

A New Approach to Virulence Factors of *Candida albicans*: From Gene to Function

Amirhossein Davari¹,
Fardin Ahmadvani¹,
Jalal Jafarzadeh¹,
Roghayeh Mirzakhani¹,
Somayeh Roodgari¹,
Soghra Bagheri¹,
Mojtaba Nabili²,
Maryam Moazeni^{3,4}

¹ MSc Student in Medical Mycology, Student Research Committee, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

² Assistant Professor, Faculty of Medicine, Sari Branch, Islamic Azad University, Sari, Iran

³ Assistant Professor, Department of Medical Mycology and Parasitology, Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

⁴ Invasive Fungi Research Center, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

(Received December 10, 2019 ; Accepted September 22, 2019)

Abstract

Recently, there is an increasing trend in the diversity of pathogenic yeasts isolated from clinical samples. However, *Candida albicans* is even now the major cause of yeast infections. *Candida albicans* is one of the members of the mucosal microbiota which can cause cutaneous, mucosal, and disseminated invasive infections in susceptible individuals. For persistence in the host, the yeast must have the ability to adhere to both biotic and abiotic surfaces following host tissue invasion, and obtain iron. One of the important properties of this pathogenic yeast is dimorphism which is its ability to switch from a unicellular to a hyphal mode of growth. Dimorphism is triggered in response to certain environmental conditions, such as pH alternation, temperature, or serum availability. These changes which allow the yeast to invade are associated with the expression of several genes involving in its pathogenesis, including *SAP* genes family encoding the secreted aspartic proteinases (Saps), the agglutinin-like sequence (*ALS*) family encoding the adhesive proteins, and phenotypic and morphologic switching systems. This review aimed at summarizing recent data on the regulation and relevant signal transduction of some important essential genes associated with virulence factors in *Candida albicans*. Surely, understanding the genetic of the virulence factors would be of great benefit in effective combating the yeast and also in designing new antifungal agents.

Keywords: *Candida albicans*, virulence, gene expression regulation

J Mazandaran Univ Med Sci 2019; 29 (178): 181-196 (Persian).

* Corresponding Author: Maryam Moazeni - Invasive Fungi Research Center, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran (E-mail: Moazeni.maryam@gmail.com)

نگرشی جدید به فاکتور های بیماریزای *کاندیدا آلبیکنس*: از ژن تا عملکرد

امیرحسین داوری^۱
فردین احمدخانی^۱
جلال جعفرزاده^۱
رقیه میرزاخانی^۱
سمیه رودگری^۱
صغری باقری^۱
مجتبی نبیلی^۲
مریم مودنی^{۳،۴}

چکیده

در سال های اخیر، افزایش تنوع مخمرهای بیماری زا جدا شده از نمونه های بالینی مشاهده شده است. با این حال *کاندیدا آلبیکنس* همچنان عامل اصلی عفونت های قارچی مخمری است. *کاندیدا آلبیکنس* به عنوان یکی از مخمرهای مهم فلور نرمال مخاط بدن انسان، می تواند موجب عفونت های جلدی، مخاطی و منتشره در افراد مستعد شود. برای القاء عفونت، مخمر باید توانایی چسبندگی به سطوح زنده و غیر زنده و به دنبال آن تهاجم به بافت میزبان و جذب آهن را داشته باشد. یکی از اصلی ترین خصوصیات، قابلیت تغییر آن از حالت تک سلولی به حالت رشد هیفال است. دیمورفسم در پاسخ به برخی از شرایط خاص مانند دما، pH یا در دسترس بودن سرم ایجاد می گردد و این تغییرات که به ارگانسیم اجازه می دهد تا به بافت ها حمله کند با افزایش بیان چندین ژن در ارتباط است. این ژن ها شامل، خانواده ژنی SAP که مسئول کد کردن آسپارتیک پروتئازهای ترشحی (Saps) است، خانواده ژنی شبه آگلوتینین (ALS) که مسئول کد کردن پروتئین های چسبنده است و سیستم تغییر فنوتیپی و مورفولوژیکی، می باشد. در این مطالعه مروری سعی شده است تا با تکیه بر نتایج مطالعات اخیر در خصوص تنظیم سیگنال های ترشحی، مهمترین و ضروری ترین ژن های مسئول فاکتورهای ویروالانس *کاندیدا آلبیکنس* جمع آوری و ارائه گردد. درک صحیح از فیزیولوژی و ژنتیک فاکتورهای بیماریزایی این مخمر مطمئناً می تواند محققین را در جهت مقابله بهتر و موثرتر و طراحی دارو های جدید یاری دهد.

واژه های کلیدی: *کاندیدا آلبیکنس*، ویروالانس، تنظیم بیان ژن

مقدمه

کاندیدا آلبیکنس به عنوان فلور نرمال مخاط بدن، از حفره دهانی، لوله گوارشی و واژن قابل جداسازی می باشد، جایی که در تعادل با فلور میکروبی و سیستم ایمنی میزبان قرار دارد. وضعیت فیزیولوژیک میزبان به عنوان فاکتور اولیه ابتلا به کاندیدیازیس می باشد. با این حال، تنها تغییرات جزئی در وضعیت فیزیولوژیک می تواند این مخمر بی ضرر را به یک پاتوژن تبدیل کند که موجب عفونت های مخاطی، سطحی و حتی عفونت های سیستمیک خطرناک در افراد با نقص سیستم ایمنی شود (۱). با افزایش تعداد افراد مبتلا به نقص در سیستم ایمنی از

E-mail: Moazeni.maryam@gmail.com

مؤلف مسئول: مریم مودنی - ساری: کیلومتر ۱۷ جاده فرح آباد، مجتمع دانشگاهی پیامبر اعظم (ص)، دانشکده پزشکی

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد قارچ شناسی پزشکی، کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

۲. استادیار، دانشکده پزشکی، واحد ساری، دانشگاه آزاد اسلامی، ساری، ایران

۳. استادیار، گروه انگل شناسی و قارچ شناسی پزشکی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

۴. استادیار، مرکز تحقیقات قارچ های تهاجمی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۹/۱۹ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۱۳۹۷/۱۰/۴ تاریخ تصویب: ۱۳۹۸/۶/۳۱

نیز با معادل های لاتین آن از بانک های اطلاعاتی ملی و بین المللی از قبیل Scopus, Irandoc, SID, Magiran, PubMed و Science direct انجام شد. زمان جستجو از ۱ مرداد الی ۳۱ مرداد ۱۳۹۷ بوده و مقالات منتشر شده بین سال های ۱۹۸۵-۲۰۱۸ مورد استفاده قرار گرفته است و جستجو توسط تمام پژوهشگران انجام شد.

فاکتور های ویرو لانس کاندیدا آلبیکنس

اگرچه کاندیدا آلبیکنس یک ارگانیسم بسیار سازگار با بدن انسان می باشد اما دارای مجموعه ای از فاکتور های ویرو لانس برای کلونیزه شدن در بدن میزبان، آسیب مستقیم یا اختلال در مکانیسم های دفاعی بدن میزبان می باشد. هدف اصلی یک میکروارگانیسم مرگ یا حتی آسیب به میزبان نیست، بلکه طی تکثیر و فرار از مرگ منجر به آسیب های جانبی در بدن میزبان نیز می گردد. در واقع به نظر می رسد در کاندیدا آلبیکنس، تغییر حالت از هم زیست بی ضرر به پاتوژن بیماری زا در تعادل است و به یک مجموعه گسترده ای از عوامل تعیین کننده ویرو لانس منتهی می شود که به طور انتخابی در شرایط مناسب، مستعد بیان می شوند. فاکتور های ویرو لانس بیان شده توسط کاندیدا آلبیکنس در ایجاد عفونت ها بر اساس نوع و محل عفونت و وضعیت سیستم ایمنی میزبان متفاوت می باشد. از جمله فاکتور های ویرو لانس کاندیدا آلبیکنس می توان به مورفولوژی سلولی، فاکتور های چسبندگی، تغییر فنوتیپی و فعالیت های پروتئولیتیک و لیپولیتیک خارج سلولی اشاره کرد (۶). در این مطالعه مروری به چگونگی تنظیم بیان ژن های کد کننده این فاکتورها و مسیر ژنومی آن پرداخته شد.

۱- تغییر مورفولوژی

یکی از خصوصیات کاندیدا آلبیکنس توانایی رشد به شکل مخمر جوانه زنی تک سلولی و یا فرم فیلامنتی است. شکل هایفال نقش کلیدی در پروسه ایجاد عفونت دارد و می تواند نفوذ به داخل بافت را تقویت، و باعث فرار از سیستم ایمنی میزبان شود (۸،۷). فاکتور های بسیاری

جمله ایدز، نوتروپنی، بیماران بستری در بخش ICU، احتمال ابتلا به کاندیدایزیس نیز افزایش می یابد. علاوه بر آن، حدود ۷۵ درصد خانم های سالم حداقل یک بار عفونت مخمری واژن را تجربه می کنند (۳،۲). با این که مرگ و میر بالای عفونت های سیستمیک باکتریایی با تجویز اولیه آنتی بیوتیک های وسیع الطیف کاهش یافته است، عفونت های سیستمیک فارچی به طور فزاینده ای باعث ایجاد مرگ و میر در افراد دارای نقص ایمنی می شوند (۱). در ایران، مهم ترین فاکتور های خطر کاندیدی می در درجه اول جراحی و سپس سوختگی می باشد. کاندیدوری علامت دار اغلب در بیمارانی که دارای سیستم ایمنی تضعیف شده می باشند و همچنین بیماران دارای کاتتر مثانه، رخ می دهد. بدخیمی های خونی و دستگاه ادراری تناسلی از مهمترین فاکتور های خطر عفونت کاندیدیایی ادرار می باشد (۴). در دهه اخیر شیوع اندوکاردیت کاندیدیایی رشد چشمگیری به خصوص در بیماران دارای بیماری دریچه قلبی زمینه ای، بیمارانی که تعویض دریچه قلب انجام داده اند، بیماران آلوده به ویروس نقص ایمنی انسانی و معتادان تزریقی، داشته است. اندوکاردیت کاندیدیایی تهدید کننده حیات نیز می باشد (۵).

کاندیدا آلبیکنس یک ارگانیسم دیپلوئید حاوی ۸ کروموزوم است که به صورت کروموزوم ۱-۷ و کروموزوم R نیز نامیده می شود. در این مخمر، بیان ژن های خاص که در مراحل ویژه ای از زندگی قارچ نقش مهمی دارند، تحت شرایط خاصی از متابولیسم، استرس و تغذیه تقویت می شود و این در حالی است که برخی از ژن های دیگر مانند ژن های ریبوزومی تمایلی به بیان ندارند. با این حال، علی رغم افزایش اهمیت عفونت های کاندیدیایی در پزشکی، بسیاری از تعاملات آن با میزبان هنوز درک نشده است. در این مطالعه مروری سعی شده است به روند تنظیم ژنتیکی فاکتور های ویرو لانس کاندیدا آلبیکنس پرداخته شود.

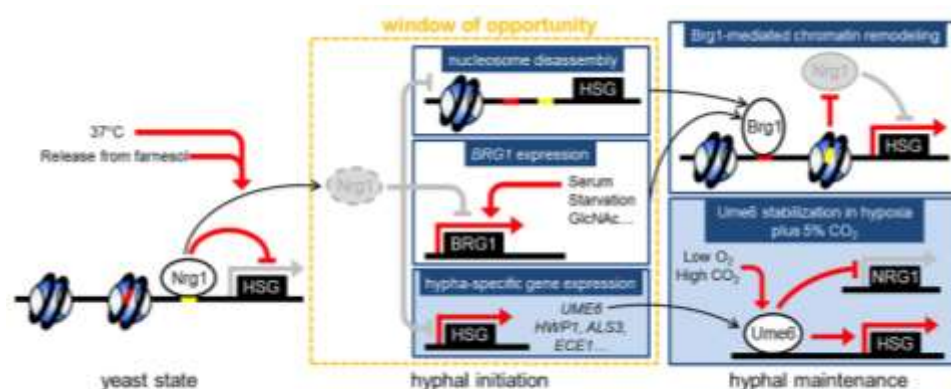
در این مطالعه مروری، جستجوی مقالات با استفاده از کلید واژه های فارسی، کاندیدا آلبیکنس، بیمار یزایی، پاتوژن، فاکتور ویرو لانس، تنظیم ژنتیکی و

بر روی تغییر مورفولوژیکی در کاندیدا تاثیر گذار می باشند که شامل، محیط اسیدی یا بی هوازی، ترشح ایمونوگلوبولین A (SigA) در بزاق یا سرم، شرایط تغذیه ای، دمای محیط و یکسری فاکتورهای القایی مثل L پرولین و N استیل گلوکز آمین موجود در سرم، می باشند (۹، ۱۰). القای تولید هایف توسط تنظیم کننده های *HSG*، *UME6* و غیره انجام می شود. مطالعات انجام شده در مورد *UME6* نشان می دهد که سودوهایفال در حالت بینابینی سلول های مخمری و هایفا قرار دارد (۱۱). ژن های نظیر *HWP*، *ALS3*، *RBT5*، *HSG* پروتئین های دیواره سلولی را کد می کنند که نقش زیادی در چسبندگی به سلول میزبان و جذب آهن از میزبان را به عهده دارند (۱۵-۱۲). انتقال از فاز مخمری به هایفا توسط بسیاری از عوامل تغذیه ای و محیطی ایجاد می شود که شامل سرم، N استیل گلوکز آمین، pH خنثی، افزایش دما، کمبود اکسیژن، وجود CO_2 ، چسبندگی و کمبود مواد غذایی می باشند و تغییر فاز بین شکل مخمری و هایفال در کاندیدا/آلبیکنس به عنوان یک فاکتور مهم در ویرو لانس آن توسط بسیاری از مطالعات مورد تایید قرار گرفته است. اما عملکرد توکسین قارچی *Ece1* می تواند به عنوان یک عامل کلیدی برای آسیب زدن به سلول های اپیتلیال به جای فرم هایفال کاندیدا/آلبیکنس مطرح باشد، همان طور که موتانت های ژن *ECE1* باعث ایجاد هایف های یکسان از نظر مورفولوژیکی در مقایسه با تایپ وحشی ولی با همان ویژگی های تهاجمی می شود (۱۶). برخی از فاکتورهای تنظیمی رونویسی از جمله *Czf1*، *Tec1*، *Cph2* که در تغییر فنوتیپی کاندیدا/آلبیکنس نقش حیاتی دارند شناسایی شده اند (۹، ۱۷). این فاکتورها در تنظیم ژن های اختصاصی هایفا شامل، *EDE1*، *HGC1*، *RBT1*، *ALS3*، *ECE1*، *HWP1* از دو مسیر اصلی نقش دارند. مسیر ادنیلات سیکلاز/پروتئین کیناز (cAMP/PKA) توسط تنظیم کننده *Efg1* و مسیر تنظیم کننده های *Nfg1*، *Cph1* و مسیر مهاری وابسته به

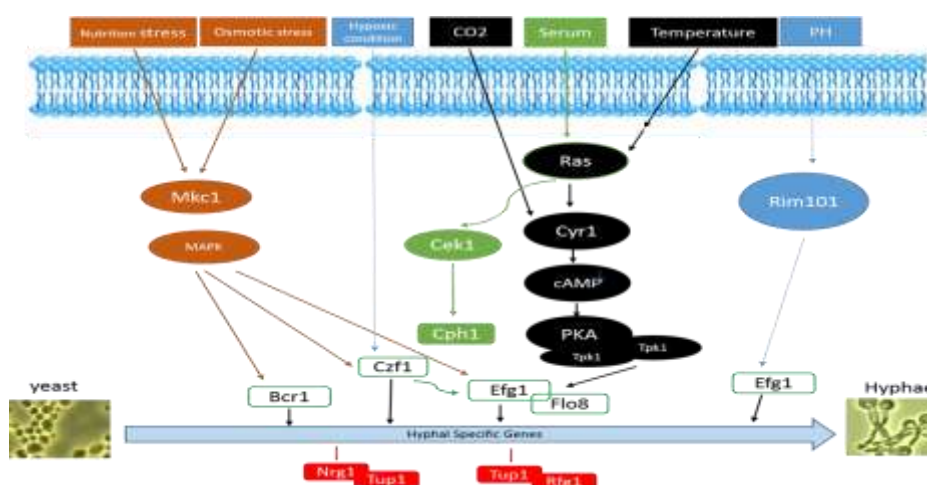
Nrg1 تنظیم می شود. *Rim101* در مسیرهای القایی توسط تغییر pH نقش دارد (۹). تنظیم بیان ژن های ویژه هایف ((*HSG*) *Hypheal Specific Genes*)، یک تنظیم منفی می باشد که توسط یک کمپلکس متشکل از کمک مهارکننده رونویسی عمومی یعنی *Tup1* که با مهارکننده *Nrg1* مرتبط است، انجام می شود (۲۱-۱۸). در مخمرهای جوانه زن، *Tup1* به عنوان یک مهارکننده برای تنظیم بسیاری از ژن ها مطرح است. در کاندیدا/آلبیکنس مورفوژن، فنوتایپ سوئیچینگ و متابولیسم سلولی توسط رپرسور *Tup1* تنظیم می شود. متعاقباً تنظیم بیان بسیاری از ژن های اختصاصی هایف توسط دو مهارکننده *Tup1* و *Nrg1* انجام می گیرد و سلول هایی که هیچ کدام از دو تنظیم کننده را ندارند لزوماً به صورت سودو هایف طولانی رشد می کنند (۲۲). بیان ژن *NRG1* باعث مهار رشد هایفی در تمام شرایط رشد *in vitro* و همچنین کاهش قدرت ویرو لانس در مدل عفونت سیستمیک می شود، بنابراین از بین بردن سرکوب کننده رونویسی، یعنی *Nrg1*، باید منجر به انتقال مرحله مخمری به هایف در کاندیدا شود (۲۳، ۲۴). در حقیقت *Nrg1* روی پروموتورهای ژن های خاص هایفا برای سرکوب کردن بیان این دسته ژن ها در طی رشد مخمری قرار می گیرد. پس از القا هایف، *Nrg1* به سرعت از پروموتورها جدا می شود و در طول رشد هایفی در سطح خیلی پایینی بیان می شود (تصویر شماره ۱). مقدار پروتئین *Nrg1* در طی ۳۰ دقیقه اول پس از القاء رشد هایفی در ۳۷ درجه سانتی گراد به شدت کاهش می یابد که همزمان با تشکیل لوله های جرم تیوب و جدا شدن از پروموتور ژن های اختصاصی هایف می باشد (۲۵). جالب است که بعد از یک ساعت از شروع رشد هایفی مقدار پروتئین *Nrg1* جبران شده اما به صورت کاهش یافته باقی می ماند. ناپدید شدن موقتی *Nrg1* برای القاء هایفا ضروری می باشد زیرا تغییر درجه حرارت تا ۳۷ درجه سانتی گراد و تلقیح مقدار کمی از سلول های از یک محیط کشت غنی به محیط تازه برای از بین بردن

آلیکس برای تشکیل هایفا ضروری بوده و باعث تولید cAMP می شود و سپس پروتئین کیناز A را فعال می کند (۲۷). پروتئین PKA دارای دو زیر واحد کاتالیتیکی TPK1، TPK2 می باشد (۲۸، ۲۹). نیاز به CYR1 و TPK2 برای رشد هایفا در تمامی محیط ها مطابق با ضرورت آن برای کاهش رونویسی NRG1 در هنگام شروع هایفا است. در حقیقت عملکرد اصلی TPK2 در توسعه هایفا و کاهش تنظیمی NRG1 می باشد. به نظر می رسد عملکرد فاکتورهای رونویسی Efg1، Flo8 در توسعه فاز هایفا در قسمت پایین دست مسیر cAMP-PKA برای کاهش بیان NRG1 مورد نیاز است (۲۶). تصویر شماره ۲ مسیرهای درگیر در القای فاز هایفی را به صورت خلاصه نشان می دهد.

NRG1 کافی است. دیگر شرایط القا هایف مانند سرم و گرسنگی برای ناپدید شدن NRG1 در هنگام شروع هایفا ضروری است. بنابراین توسعه هایفال شامل ۲ مرحله حذف سریع NRG1، مرحله اول برای شروع و مرحله دوم برای نگهداری، است. برای شروع نیاز به کاهش گذرا بیان ژن کدکننده پروتئین NRG1 می باشد و در حالی که نگهداری رشد هایفی نیازمند تنظیم عدم اتصال NRG1 به پروموتورهای ژن های خاص هایفا می باشد (۲۵). کاهش بیان ژن NRG1 وابسته به مسیر cAMP-PKA است زیرا ادنیلیل سیکلاز Cyr1 یا TPK (یک واحد کاتالیزوری PKA) برای کاهش بیان NRG1 در طول آغاز هایفا ضروری است (۲۶). Cyr1 در کاندیدا/



تصویر شماره ۱: ارتباط موقت بین آغاز و ادامه مرحله هایفا، ناپدید شدن موقتی Nrg1 در مرحله آغاز فرصت را برای رشد هایفا فراهم می کند. دایره سفید نشان دهنده فعال سازی پروتئین و دایره خاکستری نشان دهنده مهار است و نقطه چین نشان دهنده پروتئین تجزیه شده است. خطوط قرمز نشان دهنده ارتباط های تنظیمی است. خطوط خاکستری نشان دهنده ی مهار و خطوط مشکی نشان دهنده توسعه مراحل هایفی می باشد (۳۰).



تصویر شماره ۲: تنظیم ژن های اختصاصی هایف در کاندیدا/آلیکس

۲-۱- ژن های ویژه هایف (Hypheal Specific Genes(HSG))

۲-۱- ژن $HGC1$ (Hyphal G cyclin 1)

یک پروتئین در گیر در تنظیم رشد میسلالی را کد گذاری می کند، بیان این پروتئین با رشد و گسترش هایف در ارتباط است (۳۱). $HGC1$ فقط در فاز میسلالی بیان شده و به عنوان ژنی تلقی می شود که بیانش وابسته به سیکل سلولی نمی باشد (۳۲). سطح بیان HGC با سیگنال القا شده توسط میسیلیوم تنظیم می شود. یعنی تا زمانی که شرایط مساعد باشد میسیلیوم می تواند به همان شکل وجود داشته باشد. تنظیم آن عمدتاً وابسته به مسیر AMP/ پروتئین کیناز Cyclic AMA/ A و توسط کانال های $Tup1-Nrg1$ مهار می شود. فاکتورهای رونویسی بیان این ژن شامل، $Efg1$, $Tec1$, $Flo8$, $CDC35$ می باشد (۳۳، ۳۴). $HGC1$ به تازگی به عنوان عامل ضروری برای مورفوژن هایف شناخته شده است و توسط القا سیگنال هایف فعال می شود (۳۱). بدون $Hgc1$ گسترش رشد هایفی متوقف می شود و این در حالی است که بیان ژن $EFG1$ در فاز مخمری و هایفی تغییری ندارد و بیان ژن $HGC1$ در فاز هایفی به شدت افزایش می یابد، به طوری که در فاز مخمری اصلاً بیان نمی شود. این پروتئین بیش تر در قسمت راس سلول یعنی جایی که جرم تیوب ایجاد می شود تجمع پیدا کرده و بدون وابستگی به سیکل سلولی تخریب و تجزیه می شود و تنظیم کننده $UME6$ در تنظیم بیان این ژن نقش دارد (۳۲). جدول شماره ۱ به بیان تنظیم کننده های مهمترین ژن های دخیل در بیماریزایی کاندیدا آلبیکنس پرداخته است.

جدول شماره ۱: تنظیم کننده های مهمترین ژن های دخیل در بیماریزایی

کاندیدا آلبیکنس

ژن	Positive regulators	Negative regulators	Signaling pathway	Function
HGC	$Efg1$, $Cdc35$, Tec , $Flo8$	$Tup1$, $Nrg1$	cAMP/PKA	آغاز ایجاد هایف
UME6	$Efg1$	$Tup1$, $Nrg1$	cAMP/PKA	طول شدن هایف
ALS3	$Efg1$, $Tec1$, $Bcr1$, $Cph1$	$Nrg1$, $Tup1$, $Rfg1$	cAMP/PKA	طول شدن هایف
ECE1	$Efg1$, $Cph1$, $Hog1$	$Rfg1$, $Nrg1$, $Tup1$	cAMP/PKA	طول شدن هایف
HWP1	$Efg1$	$Nrg1$, $Tup1$	cAMP/PKA	طول شدن هایف
SAP	$Wor2$	$Tup1$	cAMP/PKA	تجزیه پروتئین ها
WOR1	$Efg1$, $Czf1$, $Wor1$, $Wor3$	$Tup1$	cAMP/PKA	تغییر مورفولوژی

۲-۲- ۱- ژن $UME6$

یک تنظیم کننده خاص فیلامنتی جدید در گسترش فاز هایفال و افزایش ویرولانسی کاندیدا آلبیکنس می باشد و به عنوان یک تنظیم کننده برای بیان ژن $TUP1$ نیز مطرح است که نقش تنظیمی خود را در ناحیه پایین دست $TUP1$ اعمال می کند (۳۵). مطالعات نشان داده است که تحت شرایط خاص، نظیر رشد در حضور سرم، pH خنثی تا قلیایی، فقر غذایی و N استیل گلوکز آمین، استرین هایی از کاندیدا آلبیکنس که در $UME6$ دچار جهش شده اند، فاز هایفی به طور کامل دچار نقص می باشند (۳۶). پس از القا هایف، بیان ژن HGC در عرض ۵ دقیقه افزایش می یابد در حالی که $UME6$ تا ۱۵ دقیقه اول شناسایی نشده است (۳۵، ۱۱). همچنین تنظیم منفی $UME6$ بر عهده $Tup1$, $Nrg1$ می باشد. $Ume6$ و $Nrg1$ با همکاری هم و ایجاد یک فیدبک منفی سطح و زمان بیان ژن های اختصاصی فیلامنتی را در پاسخ به شرایط القایی کنترل می کنند (۳۵).

۲-۳- ۱- ژن $ALS3$

یکی از پروتئین های خانواده آگلوتنین، $Als3$ می باشد که مختص هایف بوده و در فاز مخمری بیان نمی شود (۳۷). این پروتئین در بسیاری از فرایندهای داخل سلولی، مانند چسبندگی به سطوح اپیتلیال و اندوتلیال و پروتئین های ماتریکس، در تشکیل بیوفيلم دخالت دارد و همچنین یکی از عوامل تهاجم در کاندیدا آلبیکنس می باشد (۳۸). اگر چه موتانت های $ALS3$ به طور معمول میسیلیوم تشکیل می دهند اما نقص های در تشکیل بیوفيلم نشان می دهند و از دیگر نقش های آن می توان به اتصال به رستپورهای سلول میزبان مانند E - کادهرین و یا N - کادهرین که موجب القای آندوسیتوز و اتصال به فریتین سلول میزبان می شود، اشاره کرد (۳۹، ۱۳). این ژن بر اساس تشابه ژنی با ژن $SAG1$ قارچ ساکارومیسس سرویزیه که آلفا آگلوتنین را کد می کند کشف شد (۴۰). این خانواده

دارای ۱۱ عضو است (ALS1-ALS7، ALS9-12). بخش تنظیمی شامل دو ناحیه مهارکننده R1 و R2 و دو ناحیه فعال کننده A1 و A2 می‌باشد. پروتئین‌های مهارکننده Tup1، Nrg1 و Rfg1 رونویسی ژن ALS3 را توسط اتصال به دو ناحیه مهارتی کاهش می‌دهند. دو فاکتور رونویسی Cph1 و Efg1 که در تشکیل هایف نقش دارند به دو ناحیه فعال کننده متصل شده و موجب افزایش رونویسی ژن می‌شوند. Tec1 یک فاکتور رونویسی است که در تشکیل هایف نقش دارد و از طریق فاکتور Bcr1 به صورت غیر مستقیم ALS3 را فعال می‌کند (۴۲، ۴۱). در شرایط افزایش مواد غذایی Tor1 از طریق مسیر پروتئین کیناز باعث القای بیان Nrg1 و Tup1 و کاهش بیان Efg1 و Bcr1 می‌شود که در نهایت موجب کاهش سطح ALS3 می‌گردد (۴۳).

۴-۲-۱- ژن HWP 1

ژن HWP1 دارای خاصیت آنتی ژنی است که یک مانوز پروتئین را کدگذاری می‌کند که برای رشد طبیعی میسلیوم ضروری است. Hwp1 یک فاکتور چسبندگی مهم برای تنظیم تمایز است. موتانت‌های ژن HWP می‌توانند در مدل‌های موشی ایجاد عفونت کنند اما دارای ویرولانز کم‌تر و زمان عملکرد کوتاه‌تر می‌باشند که در مدت زمان کوتاهی توسط سلول‌های فاگوسیت کننده جمع آوری و بلعیده می‌شوند (۴۴). بنابراین موتانت‌های این ژن نمی‌توانند به سلول‌های مخاطی به طور پایدار متصل شوند (۴۴). تشکیل بیوفیلم توسط کاندیدا/آلیکس متکی به پروتئین Hwp1 و Als است که مکمل یکدیگر در تشکیل بیوفیلم هستند و جهش در هر یک از این دو باعث تشکیل بیوفیلم ناقص می‌شود (۴۵).

۵-۲-۱- ژن ECE1

محصول ژن (Extend of Cell Elongation) ECE1 در تخریب سلولی و تولید سایتوتوکسین‌های ایمنی ذاتی در مدل کاندیدایازیس از وفارنژیال موشی ضروری

است. ژن ECE1 ژنی است با نرخ بیان بالا در سلول که ارتباط مستقیمی با تولید هایف دارد. محصول ژن، پروتئین Ecp1p است که به ۸ پپتید مجزا منقسم شده به طوری که آمینو اسید ۹۲-۶۲ آن یک نوع توکسین قارچی به نام کاندیدا لیزین را تولید می‌نماید. این توکسین فعالیت لیتیک برای سلول‌های اپی تلیال دارد (۴۶). ECE1 یک ژن خاص هایف است که یک پروتئین غشایی وابسته به مسیر cAMP را کد می‌کند و مانند HWP1 توسط Efg1 تنظیم می‌شود (۴۷). گسترش هایف در ارتباط مستقیم با بیان این ژن است اما در آغاز تبدیل فاز مخمری به هایفی نقشی ندارد. این پروتئین برای تشکیل اولیه میسلیوم حیاتی نمی‌باشد و در شکل دهی و عملکرد میسلیوم نقش کمی دارد اما در حفظ فاز هایفی نقش عمده‌ای را بازی می‌کند (جدول شماره ۱) (۴۸).

۲-خانواده ژنی SAP

خانواده ژنی SAP منحصر به گونه‌های بیماری‌زای کاندیدا از جمله کاندیدا/آلیکس، کاندیدا/دابلینسیس، کاندیدا/تروپیکالیز و کاندیدا/پاراپسیلوزیس می‌باشد (۵۲-۴۹). تنها یک ایزوآنزیم Sap2، برای رشد سریع کاندیدا/آلیکس در محیط حاوی پروتئین به عنوان تنها منبع نیتروژن کافی است (۵۲، ۵۳). در ابتدایی ترین سطح، یکی از نقش‌های آسپارتیک پروتئین‌های ترشحی کاندیدا/آلیکس ممکن است هضم پروتئین‌های میزبان برای تامین نیتروژن مورد نیاز سلول‌ها باشد. از آنجایی که فعالیت Sap2، قارچ را قادر به رشد در محیط‌های حاوی آلبومین سرم یا پروتئین‌های دیگر به عنوان منبع نیتروژن می‌سازد، بنابراین جذب و تأمین مواد مغذی، یکی از عملکردهای این پروتئین‌هاست. از مهم ترین عملکردهای آسپارتیک پروتئین‌های ترشحی، چسبیدن و تهاجم به بافت میزبان از طریق تخریب ساختارهای سطحی سلول و مواد بین سلولی یا تخریب سلول‌ها و مولکول‌های سیستم ایمنی میزبان می‌باشد. پروتئین‌های ماتریکس خارج سلولی و سطح میزبان مانند کراتین،

کلاژن، لامینین، فیبرونکتین و موسین توسط Sap2 تخریب می‌شوند. برخی پروتئین‌های دفاعی میزبان از جمله لاکتوفرین بزاق، آلفا ماکروگلوبولین مهارکننده پروتئیناز، آنزیم‌های انفجار تنفسی ماکروفاژها و تقریباً همه ایمونوگلوبولین‌ها مثل IgA ترشحی که معمولاً به پروتئینازهای باکتریایی مقاوم هستند، توسط Sap2 هیدرولیز می‌شوند. حضور ده ژن SAP نشان می‌دهد که پروتئینازهای مختلفی می‌توانند در طول پروسه عفونت، انواع سلول‌های میزبان را هدف قرار دهند. اعضای مختلف خانواده SAP به‌طور متفاوتی تحت شرایط آزمایشگاهی و در طی عفونت‌های کاندیدا/آلبیکنس در بدن بیان می‌شوند (۵۴).

در شرایط آزمایشگاهی القاکننده پروتئینازها، ژن SAP2 می‌باشد که توسط یک مکانیسم خود تنظیمی مثبت تنظیم می‌گردد (۵۲). SAP1 و SAP3 در استرین‌های خاص طی تغییر فنوتیپی به شکل متفاوتی بیان می‌شوند (۵۵، ۵۶). تنظیم بیان SAP8 به واسطه دما بوده، و SAP9 و SAP10 بیشتر در شرایط محیطی در هر دو فرم مخمری و هایفال بیان می‌شوند (۵۷). از آنجایی که بیشتر آسپارتریک پروتئینازها تنها تحت شرایط اسیدی فعال می‌شوند، باید اشاره نمود که ژن‌های SAP4-6 در pH خنثی حتی در محیط‌های پروتئینی بیان می‌شوند (۵۲، ۵۳). این مطالعات نشان دادند که اعضای خانواده SAP در شرایط آزمایشگاهی به‌طور متفاوتی بیان می‌شوند و نیز بر خلاف SAP2، بیان دیگر ژن‌های این خانواده وابسته به پروتئین اگزوزن و پپتیدها نیست. شواهد آزمایشگاهی الگوهای متمایز بیان SAP ها در حالت مخمری و رشته‌ای نشان داد، بیان پروتئینازها یک پروسه کاملاً کنترل شده و تنظیم شده است.

مدل‌های آزمایشگاهی از عفونت‌های دهانی، جلدی ناشی از کاندیدا/آلبیکنس، نشان دادند که SAP1-3 پروتئینازهای اصلی بیان شده طی عفونت‌های سطحی هستند و در مدل‌های عفونت منتشره کاندیدا/آلبیکنس، ژن‌های SAP4-6 نقش دارند (۶۰-۵۸). با این وجود در

مراحل انتهایی عفونت سیستمیک، SAP2 نیز بیان می‌شود (۱۴). اگر چه شباهت کلی ژن‌های SAP بسیار بالاست، تفاوت در توالی پروموتور آن‌ها نشان می‌دهد که بیان ژن‌های مختلف SAP توسط تنظیم‌کننده‌های رونویسی خاص کنترل می‌شود.

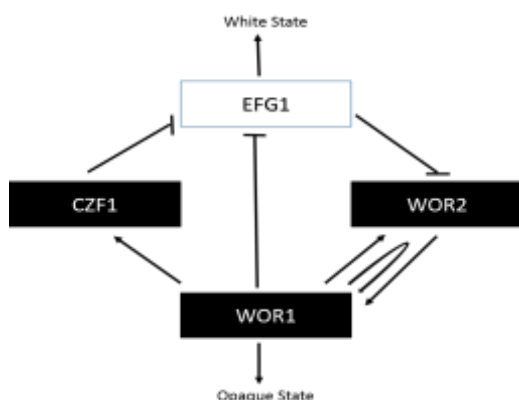
۳- تغییر فنوتیپی

تبدیل به تیپ آمیزشی (mating type) مخالف و تغییر شکل از حالت مخمری به حالت رشته‌ای (هایف یا سودوهایف) نمونه‌هایی از تمایز سلول‌های مخمری می‌باشند. یکی از علل مهم این تمایزات، افزایش بقا و پاتوژنیسته می‌باشد. کاندیدا/آلبیکنس نیز در این خصوص، مکانیسم ویژه‌ای تحت عنوان تغییر فنوتیپی به کار می‌گیرد. تغییر فنوتیپی به عنوان یک پدیده برگشت پذیر با تغییر مرفولوژی سلولی و کلنی به میزان بالا در مقایسه با جهش‌های سوماتیکی تعریف شده است (۶۱، ۶۲). این استراتژی مرموزانه به کاندیدا/آلبیکنس اجازه می‌دهد تا در برابر تغییرات شرایط محیطی از جمله بدن انسان که ممکن است در دما و pH نسبت به محیط قبلی تفاوت داشته باشد، سازگاری سریع یابد. توانایی رشد در اشکال مرفولوژیکی مختلف در حالت کومنسال و پاتوژن، امری حیاتی می‌باشد (۶۵-۶۳). تغییر حالت «سفید-اوپک» یک سیستم تغییر فنوتیپی شناخته شده در کاندیدا/آلبیکنس است (۶۶). از ویژگی‌های سلول‌های سفید و اوپک می‌توان به موارد زیر اشاره نمود:

- سلول‌های سفید گرد با کلنی‌های خمره‌ای شکل صاف هستند در حالی که سلول‌های اوپک لویایی شکل با کلنی‌های مسطح کدر می‌باشند (۶۷، ۶۸).

- تعامل سلول‌های سفید و اوپک با سیستم ایمنی متفاوت است. به عنوان مثال، سلول‌های سفید مواد جاذب برای لکوسیت‌ها ترشح می‌کنند در حالی که در سلول‌های اوپک این گونه نمی‌باشد، به علاوه تغییر فنوتیپی یک مکانیسم سازگاری می‌باشد تا سلول‌های کاندیدا/آلبیکنس از سیستم ایمنی فرار کنند (۶۷).

برابری رونویسی *WOR1* در سلول‌های اوپک نسبت به سلول‌های سفید می‌شود. پروموتور ژن *WOR1* به طور مستقیم توسط هتروداایمر *a1-a2* سرکوب شده است که بیانگر ناتوانی تغییر سلول‌های *a/a* از حالت سفید به اوپک می‌باشد (۸۱). از دیگر تنظیم‌کننده‌های رونویسی در فرایند تغییر فنوتیپی، *WOR2*، *EFG1* و *CZF1*، *WOR3* می‌باشند (تصویر شماره ۳) (۷۸، ۷۷، ۸۳، ۸۴).



تصویر شماره ۳: مدل تغییر فنوتیپی سلول‌های سفید-اوپک در کاندیدا/آلیکنس، باکس‌های سیاه نشان‌دهنده فاکتورهایی هستند که در سلول‌های اوپک بیان می‌شوند و باکس سفید نمایانگر فاکتورهای مهم در سلول‌های سفید است (۶۹).

با توجه به این مدل، چرخه در حالت سفید غیر فعال بوده و به عنوان حالت پیش فرض در نظر گرفته می‌شود. تغییر حالت (switching) به هنگام برانگیخته شدن چرخه در اثر مجموعه‌ای از حلقه‌های خود تنظیمی مثبت اتفاق می‌افتد که می‌تواند برای چندین نسل به همین حالت باقی بماند. وراثت حالت اوپک ناشی از مولکول‌های تنظیم‌کننده می‌باشد که طی تقسیم سلولی به سلول‌های دختری منتقل می‌شود، غلظت این تنظیم‌کننده‌ها در سلول‌های دختری برای تهییج دوباره این چرخه و حفظ حالت اوپک کافی می‌باشد. فرآیند معکوس (تبدیل حالت اوپک به سفید) هنگامی رخ می‌دهد که تنظیم‌کننده‌ها به مقدار کم به سلول‌های دختری منتقل شده و چرخه خاموش گردد. در این چرخه، چندین عامل اصلاح‌کننده کروماتین وجود دارد که حضور آن‌ها نیز

سلول‌های اوپک در حساسیت نسبت به نوتروفیل‌ها و گونه‌های واکنش‌پذیر اکسیژن، چسبندگی به سلول‌های انسان و مواد پلاستیکی، ترشح پروتئین‌ها و مقاومت به ضد قارچ‌ها از سلول‌های سفید متفاوت هستند (۶۷).

یکی از جالب‌ترین تفاوت‌های بین سلول‌های سفید و اوپک، بیان ژن‌های متابولیسم گلوکز می‌باشد. سلول‌های سفید به طور خاص ژن‌هایی که در متابولیسم تخمیری نقش دارند را فعال کرده در حالی که سلول‌های اوپک، ژن‌های مسیر اکسیداتیو را بیان می‌کنند. این اختلاف در دو حالت هوازی و بی‌هوازی رخ می‌دهد (۶۷).

سلول‌های سفید و اوپک در پروفایل‌های بیان ژن و ویروالانس فاکتورها باهم تفاوت دارند (۶۹، ۷۰). سلول‌های اوپک در عفونت‌های جلدی و سلول‌های سفید در عفونت‌های سیستمیک برتری دارند (۷۰، ۷۱).

کنترل بیان ژن در سیستم تغییر فنوتیپی توسط ژن‌های خانواده *SAP* (*SAP1* و *SAP3*)، ژن تنظیمی لپید-گلوکز *WH11*، ژن پروتئین غشایی *OP4*، ژن *CaNIK1*، ژن *EFG1* و ژن ترانسپورتر *CDR3* انجام می‌گیرد (۷۲-۷۸، ۵۶، ۵۵، ۵۲). یکی از ویژگی‌های کلیدی سلول‌های سفید و اوپک، پایداری آن‌ها طی هزاران سال در شرایط آزمایشگاهی معمول است که بر اساس تقسیم سلولی، سلول‌های سفید همیشه به سلول‌های سفید و سلول‌های اوپک همیشه به سلول‌های اوپک تبدیل می‌شوند. این رفتار در نتیجه توپولوژی چرخه رونویسی آن‌ها پیش‌بینی می‌شود (۷۹). در هسته این چرخه، یک پروتئین به نام *Wor1* است که اولین تنظیم‌کننده عمده حالت اوپک می‌باشد (۸۰-۸۲). برای تبدیل حالت سفید به اوپک، بیان ژن *WOR1* مورد نیاز است، در صورتی که بیان نابجای این پروتئین می‌تواند کل جمعیت سلول‌های سفید را به حالت اوپک تغییر دهد. بیان *WOR1*، یک حلقه خود تنظیمی مثبت به واسطه اتصال پروموتور خود و شروع بیان خود ایجاد می‌کند (۸۲-۸۰). فعال شدن این حلقه خود تنظیمی باعث افزایش ۴۰

بر تغییر حالت (switching) تاثیر می‌گذارد. برای مثال، حذف هیستون داستیلاز *HDA1* تغییر حالت از سفید به اوپک را کمی افزایش می‌دهد در حالی که حذف هیستون داستیلاز دیگری به نام *RPD3* تغییر حالت در هر دو مسیر را افزایش می‌دهد (۸۵). به تازگی مشخص شده است که استیل ترانسفراز *NAT4*، هیستون داستیلاز *HST2*، *SET3* و *HOS2* در این چرخه، نقش تنظیمی دارند. حذف هر یک از این ژن‌ها موجب کاهش میزان تغییر حالت سفید به اوپک شده و همگی این ژن‌ها به جز *HST2*، میزان تغییر حالت از اوپک به سفید را افزایش می‌دهند (۸۳). با این حال، هنوز به طور دقیق میزان نقش عوامل بازسازی کروماتین در تغییر فنوتیپی معلوم نیست.

بحث

انتقال فاز مخمری به رشته‌ای در کاندیدا/ به تعدادی از ویژگی‌های مهم برای تعامل با میزبان در ارتباط است که از جمله آن‌ها می‌توان به چسبندگی به سلول‌های اپیتلیال و اندوتلیال، تهاجم اولیه و بین سلولی از طریق اندوسیتوز القا شده، نفوذ فعال، فرار از فاگوسیت‌ها و فرار از سیستم ایمنی میزبان اشاره نمود. در حال حاضر اطلاعات زیادی در خصوص تغییر فنوتیپی، مورفولوژی و سایر فاکتورهای بیماری‌زایی کاندیدا/ آلبیکنس از جمله حضور احتمالی فاکتورهای رونویسی کشف نشده، مکانیسم دقیق عملکرد آن‌ها و جزئیات مسیرهای سیگنالینگ داخل سلولی، مبهم باقی مانده است که نیازمند انجام مطالعات بیش‌تر در آینده می‌باشد. یافته‌های اخیر، اطلاعاتی در مورد بررسی مکانیسم‌های مولکولی برای پلی‌مورفیسم در کاندیدا/ آلبیکنس را ارائه می‌دهند، اما متأسفانه علی‌رغم پیشرفت‌های اخیر اطلاعات در مورد زمان‌بندی پلی‌مورفیسم کاندیدا/ در میزبان محدود است. طبق مطالعات اخیر، ژن *ERG3* و *ERG11* علاوه بر نقش اصلی خود در سنتز ارگوسترول، که به عنوان یک فاکتور ویروالانس در مدل‌های موشی مورد بررسی قرار گرفته است، به نظر می‌رسد این ژن

برای ایجاد عفونت کاندیدایزیس ازوفارنژیال در مدل موشی ضروری است. همان‌طور که در موتانت‌های این دو ژن شاهد کاهش بیان ژن‌های *ALS1*، *HWP1* و *SAP6* هستیم، این دو ژن به همراه ژن *ECE1* به عنوان ژن‌های (missing-link) در تخریب سلولی و تولید هایف مطرح هستند. ژن‌هایی که حذف آن‌ها باعث عدم تخریب سلول‌های اپیتلیال در فقدان تولید هایف می‌شود. بنابراین missing link genes) احتمالاً شامل ژن‌ها یا مسیرهایی مرتبط با ویروالانس و سیستم ایمنی می‌شوند که می‌توانند به عنوان اهداف جدید دارویی مورد بررسی قرار گیرند (۱۶).

درک صحیح عملکرد ژن‌های دخیل در شکل‌گیری یا مهار یک فاکتور بیماری‌زا می‌تواند به عنوان یک رویکرد جدید در ممانعت از کلونیزاسیون و عفونت کاندیدایی و همچنین طراحی داروهای جدید ضد کاندیدایی مورد استفاده قرار گیرد. مطالعات آینده برای تعیین مورفولوژی‌های کاندیدا در طول کلونیزاسیون و عفونت، ضروری می‌باشد. همچنین مطالعات بیش‌تر برای ادغام مسیرهای سیگنالینگ جدید با مسیرهای تازه شناخته شده که *NRG1* را برای کنترل پلی‌مورفیسم به کار می‌گیرد، باید مورد توجه قرار گیرد. علاوه بر ژن‌های ذکر شده در کاندیدا/ آلبیکنس، ژن‌های دیگری نیز وجود دارند که در مسیرهای تنظیم فاکتورهای بیماری‌زایی سهم هستند که به طور خلاصه به برخی از آن‌ها اشاره می‌شود: ژن *TOP1* که در تکثیر DNA به عنوان توپومراز نقش ایفا می‌کند، *RBT4* مسئول کد کردن یک پروتئین ترشحی می‌باشد و مشابه پروتئین‌های مرتبط با پاتوژن در گیاهان، عفونت قارچی را القا می‌کند، *TUP1* در رونویسی و در تشکیل هایفال نقش مهمی دارد، *WH11* که یک ژن اختصاصی فاز وایت و مسئول کد کردن یک شبه پروتئین شوک حرارتی می‌باشد و در نتیجه بیان نابجا در فاز اوپک سبب کاهش ویروالانس می‌شود، *CEK1* در تشکیل هایفال از طریق مسیر MAP کیناز نقش دارد، *CPH1* به عنوان فاکتور

مطالعات بیش تری در زمینه ژنتیک و ویروالانس کاندیدا/آلبیکنس صورت گرفته ولی همچنان نیاز به مطالعات بیش تر جهت شناسایی بیش تر ژن‌ها، عملکرد آن‌ها و درک بهتر از ویروالانس کاندیدا آلبیکنس وجود دارد.

رونویسی و همچنین در تشکیل هایفال نقش ایفا می کند و *INT1* از خانواده اینتگرین‌ها می باشد که در چسبندگی نقش دارد و باعث کاهش چسبندگی در سلول‌های اپیتلیال می شود، می باشد (۸۶-۹۱). علی رغم این که اخیراً

References

1. Fidel PL, Vazquez JA, Sobel JD. *Candida glabrata*: review of epidemiology, pathogenesis, and clinical disease with comparison to *C. albicans*. Clin Microbiol Rev 1999; 12(1): 80-96.
2. Sobel JD. Epidemiology and pathogenesis of recurrent vulvovaginal candidiasis. Am J Obstet Gynecol 1985; 152(7): 924-935.
3. Yazdanparast SA, Khodavaisy S, Fakhim H, Shokohi T, Haghani I, Nabili M, et al. Molecular Characterization of Highly Susceptible *Candida africana* from Vulvovaginal Candidiasis. Mycopathologia 2015; 180(5-6): 317-323.
4. Rezai MS, Vaezi A, Fakhim H, Soleimani A, Mohammad Jafari H, Mohseni S, et al. Successful treatment with caspofungin of candiduria in a child with Wilms tumor; review of literature. J Mycol Med 2017; 27(2): 261-265.
5. Fesharaki SH, Haghani I, Mousavi B, Kargar ML, Boroumand M, Anvari MS, et al. Endocarditis due to a co-infection of *Candida albicans* and *Candida tropicalis* in a drug abuser. J Med Microbiol 2013; 62(Pt 11): 1763-1767.
6. Odds F. *Candida* species and virulence. ASM News 1994; 60: 313-318.
7. Calderone RA, Braun PC. Adherence and receptor relationships of *Candida albicans*. Microbiol Rev 1991; 55(1): 1-20.
8. McKenzie C, Koser U, Lewis L, Bain J, Mora-Montes H, Barker R, et al. Contribution of *Candida albicans* cell wall components to recognition by and escape from murine macrophages. Infect Immun 2010; 78(4): 1650-1658.
9. Fan Y, He H, Dong Y, Pan H. Hyphae-specific genes HGC1, ALS3, HWP1, and ECE1 and relevant signaling pathways in *Candida albicans*. Mycopathologia 2013; 176(5-6): 329-335.
10. Biswas S, Van Dijck P, Datta A. Environmental sensing and signal transduction pathways regulating morphopathogenic determinants of *Candida albicans*. Microbiol Mol Biol Rev 2007; 71(2): 348-376.
11. Carlisle PL, Banerjee M, Lazzell A, Monteagudo C, López-Ribot JL, Kadosh D. Expression levels of a filament-specific transcriptional regulator are sufficient to determine *Candida albicans* morphology and virulence. Proc Natl Acad Sci U S A 2009; 106(2): 599-604.
12. Almeida RS, Brunke S, Albrecht A, Thewes S, Laue M, Edwards Jr JE, et al. The hyphal-associated adhesin and invasin Als3 of *Candida albicans* mediates iron acquisition from host ferritin. PLoS Pathogens 2008; 4(11): e1000217.
13. Phan QT, Myers CL, Fu Y, Sheppard DC, Yeaman MR, Welch WH, et al. Als3 is a *Candida albicans* invasin that binds to cadherins and induces endocytosis by host cells. PLoS Biol 2007; 5(3): e64.
14. Staib P, Kretschmar M, Nichterlein T, Köhler G, Michel S, Hof H, et al. Host induced,

- stage specific virulence gene activation in *Candida albicans* during infection. *Mol Microbiol* 1999; 32(3): 533-546.
15. Weissman Z, Kornitzer D. A family of *Candida* cell surface haem binding proteins involved in haemin and haemoglobin iron utilization. *Mol Microbiol* 2004; 53(4): 1209-1220.
 16. Zhou Y, Liao M, Zhu C, Hu Y, Tong T, Peng X, et al. ERG3 and ERG11 genes are critical for the pathogenesis of *Candida albicans* during the oral mucosal infection. *International Journal of Oral Science* 2018; 10(2): 9.
 17. Brown Jr DH, Giusani AD, Chen X, Kumamoto CA. Filamentous growth of *Candida albicans* in response to physical environmental cues and its regulation by the unique CZF1 gene. *Mol Microbiol* 1999; 34(4): 651-662.
 18. Braun BR, Johnson AD. Control of filament formation in *Candida albicans* by the transcriptional repressor TUP1. *Science* 1997; 277(5322): 105-109.
 19. Braun BR, Kadosh D, Johnson AD. NRG1, a repressor of filamentous growth in *C. albicans*, is down regulated during filament induction. *EMBO* 2001; 20(17): 4753-4761.
 20. Kadosh D, Johnson AD. Induction of the *Candida albicans* filamentous growth program by relief of transcriptional repression: a genome-wide analysis. *Mol Biol Cell* 2005; 16(6): 2903-2912.
 21. Murad AMA, Leng P, Straffon M, Wishart J, Macaskill S, MacCallum D, et al. NRG1 represses yeast-hypha morphogenesis and hypha specific gene expression in *Candida albicans*. *EMBO* 2001; 20(17): 4742-4752.
 22. Garcia-Sanchez S, Mavor AL, Russell CL, Argimon S, Dennison P, Enjalbert B, et al. Global roles of Ssn6 in Tup1- and Nrg1-dependent gene regulation in the fungal pathogen, *Candida albicans*. *Mol Biol Cell* 2005; 16(6): 2913-2925.
 23. Park YN, Morschhäuser J. Tetracycline-inducible gene expression and gene deletion in *Candida albicans*. *Eukaryot Cell* 2005; 4(8): 1328-1342.
 24. Saville SP, Lazzell AL, Bryant AP, Fretzen A, Monreal A, Solberg EO, et al. Inhibition of filamentation can be used to treat disseminated candidiasis. *Antimicrob Agents Chemother* 2006; 50(10): 3312-3316.
 25. Lu Y, Su C, Wang A, Liu H. Hyphal development in *Candida albicans* requires two temporally linked changes in promoter chromatin for initiation and maintenance. *PLoS Biol* 2011; 9(7): e1001105.
 26. Lu Y, Su C, Unoje O, Liu H. Quorum sensing controls hyphal initiation in *Candida albicans* through Ubr1-mediated protein degradation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2014; 111(5): 1975-1980.
 27. Hogan DA, Sundstrom P. The Ras/cAMP/PKA signaling pathway and virulence in *Candida albicans*. *Future Microbiol* 2009; 4(10): 1263-1270.
 28. Bockmühl DP, Krishnamurthy S, Gerads M, Sonneborn A, Ernst JF. Distinct and redundant roles of the two protein kinase A isoforms Tpk1p and Tpk2p in morphogenesis and growth of *Candida albicans*. *Mol Microbiol* 2001; 42(5): 1243-1257.
 29. Cloutier M, Castilla Ro, Bolduc N, Zelada A, Martineau P, Bouillon M, et al. The two isoforms of the cAMP-dependent protein kinase catalytic subunit are involved in the control of dimorphism in the human fungal pathogen *Candida albicans*. *Fungal Genet Biol* 2003; 38(1): 133-141.

30. Lu Y, Su C, Liu H. *Candida albicans* hyphal initiation and elongation. *Trends Microbiol* 2014; 22(12): 707-714.
31. Zheng X, Wang Y, Wang Y. Hgc1, a novel hypha specific G1 cyclin related protein regulates *Candida albicans* hyphal morphogenesis. *EMBO* 2004; 23(8): 1845-1856.
32. Wang A, Lane S, Tian Z, Sharon A, Hazan I, Liu H. Temporal and spatial control of HGC1 expression results in Hgc1 localization to the apical cells of hyphae in *Candida albicans*. *Eukaryot Cell* 2007; 6(2): 253-261.
33. Bassilana M, Hopkins J, Arkowitz RA. Regulation of the Cdc42/Cdc24 GTPase module during *Candida albicans* hyphal growth. *Eukaryot Cell* 2005; 4(3): 588-603.
34. Cao F, Lane S, Raniga PP, Lu Y, Zhou Z, Ramon K, et al. The Flo8 transcription factor is essential for hyphal development and virulence in *Candida albicans*. *Mol Biol Cell* 2006; 17(1): 295-307.
35. Carlisle PL, Kadosh D. *Candida albicans* Ume6, a filament-specific transcriptional regulator, directs hyphal growth via a pathway involving Hgc1 cyclin-related protein. *Eukaryot Cell* 2010; 9(9): 1320-1328.
36. Zeidler U, Lettner T, Lassnig C, Müller M, Lajko R, Hintner H, et al. UME6 is a crucial downstream target of other transcriptional regulators of true hyphal development in *Candida albicans*. *FEMS Yeast Res* 2009; 9(1): 126-142.
37. Klotz SA, Gaur NK, De Armond R, Sheppard D, Khardori N, Edwards Jr JE, et al. *Candida albicans* Als proteins mediate aggregation with bacteria and yeasts. *Med Mycol* 2007; 45(4): 363-370.
38. Hoyer L, Payne T, Hecht J. Identification of *Candida albicans* ALS2 and ALS4 and Localization of Als Proteins to the Fungal Cell Surface. *J Bacteriol* 1998; 180(20): 5334-5343.
39. Cleary IA, Reinhard SM, Miller CL, Murdoch C, Thornhill MH, Lazzell AL, et al. *Candida albicans* adhesin Als3p is dispensable for virulence in the mouse model of disseminated candidiasis. *Microbiology* 2011; 157(6): 1806-1815.
40. Hoyer L, Scherer S, Shatzman A, Livi G. *Candida albicans* ALS1: domains related to a *Saccharomyces cerevisiae* sexual agglutinin separated by a repeating motif. *Mol Microbiol* 1995; 15(1): 39-54.
41. Argimón S, Wishart JA, Leng R, Macaskill S, Mavor A, Alexandris T, et al. Developmental regulation of an adhesin gene during cellular morphogenesis in the fungal pathogen *Candida albicans*. *Eukaryot Cell* 2007; 6(4): 682-692.
42. Nobile CJ, Mitchell AP. Regulation of cell-surface genes and biofilm formation by the *C. albicans* transcription factor Bcr1p. *Curr Biol* 2005; 15(12): 1150-1155.
43. Bastidas RJ, Heitman J, Cardenas ME. The protein kinase Tor1 regulates adhesin gene expression in *Candida albicans*. *PLoS Pathog* 2009; 5(2): e1000294.
44. Tsuchimori N, Sharkey LL, Fonzi WA, French SW, Edwards JE, Filler SG. Reduced virulence of HWP1-deficient mutants of *Candida albicans* and their interactions with host cells. *Infect Immun* 2000; 68(4): 1997-2002.
45. Monroy Pérez E, Sáinz Espuñes T, Paniagua Contreras G, Negrete Abascal E, Rodríguez Moctezuma JR, Vaca S. Frequency and expression of ALS and HWP1 genotypes in *Candida albicans* strains isolated from Mexican patients suffering from vaginal candidosis. *Mycoses* 2012; 55(3): e151-e157.

46. Richardson JP, Willems HME, Moyes DL, Shoaie S, Barker KS, Tan SL, et al. Candidalysin Drives Epithelial Signaling, Neutrophil Recruitment, and Immunopathology at the Vaginal Mucosa. *Infect Immun* 2018; 86(2): e00645-00617
47. Miwa T, Takagi Y, Shinozaki M, Yun C-W, Schell WA, Perfect JR, et al. Gpr1, a putative G-protein-coupled receptor, regulates morphogenesis and hypha formation in the pathogenic fungus *Candida albicans*. *Eukaryot Cell* 2004; 3(4): 919-931.
48. Birse C, Irwin M, Fonzi W, Sypherd P. Cloning and characterization of ECE1, a gene expressed in association with cell elongation of the dimorphic pathogen *Candida albicans*. *Infect Immun* 1993; 61(9): 3648-3655.
49. Magee BB, Hube B, Wright RJ, Sullivan P, Magee P. The genes encoding the secreted aspartyl proteinases of *Candida albicans* constitute a family with at least three members. *Infect Immun* 1993; 61(8): 3240-3243.
50. Gilfillan GD, Sullivan DJ, Haynes K, Parkinson T, Coleman DC, Gow NA. *Candida dubliniensis*: phylogeny and putative virulence factors. *Microbiology* 1998; 144(4): 829-838.
51. Zaugg C, Borg-von Zepelin M, Reichard U, Sanglard D, Monod M. Secreted Aspartic Proteinase Family of *Candida tropicalis*. *Infect Immun* 2001; 69(1): 405-412.
52. Hube B, Monod M, Schofield D, Brown A, Gow N. Expression of seven members of the gene family encoding secretory aspartyl proteinases in *Candida albicans*. *Mol Microbiol* 1994; 14(1): 87-99.
53. White TC, Agabian N. *Candida albicans* secreted aspartyl proteinases: isoenzyme pattern is determined by cell type, and levels are determined by environmental factors. *J Bacteriol* 1995; 177(18): 5215-5221.
54. Hube B. Extracellular proteinases of human pathogenic fungi. Dimorphism in Human Pathogenic and Apathogenic Yeasts. Switzerland, Karger Publishers; 2000.
55. Morrow B, Srikantha T, Soll DR. Transcription of the gene for a pepsinogen, PEP1, is regulated by white-opaque switching in *Candida albicans*. *Mol Cell Biol* 1992; 12(7): 2997-3005.
56. White TC, Miyasaki SH, Agabian N. Three distinct secreted aspartyl proteinases in *Candida albicans*. *J Bacteriol* 1993; 175(19): 6126-6133.
57. Monod M, Hube B, Hess D, Sanglard D. Differential regulation of SAP8 and SAPS, which encode two new members of the secreted aspartic proteinase family in *Candida albicans*. *Microbiology* 1998; 144(10): 2731-2737.
58. Schaller M, Schäfer W, Korting HC, Hube B. Differential expression of secreted aspartyl proteinases in a model of human oral candidosis and in patient samples from the oral cavity. *Mol Microbiol* 1998; 29(2): 605-615.
59. Schaller M, Schackert C, Korting HC, Januschke E, Hube B. Invasion of *Candida albicans* correlates with expression of secreted aspartic proteinases during experimental infection of human epidermis. *J Invest Dermatol* 2000; 114(4): 712-717.
60. Staib P, Kretschmar M, Nichterlein T, Hof H, Morschhäuser J. Differential activation of a *Candida albicans* virulence gene family during infection. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000; 97(11): 6102-6107.
61. Soll DR, Morrow B, Srikantha T. High-frequency phenotypic switching in *Candida albicans*. *Trends Genet* 1993; 9(2): 61-65.
62. Xie J, Tao L, Nobile CJ, Tong Y, Guan G, Sun Y, et al. White-opaque switching in

- natural MTL α isolates of *Candida albicans*: evolutionary implications for roles in host adaptation, pathogenesis, and sex. *PLoS Biol* 2013; 11(3):e1001525.
63. Pande K, Chen C, Noble SM. Passage through the mammalian gut triggers a phenotypic switch that promotes *Candida albicans* commensalism. *Nat Genet* 2013; 45(9): 1088-1091
 64. Tao L, Du H, Guan G, Dai Y, Nobile CJ, Liang W, et al. Discovery of a "white-gray-opaque" tristable phenotypic switching system in *Candida albicans*: roles of non-genetic diversity in host adaptation. *PLoS Biol* 2014; 12(4): e1001830.
 65. Whiteway M, Bachewich C. Morphogenesis in *Candida albicans*. *Annu Rev Microbiol* 2007; 61: 529-553.
 66. Slutsky B, Staebell M, Anderson J, Risen L, Pfaller Mt, Soll D. "White-opaque transition": a second high-frequency switching system in *Candida albicans*. *J Bacteriol* 1987; 169(1): 189-197.
 67. Alby K, Bennett RJ. Stress-induced phenotypic switching in *Candida albicans*. *Mol Biol Cell* 2009; 20(14): 3178-3191.
 68. Anderson JM, Soll DR. Unique phenotype of opaque cells in the white-opaque transition of *Candida albicans*. *J Bacteriol* 1987; 169(12): 5579-5588.
 69. Miller MG, Johnson AD. White-opaque switching in *Candida albicans* is controlled by mating-type locus homeodomain proteins and allows efficient mating. *Cell* 2002; 110(3): 293-302.
 70. Soll DR. Why does *Candida albicans* switch? *FEMS Yeast Research* 2009; 9(7): 973-989.
 71. Bennett R, Johnson A. Mating in *Candida albicans* and the search for a sexual cycle. *Annu Rev Microbiol* 2005; 59: 233-255.
 72. Morrow B, Ramsey H, Soll D. Regulation of phase-specific genes in the more general switching system of *Candida albicans* strain 3153A. *J Med Vet Mycol* 1994; 32(4): 287-294.
 73. Morrow B, Srikantha T, Anderson J, Soll DR. Coordinate regulation of two opaque-phase-specific genes during white-opaque switching in *Candida albicans*. *Infect Immun* 1993; 61(5): 1823-1828.
 74. Kvaal CA, Srikantha T, Soll DR. Misexpression of the white-phase-specific gene WH11 in the opaque phase of *Candida albicans* affects switching and virulence. *Infect Immun* 1997; 65(11): 4468-4475.
 75. Srikantha T, Soll D. A white-specific gene in the white-opaque switching system of *Candida albicans*. *Gene* 1993; 131(1): 53-60.
 76. Srikantha T, Tsai L, Daniels K, Enger L, Highley K, Soll DR. The two-component hybrid kinase regulator CaNIK1 of *Candida albicans*. *Microbiology* 1998; 144(10): 2715-2729.
 77. Sonneborn A, Tebarth B, Ernst JF. Control of White-Opaque Phenotypic Switching in *Candida albicans* by the Efg1p Morphogenetic Regulator. *Infect Immun* 1999; 67(9): 4655-4660.
 78. Srikantha T, Tsai LK, Daniels K, Soll DR. EFG1 Null Mutants of *Candida albicans* Switch but Cannot Express the Complete Phenotype of White-Phase Budding Cells. *J Bacteriol* 2000; 182(6): 1580-1591
 79. Zordan RE, Miller MG, Galgoczy DJ, Tuch BB, Johnson AD. Interlocking transcriptional feedback loops control white-opaque switching in *Candida albicans*. *PLoS Biol* 2007; 5(10): e256.
 80. Huang G, Wang H, Chou S, Nie X, Chen J, Liu H. Bistable expression of WOR1, a

- master regulator of white-opaque switching in *Candida albicans*. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006; 103(34): 12813-12818.
81. Srikantha T, Borneman AR, Daniels KJ, Pujol C, Wu W, Seringhaus MR, et al. TOS9 regulates white-opaque switching in *Candida albicans*. *Eukaryot Cell* 2006; 5(10): 1674-1687.
 82. Zordan RE, Galgoczy DJ, Johnson AD. Epigenetic properties of white-opaque switching in *Candida albicans* are based on a self-sustaining transcriptional feedback loop. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006; 103(34): 12807-12812.
 83. Hnisz D, Schwarzmüller T, Kuchler K. Transcriptional loops meet chromatin: a dual layer network controls white-opaque switching in *Candida albicans*. *Mol Microbiol* 2009; 74(1): 1-15.
 84. Vines MD, Kumamoto CA. The morphogenetic regulator Czf1p is a DNA-binding protein that regulates white-opaque switching in *Candida albicans*. *Microbiology* 2007; 153(9): 2877-2884.
 85. Srikantha T, Tsai L, Daniels K, Klar A, Soll D. The Histone Deacetylase Genes HDA1 and RPD3 Play Distinct Roles in Regulation of High-Frequency Phenotypic Switching in *Candida albicans*. *J Bacteriol* 2001; 183(15): 4614-4625.
 86. Jiang W, Gerhold D, Kmiec EB, Hauser M, Becker JM, Koltin Y. The topoisomerase I gene from *Candida albicans*. *Microbiology* 1997; 143(Pt 2): 377-386.
 87. Braun BR, Head WS, Wang MX, Johnson AD. Identification and characterization of TUP1-regulated genes in *Candida albicans*. *Genetics* 2000; 156(1): 31-44.
 88. Kvaal CA, Srikantha T, Soll DR. Misexpression of the white-phase-specific gene WH11 in the opaque phase of *Candida albicans* affects switching and virulence. *Infect Immun* 1997; 65(11): 4468-4475.
 89. Csank C, Schroppel K, Leberer E, Harscus D, Mohamed O, Meloche S, et al. Roles of the *Candida albicans* mitogen-activated protein kinase homolog, Cek1p, in hyphal development and systemic candidiasis. *Infect Immun* 1998; 66(6): 2713-2721.
 90. Lo HJ, Kohler JR, DiDomenico B, Loebenberg D, Cacciapuoti A, Fink GR. Nonfilamentous *C. albicans* mutants are avirulent. *Cell* 1997; 90(5): 939-949.
 91. Gale CA, Bendel CM, McClellan M, Hauser M, Becker JM, Berman J, et al. Linkage of adhesion, filamentous growth, and virulence in *Candida albicans* to a single gene, INT1. *Science* 1998; 279(5355): 1355-1358.