

氧化葡萄糖酸杆菌 WSH-003 中 D-山梨醇脱氢酶关键基因的表达分析

胡于东^{1,2}, 堵国成^{1,2}, 陈坚^{1,2}, 周景文^{*1,2}

(1. 江南大学 工业生物技术教育部重点实验室, 江苏 无锡 214122; 2. 江南大学 生物工程学院, 江苏 无锡 214122)

摘要: *G. oxydans* WSH-003 能够高效地将 D-山梨醇氧化为 L-山梨糖, 是工业 VC 生产的重要菌株。全基因组测序显示, 该菌中存在 3 种不同的 D-山梨醇脱氢酶基因簇(*sldh*), 但这 3 种基因簇在菌株氧化 D-山梨醇过程中的表达情况还未确定。WYLY HX, 首先利用 BLAST(Basic Local Alignment Search Tool) 软件在线比对, 确定了 3 种酶, 分别为一种 FAD (flavin adenine dinucleotide) 辅酶依赖的山梨醇脱氢酶 (FAD-SLDH) 和两种不同的 PQQ (pyrroloquinoline quinone) 依赖的山梨醇脱氢酶(PQQ-SLDH)。然后, 利用新一代高通量转录组测序技术, 对发酵过程 5 个时期(4、8、12、20 h 和 40 h)的菌体分别进行转录组测序(RNA-Seq)。结果表明, 基因座位为 O1G_RS0104395/O1G_RS0104400 的 *sldAB2* 基因在 5 个时期的转录水平 FPKM(Fragments Per Kilobase of exon model per Million mapped reads)值均很低, 而基因座位为 O1G_RS0105425/O1G_RS0105430 的 *sldAB1* 和基因座位为 O1G_RS0106820/O1G_RS0106825 /O1G_RS0106830 的 *sldSLC* 基因的 FPKM 值较高, 且都随着 D-山梨醇的快速氧化而逐渐增大。研究结果表明, *sldAB1* 和 *sldSLC* 基因为氧化葡萄糖酸杆菌 WSH-003 中主要表达的 D-山梨醇脱氢酶基因。本研究成果为菌株中 D-山梨醇脱氢酶的后续研发提供了方向。

关键词: 转录组测序; 维生素 C; L-山梨糖; *sldh* 基因簇

中图分类号: Q 78 文献标志码: A 文章编号: 1673—1689(2016)06—0623—06

Analysis of D-Sorbitol Dehydrogenase Gene in *Gluconobacter oxydans* WSH-003

HU Yudong^{1,2}, DU Guocheng^{1,2}, CHEN Jian^{1,2}, ZHOU Jingwen^{1,2}

(1. Key Laboratory of Industrial Biotechnology, Ministry of Education, Jiangnan University, Wuxi 214122, China;

2. School of Biotechnology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

Abstract: *Gluconobacter oxydans* WSH-003 is an L-sorbose production strain, mainly used of industrial production of Vitamin C. It can effectively oxidize D-sorbitol into L-sorbose with a high yield. The whole genome sequence of *G. oxydans* WSH-003 reveals that there are three different gene clusters for D-sorbitol dehydrogenase, whereas the gene expression of these three gene clusters in this strain has not been studied. In this study, two D-sorbitol dehydrogenases were proved to be

收稿日期: 2014-12-31

基金项目: 国家 863 计划项目(2012AA022103)。

* 通信作者: 周景文(1982—), 男, 安徽庐江人, 工学博士, 教授, 主要从事合成生物学研究。E-mail: zhoujw1982@jiangnan.edu.cn

PQQ dependent D-sorbitol dehydrogenase (PQQ-SLDH) and one was FAD dependent D-sorbitol dehydrogenase (FAD-SLDH) by using the BLAST software in NCBI. The transcription analysis of strain cells from 4 h, 8 h, 12 h, 20 h and 40 h in fermentation cultivation were further studied using the high through-out RNA-Seq technology. The result showed that *sldhAB2* on gene locus O1G_RS0104395/O1G_RS0104400 had a very low transcript level (FPKM, Fragments Per Kilobase of exon model per Million mapped reads) in all 5 time points, compared with the high FPKM of *sldhAB1* on gene locus O1G_RS0105425/O1G_RS0105430 and *sldSLC* on gene locus O1G_RS0106820/O1G_RS0106825 /O1G_RS0106830. Here, we illustrated that the gene cluster *sldSLC* and *sldAB1* played an important role in the oxidization of D-sorbitol to L-sorbose, which may contribute to the further study of D-sorbitol dehydrogenase genes in the strain.

Keywords: RNA-Seq, vitamin C, L-sorbose, D-sorbitol dehydrogenase gene

氧化葡萄糖酸杆菌 (*Gluconobacter oxydans*) 是一种严格需氧的革兰氏阴性菌, 属于醋酸杆菌科, 该类细菌主要栖息于高糖环境, 如花卉与水果中^[1]。*G. oxydans* 的细胞膜上含有大量的脱氢酶, 可以快速不完全地氧化糖、糖酸和糖醇^[2]。因此, *G. oxydans* 被广泛用于工业生产食品相关的产品, 如 2,5-二酮基葡萄糖酸、二羟基丙酮和 L-山梨糖等^[3-4]。

L-山梨糖作为一种重要的化学原料, 通常由 D-山梨醇氧化脱氢获得, 主要被用来作为生产 VC 的原料^[5-6]。研究发现, 山梨醇脱氢酶基因 (*sldh*) 是 *G. oxydans* 中氧化 D-山梨醇生产 L-山梨糖的关键基因^[7]。近年来, 两种不同类型的膜结合的山梨醇脱氢酶 (SLDH) 在葡萄糖杆菌属中被相继分离和鉴定。弱氧化葡萄糖酸杆菌 (*Gluconobacter suboxydans*) IFO 3254 和弗托氏葡糖杆菌 (*Gluconobacter frateurii*) 中的膜结合脱氢酶为 FAD-SLDH (*sldSLC*), 由小亚基 (*sldS*)、大亚基 (*sldL*) 和细胞色素 C 亚基 (*sldC*) 组成, 并以 FAD 为辅酶^[8-9]。而从 *G. suboxydans* IFO 3255 中分离得到的酶为 PQQ-SLDH (*sldAB*), 由疏水小亚基 (*sldA*) 和脱氢酶大亚基 (*sldB*) 构成, 该酶在大肠杆菌中表现酶活时需依赖辅酶 PQQ 的存在^[10]。

本研究中, *G. oxydans* WSH-003 是经过野生菌多次诱变而获得的一种高产 L-山梨糖的菌株^[11]。它能够高效地将底物 D-山梨醇不完全氧化为 L-山梨糖, 进而作为二步发酵法中 VC 生产的原料^[12]。作为一种重要的工业生产菌株, *G. oxydans* WSH-003 的基因组测序已经完成并公开^[11]。全基因组序列显示, 该菌株中存在 3 个基因座位不同的山梨醇脱氢酶

基因簇, 而对于一个菌株中存在 3 种功能相似的脱氢酶基因的研究尚未见报道。本文中首先对基因组中的 3 个基因簇利用 BLAST 在线功能进行序列比对。然后, 应用新兴的转录组测序 (RNA-Seq) 技术, 通过对菌株在发酵过程的 5 个不同时期进行转录组测序, 获得 3 种 *sldh* 基因的转录水平及变化趋势。从而为 *G. oxydans* WSH-003 中 D-山梨醇脱氢酶的深入研究及 VC 一步菌的构建奠定了基础。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 菌株 本实验中所使用的 *G. oxydans* WSH-003 由江苏江山制药有限公司赠送。

1.1.2 培养基

1) 种子培养基: 酵母粉 10 g, 山梨醇 150 g, 去离子水定容至 1 L, 固体培养基添加 20 g/L 的琼脂。

2) 发酵培养基: 酵母浸膏 20 g, 山梨醇 150 g, 去离子水定容至 1 L。

1.1.3 分子生物学试剂 RNAlater® Tissue Collection, 购自 Ambion 公司; Qiagen RNeasy mini purification kit 总 RNA 提取试剂盒, 购自 Qiagen 公司; Ribo-Zero™ rRNA Removal Kits (Gram-Negative Bacteria), 购自 Epicentre 公司; TruSeq RNA Sample Preparation Kit v2 和 MiSeq Reagent Kit v3, 均购自 Illumina 公司。

1.1.4 主要仪器 1 L 机械搅拌发酵罐, 美国 NBS 公司制, 型号为 BIOFLO 110; 高效液相色谱仪, 美国 Agilent 公司制, 型号为 Agilent 1100。

1.2 方法

1.2.1 BLAST 序列比对 根据 *G. oxydans* WSH-003 中的基因组测序结果,使用 NCBI 在线比对软件 BLAST (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>),将各 *sldh* 基因簇进行在线比对,找出高相似性的 *sldh* 基因。

1.2.2 培养方法

1)种子培养条件:挑取 *G. oxydans* WSH-003 单菌落接种于含有 75 mL 种子培养基的 500 mL 的三角瓶,在 30 ℃ 200 r/min 的摇床上培养至对数中期。

2)发酵条件:将上述种子液按体积分数 15%接种于加有 425 mL 发酵培养基的 1 L 容积发酵罐中,通气量 2.0 L/(L·min),30 ℃,400 r/min,pH 5.6。

1.2.3 菌体收集及 RNA 纯化 发酵培养开始后,每隔 4 h 取样,用于提取细胞总 RNA 和液相测定 D-山梨醇的消耗曲线,并测 OD₆₀₀ 绘制菌体生长曲线。在保存用于总 RNA 提取的菌体时,按体积比 1:1 加入 RNA 稳定剂 RNeasy® Tissue Collection 后 4 ℃ 过夜放置,而后转移到 -80 ℃ 冰箱保存。按照说明书的操作,使用 Qiagen RNeasy mini purification kit 试剂盒提取菌体总 RNA,使用 Ribo-Zero™ rRNA Removal Kits (Gram-Negative Bacteria)试剂盒去除核糖体 RNA。将纯化后的 RNA 样品,使用安捷伦 2100 型分析仪进行质量鉴定,合格者用于文库构建。

1.2.4 文库构建及测序 按照说明书的方法,使用 TruSeq RNA Sample Preparation Kit v2 和 MiSeq Reagent Kit v3 分别构建 RNA-Seq 的测序文库并上

机测序。使用 MiSeq 高通量测序仪进行 2*100 PE 双端测序。

1.2.5 RNA-Seq 生物信息学分析 将测序获得的原始 fastq 文件,使用 FastQC 软件进行测序质量控制,并使用 Fastxtoolkit 和 Cutadapt 软件去除低质量的读段(reads)、rRNA 污染的读段和接头序列。应用 Bowtie2 采用局部比对对预处理后读段进行基因组匹配(genome mapping)^[13]。Bowtie2 匹配采用的基因组版本为 GluOxy-1.0 (*Gluconobacter oxydans* WSH-003),下载地址为 ftp://ftp.ncbi.nlm.nih.gov/genomes/all/GCF_000263255.1_GluOxy-1.0。使用 Cufflinks 对 Bowtie2 的 mapping 结果进行基因覆盖 reads 定量,计算 FPKM (Fragments Per Kilobase of exon model per Million mapped read)值^[14]。

1.2.6 D-山梨醇及 L-山梨糖的检测 D-山梨醇及 L-山梨糖的浓度用高效液相色谱(HPLC)检测。检测条件如下:色谱柱为 Aminex HPX-87H (Bio-Rad);流动相 5 mmol/L H₂SO₄;体积流量 0.6 mL/min;柱温 35 ℃;进样量 5 μL;检测器为示差折光检测器。

2 结果与分析

2.1 山梨醇脱氢酶基因簇的序列比对

基因组测序显示,*G. oxydans* WSH-003 中的 3 个 *sldh* 基因簇分别为 O1G_RS0104395/O1G_RS0104400,O1G_RS0105425/O1G_RS0105430 和 O1G_RS0106820/O1G_RS0106825/O1G_RS0106830。使用 BLAST 在线比对,结果如表 1 所示。

表 1 山梨醇脱氢酶基因簇的 BLAST 结果
Table 1 BLAST results of three *sldh* gene clusters

<i>G. oxydans</i> WSH-003 中的基因簇	BLAST 比对结果		
	菌种	基因注释	相似度
O1G_RS0105425/ O1G_RS0105430 (2 603 bp)	<i>G. suboxydans</i> IFO 3255 ^[10]	<i>sldA</i> , <i>sldB</i>	99%
	<i>G. oxydans</i> H24 ^[15]	Glycerol dehydrogenase small subunit, glycerol dehydrogenase large subunit	100%
	<i>G. oxydans</i> H24	D-sorbitol dehydrogenase subunit SldA, D-sorbitol dehydrogenase subunit SldB	81%
O1G_RS0104395/ O1G_RS0104400 (2 669 bp)	<i>G. oxydans</i> H24	D-sorbitol dehydrogenase subunit SldA, D-sorbitol dehydrogenase subunit SldB	100%
	<i>G. suboxydans</i> IFO 3255	<i>sldA</i> , <i>sldB</i>	79%
O1G_RS0106820/ O1G_RS0106825/ O1G_RS0106830	<i>G. oxydans</i> H24	Large subunit of sorbitol dehydrogenase, small subunit of sorbitol dehydrogenase, cytochrome subunit of sorbitol dehydrogenase	100%
	<i>G. suboxydans</i> IFO 3254 ^[9]	Sorbitol dehydrogenase small subunit, sorbitol dehydrogenase large subunit, sorbitol dehydrogenase cytochrome c subunit	99%

结果表明, O1G_RS0105425/O1G_RS0105430 为 *G. suboxydans* IFO 3255 中的 PQQ-SLDH, 被命名为 *sldAB1* 基因。此外, O1G_RS0104395/O1G_RS0104400 也与 PQQ-SLDH 有很高的同源性, 故推测也是基因序列不同的 PQQ-SLDH, 被命名为 *sldAB2*。而 O1G_RS0106820/O1G_RS0106825/O1G_RS0106830 基因簇是由 3 个亚基组成, 比对结果显示其为 *G. suboxydans* IFO 3254 中的 FAD-SLDH, 被命名为 *sldSLC*。虽然 BLAST 结果显示, *G. oxydans* WSH-003 的基因簇与 *G. oxydans* H24 高度接近, 但该菌株的山梨醇脱氢酶的类型也未确定, 故比对结果采用已研究的文献成果为依据。

2.2 菌体的生长及底物氧化

根据发酵培养 4 h 间隔取样结果, 绘制菌体的生长曲线。同时, 使用 HPLC 测定各时间点的 D-山梨醇和 L-山梨糖的质量浓度, 确定以时间为进程的底物氧化情况。如图 1 所示。接种后菌体在经过短暂的延滞期后, 相继进入对数期、稳定期和衰退期, 且底物 D-山梨醇在对数期被快速氧化为产物 L-山梨糖。本试验中, 选取 4 h (延滞后期), 8 h (对数初期), 12 h (对数后期), 20 h (稳定初期) 和 40 h (稳定后期) 的菌体, 进行转录组测序, 进而可以全面地获得菌体整个发酵周期的基因转录情况。

表 2 RNA-Seq 测序原始数据及高质量读段

Table 2 Raw sequencing output and clean reads of RNA-Seq

样品	原始读段	低质量读段	接头序列	rRNA 污染	比率
4 h 的	21,766,594	19,309,230	19,060,477	18,548,214	85.2%
8 h 的	22,463,168	22,229,338	21,926,336	21,359,732	95.1%
12 h 的	25,139,802	24,946,860	24,616,540	24,037,030	95.6%
20 h 的	20,744,404	20,581,478	20,317,720	19,836,510	95.6%
40 h 的	38,320,126	37,845,756	37,364,411	36,292,768	94.7%

2.4 基因组匹配及基因表达分析

使用短序列比对软件 Bowtie2 将预处理后的 clean reads 匹配到 *G. oxydans* WSH-003 基因组上, 获得各样品的 bam 比对结果文件。使用 Cufflinks 软件统计覆盖到各基因的读段数, 转录本丰度值以 FPKM 表示。图 2 为使用箱线图统计得到的 5 个时间点样品的 FPKM 值分布 (纵坐标以 $\log_{10}$ FPKM 表示)。如图所示, 每个样品中约 50% 基因 FPKM 值在 $32 (10^{1.5}) \sim 320 (10^{2.5})$ 之间, 约 25% 的基因分别在 $320 \sim 10\,000$ 和 $1 \sim 32$ 区间分布。此外, 仍有部分异常高和低表达的基因。

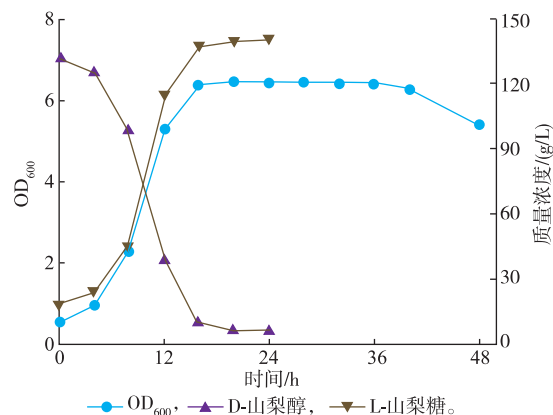


图 1 菌体的生长及 D-山梨醇转化曲线

Fig. 1 Strain fermentation culture curve and time-course D-sorbitol oxidation

2.3 RNA-Seq 测序及数据预处理

使用 Miseq 高通量测序仪, 对所制备的 5 个时期的 RNA 样品进行 pair-end 双端测序, 每条读段长度为 100 bp。测序得到原始 fastq 数据文件, 每个样品的数据量约为 20 M reads 共 2 G bp, 达到深度测序的要求。对 5 个样品的测序原始数据进行预处理, 去除了其中测序低质量的读段、接头序列及来自于 rRNA 污染的读段后, 得到了高比率的可用于后续分析的 clean reads。预处理后的数据结果见表 2。

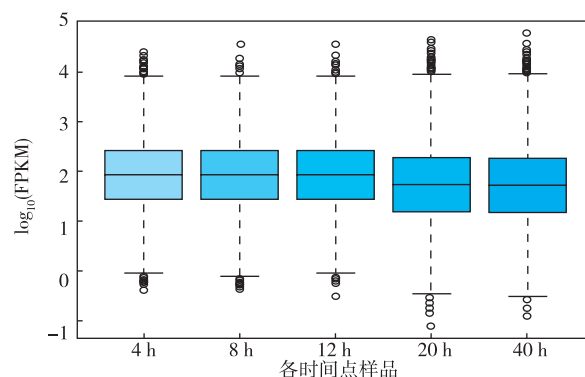


图 2 测序样品的转录本 FPKM 分布

Fig. 2 Transcript FPKM distribution of RNA-Seq

2.5 *sldh* 基因的转录水平比较

根据 Cufflinks 定量结果,分别统计 *sldAB2*、*sldAB1* 和 *sldSLC* 3 个基因簇的 5 个时期的转录本丰度 FPKM 值。如图 3 所示,*sldAB2* 在 5 个时期的转录本水平均很低,且无明显变化趋势。而 *sldAB1* 和 *sldSLC* 基因簇总体表达水平很高,并在对数期至稳定期这一阶段随着 D-山梨醇的氧化而迅速增加。以上结果表明,属于 PQQ-SLDH 类型的 *sldAB1* 和 FAD-SLDH 类型的 *sldSLC* 为 *G. oxydans* WSH-003 中主要表达的 D-山梨醇脱氢酶基因,且 *sldAB1* 的表达水平略高于 *sldSLC* 基因。而同属于 PQQ-SLDH 类型的另一基因簇 *sldAB1* 的转录水平很低,基本上不参与 D-山梨醇氧化为 L-山梨糖的转化过程。

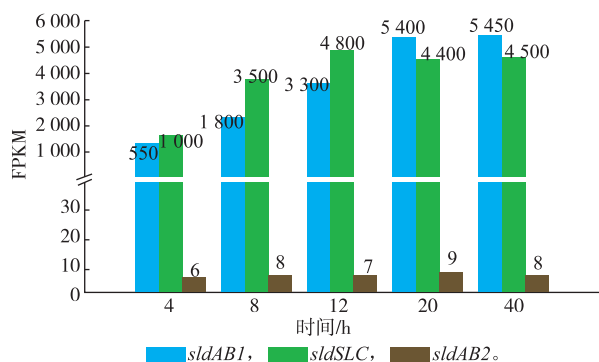


图 3 *sldh* 基因的 FPKM 值比较

Fig. 3 Comparison of FPKM for 3 *sldh* genes

3 结 语

近年来,*G. oxydans* 的应用研究发展迅速,被广泛应用于制药、食品和化妆品等工业。究其原因,主要是由于其细胞膜上存在大量的脱氢酶,能够快速不完全氧化醇、糖等化合物生成相应的糖、酮或糖酸,底物无需跨膜运输,产物可直接分泌到环境中。目前,在 VC 的二步发酵法中,第一步便是利用 *G. oxydans* 将 D-山梨醇转化为 L-山梨糖,是工业上利用二步法生产 VC 的关键步骤。

随着高通量测序技术的发展,该菌株全基因组序列也相继公布。本研究中 *G. oxydans* WSH-003 基因组测序显示,该菌的基因组序列上存在 3 个基因座位不同的 D-山梨醇脱氢酶基因。根据已有的文献报道,利用 BLAST 功能,确定 3 种基因簇分别属于 PQQ-SLDH(*sldAB1*,*sldAB2*)和 FAD-SLDH(*sldSLC*)。使用高通量 RNA-seq 技术,通过测定发酵过程中 5 个时期菌体转录水平,确定 *sldAB1* 和 *sldSLC* 作为该菌中主要表达的 D-山梨醇脱氢酶基因参与 D-山梨醇的氧化,而 *sldAB2* 基因基本不转录。

本研究成果将为后续该菌株中山梨醇脱氢酶的相互作用及 VC 一步发酵菌种的构建等工作奠定部分基础。

参考文献:

- [1] De Muynck C, Pereira C, Naessens M, et al. The genus *Gluconobacter oxydans*: comprehensive overview of biochemistry and biotechnological applications[J]. **Critical Reviews in Biotechnology**, 2007, 27: 147-171.
- [2] Gupta A, Singh V K, Qazi G N, et al. *Gluconobacter oxydans*: its biotechnological application [J]. **Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology**, 2001(3): 445-456.
- [3] Merfort M, Herrmann U, Bringer-Meyer S, et al. High-yield 5-keto-D-gluconic acid formation is mediated by soluble and membrane-bound gluconate-5-dehydrogenases of *Gluconobacter oxydans* [J]. **Applied Microbiology and Biotechnology**, 2006, 73: 443-451.
- [4] Gatgens C, Degner U, Bringer-Meyer S, et al. Biotransformation of glycerol to dihydroxyacetone by recombinant *Gluconobacter oxydans* DSM 2343[J]. **Applied Microbiology and Biotechnology**, 2007, 76: 553-559.
- [5] WANG X, LIU J, DU G, et al. Efficient production of L-sorbose from D-sorbitol by whole cell immobilization of *Gluconobacter oxydans* WSH-003[J]. **Biochemical Engineering Journal**, 2013, 77: 171-176.
- [6] GAO L, HU Y, LIU J, et al. Stepwise metabolic engineering of *Gluconobacter oxydans* WSH-003 for the direct production of 2-keto-L-gulonic acid from D-sorbitol[J]. **Metabolic Engineering**, 2014, 24: 30-37.
- [7] Sugisawa T, Hoshino T. Purification and properties of membrane-bound D-sorbitol dehydrogenase from *Gluconobacter suboxydans* IFO 3255[J]. **Bioscience Biotechnology and Biochemistry**, 2002, 66(1): 57-64.
- [8] Toyama H, Soemphol W, Moonmangmee D, et al. Molecular properties of membrane-bound FAD-containing D-Sorbitol dehydrogenase from thermotolerant *Gluconobacter frateurii* isolated from Thailand [J]. **Bioscience Biotechnology and Biochemistry**, 2005, 29: 1120-1129.

- [9] Shinagawa E, Matsushita K, Adachi O, et al. Purification and characterization of D-Sorbitol dehydrogenase from membrane of *Gluconobacter suboxydans* var[J]. **Agricultural and Biological Chemistry**, 1982, 46: 135-141.
- [10] Miyazaki T, Tomiyama N, Shinjoh M, et al. Molecular cloning and functional expression of D-sorbitol dehydrogenase from *Gluconobacter suboxydans* IFO3255, which requires pyrroloquinoline quinone and hydrophobic protein SldB for activity development in *E. coli*[J]. **Bioscience Biotechnology and Biochemistry**, 2002, 66(2): 262-270.
- [11] GAO L, ZHOU J, LIU J, et al. Draft genome sequence of *Gluconobacter oxydans* WSH-003, a strain that is extremely tolerant of saccharides and alditols[J]. **Journal of Bacteriology**, 2012, 194(16): 4455-4456.
- [12] ZHOU J, DU G, CHEN J. Metabolic engineering of microorganisms for vitamin C production [J]. **Subcellular Biochemistry**, 2012, 64: 241-259.
- [13] Langmead B, Salzberg S L. Fast gapped-read alignment with Bowtie 2[J]. **Nature Methods**, 2012, 9(4): 357-359.
- [14] Trapnell C, Williams B A, Pertea G, et al. Transcript assembly and quantification by RNA-Seq reveals unannotated transcripts and isoform switching during cell differentiation[J]. **Nature Biotechnology**, 2010, 28(5): 511-515.
- [15] GE X, ZHAO Y, HOU W, et al. Complete genome sequence of the industrial strain *Gluconobacter oxydans* H24 [J]. **Genome Announcements**, 2013, 1(1): e00003-e00013.

会 议 信 息

会议名称(中文): 2016 海峡两岸益生菌研讨会

所属学科: 生物技术与生物工程, 病毒与免疫学

开始日期: 2016-08-31

结束日期: 2016-09-02

所在城市: 台湾省 台北市

具体地点: 阳明大学

主办单位: 亚洲乳酸菌学会联盟 台湾乳酸菌协会

E-MAIL: tsaiyc@ym.edu.tw

会议网站: <http://www.cifst.org.cn/NewsIn.aspx?id=8579&SeeType=AddCount>

会议背景介绍: 益生菌研究遍及健康、环境、农业等各种要领域, 对国民生活影响极大。全球市场高达四百亿美元, 年成长率约 15-20%, 亚洲市场占约 45%。

亚洲乳酸菌学会联盟(Asian Federation of Societies for Lactic Acid Bacteria, AFSLAB)成立于 2002 年, 自 2001 年起, 每单数年举办亚洲乳酸菌研讨会 (Asian Conference of LAB, ACLAB), 2015 年在曼谷举办了第八届 ACLAB, 2017 年第九届将在首尔举办; 自 2008 年起, 每双数年举办亚洲联盟研讨会(AFSLAB Symposium), 2014 年在菲律宾举办了第四届联盟研讨会, 第五届将在台北举办。各研讨会参加人数约在 200-500 名。

征文范围及要求:

大会主题:

1. 肠道微生物组与健康

2. 菌脑肠轴与精神益生菌

3. 肠道代谢组与健康

4. 益生菌基础研究: 菌株分离与分类、健康与疾病、生理与代谢、遗传与分生

5. 益生菌产业应用: 传统酿造、环境、农业(畜牧、水产养殖)、生产工艺

6. 市场与法规

7. 海峡两岸研讨会(中文)

8. 产业赞助特别专题

9. ISAPP(International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics)赞助特别专题