

Review Article

식중독균 제어를 위한 유용미생물의 항균물질 생산 및 유전체 특성 연구

김수진¹ · 신진송² · 박한솔² · 송지섭³ · 이기원³ · 방우석¹ · 조태진^{2,3*}

¹영남대학교 생활과학대학 식품영양학과

²고려대학교 과학기술대학 식품규제과학과

³고려대학교 과학기술대학 식품생명공학과

Production of Antibacterial Agents and Genomic Characteristics of Probiotics Strains for the Foodborne Pathogen Control

Su Jin Kim¹, Jin Song Shin², Han Sol Park², Ji Seop Song³, Ki Won Lee³, Woo-Suk Bang¹ and Tae Jin Cho^{2,3*}

¹Department of Food and Nutrition, College of Human Ecology & Kinesiology, Yeungnam University, Gyeongsan 38541, Republic of Korea

²Department of Food Regulatory Science, College of Science and Technology, Korea University, Sejong 30019, Republic of Korea

³Department of Food and Biotechnology, College of Science and Technology, Korea University, Sejong 30019, Republic of Korea

Abstract

This mini-review focused on the current advances in the development and the application of the antibacterial agents produced from probiotics strains against foodborne pathogens. Inhibitory activity of the pathogen growth could be achieved by co-culture with probiotics and/or the treatment of metabolites extracted from probiotics culture, whereas strain-dependent efficacy was mainly reported according to the bacterial species of the target pathogens. To overcome the limited antibacterial spectrum and the efficacy of the metabolites from probiotics, the recent research highlight the discovery of novel bioactive substances with broad range of the inhibitory activity of foodborne pathogens and mode-of-action which has not been reported as the major research goal. Moreover, understanding the distribution of functional and regulation genes coding the production of the antibacterial metabolites based on the bacterial genome analysis can provide the clues for the mechanisms of the pathogen control by using probiotics. Major strategies on the application of the genomics in this research area can be represented as follows: 1) functional annotation specialized for antimicrobial proteins, 2) assessment of the antibacterial effects followed by the general/functional annotation, 3) genome and metabolites analysis for the purification of antimicrobial proteins, 4) comparative genomics and the characterization of anti-microbial potential. Especially the relationship between phenotype-genotype based on genomic bioinformation with the results of the practical efficacy tests of bacterial metabolites as an active substance of disinfectants and/or preservatives can be expected to act as supportive research for broadening our knowledge regarding the key metabolic pathways associated with the production of antibacterials from probiotics.

Keywords

probiotics, antibacterial potential, foodborne pathogens, genome, food industry

Received: Jun. 4, 2022

Revised: Jun. 23, 2022

Accepted: Jun. 24, 2022

*Corresponding author :

Tae Jin Cho

Department of Food and
Biotechnology, Korea University,
Sejong 30019, Republic of Korea.

Tel: +82-44-860-1433,

Fax: +82-44-860-1586,

E-mail: microcho@korea.ac.kr

ORCID

Su Jin Kim

<https://orcid.org/0000-0002-7431-4905>

Jin Song Shin

<https://orcid.org/0000-0002-8753-3728>

Han Sol Park

<https://orcid.org/0000-0003-3890-5326>

Ji Seop Song

<https://orcid.org/0000-0001-9158-3990>

Ki Won Lee

<https://orcid.org/0000-0003-3799-9199>

Woo-Suk Bang

<https://orcid.org/0000-0001-8276-1329>

Tae Jin Cho

<https://orcid.org/0000-0002-6563-2514>

서 론

유용미생물(probiotics)은 적정량 섭취될 경우 숙주의 건강에 유익한 효과가 나타날 수 있는 살아있는 미생물로 정의되며(Reid, 2016), 이와 같은 정의로 시사되고 있는 바와 같이 섭취 시 기대할 수 있는 건강 기능성과 관련된 연구가 주로 수행되어 왔다(Gill and Guarner, 2004; Kechagia *et al.*, 2013; Kerry *et al.*, 2018). 유용미생물의 효능을 향상시킬 수 있는 전략으로서 미생물의 생장 및 유익한 대사산물의 생산을 유도할 수 있는 영양성분인 프리바이오틱스(prebiotics)나 프로바이오틱스-프리바이오틱스 복합체를 구성하는 신바이오틱스(synbiotics)의 개념이 제시되었고, 유용미생물 구성 성분이나 대사산물을 활용하는 포스트바이오틱스(postbiotics)의 개념으로 그 범위가 확대되었다(Li *et al.*, 2021; Vallianou *et al.*, 2020). 이와 같이 유용미생물이 생장·대사하면서 생산되는 다양한 물질만으로도 살아있는 유용미생물(live microorganisms)로부터 기대할 수 있는 건강 기능성을 확보할 수 있다는 사실을 기반으로 균 대사산물에 대한 관심이 증대되어 왔다(Liu *et al.*, 2020; Stanton *et al.*, 2005). 한편 미생물은 생물공정을 통해 다양한 산업 분야에서 고부가가치 소재(효소, 고분자 화합물, 생물전환산물, 바이오연료 등)를 대사산물로부터 확보할 수 있는 새로운 생산 원으로 각광받고 있다(Di Donato *et al.*, 2019; Monedero *et al.*, 2010; Pierson and Pierson, 2010). 다만 미생물 대사산물은 일반적으로 해당 균주 자체의 안전성과 생산 목표물질 외 대사산물의 잠재적 위해성에 대한 우려로 인해 산업적 활용을 위해서 목표 물질의 정제 과정이 요구되나, 유용미생물이 생산원인 경우 미생물 및 배양액의 안전성을 입증할 수 있는 근거 자료들이 기 확보된 경우가 많기 때문에 정제된 단일 물질 뿐만 아니라, 배양액 또한 동 목적으로 활용될 수 있다(Geraldo *et al.*, 2020; Pfeifferle *et al.*, 2013; Żółkiewicz *et al.*, 2020). 이에 세포 배양 상등액, 세포 용해물(cell lysates), 틴달화(tyndallization) 처리 배양액, 발효물(ferments) 등을 이용한 유용미생물 관련 효능 확보 기술이 지속적으로 개발 및 상업화되고 있다(Sfriso *et al.*, 2020).

유용미생물이 생산하는 대사산물은 주로 장내 면역 개선 기능성을 목적으로 이용되어 왔으나(Liu *et al.*, 2020), 유용미생물이 장내에서 기타 병원성균의 생장을 저해(antagonistic effects)하면서 경쟁할 수 있는 주요한 원리 중 하나로 밝혀진 세포외 분비(extracellular secretion)가 가능한 항균성분의 활용성이 보고된 바 있다(Wan *et al.*, 2019). 이에 박테리오파지를 중심으로 한 유

용미생물 유래 항균 기능성 대사산물이 식중독균을 포함한 병원성미생물 제어를 목적으로 활용되어 왔다(Liévin-Le Moal and Servin, 2014; Yang *et al.*, 2014). 항균 기능성 물질은 식품의 생산·가공·유통 환경 중 오염 가능한 병원성·부패미생물 등의 제어에 있어 필수적으로 사용되어야 하나(Costello *et al.*, 2003; Faille *et al.*, 2018), 화학적 합성 살균제·보존제에 대한 소비자의 거부감, 기존에 사용되고 있는 항균 유효성분에 대한 내성을 보유한 신·변종 미생물의 출현 등의 문제로 천연 유래의 신규 항균 물질에 대한 탐색이 요구된다(Chung *et al.*, 2018; Park and Kang, 2021). 이에 유용미생물로부터 생산되는 항균 기능성 물질은 식품 분야에서의 미생물학적 품질 및 안전성 확보를 위한 전략으로서의 가치가 높다고 할 수 있다.

유용미생물이 생산하는 항균성분에 대한 연구는 주로 특정 유용균주와 제어 대상균의 동시배양 또는 대사산물의 제어 대상균 직접 노출 처리를 통한 생장 저해 또는 살균 등 실질적인 효과를 분석하는 방식으로 수행되어 왔다(Goh *et al.*, 2021; Kavitha *et al.*, 2020; Tebyanian *et al.*, 2017). 한편, 항균성분의 생산·조절과 관련된 유용미생물의 유전학적인 특성 분석은 해당 대사물에 의해 기대할 수 있는 항균 활성 스펙트럼과 효능 수준과 관련된 기반 정보를 제공할 수 있으며, 특히 차세대염기서열분석기술(next-generation sequencing technology)의 발전 및 안정화로 인해 특정 균주가 보유한 유전자 전체의 정보를 분석하는 전장유전체를 기반으로 한 항균 특성 연구가 식품 미생물 분야에서도 최근 활발하게 수행되고 있다(Siegert, 2013). 이에 본 총설논문에서는 식품매개 질병 및 식품 품질 저하 원인 미생물의 제어에 활용될 수 있는 유용미생물의 항균 물질 특성 관련 연구 현황과 항균능에 대한 이해 확장을 목적으로 유전체 분석법이 활용되고 있는 대표적인 사례를 종합적으로 분석함으로써 해당 연구 분야의 발전 방향에 대하여 고찰하고자 한다.

본 론

식품매개질병 원인균에 효과를 나타내는 유용미생물의 항균물질 생산 특성 연구 현황

유용미생물을 이용한 식품매개질병 원인균 제어 연구는 유용미생물이 생장할 수 있는 영양분이 제공되는 일반적인 환경에서 생산되는 물질의 효과 분석(Table 1)과 특정 식품 내 유용미생물의 생장·대사 과정을 통해 확보된 발효물의 효과 분석(Table 2)으로 그 유형을 구분할 수 있다.

Table 1. Probiotics strains with antibacterial potential for the application to food products

Category	Major probiotics strain ¹⁾	Major results and implications	Reference
Probiotics capable of the inhibition of bacterial growth	<i>Lactobacillus bulgaricus</i> PTCC 1332, <i>Lactobacillus casei</i> PTCC 1608, <i>Lactobacillus plantarum</i> PTCC 1058, <i>Lactobacillus fermentum</i> PTCC 1638	- Assessment of the inhibitory activity of LAB ²⁾ against pathogens ▶ <i>Escherichia coli</i> , <i>Salmonella paratyphi</i> A, <i>Shigella dysenteriae</i> , <i>Staphylococcus aureus</i>	Tebyanian et al. (2017)
	<i>Lactobacillus</i> sp. LBbb0141, <i>Leuconostoc</i> sp. LBdc0103	- Isolation of LAB ²⁾ from food materials - Identification of LAB with inhibitory activity against representative Gram-positive (G+) and Gram-negative (G-) pathogens ▶ G+: <i>Bacillus megaterium</i> , <i>Listeria ivanovii</i> , <i>S. aureus</i> , <i>Streptococcus</i> sp. Djadouni and ▶ G-: <i>Clostridium</i> sp., <i>E. coli</i> , <i>Pseudomonas</i> sp., <i>Salmonella paratyphimurium</i> Kihal (2012) B, <i>Salmonella typhimurium</i> - Maintenance of the inhibitory activities under broad range of conditions (temperature, pH)	
	<i>L. fermentum</i> LABS1, <i>Enterococcus durans</i> LABS2	- Isolation of LAB ²⁾ from pickled fruits - Identification of LAB with inhibitory activity against representative G+ and G- pathogens ▶ G+: <i>Bacillus cereus</i> , <i>Enterococcus faecalis</i> , <i>Listeria innocua</i> , <i>Listeria monocytogenes</i> , <i>S. aureus</i> ▶ G-: <i>Cronobacter muytjensii</i> , <i>E. coli</i> , <i>Salmonella enterica</i> serovar Poona, <i>Salmonella enterica</i> serovar Typhimurium, <i>Vibrio parahaemolyticus</i>	Mohamad et al. (2022)
	<i>L. plantarum</i> 105/106/1073)	- Isolation of LAB ²⁾ from food materials - Strain-dependent inhibitory activity against pathogens ▶ <i>L. monocytogenes</i> , <i>E. coli</i> O157:H7	Arena et al. (2016)
	<i>Pediococcus acidilactici</i> TN1, <i>Lactobacillus farciminis</i> TY1	- Isolation of LAB from fermented foods - Assessment of inhibitory activity of CFS against <i>L. monocytogenes</i>	Jawan et al. (2019)
	<i>Lactobacillus pentosus</i> A6 <i>Weissella paramesenteroides</i> B5/B103, <i>Enterococcus</i> sp. P1b/H4b/B3b/A2b ³⁾	- Isolation of LAB ²⁾ from stingless bees - Assessment of inhibitory activity of CFS against pathogens ▶ <i>E. coli</i> , <i>L. monocytogenes</i> , <i>S. enterica</i> ▶ Clues for the mechanism of the inhibitory activity as the production of bacteriocin due to the limited spectrum of the antibacterial activity against <i>L. monocytogenes</i>	Goh et al. (2021)
Cell-free culture supernatant (CFS) produced by probiotics	<i>P. acidilactici</i> strain CSI29MX, <i>Pediococcus parvulus</i> strain MF233, <i>Pediococcus pentosaceus</i> strain QN1D	- Isolation of <i>Pediococcus</i> sp. strains from Idli batter - Assessment of the inhibitory activity of CFS against causative agents of foodborne diseases and spoilage - <i>S. aureus</i> , <i>E. coli</i> , <i>Salmonella typhi</i> , <i>B. cereus</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Khandare and Patil (2015)
	<i>L. casei</i> , <i>Lactobacillus delbrueckii</i> , <i>L. fermentum</i> , <i>L. pentosus</i> , <i>L. plantarum</i>	- Isolation of LAB ²⁾ from curd and human milk - Assessment of inhibitory activity of CFS against pathogens ▶ <i>B. cereus</i> , <i>E. coli</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>L. monocytogenes</i> , <i>S. enterica</i> serovar Typhi, <i>Shigella flexneri</i> , <i>S. aureus</i> - Strain-dependent inhibitory effects according to the bacterial species of target pathogens	Sharma et al. (2017)
	<i>Lactobacillus acidophilus</i> L-1, <i>L. brevis</i> 1, <i>L. bulgaricus</i> 6, <i>L. fermentum</i> 1, <i>Lactobacillus helveticus</i> N11/3 ³⁾ , <i>L. plantarum</i> 24-2L/24-4B/24-5D ³⁾ , <i>Bifidobacterium animalis</i> subsp. <i>lactis</i> L-3	- Assessment of inhibitory activity of CFS against pathogens ▶ <i>B. cereus</i> , <i>E. coli</i> , <i>S. aureus</i> - Evaluation of the active antibacterial substances as acids by using neutralized CFS - Strain-dependent inhibitory effects according to the bacterial species of target pathogens - Maintenance of inhibitory activity was observed from neutralized CFS from some strains, highlighting the presence of bioactive antibacterial agents other than acids	Georgieva et al. (2015)

Table 1. Continued

Category	Major probiotics strain ¹⁾	Major results and implications	Reference
Cell-free culture supernatant (CFS) produced by probiotics	<i>L. bulgaricus</i> PTCC 1332, <i>L. casei</i> PTCC 1608, <i>L. fermentum</i> PTCC 1638, <i>L. plantarum</i> PTCC 1058	- Evaluation of the active antibacterial substances as acids by using neutralized CFS - Inhibitory activity was also observed after the neutralization of CFS, highlighting the major antibacterial mechanism as other active substances (e.g. H ₂ O ₂ , bacteriocin, etc.) than acids	Tebyanian <i>et al.</i> (2017)
	<i>L. fermentum</i> LABS1, <i>E. durans</i> LABS2	- Evaluation of the active antibacterial substances as acids, H ₂ O ₂ , and bacteriocin by using neutralized, catalase-treated, and trypsin-treated CFS, respectively - Loss of inhibitory activity was observed from only neutralized CFS, highlighting the major antibacterial mechanism as acids	Mohamad <i>et al.</i> (2022)
	<i>L. fermentum</i> S1/S2/S8/S16 ³⁾ , <i>L. plantarum</i> S17, <i>Lactobacillus rhamnosus</i> S19, <i>Lactobacillus paracasei</i> S14	- Isolation of LAB ²⁾ from infant feces - Assessment of inhibitory activity of CFS against pathogens ▶ ETEC, <i>S. flexneri</i> , <i>Shigella sonnei</i> , <i>Salmonella enteritidis</i> , <i>Yersinia enterocolitica</i> - Evaluation of the active antibacterial substances as acids and H ₂ O ₂ by using neutralized and catalase-treated CFS, respectively - Loss of inhibitory activity was observed from both neutralized and catalase-treated CFS, highlighting the major antibacterial mechanism as acids and H ₂ O ₂ , not from bacteriocin or bacteriocin-like compounds	Davoodabadi <i>et al.</i> (2015)
	<i>L. plantarum</i> KJB23	- Production of compound with antibacterial activity (3,4,5,8-tetrahydroxyhexahydro-2H-pyrano[2,3-d][1,2]dioxin-2-one) against <i>L. monocytogenes</i> - Stability and the expected antibacterial mechanisms were investigated.	Kavitha <i>et al.</i> (2020)
	<i>L. paracasei</i> ZFM54	- Production of bacteriocin with antibacterial activity against foodborne pathogens ▶ <i>S. typhimurium</i> , <i>L. monocytogenes</i> , <i>Micrococcus luteus</i> - Stability of bacteriocin was investigated.	Ye <i>et al.</i> (2021)
Purified antibacterial agents produced by probiotics	<i>Lactobacillus coryniformis</i> MXJ	- Production of bacteriocin with antibacterial activity against antibiotic-resistant bacterial foodborne pathogens ▶ <i>Cronobacter sakazakii</i> , <i>E. coli</i> , <i>L. monocytogenes</i> , <i>Salmonella</i> sp., <i>S. aureus</i> - Stability of bacteriocin was investigated.	Xin <i>et al.</i> (2014)
	<i>L. helveticus</i> , <i>L. plantarum</i>	- Production of bacteriocin with antibacterial activity against antibiotic-resistant G+ and G- bacterial foodborne pathogens ▶ G+: <i>Bacillus subtilis</i> , <i>Enterococcus faecium</i> , MRSA ⁴⁾ , <i>Streptococcus pyogenes</i> , <i>S. aureus</i> ▶ G-: <i>Acinetobacter baumannii</i> , <i>E. coli</i> , <i>K. pneumoniae</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>S. paratyphi</i> A - Stability and the expected antibacterial mechanisms of bacteriocin were investigated.	Hassan <i>et al.</i> (2020)
	<i>L. acidophilus</i> NCFM, <i>Lactobacillus crispatus</i> JCM 5810, <i>Lactobacillus gallinarum</i> ATCC 33199, <i>L. helveticus</i> CNRZ32	- Assessment of the ability of LAB ²⁾ to produce lactic acid sufficient for the inhibition and inactivation of <i>Campylobacter jejuni</i> - Expected antibacterial mechanisms were investigated.	Neal-McKinney <i>et al.</i> (2012)

¹⁾ Strain name (including the nomenclature of genus and species of that strain) used in the cited article was indicated.

²⁾ LAB: Lactic acid bacteria.

³⁾ Multiple strains within the same bacterial species were indicated by using the symbol “/”.

⁴⁾ MRSA: Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*.



유용미생물 및 대사산물의 항균능 분석

Table 1에 나타난 바와 같이 유용미생물의 항균능 분석 연구의 대상은 [동시배양 기반 유용미생물의 타 미생물 제어능—무세포상등액(Cell-free culture supernatant; CFS)의 항균능—미생물로부터 분리·정제된 특정 항균 유효성분의 항균능]과 같이 주요 항균물질에 대한 정제 수준에 따라 구분할 수 있다.

먼저 동시배양 기반 유용미생물의 타 미생물 제어능 분석의 경우, 해당 미생물과 제어 대상 병원성균을 고체배지 상에서 동시배양 시 생장 저해가 나타나는 수준에 따라 그 효과를 입증할 수 있다. *Lactobacillus* 속에 포함되는 다양한 균종(*Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus plantarum*)의 대표적인 식중독균 대상 효과는 대표적인 유용미생물의 항균능 연구 사례로 다수 보고된 바 있다(Tebyanian *et al.*, 2017). Djadouni와 Kihal(2012)의 연구에서는 다양한 식품 원료 및 부산물(유제품, 육제품, 농산물 등)에서 유산균(Lactic acid bacteria, LAB)을 분리한 뒤 그람음성 및 그람양성 지표균을 대상으로 한 생장 억제 효과를 입증하였으며, 특히 pH 및 생산 온도 등 해당 미생물이 노출될 수 있는 환경을 고려하였을 때 다양한 조건에서 안정적인 효능 스펙트럼을 나타내는 미생물로 *Lactobacillus* 및 *Leuconostoc* 속에 속하는 균주를 제안하고, 최대 활성이 나타날 수 있는 조건을 제시하였다. Mohamad 등(2022)의 연구 역시 다양한 종류의 그람음성 및 그람양성 지표균을 대상으로 생장 저해 효과를 나타내는 LAB 균주(*Lactobacillus* 속 및 *Enterococcus* 속)를 절인 과일류에서 분리·동정하여 다양한 속의 LAB가 주요 병원성균들에 대한 광범위한 제어능을 보유하고 있음을 시사하였다. 다만 *L. plantarum* 균종에 해당하는 3가지 균주의 그람양성(*Listeria monocytogenes*) 및 그람음성(*Escherichia coli* O157:H7) 균 생장 저해능을 평가한 Arena 등(2016)의 연구를 통해서 시사된 바와 같이 동 균종에 속하는 균주에 따라서도 효능을 나타내는 제어 대상 균종이 상이하기 때문에, 유용미생물의 항균능은 속 또는 종 특이적인 현상보다는 균주특이적 특성으로 이해해야 한다.

유용미생물과 제어 대상 미생물 간 동시 배양을 기반으로 한 항균 스크리닝 연구는 생장 제어능을 보유한 미생물을 선별하는 과정에 활용될 수 있으나, 해당 효과가 나타나는 원인을 파악하기 위해서는 유용미생물이 생산한 항균 기능성 물질의 분석이 가능한 CFS의 항균능 평가가 수행되어야 한다. *L. monocytogenes*는 LAB를 중심으로 한 유용미생물에 의해 효율적으로 제어될 수 있는 대표적인 식중독균 중 하나로, 유용미생물에 의한 박테리옌 생산이 항균능의 주요 기작으로 알려져 있다(Jawan *et al.*, 2019). Goh 등(2021)의 연구에서는 *Lactobacillus pentosus*, *Weissella paramesenteroides*, *Enterococcus* sp.와 같은 LAB를 이용하여 다양한 식

중독균(*L. monocytogenes*, *E. coli*, *Salmonella enterica*)의 생장 제어 가능성을 평가하였으나 *L. monocytogenes*에 대해서만 효능이 나타났다는 결과를 기반으로 박테리옌 생산이 주요한 항균 기작임을 시사하기도 하였다. 다만 *L. monocytogenes* 외에도 넓은 범위의 항균 스펙트럼을 나타낼 수 있는 유용미생물 및 CFS의 발굴을 위하여 식중독 및 식품 부패 원인균에 대한 효능 분석이 수행된 바 있다(Khandare and Patil, 2015). 특히 다양한 *Lactobacillus* 속의 균종(*L. casei*, *Lactobacillus delbrueckii*, *L. fermentum*, *L. pentosus*, *L. plantarum*)에 해당하는 식품분리 균주(카드 및 모유)로부터 확보한 CFS의 항균능 평가 연구 결과에 따르면 제어 가능 균종 분포가 균주특이적이라는 점과 그람양성균·그람음성균 모두에 대한 효과(e.g. *Bacillus cereus*, *S. enterica*, *Shigella flexneri*)가 나타날 수 있음을 밝힘으로써 박테리옌 외 CFS를 구성하는 항균 기능 후보물질(e.g. 유기산, 지방산, 기타 박테리옌 외 항균능 보유 대사물질)에 대한 추가적인 분석 필요성이 강조되었다(Sharma 등, 2017). 박테리옌을 포함한 유용미생물이 생산할 수 있는 대표적인 항균 유효성분은 유기산 및 H₂O₂로 알려져 있으며, 유용미생물로부터 분리한 CFS의 유효성분별 불활성화 처리를 통해 각 유효성분의 항균 활성 기여 정도를 판단하는 연구가 보고되어 왔다(Davoodabadi *et al.*, 2015; Georgieva *et al.*, 2015; Mohamad *et al.*, 2022; Tebyanian *et al.*, 2017). 식중독균 제어능을 보유한 *Lactobacillus* 및 *Bifidobacterium* 균주로부터 확보한 CFS와 중화 처리된 CFS의 병원성균(*Staphylococcus aureus*, *E. coli*, *B. cereus*) 생장 저해능을 비교한 Georgieva 등(2015)의 연구 결과에 따르면 중화 이후에도 CFS의 효과가 유지되는 일부 균주가 확보될 수 있었고, 이는 CFS 내에 산 외에도 항균성분이 생산되었을 가능성과 pH 저하 외 항균 기작의 존재를 시사하였다. Tebyanian 등(2017)의 연구 또한 neutralized CFS의 식중독균 생장 제어 효과가 유용미생물과 제어 대상균 간 동시배양을 통해 확인된 효과와 동 수준임을 확인함으로써 항균 기작이 산 생산에 의한 pH 저하가 아닌 기타 항균성분(e.g. H₂O₂, 박테리옌)의 생산일 수 있다는 가능성을 검증하였다. 다만 pH가 조정된 neutralized CFS, H₂O₂이 불활성화된 catalase-treated CFS, 박테리옌이 불활성화된 trypsin-treated CFS를 이용하여 주요 병원성 그람양성균·그람음성균 제어능을 분석한 Mohamad 등(2022)의 연구에서는 중화된 CFS의 한하여 항균 효과가 소실되었으며, 유기산의 존재로 인한 CFS의 산성 조건이 항균 활성에 기여하는 한편, H₂O₂ 또는 박테리옌의 경우 생산되지 않거나 충분한 항균능을 나타내지 못하는 경우도 존재할 수 있음이 제시되었다. 반면 모유수유 유아의 분변에서 분리된 *Lactobacillus* 균주의 장 병원성균(e.g. Enterotoxigenic *E. coli*, *S. flexneri*, *Shigella*

sonnei, *Salmonella enteritidis*, *Yersinia enterocolitica*) 생장 제어 연구에서는 유기산 또는 과산화수소의 생성을 주요한 기작으로 추정하는 한편 neutralized CFS뿐만 아니라, catalase-treated CFS의 무처리 CFS 대비 항균 효과 감소가 나타나 박테리오신 또는 박테리오신 유사물질(bacteriocin-like compounds)에 의한 항균 효과는 미미하거나 없는 것으로 추정하였다(Davoodabadi *et al.*, 2015).

CFS의 경우 미생물의 생장 과정에서 생산된 다양한 대사산물의 복합체이기 때문에 특정 항균유효성분의 불활성화(neutralized, catalase-treated, trypsin-treated CFS)를 기반으로 단일 성분별 항균능 기여 여부를 유추할 수는 있으나, 특정 항균유효성분의 효능 검증을 위해서는 추가적인 정제가 요구된다. 일반적으로 유용미생물이 생산하는 항균물질의 스크리닝을 통해 기존에 대상 식육종균에 대한 효능이 보고된 바 없는 소재를 신규 발굴하는 것을 목적으로 하는 연구가 보고되고 있으며, 분리정제 후 구조 및 기작 분석과 함께 독성 분석을 진행하여 활용성을 검증할 수 있다(Kavitha *et al.*, 2020). 유용미생물이 생산할 수 있는 주요 항균 유효성분의 분리는 특히 박테리오신을 중심으로 한 연구가 진행되어 왔으며 식품(Mokoena *et al.*, 2021), 바이오필름(Pang *et al.*, 2022; Pérez-Ibarreche *et al.*, 2016), 표면(Camargo *et al.*, 2018b) 등을 대상으로 한 박테리오신의 활용 가능성이 보고되어왔다. 박테리오신의 효과는 *L. monocytogenes*를 중심으로 한 그람양성균에 한정되는 것으로 알려져 있으나, 다양한 종류의 그람음성 병원성균(e.g. *Salmonella typhimurium*, *E. coli*, *Cronobacter sakazakii*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*)에도 효과를 나타내는 유용미생물 생산 박테리오신에 대한 연구가 활발히 수행되고 있으며, 정제된 박테리오신의 안정성과 기작 구명을 통해 그 활용 범위를 넓히고자 하는 노력이 지속되고 있다(Hassan *et al.*, 2020; Xin *et al.*, 2014; Ye *et al.*, 2021).

한편 유산균에 의하여 생산되는 유기산의 경우 pH 저하뿐만 아니라, 해당 물질의 구조적 특성에 기인한 항균 기작이 기 보고된 바 있으므로, 유용미생물의 배양 조건에 따른 대사산물(산) 생산 특성 및 제어 대상균과의 상호작용에 대한 분석은 유기산의 pH-비의존적 기작에 대한 이해를 확장하는 것에 기여할 수 있다. Neal-McKinney 등(2012)의 연구에서는 다양한 *Lactobacillus* 균종(*Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus crispatus*, *Lactobacillus gallinarum*, *Lactobacillus helveticus*)에 속하는 균주로부터 생산된 젖산의 *Campylobacter jejuni* 균주의 세포막 파괴 기반 생장 억제 효과를 보고한 바 있다.

분석 연구의 대상(미생물, CFS, 유효성분 등)과는 관계없이 유용미생물의 항균능을 검증하는 다수의 연구에서는 선별된 균주의 장 건

강 개선용 또는 미생물공학적으로 활용 가능한 산업용 우량균주로서의 기능을 검증하는 연구가 동반된다는 특징이 있다. 유용미생물이 섭취를 전제로 한 장 건강 개선 목적으로 활용되기 위해서는 장내 환경에 대한 저항성 및 생존능을 확보하고 있어야 하며(Jawan 등, 2019), 높은 장세포 부착능(Davoodabadi *et al.*, 2015)과 함께 항생제 내성과 용혈성 및 병원성(virulence)으로 대표되는 잠재적·직접적 위해성에 대한 검증이 요구된다(Georgieva *et al.*, 2015). 한편 유용미생물 균주를 대상으로 한 탄소원 발효특성, 당류 및 단백질 가수분해능 등의 생화학적 특성 분석은 산업적으로 활용할 수 있는 발효균주로서의 기능성 및 적용성 검증의 근거로 활용될 수 있다(Goh *et al.*, 2021).

유용미생물을 활용한 식품 발효물의 항균능 분석

유용미생물에 의해서 발효된 식품으로부터 추출한 항균성분의 효능을 분석한 연구의 대표적인 사례는 Table 2에 나타난 바와 같다. 치즈 제조 시 프로바이오틱스 균주를 활용함으로써 수용성 추출물(water-soluble extract, WSE)의 항균력을 향상시킬 수 있었으며, 발효 과정 중 유용미생물의 단백질 분해효소에 의해 원료가 분해되어 생산된 펩타이드가 항균력 증진에 기여했을 것이라 추정하였다(Mushtaq *et al.*, 2019). 무지방 우유를 원료로 한 발효유의 경우 무세포유청(Cell-free whey; CFW)의 식육종 원인균 생장 저해 효과가 보고되었으며, 효능이 나타난 균주의 CFS에 의한 효과와 비교하였을 때 상이한 결과를 나타내 발효유 내 다양한 항균 기능성 물질이 발효산물로서 생산되었음을 시사하였다(Georgieva *et al.*, 2015). 한편 Hashemi 등(2017a) 및 Jiang 등(2016)의 연구에서도 알로에나 레몬 주스 등 식품의 발효를 통해 CFS의 항균력이 향상된 결과를 보고하였으며, 특정 식품의 항균능을 향상시키는 목적으로 유용미생물이 활용될 수 있음을 입증하였다. 다만 식품 발효물의 경우, 원료가 되는 기질의 성분에 따라 다양한 대사산물이 생산될 수는 있으나, Hashemi 등(2017b)의 연구를 통해 보고된 바와 같이 그람음성균보다 그람양성균에서 유용미생물 식품 발효물의 효능이 높게 나타나는 현상은 CFS를 이용한 일반적인 연구 결과들과 유사하게 박테리오신이 주요 항균물질임을 시사하며, 이에 항균 스펙트럼 확장을 위한 전략 마련이 필요할 것으로 판단된다.

유용미생물을 대상으로 한 유전체 분석의 목적

프로바이오틱스를 대상으로 한 유전체 분석 연구는 다음과 같은 유형으로 구분될 수 있다: 1) 특정 균주의 전장유전체 서열 분석 결과 보고·공유, 2) 유전체 분석 기반 구축 및 개선, 3) 유용미생물로서의 기능성 검증, 4) 유용미생물로서의 안전성 검증, 5) 산업적 이용을 위한 우량균주로서의 활용성 검증, 6) 유전자 편집 기반의 균주

Table 2. Food ferments with antibacterial potential by using probiotics strains

Food source	Major probiotics strain ¹⁾	Major results and implications	Reference
Cheese	<i>Lactobacillus plantarum</i> NCDC 012, <i>Lactobacillus casei</i> NCDC 297, <i>Lactobacillus brevis</i> NCDC 021	<ul style="list-style-type: none"> - Assessment of inhibitory activity of water-soluble extract against pathogens ▶ <i>Enterococci faecalis</i>, <i>Escherichia coli</i>, <i>Micrococcus luteus</i>, <i>Proteus vulgaris</i>, <i>Salmonella typhi</i>, <i>Staphylococcus aureus</i> - Increase of the antibacterial activity of the cheese by the addition of probiotics due to the peptides generated by proteolytic enzymes secreted by probiotics during fermentation. 	Mushtaq et al. (2019)
Skim milk	<i>Lactobacillus acidophilus</i> L-1, <i>L. brevis</i> 1, <i>Lactobacillus bulgaricus</i> 6, <i>Lactobacillus helveticus</i> N11/3 ²⁾ , <i>Lactobacillus fermentum</i> 1, <i>L. plantarum</i> 24-2L/24-4B/24-5D ²⁾ , <i>Bifidobacterium animalis</i> subsp. <i>lactis</i> L-3	<ul style="list-style-type: none"> - Assessment of inhibitory activity of whey (cell-free whey fractions; CFW) against ▶ <i>Bacillus cereus</i>, <i>E. coli</i>, <i>S. aureus</i> - Strain-dependent inhibitory effects according to the bacterial species of target pathogens - Maintenance of inhibitory activity was observed from neutralized CFW from some strains, highlighting the presence of bioactive antibacterial agents other than acids 	Georgieva et al. (2015)
Sweet lemon juice	<i>L. plantarum</i> LS5	<ul style="list-style-type: none"> - Assessment of inhibitory activity of cell-free culture supernatant from fermented sweet lemon juice against pathogens ▶ <i>E. coli</i> O157:H7, <i>Salmonella</i> Typhimurium 	Hashemi, Khaneghah, et al. (2017)
Sarshir (kaymak)	<i>L. plantarum</i> LP3/AF1/LU5 ²⁾	<ul style="list-style-type: none"> - Assessment of inhibitory activity against Gram positive (G+) and Gram negative (G-) pathogens ▶ G-: <i>E. coli</i> O157:H7, <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ▶ G+: <i>B. cereus</i>, <i>S. aureus</i> - Higher inhibitory activity against G+ than G- highlighted the major mechanism as the production of bacteriocin 	Hashemi, Mousavi Khaneghah, et al. (2017)
Aloe	<i>L. plantarum</i> HM218749. 1	<ul style="list-style-type: none"> - Assessment of inhibitory activity of cell-free culture supernatant from fermented aloe ▶ <i>E. coli</i>, <i>Listeria monocytogenes</i>, <i>Salmonella enteritidis</i>, <i>S. typhimurium</i>, <i>Shigella flexneri</i>, <i>Shigella dysenteriae</i>, <i>S. aureus</i> - Additional ingredients (e.g. prebiotics) used during the fermentation could contribute to the antibacterial activity 	Jiang et al. (2016)

¹⁾ Strain name (including the nomenclature of genus and species of that strain) used in the cited article was indicated.

²⁾ Multiple strains within the same bacterial species were indicated by using the symbol "f".

기능성·활용성 개선.

NGS 등 생물정보 분석 기술의 발달로 2000년대 이후 다양한 미생물에 대한 유전체 서열 분석 사례(draft and/or complete genome)가 지속적으로 보고되었으며(Boetzer and Pirovano, 2014; Cho et al., 2019; Salzberg, 2019; Thakur et al., 2016), 특히 의학·산업적 중요도가 높은 유용미생물의 경우 다양한 균종에 해당하는 균주에 대한 연구가 수행되었다: *Bifidobacterium* sp.(Sun et al., 2010; Yu et al., 2013), *Lactobacillus* sp.(Falentin et al., 2010; Pridmore et al., 2004; Wang et al., 2011), *Escherichia* sp.(Grozdanov et al., 2004; Reister et al., 2014), *Enterococcus* sp.(Fritzenwanker et al., 2013; Karaseva et al., 2016), *Pediococcus* sp. (Barreau et al., 2012; Kim et al., 2017).

특히 연구 초기에는 주로 draft genome sequence가 보고되었으나, 상용 유용미생물 균주의 경우 상업적으로 활용을 위해서는 유전체 내 존재하는 안전성 관련 유전자의 유무에 대한 철저한 검증이 요구되기 때문에 complete genome sequence의 분석 필요성이 강조되어 왔다(Falentin et al., 2010; Mazé et al., 2010; Zhang et al., 2009).

Genome 분석의 정확도 및 효율성을 증대시키기 위한 연구의 경우 대표적인 생물정보 데이터베이스(e.g. NCBI Genbank) 내 기

보고된 정보의 수정·보완이나 유전체 정보의 해석에 활용될 수 있는 기반 정보의 확장을 그 목적으로 한다. 새로운 기술(e.g. Solexa technology)을 이용한 유전체 재분석(resequencing, reannotation) 연구는 기존 결과 간 비교를 통해 기 보고된 유전체 정보를 수정·보완함으로써 유전체 내 대표 기능·조절 유전자의 유형 및 분포에 대한 이해를 확장하고 있다(Siezen *et al.*, 2012). 한편 주요 프로바이오틱스 속(e.g. *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*)의 유사 유전자군 분석(Orthologous gene cluster analysis) 결과는 군주 또는 군중별 범유전체(pan-genome) 및 핵심유전체(core genome) 정보를 제공함으로써 유전체 라이브러리 구축에 기여하고 있다(Satti *et al.*, 2018).

유용미생물의 기능성을 중심으로 한 유전체 연구는 장 환경에 대한 저항성 및 생존능(e.g. ATP synthesis for pH homeostasis, acid-tolerance, bile-tolerance, ADI pathway for the neutralization of bacterial internal pH), 장세포 부착능(e.g. the ability for the adhesion and aggregation of probiotics strains at the surface of epithelial cells), 숙주의 영양 환경에 대한 적응력(e.g. the utilization of wide-range of carbohydrates and proteins), 숙주가 섭취할 수 있는 항생제에 대한 저항성(e.g. antibiotic-tolerance), 장관계 감염성 유해미생물에 대한 경쟁 능력(e.g. competitive exclusion of enteropathogenic bacteria) 등 유용미생물이 안정적으로 기능성을 나타낼 수 있도록 하는 단백질 발현 유전자의 유전체 내 존재 여부 및 분포 특성을 분석하는 연구가 보고되어 왔다(Kapse *et al.*, 2019; Khatri *et al.*, 2019; Seddik *et al.*, 2017). 한편 비교유전체 분석(comparative genome analysis)의 경우 인간 모유 올리고당(human milk oligosaccharides; HMOs)의 대사 패턴에 대한 심층 분석 등 특정 영양 성분의 군주별 활용 특성 차이의 원인을 군주 간 유전체 구조를 기반으로 제시하여 기능성이 우수한 유용미생물의 발굴에 활용할 수 있도록 한다(Duar *et al.*, 2020).

섭취가 가능한 유용미생물은 반드시 안전성에 대한 검증이 완료되어야 하며, 유전체 분석을 기반으로 한 위해요인별 유전자 무무 분석 방식이 국내외 식품 및 미생물 안전관리 유관기관으로부터 제공되는 공인 시험 절차·조건으로서 일반적으로 시행되고 있다(Kwon *et al.*, 2021). 대표적으로 독성인자(virulence factors), 항생제 내성(antibiotic resistance), 유해 대사산물 생산(e.g. biogenic amines)과 관련된 단백질 합성 유전자의 스크리닝 방식이 이용된다(Alayande *et al.*, 2020; Salvetti *et al.*, 2016). 또한 유전체 내 항생제 내성 관련 유전자(e.g. mutations, genomic islands, mobile genetic elements) 등 위해요소의 유용미생물 군주별 분포 특성을 상호 비교 분석하거나, 유전형-표현형 간 비교를 통해

유전체 내 존재하는 유전자의 발현 특성을 고찰함으로써 실질적인 위해도를 예측하는 연구가 수행되고 있다(Rozman *et al.*, 2020; Salvetti *et al.*, 2021).

미생물유래소재 생산원으로 사용되는 산업적 유용미생물의 경우, 유전체 내 해당 소재와 연계된 대사 경로에 포함되는 기능유전자의 분포 특성을 기반으로 우량균주로서의 활용성 검증이 가능하다(Kleerebezem *et al.*, 2003). 일반적으로 발효용 기질의 종류별로 확보 가능한 대사산물의 종류와 양, 대사 패턴은 군주특이적으로 나타나기 때문에 다양한 군주 간 대사 관련 생리·생화학적 특성 및 비교유전체 분석을 통해 우량균주를 선별하는 방식의 연구가 수행되어 왔다(Molenaar *et al.*, 2005; Siezen and van Hylckama Vlieg, 2011). 또한 유전체 분석은 특정 대사와 관련된 기능유전자 및 조절유전자에 대한 정보를 종합적으로 제공하기 때문에, 대사 모델의 설계를 기반으로 산업적 미생물유래소재 생산 과정에서 바이오매스(biomass) 생산 효율성의 최적화를 위한 발효 디자인 설계가 가능한 것으로 알려져 있다(Teusink *et al.*, 2006).

유전체 서열 분석은 일반적으로 분석 대상 군주가 현재 보유하고 있는 유전자들에 대한 정보를 제공하기 때문에 해당 군주의 대사·생장 등 자연적인 생활사를 이해하기 위한 목적으로 활용되나, 최근에는 유전체 정보를 통해 파악한 유용미생물 군주의 한계를 극복하기 위한 유전자 편집 기술의 이용 및 우량균주의 기능성·적용성 개선 우수사례가 보고되고 있어 유전체 정보의 활용 관련 연구 분야를 새롭게 개척하고 있다(Van Pijkeren and Barrangou, 2017).

항균 물질 생산이 가능한 유용미생물 대상 유전체 분석 연구의 유형

유전체 분석 연구가 대중적으로 수행되던 2010년 전후 유용미생물이 보유한 항균 물질 생산 유전자의 분석은 전장유전체 내 박테리 오신 등 항균 유효성분과 관련된 단백질 발현 유전자의 주석(annotation) 분석 결과를 단순 보고하는 방식으로 진행되었다(Camargo *et al.*, 2018a; Morita *et al.*, 2009). 이후 유전자 서열분석 기술의 발전과 유용미생물의 항균능에 대한 관심이 증대되었으며, 항균 유효성분을 생산할 수 있는 유용미생물과 관련된 최근 유전체 연구 현황 파악을 위한 대표적인 연구 사례는 Table 3에 정리된 바와 같다.

대부분의 유전자 발굴에 공통적으로 적용 가능한 일반적 유전체 분석 도구(annotation tool)를 활용하여 박테리오신을 포함한 항균 성분의 생산·조절 관련 유전자를 확인하는 연구는 꾸준히 보고되고 있으며, 특히 다수의 군주가 보유한 유전자와 군주특이적으로 나타나는 유전자의 분포 특성에 대한 비교 연구가 수행되었다(Li *et al.*, 2016; Tarrah *et al.*, 2020; van den Nieuwboer *et al.*,

Table 3. Previous research regarding the genomic analysis with the perspective of the antibacterial potential

Category	Probiotics strain ¹⁾	Accession number	Major annotation tools	Reference
General annotation reports of antimicrobial proteins from genome sequences	<i>Lactobacillus paracasei</i> DTA93	VTYT000000000	RAST	Tarrah et al. (2020)
	<i>Lactobacillus plantarum</i> LZ206	CP015966	NCBI Prokaryotic Genome Annotation Pipeline	Li et al. (2016)
	<i>Bacillus clausii</i> ENTPro	CP012475	RAST	Khatri et al. (2019)
Functional annotation specialized for antimicrobial proteins	<i>Lactobacillus acidophilus</i> LA1	CP017062	BAGEL	Chung et al. (2018)
	<i>Enterococcus durans</i> OSY-EGY	GCA_004330425.1	antiSMASH, BAGEL	Hussein et al. (2020)
	<i>Lactobacillus pentosus</i> SLC13	CP021675	BACTIBASE, BAGEL, RAST	Huang et al. (2018)
	<i>L. plantarum</i> EM	CP037429.1	BAGEL, BLASTP, RAST	Kim et al. (2020)
	<i>Pediococcus acidilactici</i> HN9	CP061715	BAGEL, BLASTX	Surachat et al. (2020)
	<i>P. acidilactici</i> ATCC 8042	CP033438	RAST, Prokka, HyPe	Cho et al. (2019)
	<i>Lactobacillus taiwanensis</i> CLG01	CP059276	NCBI non-redundant database	Li et al. (2021)
Assessment of the antibacterial effects followed by the general annotation reports of antimicrobial proteins	<i>L. paracasei</i> ZFM54	CP032637.1	NCBI Prokaryotic Genome Annotation Pipeline	Qureshi et al. (2020)
	<i>Lactobacillus fermentum</i> SK152	PRJNA318540	BAGEL, BLASTP	Yoo et al. (2017)
	<i>L. pentosus</i> DZ35	VUBB000000000	BAGEL, RAST	Yi et al. (2020a)
Assessment of the antibacterial effects followed by the functional annotation specialized for antimicrobial proteins	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i> R23	- ³⁾	BACTIBASE, BAGEL	Barbosa et al. (2021)
	<i>L. pentosus</i> MS031	CP043671	BAGEL, RAST	Yi et al. (2020b)
Genome and metabolites analysis for the purification of antimicrobial proteins	<i>L. pentosus</i> MS031	CP043671	BAGEL, RAST	Yi et al. (2020b)
Comparative genomics of antimicrobial proteins	<i>P. acidilactici</i> strains (n = 41) ²⁾	- ^{2), 3)}	BAGEL, BLASTP	Li et al. (2021)
Comparative genomics and characterization of antimicrobial potential based on phenotype-genotype relationship	<i>Bifidobacterium</i> sp. (n = 12), <i>Lactobacillus</i> sp. (n = 46) ²⁾	- ^{2), 3)}	BACTIBASE, BAGEL	Darvishi et al. (2021)

¹⁾ Strain name (including the nomenclature of genus and species of that strain) used in the cited article was indicated.

²⁾ In the case of comparative genomics, the multiple strains were used for the analysis and the name of the strains with accession numbers were omitted in this table. The contents in the parenthesis indicate the number of strains used for the comparison.

³⁾ Accession number was not indicated in the cited article.

2016). 단일 균주의 유전체 내에도 다양한 종류의 박테리오파지와 연계된 유전자가 존재할 수 있으며, 유전자 분포를 통해 생산 가능성이 확인된 박테리오파지의 종류·유형에 따라 생장을 제어할 수 있는 미생물 균종 및 항균능을 나타내기 위해 요구되는 환경 조건을 추정할 수 있어 유전체 정보가 해당 균주를 항균물질 생산원으로서 활용하기 위한 전략을 구축하는 기반으로 활용되고 있다(Khatri *et al.*, 2019).

한편 일반적 유전체 분석 도구(annotation tool)와 더불어 박테리오파지 등 특정 항균성분과 관련된 유전자와 해당 유전자에 의해 발현되어 생산될 수 있는 단백질의 분석에 특화된 별도의 분석 도구가 이용되고 있으며, 주로 박테리오파지에 특화된 데이터베이스(e.g. BAGEL)를 통해 주요 분석 대상 기능유전자뿐만 아니라 관련성이 있는 기타 유전자에 대한 보다 구체적인 정보를 확보할 수 있다(Chung *et al.*, 2018; Hussein *et al.*, 2020). 이처럼 유전체 해석에 다양한 소프트웨어 및 데이터베이스를 이용할 경우, 해당 분석 도구의 적용 시 확보되는 각 결과물 간의 상호 비교를 통해 정확도 높은 항균성분 관련 유전자 분포 정보를 얻을 수 있음이 입증된 바 있다(Huang *et al.*, 2018). 이와 같은 연구는 박테리오파지 생산을 직접적으로 담당하는 유전자뿐만 아니라, 핵심 기능유전자 주변에 존재하는 개방형 해독틀(Open reading frame, ORF)의 효율적이고 정확한 분석에 기여하며, 타 균주와의 계통학적인 연관성이나 박테리오파지 관련 유전자 클러스터(gene cluster) 보유 특성을 비교함으로써 분석 대상 세균이 특이적으로 보유한 내재적 특성을 파악할 수 있다(Kim *et al.*, 2020; Surachat *et al.*, 2020). 유용미생물의 경우 주로 박테리오파지와 관련된 연구가 보고되고 있으나, 그 외에도 peptidoglycan hydrolase 등 항균 유효성분별로 특화된 유전체 분석 소프트웨어 및 데이터베이스가 제공되고 있다(Cho *et al.*, 2019).

유용미생물 균주의 병원성균을 대상으로 한 실질적인 항균 효과를 분석하는 연구를 항균 유효성분 관련 기능·조절유전자(e.g. gene cluster, bacteriocin immunity proteins, bacteriocin secretion accessory proteins) 중심의 유전체 분석과 함께 수행할 경우 항균 효능이 높은 균주의 유전형질을 결정하거나 제어 대상균의 생장 저해능 기작의 파악이 가능하다(Li *et al.*, 2021; Qureshi *et al.*, 2020).

특히 실험적으로 관찰 및 증명 가능한 제어 가능한 항균 스펙트럼 및 효능 수준으로 대표될 수 있는 표현형적 특성 분석과 박테리오파지 관련 유전자에 특화된 유전체 분석 도구(annotation tool)가 연구에 활용될 경우 유용미생물의 항균 특성에 대한 종합적인 이해가 가능할 것으로 기대된다(Barbosa *et al.*, 2021). 특히 단일 연구에서 항균능을 기준으로 효능이 높은 균주를 스크리닝 및 분리하

는 과정을 수행한 뒤 해당 우량균주를 대상으로 한 유전체 분석이 연속적으로 수행되는 연구 또한 다수 보고되고 있으며, 항균능 관련 유전자의 분포는 각 균주가 나타내는 특이적인 효과 스펙트럼이나 제어능 수준에 대한 기작 구명 근거로 활용될 수 있다(Yi *et al.*, 2020a; Yoo *et al.*, 2017). 더욱이 단일 연구 내에서 유용미생물의 항균능 평가와 유전체 분석뿐만 아니라 최종적으로 신규 발굴된 항균 유효성분의 분리·정제까지 수행하는 경우도 보고되고 있으며, 이러한 연구는 유효성분의 소재화 가능성을 종합적으로 파악할 수 있다는 측면에 있어 강점이 있다(Yi *et al.*, 2020b).

한편 다수의 균주로부터 확보한 유전체 정보로 수행되는 비교유전체 분석(comparative genome analysis)의 경우 유용미생물 균주별 표현형적·유전학적 구분을 위한 기초 자료를 제공한다. 동 유용미생물 균종을 구성하는 균주 간 항균능 중심의 비교유전체 분석을 수행한 Li 등(2021)의 연구에 따르면 단일 균주 유전체 분석은 박테리오파지 특화 데이터베이스 기반 오피론 분석과 함께 단백질 구조 및 도메인 분석을 통해 박테리오파지의 유형별 구조 및 특성에 대한 추정을 가능하게 하며, 균주별 유전체 간 비교를 통해서도 진화론적 관계성 분석이나 균주 간 공통적으로 나타나는 구조적 특성을 파악하는데 기여한다.

다만, 비교유전체 분석과 실질적 항균 효능 시험을 동시에 진행함으로써 항균능 관련 표현형과 유전형 간의 관계성(genotype-phenotype relationship)을 분석한 Darvishi 등(2021)의 연구에서는 균주별로 보유하고 있는 항균성분 관련 기능유전자의 개수나 종류와 실질적인 항균 효능 간 연관성이 없는 경우(예: 박테리오파지 관련 유전자를 적게 보유하고 있는 균주가 해당 유전자 또는 유사한 기능성의 유전자를 다양하게 또는 많이 보유하고 있는 균주보다 실질적인 병원성균 생장 저해능이 높은 경우)가 존재하므로 항균능 평가를 위한 유전체 연구는 표현형적 특징에 대한 검증을 함께 수행해야 한다는 점을 강조하였다.

결론

유용미생물이 생산하는 항균성분과 관련된 연구는 지속적으로 보고되고 있으나 식중독균의 경우 다수의 연구에서 제한적 스펙트럼 및 생장 제어 수준의 효과가 주로 보고되고 있기 때문에 실질적인 적용 과정에서는 항균능을 향상시킬 수 있는 효율적 전략이 필요할 것으로 보인다. 특히 유용미생물-식중독균 간 동시 배양 방식 및 CFS를 통해 효능이 확인된 사례에 대하여 대사산물 내 실질적인 유효성분을 발굴하기 위한 정제 연구가 수행될 필요가 있다. 한편 유용미생물 유래 박테리오파지의 경우 *L. monocytogenes* 등 제한된 균종에 대한 제어능이 주로 보고되고 있으므로, 식품 발효물 등

다양한 균종을 대상으로 광범위한 효능이 나타났던 사례를 중심으로 신규 항균활성소재를 발굴하고자 하는 연구가 요구되며 타 화학적·물리적 살균기술 간 조합처리 등을 통한 기존 물질의 효능 보완 전략 도입이 필요하다. 유전체 분석의 경우 최근의 프로바이오틱스 대상 연구 현황을 통해 파악된 바와 같이 기존에 보고된 생물정보의 보완을 통한 신규 정보 발굴이나 특화된 유전자 정보 분석 도구의 적극적인 도입을 통한 항균 스펙트럼 및 항균능·분석능 향상을 중심으로 한 연구가 지속적으로 수행되어야 한다. 다만 유전체 생물정보를 통해서 파악할 수 있는 유용미생물의 항균유효성분 생산에 대한 잠재력과는 관계없이, 높은 항균 효과를 확보하기 위해서는 유전자의 실질적인 발현과 합성된 단백질의 활성화에 최적화된 환경이 조성되어야 하므로 유전체-전사체-단백체의 종합적 분석과 *in vitro* 방식의 살균력·보존력 검증 시험 등이 유전체 분석 연구와 함께 수행되어야 할 것으로 판단된다.

References

- Alayande KA, Aiyegoro OA, Nengwekhulu TM, Katata-Seru L, and Ateba CN (2020) Integrated genome-based probiotic relevance and safety evaluation of *Lactobacillus reuteri* PNW1. *PLoS One* **15**, e0235873.
- Arena MP, Silvain A, Normanno G, Grieco F, Drider D, Spano G, and Fiocco D (2016) Use of *Lactobacillus plantarum* strains as a bio-control strategy against food-borne pathogenic microorganisms. *Front Microbiol.* **7**, 464.
- Barbosa J, Albano H, Silva B, Almeida MH, Nogueira T, and Teixeira P (2021) Characterization of a *Lactiplantibacillus plantarum* R23 isolated from Arugula by whole-genome sequencing and its bacteriocin production ability. *Int. J. Environ. Res. Public Health* **18**, 5515.
- Barreau G, Tompkins TA, and de Carvalho VG (2012) Draft genome sequence of probiotic strain *Pediococcus acidilactici* MA18/5M. *Am. Soc. Microbiol.*
- Boetzer M and Pirovano W (2014) SSPACE-LongRead: scaffolding bacterial draft genomes using long read sequence information. *BMC Bioinformatics*, **15**, 1-9.
- Camargo AC, Todorov SD, Chihib NE, Drider D, and Nero LA (2018). Lactic acid bacteria (LAB) and their bacteriocins as alternative biotechnological tools to control *Listeria monocytogenes* biofilms in food processing facilities. *Mol. Biotechnol.* **60**, 712-726.
- Cho SW, Yang J, Park S, Kim B, and Seo SW (2019) Complete genome sequence of lactic acid bacterium *Pediococcus acidilactici* strain ATCC 8042, an autolytic anti-bacterial peptidoglycan hydrolase producer. *Biotechnol. Bioprocess Eng.* **24**, 483-487.
- Cho TJ, Yang D, Park B, Choi IG, and Rhee MS (2019) Whole-genome sequences of five *Geobacillus stearothermophilus* strains isolated from processing lines of powdered infant formula. *Microbiol. Resour. Announc.* **8**, e01452-01418.
- Chung D, Cho TJ, and Rhee MS (2018) Citrus fruit extracts with carvacrol and thymol eliminated 7-log acid-adapted *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella typhimurium*, and *Listeria monocytogenes*: A potential of effective natural antibacterial agents. *Food Res. Int.* **107**, 578-588.
- Chung WH, Kang J, Lim MY, Lim T, Lim S, Roh SW, and Nam YD (2018) Complete genome sequence and genomic characterization of *Lactobacillus acidophilus* LA1 (11869BP). *Front Pharmacol.* **9**, 83.
- Comerlato CB, Prichula J, Siqueira FM, Ritter AC, Varela APM, Mayer FQ, and Brandelli A (2022) Genomic analysis of *Enterococcus durans* LAB18S, a potential probiotic strain isolated from cheese. *Genet. Mol. Biol.* **45**.
- Costello M, Rhee MS, Bates MP, Clark S, Luedicke LO, and Kang DH (2003) Eleven-year trends of microbiological quality in bulk tank milk. *Food Prot. Trends.*
- Darvishi N, Fard NA, and Sadrnia M (2021) Genomic and proteomic comparisons of bacteriocins in probiotic species *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* and inhibitory ability of *Escherichia coli* MG 1655. *Biotechnol Rep. (Amst)*, **31**, e00654.
- Davoodabadi A, Dallal MMS, Foroushani AR, Douraghi M, and Harati FA (2015) Antibacterial activity of *Lactobacillus* spp. isolated from the feces of healthy infants against enteropathogenic bacteria. *Anaerobe*, **34**, 53-58.

15. Di Donato P, Finore I, Poli A, Nicolaus B, and Lama L (2019) The production of second generation bio-ethanol: The biotechnology potential of thermophilic bacteria. *J. Clean. Prod.* **233**, 1410-1417.
16. Djadouni F and Kihal M (2012) Antimicrobial activity of lactic acid bacteria and the spectrum of their bio-peptides against spoiling germs in foods. *Braz. Arch. Biol. Technol.* **55**, 435-444.
17. Duar RM, Casaburi G, Mitchell RD, Scofield LN, Ortega Ramirez CA, Barile D, Henrick BM, and Frese SA (2020) Comparative genome analysis of *Bifidobacterium longum* subsp. *infantis* strains reveals variation in human milk oligosaccharide utilization genes among commercial probiotics. *Nutrients*, **12**, 3247.
18. Evanovich E, de Souza Mendonça Mattos PJ, and Guerreiro JF (2019) Comparative genomic analysis of *Lactobacillus plantarum*: An overview. *Int. J. Genomics*. 2019.
19. Faille C, Cunault C, Dubois T, and Benezech T (2018) Hygienic design of food processing lines to mitigate the risk of bacterial food contamination with respect to environmental concerns. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* **46**, 65-73.
20. Falentin H, Deutsch SM, Jan G, Loux V, Thierry A, Parayre S, Maillard MB, Dherbecourt J, Cousin FJ, and Jardin J (2010) The complete genome of *Propionibacterium freudenreichii* CIRM-BIA1T, a hardy Actinobacterium with food and probiotic applications. *PLoS One*, **5**, e11748.
21. Fritzenwanker M, Kuenne C, Billion A, Hain T, Zimmermann K, Goesmann A, Chakraborty T, and Domann E (2013) Complete genome sequence of the probiotic *Enterococcus faecalis* Symbioflor 1 clone DSM 16431. *Genome Announc.* **1**, e00165-00112.
22. Georgieva R, Yocheva L, Tserovska L, Zhelezova G, Stefanova N, Atanasova A, Danguleva A, Ivanova G, Karapetkov N, and Rumyan N (2015) Antimicrobial activity and antibiotic susceptibility of *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* spp. intended for use as starter and probiotic cultures. *Biotechnol. Biotechnol. Equip.* **29**, 84-91.
23. Geraldo BM, Batalha MN, Milhan NV, Rossoni RD, Scorzoni L, and Anbinder AL (2020) Heat-killed *Lactobacillus reuteri* and cell-free culture supernatant have similar effects to viable probiotics during interaction with *Porphyromonas gingivalis*. *J. Periodontol. Res.* **55**, 215-220.
24. Gill HS and Guarner F (2004) Probiotics and human health: a clinical perspective. *Postgrad. Med. J.* **80**, 516-526.
25. Goh LPW, Molujin AM, Muthu K, Abdulla R, Sabullah MK, Mohd Faik AA, Gansau JA, and Jawan R (2021) Isolation and characterization of lactic acid bacteria from Sabah (North Borneo) stingless bees for probiotic and food applications. *Int. J. Food Prop.* **24**, 564-578.
26. Grozdanov L, Raasch C, Schulze J, Sonnenborn U, Gottschalk G, Hacker J, and Dobrindt U (2004) Analysis of the genome structure of the nonpathogenic probiotic *Escherichia coli* strain Nissle 1917. *J. Bacteriol.* **186**, 5432-5441.
27. Hashemi SMB, Khaneghah AM, Barba FJ, Nemati Z, Shokofti SS, and Alizadeh F (2017a) Fermented sweet lemon juice (*Citrus limetta*) using *Lactobacillus plantarum* LS5: Chemical composition, antioxidant and antibacterial activities. *J. Funct. Foods*, **38**, 409-414.
28. Hashemi SMB, Mousavi Khaneghah A, Kontominas MG, Eş I, Sant'Ana AS, Martinez RR, and Drider D (2017b) Fermentation of sarshir (kaymak) by lactic acid bacteria: Antibacterial activity, antioxidant properties, lipid and protein oxidation and fatty acid profile. *J. Sci. Food Agric.* **97**, 4595-4603.
29. Hassan MU, Nayab H, Rehman TU, Williamson MP, Haq KU, Shafi N, and Shafique F (2020) Characterisation of bacteriocins produced by *Lactobacillus* spp. isolated from the traditional Pakistani yoghurt and their antimicrobial activity against common foodborne pathogens. *Biomed. Res. Int.* 2020.
30. Huang ML, Huang JY, Kao CY, and Fang TJ (2018) Complete genome sequence of *Lactobacillus pentosus* SLC13, isolated from mustard pickles, a potential

- probiotic strain with antimicrobial activity against foodborne pathogenic microorganisms. *Gut. Pathog.* **10**, 1-6.
31. Hussein WE, Abdelhamid AG, Rocha-Mendoza D, García-Cano I, and Yousef AE (2020) Assessment of safety and probiotic traits of *Enterococcus durans* OSY-EGY, isolated from Egyptian artisanal cheese, using comparative genomics and phenotypic analyses. *Front Microbiol.* **11**, 3094.
32. Jawan R, Kasimin M, Jalal S, Faik AM, Abbasiliasi S, and Ariff A (2019) Isolation, characterisation and *in vitro* evaluation of bacteriocins-producing lactic acid bacteria from fermented products of Northern Borneo for their beneficial roles in food industry. *J. Phys. Conf. Ser.* (Vol. 1358, p. 012020): IOP Publishing.
33. Jiang M, Deng K, Jiang C, Fu M, Guo C, Wang X, Wang X, Meng F, Yang S, and Deng K (2016). Evaluation of the antioxidative, antibacterial, and anti-inflammatory effects of the aloe fermentation supernatant containing *Lactobacillus plantarum* HM218749. 1. *Mediators Inflamm.* **2016**.
34. Kapse N, Engineer A, Gowdaman V, Wagh S, and Dhakephalkar P (2019) Functional annotation of the genome unravels probiotic potential of *Bacillus coagulans* HS243. *Genomics.* **111**, 921-929.
35. Karaseva A, Tsapieva A, Pachebat J, and Suvorov A (2016) Draft genome sequence of probiotic *Enterococcus faecium* strain L-3. *Genome Announc.* **4**, e01622-01615.
36. Kavitha S, Harikrishnan A, and Jeevaratnam K (2020) Characterization and evaluation of antibacterial efficacy of a novel antibiotic-type compound from a probiotic strain *Lactobacillus plantarum* KJB23 against food-borne pathogens. *Lwt.* **118**, 108759.
37. Kechagia M, Basoulis D, Konstantopoulou S, Dimitriadi D, Gyftopoulou K, Skarmoutsou N, and Fakiri EM (2013) Health benefits of probiotics: A review. *Int. Sch. Res. Notices*, **2013**.
38. Kerry RG, Patra JK, Gouda S, Park Y, Shin HS, and Das G (2018) Benefaction of probiotics for human health: A review. *J. Food. Drug. Anal.* **26**, 927-939.
39. Khandare S and Patil S (2015) Inhibitory activities of lactic acid bacteria on gram positive and gram negative foodborne pathogens and spoilage organisms associated with fish.
40. Khatri I, Sharma G, and Subramanian S (2019). Composite genome sequence of *Bacillus clausii*, a probiotic commercially available as Enterogermina®, and insights into its probiotic properties. *BMC Microbiol.* **19**, 1-15.
41. Kim E, Chang HC, and Kim HY (2020) Complete genome sequence of *Lactobacillus plantarum* EM, a putative probiotic strain with the cholesterol-lowering effect and antimicrobial activity. *Curr. Microbiol.* **77**, 1871-1882.
42. Kim E, Kim JH, Park SB, Kim M, Kim HJ, Kim CG, Choo DW, and Kim HY (2017) Draft genome sequence of *Pediococcus pentosaceus* strain FBL2, a probiotic bacterium isolated from *Jogaejeot*, a salted fermented food, in the Republic of Korea. *Genome Announc.* **5**, e00303-00317.
43. Kleerebezem M, Boekhorst J, van Kranenburg R, Molenaar D, Kuipers OP, Leer R, Turchini R, Peters SA, Sandbrink HM, and Fiers MW (2003) Complete genome sequence of *Lactobacillus plantarum* WCFS1. *PNAS* **100**, 1990-1995.
44. Kwon YJ, Chun BH, Jung HS, Chu J, Joung H, Park SY, Kim BK, and Jeon CO (2021) Safety assessment of *Lactiplantibacillus* (formerly *Lactobacillus*) *plantarum* Q180.
45. Li HY, Zhou DD, Gan RY, Huang SY, Zhao CN, Shang A, Xu XY, and Li HB (2021) Effects and mechanisms of probiotics, prebiotics, synbiotics, and postbiotics on metabolic diseases targeting gut microbiota: A narrative review. *Nutrients* **13**, 3211.
46. Li P, Gu Q, and Zhou Q (2016) Complete genome sequence of *Lactobacillus plantarum* LZ206, a potential probiotic strain with antimicrobial activity against food-borne pathogenic microorganisms. *J. Biotechnol.* **238**, 52-55.
47. Li X, Li LX, Li Y, Zhou RC, Li B, Gu X, Fu SC, Jin BY, Zuo XL, and Li YQ (2021) Complete genome

- sequencing of Peyer's patches-derived *Lactobacillus taiwanensis* CLG01, a potential probiotic with anti-bacterial and immunomodulatory activity. *BMC Microbiol.* **21**, 1-14.
48. Li Z, Song Q, Wang M, Ren J, Liu S, and Zhao S (2021) Comparative genomics analysis of *Pediococcus acidilactici* species. *J. Microbiol.* **59**, 573-583.
49. Liévin-Le Moal V and Servin AL (2014) Anti-infective activities of *Lactobacillus* strains in the human intestinal microbiota: From probiotics to gastro-intestinal anti-infectious biotherapeutic agents. *Clin. Microbiol. Rev.* **27**, 167-199.
50. Liu Q, Yu Z, Tian F, Zhao J, Zhang H, Zhai Q, and Chen W (2020) Surface components and metabolites of probiotics for regulation of intestinal epithelial barrier. *Microb. Cell Fact.* **19**, 1-11.
51. Mazé A, Boël G, Zúniga M, Bourand A, Loux V, Yebra MJ, Monedero V, Correia K, Jacques N, and Beaufils S (2010) Complete genome sequence of the probiotic *Lactobacillus casei* strain BL23. *J. Bacteriol.* **192**, 2647-2648.
52. Mohamad NI, Manan MA, and Sani NA (2022) The antibacterial activity of lactic acid bacteria from pickled *Spondias dulcis* (Ambarella) against food-borne pathogens. *TiS* **19**, 2896-2896.
53. Mokoena MP, Omatola CA, and Olaniran AO (2021) Applications of lactic acid bacteria and their bacteriocins against food spoilage microorganisms and foodborne pathogens. *Molecules* **26**, 7055.
54. Molenaar D, Bringel F, Schuren FH, de Vos WM, Siezen RJ, and Kleerebezem M (2005) Exploring *Lactobacillus plantarum* genome diversity by using microarrays. *J. Bacteriol.* **187**, 6119-6127.
55. Monedero V, Pérez-Martínez G, and Yebra MJ (2010) Perspectives of engineering lactic acid bacteria for biotechnological polyol production. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **86**, 1003-1015.
56. Morita H, Toh H, Oshima K, Murakami M, Taylor TD, Igimi S, and Hattori M (2009) Complete genome sequence of the probiotic *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 53103. *J. Bacteriol.* **191**, 7630-7631.
57. Mushtaq M, Gani A, and Masoodi F (2019) Himalayan cheese (Kalari/Kradi) fermented with different probiotic strains: *In vitro* investigation of nutraceutical properties. *LWT* **104**, 53-60.
58. Neal-McKinney JM, Lu X, Duong T, Larson CL, Call DR, Shah DH, and Konkel ME (2012) Production of organic acids by probiotic lactobacilli can be used to reduce pathogen load in poultry. *PLoS One* **7**, e43928.
59. Pang X, Song X, Chen M, Tian S, Lu Z, Sun J, Li X, Lu Y, and Yuk HG (2022) Combating biofilms of foodborne pathogens with bacteriocins by lactic acid bacteria in the food industry. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* **21**, 1657-1676.
60. Park MY and Kang DH (2021) Antibacterial activity of caffeic acid combined with UV-A light against *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella enterica* serovar typhimurium, and *Listeria monocytogenes*. *Appl. Environ. Microbiol.* **87**, e00631-00621.
61. Pérez-Ibarreche M, Castellano P, Leclercq A, and Vignolo G (2016) Control of *Listeria monocytogenes* biofilms on industrial surfaces by the bacteriocin-producing *Lactobacillus sakei* CRL1862. *FEMS Microbiol. Lett.* **363**.
62. Pfeifferle PI, Prescott SL, and Kopp M (2013) Microbial influence on tolerance and opportunities for intervention with prebiotics/probiotics and bacterial lysates. *J. Allergy Clin. Immunol.* **131**, 1453-1463.
63. Pierson LS and Pierson EA (2010) Metabolism and function of phenazines in bacteria: Impacts on the behavior of bacteria in the environment and biotechnological processes. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **86**, 1659-1670.
64. Pridmore RD, Berger B, Desiere F, Vilanova D, Barretto C, Pittet AC, Zwahlen MC, Rouvet M, Altermann E, and Barrangou R (2004) The genome sequence of the probiotic intestinal bacterium *Lactobacillus johnsonii* NCC 533. *PNAS* **101**, 2512-2517.
65. Qureshi N, Gu Q, and Li P (2020) Whole genome sequence analysis and *in vitro* probiotic character-

- istics of a *Lactobacillus* strain *Lactobacillus paracasei* ZFM54. *J. Appl. Microbiol.* **129**, 422-433.
66. Reid G (2016) Probiotics: definition, scope and mechanisms of action. *Best Pract. Res. Clin. Gastroenterol.* **30**, 17-25.
 67. Reister M, Hoffmeier K, Krezdorn N, Rotter B, Liang C, Rund S, Dandekar T, Sonnenborn U, and Oelschlaeger TA (2014) Complete genome sequence of the gram-negative probiotic *Escherichia coli* strain Nissle 1917. *J. Biotechnol.* **187**, 106-107.
 68. Rozman V, Lorbeg PM, Accetto T, and Matijašić BB (2020) Characterization of antimicrobial resistance in *Lactobacilli* and *Bifidobacteria* used as probiotics or starter cultures based on integration of phenotypic and *in silico* data. *Int. J. Food Microbiol.* **314**, 108388.
 69. Salvetti E, Campedelli I, Larini I, Conedera G, and Torriani S (2021) Exploring antibiotic resistance diversity in *Leuconostoc* spp. by a genome-based approach: Focus on the *lsaA* gene. *Microorganisms* **9**, 491.
 70. Salvetti E, Orrù L, Capozzi V, Martina A, Lamontanara A, Keller D, Cash H, Felis GE, Cattivelli L, and Torriani S (2016) Integrate genome-based assessment of safety for probiotic strains: *Bacillus coagulans* GBI-30, 6086 as a case study. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **100**, 4595-4605.
 71. Salzberg SL (2019) Next-generation genome annotation: We still struggle to get it right. *BioMed Central* **20**, pp. 1-3.
 72. Satti M, Tanizawa Y, Endo A, and Arita M (2018) Comparative analysis of probiotic bacteria based on a new definition of core genome. *J. Bioinform. Comput. Biol.* **16**, 1840012.
 73. Seddik HA, Bendali F, Gancel F, Fliss I, Spano G, and Drider D (2017) *Lactobacillus plantarum* and its probiotic and food potentialities. *Probiotics Antimicrob. Proteins* **9**, 111-122.
 74. Sfriso R, Egert M, Gempeler M, Voegeli R, and Campiche R (2020) Revealing the secret life of skin-with the microbiome you never walk alone. *Int. J. Cosmet. Sci.* **42**, 116-126.
 75. Sharma C, Singh BP, Thakur N, Gulati S, Gupta S, Mishra SK, and Panwar H (2017) Antibacterial effects of *Lactobacillus* isolates of curd and human milk origin against food-borne and human pathogens. *J. Biotech.* **7**, 1-9.
 76. Siegert W (2013) Comparison of microbial challenge testing methods for cosmetics. *HPC Today*, **8**, 32-39.
 77. Siezen RJ, Francke C, Renckens B, Boekhorst J, Wels M, Kleerebezem M, and van Hijum SA (2012) Complete resequencing and reannotation of the *Lactobacillus plantarum* WCFS1 genome. *Am. Soc. Microbiol.*
 78. Siezen RJ and van Hylckama Vlieg JE (2011) Genomic diversity and versatility of *Lactobacillus plantarum*, a natural metabolic engineer. *Microb. Cell Fact.* **10**, 1-13.
 79. Stanton C, Ross RP, Fitzgerald GF, and Van Sinderen D (2005) Fermented functional foods based on probiotics and their biogenic metabolites. *Curr. Opin. Biotechnol.* **16**, 198-203.
 80. Sun Z, Chen X, Wang J, Gao P, Zhou Z, Ren Y, Sun T, Wang L, Meng H, and Chen W (2010) Complete genome sequence of probiotic *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* strain V9. *J. Bacteriol.* **192**, 4080-4081.
 81. Surachat K, Kantachote D, Deachamag P, and Wonglapsuwan M (2020). Genomic insight into *Pediococcus acidilactici* HN9, a potential probiotic strain isolated from the traditional Thai-style fermented Beef Nhang. *Microorganisms* **9**, 50.
 82. Tarrah A, Pakroo S, Corich V, and Giacomini A (2020). Whole-genome sequence and comparative genome analysis of *Lactobacillus paracasei* DTA93, a promising probiotic lactic acid bacterium. *Arch. Microbiol.* **202**, 1997-2003.
 83. Tebyanian H, Bakhtiari A, Karami A, and Kariminik A (2017) Antimicrobial activity of some *Lactobacillus* species against intestinal pathogenic bacteria. *Int. Lett. Nat. Sci.* **65**, 10-15.
 84. Teusink B, Wiersma A, Molenaar D, Francke C, De Vos WM, Siezen RJ, and Smid EJ (2006) Analysis of

- growth of *Lactobacillus plantarum* WCFS1 on a complex medium using a genome-scale metabolic model. *J. Biol. Chem.* **281**, 40041-40048.
85. Thakur S, Weir BS, and Guttman DS (2016) Phytopathogen genome announcement: Draft genome sequences of 62 *Pseudomonas syringae* type and pathotype strains. *Mol. Plant. Microbe. Interact.* **29**, 243-246.
86. Vallianou N, Stratigou T, Christodoulatos GS, Tsigalou C, and Dalamaga M (2020) Probiotics, prebiotics, synbiotics, postbiotics, and obesity: Current evidence, controversies, and perspectives. *Curr. Obes. Rep.* **9**, 179-192.
87. van den Nieuwboer M, van Hemert S, Claassen E, and de Vos WM (2016) *Lactobacillus plantarum* WCFS 1 and its host interaction: A dozen years after the genome. *Microb. Biotechnol.* **9**, 452-465.
88. Van Pijkeren JP and Barrangou R (2017) Genome editing of food-grade lactobacilli to develop therapeutic probiotics. *Microbiol. Spectr.* **5**, 5.5. 09.
89. Wan MLY, Forsythe SJ, and El-Nezami H (2019) Probiotics interaction with foodborne pathogens: A potential alternative to antibiotics and future challenges. *Crit. Rev. Food. Sci. Nutr.* **59**, 3320-3333.
90. Wang Y, Chen C, Ai L, Zhou F, Zhou Z, Wang L, Zhang H, Chen W, and Guo B (2011) Complete genome sequence of the probiotic *Lactobacillus plantarum* ST-III. *J. Bacteriol.* **193**, 313-314.
91. Xin L, Yi L, Dang J, Dang Y, and Liu B (2014) Purification of novel bacteriocin produced by *Lactobacillus coryniformis* MXJ 32 for inhibiting bacterial foodborne pathogens including antibiotic-resistant microorganisms. *Food Control.* **46**, 264-271.
92. Yang SC, Lin CH, Sung CT, and Fang JY (2014) Antibacterial activities of bacteriocins: Application in foods and pharmaceuticals. *Front. Microbiol.* **5**, 241.
93. Ye P, Wang J, Liu M, Li P, and Gu Q (2021) Purification and characterization of a novel bacteriocin from *Lactobacillus paracasei* ZFM54. *LWT*, **143**, 111125.
94. Yi L, Qi T, Hong Y, Deng L, and Zeng K (2020a) Screening of bacteriocin-producing lactic acid bacteria in Chinese homemade pickle and dry-cured meat, and bacteriocin identification by genome sequencing. *LWT*, **125**, 109177.
95. Yi L, Qi T, Ma J, and Zeng K (2020b) Genome and metabolites analysis reveal insights into control of foodborne pathogens in fresh-cut fruits by *Lactobacillus pentosus* MS031 isolated from Chinese Sichuan Paocai. *Postharvest. Biol. Technol.* **164**, 111150.
96. Yoo D, Bagon BB, Valeriano VDV, Oh JK, Kim H, Cho S, and Kang DK (2017) Complete genome analysis of *Lactobacillus fermentum* SK152 from kimchi reveals genes associated with its antimicrobial activity. *FEMS Microbiol. Lett.* **364**.
97. Yu H, Liu L, Chang Z, Wang S, Wen B, Yin P, Liu D, Chen B, and Zhang J (2013) Genome sequence of the bacterium *Bifidobacterium longum* strain CMCC P0001, a probiotic strain used for treating gastrointestinal disease. *Genome Announc.* **1**, e00716-00713.
98. Zhang ZY, Liu C, Zhu YZ, Zhong Y, Zhu YQ, Zheng HJ, Zhao GP, Wang SY, and Guo XK (2009) Complete genome sequence of *Lactobacillus plantarum* JDM1. *J. Bacteriol.* **191**, 5020-5021.
99. Żółkiewicz J, Marzec A, Ruszczyński M, and Feleszko W (2020) Postbiotics—a step beyond pre-and probiotics. *Nutrients*, **12**, 2189.