

猪干扰素- γ 基因在毕赤酵母中的分泌表达

Secreted Expression of Porcine Interferon-gamma Gene in *Pichia pastoris*

黄志清¹ 胡宏宇¹ 陈小玲² 任立明¹ 林爱星^{1*} 陈永福¹

HUANG Zhi-Qing¹, HU Hong-Yu¹, CHEN Xiao-Ling², REN Li-Ming¹, LIN Ai-Xing^{1*} and CHEN Yong-Fu¹

1. 中国农业大学农业生物技术国家重点实验室, 生物学院, 北京 100094

2. 中国农业大学动物科技学院, 北京 100094

1. National Laboratory for Agrobiotechnology, College of Biology Science, China Agricultural University, Beijing 100094, China

2. College of Animal Science and Technology, China Agricultural University, Beijing 100094, China

摘要 将去除信号肽的猪干扰素- γ (*PoIFN- γ*) 基因置于酿酒酵母 α 因子分泌信号的 DNA 序列后, 构建成 pPIC9K- α -*PoIFN- γ* 分泌型重组表达载体, 电转化导入毕赤酵母 GS115 中, 经 G418 筛选后获得 2 株多拷贝插入的重组子。SDS-PAGE 和 Western blot 分析结果表明, 所获得的重组子能够分泌表达出 17kD 和 23kD 左右的 *PoIFN- γ* 特异蛋白, 其表达量为 108mg/L, 占培养液总蛋白的 60%。实验首次在毕赤酵母表达系统中实现了 *PoIFN- γ* 基因的分泌表达。

关键词 猪干扰素- γ , 毕赤酵母, 分泌表达

中图分类号 Q786 文献标识码 A 文章编号 1000-306X(2005)05-0731-06

Abstract The porcine interferon-gamma (*PoIFN- γ*) gene, in which the sequence encoding signal peptide was replaced by that of the α -factor of *Saccharomyces cerevisiae*, was cloned into *Pichia pastoris* expression vector pPIC9K. The recombinant plasmid pPIC9K- α -*PoIFN- γ* was then transformed into *Pichia pastoris* GS115 cells by electroporation and stable multicopy recombinant *Pichia pastoris* strains were selected by G418 resistance. Two recombinants of multiple inserts were obtained. SDS-PAGE and Western blot assays of culture broth from a methanol-induced expression strain demonstrated that recombinant *PoIFN- γ* , 17kD and 23kD proteins, were secreted into the culture medium. Target proteins, 60% of total proteins, were obtained in the culture medium at the concentration of 108mg/L. This is the first secreted expression of porcine interferon-gamma gene in *Pichia pastoris*.

Key words porcine interferon-gamma, *Pichia pastoris*, secreted expression

干扰素- γ (interferon- γ , IFN- γ) 是由激活的 T 细胞和 NK 细胞产生、具有抗病毒和免疫调节功能的细胞因子^[1]。猪干扰素- γ 全基因为 501 个碱基, 编

码 166 个氨基酸, 前 20 个氨基酸为信号肽, 后 146 个氨基酸为成熟多肽, 含有 2 个糖基化位点^[2]。研究表明, 猪干扰素- γ 具有高效抗病毒和免疫调节作

用^[3-5]。

1990年,Dijkmans等^[2]首先对PoIFN- γ 基因进行了研究。迄今为止,猪干扰素- γ 基因已在大肠杆菌^[6]、昆虫细胞^[7]、兔肾细胞^[8]中获得了表达。虽然大肠杆菌生长快,培养基廉价,但所表达的外源蛋白难以进行翻译后的修饰和加工。而昆虫和哺乳动物细胞表达的外源蛋白虽能够得到良好的蛋白质翻译后修饰和加工,但其纯化难度大且成本高^[9]。毕赤酵母表达系统作为近年来发展迅速、应用广泛的一种真核表达系统,具有许多优点:可严格调控外源基因的表达、表达产物可得到正确的翻译后修饰和加工以及易于进行培养和操作^[10]。

分泌表达是一种理想的蛋白质生产方式,但目前在国内尚未见到猪干扰素- γ 基因在毕赤酵母表达系统中获得分泌表达的报道。2002年,万建青等^[11]将猪干扰素- γ 基因克隆到毕赤酵母分泌表达载体pHIL-S1中,导入到宿主菌GS115后,仅在胞内检测到PoIFN- γ ,没有成功实现分泌表达。为了更好地利用基因工程技术来开发重组猪干扰素- γ 制剂,本研究利用 α 因子分泌信号的DNA序列(不含编码C端4个氨基酸的序列,以下简称 α 序列)构建成能精确表达PoIFN- γ 的毕赤酵母重组表达载体,以便获得高表达的分泌型PoIFN- γ 蛋白,为进一步研究其功能打下基础。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 质粒载体及菌株:毕赤酵母表达载体pPIC9K、质粒pBV220-PoIFN- γ 、大肠杆菌(*Escherichia coli*)菌株DH5 α 均为本实验室保存。酵母菌株GS115由中国农业大学动物医学院史喜菊博士惠赠。

1.1.2 酶及主要试剂:限制酶、T4噬菌体DNA连接酶购自TaKaRa,Pfu DNA聚合酶、dNTPs购自北京天为时代科技有限公司,G418硫酸盐、YNB为Genview公司产品,Peptone-Y为BBI公司产品,一抗(Anti-Pig IFN γ Polyclonal)为ENDOGEN公司产品。

1.1.3 培养基:LB培养基按参考文献^[12]配制,YPD、MD、BMGY、BMMY培养基均按参考文献^[13]配制。

1.1.4 引物:由上海博亚生物技术有限公司合成:PCR扩增 α 序列的引物设计(不含编码Glu-Ala-Glu-Ala的序列,见讨论部分):

Primer I:

5'-CGCGGATCCAAACGATGAGAT-3' 引物中含有BamH I酶切位点;

Primer II:

5'-TAG CTCGAGAGATACCCCTTC-3' 引物中含有Xho I酶切位点;

PCR扩增PoIFN- γ cDNA基因的引物设计(不含编码信号肽的序列):

Primer III:

5'-TAT CTCGAGAAAAGATCTTACTGCCAGGCGC-3' 引物中含有Xho I、Bgl II酶切位点(AGATCT,其中TCT为PoIFN- γ 成熟多肽第一个氨基酸的密码子)

Primer IV:

5'-GGCGAATTCCTATTTTIGATGCTCTCTGG-3'

引物中含有EcoR I酶切位点。

1.2 方法

1.2.1 PCR扩增 α 序列及PoIFN- γ cDNA基因:以Primer I、Primer II为引物,pPIC9K为模板,通过PCR扩增 α 序列。以Primer III、Primer IV为引物,本实验室保存的含猪干扰素- γ cDNA基因的质粒pBV220-PoIFN- γ 为模板,通过PCR扩增不含编码信号肽的PoIFN- γ cDNA基因。PCR扩增条件均为95 $^{\circ}$ C预变性5min,然后进行94 $^{\circ}$ C 30s,55 $^{\circ}$ C 30s,72 $^{\circ}$ C 1.5min,共30个循环,最后再72 $^{\circ}$ C延伸10min。

1.2.2 重组表达载体pPIC9K- α -PoIFN- γ 的构建: α 序列的PCR产物用BamH I和Xho I进行双酶切,PoIFN- γ cDNA基因的PCR产物用Xho I和EcoR I进行双酶切,pPIC9K载体用BamH I和EcoR I进行双酶切,上述3个酶切产物经T4噬菌体DNA连接酶连接后,转化到大肠杆菌菌株DH5 α 中,少量提取质粒,经酶切鉴定后送往上海博亚生物技术有限公司进行DNA序列测定。

1.2.3 重组表达载体导入到宿主菌GS115中:重组表达载体pPIC9K- α -PoIFN- γ 经Sal I线性化后,采用电转化方法导入到毕赤酵母菌株GS115中。电转化操作过程根据Invitrogen公司Multi-Copy Pichia Expression Kit进行。电转化后立即涂布于MD平板,倒置,于30 $^{\circ}$ C培养2~3d。

1.2.4 多拷贝插入重组子的筛选:经MD平板初步筛选的转化子在含有不同浓度G418(0.5mg/mL、1.0mg/mL、2.0mg/mL、4.0mg/mL)的YPD平板上筛选目的基因多拷贝插入的重组子。具体操作按Invitrogen公司Multi-Copy Pichia Expression Kit进行。

1.2.5 重组子的PCR鉴定:以基因组DNA为模板,Primer III、Primer IV为引物,对G418不同抗性的重组

子进行 PCR 鉴定。毕赤酵母基因组 DNA 的提取按照 Invitrogen 公司 Multi-Copy *Pichia* Expression Kit 进行。

1.2.6 重组酵母的诱导表达 :分别挑选多拷贝插入重组酵母单菌落,置于装有 10mL BMGY 培养基的 50mL 三角瓶中,于 30 $^{\circ}$ C 250r/min 培养至 OD_{600} 为 4.0 时,室温下 1500g 离心 5min 收集菌体,用 40mL BMMY 培养基重悬菌体并移置于 150mL 三角瓶中,双层纱布封口,于 30 $^{\circ}$ C 250r/min 诱导表达 96h,每 24h 向培养基中添加无水甲醇至终浓度为 1%。实验对照是转化空载体 pPIC9K 的酵母菌株 GS115 和单拷贝插入的重组酵母。

1.2.7 表达产物的 SDS-PAGE、Western blot 分析 :诱导 96h 后,常温 12000r/min 离心 10min,上清液经 75% 硫酸铵 4 $^{\circ}$ C 沉淀过夜,PBS(pH7.4)透析 24h 后,进行 SDS-PAGE、Western blot 分析,具体操作按参考文献 [12] 进行。Western blot 所用一抗为 Anti-Pig IFN γ Polyclonal,二抗为辣根过氧化物酶标记的羊抗兔 IgG。

2 结果

2.1 α 序列及 *PoIFN- γ* cDNA 基因的 PCR 扩增

不含编码 Glu-Ala-Glu-Ala 的 α 序列,其大小为 255bp。不含编码信号肽序列的 *PoIFN- γ* cDNA 基因,其大小为 441bp。PCR 产物经 1% 琼脂糖凝胶电泳检测,分别在 200 ~ 300bp(图 1)和 400 ~ 500bp(图 2)的位置出现一特异性条带,与理论大小相符。

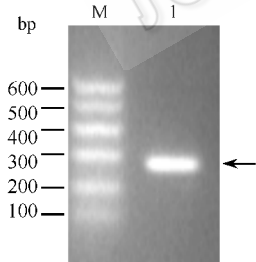


图 1 α 序列的 PCR 扩增

Fig. 1 Electrophoresis of PCR products of α sequence

M : DNA marker ; 1 : PCR products.

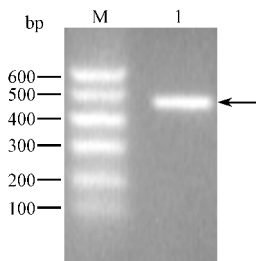


图 2 *PoIFN- γ* cDNA 基因的 PCR 扩增

Fig. 2 Electrophoresis of PCR products of *PoIFN- γ* cDNA gene

M : DNA marker ; 1 : PCR products.

2.2 重组表达载体 pPIC9K- α -*PoIFN- γ* 的构建及鉴定

构建好的重组表达载体 pPIC9K- α -*PoIFN- γ* 如图 3 所示。

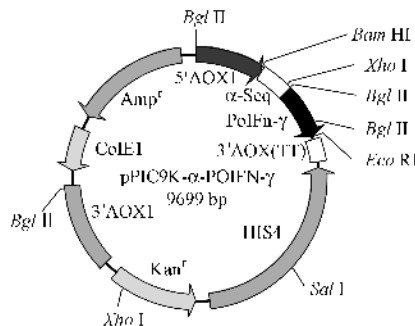


图 3 重组表达载体 pPIC9K- α -*PoIFN- γ* 的构建

Fig. 3 Construction of recombinant expression vector pPIC9K- α -*PoIFN- γ*

重组表达载体用 *Bam*H I 或 *Eco*R I 进行酶切鉴定时应能切出 9699bp 大小的一条带;用 *Bam*H I 和 *Eco*R I 进行双酶切鉴定时应出现两条带,分别为 707bp 和 8992bp;用 *Bgl* II 进行酶切鉴定时应出现 4 条带,分别为 378bp、1200bp、2403bp 和 5718bp。酶切鉴定结果表明连接正确(图 4)。进一步的测序结果表明所构建的载体完全正确(测序数据略)。

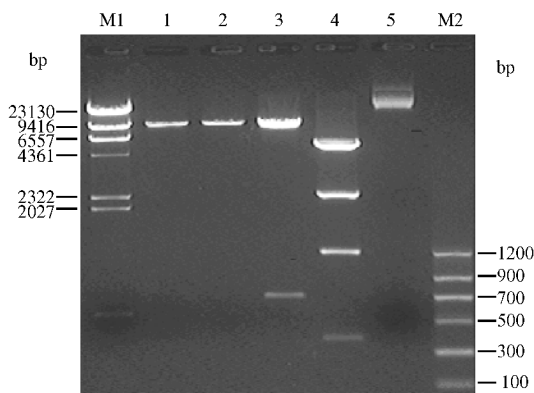


图 4 重组质粒 pPIC9K- α -*PoIFN- γ* 的酶切鉴定

Fig. 4 Characterization of pPIC9K- α -*PoIFN- γ* digested by *Bam*H I / *Eco*R I / *Bgl* II

M1 M2 : DNA marker ; 1 : pPIC9K- α -*PoIFN- γ* digested by *Bam*H I ; 2 : pPIC9K- α -*PoIFN- γ* digested by *Eco*R I ; 3 : pPIC9K- α -*PoIFN- γ* digested by *Bam*H I and *Eco*R I ; 4 : pPIC9K- α -*PoIFN- γ* digested by *Bgl* II ; 5 : pPIC9K- α -*PoIFN- γ* plasmid.

2.3 电转化及多拷贝插入重组子的筛选

重组表达载体 pPIC9K- α -*PoIFN- γ* 经 *Sal* I 线性

化,电转化导入毕赤酵母菌株 GS115 后,通过 MD 平板初步筛选获得了约 600 个转化子。进一步通过不同 G418 浓度的 YPD 平板(0.5mg/mL、1.0mg/mL、2.0mg/mL、4.0mg/mL)筛选多拷贝插入的重组子,在 4.0mg/mL G418 的 YPD 平板上获得 2 个高抗菌株(实验数据略),分别命名为 H2 和 H3。

2.4 重组子的 PCR 鉴定

以基因组 DNA 为模板,Primer III、Primer IV 为引物,对 G418 不同抗性的重组子进行 PCR 鉴定,扩增产物电泳显示在 400~500bp 之间均有一特异性条带,而阴性对照没有相应的条带(图 5),结果表明 PoIFN- γ 成熟多肽基因成功整合到宿主菌的基因组 DNA 中。

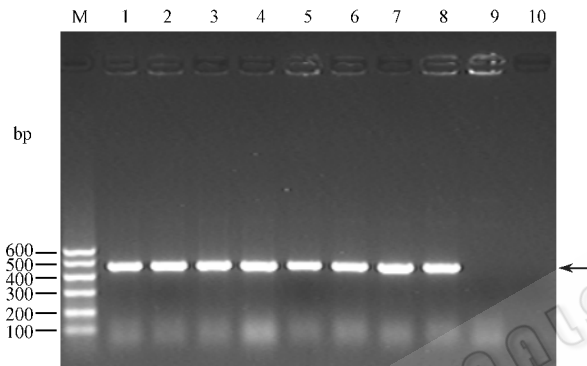


图 5 重组子的 PCR 鉴定

Fig.5 Identification of recombinant by PCR

M: DNA marker; 1~8: total DNA/template from recombinant with different G418 resistance; 9: control(-) total DNA/template from pPIC9K-GS115; 10: control(-) ddH₂O/template.

2.5 诱导表达及其产物的 SDS-PAGE、Western blot 分析

两株多拷贝插入的重组子(H2 和 H3)经甲醇诱导表达 96h 后,离心取上清用 75% 硫酸铵 4℃ 沉淀过夜,再用 PBS(pH7.4)透析 24h,然后通过 15% 的分离胶进行 SDS-PAGE 分析。电泳结果在 17kD 和 23kD 左右处有蛋白带出现,而对照酵母未出现相应的蛋白带(图 6)。SDS-PAGE 结果用 Quantity One-4.5.0 软件分析表明,目的蛋白占总蛋白的 60%,表达量达到 108mg/L。进一步的 Western blot 分析显示,17kD 和 23kD 产物为特异的猪干扰素- γ 蛋白带(图 7)。由此表明,猪干扰素- γ 基因在毕赤酵母中成功实现了分泌表达。

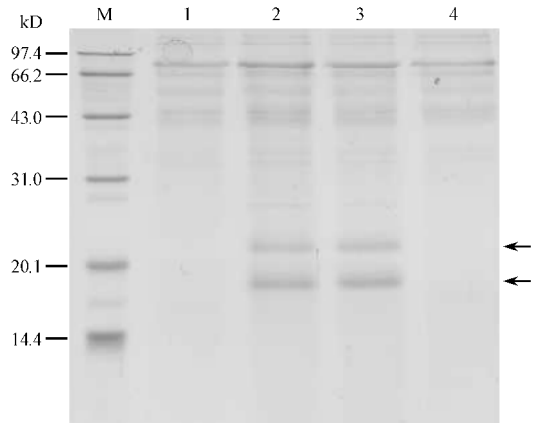


图 6 SDS-PAGE 分析 PoIFN- γ 基因在毕赤酵母 GS115 中的分泌表达

Fig. 6 SDS-PAGE analysis of culture broth of PoIFN- γ gene expressed in *P. pastoris* GS115

M: low molecular weight protein standard; 1: recombinant of single copy insert induced for 96h; 2: multiple inserts recombinant (H2) induced for 96h; 3: multiple inserts recombinant (H3) induced for 96h; 4: control (-) pPIC9K-GS115 induced for 96h.

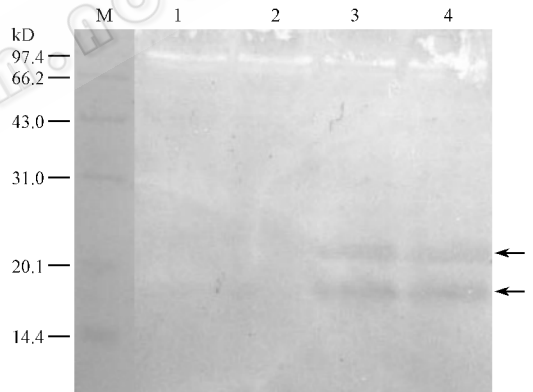


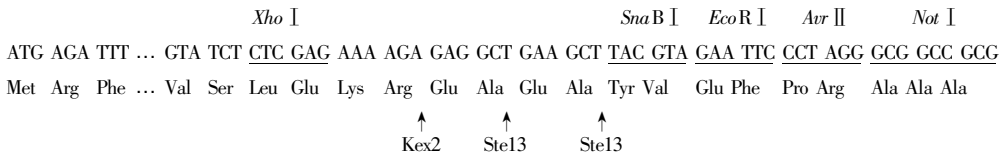
图 7 Western blot 分析 PoIFN- γ 基因在毕赤酵母 GS115 中的分泌表达

Fig.7 Western blot analysis of culture broth of PoIFN- γ gene expressed in *P. pastoris* GS115

M: low molecular weight protein standard; 1: recombinant of single copy insert induced for 96h; 2: control (-) pPIC9K-GS115 induced for 96h; 3: multiple inserts recombinant (H2) induced for 96h; 4: multiple inserts recombinant (H3) induced for 96h.

3 讨论

α 因子分泌信号是由信号肽(N 端约 20 个氨基酸)前导区(约 60 个氨基酸)和信息素(C 端 6 个氨基酸 -Lys-Arg-Glu-Ala-Glu-Ala-)三部分组成^[14]。以下是 pPIC9K 载体上多克隆位点和 α 因子分泌信号的部分序列:



α 因子分泌信号已成功引导了许多蛋白的分泌表达^[15-17]。蛋白分泌后，α 因子分泌信号被切除，这是由信号肽酶、Kex2 和 Ste13 蛋白酶来完成^[14,18]。Kex2 在-Lys-Arg-*Glu-Ala-Glu-Ala-部位进行切割，Glu-Ala-Glu-Ala 并非 Kex2 发生切割作用所必需，但其存在可以增强切割效率。随后，Ste13 进一步在 Glu-Ala-*Glu-Ala-* 部位进行切割，但并非总是有效。这样，外源基因直接插入到 pPIC9K 载体的多克隆位点，表达产物 N 端将额外增加 1~12 个氨基酸。

Goda 等^[19]研究表明，外源蛋白 N 端额外多出的氨基酸残基会影响所表达蛋白的构象。另有研究表明，外源蛋白 N 端第一个氨基酸紧临 Lys-Arg 之后，这样的 α 因子分泌信号也能成功引导外源蛋白分泌至胞外，且随后被信号肽酶和 Kex2 蛋白酶切除^[20]。因此，本研究中将 PoIFN-γ 成熟多肽基因 cDNA 片段置于 α-序列后所构建的 pPIC9K-α-PoIFN-γ 表达载体，将能保证 PoIFN-γ 基因在毕赤酵母分泌表达产物的氨基酸序列与天然 PoIFN-γ 成熟多肽的氨基酸序列 100% 同源。

PoIFN-γ 成熟多肽的相对分子量为 17kD。本研究分泌表达产物除了在预期的 17kD 大小位置出现特异蛋白带外，在 23kD 左右也出现特异蛋白带，其原因可能是：虽然 α 因子分泌信号在分泌后其信号肽被切除，但其前导区（约 60 个氨基酸，6.5kD 左右）未被 Kex2 酶切除。进一步的证实需通过 N 端氨基酸测序。

我们对本实验的分泌表达产物进行了活性检测，在中国兽医药品监察所检测技术研究室进行的抗病毒活性实验结果表明，该表达产物能够很好地保护猪肾细胞（PK-15 株）免受猪痘病毒 HCV（石门系）的感染。进一步将采用其它系统确定重组猪干扰素-γ 的效价，以及研究其对活体猪的免疫保护作用，有关研究资料将另文发表。

本研究首次在毕赤酵母表达系统中以分泌形式表达出重组猪干扰素-γ，为利用基因工程手段开发猪干扰素-γ 制剂打下了良好的基础。

REFERENCES (参考文献)

[1] Muller U , Steinhoff U , Reis LF *et al.* Functional role of type I and type II interferons in antiviral defense. *Science*, 1994 , **264** :1918 - 1927

[2] Roger D , Koen V , Erik B *et al.* Sequence of the porcine interferon-γ (IFN-γ) gene. *Nucleic Acids Research* , 1990 , **18** (14) :2529

[3] Bautista EM , Molitor TW. IFN-γ inhibits porcine reproductive and respiratory syndrome virus replication in macrophages. *Arch Virol* , 1999 , **144** :1191 - 1200

[4] Rowland RR , Robinson B , Stefanick J *et al.* Inhibition of porcine reproductive and respiratory syndrome virus by interferon-γ and recovery of virus replication with 2-aminopurine. *Archives of Virology* , 2001 , **146** (3) :539 - 555

[5] Suradhat S , Sanipa M , Intrakamhaeng S *et al.* The correlation of virus-specific interferon-γ production and protection against classical swine fever virus infection. *Immunology and Immunopathology* , 2001 , **83** (3-4) :177 - 189

[6] Vandebroec K , Dijkmans R , van Aerschot A *et al.* Engineering by PCR-based exon amplification of the genomic porcine interferon-γ DNA for expression in *Escherichia coli*. *Biochem Biophys Res Commun* , 1991 , **180** (3) :1408 - 1415

[7] Vandebroec K , Willems L , Billiau A *et al.* Glycoform heterogeneity of porcine interferon-γ expressed in Sf9 cells. *Lymphokine and Cytokine Research* , 1994 , **13** (4) :253 - 258

[8] Cencic A , Lefevre F , Koren S *et al.* Tetracycline controlled expression of glycosylated porcine interferon γ in mammalian cells. *Animal Biotechnology* , 1999 , **10** (1-2) :63 - 79

[9] Tae-Kang Kim , Rundong Zhang , Wenke Feng *et al.* Expression and characterization of human CB1 cannabinoid receptor in methylotrophic yeast *Pichia pastoris*. *Protein Expression and Purification* , 2005 , **40** (1) :60 - 70

[10] Cereghino JL , Cregg JM. Heterologous protein expression in the methylotrophic yeast *Pichia pastoris*. *FEMS Microbiol Rev* , 2000 , **24** (1) :45 - 66

[11] Wan JQ (万建青) , Wu WX (吴文学) , Xia C (夏春) . Expression of porcine interferon-γ gene in *Pichia pastoris* and its effect of inhibiting porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Chinese Journal of Biotechnology* (生物工程学报) , 2002 , **18** (6) :683 - 686

[12] Sambrook J , Fritsch EF , Maniatis T. *Molecular Cloning : A Laboratory Manual*. 2nd ed , New York : Cold Spring Harbor Laboratory Press , 1989

[13] Invitrogen , Multi-Copy *Pichia* Expression Kit , Version D : pp57-61

[14] Julius D , Brack A , Blair L *et al.* Isolation of the putative structural gene for the lysine-arginine-cleaving endopeptidase required for processing of yeast prepro-α-factor. *Cell* , 1984 , **37** :1075 - 1089

[15] Zhu M , Cheng J , Hua ZC. Expression of kringle 5 domain of human plasminogen in *Pichia pastoris*. *Prep Biochem Biotechnol* , 2003 (53) :269 - 281

- [16] Laborde C , Chemardin P , Bigey F *et al.* Overexpression of ovine leptin in *Pichia pastoris* : physiological yeast response to leptin production and characterization of the recombinant hormone. *Yeast* , 2004 , **21**(3) 249 – 263
- [17] Wendeler M , Hoernschemeyer J , John M *et al.* Expression of the GM2-activator protein in the methylotrophic yeast *Pichia pastoris* , purification , isotopic labeling , and biophysical characterization. *Protein Expression and Purification* , 2004 , **34**(1) :147 – 157
- [18] Wang DC(王大成). *Protein Engineering* , Beijing :Chemical Industry Press 2002
- [19] Goda S , Takano K , Yamagata Y *et al.* Effect of extra N-terminal resinal residues on the stability and folding of human lysozyme expressed in *Pichia pastoris* . *Protein Engineering* , 2000 , **13**(4) : 299 – 307
- [20] Hongjun LI , Yanbing M , Ting Su. Expression , purification , and characterization of recombinant human neuriturin secreted from the yeast *Pichia pastoris* . *Protein Expression and Purification* , 2003 , **30**(1) :11 – 17

2006 年生物医学类核心期刊联合征订启事

刊 名	第一主办单位	邮发代号	刊期	定价 (元)	年价 (元)	E-mail	电 话
癌变·畸变·突变	中国环境诱变剂学会	80-285	双月	10	60	cemscm@stu.edu.cn	0754-8900267
动物学报	中国动物学会	24-97	双月	49	294	zool@ioz.ac.cn	62624530
动物学研究	中国科学院昆明动物所	64-20	双月	15	90	zoores@mail.kiz.ac.cn	087-5199026
动物学杂志	中国科学院动物所	2-422	双月	25	150	journal@ioz.ac.cn	62581475
基因组蛋白质组与生物信息学报(英文)	中国科学院北京基因组研究所	自发	季刊	45	180	editor@genomics.org.cn	80485179
激光生物学报	中国遗传学会	42-149	双月	10	60	jgswxb@hunnpu.edu.cn	0731-8872208
菌物学报	中国科学院微生物所	2-499	季刊	40	160	jjwt@sun.im.ac.cn	62555146
昆虫学报	中国科学院动物所	2-153	双月	25	150	kccb@ioz.ac.cn	82872092
昆虫知识	中国科学院动物所	2-151	双月	25	150	entom@ioz.ac.cn	82672247
生理学报	中国科学院上海生命科学研究院	4-157	双月	23	138	actaps@sibs.ac.cn	021-54922832
生命的化学	中国生物化学与分子生物学会	4-315	双月	8	48	smhx@summ.shenc.ac.cn	021-54921091
生命科学	国家自然科学基金委员会生物科学部	4-628	双月	15	90	cbls@sibs.ac.cn	021-54922830
生命世界	中国科学院植物所	2-815	月刊	15	180	liny@hep.com.cn	13811605616
生物多样性	中国科学院生物多样性委员会	82-858	双月	28	168	biodiversity@ibcas.ac.cn	62836137
生物工程学报	中国科学院微生物所	82-13	双月	38	228	cjb@sun.im.ac.cn	62554303
生物化学与生物物理进展	中国科学院生物物理所	2-816	月刊	25	300	prog@sun5.ibp.ac.cn	64888459
生物物理学报	中国生物物理学会	自发	双月	20	120	acta@sun5.ibp.ac.cn	64888458
微生物学报	中国科学院微生物所	2-504	双月	30	180	actamicro@sun.im.ac.cn	62630422
微生物学通报	中国科学院微生物所	2-817	双月	32	192	xuj@sun.im.ac.cn	62630421
心理学报	中国心理学会	82-12	双月	30	180	xuebao@psych.ac.cn	64850861
心理科学进展	中国科学院心理所	2-938	双月	20	120	jinzhan@psych.ac.cn	64850861
医学研究生学报	南京军区南京总医院	28-280	月刊	8	96	JLYB@chinajournal.net.cn	025-80860347
遗 传	中国遗传学会	2-810	月刊	30	360	yczz@genetics.ac.cn	64889348
遗传学报	中国遗传学会	2-819	月刊	40	480	ycxb@genetics.ac.cn	64889354
植物学报(英文)	中国科学院植物所	2-500	月刊	90	1080	abs@ibcas.ac.cn	62836563
植物学通报	中国科学院植物所	2-967	双月	24	144	cbb@ibcas.ac.cn	62595403
中国昆虫科学(英文)	中国昆虫学会	自发	双月	60	360	zss@ioz.ac.cn	62569682
中国生物工程杂志	中国生物工程学会	82-673	月刊	25	300	biotech@mail.las.ac.cn	82624544
中国药理学报(英文)	中国药理学会	4-295	月刊	50	600	aps@mail.shenc.ac.cn	021-54922821
中华医学遗传学杂志	中华医学会	62-163	双月	16	96	Zhyc@chinajournal.net.cn	028-85501165