

酵母の簡便な培養法と教材化の検討

Simple Culturing Methods for Yeast and Teaching Experiments

岩井 草介*・菊池 智子*・三浦 貴士*

Sosuke IWAI*・Tomoko KIKUCHI*・Takashi MIURA*

要 旨

出芽酵母は、増殖が速く、増殖期にある細胞では無性生殖の1つである出芽の観察も容易なため、学校で簡単に培養することができれば実験教材としての幅広い活用が期待できる。そこで本研究では、身近にある材料を使って簡便に酵母を培養する方法を検討した。その結果、糖および園芸用液体肥料を成分とする液体培地で、市販のドライイーストの酵母が増殖することを見出した。培養液中の酵母を顕微鏡で観察したところ、出芽中の細胞が多数見られた。また上の成分のいずれかを欠いた培地ではほとんど増殖しなかったことから、酵母の増殖には炭素源と、窒素・リン・ビタミン類・無機塩類などの炭素源以外の栄養素の両方が必要であることが確かめられた。この実験は、生物の増殖に必要な栄養素や生物を構成する元素についての理解につながると考えられる。さらに、糖・ブイヨン・粉寒天を成分とする寒天培地で酵母が増殖することも見出した。

キーワード：出芽酵母 培地 増殖 無性生殖 世代時間

1. はじめに

出芽酵母 *Saccharomyces cerevisiae*（以降は単に酵母と呼ぶ）は、高校の生物ではよくアルコール発酵の実験に用いられ、その他にも無性生殖や、微生物の産業応用などの例として言及されることもある。菌類の中でも子囊菌門に属する単細胞の真核生物であり、カビから進化した生物と考えられている^{1)~4)}。周囲に栄養が豊富にある状況では、出芽によって無性的に増殖する。一方、生育に必要な炭素源や窒素源が枯渇すると、有性的な過程に入り、減数分裂を経て一倍体の孢子を形成する。再び栄養が豊富になると孢子は発芽して増殖を再開するが、通常はその際接合によって二倍体を形成する。酸素がない状況ではアルコール発酵を行ってエタノールを分泌することから、古くから人類によって醸造やパンの製造などに利用されてきた。遺伝学的解析の容易さから、近年は真核細胞研究のモデル生物としてもよく用いられている。なお分子系統学的な研究から、*S. cerevisiae* の中でも人類によって利用されている仲間には少なくともワイン酵母と清酒酵母の2つの系統があり、これらは数千年前に人類が醸造を始めた頃には分岐していたと考えられている⁵⁾。ビール酵母やパン酵母もワイン酵母の仲間である。

真核生物としては増殖が速く（倍增時間（世代時間）が約3時間⁴⁾）、増殖期にある細胞は分裂（出芽）の観察も容易であるため、学校で簡単に培養して増殖させることができれば、アルコール発酵以外にも実験教材としての幅広い活用が期待できる。アルコール発酵の実験でよく用いられるドライイーストは、酵母を乾燥させた状態で保存したもので、酵母は生存しているが、そのまま顕微鏡で観察しても出芽を行っている（分裂期にある）細胞は少ない（図1A）。出芽を観察するには酵母を培養する必要があると考えられるが、一般的な酵母の培養法には複雑な培地や煩雑な無菌操作が必要であり¹⁾、学校で行うには困難があると思われる。そこで本研究では、酵母を実験教材としてさらに活用するために、酵母の簡便な培養法を検討した。その結果、身近にある材料で液体培地や寒天培地を作製し、それらを用いて市販のドライイーストの酵母を増殖させることができた。以下では、液体培地と寒天培地に分けて、それぞれ培地の組成と作製法、培養の方法、培養の結果、および関連する実験について述べる。特に液体培地に関しては、生物の増殖に必要な栄養素や生物を構成する元素についての理解につながる新しい実験を提案する。

*弘前大学教育学部理科教育講座

Department of Biology, Faculty of Education, Hirosaki University

2. 液体培地と関連する実験の検討

2-1 酵母の増殖に必要な栄養素に関する文献情報

高校の生物の教科書には、細胞を構成する物質は水・有機物・無機塩類であり、有機物には炭水化物・脂質・タンパク質・核酸などがあることが述べられている。これらの有機物はいずれも炭素(C)・水素(H)・酸素(O)を含んでおり、その他にタンパク質と核酸は窒素(N)を、脂質と核酸はリン(P)を、タンパク質は硫黄(S)を含んでいるため、従属栄養微生物が増殖するには、少なくともこれらの元素を含む栄養源が培地に欠かせない。実際に、酵母が増殖するのに必要な最低限の栄養素からなる“最少培地”は、グルコース・窒素源・無機塩類・ビタミン類からなる(表1)。一般に酵母は、炭素源として特にグルコースやフルクトースを好むが、他にも多くの炭水化物が利用可能である⁶⁾。窒素源としては、大気中の窒素を固定する能力はないため、主にアミノ酸やアンモニアを利用するが、硝酸を利用する種もある⁷⁾。研究室で単に酵母を増殖させる場合に用いられる“完全培地”には、窒素源・無機塩類・ビタミン類などをまとめて含む材料として、タンパク質の酵素消化物と酵母エキスが用いられている(表1)。

2-2 液体培地の組成と作製法

酵母を増殖させるための液体培地の材料として、以上のような栄養素を含んでいることに加え、教育的な実験ができるように以下の条件を満たすものを検討した。

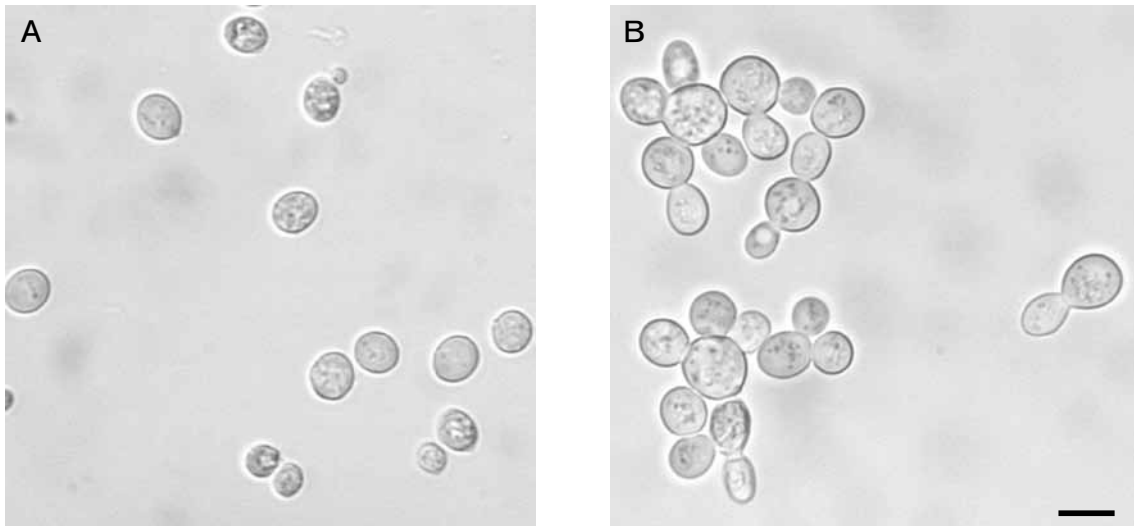
- 1) 安価で入手しやすい。
- 2) 炭素源とそれ以外の栄養源が別々になっており、培地からどちらか一方を除く実験が可能である。
- 3) 成分のほとんどが水溶性であるため、酵母の増殖を培養液の濁りから肉眼によっても確認することが可能である。

検討の結果、以上の条件に適合するものとして、2%グラニュー糖、1%園芸用液体肥料“花工場原液”(住友化学園芸)とミネラルウォーターを成分とする液体培地で酵母が増殖することを見出した(後述)。以降はこの培地を“液肥培地”と呼ぶ。グラニュー糖の主成分はスクロースであり、炭素・水素・酸素以外の元素はほとんど含まれていない。一方、花工場原液の組成は、製造者の表示によるとアンモニア性窒素3.3%、硝酸性窒素0.7%、カリウム5.0%、マグネシウム0.08%、マンガン0.004%、ホウ素0.016%となっており、加えて「ビタミン入り」との記述もあることから、炭素源以外の酵母の増殖に必要な栄養素は十分に含んでいることが期待される。ただし、「ビタミン」は炭素を含んでいる可能性がある。これらの材料を、水道水の塩素を避けるためおよびミネラル補充のために、市販のミネラルウォーターに溶かした。

以下に液肥培地の作製法の一例を示す。

- ①100 mlの三角フラスコにミネラルウォーター(南アルプス天然水(サントリー)など)を50 ml入れる。
- ②グラニュー糖を1g量り取って加える。
- ③駒込ピペット等で花工場原液(住友化学園芸)を0.5 ml加える。
- ④時々軽く振り混ぜながらガスバーナーや電子レンジ

図1 酵母の顕微鏡写真。太線は10 μ m。試料は正立顕微鏡CH30(オリンパス)で40倍の対物レンズを用いて観察し、USBカメラWRAYCAM G-900(レイマー)によって撮影した。A:ドライイーストをミネラルウォーターに懸濁してすぐに観察したもの。B:ドライイーストの酵母を液肥培地で1晩培養したもの。



等でしばらく煮沸して殺菌する。

- ⑤直径3 cmのガラスシャーレおよびフタを必要個数分鍋などで熱湯消毒してから、使用するまで逆さまにしてキッチンペーパーの上に置く。
- ⑥培地を厚さがおおよそ5 mm程度になるようにシャーレに注ぎ入れたら、すぐにシャーレのフタをする。
- ⑦室温まで冷ます。カビや細菌等による汚染を避けるために作製後はなるべく早く使用することが望ましいが、すぐに使用しない場合は冷蔵庫に保存する。

2-3 液体培地による培養の方法

以下に液肥培地を用いた市販のドライイースト酵母の培養法の一例を示す。

- ①ピーカーにミネラルウォーターを10 ml 入れ、ガスバーナーや電子レンジ等で煮沸して殺菌してから、アルミホイルで蓋をして室温まで冷ます。
- ②薬さじをガスバーナーやアルコールランプ等で軽くあぶって殺菌し冷ましてから、上の液体にドライイースト（オーマイふっくらパンドライイースト（日本製粉）など）の顆粒を10数粒程度加え、そのまま薬さじでよく攪拌して懸濁液を作る。なおドライイーストは開封後も数ヶ月間は冷蔵庫で保存することが可能である。
- ③駒込ピペットの先をガスバーナーやアルコールランプ等で軽くあぶって殺菌し冷ましてから、雑菌がなるべく混入しないようガスバーナーやアルコールランプの火炎の下方で、培地が入っているシャーレにドライイーストの懸濁液を0.5 ml 加える。
- ④酵母の生育至適温度は30°Cであるため¹⁾、なるべく30°Cに近い温度で静置する。そのために、夏季はそのまま室内に置き、それ以外の時は白熱電球を用

表1 酵母のおもな培地の組成。文献1) とフナコシホームページ (<http://www.funakoshi.co.jp/>) の Yeast Medium YNB (Yeast Nitrogen Base) の項をもとに作成した。

完全培地 (YPD 培地)		最少培地 (SD 培地)	
グルコース	20 g	グルコース	20 g
ペプトン	20 g	(NH ₄) ₂ SO ₄	5 g
酵母エキス	10 g	KH ₂ PO ₄	1 g
		MgSO ₄	0.5 g
		NaCl	0.1 g
		CaCl ₂	0.1 g
		ビタミン類	計4.004 mg
		微量元素	計1.84 mg
水	1 L	水	1 L

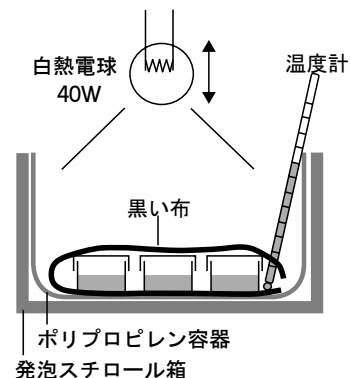
いた簡単な保温装置 (図2) によって30°C付近に保つ。

- ⑤1晩である程度増殖する。増殖後はなるべく早く観察などに供することが望ましいが、実験に使用しない場合は冷蔵庫で1週間程度保存できる。

2-4 培養液中の酵母の観察

前項の方法で1晩培養した酵母を顕微鏡で観察したところ、ドライイーストをそのまま観察した場合と異なり、出芽中の細胞が多数見られた (図1B)。これは、培養液中の酵母は対数増殖期にあるものが多かったためと考えられる。本研究の培養法によって増殖した酵母の特徴として、複数の細胞が鎖状につながっているのが頻繁に見られた。これは、細胞分裂が終わった後も娘細胞と母細胞が離れずにそのままつながっているためと考えられる。酵母の形態には、周囲に栄養があるときに現われる楕円状の“酵母形”と、栄養が不足したときに現われる糸状の“偽菌糸形”の2種類があることが知られているが⁸⁾、図1Bの細胞は楕円の形態を保っているため、“酵母形”の増殖である。出芽の位置についても一倍体と二倍体で異なっており、娘細胞で新たに出芽が起こるとき一倍体では母細胞と同じ側で起こるのに対して、二倍体は母細胞の反対側で起こる“双極性”の出芽を示すことが知られている⁹⁾。図1Bでは“双極性”の出芽が見られることから、用いた酵母は二倍体だったことが分かる。以上をまとめると、観察された増殖様式は、栄養がある状況での二倍体細胞の出芽と言える。分裂が終わった後も娘細胞と母細胞が離れずにつながっているものが多いのは、静置培養のため細胞に機械的なせん断力が作用しないことも一因であろう⁸⁾。

図2 酵母培養のための簡単な保温装置。液体培地にも寒天培地にも使用できる。室温や容器の大きさなどによって温度は変わるので、白熱電球の位置を上下することによって温度を調節する (酵母の培養の場合は30°C付近に保つ)。



2-5 栄養による増殖の違い

培地の栄養の欠如によって増殖に差が生じれば、生物の増殖に必要な栄養素についての教材になると期待される。そこで、液肥培地からグラニュー糖（炭素源）または園芸用液体肥料（窒素・リン・ビタミン類・無機塩類）を除いて酵母の増殖を調べた。実験としては、2-2項の培地の作製法においてグラニュー糖または花工場原液のどちらか一方を加えない培地、さらに対照として両方とも加えない培地（それぞれ“糖なし”、“液肥なし”、“両方なし”と呼ぶ）を作製し、2-3項と同様に酵母を培養した。1晩培養したところ、液肥培地では増殖した酵母によって培養液が濁ったのに対して、どちらかの栄養を除いた培地ではほとんど濁りは見られなかった（図3）。増殖の差をさらに詳しく調べるために、各培養液をスライドガラス上に10 μ l 滴下し、カバーガラスをかぶせてから顕微鏡（400倍）の視野に見える全ての細胞の数をカウントした。無作為に選んだ10ヶ所の視野について数えて平均を求めたところ、液肥培地のみ“両方なし”との間に有意な差が見られた（図4）。“両方なし”は実質的にただのミネラルウォーターであり、栄養源がなく細胞が増殖することはないと考えられるので、液肥培地のみ酵母は増殖したと言える。以上より、酵母が増殖するためには、炭素源と、窒素・リン・ビタミン類・無機塩類などの炭素源以外の栄養素の両方が必要であると結論される。

世代時間（倍增時間）は、微生物が1つの細胞から分裂によって2つの細胞になるまでの時間であり、微生物の増殖速度の指標となる^{10),11)}。今、微生物が培養の期間中ずっと対数増殖期にあったと仮定する。世代時間を T とすると時間 t の間の分裂回数は t/T になるので、時刻 t における細胞数 $N(t)$ は

$$N(t) = N(0) \cdot 2^{\frac{t}{T}} \quad (1)$$

と表される^{10),11)}。ただし $N(0)$ は時刻0（培養前）の細胞数。これを解くと、世代時間は

$$T = \frac{\ln 2 \times t}{\ln N(t) - \ln N(0)} = \frac{0.693 \times t}{\ln N(t) - \ln N(0)} \quad (2)$$

と求められる。“両方なし”で細胞は全く増殖しなかったと仮定すると、“両方なし”の細胞数を培養前の細胞数とみなして、本培養法での酵母の世代時間を見積もることができる。実験の結果、“培養前”の1視野の平均細胞数は4.9、培養後の平均細胞数は58であり（図4）、培養時間は24時間だったので、これら

を(2)式に代入すると、世代時間は6.7時間と求められる。対数が未習の場合は、さらに簡単に

$$2^{\frac{24}{8}} < \frac{58}{4.9} < 2^{\frac{24}{6}} \quad (3)$$

から、世代時間は6時間と8時間の間と見積もることもできよう。出芽酵母の世代時間は条件がよい場合は約3時間であるが⁴⁾、液肥培地は完全培地と比較すると栄養が不足していることや、振とう培養でないために酸素の供給が不足している可能性があることを考慮すると、見積もられた値は妥当なものと言える。ただし、酵母のような微生物の増殖曲線には、実際は対数増殖期の前には遅滞期、後には定常期という増殖を示さない時期があるのが常なので^{10),11)}、このように2点の細胞数のみから見積もった世代時間には誤差が含まれる可能性がある。

3. 寒天培地と関連する実験の検討

3-1 寒天培地の組成と作製法

前項まで液体培地を検討してきたが、身近な材料で作製できる寒天培地があれば、可能な実験が増えるだ

図3 液体培地で1晩培養した酵母。

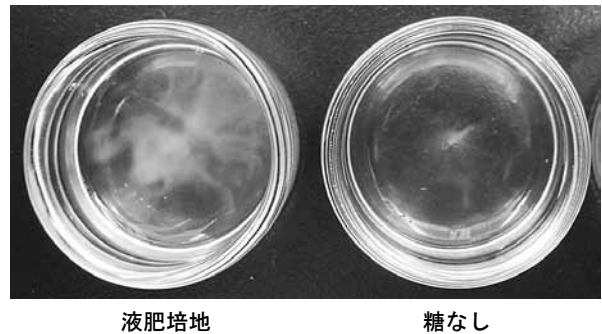
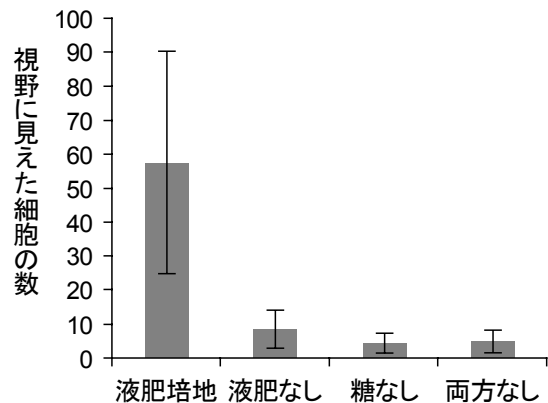


図4 顕微鏡（400倍）の視野に見えた細胞の数。標本は、酵母を1晩培養してから培養液を10 μ l 採取して作製した。グラフは10ヶ所の視野についての平均を、棒は標準偏差を表す。一定以上の大きさの細胞であれば、つながっているものも別々に数えた。



けでなく、寒天培地を用いた微生物の培養一般についても学ぶことができる。液肥培地にそのまま寒天を加えて固化した培地を用いてドライイーストの酵母を培養したところ、コロニーが現われるまでに約1週間かかった。通常2日後にはコロニーが現われる完全培地（表1）の寒天培地と比べて増殖が遅いのは、前述のように液肥培地の栄養が少ないためであろう。そこで寒天培地の材料として、身近にあって栄養を豊富に含んでいるものを新たに検討した。コンソメ（味の素）は酵母エキスなどのさまざまなエキス類を含んでおり、実際にそれを用いた寒天培地で酵母は良好な増殖を示したが、寒天培地作製の際に培地表面に油が固まって微生物のコロニーと混同する恐れがあった。一方、化学調味料無添加ブイヨン（ネスレ）は、コンソメと同等の酵母の増殖を示しながら、油も出ないことが分かった（図5）。無添加ブイヨンを用いた寒天培地の組成は、2%グラニュー糖、2%無添加ブイヨン、2%粉寒天とミネラルウォーターである。以降はこの培地を“ブイヨン寒天培地”と呼ぶ。

以下にブイヨン寒天培地の作製法の一例を示す。

- ①200 mlの三角フラスコにミネラルウォーター（南アルプス天然水など）を100 ml入れる。
- ②グラニュー糖2 g、化学調味料無添加ブイヨン（ネスレ）2 g、粉寒天（かんでんクック（伊那食品工業）など）2 gを量り取って加える。
- ③時々軽く振り混ぜながらガスバーナーやガスコンロ等でしばらく煮沸して、寒天を溶かすとともに殺菌する。寒天が含まれていると沸騰した際に発泡しや

図5 ブイヨン寒天培地で増殖した酵母。シャーレのフタを開けて撮影した。写真のプレートでは、最初にまいた酵母の量が多かったため、コロニーのほとんどは融合して区別できない。



すいので、注意する。

- ④アルミホイルで蓋をして素手で触れられるぐらいになるまで冷ます。熱いままシャーレに注ぐと、結露が多い。
- ⑤直径9 cmのガラスシャーレ4～5個を鍋などで熱湯消毒してから、使用するまで逆さまにしてキッチンペーパーの上に置く。
- ⑥シャーレに20～25 ml程度注ぎ入れたら、すぐにシャーレのフタをする。
- ⑦固化するまで室温で放置する。カビや細菌などによる汚染の可能性があるので、作製後はなるべく早く使用することが望ましいが、使用しない場合は冷蔵庫に保存する。

3-2 寒天培地による培養の方法

アルコール発酵の発酵液をそのままブイヨン寒天培地に塗布しても酵母は増殖するが、ここでは市販のドライイースト酵母をそのままブイヨン寒天培地で培養する場合の例を示す。

- ①ピーカーにミネラルウォーターを10 ml入れ、ガスバーナーや電子レンジ等で煮沸して殺菌してから、アルミホイルで蓋をして室温まで冷ます。
- ②薬さじをガスバーナーやアルコールランプなどで軽くあぶって殺菌し冷ましてから、上の液体にドライイースト（オーマイふっくらパンドライイースト（日本製粉）など）の顆粒を10数粒程度加え、そのまま薬さじでよく攪拌して懸濁液を作る。
- ③アルミホイル等で蓋をして、室温で10分以上置く。
- ④容量1または2 mlの駒込ピペットの先をガスバーナーやアルコールランプ等で軽くあぶって殺菌して冷ましてから、ガスバーナーやアルコールランプの火炎の下側で寒天培地にドライイーストの懸濁液を0.1 ml加え、軽くあぶって冷ました薬さじで寒天表面に塗り広げる。
- ⑤ひっくり返して（寒天を上にして）静置する。夏季はそのまま室内に置き、それ以外の時季は簡単な保温装置（図2）で30℃付近を保つ。2晩程度で酵母のコロニーが現れる。増殖後はなるべく早く観察等の実験に供することが望ましいが、冷蔵庫で少なくとも1週間は保存することができる。

3-3 培養した酵母を用いたアルコール発酵

ブイヨン寒天培地で増殖させた酵母を用いて、アルコール発酵を行った。シャーレいっぱい増殖した酵母（図5）を薬さじで全て採取し、10%グルコース溶

液 5 ml を入れた試験管に入れて室温に置いた。しばらくすると気泡が発生するようになり、その後数日間気泡を発生し続けた。しかし、ドライイーストを用いた通常のアルコール発酵の実験よりは気泡の量は少なく、その原因については不明であった。

4. 考察

本研究では、出芽酵母を実験教材としてさらに活用できるように、酵母の簡便な培養法を検討した。まず液体培地については、2%グラニュー糖、1%園芸用液体肥料とミネラルウォーターを成分とする“液肥培地”で、市販のドライイーストの酵母が増殖することを見出した。培地の材料はスーパーやホームセンターなどで入手可能であり、また培地の作製や培養の操作にも特別な装置は必要でないため、この培養法は学校などでも十分可能と思われる。本研究の方法で培養した酵母は、静置培養であることもあって、大部分の細胞が分裂中もしくは分裂が終わった後も娘細胞が母細胞から離れない状態であったため、出芽の様子を顕微鏡でよく観察することができた。酵母の出芽は配偶子が関係しない無性的な過程であるため、出芽の観察は細胞分裂の観察というだけでなく、無性生殖の観察にもなる。

液肥培地は炭素源を含むグラニュー糖とそれ以外の元素を含む園芸用液体肥料からなるため、培地からどちらか一方を除く実験が可能である。どちらか一方の成分を除くと酵母がほとんど増殖しなかったことから、酵母の増殖には炭素源と、窒素・リン・ビタミン類・無機塩類などの炭素源以外の栄養素の両方が必要であることを確かめることができた。これはヒトが成長するために必要な栄養素とも似ており、この実験によって従属栄養生物の栄養摂取における共通性を学ぶことができる。さらに、生物が成長するためには必ずそれを構成する元素を含む栄養源を摂取しなければならないことを考えると、生物を構成する元素には炭素・水素・酸素だけでなく、それ以外に窒素やリンなどもあることが容易に想像できる。一方では、ヒトがこの液肥培地を飲んでも生きることができない理由を考えると、生物による窒素同化の方法の違いに目を向けることもあり得るだろう。

培養した酵母の細胞を顕微鏡で数えることによって、おおまかにではあるが酵母の世代時間(倍增時間)を見積もることができた。方法は、液肥培地で酵母を1晩培養した後、培養液から標本を作製して顕微鏡の視

野内にある酵母を数え、ミネラルウォーターのみで培養した試料と酵母の数を比較するというものである。標本作製の際に本研究ではマイクロピペッターを用いて培養液を採取したが、増殖を比較するためには等量の培養液を採取しさえすればよいので、パストールピペットの先にマジックで印をつけて、そこまで培養液を吸い取るようにするといった方法で対応できる。本研究の培養法では、酵母の世代時間は約7時間と見積もられた。出芽酵母の世代時間は条件がよい場合は約3時間とされているが⁴⁾、液肥培地は完全培地と比較すると栄養が不足していることや、振とう培養をしていないので酸素の供給が不足している可能性があることを考慮すると、妥当な値と言える。本研究での酵母を培養するための無菌操作は、実験机上での火炎を利用した簡易的なものであるが、他生物の汚染は比較的少なかった。これには液肥培地の栄養不足も一役買っているのかもしれない。

寒天培地についても、2%グラニュー糖、2%無添加ブイヨン、2%粉寒天とミネラルウォーターを成分とする“ブイヨン寒天培地”によって2晩程度で酵母を増殖させることができた。寒天培地は、培地溶液に寒天を加えることによって固化した固形培地である。寒天培地の上で動くことができない微生物は、1細胞から増殖して培地上に肉眼で見える細胞の集まり(コロニー)を形成するため、コロニーから細胞を採取して液体培地に移すことによって、原理的には1種類の微生物の純粋な培養が得られる¹⁰⁾。このように寒天培地は、微生物を分離して純粋培養を得るための基本的な手法であり、産業分野でもよく用いられることから、これを経験することは有用と思われる。ブイヨン寒天培地で増殖させた酵母を用いて、アルコール発酵の実験を行ったが、市販のドライイーストを懸濁してすぐに用いたものと比較して反応の活性は低かった。これは、ブイヨン寒天培地で増殖した酵母が、アルコール発酵を行いやすい生理状態ではなかったためかもしれない。今後は、発酵が活発に行われるような生理状態にするために、培養の条件などを検討する必要がある。一方ブイヨン寒天培地は、栄養が比較的豊富なため、酵母以外にも細菌などの微生物が増殖する可能性があるため、これも今後試したい。

参考文献

- 1) 水野貴之(2003)『バイオ実験イラストレイテッド7 使おう酵母 できる Two Hybrid』(秀潤社)
- 2) 大隅良典・下田親編(2007)『酵母のすべて一系統、

- 細胞から分子まで』(シュプリンガー・ジャパン)
- 3) 菊池韶彦 (2006) 『酵母のライフサイクルーノーベル賞に輝いた酵母の話』(サイエンス社)
 - 4) 柳島直彦 (1981) 『UP バイオロジー 酵母の生物学』(東京大学出版会)
 - 5) Fay, J. C. and Benavides, J. A. (2005) Evidence for domesticated and wild populations of *Saccharomyces cerevisiae*. *PLoS Genet.* 1(1):e5.
 - 6) Gancedo, J. M. (1998) Yeast carbon catabolite repression. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 62(2):334-361.
 - 7) Burn, V. J., Turner, P. R. and Brown, C. M. (1974) Aspects of inorganic assimilation in yeasts. *Antonie van Leeuwenhoek* 40:93-102.
 - 8) Kron, S. J. and Gow, N. A. R. (1995) Budding yeast morphogenesis: signalling, cytoskeleton and cell cycle. *Curr. Opin. Cell Biol.* 7:845-855.
 - 9) Freifelder, D. (1960) Bud position in *Saccharomyces cerevisiae*. *J. Bacteriol.* 80(4):567-568.
 - 10) Madigan, M. T., Martinko, J. M. and Parker, J. (2003) 『Brock 微生物学』(オーム社)
 - 11) 種村公平 (2010) 『絵とき生物化学工学基礎のきそ』(日刊工業新聞社)
- (2013. 8. 5 受理)