

DOI:10.3724/SP.J.1008.2010.00599

白念珠菌 IFD6 基因高表达促进生物被膜形成

李莹^{1,2△}, 李德东^{2△}, 王彦², 刘凌聪¹, 黄海², 付守廷^{1*}, 姜远英^{2*}

1. 沈阳药科大学生命科学与生物制药学院药理学教研室, 沈阳 110016

2. 第二军医大学药学院药理学教研室, 上海 200433

[摘要] **目的** 考察白念珠菌 IFD6 基因对生物被膜形成能力的影响。**方法** 构建白念珠菌 IFD6 基因高表达质粒, 将 IFD6 基因开放阅读框(ORF)置于 pCaEXP 高表达载体中 MET3 启动子的控制下, 醋酸锂法转染白念珠菌 CAI4, PCR 鉴定 IFD6 基因的原位整合, real-time PCR 筛选 IFD6 基因表达量明显升高的菌株。利用 XTT 法和激光共聚焦显微镜测定并观察 IFD6 基因高表达前后生物被膜形成能力的变化, 利用细胞表面疏水性实验考察白念珠菌细胞表面疏水性的变化。**结果** 通过酶切和测序验证 IFD6 基因高表达质粒构建正确; 通过 PCR 验证 IFD6 基因高表达菌株构建正确, 并通过 real-time RT-PCR 筛选得到 1 株 IFD6 基因表达量相对较高的菌株。XTT 法和激光共聚焦显微镜观察的结果一致显示 IFD6 基因高表达菌形成生物被膜的能力增强, 细胞表面疏水性增加。**结论** IFD6 基因高表达能增加白念珠菌细胞表面疏水性, 从而使白念珠菌生物被膜的形成能力增强。

[关键词] 白念珠菌; IFD6; 生物膜

[中图分类号] Q 379.4

[文献标志码] A

[文章编号] 0258-879X(2010)06-0599-05

Overexpression of IFD6 in *Candida albicans* promotes biofilm formation

LI Ying^{1,2△}, LI De-dong^{2△}, WANG Yan², LIU Ling-cong¹, HUANG Hai², FU Shou-ting^{1*}, JIANG Yuan-ying^{2*}

1. Department of Pharmacology, School of Life Science and Biological Pharmacy, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China

2. Department of Pharmacology, School of Pharmacy, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China

[Abstract] **Objective** To investigate the effect of IFD6 on biofilm-forming ability of *C. albicans*. **Methods** We constructed an IFD6-overexpressing plasmid and inserted IFD6 intact open reading frame(ORF) under the control of the MET3 promoter in pCaEXP plasmid, which was then used to transform *C. albicans* CAI4 by lithium acetate method. PCR was used to investigate the *in situ* integration of IFD6 gene and real-time PCR was used to select strains highly expressing IFD6 gene. XTT assay and confocal scanning laser microscopy were used to investigate the changes of biofilm-forming ability before and after IFD6 overexpression. We also investigated the changes of cell surface hydrophobicity(CSH) using relative CSH assay. **Results** We successfully constructed IFD6-overexpressing plasmid as confirmed by restriction enzyme digestion and sequencing; IFD6-overexpressing strain was successfully established as confirmed by PCR. Real-time PCR successfully selected a strain highly expressing IFD6 gene. The results of XTT assay and confocal scanning laser microscopy both showed that IFD6-overexpressing strain had an enhanced biofilm forming ability and an increased cell surface hydrophobicity. **Conclusion** Overexpression of IFD6 can enhance the biofilm forming ability of *C. albicans* by increasing CSH.

[Key words] *Candida albicans*; IFD6; biofilms

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2010, 31(6): 599-603]

随着癌症放化疗、器官移植、艾滋病患者的增加和导管技术的发展, 以及广谱抗生素、肾上腺皮质激素、免疫抑制剂等的长期不合理应用, 真菌感染的发

病率和病死率不断上升。深部真菌感染绝大多数由念珠菌引起, 其中以白念珠菌的构成比最高, 深部白念珠菌感染病死率达 40%^[1-3]。大部分医源性感染

[收稿日期] 2009-12-13

[接受日期] 2010-03-12

[基金项目] 国家自然科学基金(30500628), 上海市教育发展基金会晨光计划(2007CG51)。Supported by National Natural Science Foundation of China(30500628) and Chenguang Plan of Shanghai Education Development Foundation(2007CG51)。

[作者简介] 李莹, 硕士生。E-mail: returelee@163.com; 李德东, 硕士生。E-mail: lidedong2005@163.com

△共同第一作者(Co-first authors)。

* 通讯作者(Corresponding authors)。Tel: 024-23986331, E-mail: fushout@msn.com; Tel: 021-81871201, E-mail: jiangyy@smmu.edu.cn

与体内植入生物材料有关,而白念珠菌是生物材料相关性感染的主要病原体之一^[4]。在美国流行的院内获得性感染中,念珠菌在导管相关性感染中居第3位,即便使用了抗真菌药物,其病死率仍高达40%^[5-6]。生物被膜形成是导致临床上许多系统性、反复性感染的重要原因。

本课题组长期从事白念珠菌的相关研究工作,前期芯片杂交实验结果显示,白念珠菌 IFD6 基因(经 Blastn 和 Blastx 比对分析,发现 IFD6 在酿酒酵母中的同源基因编码芳基乙醇脱氢酶)在生物膜形成后转录水平升高至原来的 3.1 倍,经抑制念珠菌生物膜形成的天然产物 Farnesol 处理后,IFD6 的转录水平降低为处理前的 30%^[7]。 β -1,3 葡萄糖是生物被膜基质的主要成分,最新研究报道显示,Zap1 基因(编码锌感应转录因子)无论在体内或体外都可以负向调控 β -1,3 葡萄糖的含量,Zap1 基因缺失导致生物被膜中 β -1,3 葡萄糖含量升高。基因芯片研究结果显示在 Zap1 基因恢复菌中,IFD6 表达量升高,而在 Zap1 缺失菌中高表达 IFD6 基因,则可导致 β -1,3 葡萄糖含量显著降低^[8]。上述研究和分析结果强烈提示,白念珠菌 IFD6 基因在影响念珠菌生物被膜形成等方面发挥重要作用。然而 IFD6 基因至今尚未被克隆表达,也没有进行确切的功能研究。本研究通过构建基因高表达菌考察了 IFD6 基因对生物被膜形成能力的影响。

1 材料和方法

1.1 菌株及质粒 白念珠菌 CAF2-1(亲本菌为 SC5314,基因类型为 $ura3\Delta::imm434/URA3$)^[9],CAI4(亲本菌为 CAF2-1,基因类型为 $ura3\Delta::imm434/ura3\Delta::imm434$)^[9]均由 William A. Fonzi(Department of Microbiology and Immunology, Georgetown University, Washington, USA)惠赠;白念珠菌 H1-H6(亲本菌为 CAI4,基因类型为 RP10/rp10 $\Delta::pCaExpIFD6-URA3$)、PEXP(亲本菌为 CAI4,基因类型为 RP10/rp10 $\Delta::pCaExp-URA3$)为本次实验构建。高表达载体质粒 pCaEXP 用于构建目的基因高表达质粒^[10]。

1.2 培养基^[11] 酵母浸膏蛋白胨葡萄糖(yeast extract pentose dextrose, YPD)培养液、酵母氮源(yeast nitrogen base, YNB)培养液、Luria-Bertani(LB)培养基、LB-氨苄青霉素培养基(LB-Amp+固体培养基)、合成培养基(synthetic defined medium, SD medium)、SD 选择性培养基(SD 培养基中缺少尿嘧啶、L-甲硫氨酸、半胱氨酸,SD- $ura^-met^-Cys^-$)均为自制。

1.3 试剂 XTT(2, 3-bis[2-methoxy-4-nitro-5-sulfophenyl]-2H-tetrazolium-5-carboxanilide inner salt)、ConA(concanavalin A)购自 Sigma 公司;FUN-1 购自 Molecular Probe 公司;正辛烷购自国药集团化学试剂有限公司;Pyrobest DNA polymerase、DNA Marker DL2000 和 DL15000、T4 DNA 连接酶购自 TaKaRa 公司;限制性内切酶 *Bam*H I、*Pst* I、*Stu* I 购自 Promega 公司;质粒 DNA 小量抽提试剂盒购自上海博光生物工程有限公司;小量 DNA 胶回收试剂盒、PCR 产物纯化试剂盒购自中鼎生物工程有限公司;YeaStar Genomic DNA Kit 购自 Zymo Research 公司;荧光定量 RT-PCR 所用试剂均购自 TaKaRa 公司。

1.4 仪器与装置 T-gradient PCR 仪、荧光定量 real-time PCR 仪(Bio-Rad)、Leica TCS sp2 激光共聚焦显微镜(Leica);Multiskan MK3 型酶标检测仪(Labsystems);MJX 型智能霉菌培养箱(宁波江南仪器厂制造);Eppendorf 5417R 高速冷冻离心机(Eppendorf);FR-180A 电泳槽(上海复日生物实验技术研究所)。

1.5 IFD6 基因高表达载体的构建及鉴定 将 IFD6 基因完整开放阅读框(ORF)置于 pCaEXP 高表达载体中 MET3 启动子的后面以实现 IFD6 基因的高表达。首先在 CAI4 基因组中扩增含有 *Bam*H I 和 *Pst* I 酶切位点的 IFD6 基因 ORF 片段,再用这 2 个酶将 IFD6 ORF 片段及 pCaEXP 质粒分别酶切,纯化后连接酶切产物。将连接产物转化大肠杆菌 DH5 α ,涂布于 LB-Amp+固体培养基上,挑取菌落扩增后抽提质粒。高表达载体质粒 pCaExp-IFD6 采用酶切、测序鉴定。

套式 PCR 所用引物序列:IFD6 上游引物 a[5'-GGT CGG ATC CCA CAA CTT GAC CCC GAA TAA C-3'(*Bam*H I)],IFD6 下游引物 a[5'-TCG GCT GCA GCT CCC CAA TGA AAA TCC ACT C-3'(*Pst* I)],IFD6 上游引物 b[5'-CGG GAT CCA ACA TGT CAA TCG ATA-3'(*Bam*H I)],IFD6 下游引物 b[5'-TCG GCT GCAG CTC CCC AAT GAA AAT CCA CTC-3'(*Pst* I)]。PCR 反应条件:94 $^{\circ}$ C 5 min;94 $^{\circ}$ C 30 s,58 $^{\circ}$ C 40 s,72 $^{\circ}$ C 100 s,30 个循环;72 $^{\circ}$ C 10 min。

利用特异性的测序引物对酶切鉴定为阳性质粒中的 ORF 进行双向重复测序,并和 NCBI 提供的免费 Blast 程序进行比对分析。

1.6 IFD6 基因高表达菌株的构建及鉴定 将空质粒 pCaEXP 和高表达质粒 pCaEXP-IFD6 用 *Stu* I 单酶切线性化后转染亲本菌 CAI4,在 SD- ura^-met^-

Cys⁻选择性固体培养基上筛选阳性菌落,以获得 IFD6 基因高表达菌。

引物序列:以阳性克隆基因组 DNA 为模板,以 RP10 chk 上游引物(5'-TGC CAA TTG CGT AGT CAC A-3')和 IFD6 chk 下游引物(5'-GGC GTG ATA TGG TTC ATC A-3')为引物,PCR 扩增鉴定 IFD6 ORF 片段是否整合到白念珠菌基因组 RP10 位中。PCR 反应条件:94℃ 5 min;94℃ 30 s,54℃ 40 s,72℃ 40 s,30 个循环;72℃ 10 min。

1.7 实时定量 real-time PCR 进行 IFD6 基因表达水平验证 采用小量酵母菌总 RNA 抽提试剂盒(天泽基因工程有限公司)进行总 RNA 抽提。

1.7.1 反转录为 cDNA 按体系配制反转录混合反应液:5×PrimeScript Buffer(4 μl)、Enzyme Mix I(1 μl)、Oligo(dT) Primer(1 μl)、Random 6 mers(1 μl)、RNA(1 μg)、RNase Free dH₂O(终体积 20 μl)。混匀后按如下条件进行反转录合成:37℃ 15 min,85℃ 5 s,4℃ 暂存。反应液配制在冰上操作,所用枪头及 PCR 管均在实验前进行去 RNA 酶处理。

1.7.2 RT-PCR 反应 目的基因引物由上海生工生物工程技术有限公司合成。RT-PCR 所用引物序列为:18S rRNA 上游引物(5'-GTG CCA GCA GCC GCG GTA-3'),18S rRNA 下游引物(5'-TGG ACC GGC CAG CCA AGC-3');IFD6 上游引物(5'-CGT GAA GAT GAC AGA GAG TTG-3'),IFD6 下游引物(5'-CCC AAT CCA AAA ACA CTA GCC-3')。按体系配制 RT-PCR 混合反应液:2×SYBR Premix Ex Taq II(10 μl)、Primer FWD(0.5 μl)、Primer RV(0.5 μl)、模板 cDNA(2 μl)、ddH₂O(7 μl)。混匀后按如下条件进行 RT-PCR 反应:95℃ 1 min;95℃ 10 s,60℃ 20 s,72℃ 15 s,40 个循环。记录反应终止循环阈值(cycle threshold, Ct),计算基因表达水平: $\Delta\Delta Ct = (Ct_{目的基因} - Ct_{管家基因})_{实验组} - (Ct_{目的基因} - Ct_{管家基因})_{对照组}$,则 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 表示 IFD6 基因高表达菌目的基因相对于亲本菌目的基因的表达水平。

1.8 生物被膜的形成 将白念珠菌从-20℃甘油冻存菌中吸取少量,接种至 1 ml YNB+SD-ura⁻met⁻Cys⁻培养液,于 30℃,200 次/min 振荡培养,活化 16 h;取该菌液至 2 ml YNB+SD-ura⁻met⁻Cys⁻培养液中,用上述方法再次活化 16 h,使真菌处于指数生长期后期;离心收集菌细胞,PBS 清洗 3 次;PBS 重悬使菌浓度为 3×10^7 /ml(紫外分光光度计 520 nm 处可见光密度 $D_{520} = 0.38$)。取该浓度菌悬液加样至 96 孔平板,每个样品每孔 100 μl,共 3 个

平行复孔。37℃,静置孵育 90 min。150 μl/孔 PBS 清洗 2 次,弃去加样孔中 PBS。加入 YNB+SD 100 μl,37℃,静置培养 48 h(每日更换新鲜 YNB+SD-ura⁻Met⁻Cys⁻培养液)。

1.9 生物被膜的生长动力学测定(XTT 法)^[12-13] 按前述方法培养形成生物被膜,弃去加样孔中 YNB+SD-ura⁻met⁻Cys⁻培养液,用 PBS 清洗 3 次,洗去未黏附细胞,风干。加入 XTT-甲萘醌溶液 200 μl,于 37℃黑暗中放置 2 h,吸取 100 μl 上清至干净的 96 孔平板,酶标板 492 nm 波长处检测 D 值。

1.10 激光共聚焦显微镜(CSLM)观察生物被膜^[13] 将白念珠菌在塑料培养板中按照生物被膜形成条件培养 24 h 后,加入含有 10 μmol/L FUN-1(激发波长 543 nm,发射波长 560 nm)和 25 μg/ml ConA(激发波长 488 nm,发射波长 505 nm)的 PBS,37℃孵育 45 min,以激光共聚焦显微镜观察生物被膜形成状况。

1.11 细胞表面疏水性(CSH)测定^[14] 采用水-烃两相测定实验检测白念珠菌细胞表面疏水性。按前述方法培养形成生物被膜,分别刮取细胞,以 YNB+SD-ura⁻met⁻Cys⁻制备成悬液(A 组, $D_{600} = 1.0$),每组取 1.2 ml 悬液置于一洁净玻璃管内,加入 0.3 ml 正辛烷。旋涡混匀 3 min,静置待两相分离。两相分离后立即测定水相的 D_{600} 值(B 组)。细胞表面疏水性计算方法为:相对细胞表面疏水性 = $(D_{600 A组} - D_{600 B组}) / D_{600 A组}$ 。

1.12 统计学处理 RT-PCR 反应实验操作 3 次;生物被膜的生长动力学测定实验操作 3 次;细胞表面疏水性测定实验操作 5 次,实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。检验水平(α)为 0.05。

2 结果

2.1 测序验证 IFD6 基因高表达载体 经测序验证高表达质粒 pCaEXP-IFD6 中插入的 IFD6 基因的 ORF 序列与 NCBI 网站上 Blast Nucleotide 比对,相似度达 100%。

2.2 RT-PCR 反应 对构建的高表达菌进行 RT-PCR 分析,考察 IFD6 基因的表达水平,并以亲本菌中 IFD6 基因的表达水平作为对照。结果显示:pCaEXP-IFD6 中发生定点整合的 6 个转染子(H1~H6)中 IFD6 基因实现了不同水平的高表达,其中高表达菌 H1~H6 的 IFD6 基因的表达水平分别是亲本菌的(136.32 ± 5.0)、(83.0 ± 4.3)、(92.00 ± 5.2)、(119.00 ± 3.0)、(79 ± 4.8)、(75.00 ± 4.5)倍。

2.3 对生物被膜生长动力学的影响(XTT 法)

IFD6 高表达菌的被膜形成能力(0.62 ± 0.014)显著高于转空质粒的对照菌和亲本菌(0.46 ± 0.013 、 0.42 ± 0.003 , $P < 0.001$)。

2.4 白念珠菌生物被膜的形态观察 以荧光染料 FUN-1(可被具代谢活性的细胞转变成橙红色,染胞质)和 ConA(可结合多糖上的葡萄糖和甘露糖残基

发出绿色荧光,染胞壁)染色后,激光共聚焦显微镜观察显示:高表达菌生物被膜中含有大量菌丝,形成生物被膜的能力强,而转空质粒的对照菌和亲本菌生物被膜的结构相对疏松,菌丝成分少,易从附着物上脱落(图1)。

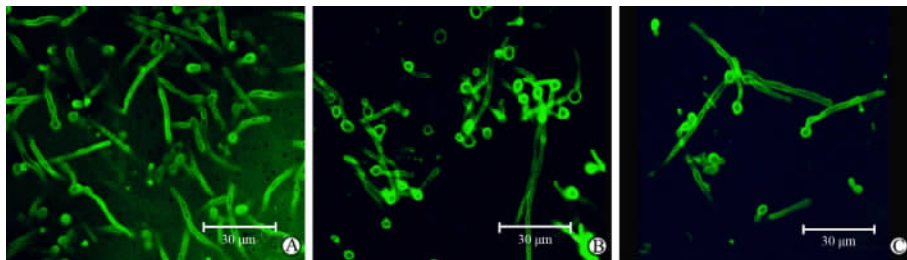


图1 激光共聚焦显微镜观察 IFD6 基因高表达对生物被膜的影响

Fig 1 Confocal scanning laser microscopy showing effect of overexpressed IFD6 on *C. albicans* biofilm formation

A: H1; B: PEXP; C: CAF2-1. Images utilizing ConA(green) and FUN-1(red) staining. Metabolically active cells are shown in red and cell wall polysaccharides are shown in green

2.5 对细胞表面疏水性的影响 细胞表面疏水性是影响生物被膜形成能力的重要正向因素,细胞表面疏水性值越高说明生物被膜菌丝生成能力越强。细胞表面疏水性实验经 *t* 检验分析显示:IFD6 高表达菌生成菌丝能力(0.67 ± 0.030)显著高于转空质粒的对照菌和亲本菌(0.54 ± 0.033 、 0.53 ± 0.066 , $P < 0.01$)。

3 讨论

生物被膜形成是导致临床上白念珠菌系统性、反复性发作的重要原因。我们的前期芯片杂交实验结果和国外文献报道一致提示,IFD6 基因可能影响白念珠菌生物被膜的形成^[7-8]。在本研究中我们构建了白念珠菌 IFD6 基因高表达菌,利用 real-time RT-PCR 确证了基因的高表达情况,XTT 法和激光共聚焦显微镜观察的结果一致显示 IFD6 基因高表达菌形成生物被膜的能力增强,细胞表面疏水性实验结果显示 IFD6 基因高表达能通过增强白念珠菌菌丝的生成使白念珠菌生物被膜的形成能力增强。这与我们前期的基因芯片研究结果一致^[7]。由此可见 IFD6 基因的表达和生物被膜的形成明显正相关。新近的研究报道也为 IFD6 基因与菌丝形成的密切关系提供了证据:Zap1 基因是影响菌丝形成的重要基因,Zap1 基因缺失菌与恢复菌中 IFD6 表达有明显变化^[8]。

IFD6 在酿酒酵母中的同源基因编码芳基乙醇脱氢酶,Ehrlich 通路中也曾报道醇脱氢酶的作用:该通路可以使氨基酸同化去掉氨基产生 α -酮酸, α -

酮酸必须转变为稳定的酰基或芳基乙醇^[15]。这样的醇类有法定阈值感应和细胞信号的作用^[16]。芳基乙醇在生物被膜成熟期积累,并抑制菌丝和生物被膜的形成^[17]。另外其他醇类的复合物也被发现在成熟的生物被膜中积累并抑制菌丝形成^[18-21]。这与之之前推测 IFD6 在酿酒酵母中的同源基因 YPL088W 编码的芳基乙醇脱氢酶功能吻合,其功能是在酿酒酵母中 1 分子芳基乙醇 + NAD^+ = 1 分子芳基乙醛 + $\text{NADH} + \text{H}^+$,并且这个反应在含有醛基的有机物里也适用。

基于以上分析推测:IFD6 高表达导致芳基乙醇的代谢增加,含量减少,进而降低醇类对菌丝及生物被膜生长的抑制作用,导致菌丝生成能力增强、细胞疏水性增加、生物被膜生长加快。

[参考文献]

- [1] Snyderman D R. Shifting patterns in the epidemiology of nosocomial *Candida* infections[J]. Chest, 2003, 123 (5 Suppl): 500S-503S.
- [2] Sendid B, Cotteau A, François N, D' Haveloose A, Standaert A, Camus D, et al. Candidaemia and antifungal therapy in a French University Hospital: rough trends over a decade and possible links[J]. BMC Infect Dis, 2006, 6: 80-89.
- [3] San Miguel L G, Cobo J, Otheo E, Sánchez-Sousa A, Abaira V, Moreno S. Secular trends of candidemia in a large tertiary-care hospital from 1988 to 2000: emergence of *Candida parapsilosis*[J]. Infect Control Hosp Epidemiol, 2005, 26: 548-552.
- [4] Kojic E M, Darouiche R O. *Candida* infections of medical devices[J]. Clin Microbiol Rev, 2004, 17: 255-267.
- [5] Bassetti M, Righi E, Costa A, Fasce R, Molinari M P, Rosso R,

- et al. Epidemiological trends in nosocomial candidemia in intensive care[J]. BMC Infect Dis, 2006, 6: 21-27.
- [6] Hajjeh R A, Sofair A N, Harrison L H, Lyon G M, Arthington-Skaggs B A, Mirza S A, et al. Incidence of bloodstream infections due to *Candida* species and *in vitro* susceptibilities of isolates collected from 1998 to 2000 in a population-based active surveillance program [J]. J Clin Microbiol, 2004, 42: 1519-1527.
- [7] Cao Y Y, Cao Y B, Xu Z, Ying K, Li Y, Xie Y, et al. cDNA microarray analysis of differential gene expression in *Candida albicans* biofilm exposed to farnesol[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2005, 49: 584-589.
- [8] Nobile C J, Nett J E, Hernday A D, Homann O R, Deneault J S, Nantel A, et al. Biofilm matrix regulation by *Candida albicans* Zap1[J]. PLoS Biol, 2009, 7: e1000133.
- [9] Fonzi W A, Irwin M Y. Isogenic strain construction and gene mapping in *Candida albicans*[J]. Genetics, 1993, 134: 717-728.
- [10] Care R S, Trevethick J, Binley K M, Sudbery P E. The MET3 promoter: a new tool for *Candida albicans* molecular genetics [J]. Mol Microbiol, 1999, 34: 792-798.
- [11] 吴绍熙. 现代医学真菌检验手册[M]. 北京: 北京医科大学、中国协和医科大学联合出版社, 1998: 332-356.
- [12] Redding S, Bhatt B, Rawls H R, Siegel G, Scott K, Lopez-Ribot J. Inhibition of *Candida albicans* biofilm formation on denture material[J]. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod, 2009, 107: 669-672.
- [13] Kuhn D M, Chandra J, Mukherjee P K, Ghannoum M A. Comparison of biofilms formed by *Candida albicans* and *Candida parapsilosis* on bioprosthetic surfaces[J]. Infect Immun, 2002, 70: 878-888.
- [14] Batová M, Dzugasová V, Borecká S, Goffa E, Oblasová Z, Subík J. Molecular and phenotypic analysis of mutations causing anionic phospholipid deficiency in closely related yeast species[J]. Folia Microbiol (Praha), 2009, 54: 30-36.
- [15] Hazelwood L A, Daran J M, van Maris A J, Pronk J T, Dickinson J R. The Ehrlich pathway for fusel alcohol production: a century of research on *Saccharomyces cerevisiae* metabolism [J]. Appl Environ Microbiol, 2008, 74: 2259-2266.
- [16] Alem M A, Oteef M D, Flowers T H, Douglas L J. Production of tyrosol by *Candida albicans* biofilms and its role in quorum sensing and biofilm development[J]. Eukaryot Cell, 2006, 5: 1770-1779.
- [17] Chen H, Fujita M, Feng Q, Clardy J, Fink G R. Tyrosol is a quorum-sensing molecule in *Candida albicans* [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2004, 101: 5048-5052.
- [18] Hornby J M, Jensen E C, Lisee A D, Tasto J J, Jahnke B, Shoemaker R, et al. Quorum sensing in the dimorphic fungus *Candida albicans* is mediated by farnesol [J]. Appl Environ Microbiol, 2001, 67: 2982-2992.
- [19] Oh K B, Miyazawa H, Naito T, Matsuoka H. Purification and characterization of an autoregulatory substance capable of regulating the morphological transition in *Candida albicans* [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2001, 98: 4664-4668.
- [20] Ramage G, Saville S P, Wickes B L, López-Ribot J L. Inhibition of *Candida albicans* biofilm formation by farnesol, a quorum-sensing molecule[J]. Appl Environ Microbiol, 2002, 68: 5459-5463.
- [21] Martins M, Henriques M, Azeredo J, Rocha S M, Coimbra M A, Oliveira R. Morphogenesis control in *Candida albicans* and *Candida dubliniensis* through signaling molecules produced by planktonic and biofilm cells[J]. Eukaryot Cell, 2007, 6: 2429-2436.

[本文编辑] 尹 茶

• 书 讯 •

《城市空气污染与健康损失的经济学分析》已出版

本书由彭希哲、田文华主编,第二军医大学出版社出版,ISBN 978-7-5481-0021-8,32开,定价:18.00元。

城市作为人群居住的高度密集地区,在生产和生活中造成的空气污染严重影响着居民的健康状况。为寻求适合中国实际的有效的空气污染控制和治理方法,以最小的投入获得最大的效益,走可持续发展之路,本书在借鉴国外相关研究经验的基础上,探讨计算空气污染造成健康损失的理论和方法,并通过上海市的实证研究,探索出一种能在中国应用并与国际接轨、具有可比性的研究方法。

该书由第二军医大学出版社出版发行科发行,全国各大书店均有销售。

通讯地址:上海市翔殷路800号,邮编:200433

邮购电话:021-65344595,65493093

<http://www.smmup.com>