

乳酸菌が生産する抗菌ペプチド：バクテリオシン

—多様な特性とその利用可能性—

吉田 遥海¹・竹内 愛子¹・善藤 威史^{2*}

(¹九州大学大学院生物資源環境科学府生命機能科学専攻, ²九州大学大学院農学研究院生命機能科学部門,
1,2〒819-0395 福岡市西区元岡744)

Bacteriocins, antimicrobial peptides produced by lactic acid bacteria

—various characteristics and applications—

Harumi YOSHIDA¹, Aiko TAKEUCHI¹, Takeshi ZENDO^{2*}

(¹Department of Bioscience and Biotechnology, Graduate School of Bioresources and Bioenvironmental Sciences, Kyushu University, ²Department of Bioscience and Biotechnology, Faculty of Agriculture, Graduate School, Kyushu University, Motoooka 744, Nishi-ku, Fukuoka 819-0395, Japan.)

要 旨

自然界に広く存在し、発酵食品などを通じて人間に最もなじみ深い微生物の一つである乳酸菌には、抗菌ペプチドであるバクテリオシンを生産するものを見出すことができる。乳酸菌の安全性やバクテリオシンの優れた特性から、乳酸菌バクテリオシンは次世代の抗菌物質としての期待が大きい。その構造や特性は多種多様であり、適材適所の利用により、安全で効果的な微生物制御、バイオプリザベーションの実現が望まれる。実際に、最も代表的な乳酸菌バクテリオシンであるナイシン A は、日本を含め、世界で広く食品保存料として利用され、その用途は食品保存に留まらず、食品と同様に安全な抗菌物質を必要とする口腔ケア剤などの非食品分野にも拡大している。さらに新たな乳酸菌バクテリオシンの発見とともに利用範囲の拡大が見込まれ、ナイシン A に続く実用が期待されるものも多数発見されており、それらの多様な構造と特性に加え、生合成や作用の多様な分子機構が明らかとなりつつある。

1. はじめに

乳酸菌は、自然界に広く存在し、長い間日常的に人間と関わってきた微生物である。乳酸菌は乳製品をはじめとする発酵食品の発酵を促し、食品の嗜好性だけでなく保存性の向上にも寄与してきた。一方で生物のほとんどが抗菌ペプチドを生産することが知られており、中でも細菌によってリボソーム上で

合成されるものはバクテリオシンと定義される¹⁾。とくに、古来食されてきた発酵食品に多く含まれている乳酸菌が生産するバクテリオシンは、天然の食品保存料としての利用が期待され、多種多様な乳酸菌から多数のバクテリオシンが同定されてきた。一部の乳酸菌由来バクテリオシンは米国食品医薬品局 (FDA) によって一般的に安全とされる GRAS (Generally Regarded As Safe) 物質として認められている²⁾。その一つで、*Lactococcus lactis* によって生産されるナイシン A は広く商業的に利用された

* E-mail: zendo@agr.kyushu-u.ac.jp

最初のバクテリオシンである³⁾。日本においても、ナイシン A は2009年に食品添加物として指定され、食品保存への利用が可能となった⁴⁾。

乳酸菌バクテリオシンの多くは熱に耐性があり、酸性域を中心に広い pH 範囲で抗菌活性が維持され、無色、無味無臭であることから、広い用途に対応できる。一般的な抗生物質や抗菌剤は広い範囲の細菌種に対して殺菌・静菌効果を示すが、バクテリオシンは狭い範囲の細菌種に対して殺菌・静菌効果を示すものが多い。また、ほとんどのバクテリオシンは、抗生物質よりも低濃度で効果を示す⁵⁾。さらに、ペプチドであるバクテリオシンは、消化管に存在するトリプシンやペプシンのような酵素によって不活性化され、消化管や環境中に残存しないため、安全性が高く、耐性菌が出現する可能性が低いと考えられている⁶⁾。

乳酸菌バクテリオシンは食品保存を主な用途として研究が進められてきたが、優れた抗菌作用と安全性を活かし、食品保存以外の用途や薬剤耐性菌の制御への利用も検討されている。他の様々な抗菌剤、とくに天然由来の抗菌剤との組み合わせによって、バクテリオシンの効果を高める補完的なアプローチも進んでいる。本稿では、乳酸菌バクテリオシンについて、最近の研究で明らかとなった新しい知見と、食品や人の健康への応用例を紹介する。

2. バクテリオシンの分類、構造と作用機構

バクテリオシンの構造は、生産する菌種に応じてきわめて多様であり、乳酸菌を含むグラム陽性菌に限っても様々なものが報告されている⁷⁾。ほとんどのバクテリオシンは、コアペプチドの N-末端側にリーダーペプチドが結合した前駆体として生産され、分泌時にペプチダーゼによってリーダーペプチドが除去されて活性型の成熟バクテリオシンとなる。前駆体の生物活性は成熟型バクテリオシンに比べて著しく低く、リーダーペプチドは専用の輸送タンパク質や一般的な分泌経路への分泌シグナルとして機能する⁸⁾。従来、グラム陽性菌由来のバクテリオシンは、翻訳後修飾を受け、異常アミノ酸である

表 1 乳酸菌が生産するバクテリオシンの分類

クラス	性質	ターゲットの例
I	翻訳後修飾を受ける10 kDa 以下の低分子ペプチド	
	ランチビオティック (不飽和アミノ酸, 異常アミノ酸を含む)	リビド II
	環状 (N-末端と C-末端がペプチド結合) グリコシン (糖が付加)	マルトース ABC トランスポーター グルコースホスホトランスフェラーゼ輸送複合体
II	翻訳後修飾を受けない10 kDa 以下の低分子ペプチド	
	a YGNG 配列と1つ以上のジスルフィド架橋を持つ	マンノースホスホトランスフェラーゼ輸送複合体 (Man-PTS)
	b 2つのペプチドの相乗作用により抗菌活性を示す	ウンデカブレニルピロリン酸合成酵素
	c リーダー配列を持たない	亜鉛依存性膜結合型メタロペプチダーゼ
d その他クラス II バクテリオシン	リビド II	
III	熱感受性の27~35 kDa 高分子タンパク質	
	溶菌性 (バクテリオリシン)	細胞壁
	非溶菌性	グルコースの取り込み

ランチオニンなどを含むランチビオティックとも呼ばれるクラス I と、翻訳後修飾を受けないバクテリオシンであるクラス II の大きく2つに分類されていた⁹⁾。しかし、ここ最近、翻訳後修飾を受けるバクテリオシンは、ランチビオティックに限定されず、はるかに多様であることが明らかになってきた¹⁰⁾。データベース上のゲノム情報から類似の遺伝子を探索するゲノムマイニングという新たな手法によっても、多くの新奇バクテリオシンが発見されつつある¹¹⁾。そのため、グラム陽性菌のバクテリオシンを再分類する必要が生じ、翻訳後修飾を受けるクラス I バクテリオシンに含まれるものが拡大し、分子量の大きな抗菌タンパク質であるクラス III バクテリオシンも加えて、現在、バクテリオシンは主に3つのクラスに分類されることが多い¹²⁾(表1)。

(1) クラス I バクテリオシン

クラス I バクテリオシンは、10 kDa 以下のペプ

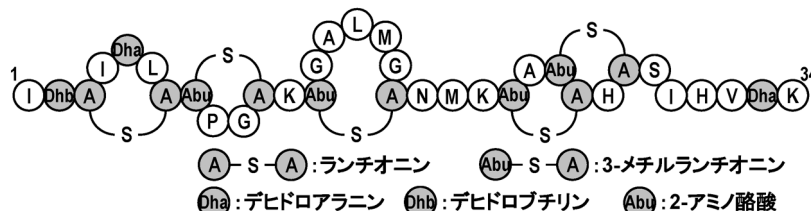
チドで、リボソームで合成された後に翻訳後修飾を受ける。ランチオニンを含むランチビオティック、グリコシル化されたペプチドのグリコシン、N-末端とC-末端が結合して環状化している環状バクテリオニンなど、構造は多岐にわたる(図1)。

ランチオビオティックとは、不飽和アミノ酸、ランチオニン、3-メチルランチオニンなどの、翻訳後修飾によって生じる異常アミノ酸を含む抗菌ペプチドである。こうした異常アミノ酸を含むペプチドは、抗菌作用をもたないものも含めてランチペプチドと称されることもある。この翻訳後修飾は専用の修飾酵素によって行われ、ランチビオティックはその酵素の種類によってさらに5つのクラスに分類されている¹³⁾。ランチビオティックであるナイシンA (*Lactococcus lactis*)⁴⁾は、最も代表的なクラスIバクテリオニンである(以下も同様に、バクテリオニン名の後のカッコ内は生産株が属する菌種名を示す)。ナイシンは、N-末端領域がペプチドグリカ

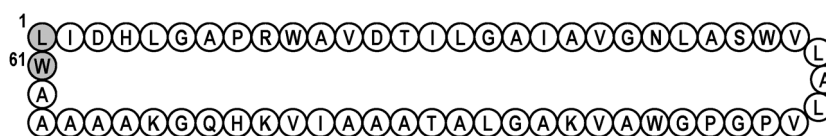
ンの前駆体であるリポドIIに結合することで細胞壁の合成を阻害し、さらにC-末端領域が標的細菌の細胞膜に侵入して孔を形成して菌体内内容物を流出させることで抗菌作用を示す(図2)。ランチビオティックでは、ナイシンと同様に、リポドIIを標的とするものが多い¹⁴⁾。

環状構造を持つバクテリオニンには、投げ輪型ペプチドとN-末端とC-末端が結合している環状ペプチドが含まれる¹⁵⁾。現在までに、乳酸菌由来の投げ輪型バクテリオニンは見つかっておらず、グラム陽性菌が生産するものでは、ラリアチンA (*Rhodococcus jostii*)¹⁶⁾、ストレプトモノマイシン (*Streptomonospora alba*)¹⁷⁾、スピセニン (*Streptomyces sviveus*)¹⁸⁾の3種の構造が明らかにされている。ペプチドのN-末端とC-末端が結合している環状バクテリオニンは、構造の安定性が高いものが多く、等電点値(pI)が高いサブグループI(10以上)と低いサブグループIIに分類される^{19,20)}。サブ

ナイシンA (ランチビオティック)



ラクトサイクリシンQ (環状バクテリオニン)



エンテロシンF4-9 (グリコシン)

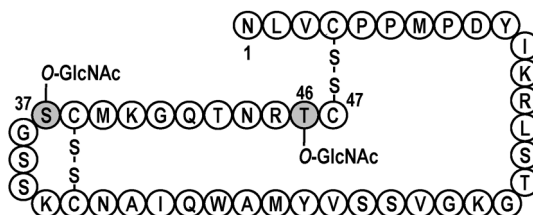


図1 クラスIバクテリオニンの構造の例

ナイシンAの網掛けは、翻訳後修飾によって生じる異常アミノ酸を示す。ラクトサイクリシンQは1残基目のLと61残基目のWがペプチド結合して環状構造を形成している。エンテロシンF4-9の網掛けは、N-アセチルグルコサミン(GlcNAc)が結合するセリンとトレオニンを示す。

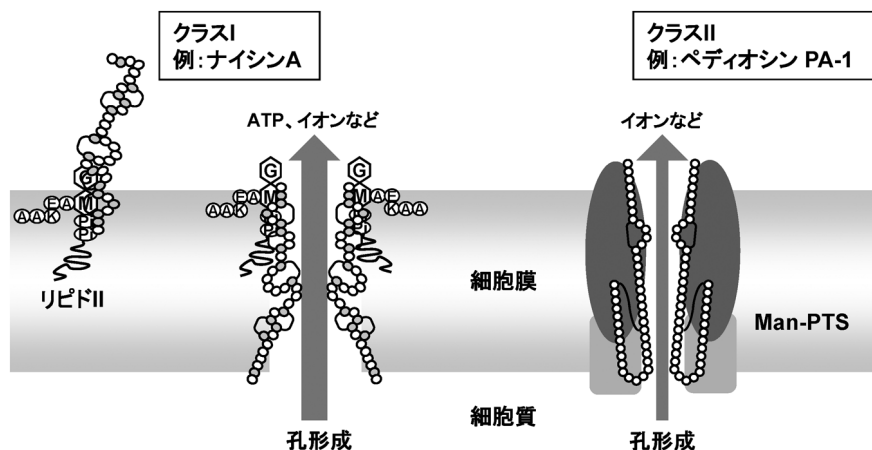


図2 バクテリオシンの作用機構の例

ナイシン A はペプチドグリカンの前駆体であるリポド II に、ペディオシン PA-1 はマンノースホストトランスフェラーゼ輸送複合体 (Man-PTS) に結合することで、標的細胞膜に孔を形成する。形成した孔から ATP やイオンなどの細胞内物質を細胞外へ漏出させる。

グループ I のエンテロシン AS-48 (*Enterococcus faecalis*)²¹、カルノサイクリン A (*Carnobacterium maltaromaticum*)²²、ラクトサイクリン Q (*Lactococcus* sp.)²³ は 4~5 個の両親媒性 α -ヘリックスがサポシン様構造に折りたたまれた構造をもつ²²。サポシンとは、哺乳類の脂質分解酵素の活性化因子として働くペプチドであり、3つの α -ヘリックスで形成される V 字型のセグメントが存在することが特徴である²⁰。このサブグループのバクテリオシンは正電荷を持ち、細菌細胞膜と直接相互作用してその透過を引き起こし、菌体内からのイオンの漏出と膜電位の消失により、最終的には細胞死を引き起こす²⁴。一方、グループ I に属するガルビシン ML (*Lactococcus garvieae*)²⁵ は、マンノース ABC トランスポーターを標的として抗菌作用を示すことが明らかとなっている²⁶。サブグループ II に属するガセリシン A (*Lactobacillus gasseri*)²⁷ やアッドシン B (*Lactobacillus acidophilus*)¹⁹ は、4つの α -ヘリックスが疎水性コアで結合しており、サポシン構造を持たず、等電点が異なることから、サブグループ I の環状バクテリオシンとは異なる作用機構をもつことが予想される。

グリコシンは、システイン (S-結合型)、セリンまたはトレオニン (O-結合型) に、グルコースや N-アセチルグルコサミンが結合したグリコシル化

バクテリオシンである²⁸。グリコシンは、複数のジスルフィド結合を有し、糖転移酵素によって前駆体ペプチドに糖が結合される。乳酸菌からはグリコシン F (*Lactiplantibacillus plantarum*)²⁹ やエンテロシン F4-9 (*Enterococcus faecalis*)³⁰ などの報告例があり、ゲノムマイニングによってもグリコシンと予想されるペプチドが見出されつつある³¹。

(2) クラス II バクテリオシン

翻訳後修飾を受けないクラス II バクテリオシンは、さらにクラス II a から II d の 4 つのサブクラスに分類される (図 3)。YGNG 配列と 1 つ以上のジスルフィド結合を含むペディオシン様バクテリオシン、二成分が相乗的に作用する 2 ペプチドバクテリオシン、リーダー配列を持たないリーダーレスバクテリオシン、その他の直鎖状 (線状) バクテリオシンに分類される。

クラス II a バクテリオシンはペディオシン様バクテリオシンとも呼ばれ、N-末端側に保存された YGNG モチーフと少なくとも一つのジスルフィド結合という構造的特徴を有している。このサブクラスのバクテリオシンは欧米で主な食中毒起因菌となっているリステリア菌 (*Listeria monocytogenes*) に対して強い抗菌活性を示す。これまでに多数が同定されており、代表的なものにペディオシン PA-1

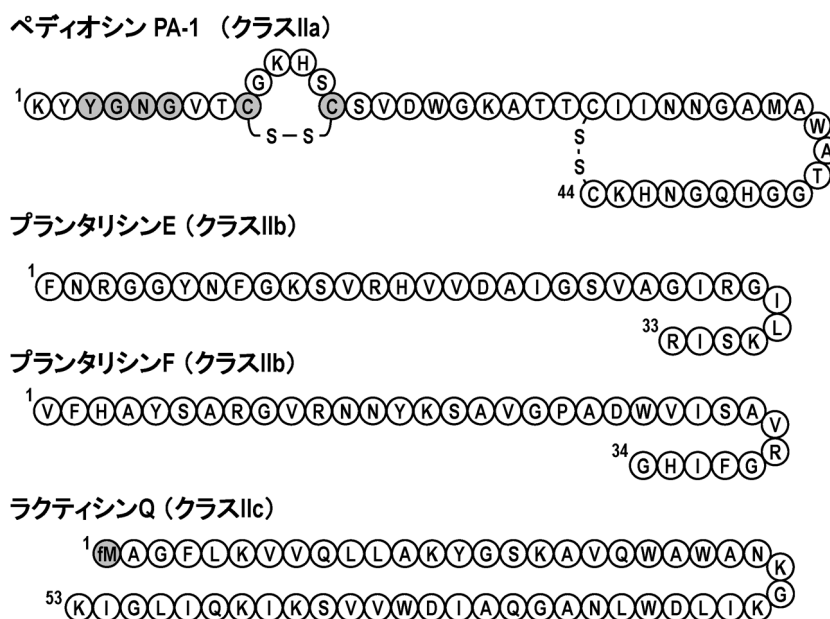


図3 クラスIIバクテリオシンの構造の例

ペディオシン PA-1 の網掛けは、YGNG モチーフとジスルフィド結合を示す。プランタリシン E とプランタリシン F はクラス IIb バクテリオシンを構成し、2つのペプチドで相乗的な抗菌活性を示す。ラクティシン Q は N-末端に開始コドンに由来する N-ホルミルメチオニン (fM) を有する。

(*Pediococcus acidilactici*, *P. pentosaceus*) やロイコシン A (*Leuconostoc gelidum* ほか) などがある³²⁾。これらのバクテリオシンは、細胞膜上のマンノースホスホトランスフェラーゼ輸送複合体 (Man-PTS) を標的とし、細胞膜に孔を形成することで抗菌活性を示す (図2)³³⁾。

クラス IIb バクテリオシンは、 α -ヘリックス構造をもつ2つのペプチドで構成され、等モル濃度の両ペプチドの存在下で相乗的な抗菌活性を示し、標的細胞膜に孔を形成する。乳酸菌由来の代表的なクラス IIb バクテリオシンであるラクトコッシン G (*Lactococcus lactis*) やプランタリシン EF (*Lactiplantibacillus plantarum*) は、菌体表面に局在するウンデカブレニルピロリン酸合成酵素を標的として用いる³⁴⁾。

クラス IIc に分類されるリーダーレスバクテリオシンは、リーダーペプチドを持つ前駆体が形成されず、N-末端に開始コドンに対応するホルミルメチオニンを持ち、他のバクテリオシンに見られるような翻訳後修飾やリーダーペプチドの切断を受けないため、翻訳後すぐに活性を示す²⁴⁾。リーダーレス

バクテリオシンは、立体構造の違いから、さらにサポシン様ペプチドと LsbB 様ペプチドに細分される。サポシン様バクテリオシンは、エンテロシン 7A, 7B (*Enterococcus faecalis*)³⁵⁾、ラクティシン Q (*Lactococcus lactis*)³⁶⁾ などである。複数の両親媒性の α -ヘリックスからなり、環状バクテリオシンと同様の折りたたみ構造を形成している。ラクティシン Q は受容体の関与なしに細胞内に侵入し、孔の形成や細胞膜の破壊を引き起こすことができる³⁷⁾。LsbB 様ペプチドの代表的なものに LsbB バクテリオシン (*Lactococcus lactis*)³⁸⁾ やエンテロシン K1 (*Enterococcus faecium*)³⁹⁾ がある。これらは N-末端に両親媒性 α -ヘリックスをもち³⁷⁾、サポシン型バクテリオシンとは異なり、狭い抗菌スペクトルを持つ。LsbB は、亜鉛依存性の膜結合型メタロペプチダーゼを標的としている⁴⁰⁾。

クラス II d に分類されるその他の直鎖状バクテリオシンのグループには、単一ペプチドの非ペディオシン様ペプチドが含まれる。ラクトコッシン A (*Lactococcus lactis*)、エンテロシン B (*Enterococcus faecium*)、ラクトコッシン 972 (*Lactococcus lactis*)

は、このグループの中で最もよく研究されているバクテリオシンである。クラスⅡdには多様なバクテリオシンが分類され、これらの構造、分泌機構、作用機構はそれぞれ異なる。

(3) クラスⅢバクテリオシン

分子量の大きな抗菌タンパク質であるクラスⅢバクテリオシンは、さらに、溶菌作用を持つバクテリオシンと非溶菌性の抗菌タンパク質に分類することができる。

バクテリオシンは、分子量27~35 kDaのタンパク質で、熱に弱く、標的細菌の細胞壁を溶解する能力を持つことが特徴であり、N-末端の触媒ドメインとC-末端の認識ドメインという、リンカー配列で繋がる2つの重要なドメインから構成されている⁴¹⁾。触媒ドメインは、ペプチドグリカン架橋を標的とするプロテアーゼであり、基質認識ドメインは、標的の認識に加えて、触媒ドメインがペプチドグリカン鎖に沿って移動するためのアンカーとしての役割も担っている。バクテリオシンの特異性と抗菌スペクトルは、様々なペプチドグリカン部位を加水分解する能力によって決まる。グラム陽性菌が産生する代表的なバクテリオシンには、リゾスタフィン (*Staphylococcus simulans*)⁴²⁾、ズーシンA (*Streptococcus zooepidemicus*)⁴³⁾、ミレリシンB (*Streptococcus milleri*)⁴⁴⁾、エンテロリシンA (*Enterococcus faecalis*)⁴⁵⁾などがある。リゾスタフインはペンタグリシン架橋を標的とするメタロプロテアーゼであり、ミレリシンBはテトラペプチドと架橋ペプチドの両方を標的とする。バクテリオシンは複数の切断部位を持つことにより、広い抗菌スペクトルを持つことができると考えられる。

非溶菌性のクラスⅢバクテリオシンは、バクテリオシンと物性が似ているが、その作用機序は細胞壁の溶解に基づくものではない。例として、ヘルベティシンJ (*Lactobacillus helveticus*)⁴⁶⁾、ディスガラクティシン (*Streptococcus dysgalactiae* subsp. *equisimilis*)⁴⁷⁾などがある。現在までに、これらのタンパク質の立体構造は明らかにされておらず、非

溶菌性のクラスⅢバクテリオシンは、グルコースなどの糖の取り込みを阻害すると考えられている⁴⁸⁾。

3. バクテリオシンの生合成機構

バクテリオシンは遺伝子にコードされており、リーダーレスバクテリオシン以外のバクテリオシンは、活性をもたない前駆体ペプチドとしてリボソーム上で合成される。一般に、バクテリオシン前駆体は、翻訳後修飾や分泌に関わるタンパク質による認識部位となるN-末端リーダーペプチドを持ち、リーダーペプチドの切断に前後して、細胞外に排出される。バクテリオシンの生産と自己耐性に関わるタンパク質をコードする遺伝子はクラスターを構成しており、多くの場合はトランスポゾンやプラスミドなどの可動遺伝因子に保存されている。また、バクテリオシン生合成遺伝子群の発現誘導のために、誘導ペプチドとそのシグナル伝達に関わる遺伝子が必要となる場合も見られる⁴⁹⁾。

バクテリオシンの生合成機構をクラスⅠのナイシンAを例に説明する(図4)。①ナイシンA構造遺伝子 *nisA* が転写・翻訳されて前駆体ペプチド NisA が合成される。②NisA の特定のアミノ酸残基が NisB と NisC による翻訳後修飾によって脱水・環化される。③修飾されたNisAはABCトランスポーターNisTにより細胞外に排出される。④NisPによりリーダーペプチドが切断されて活性型のナイシンAとなる。また、バクテリオシン生産株は、特異的な自己耐性タンパク質を生産することで、自身のバクテリオシンの作用から身を守っている。ナイシンAにおいては、細胞膜上にアンカーするリボタンパク質であるNisIがナイシンAを吸着する。さらにNisE, NisF, NisGが細胞膜上にトランスポーターを形成し、自身の細胞膜に付着するナイシンAを菌体外に排出することで自身を保護する⁴⁾。これらの生合成遺伝子群は、*nisRK*を除いて、ナイシンA自身を誘導因子とした二成分制御系で発現が制御されている。細胞膜上にあるNisKが菌体外のナイシンAを感知し、NisRへのリン酸基リレーによってプロモーターを活性化し、各遺伝

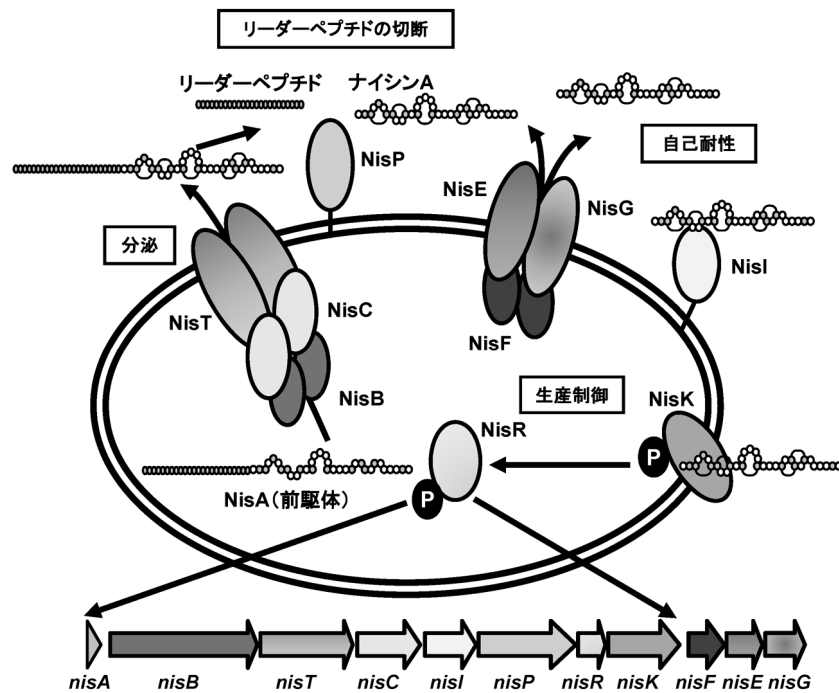


図4 ナイシン A の生合成機構

リーダー配列を含む NisA は、NisB と NisC によって翻訳後修飾を受ける。さらに、NisT によって菌体外へと分泌され、NisP によってリーダー配列が切断されて活性型ナイシン A となる。NisI、NisF、NisE、NisG は、自己耐性機能を担っている。ナイシン A は誘導物質としても働いており、その刺激は NisK、NisR へと伝達され、プロモーターが活性化されることで、各遺伝子の発現が誘導される。

子の発現が誘導される⁵⁰⁾。

他のバクテリオシンの生合成にもナイシンの生合成機構と同様の機能を有するタンパク質が必要となる。生じる翻訳後修飾に応じて、修飾を触媒するタンパク質が必要と考えられるが、環状バクテリオシンのようにその詳細が明らかとなっていないものも多い。一方、クラスIIバクテリオシンでは、翻訳後修飾に関わるタンパク質は不要だが、クラスIの場合と同様に分泌や自己耐性に関わるタンパク質が生合成に不可欠で、発現誘導に関わるタンパク質群を必要とするものもあり、これらの遺伝子がクラスターを形成している。分子量の大きいクラスIIIバクテリオシンの生合成には不明な点が多いが、クラスIやIIとは異なる機構で生合成されることが予想される。

4. バクテリオシンの応用

(1) 食品用途への利用

食生活の多様化が進む現代、食品の品質や安全性

に対する消費者の関心が高まっている。食品の微生物制御の一般的な方法としては、加熱殺菌や食品保存料、抗菌剤の添加が挙げられる。しかし、過度の加熱は食品の品質を大きく損なう恐れがあり、化学的に合成された添加物の利用は自然志向の観点から消費者に避けられる傾向にある。そこで、消費者の志向に応え、品質維持と高い安全性を両立した食品保存技術として、バイオプリザベーションが注目を集めている。バイオプリザベーションとは、人々が長年にわたり食品として、あるいは食品とともに、何らの外作用もなしに食べてきた植物・動物あるいは微生物起源の抗菌物質（バイオプリザバティブ）を利用した手法である。中でも、食品との関わりが深く、発酵食品の保存性向上に寄与している乳酸菌が生産するバクテリオシンは、バイオプリザバティブとして大きな期待を寄せられており、実用化に向けた研究が進められている。食品に対する乳酸菌バクテリオシンの主な利用形態としては、①精製物を製剤として添加する、②培養液上清やその粗精製物

を添加する、③バクテリオシン生産乳酸菌をスターターカルチャーとして用いる場合が考えられ、用途に応じた使い分けが望まれる。

最も代表的な乳酸菌バクテリオシンは、*Lactococcus lactis* の一部の株によって生産されるナイシンである。ナイシンは、食品汚染菌や食中毒菌である *Listeria* 属や *Staphylococcus* 属細菌に作用するだけでなく、*Bacillus* 属や *Clostridium* 属細菌の栄養細胞の制御や芽胞の発芽抑制に有効であることから、様々な食品の保存への利用が進められてきた。ナイシンには数種の変異体があるが、中でもナイシン A は、前述の通り、日本を含めた世界中で食品保存料としての利用が認可されており、海外での使用実態等を踏まえ、日本でも使用できる食品および使用基準が設定されている⁴⁾。食品保存料としてのナイシンは、ナイシン A を2.5%含有し、乳培地の成分や塩化ナトリウムを含むナイシン製剤「Nisaplin® (Danisco 社)」であり、乳製品や肉製品、缶詰などの加工食品に世界で広く実用されている。

冷蔵保存中でも増殖するリステリア菌 (*L. monocytogenes*) に対しては、抗リステリアバクテリオシンとも呼ばれるクラス IIa バクテリオシンの活用が期待されている。クラス IIa バクテリオシンは、ナイシンと比較して抗菌スペクトルは狭いものの、*L. monocytogenes* に対してより強い抗菌活性を示すことから、*L. monocytogenes* による汚染が問題となる乳製品や肉製品などでの利用が盛んに検討されている^{51,52)}。とくに、*Pediococcus acidilactici* や *P. pentosaceus* の一部の株が生産するペディオシン PA-1 は、「MicroGARD® シリーズ (Danisco 社)」や「ALTA 2431 (Quest International 社)」といった発酵物として既に商品化されており、ナイシン A に続いて食品保存料としての利用拡大が期待されるバクテリオシンである。欧米で多発している *L. monocytogenes* による食中毒は、日本では報告例がほとんどないものの、今後、食品輸入の増大に伴って、クラス IIa バクテリオシンの活用の場が増加することも考えられる。

乳酸菌は発酵食品のスターターカルチャーとして一般的に使用されることから、バクテリオシン生産乳酸菌を食品に添加し、食品中で持続的なバクテリオシン生産を図る方法もある。中でも、発酵乳製品であるチーズ生産への利用例は多数報告されている。生産されるバクテリオシンは、食中毒菌を効果的に制御するだけでなく、スターターおよび非スターター乳酸菌の溶菌を引き起こし、タンパク質分解酵素の放出に伴うチーズの熟成や風味向上を促進する⁵³⁾。また、チーズの熟成段階では、芽胞形成細菌の *Clostridium* 属による酪酸発酵を原因とする食感と風味の劣化や腐敗が大きな問題となる。そこで、ナイシン生産菌をスターターとして利用することで、*Clostridium* 属細菌の生育を抑制し、良好なチーズの生産が可能となることが確認されている⁵⁴⁾。日本においては、同じく芽胞形成細菌である *Bacillus* 属細菌の発酵食品への混入が問題となる場合が多いが、バクテリオシン生産乳酸菌をスターターとして用いることで、*Bacillus* 属細菌の生育や不快臭を抑制した使用例がある^{55,56)}。また、欧米では、発酵を伴わない食品に対しても「protective culture」として乳酸菌を添加する手法が利用されており、バクテリオシン生産乳酸菌を生肉に添加することで食中毒菌の制御を行った例などが報告されている⁵⁷⁾。

バクテリオシンを利用した抗菌性の食品包装フィルムに関する研究も進められている。バクテリオシンは低濃度で瞬時に作用するものの、多くの場合、食品成分との相互作用や加工工程における加熱や希釈によって分解あるいは不活性化され、持続性にはやや難がある。そのため、食品包装用フィルムに固定したバクテリオシンを食品表面に直接触れさせ、バクテリオシンを食品中に徐々に放出させる方法の利用が検討されている。この方法は、食品成分による不活性化を防ぎ、バクテリオシンの食品中濃度を一定に保てるという点で、食品への直接的な噴霧や浸漬よりも効果が持続すると考えられる。とくに、冷蔵保存を目的とした生鮮もしくは加工の少ない食品に対する検討例が多く、ナイシンを固定したフィ

ルムによってチーズ中の *L. innocua* の低減に成功した例⁵⁸⁾や、*Weissella* 属細菌が生産するバクテリオシンを用いたフィルムによって魚の切り身中の *L. monocytogenes* をはじめとする食中毒菌の増殖を抑制した例⁵⁹⁾がある。また、バクテリオシン生産乳酸菌を直接フィルムにコーティングする例^{60,61)}も報告されており、乳酸菌によるバクテリオシンの持続的な供給が期待される。

類似の例として、さらに近年では、バクテリオシンもしくはバクテリオシン生産乳酸菌をカプセル化することで、食品中での安定性を向上させる方法も注目されている。カプセル剤によって、食品成分や加工工程による分解や希釈を防ぐことができ、バクテリオシンの放出速度を一定に保った抗菌効果の持続が可能となる。これまでに、牛乳やチーズ、肉類において、ホスファチジルコリン-リポソームやアルギン酸-ゼラチンでカプセル化されたバクテリオシンもしくはバクテリオシン生産乳酸菌が、遊離型と比較して *L. monocytogenes* の生育を効果的に抑制した研究例が報告されている⁶²⁻⁶⁴⁾。しかし、ほとんどのカプセル化研究では、カプセルが添加された食品の官能評価は行われておらず、実用化のためには、カプセルが食品の口当たりや風味に及ぼす影響を調査する必要があると考えられる。

(2) 非食品用途への利用

先述したように、乳酸菌が食品との関わりが深い微生物であること、発酵食品の保存性向上に寄与していることなどから、ナイシンをはじめとした乳酸菌バクテリオシンはバイオプリザバティブとしての利用が進められてきた。一方で、その高い安全性に加え、ヒトの消化酵素等で容易に分解されて環境中に残留しないことから、種々の問題を抱える従来の抗菌剤の代替として、医薬品や消毒剤といった非食品用途への利用も盛んに検討されている。ここでは、我々のこれまでの取り組みを交えながら、乳酸菌およびその類縁菌が生産するバクテリオシンの非食品への応用研究例を紹介する。

一般に、ナイシン A は酸性域では安定である

が、中性からアルカリ性域では不安定である。一方で、洗浄剤の成分として不可欠な界面活性剤は、逆に酸性域での安定性が確保できないものも多い。そこで我々は、活性や安定性の面においてナイシン A と配合可能な界面活性剤のスクリーニングを行い、洗浄成分および殺菌主剤として使用可能な界面活性剤を選定した。洗浄成分として使用可能な非イオン界面活性剤または両性界面活性剤の一部には、ナイシン A との併用による相乗的な抗菌作用の増強が確認された。既存の殺菌成分である陽イオン界面活性剤とナイシン A を併用した場合には、広範な抗菌スペクトルと高い抗菌力を示した。併用によってグラム陰性菌に対しても十分な殺菌作用が確認されたことから、手指用殺菌洗浄剤等へのナイシン A の利用の可能性が示された⁶⁵⁾。

また、我々は牛の乳房炎に対して、ナイシン A を利用した予防剤および治療剤の開発を検討してきた。一般に、乳牛の乳房炎予防には、搾乳前後にヨード剤が使用されるが、乳房炎起因菌の残存や出荷乳中のヨード剤残留が懸念される。そこで、優れた抗菌作用を有するだけでなく、残留しても牛乳の品質を損なわず、耐性菌も生じにくい特性を有するナイシン A に着目した。ナイシン A やクエン酸などを含有する乳房炎予防剤（乳頭消毒剤）は、乳房炎起因菌（*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*）に対して、60秒以内に99.9%以上の強力な殺菌効果を示した。同様にナイシン A やクエン酸などからなる乳房炎治療剤（乳頭注入剤）は潜在性乳房炎および軽度の臨床型乳房炎に対してとくに優れた治療効果を示した⁶⁶⁾。このように、ナイシン A の利用により、従来の薬剤の抱える問題を低減した安全な代替品の開発が大いに期待される。

家畜の疾病予防や成長促進を目的として飼料へ添加する抗菌物質についても、耐性菌出現が懸念される抗生物質に代わり、バクテリオシンまたはバクテリオシン生産乳酸菌の利用を目指した研究が進められている^{67,68)}。養豚産業において、離乳初期の子豚のストレス誘発性下痢は、経済的損失をもたらす大きな問題である。近年、豚腸内細菌叢中の *Lac-*

tobacillus gasseri および *Lactobacillus frumenti* が生産する環状バクテリオシン、ガセリシン A が、豚腸管上皮細胞に結合することで下痢抵抗性を与えることが明らかとなり、ガセリシン A およびその生産乳酸菌が抗生物質の代替品としての可能性を有することが示された^{27,69)}。また、ナイシン A をブロイラー鶏の飼料に添加することで、腸内細菌叢組成の変化に伴って成長が促進されたという研究例も報告されている⁷⁰⁾。水産業においても同様の代替利用が考えられ、畜水産業におけるバクテリオシンおよびバクテリオシン生産乳酸菌が有する潜在的な可能性は注目に値する。

乳酸菌や乳酸菌に比較的近縁な表皮常在菌によって生産されるバクテリオシンは、皮膚疾患の予防や治療にも効果的と考えられる。人の皮膚上には様々な常在菌が存在し、各部位の皮膚の生理機能に従って独自の細菌叢を形成している⁷¹⁾。中でも、黄色ブドウ球菌 (*S. aureus*) は皮膚のバリア機能を崩してアトピー性皮膚炎を誘発し、アクネ菌 (*Cutibacterium acnes*) は過度の増殖によってニキビの原因となることが知られている。表皮ブドウ球菌は、これらの細菌に対して抗菌作用をもつバクテリオシンを生産することで、良好な皮膚状態の維持に寄与していると考えられる。例えば、*Staphylococcus capitis* が生産するナイシン類縁体であるナイシン J は、*S. aureus* や *C. acnes* に対する抗菌活性が確認されている⁷²⁾。また、近年「美肌菌」⁷³⁾として注目を集めている *Staphylococcus epidermidis* に関しても、エピデルミンやスカシン IVK45、エピランシン 15X など様々なバクテリオシンを生産することが報告されている⁷⁴⁾。これらの例のように、主に皮膚病原菌を標的とするバクテリオシンやその生産菌を利用した皮膚微生物叢の改善効果は、皮膚疾患の新たな予防法や治療法の確立に繋がると考えられる⁷⁵⁾。

近年では、バクテリオシンが有する抗がん作用に関する研究も進められており、バクテリオシンのがん治療薬への応用も期待されている。バクテリオシンの抗がんメカニズムとしては、DNA およびタン

パク質生合成阻害や細胞膜への孔形成など様々なものが知られている⁷⁶⁾。*Lactobacillus fermentum* HV6b が生産するファーメンティン HV6b は、*in vitro* 試験において肝細胞がんや子宮頸部腺がんなど、様々ながん細胞のアポトーシスを誘導することが報告された⁷⁷⁾。また、ナイシン A と同様の性質をもつ 1 アミノ酸置換体であるナイシン Z に関しては、世界で 6 番目に多い死因である頭頸部扁平上皮がんに対して、*in vitro* および *in vivo* の両方で抗腫瘍効果を示すことが確認されている⁷⁸⁾。バクテリオシンのがん治療への応用は比較的新しい分野である。今後一層の *in vivo* 研究が行われることで、がん細胞に対して選択的毒性を示し、かつ副作用の少ない効果的な新規治療法の開発に繋がることが期待される。

最後に、ナイシン A を利用した口腔ケア剤について、我々の開発事例を紹介する。ナイシン A は、グラム陽性菌に対して強力な抗菌活性を示す一方で、グラム陰性菌や真菌に対しては微弱な活性しか示さないという課題を有する。そこで、様々な天然由来の植物エキスの中から相性の良い成分のスクリーニングを行い、梅エキスに相乗効果があることを見出した。梅エキスの酸味を伴わない濃度範囲において最適な配合比を設定し、口腔用途に適した新しい天然抗菌剤「ネオナイシン」を開発した。ネオナイシンは、グラム陽性の虫歯原因菌 (*Streptococcus mutans*) だけでなく、グラム陰性の歯周病原菌 (*Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*) に対しても優れた効果を示した⁷⁹⁾。また、バラの花から抽出した精油 (ローズ油) との相乗作用により、近年とくに高齢者において問題視される口腔カンジダ症の原因となる真菌 (*Candida albicans*) にも抗菌活性を示す「ネオナイシン-e」の開発に成功した⁸⁰⁾。このように、ナイシン A の抗菌スペクトルをグラム陰性菌や真菌にまで拡大したネオナイシン-e を配合することで、天然由来成分のみで構成される口腔ケア剤「オーラルピース」を開発した (図 5)。化学合成成分を含有する従来の口腔ケア剤とは異なり、飲み込んでも



図5 ネオナイシン-eを配合した口腔ケア製品

ナイシンAを利用した天然抗菌剤ネオナイシン-eを含む口腔ケア剤「オーラルピース マウススプレー&ウォッシュ」(左)と「オーラルピース 歯磨き&口腔ケアジェル」(右)。どちらも可食成分のみで構成されるため、飲み込んでも身体に害がない。

身体に悪影響を及ぼさないため、幼児や高齢者、重度の心身障害者の方など、うがいが困難な場合や誤飲が懸念される場合でも、安心して使用することができる⁸¹⁾。2020年には、ネオナイシン-eおよび可食成分のみから成る「ボディピース プレミアムハンドケアクリーム」も開発された。新型コロナウイルスの感染拡大に従って手洗いや手指の消毒の機会が増える中、手肌をより安全に清潔に保つハンドケア製品として大きな役割を果たすと考えられる。また、2021年には、宇宙滞在中の生活の利便性向上などの観点で総合的に評価され、オーラルピースが国際宇宙ステーション (ISS) の搭載品として選定されており、今後ますますの利用拡大が見込まれる。

5. おわりに

以上のように、ナイシンをはじめとする乳酸菌バクテリオシンの利用は、食品だけではなく医療や畜水産業など多岐に渡り、今後も拡大していくと考えられる。一方、バクテリオシンの応用を進める上では、可能性は低いと考えられるものの、耐性菌出現の問題に注意を払わねばならない。これまでに実用レベルでの報告例はないが、ナイシン単独の継続的使用が続く現状では、耐性菌出現のリスクを完全に払拭することはできない。このような問題を解決するためには、多様なバクテリオシンを利用していくことが必要不可欠である^{82,83)}。例えば、当研究室で

発見されたラクティシンQは、ナイシンAに匹敵する抗菌スペクトルと抗菌活性を有するだけでなく、ナイシンAとは異なる作用機構を有し、広いpH領域で安定であるという有用性がある⁸⁴⁾。また、先述の通り、ペディオシンPA-1のように特定の菌種に対して強い抗菌活性を示すバクテリオシンや、糖が付加したエンテロシンF4-9^{30,85)}のように新しい構造をもつバクテリオシンも見出されている。このように、多様な特性を持つバクテリオシンを組み合わせる利用することによって、有用菌や無害菌に影響を与えずに有害菌のみをピンポイントに抑制することが可能となる。標的に対する選択性が高まれば、特定のバクテリオシンの過度な利用には至らず、耐性菌出現の可能性を低下させることができると考えられる。引き続き、既存のバクテリオシンの生合成機構・作用機構の解明に取り組むとともに、分離培養法の改良やゲノムマイニングといった新しい手法によって新奇バクテリオシンの探索とライブラリーの充実を進めていくことで、理想的な微生物制御の実現が図られるだろう。

参考文献

- 1) Chikindas ML, Weeks R, Drider D, Chistyakov VA, Dicks LMT. Functions and emerging applications of bacteriocins. *Curr Opin Biotechnol* **49**: 23-28 (2018).
- 2) Zacharof MP, Lovitt RW. Bacteriocins produced by lactic acid bacteria a review article. *APCBEE Procedia* **2**: 50-56 (2012).
- 3) Perez RH, Zendo T, Sonomoto K. Novel bacteriocins from lactic acid bacteria (LAB) : various structures and applications. *Microb Cell Fact* **13**: 1-13 (2014).
- 4) 善藤威史, 澤稔彦, 米山史紀, 園元謙二. 乳酸菌由来抗菌性ペプチド, ナイシン—その基礎と利用. *乳業技術* **59**: 77-86 (2009).
- 5) 山城圭輔, 善藤威史. 医療・食品・環境分野で注目される抗菌技術8. 乳酸菌バクテリオシン. *日本防菌防黴学会誌* **46**: 569-574

- (2018).
- 6) Balciunas EM, Castillo Martinez FA, Todorov SD, Franco BDG de M, Converti A, Oliveira RP de S. Novel biotechnological applications of bacteriocins: A review. *Food Control* **32**: 134–142 (2013).
 - 7) Acedo JZ, Chiorean S, Vederas JC, van Belkum MJ. The expanding structural variety among bacteriocins from Gram-positive bacteria. *FEMS Microbiol Rev* **42**: 805–828 (2018).
 - 8) Beshkova D, Frengova G. NisT, the transporter of the lantibiotic nisin, can transport fully modified, dehydrated, and unmodified prenisin and fusions of the leader peptide with non-lantibiotic peptides. *J Biol Chem* **279**: 22176–22182 (2004).
 - 9) Cotter PD, Colin H, Paul RR. Bacteriocins developing innate immunity for food. *Nat Rev Microbiol* **3**: 777–788 (2005).
 - 10) Arnison PG, Bibb MJ, Bierbaum G, Bowers AA, Bugni TS, Bulaj G, Camarero JA, Campopiano DJ, Challis GL, Clardy J, Cotter PD, Craik DJ, Dawson M, Dittmann E, Donadio S, Dorrestein PC, Entian KD, Fischbach MA, Garavelli JS, Göransson U, Gruber CW, Haft DH, Hemscheidt TK, Hertweck C, Hill C, Horswill AR, Jaspars M, Kelly WL, Klinman JP, Kuipers OP, Link AJ, Liu W, Marahiel MA, Mitchell DA, Moll GN, Moore BS, Müller R, Nair SK, Nes IF, Norris GE, Olivera BM, Onaka H, Patchett ML, Piel J, Reaney MJT, Rebuffat S, Ross RP, Sahl HG, Schmidt EW, Selsted ME, Severinov K, Shen B, Sivonen K, Smith L, Stein T, Süssmuth RD, Tagg JR, Tang GL, Truman AW, Vederas JC, Walsh CT, Walton JD, Wenzel SC, Willey JM, Van Der Donk WA. Ribosomally synthesized and post-translationally modified peptide natural products: Overview and recommendations for a universal nomenclature. *Nat Prod Rep* **30**: 108–160 (2013).
 - 11) 善藤威史, 益田時光, 園元謙二. 多様な乳酸菌抗菌ペプチドの探索とその可能性—乳酸菌による「魔法の弾丸」の創出. *化学と生物* **57**: 228–234 (2019).
 - 12) Patricia AS, Manuel ML, Dongdong M, Oscar PK. Bacteriocins of lactic acid bacteria: extending the family. *Appl Microbiol Biotechnol* **100**: 2939–2951 (2016).
 - 13) Knerr PJ, Van Der Donk WA. Discovery, biosynthesis, and engineering of lantipeptides. *Annu Rev Biochem* **81**: 479–505 (2012).
 - 14) Islam MR, Nagao J, Zend T, Sonomoto K. Antimicrobial mechanism of lantibiotics. *Biochem Soc Trans* **40**: 1528–1533 (2012).
 - 15) Kodani S, Unno K. How to harness biosynthetic gene clusters of lasso peptides. *J Ind Microbiol Biotechnol* **47**: 703–714 (2020).
 - 16) Zhu S, Su Y, Shams S, Feng Y, Tong Y, Zheng G. Lassomycin and lariatin lasso peptides as suitable antibiotics for combating mycobacterial infections: current state of biosynthesis and perspectives for production. *Appl Microbiol Biotechnol* **103**: 3931–3940 (2019).
 - 17) Metelev M, Tietz JI, Melby JO, Blair PM, Zhu L, Livnat I, Severinov K, Mitchell DA. Structure, bioactivity, and resistance mechanism of streptomomicin, an unusual lasso peptide from an understudied halophilic actinomycete. *Chem Biol* **22**: 241–250 (2015).
 - 18) Li Y, Ducasse R, Zirah S, Blond A, Goulard C, Lescop E, Giraud C, Hartke A, Guittet E, Pernodet JL, Rebuffat S. Characterization of sviceucin from streptomyces provides insight into enzyme exchangeability and disulfide

- bond formation in lasso peptides. *ACS Chem Biol* **10**: 2641–2649 (2015).
- 19) Acedo JZ, Van Belkum MJ, Lohans CT, McKay RT, Miskolzie M, Vederas JC. Solution structure of acidocin B, a circular bacteriocin produced by *Lactobacillus acidophilus* M46. *Appl Environ Microbiol* **81**: 2910–2918 (2015).
 - 20) Zimina M, Babich O, Prosekov A, Sukhikh S, Ivanova S, Shevchenko M, Noskova S. Overview of global trends in classification, methods of preparation and application of bacteriocins. *Antibiotics* **9**: 553 (2020).
 - 21) Grande Burgos MJ, Pulido RP, Del Carmen López Aguayo M, Gálvez A, Lucas R. The cyclic antibacterial peptide enterocin AS-48: Isolation, mode of action, and possible food applications. *Int J Mol Sci* **15**: 22706–22727 (2014).
 - 22) Martin-Visscher LA, Gong X, Duszyk M, Vederas JC. The three-dimensional structure of carnocyclin A reveals that many circular bacteriocins share a common structural motif. *J Biol Chem* **284**: 28674–28681 (2009).
 - 23) Sawa N, Zendo T, Kiyofuji J, Fujita K, Himeno K, Nakayama J, Sonomoto K. Identification and characterization of lactocyclicin Q, a novel cyclic bacteriocin produced by *Lactococcus* sp. strain QU 12. *Appl Environ Microbiol* **75**: 1552–1558 (2009).
 - 24) Perez RH, Zendo T, Sonomoto K. Circular and leaderless bacteriocins: biosynthesis, mode of action, applications, and prospects. *Front Microbiol* **9**: 1–18 (2018).
 - 25) Borrero J, Brede DA, Skaugen M, Diep DB, Herranz C, Nes IF, Cintas LM, Hernández PE. Characterization of garvicin ML, a novel circular bacteriocin produced by *Lactococcus garvieae* DCC43, isolated from mallard ducks (*Anas platyrhynchos*). *Appl Environ Microbiol* **77**: 369–373 (2011).
 - 26) Gabrielsen C, Brede DA, Hernández PE, Nes IF, Diep DB. The maltose ABC transporter in *Lactococcus lactis* facilitates high-level sensitivity to the circular bacteriocin garvicin ML. *Antimicrob Agents Chemother* **56**: 2908–2915 (2012).
 - 27) Kawai Y, Saito T, Kitazawa H, Itoh T. Gassericin A; an uncommon cyclic bacteriocin produced by *Lactobacillus gasseri* LA39 linked at N- and C-terminal ends. *Biosci Biotechnol Biochem* **62**: 2438–2440 (1998).
 - 28) Norris GE, Patchett ML. The glycocins: in a class of their own. *Curr Opin Struct Biol* **40**: 112–119 (2016).
 - 29) Venugopal H, Edwards PJB, Schwalbe M, Claridge JK, Libich DS, Stepper J, Loo T, Patchett ML, Norris GE, Pascal SM. Structural, dynamic, and chemical characterization of a novel S-glycosylated bacteriocin. *Biochemistry* **50**: 2748–2755 (2011).
 - 30) Maky MA, Ishibashi N, Zendo T, Perez RH, Doud JR, Karmi M, Sonomoto K. Enterocin F4–9, a novel O-linked glycosylated bacteriocin. *Appl Environ Microbiol* **81**: 4819–4826 (2015).
 - 31) Singh V, Rao A. Distribution and diversity of glycocin biosynthesis gene clusters beyond Firmicutes. *Glycobiology* **31**: 89–102 (2021).
 - 32) Rodríguez JM, Martínez MI, Kok J. Pediocin PA–1, a wide-spectrum bacteriocin from lactic acid bacteria. *Crit Rev Food Sci Nutr* **42**: 91–121 (2002).
 - 33) Zhu L, Zeng J, Wang C, Wang J. Structural basis of pore formation in the mannose phosphotransferase system (man-PTS) by pediocin PA–1. *Appl Environ Microbiol* **88**: 1–39 (2021).

- 34) Camilla O, Morten K, Jan-Willem V, Jon Nissen-Meyer, Tom K. A putative amino acid transporter determines sensitivity to the two-peptide bacteriocin plantaricin JK. *Orig Res* **5**: 700–708 (2016).
- 35) Lohans CT, Towle KM, Miskolzie M, Mckay RT, Van Belkum MJ, McMullen LM, Vederas JC. Solution structures of the linear leaderless bacteriocins enterocin 7A and 7B resemble carnocyclin A, a circular antimicrobial peptide. *Biochemistry* **52**: 3987–3994 (2013).
- 36) Fujita K, Ichimasa S, Zendo T, Koga S, Yoneyama F, Nakayama J, Sonomoto K. Structural analysis and characterization of lacticin Q, a novel bacteriocin belonging to a new family of unmodified bacteriocins of gram-positive bacteria. *Appl Environ Microbiol* **73**: 2871–2877 (2007).
- 37) Yoneyama F, Imura Y, Ichimasa S, Fujita K, Zendo T, Nakayama J, Matsuzaki K, Sonomoto K. Lacticin Q, a lactococcal bacteriocin, causes high-level membrane permeability in the absence of specific receptors. *Appl Environ Microbiol* **75**: 538–541 (2009).
- 38) Ovchinnikov VK, Kristiansen PE, Uzelac G, Topisirovic L, Kojic M, Nissen-Meyer J, Nes IF, Diep DB. Defining the structure and receptor binding domain of the leaderless bacteriocin LsbB. *J Biol Chem* **289**: 23838–23845 (2014).
- 39) Ovchinnikov KV, Kristiansen PE, Straume D, Jensen MS, Aleksandrak-Piekarczyk T, Nes IF, Diep DB. The leaderless bacteriocin enterocin K1 is highly potent against *Enterococcus faecium*: A study on structure, target spectrum and receptor. *Front Microbiol* **8**: 774 (2017).
- 40) Miljkovic M, Uzelac G, Mirkovic N, Devescovi G, Diep DB, Venturi V, Kojic M. LsbB bacteriocin interacts with the third transmembrane domain of the YvjB receptor. *Appl Environ Microbiol* **82**: 5364–5374 (2016).
- 41) Browder HP, Zygmunt WA, Young JR, Tavormina PA. Lysostaphin: Enzymatic of action. *Biochem Biophys Res Commun* **19**: 383–389 (1965).
- 42) Schindler CA, Schuhardt VT. Lysostaphin: A new bacteriolytic agent for the Staphylococcus. *Proc Natl Acad Sci U S A* **51**: 414–421 (1964).
- 43) Simmonds RS, Pearson L, Kennedy RC, Tagg JR. Mode of action of a lysostaphin-like bacteriolytic agent produced by *Streptococcus zooepidemicus* 4881. *Appl Environ Microbiol* **62**: 4536–4541 (1996).
- 44) Beukes M, Bierbaum G, Sahl H, Hastings JW. Purification and partial characterization of a murein hydrolase, millericin B, produced by *Streptococcus milleri* NMSCC 061. *Appl Environ Microbiol* **66**: 23–28 (2000).
- 45) Nilsen T, Nes IF, Holo H. Enterolysin A, a cell wall-degrading bacteriocin from *Enterococcus faecalis* LMG 2333. *Appl Environ Microbiol* **69**: 2975–2984 (2003).
- 46) Joerger M, Klaenhammer T. Cloning, expression, and nucleotide sequence of the *Lactobacillus helveticus* 481 gene encoding the bacteriocin helveticin J. *J Bacteriol* **172**: 6339–6347 (1990).
- 47) Heng NCK, Ragland NL, Swe PM, Baird HJ, Inglis MA, Tagg JR, Jack RW. Dysgalactacin: a novel, plasmid-encoded antimicrobial protein (bacteriocin) produced by *Streptococcus dysgalactiae* subsp. *equisimilis*. *Microbiology* **152**: 1991–2001 (2006).
- 48) Swe PM, Cook GM, Tagg JR, Jack RW. Mode of action of dysgalactacin: a large heat-labile bacteriocin. *J Antimicrob Chemother* **63**: 679–

- 686 (2009).
- 49) Uzelac G, Miljkovic M, Lozo J, Radulovic Z, Tomic N, Kojic M. Expression of bacteriocin LsbB is dependent on a transcription terminator. *Microbiol Res* **179**: 45–53 (2015).
- 50) 善藤威史, 岩谷駿, 園元謙二. バクテリオニン生合成遺伝子群の機能解析. 乳酸菌学会誌 **30**: 18–26 (2019).
- 51) Ennahar S, Sashihara T, Sonomoto K, Ishizaki A. Class IIa bacteriocins: Biosynthesis, structure and activity. *FEMS Microbiol Rev* **24**: 85–106 (2000).
- 52) Li C, Alam K, Zhao Y, Hao J, Yang Q, Zhang Y, Li R, Li A. Mining and biosynthesis of bioactive lanthipeptides from microorganisms. *Front Bioeng Biotechnol* **9**: 692466 (2021).
- 53) Beshkova D, Frengova G. Bacteriocins from lactic acid bacteria: Microorganisms of potential biotechnological importance for the dairy industry. *Eng Life Sci* **12**: 419–432 (2012).
- 54) Silva CCG, Silva SPM, Ribeiro SC. Application of bacteriocins and protective cultures in dairy food preservation. *Front Microbiol* **9**: 594 (2018).
- 55) Kato T, Inuzuka L, Kondo M, Matsuda T. Growth of nisin-producing lactococci in cooked rice supplemented with soybean extract and its application to inhibition of *Bacillus subtilis* rice miso. *Biosci Biotechnol Biochem* **65**: 330–337 (2001).
- 56) 恩田匠, 柳田藤寿, 辻辻政雄, 原川守, 篠原隆, 横塚弘毅. 味噌由来バクテリオニン産生乳酸菌の製麴への利用. 日本醸造協会誌 **101**: 173–177 (2006).
- 57) Woraprayote W, Malila Y, Sorapukdee S, Swetwiwathana A, Benjakul S, Visessanguan W. Bacteriocins from lactic acid bacteria and their applications in meat and meat products. *Meat Sci* **120**: 118–132 (2016).
- 58) Cao-Hoang L, Chaine A, Grégoire L, Waché Y. Potential of nisin-incorporated sodium caseinate films to control *Listeria* in artificially contaminated cheese. *Food Microbiol* **27**: 940–944 (2010).
- 59) Woraprayote W, Pumpuang L, Tosukhowong A, Zendo T, Sonomoto K, Benjakul S, Visessanguan W. Antimicrobial biodegradable food packaging impregnated with bacteriocin 7293 for control of pathogenic bacteria in pangasius fish fillets. *LWT-Food Sci Technol* **89**: 427–433 (2018).
- 60) Concha-Meyer A, Schöbitz R, Brito C, Fuentes R. Lactic acid bacteria in an alginate film inhibit *Listeria monocytogenes* growth on smoked salmon. *Food Control* **22**: 485–489 (2011).
- 61) Micaela DE, Maurizio T, Carla S, Patrizia M, Simona de N, Moreno B, Ramona I. Effectiveness of polymeric coated films containing bacteriocin-producer living bacteria for *Listeria monocytogenes* control under simulated cold chain break. *Food Microbiol* **76**: 173–179 (2018).
- 62) Pinilla CMB, Brandelli A. Antimicrobial activity of nanoliposomes co-encapsulating nisin and garlic extract against Gram-positive and Gram-negative bacteria in milk. *Innov Food Sci Emerg Technol* **36**: 287–293 (2016).
- 63) Malheiros P, Sant’Anna V, Barbosa M, Brandelli A, Franco BD. Effect of liposome-encapsulated nisin and bacteriocin-like substance P34 on *Listeria monocytogenes* growth in Minas frescal cheese. *Int J Food Microbiol* **156**: 272–277 (2012).
- 64) Le NTT, Bach LG, Nguyen DC, Le THX, Pham KH, Nguyen DH, Hoang Thi TT. Evaluation of factors affecting antimicrobial activity of bacteriocin from *Lactobacillus plan-*

- tarum* microencapsulated in alginate-gelatin capsules and its application on pork meat as a bio-preservative. *Int J Environ Res Public Health* **16**: 1017 (2019).
- 65) 石橋直樹, 善藤威史, 園元謙二. 乳酸菌バクテリオシン—戦略的な探索・発見・活用とゼロエミッションPJまで—. 日本乳酸菌学会誌 **22**: 38-48 (2011).
- 66) 北崎宏平, 馬場武志, 古賀康弘, 桑の剛一, 福田浩章, 河田恵美, 高巢祐介, 竹花稔彦, 古賀祥子, 永利浩平, 島田信也, 農新介, 林龍鶴, 前田幸子, 川崎貞道, 善藤威史, 中山二郎, 園元謙二. ナイシン A を利用した酪農分野における牛感染症防除. *FFI ジャーナル* **215**: 449-456 (2010).
- 67) Amel BL, Bruno H, Marcelo G, Daniel G. Antimicrobial potential of bacteriocins in poultry and swine production. *Vet Res* **48**: 1-12 (2017).
- 68) Negash AW, Tsehai BA. Current applications of bacteriocin. *Int J Microbiol* **2020**: 4374891 (2020).
- 69) Hu J, Ma L, Nie Y, Chen J, Zheng W, Wang X, Xie C, Zheng Z, Wang Z, Yang T, Shi M, Chen L, Hou Q, Niu Y, Xu X, Zhu Y, Zhang Y, Wei H, Yan X. A microbiota-derived bacteriocin targets the host to confer diarrhea resistance in early-weaned piglets. *Cell Host Microbe* **24**: 817-832. e8 (2018).
- 70) Józefiak D, Kierończyk B, Juśkiewicz J, Zduńczyk Z, Rawski M, Długosz J, Sip A, Højberg O. Dietary nisin modulates the gastrointestinal microbial ecology and enhances growth performance of the broiler chickens. *PLoS One* **8**: 1-11 (2013).
- 71) Byrd AL, Belkaid Y, Segre JA. The human skin microbiome. *Nat Rev Microbiol* **16**: 143-155 (2018).
- 72) O'Sullivan JN, O'Connor PM, Rea MC, O'Sullivan O, Walsh CJ, Healy B, Mathur H, Field D, Hill C, Paul Ross R, Nisin J, a novel natural nisin variant, is produced by *Staphylococcus capitis* sourced from the human skin microbiota. *J Bacteriol* **202**: e00639-19 (2020).
- 73) 出来尾格. 化粧水やめたら美肌菌が増えた!. 河出書房新社 (2018).
- 74) Heilbronner S, Krismer B, Brötz-Oesterhelt H, Peschel A. The microbiome-shaping roles of bacteriocins. *Nat Rev Microbiol* **19**: 726-739 (2021).
- 75) 竹内愛子, 小山遼, 善藤威史. 乳酸菌およびその類縁菌が生産するバクテリオシン. バイオインダストリー **39**: 48-56 (2022).
- 76) Yaghoubi A, Khazaei M, Jalili S, Hasanian SM, Avan A, Soleimanpour S, Cho WC. Bacteria as a double-action sword in cancer. *Biochim Biophys Acta - Rev Cancer* **1874**: 188388 (2020).
- 77) Kaur B, Balgir PP, Mittu B, Kumar B, Garg N. Biomedical applications of fermenticin HV6b isolated from *Lactobacillus fermentum* HV6b MTCC10770. *Biomed Res Int* **2013**: 168438 (2013).
- 78) Kamarajan P, Hayami T, Matte B, Liu Y, Danciu T, Ramamoorthy A, Worden F, Kapila S, Kapila Y. Nisin ZP, a bacteriocin and food preservative, inhibits head and neck cancer tumorigenesis and prolongs survival. *PLoS One* **10**: 1-20 (2015).
- 79) 角田愛美, 永利浩平, 善藤威史. 飲み込んでも安全な乳酸菌抗菌ペプチドの効果と臨床応用. フレグランスジャーナル **44**: 24-30 (2016).
- 80) 永利浩平, 園元謙二, 善藤威史, 手島大輔. 乳酸菌由来抗菌ペプチドを利用した天然抗菌剤の技術開発. 化学と生物 **58**: 34-39 (2020).

- 81) 善藤威史, 増永莉奈. 乳酸菌が生産するバクテリオシン-安全・安心な抗菌物質としての可能性. *食と医療* **11**: 14-20 (2019).
- 82) Zendo T. Screening and characterization of novel bacteriocins from lactic acid bacteria. *Biosci Biotechnol Biochem* **77**: 893-899 (2013).
- 83) 池田史織, 善藤威史, 園元謙二. 酵母菌・麹菌・乳酸菌の産業応用展開 第三編 乳酸菌 第3章 乳酸菌由来抗菌性ペプチド, バクテリオシンの機能と応用. シーエムシー出版 208-215 (2018).
- 84) Zendo T, Yoneyama F, Sonomoto K. Lactococcal membrane-permeabilizing antimicrobial peptides. *Appl Microbiol Biotechnol* **88**: 1-9 (2010).
- 85) Maky MA, Ishibashi N, Nakayama J, Zendo T. Characterization of the biosynthetic gene cluster of enterocin F4-9, a glycosylated bacteriocin. *Microorganisms* **9**: 1-12 (2021).