

パン酵母の発酵能低温感受性変異株の分離と製パンへの応用

(協和発酵・東研) ○京極泰久、大内弘造

【目的】 パン製造の合理化方策の一つとして冷蔵生地製パン法が行われている。これは小麦粉、砂糖、食塩等の原料とイーストを混捏してパン生地を調製した後、それを低温で貯蔵しておき、必要ときにホイロをとって焼成するものである。しかし、従来のパン酵母を使用した場合には、低温貯蔵が長時間に及ぶと生地膨張が不足し、正常なパンが焼けなくなる。演者らはこの原因を解析し、その結果に基づいてパン酵母の発酵能低温感受性変異株を分離することにより目的に適った菌株を育種することができた。

【方法および結果】 市販パン酵母（ダイヤイースト等）のUV照射細胞を10℃、呼吸阻害剤アンチマイシン存在の条件で培養し、発酵能が低温域で抑制されるために増殖が遅れる変異株をナイスタチンスクリーニング法により集積した。その中から低温では発酵能が極めて微弱であるが常温で回復する変異株をブロムクレゾールパープルを含むカラープレート上で選択した。さらに、分離株を用いて各種糖濃度の生地をつくり、それを低温で～7日間貯蔵後、30℃に戻し、Fermographによって生地膨張力を測定した。このような数回の選択を繰り返した後、最終的にRZT3株等の優良株を選抜した。RZT3株等は、25～40℃では親株と変らない強い発酵力を示したが、20℃以下では親株の～1/4に低下し、5℃以下では実質的に非発酵性となった。この性質は、従来のcs変異株、即ち増殖能の低温感受性株には見られない特徴であった。RZT3株等を用いてバターロール、デニッシュペストリーのリタード製法（低温貯蔵工程を含む）、食パンの冷蔵生地製法等を行ったところ、従来のパン酵母に比べて顕著に優れた成績が得られた。

Csf (cold sensitive fermentation) mutants of bakery yeasts. Isolation and application to baking process

°Yasuhisa Kyogoku and Kozo Ouchi (Tokyo Res Lab, Kyowa Hakko)

融合遺伝子法による清酒酵母協会7号株から

接合能を有する株の効率的分離

○中沢伸重¹、土原和子¹、上田 努²、原島 俊²、大嶋泰治²(¹小西酒造(株)、²阪大・工・応生工)

【目的】 一般に実用酵母は胞子形成能が低く、さらに胞子を形成しても発芽率が低い。そのため接合能を持つ減数分裂分離株を得ることは困難である。これは性的交雑による育種の障害となっている。演者らは融合遺伝子を利用して、接合能を有する株を簡便に選択する方法を確立したので報告する。

【方法および結果】 a 接合型特異的遺伝子群の一つで a ファクターの分泌に関与する *STE6* 遺伝子、 α 接合型特異的遺伝子群の一つで α ファクターをコードする *MFa1* 遺伝子について、それぞれのプロモーター部に抑制性酸性ホスファターゼをコードする *PHO5* 遺伝子の構造部を連結した融合遺伝子を構築し、セルレニン耐性を付与する *PDR1* 遺伝子を選択符号として協会7号株に導入した。得られた形質転換体をエチルメタンスルフォネイトで処理し、酸性ホスファターゼ活性染色により赤色を呈するコロニーを100株選択した。選択したコロニーについて、セルレニン耐性を持つ接合型テスターによる接合型試験を行った結果、a あるいは α 型を示す株をそれぞれ5株ずつ見いだした。それらの株の *MAT* 遺伝子座をサザン解析により調べたところ、a 型を示した株は全て a/a であった。 α 型を示した5株のうち3株は α/α であったが、2株は a/ α であった。これらの菌株間で交雑を行い協会7号株の四倍体を造成した。

Efficient isolation of mating competent clones from Kyokai no. 7 by using gene fusions

○Nobushige Nakazawa¹, Kazuko Tsutiharai¹, Tsutomu Ueda², Satoshi Harashima², Yasuji Oshima²

(¹Konishi Shuzou Co., ²Dept. Biotechnol., Osaka Univ.)