



地方独立行政法人

岩手県工業技術センター

IWATE INDUSTRIAL RESEARCH INSTITUTE

PCR法による清酒酵母株の識別

技術シーズ創生研究事業育成ステージ（令和2年度）

醸造技術部 玉川英幸

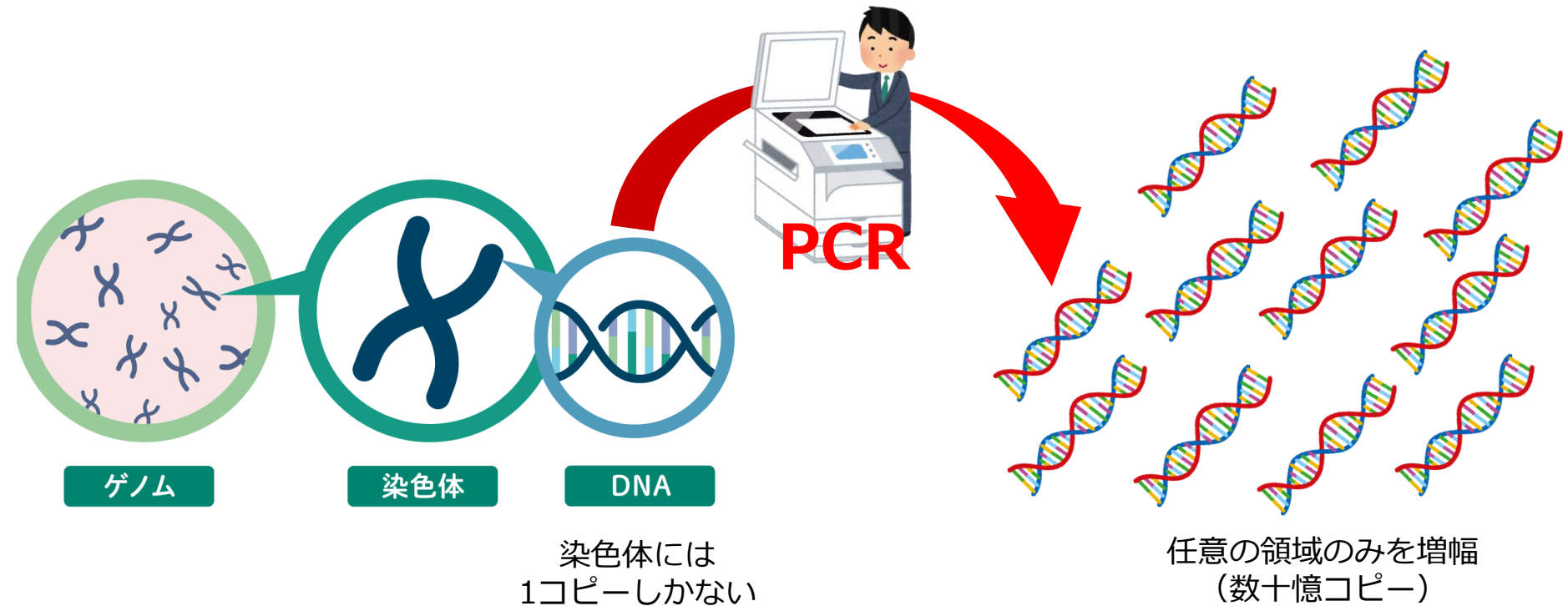
令和4年6月17日 岩手県工業技術センター 成果発表会

PCRとは

Polymerase Chain Reaction ポリメラーゼ連鎖反応



- DNAサンプルの任意の領域を数百万～数十億倍に増幅させる反応または技術
- 1983年にキャリー・マリリスによって発明される（1993年ノーベル賞受賞）



増幅された特定領域のDNAの使い方

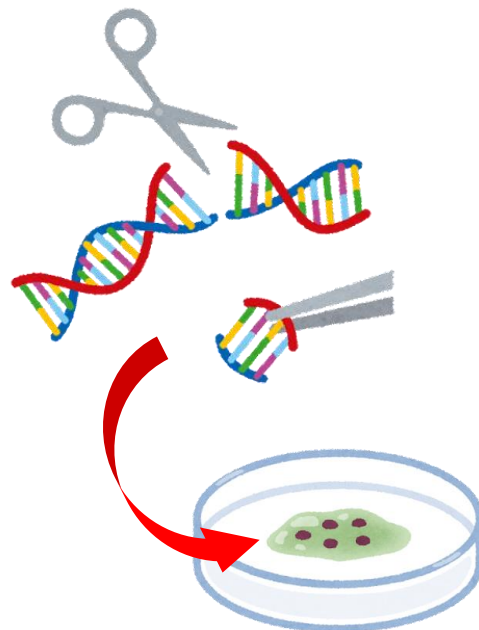
配列の決定

微量検体のDNA鑑定
親子鑑定など



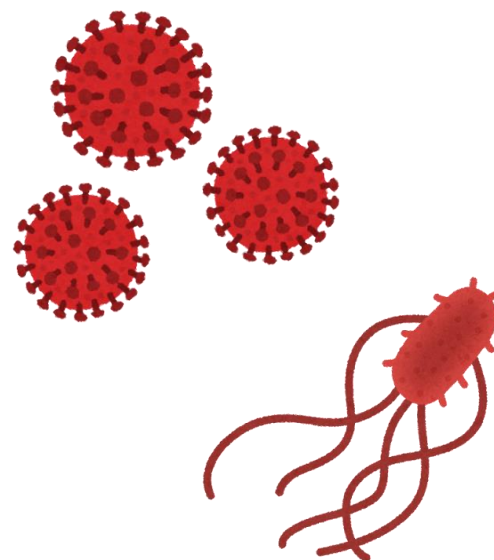
意図的な編集

遺伝子組換え
ゲノム編集



感染性病原体の特定

コロナウイルス由来のDNAしか
増幅しないような条件で実施



現代の分子遺伝学、分類学、医学分野などで欠かせない技術となっている

酒類の製造には酵母を使う

工業技術センターでは県内酒造会社が製造に使用する清酒酵母スターターの受託培養を行っています

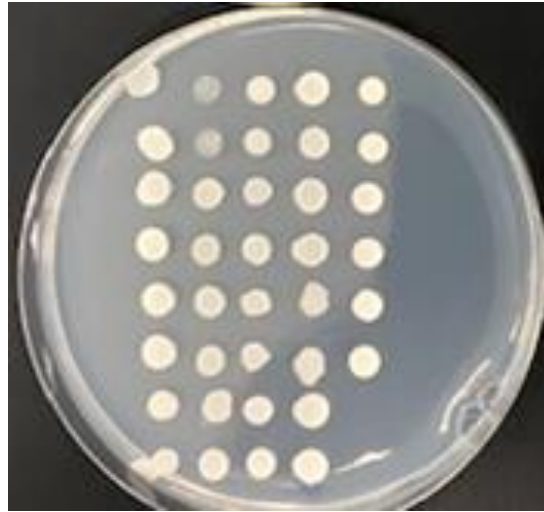
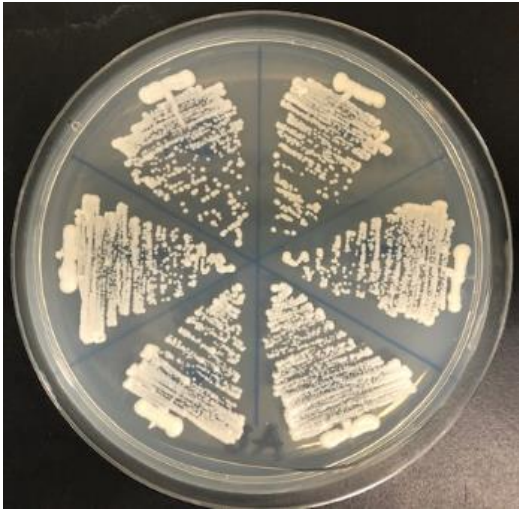


令和3年度酵母培養実績

三角フラスコ本数 557本
培地液量 462L
使用酵母 17株

依頼件数が多く、作業が雑多

酵母の識別は難しい



出芽酵母はみんなほぼ同じ見た目

パン酵母、清酒酵母、ワイン酵母はすべて同じ種類
(*Saccharomyces cerevisiae*)

取り違えると取返しがつかない

取り違えたということすら気が付けない

→酵母を区別できるようになりたい

ヒトのDNA鑑定

ヒトのDNAは99.9%以上同じだが、ヒトがヒトとして存在するために必須ではないDNA領域には違いがある（多型と呼ばれる）。すでに多型があると報告されているDNA領域を複数解析することで個人を特定することができる。

容疑者



遺伝子A: **タイプI**
遺伝子B: **タイプIII**
遺伝子C: **タイプII**



遺伝子A: **タイプII**
遺伝子B: **タイプII**
遺伝子C: **タイプIII**



遺伝子A: **タイプIII**
遺伝子B: **タイプII**
遺伝子C: **タイプI**



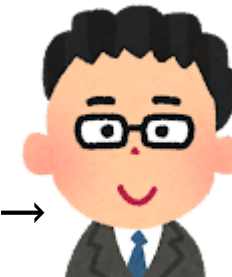
遺伝子A: **タイプIII**
遺伝子B: **タイプI**
遺伝子C: **タイプI**



現場に残された微量な検体をPCRで増幅して遺伝型を判定

遺伝子A: **タイプIII**
遺伝子B: **タイプII**
遺伝子C: **タイプI**

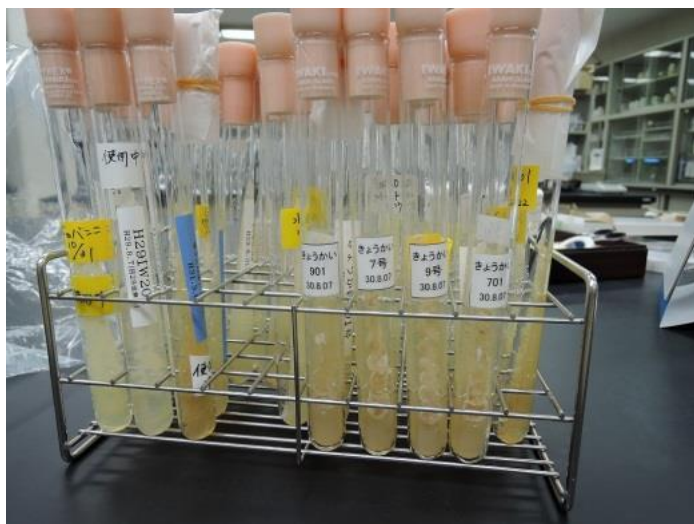
犯人→



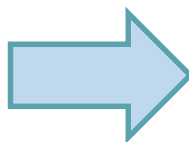
酵母でも同じことをやれば菌株の識別が可能

酵母の菌株識別 (DNA鑑定)

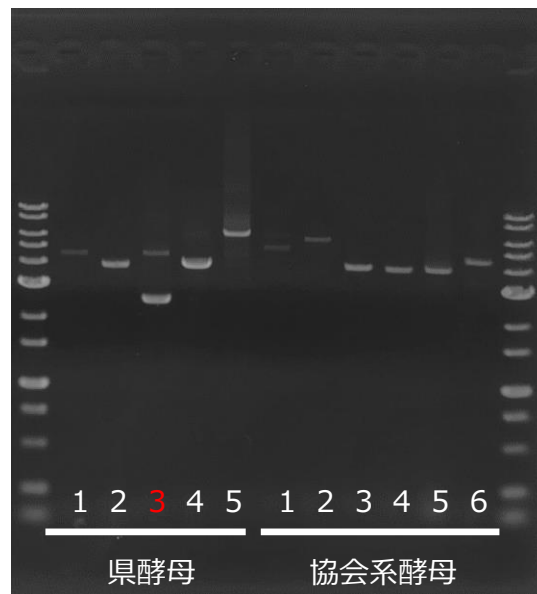
菌株が分かっている酵母を培養
ゲノムDNAを抽出
標的遺伝子座をPCRで増幅



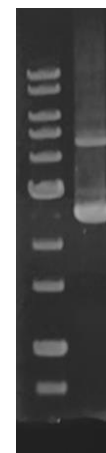
PCR



アガロースゲルで電気泳動
増幅されたDNAパターンを解析



未知検体



未知サンプルも同様に解析を行い、
標準株の解析結果と照合して菌株の識別を行う

県酵母の3と一致

センターで取り扱いのある清酒酵母の識別が可能となった

技術相談に利用した例

県内酒造会社から

「ゆうこの想い（泡なし酵母）を使用したのに泡が出た」との連絡

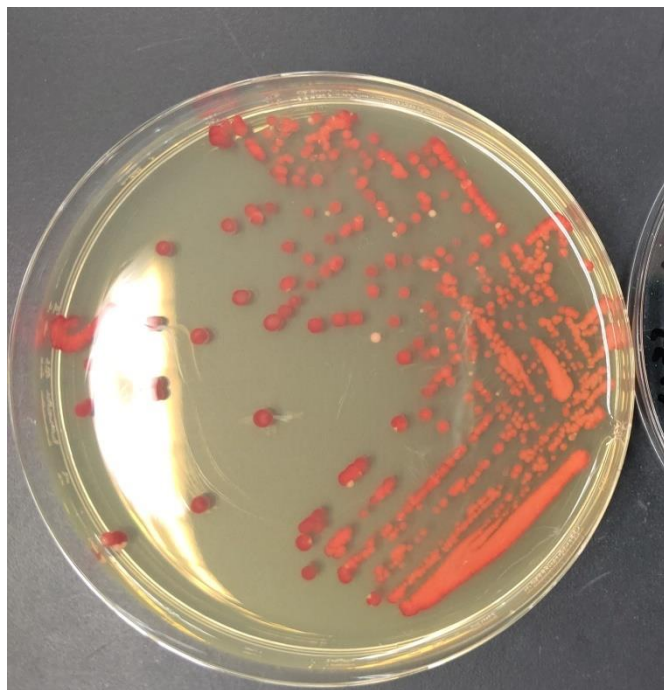


泡なし酵母

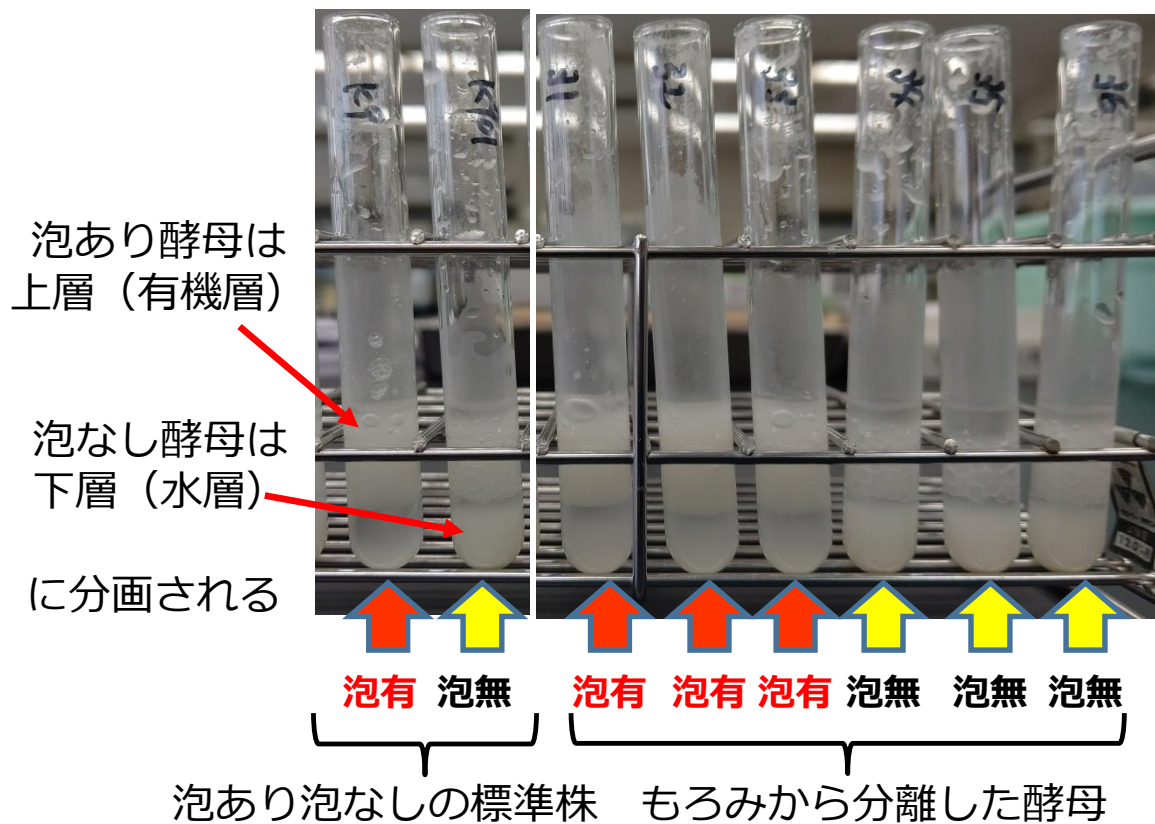
泡あり酵母

もろみからの酵母分離と泡あり判定試験

TTC培地による酵母の分離



酵母の泡あり泡なし判定



もろみから検出された一部の酵母で泡ありの判定が出たが、
泡なし酵母も含まれているようだった
→PCRで遺伝型と菌株の識別を行うこととした

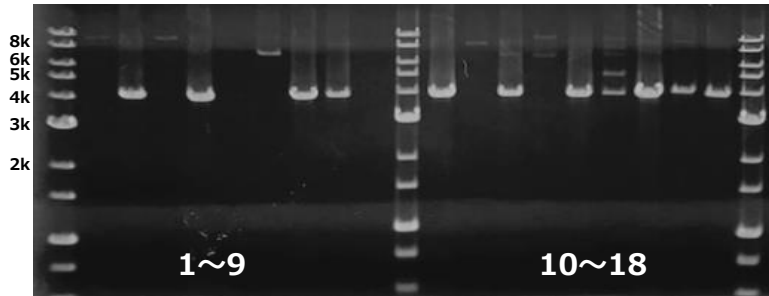
もろみから分離された酵母のPCRによる識別

結果のまとめ

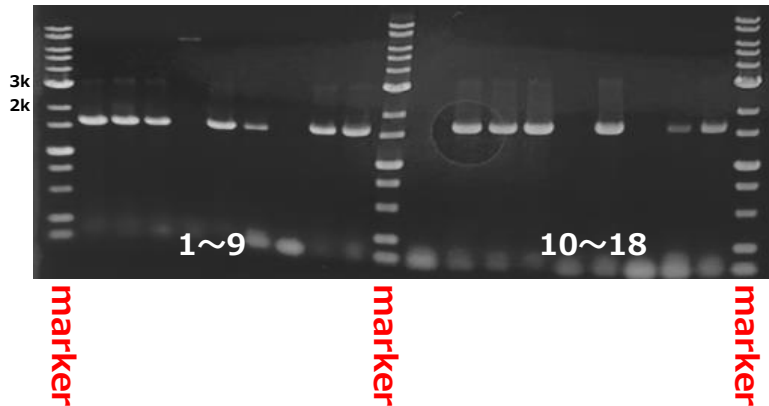
増幅した
遺伝子座

もろみから分離した酵母1~18の結果

AWA1



YLRW
delta20



	PCRで増幅した遺伝子座	
	AWA1 (増幅サイズ; kbp)	YLRWdelta20 (増幅の有無)
ゆうこの想い	4	×
分離酵母1	9	○
分離酵母2	4	○
分離酵母3	9	○
分離酵母4	4	×
分離酵母5	×	○
分離酵母6	7	○
分離酵母7	4	×
分離酵母8	4	○
分離酵母9	×	○
分離酵母10	4	×
分離酵母11	8	○
分離酵母12	4	○
分離酵母13	6+9	○
分離酵母14	4	×
分離酵母15	4+5	○
分離酵母16	4	×
分離酵母17	4	○
分離酵母18	4	○

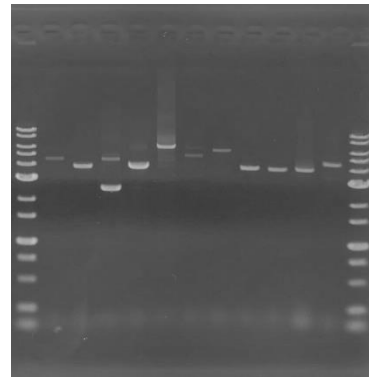
- ①
- ②
- ①
- ゆうこの想い
- ③
- ④
- ゆうこの想い
- ②
- ③
- ゆうこの想い
- ⑤
- ②
- ⑥
- ゆうこの想い
- ⑦
- ゆうこの想い
- ②
- ②

分離された18株のうち5株がセンターが培養して払い出した酵母の遺伝型と一致したが、残り13株はセンターで取り扱いのあるどの酵母の遺伝型とも一致しなかった
→培養酵母の取り違いではなく、蔵付きの泡あり野生酵母の関与が疑われた

センターの培養酵母品質管理への応用



酵母種類ごとに冷凍ストックを調製



ストックしたらPCRで各酵母の遺伝型を確認

センターで培養されたすべての酵母は培養と識別の記録が残っており追跡可能な状態になっています（トレーサビリティ）。

ご清聴ありがとうございました。
研究内容にご興味ございましたら、
お気軽にご相談ください。