

中度嗜盐菌四氢嘧啶合成基因的克隆与功能分析

张薇^{1,2}, 魏海雷³, 高洪文², 黄国和¹

- 1 华北电力大学能源与环境研究中心, 北京 102206
- 2 中国农业科学院北京畜牧兽医研究所, 北京 100094
- 3 中国科学院微生物研究所, 北京 100101

摘要: 中度嗜盐菌 *Bacillus alcalophilus* DTY1 分离自晋西北黄土高原盐碱土壤, 能够产生耐盐相关的相容性溶质四氢嘧啶。为了研究四氢嘧啶的功能, 克隆了 DTY1 菌株四氢嘧啶合成基因簇 *ectABC*。*ectA*、*ectB* 和 *ectC* 分别编码 169、428 和 132 个氨基酸的肽链, 分别与 *B. halodurans* C-125 中的二氨基丁酸乙酰基转移酶(EctA)、二氨基丁酸氨基转移酶(EctB)、四氢嘧啶合成酶(EctC)同源性达 59%、81% 和 81%。将携带该基因簇的 4.0 kb 片段转入蜡质芽孢杆菌 *B. cereus* Z 后, 芽孢杆菌的耐盐度显著提高。HPLC 检测发现, 在 1.0% NaCl 浓度下, 转化菌 *B. cereus* Z-E 菌株生成 70.1 mg/g 四氢嘧啶, 而在 5.0% 的 NaCl 浓度下四氢嘧啶的产量高达 118.6 mg/g, 显著高于 *B. alcalophilus* DTY1 的四氢嘧啶产量。而且随着盐浓度的提高, 四氢嘧啶的合成量也随之提高。由此证明四氢嘧啶参与中度嗜盐菌重要的渗透调节, *ectABC* 的表达受盐诱导。

关键词: 四氢嘧啶, *Bacillus alcalophilus*, 中度嗜盐菌

Cloning and Characterization of *ectABC* Cluster from *Bacillus alcalophilus* DTY1

Wei Zhang^{1,2}, Hailei Wei³, Hongwen Gao², and Guohe Huang¹

- 1 Energy and Environmental Research Center, North China Electric Power University, Beijing 102206, China
- 2 Institute of Animal Sciences, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100094, China
- 3 Institute of Microbiology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China

Abstract: *Bacillus alcalophilus* DTY1, one moderate halophytic bacterium isolated from saline soil in Loess Plateau of China, was characterized with efficient production of ectoine. In this study, the gene cluster *ectABC* taking in charge of biosynthesizing ectoine was cloned from the genomic library of strain DTY1. Nucleotide sequencing indicated that *ectA*, *ectB* and *ectC* were predicted to encode peptides of 169, 428 and 132 amino acids, respectively. The deduced amino acid sequences of EctA, EctB and EctC share 59%, 81% and 81% identity to 2,4-diaminobutyric acid acetyltransferase, 2,4-diaminobutyric acid transaminase and ectoine synthase of *B. halodurans* C-125, respectively. A fragment containing *ectABC* genes was introduced into *B. cereus* Z, which made the transgenic Z cells increased tolerance to salt, remarkably. HPLC analysis of ectoine in the transgenic Z cells revealed that 70.1 mg/g ectoine was detected in 1.0% NaCl medium and 118.6 mg/g ectoine in 5.0% NaCl medium. Furthermore, as the concentration of salt increased, transgenic Z cells accumulated more ectoine. These results suggest that ectoine is an important facet in *B. alcalophilus* DTY1 to high-osmolarity surroundings, and the expression of *ectABC* is induced by salt strength.

Keywords: ectoine, *Bacillus alcalophilus*, moderate halophytic bacteria

Received: July 18, 2007; **Accepted:** October 27, 2007

Supported by: the Chinese National Programs for High Technology Research and Development (No. 2002AA241091) and North China Electric Power University Research Fund (No. 200722017).

Corresponding author: Hongwen Gao. Tel: +86-10-62894560; E-mail: gaohongwen@263.net

国家 863 项目(No. 2002AA241091)和华北电力大学校内科研基金(No. 200722017)资助。

1,4,5,6-四氢-2-甲基-4-嘧啶羧酸(1,4,5,6-Tetrahydro-2-methyl-4-pyrimidinecarboxylic acid)俗称四氢嘧啶(Ectoine), 是许多耐盐微生物为维持渗透压平衡而在细胞内产生的一种相容性溶质^[1,2]。四氢嘧啶能够稳定天然蛋白质的水合层, 保护酶、DNA 等生物大分子和细胞膜结构, 帮助细胞抵抗冷冻、干旱、高温、高盐、辐射等各种逆境^[3,4]。四氢嘧啶也有许多商业用途, 如防止皮肤衰老、用做酶的稳定剂、微生物的保护剂、治疗癌症的化疗保护剂等^[5,6]。Canovas 等人^[7]通过生物化学手段研究证明了 *Halomonas elongate* 中四氢嘧啶的合成主要由 3 个酶催化完成(图 1)。天冬氨酸- β -半醛(Aspartic β -semi-aldehyde, ASA)是合成四氢嘧啶的主要前体, 也是二氨基丁酸氨基转移酶(Diaminobutyric acid aminotransferase, EctB)的底物。二氨基丁酸乙酰基转移酶(Diaminobutyric acid acetyltransferase, EctA)负责将 EctB 的催化产物 2,4-二氨基丁酸(DABA)转化为 *N*'-乙酰基-2,4-二氨基丁酸(ADABA)。最后由合成酶(Ectoine synthase, EctC)环化生成四氢嘧啶。Nakayama 等^[8]将 *ectA*、*ectB*、*ectC* 三个基因通过花椰菜花叶病毒转入烟草后发现, 即使在四氢嘧啶少量表达的情况下, 转基因烟草也比对照显示出对高

渗条件的良好适应性。Moghaieb 等人^[9]研究表明, 转基因烟草中, 四氢嘧啶在根部的积累高于叶片, 并证明与提高植物耐盐性直接相关。

嗜碱芽孢杆菌(*Bacillus alcalophilus*) DTY1 分离自晋西北黄土高原盐碱土壤, 是一株产四氢嘧啶的中度嗜盐菌, 目前已经从该菌中克隆到了部分与四氢嘧啶合成相关的 *ectB* 基因^[10]。与前人的研究结果不同, DTY1 菌株中 *ectB* 基因上游存在一个典型的 σ^{70} 启动子, 说明该菌株可能存在独特的四氢嘧啶合成与调控机制。本研究在此基础上构建 DTY1 的黏粒文库, 克隆四氢嘧啶合成基因簇, 并通过异源表达解析四氢嘧啶的耐盐功能。

1 材料与方法

1.1 材料

本实验所用菌株和质粒见表 1。 *B. alcalophilus* DTY1 和 *B. cereus* Z(蜡质芽孢杆菌)在 LB 培养基中 30℃ 培养 36~48 h 可至对数生长后期。 *Escherichia coli* DH5 α 需 37℃ 生长 12~16 h。相应的抗性质粒所用抗生素浓度分别为: 氨苄青霉素 50 μ g/mL, 四环素 20 μ g/mL。各种限制性内切酶、T4 DNA 连接酶、胶回收试剂盒等均为 TaKaRa 产品, 其余常用试剂

表 1 菌株和质粒

Table 1 Bacterial strains and plasmids used in this study

Strains/Plasmids	Character	Source
<i>Bacillus alcalophilus</i> DTY1	Wide type; ectoine ⁺	[10]
<i>B. cereus</i> Z	Wide type; ectoine ⁻	Lab collection
<i>B. cereus</i> Z-H	<i>B. cereus</i> Z containing pHY300PLK	This study
<i>B. cereus</i> Z-E	<i>B. cereus</i> Z containing pHY300-E	This study
<i>Escherichia coli</i>		
DH5 α	ϕ 80 <i>lacZ</i> Δ M15 Δ (<i>lacZYA-argF</i>)U169 <i>hsdR17 recA1 endA1 thi-1</i>	Lab collection
DH5 α -H	<i>E. coli</i> DH5 α containing pHY300PLK	This study
DH5 α -E	<i>E. coli</i> DH5 α containing pHY300-E	This study
Plasmids		
pLAFR5	Tc ^r ; <i>oriT</i> , Cosmid vector	[11]
pBluescript II SK+	Ap ^r ; Cloning vector	Stratagene
pBS-10k	pBluescript II SK+ containing 10 kb <i>EcoR</i> I- <i>Bam</i> H I fragment carrying <i>ectABC</i>	This study
pBR322	Ap ^r , Tc ^r ; Cloning vector	Lab collection
pBR322-E	pBR322 containing 4.0 kb <i>Sal</i> I- <i>Sph</i> I fragment from pBS-10 k	This study
pHY300PLK	Ap ^r , Tc ^r ; <i>ori177</i> , <i>oria1</i> , Shuttle vector	TaKaRa
pHY300-E	pHY300PLK containing 4.0 kb <i>Sal</i> I- <i>Bam</i> H I fragment from pBR322-E	This study

Ap^r, Tc^r indicate resistance to ampicillin and tetracycline, respectively.

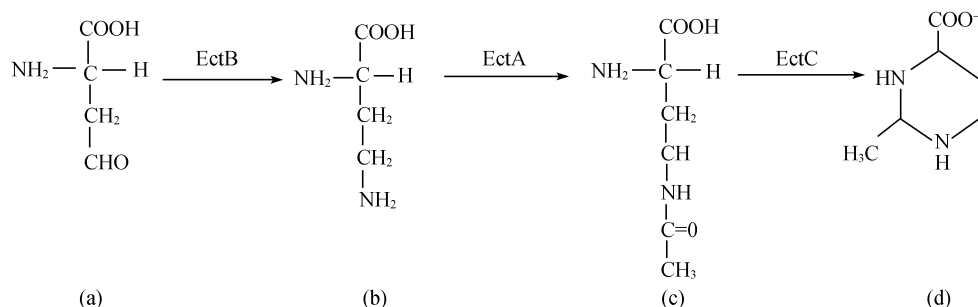


图 1 四氢嘧啶合成途径

Fig. 1 Biosynthetic pathway of ectoine

(a) ASA; (b) DABA; (c) ADABA; (d) Ectoine

均为国产或进口分析纯。引物由上海生工合成。电击转化仪为 Bio-Rad 产品(Gene pulser[®] II), 高压液相色谱仪为 Waters 600 产品。

1.2 四氢嘧啶合成基因的克隆

利用黏粒载体 pLAFR5 构建 DTY1 的基因组文库, 具体参考魏海雷等人的方法^[12]。根据已克隆的四氢嘧啶合成基因片段设计引物 ect1198(5'-TCGATTCTTCGCAGGTGCAGG-3')与 ect1966(5'-GGATGTGCCATTATGTTCGCC-3'), PCR 筛选基因组文库。PCR 程序如下: 95°C 变性 5 min, 95°C 40 s, 58°C 40 s, 72°C 1 min, 共 30 个循环, 72°C 延伸 10 min。将筛选到的阳性克隆分别用多种限制性内切酶 *EcoR* I、*BamH* I、*Hind* III、*Pst* I 等酶切, 连接质粒 pBluescript II SK+进行亚克隆。PCR 筛选阳性转化子并测序。

1.3 穿梭表达载体的构建与转化

根据测序结果用 *Sph* I 和 *Sal* I 双酶切质粒 pBS-10 k, 胶回收约 4.0 kb 片段, 接入同样酶消化的 pBR322, 构建质粒 pBR322-E。用 *BamH* I 与 *Sal* I 双酶切 pBR322-E, 接入 *Bgl* II 与 *Sal* I 消化过的 pHYPLK300, 构建穿梭表达载体 pHY300-E。采用电击法转化 *B. cereus* Z, 电击转化条件为: 电压 1.2 kV, 电容 25 μ F, 电阻 200 Ω 。通过质粒提取和酶切鉴定阳性转化子。

1.4 耐盐度测定

配制不同 NaCl 浓度的 LB 培养基, 划线接种 DH5 α 、*B. cereus* Z 及其衍生菌株, 培养 48 h 后检查各菌株生长情况。配置临界盐浓度的 LB 培养液, 分别接种各菌株, 每隔 6 h 测定菌落生长密度(OD_{600})。

1.5 四氢嘧啶含量的检测

采用改进的高压液相色谱法(HPLC)检测各菌株

在 1.0%、3.0%、5.0% 盐浓度下的四氢嘧啶含量, 参考张薇等人研究方法^[10]。

2 结果

2.1 四氢嘧啶合成基因的克隆

利用保守引物 ect1198 和 ect1966 筛选 DTY1 菌株的黏粒文库, 从 1700 个转化子中筛选到 3 个阳性克隆, 分别为 p5-46、p6-18、p27-24。用 *EcoR* I 和 *BamH* I 双酶切对 p5-46 进行亚克隆得到约 10.0 kb 的阳性片段。测序表明, 其中 3 个串联的 ORF 与四氢嘧啶合成基因簇 *ectABC* 具有同源性。*ectA* 长度为 510 bp, 编码 169 个氨基酸的肽链, 分子量约为 18.9 kD, 与 *B. halodurans* C-125 中二氨基丁酸乙酰基转移酶(BAB04639)同源性为 59%。*ectB* 长度为 1287 bp, 编码 428 个氨基酸的肽链, 分子量约为 47.0 kD, 与 *B. halodurans* C-125 中二氨基丁酸氨基转移酶(BAB04638)同源性达 81%。*EctB* 具有转氨酶保守的 3 个氨基酸(Gly-204, Asp-240, Lys-269), 另外一个保守的精氨酸位点被赖氨酸残基所取代(Lys-392)。*ectC* 长度为 399 bp, 编码 132 个氨基酸的肽链, 分子量约为 15.0 kD, 与 *B. halodurans* C-125 中四氢嘧啶合成酶(BAB04637)同源性达 81%。*ectA* 与 *ectB* 间隔 82 bp, *ectB* 与 *ectC* 间隔 71 bp。该基因簇序列在 GenBank 中登录号为 DQ471210。

2.2 四氢嘧啶基因对菌株耐盐性影响

通过质粒提取和酶切鉴定获得了阳性转化子(数据未列出)。在 LB 培养基中 DH5 α 耐盐临界值为 5.8%, 但是接入多拷贝的 *ectABC* 基因后并不能提高其耐盐能力。在 6.0% 的 NaCl 培养基中, DH5 α -H 与 DH5 α -E 均没有生长(图 3)。*B. cereus* Z 的临界盐浓度为 5.0%, 携带了外源 *ectABC* 基因簇的 *B. cereus*

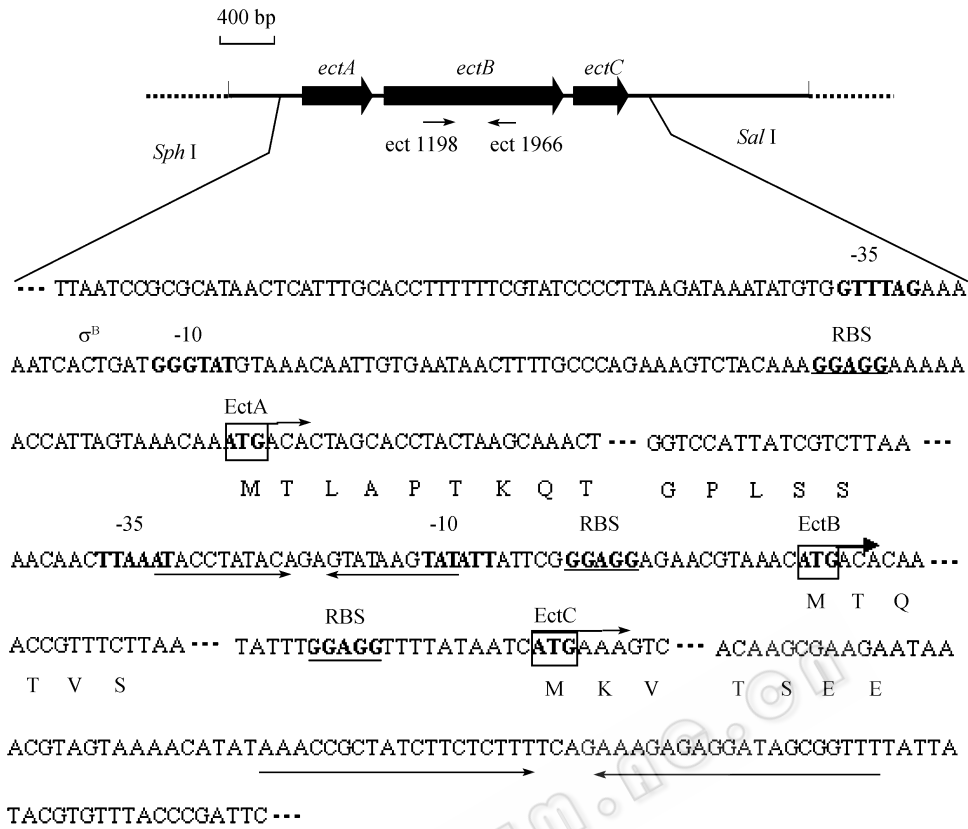


图 2 四氢嘧啶基因簇物理图谱

Fig. 2 Physical map of ectoine gene cluster

RBS represent ribosome-binding site. The start code in framed and the arrow shows the orientation of transcription. Palindromic sequence is marked by reverse arrows. Sequences of ect1198 and ect1966 are conservative primes of *ectB*. The -10 and -35 region indicate promoter sequences. The σ^B sequence is GTTTAA-N₁₂₋₁₄-GGGTAT, and the σ^{70} sequence is TTGACA-N₁₇-TATAAT

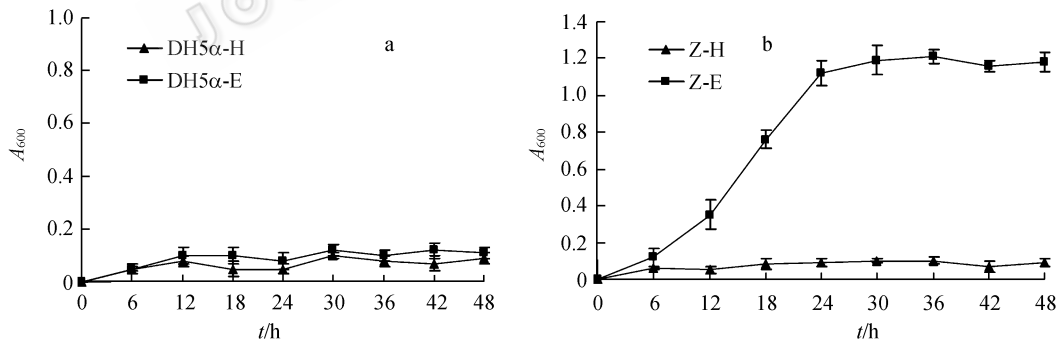


图 3 相关菌株在 6%NaCl 的 LB 培养基中生长曲线

Fig. 3 Growth curves of several strains in 6.0% NaCl LB medium

(a) *E. coli* DH5α-H and DH5α-E strains; (b) *B. cereus* Z-H and Z-E strains

Z-E 菌株能够在 6.0% 的 NaCl 培养基中稳定生长，与野生型相比耐盐度提高了 20%(图 3)。

2.3 四氢嘧啶含量测定

实验测定了各菌株在 1.0%、3.0%、5.0% 盐浓度下的四氢嘧啶产量。*E. coli* DH5α 和 *B. cereus* Z 是两株非四氢嘧啶产生菌，不论在何种盐浓度下均没有检测到四氢嘧啶的产生，而且在转化了四氢嘧啶基

因的 DH5α-E 菌株中没有分离到四氢嘧啶。但是在 *B. cereus* Z-E 菌株中检测到了一定量的四氢嘧啶(图 4)。在 1.0%NaCl 浓度下，Z-E 菌株生成 70.1 mg/g 四氢嘧啶，而在 3.0% 的盐中检测到 94.7 mg/g，在 5.0% 的 NaCl 浓度下四氢嘧啶的产量高达 118.6 mg/g，约为 *B. alcalophilus* DTY1 四氢嘧啶合成量的 15~50 倍^[10]，且随着盐浓度提高，四氢嘧啶的生成量也逐渐升

高。当盐浓度从 1.0% 提高到 5.0%, 四氢嘧啶的产量提高了 1.7 倍, 说明高盐环境对四氢嘧啶的产生具有诱导作用。

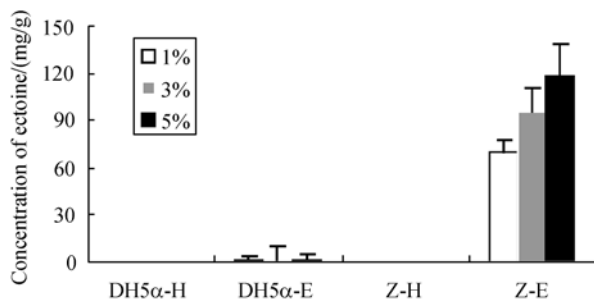


图 4 相关菌株在不同盐激条件下四氢嘧啶产量
Fig. 4 Accumulation of ectoine of several strains in different salinity medium

3 讨论

四氢嘧啶作为一种细胞间相容性溶质, 广泛存在于中度嗜盐菌中, 是重要的渗透调节物质。本研究通过基因组文库筛选, 从 *B. alcalophilus* DTY1 中克隆了四氢嘧啶合成基因簇, 并通过异源表达证明了四氢嘧啶是菌株 DTY1 耐盐的主要因子之一。

试验中发现, 四氢嘧啶合成基因在 *E. coli* 和 *B. cereus* 中的表达有明显不同, 这可能是由于遗传背景的差异造成的表达调控差异。相对于 *E. coli* 来说, *B. alcalophilus* 与 *B. cereus* 的亲缘关系更近, 因此同源的基因更容易在 *B. cereus* 中表达。另一个主要原因可能是 *E. coli* 中缺乏合成四氢嘧啶的前体物质。本研究所克隆的四氢嘧啶合成基因中, 在 *ectA* 和 *ectB* 调控区分别发现了典型的 σ^B 和 σ^{70} 启动子, 而且在 *ectA* 基因的下游存在一个可能的转录终止结构, 由此推测 *ectA* 和 *ectB* 可能是分别转录的(图 2)。这与 *B. pasteurii*、*Halobacillus dabanensis*、*Marinococcus halophilus* 中所克隆的四氢嘧啶合成基因有典型的区别^[2,13,14]。 σ^B 在芽孢杆菌中是一个典型的诱导性启动子, 可以受高温、乙醇、盐、氧等条件的诱导。本试验中 Z-E 菌株四氢嘧啶的产量随盐浓度提高而升高的现象可能与 σ^B 的诱导有关。

目前在四氢嘧啶的工业生产中, 主要采用一种称之为泌乳工艺(Bacterial milking)的新型生物技术, 利用高渗和低渗环境的反复交替, 从而刺激菌体产生大量四氢嘧啶, 所用菌株大多为革兰氏阴性菌,

如短杆菌(*Brevibacterium* sp. JCM6894)^[5]、伸长盐单胞菌(*Halomonas elongata*)^[1]、盐脱氮盐单胞菌(*Halomonas halodenitrificans*)^[15]。革兰氏阳性菌海球菌(*Marinococcus* M52)只能采用一次培养工艺进行四氢嘧啶的生物发酵^[1], 所以一般认为革兰氏阳性细菌不适合细菌泌乳工艺^[16]。目前国内只有何健等^[17]报道过 *Virgibacillus marismortui* 为可以在盐激条件下产生四氢嘧啶的阳性菌, 但对基因表达活性没有进一步验证。本研究中革兰氏阳性菌 DTY1, 不仅可以异源表达, 而且产四氢嘧啶能力受高渗环境影响, 从而扩大了可进行细菌泌乳工艺菌株的筛选范围, 方便工业生产。

REFERENCES

- [1] Ren PG, Zhou PJ. Reseach progress of moderately halophilic eubacteria. *Acta Microbiologica Sinica*, 2003, **43**(3): 427-431.
- [2] Kuhlmann AU, Bremer E. Osmotically regulated synthesis of the compatible solute ectoine in *Bacillus pasteurii* and related *Bacillus* spp. *Appl Environ Microbiol*, 2002, **68**(2): 772-783.
- [3] Manzanera M, Garcia de Castro A, Tondervik M, et al. Hydroxyectoine is superior to trehalose for anhydrobiotic engineering of *Pseudomonas putida* KT2440. *Appl Environ Microbiol*, 2002, **68**(9): 4328-4333.
- [4] Yancy PH, Clark ME, Hand SC. Living with water stress: evolution of osmolyte systems. *Sci*, 1982, **217**: 1214-1222.
- [5] Antonio V, Joaquín J, Nieto AO. Biology of moderately halophilic aerobic bacteria. *Microbiol Mol Biol Rev*, 1998, **62**(2): 504-544.
- [6] Nagata S, Yao BW. Interrelation between synthesis and uptake of ectoine for the growth of the halotolerant *Brevibacterium* species JCM 6894 at high osmolarity. *Microbios*, 2001, **104**: 7-15.
- [7] Canovas D, Vargas C. Isolation and characterization of salt-sensitive mutants of the moderate halophile *Halomonas elongata* and cloning of the ectoine synthesis genes. *J Biol Chem*, 1997, **272**: 25794-25801.
- [8] Nakayama H, Yoshida K, Ono H, et al. Ectoine, the compatible solute of *Halomonas elongate*, confers hyperosmotic tolerance in cultured tobacco cells. *Plant Physiol*, 2000, **122**(4): 1239-1248.
- [9] Moghaieb REA, Tanaka N, Saneoka H, et al. Characterization of salt tolerance in ectoine-transformed tobacco plants(*Nicotiana tabacum*): photosynthesis, osmotic adjustment, and nitrogen parititoning. *Plant Cell Environ*, 2006, **29**(2): 173-182.
- [10] Zhang W, Hu YG, Zhang LQ, et al. Identification of

- moderately halophilic strain DTY1 and study of its halotolerant mechanism. *Acta Microbiologica Sinica*, 2006, **46**(6): 956–960.
- 张薇, 胡跃高, 张力群, 等. 中度嗜盐菌 DTY1 的鉴定及其耐盐机制的初步分析. *微生物学报*, 2006, **46**(6): 956–960.
- [11] Keen NT, Tamaki S, Kobayashi D, *et al.* Improved broad-host-range plasmids for DNA cloning in Gram-negative bacteria. *Gene*, 1988, **70**: 191–197.
- [12] Wei HL, Zhang LQ. Cloning and functional characterization of the *gacS* gene of the biocontrol strain *Pseudomonas fluorescens* 2P24. *Acta Microbiologica Sinica*, 2005, **45**(3): 368–372.
- 魏海雷, 张力群. 荧光假单胞杆菌 2P24 中生防相关调控基因 *gacS* 的克隆和功能分析. *微生物学报*, 2005, **45**(3): 368–372.
- [13] Louis P, Galinski EA. Characterization of genes for the biosynthesis of the compatible solute ectoine from *Marinococcus halophilus* and osmoregulated expression in *Escherichia coli*. *Microbiology*, 1997, **143**: 1141–1149.
- [14] Zhao B, Lu W, Yang L, *et al.* Cloning and characterization of the genes for biosynthesis of the compatible solute ectoine in the moderately halophilic bacterium *Halobacillus dabanensis* D-8^T. *Curr Microbiol*, 2006, **53**(3): 183–188.
- [15] Eric F, Thomas S, Erwin AG. Production of hydroxyectoine: high cell-density cultivation and osmotic downshock of *marinococcus* strain M52. *Journal of Biotechnology*, 1995, **43**: 53–61.
- [16] Thomas S, Erwin AG. Bacterial milking: A novel bioprocess for production of compatible solutes. *Biotechnology and Bioengineer*, 1998, **57**(3): 306–313.
- [17] He J, Wang T, Sun JQ, *et al.* Isolation and characteristic of a moderately halophilic bacterium accumulated ectoine as main compatible solute. *Acta Microbiologica Sinica*, 2005, **45**(6): 900–904.
- 何健, 汪婷, 孙纪全, 等. 以四氢嘧啶为主要相容性溶质的中度嗜盐菌 I15 的分离和特性研究. *微生物学报*, 2005, **45**(6): 900–904.

《生物工程学报》英文版简介

为了加快期刊的国际化进程, 扩大国际交流, 本刊与国际知名的爱思唯尔出版公司(Elsevier)达成协议, 合作出版英文电子版《Chinese Journal of Biotechnology》, 该刊与中文版同步, 月刊。出版后置于爱思唯尔庞大的 ScienceDirect 网络出版平台上, 我刊网址: <http://www.sciencedirect.com/science/journal/18722075>。

爱思唯尔是国际著名的出版公司, 《Cell》等知名杂志便出自该公司。ScienceDirect 是爱思唯尔建立的最全面的服务于多学科研究型图书馆的电子数据库。研究人员通过它能在线访问超过 1800 种期刊和 400 万篇电子版全文。《生物工程学报》英文版借助这个庞大而成熟的平台, 将可以大大地提高文章的浏览量, 扩大期刊及作者在国内外的影响, 提高文章的被引频次。同时, 出版英文电子版将可克服与国外文字沟通的障碍, 使作者的科研成果能在第一时间为国际同行所了解。

本刊的栏目有综述、研究报告、研究简报和技术与方法等, 范围包括基因工程、细胞工程、酶工程、蛋白质工程、发酵工程、生化工程、代谢工程、组织工程、生物制药、生物芯片、生物反应器及生物信息学等, 涉及生物技术各个领域, 非常欢迎广大科研人员踊跃投稿。直接投英文稿件而被录用的, 也将同时发表在中文印刷版上。本刊将增加英文稿件的刊出量, 并邀请国外专家对录用英文稿件进行英文润色, 部分优质稿件将参考专家意见予以优先发表。英文版不再另收版面费。

具体做法是: 每期从中文版中精选出 5~10 篇稿件译成英文, 凡具备以下条件之一者即可入选: 1. 在理论方面有新发现或新见解。2. 在应用方面取得新进展, 达到新水平。3. 在技术方面建立新方法或改进已有的方法。选中后通知作者译成英文, 经编辑部审核送爱思唯尔出版公司进行文字加工, 再返回作者进行内容确证。

投稿时请注意以下事项: 1. 稿件撰写时, 应力求叙述清楚, 避免语法错误和用词不当。2. 突出创新点, 用具体材料、数据加以说明与论证。3. 加强图表注释, 使读者在不读正文的情况下能正确理解图表的涵义。

欲了解更详细的信息, 请关注我们网页的更新或联络编辑部:

电话: 010-64807509; 传真: 010-64807327 E-mail: cjb@im.ac.cn