

# 論文審査の結果の要旨

申請者氏名 取 出 恭 彦

畜産業、水産養殖業において、抗生物質等の薬剤を使用する事に対する懸念が高まっている今日、それに替わる手段を開発することは、喫緊の課題である。本研究は、グルタミン酸発酵に使われて、安全性に疑いのない *Brevibacterium lactofermentum* の菌体が免疫賦活活性をもつことに注目して、とくにその活性の強い菌株を選抜し、それを酵素処理してペプチドグリカン画分を調製し、それを実際の養豚やエビの養殖に適用することを目的としたものである。さらに、研究の過程で、この菌体が、生物学的に活性の強い還元型の葉酸を含むことを見出し、とくに活性型の葉酸の含有量の高い菌株を選抜し、それを母豚や子豚に給与して、産子および育成に有効であることを検証したものである。

第1章では、種々の菌株の免疫賦活活性を、マウス脾臓細胞のIgM生産能を指標とした *in vitro* のアッセイ系で測定し、活性の高い菌株をスクリーニングした。その結果、*Escherichia coli* 由来のリポ多糖に匹敵する高い活性をもつ菌株として *Brevibacterium lactofermentum* を選抜し、それを酵素処理して粉末とし、免疫賦活剤として利用できないかを検定する基盤を構築した。この標品を、哺乳期の子豚に経口投与して、ロタウイルス感染による下痢の防止に顕著な効果を示すことを証明した。さらに、その活性は、菌体の細胞壁構成成分であるペプチドグリカンによる非特異的免疫賦活効果によるものであろうと推定している。

第2章では、より実用的な応用を企図し、哺乳子豚、離乳子豚および母豚の飼料へ標品を添加し、子豚の生育や下痢防止の効果を調べた。その結果離乳子豚では、0.01-0.03%の添加で、下痢防止効果のあることを証明した。母豚への添加では、哺乳子豚の下痢罹患率を低下させ、生存率を上昇させた。

第3章では、母豚への添加効果をより詳細に検討した。そして、母豚で、糞中の大腸菌の数を減少させる効果、初乳中の $\beta$ ラクトグロブリン、 $\gamma$ ラクトグロブリン含量を増加させる効果を証明した。母豚に妊娠初期から授乳期を通して投与し、かつ哺乳期の子豚の飼料に添加すると、高い子豚の生存率、1腹あたりの子豚体重の増加、生存産子数の増加効果があることを確認した。

第4章では、ブラックタイガー (*Penaeus monodon*) の養殖における生育、抗病性に対する標品の効果を検証した。その結果、血球の貪食活性の向上効果のあることを証明し、さらに Yellow head baculovirus の接種による耐病試験で、標品投与区では生育促進効果が認められ、かつもっとも高い生存率を示すことを明らかにした。

第5章、第6章では、豚で、酸化型葉酸の生物活性が低く、還元型葉酸が有効であるとの知見をもとに、この標品が還元型葉酸を多く含むことに着目し、標品の葉酸源としての効果を明らかにしようとした。母豚に標品を投与することによって、1腹あたりの生存産子数、出生時体重を有意に増加させることを証

明した。

さらに、葉酸の生合成系の重要な酵素であるジヒドロ葉酸還元酵素の阻害剤トリメトプリムに耐性の菌株を選抜することで、標準の標品より葉酸含量の高い菌株を選択し、この菌株を原料に高葉酸標品を調製した。この標品を豚に経口的に投与して血中の葉酸の濃度の変化を調べ、この標品中の葉酸が活性型であることを確認した。この標品は、従来用いられているロイコボリンよりはるかに安価で、実用的価値がある。

以上の結果に基づいて開発された *Brevibacterium lactofermentum* の標品は、哺乳期および離乳期の子豚の下痢防止、ブリ、ティラピアなどの養殖魚、クルマエビ、ブラックタイガーなどの養殖エビの歩留まり向上と抗病性向上、繁殖豚での繁殖成績向上等に有効な製品として市販、実用化されて、優れた成果を挙げている。

以上、本研究は、従来付加価値の低い利用状況であったグルタミン酸発酵で派生する副産物である *Brevibacterium lactofermentum* の菌体を、畜産や養殖エビ、養殖魚に与えて有効な付加価値の高い標品として利用する基盤を構築し、さらにその実用化に成功したもので、学術上、応用上貢献するところが少なくない。よって審査委員一同は、本論文が博士（農学）の学位論文として価値あるものと認めた。

て