

利用人工锌指文库选育高乙醇耐受性工业酵母菌株

马翠¹, 赵心清¹, 李倩¹, 张明明¹, Jin Soo Kim², 白凤武¹

1 大连理工大学生命科学与技术学院, 辽宁 大连 116024

2 ToolGen, Inc, Seoul, 153-023, South Korea

马翠, 赵心清, 李倩, 等. 利用人工锌指文库选育高乙醇耐受性工业酵母菌株. 生物工程学报, 2013, 29(5): 612-619.
Ma C, Zhao XQ, Li Q, et al. Breeding of robust industrial ethanol tolerant *Saccharomyces cerevisiae* strain using artificial zinc finger protein library. Chin J Biotech, 2013, 29(5): 612-619.

摘 要: 选育高乙醇耐性的酿酒酵母菌株对提高燃料乙醇的发酵效率具有重要意义。锌指蛋白广泛存在于多种生物中, 对基因的转录和翻译起重要的调节作用。利用人工设计的锌指蛋白可定向设计锌指序列及其排列顺序, 实现对细胞内多个基因的全局调控。由于与环境胁迫反应相关的基因很多, 因此可利用人工锌指蛋白技术获得耐受性提高的微生物重组菌。文中将人工锌指文库转入到酿酒酵母模式菌株 S288c, 选育了具有高乙醇耐受性的重组菌株 M01, 并分离了与乙醇耐受性提高相关的人工锌指蛋白表达载体 pRS316ZFP-M01, 转入工业酿酒酵母 Sc4126, 在含有不同浓度乙醇的平板上, 工业酵母 Sc4126 的重组菌株表现出显著的耐受性提高。在高糖培养基 (250 g/L) 条件下进行乙醇发酵, 发现重组菌的乙醇发酵效率明显快于野生型, 发酵时间提前 24 h, 且发酵终点乙醇浓度提高 6.3%。结果表明人工锌指文库能够提高酵母的乙醇耐受性, 为构建发酵性能优良的酵母菌种奠定了基础。

关键词: 酿酒酵母, 人工锌指蛋白, 乙醇耐受性, 乙醇发酵

Received: November 11, 2012; **Accepted:** January 4, 2013

Supported by: National Science Foundation of China (No. 21076040), National High Technology Research and Development Program of China (863 Program) (Nos. 2012AA101805, 2012AA021205).

Corresponding author: Xinqing Zhao. Tel: +86-411-84706319; Fax: +86-411-84706329; E-mail: xqzhao@dlut.edu.cn

国家自然科学基金 (No. 21076040), 国家高技术研究发展计划 (863 计划) (Nos. 2012AA101805, 2012AA021205) 资助。

Breeding of robust industrial ethanol-tolerant *Saccharomyces cerevisiae* strain by artificial zinc finger protein library

Cui Ma¹, Xinqing Zhao¹, Qian Li¹, Mingming Zhang¹, Jin Soo Kim², and Fengwu Bai¹

¹ School of Life Science and Biotechnology, Dalian University of Technology, Dalian 116024, Liaoning, China

² ToolGen, Inc., Seoul, 153-023, South Korea

Abstract: Breeding of robust industrial *Saccharomyces cerevisiae* strains with high ethanol tolerance is of great significance for efficient fuel ethanol production. Zinc finger proteins play important roles in gene transcription and translation, and exerting control on the regulation of multiple genes. The sequence and localization of the zinc finger motif can be designed and engineered, and the artificial zinc finger protein can be used to regulate cellular metabolism. Stress tolerance of microbial strains is related to multiple genes. Therefore, it is possible to use artificially-designed zinc finger proteins to breed stress tolerant strains. In this study, a library containing artificial zinc finger protein encoding genes was transformed into the model yeast strain S288c. A recombinant strain named M01 with improved ethanol tolerance was obtained. The plasmid in M01 was isolated, and then transformed into the industrial yeast strain Sc4126. Ethanol tolerance of the recombinant strain of Sc4126 were significantly improved. When high gravity ethanol fermentation using 250 g/L glucose was performed, comparing with the wild-type strain, fermentation time of the recombinant strain was decreased by 24 h and the final ethanol concentration was enhanced by 6.3%. The results of this study demonstrate that artificial zinc finger proteins are able to exert control on stress tolerance of yeast strains, and these results provide basis to construct robust industrial yeast strains for efficient ethanol fermentation.

Keywords: *Saccharomyces cerevisiae*, artificial zinc finger protein, ethanol tolerance, ethanol fermentation

利用可再生生物质资源生产生物燃料,是解决我国能源短缺问题的重要途径,但目前生物燃料的生产效率还有待提高。发酵终产物乙醇浓度偏低,导致后续精馏能耗过高,是影响燃料乙醇工业化生产的一个关键因素。此外,原料水解过程中产生的多种抑制物(如乙酸、糠醛等)对细胞生长和发酵的抑制,也是影响发酵效率的主要因素^[1-2]。选育对高浓度乙醇和乙酸等抑制物具有较好耐受性的工业酵母菌株,可提高菌种的细胞活性和发酵性能,因此近年来引起了普遍的关注^[3-6]。

影响酵母菌乙醇耐受性的基因有很多^[7-9],

如热休克蛋白和海藻糖合成相关基因,细胞能量代谢相关基因,氨基酸合成及转运相关基因,细胞壁及细胞质膜成分合成基因,以及糖转运蛋白基因等。利用关键途径的代谢工程改造与全基因组重组技术相结合的手段,成功构建了胁迫耐性和发酵效率均提高的基因工程菌株,提高了工业酿酒酵母的逆境抗性和发酵性能^[10-11],但由于胁迫耐受性受多基因控制,目前提高酿酒酵母乙醇耐受性的有效方法是通过基因组改组(Genome shuffling),全局转录工程(Global transcription machine engineering, gTME)等基因组工程改造手段,以实现对相关基因的全局调控^[6,12-14]。

锌是影响酵母细胞生长和代谢的重要金属元素,除了作为辅酶影响酶活性,锌还可结合多种蛋白和核酸,并对其结构的维持和调节功能具有重要作用^[15]。锌指蛋白是含锌蛋白质中最常见的一种,在转录和翻译过程中起到至关重要的作用,可调控多种重要的细胞代谢途径。生物信息分析表明,酿酒酵母基因组中含有 31 个锌指蛋白,其中一些锌指蛋白,如 MSN2、MSN4、CRZ1 等对乙醇耐性具有调节作用^[16-17],但很多其他锌指蛋白的功能还不清楚。利用人工合成的锌指蛋白在细胞中表达,可实现对细胞中多个基因的同时调控,从而实现对代谢的多效调节^[18-20]。已证明人工锌指蛋白基因在酵母中的表达可提高酵母菌的耐药性^[19],但人工锌指蛋白在工业酿酒酵母菌株选育中的应用还没有报道。

本文将人工锌指蛋白基因文库转化到酿酒酵母模式酵母 S288c 中,成功选育了乙醇耐性提高的重组菌 M01,并进一步获得了乙醇耐性和高糖发酵性能提高的工业酵母重组菌。

1 材料与方法

1.1 微生物菌种和培养基

大肠杆菌 DH5 α ,酿酒酵母模式菌株 S288c,以及乙醇工业酵母 Sc4126,本实验室保存。

YPD 培养基 (g/L): 葡萄糖 20,蛋白胨 20,酵母浸粉 10; LB 培养基 (g/L): 蛋白胨 10,酵母浸粉 5, NaCl 10; 种子培养基 (g/L): 葡萄糖 30,酵母浸粉 4,蛋白胨 3; 发酵培养基 (g/L): 葡萄糖 250,酵母浸粉 12,蛋白胨 10。

大肠杆菌转化子培养加入氨苄青霉素,终浓度为 100 $\mu\text{g/mL}$,酵母菌转化子的筛选利用 G418,终浓度为 200 $\mu\text{g/mL}$ (S288c 宿主) 或 300 $\mu\text{g/mL}$

(Sc4126 宿主)。

1.2 方法

1.2.1 人工锌指文库的转化与乙醇耐性提高的重组菌的获得

人工锌指基因文库由韩国 ToolGen 公司提供^[19]。为筛选乙醇耐性提高的重组菌株,实验首先确定了出发菌株 S288c 在 20%乙醇冲击时细胞活性的变化,在含有 20%乙醇的 YPD 液体培养基中接种 S288c, 30 $^{\circ}\text{C}$ 、150 r/min 摇床培养,在 2 h、3 h、4 h 时分别取样,涂布于 YPD 固体培养基中培养 24 h,确定使菌体全部死亡的最短冲击时间。若重组菌株在同样冲击条件下可以存活,说明其乙醇耐受性提高,这样可以使更多耐性提高的重组菌得到富集,达到初步筛选的目的。接着对转化子进行进一步筛选,将转化子用含有 20%乙醇的 YPD 液体培养基中,150 r/min、30 $^{\circ}\text{C}$ 处理 3 h,然后涂布于含有 10%乙醇的 YPD 固体培养基中,30 $^{\circ}\text{C}$ 培养。为筛选耐性较强的转化子,将各转化子在 YPD 液体培养基中,30 $^{\circ}\text{C}$ 、150 r/min 摇床培养 12 h 后,取菌液进行点板实验,在乙醇终浓度为 0%、6%、8%、10% (V/V) 的 YPD 固体培养基上,30 $^{\circ}\text{C}$ 培养,从而筛选得到乙醇耐性提高的酿酒酵母重组菌 M01,耐性实验至少重复 3 次。

1.2.2 人工锌指蛋白的序列分析及功能验证

按照参考文献[21]所示的方法提取重组菌 M01 中的质粒 DNA,并转化大肠杆菌,提取含有人工锌指蛋白的载体 pRS316ZFP-M01。同时以其作为模板,利用设计的引物 Zinc-4-F2 (5'-CACCAAGTGTAAGCCTATCCCTGAC-3') 和 Zinc-4-R2 (5'-GCGGACCTCTGAGTTGATGCTGTAA-3') 扩增人工锌指蛋白基因片段,并进行测

序分析 (Invitrogen, 上海)。人工锌指蛋白基因序列已提交 GenBank (Accession No. JX982113)。

1.2.3 相关人工锌指蛋白对工业酵母的乙醇耐受性的影响

采用电转化方法, 将 pRS316ZFP-M01 载体转入工业酵母 Sc4126, 利用 1.2.1 中的点板方法比较转化子与野生型菌株之间的乙醇耐受性差异。实验重复 3 次, 得到可重复性的结果。

1.2.4 工业酵母转化子乙醇发酵性能研究

利用 Sc4126 重组菌株和野生型菌株进行高糖发酵, 分别接种到装有 50 mL 种子培养基的 250 mL 三角瓶中, 30 °C 培养 16 h。然后以 10% 的接种量接种到装有 100 mL 发酵培养基的 250 mL 三角瓶中, 150 r/min、30 °C 发酵。每隔 12 h 取样测定菌体浓度 (OD_{620}) 和残糖含量, 待残糖含量低于 20 g/L 时改为每 6 h 取样, 然后离心取上清液, 稀释适当倍数后按参考文献方法测量还原糖和乙醇的含量^[22]。发酵实验重复 3 次, 得到一致的结果。

2 结果与分析

2.1 以酿酒酵母 S288c 为宿主的高乙醇耐受性重组菌的筛选

本实验室前期将人工锌指蛋白文库直接转化工业酵母 4126, 在 20 000 个转化子中获得了约 200 个乙醇耐受性提高的重组菌株, 但乙醇发酵性能与野生型相比没有明显提高, 而且在不含高浓度乙醇的平板上, 重组菌生长速率明显弱于野生型。因此选择对乙醇敏感的模式酵母 S288c 作为宿主进行研究。结果表明, 在 20% 高浓度乙醇冲击后, 筛选得到耐性可能提高的转化子, 选取长势较快的 4 株转化子进一步比较, 结果见图 1。

在不含乙醇的平板上, 重组菌已经表现出了比较强的生长优势, 而在含有 6%~10% 的乙醇平板上, 重组菌的生长优势更加明显 (图 1)。

2.2 与乙醇耐受性提高相关的人工锌指蛋白序列分析

挑取耐性提高的 4 号酵母重组菌 (命名为 M01) 提取载体, 获得了含有人工锌指蛋白的表达载体 pRS316ZFP-M01。利用该载体为模板, 扩增出含有锌指蛋白基因的目标片段, 氨基酸序列分析结果表明, 耐性提高的重组菌中锌指蛋白是四锌指蛋白, 均为 Cys2His2 型锌指, 其中含有 4 个 $CX_2-4CX_3FX_5LX_2HX_{3-5}H$ (X 代表任意氨基酸) 型基序, 分别为 Zinc 1、2、3、4 (图 2)。通过序列比对发现, pRS316ZFP-M01 中编码锌指基序的序列分别与已知的锌指蛋白基因 *ZNF189*、*FAM92A1*、*GRCH37* 和 *ZNF314* 的锌指基序相似^[23], 但这些锌指基序在工业酵母中识别和控制的基因, 以及从而导致的调控机理还不清楚。

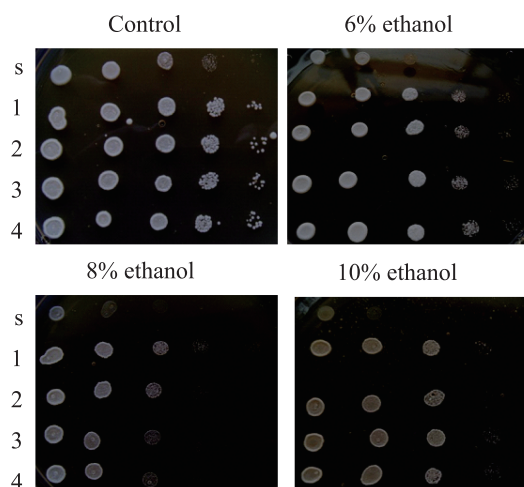


图 1 酿酒酵母 S288c 的高乙醇耐受性重组菌的筛选
Fig. 1 Screening of ethanol tolerant recombinant strains of S288c.

NLS Zinc1
 MGAPPKKRKKVAGSTSNRQCAGIPGEKPYECNYCGKTFVS
 Zinc2
 STLIRHQRIHTGEKPYECDHCGKAFSVSSNLNVHRRHTGEK
 Zinc3 Zinc4
 YRCKYCDRSFSISSNLQRHVRNIHTGEKPFKCPVCGKAFRHSS
 Ume6
 SLVRHQRTHTGEKAAANSASSTKLDDDLGTAAAVLSNMRSS
 PYRTHDKPISNVNDMNNTNALGVPASRPHSSSFPSKGVLRLPIL
 LRIHNSEQQPIFESNNSTACI

图2 人工锌指蛋白氨基酸序列分析

Fig. 2 Analysis of amino acid sequences of the artificial zinc finger protein.

楚, 目前正在对人工锌指蛋白的作用机理进行进一步的研究。

2.3 工业酵母中人工锌指蛋白作用的比较

2.3.1 固体培养基上转化子与野生型之间的耐受性差异

将 pRS316ZFP-M01 转入乙醇发酵性能较好的工业酵母 Sc4126 中, 得到的转化子 Sc4126z 在含有 0%、8%、10% (V/V) 的乙醇和 5 g/L 乙酸的固体平板上进行生长比较, 结果见图 3。可以看出 Sc4126 的转化子在 10% 乙醇的胁迫下耐受性明显提高, 在 5 g/L 乙酸的平板上也可以表现出细胞生长明显好于野生型菌株, 这说明人工锌指基因确实可以提高酵母菌对多种环境胁迫因素的耐受性。但将该载体转化另外一株工业酵母菌 Sc6525, 获得的转化子耐受性并未得到改善 (结果未显示), 表明耐受性的改变与酵母菌的遗传背景有关。类似的现象在韩国学者利用同样的人工锌指蛋白基因文库进行癌细胞研究时也发现过^[24], 作者将人工锌指蛋白基因 F2840-p65 同时转入 293 细胞和 Hela 细胞中, 并进行基因芯片分析, 发现该基因虽然在两种细胞中可调控一些类似的基因群的表达, 但一些基因的调控方式在

两个细胞中也存在差异, 推测染色质的结构以及 DNA 含量的不同可能是导致差异的原因。

2.3.2 转化子的高糖发酵结果

由于在固体培养基上 Sc4126 的重组菌 Sc4126z 与野生型相比, 乙醇耐受性表现出了明显提高, 因此选择该重组菌进行高糖乙醇发酵实验, 结果见图 4。由图 4A 可以看出, 在相同接种量的情况下, 重组菌与野生型生长趋势基本一致, 重组菌株生长略好于野生型。由图 4B 中可以看出, 与野生型相比, 重组菌的最终乙醇产量为 85.28 g/L, 而野生型的最终乙醇产量为 80.19 g/L, 重组菌比野生型的乙醇产量高 6.3%; 培养基中残糖的变化, 两个菌株也表现出显著差异, 在发酵进行 60 h 后, 重组菌培养基中的葡萄糖基本完全消耗, 而此时野生型培养基中的残糖量高达 23.19 g/L, 即使延长发酵时间残糖也无法完全消耗 (图 4B)。

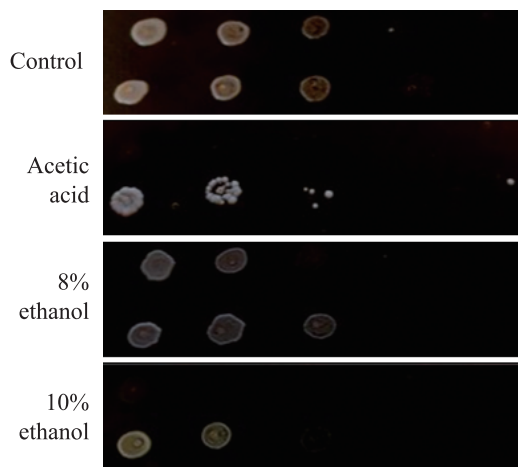


图3 含人工锌指蛋白的工业酵母 Sc4126 重组菌环境胁迫耐受性提高

Fig. 3 Stress tolerance was improved by artificial zinc finger protein in industrial yeast strain Sc4126. Upper panel: Sc4126; lower panel: Sc4126z.

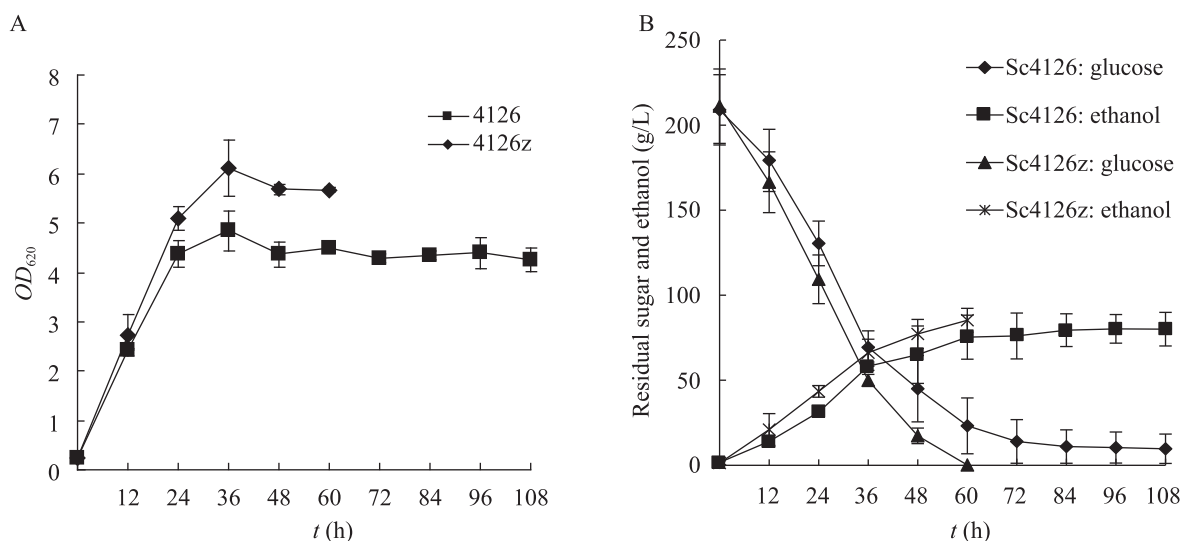


图4 高糖发酵中菌体浓度 (A)、乙醇和还原糖浓度的变化 (B)

Fig. 4 Cell growth (A), ethanol production and glucose consumption (B) of the yeast strains under high concentration substrate condition.

目前对人工锌指蛋白作用机理的研究还不够深入。人工锌指蛋白可结合基因组上多个DNA位点, 这些位点通常是基因的启动子区域, 同一锌指蛋白可同时上调某些基因的表达和抑制某些基因的表达, 从而实现对基因组全局水平的调控^[23]。本实验室近期的研究发现, 锌对酿酒酵母乙醇发酵过程中乙醇耐受性和乙酸、高温等耐受性都具有保护作用^[22,25], 但这种保护作用是否与锌指蛋白参与的调控相关还不清楚, 目前正在进行深入的机理研究, 从而寻找可能的提高乙醇耐受性的目标基因, 进行进一步理性的代谢工程改造。本文的结果表明, 利用人工锌指蛋白可提高酿酒酵母的乙醇耐受性, 获得高乙醇耐受性的工业酵母重组菌。对耐受性提高的工业酵母重组菌进行进一步的分析, 将揭示人工锌指蛋白对细胞代谢的调控机制, 为定向改造工业酵母菌株, 提高燃料乙醇的生产效率奠定基础。

REFERENCES

- [1] Zhang SS, Huang RB, Zhou X, et al. Advances in research on the mechanisms of *Saccharomyces cerevisiae* ethanol tolerance. China Microbiol, 2009, 36(10): 1604–1608 (in Chinese).
张穗生, 黄日波, 周兴, 等. 酿酒酵母乙醇耐受性机理研究进展. 微生物学通报, 2009, 36(10): 1604–1608.
- [2] Li HX, Zhang XR, Shen Y, et al. Inhibitors and their effects on *Saccharomyces cerevisiae* and relevant countermeasures in bioprocess of ethanol production from lignocellulose—a review. Chin J Biotech, 2009, 25(9): 1321–1328 (in Chinese).
李洪兴, 张笑然, 沈煜, 等. 纤维素乙醇生物加工过程中的抑制物对酿酒酵母的影响及应对措施. 生物工程学报, 2009, 25(9): 1321–1328.
- [3] Tao XL, Zheng DQ, Liu TZ, et al. A novel strategy to construct yeast *Saccharomyces cerevisiae* strains for very high gravity fermentation. PLoS ONE, 2012, 7(2): 31–35.
- [4] Zheng DQ, Wu XC, Tao XL, et al. Screening and construction of *Saccharomyces cerevisiae* strains

- with improved multi-tolerance and bioethanol fermentation performance. *Bioresour Technol*, 2011, 102(3): 3020–3027.
- [5] Zhang JG, Liu XY, He XP, et al. Improvement of acetic acid tolerance and fermentation performance of *Saccharomyces cerevisiae* by disruption of the FPS1 aquaglyceroporin gene. *Biotechnol Lett*, 2011, 33(2): 277–284.
- [6] Shi DJ, Wang CL, Wang KM. Genome shuffling to improve thermotolerance, ethanol tolerance and ethanol productivity of *Saccharomyces cerevisiae*. *J Ind Microbiol Biotechnol*, 2009, 36(1): 139–147.
- [7] Zhang QM, Zhao XQ, Jiang RJ, et al. Ethanol tolerance in yeast: molecular mechanisms and genetic engineering. *Chin J Biotech*, 2009, 25(4): 481–487 (in Chinese).
张秋美, 赵心清, 姜如娇, 等. 酿酒酵母乙醇耐性的分子机制及基因工程改造. *生物工程学报*, 2009, 25(4): 481–487.
- [8] Hirasawa T, Yoshikawa K, Nakakura Y, et al. Identification of target genes conferring ethanol stress tolerance to *Saccharomyces cerevisiae* based on DNA microarray data analysis. *J Biotechnol*, 2007, 131(1): 34–44.
- [9] Dinh TN, Nagahisa K, Yoshikawa K, et al. Analysis of adaptation to high ethanol concentration in *Saccharomyces cerevisiae* using DNA microarray. *Bioprocess Biosyst Eng*, 2009, 32(5): 681–688.
- [10] Zhang XY, Du FG, Chi XQ, et al. Construction of *Saccharomyces cerevisiae* strains improved stress tolerance and ethanol fermentation performance through metabolic engineering and genome recombination. *China Biotechnol*, 2011, 31(7): 91–97 (in Chinese).
张晓阳, 杜风光, 池小琴, 等. 代谢工程与全基因组重组构建酿酒酵母抗逆高产乙醇菌株. *中国生物工程杂志*, 2011, 31(7): 91–97.
- [11] Hasunuma T, Sanda T, Yamada R, et al. Metabolic pathway engineering based on metabolomics confers acetic and formic acid tolerance to a recombinant xylose-fermenting strain of *Saccharomyces cerevisiae*. *Microb Cell Fact*, 2011, 10(2):1–13.
- [12] Pinel D, D'Aoust F, Cardayre SB, et al. *Saccharomyces cerevisiae* genome shuffling through recursive population mating leads to improved tolerance to spent sulfite liquor. *Appl Environ Microbiol*, 2011, 77(14): 4736–4743.
- [13] Alper H, Moxley J, Nevoigt E, et al. Engineering yeast transcription machinery for improved ethanol tolerance and production. *Science*, 2006, 314(5805): 1565–1568.
- [14] Liu HM, Yan M, Lai CG, et al. gTME for improved xylose fermentation of *Saccharomyces cerevisiae*. *Appl Biochem Biotechnol*, 2010, 160(2): 574–582.
- [15] Zhao XQ, Bai FW. Zinc and yeast stress tolerance: Micronutrient plays a big role. *J Biotechnol*, 2012, 15(84): 176–183.
- [16] Lewis JA, Elkon IM, McGee MA, et al. Exploiting natural variation in *Saccharomyces cerevisiae* to identify genes for increased ethanol resistance. *Genetics*, 2010, 186(4): 1197–1205.
- [17] Araki Y, Wu H, Kitagaki H, et al. Ethanol stress stimulates the Ca^{2+} -mediated calcineurin/Crz1 pathway in *Saccharomyces cerevisiae*. *J Biosci Bioeng*, 2009, 107(1): 1–6.
- [18] Sera T. Zinc-finger-based artificial transcription factors and their applications. *Adv Drug Delivery Rev*, 2009, 61(7): 513–526.
- [19] Park KS, Lee DK, Lee H, et al. Phenotypic alteration of eukaryotic cells using randomized libraries of artificial transcription factors. *Nat Biotechnol*, 2003, 21(10): 1208–1214.
- [20] Lee JY, Sung BH. Phenotypic engineering by reprogramming gene transcription using novel artificial transcription factors in *Escherichia coli*. *Nucleic Acids Res*, 2008, 36(16): 1–10.
- [21] Amberg DC, Huo KK. *Methods in Yeast Genetics*. Beijing: Science Press, 2009: 87–88 (in Chinese).
安伯格, 霍克克. 酵母遗传学方法试验指南. 北京: 科学出版社, 2009: 87–88.
- [22] Zhao XQ, Xue C, Ge XM, et al. Impact of zinc supplementation on the improvement of ethanol

- tolerance and ethanol yield of self-flocculating yeast in continuous ethanol fermentation. J Biotechnol, 2009, 139(1): 55–60.
- [23] Bae KH, Kwon YD, Shin HC, et al. Human zinc fingers as building blocks in the construction of artificial transcription factors. Nat Biotechnol, 2003, 21(3): 275–280.
- [24] Lee DK, Park JW, Kim YJ, et al. Toward a functional annotation of the human genome using artificial transcription factors. Genome Res, 2003, 13(12): 2708–2716.
- [25] Xu GH, Zhao XQ, Bai FW, et al. Improvement of acetic acid tolerance of self-flocculating yeast by zinc supplementation. CIESC J, 2012, 63(6): 1823–1829 (in Chinese).
- 徐桂红, 赵心清, 白凤武, 等. 锌离子提高絮凝酵母高浓度乙酸胁迫耐受性的研究. 化工学报, 2012, 63(6): 1823–1829.

(本文责编 陈宏宇)

《生物工程学报》“生物基化学品”专刊征稿通知

生物基化学品 (Biobased chemicals) 是指以可再生的生物质为原料生产的环境友好的化工产品。生物基化学品研究已经成为世界科技前沿, 生物基化学品的研发是提高化工产业竞争力, 实现可持续发展的必由之路。

为了集中报道“生物基化学品”领域所取得的最新研究成果和进展, 本刊拟于 2013 年 10 月出版“生物基化学品”专刊。现特向国内外相关的专家学者和研发人员公开征集稿件, 经专家评审后, 优秀论文将在专刊上发表。

一、征文范围

本专刊收录如下研究方向的论文, 但不限于此: 1. 生物基化学品代谢途径工程; 2. 代谢网络模型和代谢控制分析; 3. 辅因子代谢工程和调控; 4. 生物转运系统; 5. 合成生物学; 6. 基因组工程; 7. 发酵过程调控; 8. 生物基化学品转化和工程化

二、投稿要求

1. 投稿方式: 全文投稿请通过《生物工程学报》投稿系统在线投稿, 详见主页 (<http://journals.im.ac.cn/cjbncn/ch/index.aspx>) /投稿须知/投稿方式。

注意事项: 投稿时, 请在稿件标题栏注明“生物基化学品”字样, 否则将以普通稿件进行处理。

2. 稿件格式: 参照《生物工程学报》论文格式, 详见主页/投稿须知/书写要求。

3. 投稿文章应未在正式出版物上发表过, 也不在其他刊物或会议的审稿过程中, 不存在一稿多投现象; 应保证投稿文章的合法性(无抄袭、剽窃、侵权等不良行为)。

三、本专刊几个关键的时间

1. 收稿截止日期: 2013 年 6 月 25 日

2. 出版日期: 2013 年 10 月 25 日

四、特别说明

1. 本专刊不是增刊, 而是在 2013 年第 10 期《生物工程学报》正刊上刊出。

2. 专刊投稿文章免收审理费; 录用后正式刊发的文章将请作者提交版权转让承诺书, 并按照《生物工程学报》相关规定收取版面费和支付作者稿酬, 同时赠送 2 本样刊。

五、联系方式

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

邮寄地址: 北京市朝阳区北辰西路 1 号院 3 号中科院微生物研究所 B401《生物工程学报》编辑部 (邮编: 100101)

专刊特邀编辑: 中国科学院过程工程研究所 邢建民研究员

如果您还有什么问题, 欢迎随时与我们联系, 我们将在第一时间给您答复。

欢迎您的来稿!

《生物工程学报》编辑部
2013-3-29