

DOI:10.3724/SP.J.1008.2010.00796

黄芩素对白念珠菌基因表达谱的影响

Effects of baicalein on gene expression profile of *Candida albicans*

黄 杉¹, 孙建英¹, 曹颖璇², 姜远英^{2*}

- 1. 武警上海总队医院药局, 上海 201103
- 2. 第二军医大学药学院新药研究中心, 上海 200433

[摘要] **目的** 应用基因芯片技术研究黄芩素对白念珠菌基因表达谱的影响。**方法** 实验分黄芩素处理组与空白组, 抽提细胞 RNA, 经杂交、洗涤后, 通过计算机扫描分析黄芩素处理组和空白组基因表达谱的差异情况。应用实时定量 RT-PCR 实验对差异表达基因进行验证。**结果** 共有 522 个差异表达基因, 其中上调基因 251 个, 下调基因 271 个。差异基因功能主要涉及细胞周期、跨膜物质转运、多药耐药、毒力因子及热休克蛋白等。**结论** 黄芩素作用于白念珠菌后影响了细胞内一系列基因的表达, 这些基因的表达可能为从分子水平探讨黄芩素抗真菌作用的分子机制提供基础。

[关键词] 黄芩素; 白念珠菌; 芯片分析技术

[中图分类号] R 978.5 **[文献标志码]** B **[文章编号]** 0258-879X(2010)07-0796-05

白念珠菌(*Candida albicans*)通常是人体内的正常菌群, 但是当某些危险因素作用于人体, 如器官移植免疫抑制剂的使用、肿瘤的放疗化疗、广谱抗菌药物的大量使用和 AIDS 病毒感染时, 真菌感染随之产生^[1-2]。在过去的近 100 年中, 抗真菌药物研究取得了一些成绩, 但是, 在经历了近一个世纪的努力后, 抗真菌药物研究仍存在许多问题亟待解决, 如抗菌谱窄, 不良反应严重, 尤其临床检出了大量的耐药真菌菌株, 因此各国科学家开始致力于寻找新型、高效、安全的抗真菌新药。

从天然产物中寻找具有抗真菌活性的天然有效成分, 并进一步开发应用已成为抗真菌新药研究非常重要的方向。黄芩素(黄芩苷元, baicalein, BE)是从唇形科植物黄芩的干燥根中提取的有效成分之一。黄芩是常用中药, 其味苦、性寒, 归肺、心、肝、胆、大肠经, 具有清热燥湿、泻火解毒、止血安胎等功效。有文献报道, 黄芩素具有抗氧化、抗炎、抗菌、抗肿瘤、抗病毒等药理活性, 且对血液细胞及肝脏细胞等正常细胞无毒性^[3-8]。我们前期研究发现, 黄芩素可诱导白念珠菌凋亡, 并具有协同氟康唑抗耐药白念珠菌的作用^[9-10]。本实验采用基因芯片技术考察黄芩素对白念珠菌基因表达谱的影响, 探讨其抗白念珠菌的可能分子机制。

1 材料和方法

1.1 菌株与试剂 白念珠菌国际标准株 SC5314 由 William A. Fonzi 教授惠赠。黄芩素购自 Sigma 公司, 纯度大于 98%。TRIzol(QIAGEN); 白念珠菌 Oligo 芯片由北京博奥生物有限公司制备, 白念珠菌 Oligo 库购自 Operon 公司; Cy5-dCTP 和 Cy3-dCTP(Amersham Pharmacia Biotech, Piscataway, NJ); RNeasy Mini kit (QIAGEN); cDNA 合成试剂

盒(TaKaRa, 大连); DNA 纯化试剂盒(QIAGEN)。DNase I (RNase Free, TaKaRa); Ribonuclease Inhibitor (TaKaRa); AMV 逆转录酶(TaKaRa); 2×SYBR Premix ExTaq™ (TaKaRa, Japan); 引物由上海生工生物工程技术有限公司合成。

1.2 芯片样品制备 将白念珠菌 SC5314 于 30℃, 200 转/min 振荡培养过夜, 次日按 1% 接种于新鲜 YPD 培养液, 继续培养 4 h, 加入 16 μg/ml 黄芩素继续培养 6 h, 1 000×g 离心 10 min, PBS 洗涤, 离心收集白念珠菌细胞。

1.3 总 RNA 的制备 白念珠菌总 RNA 的提取采用改良的一步法。即将菌体在液氮中碾磨成极细的粉末, 1 g 白念珠菌加 12 ml 溶液 D(TRIZol), 充分混匀, 冰水浴放置 20 min, 4℃ 离心。上清加等体积预冷的 1:1 的苯酚:氯仿, 振荡后冰浴 20 min, 4℃ 离心。取上层水相加等体积异丙醇, 混匀, -20℃ 过夜。4℃ 离心, 用 75% 的乙醇洗涤沉淀, 加 RNase-free 的 Milli-Q 水溶解, -80℃ 保存。检测 D_{260} 和 D_{280} , 初步考察所提 RNA 的质量。取 2~5 μl 的 RNA 样品迅速在 1% 琼脂糖凝胶上进行电泳, 以检测 RNA 是否有降解。

1.4 芯片杂交及差异表达基因检测分析 按照芯片实验技术^[11]进行分离纯化 mRNA、逆转录、基因芯片杂交、洗脱、染色和检测。图像扫描处理用 ScanArray4000 (Packard) 扫描芯片, 通过杂交分析软件 GenePix Pro 3.0 分析 Cy5 和 Cy3 两种荧光信号的强度和比值。芯片上每一点在 2 个波长处的光强度值分别代表 Cy3-dUTP 和 Cy5-dUTP 与每一点杂交的量。筛选出参与均一化处理的有效基因点: (1) 该基因点的 Cy3、Cy5 信号值皆 > 200, 或者其中之一 > 800; (2) 该基因点的 Cy5/Cy3 信号值的比值在 0.1~10 之间。计算每个

[收稿日期] 2009-12-24 **[接受日期]** 2010-03-09
[基金项目] 国家自然科学基金(30630071, 30870105). Supported by National Natural Science Foundation of China(30630071, 30870105).
[作者简介] 黄 杉, 博士, 主管药师. E-mail: shhuang@vip.sina.com
 * 通讯作者(Corresponding author). Tel: 021-81871357, E-mail: jiangyy2006smmu@yahoo.com.cn

有效基因点 $Cy5$ 信号值/ $Cy3$ 信号值的比值,然后求出其相应的自然对数值 $r = \ln(Cy5/Cy3)$,算出全部有效基因点 r 值的平均值 R ,那么实验的均一化系数就等于 R 的倒数即 $EXP(R)$ 。将所有基因点的 $Cy3$ 信号值乘上均一化系数,得出调整后的 $Cy3$ 。对芯片结果进行统计分析:对重复样本进行 t 检验, false discovery rate (FDR) < 5%。计算所有基因的比值 ($Cy5/Cy3$),得到 Ratio 值。

利用 Candida DB database(<http://genolist.pasteur.fr/CandidaDB/>), GenBank(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/>), Stanford University 数据库 (Palo Alto, CA, USA) (<http://www-sequence.stanford.edu/group/candida/>) 通过 BlastN 和 BlastX 分析差异基因。

1.5 实时定量 RT-PCR 实验 变性程序使用 95℃, 10 s(变性)。扩增定量程序重复 40 个循环, 95℃, 10 s(变性); 60℃, 20 s(退火); 72℃, 15 s(延伸)。熔解曲线使用 60~95℃, 加热速率为每秒钟 0.1℃。以 18S rRNA 作为内参标准, 结果应用软件 LightCycler System Software Version 3.5 (Roche Diagnostics) 进行分析。基因表达水平用倍数变化来表示 ($2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法)。

2 结果

2.1 芯片杂交实验 本课题组从 Operon 公司购买了白念珠菌全基因组寡核苷酸库, 包含白念珠菌 9 684 个基因, 委托北京博奥生物完成了全基因组芯片的制备, 经质检确认本课题定制白念珠菌 SC5314 基因芯片质量合格。本实验以白念珠菌 SC5314 为实验菌株, 以 16 μg/ml 黄芩素处理组作为实验组, 未加药组作为对照组, 制备 RNA 用于合成 cDNA 荧光探针, 随后与白念珠菌 cDNA 芯片杂交。为了避免染料对 cDNA 合成的影响, 对 RNA 采用交换标记, 共进行 3 次芯片杂交实验, 其中 2 次是以 $Cy5$ -dUTP 标记实验组, $Cy3$ -dUTP 标记对照组, 另外 1 次是以 $Cy3$ -dUTP 标记实验组, $Cy5$ -dUTP 标记对照组。

2.2 差异表达基因 芯片杂交实验中 Ratio 值均 ≥ 2 或 ≤ 0.5 的基因被认为是差异表达基因。结果共有 522 个差异表达基因, 其中上调基因 251 个, 下调基因 271 个。对其中经 Candida DB 数据库比对为已知基因的, 按功能进行分类。结果显示, 差异基因功能主要涉及细胞周期、跨膜物质转运、多药耐药、毒力因子及热休克蛋白等(表 1)。

2.3 实时定量 RT-PCR 验证差异表达基因 我们应用实时定量 RT-PCR 技术对上述基因芯片差异基因中部分重要基因进行了验证。所用基因引物序列见表 2, 以 18S rRNA 作为内参标准。结果显示, 芯片中差异基因的 real time-PCR 验证结果与芯片中对应基因的上调或下调相吻合(图 1)。

3 讨论

基因芯片是 20 世纪 90 年代发展起来的新兴技术, 用作分析基因表达的新方法, 使得从基因水平全面研究药物的作用机制成为可能。与其他分子生物学技术相比, 该技术可在同一次实验中对上千个待研究的基因进行高通量、多参数的同步分析, 并且很大程度上已实现了商品化, 保证了实验的精

密度和重复性, 故可比较不同批次、不同实验室的研究结果。可以检测组织细胞全部基因的表达, 以便从整体上分析基因表达谱的改变。目前基因芯片技术已普遍应用于各种肿瘤及病原微生物的研究。利用基因芯片可筛选疾病相关基因、研究药物作用机制及筛选药物等。本研究结果显示, 黄芩素作用于真菌后可引起多种相关基因的上调或下调。

CDC5 编码细胞周期调节性 polo 样激酶(PLK), 该基因缺失导致细胞周期缺陷, 细胞被阻断于核分裂早期, 表现为纺锤体短, 染色体不能分离。CDC14 编码一种双特异性的蛋白磷酸酶, 敲除该基因可导致细胞分裂缺陷, 形成大量聚集的细胞。CDC11 基因亦可影响细胞分裂。基因芯片杂交结果显示, CDC5、CDC14 及 CDC11 表达下调, 提示黄芩素可影响白念珠菌的细胞周期, 抑制其分裂增殖。与此相一致, TFS1 基因的表达上调, TFS1 基因编码 CDC25 的高拷贝抑制子, 而 CDC25 负责细胞的 G_2 期节点检查^[12-16]。

多药耐药蛋白是一类镶嵌于细胞膜上的蛋白, 在药物、激素、高温、过度氧化等环境中, 可被诱导表达, 将细胞内的有害物质如药物等转运到细胞外, 使细胞呈现耐药性。白念珠菌中的多药耐药蛋白主要由 CDR1、CDR2、MDR1 等基因编码^[17-18]。近年来, 研究者在白念珠菌中又发现了 PDR16 及 SNQ2 等一些新的多药耐药蛋白。我们前期研究发现, 白念珠菌 RTA2 基因缺失均导致白念珠菌对唑类药物敏感性增加; 而 RTA2 基因高表达导致白念珠菌对上述唑类药物敏感性下降, 表明 RTA2 基因参与白念珠菌对唑类药物耐药性的产生^[19-20]。另外, 某些转录因子, 如 TAC1、FLU1 及 FCR1 等可调控多药耐药蛋白的表达进而影响白念珠菌耐药性的产生。TAC1 编码 981 个氨基酸的蛋白质 Tac1p, 具有典型锌指转录蛋白的空间结构。当白念珠菌受到药物压力时, TAC1 表达增加, 持续性的与 DRE 结合, 促进 CDR1 表达增加。TAC1 不仅是 CDR1 和 CDR2 的主要转录调节因子, 而且可以控制其他基因的表达。FLU1 基因在白念珠菌中得到鉴定, 它属于多药外输转运子 MF 超家族的成员。FLU1 编码的产物与 MDR1 编码的转运蛋白氨基酸序列相似, 其在酿酒酵母中表达时提高了唑类药物的耐药性。在白念珠菌中, 删除其可提高药物敏感性。基因芯片杂交结果显示, MDR1、FLU1、PDR16、RTA2 基因表达下调, 同时, CDR1、SNQ2、RTA3 基因表达上调。这些基因的表达变化提示: 黄芩素可能影响白念珠菌耐药性的产生。

麦角甾醇生物合成通路是许多抗真菌药物的作用靶点, 该通路利用哺乳类动物细胞胆固醇合成的类似酶系将乙酸转变成麦角甾醇, 是由多种酶参与的多步骤反应过程。在由几十种 ERGs 编码的酶系作用下, 真菌通过将乙酰辅酶 A 渐次转化为甲羟戊酸、角鲨烯、羊毛甾醇等中间体, 最终合成构建细胞膜的重要成分-麦角甾醇。不同 ERG 表达的改变, 都将影响麦角甾醇的正常合成。在本实验条件下未观察到 ERG 系列基因的差异表达, 但有研究报道, PDR16 缺失导致对唑类抗真菌药物的敏感性大大增加, 其机制涉及影响了胞浆膜的磷脂及甾醇组成, 并改变了整个细胞脂类组成^[21]。因此 PDR16 在黄芩素处理组中的表达下调提示白念珠菌的甾醇组成受到影响。

表 1 芯片杂交实验中的部分重要差异表达基因

基因	产物或功能	Ratio 值	基因	产物或功能	Ratio 值
细胞周期			物质转运		
TFS1	cdc25 依赖的营养及氨反应细胞周期调节因子	2.864	HGT17	果糖/葡萄糖转运蛋白	15.035
CDC5	细胞周期蛋白激酶	0.451	SUL2	硫酸盐转运蛋白	3.628
CDC14	Protein phosphatase 蛋白磷酸酶	0.157	VPS4	空泡分选蛋白	2.543
CDC11	Septin 同源蛋白	0.409	HXT5	果糖转运蛋白	2.304
多药耐药			CCC1	跨膜 Ca ²⁺ 转运蛋白	2.165
SNQ2	多药耐药蛋白	4.835	AGP2	氨基酸透性酶	0.495
CDR1	多药耐药蛋白	3.644	HIP1	组氨酸透性酶(histidine permease 1)	0.488
RTA3	多药耐药蛋白	3.451	氧化还原		
TAC1	多药耐药蛋白	2.254	AOX1	替代途径氧化酶	2.944
PDR16	多药耐药蛋白	0.441	AOX2	替代途径氧化酶	2.831
FLU1	多药耐药蛋白	0.188	ECM17	亚硫酸盐还原酶	2.843
MDR1	多药耐药蛋白	0.053	COX19	细胞色素 C 氧化酶	2.423
RTA2	多药耐药蛋白	0.422	GRE2	氧化还原酶	2.373
DNA 修复			PDX3	磷酸吡哆胺氧化酶	2.259
PR12	DNA 聚合酶	3.722	YAH1	电子载体	2.025
RAD16	核苷酸切补修复蛋白	2.212	FRE7	铁还原酶跨膜组份	0.493
RFA1	DNA 复制因子 A	0.426	RIP1	泛醌细胞色素 c 还原酶	0.431
MCM6	MCM 起始复合物成份	0.414	RNR1	核苷酸二磷酸还原酶	0.129
RFC4	DNA 复制因子 C	0.457	细胞骨架		
POL1	DNA 聚合酶	0.312	AUT7	微管相关蛋白	2.704
RAD51	DNA 修复蛋白	0.240	CDC10	细胞骨架成份	0.477
MSH6	DNA 错配修复蛋白	0.113	MLC1	Mlc1p 肌凝蛋白轻链	0.459
细胞壁合成			TUB2	b-微管蛋白	0.398
SRB1	甘露糖-1-磷酸鸟苷酸转移酶	0.484	TUB1	a-微管蛋白	0.270
CHT2	几丁质酶 2 前体	0.130	热休克蛋白		
CHT3	几丁质酶 3 前体	0.471	HSP30	热休克蛋白	14.866
MP65	葡萄糖苷酶	0.467	HSP60	热休克蛋白	2.006
CHS1	几丁质合成酶	0.465	ASR1	腺苷酸环化酶及应激反应	3.758
FEN12	1,3-b-葡聚糖合成酶亚单位	0.457	毒力		
ECM331	细胞壁合成相关基因	0.342	PLB4.5	溶血磷脂酶	0.489
SUN41	细胞壁 b-葡萄糖苷酶	0.310	PDE2	磷酸二酯酶	0.456
能量代谢			ALS1	凝集素样蛋白	0.455
GCA1	a 葡萄糖苷酶	8.538	RNA 加工		
EBP1	NADPH 脱氢酶	2.810	MRS2	线粒体 RNA 剪切蛋白	2.041
PFK26	6-磷酸果糖 2-激酶	2.245	GAR1	核仁 rRNA 加工蛋白	0.475
TPS3	海藻糖磷酸合成酶调节亚单位	2.005	DIM1	rRNA 二甲基转移酶	0.440
GAP1	甘油醛 3-磷酸脱氢酶	0.499			
ACS2	乙酰辅酶 A 合成酶	0.486			
GPD2	甘油 3-磷酸脱氢酶	0.158			

PDE2 编码高亲和力的核苷酸磷酸二酯酶,此酶是 cAMP 特异性磷酸二酯酶,参与 cAMP 介导的信号途径和菌丝生长、致病力,菌丝形成 PDE2 表达减少。PDE2 编码蛋白能够降解 cAMP,PDE2 的表达增加能够抵抗 CAP1 依赖性的 cAMP 合成,抑制菌丝生长^[22-23]。因此本实验中 PDE2 下调,以及另 2 个与致病力相关的基因 ALS1 和 PLB4.5 下调表明黄芩素可能降低菌株对小鼠的致病力。这为黄芩素的临床抗真菌感染应用提供了依据。

物质转运在活细胞中持续不断地进行,这种生化过程的

意义在于清除有毒物质、保持细胞内物质的动态平衡、维持电化学梯度等。在本实验中,我们发现黄芩素作用后会导致物质转运相关的基因转录发生改变,这一类基因包括 HGT17,HXT5(果糖转运蛋白)、SUL2(硫酸盐转运蛋白)、CCC1(跨膜钙离子转运蛋白)表达上调。同时,AGP2(氨基酸透性酶)和 HIP1(组氨酸透性酶)表达下调,这些基因的表达变化提示:黄芩素可能影响白念珠菌中的物质转运。

热休克蛋白一般在细胞应激反应时产生,对细胞有保护和损伤修复作用。另外,热休克蛋白在一些重要的生长相关

过程,如细胞分裂、DNA 合成、转录、转运、蛋白质折叠运输以及膜转位中起重要作用。在肿瘤细胞中,热休克蛋白参与了由于错配造成的 DNA 损伤过程^[24-25]。本实验显示,在黄芩素处理组中有编码热休克蛋白的基因(HSP30、HSP60 和

ASR1)发生上调,这可能是白念珠菌在黄芩素的作用下,其生长代谢等多个细胞的正常生理功能受到影响,热休克蛋白基因发生代偿性表达增加。

表 2 实时定量 RT-PCR 实验中的引物序列

编号	引物名称	序列(5'-3')	扩增长度(bp)
1	18SrRNA-F	TCT TTC TTG ATT TTG TGG GTG G	150
	18SrRNA -R	TCG ATA GTC CCT CTA AGA AGT G	
2	CDR1-F	GAT TCT CAA ACT GCC TGG TC	116
	CDR1-R	CCA AAA TAA GCC GTT CTT CCA C	
3	PDE2-F	CTC GAT CTA CTA CTA CCA CCA C	226
	PDE2-R	CCT GTC CAA TTT CCA ACT CG	
4	MDR1-F	TGC GTC AAG AAC AGG TTT TC	111
	MDR1-R	AAG CAG TAG TAG CAG CAC C	
5	FLU1-F	TGG ATA GTC CCC GTC ATT GG	127
	FLU1-R	GGC AAA AAG TGG GAA AAC AGC	
6	RTA2-F	CGG TAA GAG GTC ATC GTC ATA C	160
	RTA2-R	TCA GCC AAT TCT GCC ACT C	
7	ALS1-F	GTT GGT TGA AGG TGA GGA TG	123
	ALS1-R	GTT GCC AGT GCT TCA AAT G	
8	AOX1-F	CTC ATA GAC CAC CAC GTA CC	121
	AOX1-R	AGT CAT CCA TTT CCC CTC GG	
9	RAD16-F	AGA GAG AGC TGA ACA TCC AC	182
	RAD16-R	GAC CTT TAG ACC TGT CAT GC	

F:正向引物; R:反向引物

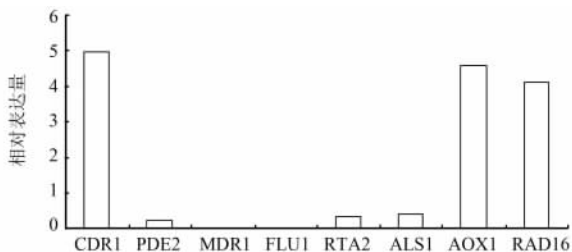


图 1 以 18S rRNA 作为内参标准,采用 real time-PCR 验证芯片部分差异表达基因

基因芯片技术在抗真菌新药机制研究中前景广阔。很多药物的直接作用靶就是 DNA,传统的分子生物学技术难以全面研究药物对基因的影响。而基因芯片技术为快速、系统、全面研究药物作用下真菌基因表达谱的变化,提供了一个高通量研究工具,可有效研究药物作用后的基因变化,从基因水平阐明药物的作用机制,确定新药的靶基因^[26]。本研究从基因水平上阐释黄芩素的药理作用,同时为基因芯片技术探索药物作用的机制和作用靶点提供思路与借鉴。

[参考文献]

[1] Edwards J E Jr, Bodey G P, Bowden R A, Büchner T, de Pauw BE, Filler SG, et al. International conference for the development of a consensus on the management and prevention of severe candidal infections[J]. Clin Infect Dis, 1997, 25: 43-59.
 [2] Ruhnke M. Epidemiology of *Candida albicans* infections and

role of non-*Candida albicans* yeasts[J]. Curr Drug Targets, 2006, 7: 495-504.
 [3] 杨得坡, 胡海燕, 黄世亮, Chaumont J P, Millet J. 黄芩甙和黄芩甙对皮肤真菌与细菌抑制作用的研究[J]. 中药材, 2000, 23: 272-274.
 [4] Wu J A, Attele A S, Zhang L, Yuan C S. Anti-HIV activity of medicinal herbs usage and potential development. [J]. Am J Clin Med, 2001, 29: 69-81.
 [5] 沈 雯, 陆福明, 顾 勇, 林善斌. 黄芩素对高糖诱导近端肾小管上皮细胞外基质及转化生长因子 $\beta 1$ 表达的影响[J]. 中华肾脏病杂志, 2003, 19: 173-176.
 [6] Lee H Z, Leung H W, Lai M Y, Wu C H. Baicalein induced cell cycle arrest and apoptosis in human lung squamous carcinoma CH27 cells[J]. Anticancer Res, 2005, 25: 959-964.
 [7] Taniguchi H, Yoshida T, Horinaka M, Yasuda T, Goda A E, Konishi M, et al. Baicalein overcomes tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand resistance via two different cell-specific pathways in cancer cells but not in normal cells[J]. Cancer Res, 2008, 68: 8918-8927.
 [8] 周立刚, 张颖君, 蔡 艳, 刘玉青, 王锦亮, 王君健, 等. 黄酮和甾体类化合物的抗真菌活性[J]. 天然产物研究与开发, 1997, 9: 24-29.
 [9] Huang S, Cao Y Y, Dai B D, Sun X R, Zhu Z Y, Cao Y B, et al. *In vitro* synergism of fluconazole and baicalein against clinical isolates of *Candida albicans* resistant to fluconazole[J]. Biol Pharm Bull, 2008, 31: 2234-2236.
 [10] Dai B D, Cao Y Y, Huang S, Xu Y G, Gao P H, Wang Y, et al. Baicalein induces programmed cell death in *Candida albicans*

- [J]. J Microbiol Biotechnol, 2009, 19: 803-809.
- [11] Cao Y Y, Cao Y B, Xu Z, Ying K, Li Y, Xie Y, et al. cDNA microarray analysis of differentially gene expression in *Candida albicans* biofilm exposed to farnesol [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2005, 49: 584-589.
- [12] Bachewich C, Thomas D Y, Whiteway M. Depletion of a polo-like kinase in *Candida albicans* activates cyclase-dependent hyphal-like growth [J]. Mol Biol Cell, 2003, 14: 2163-2180.
- [13] Sinha I, Wang Y M, Philp R, Li CR, Yap W H, Wang Y. Cyclin-dependent kinases control septin phosphorylation in *Candida albicans* hyphal development [J]. Dev Cell, 2007, 13: 421-432.
- [14] Warena A J, Kauffman S, Sherrill T P, Becker J M, Konopka J B. *Candida albicans* septin mutants are defective for invasive growth and virulence [J]. Infect Immun, 2003, 71: 4045-4051.
- [15] González-Novo A, Correa-Bordes J, Labrador L, Sánchez M, Vázquez de Aldana C R, Jiménez J. Sep7 is essential to modify septin ring dynamics and inhibit cell separation during *Candida albicans* hyphal growth [J]. Mol Biol Cell, 2008, 19: 1509-1518.
- [16] Clemente-Blanco A, González-Novo A, Machín F, Caballero-Lima D, Aragón L, Sánchez M, et al. The Cdc14p phosphatase affects late cell-cycle events and morphogenesis in *Candida albicans* [J]. J Cell Sci, 2006, 119(Pt 6): 1130-1143.
- [17] St Georgiev V. Membrane transporters and antifungal drug resistance [J]. Curr Drug Targets, 2000, 1: 261-284.
- [18] Wirsching S, Michel S, Köhler G, Morschhäuser J. Activation of the multiple resistance gene MDR1 in fluconazole-resistant, clinical *Candida albicans* strains is caused by mutations in trans-regulatory factor [J]. J Bacteriol, 2000, 182: 400-404.
- [19] White T C, Marr K A, Bowden R A. Clinical, cellular, and molecular factors that contribute to antifungal drug resistance [J]. Clin Microbiol Rev, 1998, 11: 382-402.
- [20] Jia X M, Ma Z P, Jia Y, Gao P H, Zhang J D, Wang Y, et al. RTA2, a novel gene involved in azole resistance in *Candida albicans* [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2008, 373: 631-636.
- [21] Parks L W, Casey W M. Physiological implications of sterol biosynthesis in yeast [J]. Annu Rev Microbiol, 1995, 49: 95-116.
- [22] Wilson D, Tutulan-Cunita A, Jung W, Hauser N C, Hernandez R, Williamson T, et al. Deletion of the high-affinity cAMP phosphodiesterase encoded by PDE2 affects stress responses and virulence in *Candida albicans* [J]. Mol Microbiol, 2007, 65: 841-856.
- [23] Jung W H, Warn P, Ragni E, Popolo L, Nunn C D, Turner M P, et al. Deletion of PDE2, the gene encoding the high-affinity cAMP phosphodiesterase, results in changes of the cell wall and membrane in *Candida albicans* [J]. Yeast, 2005, 22: 285-294.
- [24] Enjalbert B, Nantel A, Whiteway M. Stress-induced gene expression in *Candida albicans*: absence of a general stress response [J]. Mol Biol Cell, 2003, 14: 1460-1467.
- [25] Nadin S B, Vargas-Roig L M, Cuello-Carrion F D, Ciocca D R. Deoxyribonucleic acid damage induced by dexorubicin in peripheral blood mononuclear cells: possible roles for the stress response and the deoxyribonucleic acid repair process [J]. Cell Stress Chaperones, 2003, 8: 361-372.
- [26] De Backer M D, Van Dijk P. Progress in functional genomics approaches to antifungal drug target discovery [J]. Trends Microbiol, 2003, 11: 470-478.

[本文编辑] 尹 茶

• 消 息 •

《军医大学学报》(英文版)征稿启事

《军医大学学报(英文版)》(*Journal of Medical Colleges of PLA*)是由第二、三、四军医大学及南方医科大学(原第一军医大学)共同主办、国内外公开发行人(CN31-1002/R, ISSN 1000-1948)的高级医药学综合性英文学术刊物,1986年6月创刊。本刊主要报道基础医学、临床医学、预防医学、军事医学、药学和中国医学等领域的最新科研成果、新理论、新技术和新方法。辟有专家论坛(述评)、基础研究、临床研究、综述、经验交流、短篇报道、个案报告等栏目。

本刊为中国英文版科技论文统计源期刊,并被纳入中国期刊网、万方数据库和中文科技期刊数据库等国内所有重要检索系统,已被美国《化学文摘》(CA)、俄罗斯《文摘杂志》(VINITI Abstract Journal)和波兰《哥白尼索引》(IC)等检索系统收录,期刊全文已进入爱思唯尔(Elsevier)科技出版集团所属的 ScienceDirect 全文数据库(<http://www.elsevier.com/locate/jmcpla>)。

为了弘扬科研创新精神,推动医学事业发展,促进海内外学术交流,本刊面向全国和海外作者征稿。

来稿要求:来稿请附中文的文题、作者姓名、单位名称及较详细的中文摘要和3~8个关键词,参考文献放在文末。来稿务必写清个人通讯地址及联系电话,编辑部在接到稿件30日内通知作者稿件是否被采用。

刊发周期:由全国相关学科领域的知名专家和权威人士进行审稿,对审稿通过的论文2~6个月内安排刊出。国家、省部级基金资助和重点攻关项目稿件优先发表。

收费标准:审稿费100元/篇,不收取版面费(彩版费除外)。

投稿邮箱:jydxsb@yahoo.com.cn

本刊地址:上海市翔殷路800号,邮编:200433;联系电话:021-81870783(81870787,81870788)转824分机