

抗沙门氏菌后生元的筛选及其原始菌株全基因组分析

黄燕, 苏悦, 李施扬, 祁雪鹤, 贾媛, 姜毓君, 杨鑫焱, 满朝新

Screening of Postbiotics against *Salmonella* and Whole Genome Analysis of the Original Strain

HUANG Yan, SU Yue, LI Shiyang, QI Xuehe, JIA Ai, JIANG Yujun, YANG Xinyan, and MAN Chaoxin

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2024040240>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

乳酸菌全基因组测序的应用进展

Application Progress of Lactic Acid Bacteria Whole Genome Sequencing

食品工业科技. 2022, 43(15): 444-450 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2021080128>

一株后生元菌株的抑菌特性研究及其细菌素基因簇的挖掘

Antimicrobial Properties of A Postbiotic Strain and Gene Cluster Mining of Its Bacteriocin

食品工业科技. 2022, 43(17): 1-10 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2022030280>

鼠伤寒沙门氏菌生物被膜的清除效果研究

Study on the Removal Effect of *Salmonella typhimurium* Biofilm

食品工业科技. 2021, 42(22): 140-152 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2021050085>

氨肽酶生产菌株 *Bacillus subtilis* LBJ4-5 的全基因组测序及基因功能分析

Whole-genome Sequencing and Sequence Analysis of an Aminopeptidase-producing *Bacillus subtilis* LBJ4-5

食品工业科技. 2024, 45(24): 32-41 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2024030345>

蜡样芽孢杆菌 GW-01 全基因组测序及生物学特性分析

Whole Genome Sequencing and Biological Characterization of *Bacillus cereus* GW-01

食品工业科技. 2024, 45(7): 167-176 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2023060031>

氮化碳与壳聚糖联合作用对沙门氏菌脂质代谢的影响

Effects of Carbon Nitride Combined with Chitosan on Lipid Metabolism of *Salmonella* Typhimurium

食品工业科技. 2024, 45(22): 208-216 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2023120142>



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

黄燕, 苏悦, 李施扬, 等. 抗沙门氏菌后生元的筛选及其原始菌株全基因组分析 [J]. 食品工业科技, 2025, 46(6): 195–205. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2024040240

HUANG Yan, SU Yue, LI Shiyang, et al. Screening of Postbiotics against *Salmonella* and Whole Genome Analysis of the Original Strain[J]. Science and Technology of Food Industry, 2025, 46(6): 195–205. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2024040240

· 生物工程 ·

抗沙门氏菌后生元的筛选及其原始菌株 全基因组分析

黄 燕¹, 苏 悦¹, 李施扬², 祁雪鹤¹, 贾 媛¹, 姜毓君¹, 杨鑫焱¹, 满朝新^{1,*}

(1. 东北农业大学食品学院, 黑龙江哈尔滨 150030;

2. 黑龙江省质量监督检测研究院, 黑龙江哈尔滨 150030)

摘 要:目的: 筛选抗沙门氏菌效果良好的后生元, 开发具有产业化价值的后生元原料。方法: 测定 30 株乳酸菌后生元抑制鼠伤寒沙门氏菌生长的能力, 筛选出效果最好的 5 株后生元。随后对这 5 株后生元抑制鼠伤寒沙门氏菌黏附和侵袭 HT-29 细胞的能力进行测定, 筛选出效果最显著的后生元, 并对其原始菌株进行全基因组测序和安全性评价。结果: 植物乳杆菌 JM015 后生元的抑菌圈直径达到 15.12 ± 0.53 mm, 同时能有效降低鼠伤寒沙门氏菌黏附和侵袭 HT-29 细胞 90% 以上。植物乳杆菌 JM015 的全基因组测序结果显示, 其具有环内酯自诱导剂、黏类、核糖体合成和翻译后修饰肽-like 和 III 型聚酮合酶等 4 个抑菌相关基因簇与 1 个与植物乳杆菌素的产生有关的基因簇。此外, 其中还存在纤维连接蛋白、甘油醛 3-磷酸脱氢酶和三糖-磷酸异构酶等多个黏附相关的编码基因。同时, 经吲哚、溶血和硝酸盐还原酶活性等试验验证了植物乳杆菌 JM015 的安全性。结论: 植物乳杆菌 JM015 后生元具有抗沙门氏菌的能力, 可作为新的后生元原料用于产品开发。

关键词: 乳酸菌, 后生元, 鼠伤寒沙门氏菌, 抗菌, 全基因组, 安全性评价

中图分类号: TS201.3

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2025)06-0195-11

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2024040240



本文网刊:

Screening of Postbiotics against *Salmonella* and Whole Genome Analysis of the Original Strain

HUANG Yan¹, SU Yue¹, LI Shiyang², QI Xuehe¹, JIA Ai¹, JIANG Yujun¹, YANG Xinyan¹, MAN Chaixin^{1,*}

(1. College of Food Science, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China;

2. Heilongjiang Institute of Quality Supervision and Testing, Harbin 150030, China)

Abstract: Objective: To screen postbiotics with exceptional anti-*Salmonella* activity and develop postbiotic raw materials with industrialization value. Methods: The anti-*Salmonella* potential of 30 *Lactobacillus* postbiotic strains was evaluated, focusing on their ability to inhibit the growth of *Salmonella enterica* serovar *Typhimurium* (ST). The top five most effective strains were identified, and further assays were conducted to assess their capacity to inhibit ST adhesion and invasion in HT-29 cells. The most significant effective postbiotic was selected for whole genome sequencing and safety evaluation of its originating strain. Results: *Lactobacillus plantarum* (L. *plantarum*) JM015 postbiotic exhibited a notable inhibition zone diameter of 15.12 ± 0.53 mm. It effectively reduced the adhesion and invasion of *Salmonella* to HT-29 cells by more than 90%. Whole genome sequencing of L. *plantarum* JM015 revealed four bacteriostasis-related gene clusters related to repression: cyclic-lactone-autoinducer, terpene, ribosomally synthesized and post-translationally modified peptide (RiPP)-like, and type III polyketide synthases (PKS). Additionally, it harbors a gene cluster associated with plantaricin production and several genes linked to adhesion, such as fibronectin, glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase (GAPDH), and triosephosphate isomerase. The safety of the original strain was confirmed through tests for indole production, hemolysis,

收稿日期: 2024-04-22

作者简介: 黄燕 (1999-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 食品科学, E-mail: huangyan7115@163.com。

* 通信作者: 满朝新 (1978-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 乳品微生物, E-mail: mcxwh2006@qq.com。

and nitrate reductase activity. Conclusion: The *L. plantarum* JM015 postbiotic demonstrates potent anti-*Salmonella* activity and can as a novel postbiotic ingredient for product development.

Key words: *Lactobacillus*; postbiotic; *Salmonella enterica* serovar *Typhimurium*; antibacterial; whole-genome; safety evaluation

沙门氏菌是肠杆菌科的重要成员,通常与受污染的食物一起摄入或通过粪口途径传播,引起小肠结肠炎、肠热病以及菌血症等多种疾病^[1]。有研究表明,每年约有 9380 万例沙门氏菌感染的食源性疾

病,其中 15.5 万例死亡,被认为是人类食源性肠道疾病中最高感染来源之一^[2-4]。鼠伤寒沙门氏菌作为沙门氏菌的一种,能引起多种宿主感染。目前,使用抗生素是治疗感染沙门氏菌最常用手段。但抗生素的使用导致沙门氏菌耐药性增强,加大临床治疗难度^[5]。研究表明,沙门氏菌对抗耐药性呈现出每十年上升 20%~30% 的趋势,并且多重耐药菌株数量明显增加,故亟需限制抗生素的使用并寻求其他绿色干预方式^[6]。

大量体外和体内实验表明益生菌可以有效防御沙门氏菌感染^[7-10]。但益生菌作为活菌制剂,其活力受到温度、湿度和酸度等条件的影响,应用场景受限^[11]。研究指出,益生菌对机体的作用不一定与活菌直接相关,起关键作用的极有可能是菌株代谢产物或菌体成分,这些对宿主健康有益的无生命微生物和/或其成分的制剂正式被国际益生菌和益生元科学协会(ISAPP)命名为后生元^[12]。相较于益生菌,后生元具有安全、稳定、易于储藏以及作用靶点广泛等多项优点^[13]。后生元能有效抑制致病菌的增殖。Rossi 等^[14]证实了副干酪乳杆菌 28.4 的后生元成分能够抑制金黄色葡萄球菌增殖。Mohammadi 等^[15]采用气相色谱-质谱法研究后生元化学成分,发现其中存在某些抗菌和抗真菌化合物,对鼠伤寒沙门氏菌、大肠杆菌和黄曲霉等具有广泛的抑菌能力。同时,后生元能够附着在肠道上皮细胞上,增强肠道屏障,抵御致病菌的黏附和进一步感染^[16]。瑞士乳杆菌 R0052 的细胞壁组分抑制了大肠杆菌对上皮细胞的黏附^[17]。Karbowiak 等^[18]对分离自食品中的乳酸菌进行热灭活处理,结果表明其有良好的自聚集特性,并且能够显著抑制单核增生李斯特菌和金黄色葡萄球菌对猪胃黏蛋白的黏附。Khojah 等^[19]研究了分离自中东功能性脱乳清酸奶中的后生元,结果表明其对 Caco-2 细胞具有很强的黏附性,能够有效防止鼠伤寒沙门氏菌与 Caco-2 细胞结合。

目前,我国首个后生元团体标准 T/CBFIA 09001-2023《益生菌制品 乳酸菌类 后生元》,对后生元产品原料提出要求:菌种需满足国家食品菌种名单规定,明确菌株号和来源,在菌株水平进行安全性评价,并且需全基因组测序及科学文献支持。因此,本研究通过筛选 30 株乳酸菌后生元对鼠伤寒沙门氏菌生长抑制的能力,以及它们对鼠伤寒沙门氏菌黏附

和侵袭 HT-29 细胞的抑制效果,得到效果最优的后生元。同时,对该后生元的原始菌株进行全基因组测序和安全性评价,为其进一步应用提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

本试验所用乳酸菌菌株 选取自东北农业大学乳品科学重点实验室自主分离和保藏的菌株,鼠伤寒沙门氏菌 ATCC14028 来自东北农业大学乳品科学重点实验室保藏,如表 1 所示;HT-29 细胞 购买于中国科学院细胞库;脱纤维绵羊血(无菌)、DMEM 高糖培养液、胎牛血清、T1320 胰蛋白酶-EDTA 消化液 北京索莱宝科技有限公司;葡萄糖 山东卓望生物工程有限公司;酵母抽提物 安琪酵母股份有限公司;吐温 80 汇泉生物科技有限公司;硫酸锰 上海德华食品添加剂有限公司;磷酸氢二钾 四川金地亚美科技有限公司;LB 肉汤培养基 青岛高科技工业园海博生物技术有限公司;细菌基因组 DNA 提取试剂盒(DP302) 天根生化科技(北京)有限公司;抗生素药敏片 杭州微生物试剂有限公司。

表 1 试验菌株
Table 1 Strains of the test

试验菌株	编号	来源
鼠李糖乳杆菌	19-1、19-36、20-3、20-37、20-1、JL-1	健康婴儿粪便
嗜酸	NCFM	健康婴儿粪便
格式乳杆菌	JM1	健康婴儿粪便
副干酪乳杆菌	15-1、92-3、TD095、100-1、M-11-6、TD062、062	西藏地区传统发酵乳制品
罗伊氏	J1	西藏地区传统发酵乳制品
植物乳杆菌	100-4、64-10、63-16、62-15、JM015、43-11、J26、64-14	西藏地区传统发酵乳制品
短乳杆菌	2、3、4、11、ZW、HDBR	西藏地区传统发酵乳制品
鼠伤寒沙门氏菌	ATCC14028	本实验室保藏

HWS-24 电热恒温水浴锅 上海精密仪器仪表有限公司;DHP-9272 电热恒温培养箱 上海一恒科技有限公司;Supcre G9 菌落计数/筛选/抑菌圈测量联用仪 杭州讯数科技有限公司;HF90 CO₂ 培养箱 香港力康发展有限公司;Delta 1-24 LSC 冷冻干燥机 德国 Christ 公司。

1.2 实验方法

1.2.1 可食用培养基配制 根据文献改良可食用培养基^[20],配比如下:20 g 葡萄糖、27.84 g 酵母抽提物、5.75 g 乙酸钠、1.12 g 吐温 80、0.05 g 硫酸锰以及 2.5 g 磷酸氢二钾。将上述物质均匀混合后加入 1 L 蒸馏水 121 ℃ 灭菌 15 min 备用。

1.2.2 菌株活化及样品制备

1.2.2.1 乳酸菌活化 将乳酸菌菌株以 5% 接种量接种于改良培养基中, 37 ℃ 培养 16 h, 传代 2 次备用。

1.2.2.2 沙门氏菌活化 将鼠伤寒沙门氏菌以 2% 接种量接种于 LB 液体培养基中, 37 ℃ 培养 6 h, 传代 2 次后在 4 ℃ 条件下 8000 r/min 离心 5 min, 弃去上清收集菌体用无菌 PBS 洗涤 3 次, 用 PBS/DMEM 重悬至 10^8 CFU/mL。

1.2.2.3 后生元制备 将传代两次的发酵液 (10^9 CFU/mL) 放置于 80 ℃ 水浴锅中加热 30 min, 进行热灭活处理。冷却后的灭活发酵液置于 -80 ℃ 预冷冻 24 h 后, 放入真空冷冻干燥机中冻干成粉。按照冻干前的体积将一定量的冻干粉用 PBS/DMEM 重悬至原体积 (10^9 CFU/mL), 其余冻干粉放置 -20 ℃ 储藏。

1.2.3 后生元抑菌能力测定 采用双层平板打孔法: 将 1.2% 的琼脂倾倒入无菌平皿中晾干, 每皿 10 mL; 配制含 0.7% 琼脂的 LB 肉汤培养基, 将鼠伤寒沙门氏菌以 0.6% 的接种量接入后, 按 6 mL 每皿倾倒入底层琼脂上; 晾干后打孔, 每孔加入 100 μ L 后生元, 在超净工作台中扩散 3 h 后, 置于适宜条件下培养后用抑菌圈测量仪器定抑菌圈直径^[21]。

1.2.4 细胞实验

1.2.4.1 细胞活化 HT-29 细胞接入含 20% 胎牛血清的 DMEM 完全培养液中, 置于 CO₂ 培养箱 37 ℃ 孵育直至形成致密细胞层, 添加 0.25% 胰酶消化传代, 每隔 3 d 传代, 传代 5 次后用于黏附试验^[22]。

1.2.4.2 后生元对沙门氏菌黏附能力的抑制作用 调整细胞浓度至 2×10^4 cells/mL 后接种至 12 孔培养板, 置于 CO₂ 培养箱 37 ℃ 培养长成致密细胞层, 经 PBS 缓冲液洗 2 次, 加入 1 mL DMEM 和 200 μ L 后生元(对照组加入不含后生元的 DMEM)培养 2 h 后再加入 200 μ L 沙门氏菌。继续培养 2 h 后用 PBS 清洗 5 次, 每孔加入 200 μ L 胰酶, 孵育 2 min 后, 用移液器吹打均匀。0~ 10^{-3} 梯度稀释、LB 营养琼脂计数^[23]。

1.2.4.3 后生元对沙门氏菌侵袭能力的抑制作用 调整细胞浓度至 2×10^4 cells/mL 后接种至 12 孔培养板, 置于 CO₂ 培养箱 37 ℃ 培养长成致密细胞层, 经 PBS 缓冲液洗 2 次, 加入 1 mL DMEM 和 200 μ L 后生元(对照组加入不含后生元的 DMEM)培养 2 h 后再加入 200 μ L 沙门氏菌。继续培养 2 h 后用 PBS 清洗 5 次, 按 1 mL 每孔加入 200 μ g/ml 庆大霉素溶液孵育 30 min 以杀死胞外细菌, 按照 1.2.4.2 中方法对沙门氏菌进行计数^[23]。

1.2.5 全基因组测序

1.2.5.1 测定方法 按照细菌 DNA 试剂盒说明书提取菌株的总 DNA, 送至凌恩生物公司进行测序。采

用全基因组鸟枪法策略构建文库, 利用第二和第三代测序技术, 分别对文库进行测序。

1.2.5.2 生物信息学分析 下机后对测序数据进行质控, 剔除低质量数据, 对数据进行组装, 多次调整参数及补洞后获得完整的基因组序列。采用 GeneMarkS 软件进行编码基因预测, 与通用功能数据库比对, 注释编码基因。同时将预测基因蛋白质序列分别与直系同源聚类群(Clusters of Orthologous Groups, COG)、基因本体论(Gene Ontology, GO)、京都基因与基因组百科全书(Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG)等数据库进行 BLAST 比对, 对菌株的基因功能进行预测分析。

1.2.5.3 抑菌和黏附相关基因分析 利用 Anti-SMASH 7.0 和 BAGEL4 分析潜在的细菌素合成基因簇及关键蛋白。使用 Diamond Blastp 将基因编码蛋白序列与 NCBI 数据库中黏附相关的蛋白序列进行比对和功能注释。

1.2.5.4 毒力因子和抗生素抗性基因分析 采用 BLAST 软件, 将基因编码蛋白序列与毒力因子相关基因数据库(VFDB)以及抗生素抗性数据库(CARD)进行比对, 预测在基因组中与毒力因子以及抗生素抗性相关的基因。

1.2.6 安全性评价

1.2.6.1 吲哚试验 将植物乳杆菌(*Lactobacillus plantarum*, *L. plantarum*) JM015 和阳性对照 *Escherichia coli*(*E. coli*) ATCC 25922 分别以 5% 接种量接种于胰蛋白水培养基中, 37 ℃ 培养 72 h 后加入 9 滴 Kovacs 氏靛基质试剂观察结果。若在培养基上部有一红色环则为阳性, 若为黄色或棕色则为阴性^[24]。

1.2.6.2 硝酸盐还原酶检测 将 *L. plantarum* JM015 和 *E. coli* ATCC 25922 分别以 5% 的接种量接种到硝酸盐培养基中, 37 ℃ 培养 5 d 后, 先后滴加 5% 的碘化钾和淀粉溶液 10 滴, 观察结果。若培养基溶液呈蓝色, 则为阳性; 溶液不变色, 则为阴性^[25]。

1.2.6.3 溶血试验 向灭菌冷却至 50 ℃ 的哥伦比亚血琼脂中加入 5% 的脱脂纤维羊血, 混匀顷到无菌血平板, 用接种环将 *L. plantarum* JM015 和阳性对照 *Staphylococcus aureus*(*S. aureus*) ATCC 25923 划线于血平板上, 37 ℃ 培养 48 h。若在菌落周围出现透明圈, 为 β -溶血; 无溶血作用, 为 γ -溶血^[26]。

1.2.6.4 药物敏感性试验 将 *L. plantarum* JM015 稀释到 1.5×10^8 CFU/mL, 涂布于 MRS 固体培养基中, 将抗生素药敏纸片放置在培养基表面, 37 ℃ 培养 18 h 后, 测量抑菌圈直径。根据《药敏试验标准》判断抗生素敏感情况^[27]。

1.3 数据处理

本文中实验均进行了三次平行, 数据采用 SPSS 2.0 软件进行单因素方差分析, 结果以平均差 $\pm$ 标准

差(Mean±SD)进行表示,其中 $P<0.05$ 表示显著差异,采用 Origin 9.0 和 GraphPad 8.0 软件进行绘图。

2 结果与分析

2.1 后生元抑菌能力测定

后生元可有效地抑制病原菌的生长和繁殖,进一步维持宿主肠道微生物群稳定,对保障宿主健康具有重要作用^[28]。本文利用双层平板打孔法对 30 株乳酸菌后生元抑菌能力进行测定,筛选对鼠伤寒沙门氏菌抑制能力较好的乳酸菌后生元。结果如图 1 所示,抑菌圈直径主要分布在 8~15 mm,其中 *L. rhamnosus* 20-37、*L. plantarum* 100-4、*L. plantarum* 62-15、*L. plantarum* JM015、*L. plantarum* 64-14 平均抑菌圈直径为 14.13 ± 0.14 、 14.91 ± 0.30 、 14.06 ± 0.46 、 15.12 ± 0.53 和 14.44 ± 0.33 mm,显著高于其他菌株($P<0.05$),不同后生元抑菌能力不同可能是由于菌株产生的代谢物不同,导致后生元成分的差异进而影响抑菌能力。初步筛选出抑菌效果较好的 5 株乳酸菌后生元进行后续试验。

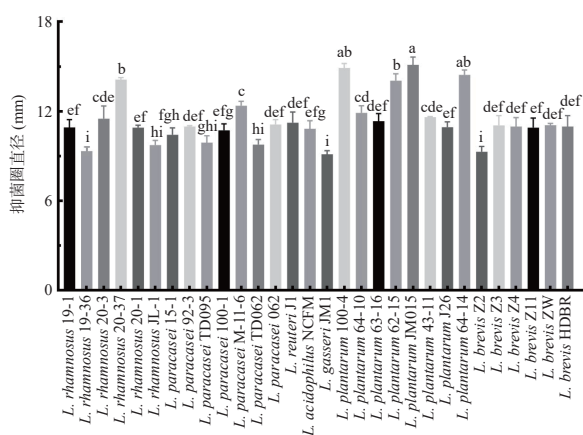


图1 不同后生元对鼠伤寒沙门氏菌的抑菌圈直径

Fig.1 Diameter of inhibition zone of different postbiotics to ST
注:不同字母表示数据之间的差异显著, $P<0.05$,图2同。

2.2 后生元对鼠伤寒沙门氏菌黏附和侵袭能力的抑制作用

在宿主胃肠道中存活下来的鼠伤寒沙门氏菌会黏附到肠上皮并借助其表达的毒力蛋白侵入肠上皮细胞内,在宿主细胞内生存、复制引起进一步的感染^[29]。因此,沙门氏菌黏附和侵袭肠上皮细胞通常被认为是感染宿主的开端。本试验建立鼠伤寒沙门氏菌感染 HT-29 细胞模型,研究后生元对其黏附和侵袭肠上皮细胞的抑制作用。

由图 2A 可知,与对照组相比,后生元预处理显著抑制了鼠伤寒沙门氏菌黏附 HT-29 细胞($P<0.05$);*L. rhamnosus* 20-37、*L. plantarum* JM015、*L. plantarum* 64-14 预处理的效果显著($P<0.05$)优于 *L. rhamnosus* 100-4 和 *L. rhamnosus* 62-15,使鼠伤寒沙门氏菌黏附 HT-29 细胞的数量从 4.1×10^5 CFU/孔降低至不足 1×10^5 CFU/孔,抑制率达到 90% 以上。

如图 2B 所示,鼠伤寒沙门氏菌具有入侵 HT-

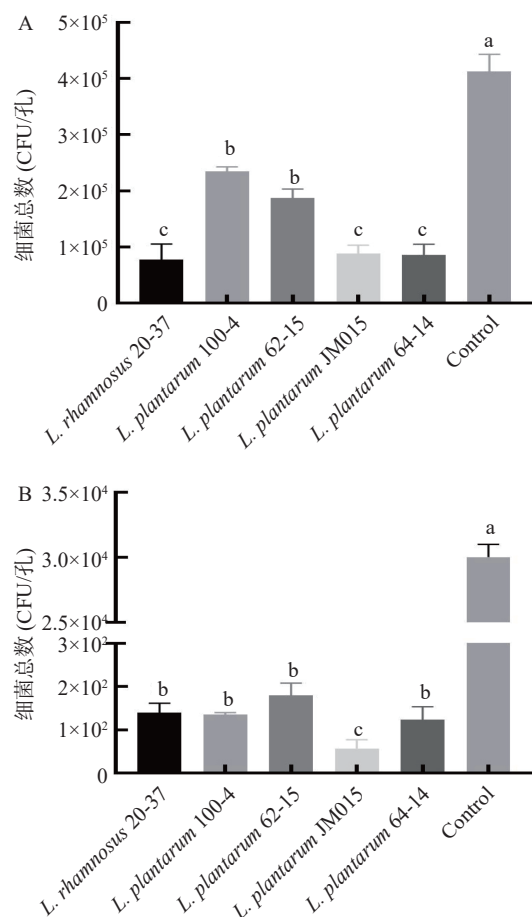


图2 后生元对鼠伤寒沙门氏菌黏附(A)和侵袭(B) HT-29 细胞的影响

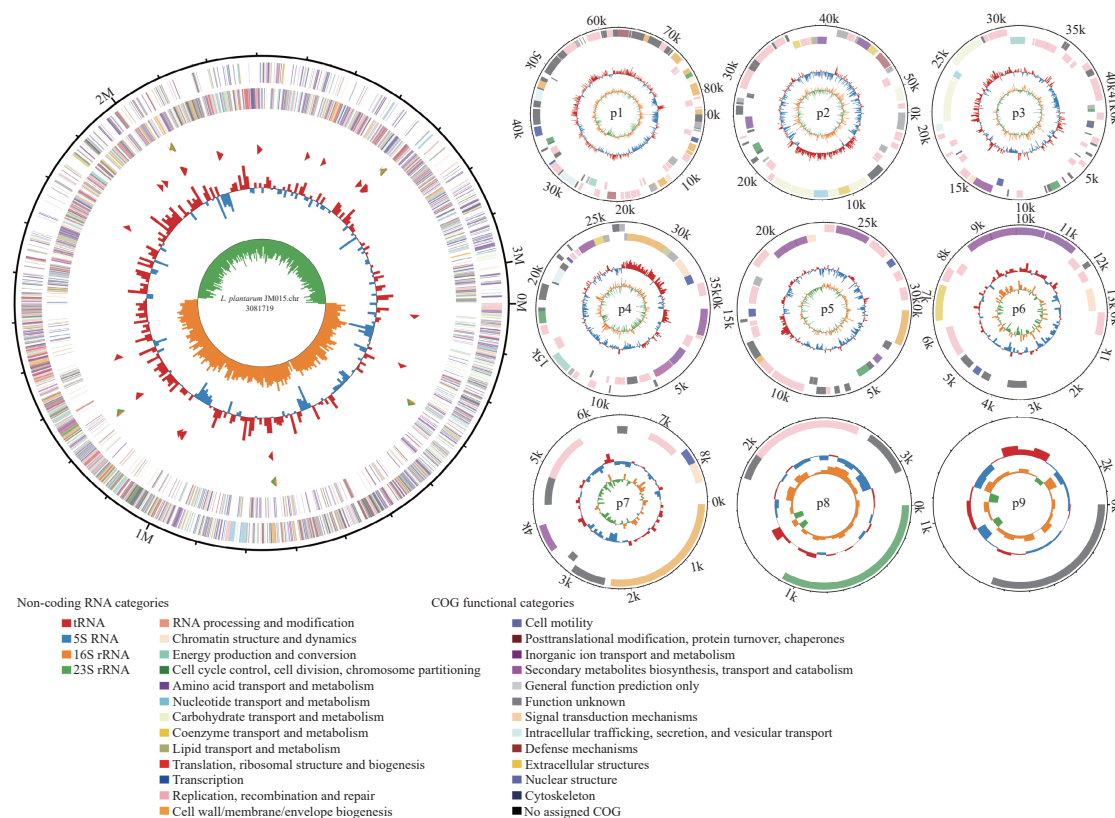
Fig.2 Effects of postbiotics on adhesive (A) and invasive (B) ability of ST to HT-29 cells

29 细胞并在其中存活的能力,各组后生元均显著($P<0.05$)降低了 HT-29 细胞内的鼠伤寒沙门氏菌数量。其中,*L. plantarum* JM015 后生元在黏附抑制方面与 *L. rhamnosus* 20-37 和 *L. plantarum* 64-14 后生元相比无显著差异(图 2A),但其将 HT-29 细胞内的沙门氏菌数量从 3×10^4 CFU/孔降低至 5.7×10 CFU/孔,降幅达 3 个数量级,这一效果显著($P<0.05$)优于其他后生元。结果表明 *L. plantarum* JM015 后生元能够有效地抑制鼠伤寒沙门氏菌黏附和侵袭 HT-29 细胞,显示出良好的抗鼠伤寒沙门氏菌潜力。

根据 T/CBFIA 09001-2023 这一团体标准对后生元的要求,*L. plantarum* JM015 后生元符合国家颁布的《可用于食品的菌种名单》,并且有明确分离来源和菌株编号。因此,根据后生元共识,后续实验将对 *L. plantarum* JM015 菌株进行全基因组测序及安全性分析。

2.3 全基因组分析

2.3.1 全基因组序列分析 采用 cgview 绘制 *L. plantarum* JM015 基因组的圈图,如图 3 所示,该菌株的基因组由 1 个染色体和 9 个质粒组成,均已成环,其片段总长度为 3353268 bp,GC 含量为 44.49%,共包含 3344 个编码基因,占整个基因组的 83.8%。

图 3 *L. plantarum* JM015 基因组圈图Fig.3 Genome cycle graph of *L. plantarum* JM015

注: 从外到内, 第一圈代表刻度; 第二圈和第三圈为每一个编码序列所属的 COG 分类; 第四圈为 rRNA 和 tRNA; 第五圈为 GC 含量; 最内一圈为 GC skew 值。

L. plantarum JM015 原始测序数据已提交至 NCBI SRA 数据库, 登录号为 SRX24922987(二代 ILLUMINA)和 SRX24922988(三代 PACBIO_SMRT)。

2.3.2 基因功能注释 *L. plantarum* JM015 的 COG 功能注释分类图如图 4A 所示, 主要注释到转录(281 个)、碳水化合物运输和代谢(240 个)及氨基酸运输和代谢(225 个)等功能中。如图 4B 所示为 *L. plantarum* JM015 的 GO 功能注释分类, 分为描述基因的分子功能(molecular function)、细胞组分(cellular component)和参与的生物学过程(biological process)的三类。在 *L. plantarum* JM015 中主要注释到细胞过程(505 个)、代谢过程(434 个)、催化活性(385 个)、结合(226)和含蛋白质复合物(110 个)等分类中。图 4C 为 *L. plantarum* JM015 的 KEGG 数据库功能注释分布情况。*L. plantarum* JM015 的基因主要注释于薄膜运输(134 个)、碳水化合物代谢(206 个)和氨基酸的代谢(139 个)等代谢途径中。

研究指出, 乳酸菌主要通过两种方式影响致病细菌感染: 一是抑制致病菌的生长, 二是阻止其黏附^[30]。乳酸菌能够分泌有机酸、过氧化氢和细菌素等抑菌物质, 从而有效抑制致病菌的繁殖。同时, 它还会与致病菌竞争宿主细胞的结合位点, 进而抑制致病菌的黏附。碳水化合物和氨基酸的运输与代谢在这一过程中起着关键作用, 它们是调控抑菌物质及黏

附相关蛋白产生的主要机制^[31-32]。根据 COG、GO 和 KEGG 的分析结果, 可以观察到与这些代谢过程相关的基因存在。因此, 为了进一步理解乳酸菌的抑菌特性, 需要深入分析和研究这些与抑菌功能紧密相关的具体编码基因。

2.3.3 抗菌相关基因分析 全基因组序列的便利性和基因组分析技术的灵活性使抗菌化合物的预测成为可能。抗菌活性是益生菌抵抗致病菌感染的重要因素^[33]。使用 AntiSMASH 7.0 和 BAGEL 4.0 工具发现 *L. plantarum* JM015 基因组中假定的抗菌化合物相关基因, 进而推断菌株的抗菌潜力^[34-35]。如图 5 所示, 通过 AntiSMASH 鉴定发现了环内酯自诱导剂、萜类、核糖体合成和翻译后修饰肽(ribosomally synthesized and post-translationally modified peptide, RiPP)-like 和 III 型聚酮合酶(polyketide synthases, PKS)等 4 个与抑菌相关的基因簇^[36-40]。如图 6 所示, 利用 BAGEL 4.0 在该菌株中发现了一个植物乳杆菌素的产生有关的基因簇, 包括两个关键蛋白植物乳杆菌素 E 和植物乳杆菌素 F。植物乳杆菌素 EF 是植物乳杆菌产生的 IIb 类细菌素^[41], 对革兰氏阳性菌和革兰氏阴性细菌均有较强的抗菌活性^[42], 因其可生物降解、无耐药性和低溶血活性而被普遍认为是安全的, 并被认为是抵御病原体 and 细菌引起的食物腐败的天然屏障, 可以应用于食品工业

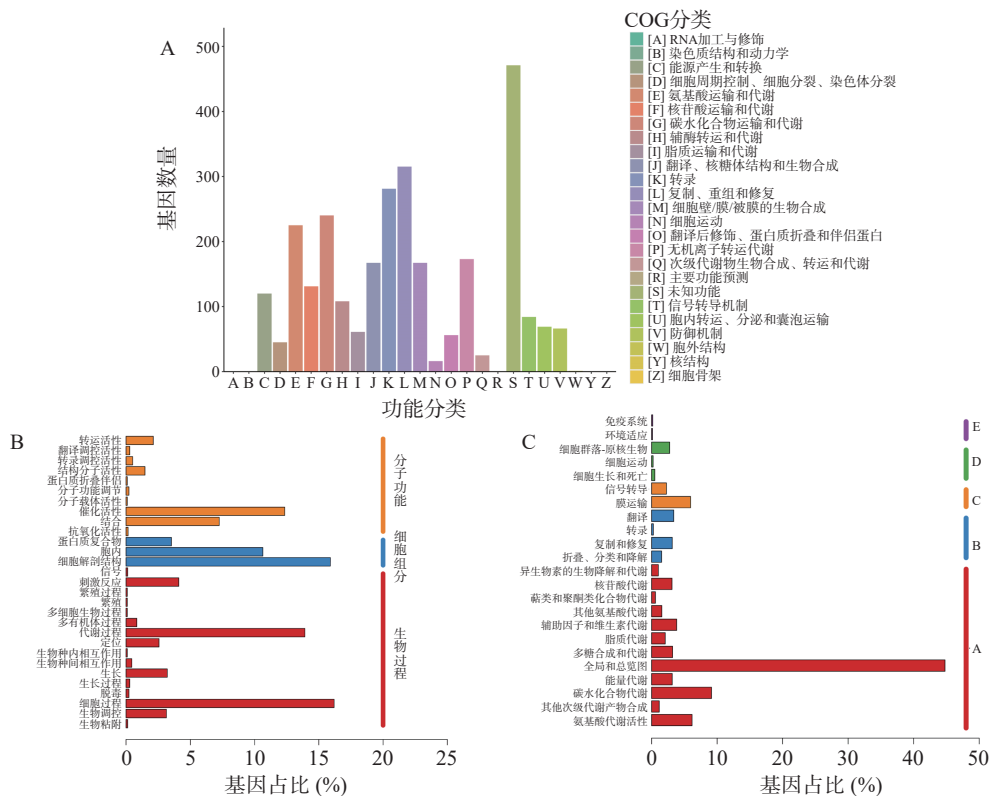
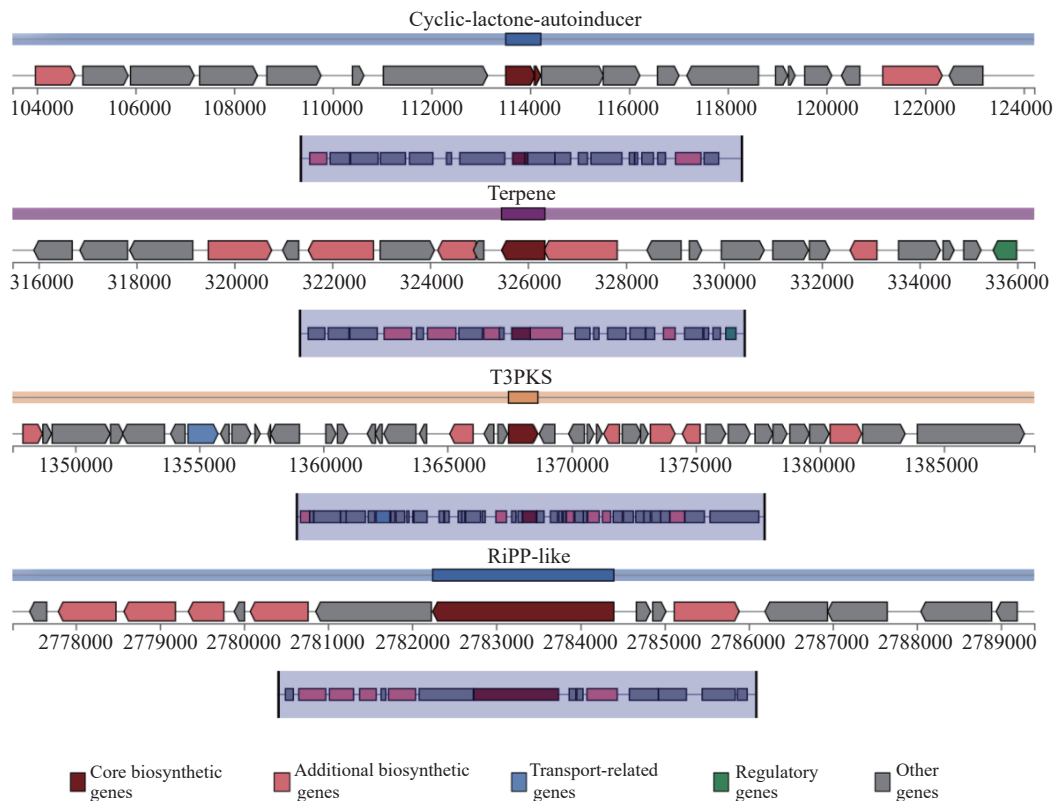


图4 菌株的 COG 注释(A)、GO 注释(B)及 KEGG 注释(C)结果

Fig.4 Results of COG annotation (A), GO annotation (B) and KEGG annotation (C)

注: 图 C 中不同字母表明基因参与的 KEGG 代谢通路分支: 细胞过程 (A, Metabolism), 环境信息处理 (B, Genetic Information Processing), 遗传信息处理 (C, Environmental Information Processing), 代谢 (D, Cellular Processes), 有机系统 (E, Organismal Systems)。

图5 AntiSMASH7.0 数据库预测的 *L. plantarum* JM015 的潜在抗菌基因集群Fig.5 Potential antimicrobial gene clusters of *L. plantarum* JM015 predicted by antiSMASH 7.0 database

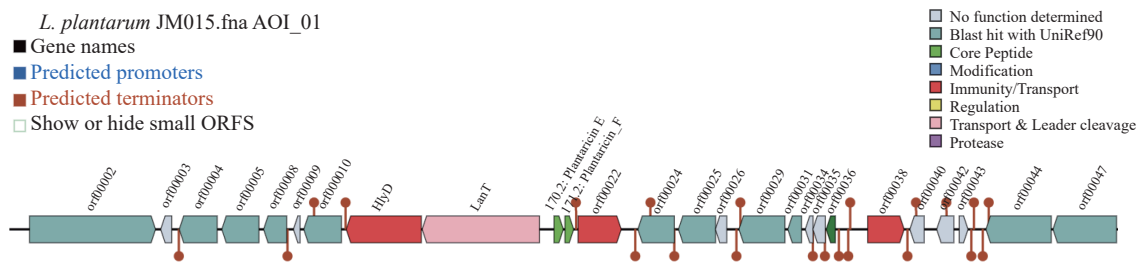


图 6 植物乳植杆菌 JM015 基因组 BAGEL4 比对结果

Fig.6 Comparison of the genome of *L. plantarum* JM015 in BAGEL4

以控制食源性病原体的传播,减少食源性病原体的危害^[43]。

2.3.4 黏附相关基因分析 益生菌的益生效应与其黏附肠黏膜和上皮细胞的程度直接相关^[44]。益生菌含有特异性黏附蛋白,如粘蛋白和纤维蛋白原结合蛋白,可沉降到胃肠道系统,促进其定植,抑制致病性黏附^[45-47]。通过搜索 *L. plantarum* JM015 黏附基因发现其含有与人类肠细胞黏附相关的纤维连接蛋白、纤维连接蛋白和鞭毛钩相关蛋白编码基因。此外,还注释得到了编码甘油醛 3-磷酸脱氢酶 (Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH) 和三糖-磷酸异构酶 (Triosephosphate isomerase, TPI) 的基因(表 2)。研究表明,GAPDH 和 TPI 可以从细胞中释放出来,促进与肠上皮细胞的黏附,避免其他致病菌的黏附^[48-49]。这些黏附基因的存在可以帮助 *L. plantarum* JM015 在肠道定植,发挥潜在益生作用。

表 2 *L. plantarum* JM015 编码的黏附相关蛋白

Table 2 Adhesion related proteins encoded by *L. plantarum* JM015

基因位点	功能描述
<i>L. plantarum</i> JM015001616	Fibronectin-binding (FbpB)
<i>L. plantarum</i> JM015002182	peptidoglycan hydrolase (FlgJ)
<i>L. plantarum</i> JM015001615	Fibronectin-binding (FbpA)
<i>L. plantarum</i> JM015002475	Glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase (GAPDH)
<i>L. plantarum</i> JM015002473	Triosephosphate isomerase (TPI)

益生菌的黏附特性已被确定为对抗致病菌的保护机制^[50]。而后生元对致病菌黏附的抑制作用机理并不完全清楚。细胞的热失活可能导致细胞壁破裂,从而释放某些细胞内容物以及细胞壁成分,如肽聚糖、脂质胆酸或热不稳定的菌毛等,这些细菌成分可能抑制致病菌的黏附^[51-52]。一些研究表明后生元相比益生菌其抵抗致病菌黏附的作用更强,但不同菌株和不同灭活方式结果可能不同^[53-54]。此外,大量实验表明后生元的抗致病菌黏附能力与其原始菌株黏附抑制能力直接相关。全基因组测序结果一定程度上解释了 *L. plantarum* JM015 后生元抑制鼠伤寒沙门氏菌黏附能力的来源。

2.3.5 毒力因子和抗生素抗性基因分析 毒力因子是指能够帮助生物体侵入宿主并增强其引起疾病潜力的因子。如表 3 所示,在 *L. plantarum* JM015 的

基因组中存在 5 个毒力基因位点,其中 1 个存在于质粒中,主要与免疫逃逸、黏附侵袭、监管和酶等有关,并无与毒素产生相关的基因。如表 4 所示,*L. plantarum*JM015 的基因组中存在能够使菌株对氟喹诺酮类、糖肽类素、大环内酯类抗生素等具有抗性的编码基因,分布在染色体和 P4 质粒上。有研究表

表 3 毒力相关基因分析

Table 3 Analysis of virulence related genes

基因位点	数据库编码	编码基因	类别
<i>L. plantarum</i> JM015001299	VFG016490	<i>tuf</i>	黏附侵袭
<i>L. plantarum</i> JM015001806	VFG006826	<i>lisR</i>	监管
<i>L. plantarum</i> JM015002472	VFG005582	<i>eno</i>	酶
<i>L. plantarum</i> JM015002504	VFG005871	<i>hasC</i>	免疫逃逸
<i>L. plantarum</i> JM015003114(p2)	VFG006022	<i>rfbB, rmlB, rffG</i>	免疫逃逸

注: p2代表位于2号质粒上,其余未标注位于染色体上。

表 4 抗生素抗性基因分析

Table 4 Gene analysis of antibiotic resistance

基因位点	编码基因	抗生素类型
<i>L. plantarum</i> JM015000030	<i>van</i>	糖肽抗菌素
<i>L. plantarum</i> JM015001357		
<i>L. plantarum</i> JM015000380		
<i>L. plantarum</i> JM015000448	<i>patA</i>	氟喹诺酮类抗生素
<i>L. plantarum</i> JM015000475	<i>macB</i>	大环内酯类抗生素
<i>L. plantarum</i> JM015000574	<i>msbA</i>	硝基咪唑抗生素
<i>L. plantarum</i> JM015000973		
<i>L. plantarum</i> JM015000640	<i>tetA (60)</i>	四环素类抗生素
<i>L. plantarum</i> JM015000641	<i>tetB (60)</i>	四环素类抗生素
<i>L. plantarum</i> JM015001062	<i>efrA</i>	大环内酯类抗生素、利福霉素类抗生素、氟喹诺酮类抗生素
<i>L. plantarum</i> JM015000449	<i>lmrD</i>	林可酰胺抗生素
<i>L. plantarum</i> JM015001063		
<i>L. plantarum</i> JM015000639	<i>lmrB</i>	核苷抗生素,林可酰胺抗生素
<i>L. plantarum</i> JM015001462		
<i>L. plantarum</i> JM015002427		
<i>L. plantarum</i> JM015003239(p4)		
<i>L. plantarum</i> JM015002731	<i>novA</i>	氨基香豆素抗生素
<i>L. plantarum</i> JM015000627	<i>optrA</i>	苯酚抗生素,恶唑烷酮抗生素
<i>L. plantarum</i> JM015002533		
<i>L. plantarum</i> JM015000948		
<i>L. plantarum</i> JM015002902	<i>vgaC</i>	链菌素类抗生素、残侧耳素类抗生素、链菌素A类抗生素、林可胺类抗生素
<i>L. plantarum</i> JM015001295	<i>mdtG</i>	膦酸抗生素
<i>L. plantarum</i> JM015002980		
<i>L. plantarum</i> JM015003273(p4)	<i>pmrF</i>	肽抗生素

注: p4代表位于4号质粒上,其余未标注位于染色体上。

明,乳酸菌通过质粒传递耐药基因,存在质粒中的抗性基因可能会随着消费者食用乳酸菌制品转移至人体肠道存在潜在的安全风险^[55-56]。而后生元作为无生命的益生菌制品能够很好的规避掉这一风险^[57]。后续通过药敏性实验验证 *L. plantarum* JM015 的耐药性基因的表达情况,并且通过体外安全性评价相关试验验证其是否有有害代谢物产生。

2.4 安全性实验结果

2.4.1 吲哚、硝酸盐还原酶活性及溶血试验结果
色氨酸作为人体必需氨基酸是菌群-宿主间的桥梁物质,在促进宿主肠道健康中具有重要作用^[58]。细菌代谢产生色氨酸酶会导致色氨酸代谢紊乱进而引起肿瘤、炎症性肠病和肾脏疾病等问题^[59]。如图 7A 所示,吲哚试验显示阳性对照 *E. coli* ATCC 25922 能产生色氨酸酶,分解培养基中的色氨酸产生吲哚,与试剂中的对二甲氨基苯甲醛作用,产生红色色环。而 *L. plantarum* JM015 与空白对照均没有颜色变化,说明 *L. plantarum* JM015 不产生色氨酸酶。

硝酸盐还原酶试验检测菌株是否产生硝酸盐还原酶,硝酸盐在硝酸盐还原酶的作用下还原成亚硝酸盐,亚硝酸盐被人体食用后,在胃酸作用下与蛋白质分解产物反应生成亚硝胺,亚硝胺具有致癌作用^[60]。如图 7B 所示, *E. coli* 具有硝酸盐还原酶活性,还原碘化钾,进而导致淀粉溶液变为蓝色。而 *L. plantarum* JM015 和空白对照溶液没有变色,不具有硝酸盐还原酶活性。

溶血性试验检测菌株是否产生溶血素,溶血素会溶解红细胞,造成血小板损伤,危害人体健康导致

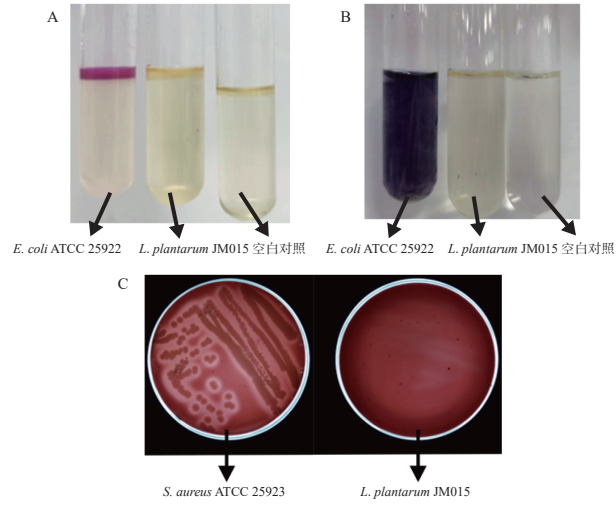


图 7 吲哚(A)、硝酸盐还原酶活性(B)及溶血(C)试验结果图

Fig.7 Results of indole (A), nitrate reductase activity (B) and hemolysis (C) test

贫血等疾病^[61-62]。如图 7C 所示, *S. aureus* 培养后出现透明溶血圈,为 β -溶血。 *L. plantarum* JM015 培养后没有溶血环,为 γ -溶血,不具有溶血能力。

2.4.2 药物敏感性试验 微生物对抗生素的敏感性是检测微生物安全性最重要实验的之一。本实验选取临床常用的 7 类抗生素: β -内酰胺类、头孢类、糖肽类、氨基糖甙类、大环内酯类、四环素类、喹诺酮类。

如表 5 所示, *L. plantarum* JM015 抗生素敏感性试验证实了其对氨苄西林、麦迪霉素、多西环素和氯霉素等 12 种抗生素具有敏感性,对丁胺卡那和四环

表 5 *L. plantarum* JM015 耐药性结果
Table 5 Drug resistance results of *L. plantarum* JM015

抗生素类别	抗生素名称	抑菌圈直径折点(mm)			抑菌圈直径 (mm)	敏感程度
		耐药R	中介I	敏感S		
β -内酰胺类	氨苄西林	≤ 13	14~16	≥ 17	32.88 $\pm$ 0.33	S
	羧苄西林	≤ 19	20~22	≥ 23	29.173 $\pm$ 1.50	S
	哌拉西林	≤ 17	18~20	≥ 21	36.26 $\pm$ 2.11	S
头孢类	头孢唑啉	≤ 14	15~17	≥ 18	26.82 $\pm$ 0.07	S
	头孢哌酮	≤ 15	16~20	≥ 21	21.97 $\pm$ 0.54	S
	头孢曲松	≤ 13	14~20	≥ 21	27.75 $\pm$ 1.30	S
糖肽类	万古霉素	≤ 14	15~16	≥ 17	0.00	R
氨基糖甙类	丁胺卡那	≤ 14	15~16	≥ 17	15.74 $\pm$ 0.93	I
	庆大霉素	≤ 12	13~14	≥ 15	15.82 $\pm$ 0.64	S
	新霉素	≤ 12	13~16	≥ 17	17.78 $\pm$ 0.34	S
大环内酯类	红霉素	≤ 13	14~22	≥ 23	24.24 $\pm$ 0.32	S
	麦迪霉素	≤ 13	14~17	≥ 18	23.15 $\pm$ 0.98	S
	四环素	≤ 14	15~18	≥ 19	16.95 $\pm$ 0.19	I
四环素类	多西环素	≤ 12	13~15	≥ 16	19.03 $\pm$ 1.58	S
	环丙沙星	≤ 15	16~20	≥ 21	10.82 $\pm$ 0.28	R
	诺氟沙星	≤ 12	13~16	≥ 17	0.00	R
喹诺酮类	氧氟沙星	≤ 12	13~15	≥ 16	12.80 $\pm$ 0.83	R
	氯霉素	≤ 12	13~17	≥ 18	25.59 $\pm$ 0.31	S

注:表中S代表敏感、I代表中度敏感、R代表耐药。

素 2 种抗生素中度敏感; 对环丙沙星、诺氟沙星和万古霉素等 4 种抗生素具耐药性。与前文 *L. plantarum* JM015 全基因组中抗生素抗性基因分析结果基本相符, 主要对糖肽类抗生素和氟喹诺酮类抗生素耐药。

3 结论

本研究通过抑菌和细胞实验筛选出抗沙门氏菌效果好的后生元, 并对其原始菌株进行全基因组测序和安全性评价。结果表明, *L. plantarum* JM015 后生元能有效抑制鼠伤寒沙门氏菌的生长以及黏附和侵袭 HT-29 细胞。*L. plantarum* JM015 全基因组中发现多个与抑菌相关的基因簇以及黏附相关编码基因, 并且无毒素产生相关的基因和抗生素抗性基因转移的风险。同时 *L. plantarum* JM015 不产生色氨酸酶和硝酸盐还原酶, 不具备溶血能力, 对常见抗生素敏感。因此, *L. plantarum* JM015 后生元应用于鼠伤寒沙门氏菌的防控中十分的安全可行。本研究为 *L. plantarum* JM015 后生元作为新的后生元原料用于预防鼠伤寒沙门氏菌感染提供理论基础, 未来的研究可在此基础上结合体内动物研究深入探讨 JM015 生元抗沙门氏菌的作用靶点和机制, 以进一步为 *L. plantarum* JM015 后生元的开发和利用提供更为科学的依据。

© The Author(s) 2025. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

参考文献

- [1] ABDALLAH M, BENOLIEL C, DRIDER D, et al. Biofilm formation and persistence on abiotic surfaces in the context of food and medical environments[J]. *Archives of Microbiology*, 2014, 196(7): 453–472.
- [2] IKUTA K S, SWETSCHINSKI L R, AGUILAR G R, et al. Global mortality associated with 33 bacterial pathogens in 2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019[J]. *Lancet*, 2022, 400(10369): 2221–2248.
- [3] MAJOWICZ S E, MUSTO J, SCALLAN E, et al. The global burden of nontyphoidal *Salmonella* gastroenteritis[J]. *Clinical Infectious Diseases*, 2010, 50(6): 882–889.
- [4] MURRAY C J L, IKUTA K S, SHARARA F, et al. Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis[J]. *Lancet*, 2022, 399(10325): 629–655.
- [5] TALUKDER H, ROKY S A, DEBNATH K, et al. Prevalence and antimicrobial resistance profile of *Salmonella* isolated from human, animal and environment samples in south asia: A 10-year meta-analysis[J]. *Journal of Epidemiology and Global Health*, 2023, 13: 637–652.
- [6] CHANG C H, TENG P Y, LEE T T, et al. Effects of multi-strain probiotic supplementation on intestinal microbiota, tight junctions, and inflammation in young broiler chickens challenged with *Salmonella enterica* subsp. *enterica*[J]. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 2020, 33(11): 1797–1808.
- [7] RAHEEM A, LIANG L, ZHANG G Z, et al. Modulatory ef-

- fects of probiotics during pathogenic infections with emphasis on immune regulation[J]. *Frontiers in Immunology*, 2021, 12: 616713.
- [8] LU X X, XIE S, YE L L, et al. *Lactobacillus* protects against *S. typhimurium*-induced intestinal inflammation by determining the fate of epithelial proliferation and differentiation[J]. *Molecular Nutrition & Food Research*, 2020, 64(5): e1900655.
 - [9] DUAN B J, SHAO L N, LIU R H, et al. *Lactobacillus rhamnosus* GG defense against *Salmonella enterica* serovar *Typhimurium* infection through modulation of M1 macrophage polarization[J]. *Microbial Pathogenesis*, 2021, 156: 104939.
 - [10] SOEMARIE Y B, MILANDA T, BARLIANA M I. Fermented foods as probiotics: A review[J]. *Journal of Advanced Pharmaceutical Technology & Research*, 2021, 12(4): 335–339.
 - [11] NIAMAH A K, AL-SAHLANY S T G, IBRAHIM S A, et al. Electro-hydrodynamic processing for encapsulation of probiotics: A review on recent trends, technological development, challenges and future prospect[J]. *Food Bioscience*, 2021, 44.
 - [12] SALMINEN S, COLLADO M C, ENDO A, et al. The International Scientific Association of Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of postbiotics[J]. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 2021, 18(9): 649–667.
 - [13] NATARAJ B H, ALI S A, BEHARE P V, et al. Postbiotics-parabiotics: the new horizons in microbial biotherapy and functional foods[J]. *Microbial Cell Factories*, 2020, 19(1): 168.
 - [14] ROSSONI R D, DE BARROS P P, MENDONCA I D C, et al. The postbiotic activity of *Lactobacillus paracasei* 28.4 Against *Candida auris*[J]. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 2020, 10: 397.
 - [15] MOHAMMADI R, MORADI M, TAJIK H, et al. Potential application of postbiotics metabolites from bioprotective culture to fabricate bacterial nanocellulose based antimicrobial packaging material[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2022, 220: 528–536.
 - [16] ANDRESEN V, GSCHOSSMANN J, LAYER P. Heat-inactivated *Bifidobacterium bifidum* MIMBb75 (SYN-HI-001) in the treatment of irritable bowel syndrome: a multicentre, randomised, double-blind, placebo-controlled clinical trial[J]. *Lancet Gastroenterology & Hepatology*, 2020, 5(7): 658–666.
 - [17] JOHNSON-HENRY K C, HAGEN K E, GORDONPOUR M, et al. Surface-layer protein extracts from *Lactobacillus helveticus* inhibit enterohaemorrhagic *Escherichia coli* O157: H7 adhesion to epithelial cells[J]. *Cellular Microbiology*, 2007, 9(2): 356–367.
 - [18] KARBOWIAK M, GALEK M, SZYDLOWSKA A, et al. The influence of the degree of thermal inactivation of probiotic lactic acid bacteria and their postbiotics on aggregation and adhesion inhibition of selected pathogens[J]. *Pathogens*, 2022, 11(11): 1260.
 - [19] KHOJAH E, GOMAA M S, ELSHERBINY E G, et al. The *in vitro* analysis of postbiotics in functional labneh to be used as powerful tool to improve cell surfaces properties and adherence potential of probiotic strains[J]. *Fermentation-Basel*, 2022, 8(3): 122.
 - [20] OOI M F, FOO H L, LOH T C, et al. A refined medium to enhance the antimicrobial activity of postbiotic produced by *Lactiplantibacillus plantarum* RS5[J]. *Scientific Reports*, 2021, 11(1): 7617.
 - [21] 贺菁, 周金雨, 刘瑞娜, 等. 一株产细菌素植物乳杆菌高密度发酵培养基的筛选及其在酸奶中的应用[J]. *食品工业科技*, 2019, 40(21): 78–83.
 - [HE J, ZHOU J Y, LIU R N, et al. Screening of high cell density fermentation medium of a bacteriocin pro-

- ducing *Lactobacillus plantarum* and its application in yoghurt[J]. Science and Technology of Food Industry, 2019, 40(21): 78–83.]
- [22] 王琳琳. 双歧杆菌对便秘的影响及其作用机理研究[D]. 无锡: 江南大学, 2018: 13. [WANG L L. Study of the effects and mechanisms of *Bifidobacteria* on constipation alleviation[D]. Wuxi: Jiangnan University, 2018: 13.]
- [23] 刘俊生. 植物乳杆菌对沙门氏菌感染预防作用的研究[D]. 无锡: 江南大学, 2019: 28–29. [LIU J S. Study on the preventive effects of *Lactobacillus plantarum* against *Salmonella* infection[D]. Wuxi: Jiangnan University, 2019: 28–29.]
- [24] 郭晓农, 赵诗佳, 马梦慈, 等. 荷兰泌乳牛粪便中益生菌的分离与鉴定[J]. 西北民族大学学报(自然科学版), 2021, 42(4): 15–20. [GUO X N, ZHAO S J, MA M C, et al. Probiotics isolation and identification from feces of holstein lactating cow[J]. Journal of Northwest Minzu University (Natural Science), 2021, 42(4): 15–20.]
- [25] 苗超, 张宇, 杨鑫焱, 等. 降尿酸乳酸菌菌株的筛选及其全基因组分析[J]. 中国食品学报, 2024, 24(7): 88–99. [MIAO C, ZHANG Y, YANG X Y, et al. Screening of uric acid-lowering lactic acid bacteria and whole genome sequencing analysis[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2024, 24(7): 88–99.]
- [26] KIM T, MONDAL S C, JEONG C R, et al. Safety evaluation of *Lactococcus lactis* IDCC 2301 isolated from homemade cheese[J]. Food Science & Nutrition, 2022, 10(1): 67–74.]
- [27] 孙长贵. 2016年 CLSI M100S-第26版文件主要更新内容解读[C]. 2016年浙江省检验医学学术年会论文汇编, 中国浙江湖州, 2016: 1. [SUN C G. Interpretation of the main updates in the 2016 CLSI M100S - 26th edition document[C]. Proceedings of the 2016 Zhejiang Provincial Academic Conference on Laboratory Medicine, Huzhou, Zhejiang Province, China, 2016: 1.]
- [28] CUEVAS-GONZALEZ P F, LICEAGA A M, AGUILAR-TOALA J E. Postbiotics and paraprobiotics: From concepts to applications[J]. Food Research International, 2020, 136: 109502.]
- [29] JENNINGS E, THURSTON T L M, HOLDEN D W. *Salmonella* SPI-2 Type III secretion system effectors: Molecular mechanisms and physiological consequences[J]. Cell Host & Microbe, 2017, 22(2): 217–231.]
- [30] 吕秀莉, 岳莹雪, 平丽筠, 等. 益生菌黏附机制及其拮抗肠道致病菌研究进展[J]. 食品科学, 2023, 44(9): 313–320. [LÜ X L, YUE Y X, PING L J, et al. Research progress on the adhesion mechanism and antagonistic effects against intestinal pathogens of probiotics[J]. Food Science, 2023, 44(9): 313–320.]
- [31] 梅鑫, 宋玉顺, 田维素, 等. 复合绿茶对高脂血症小鼠有机酸代谢的影响[J]. 食品研究与开发, 2022, 43(11): 79–91. [MEI X, SONG Y Y, TIAN W S, et al. Effect of compound green tea on organic-acid metabolism in hyperlipidemic mice[J]. Food Research and Development, 2022, 43(11): 79–91.]
- [32] ZHOU S H, DING N N, HAN R H, et al. Metabolic engineering and fermentation optimization strategies for producing organic acids of the tricarboxylic acid cycle by microbial cell factories[J]. Bioresource Technology, 2023, 379: 128986.]
- [33] SILVA D R, ORLANDI SARDI J D C, PITANGUI N D S, et al. Probiotics as an alternative antimicrobial therapy: Current reality and future directions[J]. Journal of Functional Foods, 2020, 73: 104080.]
- [34] VAN HEEL A J, DE JONG A, MONTALBAN-LOPEZ M, et al. BAGEL3: automated identification of genes encoding bacteriocins and (non-)bactericidal posttranslationally modified peptides[J]. Nucleic Acids Research, 2013, 41(W1): W448–W453.]
- [35] BLIN K, SHAW S, AUGUSTIJN H E, et al. antiSMASH 7.0: new and improved predictions for detection, regulation, chemical structures and visualisation[J]. Nucleic Acids Research, 2023, 51(W1): W46–W50.]
- [36] REHAN M, GUEDDOU A, ALHARBI A, et al. *In silico* prediction of secondary metabolites and biosynthetic gene clusters analysis of *Streptomyces thinghirensis* HM3 isolated from arid soil[J]. Fermentation-Basel, 2023, 9(1): 65.]
- [37] 祝友朋, 韩长志. 不同营养类型植物病原真菌次生代谢产物合成基因簇的差异性研究[J]. 华中农业大学学报, 2020, 39(6): 37–43. [ZHU Y P, HAN C Z. Differences in gene clusters of synthesizing secondary metabolites of plant pathogenic fungi with different nutritional types[J]. Journal of Huazhong Agricultural University, 2020, 39(6): 37–43.]
- [38] SHI D L, SHI H. The synergistic antibacterial effect and inhibition of biofilm formation of nisin in combination with terpenes against *Listeria monocytogenes*[J]. Letters in Applied Microbiology, 2022, 75(3): 632–642.]
- [39] 杨亚兰, 任佳丽, 张慧. 食用菌中萜类物质及其生物活性研究进展[J]. 食品工业科技, 2019, 40(1): 305–310. [YANG Y L, REN J L, ZHANG H. Research progress of terpenoids and bioactivities in edible mushroom[J]. Science and Technology of Food Industry, 2019, 40(1): 305–310.]
- [40] AZIZ T, NAVEED M, SARWAR A, et al. Functional annotation of *Lactiplantibacillus plantarum* 13-3 as a potential starter probiotic involved in the food safety of fermented products[J]. Molecules, 2022, 27(17): 5399.]
- [41] EKBLAD B, KYRIAKOU P K, OPPEGARD C, et al. Structure-function analysis of the Two-peptide bacteriocin plantaricin EF[J]. Biochemistry, 2016, 55(36): 5106–5116.]
- [42] TSAPIEVA A, DUPLIK N, SUVOROV A. Structure of plantaricin locus of *Lactobacillus plantarum* 8P-A3[J]. Beneficial Microbes, 2011, 2(4): 255–261.]
- [43] YI Y L, LI P, ZHAO F, et al. Current status and potentiality of class II bacteriocins from lactic acid bacteria: structure, mode of action and applications in the food industry[J]. Trends in Food Science & Technology, 2022, 120: 387–401.]
- [44] ALBUQUERQUE-SOUZA E, BALZARINI D, ANDO-SUGIMOTO E S, et al. Probiotics alter the immune response of gingival epithelial cells challenged by *Porphyromonas gingivalis*[J]. Journal of Periodontal Research, 2019, 54(2): 115–127.]
- [45] WU Y J, ZHANG X Y, LIU X Y, et al. Strain specificity of lactobacilli with promoted colonization by galactooligosaccharides administration in protecting intestinal barriers during *Salmonella* infection[J]. Journal of Advanced Research, 2024, 56: 1–14.]
- [46] ALTERMANN E, RUSSELL W M, AZCARATE-PERIL M A, et al. Complete genome sequence of the probiotic lactic acid bacterium *Lactobacillus acidophilus* NCFM[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2005, 102(11): 3906–3912.]
- [47] BOOTH C E, JR., POWELL-PIERCE A D, SKARE J T, et al. *Borrelia miyamotoi* FbpA and FbpB are immunomodulatory outer surface lipoproteins with distinct structures and functions[J]. Frontiers in Immunology, 2022, 13: 886733.]
- [48] WANG G Q, ZHANG M H, ZHAO J X, et al. A surface protein from *Lactobacillus plantarum* increases the adhesion of *Lactobacillus* strains to human epithelial cells[J]. Frontiers in Microbiology, 2018, 9: 02858.]

- [49] RAMIAH K, VAN REENEN C A, DICKS L M T. Surface-bound proteins of *Lactobacillus plantarum* 423 that contribute to adhesion of Caco-2 cells and their role in competitive exclusion and displacement of *Clostridium sporogenes* and *Enterococcus faecalis*[J]. *Research in Microbiology*, 2008, 159(6): 470–475.
- [50] SALMINEN S, VINDEROLA G, SANDERS M E. Commentary on: functional food science and gastrointestinal physiology and function[J]. *British Journal of Nutrition*, 2022, 128(2): 179–182.
- [51] SINGH T P, KAUR G, KAPILA S, et al. Antagonistic activity of *Lactobacillus reuteri* strains on the adhesion characteristics of selected pathogens[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2017, 8: 486.
- [52] SARKAR A, MANDAL S. Bifidobacteria-insight into clinical outcomes and mechanisms of its probiotic action[J]. *Microbiological Research*, 2016, 192: 159–171.
- [53] HYUN S J, LEE J S, SEO J G. Assessment of cell adhesion, cell surface hydrophobicity, autoaggregation, and lipopolysaccharide-binding properties of live and heat-killed *Lactobacillus acidophilus* CBT LA1[J]. *Korean Journal of Microbiology*, 2015, 51(3): 241–248.
- [54] CHEN C Y, TSEN H Y, LIN C L, et al. Enhancement of the immune response against *Salmonella* infection of mice by heat-killed multispecies combinations of lactic acid bacteria[J]. *Journal of Medical Microbiology*, 2013, 62: 1657–1664.
- [55] KOUTSOUMANIS K, ALLENDE A, ALVAREZ-ORDONEZ A, et al. Role played by the environment in the emergence and spread of antimicrobial resistance (AMR) through the food chain[J]. *EFSA Journal*, 2021, 19(6): 6651.
- [56] 刘传杰, 谈千千, 朱凯妮, 等. 杭州地区发酵乳制品中乳酸菌发生耐药传播的安全性研究[J]. *中国微生态学杂志*, 2014, 26(5): 526–529, 533. [LIU C J, TAN Q Q, ZHU K N, et al. Assessment on the potential biosafety threat of Lactic acid bacteria isolated from fermented dairy products in Hangzhou[J]. *Chinese Journal of Microecology*, 2014, 26(5): 526–529, 533.]
- [57] 刘红霞, 李雪利, 吴秀英, 等. 后生元研究进展及应用现状[J]. *食品科学*, 2024, 45(1): 1–12. [LIU H X, LI X L, WU X Y, et al. Progress on research and application of postbiotics[J]. *Food Science*, 2024, 45(1): 1–12.]
- [58] HE Z W, GUO J Y, ZHANG H W, et al. Atractylodes macrocephala Koidz polysaccharide improves glycolipid metabolism disorders through activation of aryl hydrocarbon receptor by gut flora-produced tryptophan metabolites[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2023, 253: 126987.
- [59] 代明鑫, 江振洲, 黄鑫. 色氨酸及代谢物的生理功能以及在疾病中的作用研究进展[J]. *中南药学*, 2021, 19(5): 909–915. [DAI M X, JIANG Z Z, HUANG X. Advances in physiological functions of tryptophan and its metabolites and their roles in diseases[J]. *Central South Pharmacy*, 2021, 19(5): 909–915.]
- [60] 黄芷珊, 任红, 黄炜健, 等. 糯米酒源贝莱斯芽孢杆菌的体外安全性评价[J]. *食品与发酵工业*, 2022, 48(18): 95–100. [HUANG Z S, REN H, HUANG W J, et al. *In vitro* safety evaluation of *Bacillus velezensis* from glutinous rice wine[J]. *Food and Fermentation Industries*, 2022, 48(18): 95–100.]
- [61] 史梅蓓, 伍亚龙, 杨恺, 等. 四川泡菜中潜在益生性植物乳杆菌的筛选及安全性评价[J]. *食品工业科技*, 2022, 43(22): 165–172. [SHI M M, WU Y L, YANG K, et al. Screening and safety evaluation of potential probiotic *Lactobacillus*[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2022, 43(22): 165–172.]
- [62] VOGEL V, SPELLERBERG B. Bacteriocin production by Beta-hemolytic streptococci[J]. *Pathogens*, 2021, 10(7): 867.