

I. 乳酸菌とビフィズス菌の一般特性



信州大学名誉教授 細野 明義

はじめに

中国における二十四史の一つに、10世紀中頃の唐の時代に編纂された『旧唐書』と呼ばれる正史があります。その中に魏徴伝として「求木之長者必固其根本」という言葉が記されています。その意味は、《木の長きを求むる者は必ず根本を固す》であり、基礎を尊び、基礎をしっかりさせることの大切さを論じた言葉として筆者は理解しています。

本稿は一般社団法人全国発酵乳乳酸菌飲料協会が主催し、公益財団法人日本乳業技術協会が協力するかたちで昨年度開催された《ビフィズス菌検査研修会》で筆者が受講した方々に話をしたときの内容をもとに纏めたものです。受講された人達には「乳酸菌とビフィズス菌についてこれだけは最少限の基礎知識として持っていて戴きたい」と基礎を固めることの大切さを伝えました。本稿もそうした意図で纏めたものです。

(1) 微生物の誕生と細胞の構造

地球誕生から猿人類が現れるまでのおおまかな時の流れを表1に示しました。地球が生まれたのは今から46億年前のことです。その時、地球上には酸素が存在していません。40億年前に初

表1 生物の進化

■ 46億年前	地球の誕生
■ 40億年前	遺伝子類似の自己増殖分子
■ 35億年前	嫌気性菌の出現
■ 27億年前	シアノバクテリアの出現
■ 20億年前	好気性菌の出現
■ 18億年前	真核生物の出現
■ 12億年前	動物、植物の分化
■ 2億年前	哺乳類の出現
■ 500万年前	猿人類の出現

めて遺伝子類似の自己増殖分子が出現し、進化して嫌気性細菌となりました。今から35億年前のことです。やがて27億年前にシアノバクテリアという微生物が現れます。この微生物は藍藻菌類で、光合成を行なって酸素を放出する能力を持っています。その菌が爆発的に増殖して地球全体に広がり、徐々に地球上の酸素濃度が高まり、それに伴って好気性細菌が出現してきます。そして18億年前には原核細胞のさらに進化した真核細胞が出現してきます。12億年前には真核細胞から進化した植物と動物が出現し、哺乳類が現れたのが今から2億年前、そして猿人らしきものが現れたのが500万年前ということになっています。

原核細胞と真核細胞とは図1に示したようにその構造が大きく異なっています。原核細胞は真核細胞に比べ簡単な構造をしており細胞壁と細胞膜で囲まれた中に核様体、リポゾーム、封入体などの構造が見られます。核様体は真核細胞の核に相当しますが、核膜はありません。原核細胞をもつ微生物の代表が細菌です。

一方、真核細胞の構造は複雑で、核、ミトコンドリア、葉緑体、小胞体など膜で覆われた細胞内小

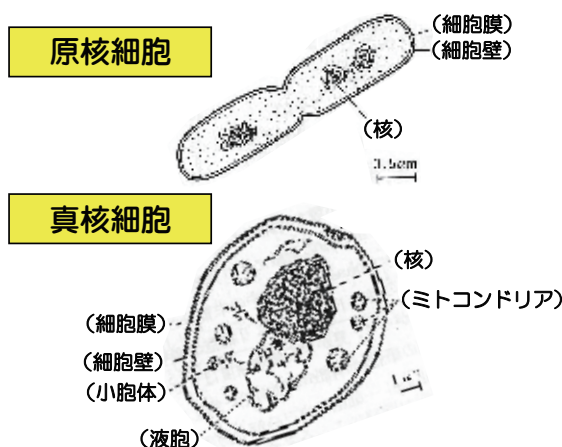


図1 原核細胞と真核細胞

器官をもち、大きさも原核細胞より大きく、酵母、藻類、菌類(黴)、原生動物などが含まれます。また、植物や動物などのすべての多細胞生物は真核細胞で構成されており、このような生物を真核生物と呼んでいます。真核細胞には細胞壁のあるもの(藻類、菌類、植物細胞)と、ないもの(原生動物、動物細胞)があり、また葉緑体は光合成を行うもの(藻類、植物細胞)にしか見られません。

(2) 顕微鏡の発明

生物は様々な生物進化を遂げ、動物、植物、原生動物(微生物)に大きく分けられます。微生物は他の生物界とは比較にならないほど多様性に富んでいるのが特徴です。微生物として原生動物、緑藻、糸状菌、酵母、細菌、リケッチャ、ウイルスなどが挙げられ、それらの大きさや形態は大きく異なっています。細菌では細胞1個の大きさが数 μ メートル程度です。

この小さな物体が地球に存在することを発見した人がオランダのアントニ・レーウエンフックです。(図2)。ガラス磨きを趣味にしていた彼は磨いたガラスを用いて単式の顕微鏡をつくり上げ(図2)、身の周りの様々なものを観察して人類がかつてみたこともない奇妙な形をした小さな生物が存在することを発見し、それらを精密に記録したことで知られています。彼は顕微鏡を通じて見た世界の観察記録を克明に記した250篇にもおよぶ論文を残しており、最後まで好奇心と熱意を失わず、鋭く、クールな観察者であり続けた人でした。

顕微鏡の性能を決める要因はたくさんありますが、その中でもっとも重要なものは分解能です。分解能とは、2つの点を認識できる最短の距離の

ことを云います。つまり、それ以上近づくと、拡大像の上で区別できなくなる限界の距離のことで、解像度と呼ぶこともあります。顕微鏡は物体を拡大したときの倍率はもちろん大切ですが、物体の細部をきちんと識別できることの方がより重要であることからその能力のことを分解能と云っているのです。

図2には光学顕微鏡の開口数と分解能を求める式を示しました。開口数は対物レンズの性能を決める上で重要で、 n は物体側空間の媒質の屈折率、 θ は開口角といい、軸上の1点から出て対物レンズに入る光のうち、一番外側になる角度のことです。図2に示した式から分かるように分解能を高くする(解像度を小さくする)には開口数を大きくするか、波長を短くするしか方法がありませんが、開口数を大きくすることにも可視光の波長を短くすることにも限界があります。従って、通常の光学顕微鏡での最大分解能は190nm($\equiv 0.19\mu\text{m}$) くらいです。

一方、電子顕微鏡は光よりも波長が短い電子線を利用します。電子線の波長は、光の波長の10万分の1以下、つまり、数pm(ピコメートル、0.001nm)であることから、理論的には、電子顕微鏡の分解能は、数pm以下になります。電子顕微鏡が光学顕微鏡より優れているところは倍率が高いからではなく、分解能が高いからです。

(3) 微生物学の基礎を築いた人々

i) 自然発生説と生物発生説

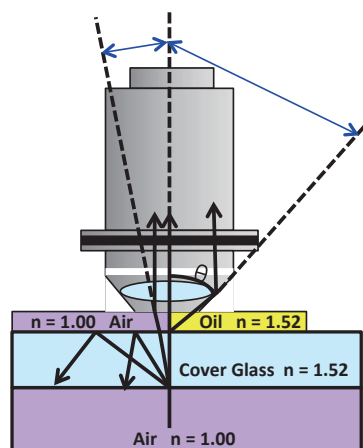
レーウエンフックが生涯観察し続けた小さな生物は自然に発生するものであると当時の科学



Antonius A.
Leeuwenhoek
(1632-1723)



レーウエンフックが
発明した顕微鏡



$$\text{開口数} = n \sin \theta$$
$$\text{分解能} = \frac{\text{波長}}{2 \times \text{開口数}}$$

図2 レーウエンフックと顕微鏡の分解能

者達は考えていました。つまり、そのような小さなものに親がいる筈はないという先入観を当時の科学者達はもっていたのです。しかし、この自然発生説は19世紀に入ってフランスのルイ・パスツール (図3) によって否定されました。彼はブドウ酒製造のときにできる酒石酸の結晶が光に対して特有な性質をもっていてある特定の波長の光を酒石酸の結晶に当てたときその光を左に偏らせるもの (*d*-型) と右に偏らせるもの (*l*-型) があることに気づき、光学異性があることを突き止めました。この研究をきっかけに彼の関心は発酵へと移り、アルコール発酵や乳酸発酵において培地の中で起こっている現象を詳細に観察することに着手しました。やがて彼は発酵に関与する物体が生き物であるかどうかを確かめるために図3に示した先端を白鳥の首のように細長く曲げ伸ばしたフラスコをつくりました。その中に肉の浸出液を入れて煮沸し、そのまま放置したのです。もし、生き物であるならば空気中の雑菌は浸出液に容易に辿りつけなくなり浸出液は腐敗しないけれども、長く伸びた首を切れば雑菌が入り腐敗が起これと考えました。結果は彼が考えていたとおりで雑菌が入りにくくしたフラスコでは腐敗が起これないことを認めたのです。このことから「すべての生物は生物から発生する」という彼の有名な言葉が生まれました。このことは地球上のあらゆる生物が自然に湧いて出てくるようなことは絶対にないことを科学的に証明したことの宣言でもあったのです。彼は食品の腐敗が微生物の作用により起こり、腐敗は加熱によって防げることを明らかにしました。英語の“pasteurization” (低温殺菌) は彼の名に因んでいるのです。

ii) 固形培地の発明

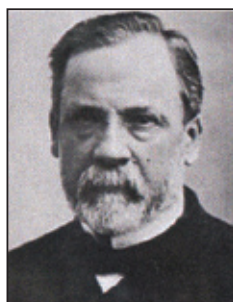
パスツールの発酵現象の解明に続いて微生物学の発展に大きく寄与した科学者がドイツ生

れの医師、ロバート・コッホ (図4) です。彼はそれまで極めて困難とされていた微生物を単一微生物として分離し、培養することに成功した最初の人として知られています。これまでは小さく目に見えない微生物を単離するのに希釈法と呼ばれる分離方法が採られていました。希釈法とは、希釈を繰り返し行い、目指す菌を単離するやり方です。この希釈法はいわば手探り状態で目指す菌を単離するもので闇に向かって鉄砲を撃つようなものでした。彼はゼラチンを培地に加えて固形状にし、その上にコロニーを形成させることに成功し、目的とする菌を単離することを可能にしたのでした。炭疽菌、ジフテリア菌、破傷風菌、結核菌、ペスト菌といった病原菌がコッホや日本人を含む科学者達によって19世紀後半から20世紀初期にかけて次々と発見されていきました。今日においても固形培地は微生物検査、研究には欠かせないものになっており、コッホによる固形培地(平板培地)の発明が医学や食品分野において果たした貢献は計り知れなく偉大なものと言えるのです。

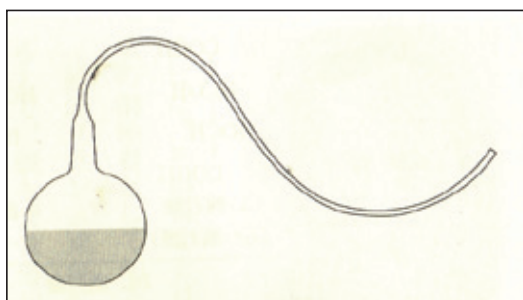
iii) グラム染色法の確立

ハンス・クレスチャン・ヨアキム・グラム (図5) はデンマークが生んだ病理学者で医師でもある細菌学者です。彼は肺炎で死亡した人の肺から分離した細菌が、クリスタルバイオレットとルゴール液で鮮やかに染まることを偶然発見しました。後にこの発見によって、細菌が細胞壁構造の違いにより、青紫色に染まるグラム陽性菌と赤桃色に染まるグラム陰性菌の二つのグループに分けられることが明らかにされていきました。現在でも迅速性と簡便さに優れたグラム染色法は細菌の同定に欠かせないものになっています。

グラム陽性菌と陰性菌の大まかな相違点は図5に示すとおりで、細胞壁の化学構造と薬品に対する感受性で両者が異なっているのが分かります。



Louis Pasteur
(1832-1895)



パスツールのフラスコ

図3 パスツールの白鳥の首フラスコ

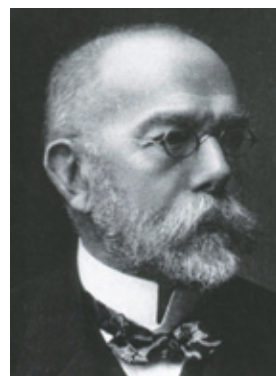


図4 Robert Koch(1843-1910)



グラム陽性菌と陰性菌の主な相違点

	グラム陽性菌	グラム陰性菌
細胞壁の化学構造	主としてムコ多糖体・タイコニン酸よりなる。	多量のタンパク質・脂質を含む。
薬品に対する感受性		
ペニシリン・サルファ剤など	高い	低い
ストレプトマイシンなど	低い	高い
陰イオン表面活性剤	高い	低い
ペプシン・トリプシン	高い	低い
リゾチーム	高い	低い

図5 グラム染色法を考案したHans Christian Gram(1850-1938)

(4) 乳酸菌とビフィズス菌の定義と発見者

i) 定義と代表的な菌株

乳酸菌と広く呼ばれていますが、乳酸菌とは乳酸を多量（消費したグルコース量に対して50%以上の乳酸を産生）に産生する細菌の総称で、慣用上の名称であって分類学上の名称ではありません。微生物を同定するための化学分類学的手法や遺伝学的手法の進歩によって乳酸菌の分類が見直され、現在乳酸菌と呼ばれる属種は30を超え、菌種は100を超えています。図6に示したように菌形は球状のものと桿状のものがあることはご承知のとおりです。

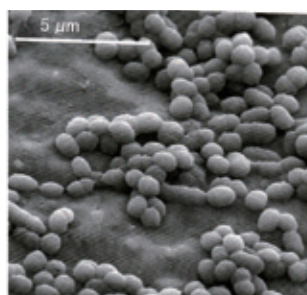
一方、ビフィズス菌は産生される乳酸が50%未満で、乳酸の他に酢酸を産生し、乳酸菌とは分類学的位置は異なっています。しかし、乳酸菌と類似した性質を多く有し、かつヒトの健康に寄与することから慣例的に乳酸菌の仲間として取り扱われることが多いのです。ビフィズス菌は乳酸菌とは異なり*Bifidobacterium*属と呼ばれる一つの属に入れられ、32種程の菌種が存在しています。菌形は多様で、桿状、枝分かれしたY字またはV字、

ヘラまたは棍棒状のものまであることが知られています。図6に*Bifidobacterium longum*の走査型顕微鏡像を示しています。

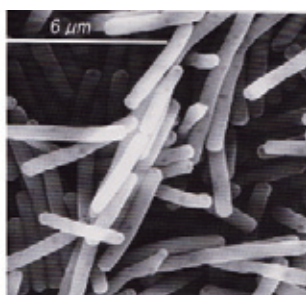
表2に乳製品や食品の製造に用いられている代表的な乳酸菌とビフィズス菌を示しました。

ii) 乳酸菌とビフィズス菌を発見した科学者

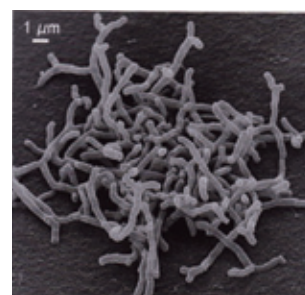
乳酸菌は1857年にパスツール（図3）によって乳の中から最初に見出され、乳酸菌と呼ばず乳酸酵母と名付けられました。1873年にはイギリスの外科医で産褥熱の発症原因を突き止めたことで知られるジョセフ・リスター（図7）によって酸乳からバクテリウム ラクチスが分離され、これが乳酸菌の分離に成功した最初でした。この菌は現在ではラクトコッカス ラクチスと呼ばれ様々なチーズの製造に用いられており、また伝統的な発酵乳やナチュラルチーズの菌叢を構成する乳酸菌としてもっとも知名度の高いものの一つになっています。その後、オランダのオルラ・ヤンセン（図7）がヨーグルト中の乳酸菌の分類を系統化すると共に乳酸菌にはグルコースから乳酸のみを産生するホモ発酵型と乳酸の他にエタノールと二酸化炭素を産生するヘテロ発酵型があることを明らかにしました。図8の発酵式から分か



Lactococcus lactis (a)



Lactobacillus delbrueckii
subsp. *bulgaricus* (b)



Bifidobacterium longum (c)

出典：日本乳酸菌学会編 『乳酸菌とビフィズス菌のサイエンス』（2010）前付写真ページより

図6 乳酸菌(a, b)とビフィズス菌(c)の走査型顕微鏡像

表2 乳製品に使用される主な 乳酸菌とビフィズス菌

発酵乳、乳酸菌飲料

- *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*
- *Lactobacillus helveticus*
- *Lactobacillus acidophilus*
- *Lactobacillus gasseri*
- *Lactobacillus johnsonii*
- *Lactobacillus rhamnosus*
- *Lactobacillus plantarum*
- *Lactobacillus reuteri*
- *Lactobacillus casei*
- *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*
- *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*
- *Streptococcus thermophilus*

- *Bifidobacterium longum*
- *Bifidobacterium breve*
- *Bifidobacterium bifidum*
- *Bifidobacterium animalis*
- *Bifidobacterium infantis*

チーズ、発酵バター

- *Streptococcus thermophilus*
- *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*
- *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*
- *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*
- *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *delbrueckii*
- *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis*
- *Lactobacillus helveticus*
- *Lactobacillus casei*
- *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris*
- *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *mesenteroides*



Joseph Lister
(1827-1912)



S. Orla Jensen
(1870-1949)



Henry Tissier
(1866-1926)

図7 乳酸菌・ビフィズス菌の発掘につくした人々

るように、乳酸菌による乳酸の産生量は100%（ホモ発酵）か50%（ヘテロ発酵）のいずれかです。なお、現在では両経路が作用する通性ヘテロ発酵型の乳酸菌があることも明らかにされています。

一方、ビフィズス菌は1899年、当時パリの乳児専門病院の研修医であったヘンリー・ティッサー（図7）によって発見されました。彼は健康な母乳栄養児の糞便から分岐した嫌気性菌を分離し、*Bacillus bifidus communis*として報告したのがビフィズス菌の最初の記録です。ビフィズス菌は一つの属にまとめられるべきであるとティッサーは主張し続け、その主張は紆余曲折の経過を辿り、今は一つの属（*Bifidobacterium*）にまとめられています。

ティッサーのもう一つの大きな業績は腸疾患をもった患者にビフィズス菌を飲ませ、腸内菌叢を

正常菌叢に変えて治療する方法を提唱したことです。その治療法は腸内菌叢変換法と呼ばれ、野菜食と乳糖を主体にした飲料にビフィズス菌の培養液を加え、患者に与えるものです。彼の行った治療法は効を奏し、やがて母乳栄養児と人工栄養児の健康維持についての研究に発展し、ビフィズス菌が乳児の健康を維持して腸疾患からの回復を促すといった貴重な結論に至っています。

(5) 乳酸菌とビフィズス菌に共通する一般特性

表3に示したように乳酸菌とビフィズス菌の一般特性には共通する点が多く、いずれも分類学上重要な特徴です。乳酸菌とビフィズス菌は共にグラム陽性菌です。また、両者とも過酸化水素を分

ホモ型乳酸発酵



ヘテロ型乳酸発酵



図8 乳酸菌の発酵型式

解して水と酸素を生じさせる酵素、カタラーゼを産生しません。好気性菌の微生物はこの酵素を産生しますが、乳酸菌やビフィズス菌は嫌気性菌と呼ばれるとおり酸素を嫌う所以でもあります。運動性とは鞭毛をもった細菌に見られる運動現象ですが、乳酸菌やビフィズス菌は共に鞭毛をもっていません。鞭毛の有無を調べるには寒天濃度0.3%の半流動培地に被検菌を穿刺して25℃前後で培養すると、運動性のある細菌は培地に広がりのある混濁を生じます。

また、細菌の中には外部からのストレスが高まると増殖をやめて殻をつくり、その殻の中に生命体（内孢子）を保持させてじっと我慢して難を逃れるものが存在します。その殻のことを芽胞（スポア）と呼んでいます。発酵乳類に關与する乳酸菌やビフィズス菌にはこのような性質はありません。

次に、従属栄養性について説明します。従属栄養性とは独立栄養性と対比する言葉であり、生育に必要な有機化合物を他に寄生し、従属していることを意味しています。一般的に植物はCO₂から

表4 生物の遺伝子数の違い

分 類	生物種	遺伝子数	DNAの長さ (塩基対)
原核生物	乳酸菌	4,000	500万
菌 類	酵母	6,000	1,200万
節足動物	ショウジョウバエ	15,000	1.8億
	ミジンコ	30,000	2.0億
脊椎動物	メダカ	20,000	8.7億
	ニワトリ	15,000	10.0億
	ヒト	22,000	30.0億
植 物	イネ	35,000	3.7億
	トウモロコシ	39,000	25.0億

出典：牧野能士、まなびの杜、70: 3-4 (2014)

表3 乳酸菌とビフィズス菌に共通する一般特性

- | | |
|-------------|-----------|
| ① グラム陽性 | ② カタラーゼ陰性 |
| ③ 運動性なし | ④ 嫌気性 |
| ⑤ 内孢子をつくらない | ⑥ 従属栄養性 |
| ⑦ GRASバクテリア | |

炭素を獲得することができることから独立栄養性であると云われますが、動物や菌類、細菌などの多くは光合成ができないことから従属栄養性の生物なのです。表4には様々な生物のDNA中の遺伝子の数の違いを示しました。遺伝子の数が生物間で大きく異なり、乳酸菌やビフィズス菌が属する細菌では遺伝子が4,000であるのに対しトウモロコシでは39,000で大きな開きがあるのに気付きます。この遺伝子の数の異なりは生物の環境に対する適応力の違いを示していると説明されています。これに従うと乳酸菌やビフィズス菌は環境に対する適応力が弱く、他に寄生して従属的に栄養を得なければ生きることができない宿命が理解できる気がします。

表3の最後に記したGRASバクテリアとは、Generally Recognized as Safeの頭文字をとった言葉であり、「一般的に安全とみなされている」という意味です。これは乳酸菌やビフィズス菌を食品に利用する上で極めて重要なキーワードです。安全性の証明は口で言うほど簡単ではなく、長い間にわたって人間が食べてきて、健康上に特段の問題を生じなかったとする経験こそが安全性を証明する上でもっとも説得力をもっているわけです。

(6) 乳酸菌とビフィズス菌の相違点 G + C コンテント

乳酸菌とビフィズス菌が大きく異なっている点はDNAのG+Cコンテントが違うという点です。DNAにはアデニン (A)、シトシン (C)、グアニン (G)、チミン (T) の四つの塩基が存在しますが、A + C + G + Tに対するG + Cのモル%の割合が乳酸菌では30 ~ 55モル%であるのに対しビフィズス菌では57 ~ 67モル%とビフィズス菌のモル%が高く、ビフィズス菌を特徴づける一つの指標になっています。

《次回は「乳酸菌とビフィズス菌の糖代謝と発酵」について解説します。》