Candida albicans の二形現象と物質代謝

第2報 Candida albicans における酵母形および菌糸形細胞の糖質酸化について

塚 原 徹

新潟大学医学部細菌学教室 (主任 伊藤泰一教授)

〔受付: 3 月 26 日・1959 年〕

前報において、余は、 O_2 分圧が *Candida* 属菌の菌糸形成に最も主導的な要因となつてゐることを報告したが、之の事実は、*Candida* 属菌の示す二形現象が、その呼吸作用と密接な関係のあることを示唆するものと思はれた。そこで、*C. albicans* につき、好適な基質と見なされる Glucose を始め数種糖質を供試基質として、酵母形ならびに菌糸形両菌相の細胞による之等の糖質呼吸に関して比較検討し、次の結果を得たので報告する。

実験材料ならびに方法

- 1) 供試菌株: *Candida albicans*, 406 MGL: 3 rd AAL: Duke University 株である。
- 2) 供試培地: 1% 葡萄糖加 1% ペプトン寒天培地 (pH 5.8) である。
- 3) 酵素液としての酵母形および菌糸形細胞: 上記供試培地 20 ml を溶解し、ペトリ皿に流し込んで平板となしたる後、同斜面培地に 20 時間培養せる yeast phase の細胞の 1 白金耳を夫々 2 枚の平板培地表面に塗抹し、1 枚はデシケーターに納め、真空ポンプ排気して気圧を 15~40 mmHg に保ちつつ 37°C に嫌気培養し、菌糸形成の略々完成した 72 時間後に培地表面に生成した集落を集め、これを 0.9% 食塩水で 2 回洗滌し、再び同液に浮游させて菌糸形細胞酵素液とし、他の 1 枚は好氣的に 37°C に 72 時間培養した後、採集した菌体を同じく 0.9% 食塩水で 2 回洗滌したものを酵母形細胞酵素液とし、正確な実験菌量はすべて乾燥菌量 (mg) で表わした。因に、菌糸形細胞酵素液は、長糸状の細胞の他に、分芽によつて生じた酵母形の細胞を混じてゐる。

4) 其質酸化の測定法: 上記の酵素液を基質に作用させ、その際の O_2 消費量の増加を Warburg 検圧法で測定した。すなわち、容器主室に酵素液と M/15 磷酸緩衝

液 (pH 5.91), 側室に 0.5×10^{-5} Mol の基質を (反応時間 0 分に主室に添加), 中央小室に 20% 苛性加里溶液を入れ、実験総液量を 2.3 ml, 実験温度を 37°C とし、容器は空気で充たした。

5) 供試基質: Glucose, Fructose, Mannose および Galactose 等の六炭糖, 更に, Maltose, Sucrose 等の二糖類を供した。

実験成績

1. 酵母形ならびに菌糸形細胞の糖質酸化能

C. albicans による糖質呼吸に関しては、既に、報告したが¹⁾, まず、好適な基質と見なされる Glucose (0.5×10^{-5} Mol) を供試して、之に酵母形ならびに菌糸形細胞液を各々作用させて、 O_2 消費の推移を逐時測定したるに、第 1 図に示す如く、菌糸形細胞においては、Glucose 添加の直後から O_2 吸収量が増大し、以後反応時間 180 分に亘り略々直線的な酸化型式を示して、Glucose 酸化能の強いことが認められた。反応、酵母形細胞では、基質添加による O_2 消費量の増加は甚だ僅少で、反応時間 180 分後の基質酸化に消費した O_2 総量は 109.9 μ l で、菌糸形細胞の同じく 832.5 μ l に比すれば、約 $\frac{1}{8}$ にすぎなく、Glucose 酸化能の貧弱なことが認められた。いま、実験菌量 1 mg の 1 時間における基質呼吸量、すなわち、

$$\frac{(\text{酸素吸収量 } \mu\text{l})}{(\text{反応時間 1 時間}) \times (\text{実験菌量 mg})} = Q_{O_2}$$

TSUKAHARA Tohru: Dimorphism phenomenon and metabolism in *Candida albicans*. II. Aerobic carbohydrate dissimilation by yeast and mycelial cells in *Candida albicans*. Department of Bacteriology. Niigata University School of Medicine. — Jap. J. of Bact. 14(11), 909-912, 1959,

第1図 Glucose 酸化

A.....yeast form, B.....mycelial form
実験菌量: A.....3.50 mg, B.....3.55 mg

として示せば、反応時間 180 分の平均 Q_{O_2} 値は、酵母形で 9.1, 菌糸形では 78.2 で (第 7 図参照), 之の Q_{O_2} 値からも Glucose 酸化能に関しては、両菌相の間に著差のあることが認められた。

次に、 0.5×10^{-5} Mol の Fructose を供試し、酵母形ならびに菌糸形細胞の該基質酸化能について検したるに、第 2 図に見るように、菌糸形では、この場合も基質添加に伴う O_2 消費量の増加が著しく、直線的な酸化型式を示し、基質酸化に要した O_2 総量は 1,081.8 μ l に達したが、酵母形では、基質添加による O_2 消費の増加も

第2図 Fructose 酸化

実験菌量: A.....4.03 mg, B.....4.16 mg

僅少で、180分後の基質呼吸総量は 96.8 μ l にすぎず、したがって、 Q_{O_2} 値も 8.0 と小さく、菌糸形の 87.3 に比べ、その約 $1/11$ で、Fructose 酸化能に関しても、菌糸形細胞に強く、酵母形では弱いと云う関係が認められた。

また、本菌種によつて酸化される Galactose および Mannose 等の六炭糖を供試したる場合にも、第 3, 4 図に示すように、前記の Glucose および Fructose におけ

ると全く同様の結果を得た。すなわち、菌糸形細胞の Galactose ならびに Mannose 酸化における反応時間 180 分の平均 Q_{O_2} は、夫々 78.2, 78.0 を示したるに、酵母形では、夫々 11.2, 6.8 で (第 7 図参照), 此等の基質酸化についても、酵母形細胞において酵素活性の極めて減弱していることが認められた。要するに、Glucose, Fructose, Galactose および Mannose 等の如き六炭糖の好気

第3図 Galactose 酸化

実験菌量: A.....3.44 mg, B.....3.67 mg

的分解能に関しては、菌糸形細胞において顕著な酵素活性を保持するが、反之、酵母形細胞では該活性の著しい落下を示すものと解された。更に、絨上の六炭糖における如き関係が、二糖類を供試せるときにも成立するやにつき、本菌種の酸化利用する Maltose を供試基質として検したるに、第 5 図に見る如く、菌糸形細胞は Maltose をば旺盛に酸化分解するが他方、酵母形の該酸化

第4図 Mannose 酸化

実験菌量: A.....4.18 mg, B.....3.48 mg

能は弱く、 Q_{O_2} も菌糸形が 78.9, 酵母形は 23.8 で (第 7 図参照), Maltose 酸化作用に関しても、菌糸形に強く、酵母形に弱いことが認められた。

次に、本菌種が Sucrose をば略々 30 分の潜伏期を経て酸化を始め、いわゆる適応的酸化の型式をとることは、

第5図 Maltose 酸化

実験菌量: A 2.94 mg, B 2.98 mg

さきに、報告したが¹⁾、Sucrose を供試基質として、之に対する酵母形および菌糸形両菌相の適応的酸化について検討したに、第6図に示す如く、この場合も菌糸形は30分の潜伏期の後に急速に O_2 消費量が増大し、適応的酸化能の強いことが窺われ、反応時間 180分のうち最後の60分の Q_{O_2} は50.8に及んだが、酵母形細胞の Sucrose 酸化能は甚だ弱くて、略々 120分の潜伏期の後に僅少の消費量の増加をみたに留り、 O_2 も 7.1にすぎず、結局、酵母形細胞は、Sucrose に対する適応的酸化能に関しても、該活性が甚だしく低下しているものと理解せられた。

2. Glucose 酸化能と培養時間との関係

酵素活性が培養時間(age)と一定の関係にあることは、既に、諸種細菌について知られているところである。そ

第6図 Sucrose 酸化

実験菌量: A 3.94 mg, B 4.10 mg

こで、本菌種の好気ならびに嫌気培養の age による Glucose 酸化能の変動を検すべく、24~144 時間培養菌体を用いて O_2 消費量を測定し、培養時間と基質呼吸の速度 Q_{O_2} との関係を観たに、第8図に示すように、 Q_{O_2} は培養時間との間に一定の関係を有すべく、好気培養も

嫌気培養も共に 24 時間培養菌が最大で、夫々 135.4, 131.9 を示したが、培養48時間以後の Glucose 酸化能に関しては、両者の間に著差を認めることができた。すなわち、好気培養では、48時間培養の Q_{O_2} は 81.0, 72時間の夫れは 9.1の如く、急速なる酸化能の低下を招いたが、嫌気培養では、酵素活性の減弱は緩徐で、48時間培

第7図 糖質酸化における Q_{O_2}

備考: Sucrose は反応時間 180 分のうち、最後の 60 分の値を示し、他の糖質は反応時間 180 分の各 60 分毎の平均値を示す。

養の Q_{O_2} は 108.6, 菌糸形成の旺盛となる 72 時間培養では 78.2, 96 時間培養では 61.8, 120 時間では 31.8 の如く、徐々に Glucose 酸化能が低下した。要之、好気および嫌気培養の両者とも夫々の 24 時間培養菌体が、糖質呼吸に対し最大の活性を保持していることが共通的に認められるが、好気培養では、48~72 時間培養に至れば酵素活性の落下を来すのに対し、嫌気培養では、48 時間培養以後と雖も糖質酸化能は尚活潑で、また、此の時期より

第8図 Glucose 酸化 Q_{O_2} と培養時間との関係

菌糸が旺盛に形成せられてくる。

総括と考察

1%葡萄糖加1%ペプトン寒天平板培地を用い、減圧

法によつて37°Cに72時間嫌気培養することによつて菌糸形細胞を得、之と好氣的に培養せる同じ age の酵母形細胞との糖質酸化能に関して比較検索を試み、その結果、酵母形では、Glucose, Fructose, Galactose, Mannose および Maltose 等の糖質に対し著しく酸化分解能の低下を来しているが、菌糸形細胞の絨毛糖質に対する酸化能は何れも強力で、よく保持せられ、また、Sucrose に対する適応的酸化能も菌糸形に強く、酵母形に弱いことが認められた。結局、糖質呼吸に関する限り、菌糸形の酵素活性は大であるが、反之、酵母形の夫れは極めて低いものと解し得る。また、斯かる両菌相の糖質呼吸上の差異は、好気培養では、48~72 時間にかけて酵素活性の急激なる落下を来すのに、嫌気培養では、48 時間以後も該活性が、徐々に低下することに基くものと考えられる。

一般に、好氣的に生存する細胞は、すべて Warburg²⁾・Keilin 系³⁾ の酵素系によつて酸化還元電子伝達が行われている。C. albicans も之の例外ではなく、従来の研究報告ならびに余の検索結果から、呼吸酵素系に関する限り、本菌種も高等動物植物体細胞と略々同一の酵素系を有するものと思推されるが、呼吸作用と二形現象との関係については、更に、基質を増加して検索を重ね、なお、呼吸酵素系の適応的生成なる問題をも検討した上で、考察を加えるのが妥当であらう。また、菌糸形成には、嫌氣的に培養することが必須要因であるが、嫌氣的環境に置かれた場合、当然菌体成分の生合成に必要なエネルギーは、醗酵によつて得るものと思されるので、醗酵作

用にも検討を加える必要があり、更に、同じ芽生菌類でも、仮性菌糸を形成しない菌種があるので、之等の芽生菌との力源代謝を中心とした比較生理学的検索を実施した上で考察を進め度い。

結 論

C. albicans による Glucose, Fructose, Galactose, Mannose および Maltose 等の糖質酸化能、ならびに Sucrose に対する適応的酸化能は、菌糸形細胞に強く、酵母形では、該活性が著しく低下している。之の両菌相の糖質呼吸における活性の差異は、好気培養では、48~72 時間に酵素活性の急速な落下を招くのに、嫌気培養では、菌糸の形成される48時間以後でも、該活性が緩徐に低下することに基因する。

本論文の要旨は、昭和 33 年 10 月 26 日第 12 回日本細菌学会北陸地方支部集会において発表した。

参 考 文 献

- 1) 塚原 叡: Candida albicans の呼吸に及ぼす Trichomycin の影響. I. Candida albicans の糖質呼吸と TCA cycle, J. Antibiotics, Ser. B. 10(5): 204-210, 1957,
- 2) Warburg, O.: Über die Wirkung des Kohlenoxyds auf den Stoffwechsel der Hefe, Biochem. Zeits., 177: 471~486, 1926.
- 3) Keilin, D.: On cytochrome, a respiratory pigment, common to animals, yeast, and higher plants, Proc. Roy. Soc. London, Ser. B. 98: 312-339, 1925.