

## 白假丝酵母菌 GPI 锚定蛋白的研究进展

李德东, 王彦\*, 李星星, 赵兰雪, 姜远英\*

第二军医大学药学院新药研究中心, 上海 200433

**[摘要]** GPI 锚定蛋白(glycosylphosphatidylinositol-anchored protein)是白假丝酵母菌重要的细胞表面蛋白,对白假丝酵母菌的黏附、形态转换和细胞壁合成等有着重要影响。近年来,随着对白假丝酵母菌研究的深入,GPI 锚定蛋白越来越多的重要功能逐渐被发现。本文从白假丝酵母菌 GPI 锚定蛋白的概念入手,从家族分类和功能分类两个角度对 GPI 锚定蛋白的研究现状进行综述,并对 GPI 锚定蛋白未来的研究方向进行展望。

**[关键词]** 白假丝酵母菌;GPI 锚定蛋白;家族;功能

**[中图分类号]** R 379.4 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2012)12-1368-06

### GPI-anchored proteins in *Candida albicans*: recent progress

LI De-dong, WANG Yan\*, LI Xing-xing, ZHAO Lan-xue, JIANG Yuan-ying\*

New Drug Research Center, School of Pharmacy, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China

**[Abstract]** Glycosylphosphatidylinositol (GPI)-anchored proteins are important cell surface proteins in *Candida albicans* (*C. albicans*), and they have important impact on the adhesion, morphogenesis and cell wall synthesis of *C. albicans*. In recent years, more important functions of GPI-anchored proteins have been identified along with the progress in research of *C. albicans*. By introducing the concept of *C. albicans* GPI-anchored proteins, we reviewed the progress in GPI-anchored proteins research from the perspective of family classification and functional classification, and discussed the future research direction for *C. albicans* GPI-anchored proteins.

**[Key words]** *Candida albicans*; GPI anchored proteins; family; function

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2012, 33(12):1368-1373]

白假丝酵母菌是一种条件致病菌,主要寄居于恒温动物的胃肠道及生殖道,在健康人群中可以与机体共生,对机体致病力弱。但是在机体受疾病或其他因素影响导致免疫力低下时,白假丝酵母菌可侵袭机体的组织和细胞,引起人体皮肤黏膜、内脏及中枢神经系统感染,也可以黏附在血管或医学生物材料表面,形成菌丝态和生物被膜,从而对机体造成严重损伤。在白假丝酵母菌适应机体微环境并侵袭机体的过程中,白假丝酵母菌细胞表面蛋白发挥了重要作用,而其中 GPI 锚定蛋白(glycosylphosphatidylinositol-anchored protein)最为关键。

很长时间以来,关于真菌 GPI 锚定蛋白的研究进展缓慢,但是随着白假丝酵母菌全基因组测序工作的完成,研究人员开始在白假丝酵母菌全基因组范围内广泛寻找符合 GPI 锚定蛋白保守结构域特征的蛋白编码基因<sup>[1-3]</sup>。Richard 等<sup>[4]</sup>总结了不同实验室运用各自分析方法所预测的白假丝酵母菌 GPI 锚定蛋白,通过认真的分析和归纳,预测出白假

丝酵母菌共有 115 种 GPI 锚定蛋白,分属于不同的蛋白家族,对白假丝酵母菌细胞壁的合成和修复,氧化应激的适应以及对机体的侵袭等发挥着重要的作用。他们的分析结果被该领域研究人员广泛认同,并引起了研究人员对白假丝酵母菌 GPI 锚定蛋白领域研究的极大兴趣。近年来,随着对该领域研究的深入,白假丝酵母菌 GPI 锚定蛋白一些新的、重要的功能正在被人们所发现。本文以 Richard 等人的分析结果为基础,从家族分类和功能分类两个角度对近年来有关白假丝酵母菌 GPI 锚定蛋白的研究进行综述,并对未来研究进行展望。

### 1 白假丝酵母菌 GPI 锚定蛋白概述

GPI 锚定蛋白是一类通过其羧基末端的糖基化磷脂酰肌醇(glycosylphosphatidylinositol,GPI)结构锚定于真核细胞表面的蛋白。在哺乳动物细胞中,GPI 锚定蛋白主要锚定于细胞膜的表面,定位于胞外侧,形成细胞膜 GPI 锚定蛋白

**[收稿日期]** 2012-03-17 **[接受日期]** 2012-10-19

**[基金项目]** 国家重点基础研究发展计划(2013CB531602),国家自然科学基金(81072678,81273558,90913008),上海市教育发展基金会晨光计划(2007CG51)。Supported by National Key Basic Research Program of China (2013CB531602), National Natural Science Foundation of China (81072678, 81273558, 90913008) and Chenguang Plan of Shanghai Education Development Foundation (2007CG51)。

**[作者简介]** 李德东,博士生。E-mail: lidedong2005@163.com

\* 通信作者(Corresponding authors). Tel: 021-81871280, E-mail: wangyancn@smmu.edu.cn; Tel: 021-81871357, E-mail: jiangyy@smmu.edu.cn

(plasma membrane GPI-anchored proteins, GPI-PMPs)。而在白假丝酵母菌等真菌细胞中, 由于有细胞壁的存在, GPI 锚定蛋白除了可以锚定于细胞膜表面外, 其中部分蛋白可以从膜上脱落, 而以共价键的形式与细胞壁上的  $\beta$ -1, 6-葡聚糖相结合, 形成细胞壁 GPI 锚定蛋白 (cell wall GPI-anchored proteins, GPI-CWPs)。

1.1 白假丝酵母菌 GPI 锚定蛋白的结构 新合成的 GPI 锚定蛋白(图 1)的 N 端和 C 端均有信号肽, 其中 C 末端为可以有效诱导结合 GPI 的结构, 称为锚定信号肽, 一般为一段不带电的疏水性氨基酸, 在靠近 C 末端 9~10 个氨基酸的位置有 GPI 结合位点—— $\omega$  点。蛋白中间由功能基团和富含色氨酸/丝氨酸的区域构成。N 端信号肽、C 端疏水性氨基酸以及靠近 C 端的  $\omega$  点被认为是 GPI 锚定蛋白的保守结构域。新生 GPI 锚定蛋白与细胞膜或细胞壁相结合需要 GPI 锚的连接。GPI 锚的分子结构不尽相同, 但最基本的化学结构是由胆胺、甘露糖、葡萄糖胺和肌醇连接而成, 在蛋白与细胞膜相结合时, 肌醇通过磷酸基团与细胞膜中的磷脂结构相连, 胆胺则与蛋白质的羧基端 GPI 结合位点相连, 形成 GPI-PMPs(图 2A)。而在白假丝酵母菌内, 部分 GPI 锚定蛋白的 GPI 锚在葡萄糖胺和甘露糖中间断裂, 致使蛋白从细胞膜上脱落, 而以共价键的形式与细胞壁上的  $\beta$ -1, 6-葡聚糖相结合, 形成 GPI-CWPs<sup>[5-7]</sup> (图 2B)。

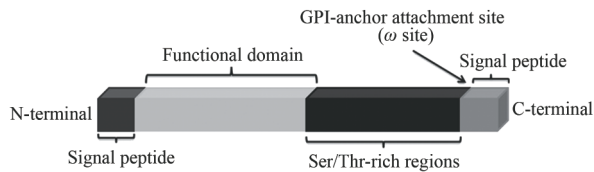


图 1 典型 GPI 锚定蛋白的核心结构

Fig 1 Domain structure of a typical GPI-anchored protein

GPI: Glycosylphosphatidylinositol. The figure is revised from that of Nather et al<sup>[6]</sup>

示, 在白假丝酵母菌体内, GPI 锚定蛋白的合成分为 GPI 锚的合成和新生蛋白的合成两个过程。GPI 锚的合成过程为首先由 4 种蛋白在内质网内形成蛋白酶复合物, 之后由去乙酰化酶催化该复合物形成葡萄糖胺-磷脂酰肌醇, 然后酰基、甘露糖、磷酸乙醇胺依次加到葡萄糖胺-磷脂酰肌醇上, 形成 GPI 锚。新生蛋白(图 1)在核糖体中合成后, 其 N 端将新生蛋白引导到内质网, 在内质网转酰酶的催化下脱去 C 端的锚定信号肽并激活  $\omega$  位点上的酰基, 此时 GPI 锚末端胆胺结构中的胺基与活化的酰基通过胆酰键相结合, 形成 GPI 锚定蛋白。新生成的 GPI 锚定蛋白分泌到细胞膜表面, 形成 GPI-PMPs。部分 GPI-PMPs 在细胞膜上脱落, 与细胞壁上的  $\beta$ -1, 6-葡聚糖相结合, 形成 GPI-CWPs<sup>[4]</sup>。有研究指出, GPI 锚定蛋白 C 末端氨基酸序列, 尤其是  $\omega$  位点附近的 5 个氨基酸序列会对 GPI 锚定蛋白的细胞膜或细胞壁定位起到关键作用<sup>[8]</sup>。虽然从定义上看两种 GPI 锚定蛋白区别明确, 但在实际实验过程中, 很难将这两种 GPI 锚定蛋白区分开来<sup>[7]</sup>。

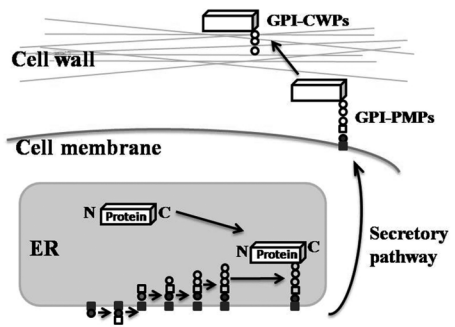


图 3 白假丝酵母菌 GPI 锚定蛋白合成和转运过程

Fig 3 Synthesis and transport procedure of a GPI-anchored proteins in *C. albicans*

GPI: Glycosylphosphatidylinositol; GPI-CWPs: Cell wall GPI-anchored protein; GPI-PMPs: Plasma membrane GPI-anchored protein; *C. albicans*; *Candida albicans*. The figure is revised from that of Richard et al<sup>[4]</sup>. The first step of GPI anchor biosynthesis occurs in the endoplasmic reticulum (ER) or at its surface; synthesis of the GPI core structure and translation through the ER membrane of the future GPI-anchored proteins. The subsequent attachment of the protein onto the GPI anchor takes place in the ER lumen. Then the GPI-anchored proteins follow the secretory pathway to be presented at the cell surface. The particularity is an additional step in which the GPI anchor is cleaved after the glucosamine and the protein with the remnant part of the anchor is directed to the cell wall and covalently linked to  $\beta$ -1, 6-glucan. Solid square: Lipid group; Solid circle: Myo-inositol group; Hollow square: N-acetylglucosamine group; Hollow circle: Mannose group

2 白假丝酵母菌 GPI 锚定蛋白的家族性

白假丝酵母菌 GPI 锚定蛋白具有呈家族性出现的特征, Richard 等<sup>[4]</sup>通过对白假丝酵母菌全基因组序列的比对, 发现 115 种白假丝酵母菌 GPI 锚定蛋白的编码基因中有 67 个分别从属于不同的基因家族, 其中有 6 个家族分别包含 3 个

图 2 与细胞膜相结合的 GPI 锚定蛋白 (GPI-PMPs; A) 和与细胞壁相结合的 GPI 锚定蛋白 (GPI-CWPs; B)

Fig 2 Plasma membrane GPI-anchored proteins (GPI-PMPs; A) and cell wall GPI-anchored proteins (GPI-CWPs; B)

GPI: Glycosylphosphatidylinositol; Man: Mannose; GlcN: Glucosamine; EtN: Ethanolamine; Ins: Inositol; P: Phosphore. The figure is revised from those of Richard et al<sup>[4]</sup> and Nather et al<sup>[6]</sup>

1.2 白假丝酵母菌 GPI 锚定蛋白的合成和转运 如图 3 所

GPI 锚定蛋白编码基因,有 2 个家族分别包含 4 个 GPI 锚定蛋白编码基因,更是有 2 个家族分别包含至少 8 个 GPI 锚定蛋白编码基因。对于 GPI 锚定蛋白呈家族性出现的特征, Richard 等<sup>[4]</sup>认为可以从两个方面解释:一是该家族中基因功能十分重要,因此家族中多个基因的存在能够保护白假丝酵母菌避免某个基因的缺失所带来的致命影响;二是同一家族中蛋白功能略有不同,它们协同表达,对白假丝酵母菌某个方面起到精确的调控作用。

表 1 白假丝酵母菌主要 GPI 锚定蛋白编码基因家族分布<sup>[4]</sup>

Tab 1 Main families of genes corresponding to GPI-anchored proteins of *C. albicans*<sup>[4]</sup>

Family	Member gene
1	<i>orf19.4652, orf19.4653</i>
2	<i>CHT1, CHT2</i>
3	<i>DFG5, PGA51/DCW1</i>
4	<i>ECM331, ECM33.3</i>
5	<i>EXG2, SPR1</i>
6	<i>PGA37, PGA57</i>
7	<i>PGA59, PGA62</i>
8	<i>SAP9, SAP10</i>
9	<i>CRH12, UTR2, CRH11</i>
10	<i>PGA2/SOD4, PGA3/SOD5, PGA9/SOD6</i>
11	<i>PGA15, PGA41, PGA42</i>
12	<i>HWP1, RBT1, PGA8/HWP2</i>
13	<i>PGA29, PGA30, PGA31</i>
14	<i>PLB3, PLB4, PLB5</i>
15	<i>CSA1, PGA7, PGA10/RBT8, RBT5</i>
16	<i>PGA4/GAS1, PGA5/GAS2, PHR1, PHR2</i>
17	<i>ALS1, ALS2, ALS3, ALS4, ALS5, ALS6, ALS7, ALS9</i>
18	<i>HYR1, IFF1, IFF2, IFF3, IFF4, IFF5, IFF6, IFF7, IFF8, IFF9</i>

Families have been classified according to a BLASTP analysis of *C. albicans* genome sequences

2.1 ALS(agglutinin-like sequence,凝集素样序列)家族 在 GPI 锚定蛋白中,对 ALS 家族蛋白的研究最为广泛和深入。ALS 基因家族编码 8 个 GPI 锚定蛋白,均为 GPI-CWPs。其中 ALS1、ALS2、ALS3、ALS4 组成一个亚族,ALS5、ALS6、ALS7 组成第 2 个亚族,ALS9 独立于这两个亚族之外。该家族基因由 Hoyer<sup>[9]</sup>于 2001 年第一次进行了细致描述。ALS 家族基因是白假丝酵母菌重要的黏附相关基因,对白假丝酵母菌的黏附和生物被膜的形成起着极其重要的影响。ALS 家族基因的缺失对白假丝酵母菌在各种环境中黏附能力的影响不尽相同,其中,ALS1 和 ALS3 的缺失可以造成菌株在各环境中黏附能力的下降,而 ALS3 的影响最为显著。ALS3 也是最为重要的 ALS 家族基因,它的表达水平的高低直接影响了菌株的黏附能力和生物被膜形成能力<sup>[10]</sup>。ALS2 和 ALS4 的缺失也能够引起白假丝酵母菌黏附能力的降低,但是它们的影响能力较 ALS1 和 ALS3 微弱,ALS4 的缺失可以增

强 ALS2 的表达,说明它们在功能上有互补的一面,但 ALS2 是白假丝酵母菌的必需基因,它的缺失可以造成菌株的死亡<sup>[11]</sup>。此外,ALS5、ALS6、ALS7 在菌株中的表达水平较低,它们的缺失能够引起白假丝酵母菌黏附能力的增强,但其机制并不明确<sup>[12]</sup>。ALS9 的缺失能够使白假丝酵母菌黏附能力在某些情况下有所下降,它对白假丝酵母菌黏附能力的影响主要是由它的第二条等位基因 ALS9-2 所引起的<sup>[13]</sup>。

2.2 IFF(individual protein file family)家族 GPI 锚定蛋白中 IFF 家族的成员最多。IFF 基因家族共有 12 个基因,其中有 10 个编码 GPI 锚定蛋白,该家族基因所编码的蛋白在 N 端有 340 个左右氨基酸高度同源,且蛋白中丝氨酸/苏氨酸富集区域占据了整个蛋白序列的 30%以上<sup>[4]</sup>,该区域可能对糖蛋白中二硫键的形成以及 GPI 蛋白与 GPI 锚在 ω 位点的结合产生重要影响<sup>[14]</sup>。

虽然 IFF 基因家族是最大的 GPI 锚定蛋白编码基因家族,目前关于该家族基因的研究并不多见,仅有的研究集中在 HYR1 和 IFF4 上。研究表明,HYR1 在白假丝酵母菌由酵母态向菌丝态转化时表达上调,介导白假丝酵母菌逃避中性粒细胞和巨噬细胞的杀伤,并介导菌株对唑类药物耐药<sup>[15-16]</sup>。而 IFF4 被证实在白假丝酵母菌的黏附过程中从发挥重要作用,它的缺失可以导致白假丝酵母菌黏附能力和致病力的下降<sup>[17]</sup>,此外,IFF4 的缺失还可以导致菌株电泳迁移率的降低,表明菌株细胞壁甘露聚糖蛋白结构发生了变化<sup>[18]</sup>。

在白假丝酵母菌 IFF 基因家族中,IFF2、IFF3、IFF4、IFF5 共同组成了一个亚族,系统进化分析显示,该亚族在都柏林假丝酵母菌中只存在有 IFF5 一个基因,而更让人感兴趣的是,该家族基因在酿酒酵母中没有同源基因<sup>[4]</sup>,因此该家族基因可能会成为未来研究的热点。

2.3 其他的 GPI 锚定蛋白基因家族 HWP 基因家族中包括 3 个基因:HWP1、HWP2 和 RBT1,其中,关于 HWP1 的研究最为广泛,HWP1 是白假丝酵母菌重要的黏附相关基因和菌丝相关基因,特异性地在白假丝酵母菌菌丝相中表达<sup>[19]</sup>。有研究表明,HWP1p 是口腔黏膜上皮细胞与白假丝酵母菌交联的底物,介导了白假丝酵母菌黏附在口腔黏膜上皮细胞上<sup>[20]</sup>,该基因的缺失可以导致菌株致病力的降低<sup>[21]</sup>。近年来,关于 HWP2 和 RBT1 的研究也越来越多,研究指出这两种基因也都参与了白假丝酵母菌黏附和菌丝及生物被膜的形成,且它们的缺失都能造成白假丝酵母菌致病力的降低<sup>[22-23]</sup>,更有研究人员认为 RBT1 可能参与了白假丝酵母菌与机体的相互作用,并在损伤机体免疫系统方面产生影响<sup>[24]</sup>。

超氧化物歧化酶(SOD)基因家族包括 3 个基因:SOD4、SOD5 和 SOD6,它们分别编码白假丝酵母菌 SOD 的不同亚基,参与白假丝酵母菌氧化还原状态的调节<sup>[25]</sup>。CHT 基因家族包括有 CHT1、CHT2 两种 GPI 锚定蛋白编码基因,它们分别编码两种不同的几丁质酶,参与白假丝酵母菌细胞壁的合成<sup>[26]</sup>。DFG5 和 DCW1 在白假丝酵母菌内有着相似的功能,其中 DFG5p 参与碱性 pH 条件下激活菌丝特异性基因 HWP1,故能够促进碱性条件下菌株菌丝的形成。单独敲除

*DFG5* 或 *DCW1* 基因并不能对菌株生长造成影响,但是两个基因全部敲除就会造成菌株的死亡<sup>[27]</sup>。*ECM331* 和 *ECM33* 共同参与了白假丝酵母菌细胞壁的合成和菌株形态转换,该家族基因的缺失会造成菌株菌丝形成能力的下降和致病力的降低<sup>[28]</sup>。*PGA59* 和 *PGA62* 在维持白假丝酵母菌细胞壁的稳定和结构方面发挥重要作用,它们的缺失可以导致菌株细胞壁结构发生改变<sup>[29]</sup>。*CRH* 基因家族参与了白假丝酵母菌细胞壁的合成,该家族中 *UTR2*、*CRH11* 和 *CRH12* 的缺失均会增强菌株对干扰细胞壁合成药物的敏感性,实验表明该家族 3 个基因全部缺失可使菌株丧失对小鼠的致病力<sup>[30]</sup>;另外有研究表明,该家族基因所编码蛋白可以被白假丝酵母菌感染患者血清中的抗体所识别,表明该家族基因所编码蛋白可能作为抗原参与了白假丝酵母菌感染机体的过程<sup>[31]</sup>。*PGA59* 和 *PGA62* 两个基因的缺失均会造成菌株对细胞壁干扰药物敏感性增强,说明该基因家族编码蛋白影响了白假丝酵母菌细胞壁的构建和稳定性<sup>[29]</sup>。*PGA4*、*PGA5*、*PHR1* 和 *PHR2* 基因家族编码  $\beta$ -1,3-葡聚糖转移酶,影响白假丝酵母菌  $\beta$ -1,3-葡聚糖和  $\beta$ -1,6-葡聚糖的交联<sup>[32]</sup>。*PGA29*、*PGA30* 和 *PGA31* 基因为白假丝酵母菌所特有的一个基因家族,Plaine 等<sup>[33]</sup>研究发现,在 *PGA31* 缺失的菌株中,白假丝酵母菌细胞壁中几丁质的含量下降。

### 3 白假丝酵母菌 GPI 锚定蛋白的功能

目前对于 Richard 等<sup>[4]</sup>预测的 115 种白假丝酵母菌 GPI 锚定蛋白,明确功能的并不多,但随着生物信息学的发展,越来越多的蛋白功能将被预测并逐步被证实。目前的研究显示这些蛋白影响着白假丝酵母菌生存的各个方面,对白假丝酵母菌适应宿主体内环境和侵袭宿主产生着重要影响,当然,其中依然有很多蛋白的功能目前完全未知。

**3.1 影响白假丝酵母菌细胞间黏附及相互作用** 在已知功能的白假丝酵母菌 GPI 锚定蛋白中,很多都与白假丝酵母菌的黏附能力相关,其中研究最为深入的是 *ALS* 基因家族编码蛋白和 *HWP* 基因家族编码蛋白(详见上文基因家族部分)。除此之外,还有很多 GPI 锚定蛋白与白假丝酵母菌的黏附能力相关。*EAP1* 是一种重要的黏附相关基因,受转录因子 *EFG1* 的调节,体内和体外实验验证,白假丝酵母菌黏附过程中和生物被膜形成过程中该基因均会高表达,而该基因的缺失也会造成菌株黏附能力和生物被膜形成能力的下降<sup>[34]</sup>。*PGA1* 和 *PGA26* 的缺失均能显著抑制菌株的黏附能力和生物被膜形成能力,使菌株的致病力降低,且对作用于细胞壁药物变得更加敏感<sup>[35-36]</sup>。*YWP1* 的缺失对白假丝酵母菌的增殖、形态转换和毒力没有影响,但是却能够增强菌株的黏附和生物被膜的形成,表明该基因可能参与了白假丝酵母菌酵母态的扩散<sup>[37]</sup>。

**3.2 具有酶活性** *SAP9* 和 *SAP10* 在白假丝酵母菌内都具有天冬酰胺酶的活性,参与白假丝酵母菌细胞壁蛋白的加工和活化,有研究指出,*SAP9* 和 *SAP10* 的缺失会影响白假丝酵母菌细胞壁的完整性和出芽时的胞质分离过程,并会影响

白假丝酵母菌与宿主上皮细胞的黏附能力,使得白假丝酵母菌致病力下降<sup>[38]</sup>。*PHR1* 和 *PHR2* 编码  $\beta$ -1,3-葡聚糖转移酶,影响白假丝酵母菌  $\beta$ -1,3-葡聚糖和  $\beta$ -1,6-葡聚糖的交联,它们的表达受细胞外 pH 的影响,在外界 pH 高于 5.5 时 *PHR1* 表达上调,反之 *PHR2* 表达上调,同时 *PHR1* 和 *PHR2* 还能影响白假丝酵母菌的黏附和致病力<sup>[32,39]</sup>。*UTR2* 编码 1,3-1,4- $\beta$ -葡聚糖酶,对白假丝酵母菌细胞壁的合成起到重要作用,它的表达受细胞外 pH 的调节<sup>[40-41]</sup>。*PLB3* 和 *PLB5* 为真菌所特有的基因,被预测有磷脂酶 B 的活性<sup>[42]</sup>。*EXG2* 和 *SPR1* 具有 1,3- $\beta$ -葡聚糖酶的活性,参与了菌株细胞壁的构建,它们的缺失增强菌株对干扰细胞壁合成药物的敏感性<sup>[43]</sup>。

**3.3 影响白假丝酵母菌细胞壁的合成和修复** 具有酶活性的 GPI 锚定蛋白一般会影响到白假丝酵母菌细胞壁的合成和修复。除此之外,还有一些 GPI 锚定蛋白参与了白假丝酵母菌细胞壁的合成,如白假丝酵母菌 *SSR1* 参与了白假丝酵母菌细胞壁的完整性,该基因的缺失会造成菌株对细胞壁相关药物的敏感性增加<sup>[3]</sup>。

**3.4 其他功能** 虽然现在关于白假丝酵母菌 GPI 锚定蛋白的研究越来越多,但是仍然有很多蛋白的功能尚不明确。芯片数据显示,很多蛋白编码基因的表达受到转录因子和外界环境的调控,其中 *RIM101* 参与调控 *IFF7*、*CRH12*、*RBT5*、*PGA20*、*PGA21*、*PGA23*、*PGA7*、*ECM331* 等 8 种未知功能 GPI 锚定蛋白编码基因的表达。由于 *RIM101* 具有调节白假丝酵母菌 pH 应答、适应高盐环境以及形态转换方面的作用,这些受到调控的 GPI 锚定蛋白可能具有其中某一方面的功能<sup>[4]</sup>。另外,还有相当数量的未知功能蛋白编码基因的表达受到细胞外铁离子浓度改变、形态转换、转录因子 *NRG1* 和 *TUP1* 以及卡泊芬净的调节<sup>[4]</sup>,对于这些现象的进一步研究将有利于我们发现这些蛋白的功能。

## 4 展望

在已知功能的 GPI 锚定蛋白中,很大一部分是基于酿酒酵母的同源基因功能所进行的预测,其中主要是细胞壁合成所需要的酶类<sup>[4]</sup>。然而根据 Richard 等<sup>[4]</sup>的预测,白假丝酵母菌有 115 种 GPI 锚定蛋白,比酿酒酵母中的 58 个 GPI 锚定蛋白多了近一倍<sup>[44]</sup>,且经过与其他念珠菌属菌株的对比,研究人员发现,有 70 种左右的白假丝酵母菌 GPI 锚定蛋白编码基因在其他假丝酵母菌属没有同源基因或者某一基因家族与其他物种某一单独基因同源<sup>[4]</sup>,其中不乏 *ALS* 家族和 *IFF* 家族中的大部分基因,这些特异性 GPI 锚定蛋白与白假丝酵母菌较其他假丝酵母菌属具有更高的适应性、致病性的特点可能有着密切的联系,而在目前 60 种左右未知功能的 GPI 锚定蛋白中,有近 90% 均属于白假丝酵母菌特异性 GPI 锚定蛋白,其中包括很多以家族出现的 GPI 锚定蛋白,如 *orf19.4652* 和 *orf19.4653* 家族, *PGA37* 和 *PGA57* 家族, *PGA15*、*PGA41* 和 *PGA42* 家族, *PGA29*、*PGA30* 和 *PGA31* 家族等,因此,对这些白假丝酵母菌特异性 GPI 锚定蛋白的

研究也变得尤其重要。在这方面, de Boer 等<sup>[45]</sup>做了有意义的探索,他们研究了 *PGA29*、*PGA30* 和 *PGA31* 家族,并发现 *PGA29* 对白假丝酵母菌细胞壁的合成和致病力有着重要的影响。

在以往的研究中,受条件所限,研究人员往往只着眼于某一个基因或蛋白,而忽视了 GPI 锚定蛋白呈家族性出现的特点,且研究方法不统一,使得各个蛋白之间很难进行比较,使该领域的研究进展缓慢。随着近年来关于白假丝酵母菌 GPI 锚定蛋白的研究越来越多,研究人员不再仅仅着眼于某一个蛋白,而是从整体角度、基因家族角度去研究 GPI 锚定蛋白的结构和功能,在这方面 Plaine 等<sup>[33]</sup>做的工作最为出色,他们正在尝试构建白假丝酵母菌 GPI 锚定蛋白编码基因的突变菌株库,希望在同一平台上从整体角度探索 GPI 锚定蛋白的功能,且已经取得了一些可喜的成果。此外,以 GPI 锚定蛋白为靶点,筛选新的抗真菌药物的工作也成为目前研究的方向。Watanabe 等<sup>[46]</sup>筛选出抗真菌化合物 E1210 能够显著抑制白假丝酵母菌 *Gwp1p* 肌醇酰化酶的活性,有效阻止了 GPI 锚定蛋白的成熟,具有很好的抗真菌活性,进一步的研究值得期待。

总之, GPI 锚定蛋白作为白假丝酵母菌最重要的细胞表面蛋白,显示出了重要的研究意义,也开始受到研究人员越来越多的关注。随着对白假丝酵母菌特异性 GPI 锚定蛋白研究的深入以及 GPI 锚定蛋白编码基因突变菌株库的构建,相信 GPI 锚定蛋白更多重要的功能将会被发现。

## 5 利益冲突

所有作者声明本文不涉及任何利益冲突。

## [参考文献]

- [1] De Groot P W, Hellingwerf K J, Klis F M. Genome-wide identification of fungal GPI proteins[J]. *Yeast*, 2003, 20: 781-796.
- [2] Eisenhaber B, Schneider G, Wildpaner M, Eisenhaber F. A sensitive predictor for potential GPI lipid modification sites in fungal protein sequences and its application to genome-wide studies for *Aspergillus nidulans*, *Candida albicans*, *Neurospora crassa*, *Saccharomyces cerevisiae* and *Schizosaccharomyces pombe* [J]. *J Mol Biol*, 2004, 337: 243-253.
- [3] Garcerá A, Martínez A I, Castillo L, Elorza M V, Sentandreu R, Valentín E. Identification and study of a *Candida albicans* protein homologous to *Saccharomyces cerevisiae* *Ssr1p*, an internal cell-wall protein[J]. *Microbiology*, 2003, 149(Pt 8): 2137-2145.
- [4] Richard M L, Plaine A. Comprehensive analysis of glycosylphosphatidylinositol-anchored proteins in *Candida albicans* [J]. *Eukaryot Cell*, 2007, 6: 119-133.
- [5] Dranginis A M, Rauco J M, Coronado J E, Lipke P N. A biochemical guide to yeast adhesins: glycoproteins for social and antisocial occasions [J]. *Microbiol Mol Biol Rev*, 2007, 71: 282-294.
- [6] Nather K, Munro C A. Generating cell surface diversity in *Candida albicans* and other fungal pathogens [J]. *FEMS Microbiol Lett*, 2008, 285: 137-145.
- [7] Klis F M, Sosinska G J, de Groot P W, Brul S. Covalently linked cell wall proteins of *Candida albicans* and their role in fitness and virulence [J]. *FEMS Yeast Res*, 2009, 9: 1013-1028.
- [8] Mao Y, Zhang Z, Gast C, Wong B. C-terminal signals regulate targeting of glycosylphosphatidylinositol-anchored proteins to the cell wall or plasma membrane in *Candida albicans* [J]. *Eukaryot Cell*, 2008, 7: 1906-1915.
- [9] Hoyer L L. The ALS gene family of *Candida albicans* [J]. *Trends Microbiol*, 2001, 9: 176-180.
- [10] Chaffin W L. *Candida albicans* cell wall proteins [J]. *Microbiol Mol Biol Rev*, 2008, 72: 495-544.
- [11] Zhao X, Oh S H, Yeater K M, Hoyer L L. Analysis of the *Candida albicans* *Als2p* and *Als4p* adhesins suggests the potential for compensatory function within the Als family [J]. *Microbiology*, 2005, 151(Pt 5): 1619-1630.
- [12] Zhao X, Oh S H, Hoyer L L. Deletion of *ALS5*, *ALS6* or *ALS7* increases adhesion of *Candida albicans* to human vascular endothelial and buccal epithelial cells [J]. *Med Mycol*, 2007, 45: 429-434.
- [13] Zhao X, Oh S H, Hoyer L L. Unequal contribution of *ALS9* alleles to adhesion between *Candida albicans* and human vascular endothelial cells [J]. *Microbiology*, 2007, 153(Pt 7): 2342-2350.
- [14] Boisramé A, Cornu A, Da Costa G, Richard M L. Unexpected role for a serine/threonine-rich domain in the *Candida albicans* Iff protein family [J]. *Eukaryot Cell*, 2011, 10: 1317-1330.
- [15] Bailey D A, Feldmann P J, Bovey M, Gow N A, Brown A J. The *Candida albicans* *HYR1* gene, which is activated in response to hyphal development, belongs to a gene family encoding yeast cell wall proteins [J]. *J Bacteriol*, 1996, 178: 5353-5360.
- [16] Luo G, Ibrahim A S, Spellberg B, Nobile C J, Mitchell A P, Fu Y. *Candida albicans* *Hyr1p* confers resistance to neutrophil killing and is a potential vaccine target [J]. *J Infect Dis*, 2010, 201: 1718-1728.
- [17] Kempf M, Cottin J, Licznar P, Lefrancois C, Robert R, Afaire-Marchais V. Disruption of the GPI protein-encoding gene *IFF4* of *Candida albicans* results in decreased adherence and virulence [J]. *Mycopathologia*, 2009, 168: 73-77.
- [18] Kempf M, Afaire-Marchais V, Saulnier P, Licznar P, Lefrancois C, Robert R, et al. Disruption of *Candida albicans* *IFF4* gene involves modifications of the cell electrical surface properties [J]. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 2007, 58: 250-255.
- [19] Sundstrom P. Adhesion in *Candida* spp [J]. *Cell Microbiol*, 2002, 4: 461-469.
- [20] Staab J F, Bradway S D, Fidel P L, Sundstrom P. Adhesive and mammalian transglutaminase substrate properties of *Candida albicans* *Hwp1* [J]. *Science*, 1999, 283: 1535-1538.
- [21] Tsuchimori N, Sharkey L L, Fonzi W A, French S W, Edwards J E Jr, Filler S G. Reduced virulence of *HWP1*-deficient mutants of *Candida albicans* and their interactions with host cells [J]. *Infect Immun*, 2000, 68: 1997-2002.
- [22] Hayek P, Dib L, Yazbeck P, Beyrouthy B, Khalaf R A. Charac-

- terization of Hwp2, a *Candida albicans* putative GPI-anchored cell wall protein necessary for invasive growth[J]. *Microbiol Res*, 2010, 165: 250-258.
- [23] Ene I V, Bennett R J. Hwp1 and related adhesins contribute to both mating and biofilm formation in *Candida albicans* [J]. *Eukaryot Cell*, 2009, 8: 1909-1913.
- [24] Braun B R, Head W S, Wang M X, Johnson A D. Identification and characterization of TUP1-regulated genes in *Candida albicans* [J]. *Genetics*, 2000, 156: 31-44.
- [25] Martchenko M, Alarco A M, Harcus D, Whiteway M. Superoxide dismutases in *Candida albicans*: transcriptional regulation and functional characterization of the hyphal-induced SOD5 gene [J]. *Mol Biol Cell*, 2004, 15: 456-467.
- [26] McCreath K J, Specht C A, Liu Y, Robbins P W. Molecular cloning of a third chitinase gene (CHT1) from *Candida albicans* [J]. *Yeast*, 1996, 12: 501-504.
- [27] Spreghini E, Davis D A, Subaran R, Kim M, Mitchell A P. Roles of *Candida albicans* Dfg5p and Dew1p cell surface proteins in growth and hypha formation [J]. *Eukaryot Cell*, 2003, 2: 746-755.
- [28] Martinez-Lopez R, Monteoliva L, Diez-Orejas R, Nombela C, Gil C. The GPI-anchored protein CaEcm33p is required for cell wall integrity, morphogenesis and virulence in *Candida albicans* [J]. *Microbiology*, 2004, 150(Pt 10): 3341-3354.
- [29] Moreno-Ruiz E, Ortu G, de Groot P W, Cottier F, Loussert C, Prévost M C, et al. The GPI-modified proteins Pga59 and Pga62 of *Candida albicans* are required for cell wall integrity [J]. *Microbiology*, 2009, 155(Pt 6): 2004-2020.
- [30] Pardini G, De Groot P W, Coste A T, Karababa M, Klis F M, de Koster C G, et al. The CRH family coding for cell wall glycosylphosphatidylinositol proteins with a predicted transglycosidase domain affects cell wall organization and virulence of *Candida albicans* [J]. *J Biol Chem*, 2006, 281: 40399-40411.
- [31] Arroyo J, Sarfati J, Baixench M T, Ragni E, Guillén M, Rodríguez-Peña J M, et al. The GPI-anchored Gas and Crh families are fungal antigens [J]. *Yeast*, 2007, 24: 289-296.
- [32] Fonzi W A. PHR1 and PHR2 of *Candida albicans* encode putative glycosidases required for proper cross-linking of beta-1,3- and beta-1,6-glucans [J]. *J Bacteriol*, 1999, 181: 7070-7079.
- [33] Plaine A, Walker L, Da Costa G, Mora-Montes H M, McKinnon A, Gow N A, et al. Functional analysis of *Candida albicans* GPI-anchored proteins: roles in cell wall integrity and caspofungin sensitivity [J]. *Fungal Genet Biol*, 2008, 45: 1404-1414.
- [34] Li F, Svarovsky M J, Karlsson A J, Wagner J P, Marchillo K, Oshel P, et al. Eap1p, an adhesin that mediates *Candida albicans* biofilm formation *in vitro* and *in vivo* [J]. *Eukaryot Cell*, 2007, 6: 931-939.
- [35] Hashash R, Younes S, Bahnan W, El Koussa J, Maalouf K, Dimassi H I, et al. Characterisation of Pga1, a putative *Candida albicans* cell wall protein necessary for proper adhesion and biofilm formation [J]. *Mycoses*, 2011, 54: 491-500.
- [36] Laforet L, Moreno I, Sánchez-Fresneda R, Martínez-Esparza M, Martínez J P, Argüelles J C, et al. Pga26 mediates filamentation and biofilm formation and is required for virulence in *Candida albicans* [J]. *FEMS Yeast Res*, 2011, 11: 389-397.
- [37] Granger B L, Flenniken M L, Davis D A, Mitchell A P, Cutler J E. Yeast wall protein 1 of *Candida albicans* [J]. *Microbiology*, 2005, 151: 1631-1644.
- [38] Albrecht A, Felk A, Pichova I, Naglik J R, Schaller M, de Groot P, et al. Glycosylphosphatidylinositol-anchored proteases of *Candida albicans* target proteins necessary for both cellular processes and host-pathogen interactions [J]. *J Biol Chem*, 2006, 281: 688-694.
- [39] Calderon J, Zavrel M, Ragni E, Fonzi W A, Rupp S, Popolo L. PHR1, a pH-regulated gene of *Candida albicans* encoding a glucan-remodelling enzyme, is required for adhesion and invasion [J]. *Microbiology*, 2010, 156(Pt 8): 2484-2494.
- [40] Alberti-Seguí C, Morales A J, Xing H, Kessler M M, Willins D A, Weinstock K G, et al. Identification of potential cell-surface proteins in *Candida albicans* and investigation of the role of a putative cell-surface glycosidase in adhesion and virulence [J]. *Yeast*, 2004, 21: 285-302.
- [41] Sosinska G J, de Koning L J, de Groot P W, Manders E M, Dekker H L, Hellingwerf K J, et al. Mass spectrometric quantification of the adaptations in the wall proteome of *Candida albicans* in response to ambient pH [J]. *Microbiology*, 2011, 157(Pt 1): 136-146.
- [42] Cabezón V, Llama-Palacios A, Nombela C, Monteoliva L, Gil C. Analysis of *Candida albicans* plasma membrane proteome [J]. *Proteomics*, 2009, 9: 4770-4786.
- [43] González M M, Díez-Orejas R, Molero G, Alvarez A M, Pla J, Nombela C, et al. Phenotypic characterization of a *Candida albicans* strain deficient in its major exoglucanase [J]. *Microbiology*, 1997, 143(Pt 9): 3023-3032.
- [44] Caro L H, Tettelin H, Vossen J H, Ram A F, van den Ende H, Klis F M. In silico identification of glycosyl-phosphatidylinositol-anchored plasma-membrane and cell wall proteins of *Saccharomyces cerevisiae* [J]. *Yeast*, 1997, 13: 1477-1489.
- [45] de Boer A D, de Groot P W, Weindl G, Schaller M, Riedel D, Díez-Orejas R, et al. The *Candida albicans* cell wall protein Rhd3/Pga29 is abundant in the yeast form and contributes to virulence [J]. *Yeast*, 2010, 27: 611-624.
- [46] Watanabe N A, Miyazaki M, Horii T, Sagane K, Tsukahara K, Hata K. E1210, a new broad-spectrum antifungal, suppresses *Candida albicans* hyphal growth through inhibition of glycosylphosphatidylinositol biosynthesis [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2012, 56: 960-971.