

Study on the Control of Foodborne Pathogens by Phages, Endolysin and Additives

張, 瑜

<https://hdl.handle.net/2324/4496110>

出版情報 : Kyushu University, 2021, 博士 (農学), 課程博士

バージョン :

権利関係 : Public access to the fulltext file is restricted for unavoidable reason (3)

氏名	張 瑜			
論文名	Study on the Control of Foodborne Pathogens by Phages, Endolysin and Additives (ファージ、エンドリシンおよび食品添加物による食中毒細菌制御とその機構に関する研究)			
論文調査委員	主査	九州大学	教授	宮本敬久
	副査	九州大学	教授	井倉則之
	副査	九州大学	准教授	本城賢一

論文審査の結果の要旨

フードチェーンの全ての段階における食中毒細菌の制御は、食品の安全性確保の上で最も重要な課題である。しかし、細菌は食品原料および製造装置表面においてバイオフィームを形成して存在していることから、その制御は困難である。本研究は、食中毒細菌および腐敗細菌制御へのファージおよびファージ由来の溶菌酵素であるエンドリシンの効果について検討したものである。

まず、腸管出血性大腸菌を宿主としてウシの腸から分離されたファージ FP43 の特性について調べた結果、本ファージのゲノムは 169,248 bp、平均 G+C 含量が 37.7% の線状 dsDNA で、266 個のオープンリーディングフレームを含み、抗生物質耐性、毒素、および病原性に関連する遺伝子は含まないことを明らかにしている。その形態から、本ファージは *Myoviridae* 科に属し、種々の腸管出血性大腸菌株だけでなく非病原性大腸菌株も溶菌することを示している。また、FP43 は、腸管出血性大腸菌 0157:H7 および 091:H- の 2 株で構成される混合バイオフィーム中の生菌数を 6 時間の処理により約 2 log 減少させることを示している。さらに、レタスの葉上に形成させた腸管出血性大腸菌混合バイオフィームに対する有効塩素濃度 40 mg/L の微酸性次亜塩素酸水（微酸性次亜水）と FP43 の併用効果についても検討している。その結果、微酸性次亜水単独で 5 分間処理後には生菌数が約 2 log 減少し、この後、10°C で保存中に増加するが、FP43 を添加して保存すると 5 日後さらに生菌数が 1 log 以上減少することを示し、微酸性次亜水と FP43 による連続処理の有効性を明らかにしている。

次いで、Peptidase M15 スーパーファミリーに属する *Salmonella* 溶菌ファージ STG2 由来のエンドリシン LysSTG2 をコードする遺伝子をクローン化し、LysSTG2 の大腸菌での発現および精製に成功している。0.1 mg/mL LysSTG2 は、25°C で 1 時間の処理により *Salmonella* Typhimurium の生菌数を 1.2 log 減少させること、種々の *Salmonella* 属細菌だけでなく腸管出血性大腸菌および *Pseudomonas* 属細菌など他のグラム陰性菌に対しても強い溶菌活性を示すことを明らかにしている。また、マイクロタイタープレートに形成させた *S. Typhimurium* バイオフィームを微酸性次亜水で 10 分間処理後に 0.1 mg/mL LysSTG2 で 1 時間処理すると、生菌数が約 4 log 以上減少することを示し、微酸性次亜水と LysSTG2 による連続処理がバイオフィームを形成した細菌に対して有効であることを明らかにしている。

さらに、食品の腐敗原因菌である *Pseudomonas* 属細菌に対して、LysSTG2 単独およびエチレンジアミン四酢酸二ナトリウム (EDTA・2Na) との併用効果を検討している。その結果、PBS 中で 1 時間処理した場合、0.1 mg/mL LysSTG2 は 5 mmol/L EDTA・2Na との併用により、試験した *Pseudomonas* 属細菌 5 菌種中、*P. aeruginosa* および *P. putida* の生菌数を 25°C ではそれぞれ 5.5 および 3.5 log

減少させること、さらに 8°Cでも生菌数を有意に減少させることを示している。また、マイクロタイタープレートおよびステンレス鋼に形成させた同細菌バイオフィームに対して、1 mg/mL LysSTG2 は、37°Cで2 時間の処理により、それぞれ生菌数を 1.5 および 3.0 log 減少させることを示している。最後に、食品における効果について検討し、LysSTG2 は、鶏肉表面では単独処理により、ミネラルウォーター中では EDTA・2Na との併用により、*Pseudomonas* 属細菌の生菌数を有意に減少させることを明らかにしている。

以上要するに、本研究は、食中毒細菌および *Pseudomonas* 属細菌制御へのファージおよびファージ由来の溶菌酵素エンドリシンの単独および食品添加物との併用効果の有効性を明らかにしたもので、食品衛生化学および食品微生物学の発展に寄与する価値ある業績と認める。

よって、本研究者は博士（農学）の学位を得る資格を有すると認める。