

[ J. Inst. Enol. Vitic. Yamanashi Univ. 17 11-19 1982 ]

## 酵素の泳動パターンに基づく醸造関連酵母の比較

山崎 真司・後藤 昭二・駒形 和男\*

Comparison of enzymes from strains of wine yeast  
and their related yeasts on electrophoresis

MASASHI YAMAZAKI, SHOJI GOTO, and KAZUO KOMAGATA\*

*The Institute of Enology and Viticulture, Yamanashi University,  
Kofu 400, Japan**\*The Institute of Applied Microbiology, University of Tokyo,  
Bunkyo-ku, Tokyo 113, Japan*

Electrophoretic patterns of five enzymes in seventeen strains of wine and related yeasts were studied with the use of polyacrylamide slab gel electrophoresis with specific staining. The strains used were eight strains belonging to *Saccharomyces cerevisiae*, two strains belonging to *S. bayanus*, two strains belonging to *S. uvarum*, one strain of *S. fermentati*, one strain of *S. bailii*, and three strains of *Saccharomyces* sp.. The strains of *S. cerevisiae*, *S. bayanus*, and *S. uvarum* showed rather similar electrophoretic patterns of five enzymes, however, their patterns were quite distinguishable from those in the strains of *S. fermentati* and *S. bailii*. Of eight *S. cerevisiae* strains tested, one distiller's yeast previously identified as one belonging to *S. formosensis* was different from other seven strains in the electrophoretic patterns of aldolase and alcohol dehydrogenase. This strain was similar to strains of *S. bayanus* in electrophoretic patterns of five enzymes. Two strains of *S. uvarum* showed quite different electrophoretic patterns of five enzymes from each other, and one strain previously named *S. carlsbergensis* was similar to those of *S. cerevisiae* in its electrophoretic patterns of five enzymes. Two unidentified strains of wine yeast showed the same electrophoretic patterns of five enzymes as those of *S. cerevisiae*. The strain Jerez No.5 of *Saccharomyces* sp. was thought to belong to *S. bayanus*, since their electrophoretic patterns of five enzymes and physiological properties were similar.

## 結 論

*Saccharomyces cerevisiae*は多くの醸造用酵母を含む産業上重要な酵母種である。現在まで、*S. cerevi-*

*siae*およびその類縁酵母に関して、生理学的および形態学的に多くの分類学的研究がなされてきた<sup>1)</sup>近年、従来の方法に加え、その欠点を補う意味で化学分類法が重要視されてきており、血清学的分類法<sup>2)</sup>

Table 1. Strains used in this study.

Species	Strain	Source	Reference
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	YK 600	IAM 4274←WH 5-2	
	YK 610	Kyokai Wine yeast No.1←IAM 4274	
	YK 611	WH 5-2 (ATU), Wine yeast OC-No.2	20) 22)
	YK 612	W-3, Wine yeast	22)
	YK 601	IAM 4512, Kyokai Sake yeast No.6	
	YK 602	IAM 4954, Brewer's yeast top fermentation	
	YK 607	IAM 4140, Distiller's yeast Rasse XII	
	YK 608	IAM 4919, Distiller's yeast Taiken No.396 ( <i>S. formosensis</i> )	19)
<i>S. bayanus</i>	YK 613	IAM 12234	
	YK 614	BIG 153 ( <i>S. oviformis</i> )	
<i>S. uvarum</i>	YK 615	IAM 4206 ( <i>S. carlsbergensis</i> )	
	YK 616	IAM 12242	
<i>S. fermentati</i>	YK 617	IAM 4771	
<i>S. bailii</i>	YK 618	W-80 ( <i>S. acidifaciens</i> )	22)
<i>Saccharomyces sp.</i>	YK 619	Er, Wine yeast, Geisenheim, from Prof. Dittrich	
<i>Saccharomyces sp.</i>	YK 620	Wine yeast, Château Épernay	
<i>Saccharomyces sp.</i>	YK 621	Sherry yeast, Jerez-No.5, ( <i>Torulopsis colliculosa</i> ), from Dr. Cruess,	23) 24)

Abbreviations : ATU; Faculty of Agriculture, University of Tokyo, Japan.

IAM; Institute of Applied Microbiology, University of Tokyo, Japan.

BIG; Botanisches Institut, Geisenheim am Rhein, W-Germany.

細胞壁マンナンの核磁気共鳴スペクトル<sup>3)</sup> 補酵素Q システム<sup>4)</sup> DNAのGC含量<sup>5,6,7)</sup> およびDNA-DNA相同性<sup>8,9)</sup> が*Saccharomyces* 属酵母の分類にも応用されている。最近, *S. cerevisiae* およびその類縁種について分類群の組み換えが提案されている<sup>10,11)</sup> なかでも, 竹田, 塚原<sup>12)</sup> は, 生理学的および生態学的性質から, 小玉ら<sup>13)</sup> は血清学的性質から清酒酵母*S. sake* が*S. cerevisiae* と区別されると報告している。

現在, 我々は酵素の電気泳動パターンに基いて酵母の類縁関係を比較検討する研究を行っており, 赤色の無孢子酵母*Rhodotorula*属とその完全世代である担子菌系酵母*Rhodospiridium*属の類縁関係<sup>4,15)</sup> さらに*Torulopsis*属, *Candida*属, および*Kloeckera*属の

無孢子酵母とその完全世代であると推測されている子囊菌系酵母の類縁関係<sup>16)</sup> を知る上で, 酵素の泳動パターンの比較が分類学的に非常に有用であることを報告した。そこで我々は, ワイン酵母, 清酒酵母, ビール酵母, アルコール酵母などの*Saccharomyces cerevisiae* とその関連酵母について酵素の泳動パターンに基き, その類縁関係について比較検討したので, その結果を報告する。

#### 実験方法

供試菌株 Table 1 に示したワイン, シェリー, 清酒, ビールなどの醸造用酵母である*Saccharomyces cerevisiae* 8 株, *S. bayanus* 2 株, *S. uvarum* 2 株,

*S. bailii* 1 株, *S. fermentati* 1 株, および未同定 3 株の合計 17 株を供試した. 供試菌株の炭素源の発酵性および資化性試験は, Lodder<sup>1)</sup> および飯塚・後藤<sup>17)</sup>の方法に基き行った.

**粗酵素液の調製と電気泳動** 供試菌株の培養, 集菌, 破碎処理, および電気泳動は前報<sup>14,15,16)</sup>と同様に行った. すなわち, 液体振盪培養した菌体を, 冷却下で Braun 社製の細胞破壊器で機械的破碎処理した. 処理液は 23,000×g で 1 時間遠心分離を行い, 上澄液を粗酵素液として電気泳動に供した. 電気泳動はスラブ法を用い, 7.5% ポリアクリルアミドゲル (pH 8.3) を作成し, 20mA の定電流で 5~6 時間泳動を行った. 泳動終了後直ちに酵素の活性染色を行っ

た.

**酵素の活性染色** Fructose-1,6-bisphosphate aldolase (FA; EC 4.1.2.13.), Glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PDH; EC 1.1.1.49.), Glutamate dehydrogenase (GDH; EC 1.4.1.4.), Alcohol dehydrogenase (ADH; EC 1.1.1.1.), および非特異的 Esterase (Est; EC 3.1.1.1.) の 5 酵素について活性染色を行った. 染色は Siciliano と Shaw<sup>18)</sup>の方法に準じて行った. 染色終了後, ゲルは乾燥標本とし, 泳動開始点から追跡試薬 (Bromophenol Blue) が移動した距離を 1 とし, 酵素が移動した距離, すなわち相対移動度 (Relative mobility; Rm) を求めた. 各酵素の活性染色例を Fig. 1. に示した.

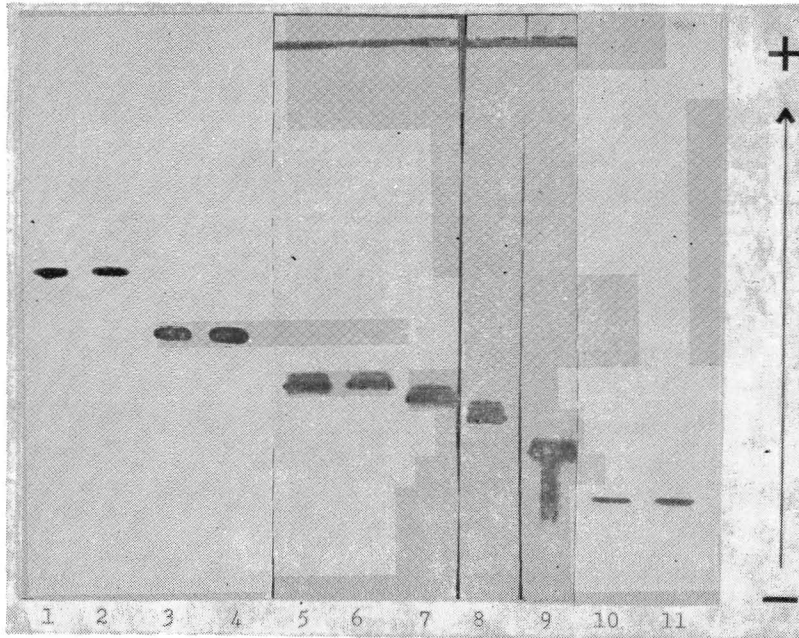


Fig. 1. Polyacrylamide gel stained for five enzymes.

Lane 1 and 2 (esterase; EC 3.1.1.1.): 1; *S. cerevisiae* YK 600, 2; *S. cerevisiae* YK 601.

Lane 3 and 4 (fructose-1,6-bisphosphate aldolase; EC 4.1.2.13.): 3; *S. cerevisiae* YK 600, 4; *S. cerevisiae* YK 601.

Lane 5, 6, and 7 (glucose-6-phosphate dehydrogenase; EC 1.1.1.49.): 5; *S. cerevisiae* YK 600, 6; *S. bayanus* YK 614, 7; *S. bayanus* YK 613.

Lane 8 and 9 (alcohol dehydrogenase; EC 1.1.1.1.): 8; *Saccharomyces sp.* YK 611, 9; *S. bailii* YK 618.

Lane 10 and 11 (glutamate dehydrogenase; EC 1.4.1.4.): 10; *S. cerevisiae* YK 600, 11; *S. cerevisiae* YK 601.

The staining procedures used for these enzymes have been described by Siciliano and Shaw.<sup>18)</sup>

## 結果および考察

供試17菌株のFA, G6PDH, およびGDH の泳動パ

ターンをFig. 2. に, ADHとEstの泳動パターンをFig. 3. に示した。また, 9種の炭素源の発酵性および29種の炭素源の資化能をTable 2. に示した。

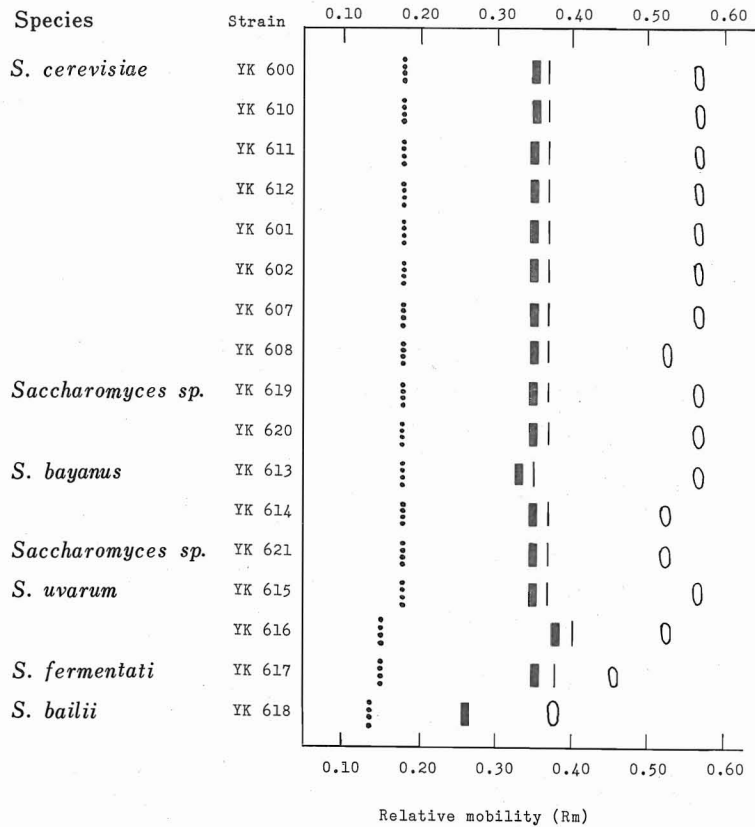


Fig. 2. Diagrammatic representation of electrophoretic patterns for three enzymes in strains of *S. cerevisiae* and their related yeasts.

••••• Glutamate dehydrogenase (GDH; EC 1.4.1.4.).

■ Glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PDH; EC 1.1.1.49.).

○ Fructose-1, 6-bisphosphate aldolase (FA; EC 4.1.2.13.).

These yeasts were cultivated in 500-ml flasks containing 200 ml of medium; incubation was for 24hr at 27°C with shaking. Cells were disrupted with a mechanical cell homogenizer. Insoluble debris and undisrupted cells were removed by centrifugation at 23,000 x g and 5°C. The supernatant fluid was used directly as an enzyme source for slab-electrophoresis. A 7.5% polyacrylamide slab-gel was prepared. Gel electrophoresis was performed at a regulated current of 20/mA gel-slab for 5 to 6hr at 5°C. After staining, the relative mobilities (Rm) of the enzyme bands were calculated as the ratio of the distance that the enzyme moved from the origin to the distance that the tracking dye (Bromophenol Blue) moved.<sup>14,15,16)</sup>

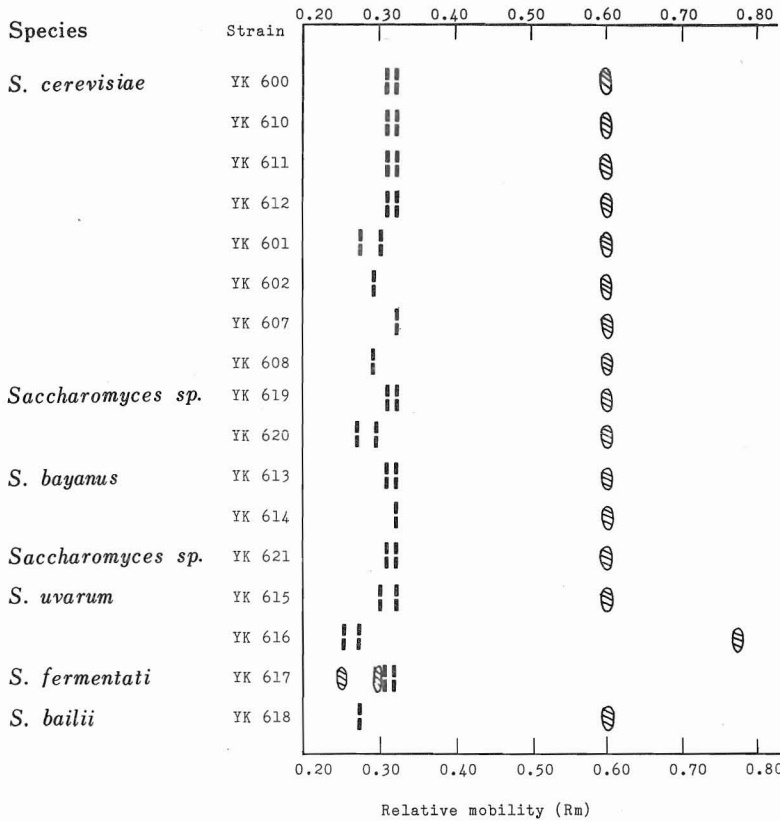


Fig. 3. Diagrammatic representation of electrophoretic patterns for two enzymes in strains of *S. cerevisiae* and their related yeasts.

— Alcohol dehydrogenase (ADH; EC 1.1.1.1).  
 ⊘ Esterase (Est; EC 3.1.1.1).

1. *Saccharomyces cerevisiae* の酵素の泳動パターン *S. cerevisiae* 8株では, GDH (Rm 0.18), G6PDH (Rm0.35とRm0.37), および Est (Rm0.60)の3酵素は同一の泳動パターンを示した。FAのバンドは, 以前*S. formosensis*と記載されていたアルコール酵母YK 608<sup>19)</sup>でRm0.53に検出されたが, 他の7株はRm0.57に検出された。ADHでは菌株間で差異がみられた。すなわち, YK 600, YK 610, YK 611, およびYK 612の4株では, Rm0.31とRm0.32に, YK 601ではRm0.28とRm0.30に, YK 602とYK 608では, Rm0.29に, YK 607ではRm0.32に, 各々検出された。この様に基本代謝系の酵素については,

各菌株とも類似した泳動パターンを示したが, ADHの様な代謝の末端系酵素については菌株差があらわれた。

YK 600, YK 610, およびYK 611の3株は, OC-No. 2と呼ばれるワイン酵母<sup>20,21)</sup>であり, 同一起源に由来するものであるが, 保存機関が異なるものである。これら3株は, 保存中における性質の変化などが予測されるが, 5酵素の泳動パターンは全く同一であった。さらに, 炭素源の発酵能および資化能も同一であり, 泳動パターンの結果と一致した。これらのことから, この3株は大きな生理学性質の変化がなく, 他種の菌株との混同もないものと考えられた。

Table 2. Fermentation and assimilation of carbon compounds by strains employed.

Species	Strain	fermentation								assimilation														
		Glucose	Galactose	Sucrose	Maltose	Trehalose	Melibiose	Raffinose	Melezitose $\alpha$ -Methyl D-glucoside	Galactose	L-Sorbose	Sucrose	Maltose	Trehalose	Melibiose	Raffinose	Melezitose Soluble starch	Glycerol	D-Mannitol	D-Glucitol	$\alpha$ -Methyl D-glucoside	D-L-Lactate		
<i>S. cerevisiae</i>	YK 600	+	+	+	+	-	-	+ $\frac{1}{3}$	L	-	+	-	+	+	W	-	+	+	-	+	-	-	+	+
	YK 610	+	+	+	+	-	-	+ $\frac{1}{3}$	L	-	+	-	+	+	W	-	+	+	-	+	-	-	+	+
	YK 611	+	+	+	+	-	-	+ $\frac{1}{3}$	L	-	+	-	+	+	W	-	+	+	-	+	-	-	+	+
	YK 612	+	+	+	+	-	-	+ $\frac{1}{3}$	L	-	+	-	+	+	W	-	+	+	-	-	-	-	+	+
	YK 601	+	+	+	+	-	-	+ $\frac{1}{3}$	-	+	+	-	+	+	W	-	+	-	+	-	-	-	+	+
	YK 602	+	+	+	+	-	-	+ $\frac{1}{3}$	-	-	+	-	+	+	W	-	+	+	-	-	-	-	+	+
	YK 607	+	+	+	+	-	-	+ $\frac{1}{3}$	L	-	+	-	+	+	W	-	+	+	-	+	-	-	+	+
	YK 608	+	-	+	+	-	-	+ $\frac{1}{3}$	L	-	+	-	+	+	W	-	+	+	-	+	-	-	+	+
<i>Saccharomyces sp.</i>	YK 619	+	+	+	+	-	-	+ $\frac{1}{3}$	L	-	+	-	+	+	-	+	+	-	+	-	-	+	+	
	YK 620	+	+	+	+	-	-	+ $\frac{1}{3}$	-	-	+	-	+	+	-	+	+	-	+	-	-	+	+	
<i>S. bayanus</i>	YK 613	+	-	+	+	-	-	+ $\frac{1}{3}$	-	-	W	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	W	-
	YK 614	+	-	W	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	L	-	W	-	-	-	-	-	-	-
<i>Saccharomyces sp.</i>	YK 621	+	-	+	+	-	-	+ $\frac{1}{3}$	-	-	-	-	+	W	L	-	+	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. uvarum</i>	YK 615	+	+	+	+	-	+	+	L	+	+	-	+	+	+	+	+	+	W	-	-	-	+	+
	YK 616	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	W	+	+	+	-	+	-	-	+	+
<i>S. fermentati</i>	YK 617	+	-	+	+	-	-	+ $\frac{1}{3}$	-	+	-	+	+	+	-	+	+	W	+	+	+	+	+	+
<i>S. bailii</i>	YK 618	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	W	+	-	+	-	-	W	+	+	+	-

L; Latent W; Weak

Cellobiose, Lactose, Inulin, D-Xylose, L-Arabinose, D-Arabinose, D-Ribose, L-Rhamnose, Erythritol, Adonitol, Galactitol, Salicin, Succinate, and Citrate were not assimilated by all of strains tested.

The identities of all of these strains were confirmed by the methods of "The Yeasts" <sup>1)</sup> and Iizuka and Goto. <sup>17)</sup>

しかしながら、保存中における醸造学的性質の変化の有無については、さらに検討を要するものと考え、目下研究中である。

菌株YK 612は横塚ら<sup>22)</sup>によって*S. cerevisiae*と同等されたワイン酵母である。5酵素の泳動パターンは菌株YK 600(ワイン酵母協会1号)と全く同一であり、炭素源の発酵能および資化能の結果と一致した。

菌株YK 601(清酒酵母協会6号)とワイン酵母YK 600はADHを除く4酵素で同一の泳動パターンを示

した。竹田・塚原<sup>12)</sup>は醸造用酵母について詳細な生理学的試験を行い、Melezitoseの資化能、ビタミン要求性、乳酸菌による凝集性、Yeast-cidinに対する抵抗性などから、清酒酵母を*Saccharomyces sake*として*S. cerevisiae*から区別した。また小玉<sup>13)</sup>は、抗原構造の違いから、*S. cerevisiae*を3群に分け、清酒酵母が他の*S. cerevisiae*と区別されることを報告した。我々の研究においても、生理学的には、清酒酵母YK 601は $\alpha$ -Methyl-D-glucosideを発酵し、Melezitoseを資化できず、泳動パターンにおいては、ADH

で異なることからワイン酵母とは区別されたが、その他多くの性質は同一であった。しかし、以上述べた性質の違いが、種の違いを反映するというような重要な性質とは考え難く、これらをもって清酒酵母を別種として、*S. cerevisiae*と区別するには困難であり、むしろ種という概念からみれば同一と考えるべきであろう。

菌株YK 602は上面発酵のビール酵母であり、菌株YK 607はアルコール酵母 (Rasse XII) である。これらはワイン酵母YK 600とはADHのパターンにおいてわずかに差異がみられたが、他の4酵素は同一の泳動パターンを示し、炭素源の発酵能および資化能も類似していることから、同一種と考えられた。

以前*S. formosensis*と記載されていたアルコール酵母YK 608とワイン酵母YK 600はFAおよびADHの泳動パターンで差異がみられ、むしろ後述する*S. bayanus* YK 614と非常に類似した泳動パターンを示した。生理学的にはYK 608はGalactoseを発酵しないことが*S. cerevisiae*と異なり、*S. bayanus*と共通したところであったが、その他の性質は*S. cerevisiae*と同一であった。このように、YK 608は*S. cerevisiae*と*S. bayanus*の中間の性質を示す菌株であった。

低温発酵性のワイン酵母*Saccharomyces* sp. YK 619と*S. cerevisiae* YK 600は5酵素すべて同一の泳動パターンを示した。さらに、ワイン酵母*Saccharomyces* sp. YK 620と*S. cerevisiae* YK 600はADHを除く4酵素において同一の泳動パターンを示した。この未同定2株の炭素源の資化能および発酵能は、供試した*S. cerevisiae*と同一であり、他に2ないし4個の球または楕円形の子嚢胞子を形成することが観察されており、これらはLodder<sup>1)</sup>の*S. cerevisiae*の標準記載と一致した。以上のことから、未同定2株は*S. cerevisiae*と考えられた。

この様に、酵素の泳動パターンは種内の均一性の検討、さらには菌種の同定的手段としても有用であると考えられた。

2. *Saccharomyces bayanus* の酵素の泳動パターン *S. bayanus* YK 613とYK 614の2株はGDH (Rm0.18)とEst (Rm0.60)のパターンが同一であった。しかしながら、FAは、YK 613ではRm0.57に、YK 614ではRm0.53に検出された。G6PDHでは、その強い活性バンドがYK 613ではRm0.33に、YK 614ではRm0.35に検出され、さらに、弱い活性バンドが、YK 613ではRm0.31に、YK 614ではRm0.37

に検出された。ADHでは、Rm0.32のバンドは共通に検出されたが、YK 613では、その他にRm0.31にも活性バンドが検出された。これら2株は、Galactose, Trehalose, および $\alpha$ -Methyl-D-glucosideの資化性およびRaffinoseの発酵性で異なる性質を示した。しかしながら、Lodder<sup>1)</sup>の分類法に従えば、両者とも*S. bayanus*と同定される。

*S. bayanus* YK 613と*S. cerevisiae* YK 600は、G6PDHのパターンでわずかながら差異がみられたが、他の4酵素は同一の泳動パターンを示した。また、*S. bayanus* YK 614と*S. cerevisiae* YK 600では、G6PDH, GDH, およびEstで同一の泳動パターンを示し、ADHではRm0.32のバンドが共通に検出されたが、FAのみは異なる泳動パターンを示した。さらに、*S. bayanus* YK 614とアルコール酵母*S. cerevisiae* YK 608はADHを除く4酵素で同一の泳動パターンを示した。最近、Barnettら<sup>11)</sup>は、*S. bayanus*を*S. cerevisiae*に含めており、Lodder<sup>1)</sup>は*S. cerevisiae*が*S. chevalieri*や*S. bayanus*から由来してMaltaseおよびGalactozymaseを獲得したものではないかと推測している。酵素の泳動パターンからも*S. bayanus*と*S. cerevisiae*は非常に近縁な関係にあると考えられたが、一部パターンが異なるところもあるところから、*S. bayanus*を*S. cerevisiae*と同一種として考えるか否かはさらに検討を要するものとする。

*Saccharomyces* sp. YK 621は、シェリー酒酵母(Jerez-No. 5)である。Cruess<sup>23)</sup>は*Torulopsis colliculosa*と同定した。その後山崎ら<sup>25)</sup>は、この菌株が子嚢胞子を形成することを確認し、*Saccharomyces*属酵母とした。酵素の泳動パターンにおいて、この菌株は*S. bayanus* YK 614と全く同一であった。さらに、炭素源の発酵能および資化能も同一であり、泳動パターンの結果と一致した。以上のことから、シェリー酒酵母YK 621は*S. bayanus*と考えられた。このように、酵素の泳動パターンは、酵母の同定に関しても有用であると考えられた。

3. *Saccharomyces uvarum* の酵素の泳動パターン *S. uvarum* YK 615とYK 616の2株は、5酵素とも異なる泳動パターンを示した。すなわち、YK 615では、FAがRm0.57、G6PDHがRm0.35とRm0.37、GDHがRm0.18、EstがRm0.60、そしてADHがRm0.30とRm0.32に検出された。YK 616では、FAがRm0.53、G6PDHがRm0.38とRm0.40、GDHがRm0.15、EstがRm0.78、そしてADHがRm

0.25とRm0.27に検出された。炭素源の発酵性および資化性では、この2株は、Melezitoseの発酵能とGlycerolの資化能で異っていたが、Lodder<sup>1)</sup>の分類法に従えば、*S. uvarum*と同定される。

*S. uvarum* YK 615と*S. cerevisiae* YK 600は、ADHの一部を除く4酵素で同一の泳動パターンを示した。生理学的性質では、YK 615は*S. cerevisiae* YK 600と炭素源の資化性は非常に類似しているが、MelibioseとRaffinoseを完全に発酵する点で区別された。YK 615は以前*S. carlsbergensis*と記載されていたもので、Lodder<sup>1)</sup>は*S. uvarum*に入れたが、Barnettら<sup>11)</sup>は、さらに*S. uvarum*を*S. cerevisiae*に統合している。酵素の泳動パターンからは、*S. uvarum* YK 615は*S. cerevisiae*に包含されるべきものと考えられた。しかし、YK 616は*S. cerevisiae*とは全く泳動パターンが異り、生理的性質はLodder<sup>1)</sup>の*S. uvarum*の標準記載とはほぼ一致するところから、*S. uvarum*として残すべきであると考えた。

このように、供試した*S. uvarum* 2株は生理学的性質は非常に類似しているが、酵素の泳動パターンからは、各々系統の異なる菌株であると考えられた。

4. *Saccharomyces fermentati* と *Saccharomyces bailii* の酵素の泳動パターン 1952年、LodderとKreger-van Rij<sup>26)</sup>は、それまで、*Torulaspota*属および*Zygosaccharomyces*属と記載されていた菌種群をすべて*Saccharomyces*属に統一した。しかし、最近*S. fermentati*など数種を*Torulaspota*属に、また*S. bailii*など数種を*Zygosaccharomyces*属に分類し再記載したものが報告されている。<sup>10,11)</sup> 酵素の泳動パターンにおいては、*S. fermentati* YK 617は*S. cerevisiae*の菌株群とは、FA, G6PDH, GDH, およびEstの4酵素で異っていた。さらに、*S. bailii* YK618は、FA, G6PDH, GDH, およびADHの4酵素で*S. cerevisiae*の菌株群と異っていた。炭素源の発酵能および資化能も、酵素の泳動パターンと同様異なる部分が多かった。これらのことから、*S. fermentati*および*S. bailii*は、*S. cerevisiae*をはじめ、*S. bayanus*や*S. uvarum*とは系統が異なる菌種と考えられた。

5. 酵素の泳動パターンと酵母の分類および同定 著者らは、担子菌系の無孢子酵母である*Rhodotorula*属酵母とその完全世代を含む*Rhodospiridium*属酵母について、酵素の電気泳動パターンの相同性から、その類縁関係を推測し、それらの菌株を混合培養

して接合させることにより、*Rhodotorula*属酵母の中から、その完全世代の*Rhodospiridium*属酵母と対応する菌株を見出すことに成功した。<sup>14,15)</sup> その後、さらに*Candida*属、*Torulopsis*属、および*Kloeckera*属の無孢子酵母とそれらの完全世代と推測されている子囊菌系酵母について、酵素の泳動パターンを比較検討し<sup>16)</sup> 酵母の類縁関係を知る上で、この手法が非常に有用であることを明らかにした。本研究では、ワイン酵母、清酒酵母、ビール酵母、アルコール酵母など醸造用酵母を含む*S. cerevisiae*は、同一種内で比較的類似した泳動パターンを示し、*S. uvarum*や*S. bayanus*とも非常に近縁な関係にあり、*S. fermentati*や*S. bailii*とは系統的に異なるものと推測された。炭素源の発酵能や資化能のような生理学的性質と泳動パターンの相関性をみると、生理学的性質の異なる菌株同士は異なる泳動パターンを示し、生理学的性質が類似している菌株同士では、同一の泳動パターンを示すことが多いが、*S. uvarum*の例のように異なる泳動パターンを示す場合もあった。これらのことは、酵素の泳動パターンが、種内の均一性の検討について不適当と考えるより、生理学的に類似した性質を有しているが、系統的には異なる菌株を判別できると考える方が、前報<sup>14,15,16)</sup>の結果から考えて妥当である。それゆえに、本研究においても、酵素の泳動パターンは、種の均一性や種間の類縁関係を知る手段として、さらには、菌種の同定の一手段として、非常に有用であると考えられた。

## 要 約

ワインその他の醸造用酵母のうち、*S. cerevisiae* 8株、*S. bayanus* 2株、*S. uvarum* 2株、*S. fermentati* 1株、*S. bailii* 1株、および未同定*Saccharomyces* sp. 3株について5酵素の泳動パターンと、炭素源の発酵性および資化性から類縁関係を比較検討した。

*S. cerevisiae* 8株のうち、以前、*S. formosensis*と記載されていた1株がFAで異なる泳動パターンを示した。その他のワイン酵母、ビール酵母、清酒酵母、およびアルコール酵母の7株は、ADHの泳動パターンにおいて差異がみられたが、他の4酵素は同一の泳動パターンを示した。

*S. bayanus* 2株はFAおよびG6PDHで各々異なる泳動パターンを示した。このうち1株は、上記*S. formosensis*の泳動パターンと同一であった。



*S. uvarum* 2株は、各々5酵素とも異なる泳動パターンを示し、以前 *S. carlsbergensis* と記載されていた1株は、Melibioseの発酵能で異なるものの、*S. cerevisiae* と同一の泳動パターンを示した。

このように、*S. cerevisiae*, *S. bayanus*, および *S. uvarum* は系統的に非常に近縁な関係にあると考えられた。

*S. fermentati* および *S. bailii* は、*S. cerevisiae*, *S. bayanus*, および *S. uvarum* とは異なる泳動パターンを示し、系統的に異なる関係にあるものと考えられた。

未同定の *Saccharomyces* sp. 3株のうち、ワイン酵母2株は酵素の泳動パターンおよび生理学的性質ともに、*S. cerevisiae* と同一であるため、この2株は *S. cerevisiae* と考えられた。また、シェリー酒酵母 Jerez-No. 5 は、酵素の泳動パターンおよび生理学的性質から *S. bayanus* と考えられた。

本研究を行うにあたり、貴重な菌株を分譲して下さいました、東京大学発酵学研究室の別府輝彦教授、醸造試験所の原昌道博士、キッコーマン(株)中央研究所の渡辺正澄氏、および西ドイツ、Geisenheim, Botanisches Institut の Prof. Dittrich に深く感謝いたします。

## 文 献

- 1) Lodder, J.: *The Yeasts A Taxonomic Study*, North Holland Publ. Co., Amsterdam (1970).
- 2) 土屋: 酵母の血清学的分類, 微生物の新しい分類学, (長谷川武治編), p. 240, 講談社サイエンスフィック (1974).
- 3) Spencer, J. F. T., Gorin, P. A. J.: *Antonie van Leeuwenhoek J. Microbiol. Serol.*, **35**, 361 (1969).
- 4) Yamada, Y., Nojiri, M., Matsuyama, M., Kondo, K.: *J. Gen. Appl. Microbiol.*, **22**, 325 (1976).
- 5) Meyer, S. A., Phaff, H. J.: *J. Bacteriol.*, **97**, 52 (1969).
- 6) Nakase, T., Komagata, K.: *J. Gen. Appl. Microbiol.*, **17**, 227 (1971).
- 7) Yarrow, O., Nakase, T.: *Antonie van Leeuwenhoek J. Microbiol. Serol.*, **41**, 81 (1975).
- 8) Ouchi, K., Saito, H., Ikeda, Y.: *Agr. Biol. Chem.*, **34**, 95 (1970).
- 9) Bicknell, J. N., Douglas, H. C.: *J. Bacteriol.*, **101**, 505 (1970).
- 10) von Arx, J. A., Rodrigues de Miranda, L., Smith, M. T., Yarrow, D.: *The genera of yeasts and the yeast-like fungi, Studies in Mycology* No.14, Centraalbureau voor Schimmelcultures, Institute of the Royal Netherlands Academy of Arts and Sciences, The Netherlands (1977).
- 11) Barnett, J. A., Payne, R. W., Yarrow, D.: *A guide to identifying and classifying yeasts*, Cambridge University Press, London (1979).
- 12) 竹田・塚原: 醸工, **53**, 103 (1975).
- 13) 小玉・小崎・北原: 醸工, **53**, 763 (1975).
- 14) 山崎・駒形: 酵母の酵素の電気泳動パターンによる *Rhodotorula-Rhodospiridium* の研究, 微生物の生態9, (微生物生態研究会編) p. 199, 学会出版センター (1981).
- 15) Yamazaki, M., Komagata, K.: *Int. J. Syst. Bacteriol.*, **31**, 361 (1981).
- 16) Yamazaki, M., Komagata, K.: *J. Gen. Appl. Microbiol.*, **28**, 119 (1982).
- 17) 飯塚・後藤: 酵母の分類同定法, 東京大学出版会 (1973).
- 18) Siciliano, M. J., Shaw, C. R.: *Chromatographic and electrophoretic techniques*, (Smith, I.), 4th ed., Vol. 2, p. 185 (1976).
- 19) Nakazawa, R.: *J. Agr. Chem. Soc. Japan*, **9**, 285 (1933).
- 20) 坂口・森・鎮目: 農化, **13**, 713 (1937).
- 21) 後藤・横塚: 醸工, **35**, 1 (1957).
- 22) 横塚・後藤・両角: 山梨大学醸酵研報告9, 89 (1962).
- 23) Cruess, W. V.: *Univ. California Agric. Expt. Stat. Bull.* 710, Oct., (1948).
- 24) 横塚・後藤: 山梨大学醸酵研報告, 9, 99 (1962).
- 25) 山崎・石川・野々村: 山梨大学醸酵研報告, 16, 35 (1981).
- 26) Lodder, J., Kreger-van Rij, N. J. W.: *The Yeasts A Taxonomic Study*, North Holland Publ. Co., Amsterdam (1952).

(昭57. 8. 31受付)