| | |
|---|---|
| 氏名・(本籍) | NOOR AZIRA BINTI ABDUL MUTALIB（　マレーシア　） |
| 学位の種類 | 博　士（　学　術　） |
| 学位記番号 | 生工博甲第２５８号 |
| 学位授与の日付 | 平成２８年３月２５日 |
| 学位授与の条件 | 学位規則第４条第１項該当 |
| 学位論文題目 | Microbial community analysis of restaurant cutting boards in Seri Kembangan，Malaysia and the identification of factors associated with foodborne bacteria growth<br>(マレーシア・スリ・ケンバンガンのレストランのまな板上の菌叢解析と食中毒菌の増殖に関係する要因の検討に関する研究) |
| 論文審査委員会 | 委員長　教　授　西田　治男<br>〃　内藤　正路<br>〃　石黒　　博<br>〃　春山　哲也<br>〃　平木場浩二 |

## 学　位　論　文　内　容　の　要　旨

本論文は、マレーシア・スリ・ケンバンガンの 26 のレストランのまな板から採取した細菌の群集構造解析を試み、食中毒菌の増殖についてまとめられている。論文は 5 章よりなる。

第１章では、食中毒の原因、マレーシアにおける食中毒の特徴、また、本研究のテーマに至った着想、衛生状態と食中毒菌の動向等につき、論じられている。そこで、著者は以下の 5 つの研究目的を掲げている。１）まな板上の細菌叢を決定比較する。２）食中毒菌の同定と定量を行い、レストランの清潔度の等級と比較する。３）全体菌量が高い場合と低い場合に分け、それぞれの食中毒菌の決定とその割合の検討をする。４）食中毒菌と他の細菌の門、網、目、種の間に生態学的な関係性を評価する。５）本研究からの知見に基づき食中毒の予防法を提案する。

第２章は、本論文に関連する先行文献の調査に充てられている。ここでは、食中毒について、代表的な食中毒菌について、微生物がつくるバクテオリシン、表面活性物質やクオラムセンシングといった微生物間の活性の制御に係る物質やその相互作用等について詳細に最近の研究論文が検討されている。その結果、多様な微生物をある程度、菌種に分類し、その相対的な多寡を理解する必要性が述べられている。

第３章は、研究方法について述べられている。まず、試料を採取した 26 のレストランの所在地、特徴が記載されている。また、試料の採取法、まな板の条件、何の料理に

使われていたか等が、詳細に述べられている。微生物多様性を遺伝子レベルで明らかにする方法としてパイロシークエンス法が用いられており、その方法の詳細が記載されている。その準備として必要な DNA の抽出法も記載されている。パイロシークエンス法で得られたデータは特性ソフトにより菌の種類を特定することができる。また、その際、菌叢の多寡を相対的に決めるため、リアルタイム PCR を用いた、遺伝子増幅が用いられている。菌種間の関係性には様々な統計的手法が用いられている。

第 4 章では、スリ・ケンバンガンの 26 のレストランのまな板から得られた微生物叢の推定結果がすべて示されている。分析の結果、菌種を特定できる特徴的な DNA 配列（OTU）が 452,401 検出された。その際の平均的な菌数は 1.4 x 107 bacterial cells/cm2 であった。この中で、 Proteobacteria, Firmicutes, Bacteroidetes が最も優先な微生物のグループ(門)であることがわかった。その菌の同程度が最高度のものは Enterobacter, Pseudomonas であった。また、Bacillus cereus, Cronobacter sakazaki, C. turisensis, Escherichia coli, E. coli O157:H7, Salmonella bongori, S. enterica, S. paratyphi, S. tyhpi, S. typhimurium のような食中毒を起こす菌の存在も明らかになった。最も顕著な結果としては、これら食中毒菌の多寡とレストランの等級に大きな関係がなかったことである。ただし、菌の全数は A、B、C の順で多くなる。このことは、微生物菌叢が食中毒菌の多寡に影響を及ぼすことを意味している。最もよく知られたケースは乳酸菌類の分泌するバクテリオシンが様々な微生物の増殖を制御することが知られており、これらの諸点が論じられている。

第 5 章では、第 4 章の実験結果について、さらに統計的に検討されている。ここでは、全菌数が 5.0 × 106 bacterial cells/cm2 より多いグループと少ないグループに分けて検討がなされている。少ないグループの場合、全菌数に占める食中毒菌の占める割合は相対的に高い。一方、多いグループにおいては相対的に食中毒菌の割合が低い傾向にある。この原因を検討するため、様々な菌種と食中毒菌の菌数を比較した。その結果、Clostridiales, Flavobacteriales, Lactobacillales の組み合わせが見られる場合、食中毒菌と負の相関がはっきりと見られることがわかった。さらに、Citrobacter, Enterobacter, Erwinia, Klebsiella, Pantoea といった菌は食中毒菌と正の相関があり、それらの菌が増えれば、食中毒菌も増えることが明らかになった。これらの結果より、菌叢をうまく制御することにより、食中毒菌の増殖を抑えることができる可能性が示唆されている。

本論文を通じ、食中毒菌の増殖に、様々な菌の相互作用が関与し、その増殖の大きさに影響を及ぼすことが明らかにされており、食中毒の発生機構の解明と制御に貢献できる研究であることが認められる。

# 学 位 論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

本論文に関し、論文調査委員及び公聴会出席者より、生菌数と死菌数の関係、食中毒菌の出す毒素とレストランの等級の関係、菌の相互作用と食中毒菌に及ぼす影響、食中毒菌の増殖を抑える可能性のある菌の役割等につき質問があったが、いずれについても著者から十分な回答があり、質問者の理解が得られた。

以上により、論文調査及び最終試験の結果に基づき、審査委員会において慎重に審査した結果、本論文が、博士（学術）の学位に十分値するものであると判断した。