



醤油乳酸菌への X 線照射実験

間野博信、山本晃司

あいち産業科学技術総合センター

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。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。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。

乳酸菌を利用して製造する発酵食品の製造現場ではファージ（細菌に感染するウイルス）の発生が度々問題となる。乳酸菌にファージが感染すると、発酵不全が生じ、製品不良となる。醤油も乳酸菌が関与して醸成される発酵食品の一つであり、醤油乳酸菌として知られる *Tetragenococcus halophilus* が風味の形成に寄与している。従来は蔵に棲みついている醤油乳酸菌がその役割を担ってきた。蔵付きの醤油乳酸菌は性質が異なる多様な菌株で構成されているため、ファージが発生しても感染するのは、ごく一部の菌株であり、醸造に大きな影響が及ぶことはなかった。しかし近年、品質向上を目的に、特定の性質を有する醤油乳酸菌を利用する企業が増え、醤油業界でもファージ対策が課題になりつつある。そこで本研究では、当センターが保有する醤油乳酸菌 No. 1 株を親株として、シンクロトロン光を活用した変異処理により、ファージ抵抗性株を育種することとした。

2. 実験内容

食塩を 10% 添加した MRS 培地を用い、No. 1 株を 30℃ で 16 時間培養した。培養後、SM buffer を用いて菌体を洗浄し、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 BL8S2 の白色 X 線を利用した。照射試料を図 1 のように設置した。また、照射試料の前にアルミ板を置き、アルミ板の厚さと照射時間により、照射線量を調整した。今回は 0.5mm のアルミ板を用い、10 分照射した。また、0.7mm のアルミ板を用い、10 分、20 分、30 分照射した。変異処理後、醤油乳酸菌用培地に塗抹し、30℃ で 7 日間、嫌気培養した。培養後、生じたコロニーを計数した。同様に、変異処理前のコロニー数を計数し、醤油乳酸菌の生残率を算出した。生じたコロニーのうち、1440 個についてマイクロプレートアッセイ法を行い、ファージ抵抗性株を選抜した。

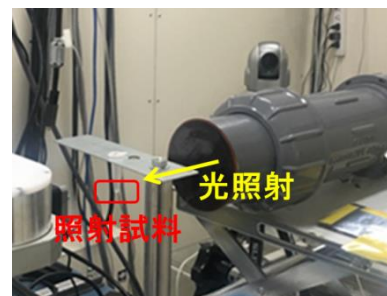


図 1 照射時の様子

3. 結果および考察

各照射条件における生残率は次のようになった。突然変異育種法では一般に生残率が 1~10% になる条件がよいと言われている。

- ・アルミ板 0.5mm、10 分：45.4%
- ・アルミ板 0.7mm、10 分：34.2%、20 分：18.1%、30 分：12.5%

本条件下ではファージ抵抗性株の取得に至らなかった。ミラーやアルミ板により、突然変異の誘発に有効な領域の光を除去してしまった可能性が考えられる。本年度内に新設予定の高速シャッターを利用し、ミラーやアルミ板を用いず、短時間照射することで、突然変異が誘発されるかもしれない。