

氏名	秋 山 正 志
授与した学位	博 士
専攻分野の名称	理 学
学位授与番号	博甲第1549号
学位授与の日付	平成8年9月30日
学位授与の要件	自然科学研究科生物資源科学専攻 (学位規則第4条第1項該当)
学位論文題目	Molecular analysis of acriflavine resistance in <u>Neurospora crassa</u>
論文審査委員	アカパンカビにおけるアクリフラビン耐性の分子的解析 教授 中島 秀明 教授 榎本 雅敏 教授 香川 弘昭 教授 三村 護 教授 山本 啓司

### 学 位 論 文 内 容 の 要 旨

本研究ではアカパンカビを用い、変異によってアクリフラビンとアミノトリアソールに交差耐性を示す *acr-2* 遺伝子のクローニングを行った。*acr-2* 変異株由来のDNAから構築されたコスミドライブラリーによるsib選択とその後のサブクローニングの結果、5.8kbpの *KpnI* 断片内に *acr-2* 遺伝子が存在していることが分かった。*acr-2* 遺伝子は2.3kbの転写産物をコードしていた。近傍に位置する反対方向に転写される別の遺伝子はチオレドキシンをコードしていた。ACR-2蛋白質は595アミノ酸からなる分子量65.3kの蛋白質で、N末に菌類のZn(II)Cys6型のZnフィンガーモチーフと相同な領域を含んでいた。*acr-2* 遺伝子の破壊はアクリフラビンに対するhypersensitivityをもたらした。*acr-2* 遺伝子はアクリフラビンによる誘導は見られなかったが、*acr-2* 変異株において野性株よりも多量に発現していた。

並行して、*acr-2* 遺伝子の近傍に位置する *thi-4* 遺伝子及び *un-18* 遺伝子のクローニングと *frq11* 変異株の解析を行った。

## 論文審査結果の要旨

1940年代からアカパンカビは生化学遺伝学の対象であり、多くの代謝変異株が分離され、様々な生命現象の解析のために利用されてきた。その中に薬剤耐性機構の解析も含まれる。抗トリパノゾーマ剤として広く利用されていたアクリフラビンはDNAの三次元構造のなかに取り込まれることによって変異を誘導したり、核外DNAの分解を促進したり、またタンパク質リン酸化酵素の阻害剤として働くことも知られている。アカパンカビで、アクリフラビン耐性変異株は7種報告されている。これらの株の様々な薬剤に対する耐性の調査から、申請者は多剤耐性の現象を解析するために、アクリフラビンとアミノトリアゾールに交差耐性を示す *acr-2* 株を選び、この株のアクリフラビン耐性機構の解析を行った。

まず *acr-2* 変異株のゲノムDNAから作成したコスミドライブラリーを検索して *acr-2* 遺伝子を同定、クローニングして塩基配列を決定、変異部位を同定、発現状態を調査し、またこの遺伝子を破壊した株を作成してその性質を調べた。以上の研究から、この遺伝子の変異によって自身の発現が促進され、薬剤耐性の表現型が現れること、また産物は転写活性を持つことを示唆する結果を得た。これらはアカパンカビのアクリフラビン耐性機構の分子レベルでの解析の初めての成果であり、この分野における重要な貢献であると考えられる。したがって本論文は学位論文に値すると判定した。