

利用荧光蛋白研究产甘油假丝酵母胞浆 3-磷酸甘油脱氢酶基因 *CgGPD* 启动子

丁春生, 饶志明*, 诸葛斌, 沈微, 陈献忠, 方慧英*, 诸葛健

(工业生物技术教育部重点实验室, 江南大学工业微生物研究中心, 无锡 214122)

摘要: 【目的】克隆产甘油假丝酵母 (*Candida glycerinogenes*) 胞浆 3-磷酸甘油脱氢酶基因 *CgGPD* 的启动子 (*PCgspd*), 并通过报告基因 *gfp* 的差异表达来研究葡萄糖浓度对 *PCgspd* 在酿酒酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) 中的诱导特性。【方法】采用 PCR 扩增的方法分别从产甘油假丝酵母基因组和 pCAMBIA1302 载体中克隆出 *CgGPD* 的启动序列 *PCgspd* 和绿色荧光蛋白基因 *gfp*。将两个基因同时构建到酿酒酵母表达载体 pYX212-*zeocin* 中, 构建时将绿色荧光蛋白基因 *gfp* 置于 *CgGPD* 的启动序列下游, 获得重组质粒 pYX212-*zeocin*-*PCgspd*-*gfp*。通过电击转化酿酒酵母 W303-1A。将重组酿酒酵母 *S. cerevisiae* W303-1A-GFP 置于不同葡萄糖浓度培养基中进行培养, 利用荧光显微技术对其进行荧光检测。【结果】重组酿酒酵母能产生稳定的荧光, 当葡萄糖浓度为 2% 时, 重组酿酒酵母在 YEPD 培养基中产生较弱的荧光, 随着葡萄糖浓度的升高, 荧光强度有明显的增强。【结论】*PCgspd* 属于环境胁迫诱导型启动子, 高浓度的葡萄糖能诱导 *PCgspd* 启动绿色荧光蛋白的高水平表达, 这对完善产甘油假丝酵母的遗传背景研究, 阐明其高产甘油的机理具有重要意义。

关键词: 产甘油假丝酵母; 3-磷酸甘油脱氢酶启动子; 绿色荧光蛋白; 酿酒酵母; 葡萄糖

中图分类号: Q933 文献标识码: A 文章编号: 0001-6209 (2008) 08-1013-06

产甘油假丝酵母是本实验室保藏的一株优良工业化甘油生产菌株, 该菌株最大的特点是耐高渗透压, 能够在 550 g/L 葡萄糖的高渗条件下生长, 在 250 g/L 葡萄糖时胞外积累甘油总量高达 120 g/L, 转化率超过 60%, 为目前世界研究中的最高水平之一^[1-4]。胞浆 3-磷酸甘油脱氢酶是产甘油假丝酵母甘油合成途径中的关键酶。研究表明, 酿酒酵母中编码 3-磷酸甘油脱氢酶基因 *GPD1* 的启动子为诱导型, 高渗条件可以大幅度提高其酶活表达^[5-8]。但由于酿酒酵母属于不耐高渗透压的酵母, 胞外积累甘油最高为 10 g/L 左右, 与耐高渗透压的产甘油假丝酵母有很大不同, 对于高渗条件是否对编码产甘油假丝酵母胞浆 3-磷酸甘

油脱氢酶基因 *CgGPD* 的启动子 *PCgspd* 也具有诱导作用? 目前尚未见相关报道。开展这方面的研究, 对于完善产甘油假丝酵母的遗传背景, 阐明其高产甘油的机理, 进一步提高其产量性状具有重要意义。

酵母菌是迄今为止最为理想的真核表达系统。酿酒酵母属于安全型基因工程受体, 其遗传背景研究清楚, 被广泛地应用于多种外源基因的表达。利用酿酒酵母对一些启动子的功能进行分析时, 往往需要合适的报告分子。来自水母 (*Aequorea Victoria*) 的绿色荧光蛋白因有着其它报告基因 (*GUS* 等) 无法比拟的优点: 活体表达、荧光稳定、检测方便、表达无种族特异性等, 因而近年来被广泛应用于生命科学的诸多领

基金项目: 国家自然科学基金(30570142, 20676053); 国家“863 计划”(2006AA020103); 江苏省青年科技创新人才(学术带头人)基金(BK2006504); 长江学者和创新团队发展计划资助(IRT0532)

*通讯作者。Tel: +86-510-85918109; E-mail: raozm@yahoo.com.cn

作者简介: 丁春生(1981-), 男, 山东滨州市人, 硕士研究生, 主要从事工业微生物育种和分子生物学研究。E-mail: ding810323@163.com

收稿日期: 2008-01-16; 修回日期: 2008-04-13

域。GFP 做为优良的报告基因常常用于指示启动子的强弱及了解诱导型启动子的时空表达特性。周琴等^[9]利用 GFP 研究了芽孢杆菌的启动子活性。GFP 也可以作为一种荧光标记,对蛋白和细胞器等进行定位研究,郑桂珍等^[10]报道了 GFP 在酿酒酵母过氧化物酶体地位研究中的作用。

本文从 *C. glycerinogenes* 中扩增获得 *CgGPD* 启动子序列 *PCggpd*, 将绿色荧光蛋白基因 *gfp* 置于 *PCggpd* 的下游, 构建了重组表达载体 *pYX212-zeocin-PCggpd-gfp*, 然后电击转入酿酒酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) W303-1A, 通过检测重组酿酒酵母在不同葡萄糖初始浓度下的绿色荧光启动表达差异来研究 *PCggpd* 启动子对不同渗透压条件的响应情况。结果表明 *PCggpd* 是渗透压诱导型启动子, 在高渗条件下能够诱导荧光蛋白的高表达, 该研究为进一步调控 *C. glycerinogenes* 高效合成甘油的机理研究和 *PCggpd* 启动子用于高渗环境下的蛋白的表达创造了条件。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 主要试剂和仪器: DNA 片段回收试剂盒购自北京博大泰克生物技术有限责任公司。各种 DNA 限制性内切酶、*Taq* DNA 聚合酶和 T4 DNA 连接酶等为大连 TaKaRa 公司产品。抗生素均购自上海华美生物

工程公司。PCR 仪: Eppendorf 5332 小型 PCR 仪; 电转化仪: BIO-RAD pulse controller (Gene PulserTM); 荧光显微镜: Olympus BX50; 显微成像系统: SONY 3CCD Color Video Camera/CCD- IRIS。

1.1.2 菌种和质粒: 产甘油假丝酵母 (*Candida glycerinogenes*) WL 2002-5、大肠杆菌 (*Escherichia coli*) JM109、酿酒酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) W303-1A 均为江南大学工业微生物研究中心保藏及提供。质粒 pCAMBIA1302 为本实验室保藏, 质粒 pYX212 由南非 Prior 教授惠赠, 质粒 pYX212-zeocin 由本实验室构建和保藏^[11], 质粒 pMD 18-T 载体购自大连 TaKaRa 公司。

1.1.3 培养基及培养条件: *E.coli* JM109 采用 LB 培养基, 于 37 培养; *C. glycerinogenes* WL 2002-5、*S. cerevisiae* W303-1A 采用 YEPD 培养基于 30 培养; 酿酒酵母转化子 *S. cerevisiae* W303-1A -GFP 分别用 YEPD 和高渗培养基于 30 培养。高渗培养基: 每升含 10 g 酵母膏, 20 g 胰蛋白胨, 200 g 葡萄糖, pH 7.0。

1.1.4 抗生素和使用浓度: 氨苄青霉素 (Amp) 100 μg/mL, zeocin 150 mg/L。

1.1.5 引物: 根据 *CgGPD* 的基因序列 (GenBank 登录号为 EU186536) 和质粒 pCAMBIA1302 公布的序列分别设计 *PCggpd* 和 *gfp* 基因 PCR 所需引物 (表 1), 由上海赛百盛基因技术有限公司合成。

表 1 用于启动子 *PCggpd* 和基因 *gfp* 扩增的引物
Table 1 Primers used for *PCggpd/gfp* genes amplification

Gene	Primer sequence(5'→3')	Positions	Product length /bp	Restriction site
<i>PCggpd</i>	PCggpdF:GGAGGATCCCAGTTCCTCCGTTTTCCATTTTC	1—29	955	<i>Bam</i> H
	PCggpdR:ACCCGAAGCTTTTTAATGTTTGATCTATTTC	925—955		<i>Hind</i>
<i>gfp</i>	mGFPF:ACCCGAAGCTTATGGTAGATCTGACTAG	1—28	1083	<i>Hind</i>
	mGFPR:ACCCGGAGCTCCCGATCTAGTAACATAG	1054—1083		<i>Sac</i>

1.2 重组酿酒酵母 *S. cerevisiae* W303-1A-GFP 的构建

1.2.1 PCR 扩增: 采用 50 μL 反应体系, 反应条件: 95 5 min; 94 1 min, 54 90 s, 72 2 min, 循环 30 次; 72 10 min。

1.2.2 重组菌的构建: 首先以产甘油假丝酵母基因组 DNA 为模板, 以 PCggpdF 和 PCggpdR 为引物 PCR 扩增得到 *CgGPD* 启动子 *PCggpd*; 同时以质粒 pCAMBIA1302 为模板, 以 mGFPF 和 mGFPR 为引物 PCR 扩增得到绿色荧光蛋白表达基因 *gfp*, 纯化后的 PCR 产物分别将其连入 pMD18-T vector, 得到重组质粒 T-*PCggpd* 和 T-*gfp*。其次, 重组质粒 T-*PCggpd* 经

*Bam*H 和 *Hind* 双酶切后, 插入到质粒 pYX212-zeocin 的多克隆位点, 按常规方法转化 *E.coli* JM109, 得到重组质粒 pYX212-zeocin-*PCggpd*, 并进行酶切验证。重组质粒 T-*gfp* 经 *Hind* 和 *Sac* 双酶切后, 与同样经 *Hind* 和 *Sac* 酶切的 pYX212-zeocin-*PCggpd* 质粒用 T4 DNA 连接酶连接, 转化 *E.coli* JM109, 得到重组表达载体 pYX212-zeocin-*PCggpd-gfp*, 并进行酶切验证。采用电转化法将重组质粒 pYX212-zeocin-*PCggpd-gfp* 电击转入酿酒酵母 *S. cerevisiae* W303-1A^[12], 利用选择培养基 SM 平板 (YEPD+150 mg/L zeocin) 筛选稳定阳性转化子。重

组酿酒酵母记为 *S. cerevisiae* W303-1A -GFP。

1.3 荧光蛋白的检测

挑取重组酿酒酵母单菌落接种于 20 mL YEPD 培养基中, 300, 250 r/min 振荡过夜, 然后 1:100 的接种量分别接种于 50 mL YEPD 和高渗培养基中, 摇瓶培养至 OD_{600} 值约为 0.9, 置于 4 °C 冰箱中数小时至过夜, 室温下 $3724 \times g$ 离心 15 min, 收集菌体沉淀, 用 PBS 缓冲液洗涤 2 次后, 重悬于 30 mL PBS 缓冲液中。取 5~10 μ L 菌液涂片, 在 Olympus BX50 荧光显微镜下观察, 同时用 SONY 3CCD 的 Color Video Camera 拍照。以出发菌 *S. cerevisiae* W303-1A 按上述方法处理作为对照, 选择激发滤光片为 485 nm, 发射滤光片为 520 nm。用 Image-Pro Plus 软件分析所得数据。

1.4 稳定转化子的筛选

转化子通过在选择培养基 SM (YEPD+150 mg/L zeocin) 平板筛选, 将能在 SM 平板上长出的转化子再次在 SM 平板上划线分离, 生长良好的转化子即认为是阳性转化子; 将得到的阳性转化子在没有选择压力的平板上连续传代培养, 每 10 代用 SM 平板筛选 1 次, 删除不能生长的菌种, 经过 30 代后仍然能在 SM 平板上生长的菌种即认为是稳定遗传的菌种。

2 结果和分析

2.1 含有报告基因 *gfp* 的酵母表达载体 pYX212-zeocin-PCgppd-*gfp* 的构建

重组质粒 pYX212-zeocin-PCgppd-*gfp* 的构建过程如图 1。首先, 从重组质粒 T-PCgppd 酶切回收

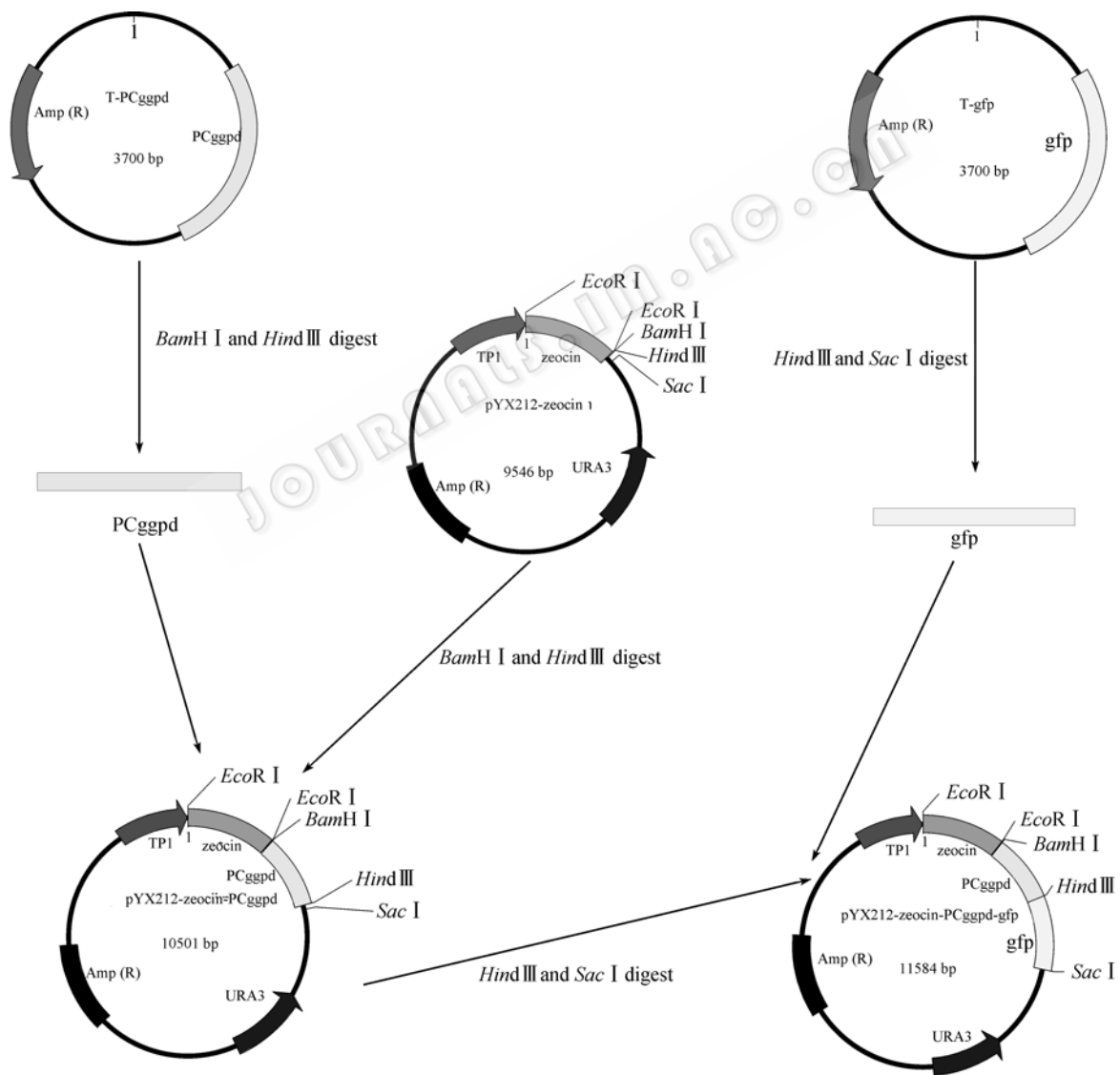


图1 重组质粒pYX212-zeocin-PCgppd-*gfp*的构建

Fig. 1 Construction of recombinant plasmid pYX212-zeocin-PCgppd-*gfp*.

950 bp 片段,插入到载体 pYX212-*zeocin* 上,获得带有启动子 *PCgspd* 的重组质粒 pYX212-*zeocin-PCgspd*。利用 *Bam*H 和 *Hind* 双酶切验证,释放出 9.5 kb 和 950 bp 大小的片段,其中 9.5 kb 大小的片段与 pYX212-*zeocin* 一致,而 950 bp 的大小与 *PCgspd* 的理论值一致,表明重组质粒构建成功。其次,从重组质粒 T-*gfp* 酶切回收 1.1 kb 的片段,插入到载体 pYX212-*zeocin-PCgspd* 上,获得带有报告基因 *gfp* 的重组质粒 pYX212-*zeocin-PCgspd-gfp*,用 *Hind* 和 *Sac* 双酶切释放出 10.5 kb 和 1.1 kb 大小的片段,其中 10.5 kb 大小的片段与 pYX212-*zeocin-PCgspd* 一致,而 1.1 kb 的大小与 *gfp* 的理论值一致,表明重组质粒构建成功。重组质粒 pYX212-*zeocin-PCgspd-gfp* 经克隆后,电击转化至酿酒酵母 *S. cerevisiae* W303-1A。

2.2 重组酿酒酵母 *S. cerevisiae* W303-1A-GFP 荧光检测

将重组菌 *S. cerevisiae* W303-1A-GFP 和对照 *S. cerevisiae* W303-1A 分别用 YEPD 和高渗液体培养基培养后取样用荧光显微镜观察。结果发现基因 *gfp* 在重组菌中得到表达,整个菌体发出稳定的明亮的绿色荧光,而对照菌则无荧光(图 2-A),说明在重组酿酒酵母中 *PCgspd* 已成功启动 *gfp* 的表达。重组菌在 YEPD 培养基中荧光较弱(图 2-B),而在添加 20%葡萄糖的高渗培养基中荧光强度有了明显增强(图 2-C),两者平均荧光强度的对比关系如图 3 所示,在含有 20%葡萄糖的高渗培养基中平均荧光强度比在含有 2%葡萄糖的 YEPD 培养基中提高了近 24 倍,这表明由于高浓度的葡萄糖对产甘油假丝酵母甘油合成关键酶胞浆 3-磷酸甘油脱氢酶基因 *CgGPD* 启动子 *PCgspd* 具有显著的诱导作用,所以使得绿色荧光蛋白得到更高水平的表达。

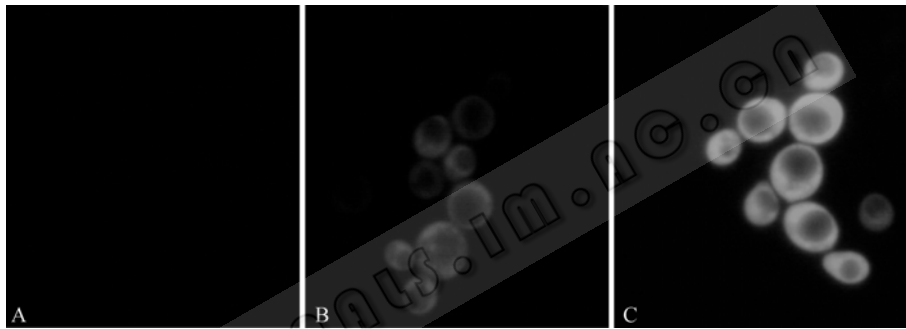


图2 转化酵母细胞中绿色荧光蛋白的检测

Fig. 2 Observation of GFPs in yeast transformants. A: Observation of GFPs in *Saccharomyces cerevisiae* W303-1A; B: Expression of *gfp* in recombinant strain cultured in YEPD medium containing 2% glucose; C: Expression of *gfp* in recombinant strain was cultured in YEPD medium containing 20% glucose.

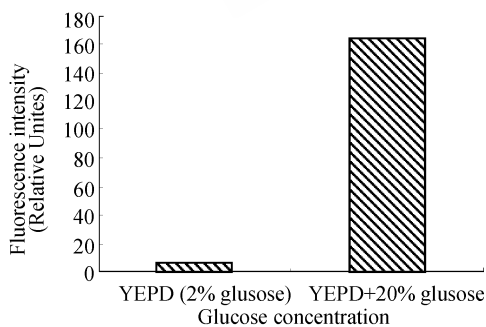


图3 不同的葡萄糖浓度下转化酵母细胞中荧光强度的对比关系

Fig. 3 The relation of average fluorescence intensity for *S. cerevisiae* W303-1A-GFP cultured in YEPD medium containing 2% glucose and 20% glucose.

3 讨论

产甘油假丝酵母 WL2002-5 具有耐高渗并且高产

甘油的特性,已被广泛用于甘油的工业化生产。自实现工业化以来,为了进一步提高其产量性状,本中心着重在菌种和其关键酶表达以及发酵工艺等方面做了大量的工作,至今仍未取得实质性突破,最可能的原因是我们对其遗传背景知之甚少,亟待完善。为了进一步提高产甘油假丝酵母的产量性状,完善其遗传背景研究,阐明其高产甘油的机理,由于胞浆 3-磷酸甘油脱氢酶是甘油合成途径中的关键酶,本课题组根据已报道的 3-磷酸甘油脱氢酶的氨基酸序列设计简并引物,通过简并 PCR 技术结合染色体步移技术首次从 *C. glycerinogenes* 克隆到编码产甘油假丝酵母胞浆 3-磷酸甘油脱氢酶基因 *CgGPD* 的读码框及其侧翼序列(该基因的克隆及其相关研究报道已被 FEMS yeast research 期刊接收,同时基因序列已递交 GenBank,登录号为 EU186536),与酿酒酵母 *GPD1*

基因 (GenBank 登录号为 X76859) 相对比, 发现二者的同源性只有 54.15%, 表明产甘油假丝酵母的 CgGPD 基因是一个新的基因, 因此弄清它的分子机理将可能为解释该菌株高转化率、高产甘油提供一个重要的依据, 同时研究还发现 CgGPD 是渗透压诱导性, 所以怀疑其启动子 PCgppd 受渗透压调控, 故本文根据获得的 CgGPD 的相关序列设计引物, 用 PCR 技术克隆出该基因的启动子 PCgppd, 通过比对发现该启动子与来自酿酒酵母 GPD1 的启动子 (可从 GenBank 登录号为 Z48432 的序列获得) 在序列特征上存在明显差异, 两者同源性仅有 28.75%, 说明 PCgppd 是一个全新的启动子。由于为了更好地对 PCgppd 的功能进行研究, 我们将构建的重组表达载体 pYX212-zeocin-PCgppd-gfp 转入酿酒酵母细胞中, 然后对重组型酿酒酵母置于不同葡萄糖初始浓度下进行培养, 检测不同的葡萄糖浓度条件下 PCgppd 启动报告基因 *gfp* 表达的差异。通过荧光检测表明, PCgppd 不仅成功启动了 *gfp* 的表达, 而且在不同葡萄糖浓度下 *gfp* 的表达存在明显差异。这主要是由于 PCgppd 启动子对不同葡萄糖浓度的产生响应引起的。在高葡萄糖浓度条件下荧光蛋白表达明显增强, 说明高浓度的葡萄糖对 PCgppd 具有很强诱导作用, 这与报道的酿酒酵母 GPD1 基因的启动子受高渗条件诱导的特性^[5, 6]类似, 但不同的是, PCgppd 受高渗条件诱导的能力更强, 约为酿酒酵母 GPD1 的 3 倍多, 这可能是由于两者基因序列的差异所致, 对于产甘油假丝酵母中存在的这些不同的基因元件及其对诱导特性的影响目前正在开展进一步的分析和研究。从 PCgppd 受高浓度葡萄糖诱导的特性可以看出 PCgppd 很可能是产甘油假丝酵母在高渗条件下高转化率、高产甘油的重要因素之一, 这将对完善产甘油假丝酵母的遗传背景, 阐明其高产甘油的机理具有重要意义。

绿色荧光的检测表明 PCgppd 已成功启动 *gfp* 在酿酒酵母中的高效表达, 验证了利用 PCgppd 来启动异源蛋白在酿酒酵母中高效表达的可行性, 具有很大的应用潜力。异源基因在酿酒酵母中的表达是一个十分复杂的过程, 细胞的密度、重组质粒的拷贝数、启动子受诱导、异源蛋白的稳定性以及造成的对宿主代谢的负担等都会影响异源蛋白的产量。据报道一些整合型质粒比多拷贝数的质粒更能收获较多的异

源蛋白。本研究中重组质粒 pYX212-zeocin-PCgppd-gfp 是多拷贝型的, 为了更好的研究 PCgppd 受诱导的特性, 携带 PCgppd 的新整合型重组质粒的构建正在研究之中。

参 考 文 献

- [1] 诸葛健, 方慧英. 好氧发酵法生产甘油新菌株的获得方法. 中国专利: CN 1082608A, 1994.
- [2] 王正祥, 诸葛健, 方慧英. 耐高渗透压高产甘油的一个假丝酵母新种产甘油假丝酵母. 微生物学报(Acta Microbiologica Sinica), 1999, 39 (1): 68-74.
- [3] 诸葛健, 方慧英. 好氧发酵法生产甘油. 中国专利: CN 1110321A, 1995.
- [4] Zhuge J, Fang HY, Wang ZX, et al. Glycerol production by a novel osmotolerant yeast *Candida glycerolgenesis*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2001, 55 (6): 686-692.
- [5] Maggi RG, Govind NS. Regulated expression of green fluorescent protein in *Debaryomyces hansenii*. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 2004, 31: 301-310.
- [6] Wolff AM, Arnau J. Cloning of glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase -encoding genes in *Mucor circinelloides* (Syn. *racemosus*) and use of the *gpd1* promoter for recombinant protein production. *Fungal Genetics and Biology*, 2002, 35: 21-29.
- [7] Albertyn J, Hohmann S, Prior BA. Characterization of the osmotic-stress response in *Saccharomyces cerevisiae*: osmotic stress and glucose repression regulate glycerol-3-phosphate dehydrogenase independently. *Current Genetics*, 1994, 25: 12-18.
- [8] Albertyn J, Hohmann S, Thevelein JM, et al. GPD1, which encodes glycerol-3-phosphate dehydrogenase, is essential for growth under osmotic stress in *Saccharomyces cerevisiae*, and its expression is regulated by the high-osmolarity glycerol response pathway. *Molecular and Cellular Biology*, 1994, 14: 4135-4144.
- [9] 周琴, 孙明, 喻子牛. 利用绿色荧光蛋白基因 *gfp* 研究芽孢杆菌的启动子活性. 微生物学报(Acta Microbiologica Sinica), 2004, 44(4): 543-546.
- [10] 郑桂珍, 赵颖, 戴梦, 等. 酵母绿色荧光蛋白报告载体的构建及其在过氧化物酶体研究中的应用. 微生物学报(Acta Microbiologica Sinica), 2007, 47(4): 702-705.
- [11] 马正, 饶志明, 沈微, 等. 一步法产 1,3-丙二醇酿酒酵母基因工程菌的构建. 微生物学报(Acta Microbiologica Sinica), 2007, 47(4): 598-603.
- [12] Ausubel FM, Brent R, Kingston RE, et al. Short protocols in molecular biology. 3rd ed. New York: John Wiley & Sons, Inc., 1997.

Analysis of *CgGPD* gene promoter from *Candida glycerinogenes* by fluorescent protein

Chunsheng Ding, Zhiming Rao*, Bin Zhuge, Wei Shen, Xianzhong Chen, Huiying Fang*, Jian Zhuge

(Key Laboratory of Industrial Biotechnology, Ministry of Education, Research Center of Industrial Microbiology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

Abstract: [Objective] We cloned the promoter of glycerol-3-phosphate dehydrogenase gene (*CgGPD*) from the *Candida glycerinogenes*, and studied its functional regulation under high osmotic stress condition. [Methods] We amplified the 950 bp promoter of *CgGPD* from *C. glycerinogenes* and the green fluorescent protein gene (*gfp*) from pCAMBIA1302 vector by PCR and introduced them into a modified vector pYX212-*zeocin* simultaneously. The recombinant plasmid pYX212-*zeocin* harboring both the promoter of *CgGPD* and gene *gfp* was transformed into *S.cerevisiae* W303-1A by electroporation. In the medium containing glucose with different concentrations for culturing the recombinant strain *S. cerevisiae* W303-1A-GFP the green fluorescence was detected by fluorescent microscopy. [Results] The gene *gfp* was functionally expressed under the control of the promoter of *CgGPD* in *S. cerevisiae*. Furthermore, the expression of the gene *gfp* at different level was conducted by the different osmotic stress for the recombinant strain. The green fluorescence was less intensive when the concentration of glucose was low for culturing the recombinant strain, but it became much more intensive when the concentration of glucose increased. [Conclusion] The promoter of *CgGPD* is an inducible promoter that can be induced significantly by the high concentration of glucose. The promoter will facilitate further studies on the mechanism of glycerol synthesis from *C. glycerinogenes* WL2002-5 under osmotic stress conditions.

Keywords: *Candida glycerinogenes*; glycerol-3-phosphate dehydrogenase promoter; green fluorescent protein; *Saccharomyces cerevisiae*; glucose

Supported by the National Natural Science Foundation of China (30570142, 20676053), the National Programs for High Technology Research and Development of China (2006AA020103), the Jiangsu Provincial Youth Scientific and Technological Innovation Foundation (BK2006504) (Academic Leader) and the Program for Changjiang Scholars and Innovative Research Team in University (IRT0532)

*Corresponding author. Tel: +86-510-85918109; E-mail: raozm@yahoo.com.cn

Received: 16 January 2008/ Revised: 13 April 2008

《微生物学报》对摘要的写作要求

2007年12月修定

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，得出的结果和重要的结论。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。要求在文中给出[Objective], [Methods], [Results], [Conclusion]等 words。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。