

微生物学报 *Acta Microbiologica Sinica*
55 (5) :579 - 586 ; 4 May 2015
ISSN 0001 - 6209 ; CN 11 - 1995 / Q
http://journals.im.ac.cn/actamicrocn
doi: 10.13343/j.cnki.wsxb.20140540

高亲和性铁离子渗透酶 Ftr1 和 Ftr2 调控白念珠菌生长和形态

杜滢, 朱利泉*

西南大学农学与生物科技学院, 重庆 400715

摘要:【目的】通过分析 *FTR1*、*FTR2* 基因缺失株在不同培养条件下的生长情况以及菌丝生长能力,明确高亲和性铁离子渗透酶在白念珠菌生长和形态发生中的功能。【方法】将不同基因型的菌株分别置于不同的培养基和培养温度下进行培养,对其生长速度以及菌丝的生长状态进行观察,获取相应的实验结果。【结果】*FTR1* 或 *FTR2* 单基因缺失对于白念珠菌的生长没有显著的影响,但是 *FTR1*、*FTR2* 双基因缺失使白念珠菌在 Spider 培养基中不能生长,铁离子的增加能够恢复该双基因缺失株的生长能力。*FTR1*、*FTR2* 双基因缺失株在营养贫瘠的合成培养基上生长速度也较慢。此外,*ftr1/ftr1* 菌株的菌丝生长能力增强,而 *ftr2/ftr2* 菌株的菌丝生长能力减弱。双突变株 *ftr1/ftr1 ftr2/ftr2* 的菌丝生长能力能够恢复到野生对照株的水平。【结论】*Ftr1* 与 *Ftr2* 对白念珠菌在微量铁元素环境中的生存有着重要的作用,还参与了白念珠菌对碳源 N-乙酰葡萄糖胺、乙醇和甘油等的利用。此外,*Ftr1* 对白念珠菌菌丝生长起负调控作用,*Ftr2* 对菌丝生长起正调控作用。因此,*ftr1/ftr1 ftr2/ftr2* 双基因突变株的菌丝生长能力能够恢复到野生对照株的水平。

关键词: 白念珠菌, 菌丝生长, 高亲和性铁离子渗透酶, *Ftr1*, *Ftr2*

中图分类号: Q935 文章编号: 0001-6209 (2015) 05-0579-08

微量元素铁对于几乎所有生物的生长都是必须的,这主要是因为铁是许多蛋白行使功能时必须具备的辅助因子^[1-2]。铁含量过低的时候,一些关键的代谢途径比如三羧酸循环和呼吸代谢将被关闭,但当铁含量过高的时候,细胞又会产生毒性羟自由基对 DNA、蛋白质和脂类等产生危害^[3-5]。因此,生物体内铁含量是需要严格控制,这主要是通过控制铁的摄取量与胞内储量间的平衡,而这种平衡是通过控制基因表达的水平来达到的。在自然环境中,大量的铁以溶解性极低的三价铁的形式存在。微生物可以通过分泌铁还原酶和铁螯合剂等方式对三价铁加以利用,再通过位于细胞膜上的特定铁转

运蛋白将铁摄入胞内^[6-8]。

白念珠菌 (*Candida albicans*) 是一种常见的人体共生菌,当宿主的免疫功能减弱或者受损时,它除了能导致人体的浅部感染,比如皮肤和口腔粘膜感染,还能导致具有致命性的系统感染^[9]。白念珠菌能以不同的细胞形态存在,其中比较典型的一种是菌丝形态和酵母形态。形态的差异使白念珠菌在各种生物学效应或致病能力等方面呈现不同,比如菌丝生长的能力与白念珠菌生物被膜的形成或对宿主的感染能力等方面密切相关^[10]。

白色念珠不仅能生存于铁含量丰富的环境,比如人体肠道系统,还能生存于铁含量极低的环境,比

基金项目: 重庆市自然科学基金 (cstc2012jjB80010)

* 通信作者. Tel: +86-23-68251783; Fax: +86-23-68251264; E-mail: zliquan@yahoo.com

作者简介: 杜滢 (1981 -), 女, 四川阆中人, 博士研究生, 主要从事病原真菌分子致病机理研究。

收稿日期: 2014-11-18; 修回日期: 2014-12-17

如血液中。已知的至少有 3 种系统参与白念珠菌对于铁的摄取:氧化还原系统、铁载体系统和血红蛋白系统^[11]。蛋白质在铁代谢的每一个步骤中都起着关键的作用,不同的蛋白可能参与铁结合、铁运输以及铁储存等不同的过程。Ftr1 和 Ftr2 是目前已知的两种对铁离子具有高亲和性的渗透酶,它们具有三价铁结合位点 Glu-Xaa-Xaa-Glu 的结构单元^[12-13]。FTR1 和 FTR2 基因具有高达 83% 的同源性,但其生物学特性却并不相同。FTR1 在铁含量受限的时候表达量升高,而在铁含量比较丰富的情况下其表达量是被抑制的;FTR2 的表达情况正好相反。在低铁环境中,仅 Ftr1 行使高亲和性铁摄取活性,并对白念珠菌的生长产生影响,此外,Ftr1 对于白念珠菌感染宿主并产生毒性非常关键,该基因的缺失使得菌株不能有效地对宿主产生感染。而 Ftr2 对白念珠的生理活动及毒理效应并不清楚。因此,微量元素铁不仅对白念珠菌的生长至关重要,对其致病性也非常关键^[14]。

为了应对不同的环境因子刺激,白念珠菌具备从单细胞酵母形态向菌丝形态转换的能力。这两种形态之间转换的能力被认为是白念珠菌的一种重要毒性特征。环境中铁的丰度对白念珠菌菌丝生长、肠道中共生及致病能力都有一定的影响^[11,14-15]。但是,目前对高亲和性铁离子渗透酶在白念珠菌菌丝生长中的功能还没有进行过系统的研究。Ftr1 和 Ftr2 与菌丝生长的是否存在相关性,并未可知。本研究旨在研究铁代谢相关基因 FTR1 和 FTR2 对白念珠菌在不同条件下生长状况的影响以及在菌丝生长中的调控作用。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 菌株: 本实验所用菌株见表 1。FTR1 和 FTR2 基因缺失株由新加坡 Yue Wang 实验室惠赠。

表 1. 菌株
Table 1. Strains

Strains	Characterization	Resource
CAI4	<i>ura3 :: imm434/ura3 :: imm434</i>	[16]
<i>ftr1/ftr1</i>	As CAI4, but <i>ura3 :: imm434/ura3 :: imm434 ftr1 :: hisG /ftr1 :: hisG</i>	[14]
<i>ftr2/ftr2</i>	As CAI4, but <i>ura35imm434/ura3 :: imm434 ftr2 :: hisG /ftr2 :: hisG</i>	[14]
<i>ftr1/ftr1 ftr2/ftr2</i>	As CAI4, but <i>ura3 :: imm434/ura3 :: imm434 ftr2 :: hisG /ftr2 :: hisG ftr1 :: hisG /ftr1 :: hisG</i>	[14]

1.1.2 主要试剂和仪器: 蛋白胨、酵母浸出粉、无氨基酵母氮源基础(购于 BD 公司), Lee's 培养基中所用成分均购自 Sigma-Aldrich,其余有机试剂和药品均为国产分析纯。显微镜(德国蔡斯,Imager A2),体式显微镜(德国莱卡,M125)。

1.2 培养基和培养条件

YPD 培养基(2% Bacto peptone, 2% dextrose, 1% yeast extract)用于白念珠菌的常规培养。Spider 培养基(1% mannitol, 1% nutrient broth, 0.2% K₂HPO₄, pH 7.2)用于菌丝生长研究。Lee's 培养基为合成培养基,具体配方参照已有报道^[17-18]。用于分析对不同碳源利用情况的培养基成分为:2% 相应碳源, 0.67% 无氨基酵母氮源基础(YNB, Difco), 0.07mg/ml 尿苷。固体培养基为相应的液体培养基中加入 2% 琼脂粉(BD)。

1.3 细胞形态研究

将不同基因型菌株在 YPD 固体培养基于 30°C 培养 2 天进行活化后,取一定量菌体于无菌双蒸中,稀释一定倍数后,将约 80 个细胞涂布到相应的固体培养基上,置于相应的温度环境中进行培养后,对菌落形态和相应的细胞形态进行观察。

1.4 菌株生长状况实验

分别将含不同基因型的菌液 2 μL 点到相应固体培养基上,每个点分别含有约 10000、1000、100、10 个细胞。然后置于不同的环境中进行培养一定时间后,观察各个菌的生长状况。

1.5 菌落和细胞观察

菌落图片由体式显微镜进行观察拍照,采用德国蔡斯显微镜(Image A2)对菌丝形成进行细胞水平进行观察。

2 结果和分析

2.1 高亲和性铁离子渗透酶 *Ftr1* 和 *Ftr2* 对白念珠菌生长的影响

为了明确基因 *FTR1* 和 *FTR2* 对白念珠菌在不同培养基上的生长情况, 将野生对照株 CAI4、单缺失株 *ftr1/ftr1*、单缺失株 *ftr2/ftr2*、双缺失株 *ftr1/ftr1 ftr2/ftr2* 分别点到不同的固体培养基上, 于 37°C 培养 3 d 后进行观察。YPD 作为一种常规性的丰富培养基, *FTR1*、*FTR2* 基因的单缺失或者双缺失株对其生长没有影响(图 1-A)。Spider 培养基常用于白念珠菌菌丝生长的研究。为了下一步的菌丝研究, 首先需要确认白念珠菌在 Spider 培养基上的生长情况, 由图 1-B 可以看出, *FTR1* 或 *FTR2* 任意一个基因的缺失对白念珠菌在 Spider 上的生长情况并无明显影响, 但当两基因同时缺失的时候, 白念珠菌失去

了在 Spider 培养基上生长的能力, 提示了虽然 Spider 培养基为丰富培养基, 但其中铁的含量可能非常低, 当高亲和性铁离子渗透酶基因缺失后, 细胞不能获取足够的微量元素铁来维持细胞的生长。为了进一步证实一点, 在 Spider 中加入 400 $\mu\text{mol/L}$ 的 FeCl_3 时, 双缺失株 *ftr1/ftr1 ftr2/ftr2* 获得了在 Spider 培养基上的生长能力(图 1-B)。

Lee's 培养基是研究白念珠菌形态转变的另一种常用的合成培养基, 其成分明确。在以葡萄糖(Glucose)或者 N-乙酰葡萄糖氨(GlcNAc)为碳源的 Lee's 培养基上于 37°C 培养 3 d 后可见, *FTR1*、*FTR2* 两基因中缺少一个, 都不会对白念珠菌在 Lee's 培养基上的生长状态产生显著的影响, 但当两基因同时缺失时, 双缺失株的生长速度将会减慢, 双缺失株在 Lee's GlcNAc 培养基上的生长速度比 Lee's Glucose 培养基上的生长速度更加缓慢, 并且这种生长速度不能靠 FeCl_3 的添加来恢复(图 1-C)。

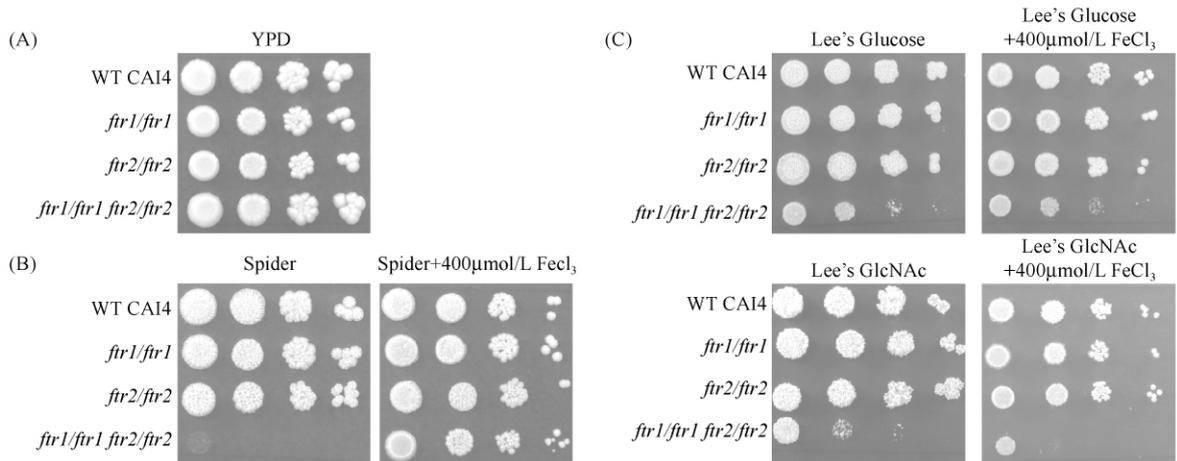


图 1. *Ftr1* 和 *Ftr2* 对白念珠菌生长能力的影响

Figure 1. Effect of *Ftr1* and *Ftr2* on the growth of *C. albicans* on different media: YPD (A), Spider with or without addition of FeCl_3 (B), Lee's Glucose or Lee's GlcNAc (C).

2.2 高亲和性铁离子渗透酶 *Ftr1* 和 *Ftr2* 参与白念珠菌菌丝生长的调节

由酵母形态的单细胞向菌丝形态进行转换是白念珠菌的一种重要特征。菌丝的生长对于白念珠菌的致病性非常重要。为了明确高亲和性铁离子渗透酶是否参与白念珠菌菌丝生长过程。将野生株 CAI4、*FTR1* 和 *FTR2* 的单缺失株以及双基因缺失株分别涂在 Spider 固体培养基上, 于 25°C 培养 5 d(图 2-A) 或 37°C 培养 3 d(图 2-B) 后, 对菌落特征及其相应的细胞形态进行

观察。

在不含铁的 spider 培养基上, 双缺失株 *ftr1/ftr1 ftr2/ftr2* 不能形成菌落, 这与图 1-B 是一致的。从形成的菌落形态看, 较野生型对照株而言, *ftr1/ftr1* 缺失株形成的菌落更加皱褶, 而 *ftr2/ftr2* 缺失株所形成的菌落则更加光滑。一般而言, 菌落的皱褶或光滑状态与菌丝的形成是呈正相关的, 菌落越皱褶, 菌丝生长越旺盛, 而菌落越光滑, 则暗示菌丝生长越弱。细胞水平的观察也证实了这一点。在 25°C 培养的情况下, *ftr1/ftr1* 缺失株的细胞形成菌丝的长度

以及菌丝所占的比例都比对照株 CAI4 强, 而 *ftr2/ftr2* / *ftr2* 菌中绝大部分细胞处于游离的酵母形态, 仅有极少的菌丝形成。在 Spider 培养基中加入 400 $\mu\text{mol/L}$ FeCl_3 后, *ftr1/ftr1 ftr2/ftr2* 双缺失株能够生长形成菌落。虽然与不含 FeCl_3 的 Spider 培养基上的菌落形态不尽相同, 但是菌落皱褶与菌丝形成情况却一致。即 *FTR1* 基因的缺失使得菌丝的形成能力更强, 而 *FTR2* 基因的缺失使得菌丝的形成能力减弱。*FTR1*、*FTR2* 双基因的缺失使得菌丝的形成能力基本恢复到野生型对照株的菌丝生长能力水平。高温 37 $^{\circ}\text{C}$ 能够促进白念珠菌菌丝的生长。在 37 $^{\circ}\text{C}$ 培养 3 d 后, 所有基因型菌株的菌落皱褶度和菌丝含量都有所增加, 但 *FTR1*、*FTR2* 对于菌丝生长的影响与 25 $^{\circ}\text{C}$ 培养的趋势一致, 即 *FTR1* 基因的缺失使得白念珠菌菌丝生长能力增强, 而 *FTR2* 基因的缺失使菌丝生长的能力减弱。在含有 FeCl_3 的 spider 培养基上, *FTR1*、*FTR2* 双基因缺失株虽然菌落皱褶度较野生型弱, 但从细胞水平可以看出其菌丝生长能力几乎恢复到与野生型同等的状态。值得一提的是, 各基因型菌株在含有 400 $\mu\text{mol/L}$ FeCl_3 的 spider 培养基上的菌丝生长能力普遍较不含 400 $\mu\text{mol/L}$ FeCl_3 的 Spider 培养基上的弱, 说明低铁的环境有利于菌丝的生长, 这与之前的报道是一致的^[15]。

2.3 合成培养基 Lee's Glucose 培养条件下 *Ftr1*、*Ftr2* 对白念珠菌菌丝生长的影响

Lee's Glucose 培养基是以葡萄糖作为碳源, 在低温 25 $^{\circ}\text{C}$ 环境下, 白念珠菌不易在该培养基上形成菌丝。如图 3-A 所示, 在 25 $^{\circ}\text{C}$ 培养 5 天后, 野生对照株 CAI4 的菌丝生长能力非常弱, 因此在该培养条件下, *FTR1*、*FTR2* 基因对白念珠菌菌丝生长是否产生影响不易观察。但是, 如图 3-B 所示, 在 37 $^{\circ}\text{C}$ 培养条件下, 可以清楚的观察到, *FTR1* 的缺失使得白念珠菌菌丝的生长能力并没有减弱, 但是 *FTR2* 基因缺失株的菌丝生长能力明显比野生型对照弱。这种差别在添加 FeCl_3 后更加明显。在 Lee's Glucose 中添加 FeCl_3 后, *FTR2* 缺失株菌落更加光滑、酵母态细胞的比例多于野生型对照株。而 *FTR1* 单基因缺失或者 *FTR1*、*FTR2* 双基因缺失株的菌丝生长能力并没有被减弱。与图 1-C 一致, *ftr1/ftr1 ftr2/ftr2* 双缺失株在 Lee's Glucose 上的生长减缓, 形成的菌落显著变小, 但值得注意的是, 该双基因突

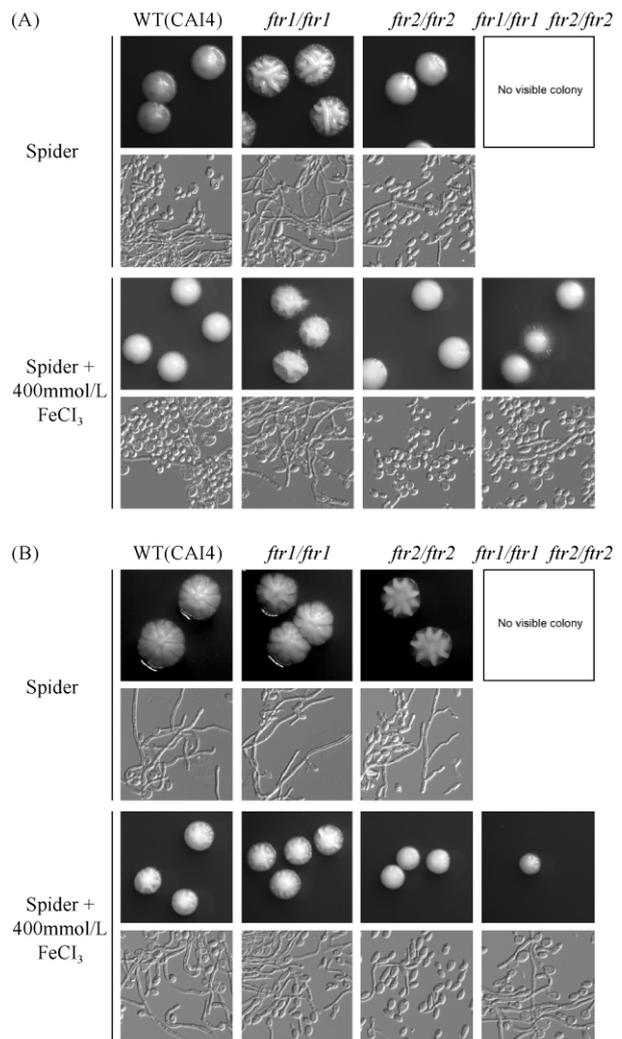


图 2. *Ftr1* 和 *Ftr2* 对白念珠菌菌丝生长能力的影响

Figure 2. Roles of *Ftr1* and *Ftr2* in the regulation of filamentation in *C. albicans* under 25 $^{\circ}\text{C}$ 5 d (A) or 37 $^{\circ}\text{C}$ 3 d (B).

变株的菌丝形成能力却能恢复到野生型的水平 (图 3-B)。

2.4 合成培养基 Lee's GlcNAc 培养条件下 *FTR1*、*FTR2* 对白念珠菌菌丝形成的影响

与 Lee's Glucose 不同的是, Lee's GlcNAc 培养基是以 N-乙酰葡萄糖胺作为碳源。已知 N-乙酰葡萄糖胺具有促进白念珠菌菌丝形成的能力^[19]。低温 25 $^{\circ}\text{C}$ 不利于菌丝的形成, 当菌体置于 Lee's GlcNAc 培养培养 5 d 后, 虽然从菌落形态上看不出典型的皱褶, 但是在细胞水平可以看出对照菌株 CAI4 能够形成一定比例的菌丝, *FTR1* 的缺失对菌丝的生长没有产生明显的影响, 但 *FTR2* 基因的缺失使得菌丝的生长能力明显减弱, 很难发现菌丝的

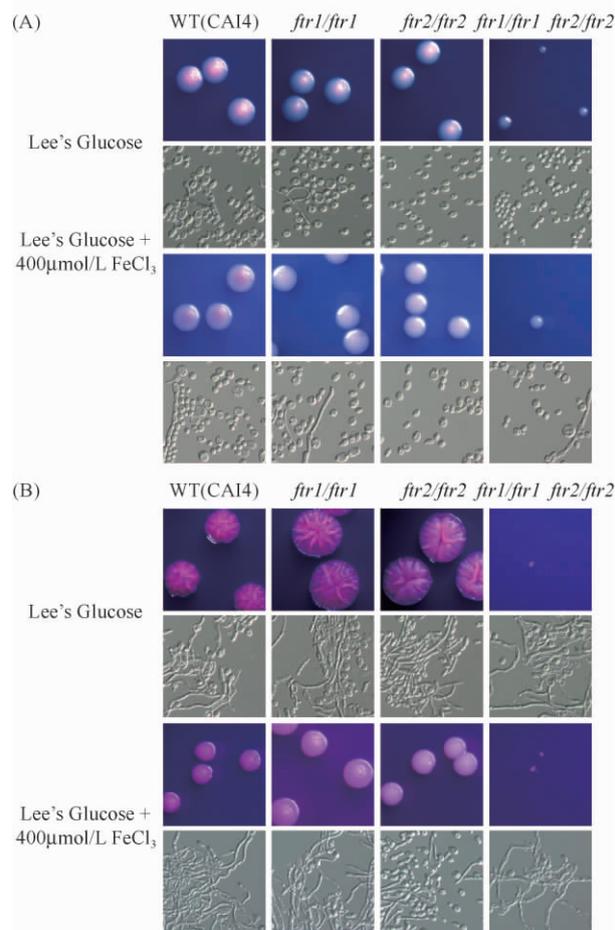


图 3. 高亲和性铁离子渗透酶突变株在 Lee's Glucose 培养基上的菌丝生长能力

Figure 3. Filamentation of different mutants on Lee's Glucose with or without the addition FeCl_3 under 25°C 5 d (A) or 37°C 3 d (B).

生长。由于高铁环境不利于菌丝的生长,添加 FeCl_3 后,野生对照株 CAI4 和 *FTR1* 缺失株的菌丝有所变短(图 4-A)。而 37°C 下,菌丝的生长能力非常强,所有基因型的菌株都能进行非常旺盛的菌丝生长,因此在这样的条件下很难观察到 *FTR1*、*FTR2* 对白念珠菌菌丝形成能力的影响(图 4-B)。此外,*FTR1*、*FTR2* 双缺失株在 Lee's GlcNAc 上的生长能力非常弱, 25°C 培养 5 d 或者 37°C 培养 3 d 后,均不能看见明显的菌落长出,而 FeCl_3 的添加对其生长并未产生任何帮助。

2.5 *FTR1*、*FTR2* 基因对白念珠菌对碳源利用的影响

ftr1/ftr1 fir2/fir2 双缺失株在 Lee's GlcNAc 上的生长速度比在 Lee's Glucose 培养基上的生长速度慢,暗示了 *Ftr1*、*Ftr2* 可能参与了白念珠菌对不同

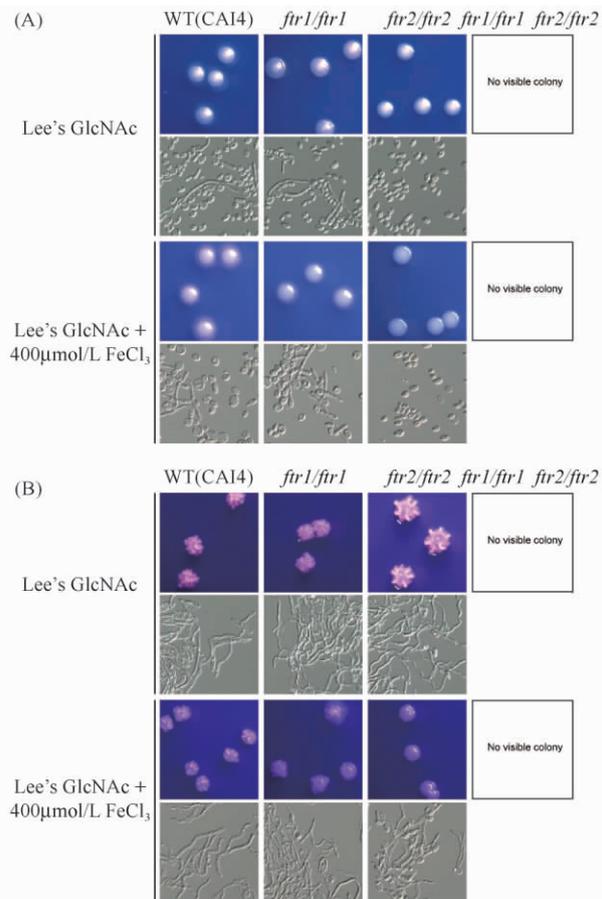


图 4. 高亲和性铁离子渗透酶突变株在 Lee's GlcNAc 培养基上的菌丝生长能力

Figure 4. Filamentation of different mutants on Lee's GlcNAc medium with or without the addition FeCl_3 under 25°C (A) or 37°C (B).

碳源的利用。为了明确 *FTR1*、*FTR2* 基因的缺失是否影响白念珠菌对不同碳源的利用,我们将碳源分成了两类,一类是发酵糖,包括果糖、葡萄糖、N-乙酰葡萄糖胺、蔗糖等,另一类是非发酵糖,包括甘露醇、乙醇、甘油等。以这些碳源作为唯一碳源,加入 0.67% YNB 和 0.07 mg/mL 尿苷获得含不同碳源的培养基。将野生对照株 CAI4、突变株 *ftr1/ftr1*、*ftr2/ftr2*、*ftr1/ftr1 fir2/fir2* 同时点到这些固体培养基上,于 37°C 培养 5 d。如图 5 所示,*FTR1*、*FTR2* 基因的任一缺失对于白念珠菌对各种碳源的利用没有影响,*FTR1*、*FTR2* 基因的双缺失则使白念珠菌在对发酵糖 GlcNAc、非发酵糖乙醇或甘油的利用减弱,而在其余碳源的培养基上生长状态没有影响。因此,高亲和性铁离子渗透酶 *Ftr1* 和 *Ftr2* 可能参与了白念珠菌对部分碳源的利用。

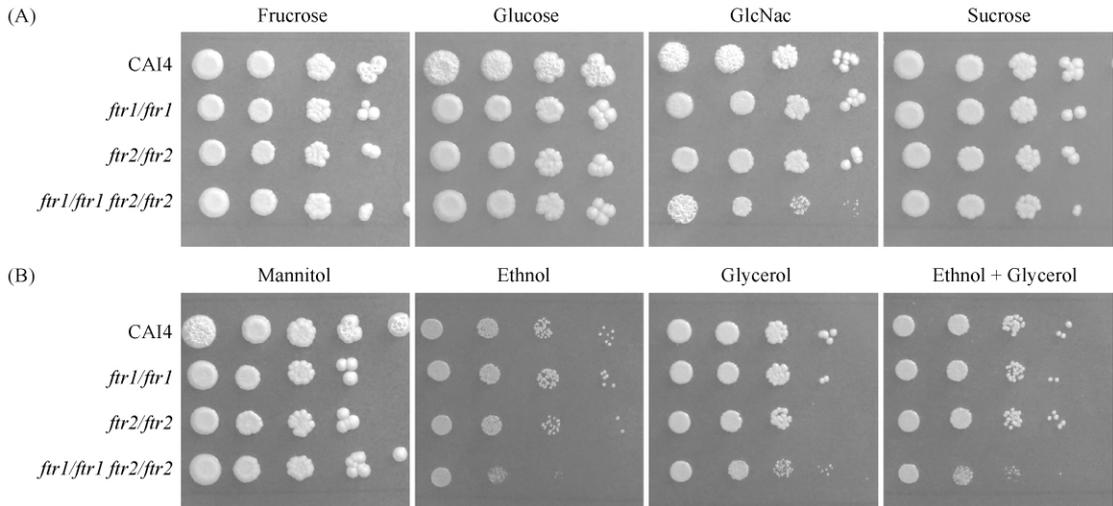


图 5. 白念珠菌野生型及各突变株在不同碳源培养基上的生长情况

Figure 5. Effect of different carbon sources on the growth of *C. albicans*. A: fermentable sugars; B: unfermentable sugars.

3 讨论

铁作为几乎所有生物生长所必须的微量元素, 缺乏它生物体将不能进行生长。Spider 培养基是研究白念珠菌菌丝生长的常用培养基, 高亲和性铁离子渗透酶 *Ftr1* 和 *Ftr2* 对于白念珠菌在 Spider 培养基上正常生长所必须的。虽然缺少任何一个基因并不能影响白念珠菌的生长, 但当两基因同时缺失的时候, 白念珠菌则不能在 Spider 培养基中生长, 说明 Spider 培养基中的铁含量非常微量, 需要高亲和性铁离子渗透酶 *Ftr1* 或 *Ftr2* 来获取足量的铁以维持细胞的生长, *FTR1* 与 *FTR2* 基因的双缺失使得细胞不能从胞外获取足量的铁。在低铁的 Spider 培养基上 *FTR1* 或 *FTR2* 缺失菌株生长基本不受影响, 说明这两个基因在功能上具有互补性。而当细胞处于高铁环境, 即在 Spider 中添加 $400 \mu\text{mol/L}$ FeCl_3 时, 即使 *FTR1*、*FTR2* 同时缺失, 细胞依然能获取足够的铁维持自身的生长。而对于营养相对贫瘠的合成培养基 Lee's 培养基, *FTR1*、*FTR2* 双基因的缺失使得细胞在该培养基上的生长能力减弱, 而这种能力的减弱并不能通过 FeCl_3 的添加获得改善 (图 1)。说明 *FTR1*、*FTR2* 双缺失株在 Lee's 培养基上生长能力的受损并不是因为铁元素的微量造成的, 而是可能由于 Lee's 培养基中其它营养元素的贫乏。通过在含不同碳源的培养基上的培养后发现, *FTR1*、*FTR2* 对于白念珠菌仅对部分碳源的利用有

明显的影响 (图 5), 因此 *FTR1*、*FTR2* 可能还参与了白念珠菌对除碳源外的其它营养物质的利用过程。

由酵母形态向菌丝形态转变是白念珠菌的一大生物学特征。这种生物学特征与其致病性密切相关。已有报道指出高亲和性铁离子渗透酶 *Ftr1* 与白念珠菌的系统感染毒性相关^[14]。但对于 *FTR1*、*FTR2* 是否参与了白念珠菌菌丝生长的过程还未知。本研究中, 通过在不同培养基、温度等培养条件下, 对 *FTR1*、*FTR2* 对白念珠菌菌丝生长的影响进行研究。在 Spider 培养基上, *FTR1* 的缺失使得白念珠菌的菌丝生长能力增强, 而 *FTR2* 的缺失使得白念珠菌菌丝生长能力减弱, 这提示 *Ftr1* 可能作为白念珠菌菌丝生长发育的负调控因子, *Ftr2* 作为菌丝生长发育的正调控因子。 *FTR1*、*FTR2* 基因双缺失株在 Spider 培养基上不能生长, 当添加 $400 \mu\text{mol/L}$ FeCl_3 时, 能够恢复生长, 并且菌丝的生长能力也能恢复到野生型的状态。在不同的培养基上, 比如 Lee's Glucose 或 Lee's GlcNac 上, *Ftr1* 对菌丝的负调控作用以及 *Ftr2* 对菌丝的正调控效应都能得以体现。虽然高铁离子环境不利于菌丝的生长^[15], 但 *FTR1* 与 *FTR2* 对菌丝生长的调控机制是不依赖于微量元素铁的浓度的。不过 *Ftr1* 与 *Ftr2* 具体通过什么样的途径对白念珠菌菌丝生长进行调控? 其上下游的调控因子是什么? 这些都有待进一步研究。对高亲和性铁离子渗透酶 *Ftr1*、*Ftr2* 的研究有可能为未来抗真菌药物的筛选提供重要靶点。

参考文献

- [1] Weinberg ED. The role of iron in protozoan and fungal infectious diseases. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 1999, 46 (3) : 231-238.
- [2] Nyilasi I, Papp T, Takó M, Nagy E, Vágvölgyi C. Iron gathering of opportunistic pathogenic fungi. *Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica*, 2005, 52 (2) : 185-197.
- [3] Radisky D, Kaplan J. Regulation of transition metal transport across the yeast plasma membrane. *The Journal of Biological Chemistry*, 1999, 274 (8) : 4481-4484.
- [4] de Silva DM, Askwith CC, Kaplan J. Molecular mechanisms of iron uptake in eukaryotes. *Physiological Reviews*, 1996, 76 (1) : 31-47.
- [5] Askwith CC, de Silva D, Kaplan J. Molecular biology of iron acquisition in *Saccharomyces cerevisiae*. *Molecular Microbiology*, 1996, 20 (1) : 27-34.
- [6] De Luca NG, Wood PM. Iron uptake by fungi: contrasted mechanisms with internal or external reduction. *Advances in Microbial Physiology*, 2000, 43 : 39-74.
- [7] Ferguson AD, Chakraborty R, Smith BS, Esser L, van der Helm D, Deisenhofer J. Structural basis of gating by the outer membrane transporter FecA. *Science*, 2002, 295 (5560) : 1715-1719.
- [8] Jiang X, Payne MA, Cao Z, Foster SB, Feix JB, Newton SM, Klebba PE. Ligand-specific opening of a gated-porin channel in the outer membrane of living bacteria. *Science*, 1997, 276 (5316) : 1261-1264.
- [9] Richards MJ, Edwards JR, Culver DH, Gaynes RP. Nosocomial infections in medical intensive care units in the United States. National Nosocomial Infections Surveillance System. *Critical Care Medicine*, 1999, 27 (5) : 887-892.
- [10] Huang G. Regulation of phenotypic transitions in the fungal pathogen *Candida albicans*. *Virulence*, 2012, 3 (3) : 251-261.
- [11] Chen C, Pande K, French SD, Tuch BB, Noble SM. An iron homeostasis regulatory circuit with reciprocal roles in *Candida albicans* commensalism and pathogenesis. *Cell Host & Microbe*, 2011, 10 (2) : 118-135.
- [12] Stearman R, Yuan DS, Yamaguchi-Iwai Y, Klausner RD, Dancis A. A permease-oxidase complex involved in high-affinity iron uptake in yeast. *Science*, 1996, 271 (5255) : 1552-1557.
- [13] Fang HM, Wang Y. Characterization of iron-binding motifs in *Candida albicans* high-affinity iron permease CaFtr1p by site-directed mutagenesis. *Biochemical Journal*, 2002, 368 (Pt 2) : 641-647.
- [14] Ramanan N, Wang Y. A high-affinity iron permease essential for *Candida albicans* virulence. *Science*, 2000, 288 (5468) : 1062-1064.
- [15] Hameed S, Prasad T, Banerjee D, Chandra A, Mukhopadhyay CK, Goswami SK, Lattif AA, Chandra J, Mukherjee PK, Ghannoum MA, Prasad R. Iron deprivation induces EFG1-mediated hyphal development in *Candida albicans* without affecting biofilm formation. *FEMS Yeast Research*, 2008, 8 (5) : 744-755.
- [16] Fonzi WA, Irwin MY. Isogenic strain construction and gene mapping in *Candida albicans*. *Genetics*, 1993, 134 (3) : 717-728.
- [17] Lee KL, Buckley HR, Campbell CC. An amino acid liquid synthetic medium for the development of mycelial and yeast forms of *Candida Albicans*. *Sabouraudia*, 1975, 13 (2) : 148-153.
- [18] Bedell GW, Soll DR. Effects of low concentrations of zinc on the growth and dimorphism of *Candida albicans*: evidence for zinc-resistant and-sensitive pathways for mycelium formation. *Infection and Immunity*, 1979, 26 (1) : 348-354.
- [19] Simonetti N, Strippoli V, Cassone A. Yeast-mycelial conversion induced by N-acetyl-D-glucosamine in *Candida albicans*. *Nature*, 1974, 250 (464) : 344-346.

Regulation of cell growth and filamentation in *Candida albicans* by high-affinity iron permeases Ftr1 and Ftr2

Han Du, Liquan Zhu*

College of Agronomy and Biotechnology, Southwest University, Chongqing 400715, China

Abstract: [Objective] To determine the function of high-affinity iron permeases, Ftr1 and Ftr2, we studied cell growth and filamentation ability of the *ftr1/ftr1*, *ftr2/ftr2*, and *ftr1/ftr1 ftr2/ftr2* mutants under different culture conditions. [Methods] Cells of the wild type and mutants were cultured on different solid media at different temperatures. Cell growth and filamentation were observed. [Results] Deletion of either one of the *FTR* genes had no effect on the growth under all conditions tested. Deletion of both *FTR1* and *FTR2* led to obvious growth defect on Spider media, although addition of FeCl_3 restored their growth. The double mutant also grew much more slowly on nutrients-limited synthetic media such as Lee's glucose and Lee's GlcNAc (N-acetylglucosamine). Moreover, deletion of *FTR1* enhanced filamentation, whereas deletion of *FTR2* weakened this ability. Deletion of both *FTR1* and *FTR2* recovered the ability of filamentation. [Conclusion] Ftr1 and Ftr2 are very important for *C. albicans* growth under iron-limited condition and may participate in the utilization of some carbon sources including GlcNAc, ethanol, and glycerol. Ftr1 plays a negative, whereas Ftr2 plays a positive role in the regulation of filamentation in *C. albicans*.

Keywords: *Candida albicans*, filamentation, high-affinity iron permease, Ftr1, Ftr2

(本文责编:张晓丽)

Supported by the Grant from Chongqing Natural Science Foundation (cstc2012jjB80010)

* Corresponding author. Tel: +86-23-68251783; Fax: +86-23-68251264; E-mail: zliquan@yahoo.com

Received: 18 November 2014/Revised: 17 December 2014

ORCID iD——科学家唯一身份认证标识码

ORCID (Open Research and Contributor iD, 开放研究者和贡献者标识符), 创立于 2010 年, 是一个非盈利的组织, 具有开放性和国际性。ORCID 是一套免费的、全球唯一的 16 位身份识别码, 是研究者的学术身份证。它具有 5 个强大功能: (1) 作者姓名消歧; (2) 准确展示个人研究成果; (3) 避免研究成果归属混乱; (4) 提高数字环境下信息发现准确率; (5) 信息服务效率。

2014 年 10 月 28 日, 中国科学院文献情报中心举办了“ORCID 中国服务签约暨 iAuthor 启动仪式”。iAuthor, 即 ORCID 中国服务平台, 由中国科学院文献情报中心开发, 其核心功能是帮助中国的科研人员获得 ORCID 号, 并创建科研人员的个人学术产出管理空间。iAuthor 平台, 是以研究者为中心的学术社区, 实现姓名不同形式归一、中英文科研产出汇总、个人科研管理、学术影响力展现等功能, 帮助中国科学家快速融入国际科研工作者识别体系。该系统不仅能够管理个人的科研成果、查找同行、发现合作者, 还能够快速浏览到特定研究领域的科研人员、了解机构的科研人员及整体的科研产出情况。

拥有 ORCID iD 之后, 将助推您的学术工作。(1) 拥有专属的国际唯一学术识别符, 获得科研身份证, 让您与全球同行之间“知你、知我”。(2) 满足投稿期刊、基金组织对您的唯一识别要求, 让您的科研工作更加畅通。(3) 及时发现您分布在各处的个人科研产出。

目前 ORCID 的会员包括 120 多家世界上最有影响力的出版社、基金组织以及科研机构。ORCID 和 iAuthor 将极大地方便科研人员, 而且将来的应用范围会越来越广。建议大家尽早注册一个 ORCID iD (<http://iAuthor.cn>), 并完善其中的信息。

ORCID iD, 将是您贴心的学术名片!