

微生物学报 *Acta Microbiologica Sinica*
51(4):474-479; 4 April 2011
ISSN 0001-6209; CN 11-1995/Q
<http://journals.im.ac.cn/actamicrocn>

1,3-丙二醇产生菌基因组重排育种

卢圣国¹, 李霜², 罗芳², 祝扬扬¹, 熊俊¹, 孟庆雄^{1*}

¹昆明理工大学生命与科学技术学院, 昆明 650216

²南京工业大学国家生化中心, 南京 211816

摘要:【目的】本文以肺炎克雷伯氏杆菌为研究对象, 利用基因组重排技术, 提高其对发酵体系中主要产物的耐受性, 获得 1,3-丙二醇高产菌。【方法】以含预处理后的出发菌株的补料发酵终点液的 96 孔板为筛选方法, 利用基因组重排技术育种。【结果】筛选到的 5 株高产菌株 (LSG1, LSG2, LSG4, LSG5, LSG6), 在 3 升罐批次发酵中的 1,3-丙二醇浓度较亲本分别提高了 17.0%, 19.0%, 12.9%, 23.9% 和 18.0%; 甘油到 1,3-丙二醇的转化率提高了 17.7%, 20.0%, 13.3%, 24.4% 和 17.7%。补料发酵实验中, 一株最优诱变菌 (LSG5) 的 1,3-丙二醇生产浓度、甘油转化率和产率分别较野生菌株 (K-308ME) 分别提高了 28.7%, 21.2% 和 28.3%。【结论】基因组重排是一项新型高效的育种技术, 同时也证明了含补料发酵终点液的 96 孔板筛选菌株的高效性。

关键词: 1,3-丙二醇, 肺炎克雷伯氏杆菌, 基因组重排, 原生质体, 补料发酵终点液

中图分类号: Q933 **文献标识码:** A **文章编号:** 0001-6209 (2011) 04-0474-06

1,3-丙二醇 (1,3-propanediol, 1,3-PD) 作为一种重要的化工原料, 其最主要的用途是作为聚合物的单体合成性能优异的高分子材料, 特别是制备具有巨大市场需求的新型聚酯纤维聚对苯二甲酸丙二醇酯 (polytrimethylene terephthalate, 简称 PTT) 的单体^[1-2]。另外, 随着生物柴油产业的迅猛发展, 其最主要副产物甘油的去路已经成为工业生产必须思考解决的问题之一, 利用甘油转化生产 1,3-丙二醇的生物发酵法工艺路线逐渐成为各国学者关注的热点。

当前微生物法产 1,3-丙二醇技术研究取得了很大进展, 但是依然面临 1,3-丙二醇终浓度不高, 甘油转化率低等问题^[3]。依靠发酵工艺优化进一步提高 1,3-丙二醇产量面临很大困难, 高效的菌种

选育工作显得尤为重要。传统诱变育种可以提高菌株性能, 但是效率低下。基因组重排 (Genome Shuffling) 技术是近几年发展起来的一种极其高效的微生物育种方法, 可以使工程菌快速获得多样复杂优良表型, 并且无须了解其基因组学、代谢组学等具体背景^[4-5]。2002 年, Zhang 等^[6]首次提出了基因组重排的概念, 并应用基因组重排技术提高了费氏链霉菌 (*Streptomyces fradiae*) 合成泰乐星的能力。Patnaik 等^[7]和 Wang 等^[8]分别报道了采用基因组重排技术筛选乳酸杆菌耐酸菌株, 筛选到的新菌株大大提高了乳酸杆菌合成乳酸的能力。Zhao 等^[9]通过 4 轮基因组重排成功选育出了 3 株遗传稳定的高产紫杉醇菌株, 菌株 F4-26 紫杉醇产量比出发菌株 NCEU-1 紫杉醇产量提高了 64.41%, 比亲本菌株

* 通信作者。Tel/Fax: +86-871-3801956; E-mail: qxmeng@sina.com

作者简介: 卢圣国 (1985-), 男, 浙江温州市人, 硕士研究生, 研究方向为工业微生物及代谢工程。

收稿日期: 2010-11-11; 修回日期: 2010-01-02

提高了 31.52% - 44.72%。

为了提高 *KLebsiella pneumoniae* 对补料发酵过程中副产物及底物的耐受性, 本研究预先收集出发菌株的补料发酵终点液, 经过离心、微孔过滤等预处理后 4°C 冰箱保藏作为筛选培养基。采用基因组重排技术对 *KLebsiella pneumoniae* 菌株选育, 以预处理后的补料发酵终点液为筛选培养基, 提高 1,3-丙二醇的生产浓度和甘油转化率。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 菌株: 出发菌株为肺炎克雷伯氏杆菌 (*KLebsiella pneumoniae* ATCC 25955), 收藏于南京工业大学国家生化中心 308。

1.1.2 主要试剂和仪器: 培养基: (1) LB 液体培养基: 蛋白胨 10 g/L, 酵母膏 5 g/L, NaCl 10 g/L。(2) 完全固体培养基: 蛋白胨 10 g/L, 葡萄糖 10 g/L, 酵母膏 5 g/L, NaCl 5 g/L, 牛肉膏 5 g/L, 2.2% 琼脂, pH7.0。(3) 再生固体培养 (RCM): 蔗糖 171.5 g/L, MgCl₂ 4.273 g/L, 其余同完全固体培养基。(4) 种子培养基 (M1): 酵母膏 3 g/L, 麦芽糖 3 g/L, 蛋白胨 5 g/L, NaCl 5 g/L, pH 7.0。(5) 发酵培养基 (M2): 酵母膏 5 g/L, K₂HPO₄ · 3H₂O 10 g/L, KH₂PO₄ 2 g/L, NH₄Cl 1 g/L, NaCl 0.5 g/L, MgSO₄ · 7H₂O 0.1 g/L, FeCl₃ · 6H₂O 30 mg/L, CoCl₂ · 6H₂O

5 mg/L, VitaminB₁₂ 5 mg/L, 甘油 40 g/L, pH7.0。试剂溶液: (1) 高渗缓冲液 (SMM): 0.5 mol/L 蔗糖, 0.02 mol/L MgCl₂, 0.02 mol/L 顺丁烯二酸 pH 7.0, 灭菌备用。(2) 溶菌酶 (Lysozyme): 购自 Sigma 公司, 使用前用 pH 为 8.0 的 SMM 即刻溶解溶菌酶, 配制 10 mg/mL 的贮存液, 过滤除菌, 使用时稀释。

1.1.3 培养方法: 筛选到的菌株接种到装有 100 mL 种子培养基的 250 mL 摇瓶中, 培养 10 h, 作为种子液; 按接种量 2% 接种到装有 100 mL 发酵培养基的 250 mL 摇瓶内培养 30 h。培养条件: 微氧, 37°C, 转速 140 r/min。批次发酵实验和补料发酵实验分别在 3 L 和 7 L 发酵罐中进行, 参考文献^[10]。

1.2 产物、底物和菌体量分析

发酵液中甘油、1,3-丙二醇、乳酸等用 HPLC 测定。色谱条件为: Bio-Rad HPX-87H 柱, 柱温 65°C, 流动相为 0.005 mol/L H₂SO₄, 流速为 0.800 mL/min; 检测器为 Shodex RI-101 型折光示差检测器。生物量测定采用比浊法, 在分光光度计上于 590 nm 处进行测定, 干重分析见参考文献^[10]。

1.3 筛选培养基的制备

将每轮基因组重排的输出菌株进行正常的补料发酵, 以 1,3-丙二醇不再积累且甘油不再消耗为补料发酵终点, 停止补料并收集发酵液。通过离心 (8000 × g, 4°C, 10 min) 去除菌体, 然后经过 0.22 μm 的滤膜过滤除菌, 于 4°C 冰箱保藏。第一轮出发菌株补料发酵终点液成分见表 1。

表 1 补料发酵终点液的主要成分^a

Table 1 Main components of the ended fed-batch fermentation broth^a (EFB)

Main components	1,3-PD (g/L)	2,3-BD (g/L)	Suc (g/L)	Ace (g/L)	Eth (g/L)	Lac (g/L)	GLycerol (g/L)	Initial ORP (mv)	Final ORP (mv)
Content	60.78	4.10	5.81	9.76	9.24	31.12	9.60	325	32

AGC, accumulative glycerol consumed; PD, 1,3-propanediol; BD, 2,3-butanediol; Suc, succinic acid; Ace, acetic acid; Eth, ethanol; Lac, lactic acid. ORP, oxidoreduction potential.

1.4 基因组重排

以肺炎克雷伯氏杆菌 (*KLebsiella pneumoniae* ATCC 25955) 作为亲本, 预先经过传统物理化学诱变, 具体方法见文献 [14], 制备原生质体 (K-ME308)。原生质体制备过程: (a) 菌体预处理: 菌株经 LB 液体培养基活化 6 h 后, 按 2% 的接种量转入液体 LB 培养基, 37°C, 140 r/min, 培养 10 - 12 h。取培养后的菌液适当稀释 (细胞 10⁷ - 10⁸ 个/mL) 于 5438 × g, 4°C, 离心 10 min, 收集菌

体, 加入 5 mL SMM 洗涤离心 2 次, 最后将菌体保持在 5 mL SMM 成菌悬液。(b) 原生质体制备: 取 1 mL 菌悬液, 按 (1) 洗涤菌悬液; 加入溶菌酶液 (2 mg/mL), 混匀后水浴保温酶解破壁一定时间, 每隔半小时镜检。将酶解后的细胞悬液经过无菌微孔滤膜过滤 (0.22 μm 和 0.45 μm), 于 765 × g, 4°C 条件下离心 10 min, 收集细胞, SMM 洗涤离心 2 次。

将同亲本来源的原生质体液分为相等的 2 部

分分别灭活,一部分在 60℃ 热灭活 2 h,另一部分在紫外下照射 30 min。收集灭活后的原生质体,加入 35% 的 PEG6000 (含 0.01 mol/L CaCl₂) 5 mL,在 37℃ 融合 6 min。将融合的原生质体在 5438 × g, 4℃ 离心 10 min,用 SMM 液洗 2 次,除去 PEG。在 10 mL 摇管中振荡悬浮,用 SMM 液稀释涂布于再生培养板上,37℃ 培养 6 天,收集全部再生菌落,用牙签点对点接种到含预处理后的补料发酵终点液的 96 孔板内 (2 mL 体系含 1 mL 补料发酵终点液),于 37℃,100 r/min 下培养 40 h。

每轮融合后,筛选 590 nm 下较高 OD 值的融合菌株,进入下轮融合,并且进行正常的补料发酵,并且准备供下轮筛选使用的补料发酵终点液。

表 2 不同规格滤膜过滤酶解后菌悬液的效果

Table 2 Effect of different standards millipore on in filtering the original strain during the enzymolysis process

Pore diameter	Cells/mL before protoplast generation (Z)	Viable cells/mL after protoplast generation (X)	Viable cells/mL after lysis of protoplasts (Y)	Protoplast formation frequency (X-Y/X) (%)
None	1.1 × 10 ⁸	8.6 × 10 ⁷	2.3 × 10 ⁷	73%
0.22 μm	1.1 × 10 ⁸	0	0	0
0.45 μm	1.1 × 10 ⁸	2.1 × 10 ⁷	1.9 × 10 ⁴	99.9%

The enzymolysis process performed by lysozyme (2 mg/mL), and the detailed requirement was: 37℃, 100 rpm, 1 h.

2.2 融合菌株的筛选和摇瓶发酵分析

经过基因组重排后,考察了 1920 株再生平板上的诱变融合菌落在含补料发酵终点液 96 孔板上的生长情况 (见表 3)。其中,获得了 10 株生物量 (OD_{590}) 超过 1.5 以上的融合菌,剩余 1910 融合菌平均生物量 (OD_{590}) 为 0.783,分别相较出发菌株生物量提高了 180.1% 和 46.7%。1,3-丙二醇生物合成途径属于生长偶联型,生物量越多越有利于促进其合成^[11],而且补料发酵终点液中含有各种较高浓度的产物及不易检测的中间产物,如 3-羟基丙醛,获取在该恶劣环境下保持快速生长的诱变菌,从理论上预测可以进行更高生产强度的补料发酵。

表 3 亲本菌株和诱变菌在含补料发酵终点液的 96 孔板上的培养 (培养 40 h)

Table 3 The cell growth of parent strains and mutant cultured in 96 deep-well containing EFB^a (cultured for 40 h)

Strains	Average Biomass (OD_{590})
Parent strain (come from the third round)	0.534
Top 10 mutants with high cell growth	1.574
The rest 1910 mutants	0.783

2 结果

2.1 原生质体制备

本研究首次利用微孔滤膜可以截留正常菌体的原理,考察了不同规格滤膜分离获得高纯度的原生质体的可行性。根据菌体及原生质体大小,考察了孔径为 0.22 μm 和 0.45 μm 的滤膜。结果见表 1,经酶解后的菌悬液经 0.22 μm、0.45 μm 滤膜后,再生菌落为 0 个/mL,2.1 × 10⁷ 个/mL,纯度 (形成率) 分别为 0 和 99.9%,无任何处理获得的再生菌落数为 6.3 × 10⁷ 个/mL,但原生质体纯度仅为 73%。该方法的意义在于成功获取高纯度的原生质体,有效提高融合效率,减少正常菌体对筛选过程造成的干扰。

本文对筛选到的 10 株生物量占优势的诱变菌进行了摇瓶发酵考察 (结果见图 1)。实验发现,10

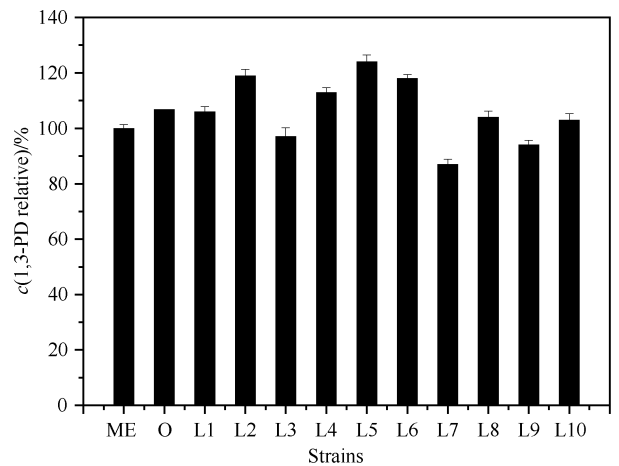


图 1 筛选到的 10 株生物量 ($OD_{590} > 1.5$) 以上融合菌在摇瓶发酵上的比较

Fig. 1 Comparison of 1,3-PD production by selected 10 mutants ($OD_{590} > 1.5$) in shake flask^a. ^aME, *Kellbsiella pneumoniae*-308ME; O, The average special production of selected 10 mutants; L1 - L10, LSG1 - LSG10.

株诱变菌 1,3-丙二醇平均产量达到 106.82%, 除 3 株诱变菌 1,3-丙二醇产量低于出发菌株, 其余均高于出发菌株的产量。最高的 5 株诱变菌 (LSG1, LSG2, LSG4, LSG5, LSG6) 1,3-丙二醇产量分别为 106%, 119%, 113%, 124%, 118%。

2.3 融合菌株的批次发酵实验及遗传稳定性考察

在 3 升发酵罐中进行批次发酵, 5 株优良诱变菌的生物量 (CDW), 1,3-丙二醇生产浓度, 甘油转化率和 1,3-丙二醇的产率均较亲本显著提高 (表 4)。诱变菌 LSG1, LSG2, LSG4, LSG5, LSG6 的 1,

3-丙二醇生产浓度较亲本分别提高了 17.0%, 19.0%, 12.9%, 23.9% 和 18.0%; 甘油到 1,3-丙二醇的转化率提高了 17.7%, 20.0%, 13.3%, 24.4% 和 17.7%; 1,3-丙二醇产率分别较出发菌株提高了 16.4%, 18.0%, 11.5%, 23.0% 和 16.4%。对上述 5 株诱变菌的遗传稳定性做了考察 (表 5), 经过 7 代连续转接培养后, 诱变菌 LSG1, LSG2, LSG4, LSG5, LSG6 的遗传稳定性分别达到了 97.5%, 96.3%, 99.2%, 98.9% 和 98.2%。

表 4 筛选到的 5 株诱变菌和亲本菌株于 3 升罐批次发酵 (培养 20 h)

Table 4 Comparison of 3-Liter batch fermentation results obtained from five isolated strains and the parent strains (cultured for 20 h)

<i>K. pneumoniae</i> strain	CDW/(g/L)	1,3-PD Concentration/(g/L)	1,3-PD conversion/(mol/mol)	1,3-PD Productivity/(g/L/h)
ME-303	1.56	12.10	0.45	0.61
LSG1	2.15	14.16	0.53	0.71
LSG2	2.49	14.40	0.54	0.72
LSG4	2.16	13.67	0.51	0.68
LSG5	2.00	15.00	0.56	0.75
LSG6	1.83	14.28	0.53	0.71

表 5 重组菌传代后的相对稳定性

Table 5 The comparative stability of mutants after subculturing

Strains	LSG1	LSG2	LSG4	LSG5	LSG6
Special production	97.5%	96.3%	99.2%	98.9%	98.2%

Special production means comparison of 1,3-propanediol production by mutants with subculture and the parent strain.

2.4 一株最优融合菌的补料发酵实验

对筛选到的且经传代培养过后的一株重组菌 LSG5 进行补料发酵, 以初始野生菌 K-308ME 为空

白对照。结果如表 6 所示, 重组菌 LSG5 的 1,3-丙二醇代谢途径明显增强, 1,3-丙二醇生产浓度、甘油转化率和产率分别达到 78.21 g/L、0.63 mol/mol、1.63 g/L/h, 较野生菌株 (K-308ME) 分别提高了 28.7%, 21.2% 和 28.3%。补料发酵中, LSG5 对补料发酵过程更具耐受性, 终点菌体量 (CDW) 从亲本的 2.71 g/L 提高到 4.01 g/L。

表 6 *K. pneumoniae* ME-303 和 LSG5 的补料发酵终产物^a

Table 6 Final metabolites concentrations in *K. pneumoniae* ME-303 and LSG5 fed-cultures^a

Stain	Products concentration/(g/L)					1,3-PD productivity/ g/L/h	1,3-PD conversion/ mol/mol	CDW/ g/L
	1,3-PD	Suc	Lac	ace	eth			
K-308ME	60.78	5.78	30.12	10.31	10.17	1.27	0.52	2.71
LSG5	78.21	6.7	14.13	15.21	7.21	1.63	0.63	4.01

^aCultured for 48 h

3 讨论

传统诱变育种方法往往只能是一至几个基因的作用 (也可能是邻近基因的突变效应), 很难大幅度提高 1,3-丙二醇的产量; 而 Genome shuffling 则是几个亲本菌株在全基因组的不同位置上同时发生重组, 容易发生多交换和多基因重组, 促使不同基因重组到同一个细胞株中, 相对容易实现大幅度提高菌

株合成的产量^[4-5,12]。因此, Genome shuffling 技术能够比传统诱变选育更快速的改良菌株, 加快人们模仿并加速微生物的进化方式的步伐。

本研究首次报道了利用预处理后的初始菌株补料发酵终点液作为筛选培养基, 结合 96 孔板高通量的特点, 为基因组重排后的融合菌进行高效筛菌。其科学依据在于: (1) 肺炎克雷伯氏菌补料发酵终点液含有主要抑制作用的代谢产物及副产物如 1,3-丙二醇、乳酸、2,3-丁二醇、乙酸、3-羟基丙醛

等^[13]。(2)该体系具有综合的抑制因子且贴近真实发酵体系。(3)操作简单,效率高。通常采用的提高一种或几种产物或底物的耐受性来筛选诱变菌^[3],往往必须进行费时费力的预期实验(确定主要的抑制因子及临界浓度等),而且针对不稳定化学性质的剧毒中间产物的考察,例如3-羟基丙醛,在实际操作中很难实现。(4)补料发酵终点液具有较低的氧化还原势电位。越低的氧化还原势电位有利于1,3-丙二醇生物合成途径^[3]。

参考文献

- [1] Zheng ZM, Xu YZ, Liu HJ, Guo NN, Cai ZZ, Liu DH. Physiologic Mechanisms of Sequential Products Synthesis in 1,3-Propanediol Fed-Batch Fermentation by *Klebsiella pneumoniae*. *Biotechnology and Bioengineering*, 2008, 100: 923-932.
- [2] Selemba Priscilla A, Perez Joe M, Lloyd Wallis A, Logan Bruce E. Enhanced Hydrogen and 1, 3-Propanediol Production From Glycerol by Fermentation Using Mixed Cultures. *Biotechnology and Bioengineering*, 2009, 104: 1098-1106.
- [3] Du CY, Zhang, YP, Li, Y, Cao ZA. Novel Redox Potential-Based Screening Strategy for Rapid Isolation of *Klebsiella pneumoniae* Mutants with Enhanced 1, 3-Propanediol-Producing Capability. *Applied and Environmental Microbiology*, 2007, 4515-4521.
- [4] 卢圣国, 李霜, 朱建国, 孟庆雄, 等. 基因组重排技术应用及进展. 中国生物工程杂志 (*China Biotechnology*), 2010, 3(7): 108-111.
- [5] Gong Jixian, Zheng Huijie, Wu Zhijun, et al. Genome shuffling: Progress and applications for phenotype improvement. *Biotechnology Advances*, 2009, 27: 996-1005.
- [6] Zhang YX, Perry K, Vinci VA, et al. Genome shuffling leads to rapid phenotypic improvement in bacteria. *Nature*, 2002, 415: 644-6.
- [7] Patnaik R, Louie S, Gavrilovic V, Perry K, Stemmer WP, Ryan CM, et al. Genome shuffling of *Lactobacillus* for improved acid tolerance. *Nature Biotechnology*, 2002, 20:707-712.
- [8] Wang YH, Li Y, Pei XL, Yu L, Feng Y. Genome-shuffling improved acid tolerance and L-Lactic acid volumetric productivity in *Lactobacillus rhamnosus*. *Journal of Biotechnology*, 2007, 129:510-515.
- [9] Zhao K, Ping WX, Zhang LN, Liu J, Lin Y, Jin T, et al. Screening and breeding of high taxol producing fungi by genome shuffling. *science in china series c-life sciences*, 2008, 51(4): 222-31.
- [10] Pin Jin, Shuang Li, Sheng-guo Lu, Jian-guo Zhu, He Huang, et al. Improved 1,3-propanediol production with hemiceLLuLosic hydrolysates (corn straw) as cosubstrate: Impact of degradation products on *Klebsiella pneumoniae* growth and 1,3-propanediol fermentation. *Bioresource Technology*. doi: 10.1016/j.biortech.2010.09.048.
- [11] Huang H, Gong CS, Tsao GT, Production of 1, 3-propanediol by *Klebsiella pneumoniae*. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 2002, 98-100: 687-698.
- [12] 赵凯, 段巍, 孙立新, 周东坡, 等. 用基因组重排技术选育赖氨酸高产菌株. 微生物学报 (*Acta Microbiologica Sinica*), 2009, 49(8): 1075-1080.
- [13] Cheng KK, Liu HJ, Liu DH. Multiple growth inhibition of *Klebsiella pneumoniae* in 1, 3-propanediol fermentation. *Biotechnology Letters*, 2005, 27: 19-22.
- [14] Lei Yu, Xiaolin Pei, Ting Lei, Yuhua Wang, Yan Feng. Genome shuffling enhanced l-lactic acid production by improving glucose tolerance of *Lactobacillus rhamnosus*. *Journal of Biotechnology*, 2008, 134: 154-159.

Screening and breeding high 1,3-propanediol producing strains by genome shuffling

Shengguo Lu¹, Shuang Li², Fang Luo², Yangyang Zhu¹, Jun Xiong¹,
Qingxiong Meng^{1*}

¹Faculty of Life science and technology, Kunming university of science and technology, Kunming 650216, China

²National bio-chemical engineering technique research center, Nanjing university of technology, Nanjing 211816, China

Abstract: [**Objective**] To improve the tolerance of main metabolites, we used genome shuffling to achieve high 1,3-propanediol producing mutants. [**Methods**] Based on 96 deep-well palates containing prepared ended fed-batch broth as an efficient selection method, genome shuffling has been applied in strain improvement. [**Results**] Five high producers were obtained after genome shuffling (LSG1, LSG2, LSG4, LSG5 and LSG6). During batch fermentation (3 L), the 1,3-propanediol production of the five mutants were improved 17.0%, 19.0%, 12.9%, 23.9% and 18.0%, compared with the parent strain; the conservations from glycerol were improved 17.7%, 20.0%, 13.3%, 24.4% and 17.7%. [**Conclusion**] Genome shuffling was an efficient approach for strain improvement, and 96 deep-well palates containing fed-batch broth has been demonstrated as an efficient selection approach.

Keywords: 1,3-propanediol, *Klebsiella pneumoniae*, genome shuffling

(本文责编: 张晓丽)

* Corresponding author. Tel/Fax: +86-871-3801956; E-mail: qxmeng@sina.com

Received: 11 November 2010/Revised: 2 January 2010

本刊为了加强对综述投稿的管理,在2010年10月30日召开的《微生物学报》第九届编委会第四次会议上,讨论通过对综述类投稿的要求,增加了作者数量和第一作者的要求。2003年4月本刊出台了综述类投稿的具体要求(6条),坚持实行“Mini Review”的原则,在此基础上又增加了2条。下面就是最新修订的具体要求,欢迎大家根据要求踊跃投稿。感谢大家对《微生物学报》的支持!

《微生物学报》综述文章投稿要求

2010年11月修订

为了避免篇幅庞大、罗列文献、内容空泛、缺乏观点,力求内容更加新颖、并更具可读性,本刊对综述类投稿提出以下几点要求。

1. 本刊主要刊登微型综述(mini review),来稿字数最好控制在5000字以内(不包括参考文献)。
2. 综述的选题要有新意,对读者及同行确有一定的启发作用和参考价值。
3. 参考文献应控制在40篇以内,近3年发表的文献不少于10篇。
4. 应结合文献扼要评述国内外学者在本领域的研究进展,不要泛泛罗列文献,只述不评。
5. 应结合自己的研究工作,就该研究领域存在的问题和解决的途径提出自己的观点。
6. 综述文章不同于研究报告,规定作者的数量应不多于3人。
7. 要求文章的第一作者提供一份不少于200字的研究经历的简介。
8. 欢迎投送“能够反映国际研究热点、对学科发展有指导意义”的述评类文章。