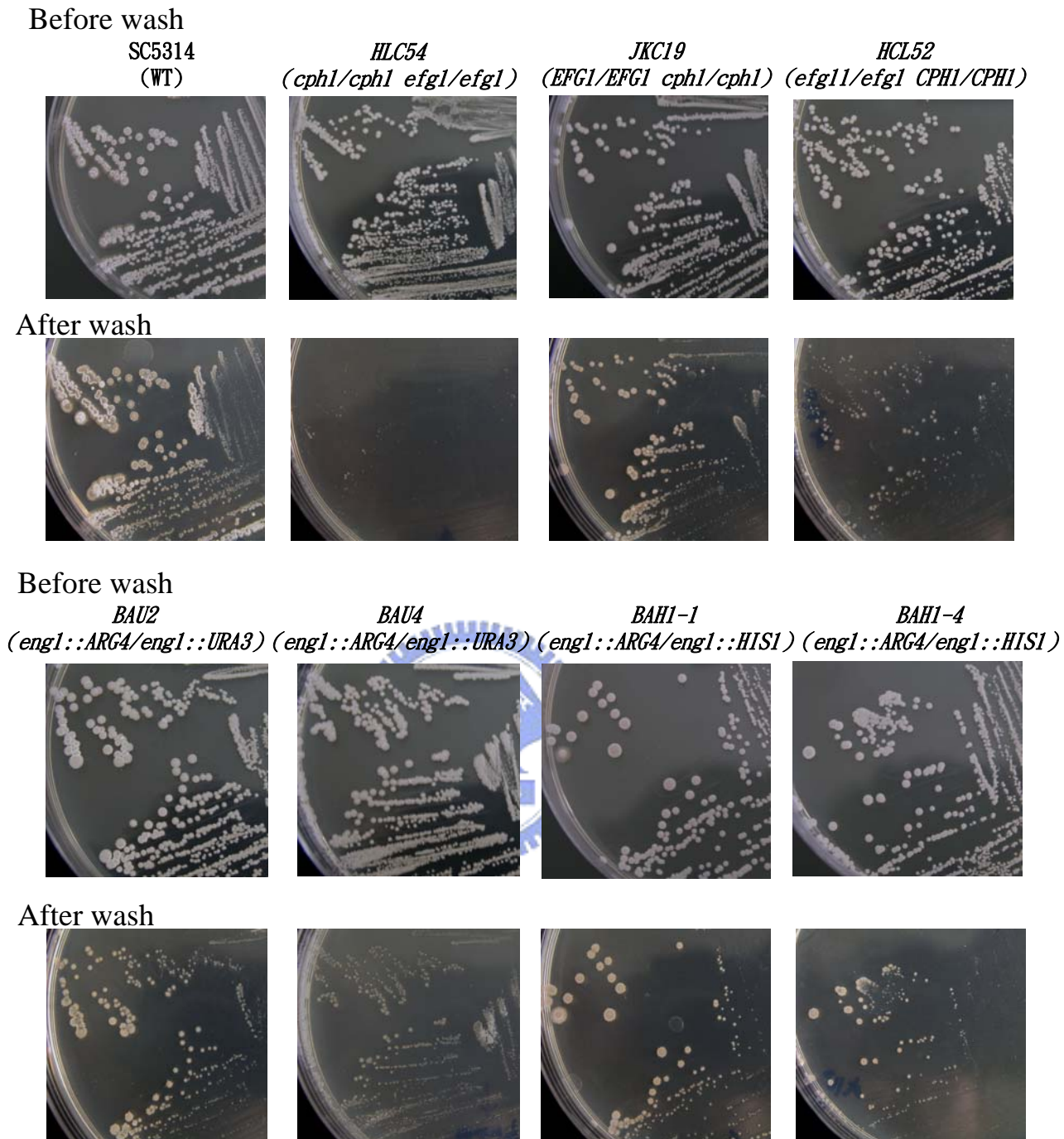


# Invasion assay

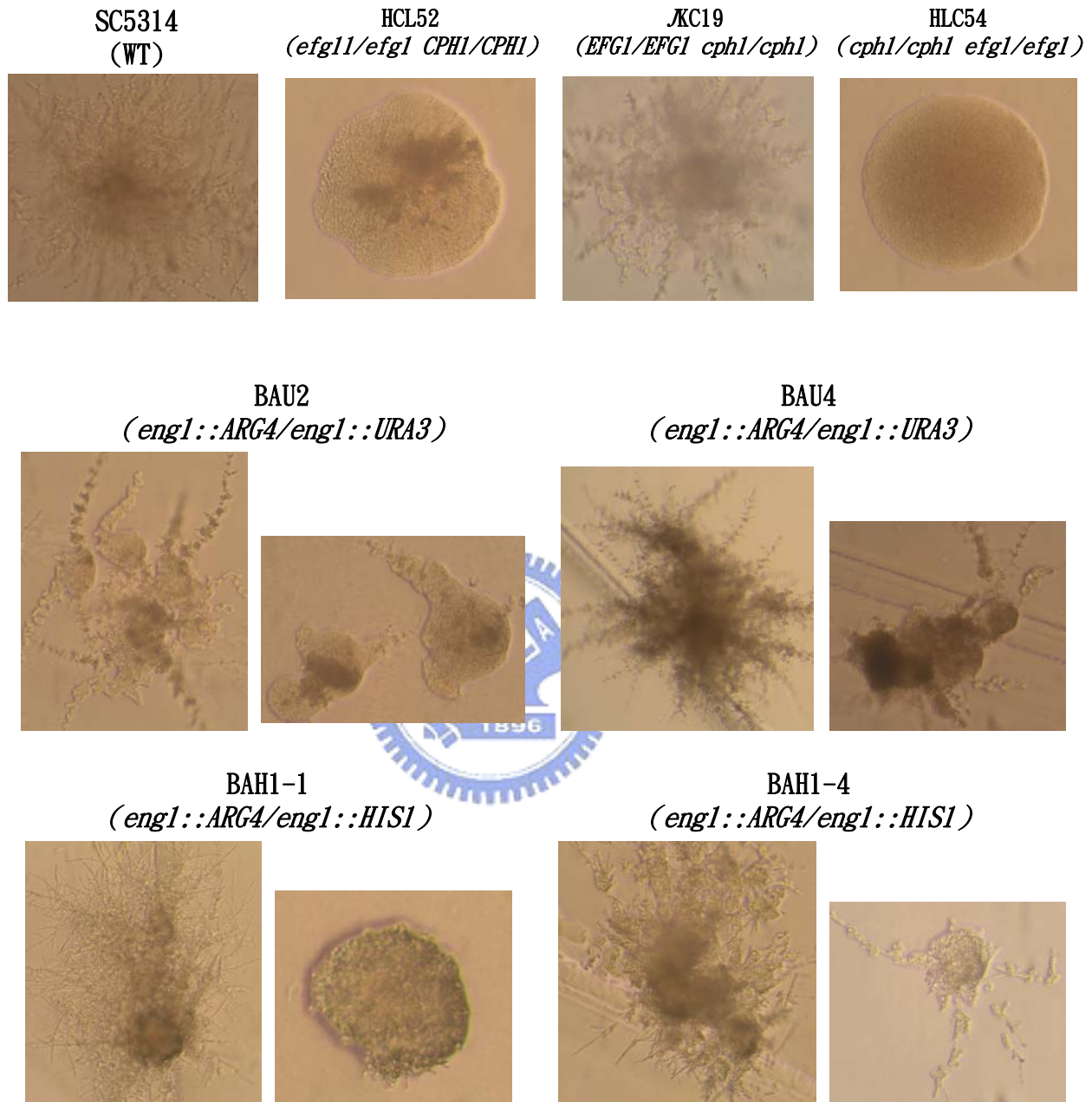


圖十三、侵犯力試驗 (Invasion assay)

圖上方表示不同的基因破壞株，以野生株SC5314、突變株 *JKC19*、*HCL52*、*HLC54* (*cph1/cph1 efg1/efg1*) 作正負對照。接種在37°C的solid spider培養基中，培養7天所得到的培養基，經過固定水流沖洗前後各菌株分部的情形。上排圖示為沖水前菌株分部情況，下排圖示為沖水後尚吸附於培養基之菌株分部情況。培養基皆未加入其它營養源。

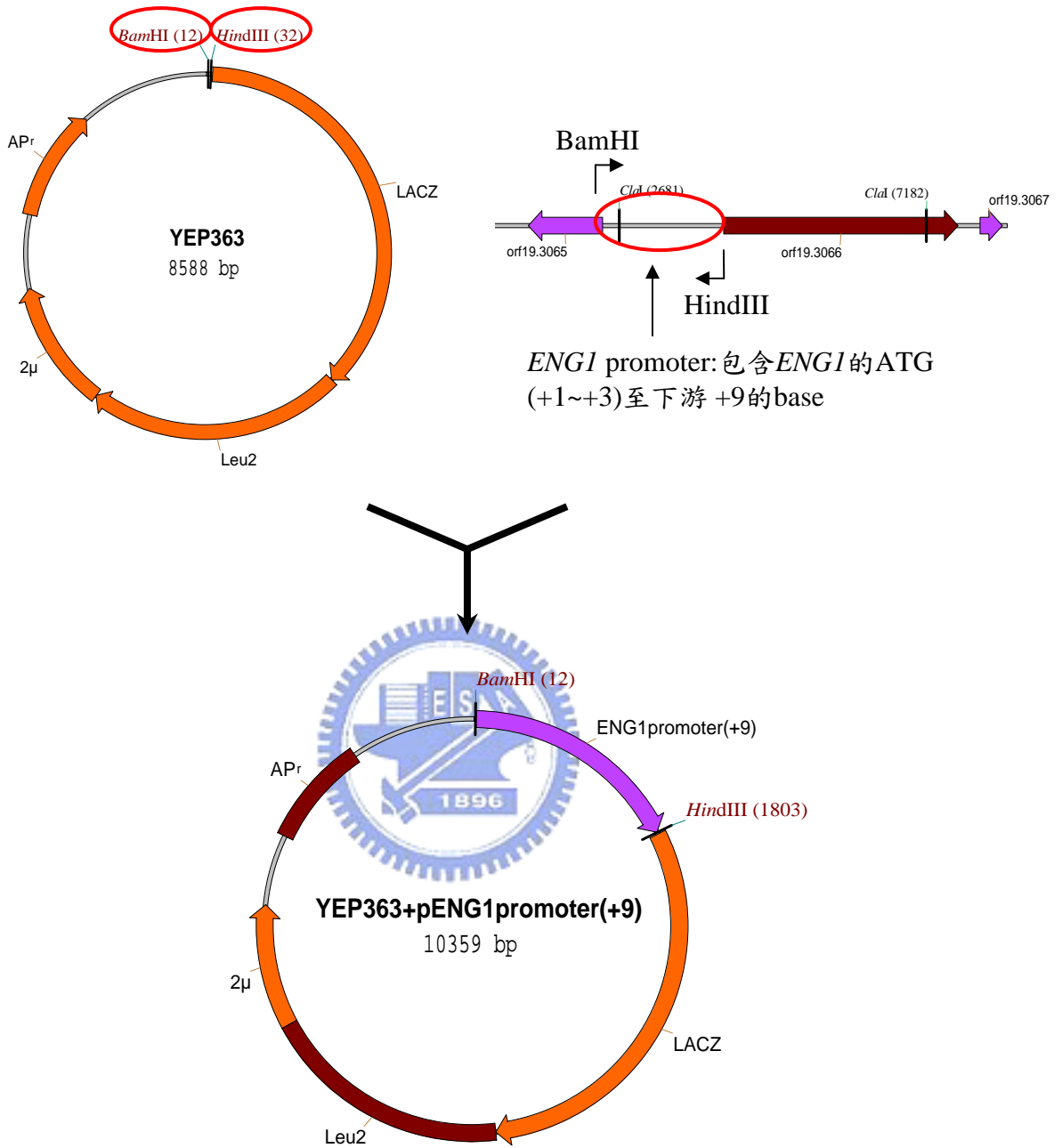
# Colony morphology on bacto agar with serum

Bacto agar with  
4% serum

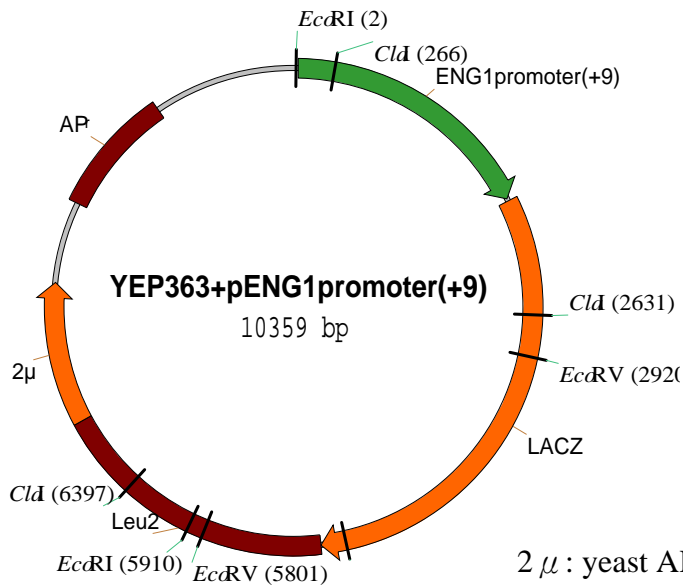


圖十四、各種突變株在Bacto agar培養基上的生長型態

圖上方表示不同的基因破壞株，以野生株SC5314、突變株JKC19 (*EFG1/EFG1 cph1/cph1*)、HCL52 (*efg1/efg1 CPH1/CPH1*)、HLC54 (*cph1/cph1 efg1/efg1*) 作正負對照，在37°C有加血清的 bacto agar培養基中，培養七天後，在倒立式顯微鏡下所得到之結果。培養基皆未加入其它營養源。



圖十五、Construction of pCHEO1  
 2  $\mu$  : yeast ARS  
 LACZ : *lacZ* reporter gene  
 Leu2 : *LEU2* gene  
 APr : ampicillin resistance

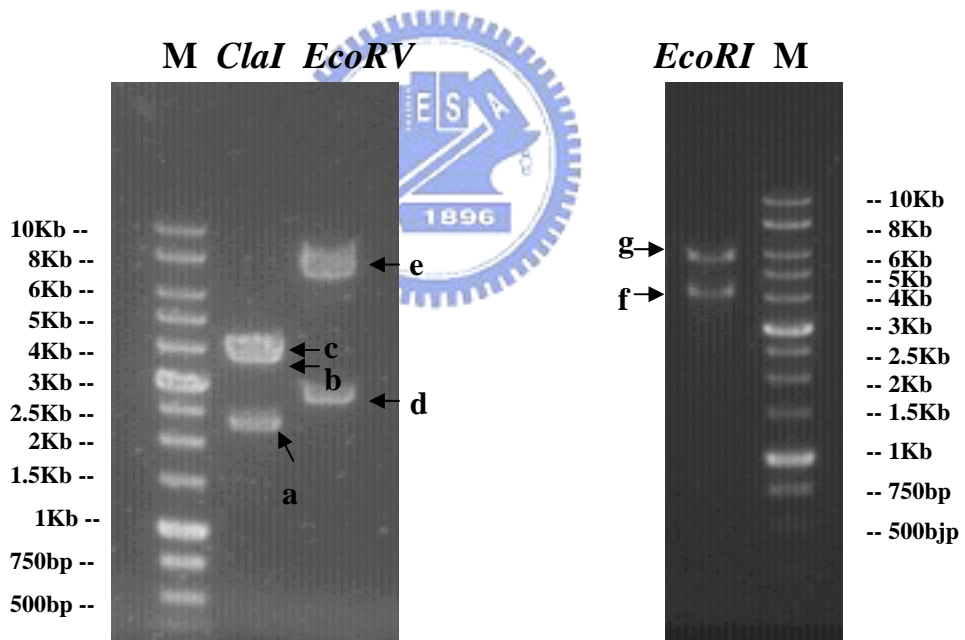


2  $\mu$  : yeast ARS

LACZ : *lacZ* reporter gene

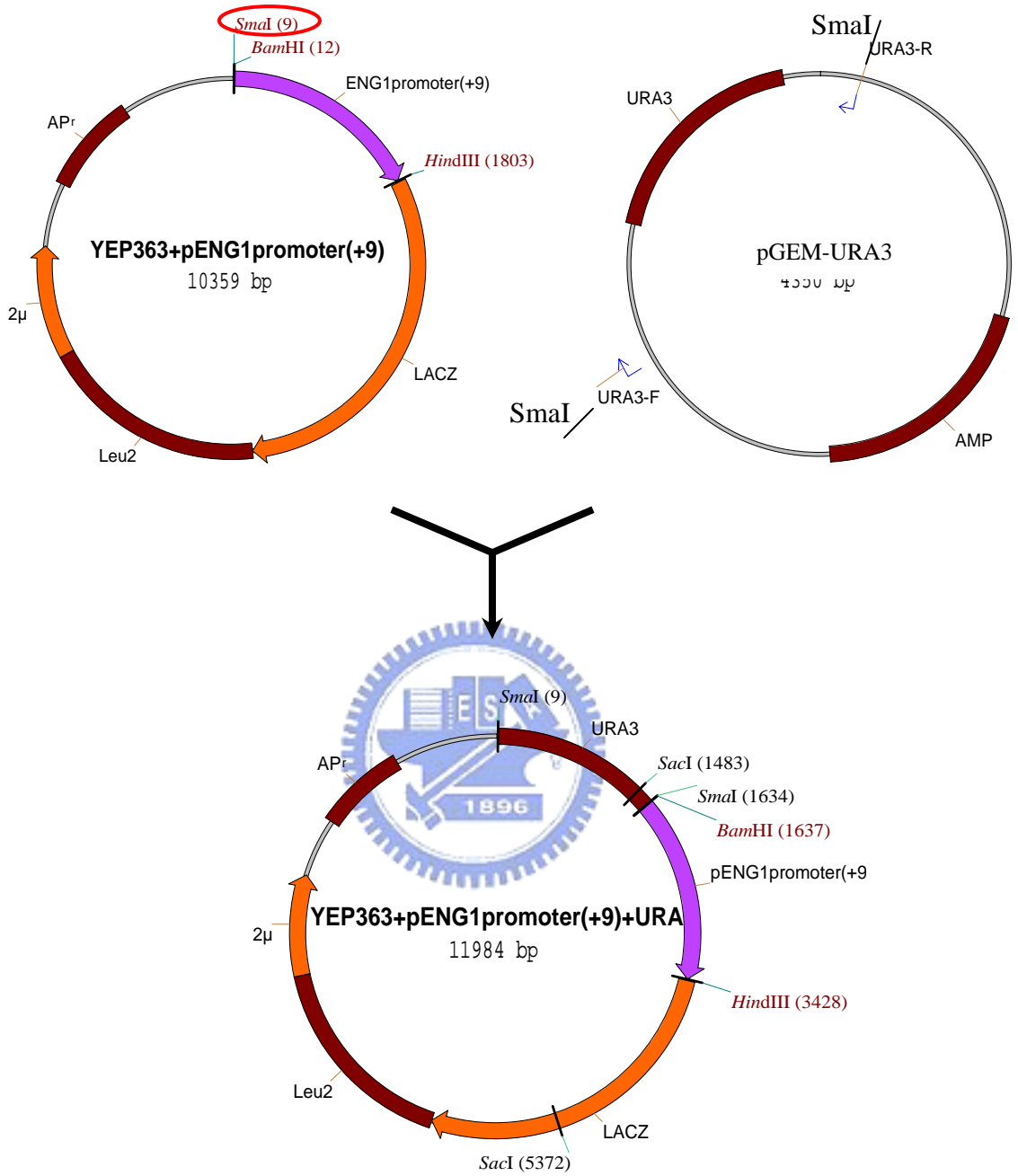
Leu2 : *LEU2* gene

APr : ampicillin resistance



圖十六、以限制酶檢驗質體pCHEO1

質體pCHEO1利用限制酶 *ClaI*作用後預期可得2.3 Kb、3.7 Kb、4.2 Kb的DNA片段 (band a & b & c, band b & band c大小過於接近較難分辨)；經限制酶 *EcoRV*作用後預期可得4.4 Kb、5.9 Kb的DNA片段 (band d & e)；經限制酶 *EcoRI*作用後預期可得7.4 Kb、2.9 Kb的DNA片段 (band f & g)。Lane M表示 marker。



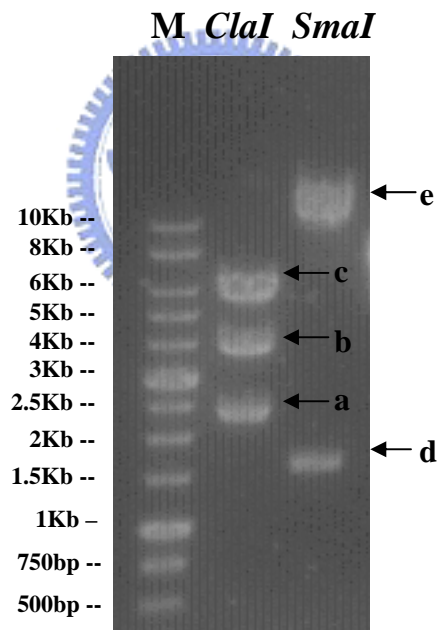
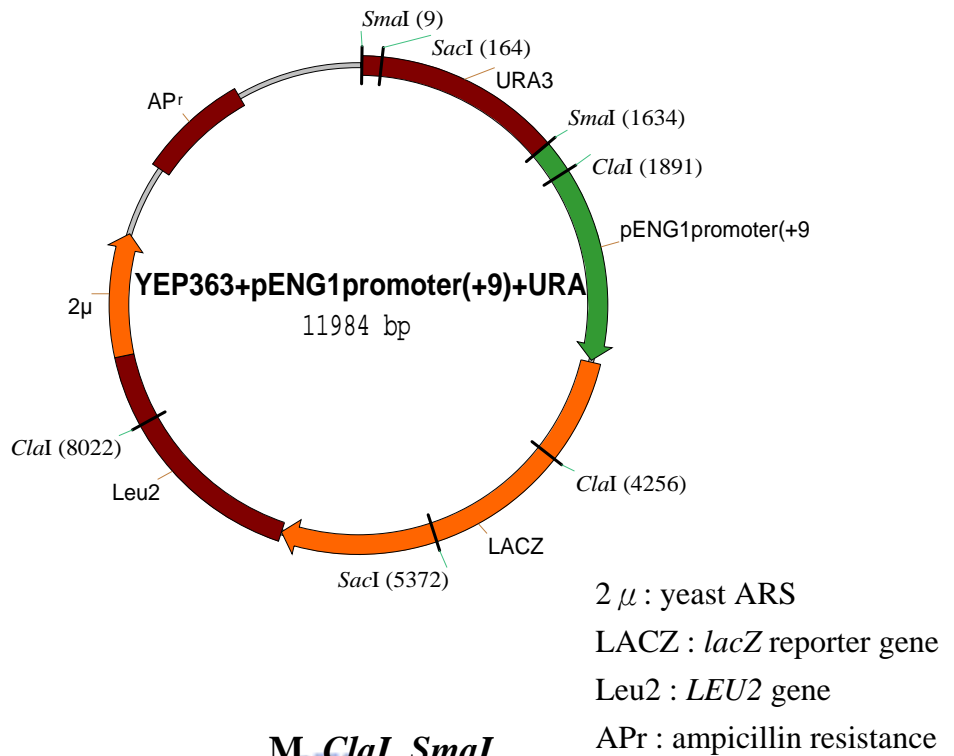
圖十七、Construction of pCHEO1U

$2\mu$  : yeast ARS

LACZ : *lacZ* reporter gene

Leu2 : *LEU2* gene

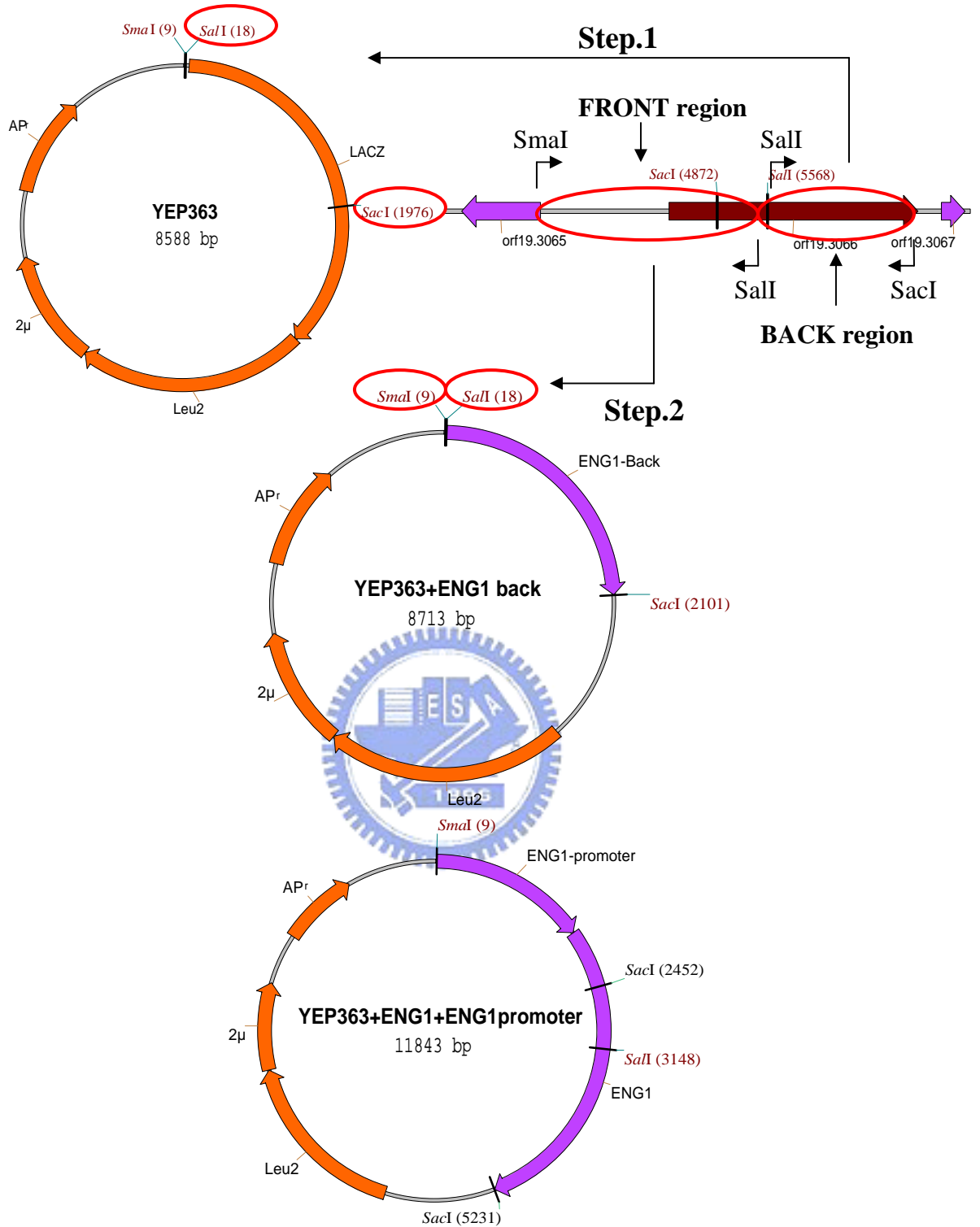
APr : ampicillin resistance



圖十八、以限制酶檢驗質體pCHEO1U

質體pCHEO1U利用限制酶 *SmaI*作用後預期應可得1.7 Kb、10.2 Kb的DNA片段 (band d & band e)；經限制酶 *ClaI*作用後預期可得2.3 Kb、3.8 Kb和5.9 Kb的DNA片段 (band a & band b & band c)。Lane M表示marker。





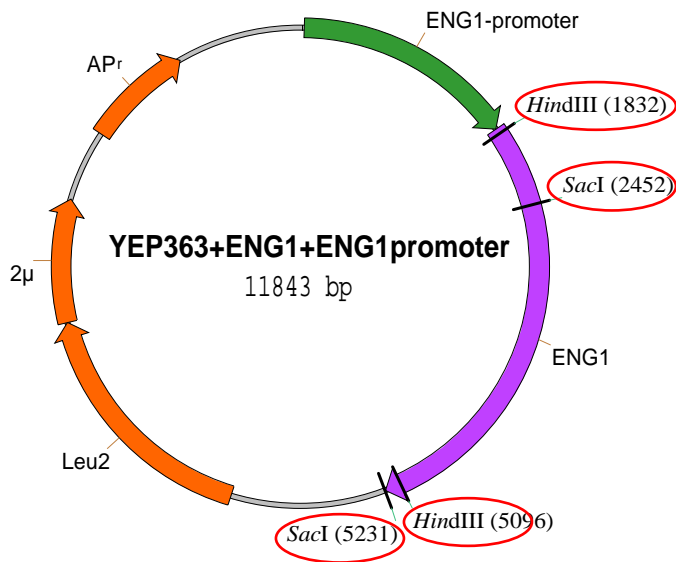
圖十九、Construction of pCHEOE2

$2\mu$  : yeast ARS

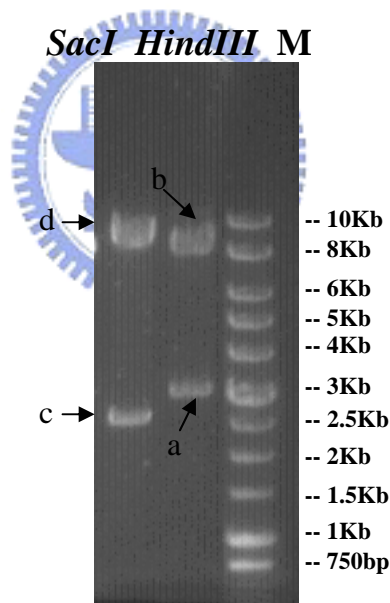
LACZ : *lacZ* reporter gene

Leu2 : *LEU2* gene

APr : ampicillin resistance



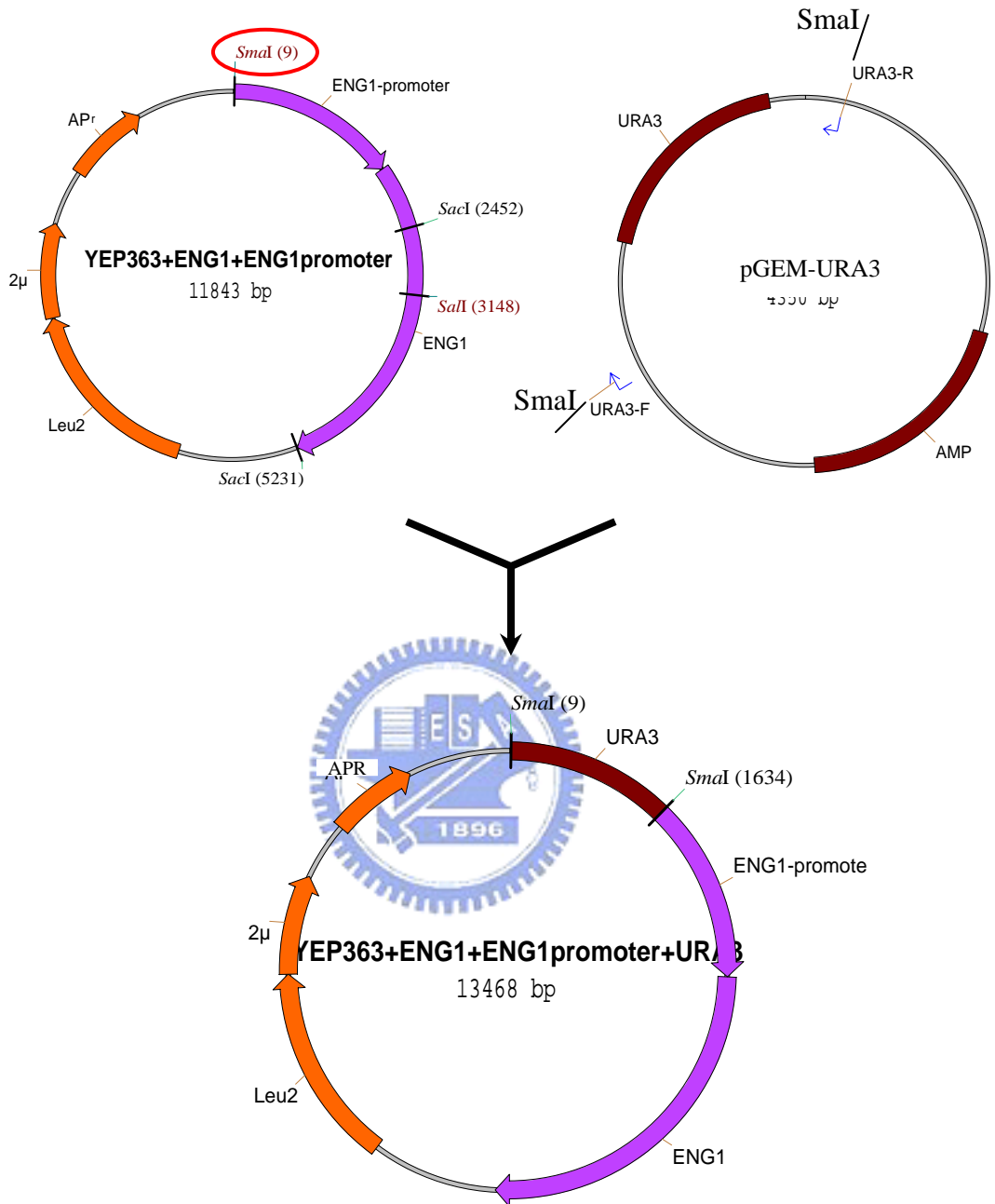
$2\mu$  : yeast ARS  
 LACZ : *lacZ* reporter gene  
 Leu2 : *LEU2* gene  
 APr : ampicillin resistance



圖二十、以限制酶檢驗質體pCHEOE2

質體pCHEOE2利用限制酶 *SacI*的作用後預期應可得 2.8 Kb和9 Kb的DNA片段 (band c & band d)；在限制酶 *HindIII*作用後預期應可得3.2 Kb和8.6 Kb的DNA片段 (band a & band b)。Lane M表示marker。





圖二十一、Construction of pCHEOE2U

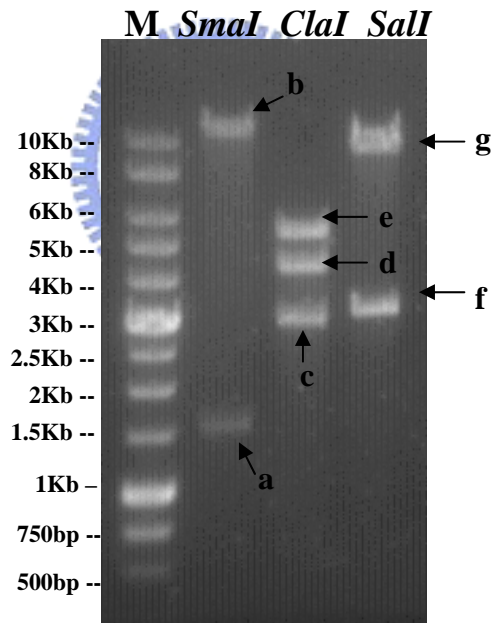
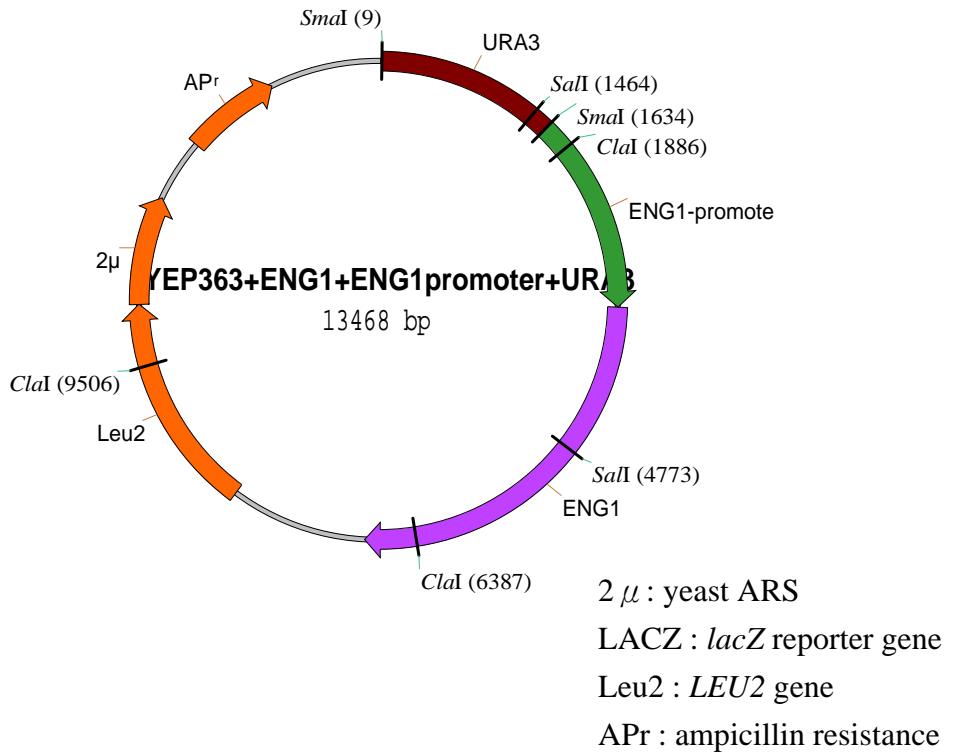
$2\mu$  : yeast ARS

LACZ : *lacZ* reporter gene

Leu2 : *LEU2* gene

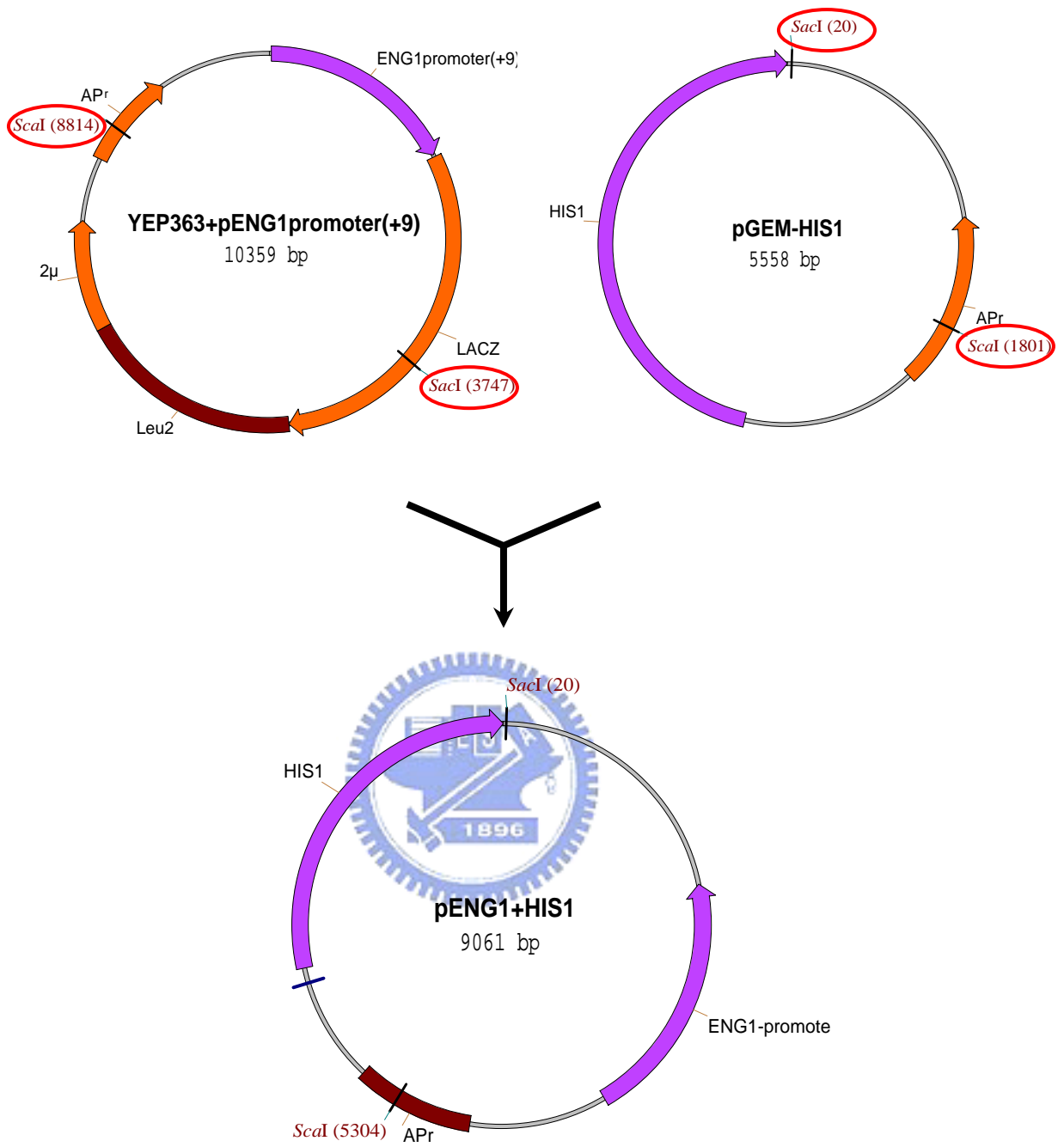
URA3 : *URA3* gene

APr : ampicillin resistance



圖二十二、以限制酶檢驗質體pCHEOE2U

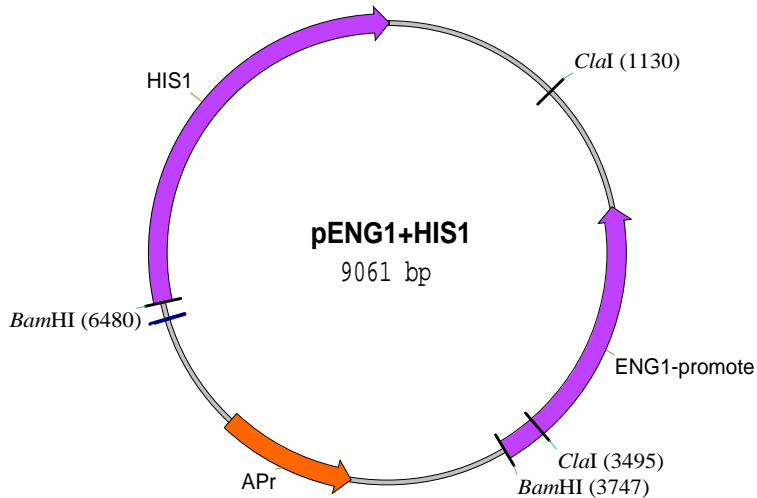
限制酶 *Cla*I 作用於 pCHEOE2U 後預期應可得 3.1 Kb、4.5 Kb、5.9 Kb 的 DNA 片段 (band c & band d & band e)；經限制酶 *Sma*I 作用預期後應可得 1.6 Kb、11.8 Kb 的 DNA 片段 (band a & band b)；經限制酶 *Sal*I 作用預期後應可得 3.3 Kb、10.1 Kb 的 DNA 片段 (band f & band g)。Lane M 表示 marker。



圖二十三、Construction of pCHEOH3

HIS1: *HIS1* gene

APr : ampicillin resistance

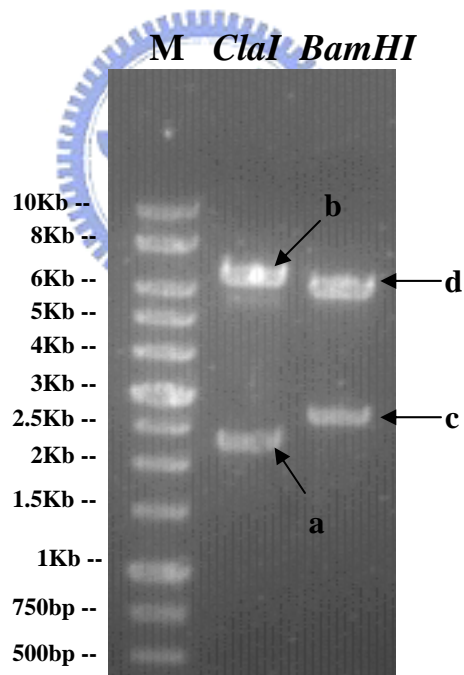


2  $\mu$  : yeast ARS

LACZ : *lacZ* reporter gene

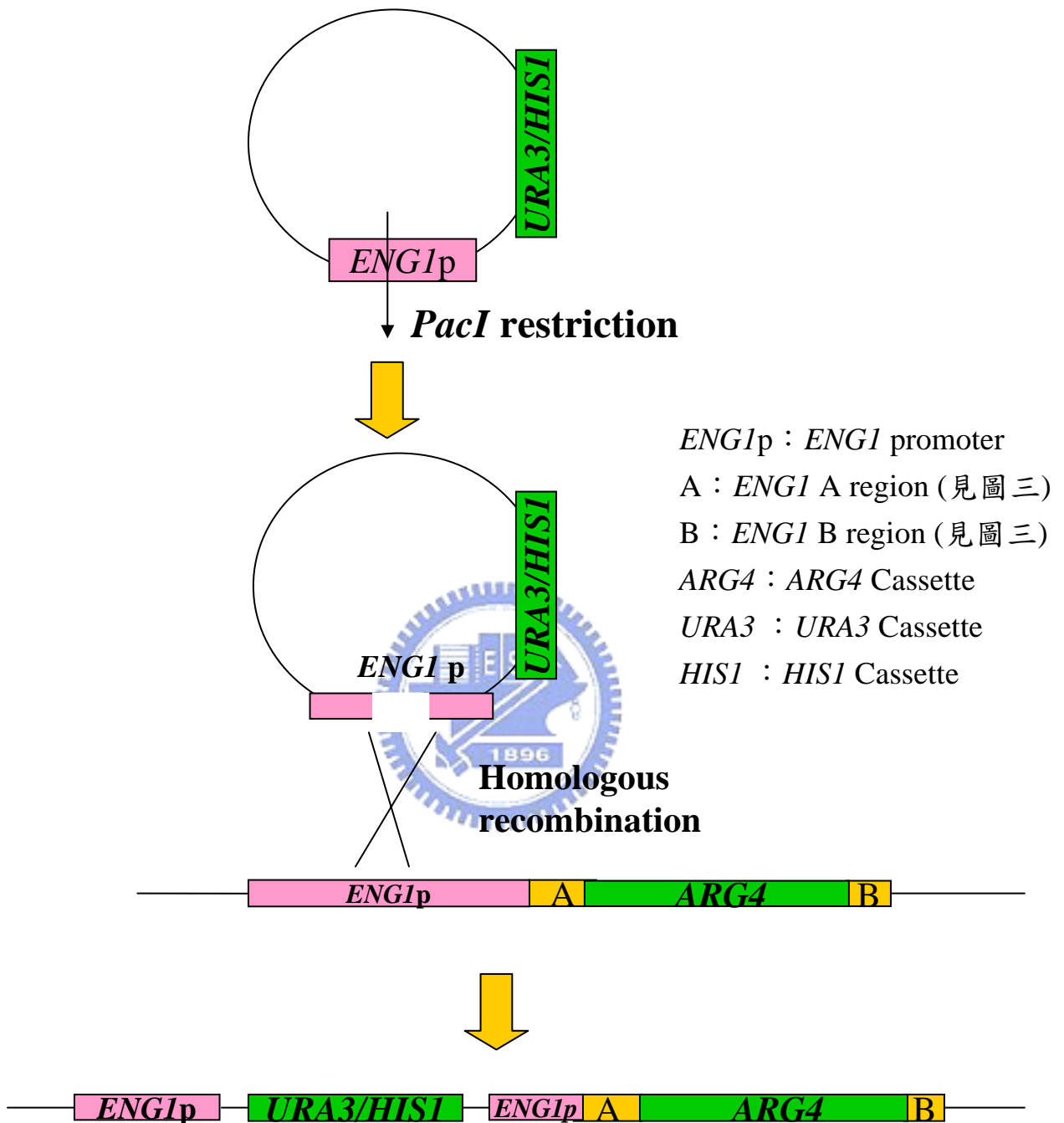
Leu2 : *LEU2* gene

APc : ampicillin resistance

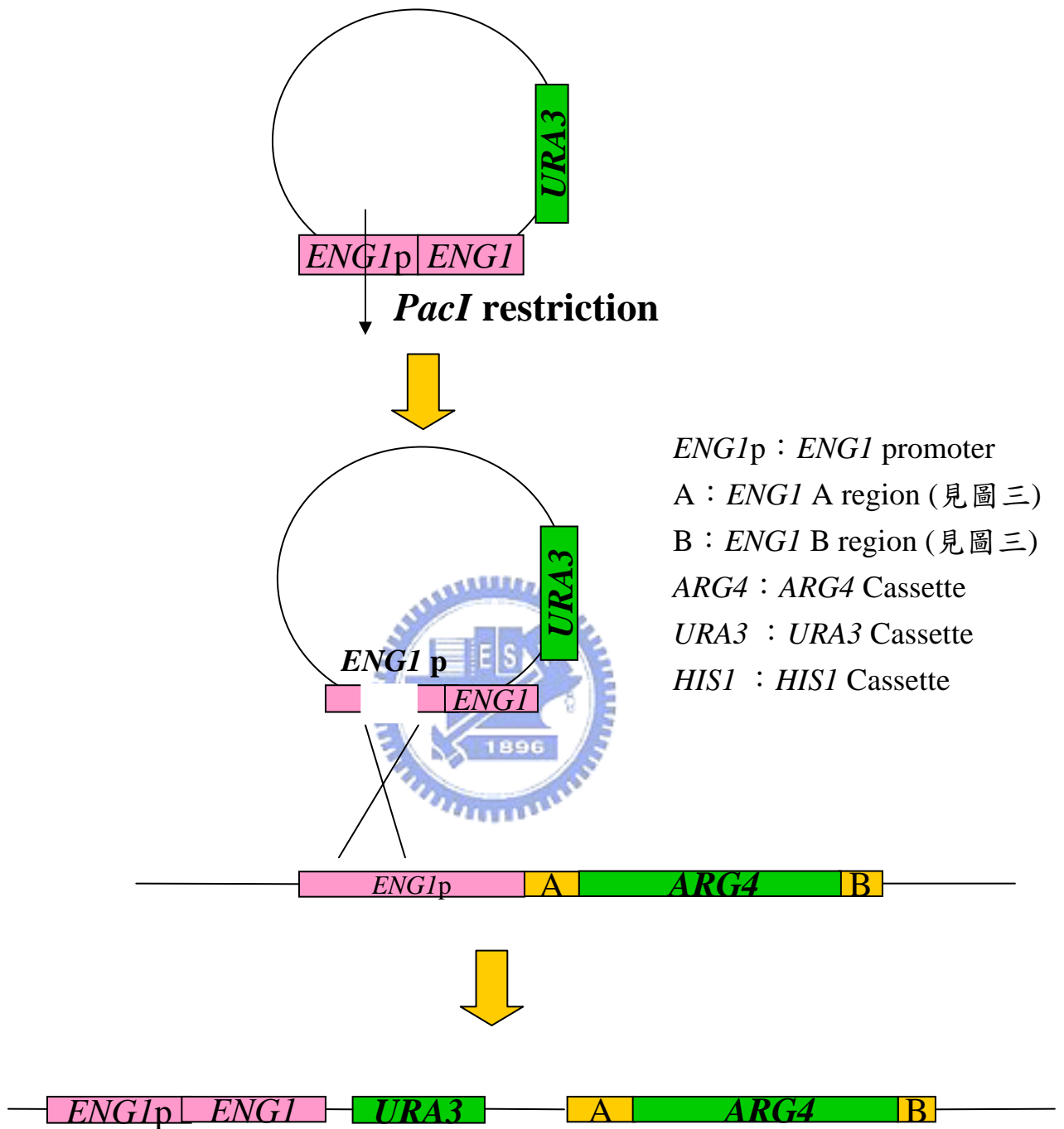


圖二十四、以限制酶檢驗質體pCHEOH3

質體pCHEOE2利用限制酶 *ClaI*作用後預期應可得2.3 Kb、6.7 Kb的DNA片段 (band a & band b)；經限制酶 *BamHI*作用應後預期可得2.7 Kb、6.3 Kb的DNA片段 (band c & band d)。Lane M表示marker。



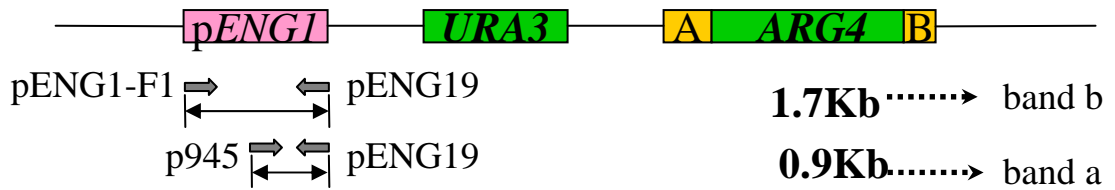
圖二十五A、以質體重置*ENG1*啟動子和篩選標記於*eng1/eng1*突變株流程圖  
 由圖解可知若有重置成功，白色念珠菌染色體應會帶有*ENG1*  
 基因之啟動子(圖中之*ENG1p*)。



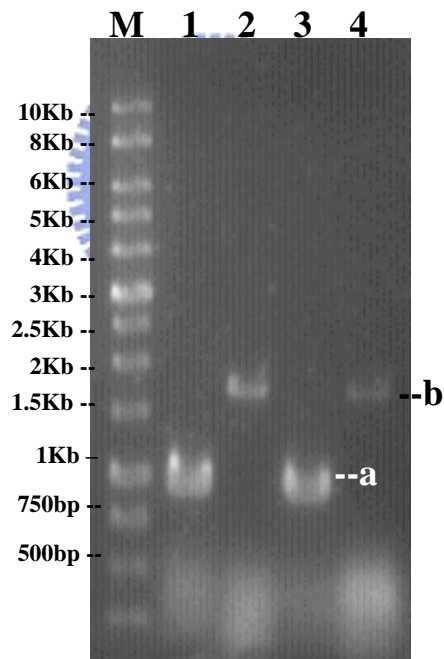
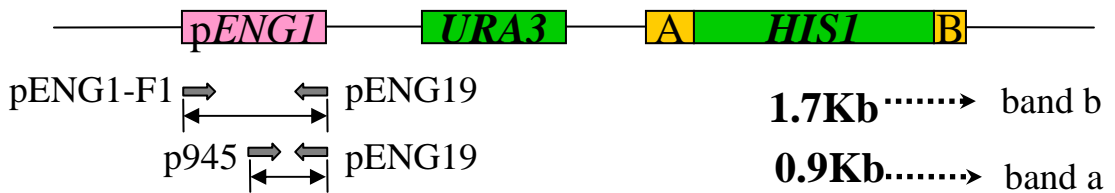
圖二十五B、以質體重置含啟動子之*ENG1*於*eng1/eng1*突變株流程圖  
 由圖解可知若有重置成功，白色念珠菌染色體應會帶有  
*ENG1*基因之啟動子和基因*ENG1* (圖中之*ENG1p*和*ENG1*)。



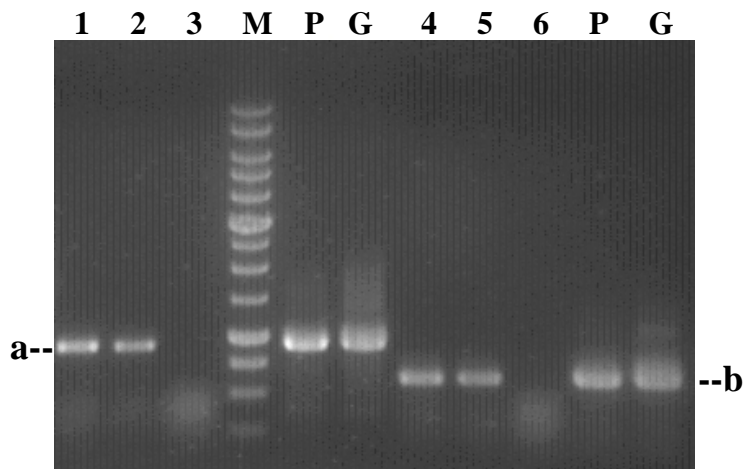
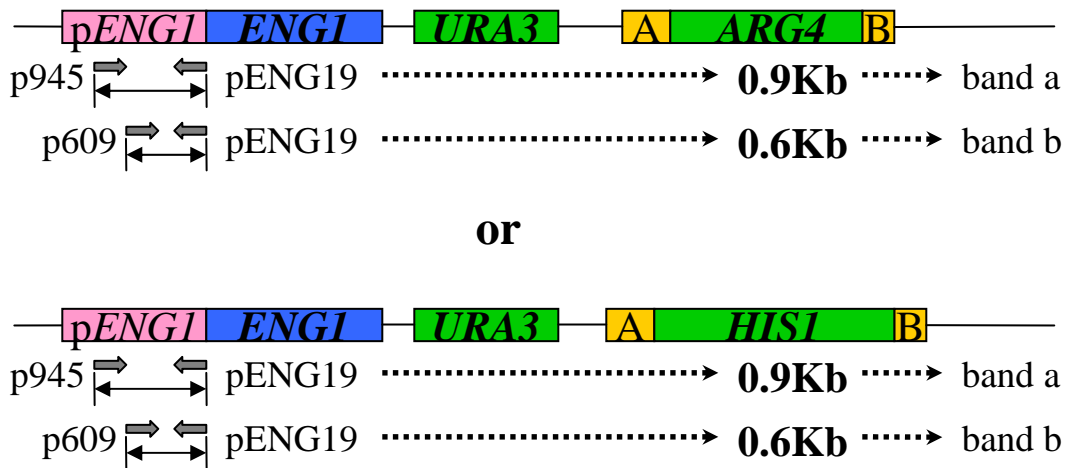




or



圖二十七、PCR確認 *eng1/eng1* 基因突變株(BAH)已經篩選標記 *URA3* 重置  
 由圖可知若有重置成功，經由兩組不同之PCR反應後應可  
 得到符合預期的DNA片段1.7 Kb (lane 2、4 - band b)和0.9 Kb  
 (lane 1、3 - band a)。將此兩種菌株分別命名為BAHU5和  
 BAHU10。Lane M表示marker。



圖二十八、PCR確認 *eng1/eng1* 基因突變株(BAH)已經 *ENG1* 和篩選標記 *URA3* 重置

由圖可知若有重置成功，經由兩組不同之PCR反應後應可得到符合預期的DNA片段0.9 Kb (lane 1、2 - band a)和0.6 Kb (lane 4、5- band b)。由結果可知上述之兩菌株符合預期。將此兩菌株分別命名為BAHEU9和BAHEU10。Lane P : temple為pCHEOE2U lane G : temple為白色念珠菌之genomic DNA，Lane M表示marker。