

2023 年度年次報告書
環境とバイオテクノロジー
2021 年度採択研究代表者

山田 千早

明治大学 農学部
専任講師

^{13}C ラベル母乳オリゴ糖を用いた腸内細菌種間関係の解析

研究成果の概要

^{13}C -ラベルオリゴ糖および糖を糞便サンプルに取り込ませる実験を行う前に、糞便添加量および培地条件の検討を目的として非ラベルグルコースおよびラクトースを乳児糞便に取り込ませる培養実験を行った。その結果、GUM 糖資化性培地を用いた際にはラクトースおよびグルコースの消費が見られたのに対し、最小培地組成の M9 培地を用いた際にはラクトースの部分分解物ガラクトースの完全な消費が見られなかったことから、糞便を懸濁する際は GUM 糖資化性培地が適切であることが示された。また、非ラベルグルコースおよびラクトース、ラクト-*N*-ビオースラクト-*N*-テトラオースを乳児の糞便に取り込ませて RNA 抽出後、cDNA 合成、メタ 16S r DNA 解析を行った。その結果、糖源無添加コントロールと比較してグルコースとラクトースが消費されたサンプルにおいては *Bidifdobacterium* 属細菌 (50%) や *Enterococcus* 属細菌 (30~40%) が優占化した。ラクト-*N*-ビオースおよびラクト-*N*-テトラオースが消費されたサンプルにおいても同様に、*Bidifdobacterium* 属細菌や *Enterococcus* 属細菌が優占化した。このことから非ラベル糖を用いた実験では、優先化した腸内細菌の種類に大きな違いが見られなかった。次に ^{13}C グルコースおよび ^{13}C ラクトースの取り込み実験を行った培養サンプルから RNA 抽出を行った。抽出した RNA を用いて現在 RNA-SIP を行う段階にある。 ^{13}C ラベルオリゴ糖の大量合成については、必要な原料は購入し、必要な酵素の発現精製を行ったため材料が揃った段階である。次年度は合成の後に精製し糞便に取り込ませて RNA-SIP を行う予定である。