Rhodotorula 属酵母によるグルコース代謝 (その1)

中川 昌平, 辰巳 忠次

(大阪府立大学農学部農芸化学科)

昭和 42 年 9 月 20 日 受 理

Pathways of Glucose Catabolism by *Rhodotorula* sp. (Part I)

By Masahira NAKAGAWA and Chuji TATSUMI

Department of Agricultural Chemistry, College of Agriculture,
University of Osaka Prefecture, Sakai, Osaka, Japan

Rhodotorula sp. Rh-110, the yeast synthesizing high fat, possesses the enzymes of both the glycolytic and hexose monophosphate shunt pathways, although the activity of glycolytic enzymes (F-6-P kinase, aldolase) was less than that of the enzymes of hexose monophosphate shunt pathways (G-6-P DH, 6-P-G DH).

The thiamine pyrophosphate as co-enzyme of transketolase contained in this yeast was tightly bound with apo-enzyme, and removed only by 55% saturation of ammonium sulfate at pH 3.0. This enzyme resembled transketolase from spinach, but was dissimilar to those from *Saccharomyces* and *Candida* sp., since the coenzyme of transketolase in these yeasts was removed by dialysis against 0.03 M phosphate buffer at pH 7.6. Glycerol dehydrogenase and α -glycerophosphate dehydrogenase in Rh-110 were found to be specific for NADP. Xylose was metabolized to xylulose through polyol.

(Received September 20, 1967)

Rhodotorula 属酵母はこれまで、主として油脂生産菌として興味をもたれ、その油脂生産能に関する研究は数多くあり、著者らも前に、この酵母の油脂生産について実験を行ない、その2,3株は適当な培養条件下で油脂生産能が非常に高いことを報告した⁽¹⁾。このような特異的な性質は脂肪酸合成時における還元型 NADP の給源と関連して、この菌株の糖代謝と密接な関係があると思われるが、*Saccharomyces* 属とは異なり、この菌種についての糖代謝活性に関する研究は数少なく、Nielsen らは⁽²⁾ *Rh. gracilis* の休止菌が種々の炭水化物を酸化することを観察し、Litchfield らは⁽³⁾ *Rh. gracilis* の無細胞抽出液の糖酸化能を調べ、グルコース、グルコン酸、glucose 6-phosphate, fructose 6-phosphate, fructose 1,6-diphosphate, ribose 5-phosphate を酸化し得ることをワールブルグ検圧法を用いて示したのみである。

著者らは *Rhodotorula* に属する酵母のうち油脂生成能の高い菌株と、低い菌株、それに蛋白酵母である *Candida utilis*、発酵性の *Saccharomyces cerevisiae* の無細胞抽

出液を用いて糖磷酸エステルの代謝能を比較検討したところ、一般に *Rhodotorula* に属する菌株は glucose 6-phosphate dehydrogenase, 6-phosphogluconate dehydrogenase の活性が、対照に用いた *Candida*, *Saccharomyces* 属の酵母のそれと比較して高く、transketolase の助酵素であるチアミンピロリン酸が対照実験に用いた両酵母の transketolase のそれと異なる結合状態にあることを認めたので、供試酵母の特性である油脂生産能とこれらの酵素活性について考察した結果について述べる。

実 験 方 法

使用菌株：油脂生成能の高い菌株として研究室保存の *Rhodotorula* Rh-110 (油脂含量 35~50%, 対糖収量 15~20%)⁽¹⁾、低い菌株として Rh-103 (油脂含量 10~15%)⁽¹⁾ を使用し、対照実験菌株として *Candida utilis*, *Saccharomyces cerevisiae* を用いた。保存培地は KH_2PO_4 1 g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 1 g, NaCl 0.5 g, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.5 g, グルコース 40 g, アスパラギン 2 g, $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$

0.5 mg, $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0.5 mg, チアミン 0.5 mg, 寒天 20 g を水 1 l に溶かし調製, 試験管に分注して斜面培養にして保存菌株とした。

培養法および酵素液調製法: KH_2PO_4 1 g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 1 g, NaCl 0.5 g, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.5 g, アスパラギン 3 g, 酵母エキス 3 g, グルコース 30 g を水 1 l に溶かし pH 5.5 とした。このように調製した培地 100 ml を 500 ml の振盪用フラスコにとり 30°C にて振盪培養を行ない, 増殖が対数期の中間から定常期に達する直前までの間で取出し, 水洗した菌体について, テフロン製ホモジナイザー, または海上電気製の 20 kc のソニケーターにて 2~3°C で破碎し, pH 8.0 の 0.02 M トリス緩衝液で抽出, これを 18,000×g で 30 分, 0°C にて遠心分離し, 上澄液を酵素液とした。必要に応じて 2°C にて 0.03 M の磷酸塩または 0.005 M のトリス緩衝液にて 24 時間透析した。

蛋白定量法: Warburg, Christian⁽⁴⁾ の 260, 280 mμ の吸光度法により算出した。

材料: 糖磷酸エステル, pyridine nucleotide 類は Sigma, Boehringer 社製のものを用了。

分析法: Glucose 6-phosphate dehydrogenase および 6-phosphogluconate dehydrogenase 活性は glucose 6-phosphate, 6-phosphogluconate を基質として NADP の還元を 340 mμ の吸収増加から測定する方法^(5,6), glucosephosphate isomerase は fructose 6-phosphate を基質として反応により生成した glucose 6-phosphate の 6-phosphogluconate への酸化を NADP の還元から⁽⁷⁾, phosphofructokinase は fructose 6-phosphate を基質とし, また aldolase は fructose 1,6-diphosphate を基質とし反応により生成する glyceraldehyde 3-phosphate の glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase による NAD の還元を 340 mμ の吸光度増加から測定する方法と⁽⁸⁾, Sibley らのクロモゲン法⁽⁹⁾の両法を用いて活性を測定した。hexose-diphosphatase 活性は fructose 1,6-diphosphate から glucose 6-phosphate を生成させ glucose 6-phosphate dehydrogenase による NADP の還元から測定した⁽¹⁰⁾, heptulose の生成は Axelrod ら⁽¹¹⁾の方法で確認

した。ribose 5-phosphate からペントース磷酸回路の後半を経て hexose phosphate の生成は, 生成した glucose 6-phosphate の glucose 6-phosphate dehydrogenase による NADP の還元から⁽¹²⁾, glyceraldehyde 3-phosphate の生成は glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase による NAD の還元から測定した⁽¹²⁾, glycerol および α-glycerophosphate dehydrogenase 活性は ATP の添加または無添加で NADP の還元から測定し⁽¹³⁾, polyol dehydrogenase 活性は xylitol または solbitol による NAD の還元から⁽¹⁴⁾, aldose reductase 活性はグルコースまたは xylose による NADPH の酸化から測定した⁽¹⁵⁾。

実験結果

各菌株による解糖系とペントース磷酸回路の比較

Candida utilis, *Saccharomyces cerevisiae* については好気的な条件下で, 解糖系およびペントース磷酸回路によりグルコースが代謝されるのはすでに知られているので, この菌種とともに *Rh*-110 および *Rh*-103 のグルコース代謝経路について比較検討した。

第 1 表は *Rh*-110 についての結果を示し, 表の下に示した条件下で hexokinase, glucose 6-phosphate dehydrogenase および 6-phosphogluconate dehydrogenase 活性は非常に大きく, これに対し phosphofructokinase と aldolase の活性は低かった。fructose 1,6-diphosphate phosphatase の存在および glucosephosphate isomerase の活性は相当認められた。glucose 6-phosphate dehydrogenase の 340 mμ における NADP の還元力測定で吸収が定常状態になって後, NAD を添加しても吸光度に変化がみられなかったことから, この酵母も *S. cerevisiae* と同様, glucose 6-phosphate dehy-

第 1 表 *Rh*-110 の EMP, HMP 酵素活性

Enzyme	Substrate	Compound measured	Method	Unit*
Hexokinase	Glucose + ATP	G-6-P	+Δ NADPH	181
G-6-P dehydrogenase	G-6-P	G-6-P	+Δ NADPH	236
6-P-G dehydrogenase	6-P-G	6-P-G	+Δ NADPH	242
Glucosephosphate isomerase	F-6-P	G-6-P	+Δ NADPH	96
Phosphofructokinase	F-6-P + ATP	G-3-P	+Δ NADH	8
Aldolase	F-1,6-P	G-3-P	+Δ NADH	12
Hexosediphosphatase	F-1,6-P	G-6-P	+Δ NADPH	24

* mμM/min/mg prot.

System: Tris buffer (pH 8.0) 50 μM; 糖, 糖磷酸エステル 5 μM; MgCl_2 10 μM; NAD あるいは NADP 0.3 μM; ATP 5 μM; phosphofructokinase, aldolase の活性測定には上記以外に arsenate 80 μM; cysteine 40 μM; 酵素量 0.6 mg prot. Total 3 ml, Temp. 20°C.

第2表 *Rh*-103 の EMP, HMP 酵素活性

Enzyme	Substrate	Compound measured	Method	Unit*
Hexokinase	Glucose + ATP	G-6-P	+Δ NADPH	38
G-6-P dehydrogenase	G-6-P	G-6-P	+Δ NADPH	113
6-P-G dehydrogenase	6-P-G	6-P-G	+Δ NADPH	94
Phosphofructokinase	F-6-P	G-3-P	+Δ NADH	6
Aldolase	F-1,6-P	G-3-P	+Δ NADH	11

* mμM/min/mg prot.

反応条件は第1表に同じ。酵素量 2.5 mg prot.

第3表 *Candida utilis*, *Sacch. cerevisiae* EMP, HMP の酵素活性

Enzyme	Substrate	Compound measured	Method	Unit*
<i>C. utilis</i>				
G-6-P dehydrogenase	G-6-P	G-6-P	+Δ NADPH	88
Glucosephosphate isomerase	F-6-P	G-6-P	+Δ NADPH	17
Phosphofructokinase	F-6-P	G-3-P	+Δ NADH	35
Aldolase	F-1,6-P	G-3-P	+Δ NADH	67
<i>S. cerevisiae</i>				
G-6-P dehydrogenase	G-6-P	G-6-P	+Δ NADPH	65
Glucosephosphate isomerase	F-6-P	G-6-P	+Δ NADPH	14
Phosphofructokinase	F-6-P	G-3-P	+Δ NADH	18
Aldolase	F-1,6-P	G-3-P	+Δ NADH	34

* mμM/min/mg prot.

反応条件は第1表に同じ。酵素量 *C. utilis* 4.7 mg prot.*S. cerev.* 5.2 mg prot.

drogenase は NADP に特異的で、しかも pyridine nucleotide transhydrogenase 活性は存在しないと推定される。

第2表は *Rh*-103 について同様の実験を行なった結果で、酵素蛋白当りの各酵素活性は *Rh*-110 に比べて低かったが、傾向は *Rh*-110 によく類似していると思われる。

一方、対照実験に用いた *C. utilis* と *S. cerevisiae* の酵素液については第3表に示す。解糖系の酵素活性が強いことがこの表から理解される。

第1表から第3表までを通じて観察されることは、*Rhodotorula* 属酵母は糖分解系について、ペントース磷酸回路の律速酵素である glucose 6-phosphate dehydrogenase と解糖系の律速酵素である phosphofructokinase を比較すると、両者の間で活性の差が非常に大きく、この点でアルコール発酵性酵母との間に大きな相違が認められた。

Phosphofructokinase は、反応液中の ATP, ADP および無機磷酸の濃度により、その活性に影響のあることはすでによく知られているが、*Rh*-110 の場合その活性

が低いことから、ATP の濃度が適当でなかったためとも考えられるので、*C. utilis*, *S. cerevisiae* とともに、dihydroxyacetone の蓄積を測定する Sibley らのクロモーゲン法により、活性におよぼす ATP の濃度の影響について調べたのが第4表である。*S. cerevisiae* は ATP の濃度に最も感受性が高く、*Rh*-110 は ATP の濃度にあまり影響されないように思われ、そして活性はいずれも低かった。

Ribose 5-phosphate の酸化: *Rh*-110 の酵素液について 6-phosphogluconate 以後の代謝経路をペントース磷酸回路と予想して、硫酸システイン反応で ribose 5-phosphate から heptulose, hexose の生成を定性的に確かめたのが第1図である。図から明らかなごとく、その活性は認められた。それで ribose 5-phosphate からペントース磷酸回路

の後半を経て glucose 6-phosphate, glyceraldehyde

第4表 Phosphofructokinase 活性に対する ATP 濃度の効果

Organism	Phosphofructokinase		Aldolase
	ATP μM	Unit*	Unit*
<i>Rh</i> -110	2	2.8	—
	5	3.3	22
	10	3.3	—
	15	2.8	—
	20	1.1	—
<i>C. utilis</i>	2	31.7	—
	5	35.1	180
	10	26.4	—
	15	12.3	—
	20	5.3	—
<i>S. cerevi.</i>	2	16.7	—
	5	12.5	94
	10	8.3	—
	15	5.8	—
	20	3.3	—

* mμM/min/mg prot.

System: Tris buffer (pH 6.0) 50 μM; MgCl₂ 10 μM; F-6-P あるいは F-1,6-P 10 μM; hydrazine sulfate 70 μM;酵素量 *Rh*-110 12.0 mg prot.*C. u.* 3.8 mg prot.*S. c.* 8.0 mg prot.

(24 hr 透析)

Total 2.5 ml, Temp. 30°C, 15 min 反応。

第1図 *Rh-110* の R-5-P から heptose と hexose の生成 (硫酸 cysteine 反応)

System: Tris buffer pH 8.0 40 μ M; R-5-P 12.5 μ M;
酵素量 (24 hr 透析) 2.1 mg prot.
Total 2 ml, Temp. 30°C.

3-phosphate の生成活性を ribose 5-phosphate を基質として NADP (glucose 6-phosphate の生成), NAD (glyceraldehyde 3-phosphate の生成) の還元より測定

第2図 *Rh-110* R-5-P から G-6-P, G-3-P の生成

System: Tris buffer (pH 8.0) 50 μ M; R-5-P 5 μ M;
NAD あるいは NADP 0.3 μ M; $MgCl_2$ 10 μ M;
(1), (2) は以上の他に IoA^* 5 μ M, (3), (4) は以上の他に $arsenate$ 80 μ M, $cysteine$ 40 μ M.
酵素量 (24 hr 透析) 2.2 mg prot.

1. NADP (preincubation 30°C, 10 min)
2. NADP (preincubation なし)
3. NAD (preincubation なし)
4. NAD+ IoA^* (10 μ M)

* Iodoacetate

第3図 *Rh-103* R-5-P から G-6-P, G-3-P の生成

System は第2図と同様. 酵素量 (24 hr 透析) 1.6 mg prot. Total 3 ml.

1. NADP (preincubation 30°C, 10 min)
2. NADP (preincubation なし)
3. NAD (preincubation 30°C, 10 min)
4. NAD (preincubation なし)
5. NAD+iodoacetate (10 μ M)

した。その結果、*Rh-110* については第2図、*Rh-103* については第3図に示す。図の下に示す酵素濃度においていずれもプレインキュベーション (30°C, 10分) なしに NAD, NADP の還元を観察されるのは酵素活性の高いことを示しており、NAD の還元が直ぐ始まり、NADP の還元は少し遅れてシグモイド曲線を描くのは ribose 5-phosphate から glyceraldehyde 3-phosphate, glucose 6-phosphate の生成段階数の相違によるのであろう。当然のことながら、プレインキュベーション処理は glucose 6-phosphate の蓄積をうながし NADP の還元は急速であった。

ここで注目されるのは、この反応液に用いた酵素液はいずれも 0.03 M, pH 7.5 の磷酸塩緩衝液で 24 時間透析したものであるにもかかわらず、チアミンピロホスフェートの添加を必要としなかったことである。Racker ら⁽¹⁶⁾によると、*S. cerevisiae* の transketolase はアルカリ性での透析、または pH 7.8 で硫酸 55% 飽和沈殿処理により、その補酵素であるチアミンピロホスフェートは除去されるため不活性となることを報告している。一方、Horecker ら⁽¹⁷⁾は、ホウレン草の葉の transketolase は蛋白部分とチアミンピロホスフェートが固く結合していて、このような処理では除去し得ず、pH 3 で硫酸 45% 飽和处理にてアポ酵素と助酵素とを離し得ることを報告している。*Rh-110* についてアルカリ性側にお

第5表 *Rh-110* の酸性(pH 3.0)硫安沈澱酵素の transketolase 活性と TPP 濃度

TPP	—	2.5 μ M	5 μ M	10 μ M
+ Δ NADPH*	0.1	3.2	5.0	6.8

* m μ M/min/mg prot.System: Tris buffer (pH 8.0) 50 μ M; R-5-P 5 μ M; MgCl₂ 20 μ M; NADP 0.2 μ M;

酵素量 (24 hr 透析後 pH 3 の硫安飽和液にて 55% 飽和沈澱後 pH 8.0 の Tris buffer に溶解して使用) 3 mg prot. Total 3 ml, Temp. 30°C.

5 min preincubation 後 NADP の添加により測定.

第4図 *C. utilis*. R-5-P から G-6-P, G-3-P の生成

System は第2図と同様. 酵素量 (24 hr 透析) 1.9 mg prot. Total 3 ml.

1. NADP+TPP (5 μ M) (30°C, 10 min, preincubation)
2. NADP+TPP (5 μ M) (preincubation なし)
3. NADP (30°C, 10 min, preincubation)
4. NAD+TPP (5 μ M) (30°C, 10 min, preincubation)
5. NAD+TPP (5 μ M) (preincubation なし)
6. NAD (30°C, 10 min, preincubation)
7. (4)+iodoacetate (10 μ M)

ける透析ではチアミンピロホスフェートを除き得なかつたので, Horecker らの方法に従つ

て第5表の下に示すような, 処理後 ribose 5-phosphate を基質として NADP の還元を測定したところ, チアミンピロホスフェートの無添加では活性がなく, チアミンピロホスフェートの添加で活性は回復した. これに対し *C. utilis* の場合, 第4図に示すごとく, アルカリ性側で透析することにより 30°C, 10 分のプレインキュベーション後においてもその活性は非常に低く, また *Rh-110* に使用したのとはほぼ同じ酵素蛋白濃度においてチアミンピロホスフェー

第5図 *S. cerevisiae* R-5-P から G-6-P, G-3-P の生成

System は第2図と同様. 酵素量 (24 hr 透析) 3 mg prot. Total 3 ml.

1. NADP+TPP (30°C, 10 min, preincubation)
2. NADP+TPP
3. NADP (30°C, 10 min, preincubation)
4. NAD+TPP (30°C, 10 min, preincubation)
5. NAD+TPP
6. NAD (30°C, 10 min, preincubation)
7. (4)+iodoacetate (10 μ M)

トの添加によってもプレインキュベーションを行なわな
いと, NAD, NADP の顕著な還元はみられなかった.

第5図には *S. cerevisiae* の結果を示すが, やはり *C. utilis* で観察されたと同様なことがいえ, *Rhodotorula* 属酵母の transketolase と性質の異なる酵素である.

Glycerol dehydrogenases について: *Rh-110* はグリセリンを炭素源として生育し, その油脂生成量もグルコースが炭素源として使用されたときよりは劣るが, 相

第6表 *Rh-110* の glycerol, α -glycerophosphate dehydrogenase 活性

Enzyme	Substrate	Method	pH	Unit*
Glycerol dehydrogenase	Glycerol	+ Δ NADPH	{ 6.0 7.0 8.0	{ 13.9 11.9 9.0
α -Glycero-P. dehydrogenase	α -Glycero-P	+ Δ NADPH	{ 6.0 7.0 8.0	{ 14.4 12.4 9.7
Glycerol および α -glycero-P. dehydrogenase	Glycerol+ATP	+ Δ NADPH	7.0	18.3
Glycerol および α -glycero-P. dehydrogenase	Glycerol+ATP	+ Δ NADH	7.0	0.03

* m μ M/min/mg prot.System: K-phosphate buffer 67 μ M; MgCl₂ 10 μ M; NAD あるいは NADP, 0.3 μ M; glycerol 5 μ M; α -glycerophosphate 5 μ M; ATP 5 μ M; 酵素量 (glycerol 生育, 24 hr 透析) 1.6 mg prot. Total 3.0 ml, Temp. 20°C.

当量生成することはすでに報告した⁽¹⁸⁾. グリセリンから dihydroxyacetone への経路には, これまで glycerol-dehydrogenase と glycerolkinase により glycerophosphate に磷酸化されて後 glycerophosphate dehydrogenase により脱水素される 2 種の酵素の存在が微生物, 動物筋肉中で見出されているが, いずれも NAD に特異的である. *C. albicans* では NADP に特異的であることを Rao ら⁽¹⁹⁾ は報告している. *Rh-110* は第 6 表に示すごとく, glyceroldehydrogenase, glycerophosphate dehydrogenase のいずれも NADP に特異的であり, しかも同じぐらいの活性を有していた. 最適 pH は幾分酸性側に傾いていた.

Aldose reductase, polyol dehydrogenase について: *Rh-110* はキシロースを炭素源として良く生育し, 油脂もまた生成する⁽¹⁾. その代謝経路は *C. utilis* の場合と全く同様であると思われ⁽¹⁴⁾, 第 7 表に示すごとく aldose reductase は NADP に特異的で polyol となり, 次に polyol dehydrogenase (NAD に特異的) により ketose となって後, kinase により磷酸化されて代謝されるのであると考えられるが, *Rh-110* の場合, polyol dehydrogenase は xylitol, sorbitol の間にそれほど大きな活性の差異はみられなかったが, aldose reductase についてはグルコースでは活性が低く, キシロースでは活性が高かったことから, この酵素は主としてキシロースの代謝に役立っているのであろう.

第 7 表 *Rh-110* の polyol dehydrogenase, aldose reductase 活性

Enzyme	Substrate	Method	Unit*
Polyol dehydrogenase	Xylitol	+Δ NADH	28.2
	Sorbitol	+Δ NADH	25.0
Aldose reductase	Glucose	-Δ NADPH	3.4
	Xylose (A)	-Δ NADPH	60.6
	Xylose (B)	-Δ NADPH	10.1

* mμM/min/mg prot.

System: Glycocol, NaCl, KOH buffer (pH 9.0) 100 μM;
NAD あるいは NADPH, 0.3 μM; xylitol 150 μM;
sorbitol 150 μM; glucose 150 μM; xylose, (A) 150 μM (B) 30 μM;
酵素量 (xylose 生育 24 hr 透析) 2.7 mg prot.
Total 3 ml. Temp. 20°C.

考 察

全実験を通じて *Rhodotorula* 属の油脂生成能の高い菌株 (*Rh-110*) と低い菌株 (*Rh-103*) の間にはあまり大きな酵素活性の差はなく, *Candida*, *Saccharomyces* との間に大きな差があるように思われる. *Rhodotorula* 属は全般にペントース磷酸回路の酵素活性が高く, 解糖

系の酵素活性は低かった. そして, *Candida*, *Saccharomyces* 属ではその逆であり, 特に transketolase においてその補酵素であるチアミンピロホスフェートが *Rhodotorula* の場合, ホウレン草から抽出された酵素と同様にアポ酵素と固く結合しており, 他の属の酵母とは異なっていた.

最近, 山崎は⁽²⁰⁾ Co-carboxylase (チアミンピロホスフェート) の水解酵素について報告しているが, そのなかで, この酵素はビルビン酸脱水素酵素に含まれているビルビン酸脱炭酸酵素のチアミンピロホスフェートのごとく, 酵素と緩く結合しているときはこの水解酵素が働いてビルビン酸脱水素酵素の活性を調節し, α-ケトグルタル酸脱水素酵素の α-ケトグルタル酸脱炭酸酵素のごとく, チアミンピロホスフェートと酵素とが固く結合しているときにはチアミンピロホスフェート水解酵素は作用しないと推定している. 酵母にこのような水解酵素が存在すると, transketolase の補酵素でもあるチアミンピロホスフェートは当然影響を受けるはずであり, *Candida*, *Saccharomyces* の場合は glucose 6-phosphate dehydrogenase のみでなく, transketolase の作用する反応の段階においてもペントース磷酸回路は律速される, すなわち, 核蛋白類のリボース部分の合成, その他五炭糖類の合成の分岐点においても律速されることを示唆し, *Rhodotorula* の場合は glucose 6-phosphate dehydrogenase 活性がペントース磷酸回路の全反応を規制するものと思われる.

特殊な炭素源を用いないかぎり細胞内で還元型 NADP の再生産を行なっている主要な反応は glucose 6-phosphate dehydrogenase, 6-phosphogluconate dehydrogenase, そして isocitrate dehydrogenase であるといわれている. isocitrate dehydrogenase は, 乳腺の脂肪酸合成反応を研究した Levy⁽²¹⁾ によりこの酵素の脂肪酸合成への関与はあまり大きくなく, ペントース磷酸回路の最初の段階から生成する還元型 NADP が主として関与することを H₂ を用いた実験から指摘している. *Rhodotorula* についても, glucose 6-phosphate dehydrogenase の活性が油脂合成能の高いほど大きいことから, 乳腺の場合と同様の現象があるのではないかと思われる.

グリセリン炭素源の場合は, glycerol dehydrogenase, glycerophosphate dehydrogenase がいずれも NADP に特異的であることから, 脂肪酸合成への還元型 NADP

の供給は大部分がこの反応から生ずるものと考えられる。

キシロース炭素源の場合はペントース燐酸回路の再サイクルによって還元型 NADP が生じ、これが関与するのであろう。

要 約

油脂生成能の大きい *Rhodotorula* 属 *Rh-110*, 生成能の低い *Rh-103*, 比較のために蛋白酵母である *Candida utilis*, パン酵母 *Saccharomyces cerevisiae* の無細胞抽出液の 18,000×*g* 上澄液について糖代謝能を調べた。

(1) *Rhodotorula* 属酵母は *Candida*, *Saccharomyces* と同様、解糖系、ペントース燐酸回路にて糖を分解するものと考えられるが、phosphohexokinase 活性は非常に低く、glucose 6-phosphate dehydrogenase 活性は相当高かったことから、ペントース燐酸回路の寄与が大であることを想定した。

(2) *Rhodotorula* 属酵母に存在する transketolase は補酵素とアポ酵素が固く結合しており、緩く結合している *Candida*, *Saccharomyces* の transketolase とは異なるものと想定した。

(3) *Rhodotorula* 属酵母の glycerol dehydrogenase, glycerophosphate dehydrogenase はいずれも NADP に特異的で、この点においても *Candida*, *Saccharomyces* と異なる。

(4) *Rhodotorula* 属酵母の glucose 6-phosphate dehydrogenase, 6-phosphogluconate dehydrogenase の活性の高いことと、油脂生成能の高いこととの関係を検討した。

- (1) 辰巳忠次, 中川昌平: 醸酵協会誌, **17**, 573 (1959).

- (2) N. Nielsen and N. G. Nilsson: *Arch. Biochem.*, **25**, 316 (1950).
- (3) J. H. Litchfield and Z. J. Ondel: *Can. J. Microbiol.*, **4**, 205 (1958).
- (4) O. Warburg and W. Christian: *Biochem. Z.*, **303**, 40 (1939).
- (5) A. Kornbeg and B. L. Horecker: *Methods in Enzymology*, **1**, 323 (1955).
- (6) B. L. Horecker and P. Z. Smyrnostis: *J. Biol. Chem.*, **193**, 371 (1951).
- (7) M. W. Slein: *ibid.*, **186**, 753 (1950).
- (8) K. H. Ling, W. L. Byrne and H. Lardy: *Methods in Enzymology*, **1**, 306, 313 (1955).
- (9) J. A. Sibley and A. L. Lehninger: *J. Biol. Chem.*, **177**, 859 (1949).
- (10) E. Racker: *Arch. Biochem. Biophys.*, **74**, 326 (1958).
- (11) B. Axelrod, R. S. Bandurski, C. M. Greiner and R. Jung: *J. Biol. Chem.*, **202**, 619 (1953).
- (12) R. M. Hochster and H. Katznelson: *Can. J. Biochem. Physiol.*, **36**, 669 (1958).
- (13) H. L. Young and N. Pace: *Arch. Biochem. Biophys.*, **75**, 125 (1958).
- (14) M. Chakravorty, L. A. Veiga, M. Bacila and B. L. Horecker: *J. Biol. Chem.*, **237**, 1614 (1962).
- (15) H. G. Hers: *Biochem. Biophys. Acta*, **37**, 120 (1960).
- (16) E. Racker, G. dera Haba and I. G. Leder: *J. Am. Chem. Soc.*, **75**, 1010 (1953).
- (17) B. L. Horecker and P. Z. Smyrnostis: *J. Am. Chem. Soc.*, 1009 (1953).
- (18) 辰巳忠次, 中川昌平: 醸酵協会誌, **19**, 396 (1961).
- (19) G. R. Rao, T. Ramakrishnan and M. Sirsi: *J. Bact.*, **80**, 654 (1960).
- (20) 山崎光郎: 蛋白質 核酸 酵素, **10**, 724 (1965).
- (21) H. R. Levy: Vth International Congress of Biochemistry, **7**, 63 (1961).