Formula
	Model A		Model R		Model H					
	A^a	Ea^b	B^c	T_{\min}^d	K_1^a	K_2^a	E_1^b	E_2^b		
μ_{\max}	258	50.5							0.996	(3)
			0.0224	-1.7					0.996	(5)
					-15.98	-25.82	699.1	50.54	0.996	(7)
K_1	8.26	31.5							0.976	(4)
			0.1107	-20.3					0.972	(6)
					1.43	-2.19	330.5	33.91	0.943	(8)

^a The unit of A , K_1 and K_2 is 10^6h^{-1} ; ^b The unit of Ea , K_1 and K_2 is $\text{kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$; ^c The unit of B is $\text{K}^{-1} \cdot \text{h}^{-0.5}$; ^d The unit of T_{\min} is $^\circ\text{C}$; Model A, R and H are representative of Arrhenius model, Ratkowsky model and Hinshelwood model.

由此可见,这三种模型都能很好地表示在 24~32 $^\circ\text{C}$ 范围内 μ_{\max} 随温度变化的趋势,同时也可近似表示 K_1 与温度之间的内在联系。结合具体的实验结果,发现 Ratkowsky 模型更接近于 μ_{\max} 的理论值,而 Arrhenius 模型则更加适合于用来描述 K_1 与温度的关系。因此,不同温度和葡萄糖浓度下, *C. utilis* WSH 02-08 间歇发酵生产 GSH 过程中细胞的生长情况,可以用式(9)来进行描述:

$$\frac{dX}{dt} = \frac{[0.0224(T + 1.7)]X(1 - X/X_{\max})}{1 + S/[8.26 \times 10^6 \times \exp(-31477/R(T + 273))]} \quad (9)$$

为了验证式(9)在 24~32 $^\circ\text{C}$ 范围内的适用性,将式(9)积分得到细胞浓度与温度及底物浓度之间的关系曲线,然后再与不同温度或底物浓度条件下的实验结果进行比较。图 2(A、B)表示的分别是 29 $^\circ\text{C}$ 、初糖浓度 28.3 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 30 $^\circ\text{C}$ 、初糖浓度 33.2 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 条件下 *C. utilis* WSH 02-08 细胞干重的实验值和式(9)预测值的比较结果。由此可见,除了细胞生长延滞期的数据偏差较大外,模型的相对偏差都小于 5%,因此可以认为,式(9)能够很好地描述 24~32 $^\circ\text{C}$ 范围内 *C. utilis* WSH 02-08 细胞的生长情况。

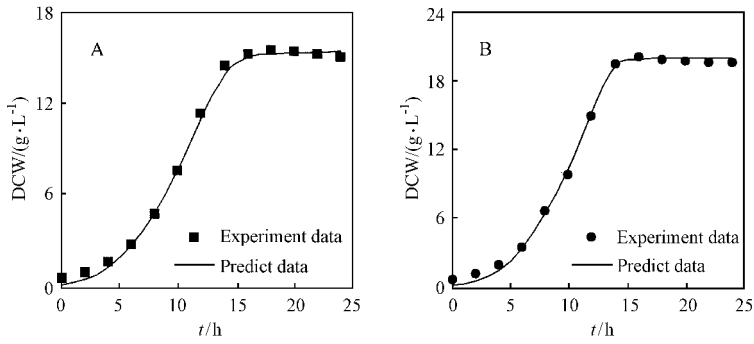


图2 *C. utilis* WSH 02-08 细胞生长动力学模型的验证

Fig.2 Comparison of the results predicted by the cell growth kinetic model with the experimental results

A. Temperature 29°C, initial glucose concentration 28.3 g/L; B. Temperature 30°C, initial glucose concentration 33.2 g/L

3 结 论

C. utilis WSH 02-08 间歇发酵生产 GSH 过程中, 相对较高的温度可以促进细胞生长, 而较低温度则对 GSH 的合成更为有利。运用改进的 Logistic 方程对发酵过程进行模拟, 得到不同温度下的细胞生长动力学参数, 其中 μ_{\max} 和 K_1 都随着温度的升高而增加, 表现出较高温度可以适当降低底物对细胞生长的抑制作用。Luedeking-Piret 方程对 GSH 生产过程的模拟结果显示 GSH 合成与细胞生长呈现部分相耦联关系。采用 Arrhenius 方程、Ratkowsky 方程和 Hinshelwood 方程等三种模型对细胞生长动力学参数进行拟合估计, 得出在 24 ~ 32°C 范围内细胞生长同温度以及底物浓度之间的一般关系式。实验验证结果表明, 该模型具有很好的适用性, 为 *C. utilis* 发酵生产 GSH 过程中细胞生长情况的预测及控制提供了理论依据。

综上所述, 在整个间歇发酵过程中控制单一的温度很难实现促进细胞生长和增加 GSH 合成的统一。为了进一步提高 GSH 的生产量, 需要采用一定的温度控制策略, 这也是本文下一步需要研究的内容。

REFERENCES (参考文献)

- [1] Meister A, Anderson M E. Glutathione. *Ann Rev Biochem*, 1983, **52**: 711 - 760
- [2] Meister A. Antioxidant functions of glutathione. *Life Chem Rep*, 1994, **12**(1): 23 - 27
- [3] Cooper A J L, Kristal B S. Multiple roles of glutathione in the central nervous system. *Biol Chem*, 1997, **378**(8): 793 - 802
- [4] Penninckx M. A short review on the role of glutathione in the response of yeast to nutritional, environmental, and oxidative stresses. *Enzyme Microb Technol*, 2000, **26**(9 - 10): 737 - 742
- [5] LIN J F (林金萍), LI H X (李华钟), LI Y (李寅) *et al.* Biosynthesis of glutathione. *Chinese Journal of Pharmaceuticals* (中国医药

工业杂志), 2000, **31**(5): 236 - 239

- [6] WU J H (吴坚平), LIN J F (林建平), CEN P H (岑沛霖). The effects of culture conditions on production of glutathione by *Candida utilis*. *Chemical Reaction Engineering and Technology* (化学反应工程与工艺), 2001, **17**(1): 89 - 93
- [7] Li Y, Chen J, Mao Y Y, Lun S Y. Effect of additives and fed-batch culture strategies on the production of glutathione by recombinant *Escherichia coli*. *Process Biochem*, 1998, **33**(7): 709 - 714
- [8] Alfafara C G, Miura K, Shimizu H *et al.* Cysteine addition strategy for maximum glutathione production in fed-batch culture of *Saccharomyces cerevisiae*. *Appl Microbiol Biotechnol*, 1992, **37**: 141 - 146
- [9] CHEN J (陈坚), LI Y (李寅). Principles and Practice of Fermentation Process Optimization. Beijing: Chemical Industry Press (化学工业出版社), 2002
- [10] WEI G Y (卫功元), LI Y (李寅), DU G C (堵国成) *et al.* Studies on the fermentation conditions of glutathione by *Candida utilis*. *Chinese Journal of Applied and Environmental Biology* (应用与环境生物学报), 2003, accepted
- [11] Tietze F. Enzymic method for quantitative determination of nanogram amounts of total and oxidized glutathione: application to mammalian blood and other tissues. *Anal Biochem*, 1969, **27**: 502 - 522
- [12] Bailey J E, Ollis D F. Biochemical engineering fundamentals. 2nd ed, New York: McGraw-Hill Book Company, 1986, pp. 382 - 408
- [13] Gaden E L Jr. Fermentation process kinetics. *J Biochem Microbiol Technol Eng*, 1960, **2**: 413 - 429
- [14] Luedeking R, Piret E L. A kinetic study of the lactic acid fermentation: batch process at controlled pH. *J Biochem Microbiol Technol Eng*, 1960, **2**: 393 - 412
- [15] Zwietering M H, Koos J T, Hasenack B E *et al.* Modeling of bacterial growth as a function of temperature. *Appl Environ Microbiol*, 1991, **57**(4): 1094 - 1101

Kinetic Models for the Effect of Temperature on Batch Glutathione Fermentation by *Candida utilis*

WEI Gong-Yuan LI Yin DU Guo-Cheng CHEN Jian*

(Key Laboratory of Industrial Biotechnology , Ministry of Education , Southern Yangtze University , Wuxi 214036 , China)

Abstract Glutathione (L- γ -glutamyl-L-cysteinylglycine), one of the major non-protein thiol compounds , is widely distributed in living cells and plays an important role in maintaining the normal redox environment of cells as an antioxidant . In the production of glutathione by fermentation , temperature is one of the most important environmental factors that affect the yield and the productivity of glutathione . Here the effect of temperature , varied from 24 °C to 32 °C , on the batch fermentation of glutathione in a 7 L stirred fermenter by *Candida utilis* WSH 02-08 was investigated . It was found that cell growth was hastened along with the increase of temperature . The maximum dry cell weight was achieved approximately 16 g/L under various temperatures , as soon as the glucose was exhausted . The effect of temperature on glutathione production was different from that on cell growth : the lower the temperature , the higher the glutathione production , *i. e.* the maximum glutathione concentration at 32 °C (235 mg/L) was only 75% and 64% of that at 30 °C and 26 °C , respectively . The maximum average specific growth rate (0.13 h⁻¹) was achieved at 30 °C while the maximum glutathione concentration (366 mg · L⁻¹) and the maximum intracellular glutathione content (2.3%) were obtained at 26 °C . Therefore , the optimum temperatures for cell growth and glutathione production are quite different in the batch fermentation . A modified Logistic equation was successfully applied to estimate the kinetics of cell growth . The maximum specific growth rate and the substrate inhibition constant , calculated from this equation , were both increased along with the temperature . In addition , the glutathione fermentation by *C. utilis* WSH 02-08 under various temperatures was proven to be a partial growth-associated process by estimating the process with the Luedeking-Piret equation . Based on the estimated parameters , the effect of temperature on the kinetics of cell growth was further studied . An equation , $\frac{dX}{dt} = \frac{[0.0224(T + 1.7)]^2 X(1 - X/X_{\max})}{1 + S/\{8.26 \times 10^6 \times \exp[-31477/RT(T + 273)]\}}$, was developed and applied to interlink the relationship between biomass concentration and temperature as well as substrate concentration in the batch glutathione fermentation . The experiment results showed that this model could predict the growth pattern very well .

Key words glutathione , *Candida utilis* , batch fermentation , temperature , kinetic model

Received : 01-13-2003

This work was supported by the Teaching and Research Award Program for Outstanding Young Professors in High Education Institute , MOE , P. R. C. (TRAPOYP) .

* Corresponding author . Tel : 86-510-5868439 ; Fax : 86-510-5888301 ; E-mail : jchen@sytu.edu.cn

© 中国科学院微生物研究所期刊联合编辑部 <http://journals.im.ac.cn>