

大日本製糖株式会社 ○ 郡家俊郎 中富康夫

1. 目的 パン酵母製造は、通気条件下、菌体増殖に合せて糖蜜液を連続流加しつつ行われる。これは、原料糖蜜のアルコール醗酵による菌体収率の低下を防ぐため、菌株的には呼吸活性が強く、糖蜜培地によく生育するものが望まれるが、同時に酵母は、パン生地の中で速やかに醗酵する必要があるので、好氣的培養条件下でもキマーゼ活性の衰えぬ様な特性を備えていることが肝要である。その他、製品として、耐久性が長い事も要求されるが、特に本邦では市場の特殊事情として従来の食パン醗酵の他、耐糖性（小麦粉当り蔗糖 20~30% 添加した糖高濃度生地醗酵）の強い事が必須条件とされている。このような実用的諸性能は、培養液の培地組成、糖蜜流加の方式等、種々の環境因子によってもかなり変動するが、使用菌株の影響も大きく、優良菌株の探索が望まれる所以である。現在使用されているパン酵母菌株は、いずれも *Saccharomyces cerevisiae* Hansen に属するが、これは遺伝学的によく研究されており、育種の道も Winge, 山本, Lindegren らにより開かれた。ここでは交雑的手法により、パン酵母の改良育種を試みた結果の一部を報告する。

2. 材料及び方法 (1) 菌株：パン酵母の實用菌株及び 1 倍体 *auxotroph* (雌雄異株系) を供試した。(2) 胞子分離：Fowell 培地で胞子形成後、顕微解剖器により、四胞子を分離した。又必要に及び、Emeis らの方法に準じ *random spore isolation* を行った。(3) 交雑株造成：(i) 交雑しようとする両親 A, B が対立する接合型 (a, α) を持つ *mate* であれば、完全培地で集団接合後、固形完全培地にプレートし、大型コロニーを分離する。分離株は胞子形成能等を調べて、交雑体である事を確認した。(ii) 交雑する両親の一方、例えば A が接合型に関してヘテロ遺伝子型を持つ交雑体 (*non-mate*) で、且つ A, B が異なるタイプの *auxotroph* であれば、集団接合後、無菌的に洗滌した多量の混合培養菌体を、交雑体のみが生育できる最小培地にプレートして、コロニーを分離した (*prototroph* 回収法)。(iii) 若し、*non-mate* A が實用酵母の様にそれ自体 *prototroph* であれば、*acriflavine* で処理して細胞質性呼吸欠損変異株とし、B と集団接合後、多量の混合培養菌体を葡萄糖の代りに乳酸ソーダ、エタノールの如き非醗酵性糖を含む最小培地にプレートしてコロニーを分離した。(4) 醗酵力：甘蔗糖蜜、尿素又は硫酸、オニオン酸ソーダから成る培地 (pH 5) を用い、坂口コルベンによる振盪培養、あるいは小型の通気流加培養装置で収得した菌体につき、イースト工業会規定の液体醗酵装置を用い、各種濃度の葡萄糖あるいは蔗糖を基質として醗酵力を調べた。その他、Warburg 検圧法によるガス代謝能、生地醗酵力等を調べた。(5) ビタミン要求性：山口の方法¹²⁾に準じた。(6) インバルターゼ活性 (I.A.)：Sumner らの方法¹³⁾に準じた。

3. 結果 (1) オリゴプロイドの造成：ビール及びパン用等の實用酵母にはオリゴプロイドが多いが、これは、オリゴプロイドがその自然環境、實用性能の面で、いくつかの有利点を有し、自然に選抜利用された為と解釈され、酵母育種に一つの示唆を与える。以下、オリゴプロイド造成に関し若干の知見を述べる。接合型に関しヘテロ遺伝子組成 (ax, aax, aax 等)

を持つ二倍性、倍数性の交雑体は、通常、 a, a のいずれも交雑しない *non-mater* であるが稀に、 10^{-7} の頻度で掛け合う事を Pomper⁽¹⁾ は prototroph 回収法で見出した。我々は方法(3)-(iii)で述べた様に、Pomper らの方法を若干改変すれば、栄養要求性のない実用酵母菌株の *non-mater* 株も auxotroph の *mater* と交雑する事により、ploidy を更に高める事が可能であろうと考え、又同時に接合型の四分子分析を通して、その交雑機構を解明しようとした。その結果、*non-mater* の接合及びその主因は栄養増殖中、mitotic recombination 等により、接合型遺伝子がヘテロ組成からホモ組成に変換し、*mater* 細胞が出現する事によると考えられた。造成したオリプロイドの DNA 含量・細胞容積は ploidy と平行して増加する事が判ったが、培養に於ける菌体収量も倍数体化により向上する傾向が認められた。

(2) 実用パン酵母菌株のビタミン要求性とインベルターゼ活性 (I.A.) : 山口⁽²⁾ は、内外12ヶ国から集めた実用パン酵母菌株が、ビタミン要求性の上から 2・3 型 (Ca-pantothenate, biotin 要求) と 2・3・6 型 (同上ビタミンの他に B₁ + B₆ の同時要求) の二群に分類される事を報じた。一方佐藤⁽⁴⁾ は、製パン適性の面から、実用菌株を I.A. が低く耐糖性の強い菌株と、I.A. が高く食パン醗酵に適した菌株とに分類した処、前者は 2・3 型、後者は 2・3・6 型に属する事を見出した。我々は 2・3 型の当社保存株と 2・3・6 型の Fleischmann 株から、それぞれ多数の孢子形芽株 (Segregants) を得て、ビタミン要求性、I.A. の形質分離を調べたが、当社保存由来のものは全て 2・3 型で I.A. 低く、Fleischmann 由来のものは全て 2・3・6 型で I.A. 高く、親株の特徴は遺伝的レベルでも区別される事が知られた。併し、2・3 型、2・3・6 型間の交雑株は 2・3 型で高い I.A. を示し、且つその交雑株の Segregants には、2・3 型、2・3・6 型の両型が分離して来るが、I.A. の強さは両型間で全く有意差なく、いずれも低い値から高い値まで広範囲の分布が見られた。以上より、I.A. 乃至製パン適性とビタミン要求性の間に本質的な相関はないと云える。蓋し、在来実用菌株に見られた関係は、過去に於て、I.A. の低い 2・3 型と I.A. の高い 2・3・6 型が偶然独立に分離選別され、両者間に自然的あるいは人為的な交雑が行われないうまま現在に至、たものと解釈される。

(3) 実用的性能の改良 : 醗酵力、I.A., 菌体組成 (蛋白質、炭水化物) 等、実用的あるいはこれと関連する諸性質は量的形質に属し、poly genes により支配されているもので遺伝的取扱いは困難である。しかし高等動物に見られる様に、優良形質の遺伝的選別により菌株的に改良の可能性もあると考えられる。実用菌株から多数の Segregants を分離して、上述の量的形質の分離を調べた処、いずれも供試原株の形質は遺伝的に不純で、優良不良の形質が連続的に分布する事が判った。この中から優良形質を選別し、交雑 (in breeding) を数世代繰り返した結果、優良遺伝子が集約され、原株より望ましい性質を持つ菌株が得られた。

4. 参考文献 (1) Pomper, Daniels and McKee Genetics. 32, 343 (1954)

(2) 山口, 農化. 33, 525 (1959)

(3) Sumner and Howell, J. Biol. Chem. 108, 51 (1935)

(4) 佐藤, 津村, 田中, 岡田, 小柳, 醸協誌. 57, 67 (1962)

(5) 郡家, 中島, 農化. 32, 147 (1964)