

論文 / 著書情報
Article / Book Information

題目(和文)	
Title(English)	Identification and functional characterization of drug:H ⁺ antiporters of an endemic pathogen <i>Penicillium marneffe</i>
著者(和文)	UTAMISETYOWATI T
Author(English)	Setyowati Utami
出典(和文)	学位:博士(学術), 学位授与機関:東京工業大学, 報告番号:甲第11531号, 授与年月日:2020年3月26日, 学位の種別:課程博士, 審査員:折原 芳波,山本 直之,一瀬 宏,長田 俊哉,小倉 俊一郎,梶原 将
Citation(English)	Degree:Doctor (Academic), Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第11531号, Conferred date:2020/3/26, Degree Type:Course doctor, Examiner:,,,,,
学位種別(和文)	博士論文
Category(English)	Doctoral Thesis
種別(和文)	審査の要旨
Type(English)	Exam Summary

論文審査の要旨及び審査員

報告番号	甲第	号	学位申請者氏名	Utami Setyowati Triastuti	
		氏名	職名		
論文審査 審査員	主査	折原 芳波	准教授	審査員	小倉 俊一郎 准教授
	審査員	山本 直之	教授		梶原 将 特定教授
		一瀬 宏	教授		
		長田 俊哉	准教授		

論文審査の要旨 (2000 字程度)

本論文は「Identification and functional characterization of drug:H⁺ antiporters of an endemic pathogen *Penicillium marneffei*」と題し、英文で書かれ、5つのChapterから構成されている。

Chapter 1「Introduction」では、病原真菌 *P. marneffei* は 25℃から 37℃の変化で菌糸体から酵母体に細胞の形状を切り替えることができる唯一の二形性菌であり、この種によって引き起こされる日和見感染（ペニシリウム症）は、熱帯アジアの風土病の1つとなっていると述べている。その治療にはアムホテリシン B とイトラコナゾールあるいはボリコナゾールの併用療法が効果的であるが、これら抗真菌薬による長期治療は薬剤耐性株を出現させる可能性があるとして述べている。主要な薬剤耐性機構には、ABC トランスポーターや MFS トランスポーターの過剰発現による多剤耐性 (MDR) が知られており、既に *P. marneffei* の ABC トランスポーターが分類・同定されているが、MFS トランスポーターに関しては全く報告がなかったと述べている。よって、*P. marneffei* の MFS トランスポーターを見出し、その機能を解析することは、今後の真菌症の対策や治療に重要であると述べている。

Chapter 2「Identification and classification of major facilitator superfamily (MFS) family of *P. marneffei*」では、既知の *P. marneffei* ゲノムデータを利用して MFS トランスポーターの相同性検索をした結果、MFS スーパーファミリーに属すると予測される 256 のタンパク質が見つかり、そのうち 177 のタンパク質は MFS トランスポーターで見られる 12 または 14 の膜貫通セグメント (TMS) を含んでいたと述べている。これらのタンパク質は 17 の MFS サブファミリーに分けられ、12 の TMS をもつ 39 の drug : H⁺ アンチポーター1 (DHA1) サブファミリー、14 の TMS をもつ 16 の DHA2 サブファミリーが見出されたと述べている。他の真菌から分離された薬剤排出ポンプは全て DHA1 あるいは DHA2 に属していることから、この2つのサブファミリーに焦点をあてることとしたと述べている。

Chapter 3「Functional characterization of drug:H⁺ antiporter 1 (DHA1) of *P. marneffei*」では、他真菌の DHA1 サブファミリーである *CaMdr1p* や *ScTpo* 等と高い相同性を有する *PmMdr1p*, *PmMdr2p*, *PmMdr3p* を選び、これらの遺伝子の *P. marneffei* 内での発現解析を行ったところ、全ての遺伝子の転写がイトラコナゾール添加により増加したと報告している。次に、これら遺伝子を *S. cerevisiae* (ADA) に異種発現させ、それらタンパク質の MDR 機能を分析したところ、*PmMdr1p* と *PmMdr3p* は、それぞれ 12 の薬剤に対する耐性が増加し、その内 7 つの薬剤は双方で重複しており、一方で *PmMdr2p* は 7 つの薬剤に対して中程度の耐性を示したと述べている。また、*PmMdr3p* の基質特異性は他真菌の *CaMdr1p* の基質特異性と非常に類似しており、今後は双方の構造的な類似性も検討する必要があると報告している。

Chapter 4「Functional characterization of drug:H⁺ antiporter 2 (DHA2) of *P. marneffei*」では、他真菌の薬剤排出ポンプとして同定された DHA2 タンパク質等と最も高い相同性を有する DHA2 サブファミリータンパク質として *PmMdr4p* が見出されたと報告している。*P. marneffei* 内での *PmMDR4* 発現もイトラコナゾール添加により誘導されることが分かり、そして ADA 株内での発現解析においては、*PmMdr4p* が特に 5-フルシトシンに対して高い耐性を示すことが分かったと述べている。

Chapter 5「Conclusions」では、本研究により、*P. marneffei* の MFS スーパーファミリータンパク質を調査・整理し、その中から薬剤排出ポンプと推測される遺伝子を選び、酵母発現系での薬剤耐性の機能解析を行うことで、その機能を有するタンパク質を 4 種類見出したと総括している。

以上を要するに、本論文は出芽酵母の発現系を用いて *P. marneffei* の MFS トランスポーターの機能を初めて明らかにしたものであり、学術上貢献するところが大きい。よって、本論文は博士 (学術) の学位論文として十分な価値があるものと認められる。