論文審査の結果の要旨

博士の専攻分野の名称	博士 (薬科学)	氏名	Wanchai Panthavee
学位授与の条件	学位規則第4条第1・2項該当		

論 文 題 目

Isolation and characterization of thermophile lactic acid bacteria from Thailand tropical fruits

(タイ産トロピカルフルーツを分離源とした好熱性乳酸菌の探索分離及びその特徴)

論文審查担当者

主 查 松浪 勝義

钔

審查委員 小澤 孝一郎

審查委員 山野(杉本) 幸子

[論文審査の結果の要旨]

幾つかの乳酸菌は細胞外に多糖体を産生することが報告され、その多糖体の保健 機能性として、免疫系の調節、潰瘍の予防改善、抗ウイルス活性などの作用を有す ることが知られている。

本研究では、タイ産トロピカルフルーツに付着している「好熱性植物乳酸菌」を分離し、その分類学的同定を行うとともに、細胞外多糖体 (exo-polysaccharide) を産生する菌株のスクリーニングを行い、得られた乳酸菌株のつくる細胞外多糖体の構成糖の分析を試みた。

本研究において、最終的に、37 種類のタイ産トロピカルフルーツから 327 株の植物乳酸菌を分離することに成功した。これら乳酸菌のうちの 28 株に関しては、45℃でさえ活発に増殖したことから、好熱性植物乳酸菌であると結論付けた。

興味深いことに、好熱性を示した分離株のうち、「LY45 株」および「PY45 株」と命名した植物乳酸菌株は、細胞外多糖体を産生することが確認された。前者がライチから、後者はパイナップルから分離されたものであり、それぞれ、Pediococcus pentosaceus および Lactobacillus amylovorus と最終的に同定された。本実験では、まず、30-50 でまでの温度を振りながら培養することによって、両菌株の至適増殖温度を調べた。また、それぞれの株における細胞外多糖体の生産性を高めるための炭素源を知るため、酵母窒素原基礎培地、ビタミン溶液、および微量金属を含む半合成培地 (SDM 培地) に所定の糖を加えて培養することによって調査した。

本研究の結果, LY45 株および PY45 株ともに, 50°Cでさえ増殖できることが確認された。この両者の乳酸菌株については, 低温での増殖性についても調べた結果, 前者は 18°Cで増殖できるが, 10°Cではほとんどできなかった。また, 後者の株は 18°Cでさえ増殖できなかった。

2 (w/v) %のマルトースを加えた培地に LY45 株を接種して培養すると, その 48 時間培養の醗酵ブロスから精製した細胞外多糖体の収量は, 培地1リットル当たり

23 mg であった。他方、PY45 株では、SDM 培地に 1 (w/v) %フルクトースを添加して培養すると、細胞外多糖体の生産量は最も良かったものの、120 時間培養液から精製した細胞外多糖体の収量は 6.8 mg/L であった。さらに、細胞外多糖体回収時点における LY45 株と PY45 株の培養液中の生菌数を調べたところ、それぞれ 1.8×10^8 および 3.7×10^5 cfu/mL であった。

次に、両乳酸菌株における細胞外多糖体の性質を明らかにするため、陰イオン交換樹脂を用いたカラムクロマトグラフィーによる分析を行った結果、両菌株とも、中性および酸性多糖体を産生することが判明した。ただし、LY45 株の細胞外多糖体はおもに中性多糖体であったのに対し、PY45 株においては、中性及び酸性多糖体をほぼ同じ量だけ産生していた。

さらに、LY45 株の多糖体を GC-MS 分析した結果、その乳酸菌株の産生する中性 多糖体の構成糖は、おもにグルコースとマンノースであるのに対し、酸性多糖体は マンノース、グルコース、およびガラクトースから構成されていることがわかった。一方、植物乳酸菌 PY45 株における中性および酸性多糖体の構成糖は、ともに マンノースであり、わずかにグルコースが検出された。

興味深いことに、本研究を進めた結果、PY45 株は炭素源としてデンプンを利用することが見いだされたことから、Lactobacillus amylovorus PY45 はバイオマスから細胞外多糖体を生産できる可能性を秘めており、ヘルスサイエンス分野で重要な乳酸菌となるであろう。

以上の結果から、本論文は、当たらな保健機能性植物乳酸菌の発見と科学的分析による分子的基盤の解明を目指した意欲的な研究であり薬学分野の発展に寄与するものである。よって審査委員会委員全員は、本論文が Wanchai Panthavee 氏に博士(薬科学)の学位を授与するに十分な価値あるものと認めた。