

origin	Gene Name /Gene ID/Gene bank	Protein	identities (%)	positives (%)
念珠菌				
白色念珠菌 (<i>Candida albicans</i> SC5314)	<i>GPM1</i>	phosphoglycerate mutase	100	100
	<i>GPM2</i>	phosphoglycerate mutase	44	67
光滑念珠菌 (<i>Candida glabrata</i> CBS 138)	GENE ID: 2887384	unnamed protein product	80	88
熱帶念珠菌 (<i>Candida tropicalis</i> MYA-3404)	GenBank: EER34315.1	phosphoglycerate mutase 1	93	97
葡萄牙念珠菌 (<i>Candida lusitanae</i> ; <i>Clavispora lusitanae</i> ATCC 42720)	GenBank: CH408077.1	conserved hypothetical protein	86	93
季氏畢赤氏酵母 (<i>Pichia guilliermondii</i> ATCC 6260 ; <i>Candida</i> <i>guilliermondii</i>)	GENE ID: 5124548	hypothetical protein	79	88
<i>Candida dubliniensis</i> CD36	GeneID: 8045838	phosphoglycerate mutase1 , putative	97	98
	GeneID: 8044614	phosphoglycerate mutase 1 (GPM1)	43	69
其他酵母菌				
麵包酵母 (<i>Saccharomyces</i> <i>cerevisiae</i>)	<i>GPM1</i>	phosphoglycerate mutase	78	87
	<i>GPM2</i>	phosphoglycerate mutase	34	52
	<i>GPM3</i>	phosphoglycerate mutase	34	53
畢赤酵母 (<i>Pichia stipitis</i> CBS 6054)	<i>GPM1.1</i>	phosphoglycerate mutase	86	93

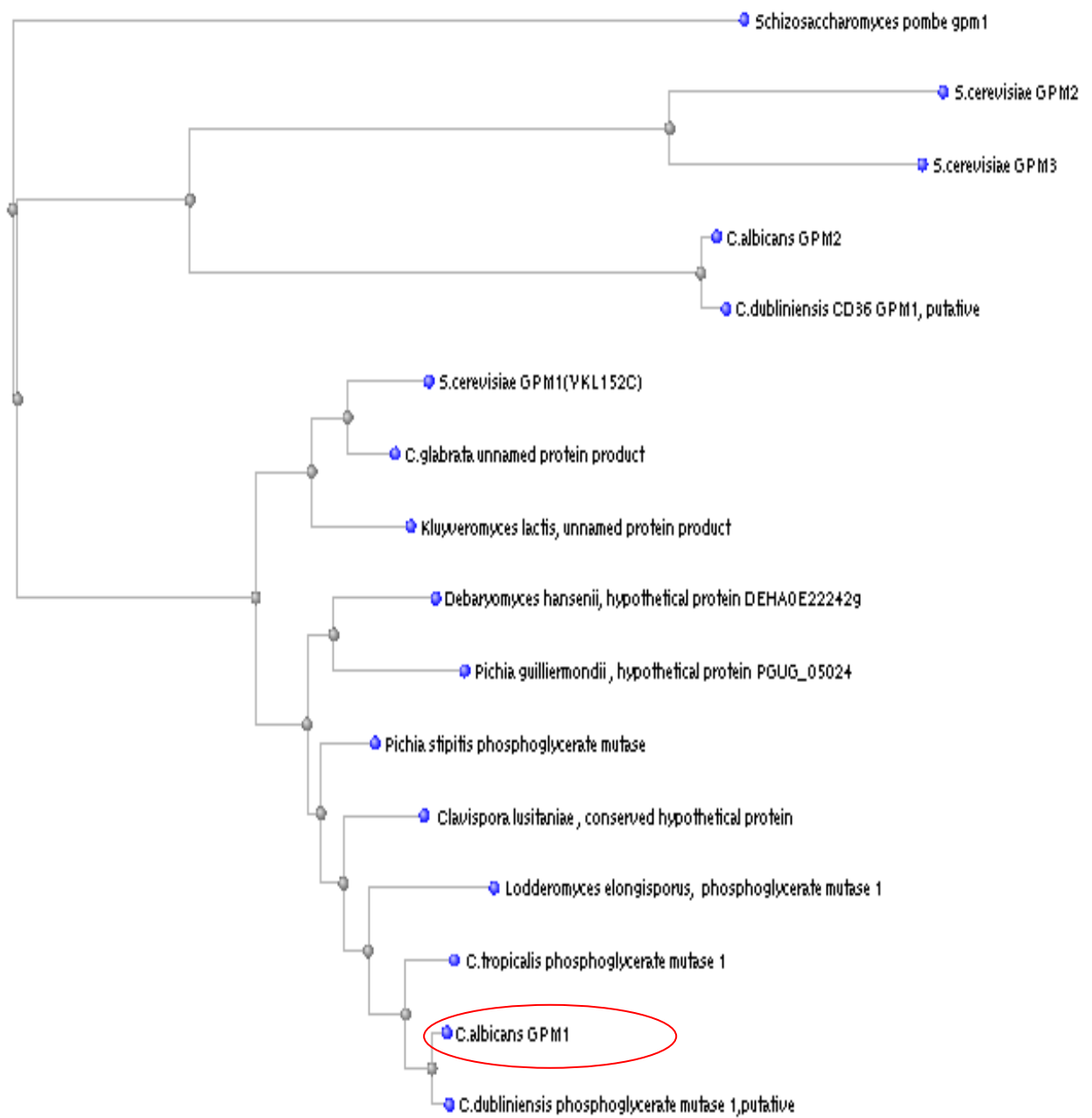
漢氏德巴利氏酵母 (<i>Debaryomyces hansenii</i> CBS767)	GENE ID: 2902853	hypothetical protein	82	89
乳酸克魯維酵母 (<i>Kluyveromyces lactis</i>)	GENE ID: 2894454	unnamed protein product	77	87
<i>Lodderomyces elongisporus</i> NRRL YB-4239	GENE ID: 5234886	phosphoglycerate mutase 1	84	93
裂殖酵母綱				
粟酒裂殖酵母 (<i>Schizosaccharomyces pombe</i>)	<i>gpm1</i>	monomeric 2,3-bisphosphoglycerate (BPG)-dependent phosphoglycerate mutase (PGAM)	43	58

表一、phosphoglycerate mutase 在酵母菌亞門的菌種及裂殖酵母菌的胺基酸序列比對



	<i>CaGPM1</i> null strain	<i>CaENO1</i> null strain
knockout	(以營養標記 knockout)	(以 SAT-1 knockout)
Etest	1. 對於 amphotericin B 敏感 2. caspofungin 的 MIC 值與對照組相比沒有變，但抑制圈的寬度明顯變更大 3. 由我的實驗結果推測對於 azole 類藥物 fluconazole 、 voriconazole 可能也有具敏感性	對於 amphotericin B 、 fluconazole 、 voriconazole 具敏感性，
invasion assay	具有侵犯力而且菌落比 WT 小	具有侵犯力
growth assay	1. 在有 2% 葡萄糖存在下，就算有其他碳源加入，菌落仍無法形成， 2. 可生長在只有 3% 甘油 (p141, 圖二十二 之 SG plate), 或是 3% 甘油和 2% 酒精同時存在情況下生長 (p141, 圖二十二 之 SGE plate) 3. 無法在單純只有 2% 酒精情況下生長 (p141, 圖二十二 之 SE plate)	1. 在有 2% 葡萄糖存在下，就算有其他碳源加入，菌落仍無法形成， 2. 可生長在 3% 甘油和 2% 酒精同時存在情況下 (SGE plate) 3. 無法在單純只有 2% 酒精情況下生長 (SE plate), 也無法在只有 3% 甘油 (SG plate) 情況下生長
single colony on YPGE	與對照組相比 colony 主要呈現較小且平滑，無菌絲生成	與對照組組比，colony 較平滑，但有些微的菌絲生長
germ tube	在有 10% 山羊血清 YPGE/uridine 培養液，37°C，四小時，可以看到有 germ tube 生長，但是很少，大部分仍呈現 yeast form	在 YPG 培養液，培養 37°C，三小時觀察細胞有長 germ tube

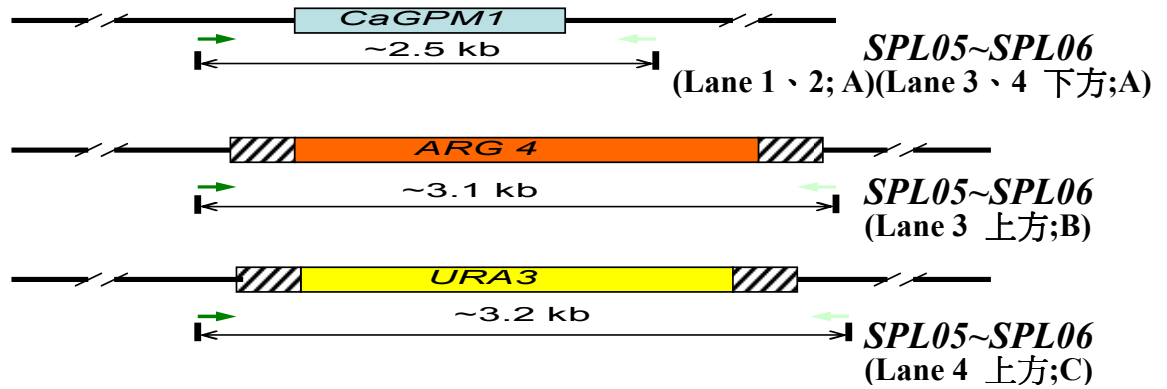
表二、白色念珠菌醣解作用基因 *CaGPM1* 與其下游基因 *CaENO1* 在藥物感受性與型態的比較

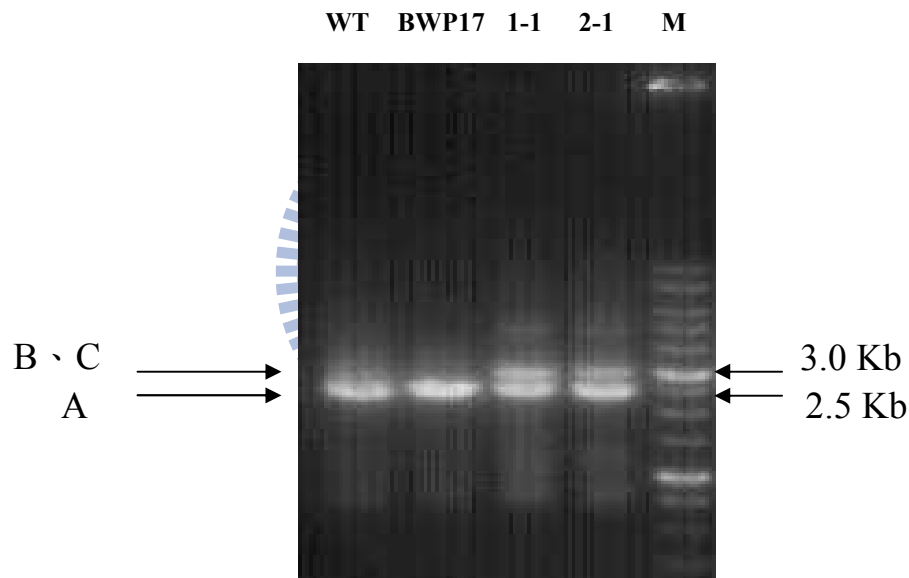


圖一、*CaGPM1* 蛋白質與不同菌種比對後的親緣樹狀圖

PCR result of *CaGPM1* heterozygous knockout strain I

<A>





圖二、PCR 確認 *CaGPM1* 單套基因已被篩選標記 *ARG4* 或 *URA3* 破壞(I)

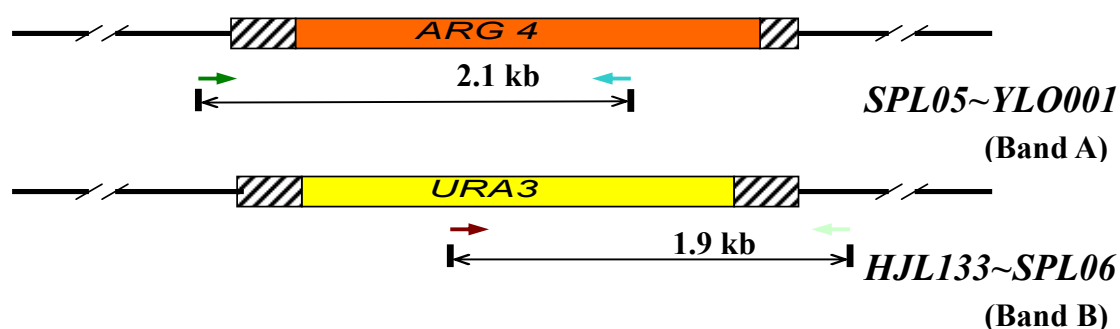
<A>為確認 *CaGPM1* 破壞突變是否成功之示意圖。

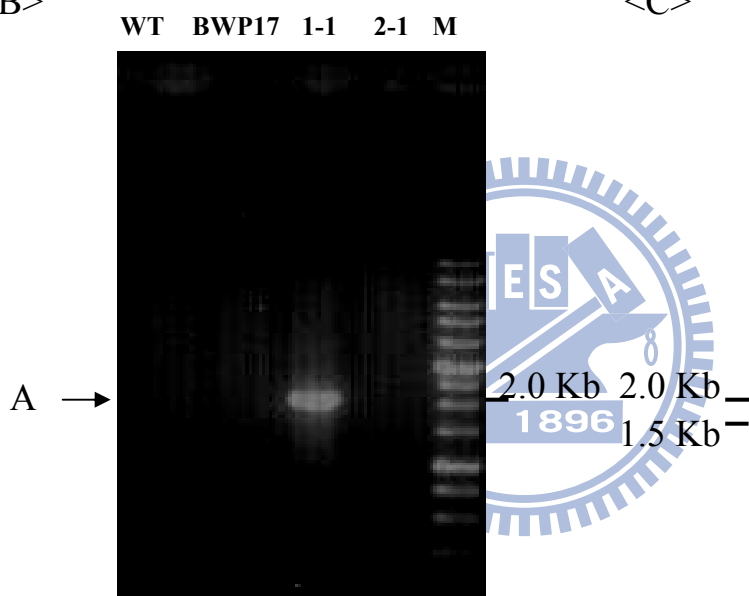
利用右方斜體標示之引子，進行 PCR 可得如圖箭頭所指的片段。

利用 0.8% 洋菜膠分析 PCR 產物。M 為 1 Kb Marker，WT (SC5314)、BWP17 為對照組，1-1 和 2-1 為轉形實驗後所得的轉形株編號，左方箭頭所指為 PCR 產物之位置，A：約 2.5 Kb 之 band，B：約 3.1 Kb 之 band，C：約 3.2 Kb 之 band。

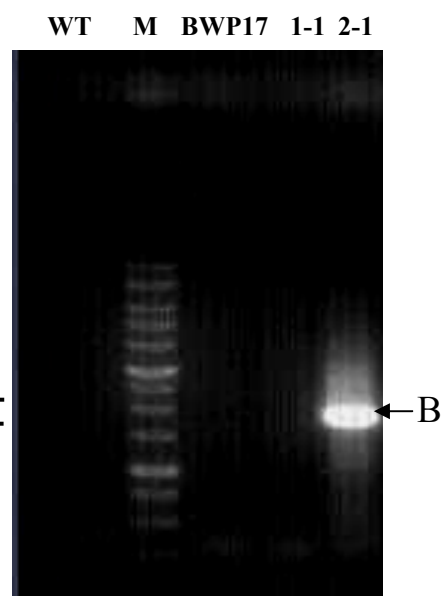
PCR result of *CaGPM1* heterozygous knockout strain II

<A>





<C>



圖三、PCR 確認 *CaGPM1* 單套基因已被篩選標記 *ARG4* 或 *URA3* 破壞 (II)

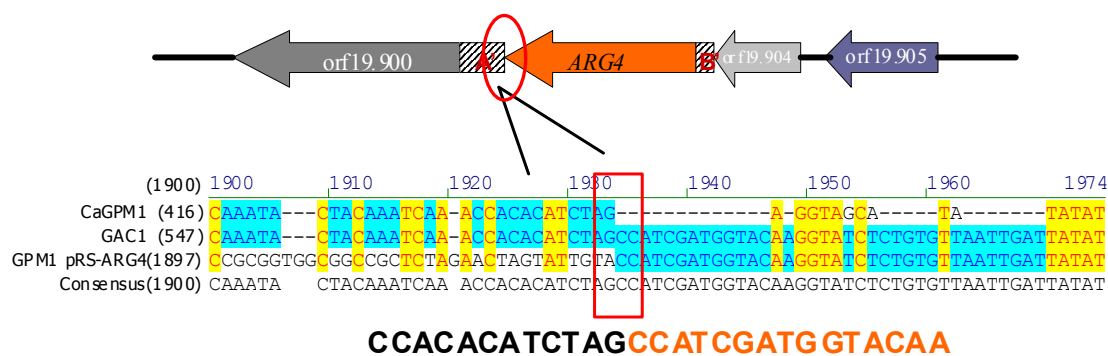
<A>為確認 *CaGPM1* 單套基因破壞突變是否成功之示意圖。利用右方斜體標示之引子，進行 PCR 可得如圖箭頭所指的片段。

、<C>利用 0.8% 洋菜膠分析 PCR 產物。M 為 1 Kb Marker，

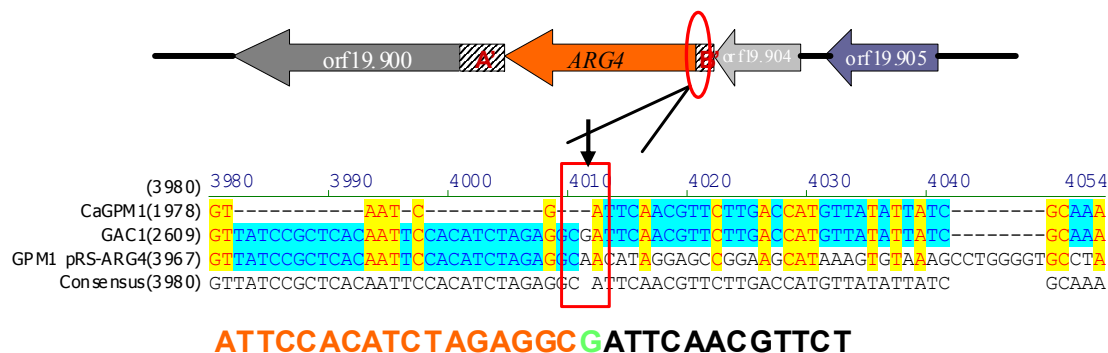
WT (SC5314) 及 BWP17 在此為 negative controls。編號 1-1、2-1 為轉形實驗後所得的轉形株編號，箭頭所指為 PCR 產物之位置，A：約 2.1 Kb 之 band，B：約 1.9 Kb 之 band。

<A>

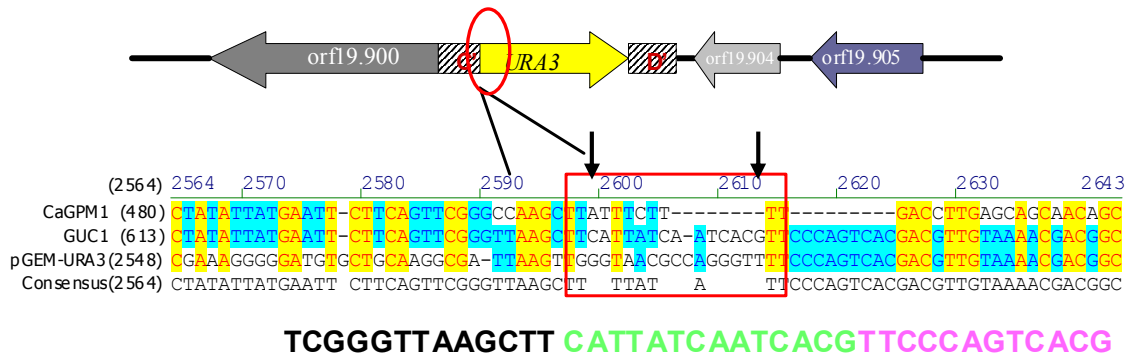
1. 篩選標記 *ARG4* 與 *CaGPM1* 基因下游序列



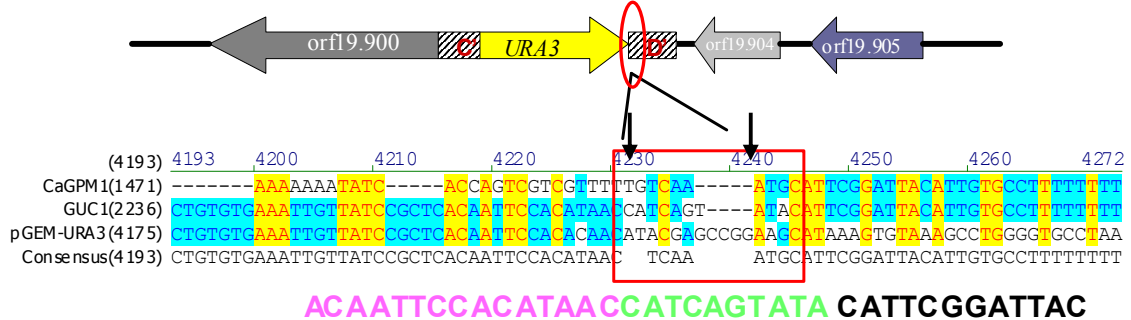
2. 篩選標記 *ARG4* 與 *CaGPM1* 基因上游序列



1. 篩選標記 *URA3* 與 *CaGPM1* 基因下游序列



2. 篩選標記 *URA3* 與 *CaGPM1* 基因上游序列



圖四、sequence 確認篩選標記 *ARG4*、*URA3* 與欲同源置換區的 DNA 序列

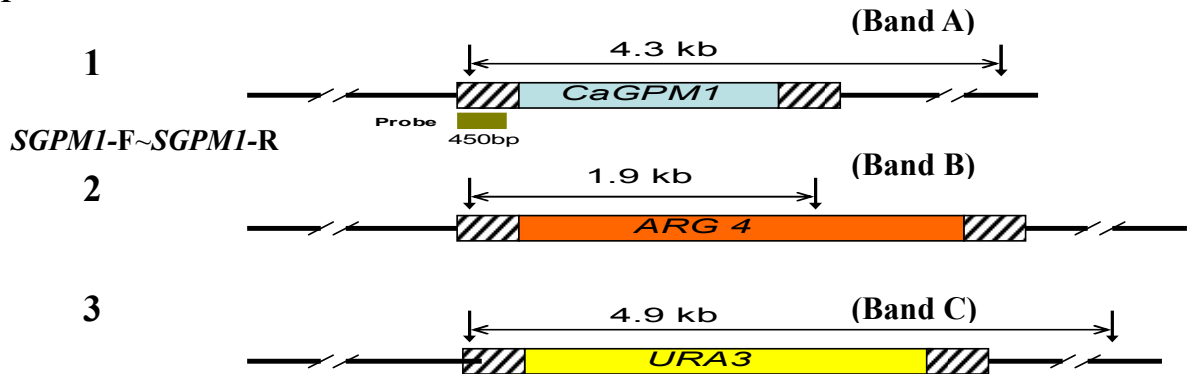
<A>為篩選標記 *ARG4* 與欲同源置換區的 DNA 之連接處序列比對結果

為篩選標記 *URA3* 與欲同源置換區的 DNA 之連接處序列比對結果

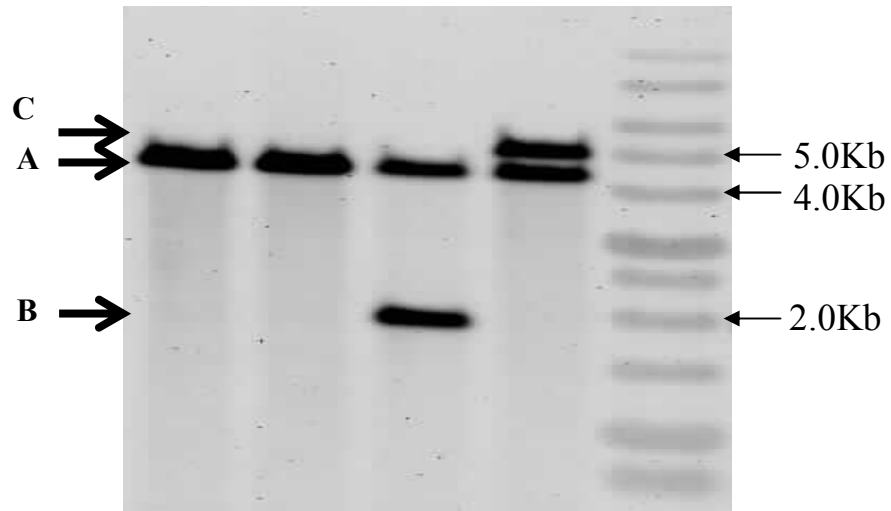
圖中 *CaGPM1* 為 *Candida* Genome Database (CGD) 中的 *CaGPM1* 及其下游 orf19.900 (+15~+33) 與上游 orf19.904 (+585~+604) 部分序列 (大小為 2220 bp); GAC1、GUC1 分別為定序回來的篩選標記 *ARG4* (-571~+1496) 與欲同源置換區的 DNA 序列 (大小為 2876 bp)、篩選標記 *URA3*(-512~+1104) 與欲同源置換區的 DNA 序列 (大小為 2996 bp); pRS-*ARG4*、pGEM-*URA3* 為參考 Wilson, *et al.*, 1999 的 *ARG4*、*URA3* 之序列。序列比對資料中，黃色背景表示全數相同，藍色背景表示多數相同，白色背景表示相異。紅色的方框表示篩選標記與欲同源置換區的 DNA 之連接處；箭頭所指處為比對後多出來的 bases 位置，序列比對下方所放的 base：橘色 base 表示 *ARG4* 的序列，粉紅色 base 表示 *URA3* 的序列，綠色 base 表示不在篩選標記與欲同源置換區的 base，黑色 base 表示欲同源置換的序列。

Southern blot analysis

<A> of *BanI* – digested genomic DNA of *CaGPM1* construction



【strain name】	SC5314	BWP17	MAG01	MUG33	1Kb
【genome organization】	(1)	(1)	(1+2)	(1+3)	Marker

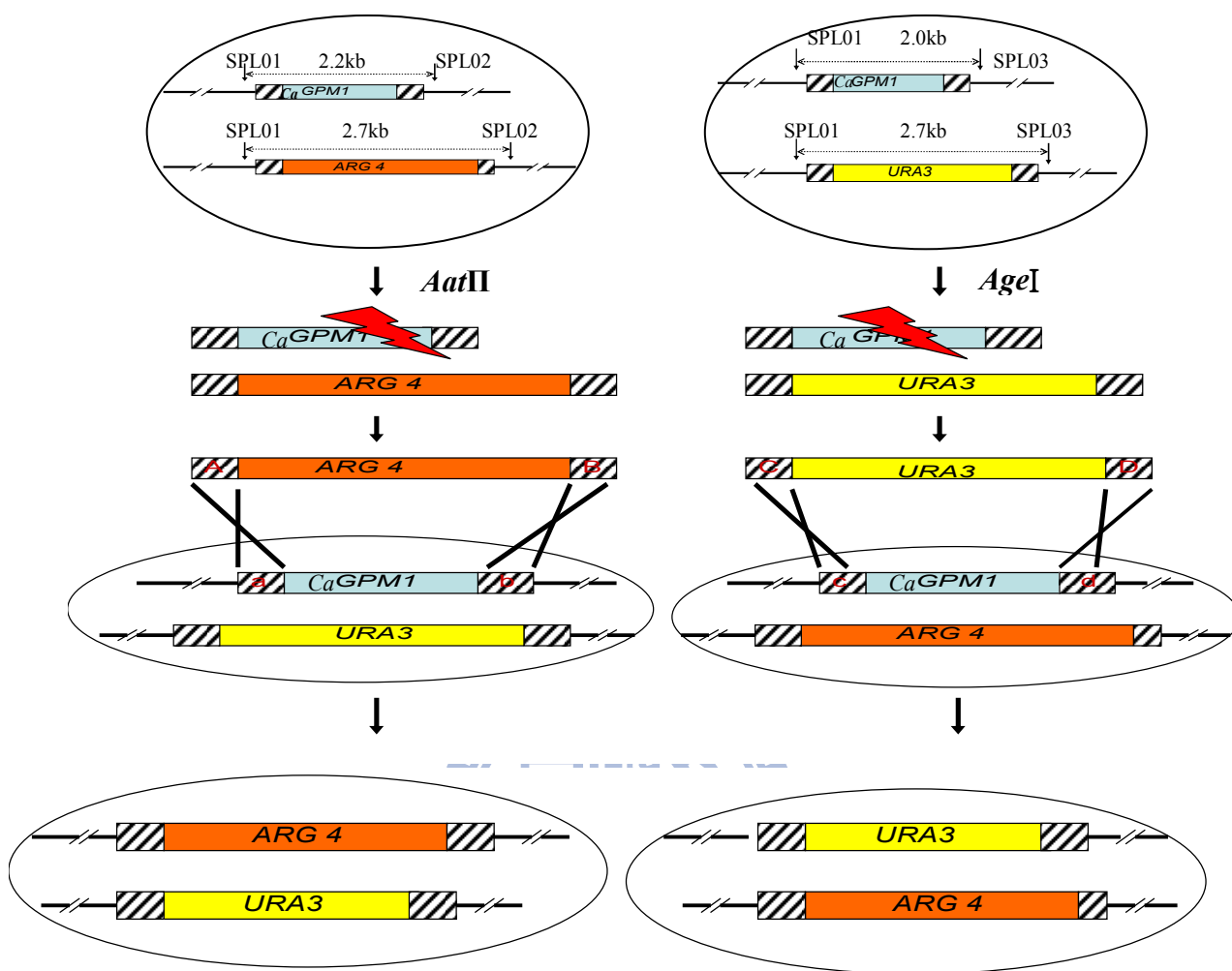


圖五、*CaGPM1* 單套基因破壞株的南方墨點法結果

<A> 為南方墨點法結果之示意圖。將白色念珠菌之染色體 DNA 以 *BanI* 限制酵素處理後，再以南方墨點法分析，利用圖中所標示以引子 *SGPM1-F*、*SGPM1-R* 進行 PCR 所製備之 probe，大小約 450 bp，可在 SC5314、BWP17、MAG01 (*CaGpm1::ARG4/CaGPM1*) 以及 MUG33 (*CaGpm1::URA3/CaGPM1*) 分別得到圖示大小之片段。

 CaGPM1 單套基因破壞株的南方墨點法結果。圖上方表示四種基因型之菌株，菌株名稱下的括號與<A>圖示意之 construction 相呼應，圖中左方箭頭所指為南方墨點法得到有關的 band，A: 約 4.3 kb, B: 約 1.9 kb, C: 約 4.9 kb。以 G-BOX 照像系統拍攝。

<A> MAG01 (*CaGpm1::ARG4/CaGPM1*) MUG33 (*CaGpm1::URA3/CaGPM1*)

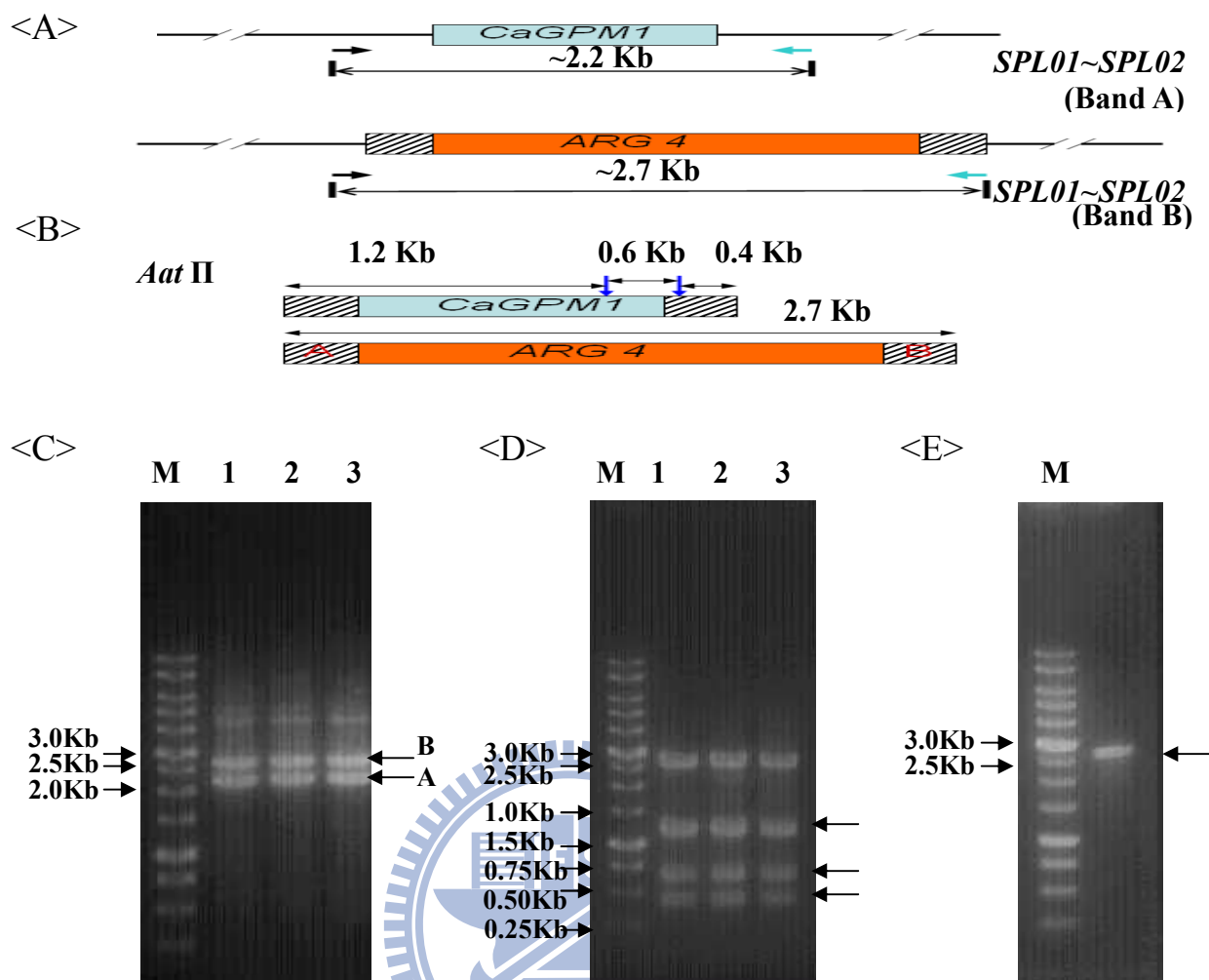


圖六、建構 *CaGPM1* 雙套基因之破壞示意圖。

利用 PCR 得到帶有完整篩選標記 *ARG4* (*URA3*) 且前後分別有同源重組置換區域 A、B (C、D) region 之 DNA 片段與目標基因之 DNA 片段，再利用限制酶將目標基因切割成小片段，得到篩選標記 *ARG4* (*URA3*) 之 DNA，將其與 *CaGPM1* 單套基因破壞株 MUG33 *CaGpm1::URA3/CaGPM1* (MAG01 *CaGpm1::ARG4/CaGPM1*) 進行第二次轉形，得到 *CaGPM1* 雙套基因破壞株。

<A> 從 *CaGPM1* 單套基因破壞株 MAG01 (*CaGpm1::ARG4/CaGPM1*) 得到篩選標誌 *ARG4* 之 DNA 片段，將其與 *CaGPM1* 單套基因破壞株 MUG33 (*CaGpm1::URA3/CaGPM1*) 進行第二次轉形。

 從 *CaGPM1* 單套基因破壞株 MUG33 (*CaGpm1::URA3/CaGPM1*) 得到篩選標誌 *URA3* 之 DNA 片段，將其與 *CaGPM1* 單套基因破壞株 MAG01 (*CaGpm1::ARG4/CaGPM1*) 進行第二次轉形。



圖七、利用 PCR、限制酶製備之具有同源置換區域的篩選標記 *ARG4*

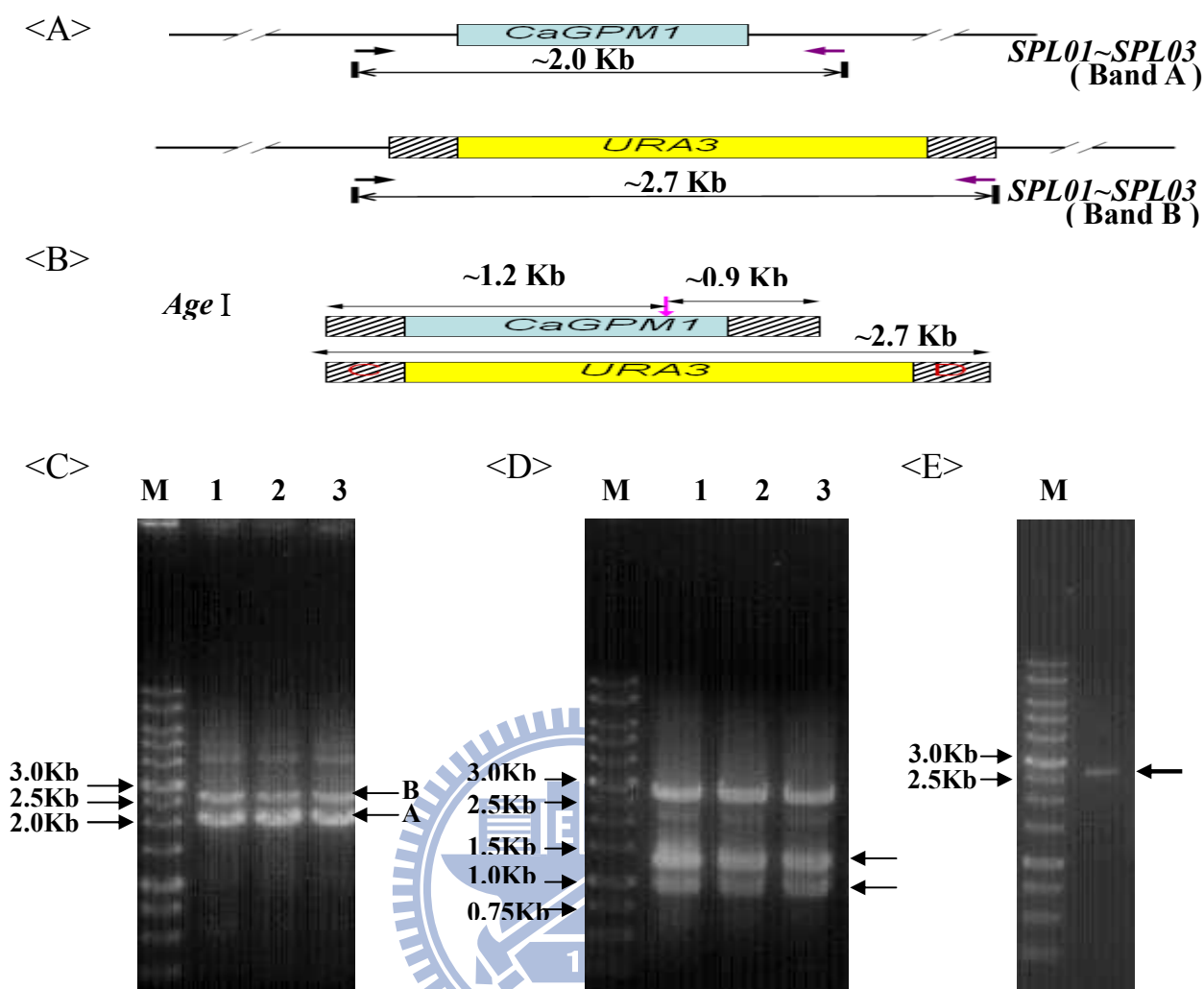
<A> 為得到具有同源置換區域的篩選標記 *ARG4* 及目標基因之 DNA 片段之示意圖。利用右方斜體標示之引子，對單套基因破壞株 MAG01 (*CaGpm1::ARG4/CaGPM1*) 進行 PCR 可得<C>箭頭所指的片段。

 為限制酶作用之示意圖。藍色箭頭為 *Aat* II 作用位置利用 *Aat* II 將 PCR 產物中的目標基因進行切割作用，可得<D>箭頭所指的片段。

<C> 以 0.8% 洋菜膠分析 PCR 產物。M 為 1 Kb Marker，1~3 為以 SPL01~SPL02 為引子之 PCR 產物。右方箭頭所指為 PCR 產物之位置，A: 約 2.2 Kb 之 band, B: 約 2.7 Kb 之 band。

<D> 以 0.8% 洋菜膠分析限制酶作用之結果，M 為 1 Kb Marker，1~3 為以 *Aat* II 作用後的 DNA 產物。右方箭頭所指為 *Aat* II 作用後產物之位置。

<E> 以 0.8% 洋菜膠分析膠體純化後的產物。右方箭頭所指為具有同源置換區域的篩選標記 *ARG4* 經過膠體純化後的產物大小約 2.7 Kb。



圖八、利用 PCR、限制酶製備之具有同源置換區域的篩選標記 *URA3*

<A> 為得到具有同源置換區域的篩選標記 *ARG4* 及目標基因之 DNA 片段之示意圖。利用右方斜體標示之引子，對單套基因破壞株 MUG33 (*CaGpm1::URA3/CaGPM1*) 進行 PCR 得<C>箭頭所指的片段。

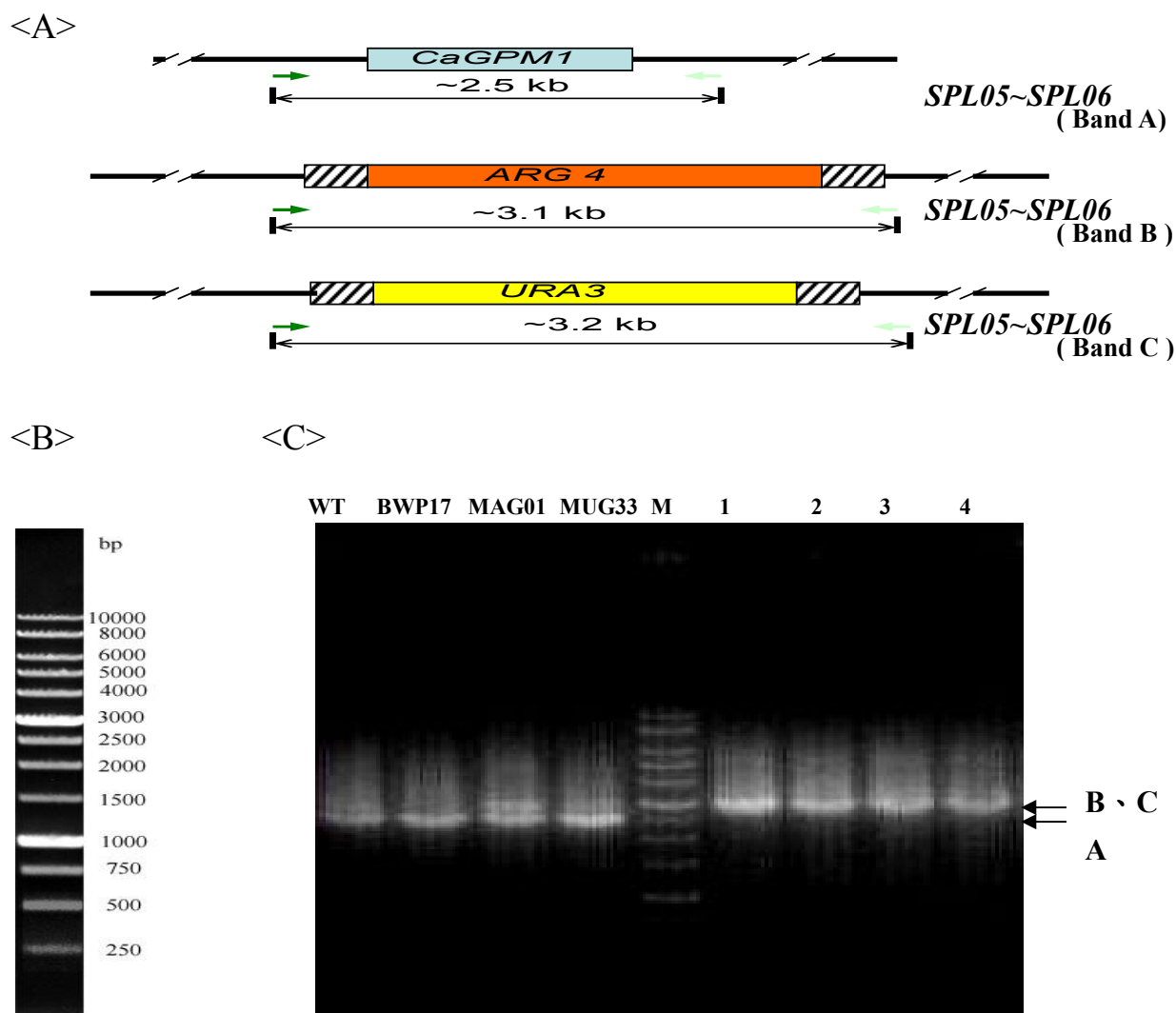
 為限制酶作用之示意圖。粉紅色箭頭為 *AgeI* 作用位置，利用 *AgeI* 將 PCR 產物中的目標基因進行切割作用，可得<D>箭頭所指的片段。

<C> 以 0.8 % 洋菜膠分析 PCR 產物。M 為 1 Kb Marker，1~3 為以 *SPL01~SPL03* 為引子之 PCR 產物。右方箭頭所指為 PCR 產物之位置，A: 約 2.0 Kb 之 band, B: 約 2.7 Kb 之 band。

<D> 以 0.8 % 洋菜膠分析限制酶作用之結果，M 為 1Kb Marker，1~3 為以 *AgeI* 作用後的 DNA 產物。右方箭頭所指為 *AgeI* 作用後產物之位置。

<E> 以 0.8 % 洋菜膠分析膠體純化後的產物。右方箭頭所指為具有同源置換區域的篩選標記 *URA3* 經過膠體純化後的產物大小約 2.7 Kb。

PCR result of *CaGPM1* homozygous knockout strain (I)



圖九、 PCR 確認 *CaGPM1* 雙套基因已被篩選標記 *ARG4* 與 *URA3* 破壞 (I)

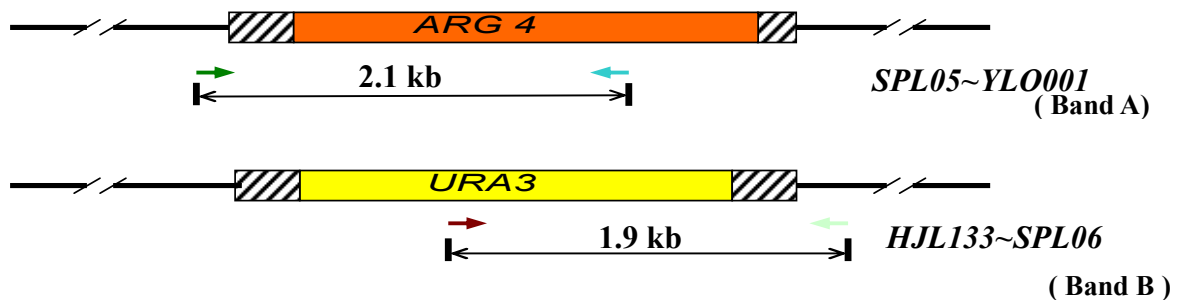
<A>為確認 *CaGPM1* 雙套基因破壞突變是否成功之示意圖。利用右方斜體標示之引子，進行 PCR 可得如圖箭頭所指的片段。

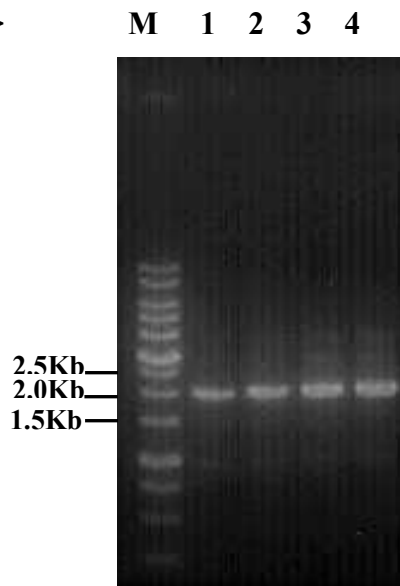
1 Kb marker 電泳圖。

<C>利用 0.8% 洋菜膠分析 PCR 產物。M 為 1 Kb Marker，WT (SC5314)、BWP17 為 negative 對照組，單套基因突變株：MAG01(*Cagpm1::ARG4/CaGPM1*)、MUG33 (*Cagpm1::URA3/CaGPM1*) 為 positive control，編號 1~4 為轉形實驗後所得的轉形株編號，右方箭頭所指為 PCR 產物之位置，A：約 2.5 Kb 之 band，B：約 3.1 Kb 之 band，C：約 3.2 Kb 之 band。

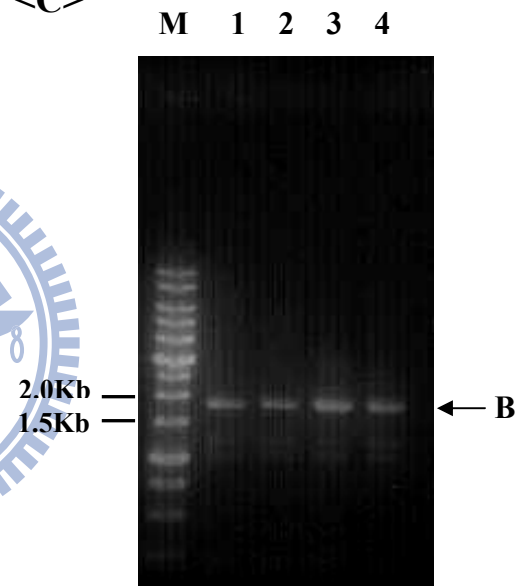
PCR result of *CaGPM1* homozygous knockout strain (II)

<A>





<C>

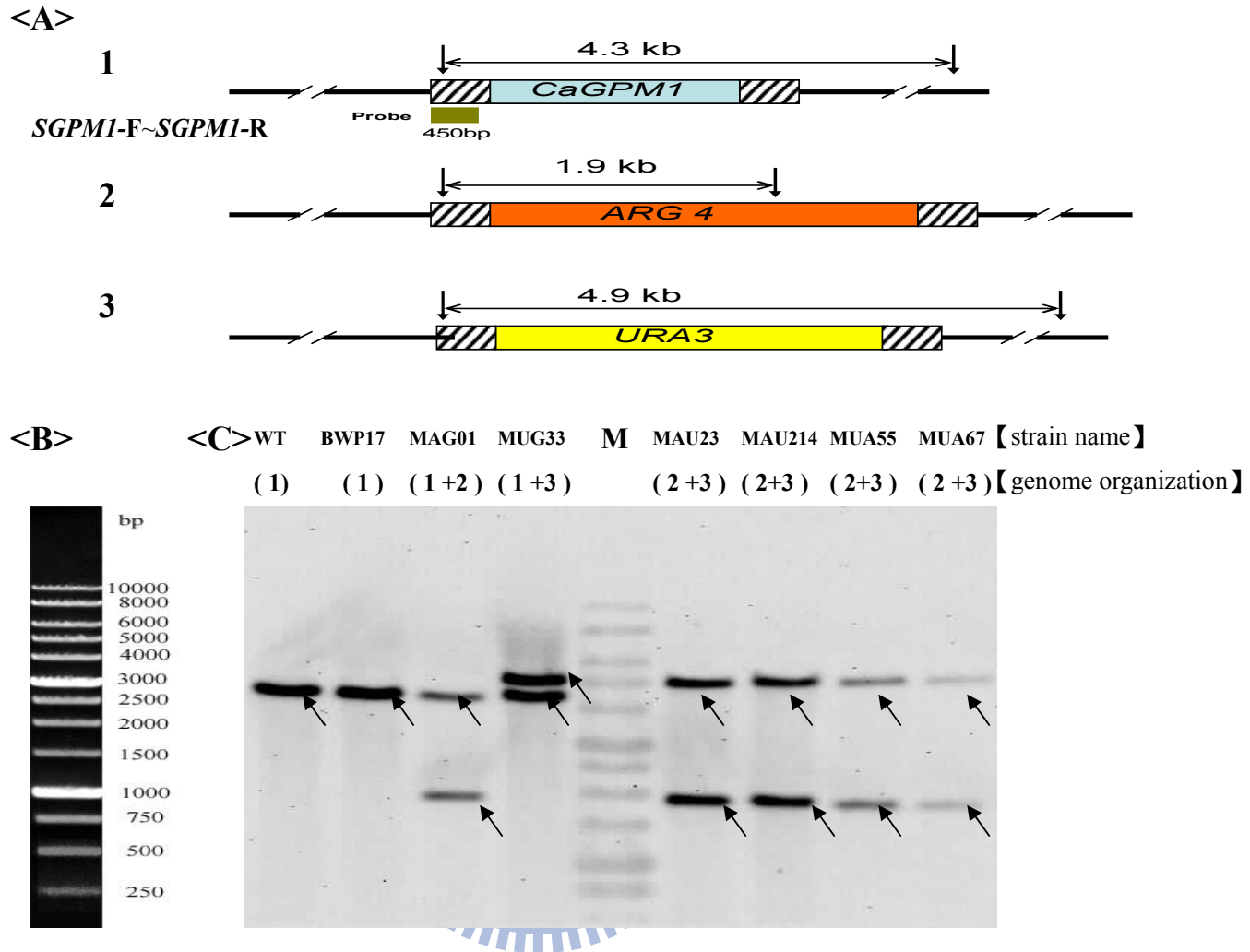


圖十、PCR 確認 *CaGPM1* 雙套基因已被篩選標記 *ARG4* 與 *URA3* 破壞 (II)

<A>為確認 *CaGPM1* 雙套基因破壞之突變株是否成功之示意圖。利用右方斜體標示之引子，進行 PCR 可得如圖箭頭所指的片段。

、<C>利用 0.8% 洋菜膠分析 PCR 產物。M 為 1 Kb Marker。編號1~4為轉形實驗後所得的轉形株編號，即為利用 *SPL05~YLO001* 引子所得之PCR結果；<C>即為利用 *HJL133~SPL06* 引子所得之 PCR 結果，右方箭頭所指為 PCR 產物之位置。A：約 2.1 Kb 之band，B：約 1.9 Kb 之band。

Southern blot analysis of *BanI*-digested genomic DNA of *CaGPM1* construction

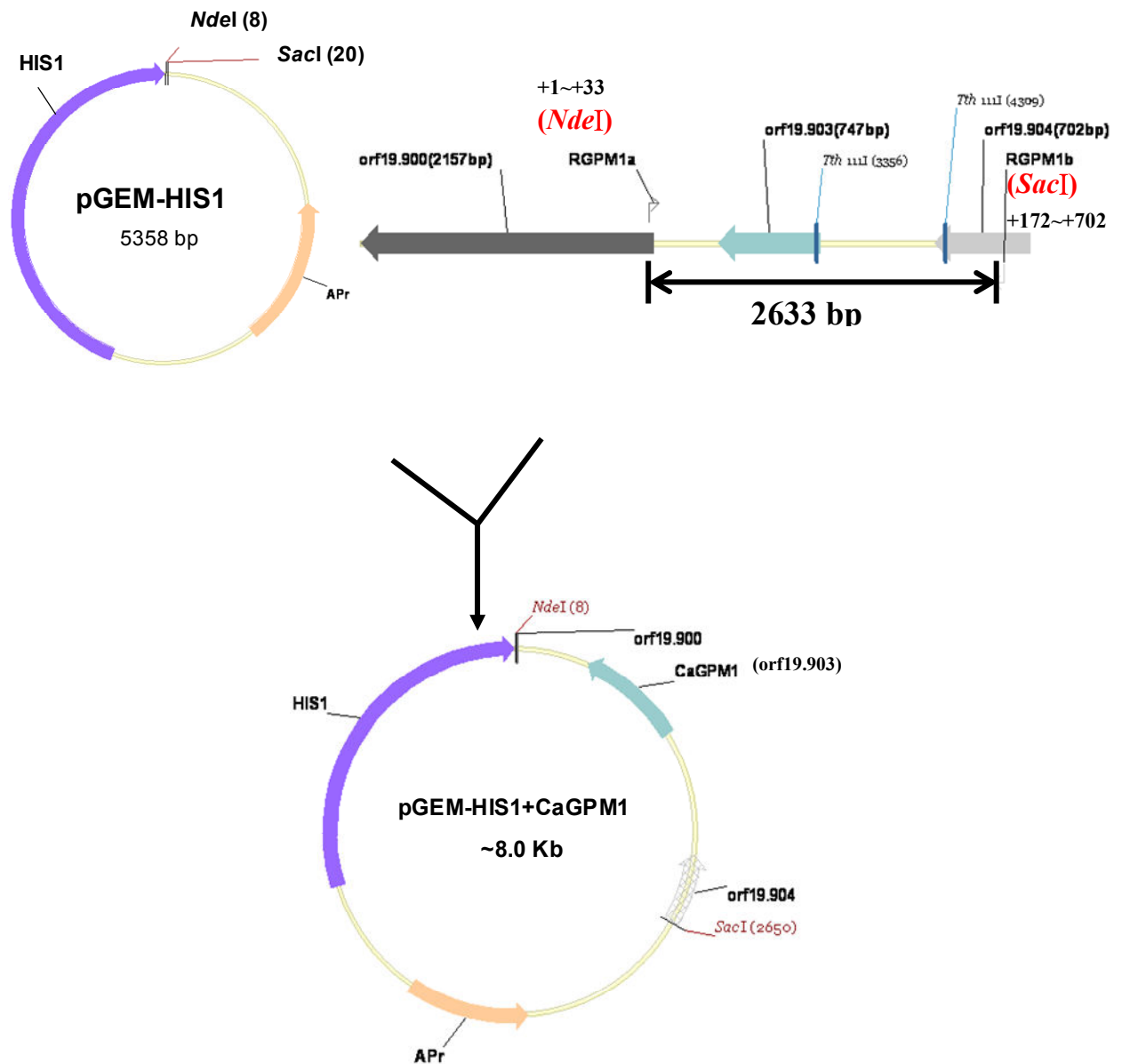


圖十一、南方墨點法確認 *CaGPM1* 雙套基因已被篩選標記 *ARG4* 與 *URA3* 破壞

<A> 為南方墨點法結果之示意圖。將白色念珠菌之染色體 DNA 以 *BanI* 限制酵素處理後，再以南方墨點法分析，利用圖中所標示以引子 SGPM1-F、SGPM1-R 進行 PCR 所製備之 probe，可在 SC5314、BWP17、MAG01 (*Cagpm1::ARG4/CaGPM1*)、MUG33 (*Cagpm1::URA3/CaGPM1*) 和 MAU23、MAU214、MUA55、MUA67 (*Cagpm1::ARG4/Cagpm1::URA3*) 分別得到圖示大小之片段。

 1 Kb marker 電泳圖。

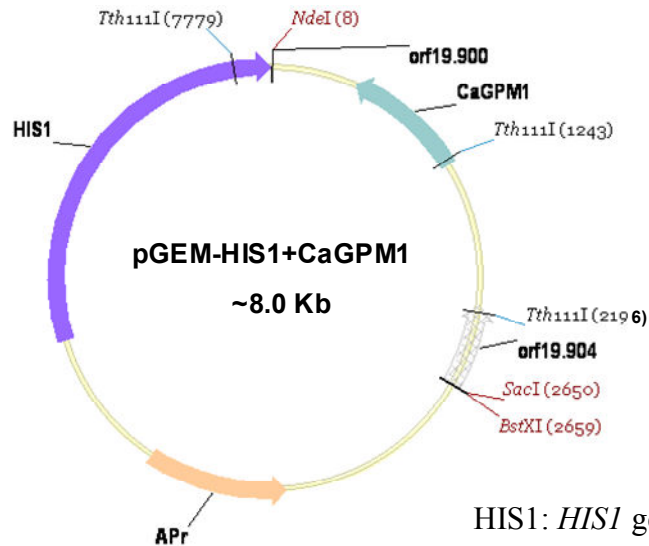
<C> 是 *CaGPM1* 雙套基因破壞株的南方墨點法結果。圖上方表示五種基因型之菌株，菌株名稱下的括號與<A>圖示意之 construction 相呼應，圖中箭頭所指為南方墨點法得有關的 band，M 為 1 Kb Marker。

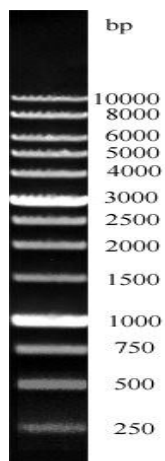


圖十二、Construction of *CaGPM1* rescue plasmid (pRGO1-5、pRGO1-11)

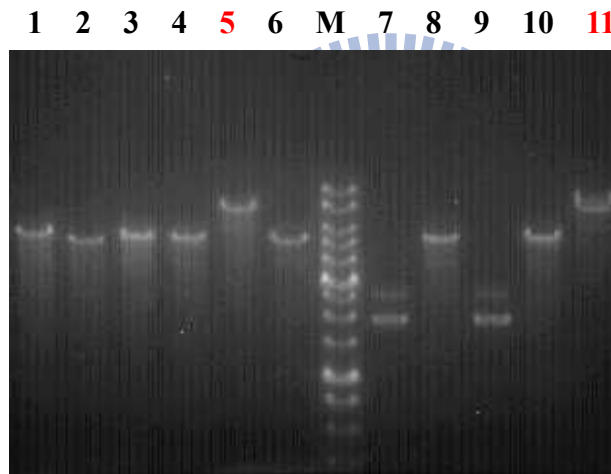
利用引子 RGPM1a、RGPM1b 放大得到約 2633 bp 的 DNA 片段，其中包括 *CaGPM1* 全長 (747 bp) 和下游 *orf19.900* 的 33 bp (含 start codon) 以及約 531 bp 的上游 *orf19.904* 的 DNA 片段 (含 stop codon)，將此 2.6 Kb 片段與 pGEM-CaHIS1 載體接合成重組質體 pRGO1-5、pRGO1-11。HIS1: *HIS1* gene, Apr: ampicillin resistance gene。

<A>

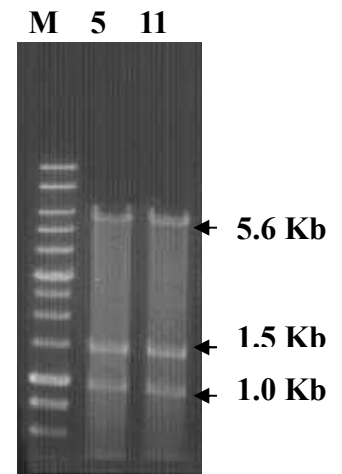




<C>



<D>



圖十三、以限制酶檢驗質體 *CaGPM1* rescue plasmid (pRGO1-5、pRGO1-11)

<A>為確認 *CaGPM1* 之 ORF 片段是否 ligate 到 pGPM-HIS 質體之示意圖。利用 pRGO1 重組質體上的 *BstXI* 酵素切位進行酵素作用，預期得到約 8.0 Kb 的 DNA 片段以及 *Tth111I* 限制酶進行酵素作用，預期得到約 1.0 Kb、1.5 Kb、5.6 Kb 的 DNA 片段。

 1 Kb marker 電泳圖。

<C>利用 0.8% 洋菜膠分析限制酶酵素作用產物的結果。M 為 1 Kb Marker，編號 1~11 為轉形後得到的菌株編號，利用 *BstXI* 限制酶作用，得到編號 5 和 11 符合預期的 DNA 片段 8.0 Kb。

<D>將編號 5 和 11 質體利用 *Tth111I* 限制酶進行酵素作用得到預期約 1.0 Kb、1.5 Kb、5.6 Kb 之 DNA 片段。

	(1)	1	10	20	30	40	50	60	70	80
orf19.903	(1)	ATGCCAAAGTTAGTTTTAGTTAGACACGGTCAATCCGAATGGAATGAAAAGAACTTGTTACCGGTTGGGTTGACGTCAG								
#5	(1)	ATGCCAAAGTTAGTTTTAGTTAGACACGGTCAATCCGAATGGAATGAAAAGAACTTGTTACCGGTTGGGTTGACGTCAG								
#11	(1)	ATGCCAAAGTTAGTTTTAGTTAGACACGGTCAATCCGAATGGAATGAAAAGAACTTGTTACCGGTTGGGTTGACGTCAG								
Consensus	(1)	ATGCCAAAGTTAGTTTTAGTTAGACACGGTCAATCCGAATGGAATGAAAAGAACTTGTTACCGGTTGGGTTGACGTCAG								
	(81)	81	90	100	110	120	130	140	150	160
orf19.903	(81)	ATTATCCGAAACTGGTCAAAAAGAAGCTAAAAGAGCTGGTGAATTATTGAAAGAAGCTGGTATCAATGTTGATGTTTTGC								
#5	(81)	ATTATCCGAAACTGGTCAAAAAGAAGCTAAAAGAGCTGGTGAATTATTGAAAGAAGCTGGTATCAATGTTGATGTTTTGC								
#11	(81)	ATTATCCGAAACTGGTCAAAAAGAAGCTAAAAGAGCTGGTGAATTATTGAAAGAAGCTGGTATCAATGTTGATGTTTTGC								
Consensus	(81)	ATTATCCGAAACTGGTCAAAAAGAAGCTAAAAGAGCTGGTGAATTATTGAAAGAAGCTGGTATCAATGTTGATGTTTTGC								
	(161)	161	170	180	190	200	210	220	230	240
orf19.903	(161)	ACACCTCCAAATTATCCAGAGCCATCCAACTGCCAACATTGCCTTGGATGCTGCTGATCAATTGTACGTTCCAGTCAAG								
#5	(161)	ACACCTCCAAATTATCCAGAGCCATCCAACTGCCAACATTGCCTTGGATGCTGCTGATCAATTGTACGTTCCAGTCAAG								
#11	(161)	ACACCTCCAAATTATCCAGAGCCATCCAACTGCCAACATTGCCTTGGATGCTGCTGATCAATTGTACGTTCCAGTCAAG								
Consensus	(161)	ACACCTCCAAATTATCCAGAGCCATCCAACTGCCAACATTGCCTTGGATGCTGCTGATCAATTGTACGTTCCAGTCAAG								
	(241)	241	250	260	270	280	290	300	310	320
orf19.903	(241)	AGATCTTGGAGATTGAATGAAAGACACTATGGTGCTTTACAAGGTAAAGACAAAGCTCAAACCTTTGGAAGCTTACGGTCA								
#5	(241)	AGATCTTGGAGATTGAATGAAAGACACTATGGTGCTTTACAAGGTAAAGACAAAGCTCAAACCTTTGGAAGCTTACGGTCA								
#11	(241)	AGATCTTGGAGATTGAATGAAAGACACTATGGTGCTTTACAAGGTAAAGACAAAGCTCAAACCTTTGGAAGCTTACGGTCA								
Consensus	(241)	AGATCTTGGAGATTGAATGAAAGACACTATGGTGCTTTACAAGGTAAAGACAAAGCTCAAACCTTTGGAAGCTTACGGTCA								
	(321)	321	330	340	350	360	370	380	390	400
orf19.903	(321)	AGAAAAATTCCAAATCTGGAGAAGATCTTTTGATGTTCCACCACCAAAGATTGATCCAAAAGATGAGTACTCCCAAGTTCG								
#5	(321)	AGAAAAATTCCAAATCTGGAGAAGATCTTTTGATGTTCCACCACCAAAGATTGATCCAAAAGATGAGTACTCCCAAGTTCG								
#11	(321)	AGAAAAATTCCAAATCTGGAGAAGATCTTTTGATGTTCCACCACCAAAGATTGATCCAAAAGATGAGTACTCCCAAGTTCG								
Consensus	(321)	AGAAAAATTCCAAATCTGGAGAAGATCTTTTGATGTTCCACCACCAAAGATTGATCCAAAAGATGAGTACTCCCAAGTTCG								
	(401)	401	410	420	430	440	450	460	470	480
orf19.903	(401)	GCGACAGAAGATACGCTGACGTTGATCCAGCTGTTGTTCCATTGACTGAATCATTAGCTTTGGTCATCGACAGATTGTTG								
#5	(401)	GCGACAGAAGATACGCTGACGTTGATCCAGCTGTTGTTCCATTGACTGAATCATTAGCTTTGGTCATCGACAGATTGTTG								
#11	(401)	GCGACAGAAGATACGCTGACGTTGATCCAGCTGTTGTTCCATTGACTGAATCATTAGCTTTGGTCATCGACAGATTGTTG								
Consensus	(401)	GCGACAGAAGATACGCTGACGTTGATCCAGCTGTTGTTCCATTGACTGAATCATTAGCTTTGGTCATCGACAGATTGTTG								
	(481)	481	490	500	510	520	530	540	550	560
orf19.903	(481)	CCATACTGGCAAGACGAAATTGCTGGTGACTTGTGGCTGGTAAAGTTGTCTTAATTGCTGCTCACGGTAACTCCTTGAG								
#5	(481)	CCATACTGGCAAGACGAAATTGCTGGTGACTTGTGGCTGGTAAAGTTGTCTTAATTGCTGCTCACGGTAACTCCTTGAG								
#11	(481)	CCATACTGGCAAGACGAAATTGCTGGTGACTTGTGGCTGGTAAAGTTGTCTTAATTGCTGCTCACGGTAACTCCTTGAG								
Consensus	(481)	CCATACTGGCAAGACGAAATTGCTGGTGACTTGTGGCTGGTAAAGTTGTCTTAATTGCTGCTCACGGTAACTCCTTGAG								
	(561)	561	570	580	590	600	610	620	630	640
orf19.903	(561)	AGCTTTAGTTAAACACTTGGACAACATCTCTGATGAAGATATTGCCGGATTGAACATTCCAAGTGGTATTCCATTGGTTT								
#5	(561)	AGCTTTAGTTAAACACTTGGACAACATCTCTGATGAAGATATTGCCGGATTGAACATTCCAAGTGGTATTCCATTGGTTT								
#11	(561)	AGCTTTAGTTAAACACTTGGACAACATCTCTGATGAAGATATTGCCGGATTGAACATTCCAAGTGGTATTCCATTGGTTT								
Consensus	(561)	AGCTTTAGTTAAACACTTGGACAACATCTCTGATGAAGATATTGCCGGATTGAACATTCCAAGTGGTATTCCATTGGTTT								
	(641)	641	650	660	670	680	690	700	710	720
orf19.903	(641)	ACGAGTTAGACGAAAACCTTGAAACCACTAAACCTTCTTACTACTTGGACCCAGAAGCTGCTGCTGCCGGTGCTGCTGCT								
#5	(641)	ACGAGTTAGACGAAAACCTTGAAACCACTAAACCTTCTTACTACTTGGACCCAGAAGCTGCTGCTGCCGGTGCTGCTGCT								
#11	(641)	ACGAGTTAGACGAAAACCTTGAAACCACTAAACCTTCTTACTACTTGGACCCAGAAGCTGCTGCTGCCGGTGCTGCTGCT								
Consensus	(641)	ACGAGTTAGACGAAAACCTTGAAACCACTAAACCTTCTTACTACTTGGACCCAGAAGCTGCTGCTGCCGGTGCTGCTGCT								
	(721)	721	730	747						
orf19.903	(721)	GTTGCTGCTCAAGGTCAAAAGAAATAA								
#5	(721)	GTTGCTGCTCAAGGTCAAAAGAAATAA								
#11	(721)	GTTGCTGCTCAAGGTCAAAAGAAATAA								
Consensus	(721)	GTTGCTGCTCAAGGTCAAAAGAAATAA								

圖十四、*CaGPM1* rescue plasmid (pRGO1-5、pRGO1-11)與 *Candida* Genome Database

(CGD)的 *GPM1* 核苷酸序列比對

圖中 orf19.903 為 *C. albicans* 的 *GPM1* (747bp ; in assembly 20conting)序列，
#5、#11 表示 *CaGPM1* rescue plasmid (pRGO1-5、pRGO1-11)菌株的 *CaGPM1*
序列。藍色及白色背景標示為該位置的核苷酸與 *Candida* Genome Database
(CGD)的 *GPM1* 核苷酸序列有異，藍色表示核苷酸相同，白色表示核苷酸不同。

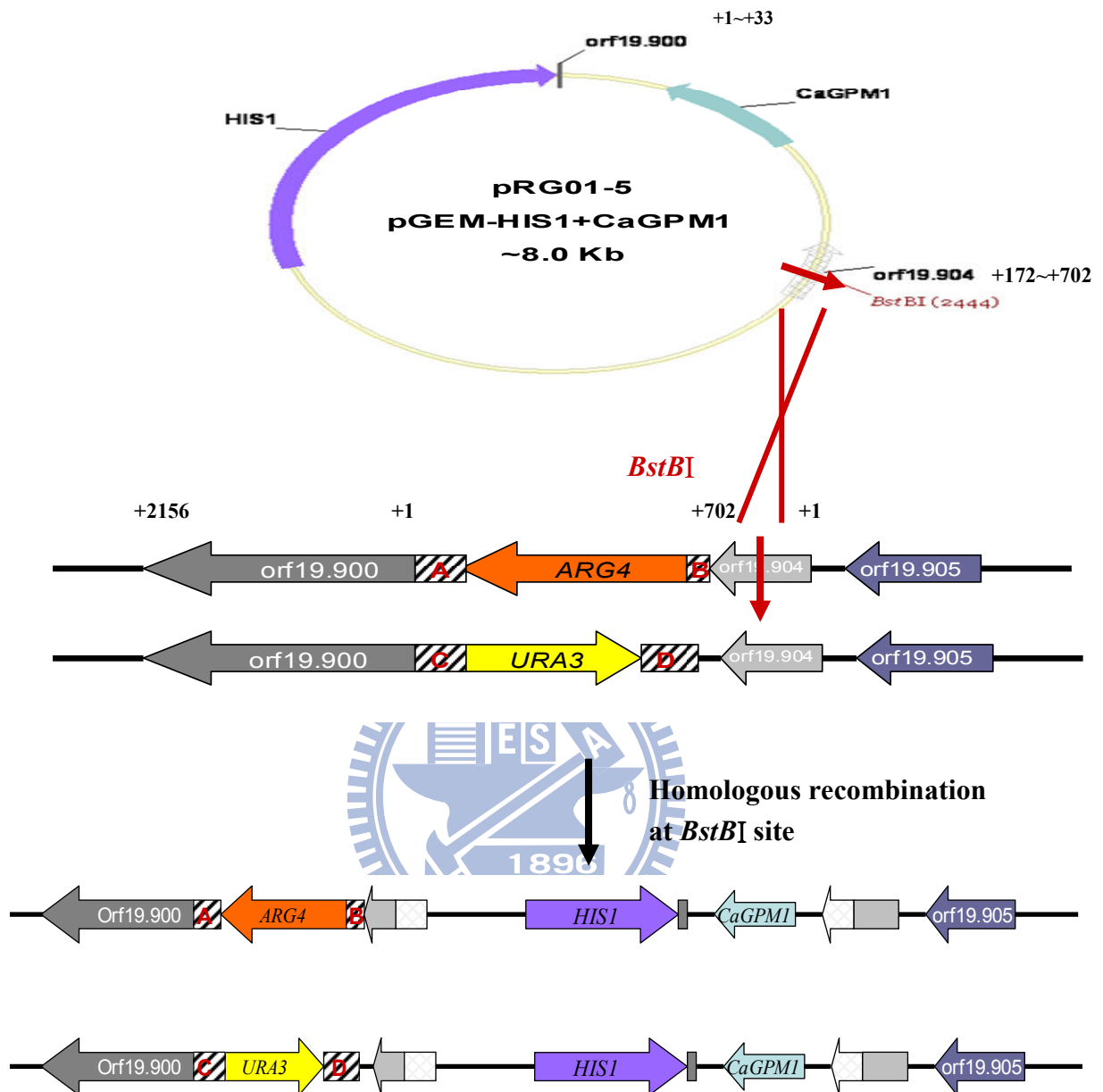
	(1)	1	10	20	30	40	50	60	70	80
orf19.903	(1)	MPKLVLVRHGQSEWNEKNLFTGWVDVRLSETGQKEAKRAGELLKEAGINVDVLHTSKLSRAIQTANIALDAADQLYVPVK								
#5	(1)	MPKLVLVRHGQSEWNEKNLFTGWVDVRLSETGQKEAKRAGELLKEAGINVDVLHTSKLSRAIQTANIALDAADQLYVPVK								
#11	(1)	MPKLVLVRHGQSEWNEKNLFTGWVDVRLSETGQKEAKRAGELLKEAGINVDVLHTSKLSRAIQTANIALDAADQLYVPVK								
Consensus	(1)	MPKLVLVRHGQSEWNEKNLFTGWVDVRLSETGQKEAKRAGELLKEAGINVDVLHTSKLSRAIQTANIALDAADQLYVPVK								
	(81)	81	90	100	110	120	130	140	150	160
orf19.903	(81)	RSWRLNERHYGALQGKDKAQTLEAYGQEKFIWRRSFDVPPPKIDPKDEYSQVGDRRYADVDPAVVPLTESLALVIDRLL								
#5	(81)	RSWRLNERHYGALQGKDKAQTLEAYGQEKFIWRRSFDVPPPKIDPKDEYSQVGDRRYADVDPAVVPLTESLALVIDRLL								
#11	(81)	RSWRLNERHYGALQGKDKAQTLEAYGQEKFIWRRSFDVPPPKIDPKDEYSQVGDRRYADVDPAVVPLTESLALVIDRLL								
Consensus	(81)	RSWRLNERHYGALQGKDKAQTLEAYGQEKFIWRRSFDVPPPKIDPKDEYSQVGDRRYADVDPAVVPLTESLALVIDRLL								
	(161)	161	170	180	190	200	210	220	230	240
orf19.903	(161)	PYWQDEIAGDLLAGKVVLIAAHGNSLRALVKHLDNISDEDIAGLNIPTGIPLVYELDENLKPTKPSYYLDPEAAAAGAAA								
#5	(161)	PYWQDEIAGDLLAGKVVLIAAHGNSLRALVKHLDNISDEDIAGLNIPTGIPLVYELDENLKPTKPSYYLDPEAAAAGAAA								
#11	(161)	PYWQDEIAGDLLAGKVVLIAAHGNSLRALVKHLDNISDEDIAGLNIPTGIPLVYELDENLKPTKPSYYLDPEAAAAGAAA								
Consensus	(161)	PYWQDEIAGDLLAGKVVLIAAHGNSLRALVKHLDNISDEDIAGLNIPTGIPLVYELDENLKPTKPSYYLDPEAAAAGAAA								
	(241)	241	249							
orf19.903	(241)	VAAQGQKK-								
#5	(241)	VAAQGQKK-								
#11	(241)	VAAQGQKK-								
Consensus	(241)	VAAQGQKK-								



圖十五、*CaGPM1* rescue plasmid (pRGO1-5、pRGO1-11) 與 *Candida Genome Database*

(CGD)的 *GPM1* 胺基酸序列比對

圖中 orf19.903 為 *C. albicans* 的 *GPM1* (248 a.a) 胺基酸序列，#5、#11 表示 *CaGPM1* rescue plasmid (pRGO1-5、pRGO1-11)的 *GPM1* 胺基酸序列。紅色圓圈處，表示 *CaGPM1* 的終止密碼的位置。

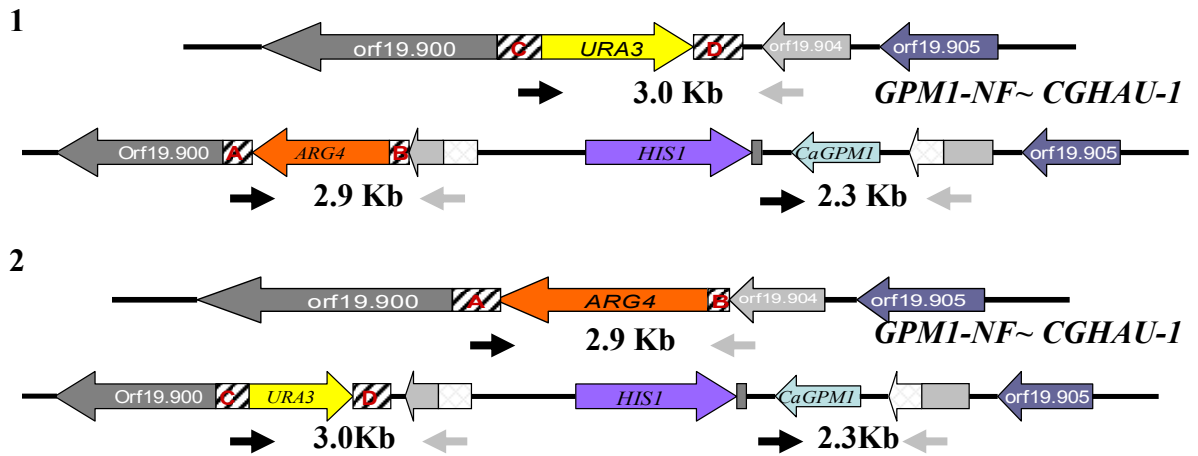


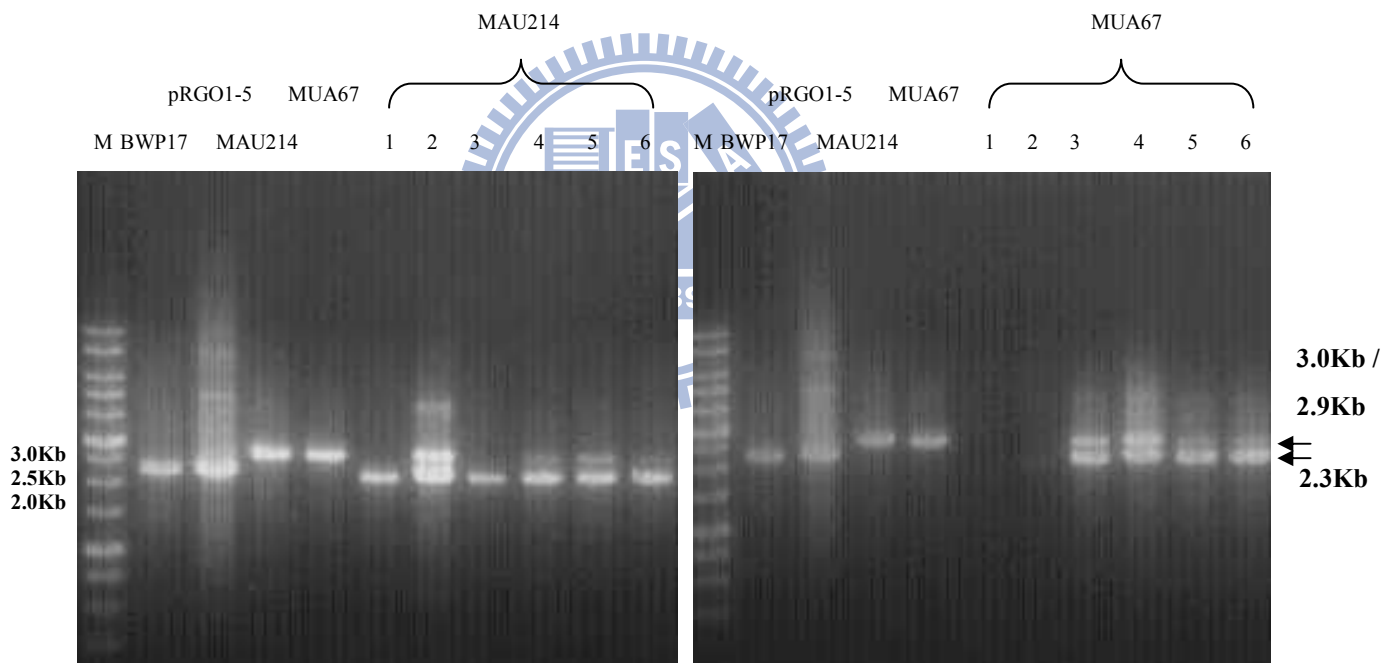
圖十六、 *Cagpm1/Cagpm1::CaGPM1* 單套基因置入補救株建構示意圖。

ARG4: 表示 *ARG4* 篩選標誌。URA3: 表示 *URA3* 篩選標誌。HIS1: 表示 *HIS1* 篩選標誌。■ 表示 open reading frame 不完整的 *orf19.900* 基因 (+1~+33),
 ◀ 表示 open reading frame 不完整的 *orf19.904* 基因 (+371~+702); □ 表示 open reading frame 不完整的 *orf19.904* 基因 (+172~+370)

PCR result of *CaGPM1* Rescued strain

<A>





圖十七、PCR 確認 *CaGPM1* 單套基因是否正確置入 *Cagpm1/Cagpm1* 雙套基因破壞突變株內。

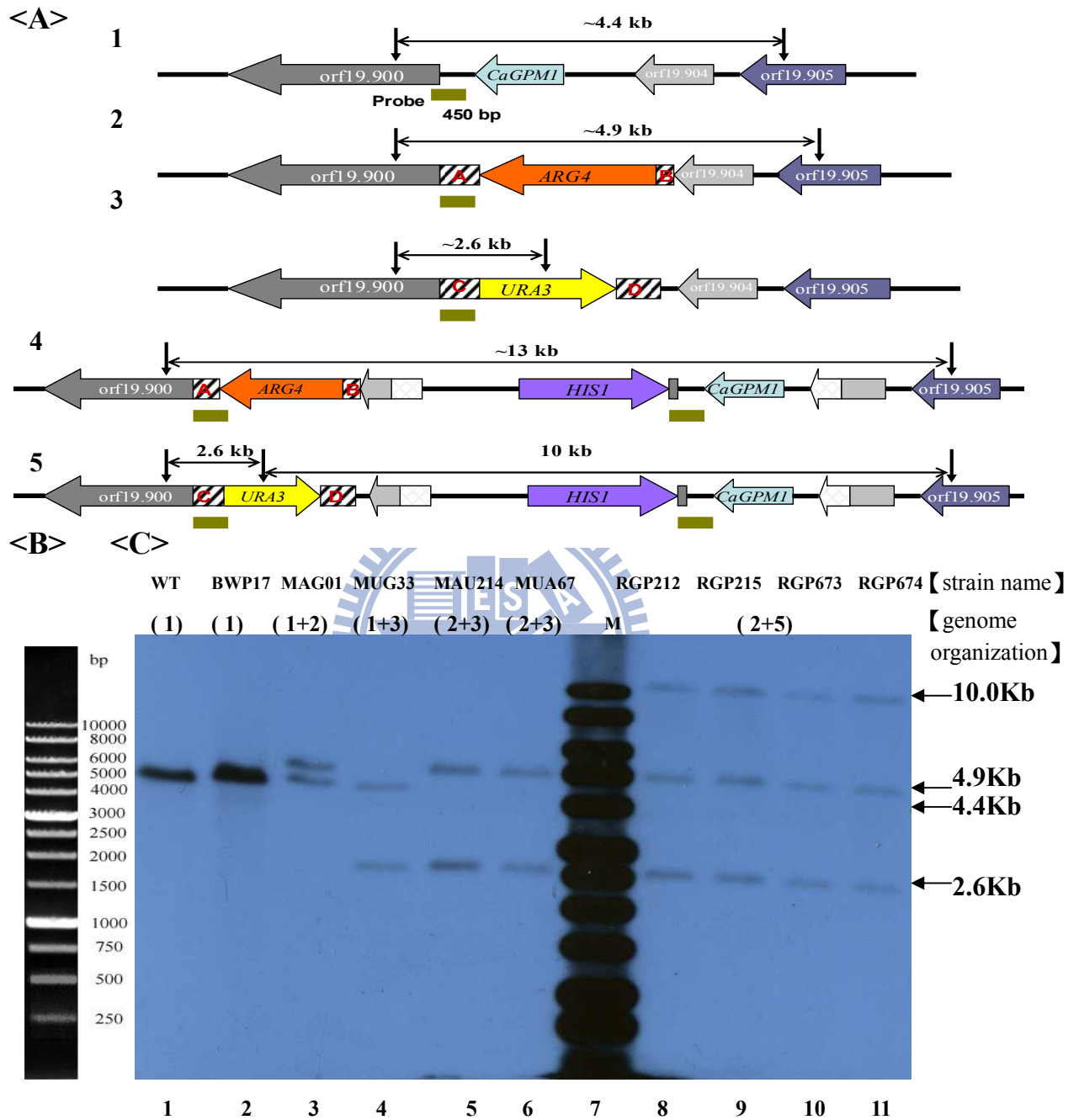
<A>確認 *CaGPM1* 單套基因是否成功地置入 *Cagpm1/Cagpm1* 雙套基因破壞突變株示意圖。利用右方斜體標示之引子，進行 PCR，箭頭所指為引子於染色體 DNA 上之相對位置； 表示不完整的 orf19.900 基因(+1~+33)， 表示不完整的 orf19.904 基因(+371 ~+702)； 表示 open reading frame 不完

整的 orf19.904 基因 (+172~+370)。1 所示為 *CaGPM1* 單套基因置入到帶有 *ARG4* 的染色體上；2 所示為 *CaGPM1* 單套基因置入到帶有 *URA3* 的染色體上。

利用 0.8 % 洋菜膠分析 PCR 產物。M：為 1 kb Marker，BWP17-*CaGPM1* rescue plasmid (pRGO1-5) 為 positive control，預期得到約 2.3 Kb 大小之 *CaGPM1* 的 PCR 產物；雙套基因突變株 MAU214、MUA67 (*Cagpm1::ARG4/Cagpm1::URA3*) 為 positive control，預期得到約 3.0 Kb 及 2.9 Kb 大小之 *ARG4* 或 *URA3* 的 PCR 產物，編號 1~ 6 為分別轉形至 *Cagpm1::ARG4/Cagpm1::URA3* 雙套基因破壞突變株 MAU214 與 MUA67 後所得到的轉形株；右方箭頭所指約 3.0 Kb 或 2.9 Kb 大小之 DNA 片段為引子 GPM1-NF~ CGHAU-1 放大 *ARG4* 或 *URA3* 的 PCR 產物，2.3 Kb 片段為引子放大插入的 *CaGPM1* 基因的 PCR 產物。



Southern blot analysis of *SpeI*-digested genomic DNA of *CaGPM1* construction



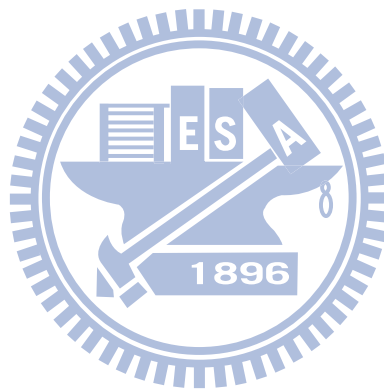
圖十八、南方墨點法確認 *CaGPM1* 單套基因是否正確置入 *Cagpm1::ARG4/* *Cagpm1::URA3* 雙套基因破壞突變株內

<A> 為南方墨點法結果之示意圖。■ 代表探針設計的位置，約450 bp，垂直箭頭代表限制酵素 *SpeI* 切割位置。可在 SC5314、BWP17、MAG01

(*Cagpm1::ARG4/CaGPM1*) 、 MUG33 (*Cagpm1::URA3/CaGPM1*) 和 MAU23 、 MAU214 、 MUA55 、 MUA67 (*Cagpm1::ARG4/Cagpm1::URA3*) 以及 RGP212 、 RGP215 、 RGP673 、 RGP674 (*Cagpm1::ARG4/Cagpm1::URA::CaGPM1-HIS1*) 分別得到圖示大小之片段。

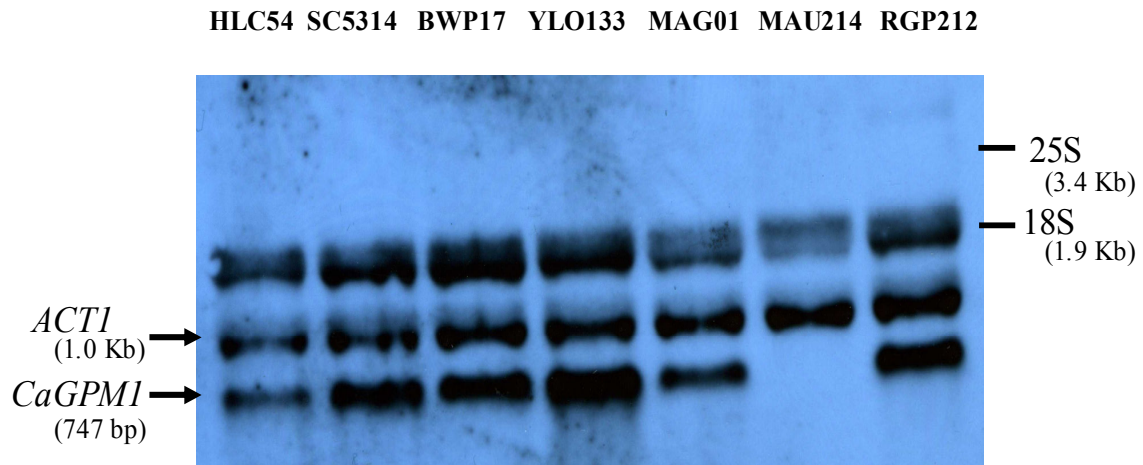
1 Kb marker 電泳圖。

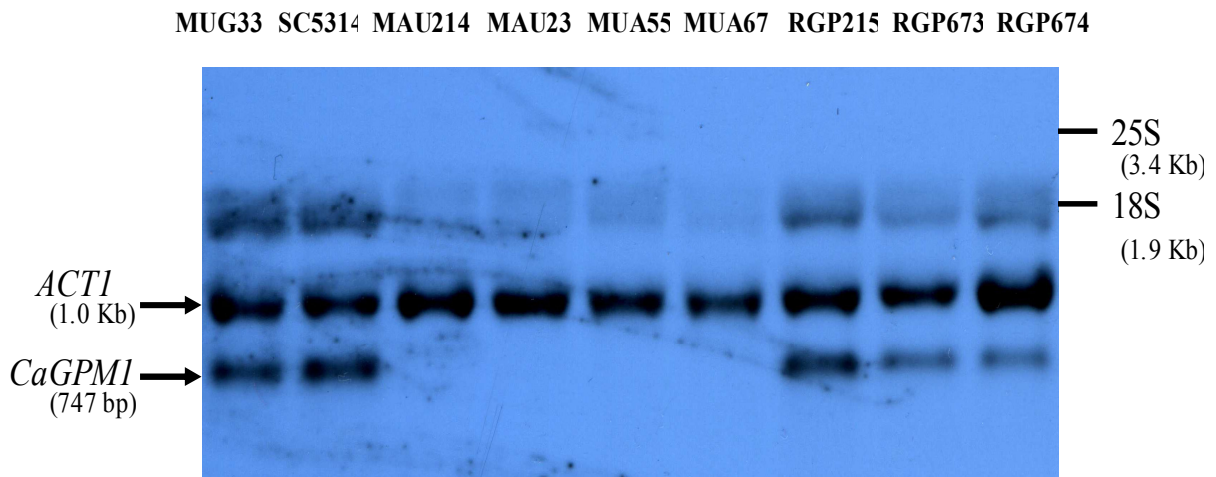
<C>是 *CaGPM1* 單套基因置入 *Cagpm1::ARG4/Cagpm1::URA3* 雙套基因破壞突變株內的南方墨點法結果。圖上方表示七種基因型之菌株，菌株名稱下的括號與 <A> 圖示意之 construction 相呼應，右方箭頭所指為南方墨點法有關的 band，**M** 為 1 Kb Marker。



Northern blot analyses of *CaGPM1* mutant strain

<A>





圖十九、*CaGPM1* 突變株北方墨點法之結果

<A>、 以 WT (SC5314)、BWP17、HLC54 (*cph1/cph1 efg1/efg1*)、YLO133 (*Candt80/Candt80*) 作為對照組。在 30°C，不加山羊血清的 YPGE 添加 uridine 培養液的情況下比較 *CaGPM1* 突變株：MAG01 (*Cagpm1::ARG4/CaGPM1*)、MUG33 (*Cagpm1::URA3/CaGPM1*)；MAU214、MAU23、MUA55、MUA57 (*Cagpm1::ARG4/Cagpm1::URA3*)、RGP212、RGP215、RGP673、RGP674 (*Cagpm1::ARG4/Cagpm1::URA3::CaGPM1-HIS1*) 和上述各菌株 RNA 表現量的差異。*CaGPM1* 的 mRNA 大小約為 747 bp，位置約在 *ACT1* 上方，18S 下方。*ACT1* 為 internal control 其大小約為 1.0 Kb。

Etest

<A>

- YPGE /uridine agar
- 5day
- 35°C

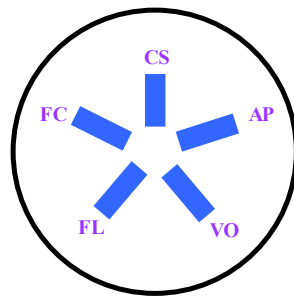
AP: Amphotericin B

CS: Caspofungin

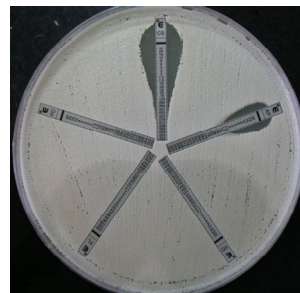
FC :Flucytosine

FL :Fluconazole

VO: Voriconazole



WT(SC5314)

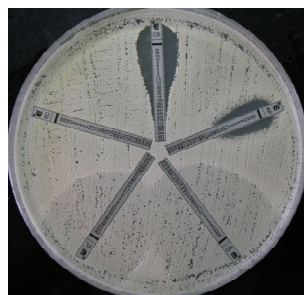


BWP17



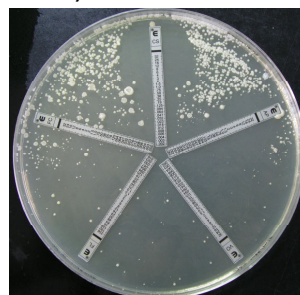
MAG01

(*Cagpm1::ARG4/CaGPM1*)



MAU214

(*Cagpm1::ARG4/Cagpm1::URA3*)



RGP212

(*Cagpm1::ARG4/Cagpm1::URA3::CaGPM1-HIS1*)



Etest

- YPGE /uridine agar
- 8day
- 35°C

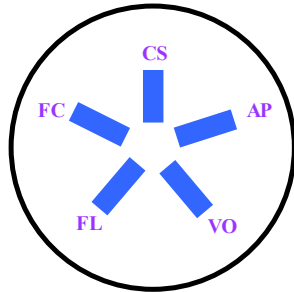
AP: Amphotericin B

CS: Caspofungin

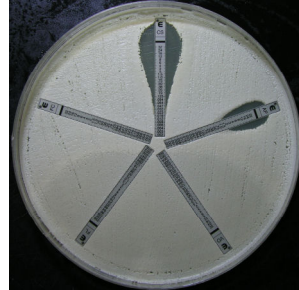
FC :Flucytosine

FL :Fluconazole

VO: Voriconazole



WT(SC5314)

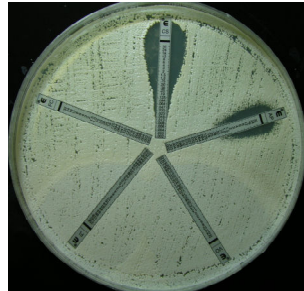


BWP17



MAG01

(*Cagpm1::ARG4/CaGPM1*)



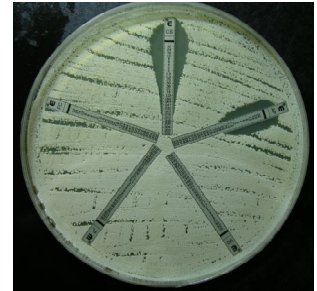
MAU214

(*Cagpm1::ARG4/Cagpm1::URA3*)



RGP212

(*Cagpm1::ARG4/Cagpm1::URA3::CaGPM1-HIS1*)



圖二十、*CaGPM1* 基因突變株之藥物敏感性試驗 (Etest) 結果

此圖為培養於 YPGE (1% yeast extract, 2% Bacto-peptone, 3%(v/v) glycerol, 2% (v/v)ethanol, 2%agar) 額外添加 uridine 培養基 35 °C , 5 天及 8 天後之結果。菌株基因型標示於各圖上方, SC5314、BWP17 為 Wild type ; MAG01 為將 *CaARG4* 基因轉形至 BWP17 得到的單套基因破壞株 ; MAU214 為將 *CaURA3* 基因轉形至單套基因破壞株 MAG01 (*Cagpm1::ARG4/ CaGPM1*) 後所得到的轉形株; RGP212 為將 *CaGPM1-HIS1* 基因轉形至 *CaGPM1* 雙套基因破壞突變株 MAU214 (*Cagpm1::ARG4/ Cagpm1::URA3*) 後所得到的轉形株。

Ap: amphotericin B (0.002 – 32 $\mu\text{g/ml}$) , Cs: Caspofungin (0.002 – 32 $\mu\text{g/ml}$) , FC: flucytosin (0.002 – 32 $\mu\text{g/ml}$) , FL: fluconazole (0.016 – 256 $\mu\text{g/ml}$) , VO: voriconazole (0.002-32 $\mu\text{g/ml}$) 。

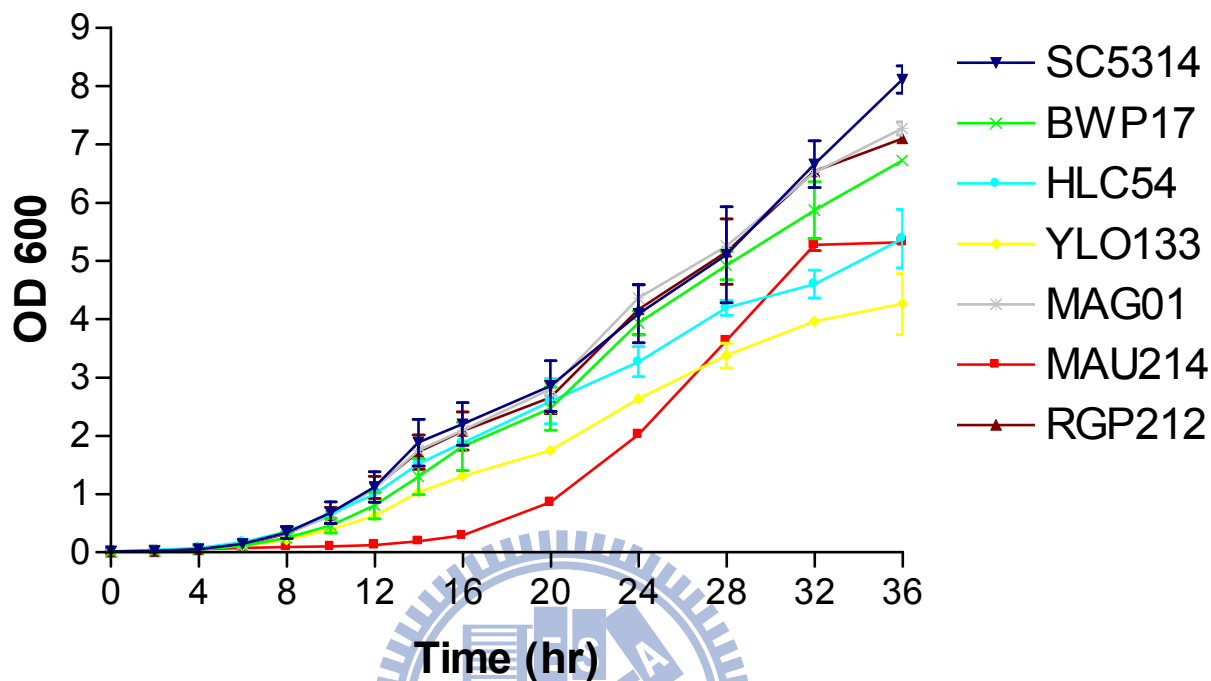
Growth curve of different *CaGPM1* construction

<A>

Time (hr) \ Strain	SC5314 (WT)		BWP17 (WT)		HLC54 (<i>cph1/cph1efg1/efg1</i>)		YLO133 (<i>Candt80/Candt80</i>)	
0	0.02	0.011	0.016	0.012	0.021	0.02	0.017	0.015
2	0.028	0.02	0.028	0.018	0.035	0.041	0.035	0.037
4	0.069	0.04	0.059	0.034	0.069	0.088	0.066	0.068
6	0.186	0.108	0.139	0.073	0.174	0.185	0.117	0.118
8	0.448	0.242	0.34	0.166	0.327	0.386	0.22	0.222
10	0.864	0.492	0.591	0.336	0.635	0.693	0.408	0.381
12	1.385	0.86	1.035	0.57	1.078	0.92	0.635	0.62
14	2.282	1.484	1.61	0.994	1.48	1.554	1.022	1.043
16	2.568	1.84	2.232	1.408	1.86	1.904	1.296	1.328
20	3.288	2.416	2.84	2.096	2.98	2.208	1.736	1.76
24	4.584	3.6	4.14	3.732	3.528	3.012	2.604	2.664
28	5.925	4.275	5.16	4.68	4.32	4.065	3.165	3.585
32	7.06	6.26	6.36	5.38	4.84	4.36	3.88	4.04
36	7.88	8.34	6.76	6.68	5.88	4.88	3.74	4.78

Time (hr) \ Strain	MAG01 (<i>Cagpm1CaGPM1</i>)		18 MAU214 (<i>Cagpm1 /Cagpm1</i>)		RGP212 (<i>Cagpm1/Cagpm1::CaGPM1</i>)	
0	0.021	0.016	0.022	0.016	0.012	0.012
2	0.034	0.028	0.034	0.026	0.024	0.02
4	0.066	0.056	0.059	0.05	0.06	0.044
6	0.149	0.149	0.078	0.076	0.156	0.1
8	0.35	0.324	0.09	0.091	0.4	0.25
10	0.627	0.612	0.105	0.095	0.78	0.501
12	1.13	1.05	0.131	0.122	1.31	0.925
14	1.736	1.771	0.176	0.203	2.016	1.428
16	2.128	2.048	0.255	0.316	2.408	1.76
20	2.912	2.688	0.866	0.848	2.936	2.384
24	4.392	4.332	1.995	2.05	4.596	3.732
28	5.295	5.22	3.66	3.61	5.715	4.605
32	6.52	6.5	5.38	5.18	6.5	6.58
36	7.16	7.38	5.3	5.34	7.16	7.04

 YPGE/uridine broth



圖二十一、*CaGPM1* 突變株在 YPGE/uridine 培養液之生長情形。

<A> 生長曲線，各時間點及 OD_{600nm} 吸光值紀錄表，實驗重複二次。

 各突變株之生長曲線，橫軸為測量時間點，縱軸為 OD_{600nm} 吸光值。

註: SC5314、BWP17 : Wild type ;

HLC54 : *cph1/cph1 efg1/efg1*;

YLO133 : *Candt80/Candt80*;

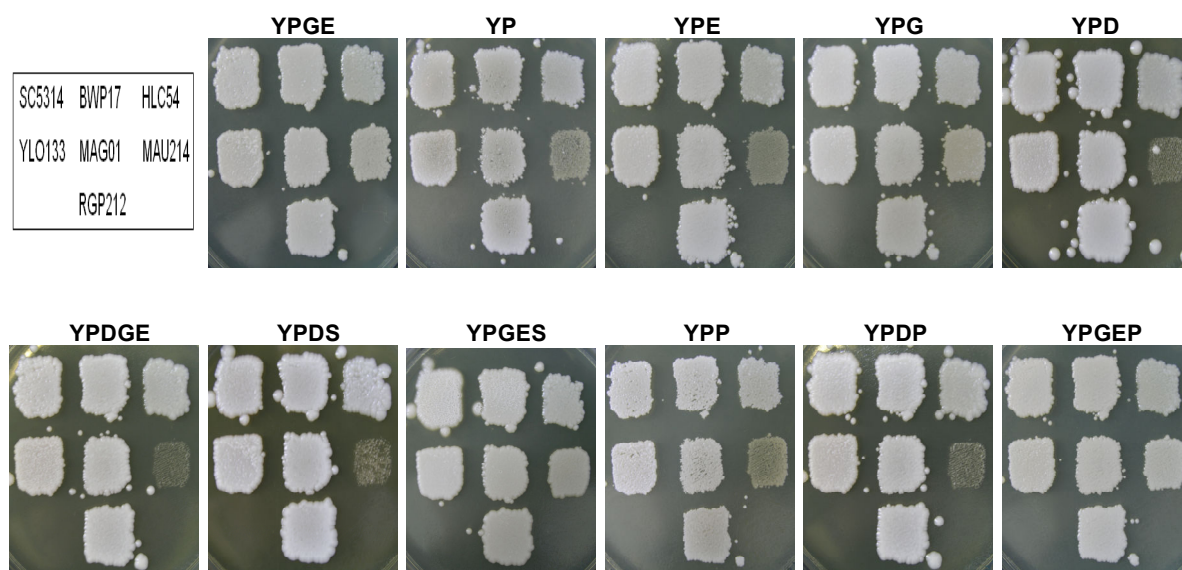
MAG01 : *Cagpm1::ARG4/ CaGPM1* ;

MAU214 : *Cagpm1::ARG4/ Cagpm1::URA3*

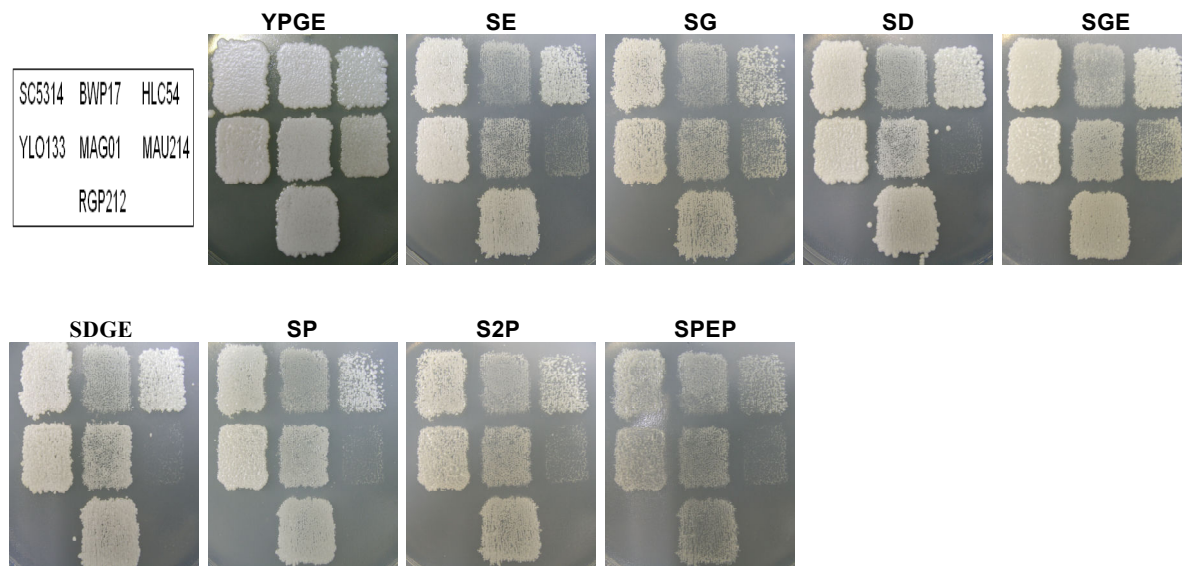
RGP212 : *Cagpm1::ARG4/Cagpm1::URA::CaGPM1-HIS1*

Growth assay of different *CaGPM1* construction

<A> YP 系列 + uridine



 SC 系列 + uridine + arginine + histidine



圖二十二、*CaGPM1* 突變株對生長的影響分析。

菌落在不同碳源培養基，於 30℃，3 天之生長結果，<A> YP 系列+ uridine，以 YPGE (glycerol, ethanol) agar 為母盤，YP agar, YPE (ethanol) agar, YPG (glycerol) agar, YPD (glucose) agar, YPDGE (glucose, glycerol, ethanol) agar,

YPDS (glucose, goat serum) agar, YPGES (glycerol, ethanol, goat serum) agar, YPP(pyruvate) agar, YPDP(glucose, pyruvate) agar, YPGEP (glycerol, ethanol, pyruvate) agar °

 SC 系列 + uridine + arginine + histidine, 以 YPGE (glycerol, ethanol, uridine) agar 為母盤, SE (ethanol) agar, SG (glycerol) agar, SD (glucose) agar, SGE (glycerol, ethanol) agar, SDGE (glucose, glycerol, ethanol) agar, SP (pyruvate) agar, S2P (2-PGA) agar, SPEP (PEP) agar °

註: SC5314、BWP17: Wild type ;

HLC54: *cph1/cph1 efg1/efg1*;

YLO133: *Candt80/Candt80* ;

MAG01: *Cagpm1::ARG4/ CaGPM1* ;

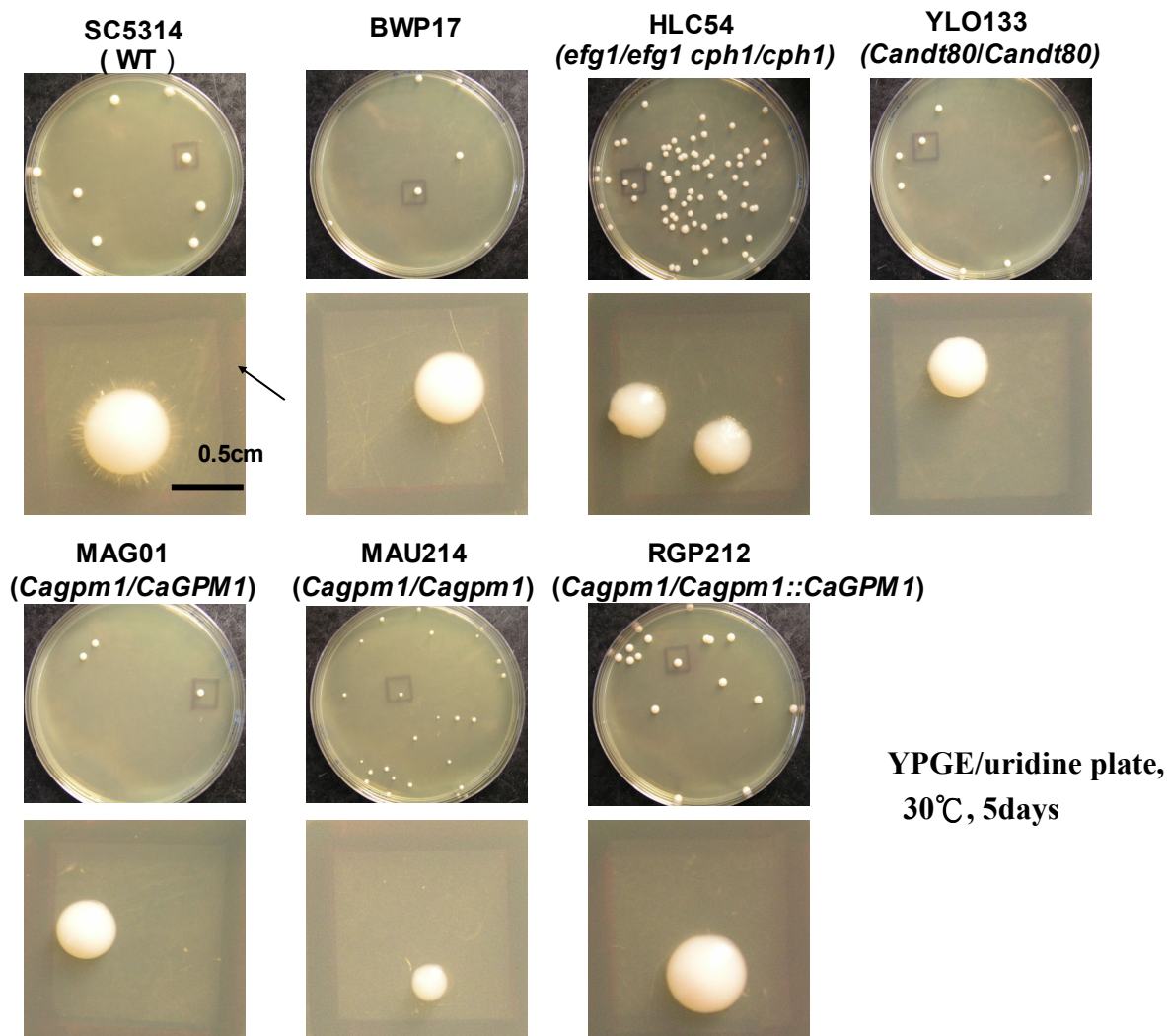
MAU214 : *Cagpm1::ARG4/ Cagpm1::URA3*;

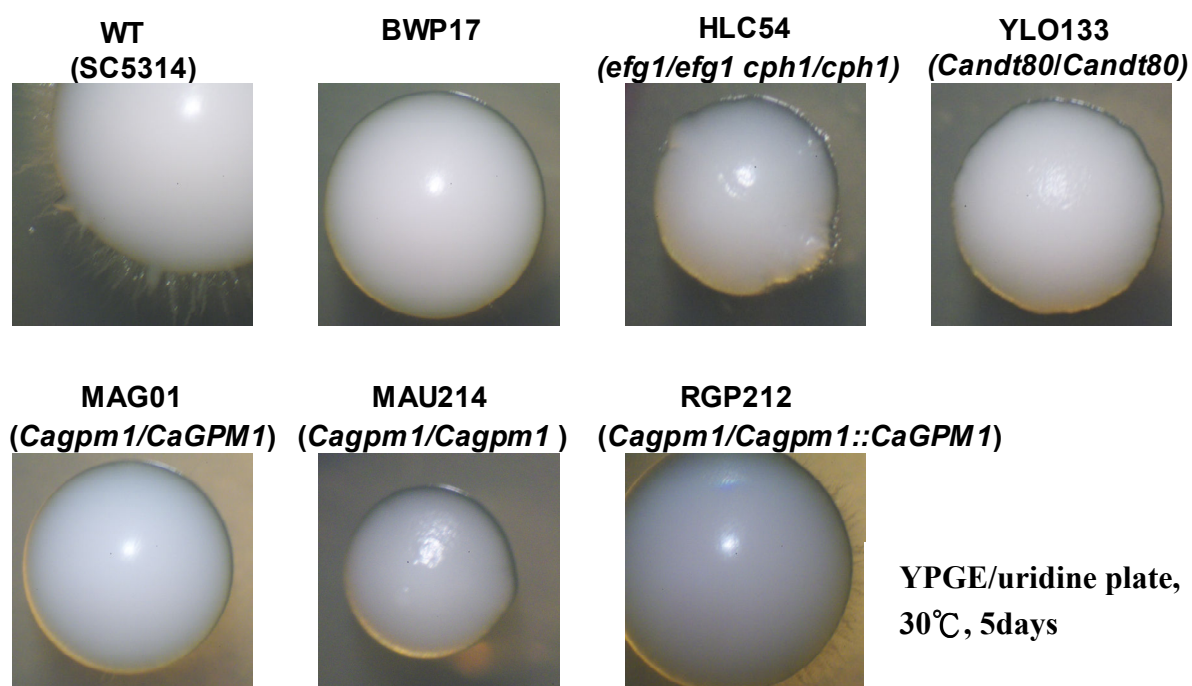
RGP212: *Cagpm1::ARG4/Cagpm1::URA3::CaGPM1-HIS1* °



On YPGE/uridine agar 30°C

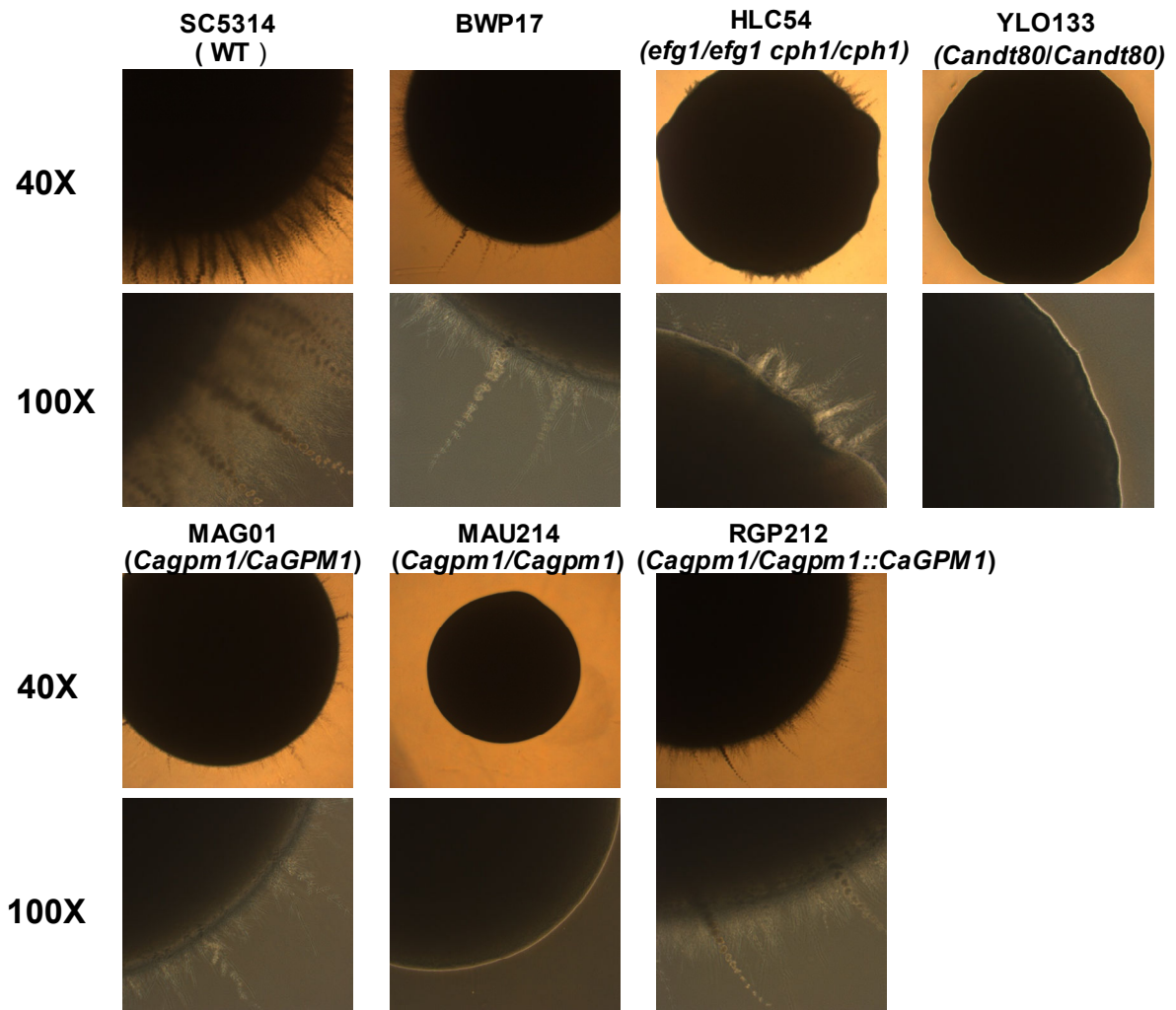
<A>





On YPGE/uridine agar 30°C

<C>

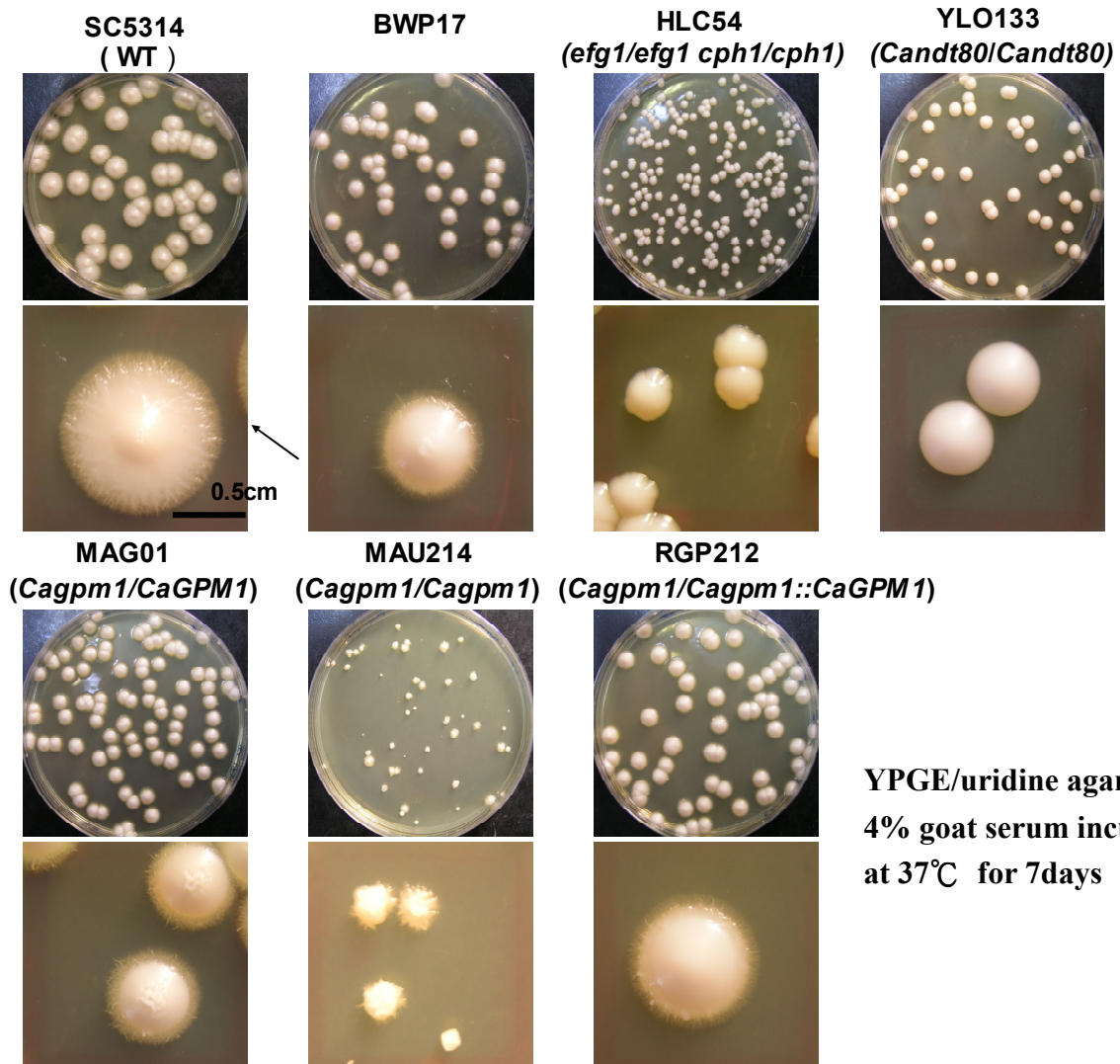


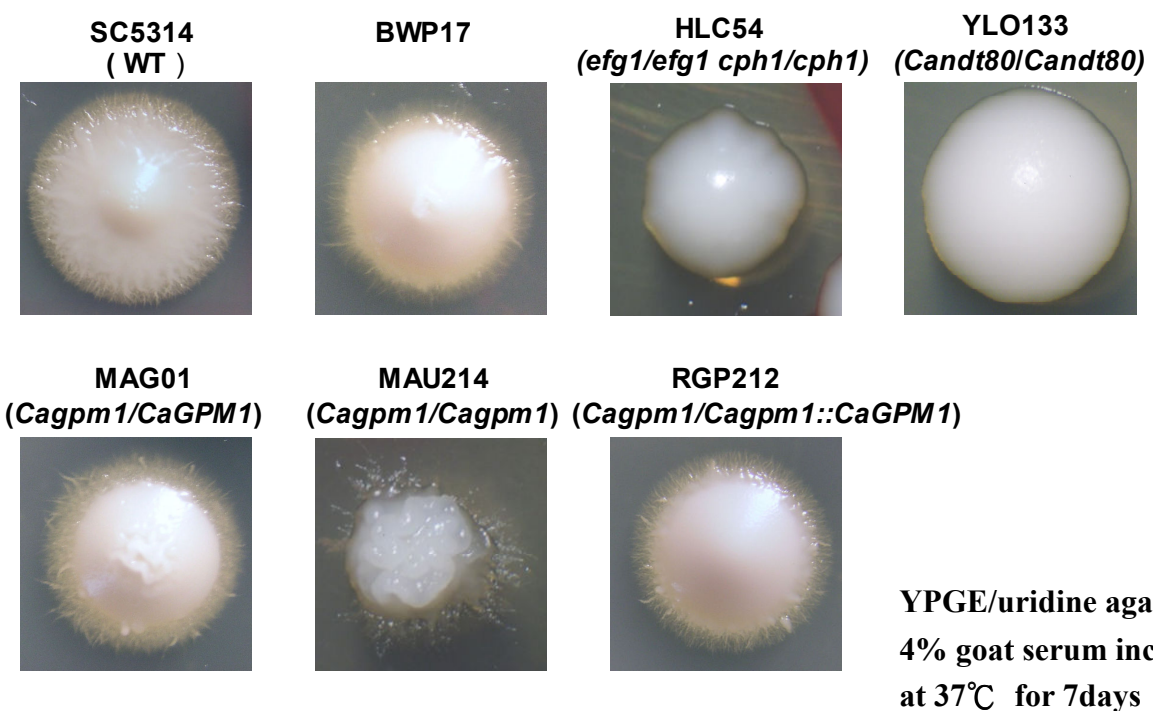
YPGE/uridine plate, 30°C, 5days

圖二十三、觀察 *CaGPM1* 突變株於 YPGE/uridine 固態培養基上單一菌落型態變化。

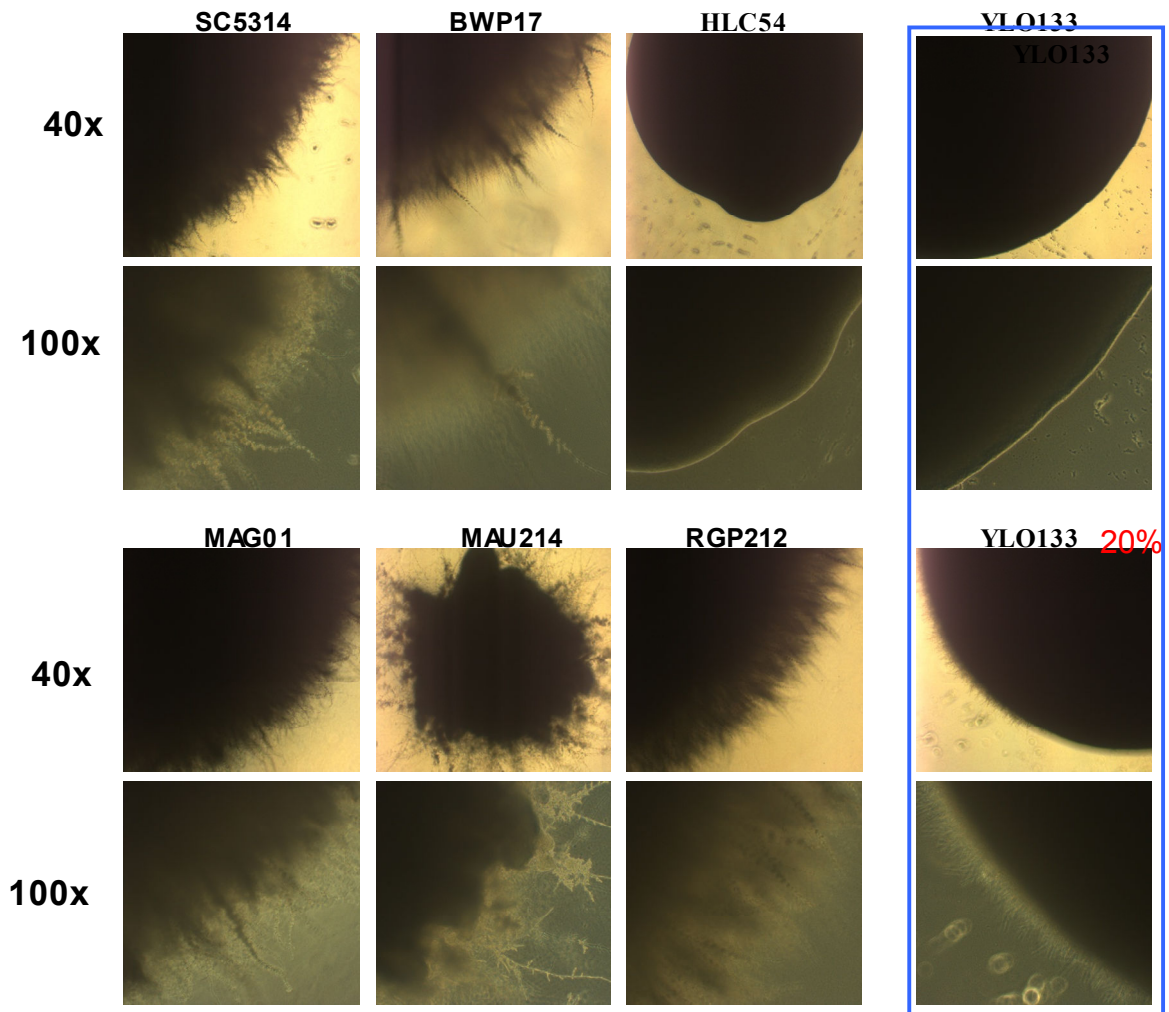
圖上方表示不同基因型之菌株。<A>全盤菌落分佈概況以及單一菌落大小觀察，箭頭所指為紅色方格線，每一個紅色方格面積為 2.25cm^2 。於實體顯微鏡下觀察菌落表面型態。<C>於倒立式顯微鏡 40X、100X (局部放大) 觀察菌落型態。SC5314、BWP17: Wild type; HLC54: *cph1/cph1 efg1/efg1*; YLO133: *Candt80/Candt80*; MAG01: *Cagpm1::ARG4/CaGPM1*; MAU214: *Cagpm1::ARG4/Cagpm1::URA3*; RGP212: *Cagpm1::ARG4/Cagpm1::URA3::CaGPM1-HIS1*。

<A> Colony Morphology on YPGE/uridine serum agar





<C>



YPGE/uridine agar with 4% goat serum incubate at 37°C for 7days

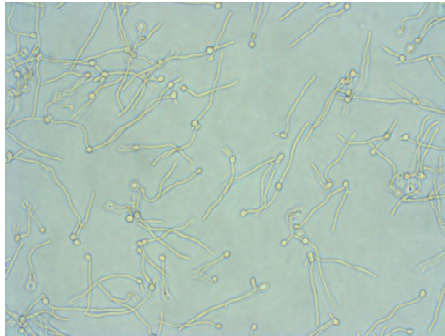
圖二十四、在含山羊血清的 YPGE/uridine 培

觀察單一菌落之型態，圖上方表示不同基因型之菌株。<A>全盤菌落分佈概況以及單一菌落大小觀察，箭頭所指為紅色方格線，每一個紅色方格面積為 2.25 cm^2 。單一菌落表面型態觀察。<C>於倒立式顯微鏡 40X、100X（局部放大）觀察菌落型態，其中 YLO133 有二種型態，百分比顯示此種性狀在培養基上所佔的比例。SC5314、BWP17: Wild type ; HLC54: *cph1/cph1 efg1/efg1*; YLO133: *Candt80/Candt80* ; MAG01: *Cagpm1::ARG4/CaGPM1* ; MAU214 :*Cagpm1::ARG4/ Cagpm1::URA3*; RGP212: *Cagpm1::ARG4/Cagpm1::URA3::CaGPM1-HIS1* 。

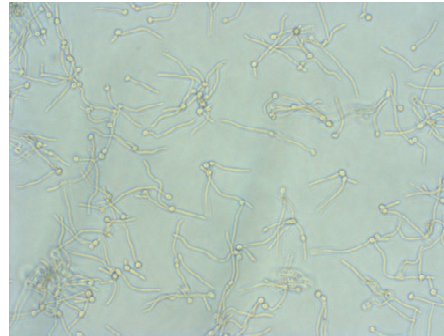
Germ tube assay

<A> YPGE/uridine broth with 10% goat serum incubate at 37°C for 4 hr.

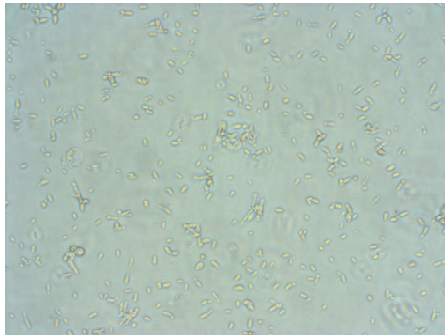
SC5314



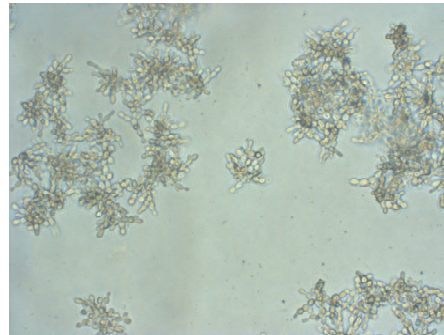
BWP17



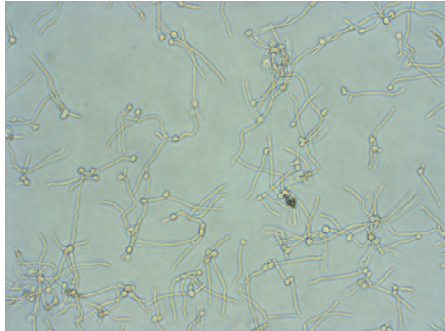
HLC54
(*efg1/efg1 cph1/cph1*)



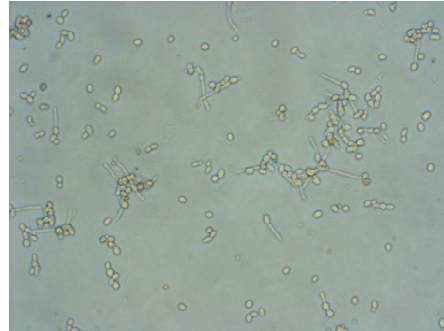
YLO133
(*Candt80/Candt80*)



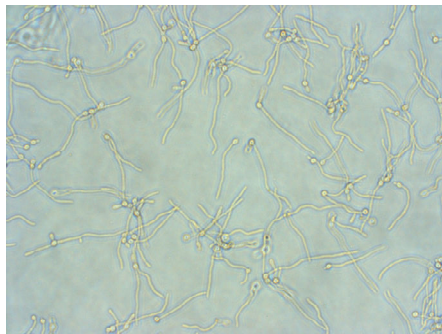
MAG01
(*Cagpm1::ARG4/CaGPM1*)



MAU214
(*Cagpm1::ARG4/Cagpm1::URA3*)

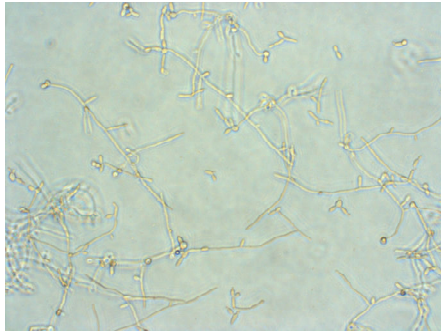


RGP212
(*Cagpm1::ARG4/Cagpm1::URA3::CaGPM1-HIS1*)

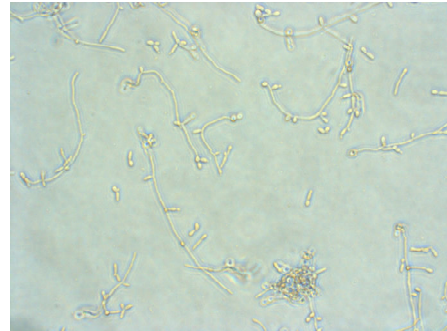


 YPGE/uridine broth with 10% goat serum incubate at 37°C for 8 hr.

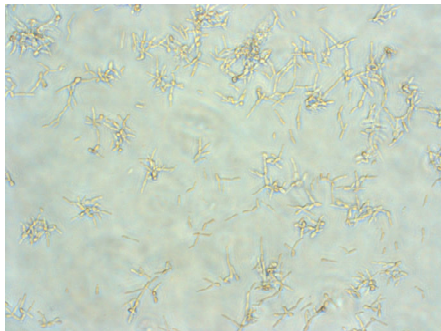
SC5314



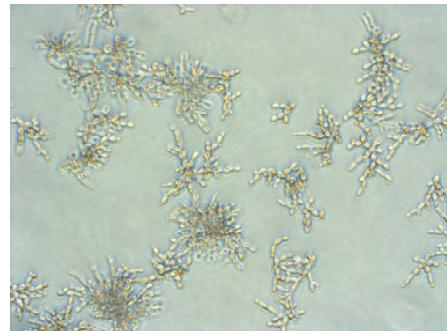
BWP17



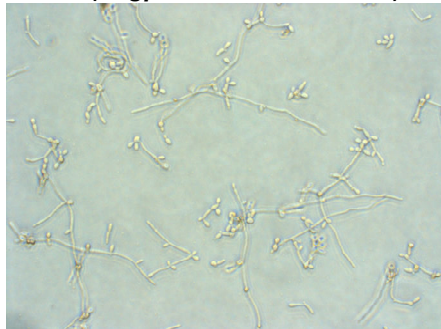
HLC54
(*efg1/efg1 cph1/cph1*)



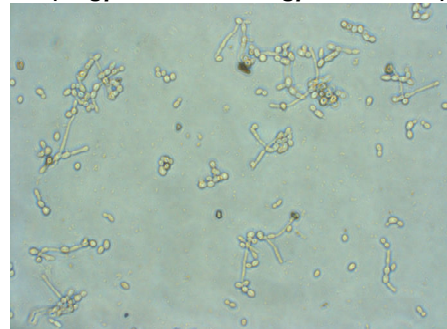
YLO133
(*Candt80/Candt80*)



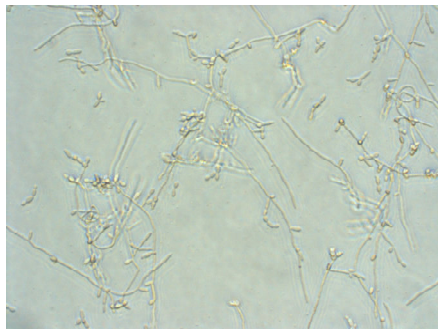
MAG01
(*Cagpm1::ARG4/CaGPM1*)



MAU214
(*Cagpm1::ARG4/Cagpm1::URA3*)

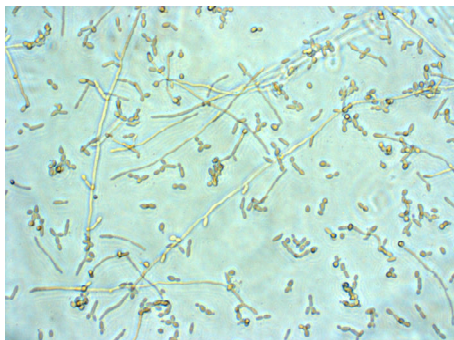


RGP212
(*Cagpm1::ARG4/Cagpm1::URA3::CaGPM1-HIS1*)

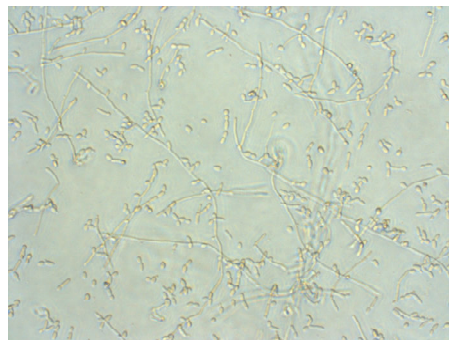


<C> YPGE/uridine broth with 10% goat serum incubate at 37°C for 16 hr.

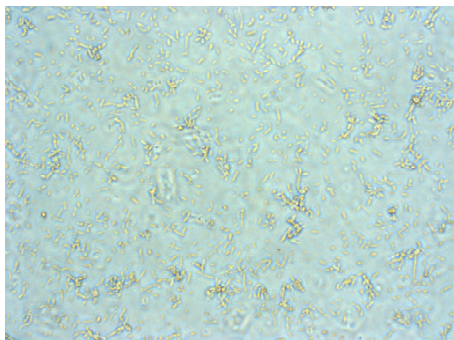
SC5314



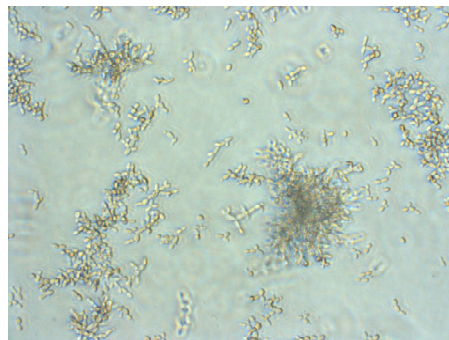
BWP17



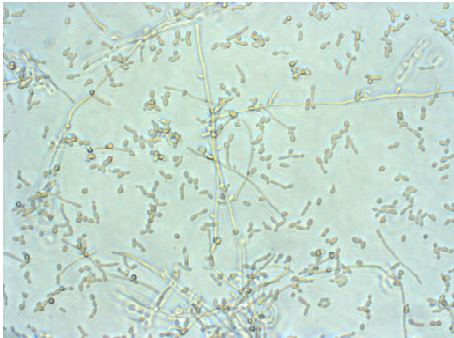
HLC54
(*efg1/efg1 cph1/cph1*)



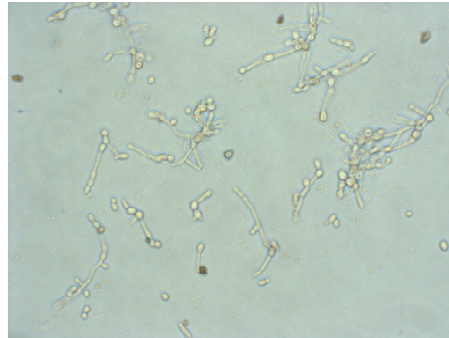
YLO133
(*Candt80/Candt80*)



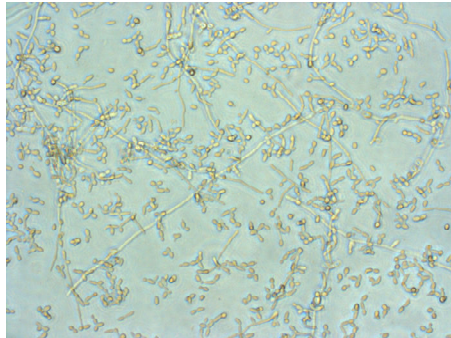
MAG01
(*Cagpm1::ARG4/CaGPM1*)



MAU214
(*Cagpm1::ARG4/Cagpm1::URA3*)



RGP212
(*Cagpm1::ARG4/Cagpm1::URA3::CaGPM1-HIS1*)

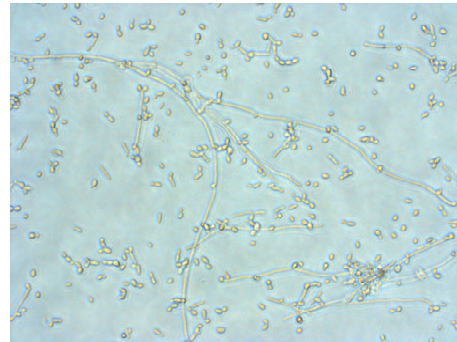


<D> YPGE/uridine broth with 10 % goat serum incubate at 37°C for 32 hr.

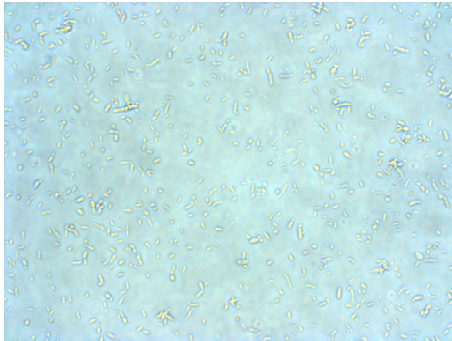
SC5314



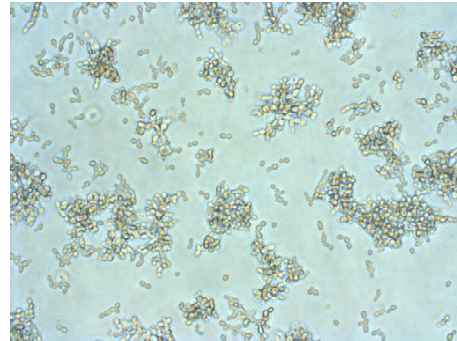
BWP17



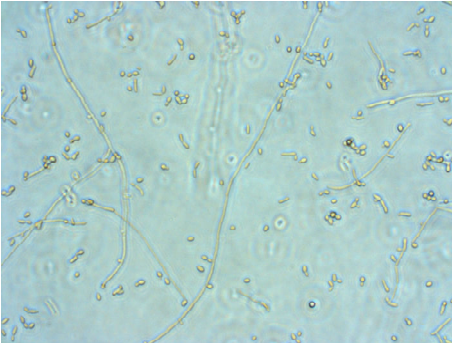
HLC54
(*efg1/efg1 cph1/cph1*)



YLO133
(*Candt80/Candt80*)



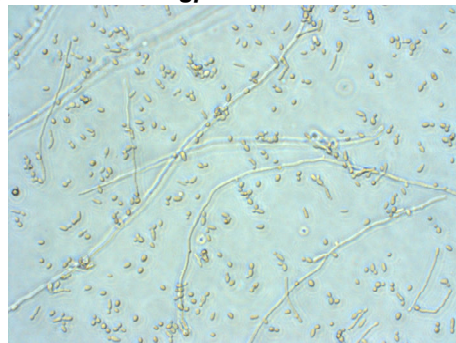
MAG01
(*Cagpm1::ARG4/CaGPM1*)



MAU214
(*Cagpm1::ARG4/Cagpm1::URA3*)



RGP212
(*Cagpm1::ARG4/Cagpm1::URA3::CaGPM1-HIS1*)



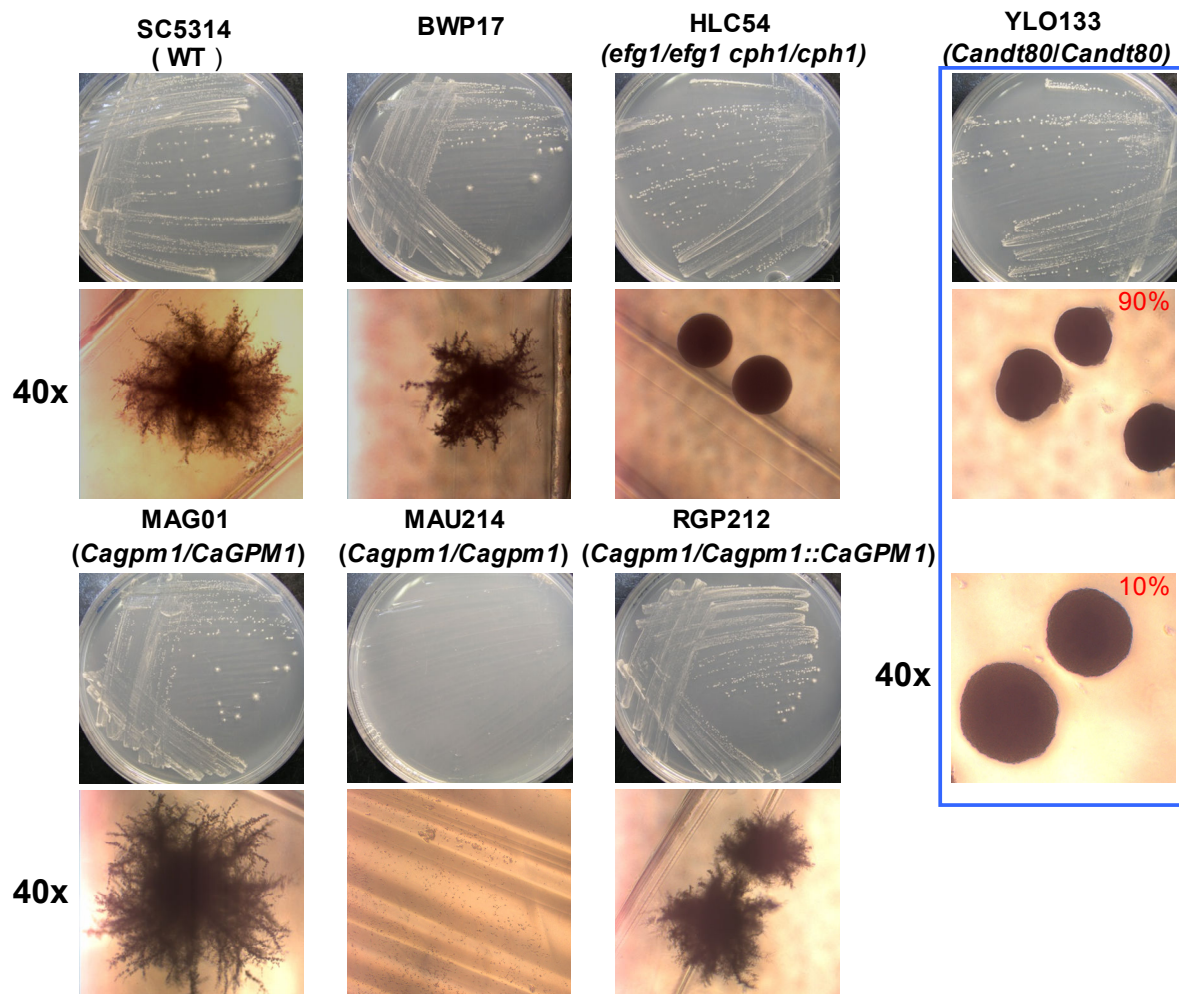
圖二十五、在含山羊血清之 YPGE/uridine 培養液之生長。

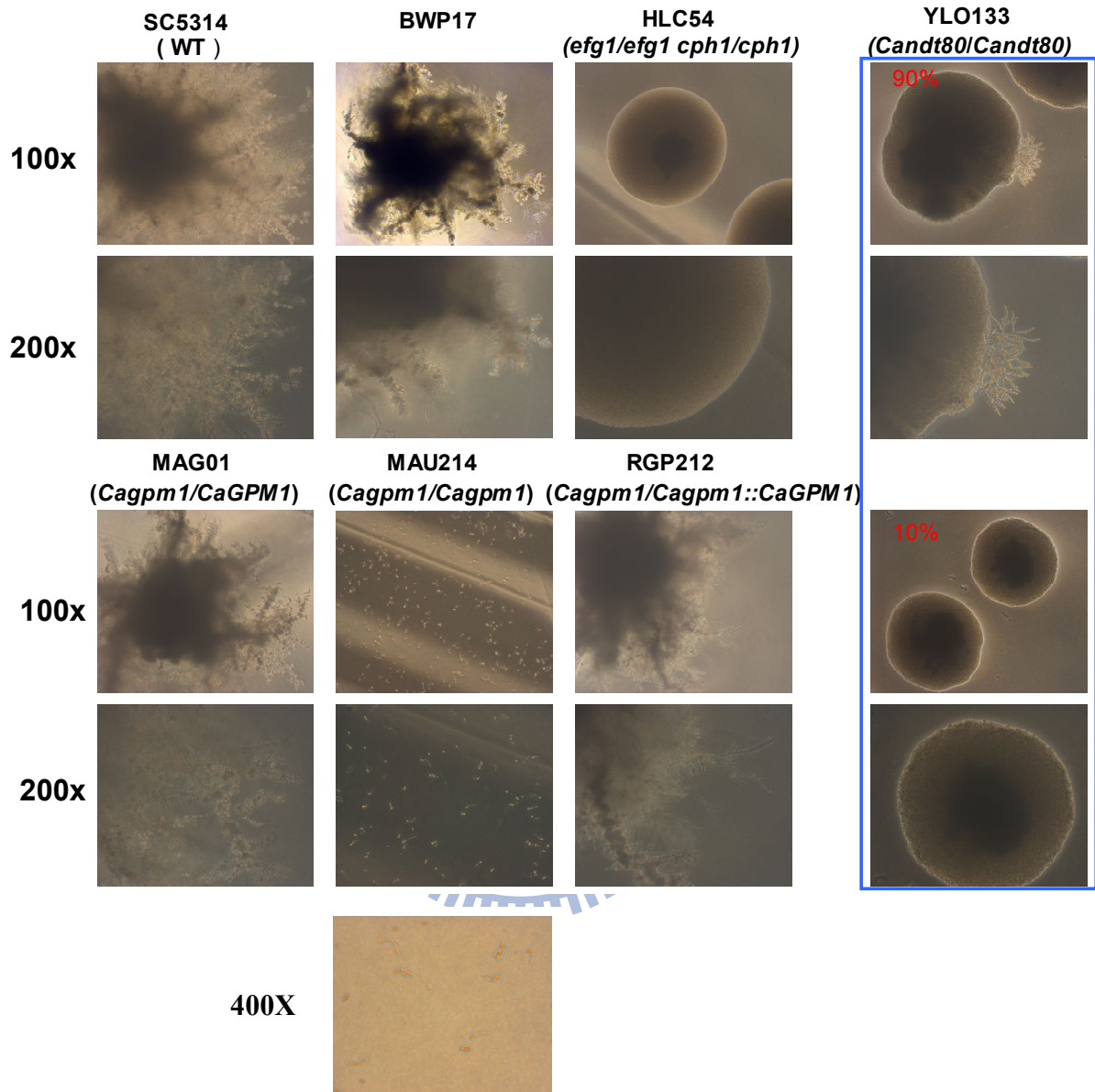
圖上方表示不同基因型之菌株。以 SC5314、BWP17、HLC54、YLO133 作為正負對照，將菌落接種於含 10% 山羊血清之 YPGE/uridine 培養液中，於 37°C 反應，4 小時、8 小時、16 小時、32 小時於倒立顯微鏡下（400 X）觀察 *CaGPM1* 突變株芽管生長與否及菌絲之形態。<A>芽管試驗 (germ tube assay)，反應 4 小時，觀察芽管生長與否。反應 8 小時，觀察菌株形態。<C>反應 16 小時，長菌絲是否生成<D>反應 32 小時，觀察長菌絲形態。



Colony Morphology on Bacto serum agar

<A>



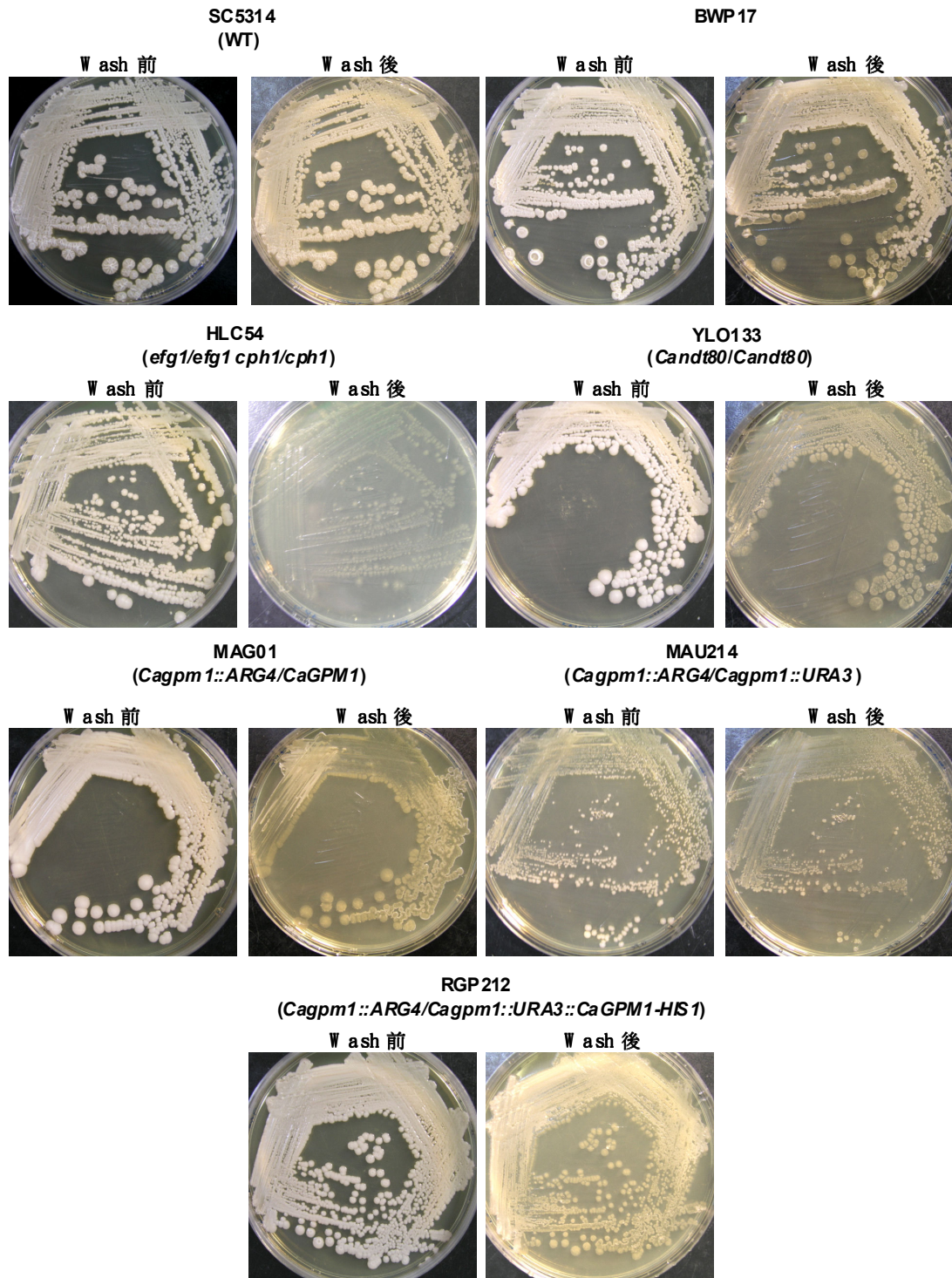


圖二十六、在含山羊血清的 Bacto agar 培養基之菌落形態。

圖上方表示不同基因型之菌株，將菌落培養在含 4% 山羊血清之 2% Bacto agar 另外添加 arginine、uridine、histidine 營養素，置於 37°C 培養七天。

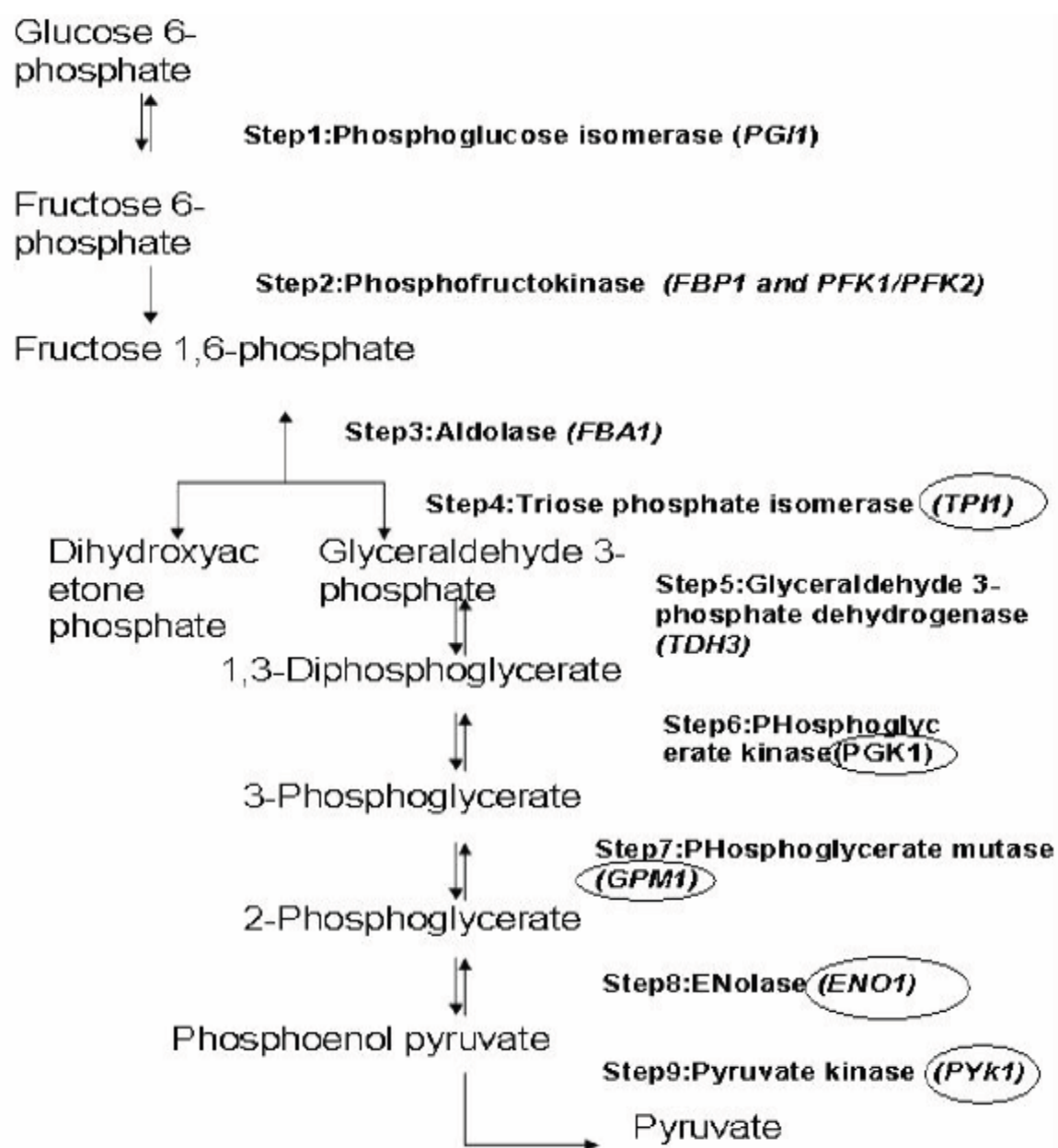
<A>為全盤菌落分佈概觀以及單一菌落在倒立式顯微鏡下 40 X 觀察菌落型態，於倒立式顯微鏡 100 X、200 X、400 X (局部放大) 觀察菌落型態，其中 YL0133 有二種型態，百分比顯示此種性狀在培養基上所佔的比例。

In Solid Spider medium 37°C

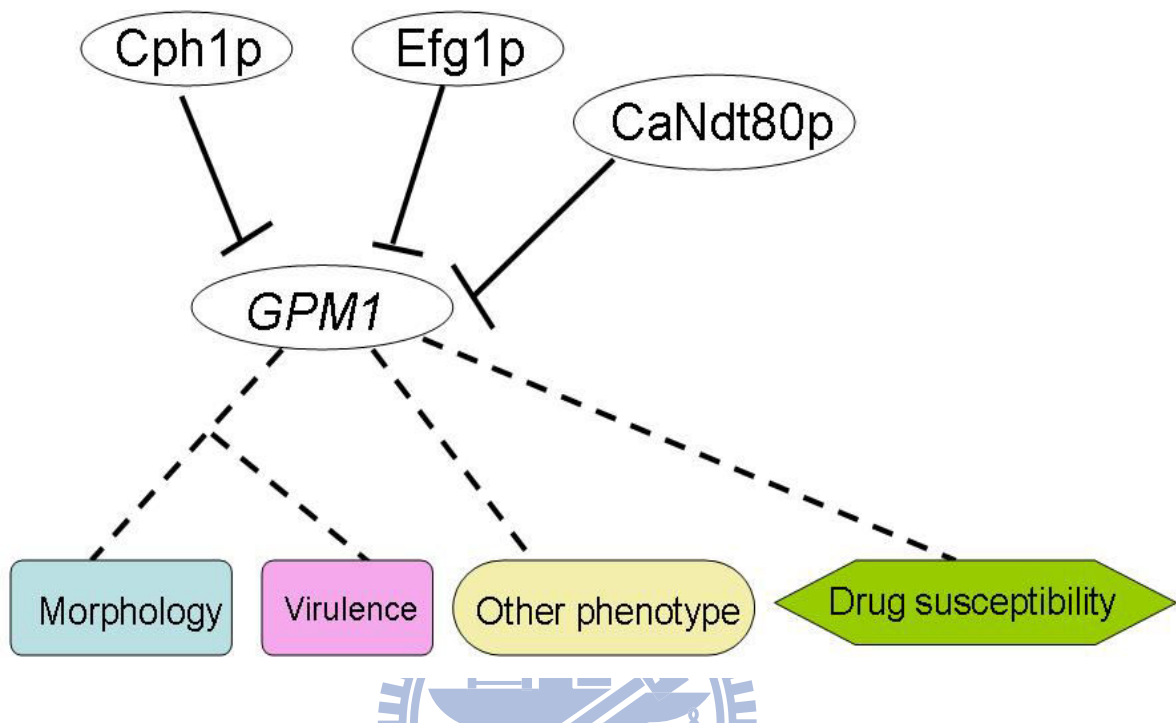


圖二十七、在 Solid Spider 培養基上進行侵犯力試驗(invasion assay)。

圖上方表示不同基因型之菌株，接種在 solid spider 培養基中，37°C 培養七天所得結果，培養基中額外添加營養素 arginine、uridine、histidine，以 SC5314、BWP17、HLC54 作為正負對照，Wash 前為未沖洗時，Wash 後為水流沖洗後之結果。



附圖一、白色念珠菌醣解作用。(陳杏芳，2004)

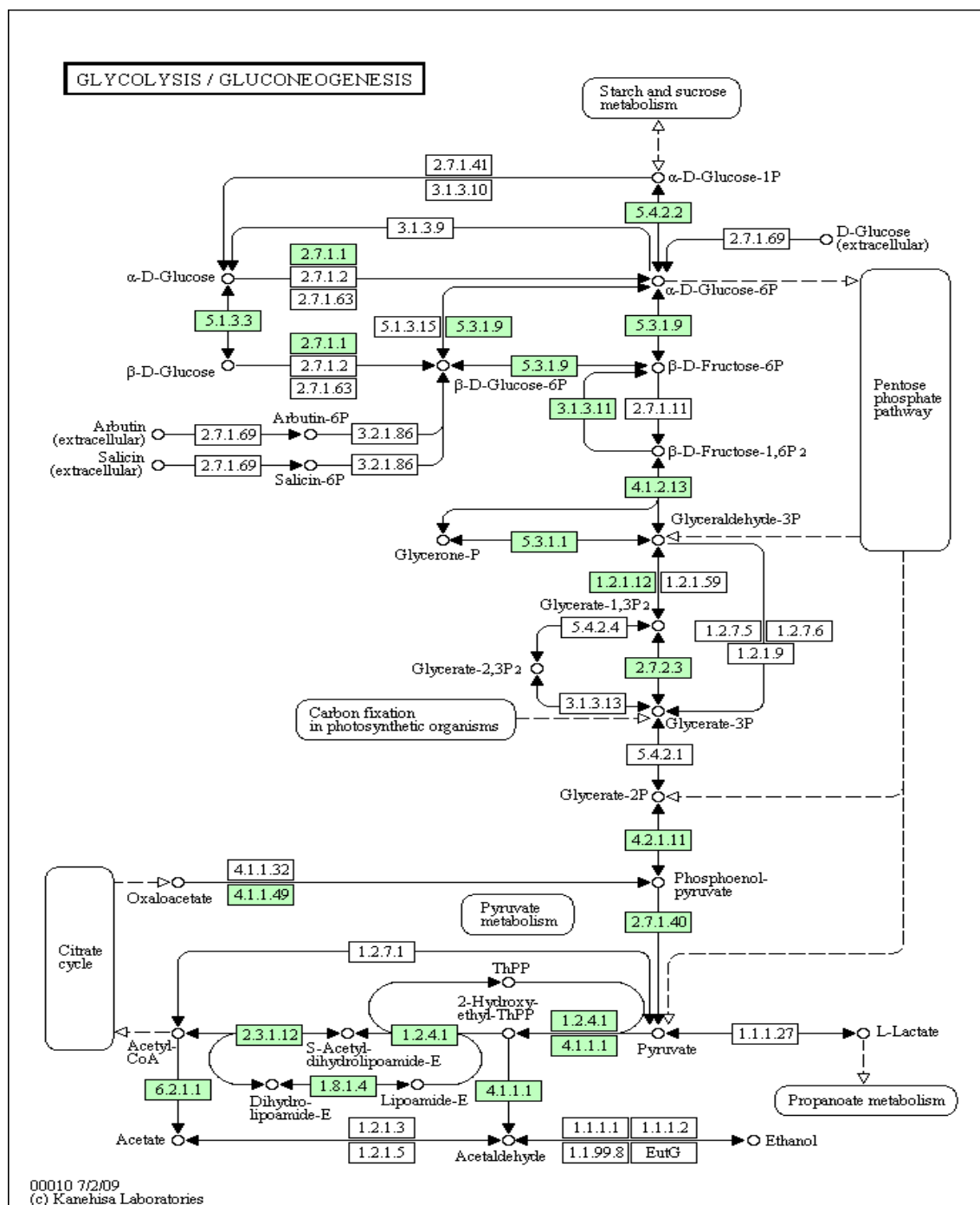


醣解酵素基因 *GPM1* 可能調控性狀改變之途徑示意圖

—| 表示 <down regulate>；—> 表示<up regulate>；未標示—> 或 —| 者表不明；--- 表示無影響；虛線表示可能的影響性狀；綠色線條表示 *CaNDT80* 所調控下影響抗藥性的獨立途徑。

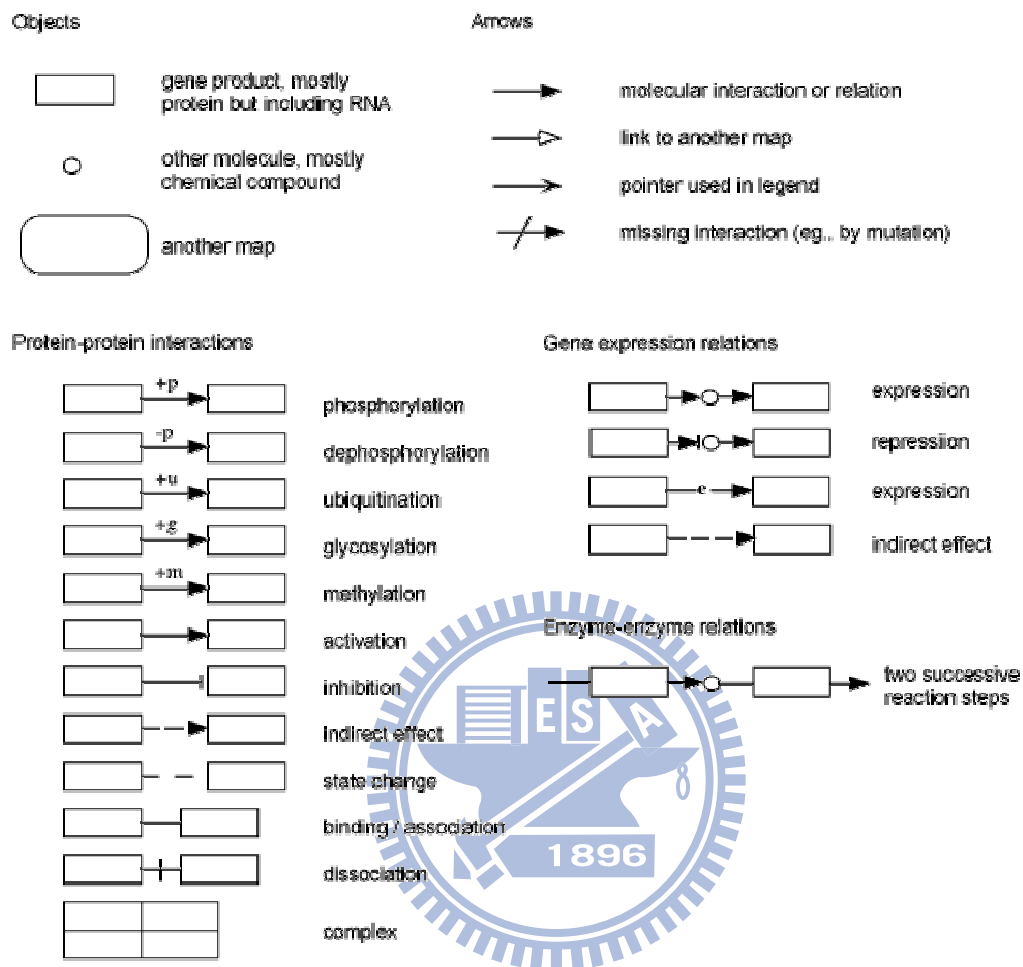
附圖二、根據北方墨點法分析 (Northern blot analysis)，推測醣解酵素基因 *GPM1* 可能調控性狀改變之途徑示意圖。(蕭婷尹，2006)

<A>



PGII[EC:[5.3.1.9](#)] , FBP1 [EC:[3.1.3.11](#)] , FBA1 [EC:[4.1.2.13](#)] , TPI1 [EC:[5.3.1.1](#)]
 TDH1 [EC:[1.2.1.12](#)] , PGK1 [EC:[2.7.2.3](#)] , ENO1 [EC:[4.2.1.11](#)] , GPM1 [EC:[5.4.2.1](#)]

 符號代表



Color coding :

- In organism-specific pathways green boxes are hyperlinked to the corresponding GENES entry, indicating the presence of genes in the genome and also the completeness of the pathway.
- For a historical reason, white boxes with EC numbers inside have hyperlinks in a metabolic pathway. In "Reference pathway (EC)" white boxes are hyperlinked to the corresponding ENZYME entry. In "Reference pathway (Reaction)", white boxes are hyperlinked to the corresponding REACTION entry.

附圖三、白色念珠菌醣解及醣質新生作用途徑(KEGG PATHWAY Database ,

http://www.genome.jp/dbget-bin/get_pathway?org_name=cal&mapno=00010) 。

個人簡歷

姓 名	李淑萍	英文姓名 (姓氏在前)	Li Shu-Ping	性別	女
學 歷					
學校名稱	系 所 科 別		教育程度		
國立交通大學	生物科技系暨研究所		碩士		
國立交通大學	科技管理所		肄業		
國立高雄海洋 科技大學	海洋生物科技系		學士		
國立虎尾高中	第三類組		高中		
工 作 經 驗					
公 司 名 稱	職 稱	起 迄 時 間	工 作 內 容		
2009 高雄世界 運動會	志工	2005-2009	學習到與各式不同類型的人相處、溝通		
國立交通大學 音學所	工讀生	2008-2009	文書處理、接待工作、行政工作。		
國立交通大學 生物科技系	工讀生	200709-200801	文書處理、接待工作、行政工作。		
家教	老師	2006-2007	教授國小四、五年級 數學、自然、社會，學習到如何引導不願意學習的小朋友，對學業上有興趣。		
生物科技生活 營	總召、助 教	2003-2004	設計實驗、準備實驗材料、管理助教群、實驗時間的控制、教導小朋友做實驗。		
社 團 參 與					
社 團 名 稱	職 稱	年 級			
藍鯨志工社	活動長/組員	大學二、三年級			
系籃球隊	球隊經理	大學二年級			
國樂社	團員	大學一年級			
活 動 表 現					
分類	活動名稱	職稱/名次	起迄時間		
創業競賽	宏基基金會第四屆龍騰微笑競賽	組員/進決賽	200905-200909		
	台灣工業銀行第十屆 WeWin 創業大賽	組員/第三名	200902-200904		
外語活動	歡樂英語列車營 English in Action(文藻外語學院)	學員	20050801~20050805		

	國立高雄大學 德文基礎班	學員	200509~200511
運動表現	九十二年度全校運動大會 學生女子組二百公尺	第一名	20031122
	校內女子籃球比賽	第三名	2002
獎學金			
獎學金名稱		年份	職稱
財團法人宗倬章先生教育基金會		2004	受獎者
財團法人張雲岡雀慈善事業基金會 清寒優秀獎學金		2004	受獎者
財團法人宋映潭先生文教基金會獎學金		2005	受獎者
台灣銀行獎學金		2003	受獎者
校內獎學金		2003-2006	受獎者
專長			
電腦應用	中文打字 60~80/分、英文打字 80~100/分、PowerPoint、Excel、Word		
專業技術或證照	熟識分子生物、具 molecular cloning、northern blot、southern blot		
語文能力 (英、日等)	英文聽說讀寫略懂。		
其他	中文聽說讀寫精通。 台語精通。		
專題或論文名稱			
白色念珠菌 <i>CaGPM1</i> 醣解酵素基因對細胞型態及抗藥性之影響- The involvement of the glycolytic pathway gene, <i>CaGPM1</i> , in the morphology and drug resistance in <i>Candida albicans</i> .			
美麗海葵 Rab3 蛋白參與共生小體外釋作用研究-ApRab3 Protein Purification & Western Blot 檢測			