

令和 2年 8月 6日

学 長 殿

主 査 福田 健二

学位論文審査の要旨及び結果並びに試験の
結果について（報告）

令和 2年 5月20日付けで依頼されました下記の者の学位論文審査
の要旨及び結果並びに試験の結果を別紙1及び別紙2のとおり報告します。

記

専 攻 畜産衛生学専攻（博士後期課程）

氏 名 MENGİ BHARAT

(別紙1)

学位論文審査の結果の要旨	
専攻	畜産衛生学専攻（博士後期課程）
	MENGI BHARAT
	主査 福田 健二 副査 梅津 一孝 副査 池田 新矢 副査 宮本 明夫 副査 柿島 匠
	Structure-viscosity relationship of exopolysaccharide produced by <i>Lactobacillus fermentum</i> MTCC 25067 (<i>Lactobacillus fermentum</i> MTCC 25067が生産する菌体外多糖の構造粘性相関)
審査結果の要旨（1,000字程度）	
<p><i>Lactobacillus fermentum</i> MTCC 25067株はインド産伝統的発酵乳「Dahi」から単離された乳酸桿菌であり、菌体外多糖を生産する。同多糖は極めて高い粘性を示すことから、発酵乳製品の物性改善効果が期待されている。ところが、過去の研究において、菌体培養液の粘性は菌体の増殖に伴い増加するが定常期に入り死菌体数が増加するにつれ低下するという現象が観察された。このような粘性低下は、同多糖の産業利用という観点から望ましいものではなく、抑制する必要がある。このような背景の元、本研究は、同菌株が示す培養液の粘性低下を分子レベルで明らかにし、その抑制法を明らかにすることを目的とした。</p>	

第1章は、緒論として菌体外多糖の特徴や乳酸菌で汎用される遺伝子破壊法などを概説し、本研究の背景、新規性並びに重要性を説明している。

第2章は、*L. fermentum* MTCC 25067株の増殖プロファイルを経時的に解析した。その結果、培養液粘性が培養開始後48時間で最大となり、その後144時間まで低下することを明らかにした。そこで以降の実験は培養開始後48時間目および144時間目の培養液から精製した多糖（以下HePS_{48h}およびHePS_{144h}と表記する）を精製し解析した結果、HePS_{144h}はHePS_{48h}と比較して低分子量の多糖分子が占める割合が有意に高かったが単糖組成には変化がなかったことから、培養後期における多糖分子の断片化が示唆された。

第3章は、HePS_{48h}およびHePS_{144h}水溶液の動粘性を解析した。その結果、いずれの水溶液も非ニュートン流体の特徴を示し、HePS_{144h}水溶液の粘性が有意に低値を示した。また、原子間力顕微鏡による観察の結果、HePS_{144h}では多糖分子が構成する繊維状複合体が細く、かつ断片化していることが示された。

第4章では、菌培養液の原子間力顕微鏡観察とコロニーの走査型電子顕微鏡観察を実施した。その結果、培養144時間目において多糖ネットワークの部分的分解および菌体と多糖ネットワークとの接着の消失が見出された。精製多糖水溶液と培養液が示す粘性との間に大きな乖離が観察され、その一因は菌体と多糖ネットワークとの相互作用の喪失にあると推察した。

第5章は、当該多糖の生合成に関与する推定糖転移酵素遺伝子LF25067_121の破壊株作製を試みた。その結果、エリスロマイシン耐性遺伝子をマーカーとして用いた変異導入系および温度感受性ベクターを用いた変異導入系の構築に成功した。しかし、遺伝子破壊株の取得には至らなかった。

第6章は、研究全体を総括した。

以上、本研究は*L. fermentum* MTCC 25067株の生産する多糖並びに培養液が示す高粘性のメカニズムを分子レベルで明らかにし、さらに研究を発展させる分子ツールとしてEPS関連遺伝子破壊株作製用ベクターの作出に成功した。本研究の成果は、同菌株を用いた発酵乳製品の粘性低下抑制に寄与する重要な知見を提供する。従って、審査委員全員一致で本論文が帯広畜産大学大学院畜産学研究科博士後期課程の学位論文として十分価値があると判断した。

学位論文の基礎となる学術論文

題目 Factors affecting decreasing viscosity of the culture medium during the stationary growth phase of exopolysaccharide-producing *Lactobacillus fermentum* MTCC 25067.

著者 Mengi B, Ikeda S, Murayama D, Bochimoto H, Matsumoto S, Kitazawa H, Urashima T, and Fukuda K.

学術雑誌 Bioscience of Microbiota, Food and Health

(巻・号・頁) (39巻・3号・160–168頁)

発行年月 2020年7月

(別紙2)

専攻	畜産衛生学専攻（博士後期課程）
	MENGI BHARAT
	主査 福田 健二 副査 梅津 一孝 副査 池田 新矢 副査 宮本 明夫 副査 浦島 匡
	令和 2年 8月 6日
(該当のものを○で囲むこと)	<input checked="" type="radio"/> 口頭筆記
要 旨	
<p>主査および副査の5名は学位申請者に対し、令和2年8月6日に総合研究棟Ⅲ号館1階100番教室で公開審査会を実施し、学位論文及び関連する専門知識について口頭試問を実施した。</p> <p>その結果、学位申請者は畜産衛生学専攻博士後期課程修了者としての学力及び見識を有すると認め、博士（畜産衛生学）の学位を与えるに十分な資格を有すると判定した。</p>	