

3G10-4 エタノールストレスによる酵母チオレドキシンの細胞外への放出

竹内 陽子¹, 井沢 真吾¹, 北岡 篤士², 清川 良文², 村田 一夫³, 若井 芳則², 淀井 淳司⁴, 〇井上 善晴¹
(¹京大院・農・応用生命, ²黄桜株式会社, ³レドックスバイオサイエンス, ⁴京大ウイルス研)

チオレドキシシン (TRX) は抗酸化酵素としてあらゆる生物種において広く認められる分子量約12000の低分子量タンパク質である。抗酸化作用のほかに、抗炎症作用、胃粘膜の保護作用、ジスルフィド結合の還元によるアレルギーの消化性の向上による低アレルギー化などの作用をもつことから、TRX は機能的食品としての利用が検討されている。ほ乳類においてTRXは、種々の細胞から分泌されることが知られているが、小胞体～ゴルジ体を経る分泌経路とは異なる機構で分泌されること以外、詳細な分子機構は明らかになっていない。今回、機能的食品素材としての酵母TRXの簡便な調製法を開発することを目的として、種々の環境ストレスによるTRXの細胞外への放出について検討した。その結果、酵母をエタノール処理すること、あるいは低浸透圧ショックや低pHショックを与えると、菌体外にTRXが放出されることを見いだした。また、清酒醸造においては高濃度のエタノールがもろみ中に蓄積することから、清酒もろみにおけるTRXの有無について検討した結果、発酵後期においてエタノール濃度が上昇するにつれてTRXが蓄積することを明らかにした。

Release of thioredoxin from yeast by ethanol stress

Yoko TAKEUCHI¹, Shingo IZAWA¹, Atsushi KITAOKA², Yoshifumi KIYOKAWA², Kazuo MURATA³, Yoshinori WAKAI², Junji YODOI⁴, 〇Yoshiharu INOUE¹
(¹Grad. Sch. of Agric., Kyoto Univ., ²Kizakura Sake Brewing, ³Redox Bioscience Inc., ⁴Inst. for Virus Res., Kyoto Univ.)

Key words thioredoxin, ethanol stress, yeast

3G11-1 アリシンの介助によって増幅されるポリミキシン B の抗真菌活性

〇荻田 亮¹, 長尾 安紘², 藤田 憲一², 谷口 誠², 田中 俊雄²
(¹阪市大・健康研セ, ²阪市大院・理)

【目的】臨床で使用される抗真菌性抗生物質には限りがあり、新規化合物の探索も容易ではない。既存の化合物について抗真菌活性の有無を検索したところ、抗グラム陰性細菌剤 polymyxin B (PMB) がニンニク由来含硫成分アリシンの存在下で *Candida albicans* や *Aspergillus fumigatus* などの病原性真菌に対して著しい活性を発揮する事実を見出した。今回は、出芽酵母をモデルとする系でアリシンによる抗真菌活性の増幅機構について解析した。

【方法と結果】PMBは *Saccharomyces cerevisiae* に対して微弱ながら殺菌作用を発揮するが、アリシンの共存下では強い致死作用が生じた。高濃度のPMBは細胞内K⁺の細胞外への漏出をある程度促進するものの、アリシンがこの種の細胞膜イオン透過性をさらに助長することはなかった。一方、アリシンとPMBの共存下では、液胞が球状の膜構造を失って完全に断片化することが明らかになった。アリシンは細胞膜リン脂質の過酸化を促進するが、その分解に対しては抑制的に作用する。アリシンの存在下では、PMBがより早く細胞懸濁液上清から消失した。アリシンはリン脂質の過酸化を介してPMBの細胞内への取り込みを促進することで、PMBの液胞膜への作用を助長したと考えられる。

Allicin-dependent amplification of the antifungal activity of polymyxin B

〇Akira OGITA¹, Yasuhiro NAGAO², Ken-ichi FUJITA², Makoto TANIGUCHI², Toshio TANAKA²
(¹Res. Center for Urban Health & Sports, Osaka City Univ., ²Grad. Sch. Sci., Osaka City Univ.)

Key words polymyxin B, allisin, *Saccharomyces cerevisiae*, vacuole

3G10-5 清酒製造工程中のチオレドキシンの消長

〇北岡 篤士¹, 清川 良文¹, 村田 一夫², 若井 芳則¹, 淀井 淳司³, 井上 善晴⁴
(¹黄桜株式会社, ²レドックスバイオサイエンス, ³京大・ウイルス研, ⁴京大院・農)

チオレドキシシン (TRX) は、種々の酸化ストレスにより誘導されて抗酸化作用を示すほか、様々な生理活性が報告されていることから、機能的食品素材としての利用が注目されているタンパク質である。我々は酵母TRXがエタノールや低浸透圧ショック、低pHショックによって菌体外に放出されることを見いだすとともに、清酒醸造過程においても酵母TRXがもろみ中に蓄積することを見いだした。そこで、醸造酒類の中でアルコール濃度が高いことが特徴である清酒について、TRX 含量の検討を行った。さらに、清酒の醸造から製品化までの各工程における TRX 含量の消長を明らかにし、高TRX含有清酒の製造法について検討した。種々のアルコール飲料中に含まれる TRX 含量を比較した結果、各酒類間に大きな違いが認められた。清酒中のTRX含量についてさらに詳しく調べた結果、使用酵母、仕込方法や処理工程の違いでTRX含量に大きな差が生じることが分かった。醸造工程では、もろみ期間の前半ではTRXはほとんど検出されず、もろみ末期において TRX 含量の増加が確認された。またアルコール添加により、TRX含量が大幅に増加することから、もろみ末期の高ストレス環境下において、酵母菌体内のTRXが清酒もろみ中に放出されると考えられた。原酒処理工程では、活性炭ろ過やオリ下処理によって清酒中のTRX含量が大幅に減少することが明らかとなった。

Transition of Thioredoxin in Sake Manufacturing Process

〇Atsushi KITAOKA¹, Yoshifumi KIYOKAWA¹, Kazuo MURATA², Yoshinori WAKAI¹, Junji YODOI³, Yoshiharu INOUE⁴
(¹Kizakura Sake Brewing, ²Redox Bioscience Inc., ³Inst. for Virus Res., Kyoto Univ., ⁴Grad. Sch. Agric., Kyoto Univ.)

Key words thioredoxin, sake brewing

3G11-2 ポリミキシン B の抗真菌活性を増幅するイオノフォア類とそれらの協調作用

〇小西 由希子¹, 荻田 亮², 藤田 憲一¹, 田中 俊雄¹
(¹阪市大院・理, ²阪市大・健康研セ)

【目的】polymyxin B (PMB) は細胞表層のリポ多糖ならびに酸性リン脂質への作用を介してグラム陰性細菌の細胞膜透過性を変化させる。PMBの酵母や糸状菌に対する生育阻害活性は微弱であるが、その細胞質への取り込みを促進する分子の存在下では液胞膜断片化作用にもとづく致死作用を発揮すると考えられる。本研究では、PMBの抗真菌活性を増幅する成分がアリシン以外にも存在するかどうか検討した。

【方法と結果】PMBの存在下で *S. cerevisiae* の生育を阻害する薬剤の検索を行ったところ、イオノフォアの一種である salinomycin (SAM) と monensin (MON) に目的とする活性を見出すことができた。PMB + SAMは酵母に対してのみ強い相乗作用を示したが、PMB + MONは酵母に加えて糸状菌に対しても相乗作用を発揮した。*S. cerevisiae*をいずれの組み合わせで処理した場合も、死細胞においては液胞膜の断片化が観察された。一方、Ca²⁺はPMBならびにPMB + SAMの作用を著しく抑制することが判った。現在、PMBの細胞質への取り込みに対するSAMやCa²⁺の影響について検討中である。

Amplification of polymyxin B-mediated antifungal activity by ionophores

〇Yukiko KONISHI¹, Akira OGITA², Ken-ichi FUJITA¹, Toshio TANAKA¹
(¹Grad. Sch. Sci., Osaka City Univ., ²Res. Center for Urban Health & Sports, Osaka City Univ.)

Key words polymyxin B, ionophore, vacuole, *Saccharomyces cerevisiae*