

博 士 学 位 論 文

内容の要旨及び審査結果の要旨

(平成 29 年 3 月授与関係分)

第 22 号

神 戸 女 子 大 学

は し が き

本誌は、学位規則（平成25年3月11日文部科学省令第5号）第8条による公表を目的として、平成29年3月16日、本学において博士の学位を授与した者の論文の内容の要旨及び論文審査の結果の要旨を収録したものである。

目 次

課程修了によるもの（課程博士）

(学位記番号)	(氏 名)	(論文題目)	(ページ)
家博甲第13号	稲垣 佳映	実エンドウの莢のオートクレーブ抽出物 による血清脂質改善効果	1

論文提出によるもの（論文博士）

(学位記番号)	(氏 名)	(論文題目)	(ページ)
家博乙第10号	才新 直子	アラビアガム分解能をもつビフィズ ス菌の新規な糖質加水分解酵素	6

氏名（本籍）	稲垣 佳映（岡山県）
学位の種類	博士（食物栄養学）
学位記番号	家博甲第13号
学位授与の年月日	平成29年3月16日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 家政学研究科 食物栄養学専攻
論文題目	実エンドウの莢のオートクレーブ抽出物による血清脂質改善効果
論文審査委員	主査 教授 栗原 伸公 副査 教授 山本 勇 副査 教授 田中 紀子 副査 畿央大学 教授 小西 洋太郎

論文内容の要旨

【背景】

一般に、野菜や果物などの種子、表皮、切れ端などは日常的な廃棄物として処分されている。このような食品廃棄物の有効利用を推進するため、農林水産省は環境負荷が小さく循環を基本にした循環型社会の形成を目指して「食品リサイクル法」を策定した。また、消費者庁も、食材の無駄を少なくするレシピを提供するための料理サイトを設けているが、これら食品廃棄物はその多くが肥料や家畜用飼料として利用されているのが現状である。もしこのような廃棄される部分に含まれる成分に人の健康生活に有用・有益な働きのある活性・成分を見出すことができれば、循環型社会の形成の一助となるはずである。既に報告されているように野菜や果物の廃棄部分には、食物繊維やポリフェノールが多く含まれ、両成分ともに人の健康におおいに役立てられている。これら成分の簡易な抽出方法を工夫して、今後の循環型社会で役立つ食品への展開の可能性が期待されている。

【目的】

食物繊維やポリフェノール含量が比較的多いとされるものとして、廃棄率（55%）が非常に高い実エンドウに焦点を当てた。特に実エンドウの莢に含まれる食物繊維にはビフィズス菌増殖活性があることやポリフェノールにも抗酸化活性があるとの報告がある。しかし、生体内における実エンドウの莢の活性については未だ報告がない。この実エンドウの莢の成分が生体内でいかに作用し、さらに生体にどのように影響を与えるかを明らかにするため、オートクレー

ブ抽出法を用いて莢の食物繊維とポリフェノールを同時抽出し、この抽出物を用いて動物実験を行い、新規な健康補助食品としての可能性を検討した。

【方法】

実エンドウの莢を凍結乾燥させ、0.5 mm 以下の乾燥粉末 100 g に 2 L の蒸留水を加え、120℃、30 分でオートクレーブ抽出を行った。抽出濾液は再び凍結乾燥し、粉末にし、Autoclaved Extract (AE) とした。動物実験は、AIN - 93G を基準とした Control 群、ポジティブコントロールとしてスクロース 25%とした飼料を HS (High Sucrose) 群とし、さらに HS 食に AE を 3%添加した HS+AE 群を設定した。4 週齢の SD 系雄性ラットを使用し、3 日間の予備飼育後に 28 日間精製飼料を与えた。糞便測定のため、解剖 4 日前から糞便を採取した。18 時間の絶食後に解剖を行い、静脈血、肝臓、生殖器周囲脂肪、盲腸を採取した。血糖値、血清中脂質 (トリグリセリド; TG、総コレステロール; T-Chol) の測定には、既存のキットを用いた。また肝臓中脂質 (総脂質、TG、T-Chol) 及び糞便中脂質 (総脂質、TG、T-Chol)、糞便中総胆汁酸については脂質画分抽出後、既存のキットで測定した。

In vitro では、AE によるリパーゼの活性阻害及びコレステロール吸着作用を調べた。ラット盲腸内での bifidobacteria の増殖促進効果について bifidobacteria 菌株に対する増殖の違いも検討した。

【結果】

HS 群と比較し HS+AE 群では血清 TG、T-Chol レベルが有意に低下した。また、HS+AE 群では、糞便中総脂質量は有意に増加した。In vitro の実験で AE には、膵リパーゼ活性阻害やコレステロール吸着作用があることが明らかとなった。さらに、リパーゼ活性阻害の本態は AE 由来水溶性食物繊維 (SDF) であり、コレステロール吸着作用は AE 由来不溶性食物繊維 (IDF) によることが示唆された。

盲腸内容物中の bifidobacteria の総菌数に占める割合は、HS 群と比べて HS+AE 群で有意に増加した。さらに AE 添加培地中で *Bifidobacterium bifidum* JCM 1254 は有意な増殖促進効果を示した。

【考察及び結論】

AE は、糞便中への総脂質排泄を促すことにより血清中脂質 (TG 及び Chol) の上昇を抑制することが明らかとなった。さらに、腸管内では AE 由来の SDF がリパーゼの活性を阻害し、AE 由来の IDF がコレステロール吸着作用を持つことが示唆された。また、AE は盲腸内容物中で bifidobacteria の増殖を促進することが明らかとなった。

以上の結果から、実エンドウの莢のオートクレーブ抽出物 (AE) は新規な健康補助食品として活用できる可能性がある。

論文審査結果の要旨

本論文は、実エンドウの莢のオートクレーブ抽出物 (Autoclaved extract、以下 AE と略す) を作製し、ラットに与えてその生理的効果を調べる *in vivo* の実験と、AE のリパーゼ活性阻害やコレステロール吸着作用、ビフィズス菌増殖促進効果を調べた *in vitro* 実験からなる。

稲垣佳映氏は、先行研究で実エンドウの莢から Prosky 法によって食物繊維を抽出し、これを 3%含む飼料をラットに与えると血清コレステロール濃度が低下することを見出した。Prosky 法は食物繊維の一般的な抽出方法であるが、3種類の酵素で試料を処理した後、有機溶媒で洗浄するという煩雑な操作を必要とする。そのため、今回はより安価で時間がかからない方法としてオートクレーブ抽出法を実施した。オートクレーブ抽出法については、食品への応用は少なく、ユニークな試みとして評価できる。AE の組成を分析した結果、無処理の実エンドウの莢にくらべ、ポリフェノールは減少したものの水溶性食物繊維は 10 倍以上増加していた。つづいて水溶性食物繊維の増加によって新たな生理活性が見出される可能性を予測して、動物実験を行った。飼料の設定は、コントロール食として 4 週齢のラットの生育に必要な栄養素をすべて含む AIN93G (スクロース 10%を含む)、スクロース 25%を含む高スクロース食 (HS 食)、HS 食に 3%の AE を加えた HS+AE 食とし、3 群で実験を行っている。HS 食で、スクロースを 25%としたのは脂肪酸代謝が亢進する結果、コントロール食に対して、血清中のトリグリセリドとコレステロール濃度の両方が上昇することを予想したためであるが、一般に用いられる高スクロース食は 50~60%である。動物が下痢を起こさないよう配慮して低い濃度で行ったことは評価できる。結果として、血清中のトリグリセリド濃度もコレステロール濃度もコントロール食に対し有意に上昇したが、HS+AE 食では血清トリグリセリド濃度もコレステロール濃度も HS 食に対し有意に低下した。解剖前 3 日間の糞便を回収し、重量や水分含量を測定した結果、コントロール食、HS 食、HS+AE 食で有意差は認められなかったが、糞便中の総脂質やトリグリセリド、コレステロール含量は HS+AE 食で増加していた。この結果から血清トリグリセリド濃度の低下と糞便への脂質排泄にリパーゼ活性の阻害が関与しているのではないかと仮説を立てた。

リパーゼ活性阻害の *in vitro* 実験の結果、AE、AE からポリフェノールを除いた AERP (AE which removed polyphenol)、AE から抽出した水溶性食物繊維 (AE-SDF) の全てについて、反応系に何も添加しない場合に比べて有意にリパーゼ活性の阻害が見られた。特に AE-SDF と AERP (それぞれ 80 mg/6ml) では何も添加しない場合に比べ、40%以上の阻害を示していたことから、リパーゼ活性の阻害は AE-SDF によるもので、ポリフェノールは阻害の主な成分ではないと考察した。

つづいて血清コレステロール濃度の低下と糞便中のコレステロール排泄増加のメカニズムを明らかにするために、*in vitro* でコレステロールの吸着実験を行った。コレステロールのミセ

ルのみの場合に比べ、AE 2,000 mg/7ml 添加によってミセル中のコレステロール量が有意に減少した。さらに AE-SDF の添加でコレステロールの有意な減少はみられなかったが、AE から抽出した不溶性食物繊維 (AE-IDF) 100mg/7ml 添加ではミセル中のコレステロールは有意に減少した。一般にその粘性によってコレステロールなどの吸着能を示すのは水溶性食物繊維であるが、不溶性食物繊維にコレステロール吸着作用が認められたのはユニークである。オートクレーブ処理により不溶性食物繊維が粘性を獲得したのではないかと考察している。

先行研究では実エンドウの莢の食物繊維にビフィズス菌増殖促進効果が認められたことから、AE によるビフィズス菌増殖促進効果について検討した。一つは動物実験実施の際の盲腸内容物を用いて FISH 法 (蛍光 In Situ Hybridization 法) でビフィズス菌数を計測し、さらには試験管内で既知のビフィズス菌 3 株 (*Bifidobacterium longum* JCM 1217、*Bifidobacterium infantis* JCM1222、*Bifidobacterium bifidum* JCM1254) の増殖促進効果について検討した。結果として、ラットの盲腸内容物中のビフィズス菌数は HS 食ラットに比べ、HS+AE 食ラットで有意に増加した。また、AE を含む培地で *Bifidobacterium bifidum* JCM1254 は既知のプロバイオティクスであるラクツロースの約 10 倍、菌数の増加が見られた。

以上の実験から血清トリグリセリド濃度の低下の要因としては、AE-SDF によるリパーゼ活性の阻害を、血清コレステロール濃度の低下の要因としては AE や AE-IDF によるコレステロール吸着を上げているが、AE 中に含まれる植物ステロールや AE によるビフィズス菌増加との関連についても言及している。*Bifidobacterium bifidum* MB107、MB109 がコレステロールを資化するとの論文が根拠となっているが、AE 摂取により増加したビフィズス菌で資化の実験を行うことが課題として残された。

以上の結果、廃棄物である実エンドウの莢からオートクレーブ抽出により調製した AE は血清脂質改善効果やビフィズス菌増殖促進効果を有することから新規な健康補助食品として活用できるのではないかと結んでいる。

本論文は、現在廃棄物となっている実エンドウの莢のオートクレーブ処理で得た抽出物に血清脂質改善効果およびビフィズス菌増殖促進効果を新たに見出し、未利用資源の新たな利用法として健康補助食品への応用を提唱しており、食品・栄養学的見地から大いに評価できる。よって、本審査委員会は本論文を博士の学位に相当する論文と判断した。

試験の結果又は学力の確認の要旨

審査委員会は、1月23日、2月7日の両日、計3時間余にわたって、研究課題や基礎学力について試問を行った。また下記にも示すように、2月14日に1時間をかけて公開審査会を行った。その際、家政学研究科の教員を含む参加者からの多くの質問に対し答えるとともに、回答を保留した質問を含めすべての質問に対して、2月21日主査に対して回答書を提出し、審査委員会としてその内容が適切なものと判断した。

以上の審査過程を通じて、審査委員会は、稲垣佳映氏が博士としてふさわしい学力を有しているものと判断した。

公開博士論文討論発表会の結果

稲垣佳映氏の公開博士論文討論発表会は、2017年2月14日午後4時から、本学須磨キャンパスC館318号教室で行われた。家政学研究科教員、院生などの出席のもと、パワーポイントを用いて論文内容を説明する発表が約30分間行われた。発表は、研究の背景となる食品廃棄物の利用、食品廃棄部分の健康増進効果に始まり、実エンドウの莢を実験に用いた理由、実エンドウ莢のオートクレーブ処理、動物実験、*in vitro* 実験であるリパーゼ活性阻害実験、コレステロール吸着実験、AEによるビフィズス菌増殖促進効果の順で述べられ、最後に今回実エンドウ莢からオートクレーブ処理により調製されたAEの健康補助食品への活用の可能性で締めくくられた。その後30分にわたって主査、副査を含む教員および参加者から23点にわたって質疑があり、それに対して応答があった。質問はオートクレーブ抽出に関するもの、高スクロース食摂取によって増加した血清コレステロールのAE摂取による低下に小腸内の食物繊維と大腸内のビフィズス菌増加がどのように関わっているか、コレステロールの吸着実験やリパーゼ活性阻害実験、実エンドウの莢以外に豆の莢を用いた動物実験があるか、今回の結果はAEのどの成分によるのか、コレステロールの吸着実験についてや高脂肪食飼料で実験を実施しなかった理由等であり、その全てについては口頭での回答に加え、2月21日に提出された口頭試問の回答書（別紙）において補足され、適切な回答が得られている。

これらの点から、審査委員会として、当該領域の博士に必要な知識とプレゼンテーション能力があることを確認した。

総合結果

以上の結果から、審査委員会は全員一致で、稲垣佳映氏に博士（食物栄養学）の資格があるものと判断した。

氏名(本籍)	才新 直子 (大阪府)
学位の種類	博士(食物栄養学)
学位記番号	家博乙第10号
学位授与の年月日	平成29年3月16日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当 家政学研究科 食物栄養学
論文題目	アラビアガム分解能をもつビフィズス菌の新規な糖質加水分解酵素
論文審査委員	主査 教授 長澤 治子 副査 教授 狩野 百合子 副査 准教授 田村 奈緒子 副査 龍谷大学農学部 教授 植野 洋志

論文内容の要旨

【背景】

Bifidobacterium 属(ビフィズス菌)はグラム陽性の嫌気性細菌でヒトの健康増進に有益な菌として注目されている。ゲノム解析は、ビフィズス菌がオリゴ糖や多糖類を分解して増殖するために働く遺伝子クラスターの存在を示したが、利用する糖とそれに対応する酵素の同定や、酵素の機能の解明が待たれている。食物繊維であるガム類は二種類以上の結合様式をもち、ガム類の分解にはより多くの酵素の関与が考えられる。

【目的】

ビフィズス菌の細胞内で作用する糖質加水分解酵素を精製して性質を調べ、ビフィズス菌の生理機能の理解を深めると共に、新糖合成や健康増進に有用な物質合成への利用を検討する。

【方法】

ガム類を炭素源として、ヒトから分離された数種のビフィズス菌を培養した。糖質加水分解活性の標準測定は4-nitrophenyl (4NP)-グリコシドを基質とした。 α -及び β -ガラクトシドを加水分解する酵素活性は3,5-ジニトロサリチル酸法を、 α -グルコシドの加水分解活性はグルコース分析キットを用いて測定した。糖転移活性は薄層クロマトグラフィーにより検出した。酵素の精製はゲル濾過、イオン交換、疎水性クロマトグラフィー、電気泳動で行った。酵

素のアミノ酸配列は MALDI-TOF-MS とタンデム MS で分析した。

【結果】

調べたガム類のうち、アラビアガムを炭素源として *Bifidobacterium longum* subsp. *longum* JCM 7052 が増殖することを見出した。アラビアガムで培養した JCM 7052 株はアラビアガムを分解した。高い比活性を示した α -ガラクトシダーゼ (Gal), β -Gal, 及び α -グルコシダーゼ (Glc) を精製し、新規な性質をもつ酵素を得た。精製した二種の α -Gal のうち、アラビアガム培養で誘導されるものを α -GalX, グルコース培養で高い比活性を示したものを α -Gal I とする。 α -GalX は JCM7052 株以外のビフィズス菌ロンガム種のゲノムには見られなかった。一方、 α -Gal I は *aga* 遺伝子産物であった。どの酵素もメリビオースとラフィノースの α -1,6-ガラクトシド結合を pH7.5-8.0 で加水分解し、また、何れも 4NP- α -ガラクトピラノシドから多糖への糖転移活性を示した。

アラビアガム培養した菌から精製した β -Gal は乳糖を分解せず、 β -1,3-ガラクトシドを加水分解する *lacA* 遺伝子産物と同定された。4NP- β -ガラクトシドから多糖への糖転移活性を示した。

アラビアガム培養した菌から精製した2種類の α -Glc は、何れもマルトースを分解せず、イソマルトースなどの α -1,6-グルコシド結合を加水分解するオリゴ-1,6-グルコシダーゼと考えられた。また、アルコールにグルコースを転移しエチル- α -D-グルコシドを合成した。

【結論】

アラビアガムで増殖する *B. longum* subsp. *longum* JCM 7052 から精製した5種の酵素 (α -Gal 2種, β -Gal 1種, α -Glc 2種) はどれも新規な酵素の性質を示した。酵素の糖転移活性により、種々のオリゴ糖やエチル- α -D-グルコシドの合成が可能であり、ビフィズス菌の増殖やヒトや動物の健康増進への有益な利用が期待される。

論文審査結果の要旨

本論文は、人や動物の健康に有益な効果が明らかにされてきたビフィズス菌の増殖に必要なエネルギー源、炭素源として利用される糖質について、十分に調べられていなかったガム類を分解する菌種、菌株の同定、ガム類の分解に関与する糖質加水分解酵素の性質、特に糖転移酵素活性について調べ、その利用を検討することを目的として4章にわたって述べたものである。

尚、本論文は、査読付き雑誌に掲載された次の4論文の研究を中心にしてまとめられている。J. Biol. Macromol. 9: 73-81 (2009), J. Biol. Macromol. 10: 13-22 (2010), J. Biol. Macromol. 10: 23-31 (2010), J. Biol. Macromol. 16: 43-53 (2016).

第1章では、本研究の背景や目的と研究成果の応用への可能性について説明している。すなわち、腸内細菌叢は宿主の健康と密接に関わっているが、特にビフィズス菌は種々の糖を分解して酢酸や乳酸を生成し、腸内を弱酸性に保つことにより腐敗菌の増殖や病原菌の感染を抑制し、抗突然変異性や抗発がん性の効果、下痢の防止、免疫獲得、さらに血清コレステロール減少を促進するなど、様々な働きを有していること、腸内微生物のバランスを改善することによって宿主の動物に有益な効果をもたらす生菌をプロバイオティクス、特定の腸内細菌の増殖と代謝活動を選択的に促進させることによって宿主に有益な効果を与えることのできる食物繊維などをプレバイオティクスと定義し、その発見や開発の研究が進められていること、ビフィズス菌のゲノムが2002年に初めて報告され、糖質分解酵素の遺伝子は40種を超えて存在し、関連する輸送体遺伝子、転写調節タンパク質遺伝子などとクラスターを形成しており、細胞外で多糖類が分解されて生じたオリゴ糖が細胞内に取り込まれ、細胞内の糖質加水分解酵素などで更に分解されて利用されることが明らかにされていること、ガム類は2種類以上の結合様式で糖が結合しており、1種類または2種類の結合様式をもつ多糖類の分解よりも作用する分解酵素の種類が多いと予想されることがアラビアガムを例に示され、ガム類を炭素源として増殖できるビフィズス菌の同定とその分解に関与する酵素の性質を調べて利用することの可能性を説明している。

このようなビフィズス菌の性質を踏まえて、ガム類を分解して増殖するビフィズス菌の種株を同定すること、ガム類の分解に関与する酵素を精製し、糖転移活性などの性質を明らかにすること、及び酵素の利用の検討を目的として研究が行われた。

第二章は実験方法で、10種15株のビフィズス菌の嫌気培養法、3種類の酵素活性測定法、糖転移活性測定法、酵素の精製法、分子量測定法、MALDI-TOF-MSによるタンパク質のアミノ酸配列分析法と遺伝子の同定法が詳細に示されている。

第三章は結果と考察で、まず、10種15株のビフィズス菌の中から *B. longum* subsp. *longum* JCM 7052 株と *B. longum* subsp. *longum* JCM 7053 株にアラビアガム分解能があることを見出し、そのうち JCM 7052 株について、アラビアガムが菌の細胞表面で加水分解されること、アラビアガムで培養した菌抽出液はグルコース培養した菌の抽出液に比べて6種類の加水分解酵素の比活性が2~10倍高いことなどを見出している。

それらの加水分解酵素のうち、特に比活性の高かった2種類の α -ガラクトシダーゼ、1種類の β -ガラクトシダーゼ、2種類の α -グルコシダーゼを精製し、それらのアミノ酸配列をMALDI-TOF-MSで分析して酵素の遺伝子を同定し、酵素の性質を詳細に調べて考察している。

酵素の精製は最も比活性の高かった α -ガラクトシダーゼから始め、アラビアガム培養で比活性が高い酵素と、グルコース培養で比活性が高い2種類の α -ガラクトシダーゼがあったことから、前者を α -ガラクトシダーゼX、後者を α -ガラクトシダーゼIとして単一のタンパク質になるまで精製し、MALDI-TOF-MSで分析したペプチドのアミノ酸配列から、JCM7052株ゲノムの

遺伝子産物の一つずつに α -ガラクトシダーゼ X と α -ガラクトシダーゼ I をそれぞれ同定している。 α -ガラクトシダーゼ X は他のロンガム種のどの株にも見つからず、JCM7052 株に独特な酵素と考えられた。一方、 α -ガラクトシダーゼ I はロンガム種の他の株のゲノムにも存在した。両酵素とも最適 pH は 7.5~8.0 であり、既報のロンガム種の α -ガラクトシダーゼの最適 pH 5.5~6.0 とは異なるものであった。また、両酵素とも 40℃ と 45℃ で 0.15 M NaCl によって熱安定性が高まるという特徴が見られたが、50℃ では効果がなかった。

β -ガラクトシダーゼを、アラビアガムで培養した JCM 7052 から精製し、MALDI-TOF-MS による分析で JCM 7052 ゲノム中に *lacAI* 遺伝子産物と同定した。 β -1,4-ガラクトシド結合を持つラクトースを分解できず、 β -1,3-または β -1,6-ガラクトシド結合を加水分解する酵素と推定された。この酵素も NaCl によって熱安定性が向上した。ガラクトースによって拮抗阻害が起こることは糖転移活性の利用の観点から注目された。

二つの α -グルコシダーゼが、アラビアガム培養した JCM 7052 菌抽出液のイオン交換クロマトグラフィーで分離され、それぞれを精製して MALDI-TOF-MS で得られたペプチドのアミノ酸配列から二つの遺伝子を同定し、両酵素とも基質として α -1,6-グルコシド結合を持つイソマルトース、パラチノース、イソマルトトリオース、パノース、及び α -1,1-グルコシド結合を持つトレハロースを加水分解することから、オリゴ 1,6-グルコシダーゼであることを示している。

精製した五つの酵素について糖転移活性を調べ、その応用の可能性を検討している。まず、 α -ガラクトシダーゼと β -ガラクトシダーゼについて、ガラクトシル基の供与体として 15 mM 4-ニトロフェニル(4NP)- α -D-ガラクトシドと 4NP- β -D-ガラクトシドを用い、種々の糖質への転移を調べ、 α -ガラクトシダーゼ X と β -ガラクトシダーゼは、ガラクトースとメリビオースを受容体としたとき新規なオリゴ糖を合成したが、グルコース、マンノース、スクロース、アラビノース、ガラクトキノールには糖転移が見られないことを見出した。 α -ガラクトシダーゼ I は、受容体として用いた全ての糖にガラクトースを転移し、生成オリゴ糖はラフィノースとメリビオースの他は新規なオリゴ糖と考えられた。

α -グルコシダーゼについて、0.4 M の糖質をグルコースの供与体と受容体とした時、Ag1A1、Ag1A2 はともにイソマルトース、パラチノース、イソマルトトリオース、パノースから糖転移が起こり、イソマルトースからイソマルトトリオースが生成されるなど、 α -1,6-グルコシド結合したオリゴ糖ができると考えられる結果を得ている。また、0.5 M パラチノースをグルコシル基供与体とし 1.0 M アルコールを受容体とした時、エタノール、1-プロパノール、2-プロパノール、1-ブタノール、1-ヘキサノール から、エチル- α -D-グルコシド、プロピル- α -D-グルコシド、イソプロピル- α -D-グルコシド、ブチル- α -D-グルコシド、ヘキシル- α -D-グルコシドが生成されたと考えられる結果を得ている。

第四章結論では、アラビアガム分解能をもつビフィズス菌として同定された *B. longum* subsp. *longum* JCM 7052 から精製された 5 種類の糖質加水分解酵素の新規な性質をまとめ、特に各酵素の糖転移活性の結果を踏まえた各酵素の利用を提案している。 α -ガラクトシダーゼは、ビフ

イズス菌の増殖を促進し、低カロリーで保水性が有り化粧品にも用いられているメリビオース、ラフィノース、スタキオースの生産に、 β -ガラクトシダーゼは母乳オリゴ糖の構成成分であるラクト-N-ビオースの合成に、 α -グルコシダーゼは、日本酒の成分の一つで保水性が高く肝臓の炎症を抑制する性質が示され、化粧品にも使用されているエチル- α -D-グルコシドや、界面活性剤として作用するアルキルグルコシド、及び、イソマルトース、パノース、イソマルトトリオース、パラチノースなど、腸内環境を改善し、免疫力を増強しアレルギーを改善する化合物の合成に使用できる可能性を考えている。そして、合成のコストを下げるために、糖の供与体としてガラクトースとグルコースを使用することを検討している。

以上のように、精製された酵素は何れも新規な性質をもち、かつ種々の化合物の生産に利用することが期待できると考えられる。さらに、研究テーマの設定が学位に対して妥当なものであり、論文作成に当たっての問題意識と研究方法が明確に示されていること、研究に際して具体的な分析・考察が為されており、学術論文として完成していること、先行研究や資料が適切に取り扱われており、当該研究分野における研究の水準に到達していること、当該研究領域の理論的見地または実証的見地から見て、新規性、創造性が認められること、などから、本論文は博士（食物栄養学）の学位論文に値すると判断される。

試験の結果又は学力の確認の要旨

学位申請者の才新直子は、平成 15 年度より平成 19 年度まで神戸女子短期大学の準助手として、さらにその後も引き続き助手として研究を続けてきている。語学力については平成 25 年度に行われた英語の筆記試験に合格している（平成 26 年 2 月 20 日～平成 29 年 2 月 19 日の 3 年間有効）。

この度の学位論文審査願（乙）に基づき、公開博士論文討論発表会に先立って平成 29 年 2 月 8 日に論文審査委員会が口頭試験を実施した。その結果、博士論文に関する十分な知識と背景となる基礎的、理論的な応答を確認した。

公開博士論文討論発表会の結果

平成 29 年 2 月 14 日、論文審査委員会主催により学位論文の公開討論発表会が C 館 318 教室において開催された。家政学研究科の教員、大学院生が多数出席の下で論文内容の発表（30 分）とそれに対する口頭試問（30 分）が行われた。試問は、実験の方法、結果の評価方法、嫌気性細菌の取り扱い、論文の訂正すべき箇所、など幅広く本質的な試問が 15 項目出され、口頭での回答に加え、1 週間後に別紙の文書でも補足して適切な回答が得られた。これらのことより、当該領域における博士としての十分な知識を修得し、適切なプレゼンテーション能力を有していることが確認された。

総合結果

平成29年2月22日、主査、副査3名による論文審査委員会を開催した。学位論文の審査結果、試験の結果、および公開博士論文討論発表会の結果を総合して審議したところ、全員一致で提出された論文は博士（食物栄養学）の学位に相当するものと判断した。