

29AB-pm247

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) ~ミトコンドリア分画のタンパク質

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

【目的】病原真菌 *Candida albicans* の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かれた形態を示した。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。本研究で呼吸関連に焦点を当て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。YEPG (酵母エキス、ペプトン、グルコース)、YEPGly (グルコースの代わりにグリセロール)、YNBG (グルコース含有 Difco YNB)、YNBGly (グリセロール含有 Difco YNB) 液体培地での KA1 の増殖を親株 KD14 と比較した (自動濁度測定器を使用)。YEPG で培養した菌を集菌し、ガラスビーズを用い破碎し、700×g で遠心した上清をさらに 10,000×g で遠心し、沈殿をミトコンドリア分画とした。得られた沈殿を 0.5% Triton X-100 を加えた緩衝液で可溶化し、可溶化タンパク質を陽イオン交換にかけ 50mM~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】KA1 は親株 KD14 に対して YEPG と YEPGly で増殖速度が非常に遅く、シトクロムの還元スペクトルではシトクロム b と c のピークに減少がみられた。ミトコンドリア分画のタンパク質の比較では、KA1 で減少しているタンパク質が複数見つかり、同定を試みている。今後、呼吸活性と形態変化の関連について調べる必要がある。