

氏名	森 田 英 利		
学位の種類	学 術 博 士		
学位授与番号	博 甲 第 934 号		
学位授与の日付	平成 3年 3月 28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5条第1項該当)		
学位論文題目	ラクトース非発酵性 <u>Pediococcus acidilactici</u> の分離とその代謝機能の改造に関する研究		
論文審査委員	教授 片岡 啓	教授 中村怜之輔	教授 内田仙二
	教授 田野達男	教授 大滝英治	

学 位 論 文 内 容 の 要 旨

Pediococcus属細菌は各種発酵食品の製造に利用されているが、ラクトースの発酵性が欠如あるいは微弱なため、積極的に乳や乳製品の発酵に利用されていないのが現状である。そこで、本研究はPediococcus属細菌に分子育種学的手法によってラクトース発酵性を付与し、発酵乳への応用を試みたものである。

まず、ウリの粕漬からジアセチルとアセトインの生産性の優れたPediococcus acidilactici 2-5 を分離したが、ラクトース発酵性は認められなかった。そこで本菌株を受容菌として接合法により、ラクトース発酵性の伝達された交配菌(Lac⁺交配菌)を作出した。得られたLac⁺交配菌とそれらの親株との代謝的機能を比較した結果、Pediococcus acidilactici 2-5 (受容菌)と Lactococcus lactis subsp. lactis KM(供与菌)とのLac⁺交配菌は、特に牛乳培地での生酸性、タンパク分解性および芳香生産性において優れていた。このLac⁺交配菌に伝達された表現形質とプラスミドDNA組成の関係を追求し、プロテアーゼ活性とラクトース発酵性の遺伝的な性質が関連した60 kbのプラスミドDNAの存在を明らかにした。また、このLac⁺交配菌単独で、香気を付与した発酵乳製造のための基礎技術を確立した。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

Pediococcus属の乳酸菌は耐塩性、抗菌性および芳香生産性などの性質を有し、各種発酵食品に利用されているにもかかわらず、ラクトース発酵性がないこと、あるいは微弱であるため積極的に乳や乳製品の発酵に応用されていないのが現状である。本論文は、この

点に着目し分子育種学的手法により Pediococcus 属細菌にラクトース発酵性を付与し、発酵乳製品への応用を試みたものである。

まず、ウリの粕漬からラクトース非発酵性の Pediococcus acidilactici 2-5 を分離同定し、本菌株が 8% 食塩に耐塩性で、芳香物質のジアセチルおよびアセトイン生産性を有することを確認した。次いで本菌株を牛乳の発酵に応用するために接合法によるラクトース発酵性の付与を試みた。すなわち、受容菌として本菌のペニシリンおよびエリスロマイシン耐性株、供与菌として Lactococcus 属 2 菌株、Streptococcus 属 1 菌株および Lactobacillus 属 6 菌株の乳酸菌を供試し、ラクトース発酵性の備わった交配菌 (Lac⁺交配菌) を作出した。Lac⁺交配菌のうち、Lactococcus lactis subsp. lactis KM との接合で得られた Lac⁺交配菌 (25-EM-KM 株) は、脱脂乳培地での酸生成量が最も高く、プロテアーゼ活性および芳香生産性を有していた。そしてこれらの受容菌、供与菌および Lac⁺交配菌におけるプラスミド DNA 組成の比較を行ないラクトース発酵性能がプラスミド DNA に支配されていることを確認した。さらに伝達されたプラスミド DNA のキュアリング処理により、プロテアーゼ活性とラクトース発酵性が遺伝的に関連した 60kb のプラスミド DNA であることを証明した。次いで、この Lac⁺交配菌 (25-EM-KM 株) を用いて発酵乳の製造試験を行なった。その際、この菌株に対してシイタケジュースが顕著な発育促進効果のあることを明らかにし、交配菌単独で香気を付与した発酵乳の製造が可能であることを示した。

以上のように、本論文はこれまでの乳業用乳酸菌としてほとんど応用されることのなかった Pediococcus 属細菌にラクトース発酵性を付与し、伝達されたプラスミド DNA とその表現形質の関係を明らかにした最初の成果であり、その学術的意義は大きい。また今後の乳酸菌の育種改良と発酵乳製品製造技術の開発に寄与するところが大きいと考えられる。

よって、本論文は学術博士の学位論文として価値あるものと認める。