

## シンポジウム(微生物の類縁性)

155

## 酵母の血清学的分類

(明治薬大) 深沢義村

1. 目的 酵母の分類に関しては近年 Lodderらによって菌種の整理統合ないし種の創設などが行なわれ、酵母の新しい分類が *The Yeasts* (1952) の初版で提案された。Lodderら が採用した分類基準は細胞の形態と、子のう胞子 (ascospore) と射出胞子 (ballistospore) の形成の有無とそれらの形態、増殖方法、液体ならびに固型培地上の培養性状、および糖の発酵ならびに同化作用などであった。最近 *The Yeasts* の新版 (1970) が出版されたが、基本的には従来の方法と異ならず、同化作用に30余種の炭素化合物を追加し、種名は約360余種に増加した。

酵母の分類や同定に血清学的方法を用いる試みは古くから行なわれ、Benham (1931) は凝集反応によって4種の *Candida* および *Saccharomyces cerevisiae* と *Hansenula anomala* を鑑別できると報告した。同様な研究はすでに Hines, Epstein, Keston および湯川らによって行なわれ、とくに湯川ら (1928, 1929) は Benham の研究に先んじて、24種の酵母を用いる凝集反応、沈降反応、補体結合反応などによって、それらの系統発生的研究を行ない、酵母の分類には形態や培養性状などによるほか、血清学的性状も考慮すべきことを強調した。また Benham 以後もこのような研究は少なくなく、Martin (1942), Seeliger (1958), Pospisil (1959), Biguet (1962), Campbell (1968) らは種々の免疫反応によって、多くの酵母の類縁関係を明らかにした。ことに土屋らはスライド凝集反応によって多数酵母の抗原分析を行ない、それぞれの抗原構造を明らかにし、また因子血清による血清学的迅速同定法を示した。土屋ら (1965) はさらに血清学的ならびに生物学的諸性状に基づいた酵母の新しい分類体系を提案した。われわれは酵母の血清学的研究の中で最も広範かつ詳細な抗原関係を示した土屋らの血清学的分類について、主な抗原による型別、抗原性状による系統的類縁関係、抗原決定基の化学構造、抗原の分類学的意義などについて述べる。

2. 方法 抗原分析と抗原式：われわれがはじめに抗原分析を行なった酵母は、ヒトからよく分離される7種の *Candida* であった。7種のそれぞれの菌株の加熱菌でウサギを免疫した抗血清をそれぞれ異種の加熱菌で吸収した吸収血清と7種の *Candida* 菌株とのスライド凝集反応のパターンにより7種の *Candida* の抗原式を推定し、抗原構造をアラビア数字で表わした。この7種の *Candida* の抗原構造を基礎として、交差反応を示す多数の酵母の抗原構造を順次明らかにした。

細胞壁多糖類のPMR スペクトル：酵母の血清学的特異性は細胞壁表層多糖類の立体化学構造に基づくものと考えられる。一方近年PMR スペクトル分析が糖化学に重要な情報を提供するようになった。そこで加熱菌体から2% KOHで多糖類(主としてマンナン)を抽出し、銅複合体として精製し、その重水溶液を用い、日本電子100 MHz 核磁気共鳴装置で90℃で測定し、各菌種マンナンのH-1部位のシグナルを比較した。

抗原決定基の解明：血清学的特異性は多糖類側鎖の化学構造に基づくものと考えられ、このような側鎖のオリゴ糖は抗原決定基と呼ばれる。抗原決定基の解明は次のごとく行な

った。すなわちマンナンを酢化分解した後Bio-Gel P-2を用いてゲル濾過を行ない、オリゴ糖を集め、PMRスペクトル分析、メチル化分析を行なってオリゴ糖の化学構造を検討し、またオリゴ糖による定量沈降阻止反応の成績も考慮して推定した。

### 3. 結果

(1) 酵母の血清群: 土屋らは酵母を抗原的に独立した5群に分類した。すなわち第1群は *C. albicans* と共通抗原をもつ大きな1群で *Candida*, *Torulopsis*, *Kloeckera*, *Pichia*, *Hansenula*, *Deboryomyces*, *Torulospira*, *Saccharomyces*, *Kluyvelomyces* 属などの菌種が含まれる。第2群は独自の抗原をもつ *Schizosaccharomyces pombe*, *C. lipolytica* などの菌種が含まれ、第3群は独自の抗原をもつ *Rhodotorula glutinis* と *Sporoboromyces salmonolor* が含まれ、第4群は独自の抗原をもつ *R. pallida* と *S. gracilis* が含まれ、さらに第5群は *Cryptococcus* 属の多くの菌種が含まれる。

(2) 抗原と生物学的性状との関係: 上述の第1群について抗原性状と生物学的性状との関係は次のように要約することができる。

(a) 独自の抗原性状と独自の生物学的性状をもつた菌種—抗原構造の明らかな菌種(172種)の中87種(50.6%)がこのような関係を示し、完全に独立した菌種と認められる。(b) 種は異なるが抗原性状は同一な菌種—Lodderらが変種としたいいくつかの菌株の抗原構造はそれぞれ独立株のそれと同一であった(*C. guilliermondii* var. *membranoefaciens* と *C. guilliermondii*)。また完全菌と不完全菌の間には多くの例において抗原構造の同一性が認められた(*S. cerevisiae* と *C. robusta*)。(c) 所属する属より抗原的に他の属により近縁な菌種—*S. pastori* と *D. fluxorum* は *Pichia* の菌種に、また *H. matritensis* は *Deboryomyces* の菌種により近縁である。(d) 生物学的には同一ないし近似の性状をもつが抗原的には異なる菌種—このような例は *S. cerevisiae* や *C. albicans* の菌株にみられ、同一菌種の異なる血清型として菌種の新しい細分類の問題を提起している。(e) 生物学的には鑑別できにくい菌種—*S. delbrueckii*, *S. exiguus* および *S. rosei* の生物学的性状は互いに近似しかつ変異もみられることから、これらの菌株中には多くの誤同定株(mislabeled strain)のあることが血清学的方法によって見いだされた。

(3) 抗原の特異性とPMRスペクトルの関係: きわめて多くの例において菌種が多糖類のPMRスペクトルと抗原性状との間に相関関係が見いだされ、抗原分析の裏付けとしてPMRスペクトルは重要な役割をもつことが明らかになった。

(4) 抗原決定基と種の特徴: われわれは抗原構造をアラビア数字で表わしてきたが、これらの抗原因子の化学構造が示されてはじめて分類基準としての実体が理解されるものと考えられる。そこでわれわれはこれまでに *Saccharomyces* や *Candida* に存在する数種の抗原因子の決定基の化学構造を明らかにした。その結果、抗原決定基は多糖類側鎖のオリゴ糖であり、この合成の多様性がそれぞれの菌種にとって特徴的であることが示された。