

汽水域における有用酵母の探索

生命工学科 助教

松尾 安浩

研究成果の概要

酵母は、その発酵能力を活かして、酒類やパンの生産などで重要な微生物であり、我々ヒトの生活に最も身近で役立っている。昨年松江市を中心に有用酵母の探索を行い、発酵能力が強いものは数多く得られた一方で、熱や塩などのストレスに対しては弱いものが多かった。松江市の周辺には宍道湖や中海の汽水域があり、汽水域は一般のところよりも塩濃度が高いといわれている。そのため、今年の結果を基にして、本年度は汽水域からの有用酵母の探索を行うこととし、発酵能力が高く、熱や塩などのストレスに対して強い酵母を単離することを目標とした。

方法として、宍道湖と中海の汽水域から土壌、花、草などのサンプルを採取し、抗生物質アンピシリンを含む酵母栄養培地であるYPD培地で培養し、14種類の酵母を単離した。単離した酵母の形態を顕微鏡で観察したところ、細胞形態の大きさに多様性がみられたが、すべて出芽酵母であった。次に、単離した酵母のストレスに対する生育を比較した。コントロール株として出芽酵母である酒協会9号と分裂酵母を用いた。これらの酵母を含めて、グルコース制限培地、42°Cの高温条件、0.5M 塩化ナトリウム、1.5M 塩化カリウム、0.5M 塩化カルシウム、2M ソルビトール、18μg/mL TBZ(チアベンダゾール)、10mM ヒドロキシ尿素、最少培地、12% エタノール存在下でそれぞれの菌株の生育を調べた。結果として、#10と#11の2株がすべてのストレス条件下で生育でき、酒協会9号が生育できない42°Cの高温条件下でも生育がみられた(Fig. 1)。また、塩化カリウムに対しても耐性が強いので、ストレスに非常に強い耐性をもつ酵母であることがわかった(Fig. 1)。次に、単離した酵母のエタノール発酵能力を調べるために、3% グルコースを含む液体培地で培養し、ダーラム管を用いて二酸化炭素発生能を調べた。結果として、#10と#11の2株のみが、二酸化炭素を発生しており、エタノール生産能力がみられた。そこで、10%グルコースを含む液体培地で培養し、酒協会7号及び9号とのエタノール生産能をHPLC解析によって、比較した。結果として、#10と#11の2株は、酒協会7号や9号と同等以上のエタノール生産能を有していた(Fig. 2)。最後に、単離した#10と#11の2株がどのような酵母であるかを26SリボゾームRNAの配列を解析することで種の同定を試みた。これらの菌株からゲノムDNAを抽出し、PCRによって26Sリボ

ゾームDNAを増幅後、シーケンス解析及びホモロジー検索を行った。その結果、#10と#11の2株は、同じ種類の酵母で、*Cyberlindnera rhodanensis* (*Pichia rhodanensis*)であることが明らかになった。

社会への貢献・その他

今回、自然界からストレスや熱に対して強く、発酵能力も高い有用酵母を単離することができた。今回単離した酵母は、これまでに酒やパン作りなどでは使われていない。そのため、今後この酵母を使用することによって、社会的に貢献できる可能性が高い。また、単離する技術は確立できているため、技術提供等で貢献することもできる。今後は、さらなる酵母の単離と今回単離した酵母の有用利用を検討していく。

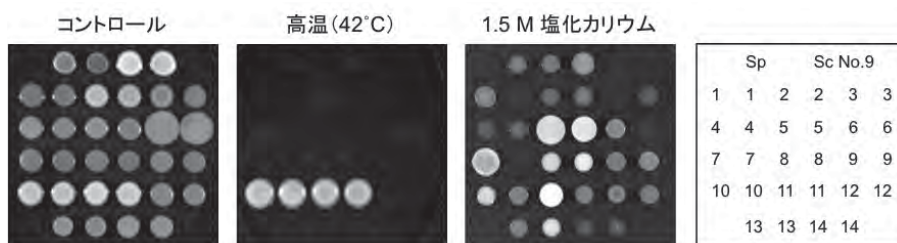


Fig. 1 単離酵母のストレス感受性試験

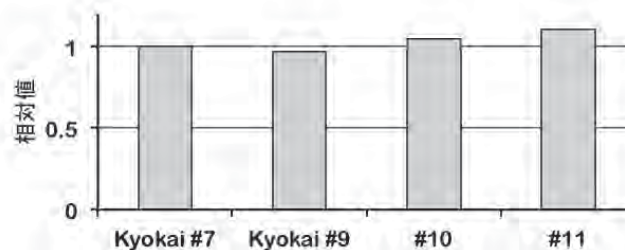


Fig. 2 単離酵母のアルコール生産能