

高渗条件下利用蔗糖提升 2-酮基-L-古龙酸生产效率

陈克杰^{1,2}, 周景文^{1,2}, 刘立明^{1,2}, 刘杰³, 堵国成², 陈坚^{1,2}

1 江南大学 食品科学与技术国家重点实验室, 无锡 214122

2 江南大学 工业生物技术教育部重点实验室, 无锡 214122

3 江苏江山制药有限公司, 靖江 214500

摘要: 旨在进一步提升维生素 C 前体 2-酮基-L-古龙酸 (2-KLG) 的生产效率。在详细考察了 2-KLG 工业化生产过程中渗透压变化规律的基础上, 研究了高渗对混合菌系细胞生长和 2-KLG 合成的影响, 提出蔗糖促进伴生菌巨大芽胞杆菌 *Bacillus megaterium* 生长, 进而促进普通生酮古龙酸菌 *Ketogulonigenium vulgare* 生长和产酸的策略。结果表明, 2-KLG 的积累和碱性物质的流加使渗透压上升了 832 mOsmol/kg; 高渗抑制了巨大芽胞杆菌的生长 (15.4%), 从而抑制普通生酮古龙酸菌 (31.7%) 的生长, 导致 2-KLG 产量和生产强度分别下降 67.5% 和 69.3% (以 1 250 mOsmol/kg 为例); 蔗糖的添加则显著促进巨大芽胞杆菌的生长, 使高渗条件下 (摇瓶, 1 250 mOsmol/kg) 2-KLG 产量 (40.6 g/L) 提高 87%; 在 3 L 发酵罐中, 补加 10 mmol/L 蔗糖使 2-KLG 发酵周期缩短 10.8%, 2-KLG 生产强度提高 10.4%。研究成果为在环境胁迫下提高混菌生产目标代谢产物的产量提供了潜在的策略。

关键词: 混菌发酵, 2-酮基-L-古龙酸, 碳源调节, 维生素 C, 高渗

Enhancing 2-keto-L-gulonic acid production under hyperosmotic stress by adding sucrose

Kejie Chen^{1,2}, Jingwen Zhou^{1,2}, Liming Liu^{1,2}, Jie Liu³, Guocheng Du², and Jian Chen^{1,2}

1 State Key Laboratory of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China

2 Key Laboratory of Industrial Biotechnology, Ministry of Education, Jiangnan University, Wuxi 214122, China

3 Jiangsu Jiangshan Pharmaceutical Co. Ltd., Jingjiang 214500, China

Abstract: This study aimed to further enhance 2-keto-L-gulonic acid (2-KLG) production efficiency. A strategy for enhancing *Ketogulonigenium vulgare* growth and 2-KLG production by improving *B. megaterium* growth with sucrose was developed based on the time course of osmolality during 2-KLG industrial scale fermentation and effects of osmolality on cells growth and 2-KLG production. Results showed that the accumulation of 2-KLG and the feeding of alkaline matter led to an osmolality rise of 832 mOsmol/kg in the culture broth. High osmotic stress (1 250 mOsmol/kg) made the growth of *B. megaterium* and *K. vulgare* decreased 15.4% and 31.7%, respectively, and consequently the titer and productivity of 2-KLG reduced 67.5% and 69.3%, respectively. When supplement sucrose under high osmotic condition (1 250 mOsmol/kg), *B. megaterium* growth was significantly improved, with the result that

Received: April 16, 2010; **Accepted:** July 19, 2010

Supported by: National High Technology Research and Development Program of China (863 Program) (No. 2006AA020303), Key Projects in the National Science and Technology Pillar Program during the Eleventh Five-Year Plan Period (No. 2007BAI46B02), National Basic Research Program of China (973 Program) (No. 2007CB714306), Key Program of National Natural Science Foundation of China (No. 20836003).

Corresponding author: Liming Liu. Tel: +86-510-85918307; E-mail: mingll@jiangnan.edu.cn

Jian Chen. E-mail: jchen@jiangnan.edu.cn

国家高技术研究发展计划 (863 计划) (No. 2006AA020303), “十一五”国家科技支撑计划 (No. 2007BAI46B02), 国家重点基础研究发展计划 (973 计划) (No. 2007CB714306), 国家自然科学基金重点项目 (No. 20836003) 资助。

2-KLG production was increased 87%. Furthermore, by applying this sucrose addition strategy further to batch fermentation in 3 L fermentor, the productivity of 2-KLG increased 10.4%, and the duration of fermentation declined 10.8%. The results presented here provide a potential strategy for enhancing the target metabolites produced by mixed strains at environmental stress.

Keywords: mixed culture, 2-keto-L-gulonic acid, carbon source regulation, Vitamin C, hyperosmotic stress

维生素 C 工业化生产普遍采用“两步发酵”工艺,即 L-山梨糖到维生素 C 前体—2-酮基-L-古龙酸(2-keto-L-gulonic acid, 2-KLG) 的转化由普通生酮古龙酸菌 (*Ketogulonigenium vulgare*, 俗称小菌, 原来鉴定为 *Gluconobacter oxydans*) 和巨大芽胞杆菌 (*Bacillus megaterium*, 俗称大菌) 组成的混合菌系来完成^[1]。而在典型 2-KLG 生产的速率模型中, L-山梨糖浓度与产酸速率为拟零级动力学关系, 表明 2-KLG 合成速率与发酵液中底物浓度无关, 而与菌体浓度成正比^[2]。因此, 2-KLG 的生产通常采用发酵液中 L-山梨糖浓度处于最适范围, 通过补料分批发酵的模式, 以维持较高的 2-KLG 合成速率^[3]。类似于有机酸发酵, 2-KLG 发酵过程中需流加一定的 NaOH 或 Na₂CO₃ 等碱性物质以维持发酵液中 pH 处于合适的生理范围内。而随着发酵体系中 2-KLG 和 Na⁺浓度的持续增加, 导致渗透压也持续上升, 进而影响菌体生长、细胞形态、膜流动性、代谢流分配和目标代谢产物的合成^[4-6]。因此, 如能在充分理解 2-KLG 发酵过程中渗透压的变化规律及其对混合菌系生理代谢功能影响的基础上, 发展高效合理的调控策略, 有望进一步提高 2-KLG 生产效率。

本文在研究了 2-KLG 工业化生产过程中渗透压的变化规律和高渗条件下混合菌系代谢行为 (菌体生长和 2-KLG 合成) 的基础上, 针对性地提出碳源调节策略, 实现了促进巨大芽胞杆菌生长, 增加活性物质分泌, 增强混菌耐高渗能力, 提升 2-KLG 生产效率的目的。这一研究结果为在混菌发酵体系中调控渗透压等环境因素促进目标代谢产物的高效合成提供了研究思路。

1 材料与方法

1.1 菌种

普通生酮古龙酸菌 (*K. vulgare*, 俗称小菌), 巨大芽胞杆菌 (*B. megaterium*, 俗称大菌), 由江苏江山制药有限公司 (江苏靖江) 提供。

1.2 培养基

种子培养基 (g/L): L-山梨糖 20, 酵母膏 3, 牛肉膏 3, 大豆蛋白胨 10, 玉米浆 1.5, 尿素 1, KH₂PO₄ 1, MgSO₄ 2, CaCO₃ 1。

基础发酵培养基 (g/L): L-山梨糖 80, 玉米浆 5, 尿素 12, KH₂PO₄ 1, MgSO₄ 1, CaCO₃ 5。

用氯化钠作为渗透诱导剂时, 根据需要适量添加。蔗糖补加浓度为 10 mmol/L。以上所有培养基用自来水配置, 由 2 mol/L NaOH 调 pH 值为 6.7~7.0。碳源 (L-山梨糖) 和氮源分开灭菌, 灭菌条件为 121℃, 15 min。

1.3 培养方法

1.3.1 摇瓶培养

种子培养: 先按划线法自然搭配巨大芽胞杆菌、普通生酮古龙酸菌, 再从混菌斜面接种种子培养基 (75 mL/750 mL 摇瓶), 30℃、200 r/min 培养 18 h。

发酵培养: 将种液按接种量 10% 接入发酵培养基 (75 mL/750 mL 摇瓶), 30℃、200 r/min 培养 72 h 左右。定期取样检测相关参数。

1.3.2 发酵罐培养

在 3 L 发酵罐 (韩国 BioTron 公司) 中进行。发酵罐初始装液量为 2 L, 接种量为 10%。整个发酵过程中, 通气 (1:0.8~1) 下, 溶氧控制在 30%~50%; 温度控制在 (30±0.5)℃; 接种后调 pH 7.0, 前期不控制 pH, 产酸后 pH 下降, 自动流加 30% NaOH 使 pH 维持在 6.9~7.0; 定期取样检测 2-KLG 和 L-山梨糖的含量。当残糖浓度降到 0.3% 以下时, 发酵结束。

1.4 分析方法

1.4.1 菌体浓度测定

菌体浓度测定参见文献[7]。

1.4.2 巨大芽胞杆菌和普通生酮古龙酸菌的计数

巨大芽胞杆菌和普通生酮古龙酸菌以结晶紫染色后, 用血球计数板在显微镜下计数。

1.4.3 渗透压测定

用冰点渗透压计 (德国 Gonotec 公司) 测定。

1.4.4 2-KLG 与 L-山梨糖含量的测定

采用 Agilent 1200 高效液相色谱仪测定^[8]。色谱柱: Aminex HPX-87H (Bio-Rad); 流动相: 0.005 mol/L H₂SO₄; 流速: 0.6 mL/min; 柱温: 35℃; 进样量: 5 μL; 检测器: 示差折光检测器。

1.4.5 L-山梨糖到 2-KLG 转化率的计算^[9]

转化率(%)=

$$\frac{\text{发酵液中每毫升含2-KLG mg数}}{\text{发酵液中每毫升含L-山梨糖mg数} \times 1.07765} \times 100\%$$

2 结果

2.1 2-KLG 积累是发酵体系中渗透压提升的主因

2-KLG 工业化生产中相关发酵参数的变化趋势如图 1A 所示。典型的 2-KLG 发酵过程中, 初始 L-山梨糖浓度为 15~25 g/L, 发酵 4~8 h 后通过流加维持发酵过程中 L-山梨糖浓度为 15~30 g/L, 36~44 h 停止流加, 直至发酵结束。发酵终点时渗透压与起始点比较, 上升了 832 mOsmol/kg。结合前述, 发酵过程中渗透压的增加并非源于 L-山梨糖浓度的增加, 因其浓度始终维持在一定范围, 且发酵终点时浓度有所降低。2-KLG 的不断分泌导致发酵体系 pH 不断下降, 为了将维持 pH 在一定的生理范围内需不断流加 NaOH, 使得 2-KLG 的钠盐浓度不断增加, 从而导致渗透压不断上升。进一步分析发现, 发酵

液中 2-KLG 浓度与渗透压值的增加呈良好的线性关系(图 1B)。这一结果表明, 导致发酵液中渗透压升高的主要原因在于 2-KLG 的不断积累。

2.2 高渗对 2-KLG 发酵的影响

不同渗透压 (氯化钠诱导) 对混合菌系生长和 2-KLG 合成的影响如图 2 所示。当渗透压为 1 250 mOsmol/kg 时, 稳定期 OD₆₆₀ 值为 4.51, 与对照组 (不加 NaCl) 比较, 下降了 14.9%。相应地, 2-KLG 产量 (21.6 g/L) 和生产强度(0.3 g/(L·h)) 均比对照组下降了 67.5%和 69.3%。继续提高发酵液中的渗透压, 细胞生长和 2-KLG 合成则进一步受到抑制, 如渗透压大于 1 400 mOsmol/kg 时, 2-KLG 产量仅为 10.3 g/L。

作者采用显微计数法进一步研究了高渗 (以 1 250 mOsmol/kg 为例) 对混合菌系生长的影响, 结果如图 3 所示。与对照组比较: 1) 巨大芽胞杆菌的延迟期延长了 9 h, 普通生酮古龙酸菌延长了 11 h; 2) 巨大芽胞杆菌对数期平均比生长速率下降了 27.7%, 普通生酮古龙酸菌下降了 52.9%; 3) 巨大芽胞杆菌稳定期菌体数量下降了 15.4%, 普通生酮古龙酸菌下降了 31.7%。上述结果表明, 高渗显著抑制了普通生酮古龙酸菌的生长。然而, 普通生酮古龙酸菌生长和合成 2-KLG 的能力取决于混合菌系中巨大芽胞杆菌的生长状况^[10]。因此, 高渗抑制普通生酮古龙酸菌生长和 2-KLG 合成的根本原因在于巨大芽胞杆菌生长受到抑制, 导致活性物质分泌减

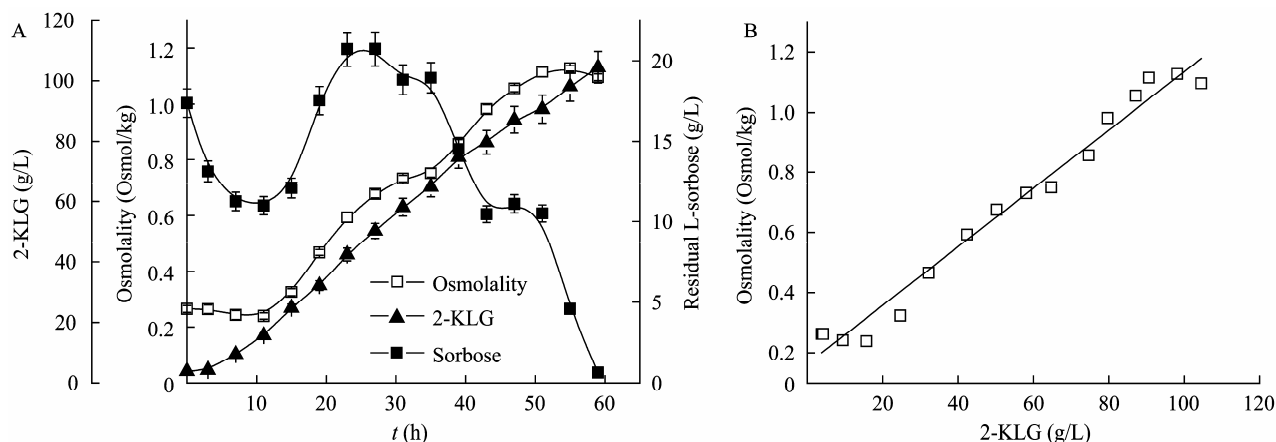


图 1 典型 2-KLG 工业发酵过程曲线 (A) 及渗透压与 2-KLG 含量的关系 (B)

Fig. 1 Time-course of 2-KLG fermentation process during industrial production (A) and the correlation between osmolality and the 2-KLG concentration (B).

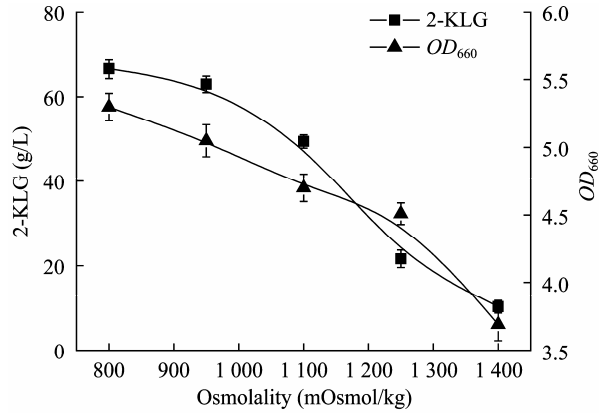


图2 渗透压对混菌生长和 2-KLG 生产的影响
Fig. 2 Effect of osmolality on the mixed strains growth and the 2-KLG production.

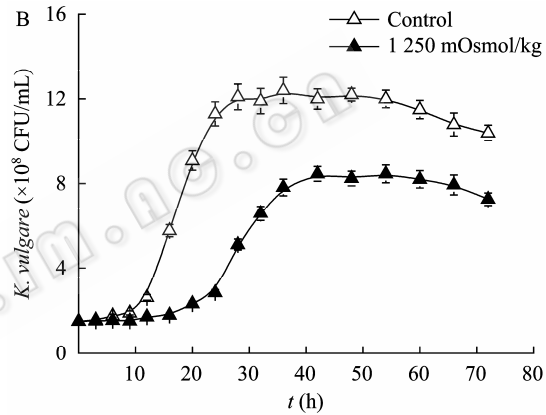
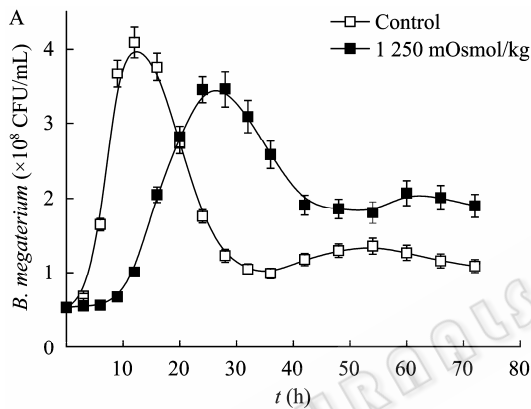


图3 高渗对混菌中巨大芽胞杆菌 (A) 和普通生酮古龙酸菌 (B) 生长的影响
Fig. 3 Effect of osmolality on the growth of *B. megaterium* (A) and *K. vulgare* (B).

表1 高渗条件下不同碳源对 2-KLG 生产和混菌生长的影响

Table 1 Effect of different carbon sources on the 2-KLG production and the mixed strains growth under 1 250 mOsmol/kg condition

Carbon source	2-KLG (g/L)	<i>K. vulgare</i> ($\times 10^8$ CFU/mL, 48 h)	<i>B. megaterium</i> ($\times 10^8$ CFU/mL, 24 h)
Control (without addition)	21.6 \pm 2.1	8.2 \pm 0.8	3.4 \pm 0.3
10 mmol/L glucose	37.5 \pm 1.5	10.1 \pm 1.0	6.2 \pm 0.6
10 mmol/L fructose	36.1 \pm 2.3	10.3 \pm 1.2	6.0 \pm 0.6
10 mmol/L trehalose	40.3 \pm 1.9	10.8 \pm 1.1	5.9 \pm 0.5
10 mmol/L sucrose	40.6 \pm 2.1	11.1 \pm 1.4	6.3 \pm 0.7
10 mmol/L maltose	39.1 \pm 1.4	10.6 \pm 1.3	6.6 \pm 0.6
10 mmol/L sorbitol	34.8 \pm 2.8	9.5 \pm 0.7	4.5 \pm 0.5

基于上述结果, 作者进一步研究了高渗条件(以 1 250 mOsmol/kg 为例) 下添加蔗糖对混菌生长和 2-KLG 合成的影响(图 4)。与未添加蔗糖的对照组(1 250 mOsmol/kg) 比较, 平稳期(48 h) 混菌浓

少。鉴于此, 高渗条件下如何调控巨大芽胞杆菌的生长, 对 2-KLG 的高效生产就显得尤为重要。

2.3 蔗糖促进高渗条件下 2-KLG 生产

在 2-KLG 发酵体系中, 巨大芽胞杆菌并不能利用 L-山梨糖, 仅能利用玉米浆中的碳源生长。玉米浆中还原糖的浓度约为 11%^[11], 因此作者选取并研究了玉米浆中典型碳源对高渗条件下(以 1 250 mOsmol/kg 为例) 混合菌系生长和 2-KLG 合成的影响, 结果如表 1 所示。表 1 表明, 碳源的添加有效地促进了混合菌系生长和 2-KLG 合成。但总体而言, 二糖更能显著提高 2-KLG 的合成效率。

度、72 h 时 2-KLG 含量(40.6 g/L)、2-KLG 生产强度、L-山梨糖消耗速率分别提高了 73%、87%、95.0% 和 88.9%。同时, 蔗糖的添加也明显地提高了 2-KLG 对 L-山梨糖的转化率。

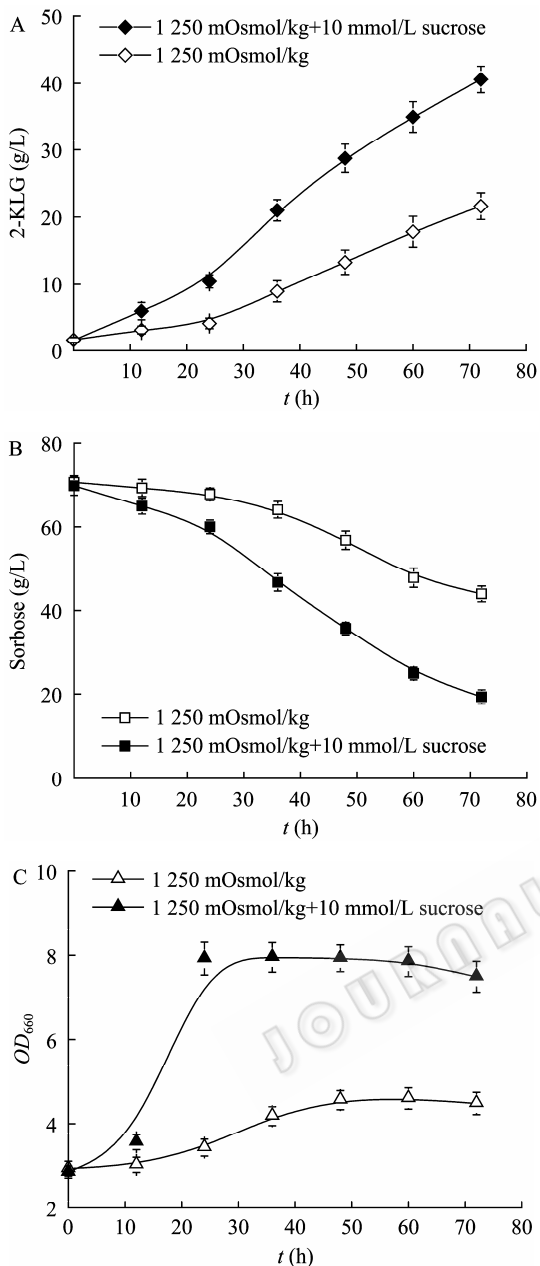


图 4 蔗糖促进高渗条件下 2-KLG 的生产
Fig. 4 Sucrose enhances the 2-KLG production under hyperosmotic stress (1 250 mOsmol/kg) induced by NaCl.

2.4 蔗糖提升分批发酵 2-KLG 生产效率

作者在 3 L 发酵罐中进一步研究了添加 10 mmol/L 蔗糖对 2-KLG 生产的影响 (图 5 和表 2)。与未添加的对照组比较: 1) 巨大芽胞杆菌稳定期细胞提高 42%, 普通生酮古龙酸菌稳定期细胞提高 10.6%; 2) 发酵周期由 37 h 缩至 33 h, 发酵时间缩短了 10.8%; 3) 转化率由 89.9% 提高到 92.8%; 4) 2-KLG 生产强度由 1.87 g/(L·h) 提高到 2.07 g/(L·h), 提高了 10.4%。

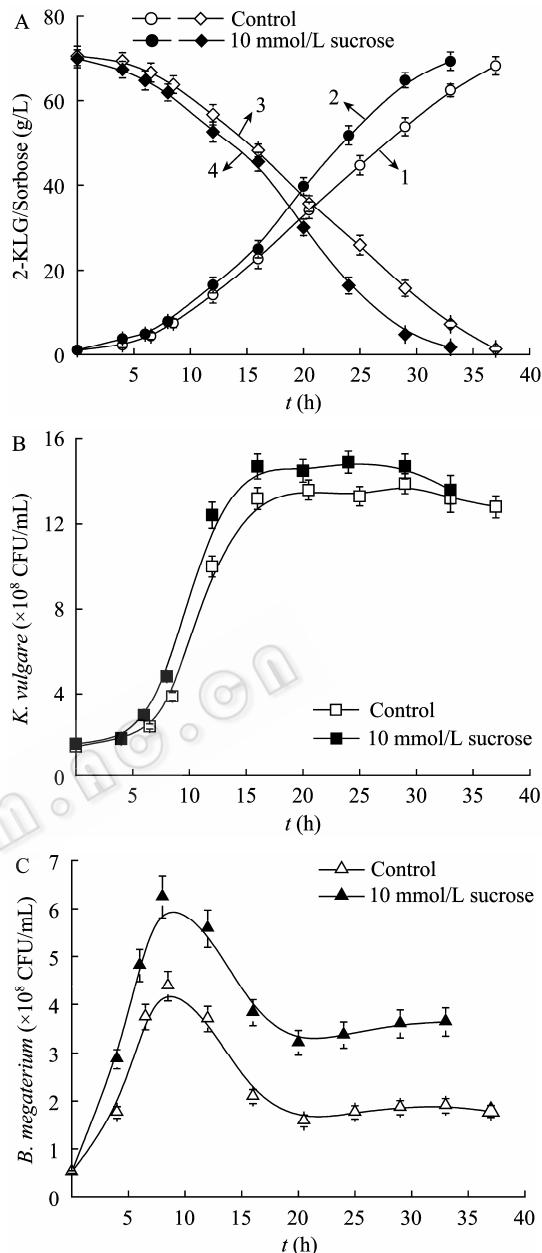


图 5 蔗糖补加对 2-KLG 混菌分批发酵的影响
Fig. 5 Effect of sucrose on the 2-KLG fermentation by mixed culture in 3 L fermentator. (A) 1, 2: 2-KLG; 3, 4: sorbose.

表 2 3 L 发酵罐上蔗糖对 2-KLG 发酵参数的影响
Table 2 Effect of sucrose on the 2-KLG fermentation parameters by mixed culture in 3 L fermentator

Parameters	Batch culture	
	Control	10 mmol/L sucrose supplement
Fermentation time (h)	37	33
Total consumed sorbose (g/L)	69.30±1.90	68.20±1.70
Total 2-KLG production (g/L)	67.20±2.20	68.30±1.60
2-KLG productivity (g/(L·h))	1.87±0.03	2.07±0.02
Rate of sorbose consumed (g/(L·h))	1.82±0.02	2.07±0.02
Conversion ratio (%)	89.90±0.01	92.80±0.01

3 讨论

作为一个典型的有机酸发酵过程, 维生素 C 前体物质 2-KLG 发酵体系中 pH 因 2-KLG 的积累而不断下降, 为了维持最适 pH 范围需不断流加的碱性物质则导致渗透压不断升高 (图 1)。不断升高的渗透压显著抑制了巨大芽胞杆菌和普通生酮古龙酸菌的生长, 并最终限制了 2-KLG 的合成 (图 3)。高渗对混合菌系中普通生酮古龙酸菌的毒害作用表现为:

1) 渗透压对普通生酮古龙酸菌的“直接作用”: 直接抑制普通生酮古龙酸菌生长和产酸; 2) 渗透压对伴生菌巨大芽胞杆菌的“间接作用”: 影响巨大芽胞杆菌生长以及活性物质的分泌, 从而间接影响普通生酮古龙酸菌生长和产酸。2-KLG 发酵中普通生酮古龙酸菌与巨大芽胞杆菌之间的关系体现在: 1) 普通生酮古龙酸菌具有高效合成 2-KLG 的全部酶系, 但单独培养时生长非常微弱, 且几乎难以合成 2-KLG; 2) 巨大芽胞杆菌不具备合成 2-KLG 的酶系, 但能分泌活性物质促进普通生酮古龙酸菌生长和合成 2-KLG; 3) 普通生酮古龙酸菌生长和合成 2-KLG 的能力随着发酵初期混合菌系中巨大芽胞杆菌比例的增加而增加; 4) 巨大芽胞杆菌裂解释放的胞内活性物质对普通生酮古龙酸菌细胞生长和 L-山梨糖脱氢酶活性具有强烈的促进作用^[12-13], 且发酵体系中活性物质的丰度直接决定普通生酮古龙酸菌合成 2-KLG 的效率。基于此, 如何在高渗条件下提高 2-KLG 合成效率的着眼点在于保证巨大芽胞杆菌的充分生长, 以提高高丰度的生物活性物质。混合菌系中巨大芽胞杆菌仅能利用玉米浆中的碳源。因此, 培养体系中充足的碳源对巨大芽胞杆菌的生长就显得尤为重要。作者在分析玉米浆中碳源种类及其对巨大芽胞杆菌和普通生酮古龙酸菌生长影响的基础上, 发现高渗 (1 250 mOsmol/kg) 条件下蔗糖显著促进巨大芽胞杆菌单独生长与混菌体系中普通生酮古龙酸菌的生长和产酸, 且效果一致。在 3 L 发酵罐分批发酵中添加蔗糖使 2-KLG 的生产强度提高了 10.4%。这一研究结果表明, 添加蔗糖能够有效提高高渗条件下巨大芽胞杆菌的生长能力, 促使生物活性物质的分泌, 进而促进普通生酮古龙酸菌

的生长和 2-KLG 的合成。

REFERENCES

- [1] Yin GL, Tao ZX, Yu LH, *et al.* Studies on the production of vitamin C precursor—2-keto-L-gulonic acid from L-sorbose by fermentation I. Isolation, screening and identification of 2-keto-L-gulonic acid producing bacteria. *Acta Microbiol Sin*, 1980, **20**(3): 246–251.
尹光琳, 陶增鑫, 于龙华, 等. L-山梨糖发酵产生维生素 C 前体—2-酮基-L-古龙酸的研究 I. 菌种的分离筛选和鉴定. *微生物学报*, 1980, **20**(3): 246–251.
- [2] Wei DZ, Yuan WK, Yin GL, *et al.* Studies on kinetic model of vitamin C two-step fermentation proces. *Chin J Biotech*, 1992, **8**(3): 277–282.
魏东芝, 袁渭康, 尹光琳, 等. 维生素 C 二步发酵过程动力学模型的研究. *生物工程学报*, 1992, **8**(3): 277–282.
- [3] Ren SX, He JM, Song Q, *et al.* Production of vitamin C precursor—2-keto-L-gulonic acid from L-sorbose by a novel bacterial component system of SCB329-SCB933 II. High sorbose fermentation by installment-batch method. *Ind Microbiol*, 1997, **27**(2): 5–9.
任双喜, 何建明, 宋祺, 等. 新组合菌系 SCB329-SCB933 利用 L-山梨糖发酵生产维生素 C 前体—2-酮基-L-古龙酸的研究 II. 利用 L-山梨糖批加技术实现高糖发酵. *工业微生物*, 1997, **27**(2): 5–9.
- [4] Pianetti A, Battistelli M, Citterio B, *et al.* Morphological changes of *Aeromonas hydrophila* in response to osmotic stress. *Micron*, 2009, **40**(4): 426–433.
- [5] Laroche C, Beney L, Marechal PA, *et al.* The effect of osmotic pressure on the membrane fluidity of *Saccharomyces cerevisiae* at different physiological temperatures. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2001, **56**(1/2): 249–254.
- [6] Varela C, Agosin E, Baez M, *et al.* Metabolic flux redistribution in *Corynebacterium glutamicum* in response to osmotic stress. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2003, **60**(5): 547–555.
- [7] Xu A, Yao JM, Yu ZL. Improvement of mingle strains in the fermentation of 2-keto-L-gulonic acid—Precursor of Vc by ion implantation (I) screening of strain IPPM-1028 for high-yielding 2-keto-L-gulonic acid. *Ind Microbiol*, 1998, **28**(4): 23–26.
许安, 姚建铭, 余增亮. 离子注入改良维生素 C 二步发酵混合菌研究(I) 2-酮基-L-古龙酸高产菌系 IPPM-1028 的选育. *工业微生物*, 1998, **28**(4): 23–26.
- [8] Urbance JW, Bratina BJ, Stoddard SF, *et al.* Taxonomic

characterization of *Ketogulonigenium vulgare* gen. nov., sp. nov and *Ketogulonigenium robustum* sp. nov., which oxidize L-sorbose to 2-keto-L-gulonic acid. *Int J Syst Evol Microbiol*, 2001, **51**(3): 1059–1070.

- [9] Zhu KL, Zhang HH, Sun CB, *et al.* Studies on inoculation in the two-step-fermentation of vitamin C. *J Microbiol*, 1998, **18**(2): 13–15.

朱可丽, 张海宏, 孙传宝, 等. 维生素 C 二步发酵混菌接种控制. 微生物学杂志, 1998, **18**(2): 13–15.

- [10] Feng S, Sun CB, Zhang ZZ, *et al.* Effects of *Bacillus megaterium* on growth and 2KGA synthesizing of *Gluconobacter oxydans* in vitamin C two-step fermentation process. *J Microbiol*, 1998, **18**(1): 6–9.

冯树, 孙传宝, 张忠泽, 等. 维生素 C 二步发酵中巨大

芽孢杆菌对氧化葡萄糖酸杆菌生长和产酸的影响. 微生物学杂志, 1998, **18**(1): 6–9.

- [11] Liggett RW, Koffler H. Corn steep liquor in microbiology. *Bacteriol Rev*, 1948, **12**(4): 297–311.

- [12] Feng S, Zhang Z, Zhang CG, *et al.* Effect of *Bacillus megaterium* on *Gluconobacter oxydans* in mixed culture. *Chin J Appl Ecol*, 2000, **11**(1): 120–123.

冯树, 张舟, 张成刚, 等. 混合培养中巨大芽孢杆菌对氧化葡萄糖酸杆菌的作用. 应用生态学报, 2000, **11**(1): 120–123.

- [13] Zhao, SG, Yao LM, Su CX, *et al.* Purification and properties of a new L-sorbose dehydrogenase accelerative protein from *Bacillus megaterium* bred by ion-beam implantation. *Plasma Sci Technol*, 2008, **10**(3): 398–402.

~~~~~

## 科学出版社科学出版中心生命科学分社新书推介

### 生命的乐章——后基因组时代的生物学

〔英〕 D.诺布尔 著 张立藩 卢虹冰 译

978-7-03-028790-8    ¥28.00    2010年9月出版

#### 内容简介

本书是英国 D.诺布尔教授于 2006 年出版的一本科普读物 *The Music of Life* 的中译本。原著现已被译成 7 种语言。本书以思辨的题材和运用比喻及讲述故事的手法, 对后基因组时代生命科学所面临的重大问题进行了讨论; 作者还深入浅出地介绍了系统生物学的基本概念和重要发现, 并指出系统层次理论在揭示生命奥秘中的重要意义。

本书不仅可供有关专业的大学生、研究生和科技人员阅读, 也可作为广大科学爱好者和青年学生的一本科普读物。



欢迎各界人士邮购科学出版社各类图书 (免邮费)

邮购地址: 北京东黄城根北街 16 号 科学出版社 科学出版中心 生命科学分社 邮编: 100717

联系人: 周文字 (010-64031535)

网上订购: [www.dangdang.com](http://www.dangdang.com) [www.joy.com](http://www.joy.com) [www.amazon.cn](http://www.amazon.cn) [www.beifabook.com](http://www.beifabook.com)

更多精彩图书请登陆网站 <http://www.lifescience.com.cn>, 欢迎致电索要书目