

論文 / 著書情報  
Article / Book Information

題目(和文)	
Title(English)	Detection of Escherichia coli O157:H7 through development of a bacteriophage-based colorimetric method for the prevalence of organic farming
著者(和文)	HOANGANHHOANG
Author(English)	Hoang Hoang
出典(和文)	学位:博士(学術), 学位授与機関:東京工業大学, 報告番号:甲第9576号, 授与年月日:2014年3月26日, 学位の種別:課程博士, 審査員:中崎 清彦,日野出 洋文,大即 信明,高橋 邦夫,江頭 竜一
Citation(English)	Degree:Doctor (Academic), Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第9576号, Conferred date:2014/3/26, Degree Type:Course doctor, Examiner:,,,,,
学位種別(和文)	博士論文
Category(English)	Doctoral Thesis
種別(和文)	審査の要旨
Type(English)	Exam Summary

(博士課程)

## 論文審査の要旨及び審査員

報告番号	甲第	号	学位申請者氏名	Hoang Anh Hoang		
論文審査 審査員		氏名	職名		氏名	職名
	主査	中崎 清彦	教授	審査員	江頭 竜一	准教授
	審査員	日野出 洋文	教授			
		大即 信明	教授			
		高橋 邦夫	教授			

### 論文審査の要旨 (2000 字程度)

本論文は、「Detection of *Escherichia coli* O157:H7 through development of a bacteriophage-based colorimetric method for the prevalence of organic farming (有機農業の普及に資するバクテリオファージ発色法に基づく *Escherichia coli* O157:H7 の検出)」と題し、英文で書かれ以下の6章からなっている。

第1章「Introduction」では、有機農業とコンポスト化技術、およびコンポスト中の病原性大腸菌検出についての背景やその必要性をまとめている。

第2章「Literature review」では、病原菌を検出する手法について現在までに組み込まれている研究をまとめ、本研究が解決すべき課題と目的を示している。

第3章「Colorimetric detection of *Escherichia coli* K12 by using a recombinant phage」では、*Saccharomyces cerevisiae* 由来のシトクロム c ペルオキシダーゼ遺伝子を有する遺伝子組換えバクテリオファージ T4 (T4ccp) を構築することで大腸菌 K12 の発色検出のための迅速かつ安価な手法を開発することを目的としている。T4ccp の構築に成功し、T4ccp ゲノムにより生産されたシトクロム c ペルオキシダーゼ (ccp) が発色基質であるシトクロム c を酸化し、黄色の発色が目視により検出できることを確認している。また、大腸菌 K12 以外の細菌が混在することによる T4ccp を用いた大腸菌検出への阻害の影響について検討したところ、阻害の影響はみられず、検出に有効に利用できるとしている。以上より、大腸菌 K12 検出のためのファージを利用した新規な発色検出法を構築できたと述べている。

第4章「Quantitative detection of *E. coli* O157:H7 using a combination of the colorimetric phage-based assay and most probable number technique」では、ファージを利用した発色検出法と最確値法を組み合わせることによって、大腸菌 O157:H7 の定量的な検出法の確立を目的としている。はじめに病原性大腸菌 O157:H7 を検出するために ccp 遺伝子を有する組換えファージ PP01ccp を構築している。また液体培地中で PP01ccp を用いた大腸菌 O157:H7 の発色検出を試み、発色を目視により検出できることを確かめている。次に大腸菌 O157:H7 を定量的に検出するために、PP01ccp を用いた検出法と最確値法を組み合わせた検出法 (MPN-ファージアッセイ) の構築について述べている。MPN-ファージアッセイを用いることにより、雑菌を含まない食品サンプルであるリンゴジュースおよびミルク中の大腸菌 O157:H7 を定量的に検出できることを示している。また、コンポストの原料である家畜糞便は雑菌を多く含むサンプルであるが、MPN-ファージアッセイにおける前培養時に抗生物質であるセフィキシムとバンコマイシンを添加することで、雑菌の生育を抑制し、大腸菌 O157:H7 を定量的に検出することに成功している。

第5章「Quantitative evaluation of *E. coli* O157:H7 during a cattle manure composting」では、牛糞を原料としたコンポスト化における大腸菌 O157:H7 の動態について、MPN-ファージアッセイを用いて解析することを目的としている。コンポスト化操作条件として切り返しの有無に注目し、切り返しの有無を変えた2通りの実験をおこなっている。MPN-ファージアッセイによって、コンポスト化にともなって変化する大腸菌 O157:H7 濃度を測定した結果、大腸菌 O157:H7 は高温条件で死滅するため、温度が室温付近となるコンポスト積み山表面付近の大腸菌 O157:H7 は、切り返しによって、積み山の高温域に移動することで死滅が促進されることを明らかにしている。切り返しは、コンポスト原料に含まれる可能性のある病原菌の急速な死滅に欠かすことのできない操作であることを確かめるとともに、新しく開発した MPN-ファージアッセイの方法が、切り返し以外の様々なコンポスト化の操作を最適化するためにも有効であろうと提言している。

第6章「General conclusions」では、本論文で得られた結果をまとめている。

以上を要するに、本論文は、有機農業を利用した社会を構築する上で、コンポスト化過程、コンポスト製品、および農産物の安全性の確保へ適用するための、バクテリオファージの発色に基づく病原菌の検出方法とその応用について検討したものであり、工学上ならびに学術上貢献が大きい。よって、本論文は博士 (学術) の論文として価値が十分あるものと認められる。