ノート

[*Nippon Nōgeikagaku Kaishi*
Vol. 62, No. 6, pp. 979~981, 1988]

醸造酵母の細胞壁成分に及ぼすKの影響

中里厚実, 桜中辰則, 竹田正久*

(東京農業大学農学部醸造学科,

*東京農業大学短期大学醸造科)

昭和 62 年 12 月 14 日 受理

Effect of K⁺ on Cell Wall Components of Industrial Yeasts

Atsumi NAKAZATO, Tatsunori SAKURANAKA
and Masahisa TAKEDA*

*Department of Brewing and Fermentation,
Tokyo University of Agriculture and *Junior
College of Tokyo University of Agriculture,
Setagaya-ku, Tokyo 156*

Cell wall components of industrial yeasts incubated in potassium-sufficient (K-4 mM, Na-2 mM) and deficient (K-0 mM, Na-2 mM) medium were analysed. Contents of glucose, phosphorous and protein in the cell wall of yeasts incubated in potassium-sufficient medium were higher than those of yeasts in potassium-deficient medium. But content of glucosamine increased in cells incubated in potassium-deficient medium. In the same manner, proline content was increased in cells incubated in potassium-deficient medium.

(Received December 14, 1987)

醸造酵母の細胞表面の性質は酒類を製造するうえで重要な意味を持つことは、ビール酵母の凝集性、清酒酵母の高泡形成などの例から知られる。

醸造酵母の細胞壁については布川⁽¹⁾, Lyons⁽²⁾ の総説でくわしく述べられている。細胞壁の構造については Lampen⁽³⁾ の模式図が知られており、構成成分については、グルカン、マンナン、蛋白質、脂肪、グルコサミン、リン^(2,4)などが知られている。細胞壁成分は培養条件、培養期間などによって影響を受け、イノシトールが欠乏するとグルカン、マンナンの割合が少なくなり、グルコサミン含量が高くなる⁽¹⁾。また、ビオチンが欠乏した場合もマンナン含量が少なく、グルコサミン含量が高

くなる⁽¹⁾といわれている。

菅野ら⁽⁴⁾はセルロース凝集性清酒酵母と非凝集性清酒酵母のグルコサミン含量を調べたが、培養期間による差はなく1%前後で、ビール酵母についても同様であったと報告している。

本報では高泡形成能とともに清酒酵母の特性であるK欠乏培地(以下K・D培地と記す)で生育可能な性質を利用して、K・D培地とK含有培地(以下K・S培地と記す)で培養し、その細胞壁成分にどのような影響があるかを検討した。

供試株は清酒酵母 Z 44 (Kitanohomare), K 7 (Kyo-kai No. 7), ATCC 32694 (Kikumasamune), 焼酎酵母 S 22, ワイン酵母 IFO 2300, ビール酵母 IFO 2000 の計 6 株を使用した。

培養はそれぞれの菌株を YM 液体培地で 2 日間培養後、殺菌蒸留水で 2 回洗浄し、1.5 l の K・S 培地 (K-4 mM, Na-2 mM) と K・D 培地 (K-0 mM, Na-2 mM)⁽⁵⁾ に 2~3×10⁸/ml 接種し、K・S 培地の場合は 7 日間、K・D 培地の場合は 14 日間、28~30°C で行った。IFO 2300 と IFO 2000 は K・D 培地に生育することができないため K・S 培地のみ実験した。なお、実験に使用した培地の組成を Table I に示した。

Table I. Composition of Potassium Sufficient and Deficient Medium

Glucose	100g
(NH ₄) ₂ SO ₄	2g
NH ₄ ·H ₂ PO ₄	0.46g
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.493g
CaCl ₂ ·2H ₂ O	0.294g
KCl	0.298g (K-4 mM)
	0 (K-0 mM)
NaCl	0.116g (Na-2 mM)
H ₃ BO ₃	1.2 mg
MnSO ₄ ·5H ₂ O	2.4 mg
FeSO ₄ ·7H ₂ O	2.8 mg
ZnSO ₄ ·7H ₂ O	2.9 mg
CuSO ₄ ·5H ₂ O	0.25 mg
Tris amino methan	1.211 g
Succinic acid	2.4 g
Inositol	25.0 mg
Ca-Pantothenate	2.5 mg
Biotin	0.025 mg
Thiamine-HCl	0.5 mg
Pyridoxine-HCl	0.5 mg
Nicotinic acid	0.5 mg
Distilled water	1 liter

Table II. Contents of Glucose, Mannose, Glucosamine, Phosphorous and Protein in Isolated Cell Walls from Industrial Yeasts

Strains	Media	Glucose (%)	Mannose (%)	Glucosamine (%)	Phosphorous (%)	Protein (%)
Z 44	K-S ^a	36.5	37.5	0.67	0.121	16.52
	K-D ^b	29.0	30.4	1.00	0.070	15.41
K 7	K-S	41.2	23.8	0.69	0.120	19.96
	K-D	32.6	25.9	1.33	0.052	16.35
S 22	K-S	37.0	25.0	1.27	0.184	9.58
	K-D	35.0	25.5	4.64	0.050	8.94
IFO 2300	K-S	39.5	21.4	0.48	0.136	19.37
IFO 2000	K-S	35.2	31.3	0.67	0.121	17.77

^a Potassium sufficient. ^b Potassium deficient.

% : per 50 mg of cell walls (dry weight).

細胞壁の調製は菅野ら⁽⁴⁾の方法で、各細胞壁成分の定量は菅野らの方法を一部改変して行った。すなわち糖の定量は 4 N H₂SO₄ 1 ml で 4 時間分解し、全糖はフェノール硫酸法⁽⁶⁾で、グルコースは Gucostat 法で行い、マンノースは全糖とグルコースの差から求めた。グルコサミンの定量は Elson-Morgen の Blix 変法⁽⁷⁾で、リン酸の定量は硫酸灰化法で分解し、Fisk-Subbarow 法⁽⁸⁾で定量した。蛋白質の定量は封管法⁽⁹⁾で分解し、Nessler 法で定量した。また、プロリンの定量は試料を分解後、日立自動アミノ酸分析計 KLA-5 型で分析した。

結果を Table II に示すが、細胞壁のグルコースは K・S 培地の場合、約 35~41% で菅野らが使用した菌株とはほぼ同じ値であった。K・D 培地で培養した場合は、いずれの株も K・S 培地で培養した場合より減少した。マンノースは Z 44 の場合、K・S、K・D 培地ともグルコースよりわずかに多かったが、他の株はいずれもグルコースより少なかった。

グルコサミン含量は K・S 培地の場合、S 22 を除き約 0.5~0.7% で菅野らの値より少なかったが、この点については培養条件等の差があるため、一概には比較できないと思われる。K・D 培地で培養した場合、いずれの株もグルコサミン含量が増加した。とくに、K 7 は約 2 倍、S 22 は約 3.6 倍も増加しており、単に培養日数等の違いによるものとは考えにくい。このことは K が欠乏しているために、細胞壁合成過程に支障をきたし、グルカン等の合成が少なくなった分を補うためと思われる。

イノシトール、ビオチンが欠乏した場合も、同様にグルコサミンの増加現象が報告されている⁽¹⁾。しかし、著者らが今回使用した培地 (K 含有) からイノシトールのみを除いた実験では、IFO 2300 のみわずかにグルコサ

Table III. Contents of Proline in Isolated Cell Walls from Industrial Yeasts

Strains	Media	Proline (%) ^c
Z 44	K-S ^a	5.44
	K-D ^b	5.83
K 7	K-S	6.28
	K-D	8.96
ATCC 32694	K-S	5.99
	K-D	8.29
S 22	K-S	7.13
	K-D	13.49

^a Potassium sufficient. ^b Potassium deficient.^c in all amino acids.

ミンが増加したが、Z 44, K 7, S 22 の 3 株は増加がみられなかった。また、P を除く他のミネラルの細胞壁構成グルコサミンへの影響についても調べたが、グルコサミンの増加はみられなかった。この結果からも K の細胞壁構成グルコサミンに対する影響は特異的であると思われる。

このように K・D 培地で培養した細胞にグルコサミンが多いことは、出芽痕部分^(10,11)や胞子壁⁽¹²⁾にグルコサミンが多いこととともに興味を持たれる。

P は K・S 培地の場合、約 0.12~0.18%, K・D 培地の場合、約 0.05~0.07% で K・D 培地培養株のほうが少ない。

蛋白質は S 22 が K・S、K・D 培地とも 10% 以下で他の株と比べて少なかった。他の株は約 15~20% で、K・D 培地で培養したほうがいずれの株も少なかった。蛋白質は古い細胞のほうが多く⁽⁴⁾、また、出芽率の高い細胞ほどグルコサミンが多い⁽¹⁰⁾という報告がある。Macwilliam⁽¹¹⁾ はキチンは蛋白質と結合しているのでは

ろうと報告していることと関連して、K・D 培地培養株のグルコサミン含量が増加することはグルコサミンと蛋白質の細胞壁構成成分としての役割になんらかのヒントを与えるものと思われる。

アミノ酸のなかで特徴的な動向を示したプロリンの含量を Table III に示した。Table II に示した K・D 培地に生育可能な3株に加えて、ATCC 32694 株の細胞壁プロリン含量を分析したが、いずれの株も K・S 培地培養株よりも K・D 培地培養株のほうがプロリン含量が多かった。プロリンは動物結合組織の蛋白質であるコラーゲン中に多く含まれる⁽¹³⁾ことなどに関連して、K・D 培地で培養すると、プロリン含量が増加することは興味を持たれる。

(1) 布川彌太郎：醸協，**66**，555 (1971)。

(2) T. B. Lyons and J. S. Hough：The *Brewers Digest.*, **45**，52 (1970)。

(3) J. O. Lampen：Antonievian *Leeuwenhoek.*; *J. Microbiol. Serol.*, **34**，1 (1968)。

(4) 菅野信男，鈴木修六，秋山裕一：農化，**49**，141 (1975)。

(5) M. Takeda and T. Tsukahara：J. *Agric. Sci.*, **14**，199 (1969)。

(6) 福井作蔵：「還元糖の定量法」，学会出版センター，1978，p.45。

(7) G. Blix：Acta *Chem. Scand.*, **2**，467 (1948)。

(8) C. H. Fisk and Y. Subbarow：J. *Biol. Chem.*, **66**，375 (1925)。

(9) S. Jacobs：Analyst, **89**，489 (1964)。

(10) 林部正也：化学と生物，**13**，410 (1975)。

(11) I. C. Macwilliam：J. *Inst. Brew.*, **76**，524 (1970)。

(12) S. Katohda, K. Konno, Y. Sakaki, K. Suzuki and S. Sakamoto：Agric. *Biol. Chem.*, **48**，895 (1984)。

(13) 中尾 眞監訳：「レーニンジャー生化学」，上巻，共立出版，1979，p.123。