

21. 様々な性質を持つ波刺激を与えた時の酵母菌の ストレス応答と活性化について

学校法人 静岡理工科大学 静岡北高等学校 科学部酵母①班

1 動機・研究目的

酵母は、古代より人類が酒等を作るために利用してきた身近な微生物である。私たちは酵母の培養に関係があると考えられる活性化を、簡単に低コストで培養できないかと考え、酵母の活性化に有効な刺激を発見し、活性化の方法を確立させるためにこの研究を始めた。

酵母の活性化の可能性を考える上で、近縁であるキノコ類を含む菌類等の増産や活性化などに有効であるとされている事象を調べ、以下のような事例が報告されていることがわかった。

- ・ 紫外線を照射すると孢子形成が促進する菌類と、誘起される菌類の 2 タイプが存在する。
- ・ シイタケ等のキノコ類を増産する際、電気パルスが栽培に用いられている。

この他にも光、音など様々な事例で菌類の変化が報告されていた。そこで私たちは「波」が菌類等の真核細胞の活性化の要因になると考えた。今回の実験に使用した「波」は、振動、電気パルス、UV-C、光とした。

2 研究方法

実験等 実施期間：2014 年 5 月 1 日～10 月 17 日

使用した酵母菌 ； ドライイースト内容量 55g (Saf-instant ; Lesaffre Yeast 社製)

実験に使用したドライイーストは、水で溶いて戻した後、リン酸バッファーを入れ、ボルテックスにかけ、この工程を 3 回繰り返す、できた液を酵母液とした。この液体を分光光度計で計測し、一定の濃度になるように希釈し、YPD 培地に塗りインキュベーター(30℃)内で 2 日間培養した。そしてそれぞれの波に関しては、以下のように実験をおこなった。

観点 コロニーの数、直径、面積の 3 点をそれぞれの実験についてコロニーの数、直径、面積の平均と総和を割り出した。一つのシャーレに対する酵母の面積を割り出す計算式は $r \times r \times n$ (r = コロニーの半径・ n = コロニーの数) とし、 π をかけず相対的な値とした。そして、対照実験の酵母のコロニーの直径、コロニーの数、面積の平均と総和を比較した。

電気パルス刺激 電磁誘導コイルを用い、酵母を培養しているシャーレのフタを開け、直接電気パルスが酵母にあたるようにした。事前に、電気パルスを与える時間を 5 分間と 15 分間とし、刺激を与える周期は 2 日周期で実験期間 2 週間とし予備実験をおこなった。予備実験では活性化していたため、酵母に電気パルス刺激を与える時間を 5 分、15 分とした。電気パルス刺激を与えた後、インキュベーター(30℃)に入れ 24 時間培養した。この手順を 3 回繰り返す 3 日間に渡ってコロニーの計測を行った。

振動刺激 私たちは、音の振動を効率よく振動刺激として酵母に与えるため、パイブトロランスデューサーを用いた。パイブトロランスデューサーは、醸造の際に用いられる変換器で、アンプに接続し、音楽をかけた。酵母に振動刺激を与える時間は、30 分、90 分とした。振動

刺激を与えた後、酵母をインキュベーター(30℃)に入れ 24 時間培養した。この手順を 3 回繰り返し 3 日間に渡ってコロニーの計測を行った。

UV-C 刺激 東芝製殺菌灯 GL15 を使用し、クリーンベンチ内で行った。大腸菌が 30 秒間で殺菌率 99.80%であることから、UV-C に当てる時間を 10 秒、20 秒、30 秒とした。UV-C 刺激を与えた後、インキュベーター(30℃)に入れ、24 時間培養した。この手順を 3 回繰り返し 3 日間に渡ってコロニーの計測を行った。

光刺激 パナソニック製 LED 電球(650lm)を 2 球使用した。光を効率よく与えるためシャーレのふたを透過率が 96.4%であるサランラップに替えた。太陽の日照時間は 1 日につき最大約 12 時間ほどであるため 1 日中光を照射し続け全体の照射時間は 24 時間×3 日（＝照射し続ける）で、コロニーの計測は 24 時間ごととした。

また、いかなる波刺激も与えない酵母もインキュベーター(30℃)に入れ、対照実験とした。そして、光刺激の実験において光を当てず室温（約 26 度）で培養した酵母も対照実験とした。

3 結果

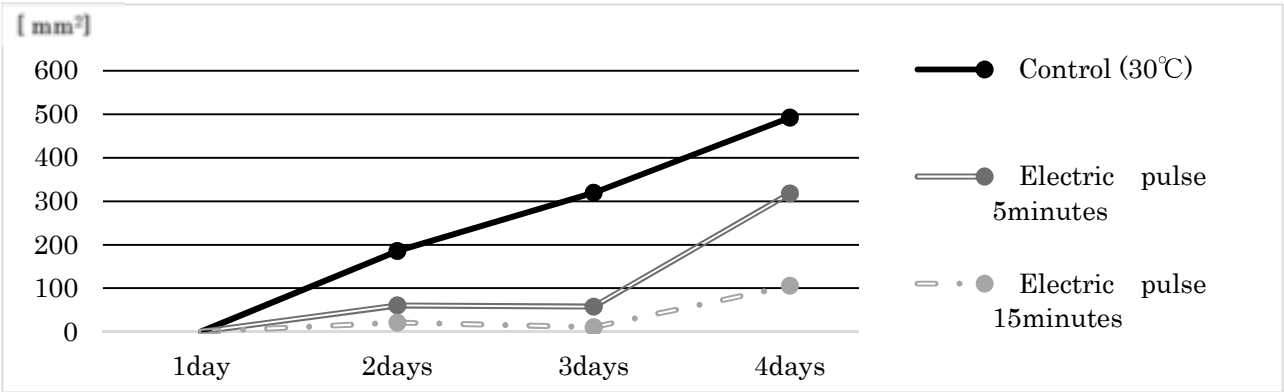
各刺激における酵母の面積のグラフは、それぞれの値について増加した割合をわかりやすくするため、第一日目の値を引いた数として表してある。そして、酵母に与えたそれぞれの刺激のグラフからコロニーの面積の増加の割合（傾き＝増加量）に注目し、対照実験のコロニーの増加量と比較し、その増加量が対照実験の増加量より大きいときに酵母は活性化するとした。

A 電気パルス刺激 電気パルス刺激を与えた結果、酵母の面積は対照実験よりも面積が小さくなった。電気パルス刺激においては、コロニーが特に多く発生していた。図 1 のように、コロニーの直径の平均を前日と比較し、前日の値を引いた値となっているため、3 日目以降では直径の平均値がマイナスの値になっている。

〔表 1. 電気パルス刺激を与えたものと対照実験との比較〕

	数	直径	面積
対照実験	増加なし	増加	増加
電気パルス刺激 5 分・10 分	増加傾向あり	増加傾向なし 減少する	増加傾向なし

〔図 1 電気パルス刺激；1 日目と比較した時のコロニーの面積の増加傾向〕

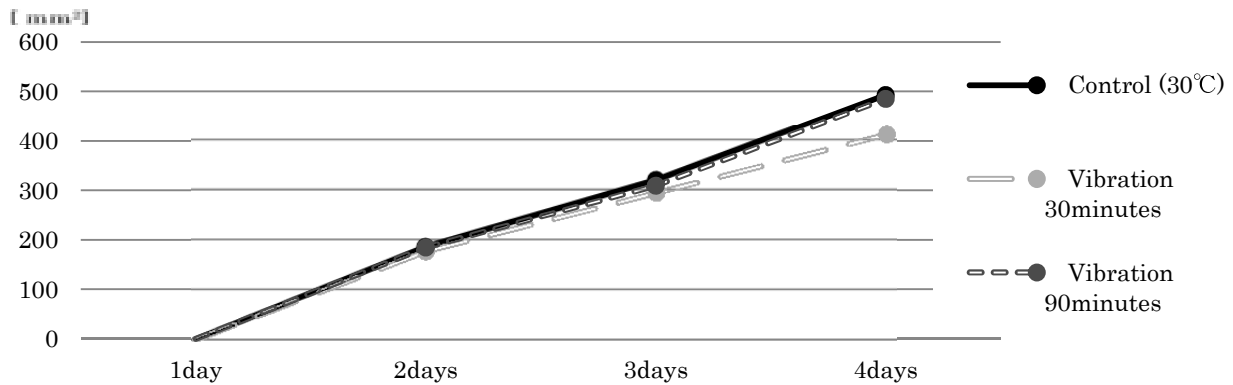


B 振動刺激 振動刺激を与えた結果、刺激を与えた酵母のコロニーの数は対照実験と比べ、増加量が小さかった。刺激を与えた酵母の直径は、対照実験とほとんど変わらなかった。

〔表 2. 振動刺激と対照実験との比較 〕

	数	直径	面積
対照実験	増加	増加	増加
振動刺激 30 分	増加傾向 なし	増加傾向 なし	増加傾向 なし
振動刺激 90 分	増加傾向 なし	増加傾向 あり	増加傾向 同じ

〔図 2 振動刺激；1日目と比較した時のコロニーの面積の増加傾向〕

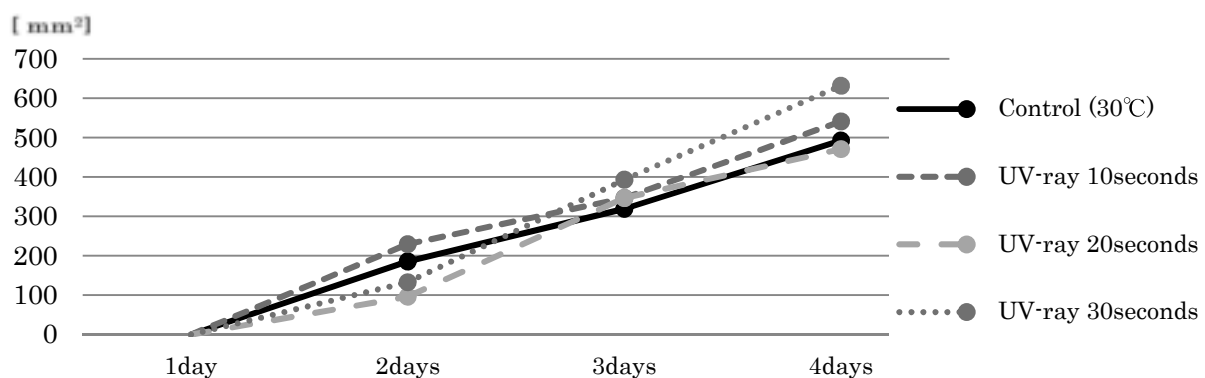


C UV-C 刺激 UV-C を照射した結果、UV-C 刺激を与える時間が増えるほどコロニーの直径と比べ増加量は少なくなった。逆に数の増加量は、多くなった。

〔表 3. UV-C 刺激と対照実験との比較 〕

	数	直径	面積
対照実験	増加	増加	増加
UV-C 10 秒	増加傾向同じ	増加傾向あり	増加傾向あり
UV-C 20 秒	増加傾向あり	増加傾向なし	増加傾向同じ
UV-C 30 秒	増加傾向あり	増加傾向なし	増加傾向あり

〔図 3 UV-C 刺激；1日目と比較した時のコロニーの面積の増加傾向〕

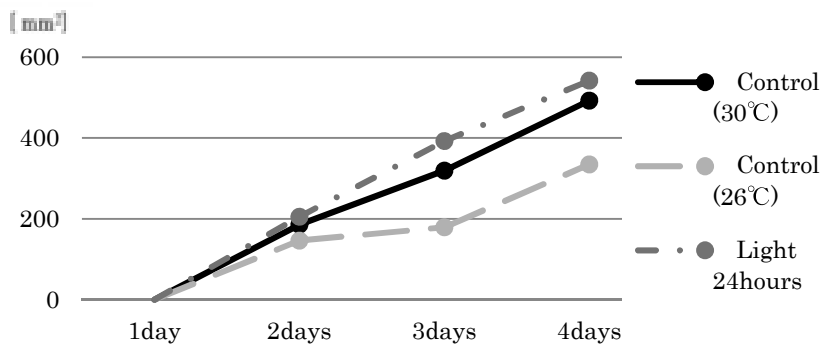


D 光刺激 光刺激を与えた結果、光刺激を与えたコロニーは、対照実験(室温)の酵母のコロニーと比べ、その数、直径において上回った。

〔表 4. 光刺激と対照実験との比較 〕

	数	直径	面積
対照実験 (室温)	増加	増加	増加
対照実験 (30°C)	増加	増加	増加
対照実験 (室温)	増加傾向あり	増加傾向あり	増加傾向あり
対照実験 (30°C)	増加傾向あり	増加傾向あり	増加傾向同じ

〔図 4 光 刺激；1日目と比較した時のコロニーの面積の増加傾向〕



4 考察

この研究において、与えた 4 つの波刺激に対する酵母のコロニーの成長する様子をまとめたものが下の表である。これら 2 つの表から、それぞれ 4 つの波刺激に対して酵母の下記のような反応があった。各刺激の下で酵母が作った面積と対照実験の面積とを実施した日数で比較したものが図 5 である。各刺激におけるコロニーの面積の増加量の変化の特徴を下記に示す。

〔表 5. 波刺激を与えた時の酵母コロニーの反応〕

〔表 6. 波刺激を与えた時の酵母コロニーの増加量〕

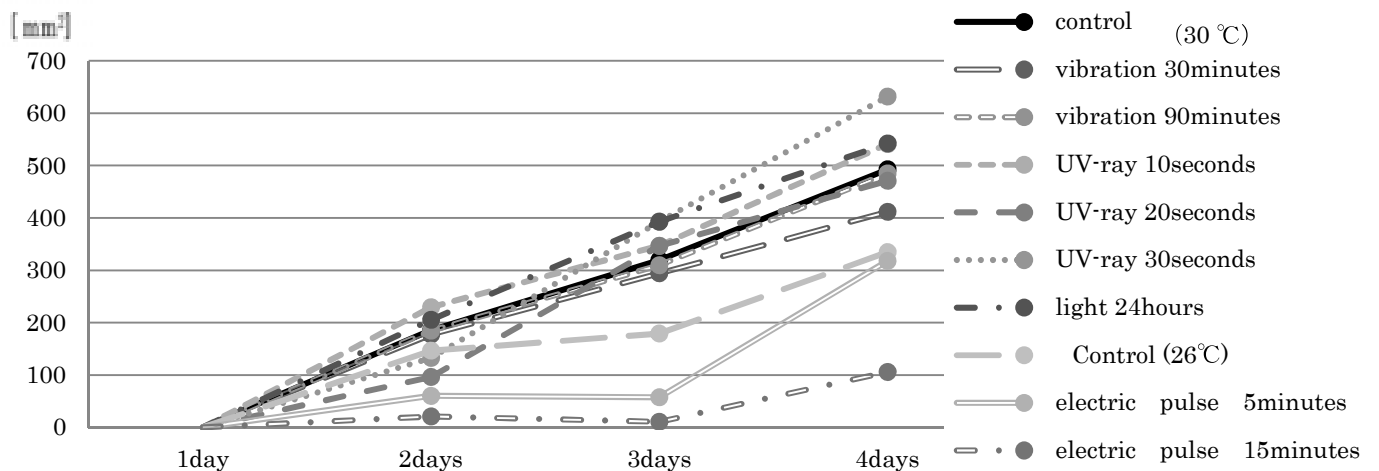
	数	直径	面積
対照実験（30℃）	+	+	+
電気パルス刺激（5 分）	+	—	—
電気パルス刺激（15 分）	+	—	—
振動刺激（30 分）	—	—	—
振動刺激（90 分）	—	+	E
UV-C 刺激（10 秒）	E	+	+
UV-C 刺激（20 秒）	+	—	E
UV-C 刺激（30 秒）	+	—	+
ドライイースト（26℃）	+	+	+
対照実験（室温）	+	+	+

	2 日目	3 日目	4 日目
電気パルス刺激（5 分）	-	-	-
電気パルス刺激（15 分）	-	-	-
振動刺激（30 分）	E	-	-
振動刺激（90 分）	-	-	-
UV-C 刺激（10 秒）	+	+	+
UV-C 刺激（20 秒）	-	+	-
UV-C 刺激（30 秒）	-	+	+
対照実験（室温）	+	+	+
対照実験（30℃）	E	E	-

〔 + ; 増加 - ; 減少 E ; 同じ 〕

〔 + ; 増加 - ; 減少 E ; 同じ 〕

〔図 5 4 種類の波刺激における 1 日目と比較したときのコロニーの面積の増加の傾向 〕



電気パルス刺激 予備実験においては、活性化したという結果になっていたが、今回の実験では、活性化はしていないという結論となった。これは、3日間しか電気パルスを与えていなかったため、電気パルスを与える期間が短かったと考えられる。また酵母に電気を与える周期が短かったことも原因として考えられる。その他に考えられる原因としては電気パルスが酵母に与える刺激が強すぎたため酵母が耐えられなかった可能性もあると推測した。

振動刺激 グラフから30分より90分の方がよい結果が出ていること、醸造中に味を良くする工程で酒に振動刺激を24時間与えていることから刺激を与えた時間も影響したと考えた。

UV-C 刺激 使用した紫外線の波長は200~280nmのUV-Cである。菌類（子囊菌）にUV-Cを照射したときの菌類の反応は、紫外線誘起型、紫外線促進型、紫外線・青色光誘起型、紫外線・青色光促進型の全部で4パターンあることが分かっている。菌類の上記の共通事項として330nm未満では孢子形成が促進されているので紫外線促進型・紫外線・青色光誘起型に当てはまることが分かっている。本実験では、活性化されているので菌類と同じ結果となった。

光刺激 光を酵母に照射したときの反応として2パターン、光無感応型と光阻害型があることが知られており、光阻害型の場合は330nm~520nmの波長で孢子形成が阻害され、光無感応型の場合は光照射によって影響されない。よって光刺激の実験の結果では、酵母菌では光無感応型・光阻害型ではなくその他の、光の活性化といえるものであることが判明した。

5 結論

本研究において、酵母の面積が対照実験よりも増加し、活性化したのはUV-Cと光である。

以上の結果より、光・UV-Cは他の波刺激に比べ対照実験より面積の増加率が大きいいため、活性化に対して有効性が高いと思われる。

6 今後の課題

- 今回の実験で活性化を示した光・紫外線刺激だが、菌類の持つ性質として、菌類の種類・波の周波数によって菌類の成長率の増加・減少の傾向が変わることが分かっているため、もっと周波数を絞って数値化して明確に表す必要がある。
- 実際に商品の生産に使用されている振動・電気刺激の酵母の活性化を検証する。
- 振動刺激を酒類と同じにするため乾燥培地ではなく、液体培地を使用すること。

謝辞

静岡大学理学部生物学科の丑丸教授はじめ講座の院生の方々には、酵母Us 356をいただき、また多くの貴重なコメント、有益な御助言をいただきましたことをここに深く感謝いたします。

7 参考文献

- 緑風出版 菌類の事典（2014）日本菌類学会編
- 酒類・食品の音響振動熟成 Acouve Laboratory, Inc. www.acouve.co.jp（2014 6.26）
- 高木浩一 (TAKAKI Koichi)
パルスパワー&プラズマ研究室 <http://www.eng.iwate-u.ac.jp/jp/labo/takaki/>（2014 6.26）
- 小松 明 食品に音楽を聞かせる-振動エネルギーの応用テクノロジー-
NO.203 1995年1月号「食の化学」P52~62（2014.6.26）