

氏名	瀬 脇 智 満
授与した学位	博 士
専攻分野の名称	農 学
学位授与番号	博甲第2277号
学位授与の日付	平成13年 9月30日
学位授与の要件	自然科学研究科生産開発科学専攻 (学位規則第4条第1項該当)
学位論文の題目	ヒト腸管由来乳酸桿菌におけるプラスミドDNAの機能解析と 育種改造に関する研究
論文審査委員	教授 宮本 拓 教授 泉本勝利 教授 近藤康博

学 位 論 文 内 容 の 要 旨

近年、乳酸菌の持つ宿主に対するさまざまな生理活性効果が注目され、プロバイオティクスとしての働きが期待されている。本研究は、プロバイオティク効果が期待される広範囲の乳酸菌について、それらの保有するプラスミドDNAを研究対象とし、保有の有無およびその機能解析ならびにプラスミドを介した菌株の育種改造方法について検討し、プロバイオティク乳酸菌の新規発酵乳用スターターへの応用を目指したものである。まず初めに、乳酸球菌5属41菌株および乳酸桿菌(ヒト腸管由来の菌株を含む)1属52菌株を供試し、広範囲の菌株でプラスミド分布を調べ、保有の有無ならびにその分布には菌属や菌種間で特徴があることを明らかにした。次にプラスミド保有の認められた菌株のうち機能解析の進んでいないとされている *Leuconostoc* 属および *Lactobacillus* 属細菌に着目し、プラスミドの機能解析を行った。*Leuconostoc* 属からは高いデキストラン生成能を保有する *Leuconostoc mesenteroides* 6-1-9, OR-2 の2株、*Lactobacillus* 属からはヒト腸管を分離源とする *Lactobacillus casei* L-49 の1株をそれぞれ選択した。その結果、6-1-9株とL-49株ではラクトース代謝機能に、OR-2株ではクエン酸代謝機能にそれぞれ関与するプラスミドの存在を明らかにした。さらにヒト腸管を分離源とするL-49株については、胆汁酸および人工消化液耐性ならびに培養乳の代謝特性を調べ、本菌株がプロバイオティク効果の期待できる発酵乳用スターターとして利用性が期待できることを明らかにした。一方、プラスミドを介した菌株の育種改造方法については、*Lactobacillus casei* L-49を供試し、分子遺伝学的手法であるエレクトロポレーション法および接合伝達法による検討を行った。その結果エレクトロポレーション法では薬剤耐性遺伝子をコードするプラスミドベクターの導入、接合伝達法ではラクトース代謝機能に関与するプラスミドの伝達がそれぞれ確認された。

以上の研究成果により、プラスミドを介した菌株の育種改造および新規発酵乳用スターターとしての乳酸菌応用の分野に有意義な知見を得た。

論文審査結果の要旨

近年、乳酸菌の持つ宿主に対する様々な生理活性効果が注目され、プロバイオティクスとしての働きが期待されている。本研究は、プロバイオティク効果が期待される広範囲の乳酸菌について、それらの保有するプラスミドDNAを研究対象とし、プラスミドの保有の有無とその機能解析ならびにプラスミドを介した菌株の育種改造方法について検討し、プロバイオティク乳酸菌の新規発酵乳用スターターへの応用を目指したものである。

まず、乳酸球菌5属41株および乳酸桿菌（ヒト腸管由来株を含む）1属52株を供試し、広範囲の菌株でプラスミドの分布を調べ、保有の有無ならびにその分布には菌属や菌種間で特徴があることを明らかにした。次に、プラスミドの保有が認められた菌株のうち、*Leuconostoc*属および*Lactobacillus*属細菌に着目し、プラスミドの機能解析を行った。*Leuconostoc*属では強いデキストラン生成能を持つ*Leuconostoc mesenteroides* 6-1-9, OR-2の2株、*Lactobacillus*属ではヒト乳幼児糞便を分離源とする*Lactobacillus casei* L-49の1株を選択した。その結果、6-1-9株とL-49株ではラクトース代謝機能に、OR-2株ではクエン酸代謝機能にそれぞれ関与するプラスミドの存在を明らかにした。

一方、ヒト腸管由来株の*Lactobacillus casei* L-49については、胆汁酸および人工消化液耐性ならびに培養乳の代謝特性を調べ、本菌株がプロバイオティク効果の期待できる発酵乳用スターターとしての利用性を持つことを示唆した。そこで、L-49株を供試し、分子遺伝学的手法であるエレクトロポレーション法および接合伝達法によって、プラスミドを介した菌株の育種改造方法について検討したところ、エレクトロポレーション法では薬剤耐性遺伝子をコードしているプラスミドベクターの導入、そして、接合伝達法ではラクトース分解酵素遺伝子をコードしているプラスミドの伝達を確認された。また、L-49株から単離したプラスミドを菌株改造用のベクターとして応用するための基礎的な検討結果を得た。

以上のように、本研究はプラスミドを介した乳酸菌株の育種改造および新規発酵乳用スターターとしての乳酸菌応用の分野に新たな知見を与えるものであり、博士（農学）の学位に値するものと判定する。