

乳酸生产中的微生物代谢工程

王海燕^{1,2}, 刘铭², 王化军¹, 曹竹安²

(1. 北京科技大学环境工程系, 北京 100083; 2. 清华大学化学工程系, 北京 100084)

摘要: 从代谢工程的角度综述了同型及异型乳酸发酵的代谢途径、乳酸菌代谢模型、乳酸脱氢酶在乳酸生产方面的应用、米根霉发酵生产乳酸的代谢工程和基因工程阻断乙醇代谢途径改造乳酸的生产过程等方面的研究进展, 讨论了生物信息学及环境胁迫对乳酸代谢的影响, 展望了乳酸的微生物代谢工程的发展趋势。

关键词: 乳酸; 微生物生产; 代谢工程

中图分类号: Q93 **文献标识码:** A **文章编号:** 1009-606X(2006)03-0512-05

1 前言

乳酸^[1](Lactic acid)在食品、医药、化工、环保等领域有广泛的用途。微生物发酵法生产乳酸具有原料来源广泛、生产成本低、产品光学纯度高、安全性高等优点而成为乳酸的主要生产方法。目前可以应用到工业上的生产菌株主要有霉菌中的根霉属和细菌中的乳酸菌属。按微生物发酵糖类过程中代谢途径和产物的不同, 可将乳酸发酵分为同型乳酸发酵(Homofermentation)、异型乳酸发酵(Heterofermentation)和混合酸发酵(Mixed acid fermentation)。

通过化学或物理诱变改善生产菌株的工业性能是发酵工程的基本思路^[2]。传统的育种手段虽然在工业应用上是有效的, 但由于突变的非定向性和设计的非理性, 以及对微生物代谢特性的认识不足, 妨碍了对微生物代谢能力的改造及工业应用。重组 DNA 技术的发展使代谢工程应运而生。代谢工程是利用重组 DNA 技术或其他技术, 有目的地改变生物中已有的代谢网络和表达调控网络, 以更好地了解细胞的代谢途径, 并用于化学转化、能量转移及大分子装配过程。本工作对乳酸生产的代谢工程的研究进展进行了分析, 并提出了展望。

2 乳酸代谢途径及其特点

2.1 同型乳酸发酵菌

同型乳酸发酵中乳酸是葡萄糖代谢的唯一产物, 采用的是糖酵解途径(Embden-Meyerhof-Parnan Pathway, EMP 途径)^[3-5], 见图 1。经过这种途径, 1 mol 葡萄糖可生成 2 mol 乳酸, 理论转化率为 100%。但由于发酵过程中微生物有其他生理活动存在, 实际转化率在 80% 以上的即认为是同型乳酸发酵。同型乳酸发酵的微生物主要有德氏乳杆菌和粪链球菌。同型乳酸发酵代谢途径的特

征是 1,6-二磷酸果糖在 1,6-二磷酸果糖醛缩酶的作用下生成磷酸二羟基丙酮和 3-磷酸甘油醛, 发酵 1 mol 葡萄糖生成 2 mol 乳酸和 2 mol 三磷酸腺苷(ATP)。在进入酵解之前, 单糖如葡萄糖和果糖一般都要进行磷酸化, 并且由磷酸转移酶系统(Phosphotransferase System, PTS)使单糖转移进入细胞。一些乳酸菌如 *Streptococcus thermophilus* 则是在乳酸透性酶运输系统的作用下进入细胞进行水解和磷酸化。

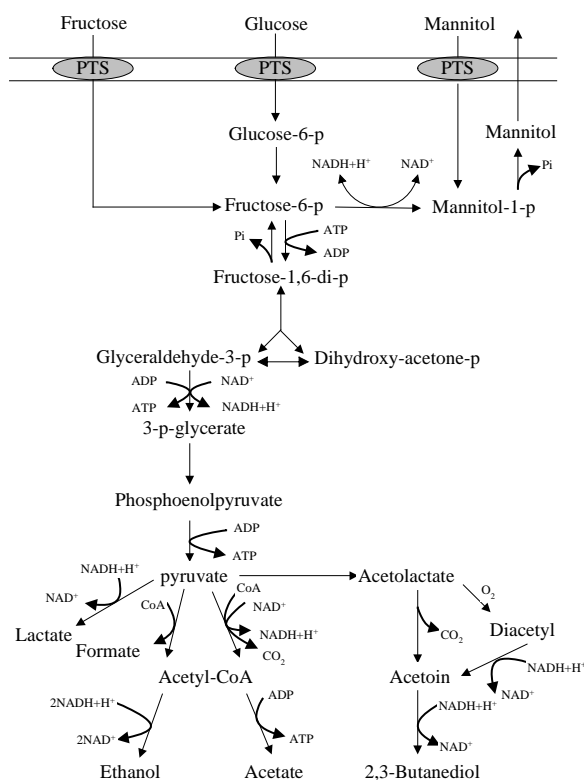


图 1 同型乳酸发酵代谢途径

Fig.1 Proposed pathway for hexose metabolism of homofermentative lactic acid bacteria

收稿日期: 2005-07-14, 修回日期: 2005-09-26

基金项目: 国家重点基础研究发展计划(973)资助项目(编号: 2003CB716007)

作者简介: 王海燕(1981-), 女, 内蒙古包头市人, 硕士研究生, 研究方向: 生物化工; 刘铭, 通讯联系人, E-mail: liu-ming@tsinghua.edu.cn.

2.2 异型乳酸发酵菌

异型乳酸发酵经由磷酸戊糖途径 (Hexose Monophosphate Pathway, HMP) 生成等摩尔的乳酸、二氧化碳和乙醇(或乙酸), 其中产物乙醇和乙酸的比例取决于微生物中的氧化还原作用. 进行异型乳酸发酵的主要有乳脂明串珠菌、发酵乳杆菌、肠膜明串珠菌、短乳杆菌、双歧杆菌^[6,7]. 异型乳酸发酵菌缺乏 1,6-二磷酸果糖醛缩酶, 因而利用 6-磷酸葡萄糖酸/磷酸酮酸途径进行己糖发酵, 见图 2. 在厌氧状态下, 葡萄糖转化为乳酸、乙醇和二氧化碳, 1 mol 葡萄糖发酵得到 1 mol 三磷酸腺苷. 乙酰基磷酸转化为乳酸取代乙醇, 这样额外的 ATP 就会生成, NAD^+ 则可通过选择性的电子受体获得. 在好氧的状态, 氧可以成为电子受体.

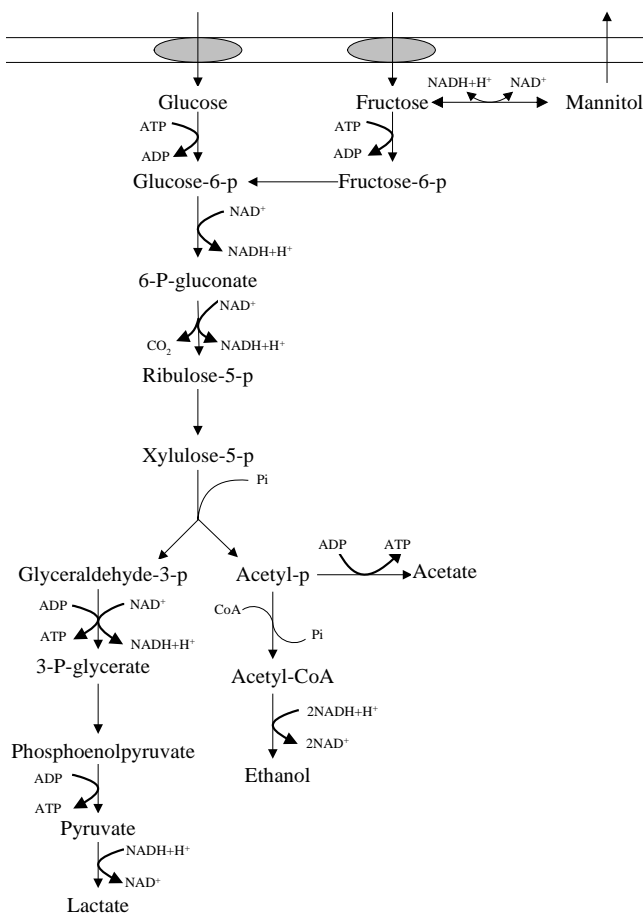


图 2 异型乳酸发酵代谢途径

Fig.2 Proposed pathway for hexose metabolism of heterofermentative lactic acid bacteria

3 乳酸菌代谢的研究

3.1 乳酸菌中的关键酶

乳酸菌(Lactic Acid Bacteria, LAB)是一类非常重要的工业微生物, 在食品发酵中应用的历史非常悠久, 全世界每年用于奶酪和酸乳发酵工业的乳酸乳球菌细胞

约有 50 万吨. 近年来, 由于乳酸乳球菌可作为“细胞工厂”来生产食品和药物而更加受到关注^[8]. 可以预期, 乳酸菌代谢工程的发展将为发酵食品工业创造新的发展机遇.

通过糖分解代谢将糖转化为乳酸是革兰氏阳性菌和乳酸菌中主要的代谢途径^[9], 并且乳酸菌由于其基因组很小, 遗传背景清楚和代谢途径简单等特点而成为模式菌株. 乳酸菌合成乳酸的代谢途径很早就受到了关注, 国内外在乳酸脱氢酶及其代谢途径改造方面开展了大量研究工作.

乳酸脱氢酶(Lactate Dehydrogenase, LDH)以 NADH 为辅酶, 能将丙酮酸转化为乳酸, 是乳酸菌合成乳酸过程中的关键酶. 在产 D,L-乳酸的乳杆菌中存在依赖于 NADH 的 D-乳酸脱氢酶和 L-乳酸脱氢酶, 分别催化丙酮酸生成 D-乳酸和 L-乳酸. 传统的菌种改良主要通过诱变筛选的方法提高乳酸的产量, 在底物与产物耐受条件的筛选中得到最大乳酸产量为 195.5 g/L 的菌株^[10], 但选择更高乳酸产量的菌种仍需要通过遗传工程与基因工程的改造来完成.

Lactobacillus helveticus CNRZ32^[11]是一种可以表达 D-乳酸脱氢酶和 L-乳酸脱氢酶的乳酸菌, 并且分别产生 D-乳酸和 L-乳酸. 用基因替代的方式构建了 2 株菌 GRL86 和 GRL89, 其中 GRL86 菌株缺失了 *ldhD* 的启动子区域; GRL89 菌株不仅缺失了 *ldhD* 基因, 并且增加了 L-LDH 基因的拷贝. 结果发现这 2 个突变株仅能生产 L-乳酸, 在产量上与原始菌株相同, L-LDH 的活性分别比原始菌株高出 53% 和 93%. 此外, GRL89 的 L-乳酸产量还可以根据实验数据利用响应面法进行优化. 菌株 GRL89 的乳酸产量比 GRL86 高出 20%.

Lactobacillus johnsonii La1^[12]是一种益生菌, 生长在牛奶中, 将乳糖以 3:2 的比率分别转化为 D-乳酸和 L-乳酸. 将 D-乳酸脱氢酶基因从细胞中分离出来, 敲除长度为 8 bp 的基因片段使其功能失活, 再通过同源重组的方式转入细胞. 结果表明, 改良后的菌株中 L-乳酸脱氢酶的活性有所降低, 但仍然能充分地将丙酮酸转化为 L-乳酸, 而次级代谢产物仅有少量增加. 乳酸脱氢酶可以有效地控制丙酮酸的代谢流, 并产生 NAD^+ , 因此代谢途径转向次级代谢产物生成的可能性较小.

李剑等^[13]筛选到一株产 D,L-乳酸的乳杆菌 (*Lactobacillus* sp.)MD21, 能在 48 °C 含 200 g/L 葡萄糖的发酵液中快速生长并生产乳酸, 72 h 产量可达 140 g/L 以上; 并且初步分析了乳酸脱氢酶的序列及编码蛋白质的一级结构, 对其功能进行了鉴定.

3.2 代谢模型

最近糖代谢途径的模型已经建立, 并且提供了人机

对话版本. 该模型可以有效地应用于代谢工程策略的设计, 因为它可以预测野生型菌株和突变株的发酵数据和代谢过程中的影响因素以及代谢产物的变化, 因此可以用来优化发酵过程, 预测由于酶活的变化和发酵条件的改变而对代谢产物的影响. 此外, 该模型还可以预测代谢中间产物的代谢途径, 例如磷酸己糖等; 也可以定性地预测底物、中间产物及酶的变化, 但还不能做到定量描述糖消耗途径中各种物质的变化.

代谢网络是一个大的分支系统, 它所涉及的不仅仅是碳的代谢过程, 同时也要经过氧化还原和能量交换过程. 在这样一个复杂的代谢网络中, 一个孤立的方法想得到目标产物是不太可能的, 应该用综合的思路对乳酸代谢进行研究. 如今一些理论如生物系统、代谢控制分析(Metabolic Control Analysis, MCA)和代谢设计, 已经揭示出了多酶系统并进行了量化. 在代谢控制分析中, 代谢控制系数(Flux-control coefficient)可以量化代谢过程中各种酶的催化能力^[14], 并可以阐明引起酶活性变化的原因. Hoefnagel 等^[15]综合利用动力学模型、代谢控制分析、实验分析方法对乳酸菌进行了代谢工程的研究, 以丙酮酸的代谢途径作为研究的模型. 代谢控制分析说明在乙酰乳酸的途径中每个酶对代谢流的控制都是重要的, 因此认为酶的流量控制系数最大. LDH 具有最高的流量控制系数, 通常认为敲除 LDH 可能会使更多的碳进入乙酰乳酸支路, 然而实验表明只有 11% 的碳进入这条支路, 低于模型预测的数值; 主要的产物是 3-羟基丁酮, 这与模型预测一致. 此外, NADH 氧化酶(NOX) 也具有很高的代谢控制系数, 模型预测如果 NOX 的表达超过 40 倍就会有 20% 的葡萄糖进入乙酰乳酸合成酶(Acetolactate Synthase, ALS)支路, 然而只有 13% 的葡萄糖转化为 3-羟基丁酮. 敲除 LDH 基因并结合过量表达的 NADH 氧化酶被认为会有更强的效果, 同时模型预测将有 92% 的丙酮酸进入到 ALS 途径, 但结果显示, 相比于只敲除 LDH 基因的菌株, 其产量没有明显的提高.

模型的建立可以使实验数据一体化、系统化, 可以增加我们对实验设计的感性认识, 可以处理数据并预测代谢流向. 但动力学模型不能处理更多变量, 应综合利用动力学模型、MCA 等方法, 在实验中加入更理性的设计策略, 优化目标产物的代谢途径.

4 米根霉发酵生产乳酸的代谢工程

Rhizopus oryzae 是工业发酵中一种重要的生物, 作为好氧真菌^[16-18], 它是依靠呼吸产能并提供合成菌体的中间产物, 其发酵属混合酸发酵. 它经由 EMP 途径生成丙酮酸, 然后进入三羧酸循环, 副产物是丙酮酸、延

胡索酸或其他一些有机酸. 由于它能在低营养状态下将淀粉直接转化为单一的 L-乳酸, 在乳酸生产中具有一定的优势^[19]. 因为 L-乳酸的产量是建立在总碳水化合物消耗的基础上, 所以其产量比较低. 传统的物理、化学等方法可以成功地用于改善真菌的代谢及酶的生产能力. 如 Longacre 等^[20]通过紫外诱变得到的葡萄糖转化率达 75%~86% 的菌株, 其乳酸产量为 30 g/L, 比出发菌株的乳酸产量提高 65%, 并且乙醇产量有所减少.

Skory^[21]对米根霉进行了研究, 以葡萄糖作为代谢底物, 发现乳酸的转化率基本上为 60%~80%, 多余的葡萄糖则用于乙醇发酵. 利用基因工程方法构建了含有不同长度 *ldhA* 基因片段的 3 种质粒 pLdhA71X, pLdhA48XI, LdhA89VII, 并转入米根霉中进行表达. 结果发现含有 3.3 kb 长度的 pLdhA48XI 质粒增加了细胞的稳定性, 但没有提高乳酸产量. 含有 7.1 kb 的质粒 pLdhA71X 比含有小片段基因的质粒 pLdhA48XI 乳酸产量高. 而含有最长基因片段的 LdhA89VII 质粒在乳酸产量上达到了最高值. 从而证明了所含乳酸脱氢酶基因越长乳酸产量就越高的构想, 但是这 3 种质粒却比对照组的产量都低.

5 基因工程菌生产乳酸的研究

由于乳酸菌不能在 pH<4 的环境中生长, 而中性环境会降低底物和产物的溶解性, 研究人员尝试改良酵母菌用于在低 pH 环境下生产乳酸. 一般 *Saccharomyces cerevisiae* 被认为是优良的耐酸菌, 并可用于工业生产. 在 *S. cerevisiae* 中, 丙酮酸主要的流向是在丙酮酸脱羧酶和乙醇脱氢酶的作用下生成乙醇. 倘若通过乳酸脱氢酶催化丙酮酸生成乳酸从而改变 NAD⁺ 产生途径, 理论上可以替代乙醇发酵. Porro 等^[22]于 1999 年将牛的乳酸脱氢酶基因转入到 *Kluyveromyces lactis* 酵母细胞中进行

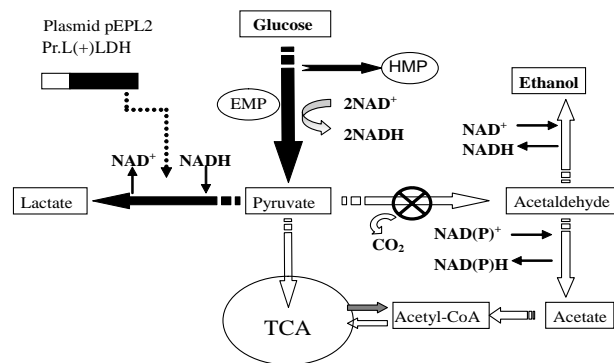


图3 乳酸菌中丙酮酸的主要代谢途径

Fig.3 Schematic representation of the main pyruvate dissimilation pathways in *K. lactis*

表达, 以提高乳酸的产量. LDH 基因进入 *K. lactis* 细胞改变其细胞代谢途径, 唯一的丙酮酸脱羧酶基因被阻断(如图 3). 改良后的细胞使乳酸合成途径完全代替了乙醇合成途径, 从而得到了 109 g/L 的乳酸, 转化速率为 0.91 g/(L·h), 每消耗 1 mol 葡萄糖生成 1.9 mol 乳酸.

Skory^[23]则把米根霉的乳酸脱氢酶基因转入到酵母菌中进行表达, 从而构建质粒 pLdhA68X, 并转入酵母菌中用于乳酸生产. 改良后的细胞可以利用 92 g/L 的葡萄糖, 在 30 h 可以产生终浓度为 38 g/L 的乳酸, 并且削弱了乳酸脱羧酶的活性, 阻断了乙醇脱氢酶的活性, 结果使乙醇产量减少.

6 生物信息学及环境胁迫对乳酸菌代谢的影响

不同种类的 LAB 全基因组序列长度在 1.8~2.6 Mb 之间, 除了 *Lactobacillus plantarum* 最大为 3.3 Mb. 目前只有 *L. lactis* IL1403 和 *L. plantarum* WCFS1 可以在网站检索到全序列^[24]. 生物信息学的应用能够提供新的视野, 进入到系统相关性方面, 从而给出基因组如何进化的线索; 同时基因组学和蛋白质学的深入研究将更大程度地成为选择具有特殊特性细胞的依据, 保证基因重组菌的稳定性. 初步的蛋白组分析得到了 *L. lactis*, *L. delbrueckii*, *Bulgaricus*, *Lactobacillus sakei* 和 *Streptococcus thermophilus* 的双向凝胶电泳图谱, 并通过质谱学和生物信息学证实了 *L. lactis* IL1403 的产酸蛋白包括 230 个蛋白质. 比较 *L. lactis* IL1403 和 NCDO763 的蛋白组学图谱, 说明通过肽质量指纹图谱与 IL1403 基因组序列信息相比较可以证明 NCDO763 蛋白质的存在; 3 个调节子被证实是由 27 个基因组成的; 通过生物信息学的分析, 在 *L. lactis* IL1403 上游区域的 *Psu* 调节子基因包括一个保守序列, 是通过 *PurR* 调节子来激活的.

LAB 接受了生产、贮存、应用几种不同压力状态下的实验. 已知的 LAB 在工业生产状态下的行为主要靠经验获得. 基因测序和表达方面的数据为基因组学的设计提供了可能性, 证明了基因和蛋白质对发酵特征(例如生长条件、产物合适的形成条件、在不同压力和稳定状态下的行为)具有决定性的影响作用. 通过比较基因组学和蛋白质组学对基因表达功能的分析, 使我们更好地了解 LAB 的应激反应和调节机制. 例如对 *L. plantarum* 在一些压力状态下的实验揭示了不曾预料到的应激反应, 如实验证明, 在乳酸和 pH 导致的压力状态下, 生长在乳糖中的细胞比生长在葡萄糖中的细胞明显增加了全部编码 *lac* 和 *gal* 操纵子的蛋白质, 而这些

操纵子是用来降解乳糖和半乳糖的. 这些相关性通过 ANOVA(Analysis of Variance)数据分析得到了证实, 符合层级聚类的原理. 同样, 野生型 *L. plantarum* 和它的碳代谢蛋白(Carbon Catabolite Protein A, *ccpA*)突变株在不同碳源中的生长实验说明了糖源和 *ccpA* 响应具有相关性.

基因组学的知识能够预测 LAB 在特定的 pH、温度和其他条件下的发酵行为. 全基因组分析不仅允许预测 LAB 形成产物的能力, 同时也可以设计能够筛选到高产能力菌株的探针, 这个探针能够高通量地进行筛选, 因为它具有编码专一酶或者其他相关特性酶的基因.

7 展望

生物法生产乳酸还需要在以下几个方面加强研究:

(1) 代谢工程需要设计生产一些新的具有高价值的终产物, 例如多聚糖、维生素或抗氧化剂, 因为这些物质是由更为复杂的生物合成途径产生的, 所以这对于未来研究乳酸菌的新陈代谢途径是一个重要的挑战.

(2) 对于代谢的分析还可以通过生物信息学和数据库重新构建有潜力的代谢网络, 引入更多变化的参数以建立更加强大的动力学模型, 并通过实验验证而不断完善.

(3) 详细地分析和比较不同种类的乳酸菌全基因组序列, 更好地理解它们在乳酸生产能力方面的差异.

(4) 综合代谢工程、基因工程、蛋白质工程、生物信息学等各种思路对代谢网络进行理性设计, 从而减少工作量, 增加目标产物的产量, 构建更为有效的工业生产菌株.

参考文献:

- [1] 钱志良, 劳含章, 王健, 等. 工业乳酸发酵的近期进展 [J]. 生物加工过程, 2003, 1(1): 23-27.
- [2] 李寅, 曹竹安. 微生物代谢工程: 绘制细胞工厂的蓝图 [J]. 化工学报, 2004, 55(10): 1573-1580.
- [3] 乔长晟, 汤凤霞, 朱晓红. L-乳酸的生产及研究现状 [J]. 宁夏农学院学报, 2001, 22(3): 75-79.
- [4] 王旭明, 汪群慧, 马鸿志, 等. 用乳酸细菌从有机废弃物生产乳酸 [J]. 现代化工, 2003, 23(11): 50-53.
- [5] Davidson B E, Llanos R M, Cancilla M R, et al. Current Research on the Genetics of Lactic Acid Production in Lactic Acid Bacteria [J]. Int. Dairy J., 1995, 5(8): 763-784.
- [6] Wisselink H W, Weusthuis R A, Eggink G, et al. Mannitol Production by Lactic Acid Bacteria: A Review [J]. Int. Dairy J., 2002, 12(2-3): 151-161.
- [7] Aarnikunnas J, Von Weymarn N, Ronnholm K, et al. Metabolic Engineering of *Lactobacillus fermentum* for Production of Mannitol and Pure L-lactic Acid or Pyruvate [J]. Biotechnol. Bioeng., 2003, 82(6): 653-663.
- [8] Kleerebezem M, Hols P, Hugenholtz J. Lactic Acid Bacteria as a Cell

- Factory: Rerouting of Carbon Metabolism in *Lactococcus lactis* by Metabolic Engineering [J]. *Enzyme Microb. Technol.*, 2000, 26: 840–848.
- [9] Kleereb E M, Hugenholtz J. Metabolic Pathway Engineering in Lactic Acid Bacteria [J]. *Curr. Opin. Biotechnol.*, 2003, 14(2): 232–237.
- [10] Bai D M, Zhao X M, Li X G, et al. Strain Improvement and Metabolic Flux Analysis in the Wild-type and a Mutant *Lactobacillus Lactis* Strain for L(+)-lactic Acid Production [J]. *Biotechnol. Bioeng.*, 2004, 88(6): 681–689.
- [11] Kyla-Nikkila K, Hujanen M, Leisola M, et al. Metabolic Engineering of *Lactobacillus helveticus* CNRZ32 for Production of Pure L-(+)-lactic Acid [J]. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2000, 66(9): 3835–3841.
- [12] Lapierre L, Germond J E, Ott A, et al. D-Lactate Dehydrogenase Gene (*ldhD*) Inactivation and Resulting Metabolic Effects in the *Lactobacillus johnsonii* Strains La1 and N312 [J]. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1999, 65(9): 4002–4007.
- [13] 李剑,唐赟,梁凤来,等. D-乳酸脱氢酶基因克隆及其表达 [J]. *微生物学报*, 2004, 44(4): 491–494.
- [14] De Vos W M, Hugenholtz J. Engineering Metabolic Highways in *Lactococci* and Other Lactic Acid Bacteria [J]. *Trends Biotechnol.*, 2004, 22(2): 72–79.
- [15] Hoefnagel M H N, Starrenburg M J C, Martens D E, et al. Metabolic Engineering of Lactic Acid Bacteria, the Combined Approach: Kinetic Modelling, Metabolic Control and Experimental Analysis [J]. *Microbiology*, 2002, 148: 1003–1013.
- [16] 白冬梅, 赵学明, 李鑫钢, 等. 米根霉发酵生产 L(+)-乳酸研究进展 [J]. *现代化工*, 2002, 22(6): 9–13.
- [17] 白冬梅, 赵学明, 胡宗定. 玉米生粉发酵生产 L-乳酸的研究 [J]. *化学工程*, 2002, 30(3): 50–54.
- [18] 白妹, 董晓燕, 孙彦. 固定化米根霉生产 L-乳酸的研究 [J]. *微生物学通报*, 1996, 23(3): 140–143.
- [19] Bai D M, Zhao X M, Li X G, et al. Strain Improvement of *Rhizopus oryzae* for Over-production of L(+)-Lactic Acid and Metabolic Flux Analysis of Mutants [J]. *Biochem. Eng. J.*, 2004, 18(1): 41–48.
- [20] Longacre A, Reimers J, Gannon J E, et al. Flux Analysis of Glucose Metabolism in *Rhizopus oryzae* for the Purpose of Increasing Lactate Yields [J]. *Theor. Biol.*, 1997, 21: 30–39.
- [21] Skory C D. Lactic Acid Production by *Rhizopus oryzae* Transformants with Modified Lactate Dehydrogenase Activity [J]. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 2004, 64(2): 237–242.
- [22] Porro D, Bianchi M M, Brambilla L, et al. Replacement of a Metabolic Pathway for Large-scale Production of Lactic Acid from Engineered Yeasts [J]. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1999, 65(9): 4211–4215.
- [23] Skory C D. Lactic Acid Production by *Saccharomyces cerevisiae* Expressing a *Rhizopus oryzae* Lactate Dehydrogenase Gene [J]. *J. Industrial Microbiol. Biotechnol.*, 2003, 30(1): 22–27.
- [24] Siezen R J, Van Enkevort F H, Kleerebezem M, et al. Genome Data Mining of Lactic Acid Bacteria: The Impact of Bioinformatics [J]. *Curr. Opin. Biotechnol.*, 2004, 15(2): 105–115.

Microrganism Metabolic Engineering in Lactic Acid Production

WANG Hai-yan^{1,2}, LIU Ming², WANG Hua-jun¹, CAO Zhu-an²

(1. Department of Environmental Engineering, Beijing University of Science and Technology, Beijing 100083, China;

2. Department of Chemical Engineering, Tsinghua University, Beijing 100084, China)

Abstract: Metabolic engineering can regulate the metabolic networks of the microbial cells. It plays an important role in selecting microorganisms and optimizing the process to enhance metabolites production. The progress of the metabolic engineering research in lactic acid production was reviewed. Metabolic pathways in homo-fermentation and hetero-fermentation for lactic acid production were compared. The metabolic model of lactic acid bacteria, the application of lactate dehydrogenase and the production of lactic acid with *Rhizopus oryzae* fermentation were summarized. The gene regulatory knockout of ethanol metabolic pathway for improving the lactic acid production was introduced. The influences of bioinformatics and stress response on the metabolism of lactic acid were discussed. And the trends in microbial production of lactic acid were also predicted.

Key words: lactic acid; microbial production; metabolic engineering