

論文の内容の要旨

論文題名

Examination of Cyp51A-mediated azole resistance in *Aspergillus lentulus* using CRISPR/Cas9 genome editing
(CRISPR/Cas9 ゲノム編集技術の導入による臨床由来 *Aspergillus lentulus* の Cyp51A 遺伝子とアゾール耐性の検討)

掲載雑誌名

Medical Mycology Journal 2022 年 掲載予定

薬学研究科 薬学専攻(感染制御薬学) 博士課程 舘野 円花

内容要旨

【背景・目的】 *Aspergillus lentulus* は, *A. fumigatus* の近縁種として 2005 年に初報告され, アゾール耐性や致死率の高さが問題となっている. *A. lentulus* のアゾール耐性には, 14- α sterol demethylase (Cyp51) の関与が報告されているが, 具体的な耐性機構は解明されていない. 本研究では *A. lentulus* に *A. fumigatus cyp51A* を導入する形質転換法の確立と, 組換え株の薬剤感受性の変化から *A. lentulus* アゾール耐性と Cyp51A の関連について検討した.

【方法】 親株として臨床由来アゾール耐性 *A. lentulus* を使用し, CRISPR/Cas9 システムを用いた組換え株の作製条件を検討した. 作製した組換え株に対し抗真菌薬感受性や生育などの表現型を解析した.

【結果】 *A. fumigatus* における CRISPR/Cas9 システムを基に, 振盪培養時間の延長や分生子液濃度及び選択培地のハイグロマイシン濃度を変更することで, *A. fumigatus cyp51A* 遺伝子全長を *A. lentulus cyp51A* 遺伝子座に導入することに成功した. *A. fumigatus cyp51A* を保有する *A. lentulus* 株は, 親株に比べてイトラコナゾール・ボリコナゾールの MIC が低下しており, *A. lentulus* のアゾール耐性に対する Cyp51A の関与が明らかになった.

【考察】 Cyp51A のアゾール耐性機構の解明や, 新規抗真菌薬の開発に貢献することが期待される. また, CRISPR/Cas9 システムを *A. lentulus* に適用することに成功したことで, 本菌種の他の遺伝子機能解析への応用が期待される.