

# 海藻酸钙微囊对乳酸乳球菌在胃肠道环境 中的保护作用

尹尉翰<sup>1</sup> 雷涵<sup>1</sup> 徐宇虹<sup>2\*</sup>

(1. 上海交通大学 生命科学技术学院 上海 200240)

(2. 上海交通大学 药学院 上海 200240)

**摘要:** 乳酸菌是机体内一类重要的益生菌, 因其益生功能和安全性, 在食品行业和医疗保健领域有着广泛的应用, 此外将乳酸菌作为口服疫苗载体或药物传递载体也是目前的研究热点之一。乳酸菌到达肠道的活菌数是影响其功能有效性的一个重要因素, 需考虑为其提供一定的防护来抵御胃酸等恶劣环境。通过化学法制备能稳定表达 Gfp 的乳酸乳球菌海藻酸钙微囊, 以 Gfp 作为活菌标记, 检测了海藻酸钙微囊对乳酸乳球菌的保护作用。体外实验结果显示, 酸处理 30、60、90、120 min 后, 海藻酸钙微囊包裹使乳酸乳球菌的存活率分别提高了 1 370、525、235 和 105 倍。动物体内实验也表明, 在灌胃 2 h 后, 海藻酸钙微囊包裹使乳酸乳球菌在肠道内的活菌数增加 90 多倍。上述结果说明海藻酸钙微囊对乳酸乳球菌在胃肠道环境中具有明显的保护作用, 为今后乳酸乳球菌口服制剂的研究及开发提供重要的参考依据。

**关键词:** 乳酸乳球菌, NICE 系统, 绿色荧光蛋白, 海藻酸钙微囊, 存活率

## Microcapsulation of *Lactococcus lactis* with calcium alginate can improve its survival capability in gastrointestinal tract

YIN Wei-Han<sup>1</sup> LEI Han<sup>1</sup> XU Yu-Hong<sup>2\*</sup>

(1. School of Life Sciences and Technology, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200240, China)

(2. School of Pharmacy, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200240, China)

**Abstract:** Lactic acid bacteria is an important probiotics in body. Because of its function and safety benefits, it has been widely used in the food industry and health care. In addition, Lactic acid bacteria, as an oral vaccine carrier and drug delivery carrier, has become a hotspot of research. However, the survival capability of Lactic acid bacteria is limited by the harsh environment of gastrointestinal tract. In this article, we used chemical method to prepare calcium alginate microcapsules of *Lactococcus lactis*, which can express Gfp stably. Then we used Gfp as a viable marker to test the protective effect of calcium

alginate microcapsules on *Lactococcus lactis*. *In vitro* experiments, it is showed that after acid treatment 30 min, 60 min, 90 min, 120 min, the survival rates of calcium alginate microencapsulated *Lactococcus lactis* were increased by 1 370, 525, 235 and 105 times, respectively. *In vivo* experiments, after 2 h stomach gavage, the number of alive *Lactococcus lactis* in calcium alginate microencapsules was increased by about 90 times in the intestine. The results suggested that microcapsulation of *Lactococcus lactis* with calcium alginate had significant protective effect on *Lactococcus lactis* in the gastrointestinal tract environment and provided an important frame for *Lactococcus lactis* in the future research of oral agents.

**Keywords:** *Lactococcus lactis*, NICE system, Gfp, Calcium alginate microcapsules, Viability

乳酸菌是人和动物肠道中的重要益生菌,具有促进机体营养物质吸收、提高机体免疫力等多种功能。一些乳酸菌属还能代谢产生有机酸、双乙酰、过氧化氢、细菌素等物质,而这些物质能够抑制病原菌和腐败菌的生长。鉴于乳酸菌的口服安全性以及多种益生功能,许多研究以乳酸菌作为宿主菌来表达抗原或外源蛋白,使其成为疫苗载体刺激粘膜免疫应答<sup>[1-4]</sup>或成为功能性或治疗性蛋白的传递载体<sup>[5-7]</sup>。无论是作为益生菌或是口服疫苗载体,都需要乳酸菌在胃肠道环境中达到一定数量的活菌数才能起到有效作用,因此胃肠道中的活菌数是衡量乳酸菌功能有效性的一种重要标准<sup>[8-10]</sup>。然而人或动物的消化道环境,特别是胃的酸性环境会对乳酸菌的存活率造成极大的影响,使到达胃肠道环境中的乳酸菌活菌数随时间成数量级减少,从而极大地降低其功能有效性。因此,如何为乳酸菌提供一定的防护来抵御恶劣的外界环境成为一个研究热点。

微生物微囊固定是近年来备受关注的一种新技术、新工艺。微囊固定可以帮助微生物抵御在生产加工、储存以及胃肠道消化中所受到的损害,从而提高其的存活率<sup>[11-13]</sup>。海藻酸盐是目前最常用的微囊化微生物的囊材之一,是一类无毒、温和性的生物材料,可包裹如细菌类的生物活性物质,并使其在微囊内部保持存活。其中,海藻酸钙在酸性环境中能保持稳定,但在含磷酸盐、柠檬酸盐等离子拮抗剂时,钙离子会发生逃逸,导致微囊的崩解,因而是一种良好的肠溶性材料<sup>[14-15]</sup>,可用于包裹乳酸菌微囊的囊材,在酸性环境中为乳酸菌提供保护作用。

由于消化道环境中具有多种菌群,因此微生物

在口服进入体内后,很难对其在体内的状况进行跟踪观察。而近年来对乳酸菌生物学性质和分子机制的研究为乳酸菌基因工程的发展提供了有效的研究工具,并开发了多种较为成熟的表达系统<sup>[16-17]</sup>。鉴于此,我们可以在目标乳酸菌体内表达相应的报告基因(如 *GFP*、*LUCIFER* 基因等)来对其进行标记,然后跟踪研究其在体内的状况。本研究以乳酸乳球菌为研究对象,乳酸乳球菌 NICE 表达系统为基础,将 *GFP* 基因克隆至相应表达载体上,再将该表达载体电转化乳酸乳球菌体,使其体内表达 *GFP* 报告基因。以表达的绿色荧光蛋白(Gfp)作为活菌标记检测乳酸乳球菌经口服后到达肠道的存活率,测定了海藻酸钙微囊包裹对于乳酸乳球菌在体外酸性环境以及体内胃肠道环境中存活率的影响。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验动物

健康成年雌性昆明白小鼠,上海斯莱克实验动物有限责任公司提供。

### 1.2 菌种及质粒

*Lactococcus lactis* NZ9700 及质粒 pNZ8150 购买自 NIZO food research B.V. *GFP* 基因表达质粒 pNZ8150-GFP 由本实验室构建。乳酸乳球菌于 M17 培养基(氯霉素 5 mg/L)中 30 °C 静置培养。含 *GFP* 基因的质粒 gWIZ-GFP 购买自 Genlantics。

### 1.3 Gfp 标记的乳酸乳球菌的鉴定

Gfp 表达菌株(NZ9700:pNZ8150-gfp)接种 M17 液体培养基中,30 °C 培养一定时间后,取一定量的菌液离心,收集菌体。菌体用生理盐水洗涤一次后再以原体积生理盐水重悬,于荧光显微镜下观察或

用荧光分光光度计测量 480/510(EX/EM)的荧光值,并以未转化质粒的空白菌株作为空白对照。

#### 1.4 乳酸乳球菌海藻酸钙微囊的制备

用 3%海藻酸钠(Sodium alginate)溶液悬浮培养 9 h 的乳酸乳球菌,使菌体浓度为  $1 \times 10^{10}$  CFU/mL。上述混合液以 1:5 的比例滴加至大豆油(含 0.2% Tween-80)中,并用磁力搅拌器以 550 r/min 的速度搅拌 10 min,制成 W/O 乳剂。然后将 4 倍乳剂体积的 0.05 mol/L  $\text{CaCl}_2$  溶液快速轻巧地沿烧杯壁加至乳剂中,使其破乳。550 r/min 继续搅拌 10 min 后,  $350 \times g$  离心 10 min,收集海藻酸钙(Calcium alginate)微囊。最后用无菌水洗涤 2-3 次,以彻底除去大豆油。

#### 1.5 体外耐酸实验

将制备好的微囊样品加至 HCl 溶液(pH 2.0)中,  $37^\circ\text{C}$  放置,分别于 0、30、60、90 和 120 min 取样。样品 8 000 r/min 离心 5 min,去上清,再用无菌水洗涤沉淀一次,然后用 PBS (pH 6.8)重悬,  $37^\circ\text{C}$  放置 10 min,使海藻酸钙微囊崩解,释放出乳酸乳球菌。上述混悬液按一定滴度稀释后涂板,  $30^\circ\text{C}$  恒温培养 1-2 d,然后采用平板菌落计数。以未经微囊

包裹的 *Lactococcus lactis* 作为阴性对照,比较经不同时间酸处理后两者间存活率的差异。

#### 1.6 动物实验

制备表达 Gfp 的乳酸乳球菌的海藻酸钙微囊。取 100  $\mu\text{L}$  样品(菌体浓度为  $1 \times 10^9$  CFU/mL)对小鼠进行灌胃,并分别于灌胃 2 h 和 4 h 后取小鼠的小肠内容物,利用荧光分光光度计进行 Gfp 荧光信号测量。以未灌胃的小鼠组作为空白对照组,灌胃未经微囊包裹的乳酸乳球菌的小鼠组作为阴性对照组。

## 2 结果

### 2.1 Gfp 标记的乳酸乳球菌的鉴定及其稳定性检测

将成功转化了 pNZ8150-gfp 质粒的乳酸乳球菌于 M17 培养液中培养 9 h 后,对其进行 Gfp 表达的鉴定,并以未转化 pNZ8150-gfp 质粒的空白菌株为空白对照。荧光显微镜下观察可见,所筛选出的阳性克隆发出强烈的绿色荧光,而空白对照组菌株不发荧光(图 1)。利用荧光分光光度计测量同浓度 ( $3 \times 10^9$  CFU/mL)的标记菌株及对照样品的荧光值,结果显示, Gfp 标记的乳酸乳球菌的荧光值

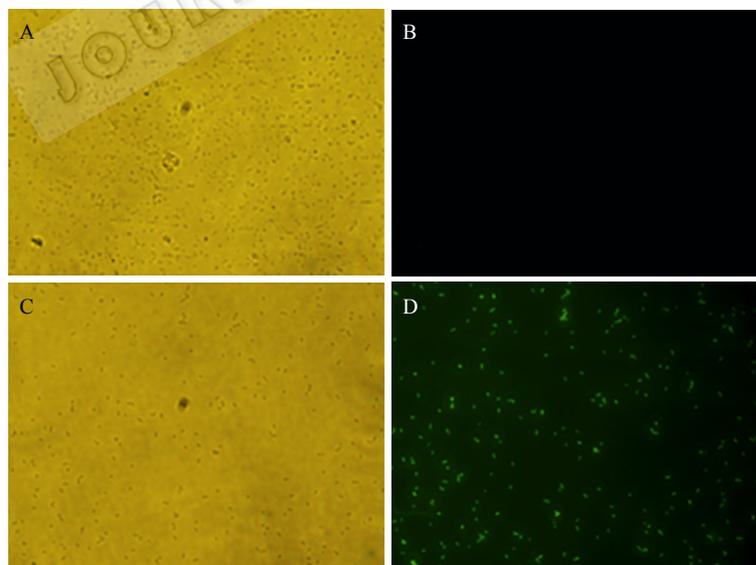


图 1 A 荧光显微镜观察组成型表达系统中 Gfp 的表达

Fig. 1 A Gfp expression by constitutive expression system

注: A、C: NZ9700: pNZ8150-GFP 的可见光图; B、D: NZ9700: pNZ8150-GFP 的荧光图。

Note: A: NZ9700 (Visible light); B: NZ9700 (Green fluorescence); C: NZ9700: pNZ8150-GFP (Visible light); D: NZ9700: pNZ8150-GFP (Green fluorescence).

为  $6\ 806.0 \pm 23.3$ , 而未转入质粒的空白菌株的荧光值仅为  $403.2 \pm 17.6$ 。上述的结果表明, Gfp 已在乳酸乳球菌体内大量表达, 乳酸乳球菌的 Gfp 标记有效。此外, 我们对 Gfp 在乳酸乳球菌体内表达的稳定性进行了测定, 结果表明, 在无抗生素压力选择情况下, 成功转化 pNZ8150-gfp 质粒的乳酸乳球菌连续传代培养 10 代, Gfp 表达菌株所测得的荧光值基本维持在同等水平, 即 Gfp 已在乳酸乳球菌中获得稳定表达(图 2)。

## 2.2 制备乳酸乳球菌海藻酸钙微囊

将稳定表达 Gfp 的乳酸乳球菌制备成海藻酸钙微囊, 并利用粒径粒形分析仪测定微囊的粒径。结果如图 3 所示, 所制备的乳酸乳球菌海藻酸钙微囊的粒径在  $3\ \mu\text{m}$ – $80\ \mu\text{m}$  范围内。其中, 约

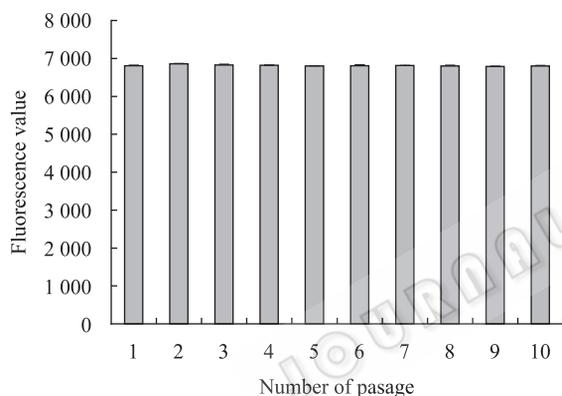


图2 Gfp 组成型表达系统(NZ9700:pNZ8150-gfp)的表达稳定性

Fig. 2 Stability of Gfp expression by NZ9700:pNZ8150-gfp

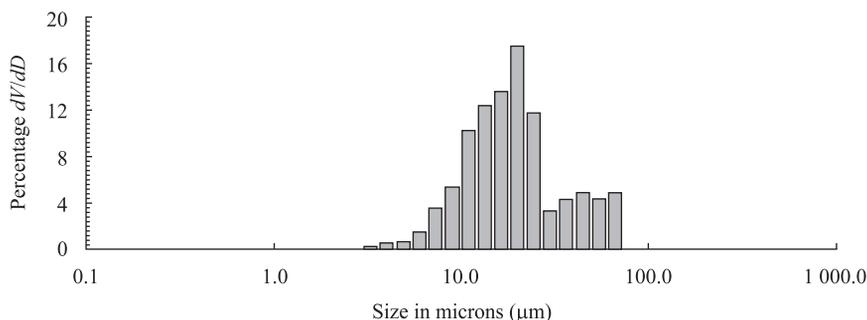


图3 海藻酸钙微囊粒径分布图

Fig. 3 Particle size distribution of calcium alginate microcapsules

65.6%的微囊直径集中在  $10\ \mu\text{m}$ – $30\ \mu\text{m}$  范围内,  $10\ \mu\text{m}$  以下的约占 16%,  $30\ \mu\text{m}$  以上的约占 18.4%。数据统计分析结果表明, 微囊样品的平均粒径为  $22.91\ \mu\text{m} \pm 15.15\ \mu\text{m}$ 。

## 2.3 海藻酸钙微囊可提高乳酸乳球菌在体外酸性环境下的存活率

将制备好的乳酸乳球菌海藻酸钙微囊以及裸露的乳酸乳球菌进行体外耐酸实验。两组样品的初始活菌浓度均为  $9.300\ \text{Log CFU/mL}$ , 分别置于 pH 2.0 的酸性溶液中, 30、60、90 和 120 min 后测其存活率。如图 4 所示, 暴露于酸性环境下 30、60、90、120 min 后, 裸露的乳酸乳球菌活菌数分别为  $4.771 \pm 0.048\ \text{Log CFU/mL}$ 、 $3.472 \pm 0.023\ \text{Log CFU/mL}$ 、 $3.140 \pm 0.030\ \text{Log CFU/mL}$  和  $2.994 \pm 0.033\ \text{Log CFU/mL}$ , 存活率大幅度下降。而经海藻酸钙微囊包裹的乳酸乳球菌的活菌数分别为  $7.908 \pm 0.012\ \text{Log CFU/mL}$ 、 $6.192 \pm 0.015\ \text{Log CFU/mL}$ 、 $5.551 \pm 0.010\ \text{Log CFU/mL}$  和  $5.017 \pm 0.022\ \text{Log CFU/mL}$ , 相比对照, 其存活率分别提高了 1 370、524、234 和 105 倍, 表明在体外酸性环境下, 实验所制备的海藻酸钙微囊对乳酸乳球菌有明显的保护作用。

## 2.4 海藻酸钙微囊可提高乳酸乳球菌在体内胃肠道环境中的存活率

将乳酸乳球菌海藻酸钙微囊及裸露的乳酸乳球菌分别灌胃至小鼠体内, 另设一组仅灌同体积无菌水的小鼠作为空白对照组。利用荧光分光光度计测量小鼠肠道内容物的荧光值。结果显示, 在灌胃 2 h

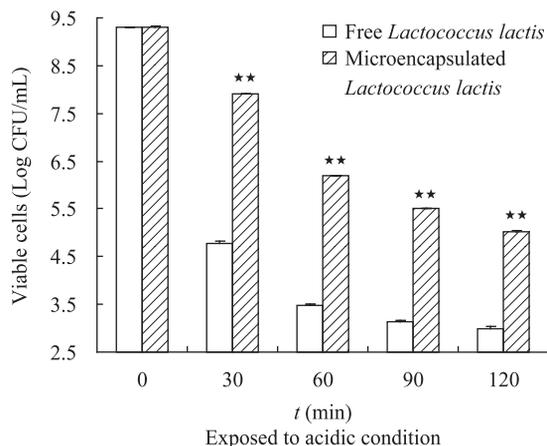


图4 酸处理后活菌数比较图

Fig. 4 Compare viability of free and microencapsulated *Lactococcus lactis* after exposed to acidic conditions (pH 2.0)Note:  $n=3$ ; \*\* $: P<0.01$ .

后, 各组小鼠胃肠道中 Gfp 的荧光强度为: 乳酸乳球菌海藻酸钙微囊组>裸露的乳酸乳球菌组>空白对照组, 表明海藻酸钙微囊包裹对乳酸乳球菌在胃肠道环境下有显著保护作用。而在灌胃 4 h 后, 3 组测量得到的荧光信号强度之间差异缩小(图 5)。根据体外测定的 Gfp 重组乳酸乳球菌的活菌数( $y$ )与其荧光值( $x$ )的标准曲线方程:  $y=441\ 424x-5\times 10^6$  ( $R^2=0.999\ 3$ ), 从而计算小鼠小肠内残存的活菌数(表 1)。灌胃 2 h 后, 裸露的乳酸乳球菌组小鼠的小肠内残存的活菌数为 6.537 Log CFU, 而乳酸乳球菌海藻酸钙微囊组为 8.510 Log CFU, 约为前者的 93.8 倍。4 h 后, 裸露的乳酸乳球菌灌胃小鼠组下降为 5.773 Log CFU, 而乳酸乳球菌海藻酸钙微囊组下降至 6.756 Log CFU, 后者活菌数量约为前者的 9.61 倍。上述实验结果表明了海藻酸钙微囊对提高乳酸乳球菌在胃肠道中的存活率有一定作用, 但随时间的推移, 这一保护作用也逐渐减弱。

表 1 灌胃后小鼠小肠内残存活菌数(Log CFU)  
Table 1 Viability of *Lactococcus lactis* in small intestine after feeding (Log CFU)

样品组	0 h	2 h	4 h
Free <i>Lactococcus lactis</i>	9.005	6.537	5.773
Microencapsulated <i>Lactococcus lactis</i>	9.004	8.510	6.756

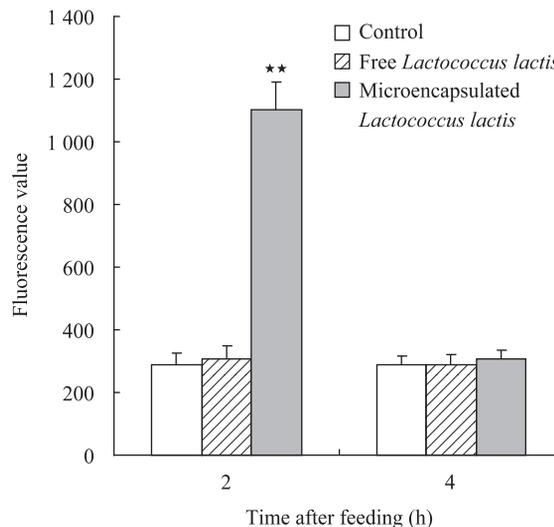


图5 灌胃后小鼠小肠内物质的荧光值

Fig. 5 Fluorescence value of materials in small intestine after feeding

Note:  $n=5$ ; \*\* $: P<0.01$ .

### 3 讨论

海藻酸钙是一种无毒的生物性材料, 以其为囊材制备的海藻酸钙微囊可以使微生物在微囊内部生存, 同时减少外界环境对微生物存活的影响。Sheu 等研究表明, 海藻酸钙微囊包裹的细菌在冷冻条件下的存活率有所增加<sup>[18]</sup>。Ding W. K. 等人的研究也表明, 海藻酸钙微囊包裹对多种乳酸菌在酸性、胆盐、加热环境下起到一定的保护作用<sup>[19]</sup>。上述研究表明, 在体外某单一恶劣环境因素影响下, 海藻酸钙微囊能起到一定的防护作用, 降低外界环境对微囊内部微生物的损害。本文研究结果同样表明了海藻酸钙微囊对乳酸乳球菌在体外酸性环境下具有极大的保护作用, 在酸处理 0.5 h 和 2.0 h 后, 可分别使乳酸乳球菌的活菌数上升 3 个和 2 个数量级。除此之外, 本文还研究了海藻酸钙微囊在胃肠道这个复杂环境中对乳酸乳球菌的防护作用, 结果显示, 在灌胃 2 h 后, 海藻酸钙微囊包裹可使乳酸乳球菌存活率提高 90 倍左右。这一结果不仅证明, 在体内胃肠道环境中, 海藻酸钙微囊同样对乳酸乳球菌具有显著的保护作用, 同时也为将海藻酸钙微囊应用于乳酸菌产品生产或以乳酸菌为载体的口服疫苗的开发提供了重要的参考依据。

为研究海藻酸钙微囊对乳酸乳球菌在体内的保护作用,本文利用乳酸乳球菌的 NICE 表达系统构建了稳定表达 Gfp 的重组乳酸乳球菌,并以表达的 Gfp 作为活菌标记研究乳酸乳球菌在胃肠道中的存活情况。NICE 表达系统是已开发的较为成熟的乳酸乳球菌表达系统之一,因其安全性,易操作,以及可严格控制性而被广泛应用。这一以 NICE 系统为基础构建的标记基因的稳定表达系统,为跟踪观察乳酸乳球菌进入体内后的活动状况,以及研究其作为口服疫苗载体刺激粘膜免疫应答的机制,提供了一个较好的研究模型。对该模型在体内的标记蛋白表达量及停留时间等的研究,还可以为确定给药或免疫条件提供一定的参考依据。此外, NICE 系统还包含了其它一些质粒和宿主菌,其中 pNZ8149 质粒与宿主菌 NZ3900 或 NZ3000 联用,可构建不以抗生素为选择标记的食物级蛋白表达系统,更适于乳酸乳球菌口服产品的研究及开发<sup>[17]</sup>。

除到达体内的活菌数外,乳酸菌在肠道内的定殖时间也是影响其功能有效性的一个因素。而海藻酸钙是一种良好的肠溶性材料,在肠道环境中会迅速崩解释放出内部的微生物,因此无法起到缓释的作用来增强乳酸菌在肠道内的定殖时间,因此在后续研究中,可考虑在其表面再包裹一层具较强生物粘附性的物质,如壳聚糖等,从而达到缓释的效果。此外,当应用于工业上时,在运输、贮存过程中很有可能会接触到磷酸盐、柠檬酸盐等离子,而导致海藻酸钙微囊的崩解,破坏微囊结构,若外包一层较稳定物质,更有利于维持微囊在运输、贮存过程中的稳定。

综上,本研究的结果表明了海藻酸钙微囊包裹对乳酸乳球菌在酸性环境以及胃肠道环境有明显的保护作用。这一研究结果表明,在利用乳酸乳球菌作为疫苗载体或治疗性蛋白的传递载体而进行胃肠道给药时,可通过制备其海藻酸钙微囊以提高微生物载体到达肠道的存活率,从而增加到达肠道的抗原或治疗性蛋白的量,为增强给药有效性提供一定帮助。同时,还可以将这一物理防护措施应用于其它乳酸菌属,使各种乳酸菌制剂在口服经过胃酸环

境时得到有效的保护。

## 参 考 文 献

- [1] Norton PM, Le Page RWF, Wells JM. Progress in the development of *Lactococcus lactis* as a recombinant mucosal vaccine delivery system[J]. Folia Microbiol (Praha), 1995, 40(3): 225-230.
- [2] O'Sullivan DJ, Walker SA, West SG, et al. Development of an expression strategy using a lytic phage to trigger explosive plasmid amplification and gene expression[J]. Biotechnology (NY), 1996, 14(1): 82-87.
- [3] Ribeiro LA, Azevedo V, Le Loir Y, et al. Production and targeting of the *Brucella abortus* antigen L7/L12 in *Lactococcus lactis*: a first step towards food-grade live vaccines against brucellosis[J]. Appl Environ Microbiol, 2002, 68(2): 910-916.
- [4] Gilbert C, Robinson K, Le Page RWF, et al. Heterologous expression of an immunogenic pneumococcal type 3 capsular polysaccharide in *Lactococcus lactis*[J]. Infect Immun, 2000, 68(6): 3251-3260.
- [5] Steidler L, Robinson K, Chamberlain L, et al. Mucosal delivery of murine interleukin-2 (IL-2) and IL-6 by recombinant strains of *Lactococcus lactis* coexpressing antigen and cytokine[J]. Infect Immun, 1998, 66(7): 3183-3189.
- [6] Schotte L, Steidler L, Vandekerckhove J, et al. Secretion of biologically active murine interleukin-10 by *Lactococcus lactis*[J]. Enzyme Microb Technol, 2000, 27(10): 761-765.
- [7] Bermúdez-Humarán LG, Langella P, Cortes-Perez NG, et al. Intranasal immunization with recombinant *Lactococcus lactis* secreting murine interleukin-12 enhances antigen-specific Th1 cytokine production[J]. Infect Immun, 2003, 71(4): 1887-1896.
- [8] Dave RI, Shah NR. Effect of level of starter culture on viability of yoghurt and probiotic bacteria in yoghurts[J]. Food Australia, 1997, 49: 164-168.
- [9] Kebary KMK. Viability of *Bifidobacterium bifidum* and its effect on quality of frozen Zabady[J]. Food Research International, 1996, 29(5/6): 431-437.
- [10] Lee YK, Salminen S. The coming of age of probiotics[J]. Trends in Food Science and Technology, 1996, 6(7): 241-245.
- [11] Cui JH, Goh JS, Kim PH, et al. Survival and stability of bifidobacteria loaded in alginate poly-L-lysine microparticles[J]. International Journal of Pharmaceutics, 2000, 210(1/2): 51-59.
- [12] Lee KY, Heo TR. Survival of *Bifidobacterium longum*

- immobilized in calcium alginate beads in simulated gastric juices and bile salt solution[J]. *Appl Environ Microbiol*, 2000, 66(2): 869-873.
- [13] Sultana K, Godward G, Reynolds N, et al. Encapsulation of probiotic bacteria with alginate-starch and evaluation of survival in simulated gastrointestinal conditions and in yoghurt[J]. *Int J Food Microbiol*, 2000, 62(1/2): 47-55.
- [14] Sheu TY, Marshall RT. Microentrapment of lactobacilli in calcium alginate gels[J]. *Journal of Food Science*, 1993, 58(3): 557-561.
- [15] Shah NP, Ravula RR. Microencapsulation of probiotic bacteria and their survival in frozen fermented dairy desserts[J]. *Australian Journal of Dairy Technology*, 2000, 55(3): 139-144.
- [16] de Vos WM, Vaughan EE. Genetics of lactose utilization in lactic acid bacteria[J]. *FEMS Microbiol Rev*, 1994, 15(2/3): 217-237.
- [17] Mierau I, Kleerebezem M. 10 years of the nisin-controlled gene expression system (NICE) in *Lactococcus lactis*[J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2005, 68(6): 705-717.
- [18] Sheu TY, Marshall RT, Heymann H. Improving survival of culture bacteria in frozen desserts by microentrapment[J]. *Journal of Dairy Science*, 1993, 76(7): 1902-1907.
- [19] Ding WK, Shah NP. Acid, bile, and heat tolerance of free and microencapsulated probiotic bacteria[J]. *Journal of Food Science*, 2007, 72(9): M446-M450.

### 2011年中国微生物学会及各专业委员会学术活动计划表

序号	会议名称	主办单位	时间	人数	地点	联系人
1	传染病防控研讨会暨伍连德举办“万国鼠疫研究会”100周年纪念大会	中国微生物学会分析微生物学专业委员会	4月 2-3日	200	黑龙江 哈尔滨	杨瑞馥 ruifuyang@gmail.com
2	International Symposium on <i>Salmonella</i> and Other Enteric Bacteria: Genomics and Biology	中国微生物学会分析微生物学专业委员会	5月 8-11日	200	黑龙江 哈尔滨	刘树林 slliu@ucalgary.ca
3	Inaugural conference of Bergey's International Society for Microbial Systematics	中国微生物学会	5月 19-23日	300	北京	刘梅 010-62538564
4	农业污染物的微生物转化与修复学术研讨会	中国微生物学会农业微生物学专业委员会	5-6月	80	湖北 武汉	黄巧云 qyhuang@mail.hzau.edu.cn
5	第十二届微生物学教学和科研及成果产业化研讨会	中国微生物学会基础、农业微生物学专业委员会	7月 12-15日	150	广西 南宁	冯家勋 0771-323270736
6	全国第三届海洋微生物研讨会	中国微生物学会海洋微生物学专业委员会	8月	100	山东 济南	张玉忠 13969185852
7	第十届中国全国生物毒素学术研讨会	中国微生物学会微生物毒素专业委员会	8月 17-19日	200	吉林 长春	王景林 010-66948531
8	生物制品质量控制国际研讨会	中国微生物学会生物制品专业委员会	9月	200	四川 成都	徐苗 010-67095438
9	第二届中国临床微生物学大会暨微生物学与免疫学论坛	中国微生物学会临床微生物学专业委员会	9月	400	四川 成都	刘辉 0852-8608272
10	第九届全国病毒学学术研讨会	中国微生物学会病毒学专业委员会	9月	150	陕西 西安	梁华 010-58900644
11	第三届微生物资源学术研讨会	中国微生物学会微生物资源专业委员会	9月	150	甘肃 兰州	阮志勇 13301101231
12	病原菌与宿主相互作用研讨会	中国微生物学会分析微生物学专业委员会	9-10月	100	湖北 武汉	陈铁 tiechen2005@yahoo.com
13	第十九届全国生物固氮学术研讨会	中国微生物学会农业微生物学专业委员会	9-10月	100	四川 雅安	张忠明 zmzhang@mail.hzau.edu.cn
14	2011年中国微生物学会学术年会暨第十次全国会员代表大会	中国微生物学会	10月	500	福建 福州	王旭 010-64807200
15	第十四次全国环境微生物学学术研讨会	中国微生物学会环境微生物学专业委员会	11月	500	福建 厦门	朱建春 microb@njau.edu.cn
16	CBS-中国医学真菌学高级培训班	中国微生物学会真菌学专业委员会	11月	80	江苏 南京	刘维达 13605178767
17	全国酶工程学术研讨会	中国微生物学会酶工程专业委员会	11月	150	广东 广州	金城 010-64807425
18	第五届芽胞杆菌青年工作者学术研讨会	中国微生物学会农业微生物学专业委员会	12月	50	湖北 武汉	孙明 027-87283455