

# 利用响应面法优化 $\alpha$ -糖苷酶抑制剂发酵培养基

齐西珍 王利强 孟鹏 白芳\* 白钢

(南开大学 药学院 天津 300071)

**摘要:** 【目的】采用响应面法对戈壁三素链霉菌 PW409 发酵合成  $\alpha$ -糖苷酶抑制剂的培养基进行优化。【方法】采用 Plackett-Burman 法筛选影响  $\alpha$ -糖苷酶抑制剂产生的关键因素,用最陡爬坡试验逼近关键因素的最大响应区域,采用 Box-Behnken 设计以及响应面分析法,得到各因素的最佳浓度,通过液相色谱-串联质谱法(LC-MS/MS)对发酵液中  $\alpha$ -糖苷酶抑制剂进行定量分析。【结果】发酵培养基中可溶性淀粉、 $\text{KNO}_3$  和  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  的浓度对  $\alpha$ -糖苷酶抑制剂的产量影响较大。优化后的培养基组成为:可溶性淀粉 9.01 g/L,  $\text{KNO}_3$  11.0 g/L,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  0.32 g/L,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.50 g/L,  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.01 g/L, pH 7.5。【结论】在此优化条件下,链霉菌 PW409 发酵液对麦芽糖苷酶的半数抑制浓度  $\text{IC}_{50}$  为 22 mg/L,抑制活性较优化前提高了近 10 倍。发酵液中的 1-脱氧野尻霉素含量可达 7.84 mg/L,较优化前提高了 668 倍,米格列醇的含量可达 0.94 mg/L,较优化前提高了 10 倍。

**关键词:** 戈壁三素链霉菌,  $\alpha$ -糖苷酶抑制剂, 响应面, 优化

## Medium optimization of $\alpha$ -glucosidase inhibitors production by response surface analysis

QI Xi-Zhen WANG Li-Qiang MENG Peng BAI Fang\* BAI Gang

(College of Pharmacy, Nankai University, Tianjin 300071, China)

**Abstract:** [Objective] In order to improve production of  $\alpha$ -glucosidase inhibitors from *Streptomyces gobitricini* PW409, response surface methodology was used to optimize the fermentation medium. [Methods] A Plackett-Burman design was used to evaluate the influence of seven factors firstly. Then, the path of steepest ascent and the Box-Behnken design were

基金项目: 国家自然科学基金项目(No. 21002052); 天津市应用基础及前沿技术研究计划项目(No. 10JCYBJC14300)

\*通讯作者: Tel: 86-22-23508371; 信箱: baifang1122@nankai.edu.cn

收稿日期: 2011-08-23; 接受日期: 2011-11-01

adopted for further optimization, the optimum concentration levels and the relationships among these factors was found out by quadratic regression model equation with Design-Expert statistic methods. The concentrations of  $\alpha$ -glucosidase inhibitors in the fermentation broth were detected by liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS). **[Results]** The concentration of soluble starch,  $\text{KNO}_3$  and  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  played important roles in influencing the content of inhibitors. The optimal fermentation medium is: soluble starch 9.01 g/L,  $\text{KNO}_3$  11 g/L,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  0.32 g/L,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.50 g/L,  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.01 g/L, pH 7.5. **[Conclusion]** Under such conditions, the half maximal inhibitory concentration ( $\text{IC}_{50}$ ) of fermentation broth to maltase glucoamylase was 22 mg/L, inhibitory activity increased nearly 10 times. The concentration of 1-deoxynojirimycin and miglitol were increased to 7.84 mg/L and 0.94 mg/L, which was 668 and 10 times higher than before, respectively.

**Keywords:** *Streptomyces gobitricini*,  $\alpha$ -glucosidase inhibitors, Response surface methodology, Optimization

$\alpha$ -糖苷酶抑制剂是目前临床治疗 2 型糖尿病的一线口服降糖药物, 它通过可逆性地抑制肠道内的  $\alpha$ -淀粉酶和  $\alpha$ -葡萄糖苷酶(如  $\alpha$ -麦芽糖酶、 $\alpha$ -蔗糖酶等), 延缓多糖(如淀粉、寡糖等)分解为单糖的过程, 从而减慢葡萄糖的吸收速度, 降低餐后血糖<sup>[1]</sup>。目前上市的用于临床治疗糖尿病的  $\alpha$ -糖苷酶抑制剂代表性药物主要有阿卡波糖(Acarbose)<sup>[2]</sup>、伏格列波糖(Voglibose)<sup>[3]</sup>、米格列醇(Miglitol)<sup>[4]</sup>等。由于  $\alpha$ -糖苷酶抑制剂类化合物多为含氮的单糖/寡糖类似物, 其化学合成步骤繁琐、成本高、效率低、毒性大, 因此, 目前应用于临床的  $\alpha$ -糖苷酶抑制剂均是通过生物合成法或半生物合成法获得<sup>[5]</sup>。

放线菌是土壤中种类和数量庞大的一个微生物类群, 具有重要经济价值, 它以产生种类繁多的生物活性物质而广泛受到重视, 一直以来都是人们筛选新型天然化合物的资源宝库, 阿卡波糖就发现于游动放线菌(*Actinoplanes* sp. E50)的发酵液中<sup>[6]</sup>。作者从福建省古田县的土壤样品中筛选出一株  $\alpha$ -糖苷酶抑制剂高产菌 PW409<sup>[7]</sup>, 初步鉴定为戈壁三素链霉菌(*Streptomyces gobitricini*), 目前已经从 PW409 菌株发酵液中鉴定出两种已知  $\alpha$ -糖苷酶抑制剂——1-脱氧野尻霉素(DNJ)<sup>[8]</sup>

和米格列醇(Miglitol)<sup>[9]</sup>。本研究首次利用响应面法<sup>[10]</sup>对链霉菌 PW409 产  $\alpha$ -糖苷酶抑制剂发酵培养基进行优化。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材 料

**1.1.1 菌种:** *Streptomyces gobitricini* PW409 由本实验室筛选并保藏。

**1.1.2 培养基:** (1) 种子培养基(g/L): 玉米淀粉 20.0, 大豆蛋白胨 10, KCl 0.5,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.5,  $\text{NaNO}_3$  2.0, NaCl 5.0, pH 7.2。(2) 初始发酵培养基(g/L): 可溶性淀粉 10.0,  $\text{KNO}_3$  4.0,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  0.1,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  2.0, NaCl 0.5,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.5,  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.01, pH 7.5,  $1 \times 10^5$  Pa 灭菌 20 min。

**1.1.3 主要试剂:** 人  $\alpha$ -麦芽糖苷酶(Maltase glucoamylase, MGAM)由本实验室克隆表达获得; 16S rDNA 序列测定工作由上海生工公司完成; DNJ 标准品购于 Sigma 公司, 米格列醇标准品购于中国药检所; 葡萄糖试剂盒(GOD 法)为北京中生物生物工程公司产品; HPLC 级乙腈购于 Fisher 公司, HPLC 级甲酸及甲酸铵购于 Tedia 公司, 超纯水由本实验室 Milli-Q 超纯水纯化系统自制。其它试剂皆为国产分析级试剂。

## 1.2 发酵方法

菌株经斜面活化后, 从斜面培养基上取一环孢子接入到 200 mL 种子培养基中, 28 °C 摇床 200 r/min 培养 36 h, 以 5% (V/V) 接种量接入发酵培养基中, 装液量为 200 mL (500 mL 三角瓶), 28 °C 摇床 200 r/min 培养 50 h。

## 1.3 分析方法

**1.3.1 发酵液中  $\alpha$ -糖苷酶抑制剂含量的测定方法:** 为检测发酵液对  $\alpha$ -糖苷酶的抑制效果, 以 100  $\mu$ L 0.1% 的麦芽糖溶液为底物, 加入 50  $\mu$ L 系列稀释的发酵液, 随后加入 30  $\mu$ L MGAM (1 U/mL) 启动反应, 37 °C 孵育 30 min 后加入 10  $\mu$ L 盐酸(0.5 mol/L)终止反应。取 50  $\mu$ L 反应液用葡萄糖氧化酶法测定 490 nm 的吸光值, 具体操作方法详见葡萄糖体外诊断试剂盒说明书。应用 GraphPad Prism 5.0 软件计算发酵液对 MGAM 的半数抑制浓度(IC<sub>50</sub>), 以阿卡波糖作为参照, IC<sub>50</sub> 值越小, 所反应的  $\alpha$ -麦芽糖苷酶抑制剂含量越高。

**1.3.2 DNJ 和米格列醇的含量测定:** 色谱条件: 色谱柱为 Waters Atlantis Hilic silica 分析柱 (150 mm $\times$ 2.1 mm, 3  $\mu$ m); 柱温为 40 °C; 流动相: 乙腈: 甲酸铵水溶液(10 mmol/L) (80:20, V/V); 流速: 0.2 mL/min, 进样量为 5  $\mu$ L, 分析时长 8 min。

质谱条件: ESI 离子源; 多反应检测(MRM) 正离子模式; 用于定量分析的离子转换分别为 m/z 164.1 $\rightarrow$ m/z 110.1 (DNJ)和 m/z 208.4 $\rightarrow$ m/z 146.1 (米格列醇); 源温为 500 °C; 载气流速: 11 L/min; 雾化气体(GS1, N<sub>2</sub>)压力为 35 psi; DNJ 的解簇电压(DP)为 90 V; 碰撞电压(CE)为 12 eV; 米格列醇的解簇电压(DP)为 12 eV。米格列醇与 DNJ 标准品在 MRM 下的保留时间分别为 3.5 min

和 6.7 min。

## 2 结果与分析

### 2.1 Plackett-Burman 设计筛选主要因素

经过之前单因素考察等预实验确定的各个因素的水平, 采用 Plackett-Burman 设计从 7 个影响因素中筛选出具有显著影响的因素。每个因素取 2 个水平: 即低水平和高水平。如表 1 所示。

针对以上结果, 利用 Design-Expert 软件对表 2 中数据进行回归分析, 得到各因素的回归系数及对于  $\alpha$ -糖苷酶抑制剂产量的贡献值(表 3), 结果表明, 可溶性淀粉、KNO<sub>3</sub> 和 K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 为 3 个影响最为显著的因素。其中, 可溶性淀粉和 K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 的浓度对  $\alpha$ -糖苷酶抑制剂产量的影响是正效应, KNO<sub>3</sub> 的浓度对  $\alpha$ -糖苷酶抑制剂产量的影响是负效应。

表 1 Plackett-Burman 设计因子水平及编码  
Table 1 The two levels of variables used in the Plackett-Burman design

因子代码 Code	因素 Factor (g/L) <sup>a</sup>	低水平 Low level (-1)	高水平 High level (+1)
A	Soluble starch	10	20
B	KNO <sub>3</sub>	5	15
C	Dummy 1	-	-
D	K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0.1	0.5
E	Dummy 2	-	-
F	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	2	4
G	Dummy 3	-	-
H	MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	0.5	0.7
J	Dummy 4	-	-
K	FeSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	0.01	0.02
L	pH	7.2	8.0

Note: <sup>a</sup>: Dummy was used to estimate experimental error.

表2 Plackett-Burman 实验设计结果  
Table 2 Results of Plackett-Burman design

Run	A	B	C	D	E	F	G	H	J	K	L	IC <sub>50</sub> (mg/L)
1	1	-1	-1	-1	1	-1	1	1	-1	1	1	110.90
2	1	1	-1	1	1	1	-1	-1	-1	1	-1	111.40
3	1	1	-1	-1	-1	1	-1	1	1	-1	1	103.30
4	1	-1	1	1	-1	1	1	1	-1	-1	-1	643.70
5	-1	1	1	-1	1	1	1	-1	-1	-1	1	80.08
6	1	1	1	-1	-1	-1	1	-1	1	1	-1	86.97
7	-1	-1	1	-1	1	1	-1	1	1	1	-1	103.20
8	-1	-1	-1	1	-1	1	1	-1	1	1	1	486.10
9	1	-1	1	1	1	-1	-1	-1	1	-1	1	1587.00
10	-1	1	1	1	-1	-1	-1	1	-1	1	1	256.40
11	-1	1	-1	1	1	-1	1	1	1	-1	-1	94.62
12	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	123.50

表3 回归系数及贡献值分析  
Table 3 Regression coefficients and analyses of their contributions

因素 Factors	回归系数 Regression coefficient	贡献值 Contribution (%)	Prob (P)>F
Soluble starch	124.95	8.48	<0.0001
KNO <sub>3</sub>	-193.47	20.34	<0.0001
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	214.27	24.95	<0.0001
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	-60.97	2.02	0.0002
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	-96.91	5.10	<0.0001
FeSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	-123.10	8.23	<0.0001
pH	121.70	8.05	<0.0001

## 2.2 最陡爬坡实验设计及其结果

响应面拟合方程只有在考察的邻近区域里才能充分近似真实情况,所以应先逼近最大影响区域后再建立有效的拟合方程<sup>[10]</sup>。根据 PB 试验结果,针对可溶性淀粉、KNO<sub>3</sub>和 K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>质量浓度进行最陡爬坡实验,结果如表 4 所示。

以上结果表明,当各因素的取值在第 2 组试验附近时 α-糖苷酶抑制剂产量最高,故选其作为中心点,可溶性淀粉、KNO<sub>3</sub>、K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 浓度分别为 12.0 g/L、12.5 g/L 和 0.4 g/L。

## 2.3 响应面设计确定显著影响因素的最佳值

根据最陡爬坡试验确定的实验因素中心

点,设计响应面试验,各因素水平选择如表 5 所示,本文采用 Box-Behnken 设计,其结果如表 6 所示。

表4 最陡爬坡试验设计及其结果  
Table 4 The path of steepest ascent experiment design and response values

Run	Soluble starch (g/L)	KNO <sub>3</sub> (g/L)	K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> (g/L)	IC <sub>50</sub> (mg/L)
1	8.0	14.5	0.1	57.275
2	12.0	12.5	0.4	32.500
3	16.0	10.5	0.7	127.300
4	20.0	8.5	1.0	151.100

表 5 Box-Behnken 试验因素水平及其编码  
Table 5 Levels of variables used in the Box-Behnken design

因素 Factors	水平 Level (g/L)		
	-1	0	1
Soluble starch	9.0	12.0	15.0
KNO <sub>3</sub>	11.0	12.5	14.0
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0.3	0.4	0.5

表 6 Box-Behnken 试验设计表及其结果  
Table 6 Box-Behnken experimental design and response values

Run	Soluble starch	KNO <sub>3</sub>	K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	IC <sub>50</sub> (mg/L)
1	0	0	0	73.10
2	1	0	1	28.25
3	0	1	1	59.38
4	0	1	-1	54.39
5	-1	0	1	30.94
6	-1	-1	0	37.08
7	0	0	0	77.33
8	0	0	0	77.70
9	-1	1	0	41.97
10	1	0	-1	26.64
11	0	-1	-1	25.02
12	0	0	0	62.03
13	1	-1	0	26.66
14	0	-1	1	26.47
15	1	1	0	29.69
16	0	0	0	66.53
17	-1	0	-1	23.98

利用软件 Design-Expert 7.0 对实验结果进行分析, 得到二次线性回归方程如下:  $Y$  (发酵液 IC<sub>50</sub>) = +71.34 - 2.84A + 8.78B + 1.88C - 0.47AB - 1.34AC + 0.89BC - 25.68A<sup>2</sup> - 11.81B<sup>2</sup> - 18.21C<sup>2</sup>。其中, A、B 和 C 分别代表可溶性淀粉、KNO<sub>3</sub> 和 K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 单位是 g/L (表 7)。方差分析显著性检验表明,  $R^2=90.55\%$ , 方程回归性显著。

利用 Design-Expert 软件对回归模型进行响应面分析, 得到各响应面立体分析图(图 1-3)。对回归方程求解, 得模型极值点, 即可溶性淀粉、KNO<sub>3</sub> 和 K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 的最佳浓度分别为 9.01、11.00、0.32 g/L 时, 响应值  $Y$  达到最大值, 即发酵液中  $\alpha$ -糖苷酶抑制剂含量最高, IC<sub>50</sub> 值为 20.89 mg/L。

## 2.4 优化结果验证

为了检验模型的准确性, 在预测最佳培养基组成条件下进行发酵试验 3 次, 所得的实际发酵液对  $\alpha$ -糖苷酶的 IC<sub>50</sub> 平均值为 22 mg/L, 与预测值接近, 可见该模型能较好地预测实际发酵情况。

## 2.5 液相色谱-串联质谱法(LC-MS/MS)对发酵液中 $\alpha$ -糖苷酶抑制剂进行定量分析

如表 8 所示, 相同的培养条件下, 培养基优化后菌株 PW409 发酵液中 DNJ 的含量为 7.84 mg/L, 米格列醇的含量为 0.94 mg/L。跟培养基优化前的产量相比, DNJ 的产量提高了 668 倍左右, 而米格列醇的产量提高了 10 倍左右。

表 7 回归分析结果  
Table 7 Results of regression analysis

项 Item	平方和 Sum of squares	自由度 DF	均方 Mean square	F	P
Model	5971.35	9	663.48	7.45	0.007
A	64.58	1	64.58	0.73	0.422
B	616.01	1	616.01	6.92	0.034
C	28.16	1	28.16	0.32	0.591
AB	0.86	1	0.86	0.01	0.924
AC	7.16	1	7.16	0.08	0.785
BC	3.13	1	3.13	0.04	0.856
A <sup>2</sup>	2775.66	1	2775.66	31.17	0.001
B <sup>2</sup>	587.54	1	587.54	6.59	0.037
C <sup>2</sup>	1396.27	1	1396.27	15.68	0.006
Lack of fit	434.18	3	144.73	3.06	0.154

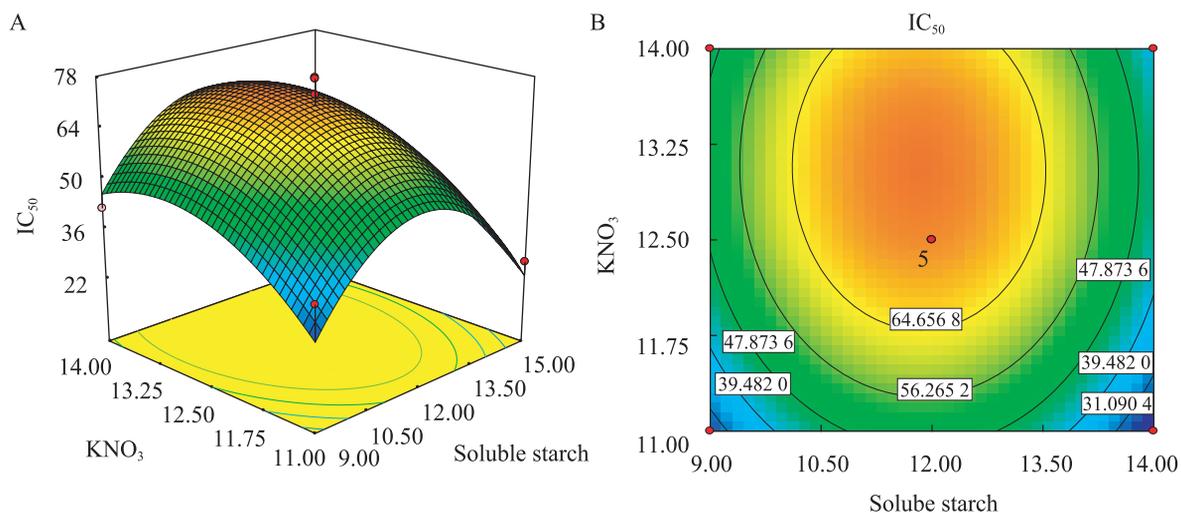


图 1 可溶性淀粉和  $KNO_3$  交互影响的三维曲面图(A)和等高线图(B)

Fig. 1 Surface (A) and contour plots (B) of mutual-influence for soluble starch and  $KNO_3$

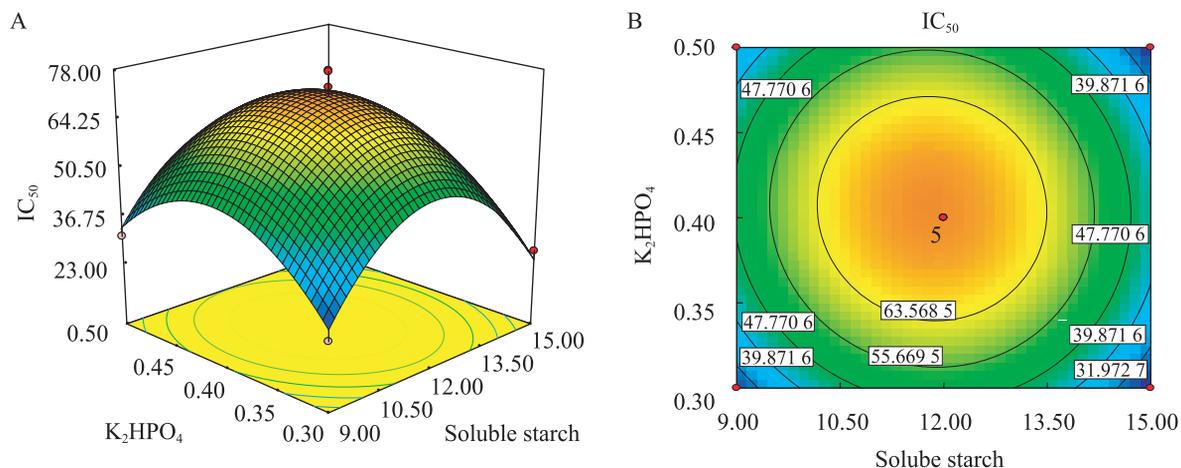


图 2 可溶性淀粉和  $K_2HPO_4$  交互影响的三维曲面图(A)和等高线图(B)

Fig. 2 Surface (A) and contour plots (B) of mutual-influence for soluble starch and  $K_2HPO_4$

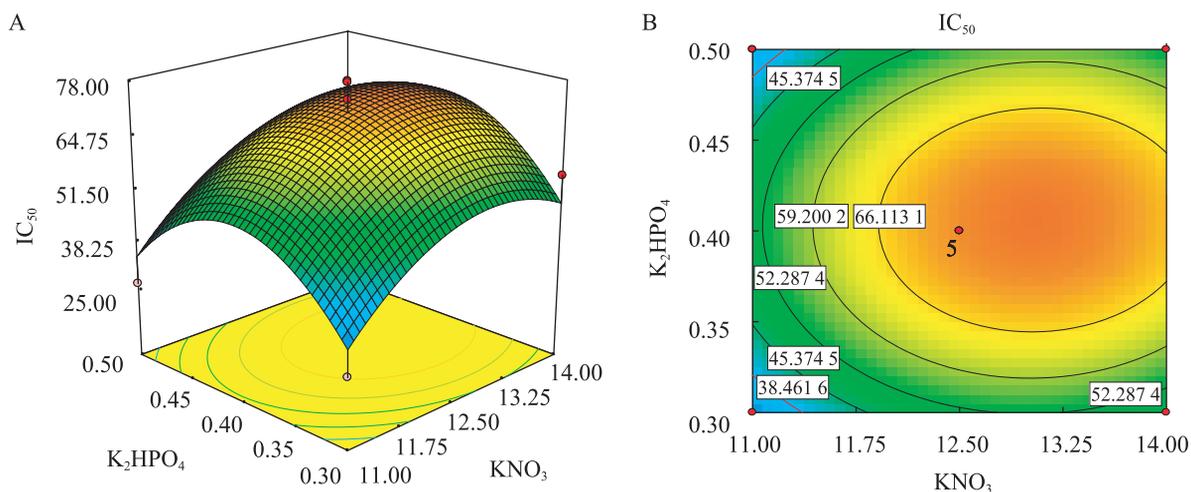


图 3  $KNO_3$  和  $K_2HPO_4$  交互影响的三维曲面图(A)和等高线图(B)

Fig. 3 Surface (A) and contour plots (B) of mutual-influence for  $KNO_3$  and  $K_2HPO_4$

表 8 培养基优化前后发酵液中两种抑制剂含量比较

Table 8 The comparison of inhibitor output before and after the fermentation medium optimization

抑制剂 Inhibitors	抑制剂产量 Output (mg/L)		产量提高 倍数 Times (After/Before)
	培养基优化前 Before optimization	培养基优化后 After optimization	
DNJ	0.011 2	7.481	668
Miglitol	0.095 8	0.935	10

### 3 讨论

链霉菌 PW409 的发酵液对人  $\alpha$ -麦芽糖苷酶有很强的抑制作用<sup>[7]</sup>, 其发酵液中含有多种  $\alpha$ -糖苷酶抑制剂, 包括 1-脱氧野尻霉素(DNJ)和米格列醇。DNJ 是一种吡啶类生物碱, 能通过降低碳水化合物消化和葡萄糖的吸收来降低餐后高血糖, 是所有哺乳动物  $\alpha$ -糖苷酶的有效抑制剂, 因而可用于治疗糖尿病及其并发症<sup>[8]</sup>, 主要来源于植物(如桑)<sup>[11]</sup>。米格列醇(Miglitol)是德国拜耳公司于 1997 年上市的新型抗糖尿病药物, 是 DNJ 的氮取代修饰产物<sup>[9]</sup>。

本文采用 Plackett-Burman 法对初始发酵培养基中的 7 个因素进行了筛选, 结果表明, 可溶性淀粉、 $\text{KNO}_3$  和  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  对  $\alpha$ -糖苷酶抑制剂产量影响较大。在此基础上, 使用最陡爬坡试验及 Box-Behnken 设计进一步优化, 利用 Design-Expert 软件进行二次回归分析, 确定优化后的培养基组成为: 可溶性淀粉 9.01 g/L,  $\text{KNO}_3$  11.0 g/L,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  0.32 g/L,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.50 g/L,  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.01 g/L, pH 7.5。在此优化条件下, 链霉菌 PW409 发酵液对  $\alpha$ -麦芽糖苷酶的半数抑制浓度  $\text{IC}_{50}$  为 22 mg/L, 抑制剂产量较优化前提高了近 10 倍。同时, 通过液相色谱-串联质谱法(LC-MS/MS)对发酵液中  $\alpha$ -糖苷酶抑制剂进行定量分析, 发现优化后发酵液中的 DNJ 含量可达 7.84 mg/L, 较优化前提高了 668 倍, 米格列醇的

含量可达 0.94 mg/L, 较优化前提高了 10 倍。

DNJ 的检测方法主要有柱前衍生化 HPLC 法、GC/MS 法<sup>[12]</sup>和 LC-MS/MS 法<sup>[13]</sup>。目前报道的 DNJ 检测方法多是采用氨基衍生化试剂<sup>[14]</sup>对 DNJ 进行柱前衍生化, 再使用高效液相色谱检测<sup>[15]</sup>。柱前衍生化 HPLC 法虽可用于检测 DNJ, 但无法检测米格列醇。DNJ 和米格列醇为结构类似物, 分子量相近, 因此, 选择一种能够同时检测出这两种化合物的方法并不容易。液相色谱-串联质谱联用法(LC-MS/MS)是现代体内药物分析中最为有效的分析手段<sup>[13]</sup>, 它是一种集液相色谱的高分离度和质谱的高灵敏度于一体的分析方法。本研究中, 采用 LC-MS/MS 法在多反应检测正离子模式下, DNJ 和米格列醇均具有较强的响应, 使用离子转换的方式不但能够对二者定性, 更能够定量。在样品的处理方式中, LC-MS/MS 法不需要衍生, 样品离心过膜后直接进样, 效率更高也更灵敏。

### 参考文献

- [1] Kim YM, Wang MH, Rhee HI. A novel  $\alpha$ -glucosidase inhibitor from pine bark[J]. Carbohydrate Research, 2004, 339(3): 715-717.
- [2] Balfour JA, McTavish D. Acarbose: an update of its pharmacology and therapeutic use in diabetes mellitus[J]. Drugs, 1993, 46(6): 1025-1054.
- [3] 王家驰. 新一代  $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制剂-伏格列波糖(倍欣)[J]. 中国糖尿病杂志, 1999, 7(2): 126-127.
- [4] 钟倩. 米格列醇首次上市用于 II 型糖尿病[J]. 国外医药-合成药、生化药、制剂分册, 1998, 19(6): 369-370.
- [5] 顾觉奋, 陈紫娟.  $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制剂的研究及应用[J]. 药学进展, 2009, 33(2): 62-67.
- [6] Sumitani JI, Tsujimoto Y, Kawaguchi T, et al. Cloning and secretive expression of the gene encoding the proteinaceous  $\alpha$ -amylase inhibitor paim from *Streptococcus*

- tomyces corchorusii*[J]. Journal of Bioscience and Bioengineering, 2000, 90(2): 214-216.
- [7] 孟鹏, 齐西珍, 郑芳, 等.  $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制剂高通量筛选模型的建立及其应用[J]. 微生物学报, 2010, 50(8): 1080-1086.
- [8] Oku T, Yamada M, Nakamura M, et al. Inhibitory effects of extractives from leaves of *Morus alba* on human and rat small intestinal disaccharidase activity[J]. The British Journal of Nutrition, 2006, 95(5): 933-938.
- [9] Scott LJ, Spencer CM. Miglitol: a review of its therapeutic potential in type 2 diabetes mellitus[J]. Drugs, 2000, 59(3): 512-549.
- [10] 岳珂, 陈振明, 开雷, 等. 响应面法优化假丝酵母 *Candida lipolytica* 产脂肪酶发酵条件[J]. 科技通报, 2008, 24(6): 810-814.
- [11] Song W, Wang HJ, Bucheli P, et al. Phytochemical profiles of different mulberry (*Morus* sp.) species from China[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2009, 57(19): 9133-9140.
- [12] Magalhaes AF, Santos CC, Magalhaes EG, et al. Detection of polyhydroxyalkaloids in Lonchocarpus extracts by GC-MS of acetylated derivatives[J]. Phytochemical Analysis, 2002, 13(4): 215-221.
- [13] Nuengharnong N, Ingkanian K, Kaewruang W, et al. Quantitative determination of 1-deoxynojirimycin in mulberry leaves using liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2007, 44(4): 853-858.
- [14] 牟德海. 柱前衍生反相高效液相色谱法测定氨基酸含量[J]. 色谱, 1997, 15(4): 319-321.
- [15] TaPuh Y, Miller N, Karqer BL. Practical considerations in the chiral separation of dns-amino acids by reversed-phase liquid chromatography using metal chelated additives [J]. Journal of Chromatography A, 1981, 205(2): 325-337.

## 编辑部公告

### 关于《微生物学通报》专题刊申请的通知

当前,随着生物技术的飞速发展,微生物学涵盖的领域越来越广,交叉学科的研究也越来越受到关注。除了已有的微生物学、病毒学、基因工程、细胞工程、酶工程、发酵工程之外,基因组学、代谢工程、纳米科学、生物炼制、生物质能等也逐步成为微生物学研究的热门领域。为了更加系统、集中地反映各个领域的研究成果,以及该领域学科的热点难点问题,充分发挥《微生物学通报》的学科引领和导向作用,促进学科发展,为某个领域的科研人员提供一个交流的平台,《微生物学通报》编委会决定自2008年起,每年出版一定数量的专题刊。专题刊将系统地反映微生物学相关领域或新学科生长点的最新进展,及时介绍国内外微生物相关前沿领域的突破性成果,以及面向国家和社会需要并具有重大应用前景的研究成果。真诚欢迎本领域各学科的学术带头人,申请并组织专题刊。申请得到编委会批准后,申请人将被邀请担任本专题刊的特邀编辑,负责组织稿件、确定审稿专家,并撰写专题刊序言。

根据专刊工作计划,现将有关事项通知如下:

1. 专刊申请的有关规定附在通知的下面,请申请者仔细阅读;
2. 提交形式: 请到我刊主页(<http://journals.im.ac.cn/wswxtbcn>)的“下载专区”下载专题刊申请表;填写好之后,以 E-mail 附件的形式发送到编辑部信箱: [tongbao@im.ac.cn](mailto:tongbao@im.ac.cn), 请在邮件主题中注明:“专题刊申请”字样;
3. 申请者如有疑问,请咨询编辑部,联系方式: Tel: 010-64807511; E-mail: [tongbao@im.ac.cn](mailto:tongbao@im.ac.cn)