



## 清酒酵母への X 線照射実験

三井俊<sup>1</sup>、山本晃司<sup>1</sup>、榎原康彰<sup>2</sup>

1 あいち産業科学技術総合センター、2 中埜酒造株式会社

### 1. 背景と研究目的

有用微生物の育種改良法である突然変異処理法の変異原としては紫外線や薬剤が挙げられるが、近年では新たな変異原が注目されている。その一つとしてシンクロトロン光があり、植物育種への活用が検討されているが、微生物育種への活用事例は少ない。シンクロトロン光は変異誘発率等これまでの変異原とは異なった効果が期待される。一方、愛知県は清酒、味噌、醤油等の醸造業が盛んな地域であり、あいち産業科学技術総合センターでは様々な醸造微生物の育種開発に取り組んできた経緯がある。そこで本実験では当センター保有の醸造微生物を対象にシンクロトロン光の微生物育種分野への活用の可能性を検討する。

具体的には、清酒の輸出対応を考慮し、既存の愛知県酵母を親株として、シンクロトロン光を活用した変異処理により、カルバミン酸エチルの前駆物質である尿素の非生産性酵母を育種することとした。

### 2. 実験内容

CAO（カナバニン、アルギニン、オルニチン含有）培地上で生育可能な酵母は尿素非生産性である可能性が高い事が報告されている。本実験では、変異原としてシンクロトロン光を用い、酵母に変異処理を行った後、CAO 培地上の生育株を変異株として釣菌する事で尿素非生産酵母の一次選抜とし、変異株の出現率を算出した。また、照射量と酵母の生存率の関係を評価した。

愛知県酵母 FIA2 株を YPD 培地にて 2 日間培養後、洗浄し、ポリプロピレン製容器に集菌したものを照射試料とした。照射線種は白色光を利用した（図 1）。変異処理後、CAO 平板培地に塗抹し、30℃で 3 週間培養後、直径 1 mm 以上のコロニーを変異株として計数し、変異処理前の酵母数より変異株の出現率を算出した。また、照射試料に滅菌水を加えて適宜希釈した後に、YPD 平板培地に塗抹し、30℃で 2 日間培養後、コロニーを計数し、変異処理前の酵母数より酵母の生存率を算出した。

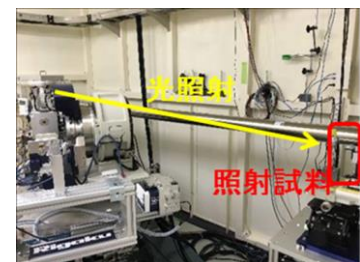


図 1 照射時の様子

### 3. 結果および考察

(i) シンクロトロン光照射時間毎の酵母生存率は、30 秒：9 %、60 秒：9 %、300 秒：2 %、600 秒：0.2 %、1800 秒：0.03 % となり（図 2）、変異誘発には 10～30 分程度の照射が有効と考えられた。なお、光路にアルミ板を設置しその厚さを変えて、主として 10 keV 以下の X 線の照射量を調整した。本実験でも 0.5 mm、1.5 mm の厚さで照射を行ったが、照射時間によらず生存率はほぼ一定であった。

(ii) 変異株出現率は、30 秒： $9.5 \times 10^{-7}$ 、60 秒： $9.5 \times 10^{-7}$ 、300 秒： $2.9 \times 10^{-6}$ 、600 秒： $8.1 \times 10^{-6}$ 、1800 秒： $7.1 \times 10^{-5}$  となった。

これまでに自然変異及び EMS 変異における出現率を評価しており、最も高い値として、自然変異で  $3.8 \times 10^{-7}$ 、EMS 変異で  $8.8 \times 10^{-6}$  となっていることから、自然変異よりは有意に高い出現率を示している。EMS 変異との効果を比較するには、再現性の確認等更なる検討が必要であるが、シンクロトロン光は突然変異法の変異原として利用可能であることが確認できた。

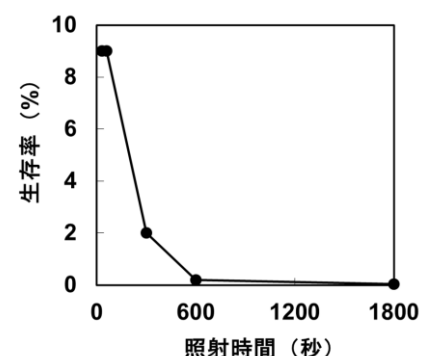


図 2 照射時間と酵母の生存率