

微生物学报 *Acta Microbiologica Sinica*
49 (12):1601-1606; 4 December 2009
ISSN 0001-6209; CN 11-1995/Q
<http://journals.im.ac.cn/actamicrocn>

大肠杆菌 BL21 (DE3) 中 DnaE intein 介导 ABCA1 蛋白的连接

朱甫祥, 缪静, 屈慧鸽, 迟晓艳

(鲁东大学生命科学学院, 烟台 264025)

摘要: 目的: 利用 *Ssp* DnaE intein 的蛋白质反式剪接技术研究在大肠杆菌中对 ABCA1 基因表达产物的连接作用。方法: 将 ABCA1 的 cDNA 于满足剪接所需的保守性氨基酸 Cys⁹⁷⁸ 密码子前断裂为 N 端和 C 端两部分, 分别与天然存在的反式作用 *Ssp* DnaE intein 的 123 个氨基酸的 N 端和 36 个氨基酸的 C 端编码序列融合, 构建到原核表达载体 pET-28a (+)。转化感受态大肠杆菌 BL21 (DE3) 细胞, 诱导表达后观察重组蛋白的表达和 ABCA1 的连接。结果: 转化菌经 IPTG 诱导表达, SDS-PAGE 分析显示预期大小的 ABCA1 剪接蛋白条带, 并进一步为 His-Tag 抗体进行的 Western blotting 证实。结论: 结果表明 *Ssp* DnaE intein 可有效催化 ABCA1 的连接, 为进一步研究利用双腺相关病毒 (AAV) 载体转运 ABCA1 基因, 克服单个 AAV 载体容量限制进行由 ABCA1 基因突变所致 Tangier 病的基因治疗奠定了基础。

关键词: DnaE intein; 蛋白质反式剪接; ABCA1; 连接

中图分类号: Q93, Q51 **文献标识码:** A **文章编号:** 0001-6209 (2009) 12-1601-06

ATP 结合盒式转运蛋白 A1 (ATP-binding cassette transporter A1, ABCA1) 属于 ABC 超家族成员之一^[1]。1999 年首次发现 ABCA1 基因突变导致以家族性高密度脂蛋白 (HDL) 缺陷为主要特征的 Tangier 病, 表现为血浆低水平 HDL、组织巨噬细胞中的胆固醇聚集和高心血管病的发病率^[2]。作为一种跨膜运输蛋白, ABCA1 促进细胞胆固醇从巨噬细胞和外周组织输出到载脂蛋白接收器, 参与脂蛋白代谢、巨噬细胞胆固醇稳态调节^[3]。因此, ABCA1 被视为低 HDL 综合征和心血管疾病治疗的一个重要靶点^[4]。由于 ABCA1 基因已成功克隆, 为基因转移为目标的基因治疗提供了条件。在已开发的基因运载体系中, 腺辅助病毒 (AAV) 载体因其非致病性和可感染非分裂期细胞等优点被广泛应用, 但 AAV 载体转运目的基因的上限是 4.7 kb, 而 ABCA1 的 cDNA 长达 7 kb, 明显超过 AAV 的容量限制。Intein 的蛋白质

反式剪接功能为使用双 AAV 载体共同运载 ABCA1 基因提供了可能。Intein 是包埋于蛋白质前体中的一段多肽序列, 翻译后通过自催化被切除, 同时两侧宿主蛋白以肽键连接成生物活性的成熟蛋白^[5]。蛋白质剪接反应涉及剪接位点保守氨基酸残基参与的亲核攻击, 不需要细胞机制参与, 也不消耗 ATP, 与 RNA 剪接相比, 蛋白质剪接发生于翻译后水平的分子事件。蛋白质剪接分为顺式 (*cis*) 和反式 (*trans*) 两种, 大多数属于前者, *Ssp* DnaE intein 是第一个发现于 *Synechocystis* sp. strain PCC6803 的 DNA 聚合酶催化亚基的反式剪接 intein^[6]。本研究旨在运用大肠杆菌的原核表达实验, 试验 *Ssp* DnaE intein 对 ABCA1 的剪接作用。将 ABCA1 的 cDNA 于其分子中部的 Cys⁹⁷⁸ 密码子前将其断裂成两部分, 分别与 *Ssp* DnaE intein 基因融合, 构建到同一原核表达载体, 二者间以含有核糖体识别位点 SD 序列的间隔

基金项目: 山东省自然科学基金 (Y2005D14); 烟台市科技计划项目 (Q08152); 教育部留学回国人员科研启动基金 (Q0071108); 鲁东大学学科建设经费

作者简介: 朱甫祥 (1965 -) 男, 安徽宣城人, 医学博士, 主要从事蛋白质剪接的分子机制及基础应用研究。Tel: +86-535-6693825; E-mail: fuxiangmail@163.com

收稿日期: 2009-08-20; 修回日期: 2009-09-14

序列相隔,转化大肠杆菌 BL21 (DE3) 细胞,经诱导表达后观察到剪接形成的完整 ABCA1 蛋白,为进一步运用 intein 的双 AAV 载体转 ABCA1 基因奠定了基础。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 质粒与菌株:含有 split *Spy* DnaE intein 编码序列的质粒 C-214 为加拿大 Dalhousie 大学 Paul Liu 教授实验室构建,本室保存。含有 ABCA1 全长 cDNA 的质粒 pcDNA3.1-ABCA1 由加拿大 Dalhousie 大学医学院 Paul Linsdell 教授实验室构建,原核表达载体 pET-28a (+) 受体菌 Top10 和表达菌 BL21 (DE3) 购自 Novagen 公司。

1.1.2 工具酶和主要试剂:限制性内切酶、DNA 连接酶试剂盒、蛋白质分子量标准购自 New England Biolabs 公司,高保真 *Pfu* Turbo DNA 聚合酶购自 Stratagene 公司;Gel Extraction Kit、PCR Purification Kit、Spin Miniprep Kit 均为 Qiagen 公司产品。鼠源抗 His 单抗购自 Merck 公司,HRP-羊抗小鼠二抗、ECL plus Western Blotting Detection 试剂盒购自 Amersham Pharmacia Biotech (GE) 公司;其它试剂均为国产或进口分析纯。

1.2 质粒构建

选择于 ABCA1 中部附近满足 DnaE intein 剪接所需的 Cys^{978} 密码子前将其断裂为 N 端和 C 端两段,构建原核表达载体。首先,以质粒 pcDNA3.1-ABCA1 为模板,用高保真 *Pfu* Turbo DNA 聚合酶、引物 P1 和 P2 进行 PCR 扩增 ABCA1 的 N 端编码序列 (N),以引物 P3 和 P4 从质粒 C-214 扩增 DnaE intein N 端 123 个氨基酸的编码序列 (In),分别用 *Bam*H I / *Nde* I 和 *Nde* I / *Sac* I 酶切上述 PCR 产物,与经 *Bam*H I 和 *Sac* I 双酶切线性化的质粒载体 pET-28a (+) 经 T4 DNA 连接酶连接,得到 ABCA1 的 N 端与 In 的融合亚克隆表达质粒 pET-NIn。用 P5、P6 和 P7、P8 引物对,分别以 C-214 和 pcDNA3.1-ABCA1 为模板,PCR 扩增 DnaE intein 的 C 端 36 个氨基酸的编码序列 (Ic) 和 ABCA1 的 C 端部分的编码序列 (C),分别以 *Sal* I / *Mfe* I 和 *Mfe* I / *Xho* I 酶切后,与经 *Sal* I 和 *Xho* I 双酶切线性化的质粒 pET-NIn 连接,得到含有 NIn、IcC 融合基因亚克隆质粒 pET-NInIcC。以 P9、P10 引物对,进行反向 PCR 扩增 pET-NInIcC 将扩增产物自身连接环化,得到在两部分融合基因表达框之间引入含有核糖体结合位点 (Shine-

Dalgarno 序列) 的间隔序列 (Spacer) 的重组双融合基因原核表达质粒 pET-NISIC。同时构建不含 intein 序列的 ABCA1 原核表达载体作为实验的阳性对照,以 P11、P12 引物对从 pcDNA3.1-ABCA1 扩增出 ABCA1 的编码序列,用 *Sac* I / *Not* I 酶切后连入以 *Sac* I / *Not* I 双酶切的 pET-28a (+) 载体,得到 pET-ABCA1。构建上述载体所用引物及序列见表 1,由上海生工公司合成。被间隔序列隔开的融合基因及预期表达蛋白产物如图 1 所示。将上述获得的重组子转化大肠杆菌 Top10,用氨苄青霉素 LB 平板筛选转化子,用酶切和 DNA 序列测定进行鉴定。

表 1 构建载体所用引物

Table 1 Primers used for construction of vectors

Primer	Sequences (5'→3')	Endonuclease site
P1	CGGGATCCATGGCTTGTGGCCCTCAGCTG	<i>Bam</i> H I
P2	GGAATTCATATGCCCAGGTTCTGCCGGATGGT	<i>Nde</i> I
P3	GGAATTCATATGTCGCTCAGTTTGGCCACCGAA	<i>Nde</i> I
P4	TGACGAGCTCTCAGACCCCCAGGTTCTGCCGGA	<i>Sac</i> I
P5	ACCGCTGCACATGGTTAAAGTTATCGGTCGTCG	<i>Sal</i> I
P6	GTCACAATTGCGCGGCATGCCCCCAT	<i>Mfe</i> I
P7	GTCACAATTGTCGCCAGCATAACGTGCTG	<i>Mfe</i> I
P8	CGGCTCGAGTCATACATAGCTTTCTTTCACCTTC	<i>Xho</i> I
P9	TCCTCCTCAGACCCCCAGGTTCTGCC	
P10	TTAATAATAATGGTTAAAGTTATCGGTCGTCG	
P11	TGACGAGCTCATGGCTTGTGGCCCTCAGCTG	<i>Sac</i> I
P12	AAGAATCGCGCCGCTCATACATAGCTTTCTTTCACCTTC	<i>Not</i> I

1.3 重组蛋白的表达和剪接的观察

将经鉴定正确的重组原核表达质粒 pET-NISIC 转化受体菌 BL21 (DE3),挑取单个阳性菌落接种到含卡那霉素的 LB 培养液中,37℃ 振荡培养过夜,次日以 2% 接种到 10 mL 新鲜的含卡那霉素的 LB 培养液,37℃ 振荡培养至 OD_{600} 为 0.6,加入 IPTG 至终浓度为 1 mmol/L,继续振荡培养 5 h 进行诱导表达,诱导结束后,将培养物 4℃ 下以 10000 r/min 离心 10 min 收集细菌,加等体积的 2 × SDS 上样缓冲液和双蒸水重悬细菌沉淀,100℃ 煮沸 5 min。上样进行还原性 SDS-PAGE (分离胶浓度为 5%),考马斯亮蓝 R-250 染色分析重组蛋白的表达及蛋白质剪接,灰度扫描测定蛋白质剪接的效率。以 pET-ABCA1 转化后的表达作为阳性对照。

1.4 Western blot 鉴定 ABCA1 蛋白的剪接

将煮沸裂解后的样品进行 SDS-PAGE 后用半干电转移仪 (Bio-Rad) 转移至硝酸纤维素膜,1% BSA 室温封闭 2 h,用鼠源抗 His 单抗 37℃ 轻摇反应 1 h,再用 HRP 标记的羊抗小鼠二抗 37℃ 轻摇反应 1 h,ECL 法进行曝光。

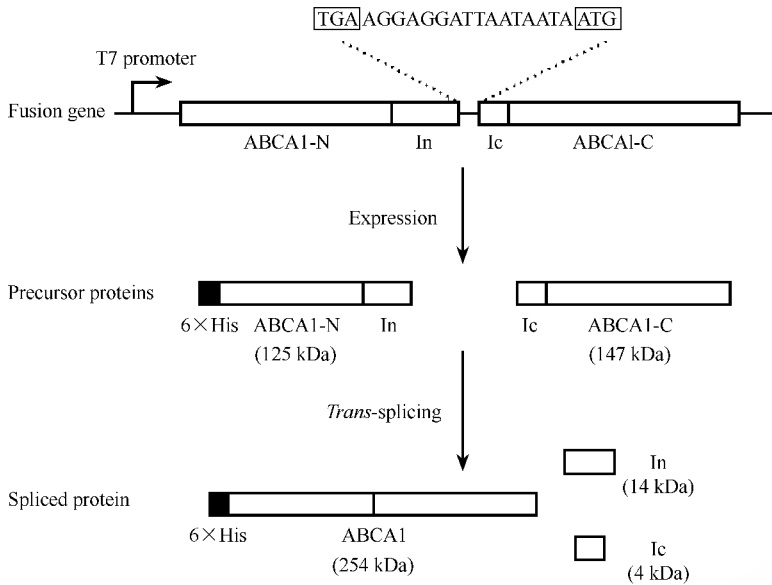


图1 重组融合基因结构及预期蛋白产物

Fig.1 Schematic illustration of a recombinant fusion gene construct and predicted protein products. The two fusion genes are constructed into one plasmid vector and separated by a spacer sequence including the stop codon (boxed TGA) of first fusion gene, Shine-Dalgarno sequence (underlined) followed by a AT rich region and the start codon (boxed ATG) of the second fusion gene. The two fusion genes express recombinant proteins simultaneously followed by protein trans-splicing to form intact ABCA1 protein.

2 结果

2.1 原核表达质粒 pET-NISIC 的构建

所构建的亚克隆质粒 pET-NIn, pET-NInIcC 以及重组双融合基因原核表达质粒 pET-NISIC 如图 2 所示。小量提取质粒进行酶切电泳鉴定,用 Nde I / Sac I 酶切质粒 pET-NIn, 阳性克隆可见 5.4 kb 长的

载体骨架片段、切成 2.9 kb 和 0.4 kb 长的插入目的基因片段;用 Mfe I / Xho I 酶切 pET-NInIcC, 阳性克隆可见 3 个分别为 6.9 kb、3.9 kb 和 1.7 kb 长的片段;由于引入间隔序列时破坏了 In 和 Ic 间的 Sac I 和 Sal I 酶切位点,以 Sac I 和 Xho I 双酶切的阳性 pET-NISIC 克隆可见两段 6.9 kb 和 5.6 kb 长片段(如图 3 所示)。测序结果进一步得到证明。

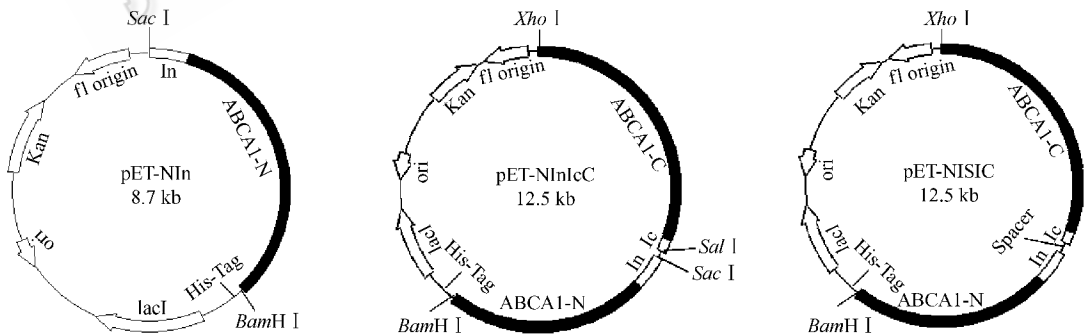


图2 重组质粒 pET-NIn, pET-NInIcC and pET-NISIC 的结构示意图

Fig.2 Structures of recombinant plasmids pET-NIn, pET-NInIcC and pET-NISIC. Through subclonal vectors pET-NIn and pET-NInIcC the prokaryotic expression vector pET-NISIC with two fusion genes in separate expression cassette was constructed.

2.2 重组蛋白的表达与蛋白质剪接

质粒转化的 *E. coli* BL21 (DE3) 细胞诱导表达后的菌体总蛋白进行 SDS-PAGE 分析显示,与未经诱导相比,对照质粒 pET-ABCA1 转化菌有一明显的 ABCA1 蛋白表达条带,大小为 254 kDa, pET-NISIC 转

化菌在与阳性对照质粒转化菌同一水平可见一与 ABCA1 大小一致的蛋白条带,是为剪接所形成,同时尚可见预期大小的未被完全剪接的前体融合蛋白 N-In (125 kDa) 和 Ic-C (147 kDa),剪接下来的 In 和 Ic 由于分子量较小,电泳过程中已经出胶故不能显示,

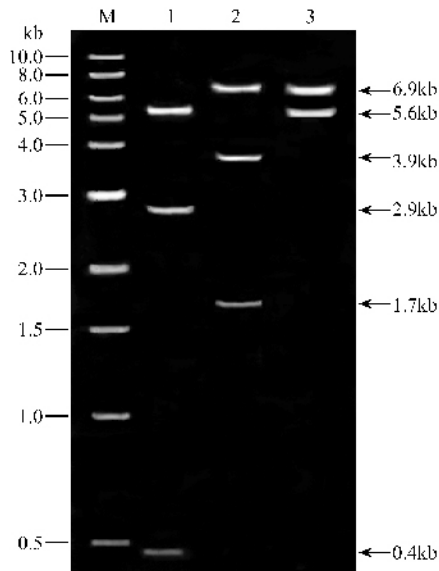


Fig. 3 重组质粒载体的酶切鉴定

Fig. 3 Agarose gel electrophoresis for digestion identification of recombinant plasmids. The two subclonal vectors were digested with *Nde* I / *Sac* I resulted in 5.4, 2.9 and 0.4 kb in size for pET-NIn (lane 1), or with *Mfe* I / *Xho* I resulted in 6.9, 3.9 and 1.7 kb in size for pET-NInIcC (lane 2). The *Sac* I / *Xho* I digested pET-NISIC resulted in 5.6 and 6.9 kb in size (lane 3). M : 1 kb DNA ladder.

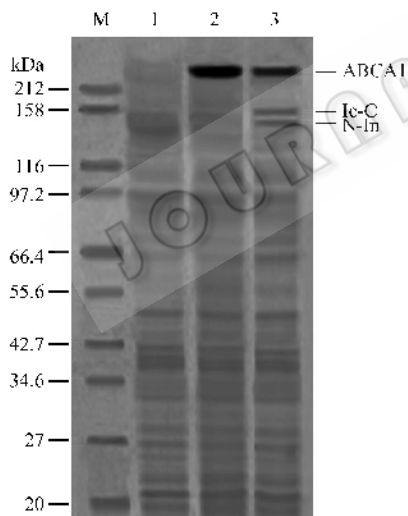


Fig. 4 重组蛋白表达和剪接的 SDS-PAGE 分析

Fig. 4 SDS-PAGE analysis of recombinant fusion proteins expression and splicing. BL21 cells were transformed with pET-NISIC followed by IPTG induction for expression of recombinant proteins. The proteins in cell lysates were resolved by 4 ~ 8% SDS-PAGE and showed spliced ABCA1 consistent with positive control (pET-ABCA1, lane 2) and unspliced intein-containing fusion protein N-In and Ic-C (lane 1) whereas without expressed recombinant proteins in uninduced cell lysate (lane 1). M : protein standard marker.

灰度扫描显示剪接蛋白的比率占总融合表达蛋白的 71% (图 4)。由于重组蛋白的 N 端均带有 His-Tag,

Western blotting 分析显示 pET-NISIC 转化菌与阳性对照质粒转化菌有同样大小的曝光带,进一步证明 DnaE 可有效介导分别表达的两段 ABCA1 的连接,同时可见未被完全剪接的 N-In 条带,未被剪接的 Ic-C 以及剪接下来的 In 和 Ic 因不带 His-Tag 故未见 (图 5)。

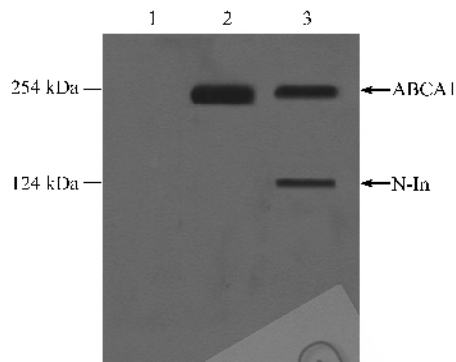


Fig. 5 Western blot 分析 ABCA1 的反式剪接

Fig. 5 Observation of *trans*-spliced ABCA1 with Western blotting. Proteins of lysates from pET-HISIC transformed *E. coli* cells were resolved by 4-8% SDS-PAGE. After transferring onto the membrane the blots were probed with anti-His-Tag antibody. Lane 1 : from uninduced *E. coli* cells ; lane 2 : from the positive control plasmid pET-ABCA1 transformed *E. coli* cells showing His-tagged ABCA1 protein ; lane 3 : from pET-NISIC transformed *E. coli* cells showing spliced ABCA1, unspliced intein-containing fusion proteins N-In with His-Tag on their N-termini, the unspliced Ic-C cannot be observed for without His-tag on it.

3 讨论

Intein 的蛋白质剪接作用不依赖细胞机制也不消耗能量的特点使其近年来应用在蛋白质纯化^[7]、多肽环化^[8]以及蛋白质相互作用^[9]等研究中。迄今发现的 intein 大多属于连续的顺式作用 intein,研究表明,人工断裂的顺式作用 intein 可产生反式剪接作用,如断裂 (split) 的 *Ssp* DnaB intein 表现出对其天然宿主蛋白和外源蛋白的反式剪接作用^[10]。我们最近的工作将 split *Ssp* DnaB intein 融合到人工断裂的凝血 VIII 因子在原核表达系统中证明可高效介导 VIII 因子的连接^[11],而且在此基础上实现了哺乳动物培养细胞双载体转 VIII 因子基因,在培养上清中检测到较高的由剪接形成的 VIII 因子产生的生物活性^[12]。本研究中我们采用天然反式作用的 *Ssp* DnaE intein 试验了对 ABCA1 的连接活性,考虑到该 intein 下游天然宿主蛋白的第一个氨基酸残基为 Cys,故选择于分子中部的 Cys⁹⁷⁸ 前断裂 ABCA1,在原核表达系统中观察到较高的对 ABCA1 的剪接活性

(效率达 71%)。

需要指出的是,已发现的 intein 相互间的分子同源性较低,但在剪接部位即与宿主蛋白的交界处存在保守残基,分别为上游 intein 本身的 Cys 或 Ser,下游的 Asn 或 Gln,以及下游宿主蛋白的第一个 Cys、Ser 或 Thr,通过这些保守残基之间的亲核攻击反应,完成剪接过程。Intein 对其天然宿主蛋白的剪接非常迅速,甚至难以检测到前体蛋白的存在,但对外源目的蛋白的剪接,虽然满足剪接所需的保守残基,剪接活性高低不一,不像天然蛋白那样高效、迅速,说明与 intein 相连的宿主蛋白的残基组成对剪接反应有一定影响,但是影响的分子机制未明。我们试验了 split *Ssp* DnaB intein 对 Ser⁹⁴⁴ 前断裂的 ABCA1 的连接作用,此 Ser 与所选 intein 的天然宿主蛋白相同,但剪接活性很低,甚至测不到连接的 ABCA1 蛋白(结果未示)。因此,对于特定的目的蛋白,选择何处断裂和选择何种 intein 才能达到理想的剪接结果,都需要实验来确定,由此也说明 intein 和其天然宿主蛋白的搭配组成是分子进化中自然选择的结果,最有利于剪接功能的发挥。最近我们利用 intein 蛋白质剪接技术研究凝血 VIII 因子轻链对于重链和整个蛋白分泌影响的研究中,基于提高剪接效率的考虑,甚至将 3 个与 split *Ssp* DnaB intein 上、下游的天然宿主蛋白相同的氨基酸残基添加于重链的 C 端和轻链的 N 端,由于剪接后在目的蛋白中额外引入了 6 个氨基酸残基,由此带来的对目的蛋白生物学功能的影响甚或抗原性的改变都是潜在的不利因素^[3]。尽管原核细胞的大肠杆菌与哺乳动物细胞存在很大差异,由于 intein 的剪接作用是不依赖细胞机制的自催化反应,因此利用原核表达系统的方便易操作性得出的剪接实验结果可作为哺乳动物细胞和体内剪接实验的依据,本文为进一步利用 intein 蛋白质反式剪接技术的双 AAV 载体转 ABCA1 基因奠定了基础。

致谢 作者在此感谢加拿大 Dalhousie 大学 Paul Liu 教授实验室在 intein 剪接实验技术上的支持和帮助。

参考文献

- [1] Dean M, Hamon Y, Chimini G. The human ATP-binding cassette (ABC) transporter superfamily. *Journal of Lipid Research*, 2001, 42 (7):1007 - 1017.
- [2] Brooks-Wilson A, Marcil M, Clee SM, et al. Mutations in

ABCA1 in Tangier disease and familial high-density lipoprotein deficiency. *Nature Genetics*, 1999, 22 336 - 345.

- [3] van Eck M, Sophie I, Bos T, et al. Leukocyte ABCA1 controls susceptibility to atherosclerosis and macrophage recruitment into tissues. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2002, 99 6298 - 6303.
- [4] Kapur NK, Ashen D, Blumenthal RS. High density lipoprotein cholesterol: an evolving target of therapy in the management of cardiovascular disease. *Vascular Health and Risk Management*, 2008, 4 (1) 39 - 57.
- [5] Saleh L, Perler FB. Protein splicing in cis and in trans. *Chemical Record*, 2006, 6 (4):183 - 193.
- [6] Wu H, Hu Z, Liu X Q. Protein trans-splicing by a split intein encoded in a split DnaE gene of *Synechocystis* sp. PCC6803. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1998, 95 (16):9226 - 9231.
- [7] Sharma SS, Chong S, Harcum SW. Intein-mediated protein purification of fusion proteins expressed under high-cell density conditions in *E. coli*. *Journal of Biotechnology*, 2006, 125 (1) 48 - 56.
- [8] Williams N K, Prosselkov P, Liepinsh E, et al. In vivo protein cyclization promoted by a circularly permuted *Synechocystis* sp. PCC6803 DnaB mini-intein. *The Journal of Biological Chemistry*, 2002, 277 (10):7790 - 7798.
- [9] Ludwig C, Schwarzer D, Mootz HD. Interaction studies and alanine scanning analysis of a semi-synthetic split intein reveal thiazoline ring formation from an intermediate of the protein splicing reaction. *The Journal of Biological Chemistry*, 2008, 283 (37) 25264 - 25272.
- [10] Wu H, Xu MQ, Liu XQ. Protein trans-splicing and functional mini-inteins of a cyanobacterial dnaB intein. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1998, 1387 (1 - 2):422 - 432.
- [11] 朱甫祥, 刘泽隆, 屈慧鸽, 等. *Ssp* DnaB intein 大肠杆菌中介导 FVIII 重链和轻链的连接. *生物工程学报 (Chinese Journal of Biotechnology)* 2009, 25 (7): 1101 - 1106.
- [11] 朱甫祥, 刘泽隆, 迟晓艳, 等. 基于蛋白质反式剪接的双载体凝血 VIII 因子基因转移. *中国科学 C 辑: 生命科学 (Science in China Series C: Life Sciences)* 2009, 39 (8): 746 - 754.
- [13] Chen LX, Zhu FX, Li J, et al. The enhancing effects of the light chain on heavy chain secretion in split delivery of factor VIII gene. *Molecular Therapy*, 2007, 15 (10):1856 - 1862.

Separate expression of ABCA1 and ligation mediated by *Ssp* DnaE intein in *Escherichia coli* BL21 (DE3)

Fuxiang Zhu^{*}, Jing Miao, Huige Qu, Xiaoyan Chi

(Life Science College, Ludong University, Yantai 264025, China)

Abstract: [Objective] By exploring *Ssp* DnaE intein-catalyzed protein *trans*-splicing we investigated the ligation of expression product of ATP-binding cassette transporter A1 (ABCA1) gene in *E. coli*. [Methods] The ABCA1 cDNA was broken into two halves of N-part and C-part before Cys⁹⁷⁸ codon which meets the splicing required conserved residue, and then fused to 123 and 36 amino acid-containing N terminal and C terminal coding sequences of *Ssp* DnaE intein naturally occurring *trans*-splicing intein respectively. These two fusion genes were constructed into a prokaryotic expression vector pET-28a(+). After transformation into *E. coli* BL21 (DE3) cells followed by induction the expression of recombinant proteins and the ligation of ABCA1 were observed. [Results] Through IPTG induction for expression of recombinant protein it displayed an obvious protein band as predicted size of ABCA1 on SDS-PAGE gel. Western blotting using His-Tag specific antibody confirmed that this protein band is *trans*-spliced ABCA1. [Conclusion] The data demonstrated that *Ssp* DnaE intein can efficiently catalyze the ligation of ABCA1 providing an evidence for our ongoing study on ABCA1 gene transfer by a dual AAV vector system to circumvent AAV volume limitation in gene therapy of Tangier disease which resulted from ABCA1 gene mutations.

Keywords: DnaE intein; protein *trans*-splicing; ABCA1; ligation

(本文责编 张晓丽)

Supported by the Natural Science Foundation of Shandong Province (Y2005D14), the Science and Technology Program of Yantai City (Q008152), the Scientific Research Foundation from Education Ministry for the Returned Overseas Chinese Scholars (Q0071108), and the Discipline Construction Funds of Ludong University

* Corresponding author. Tel: +86-535-6693825; E-mail: fuxiangmail@163.com

Received 20 August 2009/Revised: 14 September 2009

《微生物学报》对摘要的写作要求

1. 研究报告摘要:基本要素包括研究目的、方法、结果和结论,并要求在文中给出“【目的】、【方法】、【结果】和【结论】”等字样。具体地讲就是研究工作的主要对象和范围,采用的手段和方法,得出的结果和重要结论。在结果和讨论中应写明本文的创新之处。
2. 综述摘要:包括论述内容的发展水平、自己的评论及展望。
3. 英文摘要的撰写要点:英文摘要的内容应与中文摘要一致,但比中文摘要更详尽。要求在文中按照【Objective】、【Methods】、【Results】、【Conclusion】顺序分项撰写。英文摘要完成后,务必请英文较好且专业知识强的专家审阅定稿后再返回编辑部。凡不符合要求的,即使学术上可以达到刊出的水平,本刊也将推迟发表。
 - ① 在英语摘要中,不要使用任何汉字字符,包括标点、括号、温度、希腊字母等。
 - ② 建议使用第一人称,以此可区分研究结果是引用文献的还是作者的。
 - ③ 建议用主动语态,被动语态表达拖拉模糊,尽量不用,这样可以免好多长句,以求简单清晰。
 - ④ 摘要应当使用过去时态,语法正确,句子通顺。
 - ⑤ 摘要中不用缩写语,除非是人人皆知的,如:DNA、ATP等。
 - ⑥ 句子的开头处最好不要使用数字。