

根癌农杆菌介导的定点敲除技术在 红色红曲菌中的应用

邵彦春 李 利 杨 莎 赵 颖 王小红 陈福生*

(华中农业大学食品科技学院 湖北 武汉 430070)

摘 要: 红曲菌(*Monascus* spp.)是一种重要的丝状真菌,广泛应用于食品和医药领域中。目前,由于对红曲菌遗传背景了解的很少,因而对其重要功能基因的研究报道很少。本研究采用根癌农杆菌介导的转化技术对红色红曲菌(*Monascus ruber*)中推断的 G-蛋白信号调节子 *mrfA* 基因的 RGS 功能域进行定点缺失研究,探讨基于同源重组为基础的基因定点缺失技术在红曲菌基因功能鉴定中的可行性。构建的敲除载体 pC805S 左右同源臂长度分别为 958 bp 和 824 bp,将其转入受体菌 *M. ruber* 中,得到的 138 株转化子中,有 26 株转化子发生了同源重组,重组率达到 18.8%。实验结果表明该技术作为红曲菌基因功能鉴定的方法是可行的。

关键词: 红色红曲菌, *mrfA* 基因, 同源重组, 定点缺失

The Targeted-deletion Technology in the *Monascus ruber* Mediated via *Agrobacterium tumefaciens*

SHAO Yan-Chun LI Li YANG Sha ZHAO Ying WANG Xiao-Hong CHEN Fu-Sheng*

(College of Food Science and Technology, Huazhong Agricultural University, Wuhan, HuBei 430070, China)

Abstract: *Monascus* spp., a kind of filamentous fungi, produce abundant of important metabolites which were widely used in the fields of food and medicine. Until now, there are few reports on the important functional genes of the *Monascus* spp. due to little genetic information. In this paper, the feasibility of gene deletion mediated via *Agrobacterium tumefaciens* on the basis of homologous recombination was analyzed by studying on the deletion of the RGS domain of putative G-protein signaling regulator gene *mrfA* in *Monascus ruber*. The length of homologous arms of deletion vector pC805S were 958 bp and 824 bp, respectively. There were 26 transformants in which homologous recombination occurred in 138 transformants and the recombination rate was 18.8%. The result showed it was feasible to identify the function of unknown gene in *M. ruber* with the targeted-deletion technology mediated via *A. tumefaciens*.

Keywords: *Monascus ruber*, *mrfA* gene, Homogenous recombination, Targeted-deletion

flbA 是一个 G-蛋白信号调节子(regulator of G-protein signaling pathway),广泛存在于丝状真菌

中。*flbA* 通过作用于 G-蛋白参与调节真菌的形态发育以及次生代谢产物分泌,它包括 2 个 DEP 域(真菌

基金项目: 国家“863 计划”(No. 2006AA10Z1A3); 教育部新世纪人才计划(No. 52207-09015); 华中农业大学人才启动基金(No. 52204-07078)

* 通讯作者: Tel: 86-27-87282927; E-mail: chenfs@supervisor.yahoo.com.cn

收稿日期: 2008-07-08; 接受日期: 2008-11-14

© 中国科学院微生物研究所期刊联合编辑部 <http://journals.im.ac.cn>

基因特有的结构域)和 1 个保守的RGS域(G-蛋白作用位点)。对构巢曲霉(*Aspergillus nidulans*)的研究表明, *flbA*与菌丝的分化有密切关系, 当*flbA*缺失或突变, 菌丝发生自溶^[1]。另外, 在烟曲霉(*Aspergillus fumigatus*)和土曲霉(*Aspergillus terreus*)等许多真菌基因组中均发现了与构巢曲霉中*flbA*高度同源的基因编码序列, 并且具有相似的功能。

红曲菌(*Monascus* spp.)是一种重要的丝状真菌, 属于散囊菌目, 在中国等一些东南亚国家有着广泛的应用。研究表明红曲菌发酵产物含有monacolins类、 γ -氨基丁酸、麦角固醇和色素等多种生理活性物质^[2]。因此, 从医学的角度来看, 红曲菌中含有许多值得研究的基因。但迄今为止, 对红曲菌的遗传背景知识了解得很少, 对红曲菌形态分化、发育以及次生代谢相关的基因信息报道很少。

为了加快对红曲菌基因资源的发掘, 国内外学者从 2003 年开始展开了对红曲菌遗传转化的研究, 已有关于基因枪转化法^[3]、电转化法^[4]、农杆菌介导的T-DNA转化^[5-9]法等不同方法的研究报道。本实验室从红色红曲菌中分离得到了一个与已知的*flbA*基因具有 80%以上同源性的*mrfa*基因, 通过构建基于丝状真菌同源重组的缺失载体, 利用根癌农杆菌

(*Agrobacterium tumefaciens*)介导的定点缺失技术实现了对该基因功能的鉴定, 此工作在国内外鲜有报道。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 菌株与质粒: 红色红曲菌(*Monascus ruber*)购自中科院微生物所菌种保藏中心, 是根癌农杆菌(*Agrobacterium tumefaciens*)介导的 T-DNA 转化受体; 大肠杆菌(*Escherichia coli*)DH5 α 购自宝生物工程(大连)有限公司, 根癌农杆菌(*Agrobacterium tumefaciens*)EHA105, 质粒 pSKH, pCAMBIA3300 用于构建敲除载体, 由华中农业大学植物科技学院姜道宏教授惠赠, 其中 pSKH 含有潮霉素抗性的编码基因, pCAMBIA3300 含有 T-DNA 序列。

1.1.2 酶和主要试剂: *Hind*、*Kpn*、*Sac*、*Sma* 和 T4 DNA 连接酶购自 Fermenta 公司, PCR 引物由北京奥科生物技术有限公司合成。ExTaqE 和 rTaqE 以及其他分子生物学试剂均购自宝生物工程(大连)有限公司。

1.1.3 主要仪器与设备: Tgradient PCR 仪(Biometra 公司), Gel Logic 200 凝胶成像系统(Kodak)。

1.1.4 实验中用到的引物序列见表 1。

表 1 实验中用到的引物
Table 1 Primers used in this experiment

引物 Primers	序列 Sequences(5'-3')	作用 Function
P1	ACGAACGCCTGTAATGCTC	扩增 <i>mrfa</i> 基因的上游引物
P2	TCGTGTCCGTTTCACCAGA	扩增 <i>mrfa</i> 基因的下游引物
P1'	GTCAAGCTTACGAACGCCTGTAATGCTC (<i>Hind</i>)	构建基因敲除片段的上游引物
P2'	TTTGGTACCTCGTGTCCGTTTCACCAGA (<i>Kpn</i>)	构建基因敲除片段的下游引物
5'fl	GTCAGTTTG AAA CTG GAT TCG CATC	验证定向敲除转化子的上游引物
3'gsp1	GTTGTTTGAGATGGCTCAGAC TTCTG	验证定向敲除转化子的下游引物

1.2 方法

1.2.1 基因组提取: 参照文献[10]进行。

1.2.2 敲除载体的构建: 以 *M. ruber* 的基因组 DNA 为模板, 以 P1 和 P2 为引物, 扩增包括 *mrfa* 的 ORF 在内的 DNA 片段, 采用 BioEdit 软件对其进行限制性酶切位点分析。根据分析结果, 分别在 P1 和 P2 的 5'端引入限制性酶切位点 *Hind* 和 *Kpn* (分别对应于 P1'和 P2')扩增上述 DNA 片段。用上述这两种酶切扩增的 DNA 片段及质粒 pCAMBIA3300, 连接

得到 pC805S; 然后以 pSKH 质粒上编码 Hyg (潮霉素抗性基因)的 DNA 片段代替 *mrfa* 的 RGS 区, 建立依赖于 RGS 两端同源臂的重组的敲除载体 pC805S, 具体构建过程见图 1A, DNA 序列结构示意图见图 1B。

1.2.3 敲除载体转化大肠杆菌 DH5 α : 参照文献[11]。

1.2.4 敲除载体转化 *A. tumefaciens* EHA105: *A. tumefaciens* EHA105 感受态细胞的制备及敲除质粒

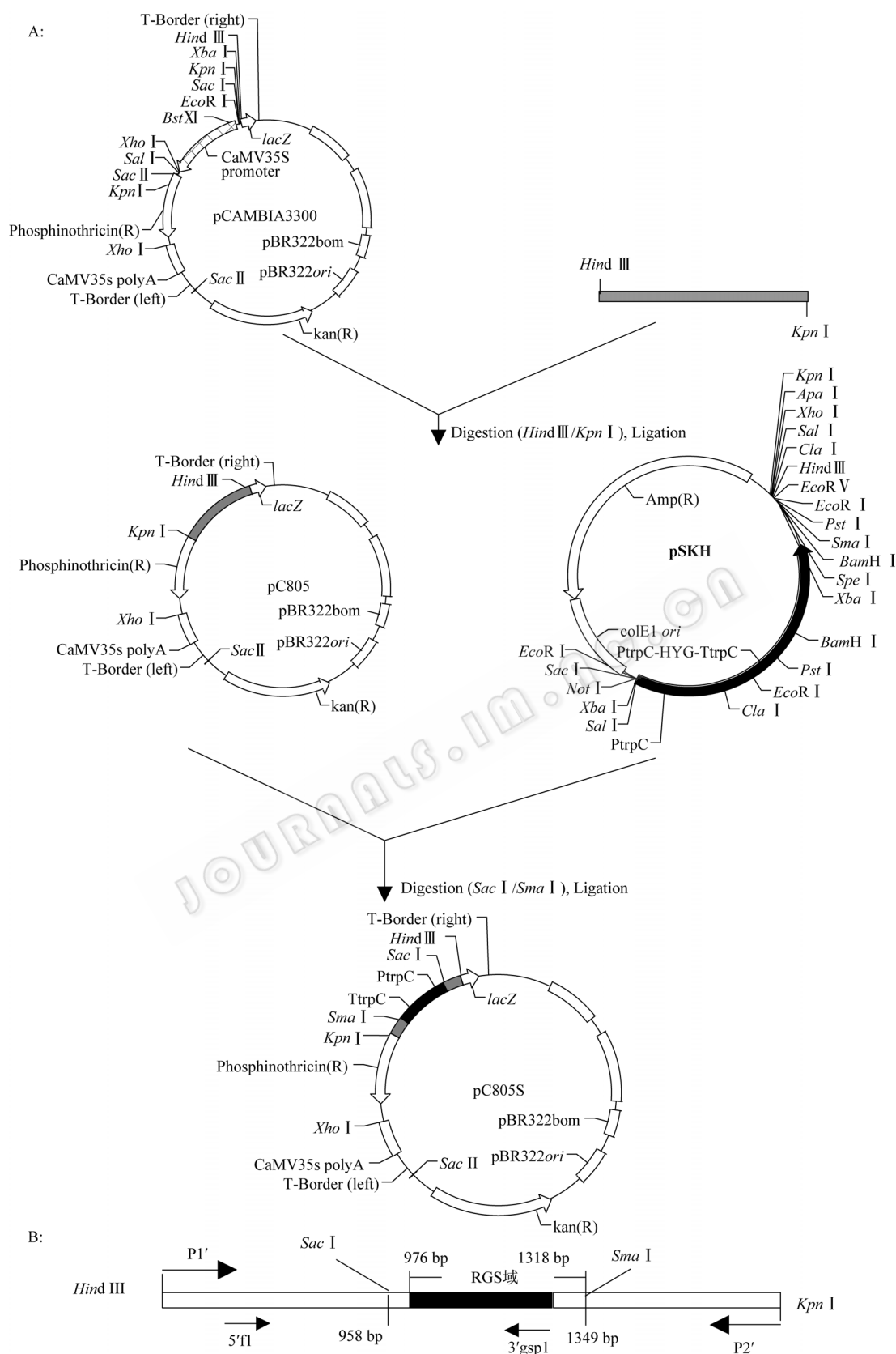


图 1 敲除载体 pC805S 的构建流程图

Fig. 1 The Construction procedure of knock-out vector pC805S

注: A: pC805S 的构建过程; B: *mrfA* 的 DNA 结构示意图, 酶切位点 *Sac* 和 *Sma* 之间序列被载体 pSKH 上包括潮霉素抗性基因编码区的 DNA 置换。

Note: A: The Construction procedure of pC805S; B: The Diagram of DNA conding for *mrfA*.

pC805S 转化农杆菌方法参见文献[10]。

1.2.5 含敲除载体 pC805S 的 *A. tumefaciens* EHA105 转化红曲菌：具体方法参见文献[12]。

1.2.6 敲除子的 PCR 验证：分别以 P1 和 P2 以及 5'f1 和 3'gsp1 为引物对，以菌丝体发生自溶的敲除转化子的 DNA 为模板进行 PCR 扩增。根据扩增片段的大小判定是否发生同源重组。

2 结果分析

2.1 敲除载体的验证

2.1.1 编码 *mrfA* 基因的 DNA 序列的扩增：以预测的 *mrfA* 的 ORF 区 5'端起始位点序列 P1 和 3'端非翻译区序列 P2 为引物进行 PCR 扩增，扩增结果见图 2。

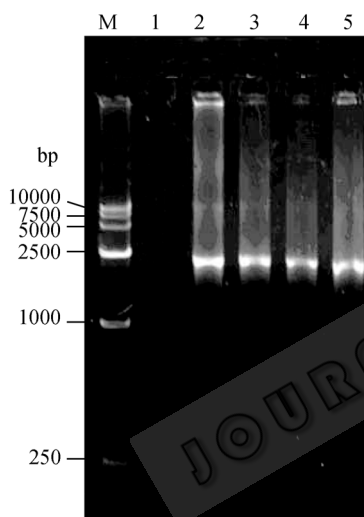


图 2 长 DNA 片段的 PCR 扩增结果

Fig. 2 PCR amplification for long DNA fragment

M: DL15000 DNA marker; 1: 阴性对照，水为模板 PCR 扩增结果；2~5：以红色红曲菌基因组为模板，以 P1 和 P2 为引物的 PCR 扩增结果。

M: DL15000 DNA marker; 1: Negative control, PCR result with sterilized ddH₂O as template; 2~5: PCR of long DNA fragment with primers P1 and P2 and genomic DNA of *M. ruber* as the template.

由图 2 可见，PCR 产物条带略小于 2500 bp。产物经凝胶纯化、克隆、测序分析后，扩增的 DNA 片段为包括 RGS 保守域在内的 2172 bp 的长片段。为了方便将这个 DNA 片段克隆至载体 pCambia3300 中，在引物 P1 和 P2 上分别引入了 *Hind* 和 *Kpn* 限制性酶切位点，即合成引物 P1'和 P2'进行 PCR 扩增，结果类似图 2(略)。

2.1.2 重组质粒 pC805 的构建与鉴定：根据图 1A

重组质粒构建流程得到重组载体 pC805。挑取 pC805 重组子，以 P1'和 P2'为引物对进行 PCR 扩增验证。同时，于 LB 中小量培养 pC805 重组子，提取质粒后用 *Hind* 和 *Kpn* 双酶切进行验证。验证结果见图 3。

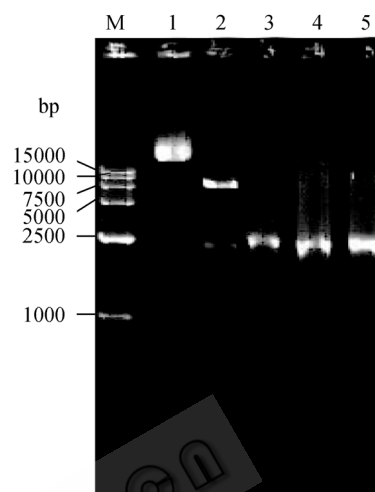


图 3 重组质粒 pC805 的双酶切和 PCR 鉴定结果*

Fig. 3 Identification of recombinant vector pC805 digested by *Hind* and *Kpn* and PCR amplification

M: DL15000 DNA marker; 1: 重组载体 pC805; 2: *Hind* 和 *Kpn* 双酶切重组载体 pC805 结果; 3~4: 以重组质粒 pC805 为模板的 PCR 扩增结果; 5: 代表以红色红曲菌基因组 DNA 为模板，以 P1 和 P2 为引物的 PCR 扩增结果。

M: DL15000 DNA marker; 1: Recombinant vector pC805; 2: Recombinant vector pC805 digested by *Hind* and *Kpn*; 3~4: The PCR result with recombinant vector pC805 as template; 5: The PCR result with genomic DNA of *M. ruber* as template.

由图 3 可见，以 P1'和 P2'为引物，分别以推断的重组子和 *M. ruber* 基因组 DNA 为模板扩增得到了略小于 2500 bp 的 PCR 扩增产物，与预期 2190 bp 片段大小一致。*Hind* 和 *Kpn* 双酶切推断的重组质粒 pC805 得到了略小于 2500 bp 和约 7500 bp 的两条 DNA 片段，与预期结果一致，证明重组质粒 pC805 构建成功。

2.1.3 重组质粒 pC805S 的构建与鉴定：根据上述构建 RGS 域缺失的载体的策略，构建完整的敲除载体 pC805S，载体包括同源的左右臂分别长为 958 bp 和 824 bp，中间为约 1950 bp 的插入片段。用 *Sac* 和 *Sma* 双酶切推断的阳性重组载体 pC805S，应该得到约 8500 bp 和 1950 bp 的两段 DNA 序列，酶切鉴定结果如图 4。由图 4 可见，酶切结果与分析基本一致，证明重组载体 pC805S 的构建是正确的。

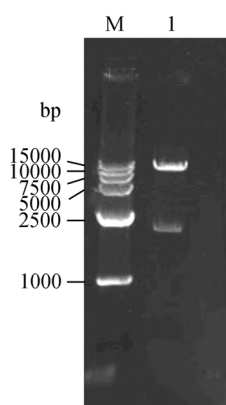


图4 *Sac* I 和 *Sma* I 双酶切重组质粒 pC805S 鉴定结果
Fig. 4 Identification of recombinant vector of pC805S digested by *Sac* I and *Sma* I

M: DL15000 DNA marker; 1: *Sac* 和 *Sma* 双酶切重组质粒 pC805S.
M: DL15000 DNA marker; 1: Recombinant vector of pC805S digested by *Sac* and *Sma*.

2.2 含敲除载体的农杆菌 EHA105 的鉴定

采用电转化法得到含 pC805S 的农杆菌 EHA105 转化子, 37°C 培养过夜, 挑取单菌落为模板, 以 P1' 和 P2' 为引物进行 PCR 扩增验证, 验证结果见图 5。

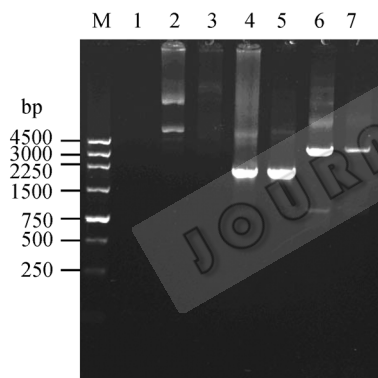


图5 含 pC805S 重组质粒的农杆菌 EHA 的 PCR 验证
Fig. 5 Identification of EHA105 containing recombinant vector pC805S by PCR

M: 250 bp DNA marker; 1~7: 以灭菌双蒸水、pSKH、pCambia3300、*M. ruber*、pC805、pC805S 和农杆菌提取的质粒为模板, 以 P1' 和 P2' 为引物的 PCR 扩增结果

M: 250 bp DNA marker; 1~7: PCR results with sterilized H₂O, pSKH, pCambia3300, *M. ruber*, pC805, pC805S and pC805S in *A. tumefaciens* as templates.

由图 5 可见以 *M. ruber*、pC805 为模板 PCR 扩增得到了略小于 2250 bp 的 DNA 片段, pC805S 和转化的农杆菌为模板的 PCR 扩增分别得到了片段长度约为 3700 bp 的扩增产物, 与预期大小相符, 以 pSKH、pCambia3300 为模板并未得到相应的 DNA 条带, 从而证明重组质粒 pC805S 已成功转化到根

癌农杆菌(*A. tumefaciens*)EHA105 中。

2.3 红色红曲菌敲除子的鉴定

2.3.1 敲除转化子的筛选及遗传稳定研究: 为研究含 RGS 功能域的 *mrfA* 的功能, 将含 pC805S 重组质粒的农杆菌 EHA105 转化到红色红曲菌中。由于 RGS 域被潮霉素抗性编码基因替代, 因此敲除子能够在含有潮霉素抗性的平板生长。将抗性平板上生长的微菌落转接到含 30 μg/mL 潮霉素的 PDA 试管斜面, 28°C 培养 7 d, 用接种环沾取少量菌丝于无菌水中, 打散, 取适量涂布平板。28°C 培养 7 d 后, 在涂布的 140 个平板中, 有 138 个平板上的转化子形态各自保持一致。对 138 个转化子进行纯培养, 观察菌落形态, 其中 31 个转化子的菌丝发生了自溶, 推测可能为发生同源重组的敲除转化子。参考邵彦春等人^[12]遗传稳定性研究方法, 对发生自溶转化子的遗传稳定性进行研究。经过 5 轮培养后转接到潮霉素的 PDA 抗性平板上, 全部正常生长并且未出现形态分化的现象, 因此在实验条件下发生自溶的转化子的遗传稳定性为 100%。

2.3.2 发生同源重组的转化子的 PCR 鉴定: 由图 6 可见, MgkmrfA76 和 MgkmrfA96 的菌丝发生了自溶, 推测可能是农杆菌介导的 RGS 区定点敲除的结果, 因此采用 PCR 方法进一步验证。

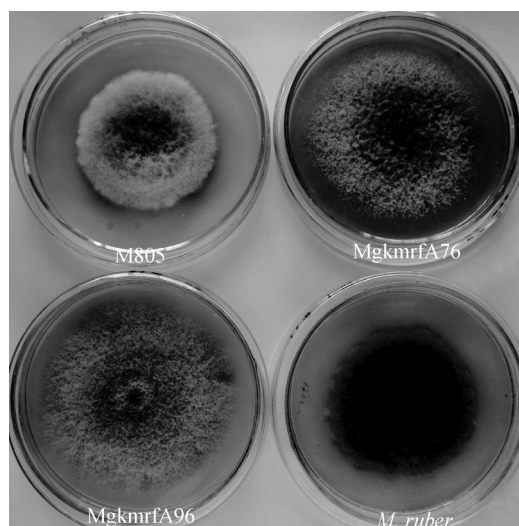


图6 菌丝发生自溶的推断的敲除转化子照片

Fig. 6 Pictures of putative transformants with autolytic aerial hyphae

以质粒 pC805S、*M. ruber*、MgkmrfA76、MgkmrfA96 和随机挑选的 4 个菌丝发生自溶的、被推定发生了同源重组的转化子基因组 DNA 为模板, 进行 PCR 扩增验证。验证结果见图 7。

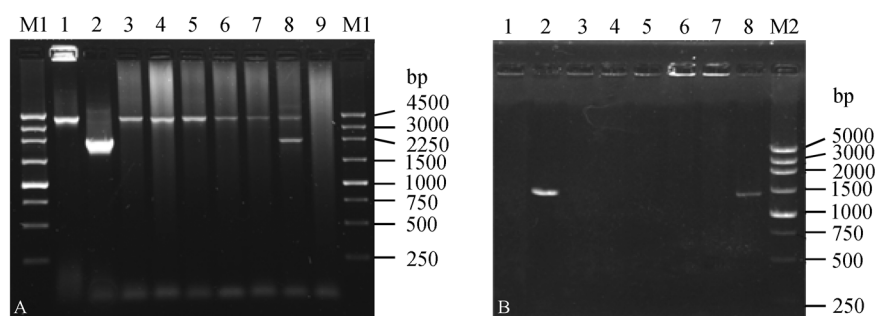


图 7 RGS 缺失的转化子的 PCR 验证

Fig. 7 Identification of transformants without RGS domain by PCR

A: M1: 250 bp DNA marker; 1、2、3、4 和 9 分别以 pC805S、红色红曲菌、MgkmrfA76、MgkmrfA96 和水为模板, 以 P1 和 P2 为引物的 PCR 扩增结果; 5~8: 随机挑选的 4 株菌丝发生自溶的转化子基因组 DNA 为模板 PCR 扩增结果。

B: M2: DL2000 DNA plus marker; 1~4 分别以 pC805S、红色红曲菌、MgkmrfA76 和 MgkmrfA96 为模板, 以 5'f1 和 3'gsp1 为引物的 PCR 扩增结果; 5~8 为对应于 A 图中随机挑选的 4 株菌丝发生自溶的转化子基因组 DNA 为模板 PCR 扩增结果。

A: M1: 250 bp DNA marker; 1、2、3、4 和 9: PCR result with pC805S, *M. ruber*, MgkmrfA76, MgkmrfA96s and water as templates and P1 and P2 as primers; 5~8: PCR results with randomly selected transformants with autolytic aerial hypha as template.

B: M2: DL2000 DNA plus marker; 1~4: PCR results with pC805S, *M. ruber*, MgkmrfA76, MgkmrfA96 as template and 5'f1 and 3'gsp1 as primers, respectively; 5~8: PCR results with randomly selected transformants with autolytic aerial hypha as template corresponding to those of A picture.

由图 7A 可见, 以 MgkmrfA76、MgkmrfA96、pC805S 以及 5~7 转化子为模板, P1 和 P2 为引物进行的 PCR 扩增得到了介于 3000 bp~4500 bp 之间的唯一一条带, 与 3700 bp 的敲除结构大小相近, 以 *M. ruber* 为模板得到了接近于 2250 bp 的条带, 而 8 号转化子扩增得到的两条 PCR 条带分别与 pC805S 和 *M. ruber* 为模板的扩增结果相同; 由图 7B 可见, 以敲除的 RGS 域外的 5'f1 为上游引物和被敲除 RGS 结构域中的序列 3'gsp1 为下游引物进行的 PCR 扩增结果显示, 除 *M. ruber* 和 8 号转化子扩增到了接近 1500 bp 的与设计长度 1266 bp 接近的条带外, 其它均未见扩增条带, 说明转化子 MgkmrfA76、MgkmrfA96 和 5~7 转化子的 RGS 结构域发生了定向重组, 破坏了 *mrfA* 的完整性, 而 8 号转化子 RGS 结构域未发生定向重组, 是随机插入的结果, 同时也表明红曲菌中可能存在其它的与菌丝发生自溶的相关基因。

对 pC805S、MgkmrfA76、MgkmrfA96、*M. ruber* 和 8 号转化子为模板的 PCR 扩增产物纯化后克隆至 T-vector 后交与金思特生物技术公司测序分析。采用 DNAMAN 软件对测序结果进行多序列比对分析, 结果表明以 pC805S、MgkmrfA76 和 MgkmrfA96 基因组为模板, 以 P1 和 P2 为引物对扩增的 PCR 产物碱基序列完全相同, 其中包括了全长为 1950 bp 的潮霉素抗性编码基因, 而 8 号转化子扩增的大片段与此序列相同, 较小片段与 *mrfA* 长片段序列相同; 以

M. ruber 和 8 号敲除转化子基因组为模板, 以 5'f1 和 3'gsp1 为引物对扩增的 PCR 产物序列相同, 是 *mrfA* 长片段的部分序列, 进一步确证了同源重组是成功的。

3 结论与讨论

以同源重组为基础的基因缺失或基因替代技术是验证感兴趣基因功能的直接而有效的方法。在模式生物酿酒酵母基因功能研究中, 构建同源重组载体的同源臂长只需 50 bp 就可以实现有效的同源重组, 因而得到了大规模应用。但在真菌的基因功能验证中, 基于同源重组的双交换技术要求两侧翼的同源臂长度要达到约 1000 bp^[13], 这无疑增加了实验难度, 影响了同源重组的效率。本实验采用农杆菌介导的 T-DNA 转化法研究红色红曲菌 *mrfA* 基因的功能, 结果显示在得到的 138 株转化子中, 有 26 株转化子为发生同源重组的转化子, 重组率达 18.8%, 介于已报道的 10%~30% 的同源重组率之间, 说明基于同源重组的方法在红曲菌基因功能鉴定中是切实可行的。

参考文献

- [1] Yu JH. Heterotrimeric G protein signaling and RGSs in *Aspergillus nidulans*. *Journal of Microbiology*, 2006, 44: 145-154.
- [2] 张徐兰, 吴天祥, 李 鹏. 红曲霉有效成分应用研究进展. *酿酒科技*, 2006, 9: 78-81.

- [3] Lakrod K, Chaisrisook C, Daniel ZS. Transformation of *Monascus purpureus* to hygromycin B resistance with cosmid pMOcosX reduces fertility. *Electronic Journal of Biotechnology*, 2003, **6**(2): 143–147.
- [4] Lakrod K, Chaisrisook C, Skinner DZ. Expression of pigmentation genes following electroporation of albino *Monascus purpureus*. *J Ind Microbiol Biotechnol*, 2003, **30**: 369–374.
- [5] Jeong-Gu K, Yang DC, Yung-jin C, *et al.* Genetic transformation of *Monascus purpureus* DSM1379. *Biotechnology Letters*, 2003, **25**: 1509–1514.
- [6] 周礼红, 王正祥, 诸葛健. 红曲霉不同转化方法的比较. 遗传, 2006, **28**(4): 479–485.
- [7] Fu GM, Xu Y, Li YP, *et al.* Construction of a replacement vector to disrupt pksCT gene for the mycotoxin citrinin biosynthesis in *Monascus aurantiacus* and maintain food red pigment production. *Asia Pac J Clin Nutr*, 2007, **16**(Suppl 1): 137–142.
- [8] 夏永军, 牛丹丹, 王正祥, 等. 红曲菌 9903A 转化体系影响因素的研究. 微生物学通报, 2007, **34**(2): 279–282.
- [9] Yang, Yun-Jung and Inhyung Lee. *Agrobacterium tumefaciens*-mediated transformation of *Monascus ruber*. *J Microbiol Biotechnol*, 2008, **18**(4): 754–758.
- [10] 邵彦春. 红曲菌产色素相关基因的克隆与功能研究. 华中农业大学博士学位论文, 2007.
- [11] 萨姆布鲁克, 拉塞尔著. 分子克隆实验指南. 北京: 科学出版社, 2001, pp.96–99.
- [12] 邵彦春, 王汝毅, 丁月娣, 等. 农杆菌介导的红曲菌 T-DNA 插入突变库的构建及色素突变子的性质分析. 菌物学报, 2006, **25**(2): 247–255.
- [13] Michielsea CB, Arentshorst M, Rama AFJ, *et al.* *Agrobacterium*-mediated transformation leads to improved gene replacement efficiency in *Aspergillus awamori*. *Fungal Genetics and Biology*, 2005, **42**: 9–19.

编辑部公告

中国科学院微生物研究所期刊广告部成立

中国科学院微生物研究所期刊广告部于 2007 年 3 月正式成立, 已取得北京市工商行政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)及《中国学术期刊文摘》、《生物学文摘》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各类厂商和公司精诚合作, 共同发展。如有刊登广告的需要, 欢迎与我们电话或 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汇入以下新账号:

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西区支行

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

联系人: 武文 王 闵

电子信箱: gg@im.ac.cn

网 址: <http://journals.im.ac.cn>