

行政院國家科學委員會專題研究計畫 成果報告

研究調控子 REP1 在白色念珠菌中調節真菌抗藥性的功能

計畫類別：個別型計畫

計畫編號：NSC94-2320-B-009-001-

執行期間：94 年 08 月 01 日至 95 年 07 月 31 日

執行單位：國立交通大學生物科技學系(所)

計畫主持人：楊昀良

計畫參與人員：石欣怡，郭大榮，林啟陽，陳杏芳，歐陽政中，吳金蓉，王馨

報告類型：精簡報告

報告附件：出席國際會議研究心得報告及發表論文

處理方式：本計畫可公開查詢

中 華 民 國 95 年 7 月 25 日

成果報告: NSC 94-2320-B-009-001

執行時間: 94/08/01 – 95/07/31

主持人: 楊昀良 國立交通大學生物科技學系

由於醫學的發展產生了各式各樣的醫療器材和藥物。這些新發展的普遍應用，使免疫系統功能不健全的病患壽命延長，再加上抗生素的不適當使用，使伺機型病原菌造成的感染病症大量地增加。其中尤以真菌感染的增加最為顯著，在近年來已成為院內感染的主要病因之一。以美國為例，念珠菌 (*Candida*) 已升為院內感染的第四常見致病菌。在台灣也不例外，念珠菌自 1981 至 2000 年間在北部某大醫院中造成院內感染的例子就增加了 16 倍，成為最常見的院內感染的真菌致病原。因此，如何防治真菌感染已是一個刻不容緩的課題。惟目前抗真菌藥物種類並不多，而且多半伴隨著危險的副作用；尤有甚者，隨著大量使用抗真菌藥物，抗藥性菌株的出現也隨著增加。

產生真菌抗藥的主要機制之一是過度表現藥物幫浦 *CDRI*，使真菌細胞可將體內的藥物排出體外，減少藥物在體內的累積而產生抗藥性。為了瞭解 *CDRI* 表現的調控機制，我們建構了一個 *lacZ* 報告子 (*lacZ* reporter) 系統，用來篩選白色念珠菌 (*Candida albicans*) 的 *CDRI* 的反式調控子 (trans-acting regulatory factors)。我們將 *CDRI* 的起動子 (promoter) 和 *lacZ* 基因結合，使得 *lacZ* 的表現受控於 *CDRI* 的起動子 (*CDRIp-lacZ*)。將此系統轉形至啤酒酵母菌後，再以基因遺傳 (Genetics) 表現之方法篩選白色念珠菌的 gene library，進而找出 library 中能調控 *CDRI* 表現的反式因子。在篩選所得之基因中，被我們命名為 *REPI* 的基因在過度表現 (over expression) 時會提升 *CDRIp-lacZ* 在啤酒酵母菌中的表現。進一步實驗結果顯示，過度表現 *REPI* 可改變啤酒酵母菌對抗真菌藥物的抗藥性。

本研究目的是了解 *REPI* 在白色念珠菌中所扮演的角色。經分析，*REPI* 和 *CaNTD80* 有相似的 DNA binding domain，此 domain 與白色念珠菌產生抗藥性有關。為了偵測 *REPI* 是否與白色念珠菌抗藥性的產生及表現有關，我們建構 *repl/repl* 的突變株，以探討 *REPI* 在白色念珠菌抗藥性所扮演的角色。此外，為進一步了解 *REPI* 與 *CaNTD80* 的關係，我們亦建構 *repl/repl Candt80/Candt80* 的雙突變株。以瞭解基因的功能。

Publication:

1. **Yang, Y.-L.**, Lin, Y.-H., Tsao, M.-Y., Chen, C.-G., Shih, H.-I., Fan, J.-C., Wang, J.-S. and Lo, H.-J. (2006). Serum repressing efflux pump *CDR1* in *Candida albicans*. *BMC Molecular Biology*. 7:22. SCI.
2. **Yang, Y.-L.***, Chen, H.-F, Kuo, T.-J., Lin, C.-Y. (2006). Mutations on *CaENO1* in *Candida albicans* inhibit cell growth in the presence of glucose. *J. Biomedical Science*: 13:312-21. SCI
3. Wang, J.-S., **Yang, Y.-L.**, Wu, C.-J., Ouyang, K. J., Tseng, K.-Y., Chen, C.-G., Wang, H., and Lo, H.-J. (2006). The DNA Binding Domain of CaNdt80p Is Required for Activating *CDR1* Involved in Drug Resistance in *Candida albicans*. *J. Medical Microbiology*. Accepted. SCI.

Abstracts for international conferences:

1. **Yang, Y. L.**, Kao, Y. Y., Chen, C. G., Su, C. L., Tsao, M. Y., Lo, H. J. (2005). Cph1 negatively regulating *MDR1* involved in drug resistance in *Candida albicans*. XXIIInd International Conference on Yeast Genetics and Molecular Biology P-S95. 7-12 August, 2005. Bratislava, Slovakia.
2. Wang, J. S., Chen, C. G., Shih, H. I., **Yang, Y. L.**, Lo, H. J. (2005). CaNdt80 involved in drug resistance by regulating the expression of *CDR1* in *Candida albicans*. XXIIInd International Conference on Yeast Genetics and Molecular Biology P-S205. 7-12 August, 2005. Bratislava, Slovakia.
3. Chen, C. G., **Yang, Y. L.**, Cheng, H. H., Su, C. L., Huang, S. F., Chen, C. T., Liu, Y. T., Su, I. J., Lo, H. J. (2005). Non-fatal *Candida albicans* *cph1/cph1 efg1/efg1* transcription factor mutant forming filaments and causing inflammation in a mouse model of systemic infection. XXIIInd International Conference on Yeast Genetics and Molecular Biology P-S205. 7-12 August, 2005. Bratislava, Slovakia.
4. **Yang, Y.**, Chen, H. (2006). Mutations on *CaENO1* Arrest the Cell Growth of *Candida albicans* in the Presence of Glucose and Serum. The 16th Congress of the International Society for Human and Animal Mycology. P-708. 25-29 June, 2006. Paris, France.
5. **Yang, Y.**, Cheng, H., Lo, H. (2006). The Distribution of *Candida* Species and Their Trends of Drug Susceptibility between 1999-2002 in Taiwan. The 16th Congress of the International Society for Human and Animal Mycology. P-571. 25-29 June, 2006. Paris, France.
6. Lo, H., **Yang, Y.**, Chen, C., Shih, H., Wang, J. (2006). A Positive Transcription Factor, *CaNDT80*, of *CDR1* Involved in Drug Resistance in *Candida albicans*. The 16th Congress of the International Society for Human and Animal Mycology. P-660. 25-29 June, 2006. Paris, France.

7. Lo, H., **Yang, Y.**, Li, S., Wang, J., Chou, H. (2006). Close Relatedness among Fluconazole Resistant *Candida tropicalis* Isolates from Different Hospitals in Taiwan. The 16th Congress of the International Society for Human and Animal Mycology. P-504. 25-29, June, 2006. Paris, France.