



岐阜大学機関リポジトリ

Gifu University Institutional Repository

| | |
|-----------------------------|---|
| Title | Molecular mechanism of mutagen binding to <i>Lactobacillus gasseri</i> and its role in repressing carcinogenesis(内容の要旨) |
| Author(s) | Othumpangat, Sreekumar |
| Report No.(Doctoral Degree) | 博士(農学) 甲第170号 |
| Issue Date | 2000-03-14 |
| Type | 博士論文 |
| Version | |
| URL | http://hdl.handle.net/20.500.12099/2511 |

この資料の著作権は、各資料の著者・学協会・出版社等に帰属します。

| | |
|------------|--|
| 氏 名 (国籍) | Othumpangat Sreekumar (インド) |
| 学位の種類 | 博士(農学) |
| 学位記番号 | 農博甲第170号 |
| 学位授与年月日 | 平成12年3月14日 |
| 学位授与の要件 | 学位規則第4条第1項該当 |
| 研究科及び専攻 | 連合農学研究科 生物生産科学専攻 |
| 研究指導を受けた大学 | 信州大学 |
| 学位論文題目 | Molecular mechanism of mutagen binding to <i>Lactobacillus gasseri</i> and its role in repressing carcinogenesis |
| 審査委員 | 主査 信州大学教授 細野明義 副査 信州大学教授 大谷元 副査 岐阜大学教授 渡邊乾二 副査 静岡大学教授 碓氷泰市 |

論文の内容の要旨

提出された論文は、*Lactobacillus gasseri* 株の中から抗変異原性と抗菌性に優れた株を選別し、その変異原性物質に対する菌体の結合機構と産生バクテリオシンの性質を明らかにしたものである。学位論文は、第1章 *L. gasseri* のアミノ酸加熱分解物に対する抗変異原性、第2章 *L. gasseri* 菌体によるアミノ酸加熱分解物に対する拮抗的結合、第3章 *L. gasseri* 菌体における結合部位、第4章 *L. gasseri* の生産する gaserocin の分離と精製、第5章 *L. gasseri* のラット腸管内での癌原物質精製の抑制効果 の五つの章から成っており、得られた成果は次のように要約される。

まず始めに、28株の *L. gasseri* の中より食物由来の変異原物質に対して高い抗変異原性を有する株を選定し、*L. gasseri* SBT 0274, SBT 1703, SBT 10239 ならびに SBT 10241 の4株を選別した。これら4株はいずれも Trp-P1 のみならず Trp-P2, IQ, MeIQ, Glu-P1 に対しても高い結合能を有していることが判明した。中でも Trp-P1 に対する結合力が強く、それぞれの菌体 2mg を Trp-P1 と pH 7.0 で 30分結合反応を行なわせると、高い値 (88~90%) で Trp-P1 を結合させることが認められた。同時に Trp-P1 との結合によって、変異原性が大きく失われることも明らかとなった。細胞画分としての細胞壁、ペプチドグリカン、サイプラスミンが Trp-P1 に対し優れた結合能を有していることも判明し、かつ細胞壁多糖類中のグルコース部位がリセプターとしての役割を果たしていることを明確にした。

さらに、アミノ酸過熱分解物を各種組み合わせた混合物の *L. gasseri* 菌体に対する結合性についても調べた。その結果、Trp-P1, Trp-P2 および IQ を組み合わせた場合においても上記4株の菌株は瞬時にそれらと結合することが認められた。しかし、いずれの菌

株ともTrp-P1 に対する結合性が強いものの結合相手となる変異原性物質に対して選択性があることがわかった。

また、*L. gasseri* 細胞と変異原性物質との結合機構について検討した結果、細胞に対し酵素処理や化学処理を行なっても本来の結合能はあまり変わらないことが認められた。しかし、過ヨウ素ナトリウムやTCA処理により結合能が低下することが認められ、コンカナバリンAも結合能を低下させることが明らかとなった。個々の細胞壁画分の結合能を調べることにより、変異原物質との結合に対し細胞壁多糖類中のグルコース部位がリセプターとしての役割を果たしていることが明らかになった。

次に、本研究では供試の4株の*L. gasseri* がバクテリオシンを生産することが明らかとなった。中でも*L. gasseri* SBT 10239が生産するバクテリオシンは、*Listeria monocytogenes*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Enterobacter aerogenes* などのグラム陽性、それに*Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas fluorescens* などのグラム陰性菌に対し優れた抗菌力を有していることを明らかにした。この菌はラクトースを含むMRS培地(pH 6.5)で25°Cで培養したときに最大の抗菌力を示し、生産されたバクテリオシンをギャセリシン(gassericin 10239)と命名した。本研究ではこのgassericin 10239の精製をも試み、精製物の性質についても調べた。その結果、gassericin 10239の抗菌性の発現は被検菌細胞壁に穴をあけ、リン酸イオンを細胞外に排除させることにあることが判明した。

L. gasseri SBT 10239をラットに投与すると腸管内の大腸菌群を減少させる重要な働きをしていることを明らかにした。SBT 10239の投与によって腸管内の β -グルコシダーゼや β -グルコシダーゼのレベルが低減することも同時に明らかにした(P<0.01)。このことからこの株は癌発生の抑制の上からも重要な株であると判断される。

本研究で*L. gasseri*について得られた多くの知見は学術的にも高く評価でき、優れたプロバイオティクスとしての乳酸菌を見出したことは、高機能性発酵乳の開発の面からも大いに注目される。

審 査 結 果 の 要 旨

平成12年1月26日、信州大学農学部において審査委員全員出席のもとに公開発表会が開かれ、約30分間にわたる口頭発表と、約30分間の質疑応答が行われた。

乳酸菌や発酵乳は抗変異原性や抗癌性などの保健効果に優れ、かつ種々の抗菌物質を生産することが知られているが、一つの株が全部それらを優れて兼ね備えているケースは稀である。本研究はこれらの効果に優れた菌種を見出すことを目的として開始された。その結果、*L. gasseri* 株の中からSBT 0274, SBT 1703, SBT 10239 ならびにSBT 10241の4株が優れた株として選別された。上記4株はいずれもTrp-P1のみならずTrp-P2, IQ, MeIQ, Glu-P1 に対しても高い結合能を有し、かつ細胞壁多糖類中のグルコース部位がリセプターとしての役割を果たしていることを明確にした。さらに、*L. gasseri* SBT 10239株が多種のグラム陰性菌に対し優れた抗菌力を有するバ

クテリオシンを生産することも明らかにした。これらの成果は主要な関連の国際誌に採択され、学術的に高く価値を有しているものとして評価される。

各審査委員からの質問にも的確に応えた。審査委員会は本研究の成果が岐阜大学大学院連合農学研究科の博士学位論文として十分な価値を有していることを全員一致で認めた。

[学位論文の基礎となる学術論文]

1. Sreekumar, O, and Hosono, A. 1998. Amino acid pyrolysates competitive and combination binding with *Lactobacillus gasseri* cells. **Milchwissenschaft**, **53**: 73-76.
2. Sreekumar, O, and Hosono, A. 1998. Antimutagenicity and the influence of physical factors in binding *Lactobacillus gasseri* and *Bifidobacterium longum* cells to amino acid pyrolysates. **Journal of Dairy Science**, **81**: 1508-1516.
3. Sreekumar, O, and Hosono, A. 1998. The heterocyclic amine binding receptors of *Lactobacillus gasseri* cells. **Mutation Research**, **421**: 65-72.