

真养产碱杆菌合成 3-羟基丁酸与 3-羟基戊酸共聚物 发酵条件研究*

堵国成 陈 坚** 郁 明 陈银广 伦世仪

(无锡轻工大学 生物工程学院 无锡 214036)

摘 要 在摇瓶条件下,对真养产碱杆菌(*Alcaligenes eutrophus*)的 3-羟基丁酸与 3-羟基戊酸共聚物(PHBV)发酵过程中 HV 组分的前体物质——丙酸的加入时间和加入量进行了研究,结果表明,PHBV 中 HV 组分含量与丙酸的加入时间和加入量有密切的关系,丙酸的最佳加入时间为菌体生长阶段结束后的多聚物合成初期;尽管高浓度丙酸下可获得较高的 HV 组分含量,但会明显抑制菌体的生长和产物的合成。通过对 2L 小罐中 PHBV 合成阶段流加不同糖/酸比混合液所得的发酵结果的比较,并在综合考虑 PHBV 浓度、HV 组分含量、生产强度和生产成本等基础上,提出了在 PHBV 合成期流加液的糖/酸比应随菌体对丙酸利用能力的下降而不断增加的流加策略,在此条件下,细胞干重、PHBV 浓度和 PHBV 含量和 HV 摩尔分率分别达到 52.1g/L、40.8g/L、78.3% 和 16.2mol%, HV 组分对丙酸的产率系数为 0.5g/g, PHBV 的生产强度达到 0.74g/(L/h)。

关键词 真养产碱杆菌, 3-羟基丁酸与 3-羟基戊酸共聚物, 发酵条件

分类号 TQ920 **文献标识码** B **文章编号** 0001-6209(1999)03-0247-54

聚羟基烷酸(PHAs)是微生物在不平衡的生长条件下积累的一类聚酯,近年来的研究表明,PHAs 是具有广阔应用前景的新型热塑材料。其中聚 3-羟基丁酸(PHB)是一种最早发现和研究的生物可降解材料,但 PHB 由于结晶性过高而力学性能差,易热分解而难以加工等缺点^[1],在一定程度上限制了 PHB 的应用范围。而当 PHB 中掺入 HV 组分形成 PHBV 后,其物化性能比均聚物 PHB 有了很大的改善,如脆性降低,韧性增强等,其应用范围也就更广^[2]。

PHBV 的获得也相对较容易, *A. eutrophus* 在以葡萄糖为碳源合成 PHB 的过程中,向其中加入含有奇数碳的有机酸为前体时,就能在胞内积累 PHBV^[3],而且 PHBV 中 HV 组分含量的高低可通过调节葡萄糖与有机酸之间的比例来控制,由此可以获得 HV 组分含量不同的、性能各异的共聚物^[4]。

和 PHB 相类似,目前 PHBV 的工业化生产及其广泛应用所面临的最大问题是其生产成本过高,作为 PHBV 中 HV 组分合成前体的有机酸(丙酸或戊酸)不仅价格较高,而且在较低浓度时就会对菌体生长和产物合成产生一定的抑制作用^[5],因而必须对 PHBV 发酵条件进行较为详细的研究,综合考虑包括最终 PHBV 浓度、PHBV 中 HV 组分的摩尔分率、PHBV 的生产强度和 HV 对丙酸的产率系数等在内的多种因素,确定出较为适宜的 PHBV 发酵条件,在获得性能比 PHB 有较大改善的 PHBV 的同时,又使其生产成本不会过高。

* 国家自然科学基金项目(No.29677011),轻工总会科技基金项目(No.95039)

** 责任作者

收稿日期:1997-09-05,修回日期:1998-01-24

本文首先考察了前体丙酸加入量和加入时间对 PHBV 发酵的影响,在此基础上,研究了 2L 罐中流加不同糖酸比的混合液对 PHBV 发酵中各种指标的影响,提出了小罐中 PHBV 流加发酵的较佳条件。

1 材料和方法

1.1 菌种

真养产碱杆菌(*Alcaligenes eutrophus*) WSH3(本研究室保藏号)。

1.2 培养基

1.2.1 斜面培养基、种子培养基和无机元素液与文献[6]相同。

1.2.2 发酵培养基:无机元素液中添加硫酸铵为氮源、葡萄糖为碳源, pH7.0。

1.3 培养方法

1.3.1 摇瓶培养:接二环生长良好的斜面培养物至装有 75mL 种子培养基的 500mL 三角瓶中,摇瓶转速为 200r/min,温度为 30℃,培养 24h;按 10%的接种量接入发酵培养基中,500mL 三角瓶装液量为 60mL,摇瓶转速为 220r/min,温度为 30℃,培养 48h 左右,并在摇瓶培养过程中按不同的条件进行丙酸的补加。

1.3.2 小型罐培养:按 10%的接种量接入小型发酵罐(瑞士 INFOR2L 台式发酵罐中,初始装液量为 1.1L。初始葡萄糖浓度 1%,硫酸铵浓度 0.3%。发酵温度控制在 30℃ ± 0.5℃左右, pH 控制 7.0 ± 0.1,通气量为 1.2~1.5vvm,搅拌转速为 600~1200r/min,以控制溶氧百分浓度在 20%以上。菌体生长阶段以氨水调节 pH 并作为补充氮源的手段,停止氨水流加后改用 3mol/L 的 NaOH 和 3mol/L 的 H₂SO₄ 调节 pH,10h 时按指数速率方式进行葡萄糖的流加,并在指数流加方式结束前两小时停加氨水;在 PHBV 合成阶段,流加一定比例的葡萄糖与丙酸的混合液,葡萄糖的浓度控制在 1%左右,并按线性递减的方式进行硫酸铵的限量流加,从最大流速为 1.65g/h 降至 0g/h。流加结束后经过一个分批培养阶段,以降低发酵液中的残留基质浓度。

1.4 分析方法

1.4.1 铵离子浓度的测定:采用修正的 Berthelot 反应法^[7]。

1.4.2 葡萄糖含量的测定:3,5-二硝基水杨酸法。

1.4.3 细胞生长量的测定:取发酵液 4.5mL,6000r/min 离心 5min,水洗 2 次,真空冷冻干燥称重。

1.4.4 PHBV 含量和丙酸浓度的测定:气相色谱法^[8]。

2 结果和讨论

2.1 丙酸初始加入时间和加入量对 PHBV 发酵的影响

PHBV 是在 PHB 片段合成时嵌入 HV 单体而形成的。以葡萄糖为碳源,丙酸为 HV 组分合成前体,在摇瓶中采用间歇补加丙酸的方法进行了丙酸初始加入时间和加入量对 PHBV 发酵影响的研究,结果见表 1。

从表 1 可以看出:(1)在发酵前期(13 h 左右)加入丙酸,由于细胞正处于生长繁殖阶

段,而作为 HV 组分合成前体的丙酸对菌体生长具有一定的毒性,此时加入丙酸,会使菌体生长和 PHBV 合成活性都受到较大抑制,严重影响最终菌体干重和 PHBV 产量。且抑制作用随着丙酸加入浓度的增大而增大,因而在发酵前期加入丙酸,尽管最终产物 PHBV 中 HV 组分含量较高,但细胞干重和 PHBV 浓度较低。(2)在发酵中期(19h 左右)加入丙酸,由于发酵液中氮源已基本耗尽,细胞正处于多聚物合成阶段,这时加入丙酸就可以在 PHB 片段合成的同时嵌入 HV 单体,可使最终产物 PHBV 中 HV 组分含量较高,产物 PHBV 浓度也较高。但过高的丙酸浓度会抑制细胞的 PHBV 合成活性,使 PHBV 浓度明显下降。(3)在发酵后期(25h 左右)加入丙酸,由于 PHB 已大量合成,此时加入丙酸,菌体对丙酸的利用率很低,最终产物 PHBV 中 HV 含量很低。另外,可以想象如果丙酸加入时胞内已形成了大量的 PHB 均聚物,最终产物 PHBV 中 HV 单体可能会积聚在丙酸加入后所合成的长链的某一区域中,这必定会影响产物 PHBV 的材料性能。

表 1 丙酸的不同初始加入时间和加入量对 PHBV 摇瓶发酵的影响

Table 1 Influences of initial addition time and propionate concentration on PHBV in shake flask

丙酸的初次加入时间 Propionate initial addition time/h	每次丙酸加入浓度 Propionate addition concentration/%	细胞干重 Cell dry weight/(g/L)	PHBV 含量 PHBV content/%	PHBV 浓度 PHBV concentration/(g/L)	HV 组分摩尔分率 HV unit/(mol %)	残留丙酸浓度 Residual propionate concentration/%
13	0.1	21.4	80.7	17.3	10.9	0
	0.2	21.0	76.5	16.1	13.6	0
	0.3	15.5	63.1	9.8	23.4	0
	0.4	11.2	37.9	4.2	28.5	0.13
19	0.1	25.9	78.0	20.2	10.5	0
	0.2	24.2	80.1	19.4	13.2	0
	0.3	17.9	72.5	13.0	15.3	0.10
	0.4	13.6	53.3	7.3	25.6	0.22
25	0.1	27.0	79.3	21.4	8.3	0
	0.2	24.0	76.5	18.4	10.3	0.29
	0.3	23.9	70.9	16.9	11.5	0.36
	0.4	17.8	67.4	12.0	13.8	0.53

* 初始硫酸铵浓度为 0.3%, 葡萄糖浓度 5%, 加酸三次, 每次加酸间隔时间 8h。

Initial ammonium sulfate and glucose concentrations were 0.3% and 5%, respectively. Propionate was added for three times and the feeding interval time was 8h.

由此可见,丙酸初始加入时间和每次加入量是影响 PHBV 合成的两个重要因素。丙酸初始加入时间过早,尽管可以得到含有较高 HV 组分的产物,但由于丙酸对菌体的生长具有明显抑制作用,最终细胞干重和 PHBV 浓度会明显下降;丙酸加入过迟,产物中 HV 组分含量必定很低;丙酸的加入对细胞生长和聚合物形成具有抑制作用,并且随着加入浓度的增加而增大。丙酸的适宜加入时间为多聚物开始大量形成阶段,加入量不同可以得到不同 HV 组分含量的 PHBV。

2.2 2L 罐中 PHBV 流加发酵过程的优化控制

利用微生物生产 PHBV,一方面希望得到 HV 摩尔分率较大、机械性能较好的共聚物,另一方面又希望获得较高的 PHBV 生产强度。从摇瓶实验结果可以看出,丙酸的加

入时间和加入量会严重影响 PHBV 的各项发酵指标,作为 HV 组分形成前体——丙酸的最佳加入时间应为细胞生长阶段结束后多聚物开始大量合成的时刻。在确定了丙酸的加入时间后,共聚物中 HV 组分含量的高低主要与所加入的丙酸量有关,加入的丙酸量大,所合成的 PHBV 中 HV 组分含量也会相应提高,但高浓度丙酸会抑制菌体合成共聚物的活性,导致最终的 PHBV 产量降低,使其生产强度下降。在小罐发酵中采用连续流加法可避免间歇发酵中一次加入丙酸量过多而对菌体造成毒害作用,但应确定合适的丙酸流加速率。

2.2.1 不同葡萄糖与丙酸比例对 PHBV 发酵过程的影响:根据 PHBV 发酵过程中菌体生长和产物形成阶段的不同特点,可将其发酵过程分成两个阶段来进行分别控制:(1)菌体生长阶段。由于 *A. eutrophus* 即使在碳氮源较丰富的生长阶段也会在胞内积累一定量的 PHB,胞内大的 PHB 颗粒的存在会抑制细胞的繁殖能力,降低菌体的比生长速率^[9],而降低碳源浓度可减少菌体生长阶段 PHB 的积累量,在较短的时间内能获得最大量的细胞物质。本研究以葡萄糖为菌体生长的限制性基质,采用指数速率方式进行葡萄糖的流加,具体流加模型^[10]为:

$$F(t) = \frac{\mu(VX)_0}{Y_{X/S}(S_0 - S)} \exp(\mu t) \quad (1)$$

t :流加时间(h); μ :给定的细胞比生长速率(h^{-1}),本文中设定为 $0.15h^{-1}$; S_0 :流加液中限制性底物的浓度(g/L),本文中为 500g/L; S :发酵液中限制性底物的浓度(g/L); $F(t)$:流加速率(L/h); $(VX)_0$:流加起始时罐内细胞物质质量(g); $Y_{X/S}$:底物对细胞的表现转化率(g/g)本文中取 0.5g/g。(2)PHBV 积累阶段。葡萄糖的指数速率流加方式结束前先停止氨水的流加,当培养基中的氮源成为菌体生长的限制性因素后,细胞的生长阶段结束,进入多聚物的大量合成阶段,此时开始流加葡萄糖与丙酸的比例为 10:1 的混合液,以促使细胞合成 PHBV。

发酵结果见图 1。从图中可见,在菌体生长阶段,残留菌体浓度呈指数速率增加,胞

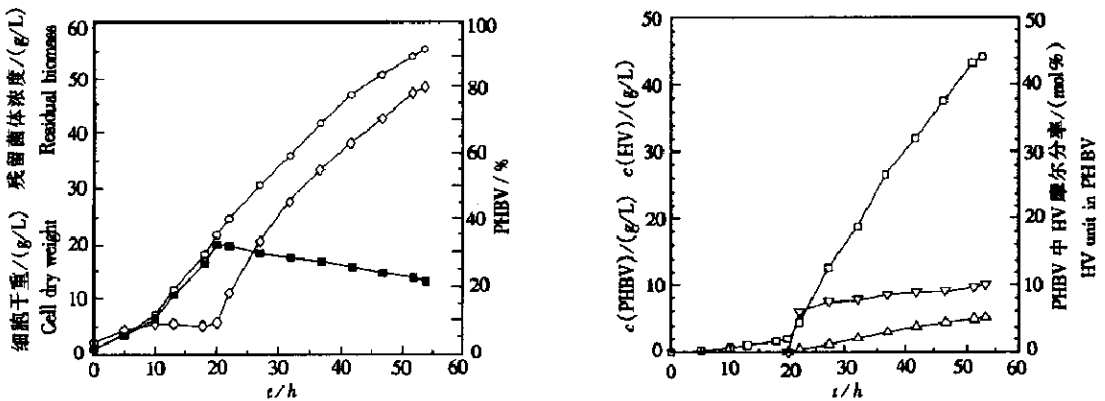


图 1 PHBV 发酵过程中糖酸比为 10:1 时各参数的变化曲线

○细胞干重;◇PHBV 含量;■残留菌体浓度;□PHBV 浓度;△HV 组分浓度;▽PHBV 中 HV 组分分率。

Fig. 1 Time courses of PHBV fermentation with the ratio of glucose to propionate to be 10:1

○Cell dry weight; ◇PHBV content; ■Residual biomass; □PHBV conc.; △HV unit conc.; ▽HV unit in PHBV.

内积累的 PHB 量很少(胞内 PHB 含量为 9% 左右),至 20h 生长阶段结束时,残留菌体浓度达 19.5g/L。流加糖酸比为 10:1 的混合液后,细胞开始合成共聚物 PHBV,从 HV 组分浓度和摩尔分率变化曲线可以看出,PHBV 中 HV 组分的量迅速增加。从 PHBV 浓度和含量的变化曲线可以看出,在菌体生长阶段胞内多聚物的积累量很少,20h 以后,细胞开始大量合成 PHBV,细胞干重也迅速增加。发酵结束时,细胞干重,PHBV 浓度和 PHBV 含量以及 HV 组分摩尔分率分别达到 55.0g/L、44.1g/L、80.2% 和 10.1mol%。从 20h 至发酵结束时,PHBV 的平均合成速率为 1.24g/(L/h),PHBV 中 HV 组分的平均合成速率为 0.15g/(L/h)。为了进一步探索 PHBV 合成阶段流加不同的糖酸比对发酵的影响,对糖酸比为 6.7:1 和 5:1 的流加条件分别进行了研究,不同糖酸比下丙酸残留浓度和发酵结果见图 2 和表 2。

图 2 为不同的糖酸比下丙酸的残留浓度变化曲线。从图中可以看出,在不同的糖酸比下,培养基中丙酸浓度的变化情况不同,当糖酸比为 10:1 时,发酵液中几乎无丙酸积累,所加入的丙酸被细胞完全利用。随着在 PHBV 合成阶段所流加的糖酸混合液中丙酸比例的增加,丙酸会在不同的时间逐渐积累。如当糖酸比为 6.7:1 时,加酸 22h 后,发酵液中丙酸开始积累,而当糖酸比为 5:1 时,加酸 12h 后,丙酸开始积累。由此说明随着发酵的进行细胞的活性不断降低,对丙酸的利用能力也不断下降。当流加液中的糖酸比为 6.7:1 和 5:1 时,流加结束时发酵液中丙酸浓度分别为 0.13% 和 0.21%。

不同糖酸比下发酵结束时的结果比较见表 2。从表中可以看出,PHBV 中 HV 组分的摩尔分率随流加液中糖酸比不同而变化,改变糖酸比就可以

表 2 不同糖酸比下的 PHBV 发酵结果

Table 2 PHBV fermentation results with different ratios of glucose to propionate

糖酸比 Ratio of glucose to propionate	10:1	6.7:1	5:1
发酵结果 Results			
细胞干重(g/L) Cell dry weight	55.0	46.4	38.6
PHBV 浓度(g/L) PHBV concentration	44.1	33.2	25.7
PHBV 含量/% PHBV content	80.2	71.6	66.5
HV 组分摩尔分率(mol%) HV unit	10.1	19.0	29.8
PHBV 平均合成速率*/(g·L ⁻¹ ·h ⁻¹)	1.24	0.92	0.68
PHBV average synthetic rate			
HV 组分的平均合成速率*/(g·L ⁻¹ ·h ⁻¹)	0.15	0.21	0.24
HV unit average synthetic rate			
HV 组分对丙酸的产率系数(g HV/g propionate)	0.54	0.36	0.3
Yield coefficient of HV unit to propionate			
PHBV 生产强度/(g·L ⁻¹ ·h ⁻¹) PHBV productivity	0.82	0.61	0.47
残留丙酸浓度/% Residual propionate concentration	0	0.1	0.19

* PHBV 合成阶段的平均值。The average value in PHBV synthetic period.

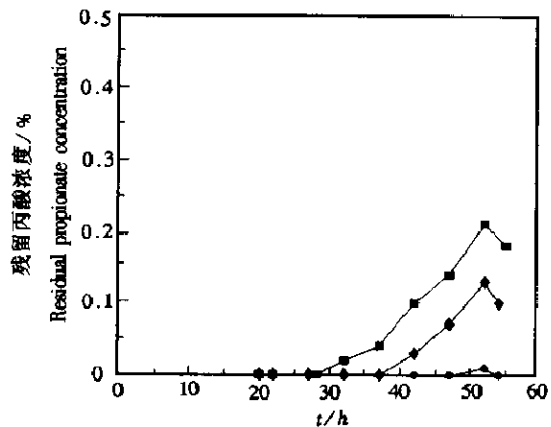


图 2 不同的糖酸比下丙酸的残留浓度变化曲线

葡萄糖和丙酸浓度之比:●10:1;◆6.7:1;■5:1

Fig. 2 Residual concentrations of propionate under different ratios of glucose to propionate

Ratio of glucose to propionate: ●10:1; ◆6.7:1; ■5:1

获得 HV 组分分率各不相同的共聚物, 这为生产性能各异的共聚物提供了依据, 但如要获得高 HV 组分的共聚物 PHBV, 则必定要以较高的发酵生产成本为代价, 因为随着流加液中糖酸比的下降, 尽管 HV 组分的平均合成速率增加, 但 PHBV 平均合成速率明显下降, 导致最终产物 PHBV 的浓度和含量都明显降低。从表中还可以看出, 随着流加液中糖酸比的下降, PHBV 的生产强度和丙酸对糖的产率系数明显下降。Doi 等^[11]的研究结果表明当以丙酸作为 PHBV 中 HV 组分的合成前体时, 有一部分丙酰 CoA 会转化为乙酰 CoA 而流向 HB 组分的合成途径。发酵液中丙酸的积累, 会使细胞中丙酰 CoA 的浓度增加, 使丙酰 CoA 流向乙酰 CoA 部分的比例相应增加, 导致 HV 对丙酸的产率系数下降。如果发酵过程中价格比葡萄糖贵的丙酸转向 HB 组分的合成, 必然会使 PHBV 的生产成本上升。因而必须综合考虑包括生产成本在内的各项指标, 既要获得较高的 PHBV 浓度, 又要使 PHBV 中 HV 组分的含量适宜, 这就需对 PHBV 发酵过程中丙酸的流加速度进行优化控制。

2.2.2 PHBV 流加发酵过程的优化

通过对流加不同糖酸比下发酵结果的分析, 可以知道, 在 PHBV 合成期, 菌体对丙酸的利用能力不断下降, 而发酵过程中丙酸的积累不仅会降低细胞的 PHBV 合成活力, 还会导致 PHBV 生产成本的增加, 因而在 PHBV 合成阶段流加液的糖酸比应随发酵过程中菌体对丙酸利用能力的下降而不断提高, 才能获得较高的 PHBV 生产强度和 HV 组分含量。

根据 PHBV 发酵过程中不同糖酸比下丙酸的消耗情况, 可以对 PHBV 合成阶段所采用的流加混合液的糖酸比进行优化, 即当氮源浓度成为生长限制的因素后, 先流加糖酸比为 5:1 的混合液, 流加 10h 后换成糖酸比为 6.7:1 的混合液, 再流加 10h, 然后换成糖酸比为 10:1 的混合液直至流加过程结束。

采用上述流加策略对 PHBV 的发酵过程进行控制, PHBV 发酵过程中各参数的变化见图 3 和图 4。

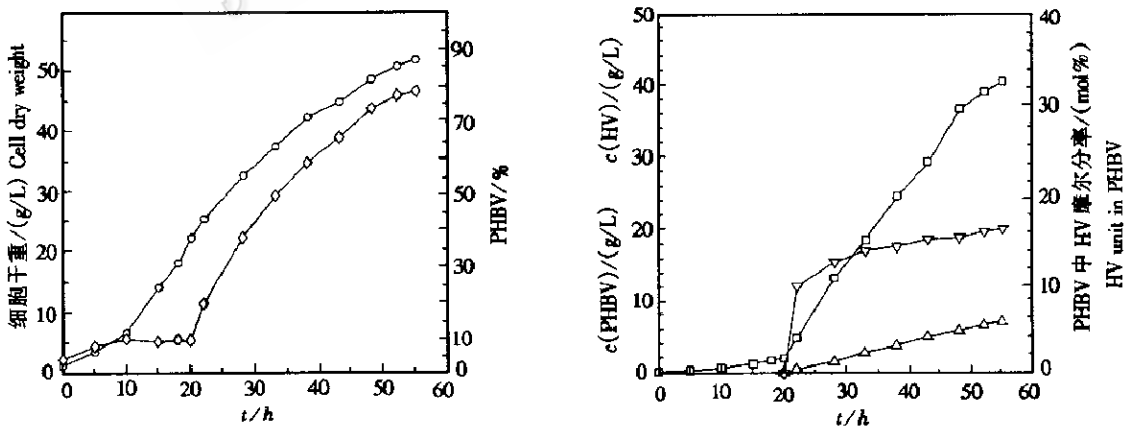


图 3 PHBV 发酵优化控制中各指标的变化情况

○细胞干重; ◇PHB 含量; □PHBV 浓度; △HV 组分浓度; ▽HV 组分摩尔分率。

Fig. 3 Time courses of PHBV fermentation with optimizing control

○Cell dry weight; ◇PHB content; □PHBV concentration; △HV unit concentration; ▽HV unit.

从图 3 中可以看出,在 PHBV 合成阶段,随着丙酸的加入,PHBV 中 HV 组分开始形成,HV 组分的浓度和摩尔分率迅速增加。PHBV 浓度和 PHBV 含量也迅速增加,随着胞内 PHBV 的积累,菌体细胞干重也增加很快。从图 4 中可以看出,在 PHBV 合成阶段,当流加混合液中糖酸比随菌体活性的降低而不断提高时,发酵液中丙酸的积累量很小,由此可以避免或降低高浓度丙酸对细胞活性的抑制作用。此阶段葡萄糖的浓度可控制在 1% 左右,所以应定时检测发酵液中葡萄糖的浓度,并及时调整流加速率,以维持其浓度在适当的范围内。

发酵结束时,细胞干重、PHBV 浓度、PHBV 含量和 HV 摩尔分率分别达到 52.1g/L、40.8g/L、78.3% 和 16.2mol%, HV 组分对丙酸的产率系数 $Y_{HV/丙酸}$ 为 0.5g/g, PHBV 的生产强度为 0.74g/(L/h)。

从上述结果可以看出,采用优化的丙酸流加策略后,由于较好地避免了发酵过程中丙酸的大量积累,尽管细胞干重和 PHBV 浓度比糖酸比为 10:1 时略低,但 PHBV 中 HV 组分摩尔分率有了较大的提高;而与糖酸比为 6.7:1 和 5:1 时的发酵结果相比,PHBV 浓度和 PHBV 的生产强度都有了较大的提高, $Y_{HV/丙酸}$ 也有了明显的提高,表明前体丙酸可较有效地转化为 HV 组分,因而可在一定程度上降低 PHBV 的发酵生产成本。

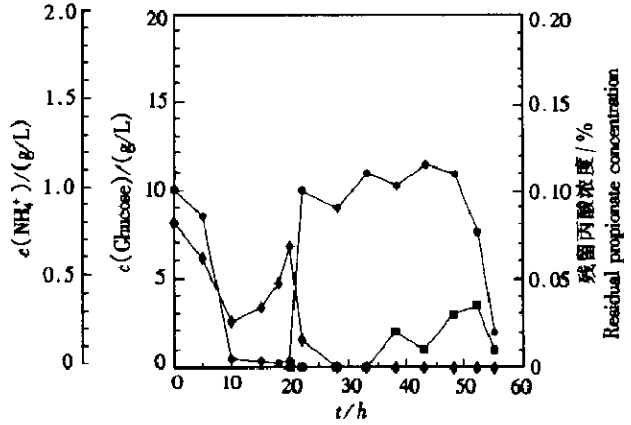


图 4 PHBV 发酵优化控制中糖、氨离子和丙酸浓度的变化

●葡萄糖浓度;◆铵离子浓度;■残留丙酸浓度。

Fig. 4 Changes of glucose, ammonium ion and propionate concentration with optimizing control

●Glucose concentration; ◆ NH_4^+ ; ■Residual propionate concentration.

参 考 文 献

- [1] 杨惠娣. 中国塑料, 1996, 10(4): 1~9
- [2] Lee S Y. *Proceeding of the international symposium on recent advances in bioindustry*, Seoul, Korea, April, 25~26, 1996.
- [3] Lee I Y, Kim M K, Chang H N *et al. Biotechnology Letters*, 1994, 16(6): 611~616.
- [4] Doi Y, Tamaki A, Kunioka M *et al. Appl Microbiol Biotechnol*, 1988, 28: 330~334.
- [5] 赵良启, 田杰生, 吴柏和等. 微生物学报, 1996, 36(5): 351~359.
- [6] 堵国成, 陈坚, 高海军等. 应用与环境生物学报, 1996, 2(3): 308~314.
- [7] Steinbuchel A, Hans G S. *Appl Microbiol Biotechnol*, 1989, 31: 168~175.
- [8] 高海军, 陈坚, 堵国成等. 第七届全国生物化工学术会议论文集, 1996, 245~249.
- [9] James G C. Dissertation. California Institute of Technology, 1990, 98.
- [10] 陈坚, 李寅, 宋祺等. 药物生物技术, 1995, 2(4): 37~42.
- [11] Dio, Y, Kunioka M, Nakamura Y *et al. Macromolecules*, 1987, 20: 2988~2991.

OPTIMIZATION OF FERMENTATION CONDITIONS FOR THE PRODUCTION OF POLY(3-HYDROXYBUTYRATE-CO-3-HYDROXYVALERATE) WITH *ALCALIGENES EUTROPHUS*

Du Guocheng Chen Jian Yu Ming Chen Yinguang Lun Shiyi

(School of Biotechnol., Wuxi University of Light Industry, Wuxi 214036)

Abstract A close relationship, between the initial addition time and concentration of propionate and HV fraction, was observed in shaking culture of *Alcaligenes eutrophus* for the production of Poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate). The optimal initial addition time of propionate was determined at the onset of PHBV formation period. Although relatively high HV unit could be obtained under high propionate concentration, the growth and product synthetic activities were inhibited obviously. Different ratios of glucose to propionate were fed to stimulate the formation of HV unit and the results were compared. The optimizing feeding strategy of propionate was proposed based on the consideration of several fermentation index. The final cell dry weight, PHB concentration, PHB content and HV fraction in PHBV reached 52.1g/L, 40.8g/L, 78.3% and 16.2mol%, respectively. Yield coefficient of HV unit to propionate and PHBV productivity were obtained to be 0.5g/g and 0.74g/(L/h), respectively.

Key words *Alcaligenes eutrophus*, Poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate), Fermentation conditions

Project Granted by Chinese National Natural Science Fund(No.29677011)

会议信息

1999年8月3~6日将在宁波召开“全国生物工程宁波研讨会暨项目洽谈会”。论文重点交流“细胞融合方法、转基因方法和细胞破碎最新技术及展望”。欢迎有关领导和专家携带项目和论文前来参加。会议得到中国生物工程学会大力支持。由宁波新芝科器研究所、宁波经济技术开发区管委会、宁波市科学技术委员会、宁波市人民政府协作发起主办,宁波新芝科器研究所承办。

宁波新芝科器研究所

地址:宁波先锋路9号

邮编:315010

网址:WWW.XINZHI.COM

电话:(0574)7133995, 7134807

传真:(0574)7133995

电子信箱:zhf@xinzhi.com