

 <b>茨城県</b> <small>IBARAKI Prefectural Government</small>	<b>MLF Experimental Report</b>	提出日(Date of Report)
課題番号(Project No.) 2020PM4005 実験課題名(Title of experiment) 中性子線照射による有用微生物の品種改良技術開発 実験責任者名(Name of principal investigator) 高妻孝光 所属(Affiliation) 茨城大学	装置責任者(Name of responsible person) 石垣 徹 装置名(Name of Instrument : BL No.) iMATERIA: BL 20 実施日(Date of Experiment) 2020年12月17日	

実験目的、試料、実験方法、利用の結果得られた主なデータ、考察、及び結論を記述して下さい。

実験結果などの内容をわかりやすくするため、適宜図表添付して下さい。

Please report experimental aim, samples, experimental method, results, discussion and conclusions. Please add figures and tables for better explanation.

1. 実験目的(Objectives of experiment)
有用微生物であり、納豆製造に必要となる枯草菌、清酒酵母、モデル微生物である大腸菌の突然変異体の作出を目的として中性子照射実験を行った

2. 試料及び実験方法 Sample(s), chemical compositions and experimental procedure
2.1 試料 (sample(s)) 枯草菌 酵母 大腸菌  2.2 実験方法(Experimental procedure) 茨城県ビームラインの iMATERIA の 30 試料交換機を使い、枯草菌、酵母、大腸菌（モデル微生物）に中性子を照射した。

3. 実験結果及び考察（実験がうまくいかなかった場合、その理由を記述してください。）

Experimental results and discussion. If you failed to conduct experiment as planned, please describe reasons.

枯草菌、酵母、及び大腸菌をプラスチック製スクリーキャップチューブに充填し、照射セルホルダーに入れ、30 試料交換機を用い、5 分、10 分、30 分、1 時間、2 時間の中性子照射実験を行った。

枯草菌については、照射済みサンプルと未照射サンプルに 15%グリセリンを添加し、滅菌水で段階希釈水を作成した後、LB 寒天培地に塗布し、37°Cで約 24 時間培養後、菌数の確認を行ったところ、照射時間による死滅率への影響は殆どないことが見出された。現在、照射済みサンプルに対して表現型の確認等を行っている。

酵母については、照射済みサンプルと未照射サンプルをリン酸緩衝液で希釈し、YPD 寒天培地に塗布後、30°Cで約 48 時間培養後、菌数の確認を行ったところ、生存率は約 50%程度であることが判明した。現在、選択培地を用いての変異体の確認等を行っている。

大腸菌については、照射済みサンプルと未照射サンプルの細胞量を OD<sub>600</sub> が 0.1 となるように LB 培地で調整し、LB 培地で段階希釈を行ったものを、LB 寒天培地に塗布し、37°Cで約 24 時間培養を行い生存率の確認を行ったが、大きな差異は認められなかった。今後、照射線量、照射線量率を変化させて照射実験を行うこと、また、放射線照射効果が得られやすいとされているゲノムサイズが大きくて全ゲノム配列が解読されているシロイヌナズナを用いて照射効果についての検討を行う。

4. 結論(Conclusions)

枯草菌、酵母については、異なる形質の表現系の探索を行っており、照射による変異体誘導効果等については、遺伝子解析によって明らかとする予定である。