

# 基因工程技术在乳制品加工中的应用

肖 邦, 颜景辰\*

(中国农业出版社养殖业出版分社, 北京 100125)

**摘 要:** 进入 21 世纪以来, 我国乳制品工业发展取得了举世瞩目的效益。其中, 科技成果在提高乳制品产量、整合加工资源和提升产业水平等方面功不可没。《乳制品工业产业政策(2009 年修订)》中提出, 包括基因工程技术在内的生物技术是乳品加工关键技术未来的发展重心之一。本文分别从生乳产量提高、原料及产品质量、种质选育、加工工艺改良、乳制品成分及风味改善五个方面总结、阐述基因工程技术在各领域内的应用, 并对乳制品科技发展方向与基因工程技术新成果的结合前景进行了展望。

**关键词:** 基因工程技术; 乳制品; 成分; 风味; 工艺; 种质; 质检; 产奶量

## Application of genetic engineering technology in processing of dairy product

XIAO Bang, YAN Jing-Chen\*

(Animal Husbandry and Veterinary Department, China Agriculture Press, Beijing 100125, China)

**ABSTRACT:** In the 21st century, the development of China's dairy industry has achieved remarkable results. The scientific and technological achievements in contributed to improve dairy production, integrate processing resources, and enhance level and other aspects of the industry. *Policy for dairy industry (revised in 2009)* indicates the biotechnology, especially the genetic engineering technology, should be given priority to those key technologies concerning dairy processing. The application of the genetic engineering technology in 5 aspects, including milk yield-increasing, material and products-testing, germplasm-breeding, processing technic-optimizing and ingredients and flavor of dairy products-improving is demonstrated. Finally, the expectation which dairy industry develops with the help of the genetic engineering technology is shown.

**KEY WORDS:** genetic engineering technology; dairy product; ingredient; flavor; technic; germplasm; quality-testing; milk yield

## 1 引 言

乳制品是指以奶类为基本原料加工而成的食品。新中国成立, 尤其是改革开放以来, 在经济社会快速发展、乳品需求激增的拉动之下, 我国乳制品工业发展迅速, 成效显著<sup>[1]</sup>, 见表 1。

进入 21 世纪, 我国奶业面临发展方式的重大转型: 由速度型转向效益型、由数量型转向质量型、由传统型转向现代型, 机遇与挑战并存。为规范乳制品行业发展、保障质量安全, 工业和信息化部与国家发展和改革委员会会同有关部门共同发布了《乳制品工业产业政策(2009 年修订)》<sup>[2]</sup>。其中明确提出“乳品

\*通讯作者: 颜景辰, 博士, 编审, 中国农业出版社养殖业出版分社副社长, 主要研究方向为畜牧、兽医、水产图书出版。

E-mail: yjc98@sohu.com

\*Corresponding author: Yan Jing-Chen; Ph D, Senior Editor, Deputy Director of Animal Husbandry and Veterinary Department, Animal Husbandry and Veterinary Department, China Agriculture Press, Beijing 100125, China. E-mail: yjc98@sohu.com

加工关键技术重点发展膜分离技术、生物技术(包括基因工程、细胞工程、酶工程、发酵工程和生化工程等)……支持乳制品质量安全控制关键技术和乳制品中非乳成分检测技术的研究与开发。”可见,生物技术对于乳制品的重要性已经得到了国家政策制定者们的高度重视,发展前景可观。

作为生物技术中至关重要的组成部分,基因工程是指按人们意愿设计,通过改造基因或基因组而改变生物遗传特性的技术,可用于研究生命活动的规律和为社会提供产品、服务,已被广泛运用到农业产品、医疗卫生、工业与环境等方面。

具体到乳制品行业,基因工程技术在其中的应用大致可以分为生乳产量提高、原料及产品质检、种质选育、加工工艺改良与乳制品成分及风味改善五个方面。

## 2 生乳产量提高

牛生长激素(bovine somatotropin, BST)是牛脑部分分泌的一种蛋白质。考虑到其提高 11%~25%产奶量的增产效果,美国食品药品监督管理局(U. S. food and drug administration, FDA)早在 1993 年就批准了由大

肠杆菌工程菌种生产的该激素在奶牛中的商品化使用。而鉴于公众对其可能引起对健康危害的持续关注,全球范围内学术界、政府和奶牛场的科学家对其进行了多次实验,结果一致排除了牛生长激素对奶牛健康、环境及食品安全产生不良影响的可能性<sup>[3]</sup>,农业部也已认定,牛奶中的生长激素不会对人体健康构成威胁<sup>[4]</sup>。由此可见,该技术历经多年检验,仍不失为一种很有前景的实用性基因工程技术。

## 3 原料及产品质检

随着我国乳制品工业高速发展,消费群体日益扩大,乳制品已逐渐进入城乡居民的日常食品名单,公众由此对其质量提出了越来越高的要求。如何快速、准确地监测乳制品各项质量指标,确保食用安全成为社会各界关注的重要问题。在各种解决方案中,DNA 探针、聚合酶链式反应(polymerase chain reaction, PCR)、生物发光细菌(bioluminescent bacteria)及基因芯片(gene chip)等基因工程技术以其各自的优势得到乳制品工业的广泛认可和采用,已成为保障乳制品质量和监测食品安全风险不可或缺的工具(表 2)。

表 1 我国乳制品工业发展情况  
Table 1 Development of Chinese dairy industry

统计分类	细分项目	2007 年	2009 年	2011 年
原料奶产量	奶类总产量(万 t)	3633.40	3734.60	3810.70
	牛奶产量(万 t)	3525.20	3520.90	3657.80
乳制品加工	液态奶产量(万 t)	1441.02	1641.65	2060.80
	干乳制品产量(万 t)	346.42	293.47	326.70
居民乳制品消费	城镇居民人均年乳制品消费支出量(元/人)	160.72	196.14	234.01
	农村居民人均年乳制品消费量(kg/人)	3.52	3.60	5.16

表 2 基因工程技术在原料乳及乳产品质量检测中的应用  
Table 2 Application of genetic engineering technology in dairy material and product test

技术	主要用途
DNA 探针	检测乳品中的大肠杆菌、志贺氏菌、李斯特菌、沙门氏菌和金黄色葡萄球菌等,鉴定双歧杆菌 <sup>[5]</sup>
聚合酶链式反应	检测脱脂乳、全脂乳和干酪中的金黄色葡萄球菌 <sup>[6]</sup> ,检测牛奶中大肠杆菌 O157 H7 <sup>[7]</sup> ,鉴定双歧杆菌 <sup>[5]</sup> ,检测牛奶中的沙门氏菌,多重 PCR 可检测金黄色葡萄球菌、李斯特菌和大肠杆菌等
生物发光细菌	乳酸乳球菌、干酪乳杆菌等发酵剂的活性检测 <sup>[8]</sup>
基因芯片	高通量病原菌检测 <sup>[9]</sup> ,鉴别 6 种李斯特菌 <sup>[10]</sup> ,鉴定各种大肠杆菌 O157 H7 分离物 <sup>[11]</sup> ,检测婴儿奶粉中的阪崎肠杆菌 <sup>[12]</sup>

## 4 种质选育

微生物的航天育种是指利用高强度、大剂量宇宙射线辐射, 干燥环境及微重力场作用, 对微生物实现遗传诱变的育种方法。近年来, 随着我国航天技术的发展, 食品微生物的航天育种工作已经取得了初步的成效。2008 年 9 月 25 日, 光明乳业两种专利益生菌——植物乳杆菌 ST-III(*Lactobacillus plantarum* ST-III)及干酪乳杆菌 LC2W(*Lactobacillus casei* LC2W)就曾随“神舟七号”进入近地轨道 3 天后返回地面。对返回菌株存活性、发酵稳定性等测试、研究的结果表明, 两菌株遗传稳定性良好, 抗逆性优良。同时, 更从搭载样品中分离出一株胞外多糖性能更优的干酪乳杆菌菌株<sup>[13-16]</sup>。在此基础上, 光明乳业的三株菌种——“植物乳杆菌 ST-III”、“保加利亚乳杆菌 L99”以及新近发现的一个菌种, 将于 2014 年搭载在我国探月工程三期再入返回飞行实验的返回舱内, 再次探索航天育种<sup>[17]</sup>。

奶牛乳房炎是一种由条件性病原菌引起的乳腺综合征, 长期困扰着世界奶牛业的健康发展。该病不仅造成产奶量损失, 降低奶产品品质, 甚至危害到人类健康<sup>[18]</sup>。为了解决这一难题, 张涌及其团队成员<sup>[19]</sup>应用锌指核酶技术(zinc-finger nuclease, ZFN)将人溶菌酶基因(human lysozyme, hLYZ)导入牛胚胎成纤维细胞(bovine fetal fibroblast, BFF)染色体组中的 $\beta$ -酪蛋白位点, 再通过体细胞核移植的方式培育转基因奶牛。体外实验已经证实, 转基因奶牛分泌的乳汁具有杀死金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)的能力。在另一项研究中, 该团队<sup>[20]</sup>在体细胞核移植山羊中导入了重组人 $\beta$ -防御素-3(recombinant human  $\beta$ -defensin-3, rHBD3)基因, 使其所产乳汁具备了抗菌活性。研究者们相信, 他们的研究开创了一条增强奶畜疾病抗性, 改善其健康与福利的新途径。西北农林科技大学孙其信校长进一步预测<sup>[21]</sup>, 可抗御牛乳腺炎的转基因奶牛有望在 5~8 年内进入市场。

对与产奶量相关的候选基因进行限制性片段长度多态性(restriction fragment length polymorphism, RFLP)研究, 将筛选出的高产奶量相关分子标记用于辅助育种是现代奶牛育种的重要手段。蒋钦杨等<sup>[22]</sup>通过对催乳素(prolactin, PRL)基因进行的研究, 确定了该基因第 4 外显子上高产奶量的分子遗传

标记, 为早期选种选育和高产奶量奶牛品系的培育提供了参考。

除提高产奶量外, 分子标记辅助育种方法在改善生乳质量方面也有新发现。例如, 4 个新近在德国荷斯坦牛群体中被鉴定出来的主效数量性状位点(quantitative trait loci, QTL)可控制乳脂率<sup>[23]</sup>, 而 $\alpha$ S1-酪蛋白( $\alpha$ S1-casein,  $\alpha$ S1-CN)基因在埃塞俄比亚山羊中新发现的突变则可影响其乳汁的酪蛋白含量及凝乳特性<sup>[24]</sup>。在此基础上, 全基因组关联分析(genome-wide association study, GWAS)以其高通量、在全基因组范围内进行序列多态性筛选等优势, 获得了育种工作者的青睐。Littlejohn 及其团队<sup>[25]</sup>发现, 酰基甘油磷酸酰基转移酶 6(1-acylglycerol-3-phosphate acyltransferase 6, AGPAT6)基因表达上的变化能调节乳脂合成, 进而改变一系列的相关乳成分。

## 5 加工工艺改良

超氧化物歧化酶除了前文所述对于人类健康意义重要之外, 在乳制品发酵工艺中对菌株本身亦有帮助。菌株对氧不耐受是发酵生产中的常见问题, 将体外克隆的超氧化物歧化酶基因和过氧化氢酶基因导入发酵菌株中, 就可以改善其对氧的耐受性能。另外, 应用基因工程技术改变超氧化物歧化酶的调控基因, 也是提高菌株氧耐受性的一种思路<sup>[26]</sup>。

热稳定性是牛奶最重要的加工特性之一, 对这一特性进行改善的研究对于乳制品加工具有重要意义——在这个问题上, 基因工程也给出了自己的答案。牛乳酪蛋白中的丝氨酸易发生磷酸化而带上负电荷, 结合钙离子后发生沉淀。Golman<sup>[27]</sup>以丙氨酸代替丝氨酸, 减少磷酸化发生, 从而提高了牛奶的热稳定性, 防止热凝固现象的出现。

发酵菌株遗传不稳定和噬菌体敏感是生产实践中两种常见问题。幸而, 基因工程技术给出了整套解决方案。遗传不稳定源于遗传物质——质粒存在一定的丢失事件概率, 如将参与发酵作用的功能质粒整合进菌株染色体中, 则工程菌株发酵性能稳定性大大提高<sup>[26]</sup>。在解决噬菌体敏感问题方面, 研究者也给出了两种有效的基因工程方法, 即质粒抗噬菌体体系<sup>[28,29]</sup>和噬菌体编码的抗性系统<sup>[30]</sup>。由此, 可以展望未来构建出既性能稳定又抗噬菌体的工程菌株付诸生产。

凝乳酶是一种天冬氨酸蛋白酶,在干酪加工中应用广泛,其主要作用是促进乳汁凝结,以便排除乳清。传统来源是新生小牛皱胃,但该法已无法满足各国干酪消费量持续增长的需要。基因工程凝乳酶应运而生:把牛凝乳酶基因克隆到适合的载体上,再转入宿主菌中表达而获取。目前已开发出大肠杆菌<sup>[31]</sup>、霉菌<sup>[32]</sup>及酵母<sup>[33]</sup>表达系统。研究表明,重组酶除免疫特性稍有差异,其他如温度、酸碱度等对酶活性的影响与天然凝乳酶基本相同。

保质期内酸乳质量问题,尤其是后酸化问题是近年研究的热门领域。酸乳后酸化,不仅会导致酸味过重、乳清析出、感官质量下降等,还会引起部分益生菌活性的降低<sup>[34]</sup>。为此,部分研究者尝试从基因工程技术角度出发解决后酸化问题。目前,研究方向主要集中在改变细胞膜通透性和培育新菌种等方面。在改变通透性的研究中,Druesne及其团队<sup>[35]</sup>用丙氨酸代替了乳糖通透酶第552位的组氨酸,结果酸乳的后酸化程度得到明显改善;在培育新菌种的尝试中,研究者采用人工诱变育种等技术改变保加利亚乳杆菌 $\beta$ -半乳糖苷酶的活性,得到高温时产酸能力强、低温时产酸能力弱的新菌种来控制后酸化<sup>[36]</sup>。

## 6 乳制品成分及风味改善

### 6.1 成分改善

在乳制品成分的改善方面,基因工程科学家们有两种不同思路:提高有益成分含量与降低有害成分含量。

#### 6.1.1 有益成分含量提高

超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)是机体防御氧自由基的重要酶类,具有调节免疫、促进发育和延缓衰老等多种作用<sup>[37]</sup>。我国学者分别在乳酸乳球菌和保加利亚乳杆菌(*Lactobacillus bulgaricus* L6032)中实现了人铜/锌超氧化物歧化酶和大肠杆菌锰超氧化物歧化酶基因的转化<sup>[38,39]</sup>,提高了保加利亚乳杆菌的氧耐受性,并为日后的超氧化物歧化酶发酵酸奶奠定了基础。

部分乳酸菌在发酵过程中可产生一些具抑菌、杀菌作用的细菌素<sup>[40]</sup>,对产品的防腐具有重要作用。例如,乳链球菌素(Nisin,产自乳酸乳球菌)、片球菌素(pediocin PA-1,产自乳酸片球菌)和 Lactacin F(产自乳酸乳杆菌)都属于多肽类物质,是目前应用最广的

几种细菌素<sup>[41]</sup>。

Maisnier-Patin等<sup>[42]</sup>尝试将片球菌素基因克隆并转化到乳球菌中表达,结果显示,实验组奶酪的李斯特菌数不足对照组的1/1000<sup>[43]</sup>,而多种发酵指标与对照组相比均无显著差异。此外,在乳酸菌菌株中导入来源于噬菌体的细菌细胞壁裂解酶基因,也可提高其抗菌能力<sup>[44]</sup>。

谷胱甘肽硫转移酶(glutathione S-transferase, GST)具有解毒作用,对于对抗侵入机体的致癌物、诱变剂起着至关重要的作用<sup>[3]</sup>。向华等<sup>[45]</sup>成功获得表达人谷胱甘肽硫转移酶A1基因(human glutathione S-transferase alpha 1, hGSTA1)的乳酸乳球菌菌株,有望研制具有抗癌功效的乳制品。

$\omega$ -3 脂肪酸包含二十碳五烯酸(eicosapentaenoic acid, EPA)和二十二碳六烯酸(docosahexaenoic acid, DHA, 俗称“脑黄金”),对人类健康有重要作用,能够预防心血管疾病,并能促进儿童大脑发育。Wu等<sup>[46]</sup>利用克隆技术,将秀丽隐杆线虫(*Caenorhabditis elegans*)的脂肪酸脱氢酶基因转入奶牛。该奶牛产犊后,研究人员对其牛奶进行了检测。结果表明,奶中 $\omega$ -3 脂肪酸含量是普通牛奶的近4倍,而其中的 $\omega$ -6 不饱和脂肪酸(与癌症和心脏病有关)只有普通含量的1/2。

#### 6.1.2 有害成分含量降低

乳糖是乳制品中主要的糖,患乳糖不耐受症的人由于体内缺乏乳糖酶而无法消化牛奶。如何降低乳制品中乳糖的含量一直是科学家关注的问题。

Wang等<sup>[47]</sup>先后将来自于保加利亚乳杆菌(WCH9901)和德氏乳杆菌保加利亚亚种的 $\beta$ -半乳糖苷酶基因转入乳酸乳球菌(MG1363)<sup>[48]</sup>和大肠杆菌<sup>[49]</sup>中表达。使用具有半乳糖苷酶活性的乳酸菌生产乳制品,为有效降低乳糖含量提供了一种参考方法。

周欢敏及其团队<sup>[50]</sup>运用转基因体细胞克隆的方法,成功培育出体内表达乳糖分解酶的转基因奶牛,待其正常产犊后,有望生产低乳糖牛奶。参与此研究的科学家更加希望,在可预见的未来大批培育这种奶牛,以获得显著的经济和社会效益。

部分婴儿在出生后的第一年中会对牛奶蛋白质过敏,而 $\beta$ -乳球蛋白就是牛奶中一种能导致过敏反应的蛋白质。新西兰研究人员通过对奶牛进行基因工程技术处理,使其生产的牛奶几乎不含这种蛋白质<sup>[51]</sup>。通过RNA干扰技术(RNA interference, RNAi),

Anower 及其同事培育的转基因奶牛的牛奶中  $\beta$ -乳球蛋白含量降低了 96%。

## 6.2 风味改善

双乙酰是乳制品发酵风味的核心成分,其产生于丙酮酸在  $\alpha$ -乙酰乳酸合成酶作用下形成的  $\alpha$ -乙酰乳酸。但  $\alpha$ -乙酰乳酸性质不稳定,易在  $\alpha$ -乙酰乳酸脱羧酶( $\alpha$ -acetolactate decarboxylase)作用下形成 3-羟基-2-丁酮,只有在缺少脱羧酶又有氧气存在的条件下,才能转变成成为双乙酰。

据此,工业上普遍利用产双乙酰能力强的  $\alpha$ -乙酰乳酸脱羧酶缺陷型乳酸菌菌株进行生产,但该菌株对噬菌体敏感,一旦发生侵染则无菌株可以替换。由此,科学家们想出了利用营养缺陷型培养基筛选目标菌株的方法<sup>[52]</sup>。实验获得的菌株经验证不含任何外源 DNA,具有可靠的安全性。经进一步检验,其产酸速度、总量与对照组并无明显差异,而由其试制发酵奶油的双乙酰浓度显著高于对照组。

乳酸菌分泌的胞外多糖(exopolysaccharides, EPS)可为发酵产品增稠,使其质地细腻,口感润滑。这种改善与多糖分子大小密切相关。通过控制多糖延长基因的表达水平,就可以实现对胞外多糖分子大小的控制。据报道,在多糖绝对量不变的情况下,仅将其相对分子质量提高一倍,产品就可以表现出明显的稠度、质地变化<sup>[40]</sup>。

奶制品工业是一个蓬勃发展,欣欣向荣的行业,基因工程技术领域的不断创新则为这个行业的持续、快速发展添砖加瓦,保驾护航。纵观国内重点奶业科技研究单位——光明乳业股份有限公司乳业生物技术国家重点实验室、东北农业大学国家乳业工程技术研究中心和内蒙古农业大学乳品生物技术与工程教育部重点实验室等,都不约而同地把乳酸菌菌种选育、功能性乳品开发及干酪加工新技术研发作为主要的研究方向——一方面,这是出于满足现代人对多层次、高质量乳制品需求的现实考虑,另一方面,这也是解决目前我国乳制品行业产品结构单一、加工工艺缺乏创新等问题的实际需要。幸运的是,基因工程技术在以上领域都已有所建树。可以预见,在不久的将来,基因工程技术的新发现、新成果将不断通过产、学、研结合的方式,转化到乳制品工业这架高速前行的马车上,促使其在新的征程上续写辉煌。

## 参考文献

- [1] 刘成果.中国奶业史[M].北京:中国农业出版社,2013.  
Liu CG. History of Chinese dairy industry[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2013.
- [2] 中华人民共和国工业和信息化部产业司. 乳制品工业产业政策(2009年修订)[EB]. <http://www.miit.gov.cn/n11293472/n11293832/n11293907/n11368223/12440497.html>.  
Ministry of Industry and Information Technology Industries Division People's Republic of China. Policy for dairy industry (revised in 2009) [EB]. <http://www.miit.gov.cn/n11293472/n11293832/n11293907/n11368223/12440497.html>.
- [3] 张英来. 牛生长激素(BST)对奶牛健康环境及食品安全的影响[J]. 中国乳业, 2002(7): 19-20.  
Zhang YL. Impact of bovine somatotropin (BST) to dairy cows healthy environment and food safety[J]. China Dairy, 2002(7): 19-20.
- [4] 中华人民共和国农业部农产品质量安全监管局.《农产品质量安全 50 问》“激素奶”到底有没有? [EB] [http://www.moa.gov.cn/ztzl/qgsapaqcz/201306/t20130628\\_3507022.htm](http://www.moa.gov.cn/ztzl/qgsapaqcz/201306/t20130628_3507022.htm).  
People's Republic of China Ministry of Agriculture, the quality and safety of agricultural Authority. 50 questions on quality and safety of agricultural products: Does "hormone milk" exist? [EB] [http://www.moa.gov.cn/ztzl/qgsapaqcz/201306/t20130628\\_3507022.htm](http://www.moa.gov.cn/ztzl/qgsapaqcz/201306/t20130628_3507022.htm).
- [5] Kaufmann P, Pfefferkorn A, Teuber M, et al. Identification and quantification of *Bifidobacterium* species isolated from food with genus-specific 16S rRNA-targeted probes by colony hybridization and PCR[J]. Appl Environ Microbiol. 1997, 63(4): 1268-1273.
- [6] Kim CH, Khan M, Morin DE, et al. Optimization of the PCR for detection of *Staphylococcus aureus* nuc gene in bovine milk[J]. J Dairy Sci, 2001, 84(1):74-83.
- [7] Sharma VK, Dean-Nystrom EA. Detection of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 by using a multiplex real-time PCR assay for genes encoding intimin and Shiga toxins[J]. Vet Microbiol, 2003, 93(3): 247-260.
- [8] Stewart G, Smith T, Denyer S. Genetic engineering for bioluminescent bacteria[J]. Food Sci Technol Today, 1989, 3: 19-22.
- [9] Chizhikov V, Rasooly A, Chumakov K, et al. Microarray analysis of microbial virulence factors[J]. Appl Environ Microbiol, 2001, 67: 3258-3263.
- [10] Volokhov D, Rasooly A, Chumakov K, et al. Identification of *Listeria* species by microarray-based assay[J]. J Clin Microbiol, 2002, 40(12): 4720-4728.
- [11] Call DR, Brockman FJ, Chandler DP. Detecting and Genotyping

- Escherichia coli* O157:H7 using multiplexed PCR and nucleic acid microarrays[J]. *Int J Food Microbiol*, 2001, 67: 71–80.
- [12] Wang M, Cao B, Gao Q, *et al.* Detection of *Enterobactersakazakii* and other pathogens associated with infant formula powder by use of a DNA microarray[J]. *J Clin Microbiol*, 2009, 47(10): 3178–3184.
- [13] Ai LZ, Zhang H, Guo BH, *et al.* Preparation, partial characterization and bioactivity of exopolysaccharides from *Lactobacillus casei* LC2W[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2008, 74(3): 353–357.
- [14] Ai LZ, Guo BH, Zhang H, *et al.* Isolation and antihypertensive effect of exopolysaccharides from *Lactobacillus casei* LC2W[J]. *Milchwissenschaft*, 2008, 63(1): 3–6.
- [15] Liu ZD, Guo BH, Wang YY, *et al.* Cholesterol removal from media by *Lactobacillus plantarum* ST-III[J]. *Milchwissenschaft*, 2008, 63(2): 134–137.
- [16] Guo X, Zhou FF, Chen C, *et al.* Antagonistic activities of *Lactobacillus plantarum* Guo against enteric pathogens and its protective effect on Caco-2 cells[J]. *Milchwissenschaft*, 2010, 65(1): 28–31.
- [17] 光明乳业股份有限公司. 光明乳业成为中国探月工程质量保障对标合作企业[EB]. <http://www.brightdairy.com/news-detail.php?cid=11&id=29950>.  
Bright Dairy & Food Co., Ltd. Bright became Chinese lunar exploration joint venture on the standard of quality assurance[EB]. <http://www.brightdairy.com/news-detail.php?cid=11&id=29950>.
- [18] 丁伯良, 冯建忠, 张国伟. 奶牛乳房炎[M]. 北京:中国农业出版社, 2011.  
Ding BL, Feng JZ, Zhang GW. Cow Mastitis[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2011.
- [19] Liu X, Wang YS, Tian YC, *et al.* Generation of mastitis resistance in cows by targeting human lysozyme gene to  $\beta$ -casein locus using zinc-finger nucleases[J]. *Proc Biol Sci*, 2014, 281(1780): 20133368.
- [20] Liu J, Luo Y, Ge H, *et al.* Anti-bacterial activity of recombinant human  $\beta$ -defensin-3 secreted in the milk of transgenic goats produced by somatic cell nuclear transfer[J]. *PLoS One*, 2013, 8(6): e65379.
- [21] Shan J. GM cow a step closer to commercial pastures[EB]. [http://www.chinadaily.com.cn/china/2014-03/15/content\\_17348373.htm](http://www.chinadaily.com.cn/china/2014-03/15/content_17348373.htm).
- [22] 刘瑞鑫, 韦玲静, 董博, 等. 娟姗牛催乳素基因型与产奶量的关联性分析[J]. *南方农业学报*, 2013, 44(11): 1904–1908.  
Liu RX, Wei LJ, Dong B, *et al.* Relation analysis of prolactin genotypes and milk yield of Jersey cow[J]. *JS Agric*, 2013, 44(11): 1904–1908.
- [23] Wang X, Wurmser C, Pausch H, *et al.* Identification and dissection of four major QTL affecting milk fat content in the German Holstein-Friesian population[J]. *PLoS One*, 2012, 7(7): e40711.
- [24] Mestawet TA, Girma A, Adnøyy T, *et al.* Newly identified mutations at the CSN1S1 gene in Ethiopian goats affect casein content and coagulation properties of their milk[J]. *J Dairy Sci*, 2013, 96(8): 4857–4869.
- [25] Littlejohn MD, Tiplady K, Lopdell T, *et al.* Expression variants of the lipogenic AGPAT6 gene affect diverse milk composition phenotypes in *Bostaurus*[J]. *PLoS One*, 2014, 9(1): e85757.
- [26] 谢继志. 液态乳制品科学与技术[M]. 北京:中国轻工业出版社, 1998.  
Xie JZ. Science and technology of liquid dairy[M]. Beijing: China Light Industry Press, 1998.
- [27] Golman A. Production of proteins in the milk of transgenic livestock: problems, solutions, and successes[J]. *Am J Clin Nutr*, 1996, 63(4): 639S–645S.
- [28] Yasin T, Mustafa A. A protein which masks galactose receptor mediated phage susceptibility in *Lactococcuslactis* subsp. *lactis* MPL56[J]. *Int J Food Sci Technol*, 2002, 37(2): 139–144.
- [29] Forde A, Fitzgerald GF. Molecular organization of exopolysaccharide (EPS) encoding genes on the lactococcal bacteriophage adsorption blocking plasmid, pCI658[J]. *Plasmid*, 2003, 49(2): 130–142.
- [30] McGrath S, Fitzgerald GF, van Sinderen D. Improvement and optimization of two engineered phage resistance mechanisms in *Lactococcuslactis*[J]. *Appl Environ Microbiol*, 2001, 67(2): 608–616.
- [31] Jiang T, Chen LJ, Xue L, *et al.* Study on milk-clotting mechanism of rennet-like enzyme from glutinous rice wine: proteolytic property and the cleavage site on kappa-casein[J]. *J Dairy Sci*, 2007, 90(7): 3126–3133.
- [32] Supanee C, Derek G, James M, *et al.* Site-specific mutations of calf chymosin B which influence milk-clotting activity[J]. *Food Chem*, 1998, 62(2): 133–139.
- [33] Cardoza RE, Gutiérrez S, Ortega N, *et al.* Expression of a synthetic copy of the bovine chymosin gene in *Aspergillus awamori* from constitutive and pH-regulated promoters and secretion using two different pre-pro sequences[J]. *Biotechnol Bioeng*, 2003, 83(3): 249–259.
- [34] Ongol MP, Sawatari Y, Ebina Y, *et al.* Yoghurt fermented by *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* H<sup>+</sup>-ATPase-defective mutants exhibits enhanced viability of *Bifidobacteriumbreve* during storage[J]. *Int J Food Microbiol*, 2007, 116(3): 358–366.
- [35] Druesne A, Garault P, Faurie J, *et al.* Mutant strains of lactic acid bacteria having a non-phosphorylatable lactose permease: US, US 20090238921 A1[P]. 2009-09-24.

- [36] Benbadis L, Brignon P, Gendre F. Mutant lactobacillus bulgaricus strains free from beta-galactoside activity: US, WO 1999061627 A3[P]. 2000-02-03.
- [37] 丁寅寅, 马会勤, 左芳雷, 等. 乳酸菌载体 pMG36e 的应用现状[J]. 中国生物工程杂志, 2009, (11): 106–111.  
Ding YY, Ma HQ, Zuo FL, *et al.* Application of vector pMG36e in lactic acid bacteria[J]. China Biotechnol, 2009, (11): 106–111.
- [38] 向华, 卫文仲, 谭华荣, 等. 人铜锌超氧化物歧化酶基因的克隆和在乳酸乳球菌中的表达[J]. 生物工程学报, 2000, 16(1): 6–9.  
Xiang H, Wei WZ, Tan HR, *et al.* Clone and expression in *Lactococcuslactis* of human Cu/Zn superoxide dismutase gene[J]. Chin J Biotechnol, 2000, 16(1): 6–9.
- [39] 黄勇, 张德纯. 锰超氧化物歧化酶基因的克隆和在保加利亚乳杆菌中的表达[J]. 食品科学, 2005, 26(5): 92–95.  
Huang Y, Zhang DC. Clone and expression in *Lactobacillus bulgaricus* of Mn superoxide dismutase gene[J]. Food Sci, 2005, 26(5): 92–95.
- [40] 杨玉琢, 刘立静. 基因工程对乳酸菌发酵剂的改良应用[J]. 中国乳品工业, 2005, 33(7): 33–35, 39.  
Yang YZ, Liu LJ. Improvement of genetic engineering to lactic acid bacteria leavening agent[J]. China Dairy Ind, 2005, 33(7): 33–35, 39.
- [41] Jack RW, Tagg JR, Ray B. Bacteriocins of gram-positive bacteria[J]. Microbiol Rev, 1995, 59: 171 .
- [42] Maisnier-Patin S, Deschamps N, Tatini S R, *et al.* Inhibition of *Listeria monocytogenes* in Camembert cheese made with a nisin-producing starter[J]. Lair, 1992, 72(3): 249–263.
- [43] Delcour J, Ferain T, Hols P. Advances in the genetics of thermophilic lactic acid bacteria[J]. Curr Opin Biotechnol, 2000, 11(5): 497–504.
- [44] Gaeng S, Scherer S, Neve H, *et al.* Gene cloning and expression and secretion of *Listeria monocytogenes* bacteriophage-lytic enzymes in *Lactococcuslactis*[J]. Appl Environ Microbiol, 2000, 66(7): 2951–2958.
- [45] 向华, 张亦清, 卫文仲, 等. 人谷胱甘肽硫转移酶 A1 在乳酸乳球菌中的表达及活性研究[J]. 微生物学报, 2000, 40(2): 130–138.  
Xiang H, Zhang YQ, Wei WZ, *et al.* Study of expression and activity of human glutathione S-transferases A1 in *Lactococcuslactis*[J]. Acta Microbiol Sinica, 2000, 40(2): 130–138.
- [46] Wu X, Ouyang H, Duan B, *et al.* Production of cloned transgenic cow expressing omega-3 fatty acids[J]. Transgenic Res, 2012, 21(3): 537–543.
- [47] Wang C, Zhang CW, Liu HC, *et al.* Non-fusion and fusion expression of beta-galactosidase from *Lactobacillus bulgaricus* in *Lactococcuslactis*[J]. Biomed Environ Sci, 2008, 21(5): 389–397.
- [48] Wang C, Liu HC, Pei XF, *et al.* Construction and property study of recombinant *Lactococcuslactis* with non-fusion expressing of beta-galactosidase[J]. J Sichuan Univ (Med Sci Edi), 2009, 40(1): 29–32.
- [49] Wang C, Zhang CW, Yu Q, *et al.* Beta-galactosidase gene from *Lactobacillus delbrueckii*subsp. *bulgaricus* gets non-fusion expression in *Escherichia coli*[J]. J Sichuan Univ (Med Sci Edi), 2008, 39(4): 544–546.
- [50] 贾立君, 邓华. 世界首例转基因“低乳糖奶牛”在内蒙古诞生 [EB].  
[http://news.xinhuanet.com/tech/2012-06/11/c\\_123262571.htm](http://news.xinhuanet.com/tech/2012-06/11/c_123262571.htm).  
Jia LJ, Deng H. The world's first transgenic "low-lactose milk cow" born in Inner Mongolia[EB]. [http://news.xinhuanet.com/tech/2012-06/11/c\\_123262571.htm](http://news.xinhuanet.com/tech/2012-06/11/c_123262571.htm).
- [51] Anower J, Stefan W, Judi M, *et al.* Targeted microRNA expression in dairy cattle directs production of  $\beta$ -lactoglobulin-free, high-casein milk[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2012, 109(42): 16811–16816.
- [52] Kuipers OP. Genomics for food biotechnology: prospects of the use of high-throughput technologies for the improvement of food microorganisms[J]. Curr Opin Biotechnol, 1999, 10(5): 511–516.

(责任编辑: 邓伟)

## 作者简介



肖邦, 博士, 编辑, 中国农业出版社养殖业出版社编辑, 主要研究方向为畜牧、兽医、水产图书出版。

E-mail: xiaobang1983@126.com



颜景辰, 博士, 编审, 中国农业出版社养殖业出版社副社长, 主要研究方向为畜牧、兽医、水产图书出版。

E-mail: yjc98@sohu.com