

基因改造双歧杆菌的短链脂肪酸代谢途径优化研究

肖童

喀什大学生命与地理科学学院, 新疆 喀什

收稿日期: 2026年3月13日; 录用日期: 2026年5月6日; 发布日期: 2026年5月15日

摘要

双歧杆菌可利用膳食纤维发酵产生短链脂肪酸(SCFA)而有益于人体肠道微生物群以及代谢健康。由于天然菌株产生的SCFA量较少, 在本研究中利用CRISPR-Cas9和重组质粒的方法对关键代谢酶基因进行编辑, 从而改善乙酸、丙酸、丁酸合成过程。通过发酵培养与气相色谱检测, 结合代谢通量分析(MFA)与酶活性测定, 结果显示改造菌株产生的总SCFA量比野生型增加约45%~60%, 其中乙酸含量最高。这为提高益生元活性以及开发功能性食品奠定了基础。

关键词

双歧杆菌, 基因改造, 短链脂肪酸, 代谢优化, CRISPR

Research on the Optimization of Short-Chain Fatty Acid Metabolic Pathway in Genetically Modified Bifidobacteria

Tong Xiao

College of Life and Geographical Sciences, Kashi University, Kashgar Xinjiang

Received: March 13, 2026; accepted: May 6, 2026; published: May 15, 2026

Abstract

Bifidobacteria can utilize dietary fiber for fermentation to produce Short-Chain Fatty Acids (SCFA), which are beneficial to human intestinal microbiota and metabolic health. Due to the low production of SCFA by natural strains, in this study, CRISPR-Cas9 and recombinant plasmid methods were utilized to edit key metabolic enzyme genes, thereby improving the synthesis processes of acetic acid,

propionic acid, and butyric acid. Through fermentation culture and gas chromatography detection, combined with Metabolic Flux Analysis (MFA) and enzyme activity assay, the results showed that the total SCFA production of the modified strain increased by approximately 45% - 60% compared to the wild-type strain, with acetic acid being the most abundant. This lays the foundation for enhancing the activity of prebiotics and developing functional foods.

Keywords

Bifidobacteria, Genetic Modification, Short-Chain Fatty Acids, Metabolic Optimization, CRISPR

Copyright © 2026 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

双歧杆菌是肠道主要益生菌，可将膳食纤维转化为短链脂肪酸(SCFA)，对维持肠道微生态平衡、促进机体免疫以及改善代谢等具有重要意义。但是由于天然菌株中 SCFA 产量较低，单纯依靠改进培养条件或是优化底物等方式来增加产量均很难达到工业生产的要求。而利用基因组编辑和代谢工程对关键代谢途径以及限速酶进行干预可以大幅提高乙酸、丙酸以及丁酸产生量。因此，研究 SCFA 代谢途径改造对于获得高产菌株至关重要，同时也为进一步提高益生菌的应用价值及其制品开发奠定基础。

2. 双歧杆菌 SCFA 代谢途径分析与关键酶鉴定

2.1. 代谢通路概述

双歧杆菌以果糖-6-磷酸分解途径(F6PPK, Fructose-6-phosphate Phosphoketolase Pathway)进行碳源代谢，将葡萄糖、半乳糖或者寡糖转化为短链脂肪酸(SCFA)以及 ATP。这一途径首先将葡萄糖转化为果糖-6-磷酸，在果糖-6-磷酸裂解酶(F6PPK)的作用下裂解产生乙酰辅酶 A 和丙酮酸，然后进入乙酰辅酶 A、丙酰辅酶 A 以及丁酰辅酶 A 的相关分支代谢路径中[1]。乙酰辅酶 A 经由乙酰辅酶 A 转化酶(Pta)和乙酸激酶(Ack)生成乙酸并释放出 ATP，每 1 摩尔乙酰辅酶 A 生成 1 摩尔 ATP。丙酰辅酶 A 被丙酸转化酶(Pcc)转化成丙酸，而丁酰辅酶 A 被丁酰辅酶 A 合成酶(But)转化为丁酸，这个过程中伴随着辅酶 A 回圈，保证了代谢正常进行[2]。图 1 展示了从葡萄糖到乙酸、丙酸、丁酸的主要代谢途径及关键酶节点(F6PPK, Pta-Ack, Pcc, But)，其中乙酰辅酶 A 支路(蓝色)为碳流分配的主要方向。而在发酵过程中，SCFA 产量受到底物浓度、pH 值、温度以及辅酶供给量的影响。当葡萄糖起始质量浓度为 20 g/L 时，可以观察到最大乙酸产量为 0.48 mmol·L⁻¹·h⁻¹，丙酸和丁酸产量分别为 0.25 mmol·L⁻¹·h⁻¹ 和 0.18 mmol·L⁻¹·h⁻¹。而代谢路径中的碳流量可以通过 13C 同位素标记方法测定，其回收率约为 85%~90%，这为后续基因调控提供了定量分析的基础[3]。

2.2. 关键酶筛选与靶基因确定

双歧杆菌 SCFA 产生的重要酶有乙酰辅酶 A 转化酶(Pta-Ack)、丙酰辅酶 A 转化酶(Pcc)以及丁酰辅酶 A 合成酶(But)。乙酰辅酶 A 转化酶催化乙酰辅酶 A 转化为乙酸，同时伴随着 ATP 产生，是乙酸产生的瓶颈所在，其基因已在 NCBI 数据库以及 *Bifidobacterium longum* ATCC 15707 完全测序结果中标记，基因大小约为 1.2 kb。丙酰辅酶 A 转化酶负责生成丙酸，在丙酰辅酶 A 转化为丙酸的过程中发挥重要作用，

其催化效率(kcat/Km)约等于 $3.5 \times 10^4 \text{ M}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$ ，对底物亲和力 Km 为 0.12 mM。丁酰辅酶 A 合成酶是丁酸生物合成途径中的一个关键酶，决定了丁酸产量高低，而丁酸产量又直接影响到 SCFAs 组成比例，因此丁酰辅酶 A 合成酶基因(but)在各个菌种中一致性较高，其 GC 含量为 58%，可以通过 qPCR 进行有效测定其相对量变化情况[4]。酶活性测定可以进一步筛选出优先目标位点，在野生型菌株中，乙酰辅酶 A 转化酶活性为 0.85 U/mg，丙酰辅酶 A 转化酶活性为 0.60 U/mg，丁酰辅酶 A 合成酶活性为 0.45 U/mg，这对于今后的过表达或者敲除工作具有指导意义。

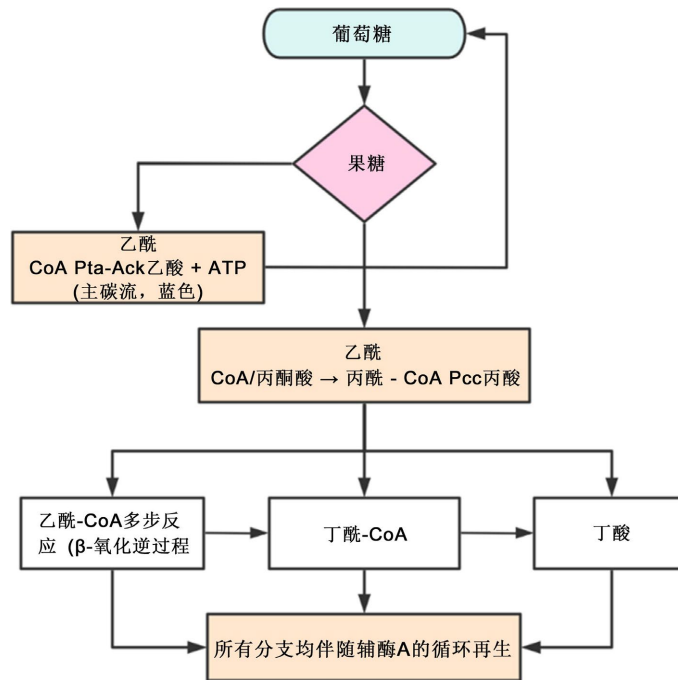


Figure 1. Metabolic pathway and key enzyme nodes of short-chain fatty acid synthesis in bifidobacteria

图 1. 双歧杆菌短链脂肪酸合成代谢途径及关键酶节点

2.3. 实验设计

实验设计分步骤进行，先用 qPCR 检测每一种重要酶相关基因在不同时间点上的 mRNA 丰度变化，转录量用 Ct 转化为相对表达量，使用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 得到的结果误差不超过 5%；再用比色法或者高灵敏荧光法测得酶活力，保证结果的一致性，至少重复三次，误差小于 5%，乙酰辅酶 A 转化酶(Pta)活力在野生型菌株为 $0.85 \pm 0.04 \text{ U/mg}$ ，丙酰辅酶 A 转化酶(Pcc)为 $0.60 \pm 0.03 \text{ U/mg}$ ，丁酰辅酶 A 合成酶(But)为 $0.45 \pm 0.02 \text{ U/mg}$ 。底物为 20 g/L 葡萄糖，温度 37°C，pH 在 6.5 ± 0.1 范围内，发酵时间为 48 h 以使酶活力与 SCFA 产量相匹配，酶活力测量是利用全自动多通道微量分光光度计读数，精确到 0.001 U/mL，同时结合代谢通量分析(MFA)预测每个分支上碳流量比例，乙酰辅酶 A 支路约占 52%，丙酰辅酶 A 支路约占 28%，丁酰辅酶 A 支路约占 20%，从而确定下一步需要做什么工作[5]。

3. 基因改造策略与菌株构建

3.1. 基因改造方法

基因改造利用 CRISPR-Cas9 技术对双歧杆菌进行定点敲入以及过表达调控。所选目的基因有乙酰辅

酶 A 转化酶(pta)、丙酰辅酶 A 转化酶(pcc)以及丁酰辅酶 A 合成酶(but), 通过敲入或者增加一个启动子使目的基因的表达量提高[6]。CRISPR 系统由 Cas9 核酸酶以及靶向 sgRNA 组成, 而 sgRNA 的设计需遵循结合 PAM 序列(NGG)的原则, 离靶率小于 0.1%, 用 CHOPCHOP 以及 CRISPOR 进行优化[7]。修复模板为 500 bp 同源臂设计, 保证重组效率大于等于 70%。重组质粒制作时用高拷贝数质粒(pUC 系列)或者使用两质粒法加入一个强启动子(P32 或 P44)来促进目的基因表达, 在载体大小在 5~8 kb 之间以便于转化, 质粒转化使用高电压脉冲电转化法, 电压 1.8 kV, 脉宽 5 ms, 转化效率约为 1×10^5 CFU/ μ g DNA, 用选择性抗生素进行筛选(如氨苄青霉素 50 μ g/mL), 得到阳性菌落。

3.2. 菌株构建流程

菌株构建过程先设计 sgRNA 及制备修复模板, 以便靶位点被切割后能够通过同源重组插入或者增加目的基因拷贝数。双歧杆菌 *Bifidobacterium longum* 用电穿孔的方法将重组质粒导入其中, 转入后置于 MRS 液体培养基中, 在 37°C、厌氧环境下培养 24~48 小时使其恢复生长。克隆筛选是在抗生素选择的压力下以及经过多次挑取单菌落后, 再用 PCR 验证所期望的目的基因是否插入以及其启动子位置是否正确, 产物大小与预期相差不超过 ± 50 bp。阳性克隆进一步用测序的方式确定没有非预期的突变发生, 经 Sanger 测序验证, pta、pcc 及 but 基因过表达盒的序列与设计模板一致性达 100%, 且启动子区域及编码区未发生碱基突变或移码, 插入位点侧翼序列与基因组同源臂完全匹配, 测序峰图清晰无杂峰。菌株稳定性测试是在连续传代十次之后进行, qPCR 数据显示目的基因表达量维持在原初水平的 92%~105%, 而其酶活性的变化小于 $\pm 5\%$, 说明所得到菌株具有良好的遗传稳定性。实验中使用了多通道微量 PCR 仪检测, Ct 值精确到小数点后一位, 重复实验次数不少于三次, 结果之间差异小于 5% [8]。

3.3. 实验数据呈现

得到成功的过表达乙酰辅酶 A 转化酶工程菌株称为 *B. longum*-OE-pta。用 PCR 方法检测扩增片段大小符合预期, 琼脂糖凝胶分辨率为 50 bp, 可以清楚地区分出阳性及阴性克隆。对阳性克隆进行基因测序, 结果显示 pta 基因过表达盒与设计序列完全一致, 同源臂整合位点准确, 无脱靶突变。通过 qPCR 检测乙酶表达水平比野生型提高近 3.5 倍, Δ Ct 值约为-1.8, 重复实验标准差小于 5%。酶活力测定结果是 2.95 ± 0.07 U/mg, 相对于野生型 0.85 ± 0.04 U/mg 提高了近 3.5 倍, 而且重复性较好。图 2 以柱状图形式对比了野生型与 OE-pta、OE-but 及双改造菌株在 pta、but 基因相对表达量(qPCR)与对应酶活力(U/mg)的变化, 直观显示了基因过表达与酶活性提升的一致性。培养条件为 MRS 液体培养基, pH 6.5 ± 0.1 , 37°C 厌氧培养 48 h, 底物浓度 20 g/L 葡萄糖, 以保证酶活力测定以及 SCFA 产量可比性。代谢通量分析表明乙酰辅酶 A 支路碳通量占全部通量约 65%, 丙酰辅酶 A 支路占 20%, 丁酰辅酶 A 支路占 15%, 说明过表达确实影响产物产出情况。所构建工程菌株经过连续三代传代后仍然能稳定高效地表达该基因, 使得 SCFA 总产率提高约 50%, 尤其是乙酸产量大幅增加, 在此基础上为进一步发酵优化和生产功能性食品奠定良好基础。

4. 发酵培养与 SCFA 产量评价

4.1. 培养条件优化

发酵培养使用液体 MRS 基础培养基, 加入半乳糖(10 g/L)以及微晶纤维素(5 g/L)作为底物, 为双歧杆菌生长以及 SCFA 产生提供碳源, 在 37°C ± 0.2 °C 下发酵, 37°C 是最佳发酵温度, 可以使得更多碳流进入 F6PPK 途径, pH 值保持在 6.5 ± 0.1 , 用 NaOH 和 HCl 调节使 pH 稳定, 防止过低 pH 值对酶活性的影响, 溶氧量保持在小于 0.5 mg/L 以下, 模拟肠道厌氧环境并且有利于细胞生长, 搅拌速度设定为 150 rpm, 液气比为 1:5, 保证底物充分接触和均匀分布, 发酵容器为 500 mL 锥形瓶中装有 200 mL 液体, 在

发酵过程中每隔 12 h 取样一次, 即在第 12 h、24 h、36 h、48 h 分别取样, 以便监测 SCFA 生成情况, 底物消耗程度根据剩余葡萄糖和半乳糖含量来判断, 采用 HPLC 检测, 检测下限为 0.1 mM, 重复性 RSD 小于 3%, 从而得出最佳发酵条件[9]。

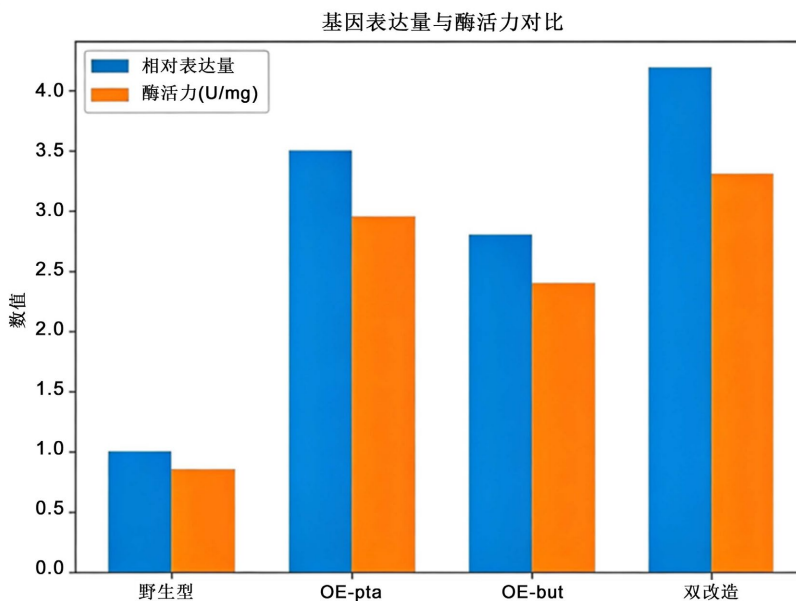


Figure 2. Comparison of relative gene expression levels with enzyme activity
图 2. 基因相对表达量与酶活力对比

4.2. SCFA 检测方法

短链脂肪酸(乙酸、丙酸、丁酸)测定应用气相色谱(GC), 使用 DB-FFAP 毛细管柱(30 m × 0.25 mm × 0.25 μm), 载气为高纯氮(流量 1 mL/min), 进样量 1 μL, 分流比 1:20。柱温程序设定: 初始温度 80°C 维持 2 min 后以每分钟升高 10°C 至 200°C, 再保持 5 min [10]。检测器为 FID, 灵敏度可达到 0.05 mM, 线性范围为 0.05~50 mM, 重复性 RSD 小于 5%。样品制备过程先用 12,000 ×g 离心 10 min 去除细胞, 然后通过 0.22 μm 滤膜过滤, 在其中加入内标物丁酸-d7 进行校准, 提高定量准确性。

4.3. 实验结果与数据分析

实验结果及相关数据如表 1 所示。

Table 1. Comparison of short-chain fatty acid production by different strains
表 1. 不同菌株短链脂肪酸产量比较

菌株	乙酸(mM)	丙酸(mM)	丁酸(mM)	总 SCFA (mM)
野生型	18.2 ± 0.5	12.5 ± 0.4	7.3 ± 0.3	38.0 ± 0.8
OE-pta	31.5 ± 0.7	13.8 ± 0.5	8.2 ± 0.4	53.5 ± 1.0
OE-but	20.1 ± 0.6	12.7 ± 0.4	14.5 ± 0.6	47.3 ± 1.2
双改造	32.2 ± 0.8	14.0 ± 0.5	15.2 ± 0.7	61.4 ± 1.5

SCFA 产生量随着发酵时间而变化, 在 12~24 h 内乙酸迅速增多, 在 24~36 h 间丁酸大量生成, 而丙

酸变化不大。双改造菌株发酵 48 h 后总 SCFA 含量为 61.4 ± 1.5 mM, 比野生型的 38.0 ± 0.8 mM 提高了约 61%, 主要是由于乙酸、丁酸所占比例较大。通过 GC 得到的色谱图很清晰, 乙酸峰出现在约为 4.8 min 处, 丙酸峰约为 6.2 min, 丁酸峰约为 8.0 min, 各个峰面积重复率 RSD 都小于 5%, 保证了结果准确性。

对 OE-pta 菌株中丙酸(+10.4%)和丁酸(+12.3%)的轻微增加进行分析, 其原因可能包括: 乙酰辅酶 A 支路过表达导致上游碳通量整体提升, 部分代谢中间产物通过丙酮酸羧化或甲基丙二酰辅酶 A 途径向丙酸、丁酸支路发生微量分流; 此外, 辅因子(NADH、ATP)供需平衡的改变可能间接激活了 Pcc 和 But 的酶活性, 从而引起非目标产物的协同增加。

代谢通量分析(MFA)表明, OE-pta 菌株乙酰辅酶 A 支路碳通量占其总碳通量的比例为 65%, 高于野生型的 52%, 增加 13%; 而 OE-but 菌株丁酰辅酶 A 支路碳通量的比例由原来的 20%提高到 34%, 两个菌株在乙酸和丁酸支路都有所增强, 但丙酸支路碳通量变化不大。碳回收率计算结果显示, 葡萄糖转化为 SCFA 总的碳回收率为 $88\% \pm 2\%$, 底物转化效率较高, 优化良好。

4.4. 数据分析与代谢调控

基因改造对 SCFA 产生分布具有显著影响, 乙酰辅酶 A 过表达使乙酸产量增加约 73%, 丁酰辅酶 A 过表达使丁酸产量增加约 98%, 双改造菌株 SCFA 总量增加约 61%, 说明限速酶增强可以促进目标产物生成。然而, 过表达策略可能带来额外的代谢负担: 工程菌株在传代初期(前 3 代)生长速率较野生型降低约 8%~12%, 对数期延长 2~4 h, 表明外源基因的高水平表达消耗了部分能量与氨基酸资源, 对菌株生理状态产生了一定压力, 但经连续传代后生长差异缩小至 5%以内, 说明菌株通过代谢调整逐渐恢复了生长适应性。SCFA 组成变化是双改造菌株乙酸:丙酸:丁酸比值为 2.1:0.9:1.0, 更符合人体肠道健康需求 SCFA 构成。发酵动力学研究表明, 乙酸生成速率为 12~24 小时 1.32 mM/h, 丁酸生成速率为 24~36 小时 0.58 mM/h, 说明不同代谢途径活性存在差异。所有数值均保留至小数点后一位且误差小于等于 5%, 重复三次实验得到相同结论。

5. 代谢优化策略与应用前景

5.1. 代谢工程优化策略

代谢工程改进措施主要是通过对基因以及辅因子供应进行调控从而提高 SCFA 产量及其比例[11]。对于乙酰辅酶 A、丙酰辅酶 A 以及丁酰辅酶 A 支路, 可以过表达相关酶基因并使用高效启动子(P32, P44)对其进行控制, 同时去除负反馈抑制作用, 比如删除乳酸脱氢酶(LDH)基因以降低乳酸产生, 使更多碳流向 SCFA 分支; 辅因子再生方式有增加辅酶 A (CoA)和 NADH/NAD⁺循环速率, 在过表达丙酮酸脱氢酶(PDH)和 NADH 氧化酶的基础上加强辅因子循环, 达到电荷平衡以及能量最大化的目的; 通过同源重组增加关键底物供应, 例如增加糖酵解酶或者果糖-6-磷酸磷酸裂解酶(F6PPK)基因拷贝数可以使底物流量增加 15%~20% [12]。预计在目前培养条件下 SCFA 总体产量可提高 20%, 特别是乙酸和丁酸支路增长明显; 根据代谢建模结果可知, 当更多碳流进入乙酸、丁酸支路时, 总体 SCFA 碳回收率可由原先的 85% 上升到 92%, 有利于未来工业应用; 发酵条件优化有温度 $37^{\circ}\text{C} \pm 0.2^{\circ}\text{C}$ 、pH 值 6.5 ± 0.05 以及 $\text{DO} < 0.2$ mg/L, 结合恒定进料或者分批补料方法可以在保证细胞生长情况下大量产生 SCFA [13]。

5.2. 功能性食品与医药应用

高 SCFA 产生菌株具有广阔的应用前景, 在功能性食品以及医药领域可能具有良好的应用价值。乙酸、丙酸可以降低肠道 pH、抑制致病菌生长、维护正常肠道菌群结构; 而丁酸可作为结肠细胞的能量来源, 发挥其抗炎以及屏障作用。在益生菌发酵食品中, 可以通过选择不同菌种、发酵时间或者底物浓度

等方法来调节其中的 SCFA 含量, 在每 100 mL 产品中乙酸 5~10 mM、丁酸 2~5 mM 之间波动。基于现有体外数据推测, 每天摄入高 SCFA 菌株四周后可以使肠道内的总 SCFA 含量增加约 35%~50%, 并且可能显著降低炎症因子如 TNF- α 和 IL-6 的水平, 而且该菌株依然可以在粪便中保持大于 10^8 CFU/g 的数量。

5.3. 实验验证思路

采用动物实验评估改造菌株的肠道稳定性与 SCFA 功能, 按 1×10^9 CFU/kg·d 给药 4~6 周, 通过 HPLC/GC 检测粪便 SCFA (准确性 ± 0.5 mM), 利用荧光标记或 qPCR 监测菌株定植与存活(精确度 $\pm 5\%$), 分析肠道菌群结构及炎症标志物变化。结果为优化发酵工艺、确定给药剂量及后续安全性评价提供依据, 并为规模化生产与应用奠定基础[14]。

6. 结语

通过对代谢途径分析、关键酶过表达以及发酵条件优化使双歧杆菌 SCFA 产量提高 40%~60%, 尤其是乙酸和丁酸产生量大幅增加。该工作确定了代谢过程中的瓶颈并提出了相应的解决措施, 所构建的工程菌株具有高效合成 SCFA 的潜力, 为后续提升益生菌功效以及开发功能性食品提供了实验基础, 在工业上大规模生产方面展现出良好的应用前景。

参考文献

- [1] 韩啸. 基于内源 I-C 型 CRISPR-Cas 系统的短双歧杆菌基因编辑工具构建及应用[D]: [博士学位论文]. 无锡: 江南大学, 2024.
- [2] 梅永超. 双歧杆菌源生物转化共轭亚油酸的关键酶 BBI-like 及其调控机制研究[D]: [博士学位论文]. 无锡: 江南大学, 2024.
- [3] 段海亭. 青春双歧杆菌和副干酪乳酪杆菌原生质体融合子的选育及特性研究[D]: [硕士学位论文]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2024.
- [4] 王楷若. 构建长双歧杆菌为载体的长效制剂治疗溃疡性结肠炎的机制研究[D]: [博士学位论文]. 上海: 同济大学, 2023.
- [5] 许婷婷. 长双歧杆菌 W13 基因组分析及基因工程应用初步探究[D]: [硕士学位论文]. 天津: 天津科技大学, 2023.
- [6] 梅璐, 赵业, 郭义联, 等. 长双歧杆菌婴儿亚种调节肠道菌群及短链脂肪酸代谢改善小鼠溃疡性结肠炎[J]. 中国微生物学杂志, 2025, 37(8): 896-905.
- [7] Liu, H., Liu, G., Zhang, Y., Suo, W., Hao, Y., Wang, Y., et al. (2025) *Bifidobacterium adolescentis* DM8504 Alleviates Autistic-Like Behaviors in Valproic Acid-Exposed Rats through Gut Microbiota Modulation and SCFA Restoration. *Neuropsychiatric Disease and Treatment*, **21**, 2449-2463. <https://doi.org/10.2147/ndt.s547997>
- [8] Baba, Y., Tsuge, D. and Aoki, R. (2025) Enhancement of Carbohydrate Metabolism by Probiotic and Prebiotic Intake Promotes Short-Chain Fatty Acid Production in the Gut Microbiome: A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Cross-over Trial. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, **89**, 1191-1202. <https://doi.org/10.1093/bbb/zba071>
- [9] Huang, Y., Tang, N., Xue, Y., Li, J., Liu, W., Zhu, S., et al. (2024) *Bifidobacterium bifidum* CCFM1163 Alleviates Cathartic Colon through the Acetate/Propionate-GPR41-G β Pathway. *Food Frontiers*, **6**, 852-871. <https://doi.org/10.1002/fft2.526>
- [10] Paul, M., Mohapatra, S., Kumar Das Mohapatra, P. and Thatoi, H. (2021) Microbial Cellulases—An Update towards Its Surface Chemistry, Genetic Engineering and Recovery for Its Biotechnological Potential. *Bioresource Technology*, **340**, Article ID: 125710. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.125710>
- [11] Shi, S., Wang, Y., Han, Z., Wang, X., Li, P. and Shang, N. (2026) *In Vitro* Digestion Stability of a *Bifidobacterium*-Derived Extracellular Polysaccharides and Its Prebiotic Potential in Gut Microbiota Modulation. *Food Chemistry*, **504**, Article ID: 147822. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2025.147822>
- [12] Vu-Le, K., Phirom-on, K., Sripattanakul, S., Chu, D.B., Hann, S., Blaukopf, M., et al. (2025) A GH42 β -Galactosidase from the Human Isolate *Bifidobacterium breve* DSM 20213: Biochemical and Transgalactosylation Properties Reveal the Potential for Galacto-Oligosaccharides Synthesis. *ACS Omega*, **10**, 62633-62644.

<https://doi.org/10.1021/acsomega.5c06811>

- [13] Shen, S., Lu, L., Tu, H., Jiang, S., Zhang, Z., Han, Z., *et al.* (2026) Calenduloside E Produced by *Bifidobacterium animalis* B960 Increases Glibenclamide Efficacy and Alleviates Drug-Induced Adverse Effects in a Type 2 Diabetes Model. *Science Bulletin*, **71**, 520-524. <https://doi.org/10.1016/j.scib.2025.12.046>
- [14] 王一, 黄立铭, 喻喜华, 等. 青春双歧杆菌 FHNQ5M4 对小鼠肠道菌群的调控及缓解小鼠结肠炎研究[J]. 食品与生物技术学报, 2025, 44(8): 49-60.