

論文要旨

天然物由来カチオン性抗菌物質に関する食品保存学的研究

畑 朋美

自然界に存在している多種多様なカチオン性抗菌物質のうち、本研究では2種類のカチオン性抗菌タンパク質「乳酸菌の産生するバクテリオシン」および「プロタミン及び ϵ -ポリリジン」について、その実効性を明らかにした。

乳酸菌の産生するバクテリオシンに関しては、2株のバクテリオシン産生乳酸菌を分離し、各々の産生するバクテリオシンの構造解析と諸性質の検証を行った。*Lactobacillus plantarum* A-1の産生するバクテリオシンは、N末端に21アミノ酸残基のダブルグリシントイプのリーダーペプチドを有し、同属菌株に対してのみ特異的に抗菌効果を示す典型的な非ランチビオティック型のバクテリオシンだった。本バクテリオシン自体は新規物質であり、plantaricin ASM1と命名した (accession No. AB474371)。

2つ目に分離した *Enterococcus faecalis* N1-33株の産生するバクテリオシンは、構造解析の結果既存バクテリオシン Enterocin MR10A と一致した。しかし、Enterocin MR10A 構造遺伝子の周辺領域の DNA シーケンス解析を行ったところ、本株における Enterocin MR10A 構造遺伝子とすぐ下流に位置する Enterocin MR10B の構造遺伝子は挿入配列 (Insertion sequence ; IS) 構造をとっている可能性が示された。Enterocin MR10A は熱安定性が高く、また食中毒菌を含む広い抗菌スペクトルを有したため、その抗菌効果の実効性を実際の食品系において調べるべく、食品モデル系を構築し試験を行った。

Enterocin MR10A はカスタードクリームモデルにおいて有意にセレウス菌の生育を抑制し、またきゅうり漬物のモデルにおいて有意にリステリア菌の生育を抑制した。Enterocin MR10A は実際の食品系において、食中毒菌を含む幅広い菌に対して実効的な抗菌効果が期待できることが示唆された。加

えて、Enterocin MR10A 構造遺伝子がプラスミド由来かどうかを確認するため、*E. faecalis* N1-33 株に対してプラスミドキュアリング処理を行ったところ、Enterocin MR10A の産生量が野生株より増加した変異株 (N41-51) が得られた。野生株と N41-51 株を同条件で培養したところ、菌体量及び増殖速度は同程度であるにも関わらず、N41-51 株の培養液中バクテリオシン活性は N1-33 株のその約 2 倍値を示した。続けて、Real-time PCR 法により両株の Enterocin MR10A 構造遺伝子発現量を比較したところ、N41-51 株の単位 16s rDNA 発現量における Enterocin MR10A の構造遺伝子発現量は、野生株のその約 2 倍値を示した。以上のことから、野生株中における Enterocin MR10A 構造遺伝子はプラスミド由来であること、そして N41-51 株はプラスミドキュアリング処理により Enterocin MR10A 構造遺伝子をコードするプラスミドのコピー数が野生株の 2 倍に上昇した株である可能性が示唆された。

次に、抗菌性ターゲットを細菌類からカビ (真菌類) に移し、天然カチオン性抗菌物質の抗菌性をスクリーニングしたところ、「プロタミン (しらこたん白)」及び「 ϵ -ポリリジン」が、高糖濃度条件下において、実効性の高い抗カビ効果を有することが示された。両素材はわが国で既存添加物 (保存料) に指定されており、長年にわたりその抗菌効果が利用されてきたが、その対象は細菌類がメインであり、一般的に抗カビ効果はほとんど望めないと思われてきた。一方で、普段私どもが目にする食品群でカビが問題となる食品は、餅やパン、餅菓子や饅頭 (和菓子) など、糖を多く含有し水分活性が比較的lowめに設計されている食品である。そこで、これら糖を多く含んだ食品をターゲットと想定し、高糖濃度条件下におけるプロタミンと ϵ -ポリリジンの抗カビ効果を調べたところ、意外にも十分実用に応えられるほどの添加量で抗カビ効果が示されることを見出した。この理由として、糖の存在により食品中の自由水が少なくなること (水分活性の低下) に加え、糖自体がプロタミン及び ϵ -ポリリジンの高次構造の安定化に寄与していると考えられた。

食のグローバル化、低コストに加え、食生活が豊かになったことを背景に、自然界に存在し食習慣があるなど安全性が実証済みの“天然素材”を用いた食の保存性向上が所望されている。そのようなニ

ーズを受け、本研究では自然界に存在する天然素材のカチオン性抗菌タンパク質「乳酸菌の産生するバクテリオシン」および「プロタミン及び ϵ -ポリリジン」に焦点を当てて、バクテリオシンについては構造を明らかにするとともに、これらの食品保存学的実効性について検証した。いずれの素材も、現在のニーズに則した実効性の高さを示すことができた。