

微生物学报 *Acta Microbiologica Sinica*
49(4) 0485-0491; 4 April 2009
ISSN 0001-6209; CN 11-1995/Q
http://journals.im.ac.cn/actamicrocn

微生物来源的二氢乳清酸脱氢酶抑制剂 F01WB-1315A、B

齐巧娟¹, 路新华², 郑智慧², 李业英², 范玉玲², 朱京童², 任晓², 崔晓兰², 石英²,
李韶菁³, 张华², 赵宝华^{1*}

(¹ 河北师范大学生命科学学院, 石家庄 050016)

(² 华北制药集团新药研发中心, 石家庄 050015)

(³ 中国医学科学院药物研究所, 北京 100094)

摘要 【目的】从微生物次生代谢产物中筛选免疫相关疾病治疗药物重要靶点——二氢乳清酸脱氢酶的抑制剂。【方法】利用自建快速、高效的二氢乳清酸脱氢酶抑制剂的高通量筛选方法, 从 4560 株真菌菌株中筛选阳性菌株。阳性菌株的发酵产物进行分离纯化获得活性化合物, 再通过活性化合物的紫外、质谱、核磁等理化数据的分析进行结构鉴定。【结果】筛选分离得到 2 个活性化合物 F01WB-1315A 和 F01WB-1315B。F01WB-1315A 对二氢乳清酸脱氢酶有强的抑制活性, $IC_{50} = 0.07 \mu\text{g/mL}$, 于 $20 \mu\text{g/mL}$ 浓度下对体外经 ConA 刺激活化的脾淋巴细胞增殖只有 31.62% 的抑制作用。F01WB-1315B 对二氢乳清酸脱氢酶也有较强的抑制活性, $IC_{50} = 0.51 \mu\text{g/mL}$, 并且在 $20 \mu\text{g/mL}$ 浓度下对体外经 ConA 刺激活化的脾淋巴细胞增殖有 98.12% 的抑制作用。经过结构解析确定 F01WB-1315A 与壳二孢咪喃酮 (Ascofuranone) 结构相同, F01WB-1315B 与壳二孢氯素 (Ascochlorin) 结构相同。【结论】F01WB-1315A 和 B 在分子水平和细胞水平均表现出很好的免疫抑制活性, 它们对二氢乳清酸脱氢酶的抑制活性国内外未见报道。

关键词: 二氢乳清酸脱氢酶; 免疫抑制剂; 壳二孢咪喃酮; 壳二孢氯素; 来氟米特

中图分类号: R971 **文献标识码:** A **文章编号:** 0001-6209(2009)04-0485-07

免疫抑制剂在临床上广泛应用, 不仅有力地推进临床器官移植的实施和延长移植物的存活率, 改善器官移植患者的生存质量, 同时也为许多自身免疫性疾病如红斑狼疮、类风湿病等的治疗开辟了广阔的应用前景。但是现有的免疫抑制剂在临床应用中仍然存在不同程度的毒副作用、治疗对象和方案较局限的缺点, 普遍存在一些严重不良反应, 如肝毒、肾毒、神经毒性、消化道反应、内分泌系统失调、皮肤损坏和致癌作用等。因此开发全新的低毒、高效免疫抑制剂很有必要^[1-2]。

二氢乳清酸脱氢酶 (Dihydroorotate dehydro-

genase, DHODH) 是一种含铁的黄素依赖的线粒体酶, 是核酸中嘧啶合成的关键酶, 催化从头嘧啶生物合成途径中的第四步反应^[3]。抑制 DHODH, 可以阻断新生嘧啶合成, 致使 DNA 合成障碍, 抑制活化的 T 淋巴细胞和 B 淋巴细胞增殖, 从而降低机体免疫反应。为了研究和发现更加有效和低毒的免疫抑制药物先导化合物, 本研究利用以 DHODH 为靶点的高通量筛选模型从微生物的次生代谢产物中进行高通量的药物筛选, 并从阳性菌株 F01WB-1315 的发酵产物中分离得到活性化合物 F01WB-1315A 和 B。本文报道 F01WB-1315A、B 的筛选、发酵、分离纯化、

基金项目 国家科技部药用微生物菌种资源标准化整理、整合及共享试点项目(2005DKA21203)

* 通信作者。Tel: +86-311-86268434 E-mail: zhaobaohua86178@sohu.com

作者简介 齐巧娟(1984-)女, 河北石家庄人, 硕士, 研究方向为微生物制药。E-mail: qjqj@sohu.com

收稿日期 2008-10-14; 修回日期 2008-12-10

结构鉴定及其免疫生物学活性。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 样品来源:真菌菌株由本室从云南、四川和广西等地采集的土壤样品中分离得到,以这些菌株的发酵产物作为筛选样品。

1.1.2 主要试剂及仪器:2,6-二氯酚靛酚(dichlorophenol-indophenol, DCIP)(北京欣经科生物技术公司);底物二氢乳清酸(L-DIHYDROOROTIC ACID)(Sigma公司);DHODH由本实验室用基因工程的方法在大肠杆菌中表达经提纯得到;Victor² 1420多标记数仪(美国PE公司);中压液析系统(德国BUCHI公司);高效液相系统(美国Waters公司515泵和PDA检测器);高效液相色谱柱 YMC C₁₈ 20 × 250 mm, 10 μm;Phenomenex C₁₈ 4.6 × 250 mm, 10 μm);ZMD Micromass 质谱仪(美国Waters公司);INOVA-500 MHz核磁共振仪(Varian公司);CO₂培养箱(美国Formasontifu公司);96孔培养板(美国Corning);色谱乙腈(Merck公司);昆明种小鼠雌性(河北医科大学实验动物厂);RPMI-1640(GIBCO公司);十二烷基硫酸钠(Lauryl Sulfate Sodium, SDS)(GIBCO公司);新生牛血清(杭州四季青);噻唑蓝(Thiazolyl Blue, MTT)(Sigma公司);青霉素、链霉素(华北制药股份有限公司);PDA培养基(OXOID公司)。

1.1.3 培养基:种子培养基(PDA培养基):淀粉2.0%,葡萄糖1.0%,热榨黄豆饼粉0.2%,麦芽粉0.6%,酵母粉0.3%,NaCl 0.2%,MgSO₄ · 7H₂O 0.1%,CaCO₃ 0.2%,pH = 7.0。发酵培养基:淀粉1.0%,葡萄糖2.0%,热榨黄豆饼粉1.3%,麦芽粉0.8%,酵母粉0.4%,NaCl 0.13%,CaCO₃ 0.15%,pH = 7.0。

1.2 DHODH抑制剂活性测定原理及方法

DHODH活性测定参考文献³报道的方法并加以改进,反应过程见图1。

产物在600 nm处有特定吸收,因此测定酶反应前后600 nm附近处OD值的变化可间接测定DHODH的活性。样品测定过程如下:在96孔板中的样品孔中加入样品2 μL, DHODH酶液25 μL和底物缓冲液73 μL,总体积共100 μL。对照孔用DHODH酶液和底物缓冲液代替样品溶液,空白孔用Tris-HCl缓冲液和底物缓冲液代替样品溶液。使用Victor² 1420多标记数仪在600 nm波长下,读取每孔

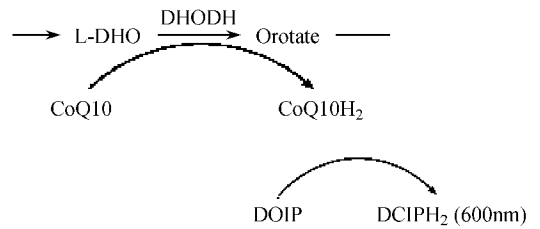


图1 DHODH反应测定原理

Fig.1 The mechanism of DHODH activity assay.

OD值(本底OD₁);各孔加入底物缓冲液75 μL,37℃反应12 min后再次读取每孔的OD值(OD₂),并计算样品的抑制率。

1.3 对体外培养小鼠脾淋巴细胞增殖的影响

按常规方法制备脾淋巴细胞悬液,用含10%新生牛血清的RPIM-1640培养液重悬,调整细胞浓度至 1×10^7 个/mL,加入96孔细胞培养板100 μL/well,同时根据实验设计加入待测药液,药液终浓度为20 μg/mL。阴性对照用相应培养液代之,ConA对照组终浓度为2 μg/mL,阳性对照为来氟米特(leflunomide, LEF)终浓度为100 μg/mL,平行设3个复孔。置5% CO₂,37℃培养箱培养72 h后,每孔加入MTT液(5 mg/mL)20 μL,继续孵育5 h后,每孔加入10% SDS液100 μL溶解,37℃湿盒过夜,待结晶完全溶解,用Victor² 1420多标记数仪检测各孔光吸收(OD)值,检测波长λ = 570 nm,参考波长λ = 630 nm。并计算脾淋巴细胞增殖抑制率^[6]。

1.4 目的菌株的确定

初筛时选取对DHODH抑制率I% > 80%的样品为阳性株,将初筛通过株按同样方法进行二次复筛,复筛通过的菌株可以确定为目的候选株。

将目的候选株进行少量的培养并确认其活性。本研究采用和样品制备时相同的培养方法。培养后提取物配制为100 μg/mL的浓度,测定对DHODH的抑制活性,其抑制率I% > 70%的菌株被确认为目的菌株,进行放大培养并进一步的化学成份的研究。

1.5 产生菌的鉴定

菌株埋片接种于PDA培养基平板,26℃培养,分别于7、14 d取埋片于光学显微镜进行形态观察,取典型形态特征进行拍照。

1.6 真菌F01WB-1315的培养

将菌株F01WB-1315培养14 d的斜面孢子用15%甘油冲洗下,以5%的接种量接种于种子培养基中,26℃,220 r/min振摇培养3 d;种子培养物以3%的接种量接种于发酵培养基中,26℃,220 r/min

摇瓶培养 5 d。

1.7 F01WB-1315 发酵产物的分离纯化

菌株 F01WB-1315 的发酵液 14.4 L 离心,上清液加乙酸乙酯萃取,菌体用丙酮浸泡 2 h,离心后所得上清减压蒸去溶剂后加入乙酸乙酯萃取。合并两部分乙酸乙酯相,减压蒸干得到油状粗提产物 5.6 g。上述粗提物经硅胶柱($\phi 3.6 \times 50$ cm)色谱,氯仿-甲醇梯度洗脱,浓缩抽干后收集到活性组分 563.8 mg,再经 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱($\phi 2.6 \times 50$ mm),以甲醇为流动相分离纯化,共收集活性组分

213.7 mg,最后使用制备型 HPLC 进行单组分的制备:MeOH-H₂O(85:15,V/V),流速为 16 mL/min,检测波长 290 nm,得到化合物 F01WB-1315A(18.2 mg)和 F01WB-1315B(19.4 mg)。

2 实验结果

2.1 DHODH 抑制剂阳性菌株的筛选

利用二氢乳清酸脱氢酶抑制剂高通量筛选模型对 4560 株真菌菌种发酵产物进行筛选,其结果见表 1。

表 1 菌种发酵产物样品的筛选结果

Table 1 Screening results of the microorganisms metabolites

Samples name	Samples number	Primary screening hits	Second screening hits	I% > 70% (100 μ g/mL)
F01WB 801-1600	800	3	2	1
F02WA 721-1840	1120	0	0	0
F02WB 881-2400	1520	2	1	0
F03WA 1-1120	1120	2	0	0
Total	4560	7	3	1

2.2 菌株鉴定结果

菌落生长相对较快,PDA 上 25℃,14 d,菌落直径达到 5.5~6.0 cm,基本平坦,具放射状沟纹。菌落边缘较致密,白色,中央部分较疏松、絮状,灰白色至白色。菌落背面黄色至棕黄色。分生孢子梗以单生为主,少数在基部形成 2~3 个分枝。孢子梗的基部有一较明显的分隔。分生孢子光滑,卵圆形。分生孢子在孢子梗的顶部由粘液粘结在一起形成块状孢子团。根据以上特征,将该菌鉴定为枝顶孢霉属(*Acremonium* sp.),见图 2。

2.3 F01WB-1315A 和 B 的理化性质

F01WB-1315A 为黄色油状物质,易溶于丙酮、氯仿、正己烷和二甲基亚砜,不溶于甲醇、水。

F01WB-1315B 呈淡黄色粉末,易溶于丙酮、氯仿、正己烷和二甲基亚砜等,不溶于甲醇、水。

2.4 F01WB-1315A 和 B 的结构鉴定

F01WB-1315A 的 UV λ_{\max} (MeOH):228、290、350 nm。ESI-MS(-)给出 m/z 为 419.1[M-H]⁻,ESI-MS(+)给出 m/e 为 421.1[M+H]⁺,确定该化合物的分子量为 420。并结合同位素峰是 m+2 且高度达到准分子离子峰的 1/3,说明分子中含有氯原子,其质谱图见图 3。

¹³C-NMR 给出 23 个碳信号,包括 1 个环内酮羰基碳信号:217.7;1 个 α 、 β 不饱和醛羰基碳信号:192.6 2 个与氧相连的不饱和碳信号(-OC=C):

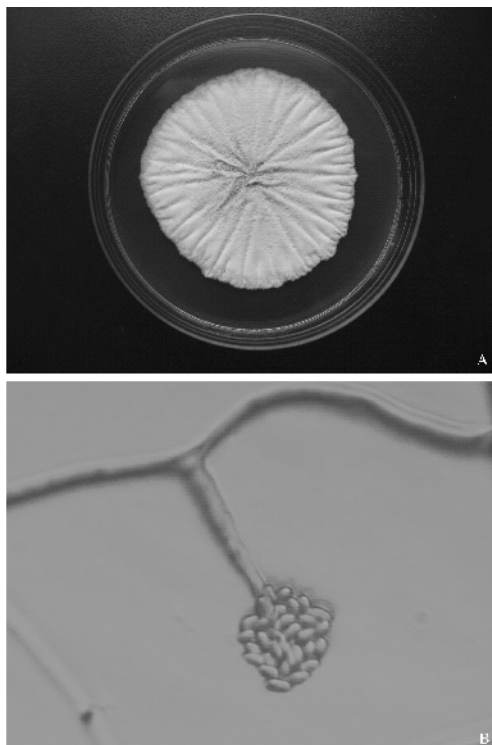


图 2 菌株 F01WB-1315 形态

Fig.2 Morphology of F01WB-1315 strain. A: Colony of F01WB-1315 strain (Petri dish 90mm diam); B: Conidiophores and conidia of F01WB-1315.

162.8、160.0;8 个 sp² 杂化碳信号(>C=C<):115.0~139.0 2 个与氧相连的饱和碳信号(-O-C-):78.2、80.9 9 个脂肪族碳信号:11.3~40.4。¹H-NMR 给出 29 个氢质子信号,包括 1 个与羰基缔合的活泼

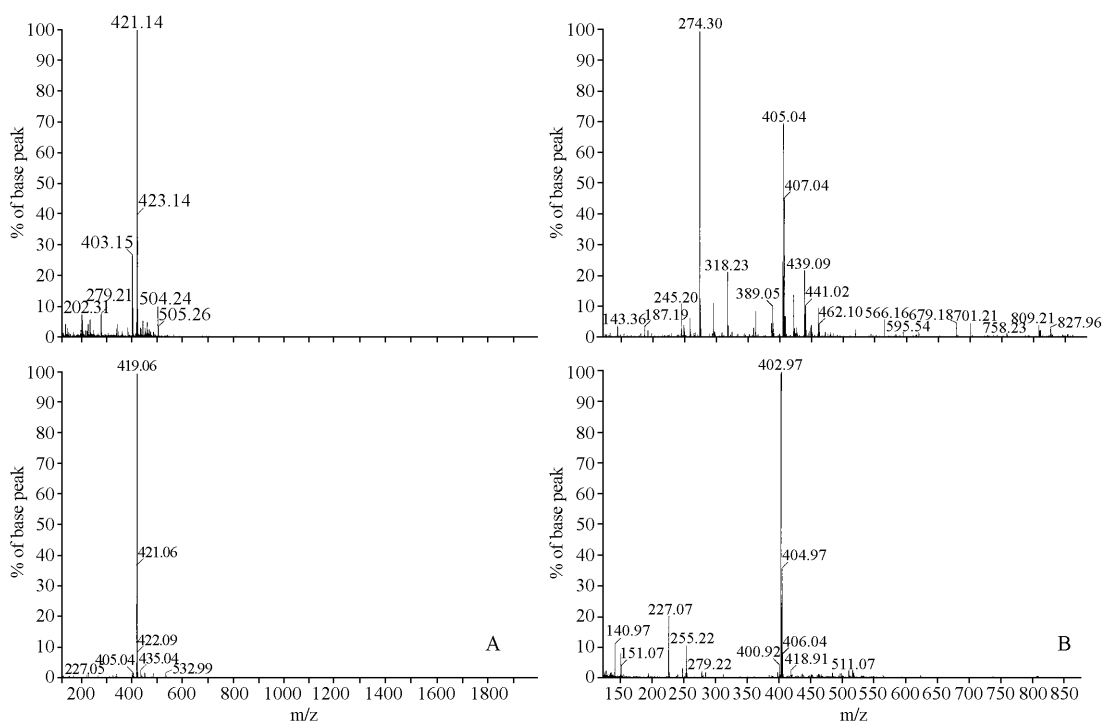


图3 F01WB-1315A和B的质谱图

Fig.3 ESI-MS of F01WB-1315A and B. A : ESI-MS of F01WB-1315A ; B : ESI-MS of F01WB-1315B.

氢 :12.95(1H, s); 1个未与羰基缔合的活泼氢 :7.67(1H, s); 1个醛基氢 :10.05(1H, s); 2个非共轭双键碳上的氢 :5.25(1H, t), 5.11(1H, t); 1个连氧碳上质子 :3.73(1H, dd); 5个甲基单峰和8个其它脂肪族质子信号。通过 $^{13}\text{C-NMR}$ 、 $^1\text{H-NMR}$ 数据分析结合质谱的结果,推测该化合物分子式为 $\text{C}_{23}\text{H}_{29}\text{ClO}_5$;根据波谱特征,经数据库检索并参考文献[7]确定该化合物与壳二孢呋喃酮结构相同,其化学结构见图6,该化合物的 $^{13}\text{C-NMR}$ 、 $^1\text{H-NMR}$ 图谱数据见图4。

F01WB-1315B的 $\text{UV}\lambda_{\text{max}}$ (MeOH):240、292、347 nm。ESI-MS(-)给出 m/e 为403.1[M-H^-],ESI-MS(+)给出 m/e 为809.2[$2\text{M} + \text{H}^+$],确定该化合物的分子量为404。同位素峰是 $m + 2$ 且高度达到准分子离子峰的1/3,推测分子中含有氯原子,其质谱图见图3。

与化合物F01WB-1315A相比,其分子量相差16, $^{13}\text{C-NMR}$ 和 $^1\text{H-NMR}$ 图谱中也分别给出了23个碳信号和29个氢质子信号,说明两者相差一个氧原

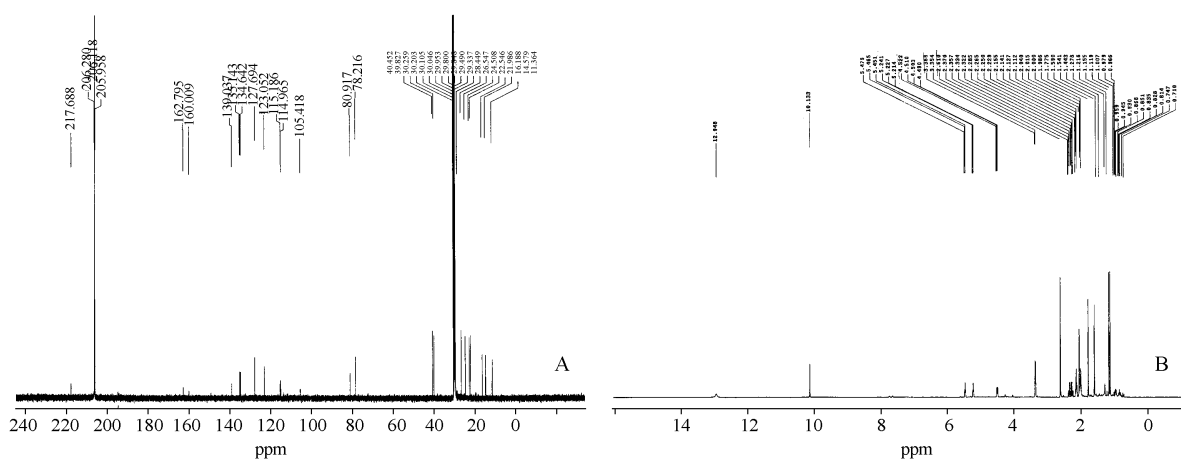


图4 F01WB-1315A的 $^{13}\text{C-NMR}$ 、 $^1\text{H-NMR}$ 图谱

Fig.4 $^{13}\text{C-NMR}$ (A) and $^1\text{H-NMR}$ (B) of F01WB-1315A.

子 因此推断其分子式为 $C_{23}H_{29}ClO_4$ 。仔细比较化合物 F01WB-1315B 和 F01WB-1315A 的核磁图谱,根据碳氢的化学位移值和氢信号的裂分情况判断它们左半部分的结构相同,右半部分中双键、甲基、次甲基的相对位置发生了变化,而且 2 个与氧相连的碳信号(78.2、80.9)消失,高场区增加了两个碳信号

(53.6、48.5),甲基由 5 个单峰变为 3 个单峰和 2 个双峰,通过这些特征的分析,结合数据库检索并参考文献 [7] 确定该化合物与壳二孢氯素结构相同,其化学结构见图 6,该化合物的 ^{13}C -NMR、 1H -NMR 图谱数据见图 5。

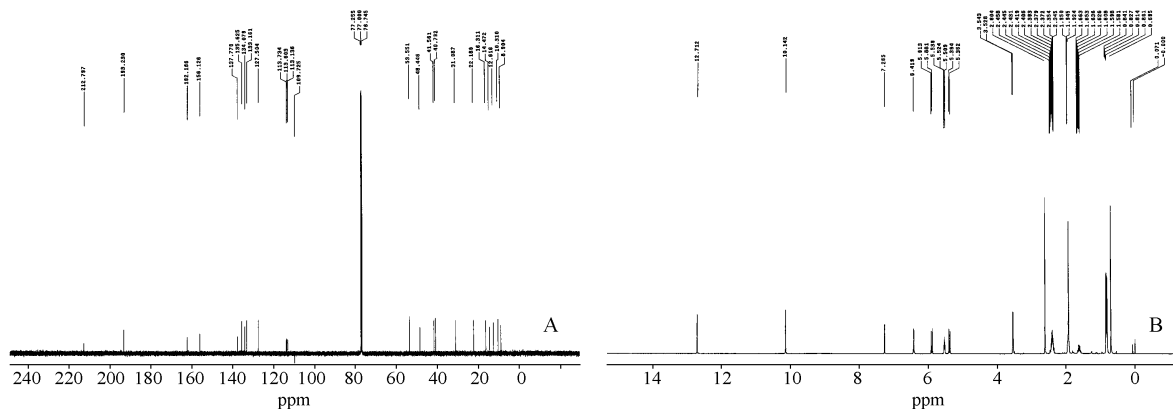


图 5 F01WB-1315B 的 ^{13}C -NMR、 1H -NMR 图谱

Fig. 5 ^{13}C -NMR (A), 1H -NMR (B) of F01WB-1315B.

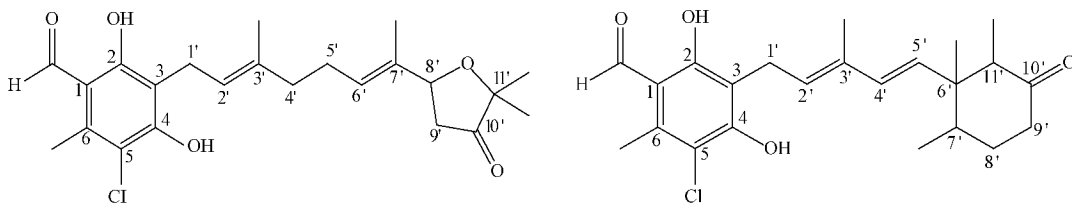
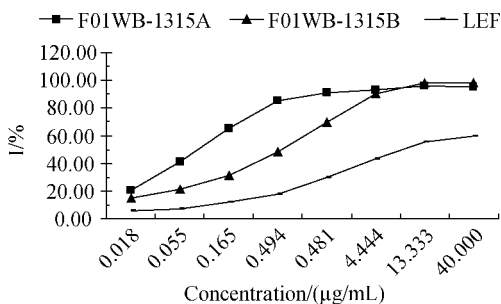


图 6 F01WB-1315A 和 B 的化学结构

Fig. 6 Chemical structures of F01WB-1315A and B. A: F01WB-1315A; B: F01WB-1315B.

2.4 F01WB-1315A 和 B 的生物活性

在体外的免疫活性测定过程中本研究以临床免疫抑制药物来氟米特 LEF 为阳性对照。F01WB-1315A 和 F01WB-1315B 对 DHODH 的抑制活性测定结果见图 7,从图中可看出来化合物 F01WB-1315A



7 F01WB-1315A、B 和来氟米特对 DHODH 的抑制活性

Fig. 7 The inhibitory activities of F01WB-1315A, B and LEF on DHODH.

和 B 对 DHODH 呈现出剂量依赖的抑制作用, IC_{50} 值分别为 $0.07 \mu g/mL$ 和 $0.51 \mu g/mL$, LEF 的 IC_{50} 为 $10 \mu g/mL$ 。

2.5 F01WB-1315A 和 B 对脾淋巴细胞增殖的影响

为了进一步验证化合物 F01WB-1315A 和 B 在细胞水平对淋巴细胞增殖抑制作用,本研究进行两个化合物对脾淋巴细胞体外增殖实验。结果显示在 $20 \mu g/mL$ 浓度下, F01WB-1315A 对体外经 ConA 刺激活化的脾淋巴细胞增殖有 31.62% 的抑制活性, F01WB-1315B 具有 98.12% 的抑制活性,阳性对照 LEF 有 105.97% 的抑制活性,见图 8。

3 讨论

DHODH 是催化嘧啶从头生物合成途径中的限速酶,抑制 DHODH 可以阻断嘧啶合成,导致 DNA 合

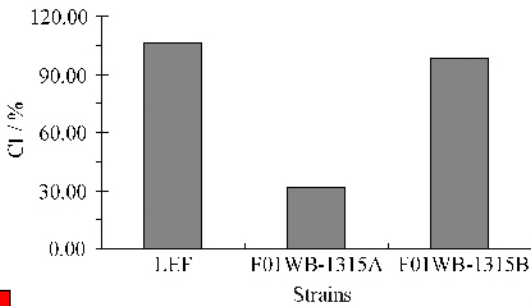


图8 F01WB-1315A、B 和来氟米特对脾淋巴细胞增殖的抑制活性

Fig. 8 The inhibitory activities of F01WB-1315A, B and LEF on splenocyte proliferation.

成障碍,抑制活化的 T 淋巴细胞和 B 淋巴细胞增殖,从而降低机体免疫反应。因此 DHODH 已经成为研制开发治疗免疫相关疾病药物的重要靶点。目前国外一些大公司已竞相开展了 DHODH 抑制剂类药物的研究,并已有药物成功上市,有些仍在研发的不同研发阶段。例如, Sanofi-Aventis 公司在 1998 年上市的来氟米特临床上用于治疗多种自身性免疫疾病;Astellas 公司开发的 DHODH 抑制剂 FK-778 正在进行临床前试验,用于器官移植排异反应;ASC 公司开发的 DHODH 抑制剂 SC-12267 已完成 I 期临床试验,用于治疗多种炎症疾病。

为了从微生物代谢产物中发现新的 DHODH 抑制剂,本研究建立了这个体外的 DHODH 抑制剂的高通量筛选模型,并经过筛选、分离得到 DHODH 抑制剂 F01WB-1315A 和 B。通过结构解析确定化合物 F01WB-1315B 为壳二孢氯素,该化合物最早于 1968 年由 Tamura 等首先从真菌 *Ascochyta viciae* 中分离得到^[9], F01WB-1315A 为壳二孢咪喃酮,是由 Sasaki 等于 1972 年从同一菌种中分离得到的^[8],据报道,这两个化合物除了具有降血脂活性外,还具有降血糖、抗癌、抗病毒、抗炎、抗锥虫活性^[10]。

对 DHODH 的抑制实验结果表明 F01WB-1315A 和 B 的 IC_{50} 值分别为 $0.07 \mu\text{g/mL}$ 和 $0.51 \mu\text{g/mL}$,活性均高于 LEF ($IC_{50} = 10 \mu\text{g/mL}$)。但在 $20 \mu\text{g/mL}$ 浓度下 F01WB-1315A 对经 ConA 刺激活化的脾淋巴细胞增殖有 31.62% 的抑制活性, F01WB-1315B 具有 98.12% 的抑制作用,在细胞水平却均低于 LEF,其原因可能与 LEF 作为前药,通过在体内或细胞内转化为活性代谢产物 A771726 (MI) 起免疫抑制作用有关。此外,由于 F01WB-1315A 与 B 可能也为某种活

性代谢产物的前体产物,所以在分子和细胞水平表现出的抑制活性的差异。

本研究首次发现该类化合物具有较好的 DHODH 为作用靶点的免疫抑制活性,在国内外未见报道。我们的研究内容扩大了具有 DHODH 抑制活性的化合物的结构类型。我们将进行进一步的机制和构效关系研究,发现 DHODH 抑制活性的必需基团,为其开发成 DHODH 抑制剂类药物先导化合物奠定基础。

参考文献

- [1] 郑秀娟,任学芳,陈刚,等. 新型免疫抑制剂 FK520 的功能研究. 现代免疫学 (*Current Immunology*), 2007, 27: 7-11.
- [2] 华琦,李静. 免疫抑制剂在心血管疾病中的应用. 中华医学信息导报 (*China Medical News*), 2007, 22 (12): 21-22.
- [3] Jeffrey B, Carolyn HM, Nicholas AM, et al. High-throughput screening for potent and selective inhibitors of *Plasmodium falciparum* dihydroorotate dehydrogenase. *The Journal of Biological Chemistry*, 2005, 280: 21847-21853.
- [4] Dayer JM, Cutolo M. Is there a rationale to using leflunomide in early rheumatoid arthritis. *Clinical and Experimental Rheumatology*, 2005, 23: 404-409.
- [5] Lou T, Wang C, Chen Z, et al. Randomised controlled trial of leflunomide in the treatment of immunoglobulin A nephropathy. *Nephrology (Carlton)*, 2006, 11: 113-116.
- [6] 林忠宁,董胜璋,董书芸,等. MTT 法检测 T 淋巴细胞增殖功能的方法学探讨与应用. 中国卫生检验杂志 (*Chinese Journal of Health Laboratory Technology*), 2000, 10(1): 8-10.
- [7] Mori K, Takechi S. Synthesis of the natural enantiomers of ascochlorin, ascofuranone and ascofuranol. *Tetrahedron*, 1985, 41(15): 3049-3062.
- [8] Sasaki H, Hosokawa T, Okutomi T, et al. Ascufuranone, a new antibiotic from *Ascochyta viciae*. *Tetrahedron Letters*, 1972: 2541-2544.
- [9] Tamura G, Suzuki S, Takatsuli A, et al. Ascochlorin, a New Antibiotic, Found by Paper-disc Agar-diffusion Method. *The Journal of Antibiotics*, 1968, 21: 539-544.
- [10] Tsuruga M, Nakajima H, Magae J. Immunosuppressive Activity of 4-O-Methylascochlorin. *The Journal of Antibiotics*, 2007, 60(1): 20-26.

F01WB-1315 A and B , two dihydroorotate dehydrogenase inhibitors from microbial metabolites

Qiaojuan Qi¹, Xinhua Lu², Zhihui Zheng², Yeying Li², Yuling Fan², Jingtong Zhu², Xiao Ren², Xiaolan Cui², Ying Shi², Shaojing Li³, Hua Zhang², Baohua Zhao^{1*}

(¹ College of Life Science, Hebei Normal University, Shijiazhuang 050016, China)

(² National Microbial Medicine Engineering & Research Center, New Drug R&D Co. Ltd of North China Pharmaceutical Group Co. Ltd, Shijiazhuang 050015, China)

(³ Institute of Materia Medica Chinese Academy of Medical Science & Peking Union Medical College, Beijing 100094, China)

Abstract [Objective] Dihydroorotate Dehydrogenase (DHODH) catalyzes the rate-limiting step in pyrimidine biosynthesis, and its inhibitors have been developed as drugs for treatment of immune diseases. We studied new DHODH inhibitors from microbial metabolites. **[Methods]** We established a rapid and effective high throughput screening method for screening DHODH inhibitors from microbial metabolites. The active compounds were isolated from the candidate strain by column chromatography and preparative HPLC. **[Results]** We picked out F01WB-1315 strain as candidate from 4560 fungal strains. We isolated two active compounds F01WB-1315A and B, with IC₅₀ of 0.07 μg/mL and 0.51 μg/mL, respectively. F01WB-1315B could completely inhibit the spleen lymphocytes proliferation stimulated by ConA in vitro, but F01WB-1315A only had 31.62% inhibitory activity. F01WB-1315A, B were identified to be Ascofuranone and Ascochlorin by their physicochemical properties, MS, ¹³C-NMR and ¹H-NMR analysis. **[Conclusion]** F01WB-1315A and B are two strong specific DHODH inhibitors and show moderate inhibitory activity against spleen lymphocytes proliferation.

Keywords: dihydroorotate dehydrogenase; immunosuppressant; ascofuranone; ascochlorin; leflunomide

(本文责编 张晓丽)

Supported by the Ministry of Science and Technology Culture of Medical Microbiology Resources, Finishing the Standardization, Integration and Sharing Pilot Projects (2005DKA21203)

* Corresponding author. Tel: +86-311-86268437; E-mail: zhaobaohua86178@sohu.com

Received: 14 October 2008/Revised: 10 December 2008

《微生物学报》答作者问——关于投稿

问 投稿时都需要哪些手续?是否还需要纸稿?

答 从2006年起,本刊开始采用“稿件远程处理系统”。投稿时需要提供:

- (1) 论文研究内容所属单位的介绍信(请注意:在此强调的是研究内容所属单位,通常是第一单位),介绍信主要应证明该文的作者署名无误,未一稿两投及不涉及保密问题。介绍信模板可从本刊主页“下载专区”或“远程投稿”中下载。
- (2) 在接到经编辑部内审后 E-mail 发出的“稿件受理通知”后,需要及时补寄打印的稿件和介绍信各1份,并缴纳100元稿件受理费。

问 审稿费需邮局汇款还是转帐?

答 邮局汇款!中科院微生物所共有4个期刊编辑部,因此提醒您在办理汇款时一定要注意以下几点,否则在登记汇款、办理发票时会造成混乱!编辑部在收到汇款之后,将以挂号信形式及时寄回发票。

- (1) 切忌在邮寄来的纸样材料中加入100元现金!
- (2) 在收款人一栏填写“微生物学报编辑部”;
- (3) 在备注栏中注明“稿件编号”+“第一作者姓名”;
- (4) 通过邮局汇100元审稿费,汇款后请登陆本刊网站,填写“汇款时间”、“发票单位”和“发票地址”等信息。编辑部会在收到后及时登记“收款时间”和“寄发票时间”,作者可随时登陆查询。