

高温链霉菌质粒 pTSC2 的测序分析和滚环复制方式的鉴定

张子飞, 陈威华, 覃重军*

(中国科学院上海生命科学研究院, 植物生理生态研究所合成生物学重点实验室, 上海 200032)

摘要:从猪粪堆肥中分离到一株编号为 X3-3 的可以在 50°C 高温生长的链霉菌菌株, 该菌株含有一个约 7 kb 的环型质粒 pTSC2。【目的】克隆、测序和分析 pTSC2, 以及鉴定质粒的复制方式。【方法】利用分段克隆和引物延伸获得 pTSC2 的全序列, 利用多序列比对寻找复制元件 *rep*、*dso* 和 *sso*, 利用中性转移和 Southern 杂交检测复制中间体。【结果】克隆和测序获得了全长为 7516 bp 的 pTSC2 序列, 预测编码 8 种蛋白, 其中 4 种蛋白与链霉菌滚环复制的质粒 pIJ101 中负责复制和接合转移的蛋白非常相似。pTSC2 的复制元件 *rep*、*dso* 和 *sso* 也与 pIJ101 的相似。克隆、转化变铅青链霉菌 ZX7 以及高温链霉菌 2C 证明了 *rep* 和 *dso* 为复制所必需元件。Southern 杂交检测到 pTSC2 复制过程中积累了大量的单链 DNA。【结论】高温链霉菌质粒 pTSC2 以滚环方式进行复制。这是首次在高温链霉菌中克隆和测序质粒, 以及鉴定其复制方式。

关键词: 高温链霉菌; 质粒; 测序; 滚环复制

中图分类号: Q933 **文献标识码:** A **文章编号:** 0001-6209 (2010) 01-0041-07

链霉菌的不同种产生了约 6000 种抗生素和药理活性物质^[1], 在医药、农业和畜牧业有重要的应用价值。高温链霉菌不是一个独立的分类学单元, 一般归属于链霉菌类群^[2]。与链霉菌相似, 高温链霉菌可以进行菌丝分化和发育产生孢子^[3]。与链霉菌不同的是, 高温链霉菌生长很快且耐高温 (达 55°C) 生长。如果能将高温链霉菌快速生长的生理特性应用于链霉菌的基础研究和抗生素工业菌株的生产上, 将加快研究的步伐和节约工业生产的成本。建立遗传操作系统是开发高温链霉菌的重要步骤, 而寻找内源质粒是发展遗传操作系统的一条捷径。

我们实验室从 50 多株高温链霉菌中找到了对外源 DNA 遗传转化没有限制性障碍的菌株 (未发表)。大量提取质粒 DNA, 检测到几个环型质粒。本文报道其中一个约 7 kb 的环型质粒 pTSC2 的克

隆、测序以及复制功能的研究。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 菌株和质粒: 本实验所用的菌种与质粒见表 1。

1.1.2 主要试剂: 所用抗生素氨苄青霉素、硫链丝菌素均购于 Sigma 公司, 限制性内切酶、T4 DNA 连接酶、环型 DNA 分子量标准物购于 MBI 公司。随机引物标记试剂盒购自大连宝生物生物公司。放射性同位素 [α^{32} P]dCTP 购自北京市福瑞生物工程公司核酸研究室。

1.2 培养和基本的遗传操作

大肠杆菌培养、转化和质粒提取等基本操作见文献[6]。链霉菌和高温链霉菌的原生质体的制备及转化参照文献[7]。高温链霉菌培养基根据文献

基金项目: 国家自然科学基金 (30870067, 30770045, 30325003); 国家“863 计划” (2007AA021503); 中国科学院知识创新工程项目 (KSCX- YW-G-014)

* 通信作者。Tel/Fax: +86-21-54924171; E-mail: qin@sibs.ac.cn

作者简介: 张子飞 (1983-) 男, 浙江台州人, 硕士研究生, 主要从事链霉菌分子遗传学研究。E-mail: zifzhang@sibs.ac.cn

收稿日期: 2009-10-10; **修回日期:** 2009-11-06

表 1 菌株和质粒

Table 1 Strains and plasmids

Strain and plasmid	Genotype	Sources
Thermophilic <i>Streptomyces</i> sp. X3-3	Host harboring linear plasmid pTSC2	This work
Thermophilic <i>Streptomyces</i> sp. 2C	Host with no or low restriction barrier for introducing foreign DNA	This work
<i>E. coli</i> DH5 α	F ⁻ ϕ 80d/lacZ Δ M15 Δ (lacZYA-argF) U169 <i>deoR recA1 endA1 hsdR17</i> (r ⁻ δ m ⁺ δ) <i>phoA supE44 λ^- thi^-1 gyrA96 relA1</i>	This lab
<i>S. lividans</i> ZX7	<i>pro-2 str-6 rec-46 Δdnd HAU3^s SLP2⁻ SLP3</i>	[4]
pBluescript II SK	<i>Amp^r, lacZ</i>	Lab stock
pQC156	The <i>tsr</i> and <i>melC</i> genes from pIJ702 cloned into an <i>E. coli</i> plasmid pSP72	[5]
pZF34	pQC156 contains 2.6-kb <i>HindIII</i> fragment of pTSC2	This work
pZF35	pQC156 contains 2-kb <i>HindIII</i> fragment of pTSC2	This work
pZF36	pQC156 contains 2-kb <i>HindIII</i> fragment of pTSC2	This work

[8-9],原生质体制备、转化和再生培养基为 R5,培养温度为 42℃。抗生素的使用终浓度为:氨苄青霉素 100 μ g/mL,硫链丝菌素 50 μ g/mL(固体)和 5 μ g/mL(液体培养)。16S rRNA 引物为 F(5'-AGA GTTTGATCCTGGCTCAG-3')和 R(5'-TCAGGCTA CCTGTTACGACT T-3'),PCR 扩增条件为:95℃预变性 5 min,95℃变性 30 s,55℃退火 30 秒,72℃延伸 2 min,35 个循环,最后 72℃延伸 10 min。

1.3 质粒 pTSC2 复制区的鉴定

通过序列分析预测 pTSC2 的复制基因 *rep*,围绕该基因设计了 3 对引物(5'-GTCAAGCTTGCCG GATGCTCGGAAAGGT-3' /5'-GTCAAGCCTTGCCGC ACTGACCAGACGCT-3'; 5'-GTCAAGCTTCGCACCGA GGACGAGCCAGA-3' /5'-GTCAAGCTTAAGAAGCAG GCCAAGCGCGT; 5'-GTCAAGCTTCTCCACGGGAT CTCTCTGA-3' /5'-GTCAAGCTTGATCACCCACACA ACAGCT-3'),PCR 扩增后,用 *HindIII* 酶切,克隆到大肠杆菌质粒 pQC156 上分别得到质粒 pZF34、pZF35 和 pZF36。提取质粒 DNA 转化变铅青链霉菌 ZX7 的原生质体,在 R5 平板上选择硫链丝菌抗性转化子。

1.4 线型质粒 pTSC2 复制中间体的检测

链霉菌质粒 pIJ101 衍生质粒 pIJ702(已经证明其为 RCR 复制)以及 pZF34 转化 ZX7 的原生质体,抗性转化子经 YEME 液体培养,提取总 DNA。DNA 样品用 S1 酶 37℃处理 10 min(缓冲液 40 mmol/L sodium acetate, pH 4.5, 0.3 mol/L NaCl, and 2 mmol/L ZnSO₄),电泳后分别用中性缓冲液(0.5 mol/L Tris-HCl, pH 7.5, 1 mol/L NaCl)和碱性溶液(0.4 mol/L NaOH)处理凝胶 15 min,然后将两块胶过夜转移到中性尼龙膜上。以利用 [α -³²P] dCTP 标记 *tsr* 基因为探针进行 Southern 杂交,用磷屏扫描杂交结果。

1.5 DNA 序列的测定和分析

pTSC2 质粒用 *NotI* 酶切,得到 3 个不同大小片

段,回收 DNA 片段克隆到质粒 pBluescript II SK。将克隆到大肠杆菌质粒 pBluescript II SK 上的片段,通过引物延伸方法,由 Invitrogen 公司完成测序。第一轮测序后留下的 3 个缺口,再设计引物进行 PCR 扩增和测序,获得全序列。序列编辑使用 Vector NIT suite 9(Invitrogen 公司)。链霉菌 DNA 开放阅读框分析软件为 Frameplot 3.0 beta (<http://watson.nih.gov/jp/-jun/cgi-bin/frameplot-3.0b.pl>)^[10]。DNA 二级结构的预测采用软件“DNA mfold”(<http://frontend.bioinfo.rpi.edu/applications/mfold/cgi-bin/dna-form1.cgi>)^[11]。pTSC2 全序列我已经提交 GenBank 数据库,编号是 GQ984145。

2 结果和分析

2.1 高温链霉菌质粒 pTSC2 的检测、克隆和测序

本实验室从湖南省郴州市郊外农村的猪粪高温堆肥中分离到 11 株可以在 50℃高温下生长的放线菌,其中一个编号为 X3-3 的菌株经 16S rRNA 保守区序列的克隆和测序,与高温链霉菌中的 *S. thermodiastaticus* JCM 4840 和 *S. thermoviolaceus* NBRC 15459 均有 99% 的相似性。利用碱性溶菌法提取菌株 X3-3 的环型质粒 DNA,凝胶电泳后检测到一条约 7.5 kb 的 DNA 带(图片未列出),命名为 pTSC2。

将 pTSC2 克隆到大肠杆菌质粒 pBluescript II SK,采取 PCR 引物延伸和拼接的策略(见“材料与方法”),获得了全长为 7516 bp 的序列。序列分析显示 pTSC2 的 G+C 含量为 72.3%,具有典型链霉菌 DNA 高 GC 含量特点。表 2 中列出了预测的 pTSC2 可能编码的 8 种蛋白,其中 pTSC2.8c 编码的蛋白与许多链霉菌以滚环方式复制(rolling circle replication, RCR)的质粒的复制蛋白 Rep 非常相似,

如 pIJ101、pSN22、pSB24.2 和 pJV1 等。这些复制蛋白都包含 3 个保守的结构域 (motif)^[13-14], 通过多序列比对发现 pTSC2 的 Rep 蛋白与 pIJ101 和 pSN22 的有高的相似性, 特别是在 motif III 区域, 而与 pSB24.2 和 pSB24 的相似性比较低 (图 1-A)。此

外 pTSC2. 1c-pTSC2. 3c 编码的 3 种蛋白与链霉菌滚环复制的质粒 pIJ101 中负责接合转移和扩散的蛋白非常相似, 暗示 pTSC2 与 pIJ101 有类似的复制方式和转移机制。

表 2 预测质粒 pTSC2 编码的蛋白

Table 2 Predicted opening reading frames (ORFs) of plasmid pTSC2

ORFs ^a	Position (bp) ^b	Size (aa)	E value ^c	Function/Homology
pTSC2. 1c	982 - 26	318	4 x 10 ⁻⁸⁵	SpdB (<i>Streptomyces</i> plasmid pIJ101)
pTSC2. 2c	2004 - 997	335	1 x 10 ⁻⁵⁹	Tra (<i>Streptomyces</i> plasmid pIJ101)
pTSC2. 3c	2979 - 2020	319	9 x 10 ⁻¹⁰³	Tra (<i>Streptomyces</i> plasmid pIJ101)
pTSC2. 4c	3354 - 3064	96	4 x 10 ⁻³¹	Dihydroloipoamide S-succinyltransferase (<i>Streptomyces</i>)
pTSC2. 5	4067 - 4336	89		Unknown
pTSC2. 6	4329 - 4772	147		Unknown
pTSC2. 7c	5343 - 5170	57	7 x 10 ⁻¹³	Hypothetical protein (<i>Streptomyces</i>)
pTSC2. 8c	6697 - 5351	448	8 x 10 ⁻¹²⁴	Rep (<i>Streptomyces</i> plasmid pIJ101)

^a c: complementary strand; ^b Stop codons are not included; ^c E value: expectation value, < 1 x 10⁻³ as the cut-off values.

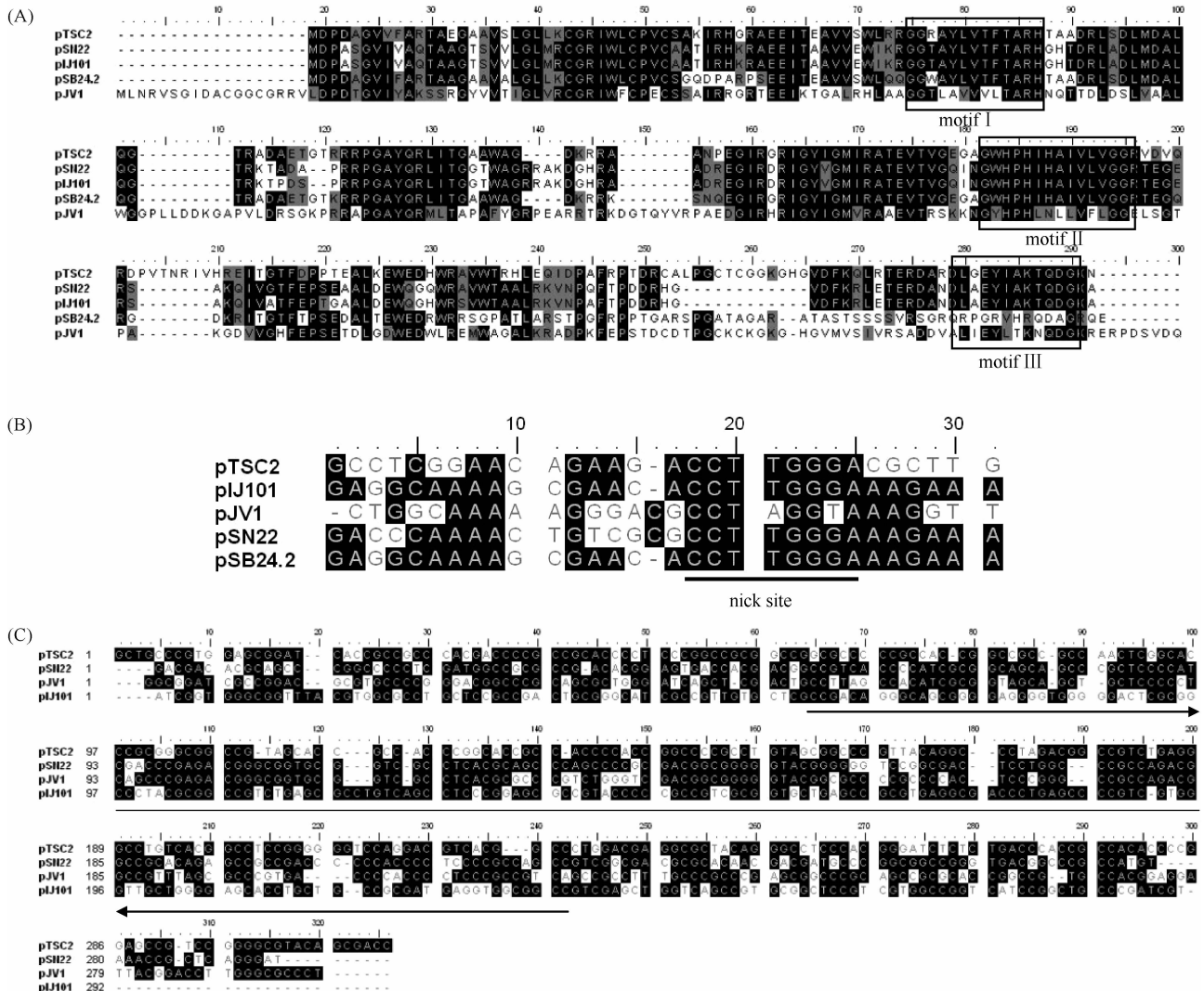


图 1 比较质粒的复制蛋白、双链和单链起点

Fig. 1 Comparisons of the replication proteins (Rep), double-strand origin (dso), single-strand origin (sso) and predicting the secondary structure of single-strand origin (sso) of rolling-circle-replication plasmid pTSC2. (A-B) Alignment of the pTSC2 sequence with the known Rep proteins, dso of plasmids pIJ101, pJV1, pSN22 and pSB24.2. Three or more identical protein sequences were indicated as blocked. (C) Alignment of the pTSC2 sequence with the known sso of plasmids pIJ101, pJV1 and pSN22. The conserved regions was underlined by arrow and line.

2.2 预测质粒 pTSC2 复制的双链起始位点 (*dso*)、单链起始位点 (*sso*)

所有的以滚环方式复制的质粒都包含 3 个元件: Rep 蛋白, 双链起始位点 (*dso*)、单链起始位点 (*sso*)^[12] pTSC2 与 pIJ101、pSN22、pSB24.2 和 pJV1 等 5 个质粒已鉴定或预测的 *dso* 序列之间进行比较, 推测 pTSC2 存在类似的 *dso* 序列(图 1-B), 尤其

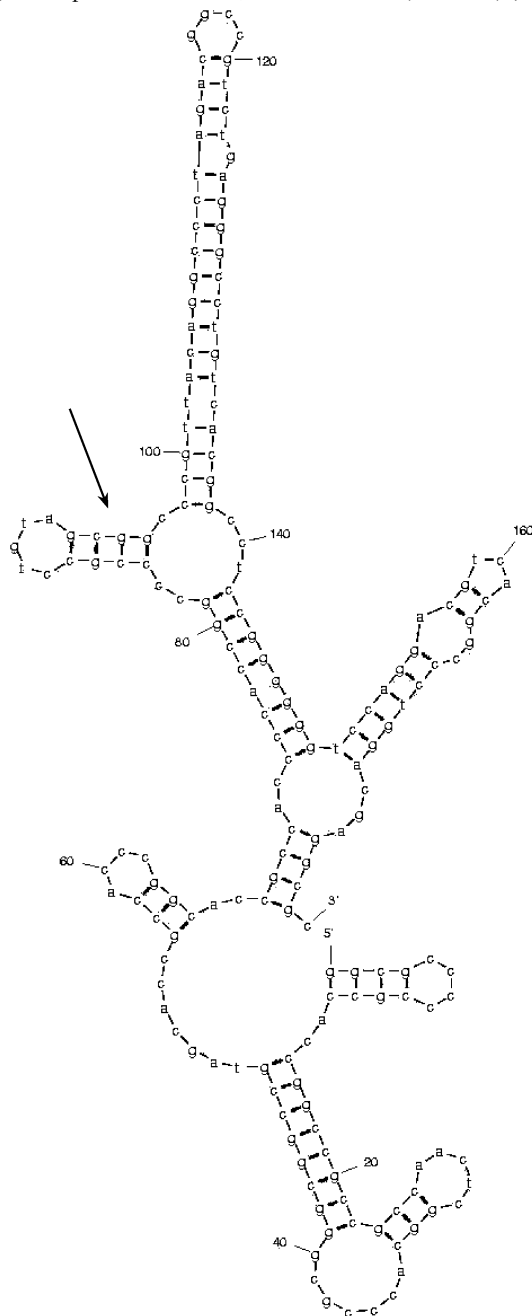


图 2 预测 pTSC2 单链起点的二级结构

Fig. 2 Predicting the secondary structure of single-strand (*sso*) of rolling-circle-replication plasmid pTSC2, it contained conserved sequence 'TAGCGG', indicated by arrowhead.

是保守 nick 序列 5'-CCTTGGGA-3'^[15-16]。pTSC2 与 pIJ101、pSN22 和 pJV1 等 4 个质粒已鉴定或预测的 *sso* 序列之间进行比对, 虽然序列上的同源性不够高, 但是都存在一个大的回文序列区域(图 1-C), 这样的序列可以“折返”形成复杂的二级结构(图 2)。

2.3 pTSC2 基本复制区的鉴定

根据预测的 pTSC2 复制元件 *rep*、*dso* 和 *sso* 所在的位置, 设计的多对引物包括不同的复制元件。经 PCR 扩增和 *Hind*III 酶切后, 连接到大肠杆菌质粒 pQC156(携带了可以在链霉菌中选择的硫链丝菌素抗性基因), 获得了质粒 pZF34、pZF35 和 pZF36(表 3)。将质粒 DNA 分别导入不含质粒的高温链霉菌 2C 的原生质体中。表 3 显示包含 3 个复制元件的质粒 pZF34 可以高效转化 2C 菌株, *dso* 存在而缺失 *sso* 的 pZF35 质粒仍能复制, 但是转化效率有所降低, 而缺失了 *dso* 和 *sso* 的质粒 pZF36 不能转化 2C 菌株获得抗性转化子。该实验鉴定了 pTSC2 复制关键元件包括 *rep* 和 *dso*, 而 *sso* 不是复制所必需, 可能只是质粒高效复制成高拷贝所必需, 这与文献描述的 RCR 质粒的特征相同^[18]。

非常有趣的是, pZF34 和 pZF35 还可以高效转化常温链霉菌的模式菌株变铅青链霉菌 ZX7, 获得硫链丝菌素抗性转化子(表 3)。而来自变铅青链霉菌质粒 pIJ101 衍生的 pIJ702 也可以高效转化高温链霉菌 2C 的原生质体(数据未列出)。

2.4 单链 DNA 复制中间体的检测

携带 *sso* 的质粒进行滚环复制的一个重要特征是在复制过程中积累大量的单链 DNA 作为复制中间体^[19-21]。为了检测 pTSC2 的复制中间体, 将 pZF34 转化变铅青链霉菌 ZX7 菌株, 从抗性转化子中提取总 DNA, 用切割单链 DNA 的 SI 核酸酶处理后进行凝胶电泳。将两块同样的凝胶分别进行碱变性和中性处理, 然后转移到尼龙膜上进行 Southern 杂交。图 3 显示, 不经过碱变性处理的 pZF34 总 DNA 中确实存在大量的单链 DNA (pIJ702 作为正对照也检测到大量的单链 DNA), 该类 DNA 可以被切割单链 DNA 的 SI 核酸酶彻底去除。

3 讨论

高温链霉菌不是一个独立的分类学单元, 除了快速生长和耐高温外, 其形态分化和生理生化特征与链霉菌相似, 因此, 也常常归为链霉菌类群。本

文研究的高温链霉菌的内源质粒 pTSC2 上的几个复制元件与常温链霉菌的质粒 pIJ101 等的非常相似。高温链霉菌质粒既可以转化高温链霉菌,又可以转化常温链霉菌。而来自常温链霉菌的质粒也可以高效转化高温链霉菌。这些结果暗示高温链霉菌与常温链霉菌的菌株之间,以及内源质粒之间有较近的亲缘关系。

除了来自常温链霉菌的硫链丝菌素抗性基因

可以在高温链霉菌表达外,我们还发现来自常温链霉菌的整合型载体 pSET152 可以导入和整合到高温链霉菌的染色体上(未发表的数据),暗示一些高温链霉菌对于表达常温链霉菌的基因的限制性可能较弱^[22]。进一步的实验将测试在高温链霉菌中表达来自常温链霉菌的抗生素生物合成基因簇的可能性,本文发展的 pTSC2 衍生载体将为克隆和异源表达提供了一个有力的工具。

表 3 鉴定 pTSC2 上可以在链霉菌中复制的区域

Table 3 Identification of a pTSC2 locus for replication in *Streptomyces*. Plasmids were constructed in *E. coli* and introduced by transformation into strain ZX7 and 2C. Positions of these cloned fragments on pTSC2 and transformation frequencies are shown. *dso* and *sso* are indicated by striped boxes and dotted boxes, and replication genes by filled arrowheads.

Plasmids	DNA fragments cloned in pQC156	Transformation frequency in <i>S. lividans</i> ZX7 (transformants/ug DNA)	Transformation frequency in thermophilic <i>Streptomyces</i> sp. 2C (transformants/ug DNA)
pTSC2 (7516 bp)			
pZF34		5×10^4	2×10^5
pZF35		3×10^3	2×10^4
pZF36		0	0

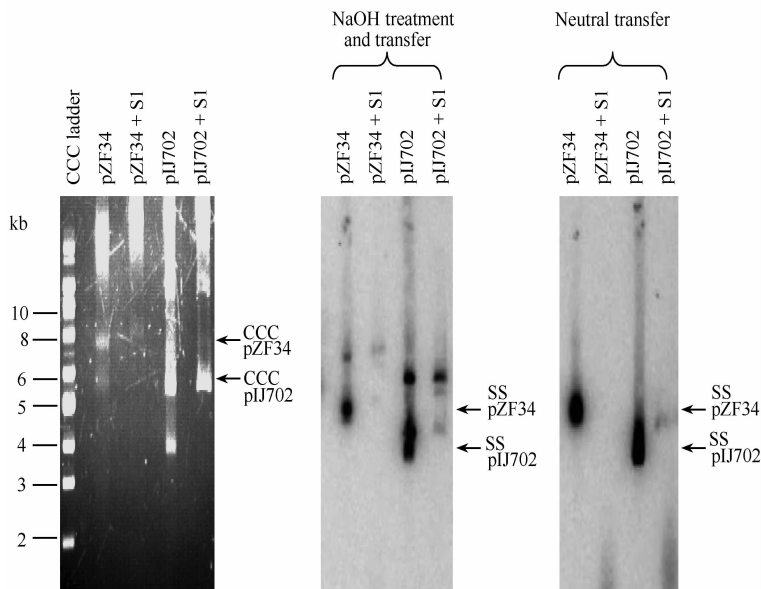


图 3 利用 Southern 杂交检测可能的复制中间体

Fig. 3 Detection of possible replication intermediates by Southern hybridization. Aliquot DNAs were electrophoresed on agarose gels and then soaked with neutral pH buffer or alkaline solution for transfer on nylon membranes. Southern hybridizations were performed. Double-stranded and single-stranded circular pIJ702 as positive controls are indicated. CCC, covalently closed circular; SS, single strand.

参考文献

- [1] Berdy J. Bioactive-microbial metabolites-A personal view. *Journal of Antibiotics*, 2005, 58: 1-26.
- [2] Kim D, Chun J, Sahin N, et al. Analysis of thermophilic clades within the genus *Streptomyces* by 16S ribosomal DNA sequence comparisons. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 1996, 46: 581-587.
- [3] Goodfellow M, Lacey J, Todd C. Numerical classification of thermophilic streptomycetes. *Journal of General Microbiology*, 1987, 133: 3135-3149.
- [4] Zhou X, Deng Z, Firmin JL, et al. Site-specific degradation of *Streptomyces lividans* DNA during electrophoresis in buffers contaminated with ferrous iron. *Nucleic Acids Research*, 16: 4341-4352 (1988)
- [5] Qin Z, Shen M, Cohen SN. Identification and characterization of a pSLA2 plasmid locus required for linear DNA replication and circular plasmid stable inheritance in *Streptomyces lividans*. *Journal of Bacteriology*, 2003, 185: 6575-6582.
- [6] Sambrook J, Russell D. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*. 3rd ed. 2001. *New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press*.
- [7] Bibb MJ, Ward JM, Hopwood DA. Transformation of Plasmid DNA into *Streptomyces* at high-frequency. *Nature*, 1978, 274: 398-400.
- [8] Kuster E, Williams ST. Selection of Media for Isolation of Streptomycetes. *Nature*, 1964, 202:928.
- [9] Porter JN, Wilhelm JJ, Tresner HD. Method for the Preferential Isolation of Actinomycetes from Soils. *Applied Microbiology*, 1960, 8: 174-178.
- [10] Ishikawa J, Hotta K, FramePlot: a new implementation of the frame analysis for predicting protein-coding regions in bacterial DNA with a high G + C content. *FEMS Microbiology Letter*, 1999, 174: 251-253.
- [11] Zuker M. Mfold web server for nucleic acid folding and hybridization prediction. *Nucleic Acids Research*, 2003, 31: 3406-3415.
- [12] Khan SA. Plasmid rolling-circle replication: Highlights of two decades of research. *Plasmid*, 2005, 53: 126-136.
- [13] Gruss A, Ehrlich SD. The family of highly interrelated single-stranded deoxyribonucleic acid plasmids. *Microbiology Review*, 1989, 53: 231-241.
- [14] Ilyina TV, Koonin EV. Conserved sequence motifs in the initiator proteins for rolling circle DNA replication encoded by diverse replicons from eubacteria, eucaryotes and archaeobacteria. *Nucleic Acids Research*, 1992, 20: 3279-3285.
- [15] Servin-González L. Relationship between the replication functions of *Streptomyces* plasmids pJV1 and pIJ101. *Plasmid*, 1993, 30: 131-140.
- [16] Suzuki I, Seki T, Yoshida T. Nucleotide sequence of a nicking site of the *Streptomyces* plasmid pSN22 replicating by the rolling circle mechanism. *FEMS Microbiology Letter*, 1997, 150: 283-288.
- [17] Suzuki I, Kataoka M, Seki T, et al. Three single-strand origins located on both strands of the *Streptomyces* rolling circle plasmid pSN22. *Plasmid*, 1997, 37: 51-64.
- [18] Saleem A, Khan. Plasmid rolling-circle replication: recent developments. *Molecular Microbiology*, 2000, 37: 477-484.
- [19] Gruss A, Ehrlich SD. The family of highly interrelated single-stranded deoxyribonucleic acid plasmids. *Microbiology Review*, 1989, 53: 231-241.
- [20] te Riele H, Michel B, Ehrlich SD. Single-stranded plasmid DNA in *Bacillus subtilis* and *Staphylococcus aureus*. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 1986, 83: 2541-2545.
- [21] Shih YS, Wen MC, Guang HL. Characterization and application of a rolling-circle-type plasmid from *Cupriavidus taiwanensis*. *Plasmid*, 2007, 57: 275-285.
- [22] Hu Y, Phelan V, Ntai I, et al. Benzodiazepine biosynthesis in *Streptomyces refuineus*. *Chemistry & Biology*, 2007, 14: 691-701.

Sequencing and analysis of thermophilic *Streptomyces* plasmid pTSC2 and characterization of its rolling-circle replication

Zifei Zhang, Weihua Chen, Zhongjun Qin*

(Key laboratory of Synthetic Biology, Shanghai Institute of Plant Physiology and Ecology, Shanghai Institutes of Biological Sciences, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200032, China)

Abstract: [Objective] A *Streptomyces* strain X3-3, growing up to 50 °C, was isolated from the composts prepared from swine manure and straw. This strain harbored a ~7-kb plasmid pTSC2. [Objective] Cloning, sequencing and analyzing pTSC2, and identifying its replication mode as well. [Methods] The complete nucleotide sequence of pTSC2 was obtained by sub-cloning and primer-walking; the replication gene (*rep*), double-strand origin (*dso*) and single-strand origin (*ss*) were identified by multiple sequence alignments; and the replication intermediate was detected by Southern hybridization after neutral transfer. [Results] The complete nucleotide sequence of pTSC2 consisted of 7516-bp in length, encoded eight proteins, four of which resembled the replication and conjugation proteins of *Streptomyces* plasmid pIJ101 which replicates in a rolling-circle mode. The replication elements, *rep*, *dso* and *ss*, were also similar with pIJ101. The *rep* and *dso* was proved as essential components for plasmid replication by transformation of both *S. lividans* ZX7 and thermophilic *Streptomyces* spp. 2C, while *ss* was dispensable for replication. Southern hybridization detected a large amount of single-stranded DNA accumulated during replication. [Conclusion] We identified that the thermophilic *Streptomyces* plasmid pTSC2 replicated in a rolling-circle mode. It was first reported that the plasmid from thermophilic *Streptomyces* was cloned and sequenced, as well as the replication of which was characterized

Keywords: Thermophilic *Streptomyces*; plasmid, replication origin

(本文责编: 张晓丽)

Supported by the National Natural Science Foundation of China (30870067, 30770045, 30325003), the National Programs for High Technology Research and Development of China (2007AA021503) and the Chinese Academy of Sciences project (KSCX2-YW-G-014)

* Corresponding author. Tel/Fax: +86-21-54924171; E-mail: qin@sibs.ac.cn

Received: 10 October 2009/Revised: 6 November 2009

《微生物学报》投稿方式

从2006年起,本刊采用“稿件远程处理系统”,全面实行网上投稿、网上审稿、网上查询等方式进行工作。欢迎广大作者通过登陆本刊网站进行投稿和查询。

- (1) 远程投稿:请先登陆本刊网站 <http://journals.im.ac.cn/actamicrocn>, 点击“作者投稿”。如果您是第一次通过“远程”给本刊投稿,请先进行“注册”,注册成功后再进行投稿。如果曾在本刊网站投过稿,则可直接投稿。如果忘了用户名和密码,请联系本刊编辑部找回登录口令。
- (2) 收稿回执:编辑部看到远程投稿后,当日或者次日给作者发“收稿回执”,通知作者投稿成功。
- (3) 编辑部内审:编辑看到远程投稿后,还要对稿件进行内审。内审会有2个结果,直退或受理,请接到“受理通知”的作者再补交其它材料(纸样介绍信和稿件、受理费)。
- (4) 邮寄纸样:为了保护知识产权,务必请作者提供“研究内容所属单位”出具的介绍信(请到本刊网页的“下载专区”中下载“介绍信”模板);为了核实文中的图、表等内容,还需要提供一份纸质稿件。
- (5) 受理费:100元审稿费。按照“稿件受理通知”中提供的详细地址办理,务必通过邮局汇款,切忌夹在纸样材料中随信邮寄!【为了便于查找,请在汇款单上注明“稿件编号”】