

酵母の冷蔵とたんぱく質系統樹の変化について

1. はじめに

酵母はパンを始め、酒、味噌、醤油、漬物等、様々な食品の製造に関与していますが、食品に変敗、腐敗をもたらす汚染菌でもあります。産業用に特化され純粋培養された酵母に近縁の野生酵母が汚染菌として混入した場合には、顕微鏡等による形態観察では判別が難しく、同定に時間を要します。ここでは酵母の迅速同定の一助となる研究成果をご紹介します。

2. MALDI-TOF MS 系統樹について

近年、マトリックス支援レーザー脱離イオン化・飛行時間型質量分析計（Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry : MALDI-TOF MS）を用いて微生物のたんぱく質のパターンを比較することで、DNA 解析よりも迅速に微生物種を同定する手法が確立されています。MALDI-TOF MS を使用しても DNA 解析と同様に類縁関係を示す系統樹を描くことができます。しかし、DNA 解析では同一株であれば常に塊になるのに対し、MALDI-TOF MS による解析では、微生物のたんぱく質が培養条件等の環境により変動するため、同一株でも散在することがあります。そのため、MALDI-TOF MS による微生物同定では、比較的変動しにくいたんぱく質のパターン（ライブラリー）を参照して微生物種を同定するようプログラムされています。

3. 酵母のストレス応答について

酵母の一種である *Saccharomyces cerevisiae* では低温ストレスにさらされると、それに対抗するため 250 以上の遺伝子の発現が増強されて、通常生産されていないたんぱく質が生産されることが分かっており¹⁾、冷蔵した微生物コロニー等を MALDI-TOF MS で同定することは避けるべきとされています。このようなストレス応答は、活性酸素、エタノール、高浸透圧、乾燥、高温、冷凍解凍などでも誘導されることが知られています。

4. ストレス応答を株同定に利用する

前述のようにストレス応答は MALDI-TOF MS による微生物同定の障害となりますが、この性質を逆に利用して通常のライブラリーでは同じものと判定される株間の判別に活用

できます。一例として *S.cerevisiae* で産業用のある株と野生に生息するある株は、通常の方法では系統樹中で混在し判別できません（図 1）。しかしこれを冷蔵すると判別できるようになります（図 2）。

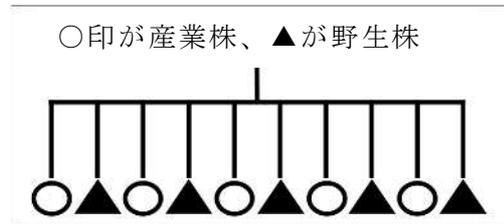


図 1 低温ストレス未実施株の系統樹例

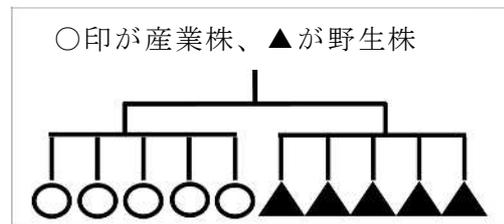


図 2 低温ストレス実施株の系統樹例

同様の現象は複数の株で確認されています²⁾。このような既存の参照用ライブラリーではない、独自のライブラリー構築をインハウスライブラリーと呼び、その活用法、有効性も発表されています³⁾。食品工業技術センターでは産業用 *S.cerevisiae* が判別できるインハウスライブラリーの構築及び、どのようなストレス応答で判別できるのか、その原因は何であるのか、引き続き研究を行っています。

5. おわりに

食品工業技術センターでは企業の皆様からの食品や微生物に関する様々なご相談を受け付けておりますのでお気軽にご相談ください。

参考文献

- 1) Sahara, T. *et al.* : J. Biol. Chem., 227, 50015-50021, (2002)
- 2) 半谷 : 日本食品科学工学会誌, 66, 18-26 (2019)
- 3) 森脇ら : 第 46 回日本防菌防黴学会年次大会講演要旨集, 77 (2019)
(あいち産業科学技術総合センターニュース 2020年5月号より転載)