

微生物学报 *Acta Microbiologica Sinica*
54 (4) :361 - 366; 4 April 2014
ISSN 0001 - 6209; CN 11 - 1995/Q
http://journals.im.ac.cn/actamicrocn
doi: 10.13343/j.cnki.wsxb.2014.04.001

益生乳酸菌遗传稳定性研究进展

张文羿, 白梅, 张和平*

乳品生物技术与工程教育部重点实验室, 内蒙古农业大学, 内蒙古 呼和浩特 010018

摘要: 益生乳酸菌因为与人类健康息息相关而日益备受关注。时至今日, 益生乳酸菌衍生制品已发展成为时尚养生领域的新宠儿。对于准备进入生产流通环节的益生乳酸菌, 除需具有优异的益生特性, 还应具有良好的稳定性。本文拟从遗传稳定性的研究方法出发, 结合其国内外的研究进展作一综述, 旨在为同行提供一些参考。

关键词: 乳酸菌, 益生特性, 稳定性

中图分类号: Q933 **文献标识码:** A **文章编号:** 0001-6209 (2014) 04-0361-06

乳酸菌 (Lactic acid bacteria, LAB) 是一群形态代谢性能和生理学特征不完全相同的能发酵碳水化合物产生乳酸的革兰氏阳性细菌总称, 它的自然宿主是人类、动物和植物。目前发现的乳酸菌在分类学水平上可以划分为 43 个属, 包括乳杆菌属和双歧杆菌属的 210 余个种及亚种。其中, 乳杆菌属是目前多样性最为丰富并且容量最大的 1 个属, 倘若按照代谢产物类型划分, 其成员可分别归属为专性同型发酵、兼性异型发酵和专性异型发酵乳杆菌^[1]。

益生菌是指通过摄入适当量从而对宿主产生有益作用的活性微生物^[2]。当前世界上流通使用的知名益生菌大多为乳杆菌属和双歧杆菌属中的一些菌株, 例如: 嗜酸乳杆菌 NCFM (*Lactobacillus acidophilus* NCFM)、干酪乳杆菌 Shirota (*Lactobacillus casei* Shirota)、植物乳杆菌 WCSF1 (*Lactobacillus plantarum* WCSF1)、鼠李糖乳杆菌 GG (*Lactobacillus rhamnosus* GG)、双歧杆菌 Bb12 (*Bifidobacterium*

animalis subsp. *lactis* Bb12) 等。益生菌对人体主要具有免疫调节、调整肠道菌群、防止腹泻、降低粪便中某些酶活性及抗突变抗癌的医疗保健作用^[3]。发展到今天, 益生菌制品正逐步成为时尚养生领域的宠儿。

通常益生菌都要经过严格的筛选, 除需具备耐酸、耐胆盐、粘附定植等基本特性之外还要经过动物实验和人体临床实验的综合评价。此外, 它们还应具备有优良的遗传稳定性能^[4]。从微生物应用的角度来看, 这也是菌株实现产业化生产的必备条件。菌株在流通和使用过程中会出现衰退的现象, 其中最重要的是与原始菌株相比其生物学特性的变化, 如: 原有形态变得不典型、生长速度变慢、抗不良环境条件的性能减弱、营养物质代谢能力下降等, 进而在生产过程中表现为连续的低产和不稳定。因此, 有必要对益生菌的遗传稳定性进行深入研究, 使其保持原始菌株的生物学特征。本文从遗传稳定性研

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31201396)

* 通信作者。Tel: +86-471-4319940; Fax: +86-471-4305357; E-mail: hepingdd@vip.sina.com

作者简介: 张文羿 (1981 -), 男, 内蒙古人, 助理研究员, 博士, 研究方向为乳酸菌分子生物学和基因组学。E-mail: zhangwenyizi@163.com

收稿日期: 2013-11-06; 修回日期: 2013-12-05

究方法出发,结合其国内外研究进展进行综述,旨在为同行提供参考。

1 遗传稳定性的研究方法

对于遗传稳定性的有效评价一般可通过多种生理生化测试和分子生物学实验技术的有机结合来实现。目前,对乳酸菌遗传多样性进行检测的分子技术手段主要包括:随机扩增多态性 DNA (Random Amplified Polymorphism DNA, RAPD)、限制性片段长度多态性 (Restriction Fragment Length Polymorphism, RFLP)、变性梯度凝胶电泳 (Denaturing Gradient Gel Electrophoresis, DGGE)、扩增片段长度多态性 (Amplified Fragment Length Polymorphism, AFLP) 等标记技术^[5]。但总体来看,这些分子生物学方法所得结果的稳定性容易受到实验条件和环境的影响。随着越来越多的乳酸菌基因组被破译,研究人员开始尝试着通过对一些看家基因或者功能基因在不同个体间进行测序,即多位点序列分型 (Multi Locus Sequence Typing, MLST) 方法,从序列水平普查、鉴定突变位点。将这种方法应用于 *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus delbrueckii* 和 *Lactobacillus sanfranciscensis* 显得卓有成效^[6-9],但所得数据的信息量仍然十分有限,用于遗传稳定性的研究仍然不太理想。

基于新一代测序技术的基因组重测序 (Whole-genome re-sequencing) 方法是对已知基因组序列的物种进行不同个体的基因组进行深度测序,并在此基础上对个体或群体进行差异性分析^[10]。这种技术能够在全基因组水平上扫描并检测发现基因序列变异和结构变异,以其低成本、耗时短和高通量的特点正逐步发展成为研究遗传变异不可或缺的工具。被用于与人复杂疾病相关联的常见、低频、甚至是罕见的突变位点的检测及致病性机理的研究,为许多研究学者采纳。将这种技术应用于微生物稳定性方面的研究近期也取得了突破性进展^[11]。以大肠杆菌为例,关于这一物种的研究始于 20 世纪 80 年代末,目前业已完成其在葡萄糖限制性培养基中连续传代 40000 代稳定性的研究^[12]。从研究结果来看,将基因组重测序技术用于稳定性的定量研究可有效解释不同世系菌群潜在的生理和遗传。重测序技术

诞生之前,Lenski 及其团队成员围绕大肠杆菌稳定性已经开展了大量工作,包括对连续传代过程中菌群生理动态变化规律的监测^[13]。他们也曾成功将基于连续传代的方法作为一种育种方法对基因敲除核心代谢关键基因之后的突变株进行复壮^[14]。然而,无论如何努力都无法弥补因实验技术受限所带来的缺憾,菌群在短期内的瞬时变化始终无法捕获^[15]。

综上所述,考虑到微生物的遗传变异来源丰富,广泛分布在基因组范围内,无论是基因组的非编码区还是编码区都有可能发生。以单个基因或者几个基因为目标的分子生物学方法和手段很难对变异位点进行精确定位,也很难对代谢网络调控体系的动态变化做出令人满意的分析和解释。选用全基因组重测序技术对益生乳酸菌的遗传稳定性进行研究无疑对了解其变异形成的分子机制更具有实际指导意义。

2 遗传稳定性研究进展

对于益生乳酸菌来讲,遗传稳定性因为直接影响到对宿主健康的促进作用长期以来就是学界关注的重要命题。欧盟委员会食品科学委员会 (The Scientific Committee on Food of the European Commission, SCFEC) 曾明确指出“只有经过培养和分子生物学方法证明具有遗传稳定性的益生乳酸菌才可用于婴幼儿类食品加工”^[16];更有学者认为,益生乳酸菌在连续传代 12 个月之内,遗传信息不发生任何改变才可被认为是稳定的^[17]。在过去,一些国际知名科研团队对益生乳酸菌的遗传稳定性从不同的角度进行了研究。从已有的报道来看,益生乳酸菌在使用过程中受到培养条件、传代次数、保藏方法等的影响会出现衰退的表现^[18-19]。这些证据似乎同时指向一个不争的事实:任何菌株在推广进入新的应用环节之前,都有必要重新再做适量评估。

2.1 国外研究进展

早在 1983 年,Clements 等就对菌株益生特性的稳定性进行了探讨,结果证明用同样方法制备的乳杆菌在不同批次间对腹泻的疗效作用存在很大的差异^[20]。尽管当时发酵剂制备过程中的活菌数控制能力还有待商榷,但这一结果足以引起研究者对于遗传稳定性的重视。1991 年,Elo 等首先对长期用

于生产的 *Lactobacillus rhamnosus* GG 菌株培养物与原始菌株的黏附性进行了比较,最初发现源自不同生产批次益生菌产品的菌株对于 Caco-2 细胞的黏附性只有细微的变化。然而,他们在后续实验中却发现该菌株培养物在 MRS 培养基保存 3.5 年(每周传代 1 次)后的黏附特性会显著下降,与他们之前的结果形成了鲜明的对比^[21]。

在另一项研究中,该小组成员将 1995 年和 1996 年 *Lactobacillus acidophilus* 的分离株在澳大利亚、芬兰两个不同的实验室中同时进行了分析比较。研究结果显示,不同分离株之间具有相同的糖代谢能力和分子标记指纹图谱,但在对 Caco-2 细胞和黏液的黏附特性方面却表现出较大的差异^[22],这与其他研究者在对菌株耐酸性稳定性进行检测时观察到的现象一致^[23]。在对 *Lactobacillus paracasei* F19 进行的研究中,Morelli 和 Campominosi 采用琼脂糖凝胶的检测方法验证得出该菌株所含质粒在长期冻存和发酵生产过程中具有良好的稳定性^[24]。恰恰相反,通过重新评估 15 个来自不同益生菌制品 *Lactobacillus rhamnosus* GG 分离株的益生特性,Grzeskowiak 等发现生产工艺和益生菌载体对其稳定性都有不同程度的影响,不同分离株在抗菌特性方面具有显著差异^[25]。具体到其它表型特性,如:耐酸、耐胆盐特性和遗传信息间的相关性还有待于进一步深入考证。

新近的报道主要围绕基因组稳定性展开,由来自欧洲和日本的不同科研团队发起。欧洲学者 Sybesma 等首先从 3 种不同的乳制品中分离得到 *Lactobacillus rhamnosus* GG,之后采用基因组重测序的策略进行了比较基因组学研究^[26]。结果显示,三分之二的分离株在染色体基因组岛 LGGISL1 和 LGGISL2 中存在主要功能 DNA 片段缺失的现象。其中 1 个分离株的 1 个删除片段由 34 个基因组成,另一个删除片段包括 84 个基因侧翼由 2 个相同的插入序列组成,具备典型复合转座子的特征。这些缺失的片段中也包括编码鞭毛的基因簇,该基因簇已被证明对于菌株在人体肠道内的黏附定植不可或缺。为了加深了解 *Lactobacillus rhamnosus* GG 多样性群体的分布情况,笔者采用荧光定量 PCR 进行了定性分析。研究结果进一步证实,不同商业化益生菌制品中得到的分离株也可观察到类似现象,存在部分编码鞭毛基因缺失的基因型^[26]。综合整体研

究数据,不难看出基因重排在 *Lactobacillus rhamnosus* GG 稳定遗传的过程中扮演着非常重要的角色,部分基因缺失的现象有时甚至会影响到益生菌表型生物学特征。益生菌制品往往是营养丰富环境,菌株在不同制品中所表现出的进化现象事实上也是这一物种对该类生境适应机制的侧面体现。

在日本学者 Fukao 等开展的课题中,也可观察到上述类似的生物学现象^[27]。与保存 18 年之久的 *Lactobacillus brevis* KB290 备份菌株相比,当今经过产业化流通的分离株基因组中只检测出为数不多的突变位点。这些位点对于生物表型的影响几乎可以忽略。通过深度测序(数据覆盖率约为 1000 倍),他们共检测到 37 个微小变化位点,单核苷酸替换的发生频率在 20% 到 58% 之间。这些位点中,有 30 个位于染色体基因组,7 个位于质粒基因组。在染色体突变位点中,19 个非同义突变和 5 个同义突变发生在蛋白质编码区,另有 6 个非同义突变出现在非编码区;在质粒突变位点中,1 个非同义突变和 5 个同义突变发生在蛋白质编码区,另有 1 个出现在非编码区。其它研究中,Morita 及其同事通过比较基因组发现同一来源的不同 *Lactobacillus reuteri* 分离株染色体基因组间相差 40 kb 的特异 DNA 区域^[28]。这些研究结果可以暗示我们菌株的遗传稳定性具有菌种或者物种特异性,不同个体在适应流通环境过程中发生突变的几率也许并不相同。在对益生乳酸菌进行质量控制的环节中,仍然需要针对特定的基因靶标设计动物或人体实验做更进一步的生物学验证。

2.2 国内研究进展

我国关于益生乳酸菌遗传稳定性的研究起步相对较晚,近些年来相继开展了一小部分工作。2004 年,周朝晖等利用 RAPD 标记技术和高效液相色谱指纹图谱对昂立植物乳杆菌连续传代 15 代以后的稳定性进行了检测^[29]。2005 年,刘衍芬等利用 RAPD 标记技术和聚丙烯酰胺凝胶电泳(Sodium Dodecyl Sulfate Polyacrylamide Gel Electrophoresis, SDS-PAGE)技术对直投式发酵剂中分离出的乳酸菌传代次数和保存方法进行了探讨^[30-31],并证明乳杆菌在传代过程中连续转管次数不同时基因组和蛋白质均有变化。类似地,刘晓辉等于 2008 年研究了乳酸菌 Q₂₆ 菌株传代过程中转管不同次数时的形态变化和蛋白差异,结果发现受试菌株在第 40 代时

蛋白表达开始发生变化^[32]。这些研究为揭示益生菌乳酸菌传代过程中变异产生的分子机理奠定了非常重要的基础,也用数据证明遗传稳定性在产业化生产过程中不容忽视的地位。遗憾的是,因为实验之初方法学发展的局限性对于影响益生菌乳酸菌生理表型稳定性的内在因素和其变异形成机制的解释显得相形见绌。这一问题也是制约益生菌乳酸菌遗传稳定性研究成果应用的重要瓶颈。

借鉴前人的研究经验和实验方法,我们以经过多年系统研究的益生菌 *Lactobacillus plantarum* P-8 和 *Lactobacillus casei* Zhang 为研究对象,对它们在不同培养条件下长期连续传代过程中的遗传稳定进行了系统评价。前期表型特性的初步评估数据显示 *Lactobacillus plantarum* P-8 在连续传代 1000 代过程中,细胞镜下形态、生长周期末 OD 值、生长周期末活菌数和菌种活力均无明显变化,侧面反映该菌株具有良好的稳定性^[33]。然而,后续的基因组重新测序结果却也表明,菌株染色体在多个位点有单碱基突变并且以非同义突变占主导地位。由此可以得出以下结论:(1)基本生化特性的检测事实上并不足以反应受试菌株的稳定性,特别是在遗传信息突变位点与这些基本特性并无直接关联的情况下;(2)生理表型或是蛋白表达的变化可能涉及到基因组序列多个位点的变化,因此如果能够确定具体变化的来源,也就可以利用 PCR 实验技术以突变热点区域为靶标追踪发生变化的确切时间,在此基础上指导后期传代培养方法的建立。重要的是,结合长期连续传代过程中染色体的变异位点信息也可解析菌株进化规律,进一步指导建立菌种的定期复壮策略。

3 存在的问题和展望

虽然已经广泛地认识了益生菌乳酸菌的遗传稳定性,围绕这一主题的研究文献也很多,但所做工作整体停留在生理生化水平,更多的是对菌株部分生理特点和益生特性的观察和检测,对于表型变异的来源和其复杂的形成机制则因为研究手段的局限性仍知之甚少。到目前为止,国内尚无人真正从分子水平对益生菌乳酸菌的遗传稳定性进行系统评价和解析,仍然需要更为深入的探索。我们认为今后需要重点解决的核心问题是如何将基因组学和分子生物学研究技术,特别是遗传工程操作技术有机结合针

对益生菌乳酸菌稳定性关键靶标基因进行验证。源自基因组学的丰富信息资源,需要做进一步的筛查,结合行之有效的验证技术可以拓宽稳定性研究成果的应用范围。通过该类研究,建立适合用于该益生菌乳酸菌的传代培养方法,从而建立一套科学、完整的检验益生菌乳酸菌传代过程中遗传稳定性的鉴定技术与分析平台,可为我国益生菌乳酸菌和发酵剂的研究、开发和利用奠定坚实的理论基础,更具有重要的实际指导意义。

参考文献

- [1] Felis GE, Dellaglio F. Taxonomy of *Lactobacilli* and *Bifidobacteria*. *Current Issues in Intestinal Microbiology*, 2007, 8: 44-61.
- [2] Correia MI, Liboredo JC, Consoli ML. The role of probiotics in gastrointestinal surgery. *Nutrition*, 2012, 28 (3): 230-234.
- [3] Khani S, Hosseini HM, Taheri M, Nourani MR, Imani Fooladi AA. Probiotics as an alternative strategy for prevention and treatment of human diseases: a review. *Inflammation & Allergy Drug Targets*, 2012, 11 (2): 79-89.
- [4] Lee YK, Salminen S. Handbook of probiotics and prebiotics. 2nd eds. Hoboken: Wiley & Sons, Inc, 2009: 9-139.
- [5] Ben Amor K, Vaughan EE, de Vos WM. Advanced molecular tools for the identification of lactic acid bacteria. *The Journal of Nutrition*, 2007, 137 (3): 7415-7475.
- [6] Diancourt L, Passet V, Chervaux C, Garault P, Smokvina T, Brisse S. Multilocus sequence typing of *Lactobacillus casei* reveals a clonal population structure with low levels of homologous recombination. *Applied and Environmental Microbiology*, 2007, 73 (20): 6601-6611.
- [7] Parolo CCF, Do T, Henssge U, Alves LS, de Santana Giongo FCM, Corcao G, Maltz M, Beighton D. Genetic diversity of *Lactobacillus paracasei* isolated from in situ human oral biofilms. *Journal of Applied Microbiology*, 2011, 111 (1): 105-113.
- [8] Tanigawa K, Watanabe K. Multilocus sequence typing reveals a novel subspeciation of *Lactobacillus delbrueckii*. *Microbiology*, 2011, 157 (3): 727-738.
- [9] Picozzi C, Bonacina C, Vigentini I, Foschino R. Genetic diversity in Italian *Lactobacillus sanfranciscensis* strains assessed by multilocus sequence typing and pulsed-field

- gel electrophoresis analyses. *Microbiology*, 2010, 156 (7) :2035-2045.
- [10] Bentley DR. Whole-genome re-sequencing. *Current Opinion in Genetics & Development*, 2006, 16 (6) :545-552.
- [11] Conrad TM, Lewis NE, Palsson B. Microbial laboratory evolution in the era of genome-scale science. *Molecular Systems Biology*, 2011, 7:509.
- [12] Barrick JE, Yu DS, Yoon SH, Jeong H, Oh TK, Schneider D, Lenski RE, Kim JF. Genome evolution and adaptation in a long-term experiment with *Escherichia coli*. *Nature*, 2009, 461 (29) :1243-1247.
- [13] Lenski RE, Rose MR, Simpson SC, Tadler SC. Long-term experimental evolution in *Escherichia coli*. I. adaptation and divergence during 2000 generations. *American Naturalist*, 1991, 138 (6) :1315-1341.
- [14] Fong SS, Palsson B. Metabolic gene deletion strains of *Escherichia coli* evolve to computationally predicted growth phenotypes. *Nature Genetics*, 2004, 36 (10) :1056-1058.
- [15] Herring I CD, Raghunathan I A, Honisch C, Patel T, Applebee MK, Joyce AR, Albert TJ, Blattner FR, van den Boom D, Cantor CR, Palsson BØ. Comparative genome sequencing of *Escherichia coli* allows observation of bacterial evolution on a laboratory timescale. *Nature Genetics*, 2006, 38 (12) :1406-1412.
- [16] Agostoni C, Axelsson I, Braegger C, Goulet O, Koletzko B, Michaelsen KF, Rigo J, Shamir R, Szajewska H, Turk D, Weaver LT. Probiotic bacteria in dietetic products for infants: a commentary by the ESPGHAN committee on nutrition. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 2004, 38:365-374.
- [17] Samuelsson C, Jiffer AW, Kvanta E. Lactic acid producing bacteria for use as probiotic organisms in the human vagina. US patent 7,312,067. Dec 25, 2007.
- [18] Saarela M, Virkajarvi I, Alakomi HL, Sigvart-Mattila P, Matto J. Stability and functionality of freeze-dried probiotic *Bifidobacterium* cells during storage in juice and milk. *International Dairy Journal*, 2006, 16 (12) :1477-1482.
- [19] Sanders ME, Klaenhammer TR. Invited review: the scientific basis of *Lactobacillus acidophilus* NCFM functionality as a probiotic. *Journal of Dairy Science*, 2001, 84 (2) :319-331.
- [20] Clements ML, Levine MM, Ristaino PA, Daya VE, Hughes TP. Exogenous lactobacilli fed to man - their fate and ability to prevent diarrheal disease. *Progress in Food & Nutrition Science*, 1983, 7 (3-4) :29-37.
- [21] Elo S, Saxelin M, Salminen S. Attachment of *Lactobacillus casei* strain GG to human colon carcinoma cell line Caco-2: comparison with other dairy strains. *Letters in Applied Microbiology*, 1991, 13 (3) :154-156.
- [22] Tuomola E, Crittenden R, Playne M, Isolauri E, Salminen S. Quality assurance criteria for probiotic bacteria. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 2001, 73 (2) :393S-398S.
- [23] Lee YK, Wong SF. Stability of lactic acid bacteria in fermented milk // Salminen S, von Wright A. Lactic Acid Bacteria, Microbiology and Functional Aspects. 2nd eds. New York: Marcel Dekker Inc, 1998: 103-114.
- [24] Morelli L, Campominosi E. Genetic stability of *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei* F19. *Microbial Ecology in Health and Disease*, 2002, 14:14-16.
- [25] Crzeskowiak L, Isolauri E, Salminen S, Gueimonde M. Manufacturing process influence properties of probiotic bacteria. *British Journal of Nutrition*, 2011, 105: 887-894.
- [26] Sybesma W, Molenaar D, van Ijchken W, Venema K, Kort R. Genome instability in *Lactobacillus rhamnosus* GG. *Applied Environmental and Microbiology*, 2013, 79 (7) :2233-2239.
- [27] Fukao M, Oshima K, Morita H, Toh H, Suda W, Kim SW, Suzuki S, Yakabe T, Hattori M, Yajima N. Genomic analysis by deep sequencing of the probiotic *Lactobacillus brevis* KB290 harboring nine plasmids reveals genomic stability. *PLoS One*, 2013, 8: e660521.
- [28] Morita H, Toh H, Fukuda S, Horikawa H, Oshima K, Suzuki T, Murakami M, Hisamatsu S, Kato Y, Takizawa T, Fukuoka H, Yoshimura T, Itoh K, O Sullivan D J, McKay LL, Ohno H, Kikuchi J, Masaoka T, Hattori M. Comparative genome analysis of *Lactobacillus reuteri* and *Lactobacillus fermentum* reveal a genomic island for reuterin and cobalamin production. *DNA Research*, 2008, 15 (3) :151-161.
- [29] Zhou C, Fan X, Hang X, Sha D, Ding W, Yan R, Wang J, Liu Q. The fermentation and stability of *Lactobacillus plantarum* LP-Onlly. *Microbial Ecological Agent*, 2004, 16 (6) :356-357. (in Chinese)
周朝晖, 范小兵, 杭晓敏, 沙大年, 丁伟奇, 严榕, 王劲松, 柳琴芳. 昂立植物乳杆菌发酵及其稳定性性能的研究. 微生态制剂, 2004, 16 (6) :356-357.
- [30] Liu Y, Gao X, Zhang M, Ge Z. Genetic stability assessments of lactic acid bacteria separated from DVS

during subculture. *Biotechnology*, 2005, 15 (2) :48-50. (in Chinese)

刘衍芬, 高学军, 张明辉, 葛增广. DVS 乳酸菌种菌株传代过程中遗传稳定性分析. *生物技术*, 2005, 15 (2) :48-50.

- [31] Liu Y, Gao X, Zhang M, Ge ZG. Genetic stability assessments of lactic acid bacteria separated from DVS during storage. *China Industry*, 2005, 33 (1) :7-10. (in Chinese)

刘衍芬, 高学军, 张明辉, 葛增广. DVS 乳酸菌种菌株保存过程中遗传稳定性分析. *中国乳品工业*, 2005, 33 (1) :7-10.

- [32] Liu X, Ji B, Gao X, Fang X. Study on the genetic

stability of direct vat set. *China Brewing*, 2008, 7:33-34. (in Chinese)

刘晓辉, 冀宝营, 高晓梅, 方新. 直投式酸奶发酵剂乳酸菌菌种遗传稳定性的研究. *中国酿造业*, 2008, 7:33-34.

- [33] Kong Y, Zhang W, Bai M, Wu Y, Zhao Y, Zhang H. Stability of the Probiotic *Lactobacillus plantarum* P-8 after long-term continuous subculturing for 1000 generations. *China Industry*, 2012, 41 (4) :15-18. (in Chinese)

孔亚楠, 张文羿, 白梅, 乌云, 赵亚荣, 张和平. 益生菌 *Lactobacillus plantarum* P-8 长期连续传代 1000 代过程中稳定性的研究. *中国乳品工业*, 2012, 41 (4) :15-18.

Genetic stability of probiotic lactic acid bacteria –A review

Wenyi Zhang, Mei Bai, Heping Zhang*

Key Laboratory of Dairy Biotechnology and Engineering, Ministry of Education, Inner Mongolia Agricultural University, Hohhot 010018, Inner Mongolia Autonomous Region, China

Abstract: Growing attention has been focused on probiotic lactic acid bacteria because of their important health-promoting effects. Nowadays, probiotic-based products have become fashionable nutraceuticals of choice. Before a newly developed probiotic-based product is to be introduced into the industry, it is important to ensure not only the desirable properties of the probiotic strain but also a good genetic stability. This article firstly introduces the research methods for investigating genetic stability, followed by summarizing the latest research progress in China and overseas.

Keywords: lactic acid bacteria, probiotic property, stability

(本文责编:张晓丽)