



ノートルダム清心学園清心女子高等学校（岡山県）  
竹居セラ（顧問：秋山繁治）

## 花酵母の採取・分離と花の種類との関係

本研究は、平成 22(2010) 年度日本農芸化学会大会（開催地東京）での「ジュニア農芸化学会」において“優秀ポスター賞”に選ばれた。花に生息する野生の酵母・花酵母を分類し、その分布と花の種類との関係を調べ、さらには酵母の生態から花粉の媒体である昆虫の生態を観察しようとするユニークな発想と、実験に用いられている遺伝学的解析手法の完成度の高さから多くの研究者の注目を集めた。



本研究の背景、実験方法および結果（講演要旨集とポスターを部分的に改変転載。図および表はポスターより転載）

【はじめに】酵母は、出芽または分裂によって増殖する球形に近い単細胞の子嚢菌である。パンや清酒用として工業的に利用されたり、遺伝子工学研究に利用されたりと、人間生活に深く関わっている。野生の酵母は、花や果実に比較的多く生息しているといわれる。花に生息している酵母（花酵母）は、花粉媒体である昆虫により運ばれ、花の蜜を糖質源として増殖することから、花酵母と昆虫は生態学的に緊密な関係にあると予想される。

【目的】様々な花に生息している野生の酵母を分離・採

取し、形態、染色体数、rRNA をコードする遺伝子（以下 rDNA と記載する）の塩基配列を指標に分類した後、アルコール発酵能、セルロース分解能を調べることにより、自然界に存在する微生物のうち「酵母」に分類される真核微生物の多様性、生態、特性、およびその生息する花との関係について考察することを目的とする。

【材料・方法】2008 年 10 月下旬より 2009 年 6 月上旬の間に、岡山県倉敷市二子山周辺や花屋などで採取した 64 種の花について、柱頭、やく、花びらの中心などを綿棒でこすり取り、分離源とした。クロラムフェニコールを含む YPG (Yeast extract 1%, Peptone 2%, Glucose 2%), YPM (Yeast extract 1%, Peptone 2%, Malt extract 2%), PDA (Potato dextrose agar) の各液体培地に分離源を懸濁し、懸濁液を各平板培地に塗布して、25~28℃ で数日~10 日間培養した。形成されたコロニーの観察と細胞の顕微鏡観察によって、色、つや、大きさ、形状より酵母と推定されるものを選択し、各々新しい培地に移し、最終的に独立コロニーとして分離した。分離した菌株の同定は、染色体 DNA の電気泳動核

表 1 ■ 酵母の採取・分離に用いた花の種類と得られた菌株数

月	'08 10 月	12 月 (花屋)	'09 1 月	3 月	4 月	5 月
採取した花	<ul style="list-style-type: none"> <li>●クレマチス</li> <li>●リュウキュウノギク など 4 種</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>●トルコキキョウ</li> <li>●アルストロメリア</li> <li>●マルコ・ポーロ</li> <li>●ガーベラ</li> <li>●アリアム</li> <li>●オキシペタルム</li> <li>●ラナンキュラス</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>●サザンカ (複数)</li> <li>●スイセン</li> <li>●シクラメン</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>●ナズナ</li> <li>●ハナニラ</li> <li>●タチツボスミレ</li> <li>●ツルニチソウ など 12 種</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>●イモカタバミ</li> <li>●ユキヤナギ</li> <li>●ツツジ (7 個所)</li> <li>●キリ</li> <li>●ソメイヨシノ</li> <li>●アブラナ</li> <li>●ハナミズキ など 16 種</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>●ツツジ</li> <li>●エビネ</li> <li>●シモツケ</li> <li>●シラン</li> <li>●ハナミズキ など 24 種</li> </ul>
菌株数	5 種	4 種	3 種	0 種	42 種	51 種

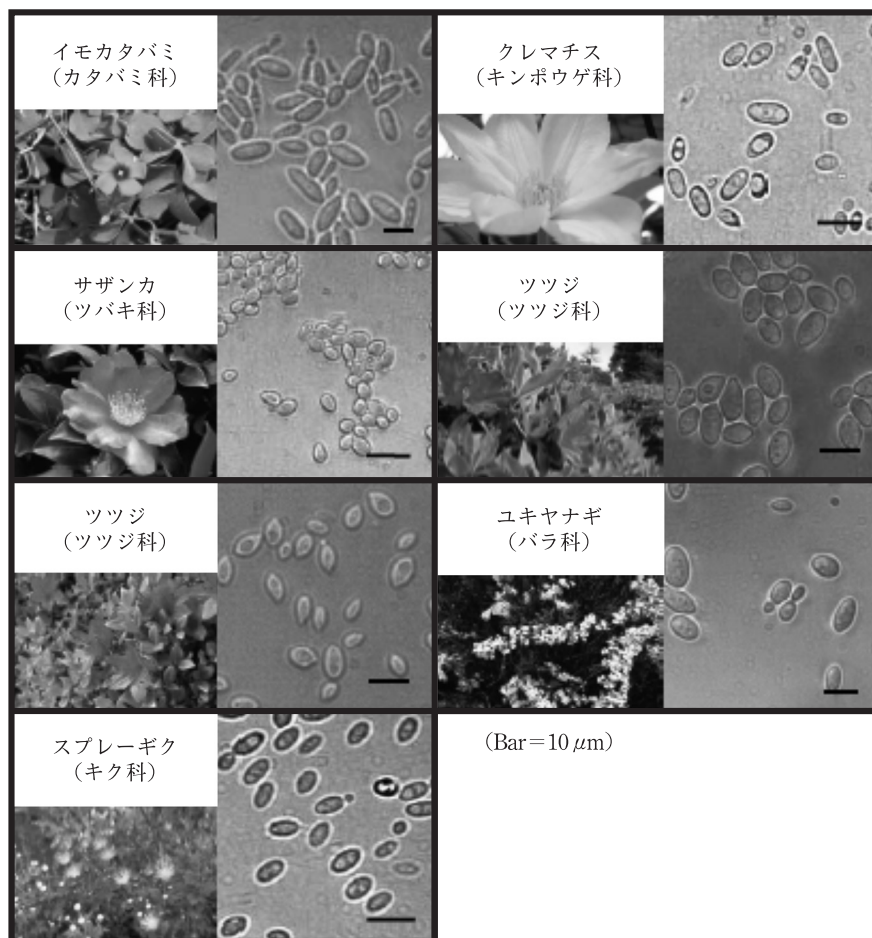


図1 ■ 花の写真と酵母の顕微鏡写真

型に基づく染色体数の測定とPCRにて増幅した18S rDNA領域の塩基配列の決定により行なった。また、簡易アルコール発酵試験（ダーラムテスト）、およびセルロース分解試験により機能特性を調べた。

**【結果】** 現在までに、約60種の花より、菌株約100種を分離し（表1）、酵母と判定できる7株を取得した。顕微鏡観察により、細胞の形状は卵形、楕円型、円錐型、レモン型などであり、大きさは短径3~5 μm、長径5~10 μmの範囲であった（図1）。数種類の酵母菌株が分離される花と、まったく分離されない花が存在しており、特に、花屋の花や冬に採取された花から分離される菌株数は酵母に限らず、カビ、細菌ともに少なかった。アルコール発酵試験の結果、陽性コントロール（*Saccharomyces cerevisiae* 3種）にてアルコール発酵が認められた条件下で、花酵母はいずれもアルコール発酵能が検出されなかった（図2）。セルロース分解能についても陽性を示す花酵母は得られなかった。スプレーギク、クレマチス、サザンカよりそれぞれ分離された3種類の花酵母について18S rDNA塩基配列を決定し比較した結果、

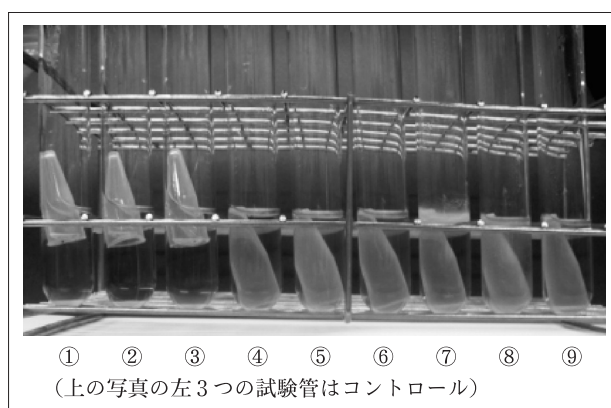


図2 ■ アルコール発酵能の調査

簡易ダーラム管を用いてアルコール発酵能を調査した（写真は静置24時間後）。①・②・③：*Saccharomyces cerevisiae* (YP1, K7, KA311)。④：スプレーギクより採取。⑤：サザンカより採取。⑥：イモカタバミより採取。⑦：ユキヤナギより採取。⑧：ツツジより採取。⑨：ツツジより採取。コントロールの*Saccharomyces cerevisiae*ではチューブが上昇し、アルコール発酵能が認められたが、花酵母の株ではチューブが上昇せず、アルコール発酵能はない。

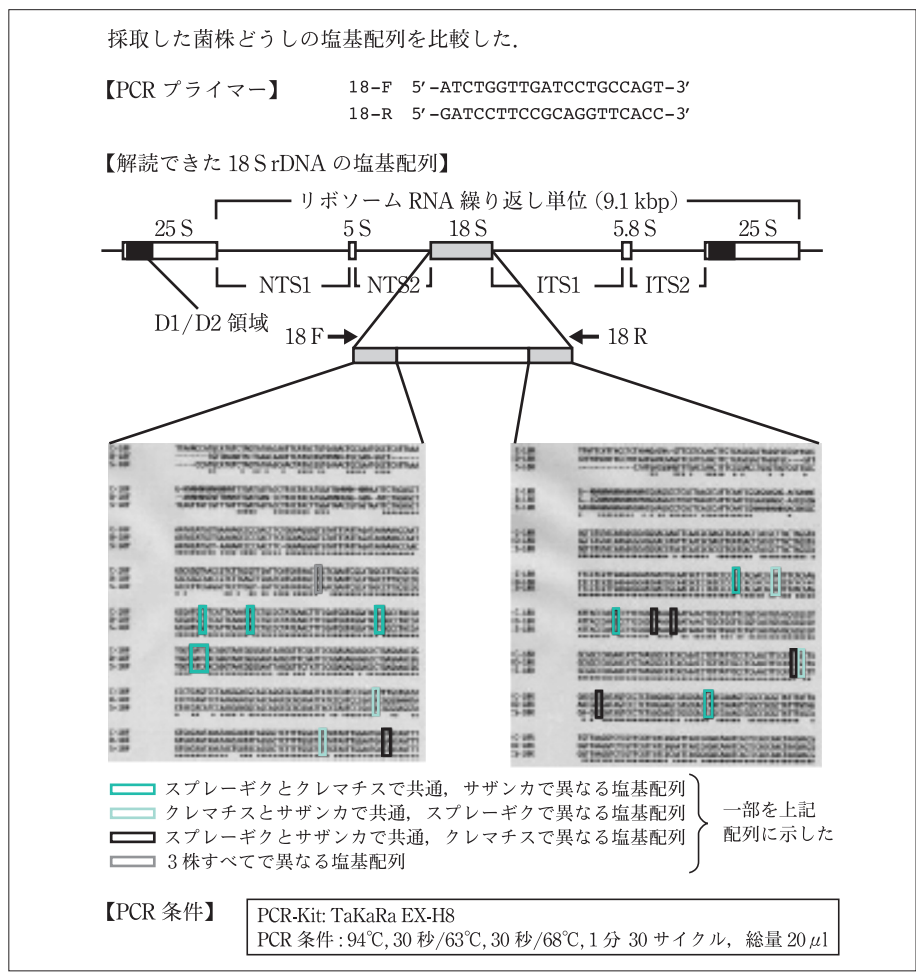


図 3 ■ 塩基配列による分類



写真 1 ■ 優秀ポスター賞の発表風景

図 3 に示すように花酵母間で配列の異なる塩基が存在することが判明した。

【考察および今後の課題】 今回の実験では、酵母の菌体を多く採取できず、花と酵母の関係を解明するには至らなかった。十分な酵母菌株が得られなかった理由とし

て、主たるサンプリングを昆虫が頻繁に飛来しない丘の上（倉敷市二子山）で行なったことによると考えられる。このことから、今後は低地など昆虫が多く確認できる場所をサンプリング地点として設定することにより、より多くの菌株を取得できると推測される。さらに採取場所を固定し（モデル地区を設定し）、年間を通じて分離を継続することで、花と酵母の関係をより正確に知ることが可能になると考えている。また、冬に採取した花と花屋の花からは、酵母だけでなく、菌株そのものがあまり採取できなかったことは、酵母の拡散への昆虫の関与を間接的に示していると考えられる。今回、酵母の単離および染色体数、塩基配列による分類の方法を確立できたことから、今後は、昆虫の飛来が頻繁なサンプリング地点を設定し、改めて花と酵母の生態的な理解を進めていきたい。



### 本研究の意義と展望

本研究において花酵母の分類に用いられた 18S

rDNA の塩基配列決定は大学や各種研究機関の研究にも通じる手法であり、高い評価につながったと思われる。展示されたポスターはわかりやすく美しくまとめられており、プレゼンテーションの工夫が感じられる。

現在、花酵母からは優良酵母が分離され、実際に清酒醸造に用いられている例も報告されている。本研究は、花酵母の生態を花の種類や昆虫の生態と関連づけた解析からどのような情報が得られるのか興味深いのみならず、得られた花酵母株の中から食品や酒類の製造に利用可能な株が出現する可能性もあり、引き続きのサンプリングに期待が寄せられる。花酵母の分類から生態系を

解き明かすというユニークな研究の今後の進捗には、酵母や昆虫の生態解析に十分な量・種類の酵母株を得ることが重要と思われる。発表者らが自身で提案しているような、媒体となる昆虫の飛来に着目したサンプリング地点の変更に加え、スクリーニングに用いる培地の検討などは改善策とはならないだろうか？ 発表者が一人で64種の花から105種の菌株を分離した作業量を想像し、敬服すると同時に、より効率的なスクリーニングによる研究の発展を切望する。

(文責「化学と生物」編集委員)

## プロフィール

クリスチャン・ブラウワー (Christian Breuer) <略歴>2004年ドイツ・アーヘン工科大学 Institute of Biology / 2008年英国イーストアングリア大学 John Innes Centre 博士課程修了 / 同年(独)理化学研究所基礎科学特別研究員、現在にいたる <研究テーマと抱負> Regulation of plant cell growth, correlation between cell ploidy and cell growth <趣味> サッカー、スノーボード、スキー、自転車、料理、日本語の勉強

別府 輝彦 (Teruhiko Beppu) Vol. 48, No. 7, p. 505 参照

松本 拓也 (Takuya Matsumoto) <略

歴>2003年東京水産大学水産学部食品生産学科卒業 / 2005年同大学大学院水産学研究科食品生産学専攻博士前期課程修了 / 2008年東京海洋大学大学院海洋科学技術研究科応用生命科学専攻博士後期課程修了 / 同年同研究科博士研究員 / 2010年日本学術振興会特別研究員 (PD)、現在にいたる <研究テーマと抱負> 海産毒と水圏生物の代謝機能との関係を明らかにしてヒトの健康に役立てたい <趣味> 船を見るのが好き

水野 猛 (Takeshi Mizuno) Vol. 49, No. 6, p. 434 参照

柳沢 達男 (Tatsuo Yanagisawa) <略歴>1990年千葉大学工学部合成化学科卒

業 / 2002年名古屋大学大学院理学研究科生命理学専攻博士課程(後期課程)修了 / 同年理化学研究所リサーチアソシエイト / 2006年同研究所研究員、現在にいたる <研究テーマと抱負> タンパク質合成系、遺伝子翻訳システムの化学生物学。化学の視点で生命現象を解明し、得られた知見を有用な技術として生かしたい

横山 茂之 (Shigeyuki Yokoyama) <略歴>現在、(独)理化学研究所生命分子システム基盤研究領域領域長、東京大学大学院理学系研究科構造生物学社会連携講座教授(兼任)