

## 酵母培養でも様々な培地が用いられている

渡部 貴志

微生物研究にとって、培地の組成が、得られる結果に大きく影響を与える因子の一つであることは、読者の共通認識であろう。駒らは、培地の成分について材料の由来などを詳細に解説しているが、主な対象が細菌用の培地となっている<sup>1)</sup>。一方、酵母を対象にした培地については、情報を整理できていない方も多いのではないかと思われる。そこで本稿では、酵母培養で用いられている培地について、一般的なものと応用的なものを目的別に数例紹介する。

酵母研究で一般的に用いられている培地には、YM培地、YPD培地、PD培地などがある。YM培地は、炭素：窒素：リン (CNP比) で炭素源が多めであるのに対し、YPD培地は窒素源が多めである。窒素源やリン源は、タンパク質や核酸などの細胞の構成成分であるため、それらの比率が多いと酵母が増殖しやすい。一方、炭素源は、エネルギー源であるため、その比率が低くなると早めに細胞のエネルギーが枯渇し、死滅しやすくなる。YM培地では酵母の増殖量がYPD培地に比べて低く、前培養や酵母の冷蔵保存などに用いることが多い。一方、YPD培地は本培養に用いられることが多く、増殖が良いためグリセロールストックから菌株を起こすのに適している反面、冷蔵保存での酵母の死滅が早く、長期保存には向かない。それぞれの培地はBecton Dickinson (BD) 社が販売しているが、報文によっては、加える濃度や、用いている酵母エキスやペプトンのメーカーが異なることがあるため、再現性実験には注意が必要である。また、PD培地はYM培地よりも酵母の増殖量がさらに少ないが、冷蔵保存での酵母の死滅が遅いため、長期保存に向いている。

酵母の最少培地として一般的であるのが、Yeast Nitrogen Base (YNB) 培地であり、アミノ酸を除いたものとアミノ酸と硫酸アンモニウム (硫安) を除いたものはBD社から販売されている。YNB培地は菌株の炭素源の資化性を、アミノ酸と硫安を除いたものは窒素源の資化性を調べるのに適している。一方で、硫安はアンモニアが消費されると硫酸根 ( $\text{SO}_4^{2-}$ ) が残り、pHが1よりも下がってしまうことが多いため、窒素源を塩化アンモニウムやアスパラギンに変えたり、リン酸緩衝液を加えpH低下を緩衝させたりする場合もある。また、かつてはYNB培地からビタミン類を除いた培地が販売されており、ビタミン要求性を調べるのに適していた。なお、各YNBの組成はDifco manualに掲載されているため、各自で調製することが可能である<sup>2)</sup>。YNB培地は、酵母の基本

的な性質を見いだすのには適している反面、工業原料で調製される培地成分とは大きく異なるため、物質生産能の評価などの実用化研究には不向きである。

清酒造りに加える酵母の培養に用いられる培地に、麴米の高温糖化により調製する麴エキスがある。麴エキスは用いる原料米の種類や精米歩合、種麴によって成分が異なることが予測されるが、Brix値 (屈折率糖度) を5~12°に調整しているだけのことが多い。麴エキスのCNP比は炭素源が多く、清酒造りの原料のみを使用していることが特徴である。また、同じく酵母菌体を得ることを目的とした培地に、サトウキビジュースから砂糖を精製する時の副産物の糖蜜が用いられている。糖蜜はグルコースの他にスクロースとフルクトースが炭素源として含まれており、パン酵母の生産や酵母エキス、バイオエタノールなどの原料として用いられている。一方で、糖蜜には脱色が難しい褐色色素を含み、また、産地によってはヒ素を含有していることがあるため、注意が必要である。

酵母を用いた有用物質生産には、タンパク質や脂質、機能性成分などがあり、当然ながら対象物ごとに培地組成は異なってくる。メタノール資化性酵母 *Pichia pastoris* を用いたタンパク質大量生産研究においては、タンパク質の形成に窒素源が必要であるため、Basal Salts培地にメタノールとアンモニアを供給する流加培養の方法がある<sup>3)</sup>。また、担子菌系の *Pseudozyma* 属酵母の糖脂質 Mannosylerythritol Lipids の生産研究では、高濃度の植物性油脂を原料とし、酵母エキスなどの栄養源の種類によって生産量が異なることが報告されている<sup>4)</sup>。さらに、清酒酵母は、メチオニン培地中に加えることにより、メチオニン代謝産物 *S*-adenosylmethionine を高蓄積することが知られている<sup>5)</sup>。

このように、酵母培養でも目的によってさまざまな培地が用いられ、培養方法が開発されたりしている。酵母培養を伴う実験が思うようにいかず、新たな培養方法を試みようと考えている方は、まずは先人達の研究成果に当たってみてはいかがだろうか。

- 1) 駒 大輔ら：生物工学よもやま話—実験の基本原則から応用まで—(日本生物工学会編), p. 100, 学進出版 (2013).
- 2) Difco Manual 11th Edition, Difco Laboratories (1998).
- 3) Cregg, J. M. et al.: *Mol. Biotechnol.*, **16**, 23 (2000).
- 4) Kitamoto, D. et al.: *Agric. Biol. Chem.*, **54**, 37 (1990).
- 5) Shobayashi, M. et al.: *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **69**, 704 (2006).