

花から分離した酵母 *Saccharomyces cerevisiae* の遺伝的多様性解析

1. はじめに

近年、食生活の多様化に伴い従来にない嗜好的特徴や地域ブランド性など新たな付加価値のある発酵食品の製造が求められるようになりました。そのため、酵母 *Saccharomyces cerevisiae* を地域由来の自然物から分離し食品に利用する試みが全国で行われています。当センターでも、本県の地域資源となっている花から多様性に富んだ *S. cerevisiae* を分離し、酒類やパン等の発酵食品製造に利用する取り組みを行っています。

2. *S. cerevisiae* の遺伝的多様性解析

花から分離した微生物について最初に種の同定試験を行います。微生物から DNA を抽出し、26SrDNA の D1/D2 ドメインの部分塩基配列（約 600 塩基）を PCR により増幅します。その後、DNA シーケンサーにより塩基配列を決定し、得られた塩基配列情報についてデータベース検索し相同性により *S. cerevisiae* であるか特定します。このように *S. cerevisiae* と同定された微生物が、同じ種であっても株としては異なることがあるため遺伝的多様性を解析する分子生物学的手法が複数開発されています。当センターでは、マイクロサテライト解析と Interdelta PCR 解析を組み合わせ花から分離した *S. cerevisiae* の遺伝的多様性解析を行いました¹⁾。

(1) マイクロサテライト解析

マイクロサテライトとは、染色体上に散在する数塩基対の繰り返し単位からなる反復配列です。反復数が多様性に富んでいるため、品種や個体レベルの高感度な識別及び分類の遺伝マーカーとして利用されています。微生物から DNA を抽出し、Legras らの方法²⁾ により 12 ヶ所の遺伝子座のマイクロサテライトを含む領域をマルチプレックス PCR により増幅し、DNA シーケンサーにより PCR 増幅産物の長さを測定します。愛知県下の花から分離した *S. cerevisiae*（以下「花酵母」）25 株、産業用酵母（清酒、パン、ワイン）28 株および実験室酵母 1 株についてマイクロサテライト解析を行い、得られた数値を株間で比較することで *S. cerevisiae* の遺伝的多様性解析を行いました。得られたフラグメントサイズデータの一部を抜粋して示します（表）。花酵母 1~4 について、C8 遺伝子座の数値はすべて同じ 126bp ですが、C9 遺伝子座の数値は花酵母 1 が 103bp、花酵母 2 が 97bp、花酵母 3 と花酵母 4 は 91bp と、花酵母 3 と花酵母 4 を除いては異なる数値を示し多様性が示されました。このように全 12 遺伝子座についてそれぞれ株間の数値の違いを確認すると、花酵母 25 株の内 17 株は、他の花酵母、産業用酵母、実験室酵母とは異なる

表 マイクロサテライト解析で得られたフラグメントサイズデータ（単位：bp）

遺伝子座	花酵母 ¹⁾				清酒酵母 ²⁾	パン酵母 ³⁾	ワイン酵母 ⁴⁾
	1	2	3	4			
C5	116	116	114	114	116	116 / 124	154 / 190
C3	92	92	104	104	92	107 / 113 / 119 / 122	116
C8	126	126	126	126	126	111 / 117 / 126	141
C9	103	97	91	91	97	88 / 97	94
C11	195 / 201	197	205	205	197	191 / 203 / 217	191
YOR267c	441	402	288	288	402	267 / 276 / 363	360
C4	332 / 356	341	242	242	341	305 / 347	257
C6	93	91	101	101	91	91 / 107	105
SCAAT1	185 / 191	185	173	173	185	164 / 179 / 191 / 212	188 / 212
SCAAT5	159	159	150	150	159	147 / 159	156 / 162
YKL172w	133	133	121	121	133	133 / 145	124
YPL009c	264	264	267	267	264	270 / 285 / 303	291

1)1:オシロイバナ(名古屋市西区)から分離 2:カキツバタ(名古屋市西区)から分離

3:カキツバタ(春日井市)から分離

4:カキツバタ(春日井市)から分離

2)清酒酵母:協会7号酵母

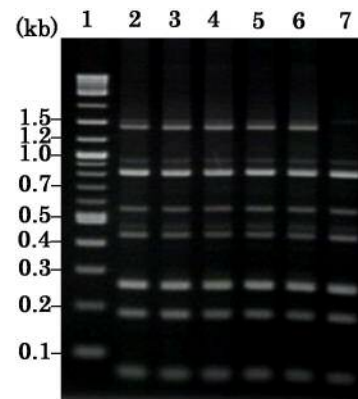
3)パン酵母:市販パン酵母

4)ワイン酵母:WE 14(=RIB1042)(NRIB)

る独自のパターンを有していました。しかし、花酵母 3、花酵母 4 をはじめとする 7 株は 12 遺伝子座すべてについて株間で同じ数字を示し識別できませんでした。また、花酵母 2 は、12 遺伝子座すべてについて、表に示した清酒酵母をはじめとする 5 株の清酒酵母と同じ数字を示し識別できませんでした。

(2) Interdelta PCR 解析

delta エLEMENTは *S. cerevisiae* 染色体上に存在するトランスポゾン Ty1 と Ty2 の末端繰り返し配列で、遺伝的多様性解析に用いられています。マイクロサテライト解析で識別できなかった株について、delta1 および delta2 プライマーによる PCR 増幅³⁾、delta12 および delta21 プライマーによる PCR 増幅⁴⁾を行い、反応物をアガロースゲル電気泳動することで遺伝的多様性解析を行いました。前述の花酵母 3、花酵母 4 をはじめとする 7 株は、すべての株が同一のパターンを示し識別できませんでした。花酵母 2 は、表に示した清酒酵母をはじめとする 5 株の清酒酵母と、delta1 および delta2 プライマーによる PCR 増幅で似ているが異なるパターンを示し識別できました(図)。マイクロサテライト解析と Interdelta PCR 解析を組み合わせることで詳細に花酵母の遺伝的多様性を解析できました。



lane1: 分子量サイズマーカー
lane2~6: 清酒酵母
lane7: 花酵母2

図 Interdelta PCR 解析

3. おわりに

このように、当センターでは、多様性に富んだ *S. cerevisiae* を花から分離し発酵食品製造に利用する取組みについて、酵母の遺伝的多様性解析から製品化まで、受託研究、依頼試験などでサポートしております。お気軽にご相談下さい。

参考文献

- 1) 小野奈津子, 安田(吉野)庄子, 船越吾郎, 加藤雅士, 鈴木徹, 北本則行: あいち産業科学技術総合センター研究報告, 6, 70-73(2017)
- 2) JL. Legras, D. Merdinoglu, JM. Cornuet, F. Karst: Mol. Ecol., 16, 2091 (2007)
- 3) 安田(吉野)庄子, 北本則行: 食品科学工学会誌, 58(9), 433-439(2011)
- 4) JL. Legras, F. Karst: FEMS Microbiol. Lett., 221, 249(2003)

発酵バイオ技術室: 小野奈津子

研究テーマ: 豆味噌中のイソフラボンアグリコンを生成する麹菌酵素について

担当分野: 発酵調味食品の製造技術、遺伝子解析技術

編集・発行

あいち産業科学技術総合センター食品工業技術センター 平成30年2月9日発行

住所 〒451-0083 名古屋市西区新福寺町 2-1-1

TEL (直通) 総務課 052-325-8091 発酵バイオ技術室 052-325-8092

分析加工技術室 052-325-8093 保蔵包装技術室 052-325-8094

FAX 052-532-5791

URL: <http://www.aichi-inst.jp/shokuhin/> E-mail: shokuhin@aichi-inst.jp