

家蚕抗 BmNPV 品系与感性品系血淋巴液蛋白质组的差异分析

蔡克亚, 陈克平, 刘晓勇, 姚勤, 李军

江苏大学生命科学研究院, 镇江 212013

摘要: 利用遗传学的原理, 通过杂交和回交的方法, 建立家蚕抗 BmNPV、感 BmNPV 以及近等基因系模型, 利用 2-D 电泳和 MALDI TOF/TOF MS 质谱技术, 从蛋白质组水平上研究家蚕对 BmNPV 抵抗力。其结果是获得家蚕高抗 NB, 高感 306, 近等基因系 BC₈ 五龄起蚕血淋巴液蛋白质差异表达谱, 分别获得 180、190、187 个蛋白点, 其中 80% 的蛋白点集中在等电点 5~9 范围之内。从三块凝胶上共获得明显差异蛋白点 12 个, 由质谱鉴定出 5 种蛋白, 其中氨基酰化酶 (Aminoacylase) 仅出现在抗性品系 NB、近等基因系图谱中, 感性品系没有出现, 初步推测是家蚕抗 BmNPV 特有蛋白, 这是首次报道结果。

关键词: 2-D 电泳, MALDI TOF/TOF MS, 蛋白质组, 抗核型多角体病毒, 家蚕

Differential Expression of Haemolymph Proteome of Resistant Strain and Susceptible Strain for BmNPV in *Bombyx mori* L.

Keya Cai, Keping Chen, Xiaoyong Liu, Qin Yao, and Jun Li

Institute of Life Sciences, Jiangsu University, Zhenjiang 212013, China

Abstract: Three model silkworms, highly resistant strain, highly susceptible strain and their near isogenic line were established by hybridization and backcross. The resistance of silkworm (*Bombyx mori* L.) to BmNPV was studied at proteomic level using two-dimensional gel electrophoresis and MALDI TOF/TOF MS. Differential expression profiles of proteome in resistant strain, susceptible strain and near isogenic line were obtained, and 180, 190 and 187 of protein spots were shown, respectively. Among them, 80% were concentrated in pI 5~9. Twelve differential protein spots in total were obtained from 3 gels. Using MALDI TOF/TOF MS, five proteins, including aminoacylase, were identified from these spots. The exclusive expression of aminoacylase in highly resistant strain and near isogenic line and its absence in susceptible strain suggest that it might be a BmNPV-resistance related protein.

Keywords: two-dimensional gel electrophoresis, MALDI TOF/TOF MS, proteome, resistibility to BmNPV, silkworm *Bombyx mori* L.)

家蚕饲养在世界上已经有 5000 多年的历史了, 中国, 印度, 越南和其他一些发展中国家。同时, 在很多国家它是作为很重要的经济来源, 特别是在 蚕又作为一种重要的模式昆虫, 在生命科学研究领

Received: April 14, 2007; **Accepted:** May 10, 2007

Supported by: the National Basic Research Program of China (No.2005CB121000), and the Project from Jiangsu University the Youth Science Funds (No.1241330001).

Corresponding author: Keping Chen. Tel: +86-511-8791923; E-mail: kpchen@ujs.edu.cn

国家“973”计划 (No. 2005CB121000)和江苏大学青年科学基金资助项目(No. 1241330001)。

域发挥了重要作用^[1]。在蚕业界,病毒是一种危害巨大的病原物,尤其是家蚕核型多角体病毒(*Bombyx mori* L. *Nucleopolyhedrovirus*, BmNPV)对蚕业生产危害极大,大约占蚕病给蚕茧造成损失的70%左右^[2]。因此,挖掘家蚕抗 BmNPV 种质资源、阐明致病机制、寻找抗病基因,对培育抗性品种和病毒病防治具有重要的意义。

长期以来,很多科学研究人员把家蚕抗核型多角体病毒病作为重点研究对象。但是,由于没有发现家蚕对 BmNPV 高抗的资源,因此,其研究主要放在家蚕感病分子机制上^[3]。自1991年,我国学者从中国的家蚕资源库中发现高抗 BmNPV 新的资源以来^[4],对家蚕抗性研究才有了新的认识和进展。近几年,有从DNA水平上筛选抗性分子标记^[5],也有从mRNA水平上通过 DD-PCR 技术筛选抗性和感性差异基因^[6-8]。2004年有报道从家蚕中肠消化液中分离出丝氨酸蛋白酶和脂肪酶以及相应的 serine 和 lipase 基因^[9,10]。从现有文献看,家蚕抗 BmNPV 的研究还停留在致病机理、传染途径、DNA 分子标记和转录水平上,家蚕蛋白质组水平研究还是刚起步阶段^[11,12],尤其对家蚕抗 BmNPV 蛋白组水平的研究尚无报道。

1 材料和方法

1.1 家蚕品系及近等基因系的组配

抗 BmNPV 品系 NB, 感性品系 306, 以及近等基因系 BC₈ 由本实验构建和保存。BC₈ 是用 NB 和 306 杂交成 F1 代, 再用 306 作为轮回亲本连续回交 8 次后得到。该近等基因系遗传背景与 306 品系 99.9% 相同, 但带有 NB 的抗病基因^[13]。

1.2 饲养方法及取样

NB, 306, BC₈ 家蚕品系在室温 24 ~ 28 °C, 空气相对湿度在 65%~80%, 光照周期 12 h 照明, 12 h 黑暗的条件下, 用新鲜的桑叶来饲养。家蚕到五龄起蚕时取血淋巴液, 每 EP 管收集 10 头蚕血淋巴液分装, 放 -80 °C 保存备用。

1.3 二维电泳

第一维等电聚焦: 家蚕血淋巴液直接上样, 样品使用 DC-RC 法(Bio-Rad 公司试剂盒)进行蛋白定量。样品和水化液(7 mol/L urea, 2 mol/L thiourea, 4% CHAPS, 0.2% Bio-Lyte, 65 mmol/L DTT 和 0.001% bromophenol blue)按 1:4 上样, 上样总体积为 160 μL。

把胶条(pH 3~10, 7 cm)放在等电聚焦槽, 室温放置 1 h, 让胶条充分泡涨, 在 50 V 电压, 20 °C 条件下采取主动水化 13 h。等电聚焦设置分为六步, 分别为:

250 V, 25 min; 500 V, 60 min; 1000 V, 60 min; 4000 V, 3 h; 4000 V, 20000 Vhours; 500 V, 2 h。

等电聚焦结束后进行两步平衡(平衡母液为 50 mmol/L Tris base, 6 mol/L urea, 30% glycerol, 2% SDS, and 0.002% bromophenol blue), 每次 15 min: 第一步用含 2% 的 DTT 平衡母液平衡, 第二步采用 2.5% 的碘乙酰胺代替 DTT 来平衡。然后进行第二维 SDS-PAGE 电泳。

第二维 SDS-PAGE 电泳: 配制 12% 的 SDS-聚丙烯酰胺凝胶, 平衡后的胶条转移到 SDS-PAGE 胶上, 用低熔点琼脂糖封胶, 电泳缓冲液为 Tris-甘氨酸-SDS。先用 70 V 电压电泳 15 min, 然后用 120 V 电压电泳至到溴酚蓝到达底部为止。

1.4 凝胶的染色与图象分析

凝胶采用银染试剂盒染色(Bio-Rad 公司), 利用 SanMaker 9700XL 进行图象采集, 分辨率在 600dpi 状态下扫描, 用 PDQuest 对胶进行背景的消减和点的检测等分析处理。

1.5 质谱分析

质谱样品处理与分析: 用切胶笔取点后, 用超纯水洗 3 次, 用 25 μL 的 15 mmol/L K₃Fe(CN)₆ 和 25 μL 的 50 mmol/L Na₂SO₄ 1:1 混合脱色, 最后用乙腈脱水, 真空干燥, 胰蛋白酶(Promega 公司)酶解过夜, 取 1 μL 样品与 1 μL 基质 α-氰基-4-羟基肉桂酸(α-cyano-4-hydroxycinnamic acid, HCCA)混合均匀点样。用 MALDI TOF/TOF MS(Bruker 公司)质谱得到肽质量指纹图谱(Peptide Mass Fingerprinting, PMF)数据后, 利用 MASCOT 程序比对分析。

2 结果

2.1 家蚕抗 BmNPV、感 BmNPV 以及近等基因系血淋巴液蛋白差异表达谱

本研究中共获得 NB、306、BC₈ 3 个品系血淋巴液总蛋白二维电泳图谱(图 1)。银染以后获得了 180~190 个蛋白点(NB 180 个点, 306 190 个点, BC₈ 187 个点)。从凝胶上可以看到, 大部分的点是集中在等电点 5~9 之间, 并且在 BC₈ 上的蛋白点大部分都可以在 NB 和 306 两个品种上找到对应的蛋白

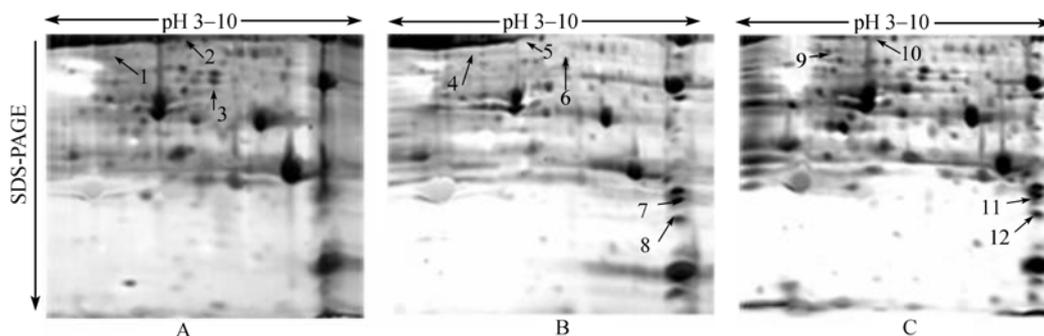


图 1 家蚕血淋巴液蛋白表达比较

Fig. 1 Comparison of protein expression of silkworm haemolymph (A): NB; (B): BC₈; (C): 306

点。本实验做了两次重复，结果基本一致。

2.2 家蚕抗 BmNPV 感 BmNPV 以及近等基因系血淋巴液差异蛋白质谱鉴定

在 3 块凝胶上取了具有明显差异蛋白点 12 个进行质谱分析，共获得 5 种已知蛋白(表 1)，分别是β-1,3-葡聚糖识别蛋白(beta-1, 3-glucan recognition protein); 酚氧化酶 (Prophenoloxidase); 氨基酰化酶 (Aminoacylase); 羟脯氨酸异构酶(hydroxypyruvate isomerase); 溶酶体硫醇还原酶 IP30 前体 1 型(lyso-

somal thiol reductase IP30 precursor isoform 1)。

3 讨论

本实验利用二维电泳和质谱技术对三个家蚕品进行研究，得到了具有明显差异的 12 个点，经质谱鉴定，并比对出 5 种已知蛋白。其中β-1,3-葡聚糖识别蛋白，酚氧化酶在 NB 这个高抗品系中表达量很高，而在 306 和 BC₈ 两个品系里表达量却很低。氨基酰化酶仅在 NB 和 BC₈ 这两个品系图谱中存在，

表 1 NB、306、BC₈ 血淋巴液差异蛋白质谱鉴定结果

Table 1 Result of differential expression of proteome in NB, 306 and BC8 were identified by MS

Spots	Protein name	Accession No.(NCBI)	Score* (MASCOT)	Result		
				Mr (expt)	Mr (calc)	Peptide sequence
1,4,9	beta-1,3-glucan recognition protein	gi 112983972	80	1736.1550	1737.1622	R.VSVPDEGFSLFAFHGK.L
				1322.8409	1323.8481	R.CTGTVGTAQCLR.E
				1600.1060	1601.1133	K.GDWLYPEILLEPR.D
				1040.7436	1041.7509	K.VEAAPQWLK.G
				1478.9645	1479.9718	R.EFSEDISNKPWK.N
2,5,10	Prophenoloxidase-2s	Q9BLG6_BOMMO	116	1165.4017	1166.4089	K.DAEFSLFLPK.H
				1310.4933	1311.5006	K.FLDSQVFTQAR.E
				1263.4795	1264.4868	R.ETA AVIPDVPR.I
				1477.4362	1478.4435	R.DYTATDLEEHR.L
				1893.6899	1894.6971	R.RGELFFYMHQQVIAR.F
3,6	Aminoacylase	gi 114052174	107	1879.6933	1880.7006	K.FSNWREPIEAYFPK.L
				1948.0936	1949.1008	R.SVHPNVDYNECINFLK.N
				2088.1697	2089.1770	R.TVHLSFVPDDEIIGDGTGMGK.F
				1852.0898	1853.0970	K.SGHGSLLLPDNCGEKLK.Y
				1920.1738	1921.1810	R.IALNVDLKEFENMIQK.W
7,11	hydroxypyruvate isomerase	gi 114052328	191	1640.9354	1641.9426	R.MSIKQTFGTGGTDSR.Y
				1382.7090	1383.7163	K.QSAGLQQAIALNK.T
				1146.5929	1147.6002	K.NLLYAVDVLK.G
				2029.9135	2030.9208	K.GENIQGLIEPINQYSMPK.Y
				1019.4115	1020.4188	K.YFLSDYGR.A
8,12	Lysosomal thiol reductase IP30 precursor isoform 1	gi 114051964	85	2420.1934	2421.2007	R.LMLDIFHLQQAIGDITHNITK.L
				1543.7142	1544.7214	K.IAVYYESLCPDSK.K
				1330.7366	1331.7439	K.FITTQLAPVWR.D
				1979.7992	1980.8065	K.WSFICHHGADECYGNK.V
				1087.6102	1088.6174	K.VQACVLKDR.N
				1698.8085	1699.8158	K.YDKDVETQAFENLK.A

* Mascot score >79 indicates identity or extensive homology ; higher scores indicate higher confidence of identity

而在 306 品系中没有显示,因此初步认为,它可能与抗 BmNPV 相关的一个重要蛋白;羟脯氨酸异构酶,溶酶体硫醇还原酶 IP30 前体 1 型是在 306 和 BC₈ 两个品种中有,而在 NB 品种中没有明显表达。

β -1, 3-葡聚糖识别蛋白和酚氧化酶是昆虫和很多动物体中广泛存在的一种蛋白,目前在很多物种中分离得到了,如:家蚕,海洋虾类,蚯蚓等^[14-16]。在这些生物体内它们与其他蛋白构成了一个保护屏障,当生物体在受到外界环境的影响时,如:当细菌,真菌以及其它病菌的感染时,生物体内的 β -1,3-葡聚糖识别蛋白就会立刻激活一些相应的酶反应系统,特别是对丝氨酸酶(serine enzyme)和酚氧化酶的激活。酶反应系统激活后会把相应的信号传递给脂肪体,脂肪体在接受到信号后会立刻做出反应,合成相应的免疫蛋白,从而形成了一个体内防御系统^[17]。本研究显示 β -1, 3-葡聚糖识别蛋白和酚氧化

酶 在高抗品系 NB 中表达量高,而在高感品系 306 和近等基因系 BC₈ 中的表达量都是很低的。从遗传背景来看 BC₈ 是和 306 很接近,从理论上说如果这两个蛋白是抗性主要蛋白的话,那么 BC₈ 品系中应该同 NB 一样有高的表达。这个结果暗示 β -1, 3-葡聚糖识别蛋白和酚氧化酶在抗 BmNPV 过程中不是主效蛋白,可能是微效蛋白网络中的成员,也可能是连锁环节中的蛋白之一。

对于羟脯氨酸异构酶和溶酶体硫醇还原酶 IP30 前体 1 型是在感性品种和近等基因系中发现,而在高抗品种中没有检测到,从遗传学的角来讲,近等基因系更接近感性品系,因此可能与抗性关系不大。而对这两种酶进行研究的文献也比较少。氨基酰化酶是在 NB 和 BC₈ 两个抗性品系的中肠表达图谱中有高表达量,而在感性品系 306 中没有出现(图 2)。关于氨基酰化酶的报道也是比较多的,

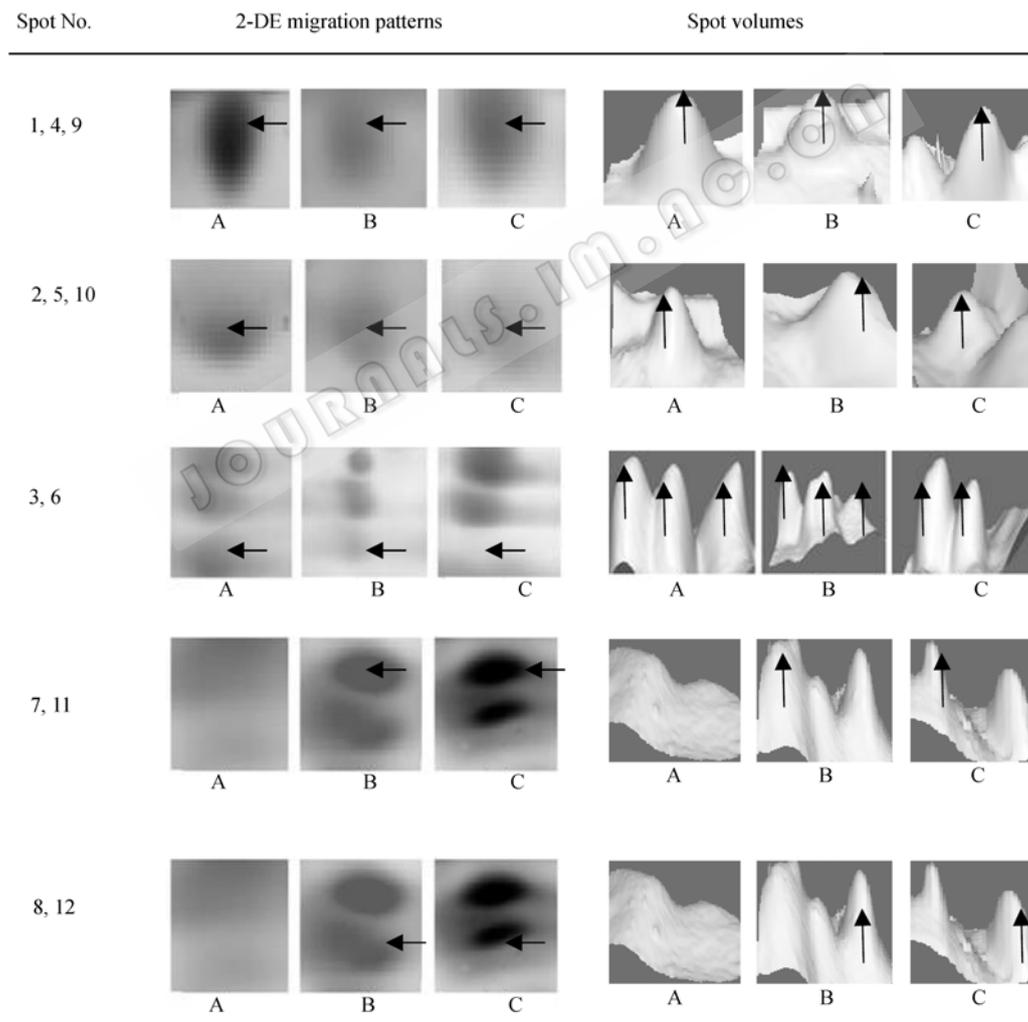


图 2 三块凝胶上的差异蛋白点
Fig. 2 Differential protein spots of three gels
(A): NB; (B): BC₈; (C): 306

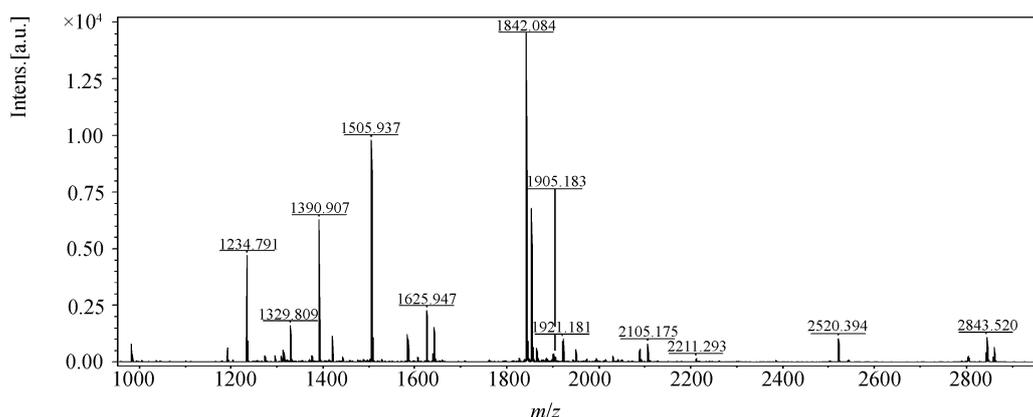


图3 氨基酰化酶肽指纹图谱

Fig. 3 PMF of aminoacylase

它是酰化氨基酸水解酶的简称, 是一个二聚体酶, 其每一个亚基包含一个锌离子, 并且也已经有报道说是四聚体蛋白^[19]。它能够水解 N-酰基-L-氨基酸有机酸, 包括丝氨酸, 谷氨酸, 丙氨酸, 甲硫氨酸, 亮氨酸, 缬氨酸等^[20,21], 同时也可以催化脱氢肽的水解。在哺乳动物体内, 特别是在人体, 急慢性肝病, 胆道感染, 心肌炎, 流脑等病发生时氨基酰化酶的量都会有很大的增加, 在肝炎的检测方面作为一个很重要的指标^[22]。研究发现在抗性品种中氨基酰化酶表达量很高, 而在感性品系中没有能够找到, 我们可以这样假设, 当家蚕受到病毒等感染时, 氨基酰化酶的量就会有很大的增加, 并和其他一些代谢酶系共同作用, 经过氧化、还原或水解作用, 使其减少或者失去侵害作用, 或者是这些酶系与相关蛋白结合而避免病毒的靶蛋白来与之结合从而构成体内保护屏障, 所以在长期的抗性筛选中, 在抗性品种中的氨基酰化酶的量就会明显高于感性品种。由此我们可以推测该蛋白是抗性相关蛋白, 或者说是一种节点蛋白, 在抗 BmNPV 过程中起了一定的作用。

REFERENCES

- [1] Li XH, Wu XF, Yue FW, *et al.* Proteomic analysis of the silkworm (*Bombyx mori* L.) hemolymph during developmental stage. *Journal of Proteome Research*, 2006, **5**(10): 2809–2814.
- [2] Xu JP, Liu MH, Su F. Research and development of studies on the resistance to BmNPV in the silkworm (*Bombyx mori* L.). *Sericulture In China*, 2006, **27**(2): 8–14.
徐家萍, 刘明辉, 孙帆. 家蚕核型多角体病的抗性机制研究进展. *中国蚕业*, 2006, **27**(2): 8–14.
- [3] Khurad AM, Mahulikear A, Rathod MK, *et al.* Vertical transmission of nucleopolyhedrovirus in the silkworm, *Bombyx mori* L. *Journal Invertebrate Pathology*, 2004, **87**(1): 8–15.
- [4] Chen KP, Lin CQ, Yao Q. Studies on the resistance to BmNPV and its hereditary regularity in the silkworm (*Bombyx mori*). *Science of Sericulture*, 1996, **22**(3): 160–163.
陈克平, 林昌麒, 姚勤. 家蚕对核型多角体病的抗性及其遗传规律的研究. *蚕业科学*, 1996, **22**(3): 160–163.
- [5] Yao Q, Liu XY, Tang XD, *et al.* molecular markers-assisted breeding for silkworm resistant variety to BmNPV. *Molecular Plant Breeding*, 2005, **3**(4): 537–542.
姚勤, 刘晓勇, 唐旭东. 家蚕抗核型多角体病毒病分子标记辅助育种. *分子育种*, 2005, **3**(4): 537–542.
- [6] Xu JP, Chen KP, Yao Q, *et al.* Fluorescent differential display analysis of the gene s3 a related to NPV resistance in *Bombyx mori*. *Acta Entomologica Sinica*, 2005, **48**(3): 347–352.
徐家萍, 陈克平, 姚勤, 等. 利用荧光差异显示技术分离的家蚕抗 NPV 相关基因 s3a. *昆虫学报*, 2005, **48**(3): 347–352.
- [7] Daimon Takaaki, Katsuma Susumu, Kang WK, *et al.* Comparative studies of *Bombyx mori* nucleopolyhedrovirus chitinase and its host ortholog, BmChi-h. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2006, **345**(2): 825–833.
- [8] Sawada H, Yamamoto T, Mase K. A novel RNA helicase-like protein during early embryonic development in silkworm *Bombyx mori*: molecular characterization and intracellular localization. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 2006, **36**: 911–920.
- [9] Nakazawa H, Tsuneishi E, Ponnuvel KM, *et al.* Antiviral activity of a serine protease from the digestive juice of *Bombyx mori* larvae against nucleopolyhedrovirus. *Virology*, 2004, **321**(1): 154–162.
- [10] Kangayam M Ponnuvel, Hiroshi Nakazawa, Seiichi Furukawa, *et al.* A lipase isolated from the silkworm *Bombyx mori* shows antiviral activity against nucleopolyhedrovirus. *The Journal Virology*, 2003, **77**(19): 10725–10729.
- [11] Wu WC, Zhong BX. The proteomics research of silkworm.

- Bulletin of Sericulture*, 2004, **35**(2): 11–14.
吴卫成, 钟伯雄. 家蚕蛋白质组学的研究. 蚕桑通报, 2004, **35**(2): 11–14.
- [12] Jin YX, Xu MK, Chen YY, *et al.* Two dimensional electrophoresis analysis of proteins from the colleterial gland of silkworm (*Bombyx mori* L.). *Chinese Journal of Biotechnology*, 2004, **20**(4): 590–594.
靳远祥, 徐孟奎, 陈玉银, 等. 家蚕雌性附腺及其分泌物的蛋白质双向电泳分析. 生物工程学报, 2004, **20**(4): 590–594.
- [13] Xu JP, Chen KP, Yao Q, *et al.* Fluorescent differential display analysis of gene expression for BmNPV resistance in *Bombyx mori* L. *Journal of Applied Entomology*, 2005, **129**(1): 27–31.
- [14] Masanori Ochiai, Masaaki Ashida. A Pattern-recognition Protein for b-1, 3-Glucan. *The Journal of Biological Chemistry*, 2000, **275**(7): 4995–5002.
- [15] Kim YS, Ryu JH, Han SJ, *et al.* Gram-negative bacteria-binding protein, a pattern recognition receptor for lipopolysaccharide and beta-1, 3-glucan that mediates the signaling for the induction of innate immune genes in *Drosophila melanogaster* cells. *Journal of Biological Chemistry*, 2000, **275**(42): 32721–327217.
- [16] Masanori Ochiai, Masaaki Ashida. A pattern-recognition protein for beta-1, 3-glucan. The binding domain and the cDNA cloning of beta-1, 3-glucan ecognition protein from the silkworm, *Bombyx mori*. *Journal of Biological Chemistry*, 2000, **275**(7): 4995–5002.
- [17] Ochiai M, Ashida M. Purification of a beta-1, 3-glucan recognition protein in the prophenoloxidase activating system from hemolymph of the silkworm, *Bombyx mori*. *Journal of Biological Chemistry*, 1988, **263**(24): 12056–12062.
- [18] Liu KY, Qiu BC, Hong HZ, *et al.* Insect differential proteome: progress and prospects, *Acta Entomologica Sinica* 昆虫学报, 2006, **49**(4): 680–686.
刘凯于, 邱宝国, 洪华珠, 等. 昆虫差异蛋白质组: 进展和展望. 昆虫学报, 2006, **49**(4): 680–686.
- [19] Bai JH, Xu D, Wang HR, *et al.* Evidence for the existence of an unfolding intermediate state for aminoacylase during denaturation in guanidine solutions. *Biochim Biophys Acta*, 1999, **1430**(1): 39–45.
- [20] Story SV, Grunden AM, Adams MW. Characterization of an aminoacylase from the hyperthermophilic archaeon *Pyrococcus furiosus*. *The Journal of Bacteriology*, 2001, **183**(14): 4259–4268.
- [21] Sakanyan V, Desmarez L, Legrain C, *et al.* Gene cloning, sequence analysis, purification, and characterization of a thermostable aminoacylase from *Bacillus stearothermophilus*. *Applied and Environmental Microbiology*, 1993, **59**(11): 3878–3888.
- [22] Holger A Lindner, Vladimir V Lunin, Alain Alary, *et al.* Essential roles of zinc ligation and enzyme dimerization for catalysis in the aminoacylase-1/M20 family. *Journal of Biological Chemistry*, 2003, **278**(45): 44496–44504.

中国科学院微生物研究所期刊广告部成立

中科院微生物研究所期刊广告部于 2007 年 3 月正式成立, 具有北京市工商管理局正式批准的广告经营许可证(京海工商广字第 8107 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、菌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)、Abstracts of Mycology (美国“菌物学文摘”)、Index of Fungi (英国“菌物索引”)、Review of Plant Pathology (英国“植物病理学文摘”)、Bibliography of Systematic Mycology (英国“系统菌物学文献目录”)、Bibliographie der Pflanzenschutz literature(德国“植物保护文献目录”)、《中国学术期刊文摘》、《生物学文摘》等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。如果您有刊登广告的需要, 欢迎与我们联系或 email 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: 从 2007 年起, 各公司与此四刊签订的广告费用请通过新地址汇款(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镇支行, 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; 010-64807521

电子信箱: gg@im.ac.cn

联系人: 武文 王闯

网址: <http://journals.im.ac.cn>

Journals.im.ac.cn