

29AB-pm246

病原真菌 *Candida albicans* から分離した呼吸変異株 KA1 におけるタンパク質発現変化 (1) ~細胞質基質のタンパク質

○佃 茂¹, 長澤 綱城¹, 喜名 あかね¹, 木村 道夫¹, 下川 修¹ (¹日本薬大)

【目的】呼吸活性が病原真菌 *Candida albicans* の抗真菌薬感受性に及ぼす影響を調べるために呼吸欠損株の分離を試みたところ、細胞学的に興味深い変異株 KA1 を得た。KA1 は親株に比べ増殖速度が著しく低下しており、形態学的には大型化し伸長して枝分かれした形態を示した。私たちは本変異株の示す特異な形態変化と呼吸活性との関連をタンパク質の発現変化の観点から研究に着手した。本研究で形態変化に焦点を当て細胞質基質における関連タンパク質の探索を行なった。

【方法】呼吸欠損株 KA1 (Lys⁻) は、*C. albicans* KD14 (Lys⁻) をアクリフラビン存在下 42°C で培養することにより分離した。培養した 2 株の細胞形態は、位相差顕微鏡とフローサイトメトリー法によって観察した。YEPG で培養した菌を集菌し、ガラスビーズを用い酢酸緩衝液 (pH5.5) で破碎し、700×g で遠心した上清をさらに 10,000×g で遠心し、上清を陽イオン交換にかけ 50mM~1M NaCl あるいは 0.3M~1M NaCl の溶出分画を得た。KD14 と KA1 から得られたそれぞれの分画を C18 カラムにかけアセトニトリル勾配でタンパク質を溶出させその溶出パターンを比較するとともに時間分取を行ない SDS-PAGE によりバンドの比較を行なった。

【結果と考察】顕微鏡観察では KA1 は細胞が膨らみ伸長しており枝分かれした形態が見られた。フローサイトメトリー法での前方散乱・側方散乱測定から酵母形細胞の一群のほか大型化し伸長した形態を示す細胞群の存在が明らかとなった。細胞質基質のタンパク質の比較では、KA1 で減少しているタンパクと新たに出現したタンパク質がみられた。これらの発現が変化したタンパク質の同定と形態変化との関連を調べている。