

Biochemical Properties and Application of Bacteriocins Derived from Genus *Bacillus*

Ji-Young Lee² and Dae-Ook Kang^{1*}

¹Department of Bio Health Science, Changwon National University, Changwon 51140, Korea

²Interdisciplinary Program in Biotechnology, Graduate School, Changwon National University, Changwon 51140, Korea

Received January 11, 2023 / Revised January 25, 2023 / Accepted January 26, 2023

Bacteriocins are antimicrobial peptides synthesized on ribosomes, produced by bacteria, that inhibit the growth of similar or closely related bacterial strains. Since the discovery of nisin, many bacteriocins with unique structures and various modes of antibacterial activity have been described, and genes encoding production, secretion, and immunity have been reported. Nisin is one of the bacteriocins applied in cheese, liquid eggs, sauces and canned foods. Many of the bacteriocins of the genus *Bacillus* belong to lantibiotics, which are modified peptides after translation. Other genus *Bacillus* also produce many non-lantibiotic bacteriocins. Bacteriocins of the genus *Bacillus* are sometimes becoming more important because of their broader antibacterial spectrum. Bacteriocins are considered attractive compounds in the food and pharmaceutical industries to prevent food spoilage and growth of pathogenic bacteria. Bacteriocins can be used as biological preservatives in a variety of ways in the food system. Biopreservation refers to extending shelf life and improving safety of foods using microorganisms and/or their metabolites. The demand for new antimicrobial compounds has generated great interest in new technologies that can improve food microbiological safety. Applications of bacteriocins are expanding from food to human health. Today, many researchers are shifting their interest in bacteriocins from food preservation to the treatment of bacteria that cause infections and antibiotic-resistant diseases. This exciting new era in bacteriocin research will undoubtedly lead to new inventions and new applications. In this review, we summarize the various properties and applications of bacteriocins produced by the genus *Bacillus*.

Key words : *Bacillus*, bacteriocin, classification, lantibiotics, *Listeria*

서 론

박테리오신(bacteriocin)은 여러 미생물이 생산하는 천연의 항균성 단백질 또는 단백질계의 물질로서 생산 균주와 유사한 균종에 대해 항균작용을 나타낸다. 대장균에서 colicin이라는 박테리오신이 발견된 이후로 다양한 종류의 박테리오신이 보고되었다. 박테리오신은 펩타이드로 구성되어 있기 때문에 인체에 섭취되면 소화기관의 단백질을 가수분해 효소에 의해 분해됨으로써, 인체에 무독하고 잔류성이 없다는 점에서 식품 등에서의 천연 보존제로서의 효용성이 증대되고 있다[2].

이들 박테리오신 생산균은 토양과 진흙, 바위, 수생 환

경, 식물, 음식, 곤충과 동물의 위 장막과 같은 다양한 환경에서 발견된다[43, 50]. 미생물의 2차 대사산물인 항생물질과 달리 박테리오신은 인체에 축적되지 않기 때문에 생물보존제나 생물조절제로 이용할 수 있다[3]. *Bacillus* 속은 그람 음성 및 그람 양성 세균은 물론 효모와 곰팡이까지 폭넓은 항균활성을 갖는 항 미생물 펩타이드(박테리오신과 bacteriocin-like inhibitory substance (BLIS))를 생산한다. 특히 *Bacillus* 속에서 생산되는 박테리오신은 유산균 박테리오신보다 병원균이나 식품부패균에 대하여 항균 스펙트럼이 넓고 열과 pH, 유기용매에서 안정하기 때문에 이에 대한 관심이 증가되고 있는 추세이다[2, 10, 56]. *Bacillus* 속인 *B. subtilis* [5, 11, 26, 29, 38, 49, 59, 60, 64, 66], *B. licheniformis* [16, 23, 27, 32, 50], *B. thuringiensis* [2, 12-14, 20, 24, 25], *B. pumilus* [3], *B. coagulans* [34], *B. megaterium* [9, 18, 58, 63], *B. amyloliquefaciens* [39, 53, 65] 및 *B. cereus* [44, 46, 47, 54] 등에서 생산되는 다양한 박테리오신이 보고되었다. 우리나라는 김치, 장류 및 젓갈류 등 전통적인 발효식품의 섭취정도가 전세계 어느 나라보다 높을 뿐만 아니라 이들 식품이 국민의 건강을

*Corresponding author

Tel : +82-55-213-3554, Fax : +82-55-213-3550

E-mail : dokang@changwon.ac.kr

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

좌우하는 주요 기초식품을 이루고 있다. 특히, 김치 유래 유산균에 의해서 생산되는 많은 박테리옌들이 보고되었으며 최근에는 고초균에 의한 발효과정 동안 생산되는 maejucin이라는 박테리옌이 보고되었다[38].

일반적인 박테리옌과 항생제의 차이점은 항생제가 2차대사 산물인데 반하여 박테리옌은 자신의 유전자로부터 직접 생합성되는 것이다. 따라서 박테리옌은 유전자 분석 및 조작을 통하여 분자적 수준에서의 생산량을 최대화하는데 용이하며 분자적 변이를 통하여 특성이 더욱 우수한 박테리옌을 개량할 수 있다[35]. 또한 항생제는 체내 축적이나 항생제 내성균의 출현과 같은 부작용이 있으나 박테리옌은 단백질로 이루어져 있어 인체에서 쉽게 분해되어 인체에 무취, 무독, 잔류성이 없기 때문에 새로운 생물학적 보존제 또는 발효식품의 생물제어제로 그 효용이 기대되고 있다[3]. 본 논문에서는 지금까지 광범위하게 연구된 유산균이 생산하는 박테리옌보다 상대적으로 덜 알려져 있지만 잠재적인 항균물질로 유망한 *Bacillus* 속 세균이 생산하는 박테리옌의 여러 특성과 응용성을 소개하고자 한다.

본 론

박테리옌의 항균기작

박테리옌은 여러 종류의 미생물이 생산하는 천연의 항균성 펩타이드로서 세균을 죽이거나 생육을 억제 또는 저해하는 물질이다. 일반적인 박테리옌의 항균기작은 세포표면의 특이적인 수용체에 흡착한 후 세포막을 침투하여 세포의 DNA나 리보솜을 파괴하거나 세포막을 관통하는 나선구조를 형성하여 세포막의 수송단백질과 결합함으로써 단백질 분자의 기질 특이성을 없애거나 세포 내에 있는 주요 성분을 유출시킴으로써 세포의 에너지 대사와 생리적 기능을 수행할 수 없는 상태를 유도하는 것으로 알려져 있다[35]. 또한 음이온 운반자 역할, 효소역가 변경, 포자성장억제 그리고 선택적 혹은 비 선택적 작은 구멍형성 등과 같은 다양한 방법으로 항균활성을 나타낸다(Fig. 2).

Class I 박테리옌은 작용기작에 따라 type A, B로 나누어 진다. Type A는 세포막을 탈분극하여 표적세포를 사멸시키는 항균기작을 나타내며 lantibiotics는 막 전위차에 의존성이며 일반적으로 특정 단백질 수용체가 필요하지 않은 것으로 알려져 있다. 최근 연구결과 nisin의 활성은 감수성 세포막의 lipid II 농도에 따라 영향을 받는 것으로 보고되었다[6].

Type A lantibiotics에 속하는 nisin과 subtilin은 비 선택적인 막 투과공을 신속하게 형성함으로써 proton motive force (PMF)를 파괴하여 아미노산 수송을 저해하고 세포질 내 저 분자량 물질, 아미노산, 이온, ATP 등의 세포

내의 물질유출을 야기하며 용균을 일으킨다[5, 11, 17, 28].

Type B는 세포 내에 침투하여 효소저해 작용을 통해 표적세포의 세포벽 합성을 저해하는 것으로 type A와 같이 세포막에 구멍(pore)을 생성하는 것 대신에 미생물의 중요한 효소활성을 방해함으로써 미생물의 성장을 정지시키거나 사멸을 유발한다. 이들은 ATP 의존성 칼슘흡수와 단백질의 이동이 줄어드는 대신에 막의 투과성이 증가한다고 보고되었다. Class I에 속하면서 type A와 type B에 속하지 않는 mersacidin은 용균작용을 통해서 항균활성을 나타내며 peptidoglycan 생합성을 저해하는 것이 mersacidin의 기본적인 작용기작이며 이에 actogardine도 포함된다[7].

박테리옌의 분류 및 작용

Bacillus 속 유래 박테리옌 분류는 최근에 Abriouol 등[1]에 의해 제안된 3가지 Class로 나눌 수 있다(Table 1, 2). 첫째, Class I은 다른 종류의 번역 후 변형(post-translationally modifications)이 일어난다(Fig. 1). 이 class는 4개의 subclass로 나누어지는데 subclass I.1- I.3은 전형적인 lantibiotics의 수식과정을 나타내는 펩타이드(lanthionine과 β -methyl lanthionine 잔기의 형성)를 포함하는 반면 subclass I.4는 다른 독특한 수식과정을 포함한다. Subclass I.1은 subtilin, ericin S와 ericin A와 같은 긴 구조를 가진 type A lantibiotics를 포함하며 세포막을 탈분극화하여 표적세포를 죽이는 항균작용 기작을 나타내고 막 전위차에 의존적이며 일반적으로 특정 단백질 수용체가 필요하지 않은 것으로 알려져 있다[59, 60]. Subclass I.2는 type B lantibiotics인 mersacidin, sublancin 168과 paenibacillin과 같은 다른 lantibiotics를 포함하며 type B는 세포 내에 침투하여 효소활성을 저해하여 표적세포의 세포벽 합성을 저해한다[28,49]. Subclass I.3은 *B. halodurans* C-125이 생산하는 haloduracin과 *B. licheniformis*가 생산하는 lichenicidin과 같은 2개로 구성된 lantibiotics를 포함한다[27, 41]. Mersacidin을 *S. aureus* 세포에 처리하면 증식이 멈추고 서서히 용균이 일어난다. 즉, mersacidin은 peptidoglycan 생합성을 저해한다[7].

Subclass I.4는 head-to-tail 펩타이드 연결뿐만 아니라 cysteine 잔기와 탈수된 아미노산 잔기 사이에 특정 이황화 결합을 포함하는 고리형 펩타이드인 subtilosin A를 포함한다[30, 60]. Subtilosin A는 고초균인 *B. subtilis*가 생산하는 항균성 펩타이드로서 *Listeria* 균에 강한 저해활성을 보이며 좁은 범위에서 항균력을 보이는 펩타이드이다. 이러한 subtilosin은 독특한 번역 후 변형방식으로 수정되는 것이 발견되었다. 35개 아미노산으로 구성된 subtilosin은 시스테인의 황과 2개의 페닐알라닌 및 트레오닌의 α -탄소 사이에 3개의 교차연결과 환상구조를 형성하고 있다는 것이 밝혀졌다. 번역 후 변형으로 subtilosin 음 이온성

Table 1. Proposed classification of bacteriocin produced by *Bacillus* species

Bacteriocin		Producer		Size(Da)	References
Class I					
Class I : Post-translationally modified peptides	Subclass-I.1: single peptide, elongated tibiotics	Subtilin	<i>Bacillus subtilis</i> group, <i>B.subtilis</i>	3319.56	11
		Ericin S	<i>B. subtilis</i> A1/3	3442	59
		Ericin A	<i>B. subtilis</i> A1/3	2986	59
	Subclass-I.2: Other single-peptide lantibiotics	Sublancin 168	<i>B. subtilis</i> 168	3877.78	49
		Mersacidin	<i>B. subtilis</i> HILY-85.54728	1824	7
		Paenibacillin	<i>Paenibacillus polymyxa</i> OSY-DF	2983.5	28
	Subclass-I.3: Two componet lantibiotics	Haloduracin	<i>B. halodurans</i> C-125	3046 and 2332	41
		Lichenicidin	<i>B. licheniformis</i>	3253.92 and 3021.69	27
	Subclass-I.4: other post-translationally modified peptides	Subtilosin A	<i>B. subtilis</i> ATCC 6633 and <i>B. subtilis</i>	3399.7	30
		Amylocyclicin	<i>B. amyloliquefaciens</i> FZB42	6400	53
Class II : Non modified peptides	Subclass-II.1: Pediocin-like peptides	Coagulin	<i>B. coagullins</i> I4	4624	34
		SRCAM 37	<i>Panibacillus polymyxa</i> NB-30507	3000.5	61
		SRCAM 602	<i>Panibacillus polymyxa</i> NB-30509	3864	61
		SRCAM 1580	<i>B. circulans</i> NRRL B-30644	3000.5	61
	Subclass-II.2: Thuricin-like peptides	Thurincin H	<i>B. thuringiensis</i> SF361	3139.51	62
		Thurincin S	<i>B. thuringiensis</i> HD198	3137.61	12
		Thurincin 17	<i>B. thuringiensis</i> NED17	3061	24
		Bacthuricin F4	<i>B. thuringiensis</i> ssp. <i>kurstaki</i> BUMP4	3160.05	31
	Subclass-II.3: Other linear peptides	Cerein MRX1	<i>B. cereus</i> MRX1	3137.93	54
		Cerein 7B	<i>B. cereus</i> Bc7	4893	47
	Lichenin	<i>B. lichemiformis</i> 26L-10/3RA	1400 and 1500	50	
	Thuricin 439	<i>B.thuringiensis</i> B439	2803.8 and 2919.9	2	

Table 2. Amino acid sequences of *Bacillus* bacteriocin

Class	Bacteriocins	Amino acid sequences
Class. I .1	Subtilin	WKSESLCRPG CVT GALQTCF LQTLTCNCKI SK
	Erosin S	WKSESVCRPF CVTGV LQTCF LQTITCNCHI SK
	Erosin A	VLSKSLCTPG CITGPLQTCY LCFPTFAKC
Class. I .2	Paenibacillin	ASIIKTTIKV SKAVCKTLTC ICTGSCSNCK
	Sublancin 168	GLGKAQCAAL WLQCASGGTI GCGGGAVACQ NYRQFCR
Class. I .3	Lichenicidin	PAGNILKELQ EEEQHSIAGG TITLSTCAIL SKPLGNNGYL CTVTKECMPS CN
	Haloduracin	GDVHAQTTWP CATVGVSVVAL CPTTKCTSQC
Class. I .4	Subtilosin A	NKGCATCSIG AACLV DGPPI DFEIAGATGL FGLWG
	Amylocyclicin	LASTLGISTA AAKKAIDIID AASTIASIIS LIGIVTGAGA ISYAI VATAK TMIKKYGKKY AAAW
Class. II .1	Coagulin	KYYGNGVTCG KHSCSV DWGK ATTCHINNGA MAWATGGHQG THKC
	SRCAM1580	VNYGNGVSCS KTKCSVNWGI ITHQAFRVTS GVASG
	SRCAM602	ATYYGNGLYC NKQKHYTWVD WNKASREIGK ITVNGWVQH
	SRCAM37	FVYGNVTSI LVQAQFLVNG QRRFFYTPDK
Class. II .2	Thuricin S	DWTXWSXLVX AACSVELL
	Bacthuricin F4	DWTXWSXL
	Thuricin 17	DWTCWSCLVC AACSVELLNL VTAATGASTA S
	Thurincin H	DWTCWSCLVC AACSVELLXL VXAA XGAXTA S
	Cerein MRX1	DWTCWSCLVC AACSVELL
Class. II .3	Lichenin	ISLEICXIFH DN
	Cerein 7B	GWWNSWGKCV AGTIGGAGTG GLGGAAAGSA VPVIGTGIGG AIGGVSGGLT GAATFC

X denotes unknown amino acids.

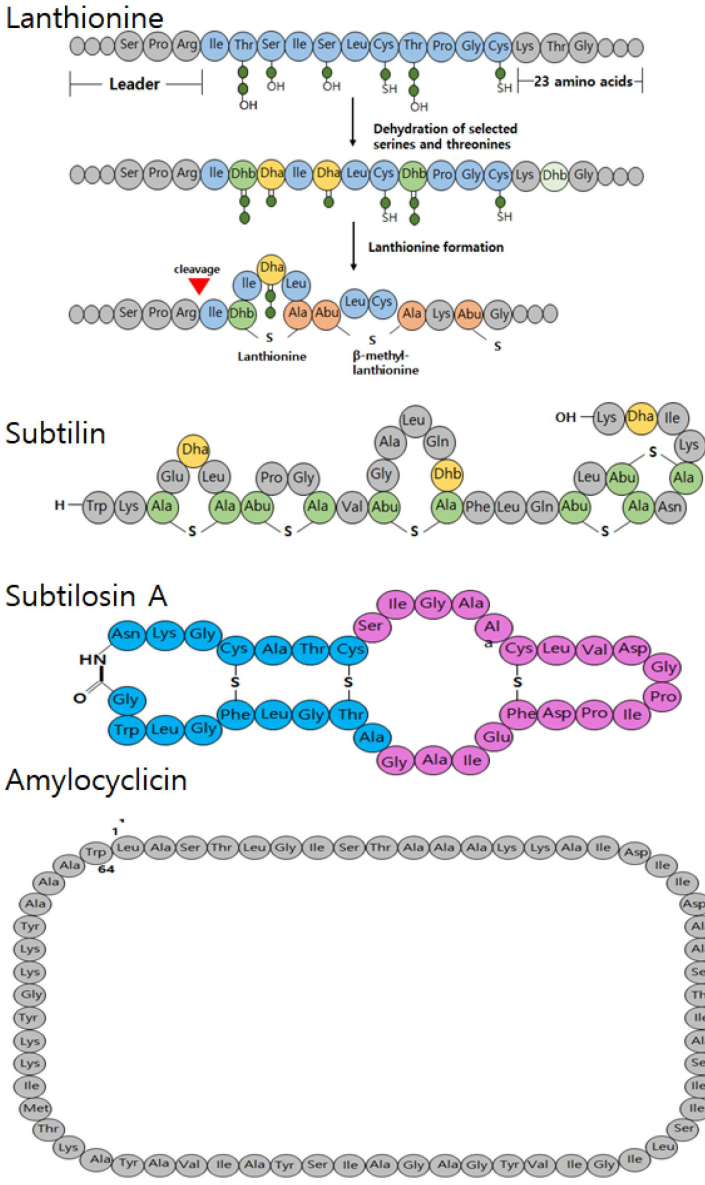


Fig. 1. Structure and amino acid sequences of representative lantibiotics and amylocyclin. Dha (2,3-didehydroalanine) and Dhb (2,3-didehydrobutyryne) are obtained from the dehydration of L-serine and L-threonine, respectively. Then, Dha and Dhb react with L-cysteine to form a Lan thioether resulting in lanthionine (meso-lanthionine) and β-methyl-lanthionine (threo-β-lanthionine), respectively. Amylocyclin is circularized by the formation of peptide bond between Leu¹ and Trp⁶⁴ residue.

펩타이드는 높은 항균활성을 나타내기 위해서 음전하인 미생물 세포표면과 펩타이드 사이에 bridge를 형성하는 아연 이온이 필요한 것으로 알려졌다[57].

Class II 박테리오킨은 크기가 작고 번역 후 수식 과정을 거치지 않은 선형 펩타이드로서 lanthionine을 함유하지 않으며 복잡한 3차 구조를 형성하지 않기 때문에 비교적 열과 pH에 안정한 특성을 나타낸다[23]. Class II는 3개의 subclass로 나뉜다. Subclass II.1은 N-terminus 근처에 보존된 Tyr-Gly-Asn-Gly-Val-Xaa(any amino acids)-Cys motif를 가진 pediocin-like peptides를 포함하며, coagulin, SRCAM 37, SRCAM 602, SRCAM 1580 등이 여기에 속한다[2, 34]. Subclass II.2는 N-terminus 근처에 보존된 DWTXWSXL motif를 가진 thuricin-like peptides를 포함하며, bacthuricin F4, thuricin H, thuricin 17, thuricin S 및 cerein MRX1 등이

포함된다[12, 14, 25, 31, 36, 37, 54]. Subclass II.3는 선형 펩타이드이며, cerein 7A, cerein 7B 및 lichenin 등이 유형에 속한다[46, 47, 49, 50].

Class II 박테리오킨은 두 가지의 항균기작으로 나눌 수 있다. 첫 번째, 박테리오킨이 세포막을 침투하여 DNase나 RNase의 작용을 억제하여 DNA나 ribosome에 영향을 줌으로써 균체 내의 손상을 야기하는 것이다. 두 번째, 박테리오킨이 균체 표면에 있는 수용체에 흡착한 후 세포막을 침투하여 균체 내에서 생화학적 손상을 일으킴으로써 사멸을 유도하는 것이다. 또한 세포안에서 세포막의 생리적 기능인 에너지 대사와 물질대사를 저해하여 세포를 죽이거나 생육을 정지시키는 작용을 한다. 세포막 관련 기능 저해는 Class II 박테리오킨 분자의 구조적 특성에 기인하며 박테리오킨에 의해 transmembrane potential이 교란되어

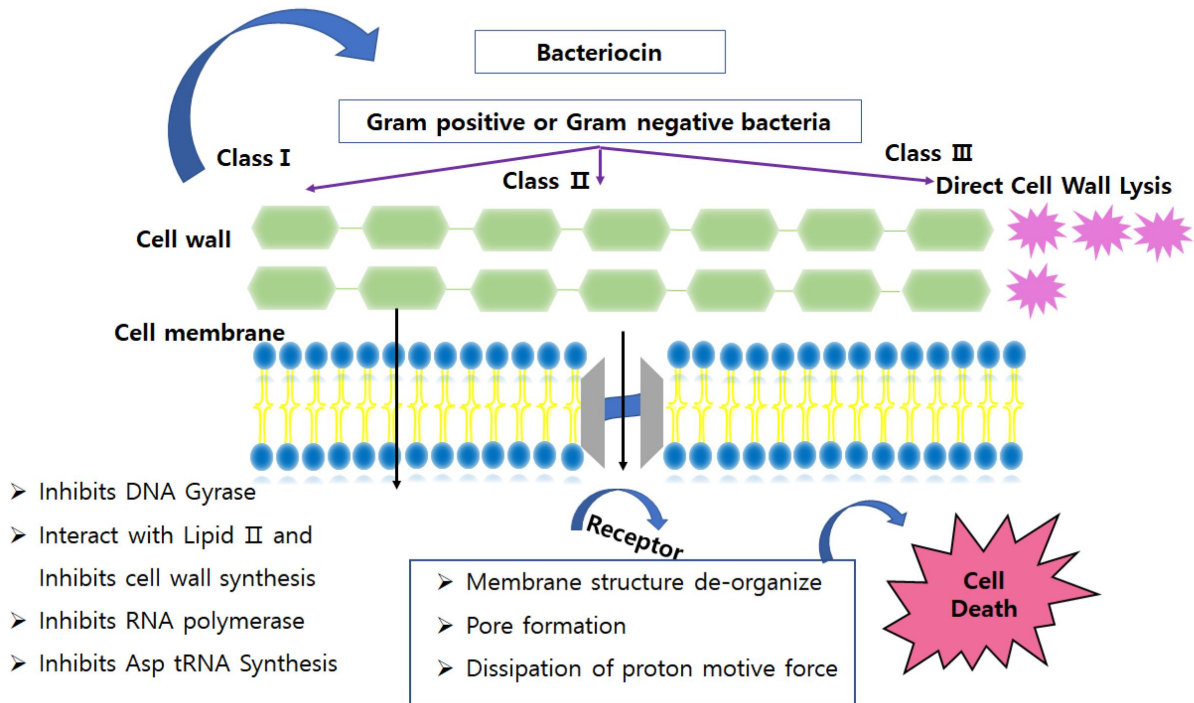


Fig. 2. Schematic overview of action mechanism of class I, II and III bacteriocin. Diverse bacteriocins display antimicrobial activity by disrupting cell integrity or inhibiting the synthesis of proteins or nucleic acids. Class I and II bacteriocins bind to cell walls and facilitate pore formation, causing cell death by dissipating proton motive force. Class III bacteriocins bind to cell walls and induce direct cell death. This figure was reorganized according to the report by Ahmad et al. 2017. Intern. J. Antimicrob. Agent. 49, 1-11.

세포가 비활성화되는 것을 유도한다[12, 61, 65].

Class III 박테리옌은 phospholipase 활성을 가지고 있어 인지질(phospholipid)을 가수분해 시키는 특징이 있으며 30 kDa 이상의 큰 단백질로서 열에 매우 약하다는 공통점을 가지고 있다. 대표적인 박테리옌인 megacin A-216 과 megacin A-19213 등은 열처리 30분 후에 항균활성이 소실되고 좁은 항균 스펙트럼을 나타내는 단점이 있어서 식품 보존제로 사용은 한계가 있다[9, 18, 20, 58, 63].

물리화학적 특성과 항균 스펙트럼

Bacillus 속 유래 박테리옌은 일반적으로 유기용매, 온도, pH 등에 안정하다. 유기용매 내성은 acetone, acetonitrile, isopropanol 및 ethanol 등에서 80%까지 안정성을 보이고 열 안정성은 100°C에서 60분간 가열 시 20-80% 항균활성을 유지하며 pH 내성은 3.0-11.0까지 안정하다. B. megaterium이 생산하는 megacin Cx의 항균 스펙트럼은 주로 그람 양성균이고 항균활성을 나타내는 pH 범위는 3.0-8.0이며 열 안정성이 매우 낮은 것으로 알려져 있다 [9]. B. subtilis 14B가 생산하는 박테리옌, Bac14B는 pH 4.0-9.0 사이에서 안정한 것으로 보고되었다[26]. Brevicin AF1은 pH 3.0-12.0 범위에서 항균활성을 유지하였다[19]. 높은 pH에서 박테리옌이 활성을 상실하는 이유는 pH가

높을수록 deprotonated amines, hydroxide ion, deprotonated hydroxyl 그룹과 같은 nucleophile은 dehydro residue와 반응하여 분자 간 혹은 분자 내에 교차결합을 형성하여 화학적인 변형이 일어나기 때문인 것으로 제안되었다[40]. 일반적으로 박테리옌은 그람 양성균에 대해 더 넓은 항균 스펙트럼을 나타내는 경향이 있으며 brevicin AF01 [19]와 thuricin [21]도 그람 양성균에만 항균활성을 보이며 특히 L. monocytogenes와 B. cereus에 대해 가장 높은 생육저해 효과를 나타내었다. 이는 B. subtilis 168이 생산하는 박테리옌인 subtilosin A의 경우에도 항균활성이 그람 양성균들에 한정되는 항균 스펙트럼을 나타낸다[3]. L. monocytogenes에 높은 항균활성을 나타내는 특성은 class I-4군 특성과 유사하다[30, 60, 66].

박테리옌의 정제 및 재조합 생산

일반적으로 박테리옌 정제는 침전법과 같은 방법으로 배양 상등액의 농축액을 농축한 후 이온 교환 크로마토그래피, 겔여과 크로마토그래피 역상 고압액체크로마토그래피(RP-HPLC) 등을 사용하여 진행된다. 침전법은 황산암모늄 분획법이 가장 널리 사용되며 포화도에 해당되는 황산암모늄 분말을 서서히 첨가하고 완전히 녹인 후 원심분리하여 회수한 침전물을 멸균수나 적당한 완충

액에 녹이고 투석한다. 이온 교환 크로마토그래피는 전하의 차이로 단백질을 분리한다. 시료 단백질의 등전점, 분자량, 흡착성, pH 안정성, 특정물질에 대한 친화성 등을 고려하여 적합한 정제조건을 선택하게 된다. 양이온 교환 수지를 이용할 경우 가능한 낮은 pH 조건에서, 음이온교환 수지를 이용할 경우에는 상대적으로 높은 pH 조건에서 이온 교환 크로마토그래피를 수행하는 것이 바람직하다.

Oscariz 등은 *B. cereus* Bc7의 배양 상등액을 황산암모늄 침전으로 농축한 후 SP-Sepharose (pH 6.8) 양이온 교환 크로마토그래피를 등을 사용하여 순수한 4,893 Da의 cerein 7B 박테리옌을 정제하였다[47]. Kamoun 등에 의해 *B. thuringiensis* 배양 상등액의 황산암모늄 농축과 RP-HPLC의 두 단계를 거쳐 최종적으로 비활성이 100배 높아진 3,160 Da의 bacthuricin F4가 정제되었다[31]. 또한 *B. cereus* MRX1이 분리하는 박테리옌은 배양상등액의 소수성 크로마토그래피, 양이온 교환 크로마토그래피 및 RP-HPLC과정을 통해 고순도로 정제된 3,138 Da의 cerein MRX1을 얻을 수 있었다[55].

또한 생산수율을 높이기 위한 목적으로 재조합 박테리옌으로 발현한 시도가 보고되었다. 따라서 높은 농도의 박테리옌을 회수하기 위해 세포 copy 수 및 증식 속도를 고려하여 그람 음성 세균 중 생장이 빠르고 유전적 특성이 확실하며, cloning vector와 변종 호스트 중의 수를 크게 증가시킬 수 있어, 단백질 발현을 위한 가장 뛰어난 시스템 중 *E. coli*를 사용한다[4]. 많은 박테리옌은 관련 유전자가 plasmid 상에 존재하여 유전자 조작이 쉽기 때문에 박테리옌 유전자를 *E. coli*에서 과 발현하기 위한 목적으로 연구되고 있다[22]. Chopra 등은 *B. sonorensis* MT93가 생산하는 박테리옌 sonorensin을 His tag을 포함하는 Trx와 17.5 kDa 융합단백질을 Ni²⁺ affinity column을 통해 정제하고 연결부위를 절단하여 최종적으로 6.5 kDa sonorensin을 회수하였다[15]. *B. licheniformis* MKU3의 박테리옌(LanA)을 6xHis과 융합된 재조합 박테리옌으로 발현하였으나 봉입체 형성으로 인해 wild type보다 항균활성이 매우 낮았으며 Ni²⁺ affinity column을 이용하여 8.5 kDa 박테리옌을 정제하였다[32]. 또한 *B. subtilis*가 생산하는 subtilosin 중 sbo-alb 부분만 융합하여 대장균에서 발현한 결과 wild type에 비해 매우 낮은 항균활성이 확인되었다[66]. 그 외 작은 분자인 class II 박테리옌에 속하는 mesentericin Y105, gassericin A, pediocin PA-1, divergicin V41, enterocin A 및 enterocin P 등도 대장균에서 재조합 펩타이드로 발현되었다[32].

하지만 원핵생물인 *E. coli*은 외래 단백질의 정확한 단백질의 folding이 일어나지 않고 glycosylation, disulfide isomerization, lipidation 등과 같은 번역 후 변형에 한계가 있다. 단백질 folding에 문제가 생기면 합성되는 재조합 단백질은 봉입체라는 불용성의 단백질 형태로 변성되어 정제

가 어려워진다. 또한 *E. coli* 발현 단백질의 경우 단백질 안정성에 영향을 미치는 아미노 말단의 methionine을 유지하려는 경향이 있으며 이들은 번역원성을 야기한다[51]. *E. coli*에서 정확하게 번역 후 변형이 일어나지 않는 단백질들은 methylotrophic 효모인 *Pichia pastoris*에서 생산될 수 있다. *P. pastoris* 발현 시스템은 다양한 번역 후 변형이 일어나고 아미노 말단에 있는 메티오닌이나 분비 서열부위가 없어도 활성형의 숙성된 단백질을 생산한다. 이러한 특성으로 인해 가용성의 실제 단백질의 형태를 가진 재조합 단백질의 대량 생산이 가능한 *P. pastoris*를 이용한 박테리옌의 과발현의 연구가 보고되었다. *Enterococcus hirae* DCH5에서 생산되는 hiracin JM79 구조유전자를 발현 플라스미드에 재조합하여 *L. lactis*, *L. sakei*, *E. faecium*, *E. faecalis* 및 *P. pastoris* 등에서 각각 발현시켰을 때, *E. faecium*을 제외 숙주세포의 배양 상등액에서 활성형의 hiracin JM79가 검출되었다. 발현된 박테리옌 양은 wild type에 비해 많았으나 항균활성은 낮게 나타났다[52]. Basanta 등은 *E. faecium*의 enterocin L50A와 L50B 두 구조유전자를 효모 alcohol oxidase promoter 및 *Saccharomyces cerevisiae*의 mating pheromone α -factor 인자 분비 신호와 재조합하여 *P. pastoris*에서 발현한 결과 두 활성형의 숙성된 박테리옌이 분리되는 것을 최초로 보고하였다. [6]. 그람 양성 세균의 유전자 재조합이 대량생산 공정에 유용하지만, 박테리옌 유전자 산물의 항균활성 때문에 대장균이나 고초균 등 원핵생물은 생산숙주로서 활용이 불가능하지만 진핵생물인 효모(*S. cerevisiae*나 *P. pastoris*)를 숙주로 사용하면 원핵생물 숙주에서의 항균활성 펩타이드 생산 문제를 해결할 수 있다는 이점이 있다. 그러나 현재 효모를 숙주세포로 이용한 *Bacillus* 속 유래 박테리옌의 재조합 발현은 아직 활성화되지 않은 상태이며 향후 박테리옌의 과 발현계를 이용한 대량 생산 시스템이 확립되면 박테리옌의 연구를 촉진할 것으로 사료된다.

박테리옌의 Identification

SDS-PAGE 방법으로 박테리옌의 분자량을 추정할 수 있는 반면 정확한 분자량을 측정하기 위해서는 질량 분석법을 이용할 수 있다(Fig. 3). ESI-MS 및 ESI-TOF-MS 등 사용할 수 있으며 TOF-MS/MS를 통해 아미노산의 구성과 서열을 분석할 수 있다. 전기영동분석을 통해 *B. subtilis* 168에서 정제한 sublancin 168 박테리옌의 대략적인 분자량은 4 kDa이었으나 molecular mass를 통하여 3877.78 Da로 나타났다. 또한 아미노산 서열분석 결과 이 박테리옌은 이전에 보고되지 않은 새로운 항균 펩타이드이며 분자 내 이화결합을 형성하고 있는 것이 확인되었다[48]. 정제된 *B. subtilis* SN7의 박테리옌은 LC/MS로 분석한 결과 분자량이 3,400 Da이었으며 아미노산 서열분석 결

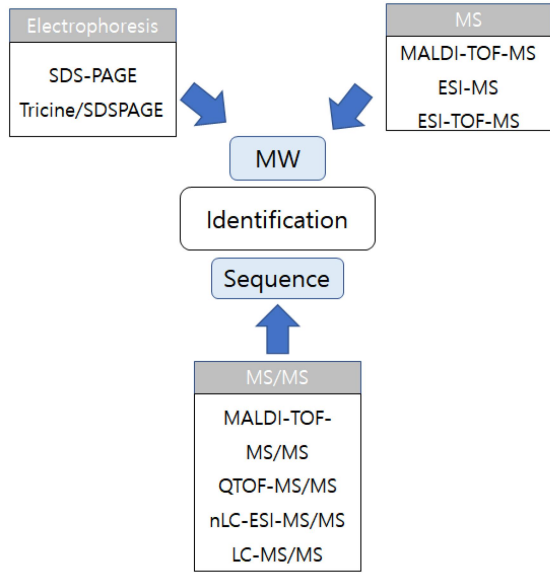


Fig. 3. Schematic diagram for the identification of bacteriocins. The approximate molecular weight is estimated by SDS-PAGE and gel overlay. The precise molecular size and amino acid composition are determined by mass spectrometry. This diagram was newly made by referring to the report by Perez et al. 2014. *Microb. Cell Factories*. 13 (Suppl. 1), S3.

과 이전에 보고되지 않은 새로운 박테리오신임을 확인되었다[38]. Stein 등은 MALDI-TOF를 통해 ericin A와 ericin S의 정확한 분자량은 각각 2,986.7 Da과 3,342.8 Da임을 확인하였다[59].

박테리오신의 mode of action

Bacillus 속이 생산하는 박테리오신의 mode of action은 살균성(bactericidal), 정균성(bacteriostatic)과 용균성(bacteriolytic)으로 구분된다. *B. subtilis* LFB112가 생산하는 박테리오신은 *S. aureus*를 5시간 만에 세포가 없어지게 하는 것으로 보아 살균작용을 나타내었다[64]. Thuricin 7 박테리오신은 *B. thuringiensis* serotype 10에 대해 살균작용을 나타내었으나 박테리오신의 높은 농도(100 AU/ml)에서는 용균작용도 나타내었다[13]. 또한 *B. brevis*가 생산하는 bacillocin Bb도 용균작용을 나타내었다[52]. 반면에 *Bacillus* 속이 생산하는 박테리오신 중 brevicin AF1은 그람 음성균보다 그람 양성균에 항균활성을 나타내며 *S. aureus*에 대해 처리 후 3시간부터 지시균을 사멸시키는 살균작용을 보였다[19].

B. licheniformis P40가 생산하는 BLIS는 *L. monocytogenes*를 10^6 CFU/ml로 접종하고 10^7 CFU/ml에 도달한 4시간 배양 후 첨가한 50 AU/ml의 최종 농도에서 배양 6시간 배양 후 식중독 세균을 완전히 사멸하여 매우 강력한 식중독 세균에 대한 살균작용을 나타내었다. 이러한

결과는 유제품이나 채소에서 유래하는 리스테리아균을 제어할 수 있는 소재로 사용될 것으로 기대된다[16].

박테리오신 응용

Bacillus sp. 가 생성하는 항균물질로는 종류가 다양하고 항균범위가 넓어 식품산업뿐만 아니라 다양한 산업에 적용할 수 있으며 적용 가능한 분야로 아래와 같이 요약할 수 있다. 첫 번째, 의약품 산업에 적용할 수 있다. 현재 사용 중인 많은 항생제에 대한 내성균이 발견되면서 사람 또는 동물, 미생물과 관련된 질병의 예방이나 치료에 bacteriocin으로 대체하려는 관심이 증가하고 있다[14]. Subtilisin A [26]는 정자를 죽일 수 있는 즉, 살정제에 대한 강한 활성을 가지고 있어서 피임약으로 가능성을 제시하며 mersacidin은 항생제 내성균인 *S. aureus*의 MRSA에 강한 저해능을 나타낸다[3, 7].

두 번째, 축산 산업에 적용할 수 있다. 병원성 미생물에 감염된 소와 돼지의 가축의 치료와 성장촉진, 폐사율 감소 위해 항생제를 사료에 첨가하여 사용하고 있다[62]. 이러한 과다 사용으로 인한 항생제 오남용으로 내성문제를 일으켜 몇몇 나라에서는 치료용 이외의 사용은 금지하고 있는 실정이다. 따라서 병원성 미생물의 감염을 줄이면서 성장촉진이 가능한 항생제 대체제가 요구되고 있는 실정이다. Pattnaik 등[50]이 보고한 *B. licheniformis*가 생산하는 lichenin은 가축의 제1위 과산증을 일으키는 *S. bovis*에 대한 항균력을 가지고, 다양한 다당류를 가수분해할 수 있기 때문에 반추위 발효개선에 적용될 수 있는 잠재력이 있다고 보고하였다.

세 번째, 식품산업 즉 보존제로 적용할 수 있다. 현대의 소비자들은 합성보존제가 첨가되지 않고 최소의 가공 과정만 거치는 ‘fresh foods’를 추구한다. 따라서 천연보존제로 사용할 수 있는 bacteriocin에 대한 관심이 급증하고 있다[38].

과학과 기술의 발전에 힘입어 박테리오신의 연구도 증가하고 있다. 이 결과로 효과가 뚜렷한 다양한 종류의 박테리오신이 개발되고 있으며 새로 발견된 박테리오신에 대해서는 안전과 효과적인 활용을 위하여 생산성, 면역성 그리고 작용기작에 포함되는 분자 메커니즘 수준의 정보를 얻기 위하여 많은 연구가 진행되고 있다. *Bacillus* 속 미생물이 그람 양성과 그람 음성 식중독균에 항균활성을 가진 박테리오신을 생산하는 것이 밝혀졌으며, 때에 따라서는 효모와 곰팡이에서도 같은 효과가 있는 것으로 알려졌다. 다른 보존 방법과 병행한 박테리오신의 사용은 미생물에 의해 야기되는 식품변패를 줄이기 위한 식품 보존제로 평가받고 있다. 지금 상용화되고 있는 물질로는 *Lactococcus*가 생산하는 박테리오신인 nisin이 육류제품이나 치즈, 우유 등에 첨가하여 사용되고 있다. Nisin은 자체 독성이 없고, 장내세균이나 소화효소에 의해 쉽게 분해되

며, 산성 pH 범위에서 안정하며, 독성시험 결과, 안전한 물질임이 확인되었다. 이와 비슷한 예로 *B. lentus*가 생산하는 박테리오신을 황산암모늄 침전법으로 정제한 후 대표적인 식중독 균인 *L. monocytogenes* 또는 *S. aureus*에 첨가하여 10시간 후 생존력이 70% 감소하였다. 또한 *B. subtilis* ATCC 6633에서 생산되는 subtilin의 구조가 nisin과 비슷하여 식품보존제로 사용이 가능할 것으로 생각된다.[8, 11, 38, 42, 45, 55].

네 번째, 농업에 대한 적용이다. *Bacillus* 속이 생산하는 항균이나 항진균 활성이 있는 bacteriocin은 'biocontrol agents'로 사용할 수 있다[33].

토양에서 분리한 *B. pumilus* WAPB4가 생산하는 bacteriocin은 pH 와 열에 안정하여 극단적인 조건에서도 내성이 있어 농업에 사용될 수 있고 *B. subtilis* 14B에서 분리한 박테리오신은 *Agrobacterium*에도 효과적이고[3, 25] *B. licheniformis* ZJU12가 분비하는 박테리오신은 plant disease에 효과적이다[27]. 대두의 뿌리에서 분리한 *B. thuringiensis* NEB17이 생성하는 bacteriocin은 식물뿌리의 형성을 도와 성장을 증진시키고, 식물의 질병 저항성을 높여 준다고 보고되었다[24, 25].

결론

Bacillus 속이 생산하는 박테리오신에 대한 연구는 국내외적으로 활발히 추진되고 있다. 최근 보고된 바에 의하면 150여 종의 국내 전통 장류에는 *B. licheniformis*, *B. velezensis* 및 *B. subtilis*가 주 발효 세균이며, GRAS (Generally recognized as safe)로 인식해왔던 *B. subtilis*도 24종의 계면활성제와 향생물질들을 생산하고 있다. 천연 항균물질인 박테리오신은 향생물질에 의한 인체 독성문제와 발효과정 중 병원균의 증식을 억제함과 동시에 병원성 독소 생산을 감소시킬 수 있는 양면적인 특성을 가진다. 그러므로 앞으로 동식물의 병원균은 물론 식품의 부패균에 항균활성을 갖는 새로운 박테리오신을 탐색하여 천연보존제, 향생물질 대체제, 생물조절제, 식물성장촉진제로 개발하면서 사람과 동물의 건강증진, 식품의 보존, 환경개선 등 식품과 사료, 의약, 농축산업 및 환경산업에 응용가능성이 크다[62]. 우리나라는 전통 발효식품이 풍부하여 이러한 식품자원으로부터 새로운 박테리오신을 생산하는 *Bacillus* 속을 탐색할 수 있으며 앞으로 응용 가능성이 높은 박테리오신의 연구가 활발하게 진행될 것으로 기대된다.

감사의 글

이 논문은 2021~2022년도 창원대학교 자율연구과제 연구비의 지원으로 수행된 결과임.

The Conflict of Interest Statement

The authors declare that they have no conflicts of interest with the contents of this article.

References

1. Abriouel, H., Franz, C. M., Omar, N. B. and Gálvez, A. 2011. Diversity and applications of *Bacillus* bacteriocins. *FEMS Microbiol. Rev.* **35**, 201-232.
2. Alhern, M., Verschueren, S. and Sinderen, D. V. 2003. Isolation and characterisation of a novel bacteriocin produced by *Bacillus thuringiensis* strain B439. *FEMS Microbiol. Lett.* **220**, 127-131.
3. Aunpad, R. and Na-Bangchang, K. 2007. Pumilicin 4, a novel bacteriocin with anti-MRSA and anti-VRE activity produced by newly isolated bacteria *Bacillus pumilus* strain WAPB4. *Curr. Microbiol.* **55**, 308-313.
4. Austin, C. 2003. Novel approach to obtain biologically active recombinant heterodimeric proteins in *Escherichia coli*. *J. Chromatogr. B.* **786**, 93-107.
5. Babaski, K., Takao, T., Shimonsishi, Y. and Kurahashi, K. 1985. Subtilosin A, a new antibiotic peptide produced by *Bacillus subtilis* 168: isolation, structural analysis, and biogenesis. *J. Biol. Chem.* **98**, 585-603.
6. Basanta, A., Gómez-Sala, B., Sánchez, J., Diep, D. B., Herranz, C., Hernández, P. E. and Cintas, L. M. 2010. Use of the yeast *Pichia pastoris* as an expression host for secretion of enterocin L50, a leaderless two-peptide (L50A and L50B) bacteriocin from *Enterococcus faecium* L50. *Appl. Environ. Microbiol.* **76**, 3314-3324.
7. Bierbaum, G., Brötz, H., Koller, K. P. and Sahl, H. G. 1995. Cloning, sequencing and production of the lantibiotic mersacidin. *FEMS Microbiol. Lett.* **127**, 121-126.
8. Bizani, D. and Brandelli, A. 2002. Characterization of a bacteriocin produced by a newly isolated *Bacillus* sp. strain 8 A. *J. Appl. Microbiol.* **93**, 512-519.
9. Brusilow, W. S. and Nelson, D. L. 1981. Improved purification and some properties of megacin Cx, a bacteriocin produced by *Bacillus megaterium*. *J. Biol. Chem.* **256**, 159-164.
10. Cetinkaya, S., Osmanağaoğlu, Ö. and Cökmüş, C. 2003. Bacteriocin diversity in *Bacillus sphaericus*. *Folia Microbiol.* **48**, 157-161.
11. Chan, W. C., Bycroft, B. W., Leyland, M. L., Lian, L. Y. and Roberts, G. C. 1993. A novel post-translational modification of the peptide antibiotic subtilin: isolation and characterization of a natural variant from *Bacillus subtilis* ATCC 6633. *J. Biol. Chem.* **291**, 23-27.
12. Chehimi, S., Delalande, F., Sabl'e, S., Hajlaoui, M. R., Van Dorselaer, A., Limam, F. and Pons, A. M. 2007. Purification and partial amino acid sequence of thuricin S, a new anti-*Listeria* bacteriocin from *Bacillus thuringiensis*. *Can. J. Microbiol.* **53**, 284-290.
13. Cherif, A., Ouzari, H., Daffonchio, D., Cherif, H., Ben

- Slama, K., Hassen, A., Jaoua, S. and Boudabous, A. 2001. Thuricin 7: a novel bacteriocin produced by *Bacillus thuringiensis* BMG1.7, a new strain isolated from soil. *Lett. Appl. Microbiol.* **32**, 243-247.
14. Cherif, A., Chehimi, S., Limem, F., Hansen, B. M., Hendriksen, M. B., Daffonchio, D. and Boudabous, A. 2003. Detection and characterization of the novel bacteriocin entomocin 9, and safety evaluation of its producer, *Bacillus thuringiensis* ssp. entomocidus HD9. *J. Appl. Microbiol.* **95**, 990-1000.
15. Chopra, L., Singh, G., Choudhary, V. and Sahoo, D. K. 2014. Sonorensin: an antimicrobial peptide, belonging to the heterocycloanthracin subfamily of bacteriocins, from a new marine isolate, *Bacillus sonorensis* MT93. *Appl. Environ. Microbiol.* **80**, 2981-2990.
16. Cladera-Olivera, F., Caron, G. R. and Brandelli, A. 2004. Bacteriocin-like substance production by *Bacillus licheniformis* strain P40. *Lett. Appl. Microbiol.* **38**, 251-256.
17. Cotter, P. D., Hill C. and Ross, R. P. 2005. Bacteriocins: developing innate immunity for food. *Nat. Rev. Microbiol.* **3**, 777-788.
18. Donoghue, H. D. 1972. Properties and comparative starch-gel electrophoresis of megacins from several *Bacillus megaterium* strains. *J. Gen. Microbiol.* **72**, 473-483.
19. Faheem, F., Saeed, S. and Rasool, S. A. 2007. Studies on brevicin af01: a bacteriocin like inhibitory substance active against methicillin resistant *staphylococcus aureus*. *Pak. J. Bot.* **39**, 1293-1302.
20. Favret, M. E. and Yousten, A. A. 1989. Thuricin: the bacteriocin produced by *Bacillus thuringiensis*. *J. Invertebr. Pathol.* **53**, 206-216.
21. FDA. Nisin preparation. 1988. Affirmation of GRAS status as a direct human food ingredient. *Food Drug Admin. Fed. Reg.* **53**, 11247.
22. Gálvez, A., Abriouel, H., López, R. L. and Ben Omar, N. 2007. Bacteriocin-based strategies for food biopreservation. *Int. J. Food Microbiol.* **120**, 51-70.
23. Gálvez, A., Maqueda, M., Martínez-Bueno, M., Lebbadi, M. and Valdivia, E. 1993. Isolation and physico-chemical characterization of an antifungal and antibacterial peptide produced by *Bacillus licheniformis* A12. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **39**, 438-442.
24. Gray, E. J., Di Falco, M., Souleimanov, A. and Smith, D. L. 2006. Proteomic analysis of the bacteriocin thuricin 17 produced by *Bacillus thuringiensis* NEB17. *FEMS Microbiol. Lett.* **255**, 27-32.
25. Gray, E. J., Lee, K. D., Souleimanov, A. M., Di Falco, M. R., Zhou, X., Ly, A., Charles, T. C., Driscoll, B. T. and Smith, D. L. 2006. A novel bacteriocin, thuricin 17, produced by plant growth promoting rhizobacteria strain *Bacillus thuringiensis* NEB17: isolation and classification. *J. Appl. Microbiol.* **100**, 545-554.
26. Hammami, I., Rhouma, A., Jaouadi, B., Rebai, A. and Nesme, X. 2009. Optimization and biochemical characterization of a bacteriocin from a newly isolated *Bacillus subtilis* strain 14B for biocontrol of *Agrobacterium* spp. strains. *Lett. Appl. Microbiol.* **48**, 253-260.
27. He, L., Chen, W. and Liu, Y. 2006. Production and partial characterization of bacteriocin-like peptides by *Bacillus licheniformis* ZJU12. *Microbiol. Res.* **161**, 321-326.
28. He, Z., Kisla, D., Zhang, L., Yuan, C., Green-Church, K. B. and Yousef, A. E. 2007. Isolation and identification of a *Paenibacillus polymyxa* strain that coproduces a novel lantibiotic and polymyxin. *Appl. Environ. Microbiol.* **73**, 168-178.
29. Hemphill, H. E., Gage, I., Zahler, S. A. and Korman, R. Z. 1980. Prophage-mediated production of a bacteriocin-like substance by SP beta lysogens of *Bacillus subtilis*. *Can. J. Microbiol.* **26**, 1328-1333.
30. Huang, T., Geng, H., Miyapuram, V. R., Sit, C. S., Vederas, J. C. and Nakano, M. M. 2009. Isolation of a variant of subtilisin A with hemolytic activity. *J. Bacteriol.* **191**, 5690-5696.
31. Kamoun, F., Mejdoub, H., Aouissaoui, H., Reinbolt, J., Hammami, A. and Jaoua, S. 2005. Purification, amino acid sequence and characterization of Bacthuricin F4, a new bacteriocin produced by *Bacillus thuringiensis*. *J. Appl. Microbiol.* **98**, 881-888.
32. Kayalvizhi, N., Neelamegam, R. and Gunasekaran, P. 2016. Cloning and characterization of mersacidin like bacteriocin from *Bacillus licheniformis* MKU3 in *Escherichia coli*. *J. Food. Sci. Technol.* **53**, 2298-2306.
33. Katz, E. and Demain, A. L. 1977. The peptide antibiotics of *Bacillus*: chemistry, biogenesis, and possible functions. *Bacteriol. Rev.* **41**, 449-474.
34. Le Marrec, C., Hyronimus, B., Bressollier, P., Verneuil, B. and Urdaci, M. C. 2000. Biochemical and genetic characterization of coagulin, a new antilisterial bacteriocin in the pediocin family of bacteriocins, produced by *Bacillus coagulans* I4. *Appl. Environ. Microbiol.* **66**, 5213-5220.
35. Lee, J. G., Lee, G. J. and Lim, S. M. 2005. Partial purification of bacteriocin produced by *Enterococcus faecium* MJ-14 isolated from meju. *J. Food Hyg. Saf.* **20**, 211-216.
36. Lee, H. G., Churey, J. J. and Worobo, R. W. 2009. Biosynthesis and transcriptional analysis of thurincin H, a tandem repeated bacteriocin genetic locus, produced by *Bacillus thuringiensis* SF361. *FEMS Microbiol. Lett.* **299**, 205-213.
37. Lee, K. H., Jun, K. D., Kim, W. S. and Paik, H. D. 2001. Partial characterization of *polyfermentacin* SCD, a newly identified bacteriocin of *Bacillus polyfermenticus*. *Lett. Appl. Microbiol.* **32**, 146-151.
38. Lee, S. G. and Chang, H. C. 2018. Purification and characterization of mejucin, a new bacteriocin produced by *Bacillus subtilis* SN7. *Food Sci. Technol.* **87**, 8-15.
39. Lisboa, M. P., Bonatto, D., Bizani, D., Henriques, J. A. P. and Brandelli, A. 2006. Characterization of a bacteriocin-like substance produced by *Bacillus amyloliquefaciens* isolated from the Brazilian Atlantic forest. *Int. Microbiol.* **9**, 111-118.
40. Liu, W. and Hansen, J. N. 1990. Some chemical and physical properties of nisin, a small-protein antibiotic produced by *Lactococcus lactis*. *Appl. Environ. Microbiol.* **56**, 2551-2558.
41. McClerren, A. L., Cooper, L. E., Quan, C., Thomas, P.

- M., Kelleher, N. L. and van der Donk, W. A. 2006. Discovery and *in vitro* biosynthesis of haloduracin, a two-component lantibiotic. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. **103**, 17243-17248.
42. Motta, A. S., Cladera-Olivera, F. and Brandelli, A. 2004. Screening for antimicrobial activity among bacteria isolated from the Amazon basin. *Braz. J. Microbiol.* **35**, 307-310.
43. Motta, A. S., Cannavan, F. S., Tsai, S. M. and Brandelli, A. 2007. Characterization of a broad range antibacterial substance from a new *Bacillus* species isolated from amazon basin. *Arch. Microbiol.* **188**, 367-375.
44. Naclerio, G., Ricca, E., Sacco, M. and De Felice, M. 1993. Antimicrobial activity of a newly identified bacteriocin of *Bacillus cereus*. *Appl. Environ. Microbiol.* **59**, 4313-4316.
45. Novotny, J. F. and Perry, J. J. 1992. Characterization of bacteriocins from two strains of *Bacillus thermoleovorans*, a thermophilic hydrocarbon-utilizing species. *Appl. Environ. Microbiol.* **58**, 2393-2396.
46. Oscáriz, J. C. and Pisabarro, A. G. 2000. Characterization and mechanism of action of cerein 7, a bacteriocin produced by *Bacillus cereus* Bc7. *J. Appl. Microbiol.* **89**, 361-369.
47. Osáriz, J. C., Cintas, L., Holo, H., Lasa, I., Nes, I. F. and Pisabarro, A. G. 2006. Purification and sequencing of cerein 7B, a novel bacteriocin produced by *Bacillus cereus* Bc7. *FEMS Microbiol. Lett.* **254**, 108-115.
48. Paik, H. D., Bae, S. S., Park S. H. and Pan, J. G. 1997. Identification and partial characterization of tochicin, a bacteriocin produced by *Bacillus thuringiensis* subsp *tochigiensis*. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* **19**, 294-298.
49. Paik, S. H., Chakicherla, A. and Hansen, J. N. 1998. Identification and characterization of the structural and transporter genes for, and the chemical and biological properties of, sublancin 168, a novel lantibiotic produced by *Bacillus subtilis* 168. *J. Biol. Chem.* **273**, 23134-23142.
50. Pattnaik, P., Kaushik, J. K., Grover, S. and Batish, V. K. 2001. Purification and characterization of a bacteriocin-like compound (lichenin) produced anaerobically by *Bacillus licheniformis* isolated from water buffalo. *J. Appl. Microbiol.* **91**, 636-645.
51. Rachel, D. and Heran, M. T. W. 2005. Expression of heterologous proteins in *Pichia pastoris*: a useful experimental tool in protein engineering and production. *J. Mol. Recognit.* **18**, 119-138.
52. Sánchez, J., Borrero, J., Gómez-Sala, B., Basanta, A., Herranz, C., Cintas, L. M. and Hernández, P. E. 2008. Cloning and heterologous production of hiracin JM79, a sec-dependent bacteriocin produced by *Enterococcus hirae* DCH5, in lactic acid bacteria and *Pichia pastoris*. *Appl. Environ. Microbiol.* **74**, 2471-2479.
53. Scholz, R., Vater, J., Budiharjo, A., Wang, Z., He, Y., Dietel, K., Schwecke, T., Herfort, S., Lasch P. and Borrissa, R. 2014. Amylocyclicin, a novel circular bacteriocin produced by *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42. *J. Bacteriol.* **196**, 1842-1852.
54. Sebei, S., Zendo, T., Boudabous, A., Nakayama, J. and Sonomoto, K. 2007. Characterization, N-terminal sequencing and classification of cerein MRX1, a novel bacteriocin purified from a newly isolated bacterium: *Bacillus cereus* MRX1. *J. Appl. Microbiol.* **103**, 1621-1631.
55. Sharma, N., Kapoor, G. and Neopaney, B. 2006. Characterization of a new bacteriocin produced from a novel isolated strain of *Bacillus lentus* NG121. *Anton. Leeuw.* **89**, 337-343.
56. Sharp, R. J., Bingham, A. H. A., Comer, M. J. and Atkinson, A. 1979. Partial characterization of a bacteriocin (thermocin) from *Bacillus stearothermophilus* RS93. *J. Gen. Microbiol.* **111**, 449-451.
57. Shelburne, C. E., An, F. Y., Dholpe, V., Ramamoorthy, A., Lopatin, D. E. and Lantz, M. S. 2007. The spectrum of antimicrobial activity of the bacteriocin subtilisin A. *J. Antimicrob. Chemother.* **59**, 297-300.
58. Stahl, S. 1989. A new bacteriocinogenic activity: megacin BII encoded by plasmid pSE 203 in strains of *Bacillus megaterium*. *Arch. Microbiol.* **151**, 159-165.
59. Stein, T., Borchert, S., Conrad, B., Feesche, J., Hofemeister, B., Hofemeister, J. and Entian, K. D. 2002. Two different lantibiotic-like peptides originate from the ericin gene cluster of *Bacillus subtilis* A1/3. *J. Bacteriol.* **184**, 1703-1711.
60. Stein, T., Dusterhus, S., Stroh, A. and Entian, K. D. 2004. Subtilisin production by two *Bacillus subtilis* subspecies and variance of the sbo-alb cluster. *Appl. Environ. Microbiol.* **70**, 2349-2353.
61. Svetoch, E. A., Stern, N. J., Eruslanov, B. V., Kovalev, Y. N., Volodina, L. I., Perelygin, V. V., Mitsevich, E. V., Mitsevich, I. P., Pokhilenko, V. D., Borzenkov, V. N., Levchuk, V. P., Svetoch, O. E. and Kudriavtseva, T. Y. 2005. Isolation of *Bacillus circulans* and *Paenibacillus polymyxa* strains inhibitory to *Campylobacter jejuni* and characterization of associated bacteriocins. *J. Food Prot.* **68**, 11-17.
62. Urdaci, M. C., Bressollier, P. and Pinchuk, I. 2004. *Bacillus clausii* probiotic strains: antimicrobial and immunomodulatory activities. *J. Clin. Gastroenterol.* **38**, S86-S90.
63. Von Tersch, M. and Carlton, B. C. 1983. Bacteriocin from *Bacillus megaterium* ATCC 19213: comparative studies with megacin A-216. *J. Bacteriol.* **155**, 866-871.
64. Xie, J., Zhang, R., Shang, C. and Guo, Y. 2009. Isolation and characterization of a bacteriocin produced by an isolated *Bacillus subtilis* LFB112 that exhibits antimicrobial activity against domestic animal pathogens. *Afr. J. Biotechnol.* **8**, 5611-5619.
65. Yoshida, S., Hiradate, S., Tsukamoto, T., Hatakeda, K. and Shirata, A. 2001. Antimicrobial activity of culture filtrate of *Bacillus amyloliquefaciens* RC-2 isolated from mulberry leaves. *J. Phytopathol.* **91**, 181-187.
66. Zheng, G., Yan, L. Z., Vederas, J. C. and Zuber, P. 1999. Genes of the sbo-alb locus of *Bacillus subtilis* are required for production of the antilisterial bacteriocin subtilisin. *J. Bacteriol.* **181**, 7346-7355.

초록 : *Bacillus*속 세균 유래 박테리오신의 특성과 응용

이지영² · 강대욱^{1*}

(¹창원대학교 생명보건학부, ²창원대학교 대학원 생명공학협동과정)

박테리오신은 리보솜에서 합성된 항균 펩타이드로, 박테리아에 의해 생성되어 유사하거나 밀접한 관련이 있는 박테리아 균주의 성장을 억제한다. 니신이 처음 발견된 이래로, 독특한 구조와 다양한 항균활성 방식을 가진 많은 박테리오신들이 기술되었고, 생산, 분비, 면역을 암호화하는 유전자들이 보고되었다. 니신은 치즈와 액체 달걀, 소스, 통조림 식품에 적용되는 박테리오신 중 하나이다. 많은 *Bacillus* 속 박테리오신들은 번역 후 변형된 펩타이드인 란티바이오틱스에 속한다. 다른 속의 *Bacillus*는 또한 많은 다른 비-란티바이오틱스 박테리오신을 생산한다. *Bacillus* 속 박테리오신은 때때로 더 넓은 항균 스펙트럼 때문에 더욱 중요해지고 있다. 박테리오신은 식품 및 제약 산업에서 식품 부패 및 병원성 세균 증식을 방지하기 위한 매력적인 화합물로 간주된다. 박테리오신은 식품계에서 다양한 방식으로 생물학적 방부제로 사용될 수 있다. 생물 보존은 미생물 및/또는 그 대사산물을 사용하는 식품의 유통기한 연장 및 안전성 향상을 의미한다. 새로운 항균 화합물에 대한 수요는 식품 미생물학적 안전성을 향상시킬 수 있는 새로운 기술에 대한 큰 관심을 가져왔다. 박테리오신의 응용은 식품에서 인간의 건강으로 확대되고 있다. 오늘날 많은 연구자들은 박테리오신에 대한 관심을 식품보존에서 감염과 항생제 내성 질병을 유발하는 박테리아의 치료로 전환하고 있는 추세이다. 박테리오신 연구의 이 흥미로운 새로운 시대는 의심할 여지없이 새로운 발명과 새로운 응용으로 이어질 것이다. 이 리뷰에서 우리는 *Bacillus* 속에 의해 생산되는 박테리오신의 다양한 특성과 응용을 요약한다.