

# 伊豆赤沢海洋深層水からの *Saccharomyces cerevisiae* の 分離と諸性状

Isolation and characterization of *Saccharomyces cerevisiae* from Izu-Akazawa deep seawater

野村道康<sup>1</sup>・柴田雄次<sup>1</sup>・山本 樹<sup>1</sup>・山田勝久<sup>1</sup>・今田千秋<sup>2</sup>

Michiyasu NOMURA, Yuji SHIBATA, Tatsuki YAMAMOTO, Katsuhisa YAMADA  
and Chiaki IMADA

## Abstract

Deep seawater (DSW) is widely used in various fields today. In recent studies, specific microbial communities in DSW have been reported, though there are fewer number of living microorganisms. The purpose of this study was to isolate *Saccharomyces cerevisiae* from DSW because this species has been widely used in the food and cosmetics fields. The bag filters used for filtration in the DSW pumping facility were prepared as isolation sources and 75 yeast strains were isolated in total. As a result of analyzing the sequence of the 26S rRNA gene, the isolated strains were classified into 13 genera 21 species of yeast, and 3 strains of them were *S. cerevisiae* (strains SCAK-1, 2 and 3). As a result of comparing the characteristics of strains SCAK-1, 2 and 3 with strain NRIC-1560, which is the type strain of *S. cerevisiae*, they were able to grow at a lower temperature and were much more highly resistant to NaCl concentration and water pressure. In addition, strains SCAK-1 and 2 indicated unique characteristics such as longer chronological lifespan and higher oxidative stress tolerance.

**Key Words:** Deep seawater, Yeast, Chronological lifespan, Oxidative stress tolerance

## 要 旨

今日、海洋深層水（以下、DSW）は幅広い分野で利用されている。DSW中には微生物数は少ないながらも、特異的な微生物群集が存在することが報告されている。本研究ではDSWから食品および化粧品分野での利用に向けて、その実績が高い酵母 *Saccharomyces cerevisiae* を分離することを目的とした。分離源にはDSW中の懸濁物を濾過するバッグフィルターを供し、そこから合計75株の酵母を分離した。分離株の26S rRNA 遺伝子の塩基配列を解析した結果、13属21種の酵母に分類され、その内3株は *S. cerevisiae* (SCAK-1, 2, 3と命名) であった。SCAK-1, 2, 3株の諸性状を *S. cerevisiae* の基準株である NRIC-1560株と比較した結果、これらの3株は低温での増殖性を有し、NaCl濃度および水圧に対する耐性が高かった。さらに、SCAK-1, 2株は経時寿命が長く、老化の一因とされる酸化ストレスへの耐性も顕著に高い性状を有していた。

**キーワード：** 海洋深層水, 酵母, 経時寿命, 酸化ストレス耐性

## 1. 緒 言

海洋深層水（以下、DSW）は清浄、低温、富栄養、

水質安定の性質を有し、これらの性質を利用した水産、飲料、化粧品、農業、温度差発電などの様々な分野で利用されている（高橋、2000）が、DSWは有

<sup>1</sup> (株)ディーエイチシー（〒108-0023 東京都港区芝浦2-7-1 DHC芝浦2丁目ビル7F）

<sup>2</sup> 国立大学法人東京海洋大学学術研究院（〒108-8477 東京都港区港南4-5-7）

機物の生産よりも分解が卓越する真光層以深の海水であり、微生物を含めたバイオマスが希薄である“清浄性”の特徴を有している(高橋・池谷, 2002)ことから、産業利用を目的とした微生物の探索源としてはこれまであまり注目されてこなかった。しかし、DSWは表面海水(以下、SSW)に比べて低温、高水圧であり、さらに植物プランクトンを一次生産者とするSSWとは異なる生態系を有している(齊藤, 2006)ことなどから、易分解性の有機物よりも難分解性の有機物の割合が高く(半田, 1992)、特異な環境である。特異な環境に生息する微生物は特異な性質を有することが期待され、さらにDSWとSSWとの間に常に生じている温度差により、両海水中に生息している微生物は容易に混合しないことから、DSWには固有の微生物が保全されていることが期待される。

このDSW中の微生物群集については分子生物学的手法を用いた解析により、新規微生物を含めた様々な微生物が存在することが報告されている(寺原ら, 2014)。さらに、DSWから細胞賦活作用(柴田ら, 2016)や抗癌作用(Yang *et al.*, 2019)などの生理活性物質を有する微生物や醸造用酵母の分離報告(瀬ら, 2013)などがあるように、DSWからの産業利用に向けた微生物研究が近年充実してきている。

また、これまでのDSWの産業利用については上述の様にDSW自身を利用する方法が一般的であったが、今後DSWを多岐に渡る分野で利用し、その産業的価値を高めていくためにはこうした微生物の利用についてもより検討していくことが重要と考えられる。

本研究では、DSWから食品および化粧品分野での利用に向けて*Saccharomyces cerevisiae*を分離することを目的とし、微生物数が希薄なDSWから酵母を効率よく分離するために、DSW中の懸濁物を濾過するためのバッグフィルター(以下、BF)を分離源として使用した。その結果、75株の酵母を分離し、その内3株が本研究の目的である*S. cerevisiae*であったので、この3株の*S. cerevisiae*の諸性状を以下に詳細に報告する。

## 2. 材料と方法

### 2.1 試薬およびキット

本研究では以下の試薬およびキットを使用した。なお、断りのない場合は、特級の試薬を使用した。クロラムフェニコール(分子生物学用)、エタノール、グルコース、酢酸アンモニウム(分子生物学用)、塩化ナトリウム、セロビオース(化学用)、ガラクトース、グリセロール、パラチノース一水和物(生化学用)、スクロース、トレハロース二水和物、過酸化水素(精密分析用)は富士フィルム和光純薬より購入し、マルトース一水和物(鹿特級)、硫酸アンモニウムは関東化学より購入した。また、酵母エキス(Bacto™ Yeast Extract)およびペプトン(Bacto™ Peptone)はBecton Dickinson、寒天(培地用BA-10)は伊那食品工業、クリーンカラム(イースト菌用)はトーホー、Go Taq Green Master Mixはプロメーガ、Yeast Nitrogen Base without amino acids and without Ammonium SulfateはFORMEDIUM、F-キットエタノールはロシュ・ダイアグノスティックス、PBS(-)は日水製薬より購入した。

### 2.2 酵母の分離

DSW(静岡県伊東市伊豆赤沢、取水深度800 m, 北緯34°50'19", 東経139°08'11", 取水量約1,000 t/日)を約1ヶ月間濾過し、DSW中の懸濁物が集積されたBF(平均孔径0.5 μm, 2009年7, 8, 9, 10, 11, 12月, 2010年1, 2, 3月分)を分離源とし、その底部を無菌的に約3 cm角に切除した後、滅菌DSW 10 mLを入れた50 mL容遠心チューブに移してボルテックスで懸濁した。得られた懸濁液0.1 mLを0.01%クロラムフェニコールまたは8.5%エタノールを添加したYPD寒天培地(1%酵母エキス, 2%ペプトン, 2%グルコース, 2%寒天)に塗抹して4-27°Cで1-2週間培養を行った。培養後、寒天培地上に出現した酵母様のコロニーの一部を白金耳で取り、光学顕微鏡(×400, DP20, OLYMPUS)で観察し、大きな細胞で形成されているコロニーを酵母候補株として単離した。

### 2.3 26S rRNA遺伝子配列による酵母の同定

2.2節の操作で単離した酵母候補株の各菌体からクリーンカラムを用いてDNAを抽出した。得られたDNAをNL1 (5'-GCATATCAATAAGCGGAGGAAAAG-3'), NL4 (5'-GGTCCGTGTTTCAAGACGG-3') のプライマー (関口ら, 2008) およびGo Taq Green Master Mixを用いてPCR (My Cycler™ thermal cycler, BIO-RAD) 増幅を行った。PCRによる増幅は94℃で2分間初期加熱後, 94℃ (1分間), 57℃ (1分間), 72℃ (1分間) を1サイクルとし, このサイクルを27回繰り返した後, 72℃ (10分間) の加熱処理を行った。得られたPCR産物はエタノール沈殿にて精製を行った。すなわち, PCR産物20  $\mu$ Lに99.5%エタノール50  $\mu$ Lおよび10 M酢酸アンモニウム2  $\mu$ Lを添加して氷上で20分間静置した後, 遠心分離 (20,000  $\times g$ , 10分間, 4℃) を行った。遠心分離後, 沈査に70%エタノール250  $\mu$ Lを添加して再度遠心分離 (20,000  $\times g$ , 10分間, 4℃) し, 得られたペレットを風乾した後, 超純水10  $\mu$ Lに溶解して鋳型DNAを調製した。得られた鋳型DNAおよびNL1のプライマーを用いて北海道システム・サイエンス株式会社にシーケンスを依頼した。得られた26S rRNA遺伝子の塩基配列 (536 bp) について, BLAST法によりデータベース上の既知の塩基配列との相同性を調べると共に, *S. cerevisiae*であることが確認された株については塩基配列の比較を行った。

### 2.4 諸性状評価用菌体

2.3節の操作で確認された3株の*S. cerevisiae* (以下, SCAK-1, 2, 3株) および*S. cerevisiae*の分類学的基準株 (以下, NRIC-1560株, 東京農業大学微生物リソースセンター) をYPD液体培地で1-2日間静置培養し, 得られた菌体を滅菌生理食塩水で洗浄した後, 濁度 (OD<sub>660</sub>) が0.01となるように滅菌生理食塩水に懸濁し, これを以降の各諸性状調査に供する評価用菌体とした。なお, 本研究における濁度とは, 均一になるように攪拌した酵母の菌体懸濁液をマイクロピペットを用いて96穴マイクロプレートの各ウェルに100  $\mu$ L分注し, マイクロプレートリーダー (MTP-810, コロナ電気) を用いてOD<sub>660</sub>を測定したものである。

### 2.5 増殖条件 (温度, NaCl濃度, エタノール濃度, 水圧) および菌体サイズ

2.4節で調製したSCAK-1, 2, 3株およびNRIC-1560株の各評価用菌体20  $\mu$ LをYPD液体培地10 mLに接種し, 温度 (4, 10, 15, 27, 37, 40, 43, 47℃), NaCl濃度 (0-20%, 1%毎), エタノール濃度 (0-10%, 1%毎), 水圧 (0, 8.2, 20.3, 30.4, 40.5 MPa) の各条件で7-9日間培養を行い, 濁度 (OD<sub>660</sub>) を測定した。OD<sub>660</sub>値の増加が0.01を超えるものを増殖ありと判定した。なお, 水圧は加圧ポンプを用いて水で加圧し, 高压シリンダー (離合社) 内を所定の圧力に調整して培養した後, 供試菌の増殖の有無から圧力耐性を判定した。また, 菌体サイズは粒子径分布測定装置 (マイクロトラックMT-3000, マイクロトラック・ベル) を用いて測定し平均値を算出した。なお, 本研究では培養はすべて静置で行い, 増殖温度以外の試験では培養温度を27℃とした。

### 2.6 糖の資化性

唯一の糖としてセロビオース, ガラクトース, グルコース, グリセロール, マルトース一水和物, パラチノース一水和物, スクロース, トレハロース二水和物をそれぞれ0.5%となるよう添加したYNB培地 (0.19% Yeast Nitrogen Base without amino acids and without Ammonium Sulfate, 0.5% 硫酸アンモニウム) 10 mLに, 2.4節で調製したSCAK-1, 2, 3株およびNRIC-1560株の各評価用菌体20  $\mu$ Lを接種して5日間培養を行い, 濁度 (OD<sub>660</sub>) を測定した。OD<sub>660</sub>値の増加が0.01を超えるものを資化性ありと判定した。

### 2.7 アルコール発酵能

グルコースを終濃度30%となるように添加したYPD液体培地200 mLに, 2.4節で調製したSCAK-1, 2, 3株およびNRIC-1560株の評価用菌体20  $\mu$ Lを接種して15℃で3週間培養を行い, 培養液中のアルコール濃度をF-キットエタノールで測定した。

### 2.8 経時寿命

2.4節で調製したSCAK-1, 2株およびNRIC-1560株の各評価用菌体20  $\mu$ LをYPD液体培地10 mLに接種

し、定常期に到達するまでそれぞれ1-2日間培養した。培養した菌体をPBS (-) 20 mLで洗浄した後、 $10^7$ - $10^8$  CFU/mLとなるようにPBS (-) 15 mLに懸濁した。その後27°Cで静置し、経時的に100  $\mu$ Lを分取してYPD寒天培地を用いたコロニーカウントによる生菌数測定を行った。なお、凝集性を有するSCAK-3株はコロニーカウントによる生菌数測定でばらつきが生じる懸念があったことから以降の試験では除外した。

## 2.9 過酸化水素耐性

2.4節で調製したSCAK-1, 2株およびNRIC-1560株の各評価用菌体を滅菌生理食塩水で洗浄した後、濁度 ( $OD_{660}$ ) が0.3となるように菌体を滅菌精製水に懸濁した。次に、各菌体の懸濁液1 mLを遠心分離 ( $10,000 \times g$ , 5分間, 20°C) して菌体を回収し、それに0, 0.2, 0.4, 0.8, 1.2, 1.4 M過酸化水素を1 mL添加して30°Cで1時間静置した。静置後、菌体から過酸化水素を除去するために、各菌体の懸濁液を遠心分離 ( $5,000 \times g$ , 5分間, 20°C) して上清を除去した後、滅菌生理食塩水1 mLを添加して攪拌し、再度遠心分離 ( $5,000 \times g$ , 5分間, 20°C) を行い、上清を除去した。沈査に新しく滅菌生理食塩水1 mLを添加して懸濁し、この各菌体の懸濁液10  $\mu$ LをYPD寒天培地に滴下して27°Cで3日間培養を行い、コロニー形成能を確認した。

## 3. 結果

### 3.1 DSWから分離された酵母

2009年7月から2010年3月までのBFから、合計75株の酵母を分離した。(2009年7月から13株, 8月から9株, 9月から4株, 10月から2株, 11月から22株, 12月から6株, 2010年1月から1株, 2月から4株, 3月から14株) これらの株について26S rRNA遺伝子を解析した結果、13属21種に分類され、その内3株が*S. cerevisiae*であった (Table 1)。本研究では、これら3株をSCAK-1, SCAK-2, SCAK-3株と命名し、その諸性状を評価した。また、SCAK-1, 2, 3株とNRIC-1560株の塩基配列を比較した結果、SCAK-1

は相同性が99.8%であり、SCAK-2, 3株は相同性が100.0%であった (Fig. 1)。なお、液体培養時の光学顕微鏡での観察から、SCAK-1, 2株は非凝集性である一方、SCAK-3株は凝集沈降性を有していることが分かった (Fig. 2)。

### 3.2 SCAK-1, 2, 3株の諸性状

SCAK-1, 2, 3株および比較対象であるNRIC-1560株の諸性状をTable 2に示す。増殖温度域はSCAK-1, 2, 3株はすべて4-43°Cであり、NRIC-1560株の15-40°Cに比べて低温域での増殖能を示した。NaCl耐性はSCAK-1, 3株が13%、またSCAK-2株が14%であり、NRIC-1560株の5%に比べて顕著に高かった。エタノール耐性はSCAK-1, 2, 3株はすべて10%であり、NRIC-1560株の9%に比べて僅かに高かった。耐水圧性はSCAK-1, 3株は30.4 MPa、またSCAK-2株は40.5 MPaであり、NRIC-1560株の20.3 MPaに比べて高かった。菌体サイズはSCAK-1株が5.3  $\mu$ m、またSCAK-2, 3株が5.4  $\mu$ mであり、NRIC-1560株の13.5  $\mu$ mに比べて顕著に小さかった。糖の資化性については、SCAK-1, 2, 3株はNRIC-1560株が資化した糖のうち、マルトースを資化せず、さらにバラチノースの資化性も低かった。また、SCAK-2, 3株はガラク

Table 1 Species of yeasts isolated from BF

Molecular identification	Number of isolated strains
<i>Bensingtonia</i> sp.	3
<i>Candida boidinii</i>	1
<i>Candida sake</i>	3
<i>Candida tropicalis</i>	1
<i>Cryptococcus magnus</i>	1
<i>Cryptococcus</i> sp.	2
<i>Debaryomyces carsonii</i>	1
<i>Debaryomyces hansenii</i>	8
<i>Hortaea werneckii</i>	1
<i>Kluyveromyces lactis</i>	1
<i>Kluyveromyces nonfermentans</i>	8
<i>Meyerozyma guilliermondii</i>	1
<i>Pichia mexicana</i>	1
<i>Pichia occidentalis</i>	1
<i>Rhodospodium sphaerocarpum</i>	5
<i>Rhodotorula glutinis</i>	3
<i>Rhodotorula mucilaginoso</i>	9
<i>Rhodotorula phylloplana</i>	1
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	3
<i>Wickerhamomyces anomalus</i>	20
<i>Williopsis saturnus</i>	1

```

NRIC-1560 AGCGGCAAAA GCTCAAATTT GAAATCTGGT ACCTTCGGTG CCCGAGTTGT AATTTGGAGA GGGCAACTTT GGGGCCGTC CTTGTCTATG TTCCTGGAA
SCAK-1 -----
SCAK-2 -----
SCAK-3 -----

NRIC-1560 CAGGACGTCA TAGAGGGTGA GAATCCCCTG TGCGAGAGAG TCCGGTTCTT TGTAAAGTGC CTTGGAAGAG TCGAGTTGTT TGGGAATGCA GCTCTAAGTG
SCAK-1 -----
SCAK-2 -----
SCAK-3 -----

NRIC-1560 GGTGGTAAAT TCCATCTAAA GCTAAATATT GCGGAGAGAC CGATAGCGAA CAAGTACAGT GATGGAAAGA TGAAGAAGAC TTTGAAAAGA GAGTGAAGAA
SCAK-1 -----
SCAK-2 -----
SCAK-3 -----

NRIC-1560 GTACGTGAAA TTGTTGAAAG GGAAGGGCAT TTGATCAGAC ATGGTGTGTT GTGCCCTCTG CTCCTTGTGG GTAGGGGAAT CTCGCATTC ACTGGGCCAG
SCAK-1 -----
SCAK-2 -----
SCAK-3 -----

NRIC-1560 CATCAGTTTT GGTGGCAGGA TAAATCCATA GGAATGTAGC TTGCCTCGGT AAGTATTATA GCCTGTGGGA ATACTGCCAG CTGGGACTGA GGACTGCGAC
SCAK-1 -----
SCAK-2 -----
SCAK-3 -----

NRIC-1560 GTAAGTCAAG GATGCTGGCA TAATGGTTAT ATGCCG 100.0%
SCAK-1 ----- 99.8%
SCAK-2 ----- 100.0%
SCAK-3 ----- 100.0%

```

Fig. 1 Alignment of 26S rRNA gene sequences of strains SCAK-1, 2, 3 and NRIC-1560.

The 536 bp rRNA partial sequence of strain NRIC-1560 (ATCC 18824) was aligned with the corresponding sequences of strains SCAK-1, 2 and 3. The nucleotide which is the same as that of strain NRIC-1560 is indicated by "-". The percentages of identity are presented at the end of each sequence.

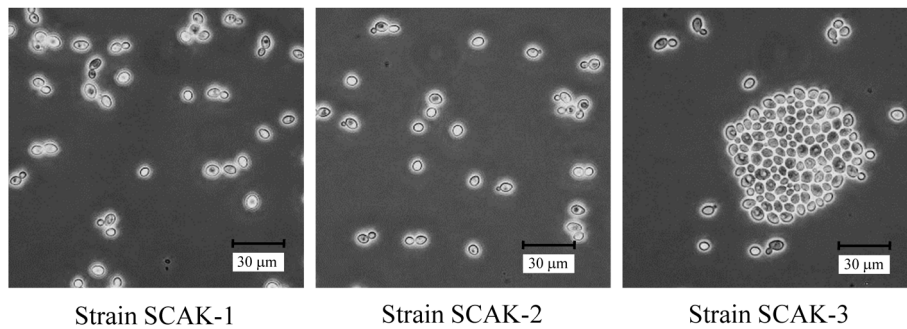


Fig. 2 Micrographs of strains SCAK-1, 2 and 3 cultured in YPD liquid medium for 2 days.

Table 2 Comparison of characteristics between strains SCAK-1, 2, 3 and NRIC-1560

Characteristics	Strain			
	NRIC-1560	SCAK-1	SCAK-2	SCAK-3
Growth temperature range (°C)	15–40	4–43	4–43	4–43
NaCl tolerance (% w/v)	5	13	14	13
Ethanol tolerance (% v/v)	9	10	10	10
Pressure tolerance (MPa)	20.3	30.4	40.5	30.4
Size (µm)	13.5	5.3	5.4	5.4
Alcohol production (% w/v)	11.1	12.3	12.7	12.6
Carbon assimilation				
Cellobiose	+	+	+	+
Galactose	++	–	++	++
Glucose	++	++	++	++
Glycerol	–	–	–	–
Maltose	++	–	–	–
Palatinose	++	+	+	+
Sucrose	++	++	++	++
Trehalose	+	+	–	–

The carbon assimilation was judged by the increase in turbidity at OD<sub>660</sub>; “–”, “+” and “++” represent OD<sub>660</sub> of 0, 0.01–0.05 and above 0.05, respectively.

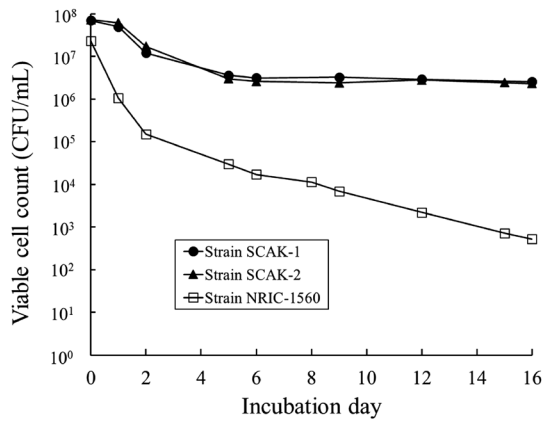


Fig. 3 Comparison of chronological lifespan between strains SCAK-1, 2 and NRIC-1560.

トースを資化した。SCAK-1株は資化せず、逆にSCAK-1株はトレハロースを資化した。SCAK-2, 3株は資化しなかった。アルコール発酵能について培養液中のエタノール濃度を調べた結果、SCAK-1, 2, 3株はそれぞれ12.3%, 12.7%, 12.6%であり、NRIC-1560株の11.1%よりも高かった。

### 3.3 SCAK-1, 2株の経時寿命および過酸化水素耐性

SCAK-1, 2株およびNRIC-1560株の経時寿命を比較した。Fig. 3に示すように、SCAK-1, 2株は試験開始時の $7.0 \times 10^7$  CFU/mLおよび $7.3 \times 10^7$  CFU/mLから6日後で $3.1 \times 10^6$  CFU/mLおよび $2.6 \times 10^6$  CFU/mLに減少したが、それ以降は生菌数の減少は見られなかった。一方、NRIC-1560株は $2.3 \times 10^7$  CFU/mLから6日後では $1.7 \times 10^4$  CFU/mLに減少し、さらに16日後には $5.2 \times 10^2$  CFU/mLにまで減少した。

最後に、経時寿命が長い*S. cerevisiae*は過酸化水素に対する耐性が高いことが報告されている (Azuma *et al.*, 2009) ことから、SCAK-1, 2株およびNRIC-1560株の過酸化水素耐性を調べた。Fig. 4に示すように、NRIC-1560株の過酸化水素耐性は0.2 Mが上限であったのに対し、SCAK-1, 2株は本試験に供した最高濃度 (1.4 M) でも耐性を示し、NRIC-1560株よりも顕著に高い過酸化水素耐性を有していた。

## 4. 考察

本研究ではDSWの産業的利用価値の向上を目指

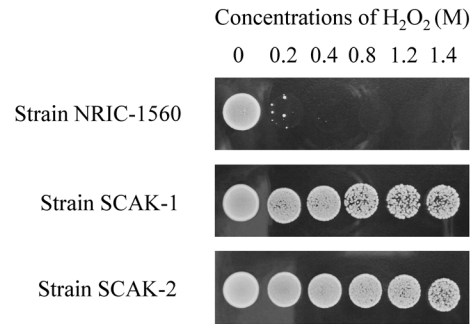


Fig. 4 Comparison of  $H_2O_2$  tolerance between strains SCAK-1, 2 and NRIC-1560.

して、微生物の利活用を実現するために、清浄性の特徴を有し、微生物数が少ないDSWから酵母の分離を目的として、DSW中の微生物が濃縮されていると想定されるBFを分離源として研究に着手した。その結果、13属21種に分類される75株の酵母の分離に至った。また、その内3株は本研究の目的であり、食品および化粧品分野での利用実績が高い*S. cerevisiae*であった。DSWには少ないながらも様々な酵母が生息していること、またBFから分離した酵母の中には海水からの分離報告が多い*Rhodotorula*属や、駿河湾および相模湾の深海の海底堆積物から新種として分離報告された*Kluyveromyces nonfermentans* (Nagahama *et al.*, 1999) なども多く含まれていたことから、BFはDSW由来の酵母の分離源として適していると推察された。

分離した3株の*S. cerevisiae* (SCAK-1, 2, 3株) について諸性状を評価した結果、SCAK-1, 2, 3株は菌体サイズが小さいという外観的な特徴に加えて、低温域を含む各温度域で増殖性を示したうえ、NaCl濃度や水圧に対する耐性も高かった。さらにSCAK-1, 2株については経時寿命が長く、酸化ストレスに対する耐性も高かったことから長寿形質を有していると推察され、陸上由来の基準株とは異なる多くの諸性状が確認された。これらSCAK-1, 2, 3株の諸性状は、SSWとの混合がほとんどない低温、高水圧のDSW中での生存に適していると推察されることから、元々これらの諸性状を有していたSCAK-1, 2, 3株が陸上またはSSWからDSWに沈降してくる間に生き残ったのか、またはDSWにまで到達した株がDSWの環境に適合し、上述の諸性状を獲得したの

かは非常に興味があるが、その結論にはより多くの検討が必要と思われる。

また、SCAK-1, 2, 3株はいずれもマルトース資化能を有していなかった。これに対して、富山湾DSWから分離された*S. cerevisiae* (瀬ら, 2013) および沿岸のSSWや海藻から分離された*S. cerevisiae* (小玉, 1999) などにはマルトース資化能があることが報告されているので、SCAK-1, 2, 3株にマルトース資化能が見られなかった理由は、DSW由来の*S. cerevisiae* 共通の特徴ということではなく、これらの株の個体差もしくは伊豆赤沢DSWの地理的要因の可能性が推測された。引き続き*S. cerevisiae* の分離を試み、得られた株のマルトース資化能を調べていく予定である。

本研究ではSCAK-1, 2, 3株に焦点を当ててその菌学的諸性状の評価を行ったが、今後はより産業利用に向けた検討を行うために、様々な条件での発酵試験を行い、得られた発酵物の有効性評価などを行う予定である。また、本研究では*S. cerevisiae* 以外にも、果実の腐敗防止を目的とした生物的防除剤としての利用が検討されている *Candida sake* (Vinas *et al.*, 1998) や、チーズの製造における凝乳酵素(キモシン)の生産に利用されている *Kluyveromyces lactis* (塩田, 2016) など、既に産業利用されている種も分離されたことから、DSWは様々な酵母の分離源として有望であることから、新たな酵母の探索を継続していくとともに、得られた酵母の性状についても評価していきたいと考えている。

## 参考文献

Azuma K., H. Ohtsuka, S. Mita, H. Murakami and H. Aiba (2009) Identification and characterization of an Ecl1-family gene in *Saccharomyces cerevisiae*. *Biosci.*

*Biotechnol. Biochem.*, 73, 2787–2789.

- 半田暢彦 (1992) 海洋における有機物の動態. 海の研究, 1, 251–263.
- 小玉健太郎 (1999) 海洋酵母 *Saccharomyces cerevisiae* の分離と利用. 醸協, 94, 879–883.
- Nagahama T., M. Hamamoto, T. Nakase and K. Horikoshi (1999) *Kluyveromyces nonferrnentans* sp. nov., a new yeast species isolated from the deep sea. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 49, 1899–1905.
- 齊藤宏明 (2006) トワイライトゾーンの生物たち—中深層生態系の構造と特徴—. 海深研, 7, 23–26.
- 関口幸恵・田中みち子・高橋淳・浅野行蔵 (2008) 北海道の植物からの *Saccharomyces* 属酵母の単離と製パン適性. 醸協, 103, 125–134.
- 瀬 智之・加藤肇一・中川秀幸 (2013) 富山湾海洋深層水から単離した酵母の発酵特性. 海深研, 14, 1–9.
- 柴田雄次・齋藤美恵・山田勝久・寺原 猛・小林武志・今田千秋 (2016) 伊豆赤沢海洋深層水から分離した微生物が生産する細胞賦活物質の研究. 海深研, 17, 9–16.
- 塩田一磨 (2016) *Kluyveromyces lactis* のβガラクトシダーゼ(ラクターゼ)の開発. 生物工学会誌, 94, 238–241.
- 高橋正征 (2000) 海にねむる資源・海洋深層水. あすなろ書房, 東京, 189 pp.
- 高橋正征・池谷 透 (2002) 海洋深層水の清浄性. 海深研, 3, 91–100.
- 寺原 猛・山口貴大・山田勝久・小林武志・今田千秋 (2014) DGGE法による海洋深層水中の微生物群集組成解析. 海深研, 15, 11–17.
- Vinas I., J. Usall, N. Teixido and V. Sanchis (1998) Biological control of major postharvest pathogens on apple with *Candida sake*. *Int. J. Food Microbiol.*, 40, 9–16.
- Yang T., K. Yamada, T. Zhou, E. Harunari, Y. Igarashi, T. Terahara, T. Kobayashi and C. Imada (2019) Akazamicin, a cytotoxic aromatic polyketide from marine-derived *Nonomuraea* sp. *J. Antibiot.*, 72, 202–209.
- (2021年8月27日受付；2021年11月10日受理)