

論文審査の結果の要旨

学位申請者 梶谷 賢吾

本論文は、医薬品の原料として有用であり、ヒトを含む哺乳動物に対して有益な生理作用が報告されている D-アスパラギン酸 (D-Asp) の乳酸菌を用いた発酵生産法と新規な機能性食品の開発を目的とし、乳酸菌培養液における D-Asp の酵素学的定量法を開発して食品から D-Asp を多量に分泌生産する乳酸菌を単離するとともに、その D-Asp 高生産機構について解析した一連の研究成果をまとめている。

序章では、D-Asp を含む D-アミノ酸の乳酸菌を含む微生物や動物における生理機能、生理作用や生合成機構について概説するとともに、D-Asp を含む D-アミノ酸の検出・定量法、生産方法や応用的な利用についても概説し、本研究の目的を示している。

第1章では、D-Asp に高い特異性を有する酵母 *Cryptococcus humicola* UJ1 株由来の D-アスパラギン酸オキシダーゼ (ChDDO) を用いて、乳酸菌培養液の D-Asp の簡便かつハイスループットな定量法を開発している。発色基質として TOOS と 4-aminoantipyrine を用いた、ChDDO と西洋ワサビペルオキシダーゼの共役反応による、乳酸菌培養液の D-Asp を簡便かつ迅速に検出・定量可能な方法が開発されている。さらに、新潟県内の野菜・果物や発酵食品から単離された 628 株の乳酸菌株のなかから、開発した D-Asp 検出・定量法を用いて、既知の D-Asp 高生産乳酸菌の約 2.6 倍の D-Asp 生産能を有する乳酸菌 WDN19 株の取得に成功している。また、乳酸菌の D-Asp 生産能は属や種ではなく、株レベルで異なることを明らかにしている。

第2章では、WDN19 株を同定し、近縁株の *Latilactobacillus curvatus* DSM 20019 株との比較解析から、WDN19 株の D-Asp 高生産機構について解析している。WDN19 株のゲノム配列と生化学的な表現形の解析から、WDN19 株は *Latilactobacillus* 属に属する乳酸菌であり、*L. curvatus* に最も近縁であることを明らかにしている。さらに、*L. curvatus* 基準株である DSM 20019 株の比較解析から、D-Asp はアスパラギン酸ラセマーゼ (RacD) により L-Asp から生産されること、WDN19 株における RacD 活性は DSM 20019 株よりも高いこと、またこの理由として WDN19 株における RacD 発現量が高いことに加え RacD そのものの活性が高いことに起因することを明らかにしている。加えて、WDN19 株におけるアスパラギナーゼ活性が DSM 20019 株よりも高いこと、WDN19 株のゲノム上のアスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ遺伝子がトランスポゾン挿入により破壊されていることによる D-Asp 前駆体となる L-Asp の RacD への高い供給量も WDN19 株の高い D-Asp 生産能に寄与することを明らかにしている。

よって、本論文は工学上及び工業上貢献するところが大きく、博士 (工学) の学位論文として十分な価値を有するものと認める。

