

論文審査の結果の要旨

報 告 番 号	博（生）乙第 9号	氏 名	笠 間 憲 太 郎
学 位 審 査 委 員	主 査	森 井 秀 昭	
	副 査	原 研 治	
	副 査	小 田 達 也	
	副 査	橘 勝 康	
	副 査	荒 川 修	
論文審査の結果の要旨			
笠間憲太郎氏は、昭和52年3月に九州大学大学院農学研究科（水産学専攻）修士課程を修了後、同年12月まで同博士課程に在学し、同12月からは長崎大学水産学部に勤務し、現在に至っている。 同氏は、水産学部においては水産微生物学研究室に所属し、微生物学に関する学生の教育や研究指導を行うとともに、低温好塩性発光細菌 のヒスタミン生成に関する研究にも従事してきた。その成果に基づいて、平成18年12月に主論文「低温好塩性発光細菌 <i>Photobacterium phosphoreum</i> のヒスタミン生成に関する研究」を完成させ、参考論文5 編（すべて査読付学術論文）を添えて、生産科学研究科に博士（学術）の学位を申請した。 長崎大学大学院生産科学研究科教授会は、平成18年12月20日の定例教授会において、資格審査委員会による資格審査の結果の報告に基づいて、論文提出による学位論文の提出資格を審査し、本論文を受理しても差し支えないものと認め、上記の学位審査委員を選定した。学位審査委員会は主査を中心に論文内容を慎重に審査し、公開論文発表会における発表を行わせるとともに、口頭による基礎および専門分野の試験と外国語（英語とドイツ語の二ヶ国語）の能力判定を行い、論文審査および試験及び諮問の結果を平成19年2月21日の研究科教授会に報告した。 提出された論文は、低温性の発光細菌としてよく知られている<i>Photobacterium phosphoreum</i> のヒスタミンの生成に関して研究を行ったものである。これまで、中温性の腸内細菌科の細菌が生成したヒスタミンが食中毒を起こすことはよく知られているが、低温細菌によるヒスタミン生成に関する研究はあまり見られない。特に魚介類は低温下で保存および流通することから、魚介類における低温下でのヒスタミン生成〔ヒスチジン脱炭酸酵素（HDC）作用〕を知ることは、食品衛生の観点から極めて重要である。			

第1章ではサバなどの赤身魚を摂食することにより起こるアレルギー様食中毒（ヒスタミン中毒）と中温性ヒスタミン生成細菌、同細菌によるヒスタミン生成と同菌のHDCおよび低温性ヒスタミン生成細菌と同細菌のヒスタミン生成に関する研究の状況について詳述し、本研究が行われるに至った経緯を述べている。

第2章では氷蔵（氷と魚体が直接に接触する）および氷冷（氷と魚体が直接に接触しない）下に貯蔵したサバでの*P. phosphoreum*の消長とヒスタミン生成との関係を調べた結果、両貯蔵下のいずれのサバとも表皮と筋肉では同細菌を認めず、ヒスタミン量も極めて少なく、一方腹部内壁では両貯蔵下とも同菌が増殖し、有意なヒスタミンの蓄積を氷冷下で認めている。

第3章ではヒスタミン生成に及ぼす物理的および化学的因子の影響を調べた結果、ヒスタミン生成温度は生育温度より極めて高いこと、ヒスタミン生成 pHは生育 pHとほぼ類似すること、洗浄菌体でのヒスタミン生成は2~4% NaCl存在下で良好で生育も同傾向を示したが、菌体抽出液では0% NaClでその生成量は最大となったこと、HDC産生能は嫌気状態では好気状態の約2倍となったことを述べている。

第4章では異なる酸素分圧下で培養した*P. phosphoreum*のHDC活性とその安定性を検討した結果、同菌の生育はより好気状態で活発だったがHDC産生能はより嫌気状態で高かったこと、同菌は推定分子量70万の構成的HDCと17万の誘導性HDCを産生し、構成的HDCは好気状態で誘導性HDCは嫌気状態で多く産生したこと、誘導性HDCはジチオトルで安定化し、構成的HDCは不安定であること述べている。

第5章では培養の温度、pH、NaCl濃度および海水濃度が*P. phosphoreum*のHDC産生に及ぼす影響を調べた結果、7℃、pH 6.0、5% NaCl濃度および全海水下でHDC産生能が最大となり、これらの結果は誘導性HDCを反映するとしている。他方、構成的HDCと誘導性HDCの反応至適条件および反応の範囲がこの両者で異なり、同菌によるヒスタミンの生成がより広い環境下で起こることを示唆している。

第6章では*P. phosphoreum*のHDC遺伝子を導入した*E. coli*を用い、発現したHDCの性質を調べた結果、*E. coli*に導入された*P. phosphoreum*のHDC遺伝子は誘導性HDCの遺伝子であったこと、受容菌*E. coli* BL21 (DE3)はそれ本来のHDCを産生し、そのHDCの分子量と反応条件は*P. phosphoreum*の構成的HDCに近似したこと、HDCのアミノ酸配列は*P. phosphoreum*と腸内細菌科の細菌との間で高いブートストラップ値で系統樹クレードを形成したが、分類学的に似た*Listonella anguillarum*とは分岐した系統樹を形成したことを述べている。

以上の結果から、*P. phosphoreum*は低温性HDCに加えて中温性HDCをもつこと、つまり鮮魚を含む水産食品の多様性からくる広範囲な環境でHDC生成がなされることを示唆し、鮮魚の取扱いやその流通過程、調理の過程、および貯蔵に至る衛生的な取扱いがヒスタミン中毒を阻止するために必要であると述べており、これらの成果は食品を安全に摂食する必要性から極めて高く評価される。審査委員会の報告に基づいて審査した結果、本論文は食品衛生の向上に大きく貢献するものであることを認め、博士（学術）の学位に値するものとして合格と判定した。