

细菌非编码小 RNA 研究进展

张 炜^{1,2} 童贻刚¹ 冯福民^{2*}

(1. 军事医学科学院微生物流行病学研究所 病原微生物生物安全国家重点实验室 北京 100071)

(2. 华北煤炭医学院预防医学系 河北 唐山 063000)

摘 要: 细菌非编码小 RNA (small non-coding RNA, sRNA) 是一类长度在 50~500 个核苷酸, 不编码蛋白质的 RNA。迄今, 在各种细菌中共发现超过 150 多种 sRNA。它们通过碱基配对识别靶标 mRNA, 在转录后水平调节基因的表达, 是细菌代谢、毒力和适应环境压力的重要调节因子。细菌 sRNA 的研究技术主要有基于生物信息学的计算机预测法和基于实验室的检测分析方法。这些方法所得到的 sRNA 都需要进行实验室确认, 然后再进一步通过各种实验手段研究其功能。

关键词: 非编码小 RNA, 细菌, 基因组

Research Progress of Small Non-coding RNA in Bacteria

ZHANG Wei^{1,2} TONG Yi-Gang¹ FENG Fu-Min^{2*}

(1. State Key Laboratory of Pathogen and Biosecurity, Institute of Microbiology and Epidemiology, Academy of Military Medical Science, Beijing 100071, China)

(2. North China Coal Medical University, Tangshan, Hebei 063000, China)

Abstract: Small non-coding RNA (sRNA) is a kind of newly discovered 50 nt~500 nt small RNAs that do not encode proteins. To date, more than 150 sRNA have been found in bacteria. The small RNA acting by base-pairing with target mRNAs, resulting in post-transcriptionally regulating gene expression, is important regulators in the bacterial response to stress, virulence and metabolism. At present, researches of sRNA mainly based on bioinformatical prediction and molecular biological experiments. The sRNA that obtained through these methods needs confirmation in laboratory, and then study of its functions through a variety of experimental methods.

Keywords: sRNA, Bacteria, Genome

RNA可分为编码蛋白质RNA和不编码蛋白质RNA两类, 其中编码蛋白质的RNA具有典型的“基因”特性, 包括起始和终止密码子、多聚腺苷酸化信号等。而非编码蛋白质的RNA过去一直认为只有少数几类, 包括rRNAs、tRNAs、spliceosomal RNAs等, 这些RNA分子只是遗传信息从DNA流向蛋白质过程中的一个中间过渡产物, 其主要功能在于协助

RNA的转录与蛋白质的翻译^[1]。然而, 这些年来人们普遍接受的遗传基本法则受到严峻的挑战, 大规模的基因表达、克隆和Tiling基因芯片研究发现, 人类基因组大约有 50%的DNA转录为RNA, 而其中只有约 2%的RNA翻译为蛋白质 (即mRNA), 剩余的 98%为非编码RNA (non-coding RNA, 简称ncRNA, 包括microRNA, siRNA, small RNA, medium/ large

* 通讯作者: Tel: 86-315-3725373; E-mail: fm_feng@sina.com.cn
收稿日期: 2008-11-07; 接受日期: 2009-02-26

RNA)^[2],是细胞基因组中被转录但是不编码蛋白质的一类RNA分子,它们在人体重要生命活动中发挥着极广泛的调控作用,如在染色体的转录与失活、基因的表达与关闭、细胞周期等过程中均具有重要的作用。这些ncRNA对生物体的胚胎发育、器官形成、组织分化等基本生命活动也具有重要的调控作用,与一些重要疾病(如癌症、神经系统疾病等)相关联^[3,4]。对其进行研究,可能对揭示基因表达调控规律、提高人类疾病防治能力及探索生物进化规律有重要意义。根据生物信息学研究和计算机预测,正常细胞中10%~30%的基因受到ncRNA的调控^[5],真核细胞中约有数千条ncRNA。近年来,随着生物信息学和分子生物学技术的不断发展,在原核生物和病毒体内也陆续发现了一些ncRNA分子,这些ncRNA分子同样具有多样的生物学功能。我们一般把原核细胞中的非编码RNA称为非编码小RNA(small non-coding RNA)即sRNA,针对近期国内外研究的热点本文将对细菌sRNA的研究进展做一概述。

1 sRNA的概念及特征

1.1 细菌sRNA的概念

细菌sRNA是一类长度在50~500个核苷酸,是细胞基因组中被转录但是不编码蛋白质的一类RNA分子,它们有2种形式:大部分已被研究的sRNA是由位于两个编码蛋白基因之间的非编码区(IGR)序列转录而来。小部分sRNA是从mRNA的头或尾部非翻译区域剪切下来的^[6],目前被确认的只有RyeB和SraC/RyeA,目前发现的这种从mRNA剪切下来的sRNA虽然较少,但这一发现对研究sRNA的功能、结构及起源具有重要意义,并且使人们更进一步认识到sRNA的复杂性。

1.2 细菌sRNA与真核生物ncRNA的区别和联系

从其所处的位置来看,非编码RNA可分为两大类^[7],一类存在于蛋白质编码基因的内部,为顺式非编码RNA(cis-encoded),由mRNA的互补RNA编码,这些非编码RNA与其靶标mRNA的序列严格匹配,真核细胞中siRNA属于这种类型,这种非编码RNA在细菌中比较少见;另一类存在于蛋白质编码基因的间隙中,为反式非编码RNA(trans-encoded),这类非编码RNA与其靶标mRNA的碱基配对往往不严格,细菌中以这种非编码RNA为主。

就转录加工过程和作用方式而言,原核sRNA与真核ncRNA有很大不同:常见的真核ncRNA(microRNA及siRNA)以茎环结构存在于较长的RNA转录物中,后经胞浆中的Dicer核酸酶剪切成22 nt的RNA分子,这些RNA分子被胞内蛋白质复合物RISC识别,并被递呈到互补的mRNA(一般为3'非翻译区),抑制该mRNA的翻译(当非编码RNA与mRNA部分匹配时)或者导致该mRNA降解(当非编码RNA与mRNA完全匹配时)。而原核生物sRNA的转录物一般不经过加工,长度约为50 nt~500 nt,通常开始于一段能折叠成稳定茎环结构的序列,转录终止于一个Rho不依赖的转录终止子。原核生物sRNA茎环结构有助于稳定整个分子,对这些sRNA体内稳定性的直接测试表明大多数sRNA明显比mRNA稳定^[8]。

1.3 细菌sRNA的类型

随着各种创新性的生物信息学手段和实验方法的发展,迄今已发现了超过150多种细菌sRNA,其中大肠杆菌中已知的sRNA就有约80种。在其他细菌中也发现一些sRNA,如枯草芽孢杆菌、霍乱弧菌、铜绿假单胞菌、葡萄球菌和单核细胞增多性李斯特菌等。

不同的sRNA发挥功能的机制不同。按照发挥生物学功能的形式,目前可以把细菌sRNA分为3种类型^[9]。

行使管家功能的sRNA,它们高度表达并且是必需的。目前至少发现3种该类型的sRNA,包括具有酶催化活性并形成RNase P的催化亚单位M1 RNA、转移信使tmRNA(transfer-messenger RNA)^[10]及组成核糖核蛋白(RNP)复合物的4.5S RNA。

蛋白质结合sRNA,如6S RNA在原核生物中高度保守并且在稳定期逐渐积聚,它能够与 σ 70-RNA聚合酶相互作用并改变它对启动子识别的特异性。CsrB和CsrC RNA也能够特异性地与全局转录后调控因子CsrA蛋白相互作用形成一个调控反应回路,在这个回路中这2个RNA分子作为CsrA蛋白的拮抗物,紧紧地调控着这个蛋白的活性。

与mRNA相互作用的调控sRNA,这是细菌sRNA发挥调节功能最为普遍的一种形式,目前发现的细菌sRNA绝大多数都属于这个类型。

1.4 细菌sRNA的作用机制

细菌sRNA的主要作用方式是通过互补配对与靶标mRNA结合,抑制或者促进靶标mRNA的翻译,或者是加速或减缓靶标mRNA的降解。至少有1/3的细菌sRNA采用这种作用方式,而且它们大部分

都依赖于和RNA伴侣Hfq的结合而发挥作用。Hfq是细菌中的一种保守的同源六聚体蛋白质,和真核细胞中的参与RNA剪接的Sm及Sm样蛋白质具有同源性^[11]。Hfq与细菌sRNA的富含AU的单链区紧密结合,对sRNA产生很强的保护作用,大大促进了sRNA的稳定性,同时Hfq还与sRNA的靶标mRNA结合,促进sRNA与其靶标mRNA的相互作用^[12,13]。这类sRNA多数结合在其靶标mRNA的5'端,靠近核糖体结合位点和起始密码子,抑制靶标mRNA的翻译起始,或者导致靶标mRNA的降解;参与sRNA靶标mRNA降解的细菌核酸酶为核酸酶E,该酶特异性地作用于富含AU的单链RNA^[14],核酸酶E不仅降解靶标mRNA,同时也降解与之结合的细菌sRNA。因此当靶标mRNA没有被合成的时候,sRNA也就相当稳定,而一旦靶标mRNA被合成并被核酸酶E降解,则sRNA也被降解。核酸酶E是被称作降解体(Degradosome)的蛋白质复合体的骨架组分(其他组分包括多聚核苷酸磷酸化酶、RNA解旋酶和烯醇酶Enolase),降解体参与与sRNA结合的靶标mRNA的降解^[15]。

除了以上所述细菌sRNA通过碱基配对促进靶标mRNA降解之外,有些细菌sRNA结合在靶标mRNA的3'端,起到稳定靶标mRNA的作用。有些sRNA还可以结合在靶标mRNA的茎环结构上,使茎环结构打开,从而起到促进翻译的作用^[16]。这些对靶标mRNA的上调作用为原核生物所特有,在真核生物中尚未发现。

细菌中另外还有一类sRNA,他们不是通过与靶标mRNA的碱基配对发挥作用,而是通过结合来调节靶标蛋白质生物活性^[17],大肠杆菌中的CsrB和CsrC就是属于这类sRNA,它们的靶标为CsrA蛋白质。CsrA是一种细菌毒力相关蛋白质,在包括大肠杆菌、假单胞菌在内的多种细菌中存在。CsrB和CsrC模拟CsrA蛋白质的底物,通过与CsrA蛋白质的结合,从而减少CsrA与目标mRNA结合的机会,以此来降低CsrA的活性。

另外,细菌sRNA还有以下一些特点:所有的细菌sRNA都有独立的转录单元,大多数sRNA的表达受到环境因素的影响,一个sRNA可能有多个靶标mRNA,而有些靶标mRNA可以受到多个sRNA的调控^[7]。

2 sRNA 的功能

传统上的遗传法则认为 RNA 分子是把信息从基因带到翻译系统的调节者,如 rRNA、tRNA 既执行自身功能,也和翻译过程有联系。现在发现的 sRNA 对细菌的生长、繁殖具有重要的调节作用,它们的主要功能是感应环境的变化,调控细胞的代谢途径、生长方式使之与环境相适应,以及控制细菌的毒力基因的表达。因此 sRNA 与细菌的致病机理、毒力乃至耐药性密切相关。

2.1 细菌 sRNA 与环境因素变化

细菌sRNA的功能与细菌适应环境变化有直接的关系^[7],其功能主要是感受生存条件的改变而调整细菌的基因表达,使之适应环境的变化;也有研究表明sRNA对细菌的毒力有很大的影响^[18]。细菌毒力和细菌生活环境是相互关联的,当细菌进入宿主体内之后,细菌感受到环境的改变,从而调整自身毒力基因的表达,最有效地促进细菌的生长、繁殖和扩散。多数情况下,细菌进入机体后,环境非常适合于细菌的生长,因此细菌会大量表达毒力基因,这些毒力基因产生的蛋白破坏宿主的正常生理状态,从而给入侵的细菌提供更好的生长环境。一个细菌sRNA通过调节一组相关基因的表达,启动细菌细胞内部的相关机制,导致细菌对环境的变化做出最恰当的反应。

细菌sRNA的转录受到严格的调控,这些调控因子大多是环境因素。每种环境因素至少和某一种sRNA相关,该sRNA可以将环境改变信号传导到细菌胞内有关基因,并引起一系列的反应。例如低温、营养缺乏或者应激等恶劣条件均可导致不同的sRNA(如DsrA、RprA等)表达^[19],这些sRNA都能激活RpoS基因,RpoS蛋白是细菌RNA聚合酶的一个特别的亚基(σ 因子),具有识别特定启动子的能力,RpoS基因的激活可以启动一系列下游基因的表达,使细菌生长适应恶劣的环境,进入稳定生长期(降低繁殖速度)。sRNA对于RpoS基因的调节为正向调节而非抑制或者降解,正常情况下,RpoS基因转录物(mRNA)的5'端折叠形成发夹结构,阻止了核糖体的进入,sRNA与该mRNA的5'端结合,从而打开此发夹结构,启动RpoS基因的表达。各种不同的应激条件会诱导各不相同的sRNA的表达,而这些不同的sRNA最终都会激活RpoS基因。RpoS基因的调控

是一个典型的sRNA作用模式,即不同环境因素诱导的不同sRNA作用于同一靶标,上调靶标基因的表达。

2.2 细菌 sRNA 与铁离子

RyhB是细菌感受到环境中铁离子浓度下降时表达的一种sRNA,它的作用模式与上述DsrA和RprA的作用模式完全不同,是一种sRNA下调多种靶标。当环境中铁浓度正常时,Fur蛋白(Ferric uptake regulation repressor)与铁结合,处于这种构象的Fur蛋白能够结合RyhB基因,并阻止其转录。当铁浓度下降时,Fur蛋白失去铁原子发生构象改变,不再能够与RyhB基因结合,失去了对RyhB基因转录的阻遏作用,于是RyhB得以表达。RyhB可以结合至少5种铁结合蛋白mRNA(包括*bfr*、*sdh*、*sodB*),促进这些mRNA降解,以此方式抑制这些铁结合蛋白的表达,从而导致细菌对铁的需要量减少^[15],让更多的铁能够被节省下来用于细菌最基本的生理需求。RyhB与靶标mRNA的结合受到RpoS蛋白的介导,该sRNA及其靶标mRNA的降解由核酸酶E执行。

2.3 细菌 sRNA 与细菌生长密度

细菌生长的密度感应也与sRNA有关^[20],细菌在生长过程中会向外界分泌一些信息分子(Auto-inducer, AI),当细菌浓度较低时,细菌感受不到环境中的这些信号分子;当细菌生长到一定的浓度的时候,环境中的信号分子浓度会增加,细菌能够感受到这些分子,并且调整自身基因的表达。这是一种对细菌群体的基因表达调控,也是一种细菌细胞间的通讯方式。细菌密度感应可以调节细菌的群体行为,使细菌表现得像多细胞生物一样,比如形成菌膜、共生、毒力发挥、型分泌、发荧光等。研究发现:细菌sRNA在细菌密度感应的信号传导中扮演重要角色,这些sRNA(Qrr sRNA)依靠Hfq伴侣蛋白的协助与靶标luxR mRNA结合,促进靶标降解。

3 细菌 sRNA 的研究技术

细菌sRNA并没有统一的标准,如大小、基因构成或结构基序,也就不能把它们归到一个明确的功能类别中。由于sRNA的碱基数目相对较小,同时sRNA不翻译为蛋白质,又没有开放阅读框,也就对移码和无义突变无反应,并且sRNA可能只在特定

的细胞环境下表达^[21],因此很难用生化和基因方法检验;同样的原因,常规的计算机算法依赖于蛋白质编码序列的存在,也不可能检测这些基因^[22]。所以对编码sRNA的基因进行研究比较困难。早期只有十几种编码sRNA的基因在大肠杆菌中被发现,而且大多是由于其高丰度而偶然被发现^[23],近几年才真正开始对细菌sRNA进行系统研究。总的来说研究sRNA的技术大体可以分成两大类:一类是基于生物信息学的计算机预测方法;另一类是基于实验室的检测分析方法。

3.1 生物信息学方法

近年来随着基因工程技术的不断完善,多种细菌的完整基因序列已经测得,使得采用系统搜寻的方法在其基因序列中寻找sRNA的编码基因成为可能。通过对已知sRNA分子编码基因序列的探查发现:这些sRNA的基因主要位于基因间隔区,我们可以用计算机方法扫描细菌的基因组序列,利用已知sRNA序列的一些特点(如茎环结构,分布在非编码区),分析相关种属的序列同源性,在基因间区即蛋白编码区域外辨别保守区并结合序列特征可对sRNA进行识别^[24]。

3.2 实验方法学

在真核细胞中广泛使用的产生小转录本cDNA克隆的方法也已被用于细菌sRNA的研究^[25]。此外,通过对已知的相关RNA结合蛋白进行研究也可识别出一些sRNA。例如在大肠杆菌中,通过对RNA伴侣分子Hfq的研究已发现了几个用其他方法未被发现的新的RNA分子^[26]。还有一些研究则集中在对细菌sRNA的直接探测上。如利用基因芯片技术、高密度寡核苷酸探针微阵列技术、鸟枪法克隆技术对sRNA进行探测。

无论在真核细胞还是原核细胞寻找新的sRNA的策略和方法仍在不断进展中。如通过生物信息学对基因进行分析,或对已知的一系列调控蛋白的结合位点进行实验性的搜索等。这些方法所得到的sRNA都需要进行实验室确认,然后再进一步通过各种实验手段研究其功能。

4 展望

细菌中的sRNA已被证明是许多调控线路中的重要成分。细菌毒力基因的表达往往是细菌在进入宿主体内以后,细菌处在适宜的生长环境状况之下,

从周围环境中获得相关信息, 这些信息经过一定的传导途径导致毒力基因的表达, 对宿主造成损伤。细菌 sRNA 在这些信息的传导过程中起着非常重要的作用。研究细菌 sRNA 的作用机制及其对细菌毒力和致病机制的影响是当今科学界的一个热点问题。

随着生物化学和分子生物学实验技术的迅速发展以及对 RNA 分子特性研究的深入, 将会发现越来越多的细菌 sRNA 分子, 虽然目前已经有一些方法可用于寻找 sRNA, 但还没能建立一套完善通用的技术方法。迄今发现的 sRNA 数目不多, 据估计只占全部 sRNA 的很小一部分。但由于细菌 sRNA 广泛的分布, 继续寻找新 sRNA 分子有巨大的潜力。随着原核生物中 sRNA 的大量发现和深入研究, 并通过与真核生物中 sRNA 的比较分析, 有可能使人们对生物进化和生命的发展过程有更为深入的了解。

迄今为止, 大部分细菌 sRNA 的研究集中在大肠杆菌等模式生物, 而针对致病菌的 sRNA 研究较少。随着研究的深入, 将会有越来越多的研究转向重要的致病微生物, 如耐药金黄色葡萄球菌, 结核分枝杆菌等。由于致病菌的研究受到环境限制, 尤其是结核分枝杆菌生长周期很长, 影响了人们对于结核等细菌 sRNA 的研究, 因此目前对结核分枝杆菌 sRNA 的研究尚为空白。结核分枝杆菌是一种严重影响人类健康的微生物, 其感染难以治愈与其在人体细胞内潜伏存活密切相关, 而细菌从正常生命周期转入潜伏状态与细菌生长环境紧密相连, 其调控机制符合 sRNA 作用特点。sRNA 有可能揭示结核分枝杆菌潜伏存活的发生机制为根治结核提供新的治疗靶点和治疗策略。

参 考 文 献

- [1] Costa FF. Non-coding RNAs: new players in eukaryotic biology. *Gene*, 2005, **357**(2): 83–94.
- [2] Gershon D. DNA microarrays: more than gene expression. *Nature*, 2005, **437**: 1195–1198.
- [3] Costa FF. Non-coding RNAs: lost in translation? *Gene*, 2007, **386**(1-2): 1–10.
- [4] Tomaru Y, Hayashizaki Y. Cancer research with non-coding RNA. *Cancer Sci*, 2006, **97**(12): 1285–1290.
- [5] Lewis BP, Burge CB, Bartel DP, *et al.* Conserved seed pairing, often flanked by adenosines, indicates that thousands of human genes are microRNA targets. *Cell*, 2005, **120**(1): 15–20.
- [6] Livny J, Waldor MK. Identification of small RNAs in diverse bacterial species. *Curr Opin Microbiol*, 2007, **10**: 96–101.
- [7] Storz G, Altuvia S, Wassarman KM, *et al.* An abundance of RNA regulators. *Annu Rev Biochem*, 2005, **74**: 199–217.
- [8] Gottesman S. Micros for microbes: non-coding regulatory RNAs in bacteria. *Trends Genetics*, 2005, **21**(7): 399–404.
- [9] Vogel J, Bartels V, Tang TH, *et al.* RNomics in *Escherichia coli* detects new sRNA species and indicates parallel transcriptional output in bacteria. *Nucleic Acids Res*, 2003, **31**(22): 6435–6443.
- [10] Mikulik K, Paleckova P, Felsberg J, *et al.* SsrA genes of streptomycetes and association of proteins to the tmRNA during development and cellular differentiation. *Proteomics*, 2008, **8**(7): 1429–1441.
- [11] Sauter C, Basquin J, Suck D, *et al.* Sm-like proteins in eubacteria: the crystal structure of the Hfq protein from *Escherichia coli*. *Nucleic Acids Res*, 2003, **31**(14): 4091–4098.
- [12] Valentin-Hansen P, Eriksen M, Udesen C, *et al.* The bacterial Sm-like protein Hfq: a key player in RNA transactions. *Mol Microbiol*, 2004, **51**(6): 1525–1533.
- [13] Lease RA, Woodson SA. Cycling of the Sm-like protein Hfq on the DsrA small regulatory RNA. *Mol Biol*, 2004, **344**(5): 1211–1223.
- [14] Carpousis AJ. The *Escherichia coli* RNA degradosome: structure, function and relationship in other ribonucleolytic multienzyme complexes. *Biochem Soc Trans*, 2002, **30**(2): 150–155.
- [15] Masse E, Escorcia FE, Gottesman S, *et al.* Coupled degradation of a small regulatory RNA and its mRNA targets in *Escherichia coli*. *Genes Dev*, 2003, **17**(19): 2374–2383.
- [16] Repoila F, Majdalani N, Gottesman S, *et al.* Small non-coding RNAs, co-ordinators of adaptation processes in *Escherichia coli*: the RpoS paradigm. *Mol Microbiol*, 2003, **48**(4): 855–861.
- [17] Majdalani N, Vanderpool CK, Gottesman S, *et al.* Bacterial small RNA regulators. *Crit Rev Biochem Mol Biol*, 2005, **40**(2): 93–113.
- [18] Sittka A, Pfeiffer V, Tedin K, *et al.* The RNA chaperone Hfq is essential for the virulence of *Salmonella typhimurium*. *Mol Microbiol*, 2007, **63**(1): 193–217.
- [19] Repoila F, Gottesman S. Temperature sensing by the dsrA promoter. *Bacteriol*, 2003, **185**(22): 6609–6614.
- [20] Tu KC, Bassler BL. Multiple small RNAs act additively to integrate sensory information and control quorum sensing in *Vibrio harveyi*. *Genes Dev*, 2007, **21**(2): 221–233.
- [21] Uzilov AV, Keegan JM, Mathews DH, *et al.* Detection of

- non-coding RNAs on the basis of predicted secondary structure formation free energy change. *BMC Bioinformatics*, 2006, **7**: 173–249.
- [22] Rivas E, Klein RJ. Computational identification of non-coding RNAs in *E. coli* by comparative genomics. *Curr Biol*, 2001, **11**: 1369–1373.
- [23] Satrom P, Sneve R. Predicting non-coding RNA genes in *E. coli* with boosted genetic programming. *Nucleic Acids Res*, 2005, **33**(10): 3263–3270.
- [24] Vogel J, Bartels V, Tang TH, *et al.* RNomics in *1030scherichia coli* detects new sRNA species and indicates parallel transcriptional output in bacteria. *Nucleic Acids Res*, 2003, **31**(22): 6435–6443.
- [25] Zhang Y, Sun S, Wu T, *et al.* Identifying fq-binding small RNA targets in *Escherichia coli*. *Biochem Biophys Res Commun*, 2006, **343**(3): 950–955.
- [26] Gottesmen S. Micros for microbes: non-coding regulatory RNAs in bacteria. *Trends Genet*, 2005, **21**(7): 399–404.

征 稿 简 则

1 刊物简介与栏目设置

《微生物学通报》是由中国科学院微生物研究所和中国微生物学会主办的,以微生物学应用基础研究及高新技术创新为主的综合性学术期刊。刊登内容包括:微生物学、生物工程、病毒学、酶工程、发酵工程、细胞工程等领域的最新研究成果,产业化新技术和新进展。设置的栏目有:研究报告、专论与综述、生物实验室(原技术与方法)、高校教改纵横(原高等院校教学)、精品教学(原名师讲堂)、教学与科研成果展示、显微世界、专题专栏、专家论坛、书讯、会讯等。

2 投稿方式

投稿时请登陆我刊主页 <http://journals.im.ac.cn/wwxtbcn>, 点击作者投稿区,第一次投稿请先注册,获得用户名和密码,然后依照提示提交稿件,详见主页“投稿、征稿须知”。

作者必须在网站投.doc 格式的电子稿,图与文字编好页码、图号后合成一个文件上传。凡不符合(投稿须知)要求的水稿,本部恕不接受。

3 写作要求

来稿要求论点明确,数据可靠,简明通顺,重点突出。

3.1 篇幅

以 A4 纸 5 号字计算,综述、教学和方法类文章最好在 3 页以内,研究报告 4~6 页(以上均包括图表)。

3.2 图表

文中的图表须清晰简明,文字叙述应避免与图表重复。所有小图的宽度应小于 8 cm(占半栏),大图的宽度应小于 17 cm(通栏)。

3.3 参考文献及脚注

参考文献按文内引用的先后顺序排序编码,未公开发表的资料请勿引用。我刊的参考文献需要注明著者(文献作者不超过 3 人时全部列出,多于 3 人时列出前 3 人,后加“等”或“*et al.*”,作者姓前、名后,名字之间用逗号隔开)、文献名、刊名、年卷期及页码。国外期刊名可以缩写,但必须标准,不加缩写点,斜体。参考文献数量不限。

参考文献格式举例:

- 期刊: [1] 刘 杰,成子强,史宣玲. SARS 冠状病毒 *nsp14* 基因的克隆和表达. *微生物学通报*, 2007, **34**(2): 1–3.
[2] Kajiura H, Mori K, Tobimatsu T, *et al.* Characterization and mechanism of action of a reactivating factor for adenosylcobalamin-dependent glycerol dehydratase. *J Biol Chem*, 2001, **276**(39): 36514–36519.
- 图书: [3] 钱存柔,黄仪秀. 微生物实验教程. 北京: 北京大学出版社, 2000, p.4.
[4] 董志扬,张树政,方宣钧,等. 海藻的生物合成及抗逆机理. 见: 华 璐等. 核农学进展. 北京: 中国农业出版社, 1996, pp.115–120.

脚注(正文首页下方):

基金项目: 基金资助(No.)

*通讯作者 Tel: ; Fax: ; E-mail:

收稿日期: 2009-00-00 ; 接受日期: 2009-00-00

(下转 p.1045)