

转录组学在乳酸菌研究中的应用

步雨珊¹, 杨 慧¹, 易华西^{1*}, 黄冬成², 张兰威¹

(1. 中国海洋大学食品科学与工程学院, 青岛 266000; 2. 黑龙江大三源乳品机械有限公司, 哈尔滨 150001)

摘 要: 转录组学是一门从 RNA 水平上研究基因表达情况的学科, 是一种重要的生命科学研究手段, 被广泛应用到多个物种的研究中。乳酸菌作为一类公认安全的食品工业微生物, 在发酵食品工业中发挥着重要作用。随着乳酸菌分子水平研究的快速发展, 乳酸菌转录组学日益成为研究热点。本文对转录组学及其研究技术进行综述, 阐述了转录组学在研究乳酸菌生长代谢调控机制、环境胁迫应激反应、发酵及益生功能中的应用, 并对乳酸菌转录组学研究存在的问题及发展趋势进行了讨论, 期望为乳酸菌转录组学研究提供参考。

关键词: 乳酸菌; 转录组学; 测序; 应用

Application of transcriptomics in the research of lactic acid bacteria

BU Yu-Shan¹, YANG Hui¹, YI Hua-Xi^{1*}, HUANG Dong-Cheng², ZHANG Lan-Wei¹

(1. College of Food Science and Engineering, Ocean University of China, Qingdao 266000, China;
2. Heilongjiang Dasanyuan Dairy Machinery Co., Ltd., Harbin 150001, China)

ABSTRACT: Transcriptomics is a subject that studies gene expression at the RNA level, which is an important method of life science and is widely used in the study of many species. Lactic acid bacteria, generally regarded as safe microorganisms, play a vital role in fermented food industry. As the development of genetic level study on lactic acid bacteria, the transcriptomics of lactic acid bacteria has become a hot topic. This paper summarized the transcriptomics and its research techniques, described the application of the transcriptomics in the study of growth and metabolism regulation mechanisms, stress responses to environmental stress, fermentation and probiotic functions of lactic acid bacteria, and discussed the problems and the future of the transcriptomics of lactic acid bacteria, in order to provide information for the research of the transcriptomics of lactic acid bacteria.

KEY WORDS: lactic acid bacteria; transcriptomics; sequencing; application

1 引 言

乳酸菌是指发酵碳水化合物(主要为葡萄糖), 主要产物为乳酸的一类无芽孢、革兰氏阳性细菌的统称^[1]。乳酸菌在自然界中广泛分布, 发酵食品、青贮饲料、水果以及人类和动物的肠道中均有存在^[2,3]。乳酸菌具有良好的营养功效和保健功能, 乳酸菌发酵的食品不仅风味独特、营养

丰富, 而且其产生的乳酸和细菌素等代谢产物可以有效地抑制食品中腐败菌或致病菌的生长, 有利于食品保鲜^[4]。同时乳酸菌作为一种益生菌, 具有缓解乳糖不耐症, 维持肠道菌群平衡, 清除体内自由基, 降低血清胆固醇, 增强机体免疫力, 防癌抗肿瘤等功能, 有益于人体健康^[5-10]。20 世纪 90 年代以来, 伴随着分子生物学技术的快速发展, 生命科学研究进入了后基因组时代^[11]。转录组学、蛋白质组

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(31771988, 31571850)

Fund: Supported by the National Natural Science Foundation of China (31771988, 31571850)

***通讯作者:** 易华西, 教授, 博士生导师, 主要研究方向为乳品生物技术。E-mail: yihx@ouc.edu.cn

***Corresponding author:** YI Hua-Xi, Professor, College of Food Science and Engineering, Ocean University of China, Qingdao 266000, China. E-mail: yihx@ouc.edu.cn

学、代谢组学等组学技术相继出现, 其中转录组学是发展最早及应用最广的技术之一^[12]。转录组学是研究基因结构及基因功能的出发点, 对于揭示生物体生长发育调控规律, 分析群落中微生物多样性, 阐明微生物功能分子机制具有重要意义^[13,14]。由于乳酸菌在工业、农牧业、食品和医学卫生等领域均有广泛应用, 乳酸菌的全基因组测序迅猛发展。为了进一步挖掘乳酸菌潜力, 近年来, 研究者利用转录组学技术研究乳酸菌的生长代谢机制, 解析乳酸菌对环境胁迫的应激机理, 明确乳酸菌在发酵过程中的生理变化, 从分子水平上探索乳酸菌的益生功效, 发掘了乳酸菌重要的功能基因, 促进了乳酸菌优良菌株的选育和改造, 提升了发酵食品的工业化水平, 使定向调控乳酸菌的生理功能和高效开发乳酸菌制品成为现实, 为乳酸菌的高效利用提供科学指导。本研究对转录组学及其研究技术进行综述, 以期对乳酸菌转录组学研究提供参考。

2 转录组学

2.1 转录组学概况

转录组的概念是 1995 年 Velculescu 等^[15]在研究酵母菌基因组的基因表达时首次提出的。转录组广义上是指不同细胞或者组织在特定的生长发育阶段或一定的生理条件下所转录的所有 RNA 的集合, 包括编码蛋白的 mRNA 和一些非编码 RNA, 如核糖体 RNA (rRNA)、转运 RNA (tRNA) 以及小 RNA (microRNA)、核仁小 RNA (snoRNA)、长链非编码 RNA (lncRNA) 等, 狭义上则只指编码蛋白的 mRNA^[16]。转录组学以样品中的全部转录本为研究对象, 从群体水平上研究功能基因的表达水平及转录调控规律, 带动了分子生物学的高速发展^[17]。

2.2 转录组学研究技术

2.2.1 微阵列基因芯片技术

转录组学的研究技术主要包括两种, 即基于杂交的微阵列基因芯片技术和基于测序的转录组测序技术^[18]。微阵列基因芯片技术是将荧光标记的样品与固定在载体上已知序列的探针进行杂交, 根据碱基互补配对原则, 通过检测杂交信号获取样品序列信息, 存在特异性低、样品制备复杂、操作繁琐等缺陷, 限制了其在转录组学中的应用^[19]。

2.2.2 转录组测序技术

(1) 第一代测序技术

转录组测序技术是目前转录组学分析的主要手段, 根据其发展阶段可分为第一代测序技术、第二代测序技术和第三代测序技术^[20]。第一代测序技术包括早期基于 Sanger 测序的表达序列标签技术 (expressed sequence tag, EST)、基因表达序列分析技术 (serial analysis of gene expression, SAGE) 和大规模平行测序技术 (massively parallel signature sequencing, MPSS) 等^[21], 其基本原理是以

mRNA 反转录得到的 cDNA 两端具有的一段序列为序列标签来反映基因的表达水平, 这些方法测序通量低, 成本高, 难以实现自动化, 不是转录组学的最佳分析方法^[22]。

(2) 第二代测序技术

第二代测序技术是基于新一代高通量测序技术的 RNA-Seq 技术, 以 Roche 公司的 454 技术、Illumina 公司的 Solexa 技术和 ABI 公司的 SOLiD 技术为代表^[23]。RNA-Seq 技术通过提取样品中总 RNA, 对 mRNA 富集后进行片段化处理, 然后反转录为 cDNA, 连接测序接头, 利用 PCR 扩增后使用高通量测序仪进行测序^[24]。测序结束后对下机数据进行质控与过滤, 将得到的高质量净读段与已知参考基因组比对或进行从头组装, 从而获得转录本的全面遗传信息^[25,26]。RNA-Seq 技术可以应用于诸多方面, 最主要的是进行基因表达水平分析。RNA-Seq 技术是一种定量技术, 对测序结果进行标准化处理后可以较准确地获取不同样本基因的表达量, 进而利用错误发现率 (false discovery rate, FDR) 与差异倍数 (fold change, FC) 筛选出差异表达基因, 并对差异基因进行 GO 功能注释和 KEGG 通路富集分析, 推测基因的功能^[27,28]。RNA-Seq 技术还能够发现稀有转录本和全新的转录本, 用于分析可变剪切、融合基因、单核苷酸多态性、插入缺失及非编码转录本等^[29]。RNA-Seq 技术作为一种高效、快捷的转录组学研究手段, 是对传统测序技术的变革, 可以在较短的时间内完成高通量测序, 灵敏度强, 分辨率高, 重复性好, 成本低, 不受物种限制, 成为转录组学研究中的重要技术平台^[30,31]。

(3) 第三代测序技术

第三代测序技术是基于单分子测序的 Iso-Seq 技术, PacBio 公司的单分子实时测序技术 (single molecule real time sequencing, SMRT-Seq) 和 Oxford Nanopore Technologies 公司的纳米孔单分子测序技术是代表性技术^[32]。相比于前二代测序技术, 第三代测序技术的最大优势是进行单分子实时测序, 样品所需量少; 不需要进行 PCR 扩增步骤, 避免了此过程可能出现的错误; 具有超长读长, 不受 GC 含量影响, 解决了短序列基因组组装的困扰^[33]。由于受到技术条件的限制, 第三代测序技术存在随机测序错误率高和测序价格昂贵等问题, 目前还处于优化阶段^[34]。

3 转录组学在乳酸菌研究中的应用

3.1 转录组学在乳酸菌生长代谢调控研究中的应用

由于乳酸菌生长对营养条件要求严格, 能量代谢复杂, 大多关于乳酸菌生长代谢的研究仅限于表层, 利用转录组学对乳酸菌的生长代谢机制进行深入研究, 可以调控乳酸菌的生长, 在全球上优化乳酸菌的代谢能力, 能够使乳酸菌得到更好的利用。Laakso 等^[35]利用转录组学和蛋白质组学研究鼠李糖乳杆菌 GG (*Lactobacillus rhamnosus*

GG)在工业型乳清培养基上的生长情况,结果表明从对数生长中期到稳定期末期共有 636 个基因和 116 个蛋白发生了显著变化,其中 61 个蛋白在转录水平上发生改变。在对数期向稳定期过渡时,鼠李糖乳杆菌 GG 由利用葡萄糖转变为半乳糖,从同型乳酸发酵变成混合酸发酵。另外鼠李糖乳杆菌 GG 体内促进其在宿主中存活的基因以及有利于人类健康的蛋白均随其生长发生改变,说明了鼠李糖乳杆菌 GG 在生长代谢过程中具有高度的适应性和灵活性。Chen 等^[36]通过转录组学和生理学相结合的方法对以低聚果糖或葡萄糖作为唯一碳源的植物乳杆菌 ST-III (*L.plantarum* ST-III)对数生长期的代谢变化进行研究,发现了 363 个差异基因,两个磷酸转移酶系统和 α -呋喃果糖苷酶参与了低聚果糖代谢过程,生长于低聚果糖的菌株中与脂肪酸生物合成相关的基因呈现下调趋势。以上结果为进一步研究乳酸菌在肠道中利用益生元改善宿主健康的机制奠定了基础。陆文伟^[37]构建了嗜热链球菌 ST2017 (*Streptococcus thermophilus* ST2017)的 *CodY* 突变菌株,转录组测序结果显示 *CodY* 基因敲除后有 87 个基因差异表达,建立了嗜热链球菌 ST2017 全局转录调控因子 *CodY* 的调控网络,提出 *CodY* 通过谷氨酸脱氢酶来控制菌株氮、碳代谢的转化。焦月华^[38]利用转录组学对粪肠球菌 LD33 (*Enterococcus faecalis* LD33)在发酵和有氧呼吸代谢条件下的基因表达差异情况进行分析,发现粪肠球菌 LD33 有氧呼吸链编码基因属于组成型表达,并结合代谢产物分析研究了其在有氧呼吸条件下糖代谢的主要途径。基于以上结果,通过正交试验确定了最佳增殖培养基,提高了粪肠球菌 LD33 的活菌数和长期储存的存活率。

3.2 转录组学在乳酸菌环境胁迫应激研究中的应用

乳酸菌在工业生产过程中会面临极端温度、酸碱、氧、盐、乙醇等一系列环境胁迫,影响细胞的生理状况、基因转录和蛋白质表达等,造成细胞活性下降甚至死亡,严重阻碍了工业生产,因此明确乳酸菌对环境胁迫的应激机制,从而优化乳酸菌的生产性能对于提高乳酸菌的耐受性和高效利用乳酸菌极为重要。Arnold 等^[39]利用转录组学研究鼠李糖乳杆菌 AMC143 (*L.rhamnosus* AMC143)和鼠李糖乳杆菌 AMC010 (*L.rhamnosus* AMC010)在酸、碱、胆汁胁迫的模拟肠道环境中的基因表达差异,与对照组相比,分别发现了 79 个和 216 个差异基因。进一步结合 RT-qPCR 和基因插入失活,发现了鼠李糖乳杆菌 AMC143 具有较强的胆汁抗性,是由于体内胆汁盐水解酶基因 *bsh* 表达量很低, *bsh* 可能对胆汁应激期间的细菌存活有害。Olguin 等^[40]研究了乙醇对酒类酒球菌 PSU-1 (*Oenococcus oeni* PSU-1)的影响,转录组学结果表明乙醇主要影响与代谢物转运以及细胞壁、细胞膜生物合成相关的基因,另外发现热休克蛋白 Hsp20 和二肽酶在面对乙醇胁迫时会过表达。赵山山^[41]

采用 RNA-seq 技术研究了植物乳杆菌 ST-III (*L.plantarum* ST-III)的耐盐机制,结果表明编码无机离子及相容性溶质转运体的基因,以及与细胞壁、细胞膜生物合成和 DNA 修复相关的基因在植物乳杆菌 ST-III 应对盐胁迫时起到了重要作用。同时发现甘氨酸甜菜碱诱导了与碳水化合物转运和代谢以及核糖体结构和合成相关的基因,帮助植物乳杆菌 ST-III 适应高盐环境,为阐明植物乳杆菌 ST-III 耐盐机制提供了分子基础。宋雪飞等^[42]在转录水平上对植物乳杆菌 FS5-5 (*L.plantarum* FS5-5) 与盐胁迫相关基因的表达进行了研究。结果显示受到盐胁迫时,植物乳杆菌 FS5-5 通过苹果乳酸酶分解 *L*-苹果酸,改变细胞壁特性,抑制糖磷酸化及转运过程,抑制氨基酸转运和代谢,减少维生素合成,降低核苷酸水平,限制蛋白质合成来进行自我保护,为提高工业生产中乳酸菌耐受性提供了理论依据。闫洪波等^[43]从转录组层面上探究了环境胁迫对类植物乳杆菌 L-ZS9 (*L.paraplantarum* L-ZS9)细菌素合成相关基因的影响,有 927 个基因具有显著差异,其中 744 个上调,183 个下调,上调基因主要存在于细胞黏连、免疫系统、生殖过程、细胞外基质、*D*-丙氨酰载体和电子传递载体等系统中。KEGG 通路富集分析结果表明 ABC 转运途径是富集最显著的通路,说明类植物乳杆菌 L-ZS9 细菌素的合成与 ABC 转运途径密切相关。上述结果为研究类植物乳杆菌细菌素合成调节机制以及环境胁迫对其影响提供了基础。

3.3 转录组学在乳酸菌发酵性能研究中的应用

乳酸菌发酵具有广阔的发展前景,发酵乳制品、发酵肉制品、发酵蔬菜和发酵豆制品等的生产都离不开乳酸菌发酵,利用转录组学探究乳酸菌在发酵过程中的代谢机制,对于乳酸菌发酵制品的开发具有重大意义。Wang 等^[44]利用转录组学分析了干酪乳杆菌 Zhang (*L.casei* Zhang)在豆乳发酵过程中迟缓期、对数生长末期和稳定期的基因表达差异。对数末期较迟缓期有 162 个基因表达显著不同,稳定期较对数末期有 63 个基因表达显著不同,其中上调基因主要与氨基酸转运和代谢以及蛋白水解有关。由于蛋白水解系统活跃,使得干酪乳杆菌 Zhang 能够分解大豆蛋白为自身提供充足的氨基酸,有利于在豆乳中发酵。这项研究揭示了干酪乳杆菌在豆乳中的发酵机制,为优化发酵乳生产工艺提供新的战略支持。Jung 等^[45]基于转录组学研究泡菜中 6 种重要的乳酸菌,结果表明在发酵前期肠膜明串珠菌 (*Leuconostoc mesenteroides*)最活跃,后期沙克乳杆菌 (*L.sakei*)和韩国魏斯氏菌 (*Weissella koreensis*)基因高表达,发酵第 25 d 沙克乳杆菌基因表达量大幅下降,可能是乳杆菌噬菌体感染引起的。大量与碳水化合物运输和水解以及乳酸发酵相关的基因表达活跃,呈现出典型的异型乳酸发酵。以上结果帮助人们理解泡菜发酵过程中乳酸菌复杂的作用机制。杨浣漪^[46]对混合发酵过程中酿酒酵母

(*Saccharomyces cerevisiae*) 与 旧 金 山 乳 杆 菌 (*L.sanfranciscensis*) 的相互作用进行转录组学分析, 发现旧金山乳杆菌不同菌株与酿酒酵母混合发酵时均能提高酿酒酵母对葡萄糖的利用, 增强氨基酸代谢, 增加甘油合成, 减少生物素合成, 减少乙酸合成等, *HXK2*、*CAR1* 和 *PDC6* 是关键基因。旧金山乳杆菌 Sx14 中编码二氨酶和氨肽酶的基因以及参与乳酸和乙酸合成相关的基因比 Ts1 菌株中表达量更高, 可能更适合与酿酒酵母复配进行酸面团发酵。

3.4 转录组学在乳酸菌益生功能研究中的应用

乳酸菌已被证实有多种功效, 其中大部分菌株是有益于宿主健康的益生菌, 为了更好地发挥乳酸菌的益生作用和发掘乳酸菌新功能, 研究者将转录组学运用到乳酸菌益生功能的研究中。Chubin 等^[47]通过转录组学研究了对干酪乳杆菌 BL23(*L.casei* BL23)对斑马鱼生长和免疫应答的影响。实验发现用干酪乳杆菌 BL23 处理过的斑马鱼相比于对照组, 在受精后 14 d 和 35 d 体重较重, 并且在受精后 35 d 用嗜水气单胞菌感染斑马鱼, 斑马鱼的死亡率较低。转录组学结果表明在受精后 14 d, 干酪乳杆菌 BL23 处理组与对照组相比, 差异基因集中在肌细胞生成、细胞粘附、转录调控和 DNA 结合以及活化四个方面, 受精后 35 d, 差异基因注释到信号、分泌、运动蛋白、氧化还原酶和铁、紧密连接、脂质代谢、生长调节、蛋白酶以及体液和细胞效应九个功能。KEGG 分析显示差异基因主要富集在紧密连接和 PPAR 信号通路。以上数据表明, 特定的乳杆菌可以促进斑马鱼生长发育并增强其免疫力, 为水产养殖中使用益生菌提供了支持。Turpin 等^[48]对生长在珍珠粟制成的食物基质和实验室培养基上的植物乳杆菌 A6(*L.plantarum* A6)进行比较转录组学分析, 共得到 1201 个差异表达基因, 接着鉴定了编码食物营养品质的重要功能基因。研究了涉及碳水化合物代谢尤其是淀粉代谢的基因, 发现胞外 α -淀粉酶、新支链淀粉酶和麦芽糖糊精转运蛋白均在食物基质中高表达。研究了维生素 B 生物合成的不同途径, 确定了菌体合成维生素的能力。研究了关于铁代谢和生物有效性的基因, 发现它们与铁运输直接相关, 与多酚代谢间接相关, 在食物中起到铁螯合剂的作用。该研究揭示了植物乳杆菌 A6 改善谷类发酵食品营养品质的功能, 对于发掘乳酸菌潜力具有重大价值。Deutsch 等^[49]利用基因组学从具有不同抗炎特性的费氏丙酸杆菌(*Propionibacterium freudenreichii*)中筛选出 12 株进行蛋白质组学分析, 8 株进行转录组学分析, 然后将组学数据与 IL-10 介导的抗炎特性相关联, 筛选出可能与抗炎特性相关的基因进行基因失活验证。结果证实了表面蛋白 SlpB 和 SlpE 的作用, 这两种具有 SLH 结构域蛋白可以介导细胞壁的非共价锚定。HsdM3 被预测为细胞质蛋白并参与 DNA 修饰, 有利于发挥抗炎作用。最后证明了菌株的抗炎特性是由表面蛋白和

细胞质蛋白共同作用产生的。这使我们对免疫调节的分子机制有了进一步了解, 将有助于筛选具有抗炎特性的乳酸菌资源。Lappa 等^[50]研究了植物乳杆菌(*L.plantarum*)对葡萄中炭黑曲霉的抑制作用, 并且在转录水平上分析了两者的共培养后的差异表达基因, 结果表明毒素产生相关基因 *AcOTAnrps* 和 *laeA* 受植物乳杆菌的影响最大, 此研究有助于利用乳酸菌对鲜食葡萄中的产毒真菌进行生物防治。

4 问题与展望

近年来, 随着测序技术的高速发展, 转录组学被广泛运用到各个研究领域中。目前, 利用转录组学在研究乳酸菌生长代谢机制及益生功能等方面取得了一定成就, 但由于乳酸菌代谢及功能复杂, 转录组学技术也存在一定的局限性, 乳酸菌转录组学研究仍面临一些问题。首先, 第三代测序技术随机测序错误率偏高, 需重复测序进行纠错, 导致测序成本增加。第二代测序技术发展不断成熟, 第三代测序技术与第二代测序技术联用可以对测序技术进行优化。三代测序存在诸多优势, 对其进行改进和完善, 实现大规模商业化是未来的发展趋势。其次, 转录组测序产生了庞大的数据, 但是由于生信分析软件不够丰富, 如何对海量数据进行有效挖掘和分析是转录组学的另一挑战, 因此开发强大的生信分析工具成为弥补转录组学缺陷的关键。第三, 乳酸菌样本较复杂, 仅使用转录组学技术对其进行研究可能无法得出全面的结论, 有必要联合其他组学技术, 从多个角度进行分析, 提高结果的全面性和准确性。例如, 乳酸菌的次级代谢产物细菌素是一种良好的生物防腐剂, 但由于大多数细菌素产量低, 限制了其工业化生产。基于上述问题, 可以对细菌素不同合成阶段的乳酸菌进行比较转录组学研究, 明确细菌素合成相关系统基因的表达变化, 采用蛋白质组学技术建立乳酸菌不同生长期细胞内代谢变化和细菌素合成相关系统基因翻译调控之间的关系, 联合代谢组学技术分析乳酸菌发酵过程中代谢产物的变化, 确定细菌素合成途径及关键酶。从转录水平、蛋白水平和代谢水平多尺度研究乳酸菌不同生长期细菌素合成系统的表达差异, 探究细菌素合成的代谢调控位点, 揭示细菌素合成机制, 为提高细菌素产量提供一个新的理论和方向。乳酸菌是一种重要的生物资源, 利用多组学技术挖掘乳酸菌中重要功能基因和对功能性代谢产物的代谢通路研究是乳酸菌未来的发展方向。

参考文献

- [1] 张倩, 赵鑫磊, 车笑. 乳酸菌在食品加工中的应用[J]. 食品安全导刊, 2018, (19): 76-77.
Zhang Q, Zhao XL, Che X. Application of lactic acid bacteria in food processing [J]. Chin Food Saf Magaz, 2018, (19): 76-77.
- [2] 张雪东, 罗瑶, 刘云, 等. 乳酸菌在健康食品中的应用进展[J]. 上海医

- 药, 2018, 39(15): 25–28.
- Zhang XD, Luo F, Liu Y, *et al.* Progress of the application of lactic acid-producing bacteria in healthy foods [J]. Shanghai Med Pharm J, 2018, 39(15): 25–8.
- [3] Axel C, RöCker B, Brosnan B, *et al.* Application of *Lactobacillus amylovorus* DSM19280 in gluten-free sourdough bread to improve the microbial shelf life [J]. Food Microbiol, 2015, 47: 36–44.
- [4] 张晓宁, 尚一娜, 陈境, 等. 乳酸菌细菌素的作用机制及在肉制品中的应用[J]. 食品研究与开发, 2018, 39(11): 192–199.
- Zhang XN, Shang YN, Chen J, *et al.* Mechanism of bacteriocins from lactobacillus and their applications in meat products [J]. Food Res Dev, 2018, 39(11): 192–199.
- [5] 代永刚, 田志刚, 南喜平. 乳酸菌及其生理功能研究的进展[J]. 农产品加工(学刊), 2009, (7): 24–26.
- Dai YG, Tian ZG, Nan XP. Progress of the lactobacillus and its physiological function [J]. Acad Period Farm Prod Process, 2009, (7): 24–26.
- [6] Pakdaman MN, Udani JK, Molina JP, *et al.* The effects of the DDS-1 strain of lactobacillus on symptomatic relief for lactose intolerance-a randomized, double-blind, placebo-controlled, crossover clinical trial [J]. Nutr J, 2015, 15(1): 1–11.
- [7] Suo H, Qian Y, Feng X, *et al.* Free radical scavenging activity and cytoprotective effect of soybean milk fermented with *Lactobacillus fermentum* [J]. J Food Biochem, 2016, 40(3): 10.
- [8] Nguyen TDT, Kang JH, Lee MS. Characterization of *Lactobacillus plantarum* PH04, a potential probiotic bacterium with cholesterol-lowering effects [J]. Int J Food Microbiol, 2007, 113(3): 358–361.
- [9] Galdeano CM, Perdígón G. The probiotic bacterium *Lactobacillus casei* induces activation of the gut mucosal immune system through innate immunity [J]. Clin Vaccine Immunol, 2006, 13(2): 219–226.
- [10] Dallal MMS, Mojarrad M, Baghbani F, *et al.* Effects of probiotic *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus casei* on colorectal tumor cells activity (CaCo-2) [J]. Arch Iran Med, 2015, 18(3): 167–172.
- [11] 蔡元锋, 贾仲君. 基于新一代高通量测序的环境微生物转录组学研究进展[J]. 生物多样性, 2013, 21(4): 401–410.
- Cai YF, Jia ZJ. Progress in environmental transcriptomics based on next-generation high-throughput sequencing [J]. Biodivers Sci, 2013, 21(4): 401–410.
- [12] Lockhart DJ, Winzler EA. Genomics, gene expression and DNA arrays [J]. Nature, 2000, 405(6788): 827–836.
- [13] Cho RJ, Huang M, Campbell MJ, *et al.* Transcriptional regulation and function during the human cell cycle [J]. Nat Genet, 2001, 27(1): 48–54.
- [14] Valdés A, Ibáñez C, Simó C, *et al.* Recent transcriptomics advances and emerging applications in food science [J]. Trend Anal Chem, 2013, 52(12): 142–154.
- [15] Velculescu VE, Zhang L, Zhou W, *et al.* Characterization of the yeast transcriptome [J]. Cell, 1997, 88(2): 243–251.
- [16] Costa V, Angelini C, De Feis I, *et al.* Uncovering the complexity of transcriptomes with RNA-Seq [J]. J Biomed Biotechnol, 2010, 2010(5757): 853916.
- [17] Mellidou I, Buts K, Hatoum D, *et al.* Transcriptomic events associated with internal browning of apple during postharvest storage [J]. BMC Plant Biol, 2014, 14(1): 328.
- [18] 田英芳, 张晓政, 周锦龙. 转录组学研究进展及应用[J]. 中学生物教学, 2013, (12): 29–31.
- Tian YF, Zhang XZ, Zhou JL. Progress and application of transcriptomics [J]. Teach Middle School Biol, 2013, (12): 29–31.
- [19] Royce TE, Rozowsky JS, Gerstein MB. Toward a universal microarray: Prediction of gene expression through nearest-neighbor probe sequence identification [J]. Nucl Acids Res, 2007, 35(15): 50–54.
- [20] 李玉梅, 李书娟, 李向上, 等. 第三代测序技术在转录组学研究中的应用[J]. 生命科学仪器, 2018, 16(Z1): 114–121.
- Li YM, Li SX, Li XS, *et al.* Transcriptome studies with the third-generation sequencing technology [J]. Life Sci Instrum, 2018, 16(Z1): 114–121.
- [21] 赵圣明, 赵岩岩, 马汉军, 等. 转录组学在抑菌机制中的应用研究进展[J]. 食品与发酵工业, 2017, (7): 264–269.
- Zhao SM, Zhao YY, Ma HJ, *et al.* Progress in the application of transcriptomics in antibacterial mechanism [J]. Food Ferment Ind, 2017, (7): 264–269.
- [22] Gerhard DS, Wagner L, Feingold E, *et al.* The status, quality, and expansion of the NIH full-length cDNA project: The Mammalian Gene Collection (MGC) [J]. Genome Res, 2004, 14(10B): 2121–2127.
- [23] Chu Y, Corey DR. RNA sequencing: Platform selection, experimental design, and data interpretation [J]. Nucl Acid Therap, 2015, 22(4): 271.
- [24] 姚娜, 刘秀明, 董园园, 等. 转录组的测序方法及应用研究概述[J]. 北方园艺, 2017, (12): 192–198.
- Yao N, Liu XM, Dong YY, *et al.* Summary of transcriptome sequencing methods and their applications [J]. Northern Horticul, 2017, (12): 192–198.
- [25] 黄永震, 张桂民, 贺花, 等. 家养动物转录组学研究进展[J]. 中国牛业科学, 2018, 44(1): 72–78.
- Huang YZ, Zhang GM, He H, *et al.* Progress in transcriptionomics of domestic animals [J]. China Cattle Sci, 2018, 44(1): 72–78.
- [26] Trapnell C, Roberts A, Goff L, *et al.* Differential gene and transcript expression analysis of RNA-seq experiments with TopHat and Cufflinks [J]. Nat Protoc, 2012, 7(3): 562–578.
- [27] 祁云霞, 刘永斌, 荣威恒. 转录组研究新技术:RNA-Seq 及其应用[J]. 遗传, 2011, 33(11): 1191–1202.
- Qi YX, Liu YB, Rong WH. RNA-Seq and its applications: A new technology for transcriptomics [J]. Hereditas, 2011, 33(11): 1191–1202.
- [28] Garber M, Grabherr MG, Guttman M, *et al.* Computational methods for transcriptome annotation and quantification using RNA-seq [J]. Nat Methods, 2011, 8(6): 469–477.
- [29] Kaya HB, Cetin O, Kaya H, *et al.* SNP discovery by Illumina-based transcriptome sequencing of the olive and the genetic characterization of Turkish olive genotypes revealed by AFLP, SSR and SNP markers [J]. PLoS One, 2013, 8(9): 73674.
- [30] Goodwin S, Mcpherson JD, Mcconbie WR. Coming of age: Ten years of next-generation sequencing technologies [J]. Nat Rev Genet, 2016, 17(6): 333–351.
- [31] Wang Z, Gerstein M, Snyder M. RNA-Seq: A revolutionary tool for transcriptomics [J]. Nat Rev Genet, 2010, 10(1): 57–63.
- [32] Branton D, Deamer DW, Marziali A, *et al.* The potential and challenges of nanopore sequencing [J]. Nat Biotechnol, 2008, 26: 1146–1153.
- [33] 杨悦, 杜欣军, 梁彬, 等. 第三代 DNA 测序及其相关生物信息学技术

- 发展概况[J]. 食品研究与开发, 2015, 36(10): 143–148.
- Yang Y, Du XJ, Liang B, *et al.* Development of the third generation sequencing technologies and related bioinformatics [J]. Food Res Dev, 2015, 36(10): 143–148.
- [34] Liu Y, Wang L, Yu L. The principle and application of the single-molecule real-time sequencing technology [J]. Hereditas, 2015, 37(3): 259–268.
- [35] Laakso K, Koskeniemi K, Koponen J, *et al.* Growth phase-associated changes in the proteome and transcriptome of *Lactobacillus rhamnosus* GG in industrial-type whey medium [J]. Microb Biotechnol, 2011, 4(6): 746–766.
- [36] Chen C, Zhao G, Chen W, *et al.* Metabolism of fructooligosaccharides in *Lactobacillus plantarum* ST-III via differential gene transcription and alteration of cell membrane fluidity [J]. App Environ Microb, 2015, 81(22): 7697–7707.
- [37] 陆文伟. 全局转录调控因子 CodY 在嗜热链球菌中的调控机制研究[D]. 济南: 山东大学, 2014.
- Lu WW. The mechanism of global regulator CodY in *Streptococcus thermophilus* [D]. Jinan: Shandong University, 2014.
- [38] 焦月华. 基因组学分析粪肠球菌益生功能及增殖调控研究[D]. 哈尔滨: 哈尔滨工业大学, 2016.
- Jiao HY. Study of genomics analysis of probiotic function of *Enterococcus faecalis* and its proliferation regulation [D]. Harbin: Harbin Institute of Technology, 2016.
- [39] Arnold JW, Simpson JB, Jeffrey R, *et al.* Intra-species genomic and physiological variability impact stress resistance in strains of probiotic potential [J]. Front Microbiol, 2018, 9: 242.
- [40] Olguín N, Champomier-Vergès M, Anglade P, *et al.* Transcriptomic and proteomic analysis of *Oenococcus oeni* PSU-1 response to ethanol shock [J]. Food Microbiol, 2015, 51: 87–95.
- [41] 赵山山. 植物乳杆菌 ST-III 盐应激反应及其协同保护作用的研究[D]. 无锡: 江南大学, 2014.
- Zhao SS. The study on the response of *Lactobacillus plantarum* ST-III to salt stress and the cross protection of salt stress [D]. Wuxi: Jiangnan University, 2014.
- [42] 宋雪飞, 郭晶晶, 姜静, 等. 植物乳杆菌 FS5-5 在盐胁迫下的转录组学分析[J]. 食品科学, 2017, (6): 26–32.
- Song XF, Guo JJ, Jiang J, *et al.* Transcriptomic analyses of *Lactobacillus plantarum* FS5-5 against salt stress [J]. Food Sci, 2017, (6): 26–32.
- [43] 闫洪波, 张香美, 许冬倩. 环境胁迫和非胁迫条件下植物乳杆菌转录组分析[J]. 微生物学通报, 2018, 45(2): 405–412.
- Yan HB, Zhang XM, Xu DQ. Transcriptome analysis of *Lactobacillus paraplantarum* L-ZS9 under environmental stress and control conditions [J]. Microbiol China, 2018, 45(2): 405–412.
- [44] Wang JC, Zhang WY, Zhong Z, *et al.* Transcriptome analysis of probiotic *Lactobacillus casei* Zhang during fermentation in soymilk [J]. J Ind Microbiol Biot, 2012, 39(1): 191–206.
- [45] Jung JY, Lee SH, Jin HM, *et al.* Metatranscriptomic analysis of lactic acid bacterial gene expression during kimchi fermentation [J]. Int J Food Microbiol, 2013, 163(2–3): 171–179.
- [46] 杨浣漪. 传统酸面团中酿酒酵母和旧金山乳杆菌的种内多样性及其互作研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2018.
- Yang HY. Intraspecific diversity of *Saccharomyces cerevisiae* and *Lactobacillus sanfranciscensis* isolates from Chinese traditional sourdough and their interaction [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2018.
- [47] Chubin Q, Yadong X, Yibing W, *et al.* Impact of *Lactobacillus casei* BL23 on the host transcriptome, growth and disease resistance in larval zebrafish [J]. Front Physiol, 2018, 9: 1245.
- [48] Turpin W, Weiman M, Guyot JP, *et al.* The genomic and transcriptomic basis of the potential of *Lactobacillus plantarum* A6 to improve the nutritional quality of a cereal based fermented food [J]. Int J Food Microbiol, 2018, 266: 346.
- [49] Deutsch SM, Mariadassou M, Nicolas P, *et al.* Identification of proteins involved in the anti-inflammatory properties of *Propionibacterium freudenreichii* by means of a multi-strain study [J]. Sci Rep-UK, 2017, 7: 46409.
- [50] Lappa IK, Mparampouti S, Lanza B, *et al.* Control of *Aspergillus carbonarius* in grape berries by *Lactobacillus plantarum*: A phenotypic and gene transcription study [J]. Int J Food Microbiol, 2018, 275: 56–65.

(责任编辑: 武英华)

作者简介



步雨珊, 硕士研究生, 主要研究方向为乳品生物技术。

E-mail: bys19941003@163.com



易华西, 教授, 博士生导师, 主要研究方向为乳品生物技术。

E-mail: yihx@ouc.edu.cn