

Title	Zygosaccharomyces rouxiiの耐塩性機構に関する研究
Author(s)	牛尾, 公平
Citation	
Issue Date	
oaire:version	
URL	https://hdl.handle.net/11094/38411
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏 名	牛 尾 公 平
博士の専攻分野の名称	博 士 (工 学)
学 位 記 番 号	第 1 0 3 2 8 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 4 年 6 月 1 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第4条第2項該当
学 位 論 文 名	<i>Zygosaccharomyces rouxii</i> の耐塩性機構に関する研究
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 大 嶋 泰 治
	教 授 高 野 光 男 教 授 山 田 靖 宙 教 授 今 中 忠 行
	教 授 二 井 将 光

論 文 内 容 の 要 旨

本論文は、醤油・味噌の熟成に関与する好塩性酵母, *Zygosaccharomyces rouxii* について、その耐塩性を付与する細胞成分とそれらの機能の解明を目的として行った研究を取りまとめたものであり、5章から構成されている。

第1章は緒言であり、本研究の背景と目的について述べた。

第2章では、*Z. rouxii* から2種類のニスタチン耐性変異株と、35°Cでの増殖に10%以上のNaClを培地に添加することを要求する変異株を分離し、脂質組成を調べた結果を述べた。高濃度のNaCl培地中では、細胞のエルゴステロール含量が増加し、これが細胞膜の透過性と流動性の低下に効果があり、*Z. rouxii* の耐塩性に重要なことを明らかにした。また、高濃度NaCl培地中では細胞脂肪酸の飽和度が上昇し、細胞増殖には必須ではないが、増殖停止後の菌体内アラビトール含量の保持と、生存能の維持に必要なことを明らかにした。同時に菌体内の浸透圧調節におけるアラビトールの重要性を示唆した。

第3章では、まず、NaCl培地で培養した*Z. rouxii*細胞は、無塩培地で培養した細胞と同じ酵素学的諸性質を示す細胞膜ATPaseの量を増加させていることを明らかにした。次に、無塩培地で培養した菌体を、高濃度のNaCl溶液に懸濁すると、急激に多量のATPが合成され、同時に細胞膜ATPaseによるATPの加水分解と菌体外へのプロトン排出が増加することを見だし、耐塩性発現には、細胞膜ATPaseによる菌体内外の高いプロトン濃度勾配の形成が必要であることを示唆した。一方、ミトコンドリアATPaseは耐塩性に関係しないことを示した。*Saccharomyces cerevisiae* 細胞膜ATPaseのプロトン排出は、低濃度のNaCl溶液中で阻害され、本酵母のNaCl耐性が低い原因の一つと考えた。また、前述のニスタチン耐性変異株の中に、エルゴステロールを含有せず、プロトン排出能が著しく低下した変異株が存在することを見だし、細胞膜ATPase活性に対してエルゴステロールが重要であることを示した。

第4章では、*Z. rouxii* から耐塩性の低下した変異株を多数分離し、2種の劣性変異と2種の優性変異に分類した。これらの変異株のうち、KCl耐性と耐糖性を示す株が得られることから、耐塩性と耐糖性の機構は必ずしも同一ではないことを示した。また、これらの変異株では、野生型株と同量のポリオールを菌体内に蓄積するにもかかわらず、多量のNa⁺の菌体内流入を許すことから、ポリオールの菌体内蓄積量は、耐塩性に直接関係するものではないことを示

した。

第5章では、本研究で得られた結果について総合的な考察と要約を行った。

論文審査の結果の要旨

本論文は、醤油味噌醸造における主発酵酵母、*Zygosaccharomyces rouxii* の特徴的な性質である耐塩性に関わる細胞成分とその機能についての研究をまとめたものであり、主な成果は次の通りである。

- 1) ステロール組成が変化した*Z. rouxii* 変異株を分離し、高濃度の NaCl 培地中でのエルゴステロール含量の増加は、細胞膜の透過性と流動性の低下に効果があり、またエルゴステロールを含まないニスタチン耐性変異株のプロトン排出能は著しく低く、後述の理由から、エルゴステロールは細胞膜の ATPase 活性に影響を与え、*Z. rouxii* の耐塩性に重要なことを明らかにしている。
- 2) 細胞脂肪酸の飽和度が極めて低い変異株は高い耐塩性を示すが、定常期における細胞の死滅が速いこと、細胞脂肪酸の飽和度の上昇が増殖停止後の菌体アラビトール含量の保持に必要なことを見だし、アラビトールの菌体内浸透圧調節における重要性を示唆している。
- 3) *Z. rouxii* 細胞では、NaCl 培地中でも無塩培地中と同じ細胞膜 ATPase を保有するが、高濃度 NaCl 環境ではその量を増加すること、また、無塩培地で培養した菌体を、高濃度の NaCl 溶液に懸濁すると、急激に多量の ATP が合成され、同時に細胞膜 ATPase によるその加水分解と菌体外へのプロトン排出が増加することから、細胞膜 ATPase による菌体内外の高いプロトン濃度勾配の形成が耐塩性発現と深い関連性をもつことを示唆している。さらに、*Saccharomyces cerevisiae* では、細胞膜 ATPase によるプロトン排出能が低濃度の NaCl で阻害され、これが本酵母の耐塩性が低い原因の一つであるとの考えを示している。
- 4) 耐塩性が低下した *Z. rouxii* 変異株の中には、KCl 耐性と耐糖性を示す株が存在することから、耐塩性と耐糖性の機構は必ずしも同一ではないことを示している。また野生型株と同量のポリオールを菌体内に蓄積するにもかかわらず、多量の Na⁺ の菌体内流入を許す変異株が存在することから、ポリオールが耐塩性に直接関係するとのこれまでの通説を否定した。

以上の結果は、醤油・味噌酵母 *Z. rouxii* の耐塩性に関わる細胞成分とその役割についての理解を深めたもので、醸造工業のみならず、各種微生物の耐塩性機構の解明に寄与するところが大きい。よって、本論文は博士論文として価値あるものと認める。