

氏名	津田 治敏
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3669号
学位授与の日付	平成20年 3月25日
学位授与の要件	自然科学研究科バイオサイエンス専攻 (学位規則第5条第1項該当)
学位論文の題目	プロバイオティクス乳酸菌 <i>Lactobacillus plantarum</i> の探索と機能の応用に関する研究
論文審査委員	教授 宮本 拓 教授 泉本 勝利 教授 坂口 英

### 学位論文内容の要旨

本論文では、伝統的発酵乳製品を分離源とする乳酸菌の中から、プロバイオティクス効果を有する乳酸菌を探索し、その機能性について検討することを目的とした。

第1章ではプロバイオティクス機能を有する乳酸菌*Lactobacillus plantarum*の選択とブタ腸内到達性について検討した。すなわち、種々の消化液に対する耐性を調べた結果、中国内蒙古自治区の伝統的発酵乳製品であるホロードから乳酸菌301102株を見出し、*Lactobacillus plantarum*と同定した。この菌株は人工胃液中(pH2.0)で3時間後でも5.3 log CFU/mlと高い生菌数を維持し、20%のoxgallを添加した培地でも生育するなど、胆汁酸に対して非常に高い耐性を持つことが特徴であった。この*Lactobacillus plantarum* 301102のブタ腸管到達性および腸内フローラの改善効果を調べた結果、本菌株は腸内フローラ改善効果および腸管到達性を有する乳酸菌であり、この菌株を含む発酵乳製品はヒトが摂取しても生きたまま腸管に届き整腸作用を示すと考えられた。

第2章では*Lactobacillus plantarum*から誘発した多糖生産性変異株の抗変異原性について検討した。すなわち、301102株に有用な機能性を付与することを目的としてDNA複製阻害剤で処理した結果、多糖生産性変異株(301102S株)を得た。301102S株の多糖生産性は37℃で24時間培養を300回繰り返しても安定であった。変異株が生産する多糖は食品変異原であるTrp-P-1に対して変異原吸着能および抗変異原性を示した。この変異原吸着作用はoxgallによって阻害されなかった。以上のことから、*Lb. plantarum* 301102Sを発酵乳製品へ利用した場合、本菌株によって生産される多糖が腸内において食品変異原物質を吸着し、変異原性を減弱化することが期待できる。

第3章では*Lactobacillus plantarum*の多糖生産性変異株を応用した発酵乳の開発について検討した。すなわち、ホエーを基礎培地に用いて、培養温度ならびに窒素源や炭素源の添加が多糖生産へ及ぼす影響を調べたところ、培養温度25℃で最も高い生産量を示し、0.3%酵母エキスおよび0.5%グルコースの添加で最も高い多糖生産性を示し、この時の収量は145mg/Lであった。またMRS液体培地を用い、25℃で18時間培養した場合の収量は392mg/Lであった。この多糖にはグルコースとマンノースが1:2のモル比で含まれており、プロバイオティクス乳酸菌である親株に特異的に利用されるプレバイオティクス特性を有することが示唆された。親株と変異株とを混合培養することで単独培養よりも高い酸度が得られ、0.1%酵母エキスおよび0.3%グルコースを10%還元脱脂乳培地に添加して混合培養することで、さらに良好な酸度の上昇が得られた。

以上の知見は*Lactobacillus plantarum* 301102とその多糖生産性変異株を応用した発酵乳の開発ならびにシンバイオティクス発酵乳製品の創製に寄与するものである。

## 論文審査結果の要旨

本論文では、伝統的発酵乳製品を分離源とする乳酸菌の中から、プロバイオティクス効果を有する乳酸菌を探索し、その機能性について検討することを目的とした。

まず、プロバイオティクス機能を有する乳酸菌*Lactobacillus plantarum*の選択とブタ腸内到達性について検討した。すなわち、種々の消化液に対する耐性を調べた結果、中国内蒙古自治区の伝統的発酵乳製品であるホロードから乳酸菌301102株を見出し、*Lactobacillus plantarum*と同定した。この菌株は人工胃液中（pH2.0）で3時間後でも5.3 log CFU/mlと高い生菌数を維持し、20%のoxgallを添加した培地でも生育するなど、胆汁酸に対して非常に高い耐性を持つことが特徴であった。この*Lactobacillus plantarum* 301102のブタ腸管到達性および腸内フローラの改善効果を調べた結果、本菌株は腸内フローラ改善効果および腸管到達性を有する乳酸菌であり、この菌株を含む発酵乳製品はヒトが摂取しても生きたまま腸管に届き整腸作用を示すと考えられた。

次に、*Lactobacillus plantarum*から誘発した多糖生産性変異株の抗変異原性について検討した。すなわち、301102株に有用な機能性を付与することを目的としてDNA複製阻害剤で処理した結果、多糖生産性変異株（301102S株）を得た。301102S株の多糖生産性は37°Cで24時間培養を300回繰り返しても安定であった。変異株が生産する多糖は食品変異原であるTrp-P-1に対して変異原吸着能および抗変異原性を示した。この変異原吸着作用はoxgallによって阻害されなかった。以上のことから、*Lb. plantarum* 301102Sを発酵乳製品へ利用した場合、本菌株によって生産される多糖が腸内において食品変異原物質を吸着し、変異原性を減弱化することが期待できる。

以上の結果を基に、*Lactobacillus plantarum*の多糖生産性変異株を応用した発酵乳の開発について検討した。すなわち、ホエーを基礎培地に用いて、培養温度ならびに窒素源や炭素源の添加が多糖生産へ及ぼす影響を調べたところ、培養温度25°Cで最も高い生産量を示し、0.3%酵母エキスおよび0.5%グルコースの添加で最も高い多糖生産性を示し、この時の収量は145mg/Lであった。またMRS液体培地を用い、25°Cで18時間培養した場合の収量は392mg/Lであった。この多糖にはグルコースとマンノースが1:2のモル比で含まれており、プロバイオティクス乳酸菌である親株に特異的に利用されるプレバイオティクス特性を有することが示唆された。親株と変異株とを混合培養することで単独培養よりも高い酸度が得られ、0.1%酵母エキスおよび0.3%グルコースを10%還元脱脂乳培地に添加して混合培養することで、さらに良好な酸度の上昇と組織の改善効果が見られた。

上述の知見は*Lactobacillus plantarum* 301102とその多糖生産性変異株を応用した発酵乳の開発ならびにシンバイオティクス発酵乳製品の創製に寄与するものである。従って、学位審査委員会は、本論文が博士（農学）の学位に値するものと判定した。