

微生物学报 *Acta Microbiologica Sinica*  
49(3) 337-342; 4 March 2009  
ISSN 0001-6209; CN 11-1995/Q  
<http://journals.im.ac.cn/actamicrocn>

## 白念珠菌高铁还原酶 *FRP1* 基因的功能

梁勇, 郑雯, 魏东盛, 邢来君, 李明春\*

(南开大学微生物学系, 分子微生物学与技术教育部重点实验室, 天津 300071)

**摘要:** 白念珠菌(*Candida albicans*)获得铁的能力影响细胞的生长和毒力, 高铁还原酶是白念珠菌高亲和铁吸收系统的重要组成部分。【目的】构建高铁还原酶 *FRP1*(Ferric reductase protein)基因缺失突变株, 对 *FRP1* 基因功能进行初步研究。【方法】使用 Northern 杂交的方法分析 *FRP1* 基因在缺铁和富铁条件下的表达。利用 PCR 介导的基因敲除技术构建 *frp1* 缺失突变株, 并且对野生型和缺失突变株在细胞高铁还原酶活性以及缺铁条件下的生长情况进行比较分析。【结果】缺铁条件可以诱导 *FRP1* 基因的表达。*frp1* 缺失突变株不能在铁缺陷的固体培养基上生长。【结论】*FRP1* 蛋白可能是白念珠菌在缺铁条件下起主要作用的高铁还原酶。

**关键词:** 白念珠菌, 高铁还原酶, *FRP1* 基因

中图分类号: Q814 文献标识码: A 文章编号: 0001-6209(2009)03-0337-06

白念珠菌是重要的人类条件性致病真菌。当人体免疫功能低下时, 白念珠菌是宿主致病性感染最常见的病原体之一。铁是一种微生物必须的营养物质, 其浓度与白念珠菌的生长和致病性密切相关<sup>[1]</sup>。白念珠菌从宿主中获得铁的能力是其致病性的重要条件。在人体中, 铁常常以载铁蛋白或运铁蛋白形式存在。因此, 人体内是一种相对的缺铁环境。为了从宿主中竞争获得这种必须的营养物质, 白念珠菌已经形成了多种铁吸收途径<sup>[2]</sup>, 包括高亲和性吸收系统, 铁载体吸收系统和血红素利用系统。其中, 高亲和性吸收系统最为复杂, 该系统由高铁还原酶、铁离子通透酶和多铜氧化酶组成。

基因组序列分析发现, 白念珠菌至少编码 16 种高铁还原酶、2 种铁离子通透酶和 5 种多铜氧化酶。环境中低浓度的铁离子能够诱导高亲和性吸收系统蛋白的表达<sup>[3]</sup>。首先, 高铁还原酶能将外界不溶性的  $Fe^{3+}$  还原为可溶性的  $Fe^{2+}$ , 再通过铁离子通透酶和多铜氧化酶将铁离子转运至细胞内<sup>[4]</sup>。在酿酒酵

母中, 高亲和性铁吸收系统研究的比较详细<sup>[5]</sup>。酿酒酵母编码 7 种高铁还原酶(*FRE1* ~ *FRE7*), 其中 *ScFRE1* 和 *ScFRE2* 高铁还原酶活性占细胞总活性的 90% 以上, 酿酒酵母 *fre1fre2* 缺失突变株不能在铁缺陷培养基上生长。不同的铁缺陷条件能够诱导 *ScFRE3* ~ *ScFRE6* 不同基因的表达, 而且研究发现铜离子的缺陷能够诱导 *ScFRE1* 和 *ScFRE7* 的表达<sup>[6]</sup>。

对于白念珠菌高铁还原酶的研究还了解的不多。目前, 通过研究仅仅发现白念珠菌 *FRE1* 和 *FRE10* 能够补救酿酒酵母 *fre1fre2* 突变株在铁缺陷培养基上的生长缺陷<sup>[7]</sup>, 而且 *CaFRE10* 是白念珠菌在酸性 pH 培养条件下起主要作用的高铁还原酶, 但当培养条件的 pH > 6.3 时, *CaFRE10*Δ/Δ 突变株与野生型菌株有相同的高铁还原酶活性。研究表明在中碱性培养条件下细胞高铁还原酶活性的贡献者并非 *CaFRE10*, 而且也不是 *CaFRE1*<sup>[8]</sup>。最近研究表明, *CaFRE7* 可能参与铜离子的吸收过程<sup>[9]</sup>。

基金项目: 国家自然科学基金(30570096); 教育部博士点基金资助项目(200700550110); 教育部留学回国人员科研启动基金(教外司留[2005]546号)

\* 通信作者。Tel: +86-22-23508506; Fax: +86-22-23508800; E-mail: lmchun68@yahoo.com.cn

作者简介: 梁勇(1982-), 男, 河南潢川人, 博士研究生, 主要从事真菌的分子生物学研究。E-mail: hnsdly@yahoo.com.cn

收稿日期: 2008-10-08; 修回日期: 2008-12-13

Chung-Yu 等<sup>[3]</sup>通过 DNA 微阵列的方法研究白念珠菌铁离子调控时发现,铁离子的缺陷可以影响许多基因的表达,其中白念珠菌高铁还原酶 *FRP1* 基因比其它几种高铁还原酶在缺铁和富铁条件下的表达差异更显著。因此,为了进一步研究 *FRP1* 在铁吸收过程中的作用,首先利用 Northern 杂交的方法研究 *CaFRP1* 基因在不同条件下的表达变化。同时通过 PCR 介导的基因敲除的方法构建了 *Cafrp1* 缺失突变株,并分析了缺铁条件对 *Cafrp1* 缺失突变株生长的影响。对 *FRP1* 基因功能的研究将有助于对白念珠菌铁吸收机制的深入认识。

表 1 菌株和质粒

Table 1 The strains and plasmids used in this study

Strains and plasmids	Descriptions	Reference and sources
<i>C. albicans</i> DAY1	Wild-type strain, <i>arg4Δ/Δ</i> , <i>ura3Δ/Δ</i> , <i>his1Δ/Δ</i>	
<i>C. albicans</i> DAY286	DAY1 strain with ARG4 and URA3 complementation	Provided by
<i>C. albicans</i> DAY609	<i>fr1Δ/Δ</i> in DAY1 strain	Dr. Dana Davis
<i>C. albicans</i> NKf29	<i>frp1::ARG4 /FRP1</i>	this work
<i>C. albicans</i> NKf30	<i>frp1::URA3 /FRP1</i>	this work
<i>C. albicans</i> NKf31	<i>frp1::ARG4 /frp1::URA3</i>	this work
pDDB57	Containing URA3 marker, Amp <sup>+</sup>	Provided by
pRS-ArgΔSpeI	Containing ARG4 marker, Amp <sup>+</sup>	Dr. Dana Davis

**1.1.3 培养基和培养条件** :所有使用的培养基( SC-ura 除外)均添加终浓度 80 μg/mL 尿苷。M199 培养基 :M199 粉末一袋,150 mmol/L HEPES,80 μg/mL 尿苷,调溶液的 pH 至 4 或 8,使用一次性过滤器过滤除菌。铁离子螯合剂 BPS 添加到培养基中造成铁

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

**1.1.1 主要试剂和仪器** :*Taq* 酶、同位素标记试剂盒 Random Primer Labeling kit 购于 TaKaRa 公司,转化使用试剂 PEG3350 和 LiAc 以及铁离子螯合剂 BPS (bathophenanthroline disulphonate) 购于 Sigma 公司; M199 培养基购于 Invitrogen 公司。引物由北京三博公司合成。

**1.1.2 菌株和质粒** 实验中使用的菌株和质粒参见表 1。

离子缺陷条件。YPD 培养基 :1% 酵母浸出粉,2% 蛋白胨,2% 葡萄糖。YPG 培养基 :1% 酵母浸出粉,2% 蛋白胨,3% (V/V) 甘油。固体培养时均为 37℃。

**1.1.4 引物** :实验引物参见表 2。

表 2 实验使用的引物

Table 2 The primers used in this study

Primers	Sequence(5'→3')
frp1 5DR	CTAAAACGACTCTGTATAACAATACACTTCCGGTGCACCTTTTCACCCCTTCTAGCACITTTGTGTGGAATTGTGAGCCGGAT
frp1 3DR	ATGGCTATTCACATTTGATCAACAGTTTTTTGTGGAAAAGGATAGAAATAATAATATGAGGTTTTCCAGTCACGACGCTT
frp1 5-det	TGGCCGCATCCCTTGTCTGAT
frp1 3-det	CGCGGTACTTTATCATGTCTG
frp1-5probe	CGGCTTATGTGGGTCATGATC
frp1-3probe	CGGAACAAAACATCACCCCTCC

### 1.2 白念珠菌基因敲除

使用 PCR 介导的基因敲除的方法<sup>[10]</sup>。分别以质粒 pRS-ArgΔSpe I 和 pDDB57 为模板,frp1 5DR 和 3DR 为引物,通过 PCR 获得含有 ARG4 或 URA3 选择性标记的 PCR 产物。将 PCR 产物直接转化野生型菌株 DAY1。使用 frp1 5-det 和 3-det 引物通过 PCR 的方法进行转化子的鉴定。

### 1.3 白念珠菌细胞的转化

转化使用醋酸锂法,具体方法参见文献<sup>[10]</sup>。

### 1.4 白念珠菌总 RNA 提取

将白念珠菌培养在 3mL YPD + 50 μmol/L BPS 培养基中,30℃ 过夜振荡培养。稀释过夜培养的菌液,转接至 50mL M199 培养基中,起始  $OD_{600} \approx 0.1$ ,30℃ 振荡培养至  $OD_{600} \approx 0.6$ ,离心收集菌体,液氮处理 1h。使用玻璃珠破壁的方法提取 RNA<sup>[11]</sup>。提取的 RNA 样品保存于 -80℃ 超低温冰箱中备用。

### 1.5 Northern 杂交

以 frp1-5probe 和 frp1-3probe 为引物通过 PCR 的方法获得 *FRP1* 基因的 800 bp 的部分序列,使用这段 PCR 产物为探针,通过随机引物标记的方法进行

同位素标记探针 20  $\mu\text{g}$  RNA 经甲醛变性凝胶电泳, 转膜, 杂交。具体方法见分子克隆<sup>[12]</sup>。

### 1.6 高铁还原酶活性的检测

采用 Knight 等<sup>[8]</sup>文章中使用的方法。Fe<sup>3+</sup> 被高铁还原酶还原为 Fe<sup>2+</sup>, Fe<sup>2+</sup> 与 BPS 结合形成红色的 BPS-Fe(II) 复合物, 检测 OD<sub>520</sub> 的光吸收值, 根据 Fe<sup>2+</sup> 的标准曲线确定反应产生的 Fe<sup>2+</sup> 浓度。细胞计数采用血球计数板的方法。细胞高铁还原酶活性单位为 nmol Fe<sup>2+</sup> / 10<sup>6</sup> 个细胞/h。

## 2 结果

### 2.1 白念珠菌高铁还原酶 *FRP1* 基因的表达

在不同 pH 和不同铁离子浓度培养条件下, *FRP1* 基因的表达变化见图 1。当培养基 pH4 或 pH4 + 100  $\mu\text{mol/L}$  BPS + 100  $\mu\text{mol/L}$  FeCl<sub>3</sub> 富铁培养时, 没有检测到 *FRP1* 的表达; 当 pH4 + 100  $\mu\text{mol/L}$  BPS 低铁培养时, 发现 *FRP1* 基因表达。当培养基的 pH 值升至 8 或 pH8 + 100  $\mu\text{mol/L}$  BPS 缺铁培养时, *FRP1* 基因表达; 当 pH8 + 100  $\mu\text{mol/L}$  BPS + 100  $\mu\text{mol/L}$  FeCl<sub>3</sub> 富铁培养时, 无法检测到 *FRP1* 的表达。以上结果充分证实 *FRP1* 的表达受铁离子浓度的影响: 低铁条件诱导 *FRP1* 的表达, 富铁条件抑制 *FRP1* 的表达。同时发现 *FRP1* 的表达还受溶液 pH 的影响, 碱性条件 (pH8) 也可以诱导 *FRP1* 的表达。

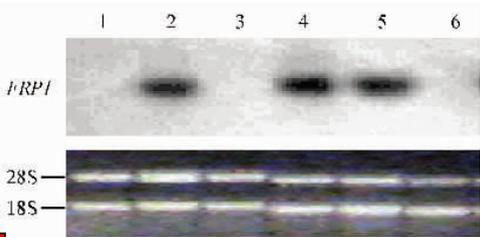


图 1 不同培养条件下 *FRP1* 基因的表达差异分析

Fig. 1 *FRP1* gene expression analysis under different growth conditions.

1. pH4; 2. pH4 + 100  $\mu\text{mol/L}$  BPS; 3. pH4 + 100  $\mu\text{mol/L}$  BPS + 100  $\mu\text{mol/L}$  FeCl<sub>3</sub>; 4. pH8; 5. pH8 + 100  $\mu\text{mol/L}$  BPS; 6. pH8 + 100  $\mu\text{mol/L}$  BPS + 100  $\mu\text{mol/L}$  FeCl<sub>3</sub>.

### 2.2 白念珠菌 *FRP1* 基因缺失突变株的构建

挑取选择性平板上的转化子, 分别提取基因组 DNA。通过 PCR 方法扩增检测。 *FRP1* 杂合缺失株比较容易获得, 筛选的 24 个转化子中, 其中有 20 个转化子 PCR 结果为 1.9 kb 的 *FRP1* 基因野生型条带和 2.6 kb 的 *ARG4* 条带 (图 2-B, Line 1), 获得杂合子的阳性率为 83.3%。 *FRP1* 纯合缺失株不易获得。筛选的 84 个转化子, 其中大部分仍然为 *frp1* ::

*ARG4* / *FRP1* 杂合突变株。仅获得 1 株 *frp1* 纯合突变株, PCR 结果产生 2.6 kb 的 *ARG4* 条带和 2.2 kb 的 *URA3* 条带 (图 2-B, Line 5), 获得纯合突变株的阳性率为 1.2%。同时我们也获得了 1 株 *frp1* :: *URA3* / *FRP1* 杂合突变株, PCR 结果为 2.2 kb 的 *URA3* 条带和 1.9 kb 的 *FRP1* 条带 (图 2-B, Line 4)。

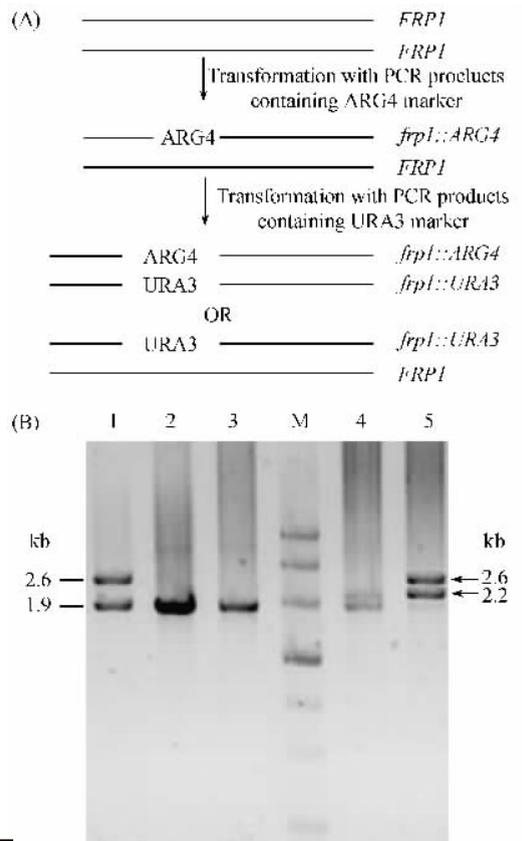


图 2 *FRP1* 缺失突变株的 PCR 检测

Fig. 2 PCR confirmation of *FRP1* mutants. A: Diagram of wild-type, heterozygotes and homozygotes of *FRP1*; B: M, marker III (4.5 kb, 3 kb, 2 kb, 1.2 kb, 800 bp, 500 bp, 200 bp from top to bottom); Line 1, NKf29 (*frp1* :: *ARG4* / *FRP1*); Line 2 ~ 3, Wild type; Line 4, NKf30 (*frp1* :: *URA3* / *FRP1*); Line 5, NKf31 (*frp1* :: *ARG4* / *frp1* :: *URA3*).

### 2.3 *FRP1* 基因缺失突变株的细胞高铁还原酶活性分析

分别将白念珠菌 DAY286 (WT) 和 NKf31 (*frp1*  $\Delta/\Delta$ ) 培养在 M199pH4, pH4 + 50  $\mu\text{mol/L}$  BPS 和 pH8 液体培养基中检测细胞的高铁还原酶活性。结果发现, 在以上三种培养条件下, 细胞的高铁还原酶活性都呈上升的趋势, *frp1* 缺失突变株与野生型菌株在各种培养条件下高铁还原酶活性都相似 (图 3), *frp1* 基因的缺失并没有导致细胞高铁还原酶活性的变化。

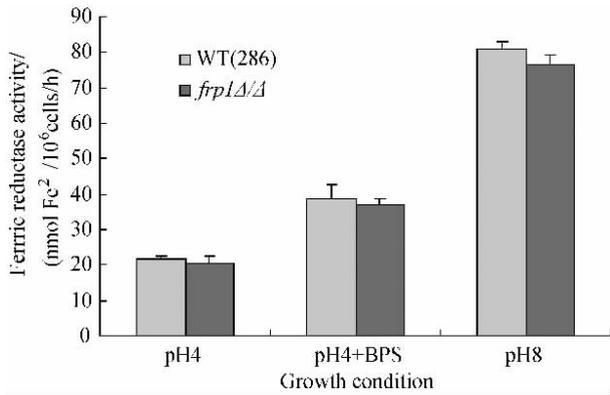


图3 白念珠菌野生型和 *frp1* 缺失突变株在不同培养条件下细胞高铁还原酶活性

Fig.3 Ferric reductase assay of *C. albicans* wild type strains and *frp1* mutant in different media. The strains were grown in YPD + 50 $\mu$ mol/L BPS liquid media overnight and the overnight culture were added into 50mL M199pH4, pH4 + 50 $\mu$ mol/L BPS and pH8 liquid media at 30 $^{\circ}$ C and make starting  $OD_{600} \approx 0.1$ , the strains were grown to midlog phase and do ferric reductase assay. Ferric reductase activity was determined by the averages of triplicate determinations  $\pm$  standard deviations.

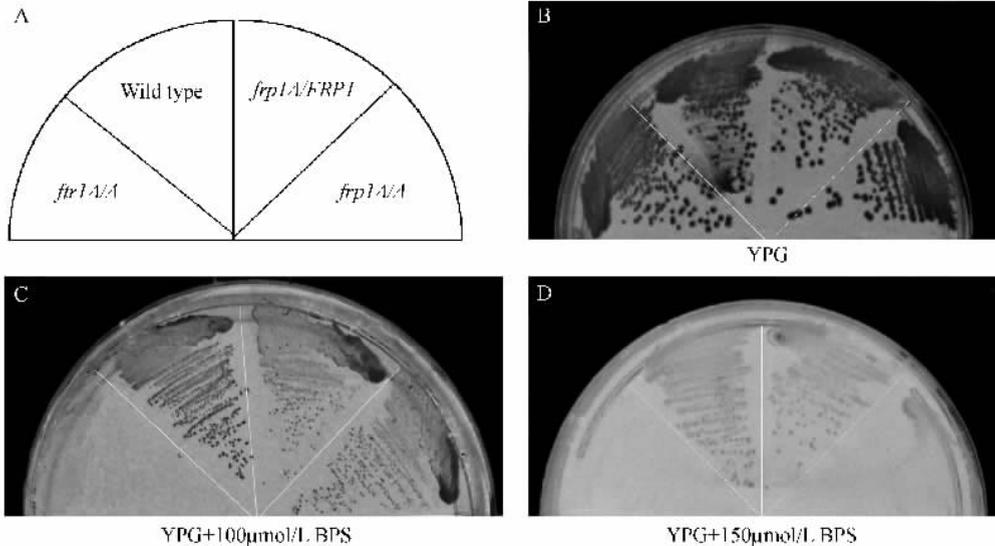


图4 白念珠菌野生型和突变株在不同培养基上的生长

Fig.4 Growth of *Candida albicans* wild-type and mutants on different media. Overnight YPD + 50 $\mu$ mol/L BPS cultures of given strains were spotted and purified on YPG (Fig. 4 B), YPG + 100 $\mu$ mol/L BPS (Fig. 4 C) and YPG + 150 $\mu$ mol/L BPS (Fig. 4 D) solid medium and grown at 37 $^{\circ}$ C. Photographs were taken after 5 days of incubation.

### 3 讨论

白念珠菌对外界环境条件有很强的适应性。营养物质的缺乏、碱性 pH 条件、较高温度(37 $^{\circ}$ C)等环境条件都可以诱导白念珠菌由酵母型转变菌丝型生长,这种形态学的转变与白念珠菌的致病性密切相关,并且有许多调控途径参与控制白念珠菌的形态转换<sup>[13]</sup>。铁离子是微生物必需的营养物质,低铁条

### 2.4 FRP1 基因缺失对白念珠菌生长的影响

分别将白念珠菌 DAY286( Wild-type ), DAY609 (*frp1*Δ/Δ), NKF29(*frp1*Δ/*FRP1*) 和 NKF31(*frp1*Δ/Δ) 培养在 YPG, YPG + 100 $\mu$ mol/L BPS 和 YPG + 150 $\mu$ mol/L BPS 的固体培养基中 37 $^{\circ}$ C 培养 5d。可以观察到四种菌株在 YPG 培养基中生长良好;在 YPG + 100 $\mu$ mol/L BPS 培养基中,野生型菌株、*frp1* 杂合突变株和纯合突变株的生长与在 YPG 培养基中相比,生长较慢,菌落变小,但是都可以生长,而 *frp1*Δ/Δ 突变株不能生长,这说明低铁条件可以限制白念珠菌的生长速度。*FTR1* 基因编码铁离子通透酶,是白念珠菌高亲和铁吸收系统蛋白复合体的成分之一,*frp1* 基因的缺失使白念珠菌对铁缺陷环境更加敏感。*frp1*Δ/Δ 突变株在本实验中作为对照菌株。当铁离子螯合剂 BPS 的浓度从 100 $\mu$ mol/L 上升至 150 $\mu$ mol/L 时,观察到野生型菌株和 *frp1* 杂合突变株仍能够生长,但 *frp1* 纯合突变株不能够生长。实验结果表明 *frp1* 基因的缺失可以增加白念珠菌对低铁条件的敏感性。

件可以减弱白念珠菌的生长速度,降低其致病性。比酿酒酵母更为复杂的铁吸收系统为白念珠菌的致病性提供了分子生物学基础。白念珠菌编码高铁还原酶序列的多样性同样也表明铁离子对白念珠菌存活的重要性。目前除了 *FRE1*、*FRE10* 和 *FRE7* 的功能已知,对于白念珠菌其他可能编码高铁还原酶的基因的功能以及在中碱性条件下或缺铁条件下是哪一种或几种高铁还原酶蛋白起主要作用,并没有任

何的报道,本实验是关于 FRP1 基因功能的首次报道。

实验中,我们选择白念珠菌高铁还原酶 FRP1 基因为研究对象,发现铁缺陷条件下(加 100  $\mu\text{mol/L}$  BPS)可以诱导 FRP1 基因的表达,外源添加  $\text{FeCl}_3$  可以抑制该基因的表达。同时还发现碱性条件(pH8)也能够诱导 FRP1 的表达,而在酸性条件(pH4)没有检测到 FRP1 的表达。铁离子在碱性和有氧条件下常常以难溶性的  $\text{Fe}(\text{OH})_3$  形式存在<sup>[14]</sup>,所以碱性条件也是一种相对缺铁环境,酸性条件相对是一种含铁环境。碱性条件诱导 FRP1 基因也是白念珠菌对铁缺陷条件的一种适应。因此,我们的结果表明 FRP1 的表达只受低铁条件的诱导。固体培养显示 *fip1* 缺失突变株随着铁离子浓度的进一步减少而表现出生长缺陷,这些数据都表明 FRP1 是白念珠菌在铁缺陷条件下重要的高铁还原酶蛋白。当然,我们也不排除有其他一种或几种高铁还原酶在铁缺陷条件下起作用的可能性。

在实验中我们也发现 *fip1* 缺失突变株与野生型菌株有相似的高铁还原酶活性,并没有差别。为什么铁缺陷条件下编码主要高铁还原酶蛋白的 *fip1* 基因缺失并没导致细胞高铁还原酶活性的降低呢?分析原因存在两种可能性(1)细胞高铁还原酶活性的测定方法只能检测表达在细胞膜上高铁还原酶蛋白的活性,并不能检测细胞内部的高铁还原酶活性。虽然具有 554 个氨基酸的 FRP1 蛋白通过软件分析,可能是一种具有 5 个跨膜区的跨膜蛋白,但 FRP1 蛋白有可能定位在囊泡膜上。在酿酒酵母中,*ScFRE6* 蛋白定位于囊泡膜上,在铁离子从囊泡内向细胞质转运过程中起重要作用<sup>[15]</sup>。(2)可能其他高铁还原酶的表达弥补了 FRP1 蛋白的缺陷。蛋白的定位对于其功能至关重要,目前利用 GFP 对 FRP1 蛋白的细胞学定位以及构建多种高铁还原酶的缺失突变株的工作正在进行中。对于白念珠菌高铁还原酶功能的研究可以获得这种在医学上极为重要的病原菌是如何在宿主中存活的,对临床上治疗白念珠菌的感染和药物开发具有重要的理论和实际意义。

致谢 本实验中的部分菌株和质粒由美国明尼苏达大学 Dana Davis 教授惠赠,在此表示衷心的感谢!

## 参考文献

[ 1 ] Nyilasi I, Papp T, Takó M, et al. Iron gathering of

opportunistic pathogenic fungi. *Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica*, 2005, 52(2): 185 - 197.

- [ 2 ] Kosman DJ. Molecular mechanisms of iron uptake in fungi. *Molecular Microbiology*, 2003, 47(5): 1185 - 1197.
- [ 3 ] Chung-Yu L, Gabriel R, Luis AM, et al. Regulatory networks affected by iron availability in *Candida albicans*. *Molecular Microbiology*, 2004, 53(5): 1451 - 1469.
- [ 4 ] Schröder I, Johnson E, Simon DV, et al. Microbial ferric iron reductases. *FEMS Microbiology Reviews*, 2003, 27: 427 - 447.
- [ 5 ] Philpott CC, Protchenko O. Response to iron deprivation in *Saccharomyces cerevisiae*. *Eukaryotic Cell*, 2008, 7(1): 20 - 27.
- [ 6 ] Martins LJ, Jensen LT, Simons JR, et al. Metalloregulation of FRE1 and FRE2 Homologs in *Saccharomyces cerevisiae*. *The Journal of Biological Chemistry*, 1998, 273(37): 23716 - 23721.
- [ 7 ] Hammacott JE, Williams PH, Cashmore AM. *Candida albicans* CFL1 encodes a functional ferric reductase activity that can rescue a *Saccharomyces cerevisiae* *fre1* mutant. *Microbiology*, 2000, 146: 869 - 869.
- [ 8 ] Knight SA, Vilaire G, Lesuisse E, et al. Iron acquisition from transferrin by *Candida albicans* depends on the reductive pathway. *Infection and Immunity*, 2005, 73(9): 5482 - 5492.
- [ 9 ] Woodacre A, Mason RP, Jeeves RE, et al. Copper-dependent transcriptional regulation by *Candida albicans* Mac1p. *Microbiology*, 2008, 154: 1502 - 1512.
- [ 10 ] Wilson RB, Davis D, Mitchell AP, et al. Rapid hypothesis testing with *Candida albicans* through gene disruption with short homology regions. *Journal of Bacteriology*, 1999, 181(6): 1868 - 1874.
- [ 11 ] 张云峰, 焦立新, 贺丹, 等. 白色念珠菌总 RNA 的提取方法. 吉林大学学报(医学版) *Journal of Jilin University*( Medicine Edition ), 2007, 33(2): 359 - 361.
- [ 12 ] Sambrook J, Fritsch EF, Maniatis T. 分子克隆实验指南. 金东雁, 黎孟枫, 等译. 第二版, 北京: 科学出版社, 1999.
- [ 13 ] Biswas S, Dijk PV, Datta A. Environmental sensing and signal transduction pathways regulating morphopathogenic determinants of *Candida albicans*. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 2007, 71(2): 348 - 376.
- [ 14 ] Philpott CC. Iron uptake in fungi: a system for every source. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2006, 1763(7): 636 - 645.
- [ 15 ] Singh A, Kaur N, Kosman DJ. The Metalloreductase Fre6p in Fe-Efflux from the Yeast Vacuole. *The Journal of Biological Chemistry*, 2007, 282(39): 28619 - 28626.

## Function of ferric reductase *FRP1* gene in *Candida albicans*

Yong Liang, Wen Zheng, Dongsheng Wei, Laijun Xing, Mingchun Li

(Key Laboratory of Molecular and Technology, Ministry of Education, Department of Microbiology, Nankai University, Tianjin 300071, China)

**Abstract**: The ability of iron acquisition in *Candida albicans* has an effect on its growth and pathogenesis. Ferric reductases are important components of high affinity iron acquisition system in *C. albicans*. [ **Objective** ] The aim of this study was to elucidate the function of *FRP1* ( Ferric reductase protein ). [ **Methods** ] *FRP1* gene expression was detected under low-iron and high-iron conditions by Northern blot. We used the method of PCR-directed gene disruption to construct *frp1* null mutant and then the phenotypes of *frp1* $\Delta/\Delta$  mutant were characterized. [ **Results** ] Low-iron condition induced *FRP1* gene expression. *frp1* $\Delta/\Delta$  mutant showed no growth on low-iron media compared to wild-type strains on solid plates. [ **Conclusion** ] *FRP1* protein is probably the main ferric reductase under low-iron condition.

**Keywords**: *Candida albicans*; Ferric reductase; *FRP1* gene

( 本文责编 : 王晋芳 )

Supported by the National Natural Science Foundation of China(30570096), the Ph. D. Programs Foundation of Ministry of Education of China (20070055011) and the Scientific Research Foundation for Returned Scholars, Ministry of Education of China

\* Corresponding author. Tel: +86-22-23508506; Fax: +86-22-23508800; E-mail: lmchun68@yahoo.com.cn

Received: 8 October 2008/Revised: 13 December 2008

### 张瑞福等的论文荣获“第六届中国科协期刊优秀学术论文奖”

2008年由《微生物学报》编辑部推荐的南京农业大学张瑞福等人的论文荣获第6届中国科协期刊优秀学术论文奖【张瑞福,曹慧,崔中利,李顺鹏,樊奔.土壤微生物总DNA的提取和纯化.2003 43(2) 276-282】。自2003年起,中国科协每年举办一次科技期刊优秀论文评选活动。这是《微生物学报》第三次获奖。

每年中国科协评奖数量都有所增加,要求各期刊编辑部至少推荐3篇论文参评。《微生物学报》编辑部希望能有更多的作者参与此项活动,以后我们每年都会大力向科协推荐本刊发表的论文,积极参加这项活动,使本刊成为广大作者真正的朋友。以下为参评的具体要求(有意参加者请先发E-mail告知编辑部。欢迎参与!)

1. 评选范围: 评选当年前6年内发表在本刊的学术论文。
2. 参评论文要求: 具有科学性、创新性和探索性,论点明确、论据可靠,论证严谨,结论正确。
3. 论文推荐途径: 采用“编辑部推荐”和“作者个人自荐”两种方式。有意自荐者,可通过中国科协网站 <http://www.cast.org.cn> 下载“自荐表”。
4. 参评材料:

(1) 纸质材料(要求用A4纸): ①论文完整页码的复印件; ②有关论文的获奖和引用的证明材料,一式两份; ③填写好的自荐表,一式两份。④请作者在每年7月10日前将上述3份材料邮寄到本刊编辑部,信封上请注明: 优秀论文评比。

(2) 电子文件(由编辑部和学会准备): ①论文的电子文件(与发表期刊一致的PDF格式电子文件); ②学会统一填写的上报论文登记表。

(下转 371 页)