

3S5p03

乳酸菌とビフィズス菌のゲノム解析

○森田 英利  
(麻布大・獣医)

「乳酸菌 (*Lactobacillales*)」とは、乳酸発酵する非病原性のグラム陽性細菌群の総称であり、「ビフィズス菌」とはグラム陽性の偏性嫌気性桿菌の一種 *Bifidobacterium* 属細菌の総称である。乳酸菌とビフィズス菌は系統学的に離れているが、両者とも健常な哺乳動物の消化管内の優勢菌種であり、多くのプロバイオティクス効果を示すという共通点をもつ。2009年5月までに900種を超える細菌のゲノム配列が公表されているが、乳酸菌は20菌種27株、ビフィズス菌では3菌種7株の全ゲノム配列が公開されている。2001年に初めて乳酸菌の一種 *Lactococcus lactis* の全ゲノム配列が公表され、その後は *Lactobacillus* 属を中心に乳酸菌のゲノム解析が報告された。その他の乳酸菌として、*Lactococcus*、*Streptococcus*、*Oenococcus*、*Pediococcus*、*Leuconostoc*、*Enterococcus* 属の全ゲノム配列が公開されている。*Bifidobacterium* 属では3菌種（その内の1菌種は2亜種）の全ゲノム配列がなされた。演者の分離した新菌種候補の *Bifidobacterium* sp. を含む *Bifidobacterium* 属とその近縁の11菌種の全ゲノム解析を終了し（未発表）、それらの情報から細菌の分類学に貢献する知見も得られつつある。乳酸菌・ビフィズス菌の研究もゲノム生物学の時代へと突入しており、乳酸菌・ビフィズス菌のゲノム情報は新たなパラダイムシフトを推進する上で不可欠な基盤と考えられる。多くの乳酸菌とビフィズス菌のゲノム情報が蓄積されるに伴い、近縁菌種・菌株との比較ゲノム解析が可能となってきた。最近、Nature Reviews (*Ventura et al.*) に “probiogenomics” という単語が論文タイトルに用いられ、プロバイオティクスとゲノム情報との関連についてコメントがだされた。菌種菌株間の類縁性や遺伝子の種類・構成の差異、ゲノム構造の進化など新たな視点から乳酸菌やビフィズス菌の特性が論じられている。乳酸菌とビフィズス菌は食品微生物の代表であり、安全性の高い細菌 Generally Recognized As Safe (GRAS) として利用されている。生菌として摂取する菌株において、ゲノム情報から安全性を考察する試みがあるが、GRAS と種々の培養条件による遺伝子発現を重視して結論付ける必要があると思われる。また、個別細菌のゲノム解析は、近年注目されているメタゲノム解析において、遺伝子情報を提供する立場にあり、乳酸菌とビフィズス菌の個別菌ゲノム解析が、ヒト腸内フローラのメタゲノム解析に貢献することと菌株レベルでのシーケンスの重要性について考察する。

Genomics of *Lactobacillales* and *Bifidobacterium*

○Hidetoshi Morita  
(Sch. Vet. Med., Azabu Univ.)

**Key words** Genomics, *Lactobacillales*, *Bifidobacterium*, Generally Recognized As Safe (GRAS)

3S5p04

酢酸菌の適応進化とその特性を利用した高温酢酸発酵系の開発

○松下一信<sup>1</sup>, 薬師 寿治<sup>1</sup>, 東 慶直<sup>2</sup>  
(<sup>1</sup>山口大・農・生物機能, <sup>2</sup>山口大・医・ゲノム)

酢酸菌はバクテリア系統樹の中核をなすアルファプロテオバクテリアに属しており、この一群には植物に寄生および共生関係にある細菌が多い。中でも白亜紀中期以降に生まれた被子植物の花や果実に生息する酢酸菌は進化的にも興味深い。酢酸菌はこの環境中に存在する高濃度の糖や糖アルコール、それらが酸敗した果実酒などに好んで生息し、酵母や乳酸菌などの微生物と共存・競合して生育している。酢酸菌はその環境に適応する中で特徴的な「酸化発酵」能を獲得し、豊かな発酵生産物を人類に提供している。ここでは、酢酸菌の適応進化について、最新のゲノム・データも加えながら考察するとともに、その適応能を利用した高温酢酸発酵系の開発についても触れる。

■酢酸菌適応進化の特徴

競合的環境の中で酢酸菌はいくつかの生理学的特性を獲得したと考えられる。

- 1) 酸化発酵能：酢酸菌は培地に含まれる高濃度の糖やアルコールを高速で酸化し、他の微生物が利用しにくい糖酸に変換・蓄積する。この酸化反応を可能にするため、その細胞質膜に特徴的なキノプロテインとキノール・オキシダーゼからなる好気呼吸鎖を有している。
- 2) 菌膜生成能：酢酸菌は静置培養の培地表面にセルロースもしくはヘテロ多糖から成る「菌膜」を生成して生育する。この菌膜多糖の生成は、酸化発酵を可能にするだけでなく、競合微生物に対して有利に働くと考えられる。
- 3) 酢酸耐性能：酸化発酵による不完全酸化反応は多量の酸化生成物を培地中に蓄積し、pHの低下と競合微生物の生育阻害を引き起こす。そのため、酢酸菌は酢酸などの酸化生成物に対する耐性機構を有している。
- 4) 遺伝的不安定性と適応的変異能：酢酸菌は遺伝的に不安定で、菌膜生成能などの機能を速やかに失う。これは酢酸菌の高い適応進化能と密接に関係していると考えられる。

■酢酸菌ゲノムに見られる特徴

ゲノム解析を通じて、酢酸菌の機能と進化に関連したいくつかの特徴が明らかとなった。

- 1) 多種多様な細胞膜結合型キノプロテインやフラボプロテインがみつきり、末端オキシダーゼにも種間で異なる多様なキノール・オキシダーゼが存在する。これら呼吸鎖成分が酢酸菌種間で異なる特有の酸化発酵を可能にしていると思われる。
- 2) 遺伝的不安定性に関連して、ゲノムの6-9%もの高頻度におよぶトランスポゾンおよび変異性の高い繰り返し配列をもつ4-5種のマイクロサテライトが存在する。これらと6-7種におよぶプラスミッドの存在がゲノムの易変異性の要因と考えられる。
- 3) 分離後20年間に渡り継代培養が行われてきた伝統的酢酸醸造菌のゲノム解析は、3塩基置換・5トランスポゾン挿入を含む8つの変異株の存在を明らかにした。これらの変異株は菌膜生成能欠損株3株を含んでいて、酢酸菌ゲノムの易変異性を体現していると思われる。

■高温酢酸発酵系の開発

酢酸菌の適応的易変異性を利用して、ゲノム解析株および耐熱性酢酸発酵株の高温適応育種が行った。前者では、42℃まで生育可能温度の上昇した適応株が得られ、ゲノム中に4塩基置換および9万塩基の脱落が認められた。一方、後者では、40℃での発酵が可能な高温酢酸発酵株が得られ、エタノール酸化を保障する呼吸能の増加と酸化ストレスの低減などの機能変化が明らかになった。このような高温適応株や高温発酵株の取得とその解析は、「耐熱性」分子機構の解明や実用的な高温発酵系の開発に繋げることができると考えている。

(本研究の一部は生研センター基礎研究推進事業の一環として行われた。)

Adaptive evolution of acetic acid bacteria and development of high temperature acetic acid fermentation based on their feature

○Kazunobu Matsushita<sup>1</sup>, Toshiharu Yakushi<sup>1</sup>, Yoshinao Azuma<sup>2</sup>  
(<sup>1</sup>Dept. Biol. Chem., Fac. Agri., Yamaguchi Univ., <sup>2</sup>Dept. Genomics, Med. School, Yamaguchi Univ.)

**Key words** Acetic acid bacteria, Oxidative fermentation