

长双歧杆菌 NCC2705 葡萄糖与果糖代谢的比较蛋白质组学

孙忠科¹, 卜歆¹, 何湘², 姜铮², 王芳², 赵红庆², 刘大伟², 袁静^{1,2}

1 西北农林科技大学食品科学与工程学院, 杨凌 712100

2 军事医学科学院疾病预防控制中心, 北京 100071

摘要: 为揭示长双歧杆菌 NCC2705 (*Bifidobacterium longum* NCC2705)果糖代谢途径, 建立其果糖发酵模型。以本实验室前期构建的长双歧杆菌 NCC2705 菌株蛋白质参考图谱为基础, 进行了果糖和葡萄糖生长的菌体比较蛋白质组学研究, 利用 MALDI-TOF 和 ESI-MS/MS 鉴定差异蛋白, 进一步通过半定量 RT-PCR 验证二者显著差异表达蛋白。果糖生长的菌体蛋白中鉴定到了所有葡萄糖降解途径中的酶和蛋白质, 另外鉴定到 3 倍以上差异蛋白点 9 个, 其对应的 5 个蛋白在果糖发酵中上调。半定量 RT-PCR 验证显著差异蛋白, 显示在果糖发酵中具有高水平表达是 ABC 转运系统的果糖特异性-结合蛋白 BL0033 和 ATP 结合蛋白 BL0034。果糖的发酵时间和浓度梯度试验显示诱导时间越长、浓度越高, BL0033 的表达量越高。第一, 比较蛋白谱证明果糖和葡萄糖以相同途径降解。第二, BL0033 的表达是受果糖诱导的, 果糖的吸收可能是通过一个特殊的转运系统, 即 ABC 转运系统将果糖从胞外转运到胞内, 其中 BL0033 和 BL0034 共同作为系统元件扮演了重要角色。

关键词: 比较蛋白质组, 果糖代谢, 半定量 RT-PCR, MALDI-TOF/ESI-MS/MS, 果糖特异性-结合蛋白 BL0033

Comparative Proteome Analysis of *Bifidobacterium longum* NCC2705 Grown on Fructose and Glucose

Zhongke Sun¹, Xin Bo¹, Xiang He², Zheng Jiang², Fang Wang², Hongqing Zhao², Dawei Liu², and Jing Yuan^{1,2}

1 College of Food Science and Engineering, Northwest A & F University, Yangling 712100, China

2 Institute of Disease Control and Prevention, Academy of Military Medical Sciences, Beijing 100071, China

Abstract: To demonstrate the fructose metabolism pathway in *Bifidobacterium Longum* NCC2705 and to construct its fermentation model, we explored the comparative proteome cultivating the strain on glucose or fructose, based on a proteomic reference map of *B. longum* NCC2705 constructed earlier. Then, we used matrix-assisted laser desorption/ionization time of flight (MALDI-TOF) mass spectrometry and electro-spray ionization tandem mass spectrometry (ESI-MS/MS) for differently expressed proteins identification. Furthermore, with semi-quantitative RT-PCR we determined the distinctively expressed proteins at the level of transcription. Proteomic comparison of glucose- and fructose-grown cells demonstrated much similarity. On the page of fructose there were all the enzymes and proteins that exist during the process of glucose degradation. We observed a greater variation of more than three-fold

Received: December 7, 2007; **Accepted:** March 14, 2008

Supported by: the Chinese National Natural Science Foundation (No. 30771809).

Corresponding author: Jing Yuan. Tel: +86-10-66933356; Fax: +86-10-66933356; E-mail: yuanjing6216@163.com

国家自然科学基金(No. 30771809)资助。

for the identified 9 spots representing 5 protein entries by MALDI-TOF MS. The sugar-binding protein specific to fructose (BL0033) and an ABC transporter ATP binding protein (BL0034) showed higher expression level from cells grown on fructose. It was also determined by semi-quantitative RT-PCR subsequently. BL0033 time course and concentration experiments showed that the induction time correlated to higher fructose concentration, and increased expression of BL0033. Fructose was catabolized via the same degradation pathway as glucose at the level of proteomics. BL0033 was induced by fructose. All results suggest that the uptake of fructose into the cell may be conducted by a specific ABC transport system, in which BL0033 and BL0034 as components might have played an important role.

Keywords: comparative proteome, the catabolism of fructose, semi-quantitative RT-PCR, MALDI-TOF and/or ESI-MS/MS, the sugar-binding protein specific to fructose (BL0033)

双歧杆菌是人和动物肠道内主要的生理性乳酸菌, 对宿主具有生物屏障、营养、免疫、抗肿瘤、控制内毒素血症、延缓衰老、抗肿瘤等生理作用, 目前已成为全世界医学、营养及保健行业研究的热点之一^[1]。其属于放线菌科双歧杆菌属, 具有独特的果糖-6-磷酸盐磷酸酮酶, 严格厌氧, 已发现有 33 个种和亚种, 其中包括长双歧杆菌 (*Bifidobacterium longum*) 在内的 10 个种与人类有关, 主要寄居的微生物环境是胃肠道。它们通过产生乳酸和乙酸调节肠道的 pH, 抑制外侵的病原菌的生长, 维持肠道内菌群平衡^[2]。

在人的肠道中, 双歧杆菌具有广泛的代谢途径降解未消化的食物和寄主的分泌物。它们在大肠中利用少量的营养, 具有肠道清道夫的作用^[3-6]。几种研究对含果糖的多聚体作为潜在的选择性底物已经提供了一些证据, 双歧杆菌能发酵这些碳水化合物, 尤其是 β -2-1-键连接的果胶糖^[7-9]。最近, 报道双歧杆菌只通过一条代谢途径发酵葡萄糖, 即 Bifid Shunt, 对于果糖代谢, 认为长双歧杆菌能使用 D-果糖作为唯一的碳源, 但是果糖发酵模型、细胞对果糖的摄取和受果糖调控的蛋白至今尚未确定。因此, 我们根据构建的 *B. longum* NCC2705 葡萄糖代谢的蛋白质组参考图谱^[10], 研究果糖代谢途径, 进一步研究它对果糖转移和吸收的机制。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 主要试剂和仪器

IPG 干胶条、蛋白定量试剂盒 (PlusOne 2-D Quant Kit)、蛋白纯化试剂盒 (Plus One 2-D Clean-up Kit) 购自 Amersham Pharmacia 公司。蛋白酶抑制剂购自 Roche。IPGphor 等电聚焦仪 (Amersham

Pharmacia); ProTEAN II Xi 垂直电泳槽。扫描仪为 ImageScanner (Amersham pharmacia biotech), 双向电泳凝胶图像分析软件为 ImageMaster 2D Platinum Version 5.0。质谱仪为 FEFLEXTM III MALDI-TOF-MS (德国, Bruker)。电子顺磁共振波谱仪 ER200D-SRC 购自德国。

1.1.2 菌株、培养基和生长条件

B. longum NCC2705 由瑞士 Nestle Research Center Lausanne 惠赠。菌株于 400 mL 含 0.05% L-半胱氨酸的 De Man-Rogosa-Sharpe (MRS) 培养基中 37°C 厌氧培养。厌氧条件于充 Anaerocult N 的厌氧罐中进行。培养至稳定期, OD_{600} 为 0.9, 菌数为 1.5×10^8 CFU 时, 按照 Amersham Pharmacia 生物公司《应用固相 pH 梯度的双向电泳原理和方法》的方法进行, 采用 $8000 \times g$ 在 4°C 下离心 10 min 收集菌体, 用预冷的 40 mL 低盐清洗缓冲液 (3 mmol/L KCl, 1.5 mmol/L KH_2PO_4 , 68 mmol/L NaCl, 9 mmol/L NaH_2PO_4) 洗菌体 4 次。

1.2 蛋白的样品制备

B. longum NCC2705 细胞沉淀 (约 0.30 g) 重悬于 5 mL 裂解液 (7 mol/L 尿素, 2 mol/L 硫脲, 4% (W/V) CHAPS, 50 mmol/L DTT), 加入蛋白酶抑制剂, 采用 Sonifier 750 冰浴超声 10 min, 条件为: 2 s/2 s, 35% 振幅。然后加入 2.5 mg RNase A 和 100 单位的 RQ1 DNase, 于 15°C 放置 1 h 使蛋白质充分溶解, $20000 \times g$ 离心 20 min 去除不溶性沉淀。取上清用 2-D Quant Kit 测定蛋白质浓度。按每管 1 mg 分装, -70°C 保存备用。

1.3 双向电泳

等电聚焦使用不同梯度 IPG 胶条, IPGphor 第一向等电聚焦电泳主要依据 Görg^[11]描述的方法进行, 二向 SDS-PAGE (12.5%) 采用垂直板电泳槽于 30 mA/胶条电泳 4 h。考马斯亮蓝 G-250 染色后, 采用

ImageScanner 扫描仪扫描, 并经 ImageMaster 2D Platinum Version 5.0 软件进行分析。

1.4 胶内酶切和肽质量指纹图谱(PMF)分析

切取准备鉴定的蛋白点, 按照 Liao 等^[12]描述的方法进行胶内蛋白酶切。将肽段提取液溶于 2 μL 0.5%三氟乙酸中。MALDI-TOF MS 测定是将α-氰基-4-羟基肉桂酸(α-CCA)溶于含 0.1%三氟乙酸的 50% 乙腈溶液中, 制成饱和溶液, 离心, 取 1 μL 上清与 1 μL 肽段提取液等体积混合, 点在 Score384 靶上, 送入离子源中, 在加速电压 20 kV, 反射电压为 23 kV 的条件下进行检测。

1.5 蛋白质鉴定

登陆互联网(<http://www.matrixscience.com>), 用 Mascot 程序在相应数据库中对 MALDI-TOF 质谱检测得到的肽质量指纹图谱进行检索。主要采用已建立的本地运行 Mascot 选择 *B. longum* NCC2705 基因组数据对每个肽质量指纹图谱进行检索。检索时, 可接受的肽段分子量误差为 100 ppm。氨基酸固定修饰方式选择 Carbamidomethyl(C)修饰、可能的修饰方式选 Oxidation(M)修饰; 鉴定标准为分子量在 20 kD, 匹配率为 20%以上。

1.6 半定量 RT-PCR 进行基因表达分析验证

在细胞生长于果糖和葡萄糖的不同条件下, 对差异基因 mRNAs 的表达丰度通过半定量 RT-PCR 进行鉴定和验证, 方法基本按照文献[10]描述的方法进行。Total RNAs 采用 EPICENTRE MasterPure™ RNA 纯化试剂盒 (Epicentre Technologies, Madison, Wis.)从 *B. longum* NCC2705 培养液中提取然后在 260 nm 下确定浓度。转录采用 2 μg 的 total RNA 作为模板, 利用 Omniscript 反转录试剂盒(Qiagen)进行。采用 *B. longum* 中表达相对稳定的 831 bp 16S rDNA (rDNA)作为内标, RT-PCR 测试的所有引物见表 1。阴性对照为不含有引物和 Taq Polymerase (Promega)的 PCR。结果采用 Quantity One quantitation software (Bio-Rad)用文献[13]方法进行分析。

1.7 双歧杆菌在果糖和葡萄糖不同发酵时间和不同浓度的比较蛋白质组研究

分别对 *B. longum* NCC2705 进行不同培养时间和不同培养基成分的全菌比较蛋白质组研究。先制备在含 5 g/L 果糖或葡萄糖的 Garches 培养基中生长 8 h(对数生长期早期)、13 h(对数生长期中期)和 16 h

(对数生长期晚期)的 6 份全菌蛋白样品; 再制备在分别添加 1 g/L、2 g/L、3 g/L、4 g/L 的葡萄糖或果糖的 Garches 培养基中生长 13h 的全菌蛋白样品。将这 14 份样品按照对应关系分别进行双向电泳, 分析时间和碳源浓度对 *B.longum* NCC2705 蛋白质/蛋白质组表达的影响, 特别是利用这些因素的对应关系比较分析 BL0033 的表达和变化。具体操作参考方法 1.2~1.5。

表 1 基因表达分析所使用的引物
Table 1 Oligonucleotides used for gene expression analysis (RT-PCR)

Oligo nucleotide		Nucleotide sequence (5'-3')
16S rDNA	Primer 1	TCCAGTTGATCGCATGGTC
16S rDNA	Primer 2	GGAAGCCGTATCTCTACGA
BL0033	Primer 1	AGGTGGCAGCTCGGACTCC
BL0033	Primer 2	GCGGCGTCGAAGGTCTTGG
BL0034	Primer 1	GTGGACGGCAAGCCTCAGC
BL0034	Primer 2	TGCCTCCTTTCCGGTGTTACG
frk	Primer 1	GCTCGGCGACGAAGTATTGC
frk	Primer 2	AGGATGCGGGCGGTGAAGG
BL1340	Primer 1	GGTCGTCTCATCAACGGCTTCC
BL1340	Primer 2	GGCGGACAGGGTGGATAGGC
BL1341	Primer 1	GCGGGCATGTGGGCAATATCG
BL1341	Primer 2	GGCAGGTCCAGCGTTTCAAGG

2 结果

2.1 *B. longum* NCC2705 在果糖和葡萄糖中生长的双向电泳图谱

为了确定 D-果糖发酵的代谢途径, 我们首先比较了 *B. longum* NCC2705 生长在果糖或葡萄糖后的双向电泳图谱。用 pH 4~7 和 pH 4.5~5.5 的 IPG 胶条进行一向分离, 接着用 12.5% SDS-PAGE 根据蛋白质分子量进行二向电泳, 图谱见图 1。

B. longum NCC2705 发酵果糖和葡萄糖后, 菌体的 2-DE 模型是高度相似的, 许多标记性的点都有对映点。与葡萄糖代谢相比, 果糖代谢的双歧途径中是由果糖激酶直接将果糖转化为 6P-果糖的, 根据本实验室前期构建的长双歧杆菌 NCC2705 菌株蛋白质参考图谱, 在胶图中存在果糖代谢的双歧途径中所有的酶, 这表明细胞内果糖与葡萄糖是通过相同的降解途径进行的。

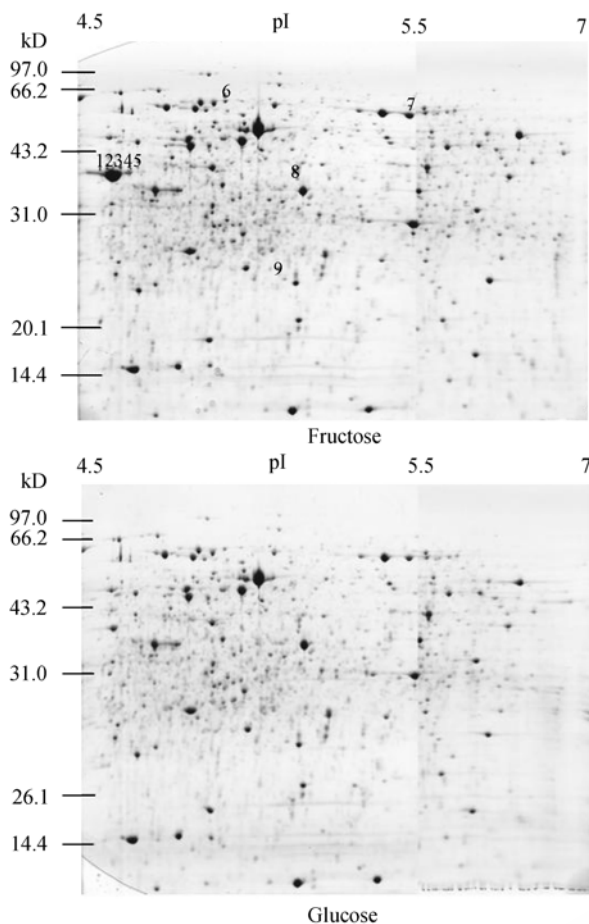


图1 *B. longum* NCC2705 在果糖和葡萄糖中生长的双向电泳图谱

Fig. 1 2-D gel electrophoresis of the whole cell proteins of *B. longum* NCC2705 cultivated in fructose or glucose

The majority proteins were focused in the left, which was acidic region of the pH 4~7 IPG strap after IEF electrophoresis. Even that, the second dimensional electrophoresis of the SDS-PAGE can not separate them completely further. The IPG strap with narrow pH gradient between 4.5 and 5.5 was used for more clear results. Fig. 1 was a synthesized photo which with much more proteins can be separated than both of its components, the figure from pH 4~7 IPG and pH 4.5~5.5 IPG strap

2.2 果糖/葡萄糖代谢中差异表达的蛋白

用 ImageMaster 2D Elite Platinum 软件对所得到的全细胞蛋白的双向电泳图谱进行点检测及匹配,

分析所有蛋白质点的表达情况,共得到 5 个蛋白具有 3 倍以上变化(表 2 和图 2),这些点在浓度和/或位置有明显的不同,浓度增加表明蛋白受果糖诱导,表达量上调;位置的差异可能是由于氨基酸改变和/或发生一些小的缺失造成的,但也不排除一些变体是由于两种模式中不同的翻译后修饰造成的结果。

2.3 半定量 RT-PCR 进行差异蛋白的验证

为了证明差异基因表达的上调或下调,我们对分别培养于含有 D-葡萄糖(2 g/L) 或 D-果糖 (2 g/L) 作为唯一碳源的改良的 Garches 培养基的 *B. longum* NCC2705 进行半定量 RT-PCR 的检测。细胞总 RNA 作为 RT-PCR 表达分析的模板,通过与 16S rDNA 比较半定量测定它们的表达量,结果见图 3B。从图可知,RT-PCR 的结果和蛋白表达量匹配的很好,这证明了在果糖和葡萄糖生长条件下这些差异蛋白的确发生了上调或下调。

2.4 不同生长时期和不同浓度果糖/葡萄糖发酵的 BL0033 表达分析

在果糖/葡萄糖比较蛋白质研究结果中,显著的差异表达蛋白是对果糖特异性结合的蛋白 (BL0033, probable solute binding protein of ABC transporter system possibly for sugars),在果糖中生长比在葡萄糖中有更高的表达水平,它具有 5 个不同电荷的异构体(图 2)。与葡萄糖代谢相比,在果糖代谢中,该蛋白的浓度增加 10 倍以上。目前,关于 BL0033 的研究尚无报道。为了进一步研究 BL0033 的表达,我们进行了果糖浓度和发酵不同时期的比较蛋白质组学研究。

首先比较分析了在果糖和葡萄糖培养基中生长 8 h(对数生长期早期),13 h(对数生长期中期)和 16 h(对数生长期晚期)时 BL0033 的蛋白质水平的差异,如图 3A 所示,结果表明发酵时间对 BL0033 的表达影响是很明显的,随时间的延长,在 2D 图谱上

表 2 *B. longum* NCC2705 果糖发酵中上调蛋白

Table 2 List of fructose-regulated proteins in *B. longum* NCC2705

Locus	NCBI GI	Spot No.	Protein description	Theor. mass	Theor. pI
BL0033	gi:23464661	1, 2, 3, 4, 5	probable solute binding protein of ABC transporter system possibly for sugars	34782	4.72
BL0034	gi:23464662	6	ATP binding protein of ABC transporter	55857	5.82
BL1339	gi:23465900	7	protein in PfkB family of sugar kinases	32533	4.88
BL1340	gi:23465901	8	probable transcriptional repressor in the Rok (NagC/XylR) family	42999	5.22
BL1341	gi:23465902	9	possible sugar kinase	31264	4.88

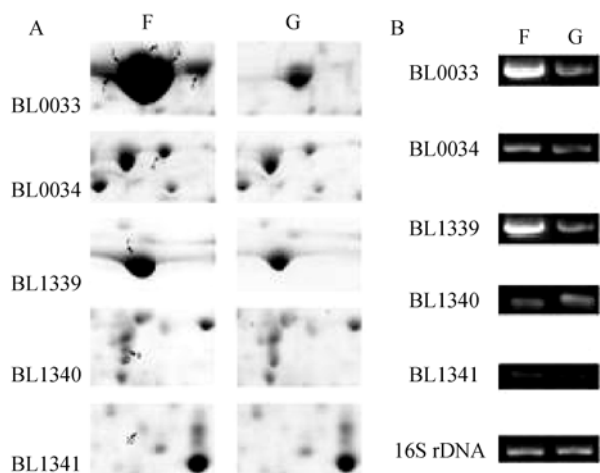


图2 果糖(F)/葡萄糖(G)代谢中的部分差异表达的蛋白点(A)及差异表达基因的半定量 RT-PCR(B)

Fig. 2 Comparison of the protein synthesis when *B. longum* NCC2705 cultivated in fructose (F) or glucose (G)

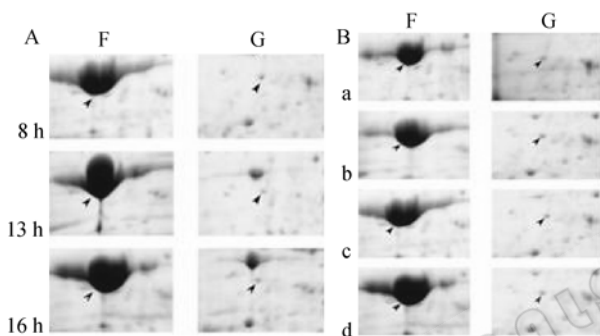


图3 BL0033 在果糖和葡萄糖培养基中发酵不同时间(A)和在不同浓度(B)果糖(F)和葡萄糖(G)发酵的表达情况

Fig. 3 Fermentation time (A) and concentration (B) test on BL0033 expression of *B. longum* NCC2705 when it was cultivated in fructose (F) or glucose (G)

密度呈现持续上升的趋势, 这些点的 vol% 分别为 13.9492% (8 h), 15.0830% (13 h), 和 18.2231% (16 h)。然后分别采用含葡萄糖或果糖 1 g/L、2 g/L、3 g/L 和 4 g/L 的 Garches 培养基培养长双歧杆菌 NCC2705 于对数生长期中期时, 进行双向电泳, 结果表明, 果糖浓度对 BL0033 的表达影响是很明显的, 随着果糖浓度的提高, 在 2D 图谱上密度也呈现持续上升的趋势(图 3B), 这些点的 vol% 分别为 11.1889% (1 g/L)、13.2891% (2 g/L)、15.1148% (3 g/L) 和 18.0024% (4 g/L)。这些数据强烈证明了 BL0033 在果糖中比葡萄糖中具有更高的转录和表达水平, 即 BL0033 是果糖受诱导的, 并可能在果糖转运途径中起重要的作用。

3 讨论

糖类物质可以通过 3 条不同的机制: 被动扩散, 协助扩散, 或主动运输进入细胞质。细胞内的结合糖的活性转运系统包括: (1) PEP: 糖 PTS 运输; 这个系统包括碳水化合物的转运和磷酸化; (2) ATP 驱动系统运载; 驱动能量源于高能磷酸键的水化; (3) 与质子或阳离子的结合, 通过金属的同向转移或质子的转移而运载。在双歧杆菌中, 只有 2 个转运系统被研究: PEP: 葡萄糖 PTS 和乳糖转运泵。尽管已经证明 *Bifidobacterium* spp. 可以利用果糖作为唯一的碳源, 而且对 *B. longum* NCC2705, 本实验从蛋白水平证实果糖是经和葡萄糖相同的代谢途径降解的, 但那些结合果糖进入代谢途径必需的酶迄今尚未确定。长双歧杆菌基因组序列的生物信息学分析揭示其既没有能转运磷酸化果糖进入细胞的果糖特异的 PEP-PTS 系统, 也没有一个完整的糖利用基因簇^[9,14]。

Bifidobacterium spp. 在肠道这种竞争环境中能存活的能力是和特殊的遗传特性相关的, 如含有许多 exo-和 endo-糖基水解酶, 高亲和的寡糖转运子, 以及比所有已测序的原核生物更多的对营养利用性和多态性进行灵活控制的负转录子, 这些有助于 *B. longum* 竞争性利用由植物纤维分解释放的结构多态的寡糖。双歧杆菌基本的能量来源主要是糖酵解过程的底物磷酸化。我们鉴定到 BL0033 在果糖代谢中表达上调, 并受到果糖的诱导, 对 BL0033 的蛋白序列分析发现它具有 1 个周质结合基序 (PFAM PF00532), 表明它具有糖反应作用位点, 这些提示它在果糖转运途径中起重要作用。此外, 在 *B. longum* NCC2705 的染色体上, BL0034 作为 ABC 转运系统中 ATP-结合蛋白, 位于 BL0033 的下游, 在果糖发酵中其表达量也上调。借鉴于 *E. coli* 中对 B₁₂ ABC 转运系统的详细研究^[15-17], 我们认为在 *B. longum* NCC2705 中 BL0033 和 BL0034 作为 ABC 转运系统元件将果糖从胞外转运到胞内, 共同负责了果糖的吸收。所有试验结果从蛋白质层面上证明果糖不是利用 PEP: 果糖 PTS 转运的, 这与基因组分析结果互相验证, 从侧面也提示可能是通过一个特殊的果糖 ABC 转运系统。

REFERENCES

- [1] Tasaki K, Yoshida Y, Maeda T, *et al.* Protective immunity is induced in murine coloncarcinoma cells by the expression of interleukin-12 or interleukin-18, which activate type I helper T cells. *Cancer Gene Ther*, 2000, **7**(2): 247–254.
- [2] Andrews EJ, wang JH, Winter DC, *et al.* Tunor cell adhesion to endothelial cells is increased by endotoxin via an upregulation of beta-1-integrin expression. *J Surg Res*, 2001, **97**: 14–19.
- [3] Schell MA, M Karmirantzou, B Snel, *et al.* The genome sequence of *Bifidobacterium longum* reflects its adaptation of human gastrointestinal tract. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, **99**: 14422–14427.
- [4] Ishibashi N, Yamazaki S. Probiotics and safety. *Am J Clin Nutr*, 2001, **73**: 465–470.
- [5] Gagnon M, Kheadr EE, Le BG, *et al.* *In vitro* inhibition of *Escherichia coli* O157: H7 by bifidobacterial strains of human origin. *Int J Food Microbiol*, 2004, **92**: 69–78.
- [6] Yin X, Chambers JR, Barlow K, *et al.* The gene encoding xylulose-5-phosphate/fructose-6-phosphate phosphoketolase (xfp) is conserved among *Bifidobacterium* species within a more variable region of the genome and both are useful for strain identification. *FEMS Microbiol Lett*, 2005, **246**: 251–257.
- [7] Ehrmann MA, Korakli M, Vogel RF. Identification of the gene for beta-fructofuranosidase of *Bifidobacterium lactis* DSM10140 (T) and characterization of the enzyme expressed in *Escherichia coli*. *Curr Microbiol*, 2003, **46**: 391–397.
- [8] Margolles A, de los Reyes-Gavilan CG. Purification and functional characterization of a novel alpha-L-arabinofuranosidase from *Bifidobacterium longum* B667. *Appl Environ Microbiol*, 2003, **69**: 5096–5103.
- [9] Caescu CI, Vidal O, Krzewinski F, *et al.* *Bifidobacterium longum* requires a fructokinase (Frk; ATP: D-fructose 6-phosphotransferase, EC 2.7.1.4) for fructose catabolism. *J Bacteriol*, 2004, **186**(19): 6515–6525.
- [10] Yuan J, Zhu L, Liu XK, *et al.* A proteome reference map and proteomics analysis of *Bifidobacterium longum* NCC2705. *Mol Cell Proteomics*, 2006, **5**(6): 1105–1118.
- [11] Görg A, Obermaier C, Boguth G, *et al.* The current state of two-dimensional electrophoresis with immobilized pH gradients. *Electrophoresis*, 2000, **21**(6): 1037–1053.
- [12] Liao X, Ying TY, Wang HL, *et al.* A two-dimensional proteome map of *Shigella flexneri*. *Electrophoresis*, 2003, **24**: 2664–2882.
- [13] Hurtado CA, Rachubinski RA. Isolation and characterization of YIBEM1, a gene required for cell polarization and differentiation in the dimorphic yeast *Yarrowia lipolytica*. *Eukaryot Cell*, 2002, **1**: 526–537.
- [14] Parche S, Amon J, Jankovic I, *et al.* Sugar transport systems of *Bifidobacterium longum* NCC2705. *J Mol Microbiol Biotechnol*, 2007, **12**(1-2): 9–19.
- [15] Locher KP, Lee AT, Rees DC. The *E. coli* BtuCD structure: a framework for ABC transporter architecture and mechanism. *Science*, 2002, **296**: 1091–1098.
- [16] Davidson AL, Chen J. ATP-binding cassette transporters in bacteria. *Annu Rev Biochem*, 2004, **73**: 241–268.
- [17] Locher KP, Broths E. ABC transporter architecture and mechanism: implication from the crystal structures of BtuCD and BtuF. *FEBS Lett*, 2004, **564**: 264–268.

《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 是爱思唯尔建立的世界上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