酵母の温度適応

細胞のストレス応答とその機構の解明は、現代生命科学の最も重要な究研課題の一つになりつつある。

本稿は、細胞ストレスの中でも最も普遍的な温度ストレスに対する *Saccharomyces* 酵母の適応の機構について、著者らの研究を中心にして解説したものであり、例えば清酒醗の並行複発酵など温度の影響の大きいことが知られている分野に有益な示唆を与えることになるであろう。

上原悌次郎・山村みどり

はじめに

すべての生物は環境の影響を受けながら、それに適応して生きている。環境の変化は、長期、短期を問わず、その生物にとってはストレスとして作用する。ストレスに対する生物の応答、適応の仕方や程度は、生物やストレスの種類によって様々であるが、単細胞の微生物にとってストレスは、多細胞生物の場合に比べてより直接的であり、複雑な防禦機構も備えていないのでその影響は一層大きいと考えられる。しかし、それだけにストレスに対する微生物の適応の仕方にはすべての生物の細胞に普遍的なものが含まれているに違いない。

ストレスは外界からのシグナルと考えることができる。したがって、それに対する応答と適応は、いわゆるシグナルトランスダクション（情報伝達）の結果であるといえる。その機構の研究は、生理学的にも生化学的にも極めて興味のある課題であるが、ようやく始まったばかりである。筆者らは、エタノールのストレスが酵母 *Candida tropicalis* においてイノシトールリン脂質情報伝達の亢進を介して仮性菌糸形成をもたらすことを見出した¹⁾。さらに *Saccharomyces* 酵母でもエタノールをはじめ様々なストレスが仮性菌糸やそれと類似の出芽細胞分離不能に基づく“凝集”の原因となることを示した²⁾。

ここでは、数あるストレスの中でも最も普遍的であり、しかも細胞内部にまで直接影響を及ぼすと考えられる温度を選び、対象となる微生物としては、真核生物のモデルとされる酵母、とりわけ食品、発酵、醸造に最も関係の深い *Saccharomyces* 酵母を用い、その増殖に及ぼす温度の効果と細胞の適応について、主として膜脂質の面から研究した結果を紹介する。また、膜変化の応用として、高温培養に伴う酵母の自己消化能の増大につい

ても述べる。

1. 高温適応

(1) 菌の増殖

Saccharomyces 酵母は代表的な中温酵母であり、通常、増殖可能な上限は 35°C とされている³⁾。しかし、酵母エキスをを含む複合培地では 40°C でも増殖可能であり⁴⁾、とくに高濃度（6%）の酵母エキスをを用いると、低接種量でも 40°C で増殖する^{4,5)}。第1図に、酵母エキス 6% 培地における *S. cerevisiae* ATCC 7753 と耐熱性変異株 JK 313 の 30°C と 40°C での増殖曲線を示す。

第1図 *Saccharomyces* 酵母の高温培養⁴⁾

○: 30°C 培養 (接種量 10^9 cells/ml)
●: 40°C 培養 (接種量 10^6 cells/ml)
培地組成^{4,5)}: グルコース 4%, 酵母エキス 6%, KH_2PO_4 0.5%

Temperature Adaptation in Yeast

Teijiro KAMIHARA and Midori YAMAMURA (Department of Industrial Chemistry, Faculty of Engineering, Kyoto University)

ここでは培養時間を合わせるために、40℃ 培養の接種量を高めているので lag time には差はないが、ATCC 7753 株の 40℃ 培養では対照 (30℃ 培養) に比べて増殖速度が低く、さらに最高増殖度の著しい低下が見られた。増殖の頭打ちは、後で述べるように 40℃ 培養では呼吸能が著しく低下し、エネルギー効率が下がるためと推定される。耐熱性の JK 313 株でも呼吸抑制は起こるので最高増殖度は低下したが、増殖速度は 30℃ 培養に劣らなかった。なお、この株では接種量が低い場合でもこの傾向は変わらなかった。

このように、酵母エキスを与えると条件によっては *S. cerevisiae* は通常株でも 40℃ で増殖できたが、高温に適応した増殖の機構を知るには組成の明らかな合成培地の使用が望ましい。本酵母の培養によく使われる合成培地では 40℃ の増殖はほとんど認められなかったが、酵母エキスを加えると 1~2% の濃度でも菌は増殖した。このことは、酵母エキス中には高温培養を可能にする物質が存在することを示しているが、それを同定するのは容易ではないので次の考えのもとに研究を進めた。40℃ では膜の流動性が高まり、その構造と機能の維持が困難となって増殖不能となるが、培地の浸透圧を適当に上げて膜を保護するか、あるいは、膜に組み込まれて流動性の上昇を阻止するような脂質を加えて培養すれば増殖可能となるはずである。事実、NaCl など無機塩類やマンニトール、ソルビトール (第2図-B) など本酵母では資化されない糖アルコール、あるいはパルミチン酸 (第2図-C) やオレイン酸 (第2図-D) を添加すると 40℃ でも菌は添加物の濃度に依存して増殖した。通常、ソルビトールは最適濃度 1 M、脂肪酸は最高に近い増殖度を与える濃度 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ を用いた。ソルビトール 1 M を含む培地の浸透圧は 1,910 mOsm/kg であり、40℃ で流動性が上昇した形質膜がこの程度の浸透圧で保護され、その結果、酵母は増殖できると考えられる。前記の酵母エキス 6% を含む複合培地の浸透圧は 610 mOsm/kg であり、ソルビトール無添加の合成培地の値 602 mOsm/kg と大差はなかったので、この複合培地での菌の増殖は酵母エキス中の有効因子によると推定された。本酵母の主要な脂肪酸は $\text{C}_{16:0}$ のパルミチン酸、 $\text{C}_{16:1}$ のパルミトレイン酸、 $\text{C}_{18:0}$ のステアリン酸と $\text{C}_{18:1}$ のオレイン酸である。膜の流動性を下げると考えられる飽和脂肪酸のパルミチン酸は、予想通り、40℃ での増殖をもたらし、逆に流動性を上げると思定される不飽和のパルミトレイン酸では菌は増殖しなかった。一方、飽和脂肪酸のステアリン酸は、菌体含量がなぜか少ないことを反映して増殖効果が認められなかった。驚いたことには、不飽和のオレイン酸が、パルミチン酸を上まわり、ソルビトールに匹敵す

第2図 *S. cerevisiae* の高温培養：ソルビトールと脂肪酸の効果

アトキン改変培地

A：無添加 (対照)，B：ソルビトール添加 (終濃度

1 M)，C：パルミチン酸添加 (終濃度 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$)，

D：オレイン酸添加 (終濃度 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$)

○：30℃ 培養，●：40℃ 培養 (いずれも 接種量 5×10^5 cells/ml)

る増殖効果を示した (第2図-D)。本酵母の主要ステロールであるエルゴステロールは無効であった。菌体への取り込みに問題があるのかもしれない。

(2) 脂質組成

オレイン酸の予期に反する増殖効果の機構を探るために、ソルビトールや脂肪酸を加えて 40℃ で培養した菌体の脂質組成を調べた。脂質の中で膜の流動性に最も大きな影響を与えるのは、膜を構成するリン脂質のアシル基、すなわち脂肪酸の部分であり、その不飽和度が流動性の指標となると信じられている。一方、膜に存在する遊離型のステロールはリン脂質の間に入って流動性を調整しているといわれている。そこで、菌体リン脂質画分の脂肪酸組成と遊離型ステロール含量に及ぼす培養温度の影響を調べた。結果は第3図に示すように、30℃ では、パルミチン酸添加 (C) の場合、対照 (A) に比べてパルミチン酸、パルミトレイン酸の増加とオレイン酸の減少が起こり、オレイン酸添加 (D) ではオレイン酸が増加し、パルミトレイン酸が減少したが、それらの増減の程度は小さかった。一方、40℃ 培養では、増殖度の高いソルビトール (B)、オレイン酸 (D) 添加培養で、オレイン酸の増加とパルミトレイン酸の著しい減少が認められた。オレイン酸添加でそれ自体が増えるのは当然であり、また C_{16} 酸と C_{18} 酸の不飽和化は同じ酵素が触媒するといわれているので、オレイン酸の蓄積によってパルミトレイン酸の生成が抑えられるのも不思議ではな

第3図 菌体リン脂質画分の脂肪酸組成

A: 無添加 (対照), B: ソルビトール添加 (終濃度 1M), C: パルミチン酸添加 (終濃度 20 µg/ml), D: オレイン酸添加 (終濃度 20 µg/ml)

□: 30°C 培養, ■: 40°C 培養, いずれも対数増殖後期

脂肪酸: C_{16:0}=パルミチン酸, C_{16:1}=パルミトレイン酸, C_{18:0}=ステアリン酸, C_{18:1}=オレイン酸

い。ソルビトール添加の場合は、おそらくその保護のもとに増殖が始まると、次第に 40°C に適した膜の構造をとるようになると考えられる。パルミトレイン酸が少なく、オレイン酸が多いのは高温に適応した結果であるといえる。この場合、脂肪酸全体の不飽和度は 30°C 培養と大差はないから、膜の流動性を支配しているのは特定の不飽和脂肪酸ということになる。高温による膜の流動性の上昇に対抗する変化であるから、その特定の不飽和脂肪酸は 40°C で含量が著しく減少したパルミトレイン酸と考えるのが妥当である。オレイン酸が増えたのは、何か特別な意義があるのか、あるいは単に、パルミトレイン酸の減少の結果、つまり不飽和化酵素の調節の結果であるのかも知れない。パルミチン酸添加培養では、それ自身も増加したがパルミトレイン酸含量も増え、逆にオレイン酸は減少した。パルミチン酸の増加がその不飽和化を促進してパルミトレイン酸の増加をもたらし、それが不飽和化酵素を阻害してオレイン酸の生成を抑制したと考えられる。パルミチン酸添加培養の菌の増殖がオレイン酸やソルビトール添加培養に比べて劣るのは、パルミチン酸からパルミトレイン酸が多量に生じるためと考えられる。あとで示すように (第6図-A)、貯蔵型脂質 (トリアシルグリセロールやエステル型ステロール) の脂肪酸を含めた全脂肪酸の組成においても、リン脂質脂肪酸と同様の変化が見られた。このことは、高温というシグナルに応じた脂肪酸の合成や分解と、膜への配分が連動して起こることを示している。

次に膜の流動性を調整するといわれている遊離型ステ

第4図 菌体遊離型ステロール含量

A: 無添加 (対照) 培養

B: ソルビトール添加培養

B-1 0.5M ソルビトール

B-2 1M ソルビトール

B-3 1M ソルビトール

C: オレイン酸添加 (20 µg/ml) 培養

ロールの挙動を調べた。第4図 A, B-1, B-2 を比較してわかるように、30°C 培養でソルビトールを加えるとその量に応じて遊離型ステロールの含量は減少し、ソルビトール 1M で対照の 1/2 になった。培地浸透圧の上昇によって細胞が小さくなり、形質膜の流動性が低下し、ステロールの必要性が減じたためと推定される。一方、40°C 培養 (B-3) では膜の流動性が上昇するので、

それに応じて遊離型ステロール含量が増え、1 M ソルビトール存在下では 30°C 培養の 2 倍に達した。オレイン酸添加培養でも 30°C では遊離型ステロール含量 (C-1) は対照 (A) よりやや減少したが、40°C (C-2) では増加して A に匹敵する値を示した。このように、40°C 培養では、ソルビトールとオレイン酸はよく似た脂肪酸組成と遊離型ステロール含量を与えたので、高温増殖と膜脂質の密接な関係がさらに支持された。

(3) 呼吸活性

40°C 培養菌では呼吸能の著しい低下が起こる^{4,6)}。第 1 表に酵母エキスを複合培地で増殖した菌体のチトクロム酸化酵素活性に及ぼす培養温度の影響を示す。酵母エキスの濃度や菌の耐熱性とは無関係に 40°C 培養菌では本酵素の活性が低く、呼吸能はほとんど 0 に等しいことがわかる。菌体の Q_{O_2} を測定した場合も同様の結果が得られている。酵母エキス 6% を含む培地では *S. cerevisiae* は 40°C でも増殖できることを初めて報告した SHERMAN⁶⁾は、この条件では 100% に近い高率で呼吸欠損変異 (RD) が現れると述べているが、筆者らの実験によると、第 2 表に示すように通常株における RD 率は複合培地で見られる自然変異率 (数%) の程度を超えず、ただ、耐熱性変異株 JK 313 では同じ条件で 100% に近い RD 率が観察された。また、データは示さないが通常株でも特定の酵母エキスをを用いると、40°C で増殖した菌はほとんどすべて RD であった。一方、一般に酵母の呼吸活性を低下させるような条件、すなわち通気量の減少やアンモニウム塩の添加は、JK 313 株においても RD 率の低下をもたらした。これらの事実は、高い呼吸活性、ミトコンドリアの発達、それに伴う盛んな増殖が高温下の RD 発現を助長し、また、特定の物質が同様の効果を発揮することを示唆しているが、高温培養では RD 率とは無関係に呼吸活性が低下するので、RD 率に及ぼす呼吸活性の効果の解析は困難である。しかし、増殖期やミトコンドリアの発達の段階などが RD 発現を制御している可能性が大きい。さし当たっては、ミトコンドリア、とくにその内膜の脂質組成の温度による変化と、内膜のタンパク質を介して結合しているといわれているミトコンドリア DNA の安定性、すなわち RD の発現率との関係を探ることが興味ある研究課題である。ミトコンドリアの脂質の分析はまだ行っていないが、高温培養に伴う全菌体膜系の脂質組成の変化に関する前記の研究結果から、ミトコンドリア膜の脂質組成と RD 率との間には密接な関係があると推定される。この関係は、合成培地における 40°C 培養の際の RD 発現に及ぼす添加物の効果によって強く示唆された。すでに述べたように、ソルビトールとオレイン酸は 40°C 培養でよく

第 1 表 *S. cerevisiae* のチトクロム酸化酵素活性に及ぼす高温培養の効果⁴⁾

培 地*	培養温度 (°C)	酵 素 活 性 (nmol/min/mg タンパク質)	
		ATCC 7753	JK 313
A	30	197	257
	40	4.4	1.7
B	30	119	108
	40	0.7	0.7

* A: グルコース 4%, 酵母エキス 1%, ペプトン 1%, KH_2PO_4 1%,
B: グルコース 4%, 酵母エキス 6%, KH_2PO_4 0.5%

第 2 表 酵母の高温 (40°C) 培養による呼吸欠損変異の誘発⁴⁾

培 地*1	呼 吸 欠 損 変 異 (%)	
	ATCC 7753	JK 313
A	<10*2	80~90
B	<10	70~80

*1 第 1 表参照

*2 10~30% になる場合もある。

似た脂質組成を与えるが、それにもかかわらず、RD 率では大きな差があることがわかった。ソルビトール添加培養では、RD の発現はほとんど 100% であったが、オレイン酸添加の場合は合成培地における自然発現率 (1%) をかなり上回ったものの、その値は低く、とくに対数増殖期では 10% に満たなかった。ソルビトール存在下では形質膜は保護されていて、増殖につれて次第に 40°C に適応した脂質組成をとるようになるが、増殖開始前の lag 期はもちろん、増殖が始っても初期には通常の脂質組成が維持されているはずである。形質膜はソルビトールで保護されているからよいが、細胞内膜系、例えばミトコンドリアの膜は高温の影響で流動性が高まり不安定となり、DNA が膜から離れて変異を受けやすくなると考えられる。一方、オレイン酸添加の場合は、ミトコンドリアを含めてすべての膜系で、パルミトレイン酸の減少、オレイン酸の増加、遊離型ステロールの増加という高温に適した脂質組成をとるようになるので膜は安定化され、RD 率が低下するのであろう。

高温培養では RD が発現したり、あるいはそこまで行かなくても、呼吸能がほとんど認められなくなるのは、呼吸、すなわち最も大きなエネルギー代謝を抑制することによって、40°C という、本酵母にとって実に苛酷な条件下で生き延びるための適応現象の一つと考えることができる。なお、40°C 培養菌の超薄切片を電子顕微鏡で観察すると、二重膜構造を持ったミトコンドリアらしいオルガネラの存在が認められた。ただ、呼吸能の欠如

を反映してクリステは全く認められなかった。

(4) エタノール発酵

Saccharomyces 酵母における呼吸と発酵の関係は、パスツール効果やクラブトリー効果と関連して、古くから研究の対象となってきた。一般に呼吸能が低下すると、パスツール効果が解除されて解糖・発酵が促進される。しかし、40℃ 培養菌体では、30℃ 培養に比べて、エタノール生産量や、菌体のエタノール生成量は、通常株でやや低下し、耐熱性株でも上昇は見られなかった(第3表)。やはり 40℃ ほどの高温は解糖・発酵にかかわる酵素にとってもマイナスの要因であり、細胞質の酵素であるだけに、脂質に囲まれた膜酵素よりもその影響を受けやすいと考えられる。ただ、そのような状況にあるにもかかわらず、呼吸酵素に見られるような大きな障害は受けないようである。中でもアルコール脱水素酵素のように 40℃ 培養では活性が数倍に上がるものもある⁴⁾。筆者らの経験によると、呼吸活性が低下するような条件下で生育した酵母では本酵素の活性は対照より高いのが普通である。高温の場合も例外ではなく、非常に興味深い現象といえる。

(5) 自己消化⁷⁾

これまでに述べてきたように、酵母は培養開始時に適当な条件が与えられると、40℃ における膜の流動性の上昇を防ぐように膜脂質の組成を変えて増殖を可能としている。しかし、耐熱性の変異株でなければ、呼吸活性の減少に伴う最高増殖度の低下ばかりでなく、lag 期の延長や増殖速度の減少が起こる。このことは、40℃ という高温では膜の適応が充分ではないことを示している。ところが、40℃ では培養中も、集菌後も、細胞内容物の漏出は起こらなかった。一方、その菌体を水に懸濁して 45℃ でインキュベートすると、30℃ 培養菌に比べて著しい自己消化が認められた。市販されている酵母エキ스는酵母菌体の自己消化液から製造されているので、実際的な応用を考慮して、全糖 10% 相当の廃糖蜜培地で *S. cerevisiae* ATCC 7753 を培養した。対照として 30℃ 培養菌を用い、36℃ 及び 38℃ 培養菌体についても調べた。各温度における最高増殖度は第4表に示す通りであった。自己消化は細胞内容物の漏出の程度で表した。すなわち、45℃ でインキュベートした菌体懸濁液の上清を LOWRY のタンパク質定量法⁸⁾にかけ、660 nm における OD を菌体 1 mg 当りに換算して 100 倍した数値を自己消化指数とした。第5図-A に示すように、対照の 30℃ 培養菌ではインキュベーション 30 時間後にも自己消化はほとんど起こらなかったが、培養温度の上昇に伴い、自己消化能の増大が認められた。通常、酵母エキス製造には自己消化補助剤として酢酸エチルやトルエ

第3表 エタノール生成に及ぼす高温培養^{*1)}の効果⁴⁾

菌 株	培養温度 (°C)	エタノール生成量 ^{*2)} (g/l)	エタノール生成能 ^{*3)} ($\mu\text{mol}/\text{時間}/\text{mg}$ 菌体)
ATCC 7753	30	14.4	10.6
	40	11.0	8.3
JK 313	30	14.1	9.7
	40	14.4	9.9

*1 培地B(第1表)を使用

*2 定常期初期の培地中濃度

*3 対数期後期の菌体の懸濁液にグルコースを添加、30℃ でインキュベート、エタノール生成量を経時的に測定

第4表 酵母の増殖と自己消化能に及ぼす高温の効果⁷⁾

培養温度 (°C)	増 殖 ^{*1)} (mg/ml)	自己消化指数 ^{*2)}	
		乾燥菌体重量 1 mg 当たり	培養 1 ml 当り
30	11.7	6.0	70.2
36	9.7	38.1	369.6
38	7.4	55.6	411.4
40	2.7	63.3	170.9

*1 表の各温度で定常増殖期に達した菌の増殖度

*2 インキュベーション: 45℃, 8時間

自己消化指数の算出法は本文参照

第5図 酵母菌体の自己消化⁷⁾

A: 培養温度の影響

○: 30℃ 培養, □: 36℃ 培養

□: 38℃ 培養, △: 40℃ 培養

B: 有機溶媒の効果(酢酸エチル)

○: 無添加(30℃ 培養), ●: 酢酸エチル添加

(30℃ 培養), △: 無添加(40℃ 培養), ▲: 酢

酸エチル添加(40℃ 培養)

ンなどが用いられている。30℃ 培養菌に酢酸エチルを添加すると第5図-Bのように自己消化が見られたが、酢酸エチル無添加の40℃ 培養菌には及ばなかった。一方、40℃ 培養菌でも酢酸エチルを添加すると自己消化が有意に促進された。このように、酵母の自己消化能は培養温度の上昇とともに増大したが、第4表に示すように、増殖度は逆に温度上昇につれて減少し、とくに40℃では著しく低下した。したがって、菌体重量当たりの自己消化指数は温度上昇とともに増加するが、培地の単位容量当たりの自己消化指数は、40℃ではかなり低い値を示した。これらの結果から、酵母エキス生産には、培養温度は36~38℃が最も適していることがわかった。

本研究により、高温培養酵母では有害な有機溶媒を補助剤として用いなくても自己消化が能率よく進むことが明らかになり、酵母エキス製造への応用の可能性が示された。また、高温培養では菌の培養に伴う発熱による温度上昇があまり問題とならないので、冷却水の使用が大幅に軽減される。したがって、工業的規模では高温培養のメリットは大きいと考えられる。

2. 低温適応

1-(2)で述べたように、*S. cerevisiae* を40℃という高温で培養するには、ソルビトールなどを加えて培地の浸透圧を上げ膜を保護するか、あるいは、オレイン酸またはパルミチン酸を加える必要がある。脂肪酸添加の場合は比較的初期から、ソルビトールでは次第に高温に適した低パルミトレイン酸、高オレイン酸、高遊離型ステロールの脂質組成に変化しながら菌の増殖が進む。このような温度適応が、対照(30℃)よりも逆に10℃低い20℃でも同じ原理に従って起こる可能性がある。もしもその通りなら、20℃では膜の流動性を上げるためにはパルミトレイン酸が増え、一方、オレイン酸と遊離型ステロールは減少するはずである。

脂質の分析に先立って、30℃培養と同じ条件で20℃における菌の増殖を調べたところ、対照に比べてlag期がやや長くなり、増殖速度も低下したが最高増殖度は変わらなかった。第6図に、培養温度(20, 30, 40℃)と菌体脂肪酸組成の関係を示す。比較のため、ソルビトール添加40℃培養菌体の値も並記する。全脂質の脂肪酸(A)では20℃培養におけるC_{16:1}酸(パルミトレイン酸)の増加と、C_{18:1}酸(オレイン酸)の減少がはっきりと認められ、培養温度とパルミトレイン酸の含量の負の関係、オレイン酸含量との正の関係が明らかになった。一方、膜の脂肪酸(B)、すなわちリン脂質の脂肪酸では、40℃培養の場合と異なり、20℃培養菌体では対照(30℃培養菌)とほとんど差が見られなかった。このこ

第6図 脂肪酸組成に及ぼす培養温度の影響

A: 全脂質, B: リン脂質画分

脂肪酸: C_{≤14}=ミリスチン酸以下の短鎖脂肪酸, C_{16:0}=パルミチン酸, C_{16:1}=パルミトレイン酸, C_{18:0}=ステアリン酸, C_{18:1}=オレイン酸

とは、菌体脂肪酸の総量は温度のシグナルに従って調節されるが、膜への配分は、その培養温度における必要性に応じて行われ、おそらく膜の流動性の変化の程度に依存すると考えられる。すなわち、同じ10℃の温度差であっても、30℃と20℃における膜の流動性の差は、30℃と40℃の場合のそれよりもずっと小さいとすれば第6図の結果は理解できる。温度と膜の流動性との関係を実測することが今後の重要課題である。

次に、ステロール含量の温度依存性について同様の研究を行った。結果は第7図に示す通り、全ステロール(A)、すなわち、膜局在性の遊離型ステロールと、細胞質の油滴の成分の一つであるエステル型ステロールの和の値は20℃培養菌体では30℃培養菌体よりも低かった。これは、20℃における膜の流動性の低下に対する適応の結果といえる。40℃培養でも全ステロール含量の低下が見られたが、30℃でもソルビトールを加えて菌を培養すると全ステロール含量が減少したので、ソルビトールによる培地の浸透圧の上昇が原因で菌体の体積が減少し、膜の密度が増大して流動性が低下し、それに適応してステロール含量が減少したものと思われる。ソルビトール存在下で比較すると30℃と40℃では全ステロールの含量に大差はなかった。したがって、膜の流動性を調整するといわれるステロールの含量は、低温の方が影響を受けやすいように見える。しかし、実際に膜に

第7図 *S. cerevisiae* のステロール含量：温度依存性

A：全ステロール
 A-1, A-2 (無添加培養)
 A-3, A-4 (1M ソルビトール添加培養)
 B：遊離型ステロール
 B-1, B-2 (無添加培養)
 B-3, B-4 (1M ソルビトール添加培養)

局在する遊離型ステロールの含量は、20°C 培養の方が 30°C 培養よりもむしろ高い値を示した (第6図-B)。データにばらつきが大きく明確ではないが、少なくとも対照よりも低いとはいえない。一方、40°C 培養では、第4図の場合と同様、ソルビトールの効果を考慮に入れると、30°C 培養よりも明らかに遊離型ステロールは増加しており、高温に伴う膜の流動性の上昇を抑制していることがわかる。以上、20°C 培養では 40°C の場合とは異なり、30°C に比べて膜では脂肪酸と同様ステロールもあり変動しないことがわかった。このことは、前記のように、30°C と 20°C では温度差による膜の流動性の変化が小さいであろうという考え方を支持している。

おわりに

温度ストレスとそれに対する適応の機構の研究は、現在様々な観点から盛んに行われている。その中心は何といても熱ショックタンパク質 (heat shock proteins: HSP) であり、酵母の場合にはそのほかにトレハロースの役割が強調されている。ここで紹介した筆者らの研究は、もう一つの機構、すなわち膜脂質の組成の変化による適応に関するものであり、上記のように、それだけでも温度適応を一応説明することができる。もちろん、筆

者らの実験系の中でも HSP やトレハロースは出現しているはずであるが、これら三つの温度適応が互いに全く無関係に働いているとは思えない。それらの間には、何らかの高度な調節・制御の機構が存在し、極めて有効に温度ストレスへの適応がなされているに違いない。

また、本論文の冒頭にも述べたように、筆者らはストレスと細胞の形態との関係に興味を持っており、とくにエタノールをはじめ様々なストレスが膜を介する情報伝達を促進し、それが引き金となって形態変化が起こることを明らかにしつつある。高温もその一つであるが、その研究はまだ初歩的な段階にあるのでここでは割愛した。

今後は、上記のような酵母の温度適応機構や、温度による形態形成の

制御など基礎的な研究を進めるとともに、高温培養による自己消化能の促進のような応用的な側面の開拓にも力を注ぎたいと考えている。

(京都大学工学部工業化学科)

文 献

- 1) 上原梯次郎：細胞，22，44 (1990)
- 2) T. KAMIHARA：Abstracts of 4th Symposium on Topics in Micology (Fungal Dimorphism)，p.237 (1992) [投稿準備中]
- 3) H. ARTHUR and K. WATSON：J. Bacteriol., 128, 56 (1976)
- 4) M. YAMAMURA, Y. NAGAMI, V. VONGSUVANLERT, J. KUMNUANTA and T. KAMIHARA：Can. J. Microbiol., 34, 1014 (1988)
- 5) F. SHERMAN：J. Cell. Comp. Physiol., 54, 29 (1959)
- 6) F. SHERMAN：J. Cell. Comp. Physiol., 54, 37 (1959)
- 7) M. YAMAMURA, K. TAKEO and T. KAMIHARA：Agric. Biol. Chem., 55, 2861 (1991)
- 8) O. H. LOWRY, N. J. ROSEBROUGH, A. L. FARR and R. J. RANDALL：J. Biol. Chem., 193, 265 (1951)