Candida albicans の二形現象と物質代謝

第3報 Candida albicans における酵母形および菌糸形細胞の アミノ酸呼吸について

塚 原 叡

新潟大学医学部細菌学教室 (主任 伊藤泰一教授)

〔受付: 4月18日・1959年〕

前報では, *C. albicans* につき, 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時間嫌気培養して菌糸形細胞を得, 之と好氣的に培養せる同じ age の酵母形細胞との糖質呼吸能に関して比較検討し酵母形では, 酸化分解能の著しい低下を来しているが, 菌糸形細胞では, 供試糖質に対する酸化能は何れも強く, 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, 酵母形においては甚だ弱く, 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, 酵母形の夫れは甚だ低下していることを認めた。さきに, 余は (1958)¹⁾, *C. albicans* のアミノ酸代謝に関して報告したが, 本菌種は, 1-Glutamic acid を始め数種 L-アミノ酸および2, 3の D-アミノ酸等を酸化利用するので, L-および D-アミノ酸を供試して, 酵母形ならびに菌糸形細胞による之等のアミノ酸呼吸に関して検索を加え, 併せて二形現象と呼吸作用との関係について些か考察を試みたので報告する。

実験材料ならびに方法

1) 供試菌株, 2) 供試培地, 3) 酵素液としての酵母形ならびに菌糸形細胞, 4) 基質酸化の測定法等は, 第2報と同一である。

5) 供試基質: L-アミノ酸として, 1-Glutamic acid, 1-Aspartic acid, 1-Proline, dl-Alanine および 1-Arginine 等を, また, D-アミノ酸として, d-Alanine および d-Serine 等を供し, 基質濃度はすべて 0.5×10^{-5} Mol とした。

実験成績

1. 酵母形および菌糸形細胞の L-アミノ酸々化 *C. albicans* の主菌浮遊液が, 1-Glutamic acid をば添加の

直後から酸化し, Q_{O_2} も最初から大きく, 直線的な酸化型式を示すことは, 既に, 報告したが¹⁾, まず, 本菌種に好適な基質と見做される 1-Glutamic acid を供試し, 酵母形および菌糸形細胞について, 1-Glutamic acid 酸化能を比較検討したるに, 第1図に示す如く, 酵母形細胞では, 前報の糖質呼吸におけると同様に, 1-Glutamic acid に対しても酵素活性の落下を来したが, 菌糸形では, 基

第1図 1-Glutamic acid 酸化

A·····yeast form, B·····mycelial form.

実験菌量: A·····3.58 mg, B·····3.17 mg

質添加の直後から O_2 吸収量が増大し, 以後, 反応時間180分の間略々直線的な酸化型式を示して, 1-Glutamic acid に対しても旺盛なる酸化能を有することが認められた。この両者の関係を, 実験菌量1mgの1時間にお

TSUKAHARA Tohru: Dimorphism phenomenon and metabolism in *Candida albicans*. III. Respiratory metabolism of amino acids by yeast and mycelial cells in *Candida albicans*. Department of Bacteriology, Niigata University, School of Medicine.—Jap. J. of Bact. 14 (12), 1009–1012, 1959.

ける基質呼吸量, すなわち, $\frac{(\text{酸素吸収量})}{(\text{反応時間 1 時間}) \times (\text{実験菌量 mg})} = Q_{O_2}$ を以て示せば, 第 6 図に見る如く, 菌糸形細胞の Q_{O_2} 値は 53.3, 酵母形の夫れは僅かに 0.7 で, 両菌相の間の 1-Glutamic acid 酸化能における著差も, 之の点からも, 首肯せられた。

また, 1-Glutamic acid と共に 酸性アミノニカルボン酸である 1-Aspartic acid を供試基質として検したるに, 第 2 図に示すように, 此の場合も, 酵母形細胞では, 酵

第 2 図 1-Aspartic acid 酸化

実験菌量: A……3.81 mg, B……3.78 mg

素活性が失われているが, 菌糸形では, 最初から強い酸化能を発揮して直線的な酸化型式を示し, Q_{O_2} も 71.4 を算えたが, 反之, 酵母形は僅かに 0.4 で (第 6 図参照), 1-Aspartic acid 酸化に関しても前者におけると全く同様の関係が認められた。

次に, 中性乃至は弱酸性アミノ酸として, 1-Proline および dl-Alanine 等を供試基質として検したるに, 第 3, 4 図に見る如く, 之等のアミノ酸呼吸についても, 菌糸形細胞において活性が強く, 酵母形では甚だ弱いことが認められ, Q_{O_2} も, 菌糸形は, 1-Proline に対し 45.4, dl-Alanine に 34.0 を示したが, 酵母形は夫々 4.4, 0.3 で (第 6 図参照), 上記の 1-Glutamic および 1-Aspartic acid におけると同じ結果を得た。

更に, 本菌は, 塩基性 L-アミノ酸のうち, 1-Arginine をば逐次的に酸化するので, 1-Arginine の好氣的分解能に関し, 酵母形ならびに菌糸形の両者について比較検したるに, 第 5 図に示すように, 菌糸形は 1-Arginine を

第 3 図 1-Proline 酸化

実験菌量: A……3.07 mg, B……4.19 μg

第 4 図 dl-Alanine 酸化

実験菌量: A……3.42 mg, B……4.24 mg

第 5 図 1-Arginine 酸化

実験菌量: A……3.38 mg, B……3.50 mg

第 6 図 L-アミノ酸々化における Q_{O_2}

備考：反応時間 180 分の各 60 分毎の平均値を示す。

は逐次的に酸化するが、酵母形の該酸化能は弱く、 Q_{O_2} も 5.7 で、菌糸形の 51.3 にはるかに及ばないことが認められた。

要之、1-Glutamic acid, 1-Aspartic acid, 1-Proline, dl-Alanine および 1-Arginine 等の L-アミノ酸類に対する好氣的分解能については、菌糸形において強い酵素活性を示すも、反之、酵母形細胞では、該活性が著しく低下しているものと理解された。

2. 酵母形ならびに菌糸形細胞の D-アミノ酸々化 *C. albicans* が、L-アミノ酸類を旺盛に酸化分解するに比し、D-アミノ酸に対しては酸化能が弱く、僅かに d-Alanine および d-Serine 等に活性を示すのみで、しかも該酸化は徐々に進行し、したがって Q_{O_2} も小さいことは、既に、報告したとおりである¹⁾。そこで、供試菌の酵母形ならびに菌糸形細胞による D-アミノ酸々化能を比較検討すべく、d-Alanine と d-Serine とを供試基質として検したるに、第 7, 8 図に見るように、菌糸形は

第 7 図 d-Alanine 酸化

実験菌量：A……3.74 mg, B……4.16 mg

第 8 図 d-Serine 酸化

実験菌量：A……2.72 mg, B……4.86 mg

之等の基質を徐々に酸化するが、酵母形細胞では、毫も酸化の行われないことが認められた。之の関係を Q_{O_2} を以て表せば、第 9 図に示す如く、菌糸形では、d-Alanine および d-Serine に対し夫々 13.1, 4.8 の Q_{O_2} を示すが、酵母形は何れも 0 であつた。

第 9 図 D-アミノ酸々化における Q_{O_2}

結局、D-アミノ酸々化においても、菌糸形は d-Alanine および d-Serine 等に活性を示すが、酵母形細胞では、該活性が失われているものと解し得た。

総括と考察

C. albicans の酵母形ならびに菌糸形細胞につき、1-Glutamic acid, 1-Aspartic acid, 1-Proline, dl-Alanine, 1-Arginine 等の L-アミノ酸, d-Alanine, d-Serine 等の D-アミノ酸を供試して、之等のアミノ酸類に対する好氣的分解能に関し両菌相を比較検討したるに、菌糸形では、L-および D-アミノ酸を酸化するが、酵母形では、供試アミノ酸に対する酸化能は甚だ減弱しているか乃至は喪失していることが認められ、結局、アミノ酸呼吸に関しても、菌糸形の酵素活性は大きい、反之、酵母形の夫れは極めて貧弱であると思せられた。前報では、

糖質呼吸に関し、絨上と全く同様の関係にあることを報告したが、これ迄の検索結果から、呼吸素系に関する限り、酵母形は活性が落下しているが、嫌氣的培養要約下によつて得られる菌糸形細胞では、可成りよく之を保持していることが認められる。斯かる呼吸作用上の両菌相の活性の著しい差異は、供試菌を好氣的に培養した場合には、48時間以後に急速なる酵素活性の落下を来すの点に、嫌氣培養では、之の活性の低下が徐々に進行する点に基因するものと解せられるが、本菌種は、その成長發育に好氣的環境を至適条件とするもので、好氣培養では、速に対数増殖期から定常期に移行し、短時日の間に最大に到達するが、しかし、呼吸酵素系も急速にその活性を失うべく、反之、嫌氣的要約下では、發育が好氣培養における程旺盛でなく、酵素活性の低下も緩徐の如くに思惟せられる。今仮りに、本菌が、生理機能上好氣的な要約を必要とするものと見做せば、嫌氣的環境におかれた場合、酵母形を呈するよりも表面積の大きな菌糸形になつた方が、 O_2 培地成分の利用等に合目的であると思考せられる。此の推論に関しては、嫌氣培養における本菌の發育程度を好氣培養の夫れと比較検討し、また、その際菌体成分の生合成に必要なエネルギーは、当然、醗酵によつて得られるものと思考されるので、醗酵作用に関しても、次の課題として両菌相について検討し、更に、菌糸を形成しない芽生菌との力源代謝を中心とした比較生理学的検索を施行した上で考察を加えたい。因に、Andreasen および Stier 等 (1953)³⁾は、*Saccharomyces cerevisiae* につき、嫌氣的条件下における本菌の發育は、好氣培養におけるよりも貧弱で、基礎培地に Ergosterol 或はその他の Sterol 類、乃至は Steroid 等を加えると、嫌氣培養でも發育が良好となることを報告している。

なお、呼吸酵素系の適応的生成なる問題が、Meyerhof (1925)⁴⁾ 以来とり挙げられ、主として酵母について考究せられているが、之の点に関し、Slonimski (1953)⁵⁾は、嫌氣培養された酵母は呼吸酵素系を有せず、したがつて、呼吸も行わないが、 O_2 の存在によつて該酵素系が細胞内に適応的に生成せられ、しかも、此の現象は静止菌についても観察されると述べているが、余の嫌氣培養

によつて得た *C. albicans* の菌糸形細胞は、糖質およびアミノ酸等に対し、添加の始めより直線的な酸化型式を示して、適応的に呼吸酵素が生成せられたとは見做し得なかつた。もつとも、本検索では、完全なる嫌氣条件下でないことに因るものと思惟されるが、之の点については、今後の検索に俟ちたい。

結 論

C. albicans の 1-Glutamic acid, 1-Aspartic acid, 1-Proline, dl-Alanine および 1-Arginine 等の L-アミノ酸、ならびに d-Alanine, d-Serine 等の D-アミノ酸に対する酸化能は、菌糸形細胞が強く、酵母形では、該酸化能が著しく低下している。結局、呼吸酵素系に関する限り、酵母形では、活性が急速に低下するが、菌糸形では、よく之を保持していることが認められ、呼吸酵素系上の両菌相の活性の相異から、本菌種の二形現象と呼吸作用との関係につき些か推察を試みた。

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。

文 献

- 1) 塚原 徹：Candida albicans の呼吸に及ぼす Trichomycin の影響。III Candida albicans のアミノ酸々化, J. Antibiotics, Ser. B. 11 (1) : 16-25, 1958.
- 2) 塚原 徹：Candida albicans の二形現象と物質代謝。第 2 報 C. 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。日本細菌誌, 14 (11) : 909-912, 1959.
- 3) Andreasen, A. A. & Stier, T. J. B. : Anaerobic nutrition of Saccharomyces cerevisiae. I Ergosterol requirement for growth in a defined medium. J. Cellular & Comp. Physiol. 41 (1) : 23-36, 1953.
- 4) Meyerhof, O. : Über den Einfluss des Sauerstoffs auf die alkoholische Gärung der Hefe. Biochem. Z., 162 : 43-86, 1925.
- 5) Slonimski, P. P. : Formation des enzymes respiratoires chez la levure. Masson, Paris, 1953.