

氏名	ERDENE BAYAR		
授与学位	博士(工学)		
学位記番号	博甲第174号		
学位授与年月日	平成31年3月18日		
学位授与の要件	学位規則第4条第1項		
学位論文題目	Elucidation of antibacterial activity of bifidobacteria (ビフィズス菌の抗菌性評価)		
論文審査委員	主査 教授	吉田	孝
	准教授	菅野	亨
	准教授	服部	和幸
	准教授	佐藤	利次
	教授	新井	博文

学位論文内容の要旨

モンゴルでは家畜に対して大量の抗生物質を投与し人の健康にも関わるため社会問題になっている。本研究では家畜用抗生剤に代わる安心安全な抗菌剤の開発を大きな目的に、ビフィズス菌が産生する有機酸や抗菌性ペプチドによる抗菌性について研究した。ビフィズス菌は、グラム陽性でカタラーゼ活性陰性の嫌気性腸内細菌の一種である。腸内環境を整えるために乳酸、酢酸などの有機酸を生成し、様々な生理機能を発揮する。産生された有機酸、酵素による分離同定、殺菌作用などビフィズス菌に関する多くの研究が報告されている。しかしビフィズス菌が生産する抗菌ペプチドについての研究は少ない。本研究の目的は、ビフィズス菌の抗菌性を明らかにして新しい抗菌性ペプチドを同定することにある。第2章ではモンゴル医療倫理委員会の許可の下、モンゴル人インファントから人ビフィズス菌の単離同定および有機酸による抗菌試験について検討した。第3章ではモンゴルのコブド、クブスグルおよびトブ州において家畜(子供)の第一胃および糞から、22のサンプルを収集し、抗菌性試験および抗菌ペプチドの単離を試みた。第1章は序論、第4章はまとめである。

第2章では、5名のモンゴル人インファントから菌として49シングルコロニーを単離し、そのうち29コロニーはグラム陽性、カタラーゼ活性陰性で棒状またはY字形状であった。これらは20コロニーは*B. breve*、9コロニーは*B. longum*菌であることをそれぞれ16S rDNAプライマーによるPCRによって明らかにした。培養上澄みに産生した有機酸を吸光光度分析(340nm)によって定量的に解析した。上澄みにはD-およびL-乳酸、酢酸が生成していることが分かり、*E. coli*、*S. typhimurium*に対して高い抗菌性を示すことを見出した。この抗菌性は有機酸によるものと推定した。

第3章では、生まれて1ヶ月以内のヤギ、ラクダ、ヒツジ、ウサギなどの家畜22頭から試料を採取し、73のシングルコロニーを単離し、16S rDNA汎用プライマーを用いて11のビフィズス菌を単離した。これらは有機酸による抗菌性を示したが、pH7に中和したところ、LA72(*B. bifidum*)はSDS PAGEで2kDaと3kDaに2本のバンドが現れ、これらは*E. coli*に対して25600AU/mlという高い抗菌性を示すことを見出した。プロテイナーゼKおよびトリプシン処理するとバンドが消失し抗菌性も無くなることから抗菌性ペプチドと考えた。今後はこれらのペプチドの1次構造解析と大量培養による抗菌材料化、新たなビフィズス菌の探索などについて研究開発を続ける予定である。

論文審査結果の要旨

ビフィズス菌は嫌気性腸内細菌の一種で、自身が増殖しやすいように腸内環境を整えるために乳酸、酢酸などの有機酸を生成している。ヒトや動物にとっても有害な細菌の増殖が抑制されるので有益な細菌である。ビフィズス菌の分離同定、産生する有機酸、殺菌作用など多くの研究が報告されているが、ビフィズス菌が生産する抗菌ペプチドについての研究は少ない。一方でモンゴルでは家畜への抗生剤過剰投与が社会問題となり抗生剤代替でヒトや動物にとって無害な抗菌剤の開発が求められている。本研究ではモンゴル医療倫理委員会の許可の下、モンゴル人インファントからヒトビフィズス菌を単離同定し抗菌性を明らかにした。次に家畜由来ビフィズス菌から大腸菌などに対して強い抗菌性を示す抗菌ペプチドの単離に成功した。

成果はモンゴルで最も権威のあるモンゴル科学アカデミーから発行されている国際学術誌に総合論文として掲載され、日本国内の学会で研究発表も行い一定の評価も得ており、現在2報目も投稿準備中である。本研究の成果は博士論文として必要な事項をすべて満たし研究の発展性も期待できる。よって申請者は北見工業大学博士（工学）の学位を授与される資格があると審査委員会は認めた。