

ビール酵母の生死判別法と力学測定法の確立

Viability Assessment and Mechanical Measurement of Brewing Yeast Cells

北大情報科学¹, サッポロビール㈱² ○(M2) 豊田 一也¹, 田中良昌¹, 二関 倫太郎², 神前 陽一²,
岡嶋 孝治¹

Hokkaido Univ.¹, SAPPORO BREWERIES LTD.², ○(M2) Kazuya Toyota¹, Ryosuke Tanaka¹,
Rintaro Ninoseki², Yoichi Kozaki², Takaharu Okajima¹

E-mail: k.toyota@ist.hokudai.ac.jp

近年、出芽酵母のエタノール環境が、そのエタノール耐性[1]や細胞壁の合成[2]に影響することが分かってきた。また、エタノール耐性に係る遺伝子を欠損させると、その弾性率も変化することが原子間力顕微鏡法(atomic force microscopy: AFM)により見出された[3]。そこで、AFMを用いることでビール酵母のエタノール環境依存性の評価やその力学的な選別が可能になると期待される。本研究では、2種類のビール酵母（エールビールなどに用いられている上面ビール酵母とピルスナービールなどに用いられている下面ビール酵母）を用いて（１）エタノール環境中のビール酵母の生死判別法と（２）ビール酵母の AFM 計測法を確立することを目的とした。

一般に生死判別法としては細胞内の還元能に基づく Methylene Blue(MB) 染色法が簡便な方法として利用されているが、MB 染色度合いの連続的な変化により生死を厳密に判別することは難しい。そこで、酵素活性を示す Fluorescein diacetate(FDA)と細胞膜の損傷を示す Propidium Iodide(PI)の2つの試薬を複合的に利用した生死判別法を検討した。その結果、FDA/PIの2次元マップ図を用いて、高精度に生死を判別できることが分かった。

AFMによるビール酵母測定において、探針を押し付ける過程で酵母細胞が動かないように基板との接着を制御することが必要である。酵母の接着法として、静電相互作用による接着を行う Poly-L-Lysine をコートしたガラス基板と、酵母表面に存在する糖鎖に特異的に結合する Concanavalin A [4]をコートしたガラス基板を用いて、AFMによる出芽酵母の測定可能性を評価した。その結果、Concanavalin A を用いると、AFM測定中に出芽酵母の剥離は有意に軽減し、安定した AFM 測定が可能であることが分かった。当日は、ビール酵母の弾性率とエタノール耐性の関係について報告する予定である。

[参考文献]

- [1] Jefferey A. Lewis *et al.*, Genetics, 186, 1197-1205 (2010).
- [2] D. Stanley *et al.*, J. Appl. Microbiol., 109, 13-24 (2010).
- [3] Schiavone M *et al.*, Appl Environ Microbiol, 82, 4789-4801 (2016).
- [4] Anders S. Hansen *et al.*, Nat. Protoc., 10, 1181-1197 (2015).