

基于血红素的乳酸乳球菌有氧呼吸代谢研究进展

张玥^{1,2}, 张林军², 刁梦奇², 刘延新², 张积强^{1,2}, 刘飞^{1,2*}, 张金华^{1,2*}

(1. 山东中医药大学药学院, 山东济南 250535) (2. 山东省药学科学院糖及糖复合物高效制备及应用山东省工程研究中心、山东省糖及糖复合物药物重点实验室、多糖类药物发酵与精制国家地方联合工程实验室, 山东济南 250101)

摘要: 乳酸乳球菌作为乳酸菌的一大类, 因其具备公认安全、代谢途径相对简单、基因组规模小和无内毒素等特性, 成为食品工业中广泛应用的代表性兼性厌氧菌。随着合成生物技术的快速发展, 乳酸乳球菌作为安全型底盘微生物的潜力逐渐被挖掘, 其代谢调控机制尤其是有氧呼吸相关研究受到越来越多的关注。该文主要概述了在添加血红素并通气条件下, 乳酸乳球菌有氧呼吸的相关研究进展, 重点探讨了氧气对其呼吸代谢的影响、有氧呼吸链的构成和机制、血红素在有氧呼吸中的关键作用、血红素参与的乳酸乳球菌碳代谢和氮代谢等相关代谢以及乳酸乳球菌有氧呼吸在食品发酵和生物医学等方面的应用前景, 为后续乳酸乳球菌有氧呼吸代谢和发酵的协同研究及其产业化应用提供参考。

关键词: 乳酸乳球菌; 血红素; 有氧呼吸; 有氧呼吸链

文章编号: 1673-9078(2026)7-311-320

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2026.7.0617

Advances in Heme-dependent *Lactococcus lactis* Aerobic Respiration

ZHANG Yue^{1,2}, ZHANG Linjun², DIAO Mengqi², LIU Yanxin², ZHANG Jiqiang^{1,2}, LIU Fei^{1,2*}, ZHANG Jinhua^{1,2*}

(1. College of Pharmacy, Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Ji'nan 250535, China)

(2. Shandong Provincial Engineering Research Center for Efficient Preparation and Application of Sugars and Sugar Complexes, Key Laboratory of Sugar and Sugar-based Drugs of Shandong Province, National-local Joint Engineering Laboratory for Polysaccharide Drug Fermentation and Purification, Shandong Academy of Pharmaceutical Sciences, Ji'nan 250101, China)

Abstract: *Lactococcus lactis*, a representative lactic acid bacterium widely used in the food industry, is a generally recognized as safe organism characterized by a relatively simple metabolic network, a small genome, and the absence of endotoxins. Traditionally categorized as a facultative anaerobe relying primarily on fermentation, *L. lactis* can switch to respiratory metabolism under conditions of heme supplementation and oxygen availability. With the rapid development of synthetic biology, potential use of *L. lactis* as a safe chassis microorganism is increasingly recognized; its metabolic regulatory mechanisms, particularly those related to aerobic respiration, have attracted interest. This review summarizes recent advances in elucidating heme-dependent *L. lactis* aerobic respiration. It focuses on the effects of oxygen on respiratory metabolism, composition and mechanisms of the aerobic respiratory chain, the central role of heme in aerobic respiration, and related metabolic processes involving heme, such as carbon and nitrogen metabolism, in *L. lactis*. The potential application of aerobic respiration in *L. lactis* for food fermentation and biomedicine is also discussed in this review. This review provides a reference for future collaborative research on the aerobic respiration and fermentation of *L. lactis* and its industrial applications.

Key words: *Lactococcus lactis*; heme; aerobic respiration; aerobic respiratory chain

引文格式:

张玥,张林军,刁梦奇,等.基于血红素的乳酸乳球菌有氧呼吸代谢研究进展[J].现代食品科技,2026,42(7):311-320.

ZHANG Yue, ZHANG Linjun, DIAO Mengqi, et al. Advances in heme-dependent *Lactococcus lactis* aerobic respiration [J].

Modern Food Science and Technology, 2026, 42(7): 311-320.

收稿日期: 2025-05-06; 修回日期: 2025-07-04; 接受日期: 2025-07-08

基金项目: 国家重点研发计划项目 (2021YFC2103100)

作者简介: 张玥 (2001-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 天然产物功效成分筛选及生物合成, E-mail: zhangyue010902@163.com

通讯作者: 刘飞 (1982-), 男, 博士, 研究员, 研究方向: 天然产物功效成分筛选及生物合成, E-mail: lfshwu@163.com; 共同通讯作者: 张

金华 (1983-), 男, 博士, 高级工程师, 研究方向: 多糖类药物开发, E-mail: 15098978003@163.com

乳酸乳球菌 (*Lactococcus lactis*, *L. lactis*) 是一种无芽孢的革兰氏阳性菌, 菌体呈球形或卵圆形 [大小 $(0.5\sim 1.2)\mu\text{m}\times (0.5\sim 1.5)\mu\text{m}$], 最适生长温度为 $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ ^[1]。因其高度的安全性, *L. lactis* 被美国食品药品监督管理局认定为“一般公认安全 (Generally Recognized as Safe, GRAS)”的微生物, 其广泛应用于食品加工、发酵生产和生物技术等领域^[2,3]。起初, 该菌种归类于链球菌属, 直至 1985 年, 基于其基因组较小、代谢相对简单且不产生任何内毒素或毒性物质等生物学特性, 被独立划分为乳酸乳球菌属^[4]。自 2013 年起, *L. lactis* 可细分为四个亚种, 分别为乳酸乳球菌乳酸亚种 (*L. lactis* subsp. *lactis*)、乳酸乳球菌乳脂亚种 (*L. lactis* subsp. *cremoris*)、乳酸乳球菌乳酸亚种丁二酮变种 (*L. lactis* subsp. *lactis* biovar *diacetylactis*) 和乳酸乳球菌霍氏亚种 (*L. lactis* subsp. *hordniae*)。其中, *L. lactis* subsp. *lactis* biovar *diacetylactis* 与 *L. lactis* subsp. *cremoris* 在自然界中最为常见^[5]。

作为在食品工业中广泛应用的代表性微生物, *L. lactis* 主要通过糖酵解途径进行同型乳酸发酵, 在无氧条件下依赖底物磷酸化获取能量, 该方式下其生长速度快、代谢途径简单, 但生物量和能量效率低等方面存在局限。有文献报道, 当给予其特定的氧气和血红素时, *L. lactis* 能够激活有氧呼吸代谢途径, 实现从传统的同型发酵转变为有氧呼吸代谢^[6]。血红素作为细胞色素氧化酶的辅基, 能够驱动电子传递链的组装, 使 *L. lactis* 能够利用氧气作为终端电子受体, 通过氧化磷酸化高效产生腺苷三磷酸 (Adenosine Triphosphate, ATP), 进而显著增加菌体生物量和提高菌株的存活率等, 从而促进其在食品工业和医药等领域中的应用^[7]。*L. lactis* 代谢机制的转换, 不仅突破了发酵生产的传统认知, 更为高密度发酵、风味物质调控和合成生物学相关系统构建提供了全新的思路。该文以 *L. lactis* 为模式菌株, 探讨了氧气对其呼吸代谢的影响、有氧呼吸链的构成以及血红素在 *L. lactis* 有氧呼吸中的关键作用等相关研究进展, 以期对 *L. lactis* 的定向改造、高产透明质酸等目标产物以及提高风味物质产量和口感等提供新思路, 为后续的研究提供参考。

1 乳酸乳球菌的呼吸作用

微生物的呼吸作用可分为有氧呼吸和无氧呼吸两大类, 其主要区别在于是否依赖氧气^[8]。*L. lactis* 作为乳球菌属的模式菌种, 其具备无氧发酵和有氧呼吸代谢两种代谢方式。在无氧条件下 *L. lactis* 通过糖酵解进行同型乳酸发酵, 这种代谢方式虽然产能效率相对

较低, 但能够在无氧环境中有效生存和繁殖。而当外源供给血红素并辅以有氧环境时, 可激活以血红素为核心的电子传递链系统, 将氧气还原成水, 实现代谢模式的关键切换^[9]。这种代谢方式可以减少乳酸的产生, 同时增加 ATP 产生和生物量。例如, 付良^[10]研究发现, 在添加血红素的条件下, *L. lactis* 的生物量增长了 50%, 乳酸产量减少了 48%, 而双乙酰的产量却提高了 3.78 倍。李子涵等^[11]研究对比了厌氧培养和有氧培养下 *L. lactis* 的生长特性, 发现尽管厌氧环境有利于菌体快速进入对数生长期, 但有氧培养能够显著提高 *L. lactis* 的最终生物量, 并增加乙偶姻和双乙酰等芳香化合物的生成, 从而改善发酵食品的风味和质地。这些研究结果表明, *L. lactis* 具备两种代谢方式, 既可在厌氧环境中依赖糖酵解维持生长, 也可以通过外源添加血红素, 补充有氧呼吸链, 显著提升代谢效率^[12]。

2 氧气对乳酸乳球菌代谢的影响

2.1 氧胁迫

微生物置于有氧环境中会生成一系列包括过氧化氢 (H_2O_2)、超氧阴离子 ($\text{O}_2^{\cdot-}$) 和羟基自由基 ($\cdot\text{OH}$) 在内的活性氧 (Reactive Oxygen Species, ROS)。氧代谢是生物通过氧化分解有机物, 利用氧气作为电子受体释放能量并合成 ATP 的过程, 在该过程中会产生 ROS, 其作为体内平衡的关键调节因子, 在适宜浓度下能够保护细胞免受病原体的侵害^[13,14]。然而, 当 ROS 水平过高, 它会氧化细胞内的脂类、蛋白质和核酸, 导致氧化还原稳态失衡, 细胞会产生严重的氧化应激, 从而加速衰老和凋亡^[15]。对于微生物而言, 氧胁迫通常指的是过量的 ROS 对生物体造成的威胁, 长期暴露于有氧环境可能增加微生物遭受氧胁迫的风险, 导致其生长速率下降、延滞期延长以及提前进入衰退期等问题。因此, 在菌株培养过程中, 应尽量降低氧胁迫的不利影响, 以维持菌株的正常生长和代谢活动。

2.2 乳酸乳球菌的耐氧机制

大多数好氧微生物能够在有氧环境中正常生长, 这归功于它们拥有一系列耐氧机制, 这些机制包括阻止 ROS 的生成、酶解清除已生成的 ROS、修复氧化损伤以及调节细胞内氧化还原平衡和金属离子平衡等, 这些机制协同作用, 有效降低或避免氧胁迫所带来的损害^[6]。与具备完全耐氧胁迫机制的好氧菌相比, *L. lactis* 自身的耐氧胁迫的分子调控网络尚未完全解析, 作为一种兼性厌氧菌, *L. lactis* 主要依赖超氧化物歧化酶 (Superoxide Dismutase, SOD) 清除 $\text{O}_2^{\cdot-}$,

但缺乏过氧化氢酶,无法高效降解 H_2O_2 ,使其对氧胁迫的敏感度高于其他好氧菌。而双歧杆菌为代表性绝对厌氧菌,同时缺乏 SOD 和过氧化氢酶,无法在氧气存在的情况下维持正常生长^[16]。

目前,已有多项研究揭示 *L. lactis* 的耐氧胁迫机制,例如修复氧化损伤或减少 ROS 的生成,以降低氧胁迫对菌体生长的影响。重组蛋白 A (RecA) 作为 DNA 修复的核心因子,能修复氧气和 ROS 积累造成的 DNA 损伤,间接缓解氧胁迫对细胞的危害,对 *L. lactis* 生长至关重要^[17]。在氧气存在的情况下,缺失 *recA* 基因的 *L. lactis* 生长速度明显低于含有 *recA* 基因的菌株,倍增时间延长至野生型的 2~5 倍,且存活率大幅度降低(下降 $10^5\sim10^6$ CFU/mL);对于含有 *recA* 基因的菌株而言,当 ROS 导致 DNA 损伤时,*recA* 基因编码的 RecA 能够促进 DNA 修复,减少 ROS 对细胞的危害。此外,谷胱甘肽(Glutathione, GSH)在 *L. lactis* 的抗氧胁迫机制中也发挥重要作用。GSH 代谢系统由 γ -谷氨酰胱氨酸合成酶(γ -GCS)、谷胱甘肽合成酶(GSS)、谷胱甘肽还原酶(GR)和谷胱甘肽过氧化物酶(GPx)组成。外源添加 GSH 能直接清除以 H_2O_2 等为代表的 ROS,减少体内 ROS 堆积,同时,GR 和 GPx 共同作用,促进 GSH 再生,提高细胞内 GSH 浓度,有效克服氧胁迫^[18]。

3 乳酸乳球菌的有氧呼吸

3.1 有氧呼吸

L. lactis 是一种兼性厌氧的微生物,其呼吸链存在部分缺失,导致功能不完整,且缺乏完整的三羧酸循环途径,因此通常依赖无氧发酵途径进行能量代谢,通过糖酵解分解葡萄糖生成丙酮酸,进而生成乳酸,同时通过底物磷酸化生成 ATP。研究表明在通气条件下,外源添加血红素等物质,*L. lactis* 可进行有氧呼吸代谢^[12]。在有氧呼吸的过程中,电子经过电子传递链形成跨膜质子梯度(Proton Motive Force, PMF),最终将电子传递给作为末端电子受体的分子氧。该过程通过氧化磷酸化机制实现 ATP 的合成,即电子传递与 ATP 生成相偶联^[19,20]。*L. lactis* 的呼吸能力取决于末端电子受体和辅助因子的存在。当环境中有氧气且存在血红素时,*L. lactis* 可通过细胞色素氧化酶将氧气作为最终电子受体进行有氧呼吸;而在无氧条件下,其代谢以糖酵解(乳酸发酵)为主,进行无氧发酵^[21,22]。由于有氧呼吸涉及底物的彻底氧化分解,电子传递过程中逐步释放能量,因此进行有氧呼吸的 *L. lactis* 能够产生更多的 ATP,是微生物更高效的一种能量获取方式。

3.2 有氧呼吸链的组成

L. lactis 的有氧呼吸链由三个核心部分组成(如图 1): NADH 脱氢酶作为电子传递链的起始组分;甲萘醌等作为电子传递载体;依赖血红素的细胞色素 bd- I 氧化酶,三部分将电子传递给最终受体氧从而完成有氧呼吸^[12]。与大肠杆菌(*Escherichia coli*, *E. coli*)等具备完整呼吸系统的微生物显著不同,*L. lactis* 基因组中缺失合成血红素的关键基因,无法通过自身代谢实现有氧呼吸^[23]。*L. lactis* 采用细胞色素 bd- I 氧化酶作为呼吸链中唯一的醌氧化酶,其单一酶类的特点显著区别于其他原核和真核生物中普遍存在的氧化酶系统^[24]。例如,谷氨酸棒状杆菌(*Corynebacterium glutamicum*)的有氧呼吸链是由细胞色素 aa_3 、 bc_1 和 bc_1 - aa_3 氧化酶组成^[25];枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)则依赖细胞色素 c、 aa_3 和 bd 氧化酶^[26]; *E. coli* 常利用细胞色素 bo、bo- I 和 bo- II 氧化酶作为呼吸链的组成部分^[27]。在分子调控机制方面,*L. lactis* 呼吸链各组分的表达受到严格调控,其中, NADH 脱氢酶受 *noxA* 和 *noxB* 基因调控;甲萘醌合成途径受 *menA* 和 *menB* 基因调控;细胞色素 bd- I 氧化酶由 *cydABCD* 基因簇(包括 *cydA*、*cydB*、*cydC* 和 *cydD*)调控。这些组分协同作用,通过电子传递链将分子氧还原为水,并驱动 ATP 合酶催化 ATP 的合成,充分体现了氧化酶对氧的高亲和力,不仅揭示了 *L. lactis* 在有氧呼吸中的能量转化机制,更凸显了该菌株在工业发酵等方面的应用价值^[12]。

3.3 血红素参与乳酸乳球菌的有氧呼吸

3.3.1 血红素生物学特性

血红素(Heme)是普遍存在于生物体内的卟啉类化合物,其分子结构是由一个中心铁原子与四个吡咯环通过亚甲基桥连接形成的平面大环结构(分子式: $C_{34}H_{33}FeN_4O_4$, 如图 2 所示),因此也被称为铁卟啉^[28]。该分子结构具有高度共轭的 π 电子体系,物理化学性质相对稳定^[29]。作为大多数生物大分子的必需辅基,血红素在生物体内发挥着多种关键的生理功能,尤其是在氧气和铁离子运输、储存以及电子传递等过程中发挥重要作用^[30]。在补充血红素的条件下,*L. lactis* 可激活细胞色素氧化酶(如 *CydAB*),在有氧呼吸过程中起到至关重要的作用,既作为电子传递链的关键组分参与氧化还原反应,又通过促进氧化磷酸化过程提高细胞的能量代谢效率。Jeeva 等^[9]在重组的乳酸乳球菌中利用血红素诱导呼吸代谢,其作为辅助因子,提高了 NAD^+ 的再生速率,促进透明质酸的合成,最

终使透明质酸的产量达到 $4.6 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

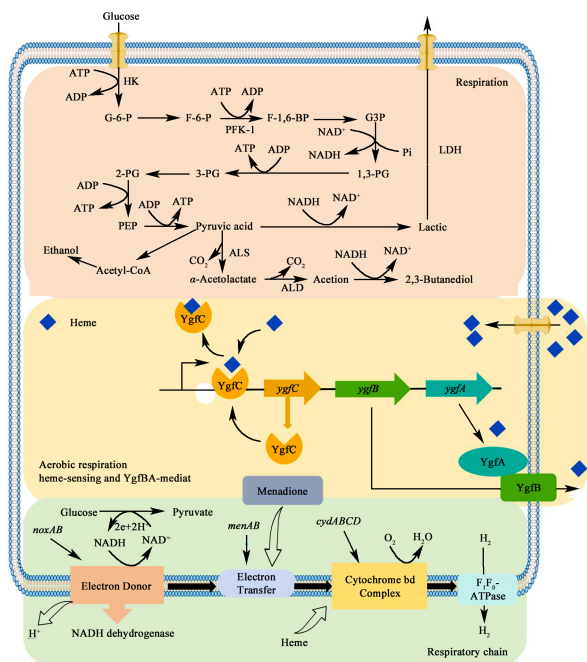


图 1 乳酸乳球菌呼吸作用

Fig.1 *Lactococcus lactis* respiration

注: Glucose: 葡萄糖; HK: 己糖激酶; G-6-P: 葡萄糖-6-磷酸; F-6-P: 果糖-6-磷酸; PFK-1: 磷酸果糖激酶; F-1,6-BP: 1,6-二磷酸果糖; G3P: 3-磷酸甘油醛; 1,3-PG: 1,3-二磷酸甘油醛; 2-PG: 2-磷酸甘油醛; PEP: 磷酸烯醇丙酮酸; Pyruvic acid: 丙酮酸; Lactic: 乳酸; Electron transfer: 电子转移; Electron Donor: 电子受体; Heme: 血红素; Acetyl-CoA: 乙酰辅酶A; Ethanol: 乙醇; Acetone: 乙偶姻; 2,3-Butanediol: 2,3-丁二醇。

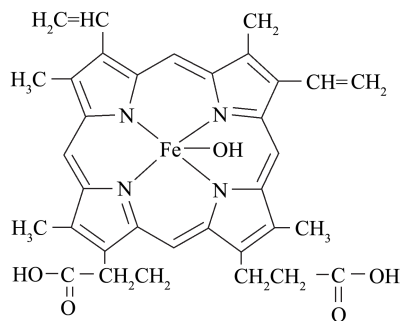


图 2 血红素结构式

Fig.2 Heme structure

3.3.2 血红素的生物合成

NADH 脱氢酶和细胞色素 bd-I 氧化酶是 *L. lactis* 呼吸链中关键的酶，而血红素作为细胞色素 bd-I 氧化酶必需辅基，在生物代谢过程中具有不可替代的作用^[31]。血红素的生物合成通过 δ -氨基酮戊酸 (δ -aminol Evulnic Acid, ALA) 进行，ALA 的合成途径主要分为两种：一种是 C4 途径，由甘氨酸和琥珀酰辅酶 A

催化 5-氨基乙酰丙酸合酶 (ALAS) 生成 ALA, 该途径在植物和大多数原核生物中较为常见; 另一种是 C5 途径, 通过谷氨酰-tRNA 还原酶 (GluTR) 和谷氨酸-1-亚氨基戊二酸-1,2-氨基转移酶 (GsaM) 依次催化谷氨酰-tRNA, 生成 ALA, 该途径主要受 GsaM 和 GtrR 的活性影响, 常存在于真核生物和 α -变形菌^[32]。尽管两种途径均可生成 ALA, 但 C4 途径更为普遍^[33]。

ALA 合成后, 通过粪卟啉依赖性途径 (Coproporphyrinogen-dependent Pathway, CPD) 完成血红素的生物合成^[34]。该途径包括以下关键步骤, 如图 3 所示: (1) 两分子 ALA 经 ALA 脱水酶 (ALAD) 脱水缩合, 产生吡咯衍生物卟胆原 (Porphobilinogen, PBG); (2) 四分子 PBG 头尾相连, 经过羟甲基胆烷合酶 (Hydroxymethylbilane Synthase, HMBS) 的脱氨作用, 形成线性四吡咯的羟甲基胆色素原 (Hydroxymethylbilane, HMB); (3) HMB 在尿卟啉原合成酶 (Uroporphyrinogen Synthase, UroS) 催化下发生不对称环化, 生成尿卟啉原 III (Uroporphyrinogen III); (4) 尿卟啉原 III 经尿卟啉原脱羧酶 (Uroporphyrinogen Decarboxylase, UroD) 催化生成粪卟啉原 III (Coproporphyrinogen III), 并释放四分子 CO_2 ; (5) 粪卟啉原 III 氧化生成粪卟啉 III (Coproporphyrin III); (6) 粪卟啉 III 经氧化脱羧生成原卟啉原 IX (Protoporphyrinogen IX), 再被其氧化酶氧化成原卟啉 IX (Protoporphyrin IX, PPIX); (7) PPIX 在亚铁螯合酶 (Ferrochelatase, FecH) 催化下螯合 Fe^{2+} 生成血红素。其中, 卟胆原合成酶 (Porphobilinogen Synthase, PBGS)、HMBS 和 UroS 是合成血红素的关键酶^[35,36]。

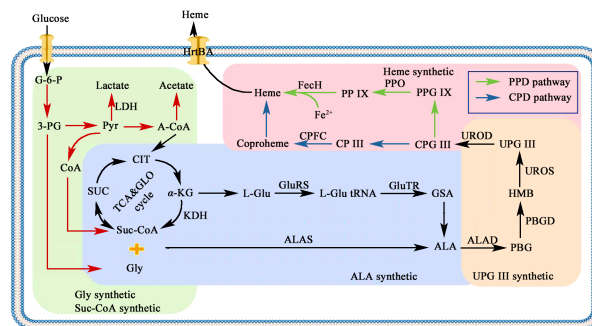


图 3 血红素的生物合成

Fig.3 Heme biosynthesis

注: PPO: 原卟啉原 IX 氧化酶; SUC: 苏氨酸; CIT: 瓜氨酸; α -KG: α -酮戊二酸; KDH: α -酮戊二酸脱氢酶; GluRS: 谷氨酰-tRNA 合成酶; GluTR: 谷氨酰-tRNA 还原酶; Coproheme: 脱羧酶。

表 1 乳酸乳球菌中合成血红素的基因及其对应的酶
Table 1 The gene for the synthesis of heme in *Lactococcus lactis* and its corresponding enzymes

基因	基因对应的酶	参考文献
<i>gltX</i> 基因	谷氨酰-tRNA 合成酶	[20]
<i>hemK</i> 基因	原卟啉原 IX 氧化酶	[37]
<i>hemN</i> 基因	粪卟啉原 III 氧化酶	[37]
<i>hemZ</i> 基因	亚铁螯合酶	[38]

研究表明，完整的合成血红素需要 10 种酶协同作用，而 *L. lactis* 体内只存在与血红素合成途径相关的 4 种酶（如表 1）：谷氨酰-tRNA 合成酶、原卟啉原 IX 氧化酶、粪卟啉原 III 氧化酶和 FecH^[32]。此外，由于 *L. lactis* 的代谢过程中缺乏合成血红素所需要的其他关键酶，不具备完整的合成途径，因此无法直接利用甘氨酸作为底物生成血红素，需要添加外源血红素，达到激活呼吸链的目的，实现有氧呼吸。*L. lactis* 中存在原卟啉原 IX 氧化酶和粪卟啉原 III 氧化酶相对应的编码基因 *hemK* 和 *hemN*，参与 PPIX 的生成过程^[37]。Duwat 等^[38]研究发现 *L. lactis* 中含有编码 FecH 的同源基因 *hemZ*，其可编码亚铁螯合酶，催化添加的 PPIX 生成血红素，为细胞色素 bd- I 氧化酶提供辅助因子，实现有氧呼吸。在血红素的参与下，谷氨酰 tRNA 合成酶（*gltX* 基因产物）与细胞色素 bd- I 氧化酶（由 *cyd* 基因簇编码的 CydAB 复合体）两者结合，进而上调该氧化酶的表达，提升菌株有氧呼吸的能力。

3.3.3 外源添加血红素条件下的乳酸乳球菌的有氧呼吸

L. lactis 的呼吸链激活具有严格的外源依赖特性，研究表明需在培养基中同时添加血红素并给予氧气，才能促使其代谢模式从无氧发酵转换为有氧呼吸。这一现象说明了 *L. lactis* 具有血红素摄取与代谢转化能力，可将外源血红素整合至细胞色素 bd- I 氧化酶等呼吸链组分中。血红素的添加通过激活 *L. lactis* 的呼吸链功能，重构其氧化还原调控网络，将 *L. lactis* 从被动防御的抗氧化模式转变为主动优化的呼吸链，清除体内 ROS 堆积，既减轻了氧胁迫的负担，又增加了能量代谢的效率^[39]。付良等^[40]通过在培养基中添加血红素，成功筛选出一株能在血红素和氧共同存在的条件下进行有氧呼吸的 *L. lactis* KLDS4.0316 菌株，该菌株在血红素-氧协同作用下的生物量较对照组提高 50%，同时乳酸等发酵副产物产量降低 48%。Ryo 等^[41]以 *L. lactis* MG1363 为研究对象，在 5 mg·L⁻¹ 血红素介导的有氧呼吸条件下，使活菌浓度达到 5.6×10¹⁰ CFU/mL，同时有效抑制了厌氧代谢中乳酸的大量积累。激活

L. lactis 的呼吸链构建微生物细胞工厂，可显著提升高附加值代谢产物的合成效率。Wu 等^[42]利用 *L. lactis* 生产番茄红素，构建一株敲除乳酸脱氢酶和 α-乙酰基乳酸合成酶的工程菌株 *L. lactis*，在血红素补料-通气耦合培养条件下，激活了呼吸链，番茄红素产量从 0.70 mg·L⁻¹ 提升至 1.09 mg·L⁻¹，增幅达 55.7%。该研究同时证实血红素浓度与菌体生物量及产物合成效率呈显著正相关。此外，食品添加剂 3-羟基-2-丁酮（Acetoin）的合成也受益于呼吸链的激活，当给予血红素激活有氧呼吸时，Acetoin 的产量随有氧呼吸强度的增强而增加。然而，该化合物在高浓度下会通过破坏 DNA 二级结构及诱导蛋白质变性产生细胞毒性^[43]。通过代谢工程手段调控相关合成基因的表达强度，可有效平衡 Acetoin 的合成效率与细胞毒性间的矛盾关系。

3.3.4 乳酸乳球菌血红素的整合与调控

在微生物体系中，血红素整合到细胞色素氧化酶等关键酶中，依赖于特定的伴侣蛋白的协同作用。目前，在 *E. coli* 和 *Bacillus subtilis* 等多种模式微生物中已鉴定出相关伴侣蛋白系统，对 *L. lactis* 而言，尚没有充分的证据证明该蛋白的存在。Delpine 等^[44]通过亲和色谱法发现，烷基过氧化物还原酶 C（Alkyl Hydroperoxide Reductase Subunit C, AhpC）能以非共价结合方式与血红素形成高亲和力复合物，其核心功能是维持血红素还原态并抵抗氧化损伤。AhpC 的缺失导致胞内 H₂O₂ 积累，引发血红素 -Fe²⁺ 氧化及 CydAB 酶活性抑制，从而造成呼吸缺陷。在 *L. lactis* 中，血红素依赖的细胞色素 bd- I 氧化酶由 *cydABCD* 基因编码，该酶需结合血红素才能发挥作用，通过电子传递参与质子驱动力的形成，是有氧呼吸链的重要组分。*cydABCD* 编码基因主要由 *cydA*、*cydB*、*cydC* 和 *cydD* 四个亚基组成，共同调控细胞色素 bd- I 氧化酶发挥作用^[43]。*cydA* 和 *cydB* 构成氧化酶的催化活性中心，将电子受体从辅酶传递给氧气，为有氧呼吸做准备，同时两者协同产生质子动力，通过驱动 ATP 合成、维持细胞内 pH 平衡和氧化还原等过程，提高菌株存活率。而 *cydC* 和 *cydD* 共同编码 ABC 转运蛋白的亚基，实现将半胱氨酸从细胞质中转运至作用位点，为血红素的结合创造良好的化学环境^[45]。AhpC 与 CydCD 通过结构域互作形成级联转运网络：AhpC 保护胞质血红素，CydCD 提供修饰环境，AhpC-CydAB 协同作用使血红素调控效率提升，推动呼吸链完整组装和有氧代谢的顺利进行。

此外，血红素在 *L. lactis* 进行有氧呼吸过程中发挥着关键辅基作用，但其过量游离的血红素会催化

ROS 生成, 对 DNA 和蛋白质造成氧化损害, 威胁细胞生长。当 ROS 过量积累, 迫使菌株转向发酵代谢, 生长受到抑制, 同时影响蛋白表达, 因此维持细胞内血红素稳态较为重要。为了维持 *L. lactis* 体内的血红素平衡, 防止其潜在危害, 可以通过血红素与其调节因子结合, 利用血红素外排机制, 减轻其潜在的毒性影响^[46]。研究表明, *L. lactis* 在有氧呼吸代谢过程中, 其基因编码的血红素调节转运蛋白 A (YgfA)、转录调节蛋白 B (YgfB) 和阻遏蛋白 C (YgfC) 可协同调控血红素外排系统, 维持胞内血红素浓度的动态平衡^[47]。这一机制为细胞色素氧化酶等呼吸链组分提供适宜的血红素环境, 进而保障有氧呼吸电子传递链的正常组装与功能 (如图 1)。其中, YgfA 和 YgfB 的同源蛋白为金黄色葡萄球菌中血红素调节转运蛋白 HrtBA, 其蛋白的编码基因 *ygfA* 和 *ygfB* 与 *hrtA* 和 *hrtB* 基因对应。HrtBA 蛋白作为 ABC 转运蛋白, 通过维持细胞内的血红素浓度, 满足细胞呼吸的需求, 成为控制血红素外排的主要调控因子, 其同源蛋白 YgfAB 也具备调控血红素外排的能力, 推动呼吸作用发生。YgfC 作为 HrtR 的同源蛋白, 充当 *L. lactis* 体内血红素传感器, 通过感知细胞内血红素浓度, 调节 *ygfAB* 基因的表达, 维持血红素平衡, 使其能够有效地利用血红素作为呼吸代谢的辅助因子。YgfC 作为阻遏蛋白, 调节 *L. lactis* 中 *ygfA* 和 *ygfB* 的表达, 通过与血红素的非共价结合显示出较高的亲和力。当机体内血红素浓度较低时, YgfC 与其靶基因 *ygfAB* 的启动子特异性结合, 抑制其表达, 导致血红素外排泵 YgfAB 的活性降低, 减少血红素摄取; 反之, 当血红素浓度升高时, YgfC 与血红素解离后从启动子上释放出来, 激活 *ygfAB* 基因的表达, 增加血红素外排泵 *ygfAB* 的活性, 从而增加血红素外排, 促进 *L. lactis* 的有氧呼吸^[48]。除了通过 YgfC 调节血红素含量外, *L. lactis* 还通过降解途径控制血红素水平。*L. lactis* 中存在去亚铁离子酶, 能够在不破坏原卟啉环的前提下, 将铁从原卟啉环中释放出来, 进而达到调控血红素含量的目的^[49]。

3.4 乳酸乳球菌有氧呼吸相关代谢

在有氧呼吸条件下, *L. lactis* 中的 NADH/NAD⁺ 氧化还原状态会发生改变, 使碳代谢和氮代谢等相关代谢发生改变。碳代谢的核心是碳源从乳酸合成路径转向乙酰辅酶 A 生成路径, 该过程以血红素激活的电子传递链为基础, 实现高效的碳代谢。当血红素与氧气同时存在时, 有氧呼吸受到激活, NADH 氧化酶活性增强, 促使 NAD⁺ 再生效率提升, NADH/NAD⁺ 比

值明显下降。这种氧化还原状态的改变引发代谢流重构, NADH 氧化酶与乳酸脱氢酶竞争 NADH, 使乳酸合成途径受到抑制, 产量可下降 40%, 而丙酮酸因 NAD⁺ 充足而通过丙酮酸脱氢酶转化为乙酰辅酶 A, 一方面生成乙酸以缓解发酵液 pH 下降, 另一方面约 60% 的丙酮酸沿次级代谢路径转化为双乙酰、乙偶姻等风味物质, 该过程既提升了碳源利用率, 又促进了生物量积累^[11]。*L. lactis* 含有代谢调控蛋白 A (Catabolite Control Protein A, CcpA) 能有效调控有氧条件下的 NADH 氧化酶的表达和血红素转运机制, 在有氧呼吸代谢中起决定性作用^[47]。作为全局性代谢调控因子, CcpA 通过双重机制协调有氧呼吸过程, 一方面直接激活 *noxE* 等 NADH 氧化酶基因的表达, 另一方面通过调控 *fhuR* 基因表达维持血红素摄取稳态, 有效缓解对数生长期因 *L. lactis* 血红素摄取过多引起的氧化应激对呼吸代谢的负面影响^[48]。*ccpA* 基因的缺失会导致代谢途径从有氧呼吸转变为发酵代谢, ATP 合成效率明显下降, 导致细菌生长过程中 ATP 供给不足, 生长速度下降, 乳酸产量增加, pH 逐渐降低, *L. lactis* 会受到酸胁迫等危害^[50,51]。

除 CcpA 介导的碳代谢调控网络外, *L. lactis* 有氧呼吸还受其他调控因子影响, 例如氮源调控蛋白 (GlnR) 动态调控铵转运蛋白基因 (*amtB*)、谷氨酰胺转运系统基因 (*glnK*) 和谷氨酰胺合成酶基因 (*glnPQ*) 等基因表达, 当胞内氨浓度不足时, GlnR 激活 *amtB* 和 *glnPQ* 表达, 促进氮源摄取; 同时通过激活 *glnA* 维持谷氨酰胺稳态, 为氨基酸合成提供前体, 控制氨的摄取^[52]。无氧发酵过程中, *L. lactis* 主要通过糖酵解途径分解葡萄糖产生乳酸, 偶联 ATP 生成以获得能量, 碳源匮乏时, 则通过分解氨基酸获取能量; 而有氧呼吸时, 血红素驱动的电子传递链产生充足 ATP, 通过抑制氨基酸分解代谢酶活性, 激活合成代谢途径^[53]。中性内肽酶 (PepO1) 和氨基酸肽酶 C (PepC) 在氮缺乏的状态下被诱导表达, 以降解胞外肽段释放氨基酸; 而在有氧呼吸条件下, 富含丰富氨基酸的培养基通过激活全局转录调控蛋白 (CodYh), 触发 PepO1/PepC 的高表达, 加速肽段水解与氨基酸转运, 氮代谢机制受氧化还原状态的控制^[54]。该过程中, NADH/NAD⁺ 比值等通过调控 CodYh 的 DNA 结合活性, 实现氮代谢与能量代谢的耦合。全局转录调控蛋白 (CodYh) 和 DNA 损伤响应蛋白 (RecA) 通过调节氨基酸的转运、硫氧还蛋白系统 (Thioredoxin System, Trx System) 活性和氧化应激水平等, 将环境中的氨基酸或小肽转运至胞内, 提供氮源, 这些调控因子通过整合氮代谢信号来调节有氧呼吸过程^[55,56]。

能量代谢也会影响 *L. lactis* 的生长, 有氧呼吸能激活 *L. lactis* 的电子传递链, 将糖酵解产生的 NADH 氧化为 NAD^+ , 同时通过细胞色素氧化酶将质子从胞内泵至胞外, 建立跨膜质子动力势^[57]。与无氧发酵相比, 该过程能产生更多的 ATP, 其能量利用效率的提升源于质子动力势驱动 $\text{F}_0\text{F}_1\text{-ATP}$ 合正向合成 ATP, 而非消耗能量, 既可以维持胞内 pH 平衡, 又能提高菌株的存活率。

在乳酸乳球菌的有氧呼吸过程中, 碳代谢、氮代谢与能量代谢三大代谢系统功能耦合形成协同网络, 碳代谢为有氧呼吸链提供电子供体, 驱动电子传递链的能量转化, 氮代谢通过氨基酸合成与分解维持氮源供给, 同时参与 GSH 等氧化还原辅因子的生成以平衡胞内氧化状态, 能量代谢则通过 ATP/ADP 比值动态调控代谢流分配, 三者通过血红素介导的电子传递链实现代谢联动, 共同支撑 *L. lactis* 有氧呼吸的高效进行。既可以更加高效的利用营养物质加速生长与繁殖, 提高生物量, 也可以通过调节代谢效率与途径优化代谢产物, 增加乙偶姻等物质的生成, 更有利于商业化, 增强其在食品发酵等领域的应用潜力。

4 乳酸乳球菌有氧呼吸的应用

L. lactis 作为具有多领域应用价值的模式微生物, 其有氧呼吸代谢模式在农业、医药、食品工业及生物技术领域展现出显著优势。在食品发酵领域, *L. lactis* 通过有氧呼吸代谢实现菌体增殖, 生物量较传统发酵提升 2~5 倍, 缓解了酸性环境对细菌生长的抑制, 显著延长了菌体在培养基中的存活时间与繁殖周期, 极大地延长了 *L. lactis* 作为发酵剂的使用寿命, 并显著提升了生产效率和经济效益^[38,41,58]。Sano 等^[59]对比有氧和厌氧条件下 *L. lactis* MG1363 的分批发酵发现, 其可以利用 NADH 氧化酶将氧气作为电子受体来再生 NAD^+ , 减少乳酸的产生, pH 下降的速度减慢, 代谢产物增加。在食品加工方面, 基于有氧呼吸代谢开发的 *L. lactis* 发酵体系, 能显著提升奶酪中的双乙酰、乙偶姻、甲硫醇等芳香化合物的含量, 同时减少壬醛、2-戊酮、2-庚酮和 2-壬酮等对风味不利的脂质和蛋白质氧化产物, 有效改善奶酪的品质和口感^[24]。科汉森公司利用 *L. lactis* 的有氧呼吸, 开发了血红素梯度补料工艺, 建立有氧呼吸代谢生产发酵剂的工厂, 实现了产量的最大化, 降低了制备益生菌制剂的成本, 证实了该项技术具有长远发展的潜力^[60,61]。在环保领域, 初步研究显示, *L. lactis* 在有氧呼吸条件下可能通过 GlnR 调控的氮摄取途径增强氮源利用效率, 其胞内氨转运蛋白的表达量在血红素激活的呼吸代谢中呈现上

调趋势, 这一代谢特征暗示 *L. lactis* 或可通过将氨氮转化为菌体蛋白, 在废水氨氮处理中展现潜在应用价值, 但相关机制仍需通过转录组学、代谢流分析等手段深入验证^[62,63]。在生物医药领域, 工程化 *L. lactis* 作为载体表达了幽门螺杆菌的 Lpp20 蛋白时, 可有效激活 Th1 细胞与 CD4+T 淋巴细胞, 而有氧呼吸环境可进一步提升菌体密度与目标蛋白 Lpp20 的表达量, 为口服疫苗等生物医药研发提供新思路^[64]。此外, 在致病菌防控方面, *L. lactis* 通过激活有氧呼吸途径可有效缓解沙门氏菌等致病菌感染引发的肠道损伤^[65]。例如 Zhang 等^[66]发现 *L. lactis* KLDS 4.0325 添加血红素进行有氧呼吸, 通过消耗肠道氧气降低氧浓度, 营造缺氧环境, 诱导肠道细胞自噬以减少沙门氏菌载量, 同时下调促炎因子、上调抗炎因子, 减轻肠道和全身炎症, 并通过调节肠道菌群, 缓解沙门氏菌引发的感染及肠道功能障碍。未来, *L. lactis* 通过重构血红素自身合成通路和开发新型药物载体等技术降低生产成本, 基于代谢流重分配特性开发低酸高风味乳制品和植物基发酵蛋白等创新食品, 同时利用呼吸链能量优势拓展生物医药方面的应用, 并通过碳循环利用与污染物降解技术推动绿色制造。随着对 *L. lactis* 有氧呼吸代谢机制的深入解析, 其在高效生物转化、环境修复及精准医疗等领域的应用潜力将进一步释放, 为食品加工和生物医学等方面提供更多的解决方案。

5 总结与展望

L. lactis 作为一种具备有氧和无氧两种代谢方式的兼性厌氧菌, 其生理特性在代谢工程领域展现出独特优势, 这种代谢模式不仅改变了其生理特性, 还为工业应用带来了新的机遇。通过添加血红素, 可激活细胞色素氧化酶, 使 *L. lactis* 进行有氧呼吸代谢, 生物量显著提升, 菌体细胞的长期存活率显著增加, 乳酸产量降低, 同时促进风味物质的合成, 最终的产量远高于传统发酵生产, 同时有氧呼吸的菌株能有效抑制致病菌的生长, 下调其毒性基因, 有效定植于宿主肠道, 解决肠道损伤引发的疾病, 在工业生产和医药研发等领域具有重要的应用价值。然而, 血红素的添加也伴随着潜在风险, 可能给菌体带来氧胁迫等问题。过量血红素会造成 ROS 过量累积, 抑制细胞正常生长, 并对有氧呼吸链造成损害。但 *L. lactis* 具备一定的自我保护机制, 能通过 CcpA 介导的 ROS 清除系统、hrtR 调控的氧化应激响应网络以及 *cydABCD* 编码的细胞色素 bd 氧化酶系统, 控制 DNA 损伤率, 维持氧化还原稳态。尽管目前相关方面的研究取得了一定进展, 但仍面临诸多挑战。血红素成本过高是一个亟待解决的

问题,同时相关代谢机制尚未完全明确,*L. lactis* 无法实现自身合成血红素,这在一定程度上限制了其大规模应用。

未来可通过 CRISPR-Cas9 系统等基因编辑技术重构 *L. lactis*, 或通过光驱动血红素再生等方式,降低生产成本,减少对外源血红素的依赖。在今后研究中,通过改造 *L. lactis*, 例如引入生产透明质酸的 *hasA* 基因、引入 *gadB* 和 *gadC* 基因生产 γ -氨基丁酸等,同时在菌株培养过程中添加适量血红素,以激活细胞色素氧化酶介导的有氧呼吸途径,降低乳酸等产物的产量,为透明质酸和 γ -氨基丁酸等的合成提供能量支撑,同时代谢流的重分配可促进前体物质向目标产物的转化。此外,还可以在有氧呼吸环境下引入其他功能基因,加大其表达量,拓展其在生产不同生物活性物质方面的能力。在未来发酵生产中,探究 *L. lactis* 厌氧与有氧协同作用对产量的影响,通过前期有氧呼吸代谢最大化的积累生物量,在进行无氧呼吸代谢定向生成目标产物,原则上既可以避免前期乳酸的过度积累而导致 pH 下降,也可有效提升产量,为 *L. lactis* 的发酵提供一种新思路。总之,对 *L. lactis* 有氧呼吸的研究具有重要的理论和实际意义,通过不断解决现有挑战,拓展研究方向,有望为相关领域的发展带来新的机遇,推动 *L. lactis* 在工业生产和医药研发等领域的广泛应用。

参考文献

- [1] FRELET-BARRAND A. *Lactococcus lactis*, an attractive cell factory for the expression of functional membrane proteins [J]. *Biomolecules*, 2022, 12(2): 180.
- [2] 冯哲瀚,华德平,梅雪锋,等.乳酸乳球菌表达系统的研究进展及其应用[J].中国农业科技导报(中英文),2025,27(1):25-34.
- [3] WANG M, YUE Y, ZHU X, et al. Disruption of the signal recognition particle pathway leading to impaired growth, sugar metabolism and acid resistance of *Lactococcus lactis* [J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2025, 426: 110929.
- [4] WOESE C R, STACKEBRANDT E, MACKIE T J, et al. A phylogenetic definition of the major eubacterial taxa [J]. *Systematic and Applied Microbiology*, 1985, 6: 143-151.
- [5] PARAPOULI M, DELBÈS-PAUS C, KAKOURI A, et al. Characterization of a wild, novel nisin a-producing *Lactococcus* strain with an *L. lactis* subsp. *cremoris* genotype and an *L. lactis* subsp. *lactis* phenotype, isolated from Greek raw milk [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2013, 79(11): 3476-3484.
- [6] 付龙云.乳酸菌抗氧胁迫及有氧生长的研究[D].济南:山东大学,2013.
- [7] PEDERSEN M B, GARRIGUES C, TUPHILE K, et al. Impact of aeration and heme-activated respiration on *Lactococcus lactis* gene expression: identification of a heme-responsive operon [J]. *Journal of Bacteriology*, 2008, 190(14): 4903-4911.
- [8] 朱斌良,左立波.细胞呼吸方式与能量转化的分析[J].生物学教学,2024,49(2):75-76.
- [9] PANDEESWARI J, RAYADURGAM J S, GUHAN J. Hyaluronic acid production is enhanced by harnessing the heme-induced respiration in recombinant *Lactococcus lactis* cultures [J]. *Biochemical Engineering Journal*, 2022, 182: 108428.
- [10] 付良.乳酸乳球菌的有氧呼吸研究[D].哈尔滨:东北农业大学,2008.
- [11] 李子涵,葛艳艳,郭耀华,等.乳酸乳球菌双组分系统调控有氧呼吸的研究[J].微生物学通报,2022,49(9):3753-3769.
- [12] 刘飞,李柏良,杜金城,等.基于基因水平研究乳酸乳球菌的有氧呼吸代谢[J].现代食品科技,2016,32(9):56-61,215.
- [13] SAHOO B M, BANIK B K, BORAH P, et al. Reactive oxygen species (ROS): key components in cancer therapies [J]. *Anti-cancer Agents in Medicinal Chemistry*, 2022, 22(2): 215-222.
- [14] BORISOV V B, SILETSKY S A, NASTASI M R, et al. ROS defense systems and terminal oxidases in bacteria [J]. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, 2021, 10(6): 839.
- [15] QI W, JONKER M J, TEICHMANN L, et al. The influence of oxygen and oxidative stress on de novo acquisition of antibiotic resistance in *E. coli* and *Lactobacillus lactis* [J]. *BMC Microbiology*, 2023, 23(1): 279.
- [16] YINING C, MANINDER M, XU B. A narrative review on microencapsulation of obligate anaerobe probiotics, bifidobacterium, akkermansia muciniphila, and faecalibacterium prausnitzii [J]. *Food Reviews International*, 2022, 38(S1): 373-402.
- [17] DUWAT P, EHRLICH S D, GRUSS A. The *recA* gene of *Lactococcus lactis*: characterization and involvement in oxidative and thermal stress [J]. *Molecular Microbiology*, 1995, 17(6): 1121-1131.
- [18] POPHALY S D, SINGH R, POPHALY S D, et al. Current status and emerging role of glutathione in food grade lactic acid bacteria [J]. *Microbial Cell Factories*, 2012, 11: 114.
- [19] KOEBMANN B, BLANK L M, SOLEM C, et al. Increased biomass yield of *Lactococcus lactis* during energetically limited growth and respiratory conditions [J]. *Biotechnology and Applied Biochemistry*, 2008, 50(Pt 1): 25-33.
- [20] LYLES K V, THOMAS L S, OUELLETTE C, et al. HupZ, a unique heme-binding protein, enhances group a streptococcus fitness during mucosal colonization [J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2022, 12: 867963.
- [21] 郭耀华.乳酸乳球菌双组分调节系统参与有氧呼吸及高密度培养的初步研究[D].天津:天津科技大学,2021.
- [22] 施为家.发酵液pH对乳酸乳球菌有氧呼吸的影响[D].合肥:安徽农业大学,2016.
- [23] 程亚楠,张文聪,周圆,等.乳酸乳球菌生产2'-岩藻糖基乳糖的途径构建及发酵培养基优化[J].生物技术通报,2023,39(9):84-96.
- [24] ASIF M, NADEEM M, IMRAN M, et al. Effect of fat contents of buttermilk on fatty acid composition, lipolysis, vitamins and sensory properties of cheddar-type cheese [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2023, 14: 1209509.
- [25] CHEN C, CUI Z, ZHAO J, et al. Improving diacetyl production in

- Corynebacterium glutamicum* via modifying respiratory chain [J]. Journal of Biotechnology, 2021, 332: 20-28.
- [26] HEDERSTEDT L. Diversity of cytochrome oxidase assembly proteins in bacteria [J]. Microorganisms, 2022, 10(5): 926.
- [27] ELAMRI I, RADLOFF M, HOHMANN K F, et al. Synthesis and biological screening of new lawson derivatives as selective substrate-based inhibitors of cytochrome bo(3) ubiquinol oxidase from *Escherichia coli* [J]. ChemMedChem, 2020, 15(14): 1262-1271.
- [28] JORDI Z B, A.M. M V, M. L S. Regulation of bacterial haem biosynthesis [J]. Coordination Chemistry Reviews, 2022, 452: 214286.
- [29] RIVETT E D, HEO L, FEIG M, et al. Biosynthesis and trafficking of heme o and heme a: new structural insights and their implications for reaction mechanisms and prenylated heme transfer [J]. Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology, 2021, 56(6): 640-668.
- [30] LAYER G, REICHELT J, JAHN D, et al. Structure and function of enzymes in heme biosynthesis [J]. Protein Science: a Publication of the Protein Society, 2010, 19(6): 1137-1161.
- [31] SUDAR M, FINDRIK Z, DOMANOVAC M V, et al. Coenzyme regeneration catalyzed by NADH oxidase from *Lactococcus lactis* [J]. Biochemical Engineering Journal, 2014, 88: 12-18.
- [32] LAYER G. Heme biosynthesis in prokaryotes [J]. Biochimica et Biophysica Acta Molecular Cell Research, 2021, 1868(1): 118861.
- [33] ZHAO X, ZHOU J, DU G, et al. Recent advances in the microbial synthesis of hemoglobin [J]. Trends in Biotechnology, 2021, 39(3): 286-297.
- [34] DAILEY H A, MEDLOCK A E. A primer on heme biosynthesis [J]. Biological Chemistry, 2022, 403(11-12): 985-1003.
- [35] JAFFE E K. The remarkable character of porphobilinogen synthase [J]. Accounts of Chemical Research, 2016, 49(11): 2509-2517.
- [36] SCHUBERT H L, PHILLIPS J D, HEROUX A, et al. Structure and mechanistic implications of a uroporphyrinogen III synthase-product complex [J]. Biochemistry, 2008, 47(33): 8648-8655.
- [37] ABICHT H K, MARTINEZ J, LAYER G, et al. *Lactococcus lactis* HemW (HemN) is a haem-binding protein with a putative role in haem trafficking [J]. The Biochemical Journal, 2012, 442(2): 335-343.
- [38] DUWAT P, SOURICE S, CESSELIN B, et al. Respiration capacity of the fermenting bacterium *Lactococcus lactis* and its positive effects on growth and survival [J]. Journal of Bacteriology, 2001, 183(15): 4509-4516.
- [39] JOHANSON A, GOEL A, OLSSON L, et al. Respiratory physiology of *Lactococcus lactis* in chemostat cultures and its effect on cellular robustness in frozen and freeze-fried starter cultures [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2020, 86(6): e02785-19.
- [40] 付良,刘飞,霍贵成.一株能够利用血红素进行有氧呼吸的乳酸乳球菌[J].微生物学报,2008,9:1256-1259.
- [41] ICHINOSE R, YAMASAKI-YASHIKI S, KATAKURA Y. Analysis of the effects of specific growth rate of *Lactococcus lactis* MG1363 on aerobic metabolism and its application to high-density culture [J]. Journal of Bioscience and Bioengineering, 2023, 136(2): 129-135.
- [42] WU J, TIAN X, XU X, et al. Engineered probiotic *Lactococcus lactis* for lycopene production against ros stress in intestinal epithelial cells [J]. ACS Synthetic Biology, 2022, 11(4): 1568-1576.
- [43] CESSELIN B, HENRY C, GRUSS A, et al. Mechanisms of acetoin toxicity and adaptive responses in an acetoin-producing species, *Lactococcus lactis* [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2021, 87(24): e0107921.
- [44] LECHARDEUR D, FERNANDEZ A, ROBERT B, et al. The 2-Cys peroxiredoxin alkyl hydroperoxide reductase c binds heme and participates in its intracellular availability in *Streptococcus agalactiae* [J]. The Journal of Biological Chemistry, 2010, 285(21): 16032-16041.
- [45] BROOIJMANS R, SMIT B, SANTOS F, et al. Heme and menaquinone induced electron transport in lactic acid bacteria [J]. Microbial Cell Factories, 2009, 8: 28.
- [46] LECHARDEUR D, CESSELIN B, LIEBL U, et al. Discovery of intracellular heme-binding protein HrtR, which controls heme efflux by the conserved HrtB-HrtA transporter in *Lactococcus lactis* [J]. The Journal of Biological Chemistry, 2012, 287(7): 4752-4758.
- [47] GAUDU P, YAMAMOTO Y, JENSEN P R, et al. Genetics of *Lactococci* [J]. Microbiology Spectrum, 2019, 7(4): 10.
- [48] GAUDU P, LAMBERET G, PONCET S, et al. CcpA regulation of aerobic and respiration growth in *Lactococcus lactis* [J]. Molecular Microbiology, 2003, 50(1): 183-192.
- [49] KAUSER-UL-ALAM M, TOBA Y, HIOKI S, et al. *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* produces zinc protoporphyrin IX both aerobically and anaerobically and improves the bright red color of fermented meat products [J]. Foods (Basel, Switzerland), 2020, 9(11): 1583.
- [50] XU X, QIAO W J, XIN Y P, et al. Quantitative proteomics and integrated stress response analysis of the ccpA mutant of *Lactococcus lactis* N8 [J]. Food Bioscience, 2025, 65: 106088.
- [51] ZHANG G, LIU L, LI C. Effects of *ccpA* gene deficiency in *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* under aerobic conditions as assessed by proteomic analysis [J]. Microbial Cell Factories, 2020, 19(1): 9.
- [52] MIAO S, WU H, ZHAO Y, et al. Enhancing nisin yield by engineering a small noncoding RNA anti41 and inhibiting the expression of glnR in *Lactococcus lactis* F44 [J]. Biotechnology Letters, 2018, 40(6): 941-948.
- [53] GANESAN B, STUART M R, WEIMER B C. Carbohydrate starvation causes a metabolically active but nonculturable state in *Lactococcus lactis* [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2007, 73(8): 2498-2512.
- [54] WU H, TIAN K, FENG J, et al. Systems-level analysis of the global regulatory mechanism of CodY in *Lactococcus lactis* metabolism and nisin immunity modulation [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2022, 88(5): e0184721.
- [55] VIDO K, LE BARS D, MISTOU M Y, et al. Proteome analyses of heme-dependent respiration in *Lactococcus lactis*: involvement of the proteolytic system [J]. Journal of Bacteriology, 2004, 186(6): 1648-1657.
- [56] DINARIEVA T Y, KLIMKO A I, KAHNT J, et al. Adaptation of

- Lactocaseibacillus rhamnosus* CM MSU 529 to aerobic growth: a proteomic approach [J]. *Microorganisms*, 2023, 11(2): 313.
- [57] LIU Y, VAN BENNEKOM E O, ZHANG Y, et al. Long-chain vitamin K2 production in *Lactococcus lactis* is influenced by temperature, carbon source, aeration and mode of energy metabolism [J]. *Microbial Cell Factories*, 2019, 18(1): 129.
- [58] 白凤翎,张柏林,蒋湘宁.乳酸菌有氧呼吸代谢研究进展[J].食品科学,2009,30(13):262-267.
- [59] SANO A, TAKATERA M, KAWAI M, et al. Suppression of lactate production by aerobic fed-batch cultures of *Lactococcus lactis* [J]. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 2020, 130(4): 402-408.
- [60] BRON P A, KLEEREBEZEM M. Engineering lactic acid bacteria for increased industrial functionality [J]. *Bioengineered Bugs*, 2011, 2(2): 80-87.
- [61] F·C·法尔科.乳酸菌培养物的制备方法、其产品及针对其的培养基:中国,CN119487176A[P].2025-02-18.
- [62] SUN C, LI C, ZHANG K, et al. Six complex microbial inoculants for removing ammonia nitrogen from waters [J]. *Water Environment Research: a Research Publication of the Water Environment Federation*, 2022, 94(12): e10823.
- [63] ZHANG Y, DAI Z, ZHOU Z, et al. Development of the yeast and lactic acid bacteria co-culture agent for atmospheric ammonia removing: Genomic features and on-site applications [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2021, 218: 112287.
- [64] 葛瑞,罗微,谷海瀛.幽门螺杆菌疫苗常用抗原的研究进展[J].中国微生态学杂志,2020,32(2):224-227,238.
- [65] ZHANG Y L, YANG H, CHENG Z L, et al. Aerobic respiration *Lactococcus lactis* ameliorate *Salmonella* induced infection and intestinal dysfunctions by oxygen-scavenging and maintaining immune balance and regulating intestinal microbiota [J]. *Food Science and Human Wellness*, 2025, 14(6): 9250143.
- [66] ZHANG Y L, ZHENG S, CHEN J R, et al. Inhibition effect of aerobic respiratory *Lactococcus lactis* on *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Typhimurium SL 1344 and its intestinal colonization ability [J]. *LWT*, 2024, 199: 116102.