

**Regulation der Morphogenese und der Genexpression von  
*Candida albicans* unter hypoxischen Bedingungen**

**INAUGURAL-DISSERTATION**

zur  
Erlangung des Doktorgrades der  
Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät  
der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

vorgelegt von  
Eleonora Rahmawati Setiadi  
aus Leverkusen

April 2006

Aus dem Institut für Mikrobiologie  
der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

Gedruckt mit der Genehmigung der  
Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät der  
Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

Referent: Prof. Dr. J.F. Ernst

Koreferent: Prof. Dr. R. Freudl

Tag der mündlichen Prüfung: 18.05.2006

<b>1</b>	<b>Einleitung.....</b>	<b>1</b>
1.1	<b>Candida albicans – ein humanpathogener Pilz.....</b>	<b>1</b>
1.2	<b>Regulation der Morphogenese und ihre Bedeutung für die Virulenz.....</b>	<b>1</b>
1.2.1	Hyphenform und Virulenzfaktoren.....	2
1.2.2	Regulation der Morphogenese durch den PKA-Signaltransduktionsweg.....	3
1.2.3	Bedeutung von Efg1p für die Virulenz von <i>C. albicans</i> .....	5
1.3	<b>Hypoxische Anpassung.....</b>	<b>6</b>
1.3.1	Hypoxische Antwort in der Bäckerhefe <i>S. cerevisiae</i> .....	7
1.3.2	Hypoxische Antwort in Säugerzellen.....	8
1.4	<b>Zielsetzung.....</b>	<b>9</b>
<b>2</b>	<b>Material und Methoden.....</b>	<b>10</b>
2.1	<b>Chemikalien, Gase und Enzyme.....</b>	<b>10</b>
2.2	<b>Stämme und Medien.....</b>	<b>10</b>
2.2.1	<i>C. albicans</i> -Stämme.....	10
2.2.2	Medien.....	11
2.2.3	Medien mit Antimykotika.....	12
2.3	<b>Anzucht von <i>C. albicans</i>-Stämmen.....</b>	<b>12</b>
2.3.1	Anzucht unter normoxischen Bedingungen.....	12
2.3.2	Anzucht unter hypoxischen Bedingungen.....	12
2.3.3	Hypheninduktion auf festen Medien.....	13
2.4	<b>Plasmide und Primer.....</b>	<b>13</b>
2.4.1	Plasmide.....	13
2.4.2	Primer.....	14
2.5	<b>Präparation und Analyse von Nukleinsäuren.....</b>	<b>15</b>
2.5.1	Isolierung von Plasmid-DNA aus <i>E. coli</i> .....	15
2.5.2	Isolierung chromosomaler DNA aus <i>C. albicans</i> .....	15
2.5.3	Southernblot-Analyse.....	16
2.5.4	Isolierung von gesamt-RNA.....	16
2.5.5	Konzentrationsbestimmung von Nukleinsäuren.....	17
2.5.6	Auftrennung von DNA-Fragmenten durch Gelelektrophorese.....	17
2.5.7	PCR (Polymerase-Kettenreaktion).....	17
2.6	<b>Transformation.....</b>	<b>18</b>
2.6.1	Transformation von <i>E. coli</i> .....	18
2.6.2	Transformation von <i>C. albicans</i> .....	18
2.7	<b>Promotoranalyse.....</b>	<b>18</b>
2.7.1	Bestimmung der <i>Renilla</i> -Luziferase Aktivität.....	18
2.8	<b>Transkriptomanalyse.....</b>	<b>19</b>
2.8.1	DNA-Microarrays.....	19
2.8.1.1	cDNA Synthese aus gesamt-RNA.....	20
2.8.1.2	Hybridisierung, Waschen und Scannen der DNA-Microarrays.....	20
2.8.1.3	Normalisierung und statistische Auswertung.....	21
2.8.2	Real-time RT-PCR.....	22
2.8.2.1	cDNA-Synthese aus gesamt-RNA mit Oligo(dT) Primern.....	22

2.8.2.2	Real-time PCR Reaktion und Quantifizierung.....	23
2.8.3	Northernblot-Analyse.....	24
2.8.4	Analyse der Degradation spezifischer mRNA-Sequenzen.....	25
<b>2.9</b>	<b>Analyse von Proteinen .....</b>	<b>25</b>
2.9.1	Herstellung von Rohextrakten aus Hefekulturen .....	25
2.9.2	Bestimmung der Proteinkonzentration nach Bradford.....	25
2.9.3	SDS-Polyacrylamidgelelektrophorese (SDS-PAGE).....	26
2.9.4	Nachweis spezifischer Proteine mittels Immunoblot-Analyse.....	26
<b>2.10</b>	<b>Bestimmung der Fettsäurezusammensetzung der Zelle.....</b>	<b>26</b>
<b>3</b>	<b>Ergebnisse.....</b>	<b>27</b>
<b>3.1</b>	<b>Zellmorphologie unter hypoxischen Bedingungen.....</b>	<b>27</b>
3.1.1	Morphogenese bei Begasung mit 99,9 % N <sub>2</sub> .....	27
3.1.2	Morphogenese bei Begasung mit 99,9 % N <sub>2</sub> , 6 % CO <sub>2</sub> .....	31
<b>3.2</b>	<b>Regulation von <i>EFG1</i> unter hypoxischen Bedingungen.....</b>	<b>32</b>
3.2.1	Wachstum von <i>efg1</i> -Mutanten unter hypoxischen Bedingungen.....	32
3.2.2	Genregulation von <i>EFG1</i> unter sauerstoffarmen Bedingungen .....	33
<b>3.3</b>	<b>Genomweite Transkriptomanalyse des Wildtyps und der <i>efg1</i>-Mutante bei Hypoxie.....</b>	<b>37</b>
3.3.1	Transkriptomanalysen bei Hypoxie im Flüssigmedium.....	38
3.3.1.1	Hypoxisch regulierte Gene .....	38
3.3.1.2	Efg1p regulierte Gene unter hypoxischen Bedingungen .....	39
3.3.1.3	Rim15p regulierte Gene unter hypoxischen Bedingungen .....	42
3.3.2	Transkriptomanalysen von <i>efg1</i> -Mutanten bei Hypoxie auf festem Medium.....	44
3.3.3	Vergleich Efg1p-regulierter Gene in flüssigem und auf festem Medium .....	45
<b>3.4</b>	<b>Einfluss von Efg1p auf die Fettsäurebiosynthese unter hypoxischen Bedingungen .....</b>	<b>50</b>
3.4.1	Transkriptionelle Regulation von Genen der Fettsäurebiosynthese durch Efg1p .....	50
3.4.2	Analyse der mRNA Degradation von <i>OLE1</i> und <i>PDB1</i> bei Hypoxie.....	54
3.4.3	Vergleich der Fettsäurezusammensetzung von Wildtyp und <i>efg1</i> -Mutanten.....	56
<b>3.5</b>	<b>Genexpression der <i>PMT</i>-Genfamilie unter hypoxischen Bedingungen .....</b>	<b>60</b>
<b>3.6</b>	<b>Proteinkinase Sch9p von <i>C. albicans</i>.....</b>	<b>61</b>
3.6.1	Southernblot-Analyse von <i>sch9</i> disruptierten Stämmen .....	61
3.6.2	Wachstum und Stressantwort von <i>sch9</i> -Mutanten in <i>C. albicans</i> .....	62
3.6.3	Untersuchungen zu <i>SCH9</i> und <i>RIM15</i> unter sauerstoffarmen Bedingungen .....	64
3.6.3.1	Morphologische Untersuchungen .....	64
3.6.3.2	Transkriptlevel der Gene <i>SCH9</i> und <i>RIM15</i> .....	65
<b>3.7</b>	<b>Einfluss verschiedener Substanzen auf Zellwand/-membran bei Hypoxie.....</b>	<b>66</b>
3.7.1	Sensitivitätstests bei verschiedenen Temperaturen .....	66
<b>4</b>	<b>Diskussion.....</b>	<b>70</b>
<b>4.1</b>	<b>Regulation des filamentösen Wachstums bei Hypoxie durch einen alternativen Signaltransduktionsweg in <i>C. albicans</i>.....</b>	<b>70</b>
4.1.1	Efg1p agiert als Repressor und Aktivator des filamentösen Wachstums in Abhängigkeit von Sauerstoff und Temperatur .....	71
4.1.2	Sch9p – ein Repressor des alternativen Signalwegs bei hohen CO <sub>2</sub> -Konzentrationen ....	74
<b>4.2</b>	<b>Hypoxische Genregulation in <i>C. albicans</i> .....</b>	<b>76</b>

---

4.2.1	Genregulation in <i>C. albicans</i> weicht der von <i>S. cerevisiae</i> ab .....	76
4.2.2	Efg1p-abhängige Genregulation der hypoxischen Antwort in <i>C. albicans</i> .....	77
<b>4.3</b>	<b>Efg1p ist für Membran- und Zellwandaufbau bei Hypoxie von Bedeutung .....</b>	<b>81</b>
<b>5</b>	<b><i>Zusammenfassung</i>.....</b>	<b>84</b>
<b>6</b>	<b><i>Literaturverzeichnis</i>.....</b>	<b>85</b>
<b>7</b>	<b><i>Abkürzungsverzeichnis</i>.....</b>	<b>94</b>
<b>8</b>	<b><i>Anhang</i>.....</b>	<b>97</b>

# 1 Einleitung

## 1.1 *Candida albicans* – ein humanpathogener Pilz

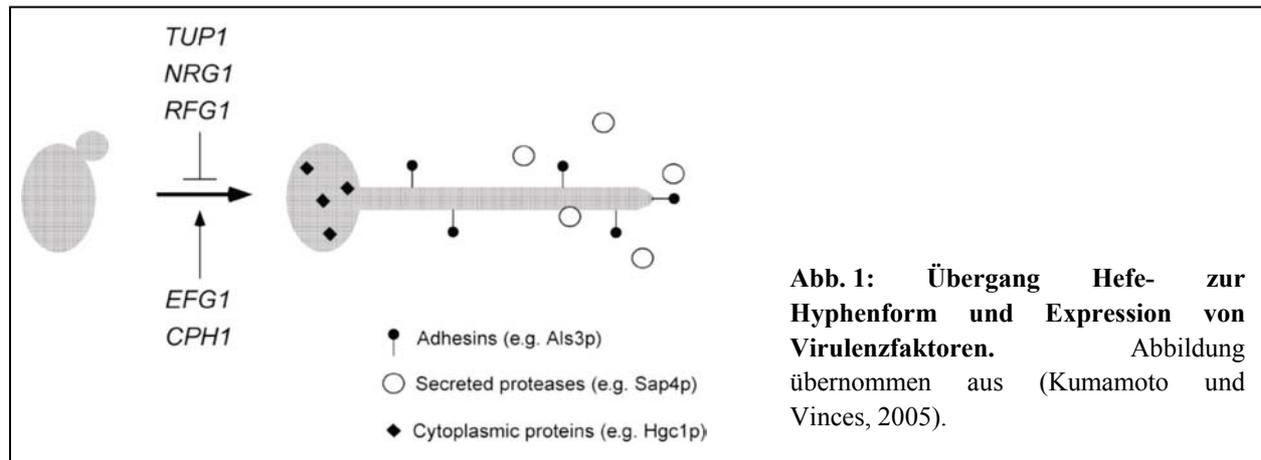
*C. albicans* ist ein Hefepilz, der zur Klasse der Ascomyceten (Schlauchpilze) und der Unterklasse der Saccharomycetidae gezählt wird. Neben den Hefepilzen gehören auch Schimmelpilze und einige essbare Pilze (z.B. Trüffel) zu den Schlauchpilzen. Ascomyceten besitzen eine große Bedeutung für den Menschen, da sie zum einen für zahlreiche Infektionen verantwortlich sind, zum anderen aber auch eine wichtige Rolle bei der Herstellung von Lebensmitteln wie Brot, Käse, Bier und Wein spielen. Des Weiteren können sie bei der Herstellung von Antibiotika und Impfstoffen eingesetzt werden. Im Gegensatz zu der Bäckerhefe *Saccharomyces cerevisiae* ist der humanpathogene Pilz *C. albicans* ein opportunistischer Krankheitserreger, der bei 30 % aller Menschen in den Schleimhäuten der Nase, des Darmtrakts und des Genitalbereichs zu finden ist (McCullough *et al.*, 1996; Sobel, 1997). Aber nur immunsupprimierte Menschen entwickeln eine systemische Kandidose, welche zu lebensbedrohlichen Organausfällen beim Patienten führen kann (Greenspan und Greenspan, 1996). Die Fähigkeit von *C. albicans* polymorph wachsen zu können, ist ein wichtiger Aspekt für seine Virulenz. Dieser Pilz kann zum einen einzellig als Hefe (4-10 µm rundlich-ovale Zellen), zum anderen aber auch mehrzellig in filamentöser Form wachsen. Die filamentösen Formen werden zwischen den so genannten Pseudohyphen (Ketten von elongierten Hefezellen mit Einschnürungen an den Septen) und den echten Hyphen (Keimschlauch bilden; Septen werden nachträglich, ohne Einschnürungen, eingezogen) unterschieden (Ernst, 2000b; Sudbery *et al.*, 2004). Bei niedrigen Temperaturen von bis zu 30 °C wächst und vermehrt sich *C. albicans* gewöhnlich in der Hefeform. Eine Erhöhung der Temperatur auf 37 °C kann das filamentöse Wachstum auslösen. Andere dimorphe Pilze wie *Cryptococcus neoformans*, *Histoplasma capsulatum* und *Paracoccidioides brasiliensis* wachsen, anders als *C. albicans*, bei einer Temperatur von 24 °C in der filamentösen Form und bei 37 °C als Hefe (Sia *et al.*, 2000). Die als Modellorganismus geltende, apathogene Hefe *S. cerevisiae* ist nur in der Lage neben der Hefeform, Pseudohyphen auszubilden. Die Morphogenese von *C. albicans* umfasst außerdem die Ausbildung von Chlamydosporen und die Fähigkeit zu stäbchenförmigen „Opaque“-Zellen zu wechseln. Die runden, dickwandigen Chlamydosporen werden von speziellen Suspensorzellen bei pseudohyphal wachsenden Zellen gebildet und werden als eine Dauerform angesehen. Die genaue Bedeutung der mehr länglichen als oval-rundlichen Opaque-Zellen ist noch unbekannt, allerdings wird vermutet, dass sie eine Funktion bei der Paarung von *C. albicans* besitzen (Bennett und Johnson, 2005). Beide Formen treten lediglich bei niedrigen Temperaturen von 22-25 °C auf.

## 1.2 Regulation der Morphogenese und ihre Bedeutung für die Virulenz

Die verschiedenen Wachstumsformen von *C. albicans* werden durch eine Vielzahl äußerer Bedingungen beeinflusst. Im folgenden Abschnitt wird die Bedeutung der Hefe- und der (echten) Hyphenform für die Pathogenität der Hefe und die Regulation des Dimorphismus erläutert.

### 1.2.1 Hyphenform und Virulenzfaktoren

Die Hefeform von *C. albicans* ist hauptsächlich für die schnelle Vermehrung und der Verbreitung durch den Blutzyklus des Menschen von Bedeutung. Mit dem Übergang von der Hefe- zur Hyphenform wird gleichzeitig die Expression von Virulenzfaktoren, wie beispielsweise Adhäsine oder Proteasen, induziert (Kumamoto und Vines, 2005). Diese ermöglichen dem Pilz an Epithelzellen des Wirtes zu adhären, sie zu penetrieren und schließlich bis in tiefere Gewebsschichten invasiv zu wachsen.



Die Abb. 1 zeigt den Wechsel von der Hefe- (links) zur Hyphenform (rechts). Für die Induzierung des filamentösen Wachstums ist der bereits gut charakterisierte Transkriptionsfaktor Efg1p von großer Wichtigkeit (Stoldt *et al.*, 1997). Im folgenden Abschnitt wird näher auf dieses Protein eingegangen. Neben Efg1p fungiert auch Cph1p, das homologe Protein zu Ste12p von *S. cerevisiae*, als positiver Regulator der Hyphenbildung (Liu *et al.*, 1994). Bekannte negative Regulatoren sind Tup1p, Nrg1p und Rfg1p. Der Repressor Nrg1p wird während des filamentösen Wachstums stark negativ reguliert, und *nrg1*-Mutanten zeigen eine dereprimierte, konstitutive Hyphenbildung (Murad *et al.*, 2001). Auch *tup1*- und *rfg1*-Mutanten besitzen ähnliche Phänotypen wie *nrg1*-Mutanten (Kadosh und Johnson, 2001; Murad *et al.*, 2001). Das zu Rfg1p homologe Protein Rox1p aus *S. cerevisiae* ist in der Bäckerhefe für die Regulation der hypoxischen Antwort zuständig (Kastaniotis und Zitomer, 2000). Sein homologes Protein in *C. albicans* kontrolliert hingegen das filamentöse Wachstum der humanpathogenen Hefe und besitzt keine Funktion bei der hypoxischen Genregulation (Kadosh und Johnson, 2001).

Des Weiteren geht aus Abb. 1 hervor, dass die Hyphenform im Gegensatz zur Hefeform Virulenzfaktoren exprimiert. So ist beispielsweise das cytoplasmatische G1-Cyclin Hgc1p in der Hefezelle nicht vorhanden, wird aber unter hypheninduzierenden Bedingungen stark induziert und ist für die Hyphenbildung essentiell. *HGC1*-disruptierte Zellen sind afilamentös und nicht virulent (Zheng und Wang, 2004). Die *ALS*-Genfamilie kodiert für acht hyphenspezifische, Glykosylphosphatidylinositol (GPI)-verankerte Zellwandproteine (Sundstrom, 2002), die für die Adhäsion der Hyphen an Epithel- sowie Endothelzellen verantwortlich sind (Fu *et al.*, 2002; Zhao *et al.*, 2004). Neben den Adhäsinen sind sekretierte Aspartylproteasen (Sap1p-Sap10p) weitere Virulenzfaktoren von *C. albicans*. Diese sind für die Penetration und Invasion der humanpathogenen Hefe in das Gewebe des Wirtes notwendig, sind aber beispielsweise auch in der Lage, Proteine der Immunabwehr zu degradieren (Naglik *et al.*, 2003).

### 1.2.2 Regulation der Morphogenese durch den PKA-Signaltransduktionsweg

Der Übergang von der Hefeform zur echten Hyphenform in *C. albicans* wird vorwiegend über den Proteinkinase A (PKA)-Weg kontrolliert (Ernst, 2000a). Viele der daran beteiligten Proteine wurden aufgrund ihrer Homologie zu den bereits bekannten und gut charakterisierten Proteinen aus dem Modellorganismus *S. cerevisiae*, identifiziert. In der Bäckerhefe steuert dieser Signalweg die Pseudohyphenbildung, aber beispielsweise auch das Wachstum und die Stressantwort der Zellen (Pan und Heitman, 1999; Longo, 2003).

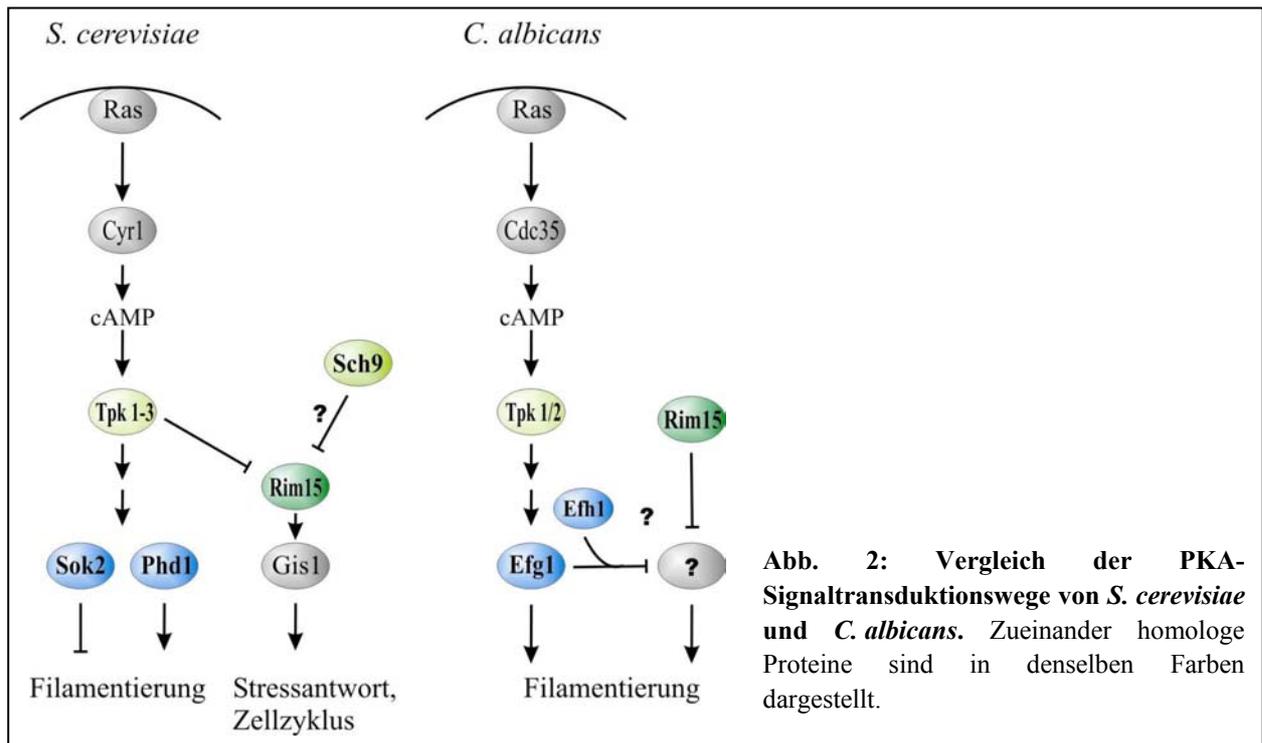


Abb. 2 zeigt beide Signalwege im Vergleich. In *S. cerevisiae* werden äußere Signale, wie z.B. ein Mangel an Nährstoffen, von Membran-assoziierten Proteinen (z.B. Gpr1p, Gpa2p) auf ein kleines G-Protein (Ras2p) übertragen (Mösch *et al.*, 1996; Lorenz und Heitman, 1997). Dieses aktiviert die Adenylatcyclase Cyr1p, wodurch der cAMP-Level in der Zelle ansteigt. Das Molekül bindet an die regulatorische Untereinheit der PKA (Bcy1p), so dass die katalytischen Untereinheiten (Tpk1-3p) freigesetzt werden (Toda *et al.*, 1987). Die Pseudohyphenbildung wird möglicherweise durch direkte oder indirekte Phosphorylierung von Transkriptionsfaktoren wie Phd1p und Sok2p (APSES-Proteine) über die PKA kontrolliert (Ward *et al.*, 1995; Gancedo, 2001).

Neben Proteinen, die für das filamentöse Wachstum der Bäckerhefe verantwortlich sind, wird auch die Proteinkinase Rim15p durch den cAMP/PKA-Signalweg reguliert. Rim15p wird durch die PKA gehemmt und ist selber für die positive Kontrolle eines Zinkfinger-Proteins (Gis1p) zuständig (Reinders *et al.*, 1998; Pedruzzi *et al.*, 2000). Gene, die STRE (stress responsive elements)-Sequenzen (z.B. *CIT1*, *HSP12*, *TPS2*) oder PDS (post-diauxic shift)-Elemente (z.B. *SSA3*) in ihrer Promotorregion besitzen, stehen unter der Kontrolle von Gis1p und sind für die Stressantwort und den Eintritt in die stationäre Phase verantwortlich (Martinez-Pastor *et al.*, 1996; Reinders *et al.*, 1998; Pedruzzi *et al.*, 2000). Eine weitere Proteinkinase, Sch9p, beeinflusst ebenfalls die Regulation der Stressantwort und außerdem das Wachstum und Altern

von Zellen (Longo, 2003; Liu *et al.*, 2005). Sch9p agiert in einem Signalweg unabhängig des cAMP/PKA-Wegs und ist vermutlich ein negativer Regulator von Rim15p. *sch9*-Mutanten wachsen langsamer und haben eine etwa dreifach längere chronologische Lebensdauer als Wildtypzellen. Zudem zeigen Zellen mit einer *SCH9*-Deletion eine erhöhte Stressresistenz (Fabrizio *et al.*, 2004).

Die Regulation der Stressantwort in *C. albicans* hingegen ist noch weitestgehend unbekannt. Eine generelle Stressantwort wie in *S. cerevisiae* ist nicht vorhanden (Enjalbert *et al.*, 2003). Bei Wachstum unter verschiedenen Stressbedingungen wurden keine Gene gefunden, die in allen Bedingungen hoch reguliert werden, und zudem werden in *Candida* unter Stressbedingungen keine Kohlenhydrate wie Glykogen oder Trehalose in der Zelle akkumuliert. Vielmehr ist der PKA-Signalweg in dem humanpathogenen Pilz für die Ausbildung echter Hyphen verantwortlich. Die Signalübertragung von der Zelloberfläche verläuft wie bei *S. cerevisiae* über das Ras1-Protein, das die Adenylatcyclase (Cdc35p) aktiviert, wodurch schließlich die katalytischen Untereinheiten der PKA freigesetzt werden. *C. albicans* besitzt lediglich zwei dieser Untereinheiten (Tpk1p und Tpk2p), die jeweils eine unterschiedliche Rolle bei der Morphogenese der Hefe spielen (Bockmühl *et al.*, 2001). Während Tpk1p eher für die Hyphenbildung auf festem Medium verantwortlich ist, reguliert Tpk2p hauptsächlich das filamentöse Wachstum in flüssigen Medien. Die Induktion der Hyphenbildung erfolgt dabei über den Transkriptionsfaktor Efg1p, der wie ScPhd1p und ScSok2p der APSES-Proteinfamilie angehört (Stoldt *et al.*, 1997).

APSES-Proteine haben eine 80-90 % identische, 100 Aminosäuren lange Domäne gemeinsam, die ein basic helix-loop-helix (bHLH)-Motiv aufweist, welche für die Dimerisierung und DNA-Bindung von Bedeutung ist (Dutton *et al.*, 1997; Stoldt *et al.*, 1997). Transkriptionsfaktoren dieser Klasse sind für die Regulation der Morphogenese von Pilzen zuständig. So auch das Asm1-Protein von *Neurospora crassa*, das die Reifung der Ascosporen bestimmt (Aramayo *et al.*, 1996) und StuAp aus *Aspergillus nidulans* bzw. *Aspergillus fumigatus*, welches für die Konidienbildung wichtig ist (Dutton *et al.*, 1997; Sheppard *et al.*, 2005). Wie an ScPhd1p und ScSok2p demonstriert werden kann, können APSES-Proteine sowohl aktivierende als auch reprimierende Eigenschaften besitzen (Abb. 2). Mittels Einhybrid-Experimenten konnte gezeigt werden, dass auch die beiden APSES-Proteine von *C. albicans* gegensätzliche Funktionen besitzen. Während Efg1p als Repressor agiert ist das homologe Protein Efh1p ein Aktivator der Genexpression (Doedt *et al.*, 2004). Obwohl für Efg1p auf molekularer Ebene lediglich eine reprimierende Funktion gezeigt werden konnte, besitzt Efg1p ähnlich wie das Myc-Protein in Säugerzellen eine bivalente Funktion. Je nach äußeren Bedingungen sind beide Proteine in der Lage, als Aktivator oder als Repressor zu fungieren (Bernards, 1995). Im vorherigen Abschnitt wurde bereits erwähnt, dass die Hyphenbildung unter den allgemein üblichen Induktionsbedingungen (z.B. Serumzugabe oder Temperaturerhöhung) durch Efg1p über den PKA-Signalweg aktiviert wird. Unter mikroaerophilen bzw. in einer Matrix eingebetteten Bedingung verhält sich die *efg1*-Mutante hingegen hyperfilamentös. Efg1p übernimmt hier also eine repressorische Funktion (Brown *et al.*, 1999; Sonneborn *et al.*, 1999). Eine Überexpression des APSES-Proteins in *S. cerevisiae* fördert das filamentöse Wachstum der Bäckerhefe, in *C. albicans* führt dies zu Pseudohyphenbildung und Repression der Bildung echter Hyphen (Stoldt *et al.*, 1997). Nach einer Aktivierung des hyphalen Wachstums, wird die Expression von *EFG1* schnell durch negative Autoregulation reprimiert. Zudem wurde festgestellt, dass der Transkriptionsfaktor die Bindung zum Sin3p-abhängigen Histondeacetylase-Komplex benötigt, um den eigenen Promotor herunter regulieren zu können (Tebarth *et al.*, 2003). Das weniger gut

charakterisierte Efh1-Protein (Efg1p-Homologes) hat vermutlich verstärkende Eigenschaften bei der Repression der Filamentbildung durch Efg1p unter mikroaerophilen/eingebetteten Bedingungen (Doedt *et al.*, 2004). Eine *efh1*-Mutante zeigt keine Unterschiede in der Morphologie zum Wildtyp. Die *efg1/efh1*-Doppelmutante jedoch induziert die Hyphenbildung unter eingebetteten Bedingungen noch schneller und stärker als eine *efg1*-Einfachmutante (Doedt *et al.*, 2004). Ebenfalls leicht hyperfilamentös unter eingebetteten Bedingungen verhalten sich *RIM15*-disruptierte *C. albicans*-Zellen (Setiadi, 2002). Anders als sein homologes Protein in *S. cerevisiae* ist *CaRim15p* nicht für die Stressantwort der Zelle verantwortlich. Möglicherweise reprimiert es zusätzlich zu Efg1p die Hyphenbildung unter mikroaerophilen/eingebetteten Bedingungen in einem alternativen Signaltransduktionsweg (Abb. 2).

### 1.2.3 Bedeutung von Efg1p für die Virulenz von *C. albicans*

In 1.2.2 wurde beschrieben, dass das APSES-Protein Efg1p ein wichtiger Regulator der Morphogenese von *C. albicans* ist. Auf der anderen Seite ist der Transkriptionsfaktor auch ein Regulator vieler Virulenzfaktoren (z.B. Familie der Sap- oder Als-Proteine). Schröppel *et al.* (2000) konnten zeigen, dass die Expression von *SAP4*, *SAP5* und *SAP6* während des Hyphenwachstums Efg1p-abhängig ist. Auch die der Zelloberflächenproteine Als1p, Als3p und Hwp1p wird durch den Transkriptionsfaktor aktiviert (Hoyer *et al.*, 1998; Sharkey *et al.*, 1999; Fu *et al.*, 2002). Darüber hinaus wurde gezeigt, dass Efg1p in der Lage ist, direkt an den Promotor von *ALS3* zu binden (Leng *et al.*, 2001). Die Adhäsion von *efg1*-Mutantenzellen an Säugerzellen und künstliche Oberflächen wie beispielsweise Kunststoffen (Kathetern etc.) ist als Konsequenz der niedrigen Expression dieser Gene stark herabgesetzt (Kumamoto und Vines, 2005). Weitere Efg1p-abhängige Virulenzfaktoren sind die Proteine Rbt1p und Rbt4p, deren Funktion noch unbekannt ist (Braun *et al.*, 2000), sowie Hgc1p, das hyphenspezifische G1-Cyclin (1.2.1) (Zheng und Wang, 2004).

Efg1p ist ein zentraler Regulator von Prozessen in *C. albicans*. Auch der Metabolismus des humanpathogenen Pilzes wird durch ihn kontrolliert. In einer genomweiten Transkriptomanalyse von *efg1*-Mutanten wurde festgestellt, dass Efg1p für die Aktivierung beinahe aller glykolytischen Genen und die Repression des oxidativen Stoffwechsels verantwortlich ist (Doedt *et al.*, 2004). Wieder zeigte sich die bivalente Funktion des APSES-Proteins als Aktivator und Repressor der Genregulation.

Die Abhängigkeit der Hyphenbildung und der Expression vieler Virulenzfaktoren von Efg1p verdeutlicht die Bedeutung dieses Transkriptionsfaktors für die Virulenz von *C. albicans*. Seine Regulation über mehr als einen Signaltransduktionsweg führt dazu, dass verschiedene Virulenzfaktoren in den einzelnen Gewebetypen des Menschen, u.a. mit Hilfe anderer Transkriptionsfaktoren wie Cph1p, exprimiert werden können (s. auch Abb. 1). Auch der Dimorphismus wird für das Besiedeln unterschiedlicher Nischen im menschlichen Körper benötigt. Wechselnde Lebensräume bedeuten allerdings auch eine Konfrontation mit Unterschieden im Sauerstoffgehalt der Umgebung. Die Tatsache, dass *efg1*-Mutanten unter mikroaerophilen Bedingungen einen entgegen gesetzten Phänotyp als unter aeroben Bedingungen zeigen, macht deutlich, dass der Sauerstoffgehalt der Umgebung einen großen Einfluss auf die Morphologie und möglicherweise auch auf die Expression von Virulenzfaktoren besitzt. Die Genregulation unter hypoxischen Bedingungen ist in *C. albicans* noch weitestgehend unbekannt. Im nächsten Kapitel wird die Bedeutung hypoxischer Bedingungen sowie die Regulation der hypoxischen Antwort in *S. cerevisiae* und Säugerzellen beschrieben.

### 1.3 Hypoxische Anpassung

Der menschliche Organismus bietet dem humanpathogenen Pilz *C. albicans* viele unterschiedliche Nischen. Der einzellige Pilz kann sich im Blutkreislauf, auf der Hautoberfläche oder in Schleimhäuten (oral, nasal, vaginal) des Menschen aufhalten, wo ein hoher Prozentsatz an Sauerstoff verfügbar ist. In Organen (z.B. Darm, Nieren), allgemein in tieferen Schichten von Geweben und in den menschlichen Zellen selbst nimmt der Sauerstoffgehalt stark ab. In Mitochondrien herrschen hypoxische Bedingungen bis zu unter 1 % O<sub>2</sub> (Tsai *et al.*, 1998; Baumgartl *et al.*, 2002). Bei der Infektion des menschlichen Körpers muss *C. albicans* in der Lage sein, mit diesen unterschiedlichen Sauerstoffkonzentrationen zurechtzukommen und darauf zu reagieren. Die Verfügbarkeit von molekularem Sauerstoff ist für alle eukaryontischen Organismen von entscheidender Bedeutung. Eine wichtige Rolle besitzt der Sauerstoff z.B. bei der Fluidität der Zellmembran. Die Membranfluidität ist auf die Lipidzusammensetzung, insbesondere auf den Anteil an ungesättigten Fettsäuren, zurückzuführen. Für die Synthese der ungesättigten Fettsäuren, die von so genannten Desaturasen katalysiert werden, ist molekularer Sauerstoff essentiell (McDonough *et al.*, 1992; Choi *et al.*, 1996).

Eine noch wichtigere Bedeutung hat der Sauerstoff für eine effiziente Energiegewinnung. Die Energie der Zelle (in Form vom ATP) wird im Wesentlichen aus drei Reaktionsabläufen gewonnen (Glykolyse, Zitratzyklus und Atmungskette). Unter aeroben Bedingungen laufen diese drei Prozesse nacheinander ab und liefern so, pro eingesetztes Molekül Glucose, 38 ATP. Der Großteil der Energie (36 ATP) wird dabei in der Atmungskette, welche an der inneren Mitochondrienmembran stattfindet, gewonnen. Dabei wird, mit Hilfe der aus dem Citratzyklus gewonnenen Reduktionsäquivalenten, ein Protonengradient über der Membran aufgebaut. Die zurückfließenden Protonen treiben die ATP-synthetisierende F<sub>1</sub>F<sub>0</sub>-ATPase an und verbinden sich dann mit dem molekularen Sauerstoff zu Wasser. Unter anaeroben Bedingungen kann die Atmungskette und somit ein Großteil der Energiegewinnung nicht ablaufen. Um zumindest eine fortlaufende anaerobe Energiegewinnung mittels Glykolyse zu sichern, muss das während der Substratphosphorylierung zu NADH umgesetzte NAD<sup>+</sup> regeneriert werden. Der Wasserstoff wird dabei ohne weiteren Energiegewinn auf organische Elektronenakzeptoren wie z.B. Pyruvat übertragen. Rein netto werden hier lediglich zwei Moleküle ATP pro umgesetzte Glukose gewonnen. Im Gegensatz zu den Eukaryonten sind einige Bakterien in der Lage, auch unter anaeroben Bedingungen eine Atmung durchzuführen. Bei diesem Prozess dienen anorganische (z.B. Schwefel, Nitrat, Eisen) oder auch organische Substanzen (z.B. Fumarat, Succinat) als terminale Elektronenakzeptoren. Auch einige mehrzellige Organismen, wie z.B. Pogonophoren (Stamm: *Annelida*) sind in der Lage unter anaeroben Bedingungen zu leben, indem sie Symbiosen mit anaeroben Bakterien eingehen.

Je nach ihrer Beziehung zum Sauerstoff teilt man die Organismen in verschiedene Klassen auf. Neben den obligat anaeroben und obligat aeroben Organismen existieren jene, die beide Stoffwechselformen ausführen können, bzw. das Vorhandensein von Sauerstoff tolerieren (fakultativ anaerob, aerotolerant). Eine weitere Gruppe ist die der mikroaerophil lebenden Organismen. Unter den humanpathogenen Mikroorganismen findet man das gesamte Spektrum an Beziehungen zum Sauerstoff. Neben obligat aeroben Pathogenen, wie z.B. *Pseudomonas aeruginosa* und *Mycobacterium tuberculosis*, gibt es auch obligat anaerobe wie den Erreger des Botulismus *Clostridium botulinum* oder auch *Actinomyces israelii*. Die meisten der humanpathogenen Mikroorganismen sind allerdings in der Gruppe der fakultativ anaeroben

Gruppe zu finden. Hierzu gehören z.B. *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi* oder *Corynebacterium diphtheriae*.

### 1.3.1 Hypoxische Antwort in der Bäckerhefe *S. cerevisiae*

Aufgrund der engen Verwandtheit von *C. albicans* zum Modellorganismus *S. cerevisiae* wird die hypoxische Antwort der Bäckerhefe im Folgenden genauer erläutert. Die Bäckerhefe ist ein fakultativ anaerober Organismus. Das heißt, dass die Energiegewinnung sowohl durch die Atmung als auch durch Gärungsprozesse gewonnen werden kann. Unter anaeroben Bedingungen werden Kohlenstoffquellen zu Ethanol und Kohlendioxid fermentiert, um einen Grundumsatz an ATP gewährleisten zu können. Die Gärung ist allerdings auch bei aerobem Wachstum möglich, wenn die Glucosekonzentration etwa 100 mg/l übersteigt, was dem so genannten Crabtree-Effekt zugrunde liegt (Gancedo, 1992; ter Linde *et al.*, 1999).

Die Umstellung des Metabolismus der Hefe ist nicht der einzige Vorgang, der reguliert werden muss, wenn den Zellen kein Sauerstoff mehr zur Verfügung steht. Hypoxische Bedingungen sind beispielsweise ein Stressfaktor für die Zelle, so dass die Stressantwort aktiviert werden muss. Die Kontrolle der hypoxischen Antwort auf molekularer Ebene erfolgt zunächst über die sauerstoffabhängige Hämbiosynthese. Unter normoxischen Bedingungen sammelt sich Häm in der Zelle an und aktiviert den Transkriptionsaktivator Hap1p (**H**eme **A**ctivator **P**rotein), der wiederum Gene des aeroben Wachstums (z.B. Gene der Atmungskette) induziert (Zhang und Hach, 1999). Neben der Aktivierung normoxischer Gene müssen zusätzlich hypoxische Gene reprimiert werden. Dies geschieht durch den Häm-Hap1p-Komplex, der die Expression von *ROX1* (**R**epressor **O**f hypo**X**ic genes) induziert (Zitomer *et al.*, 1997). Rox1p ist ein DNA-Bindeprotein mit N-terminaler HMG-Domäne, dessen reprimierende Eigenschaften durch den Transkriptionsfaktor Mot3p noch verstärkt werden (Grishin *et al.*, 1998; Deckert *et al.*, 1999; Kastaniotis und Zitomer, 2000). Beide Proteine verhindern die Expression hypoxischer Gene während des aeroben Wachstums (Sertil *et al.*, 2003).

Unter hypoxischen Bedingungen wird die Hämproduktion eingestellt, *ROX1* nicht mehr transkribiert und dadurch die Expression hypoxischer Gene dereprimiert. Zu diesen gehören z.B. Gene der DAN/TIR-Gruppe sowie Ergosterolbiosynthesegene (Hongay *et al.*, 2002; Sertil *et al.*, 2003). *DAN/TIR*-Gene kodieren für Zellwand-Mannoproteine, die für die Zellen während des anaeroben Wachstums essentiell sind (Cohen *et al.*, 2001). *ANB1* und *HEM13* sind zwei weitere Gene, deren Expression unter hypoxischen Bedingungen Rox1p/Mot3p-abhängig dereprimiert werden (Keng, 1992; Kastaniotis *et al.*, 2000). *ANB1* (**A**Naero**B**ically induced) kodiert für einen Translations-Initiationsfaktor (eIF-5A), der speziell unter anaeroben Bedingungen die erste Peptidbindung am Ribosom begünstigt (Schwelberger *et al.*, 1993). Auch *HEM13* (**H**EME biosynthesis) wird lediglich bei Sauerstoffmangel benötigt und kodiert für die Coproporphyrinogen III Oxidase, die den sechsten Schritt des Hämbiosynthesewegs katalysiert. Ist genügend Sauerstoff vorhanden wird die Transkription der Oxidase über Häm und Rox1p gehemmt (Zagorec *et al.*, 1988; Keng, 1992). Für die vollständige Repression von *ANB1* und *HEM13* unter aeroben Bedingungen wird außerdem der Repressorkomplex Tup1p/Ssn6p benötigt (Zhang und Guarente, 1994; Mennella *et al.*, 2003).

Die hypoxische Genregulation von *S. cerevisiae* kann auch über Rox1p-unabhängige Signalwege vermittelt werden. Die Expression des Zellwand-Mannoproteins Srp1p bzw. Tir1p ist zwar von Häm abhängig, wird dann aber über den Repressor Ord1p und den Aktivator Yap1p kontrolliert. Bei einem sauren pH wird die Expression reprimiert, bei Stress (niedrigen Temperaturen) und

Hypoxie induziert, indem Yap1p der Repression durch Ord1p entgegenwirkt (Kitagaki *et al.*, 1997; Bourdineaud *et al.*, 2000). Die Genregulation anderer Dan/Tir-Proteine durch Häm kann auch über die Inhibierung der Expression von *MOX4* bzw. *UPC2* kontrolliert werden (Abramova *et al.*, 2001). Beide, Rox1p und Upc2p, regulieren die meisten der hypoxisch aktivierten Gene in *S. cerevisiae* (Kwast *et al.*, 2002).

Genomweite Transkriptomanalysen von *S. cerevisiae* unter hypoxischen Bedingungen konnten zeigen, dass Rox1p und andere Faktoren wie Upc2p für die Regulation dissimilatorischer Prozesse, der mitochondriale Funktion und des Metabolismus für Reservekohlenhydrate zuständig sind. Es stellte sich heraus, dass Rox1p insbesondere für die Umstellung des Sterol- und Lipidmetabolismus verantwortlich ist. Zudem werden auch Gene beeinflusst, die für den Umbau der Zellwand und der Zellmembran benötigt werden. Zu diesen gehören z.B. Zellwandproteine, modifizierende Enzyme, Proteine für den Vesikelverkehr sowie Enzyme für Lipid- und Sterolbiosynthese (Kwast *et al.*, 2002).

### 1.3.2 Hypoxische Antwort in Säugerzellen

In der Welt der Mikroorganismen sind viele Vertreter (z.B. anaerobe Bakterien) bekannt, die unter hypoxischen oder gar anaeroben Bedingungen leben können und deren Stoffwechsel an eine sauerstoffarme Umgebung angepasst ist. Je höher entwickelt der Organismus, desto weniger Vertreter ihrer Gattung sind in der Lage, eine längere Periode mit Sauerstoffmangel zu überleben. Ein Beispiel hypoxisch toleranter Tiere ist die Süßwasserschildkröte *Trachemys*, die während der Winterzeit mehrere Monate fast ohne Sauerstoff auskommt. Auch das Gehirn von Neugeborenen ist extrem tolerant gegenüber Sauerstoffmangel. Dies liegt dem geringeren Energieverbrauch durch die niedrige Reizbarkeit im frühen Stadium der Entwicklung zugrunde (Lutz *et al.*, 1996). Säugerzellen wie beispielsweise Muskelzellen müssen ihren Stoffwechsel zeitweilig auf anaerobe Bedingungen umstellen können. Kohlenhydrate werden fermentiert, so dass sich Lactat im Muskelgewebe ansammelt (Hoppeler *et al.*, 2003). Endothelzellen sind ein weiterer hypoxisch toleranter Säugerzelltyp, die unter diesen Bedingungen u.a. vermehrt Stress- und glykolytische Proteine exprimieren (Graven und Farber, 1998). Seit einigen Jahren ist durch die Tumorforschung bekannt, dass hypoxische Bedingungen die Zellproliferation und somit die Aggressivität bösartiger Krebszellen fördern. Dies ist darauf zurückzuführen, dass die Expression einiger Gene, welche die Zelldifferenzierung beeinflussen, aktiviert bzw. reprimiert werden (Axelson *et al.*, 2005).

Der Verlauf einer hypoxischen Antwort in Säugerzellen beginnt damit, dass ein Sauerstoffmangel über Sensoren der Membran erkannt wird, und eine Signalweiterleitung in Gang gesetzt wird. Bei einer Hypoxie muss Energie in Form von ATP eingespart werden. Da Proteinbiosynthese, Na<sup>+</sup>K<sup>+</sup>-Pumpen und Glukoneogenese die meiste Energie verbrauchen, werden deren Biosynthese bzw. Aktivität herunter reguliert (Buck und Hochachka, 1993; Land *et al.*, 1993; Land und Hochachka, 1994). Des Weiteren werden ATP-Biosynthesewege unter hypoxischen Bedingungen reprimiert (Hochachka *et al.*, 1996). Anschließend erfolgt die Aktivierung des Transkriptionsfaktors HIF-1 (hypoxia inducible factor1) und des Elongationsfaktors EF1 $\alpha$ . Wie das Rox1-Protein von *S. cerevisiae* (1.3.1) ist auch HIF-1 der Säugerzellen ein wichtiger Regulator der hypoxischen Genexpression. Prolylhydroxylasen (PHD1-3) benötigen für die Hydroxylierung von HIF-1 $\alpha$  molekularen Sauerstoff und sind somit Sauerstoffsensoren der Säugerzellen (Bruick und McKnight, 2001; Schumacker, 2002). Die Hydroxylierung führt unter normoxischen Bedingungen zur Degradation des

Transkriptionsregulators (Salceda und Caro, 1997; Huang *et al.*, 1998), so dass die Aktivierung hypoxischer Gene nicht stattfinden kann. Unter hypoxischen Bedingungen hingegen sind Prolylhydroxylasen inaktiv, so dass HIF-1 $\alpha$  in den Zellkern translozieren kann, um dort an die HIF-1 $\beta$ -Untereinheit zu binden. Das Dimer aus den beiden Untereinheiten bindet anschließend an HREs (hypoxic recognition elements) in der Promotorregion hypoxischer Gene (Semenza, 1998). Durch die Interaktion mit dem Co-Aktivator p300/CBP wird die Expression dieser Gene schließlich induziert. Zu den HIF-1 aktivierten Genen gehören u.a. Gene für die Erythropoietin (EPO)-Synthese, den vascular endothelial growth factor (VEGF) und für die Glykolyse wie *Aldoa*, *Eno1* und *Ldh1* (Semenza *et al.*, 1996; Wenger, 2002). In *S. cerevisiae* hingegen wird die Glykolyse unter aeroben Bedingungen nicht induziert. Stattdessen wird die Transkriptmenge dieser Gene auf einem hohen Level gehalten, so lange genügend Glukose als Substrat vorhanden ist (1.3.1). Zu den HIF-1 hypoxisch reprimierten Genen gehören beispielsweise diejenigen des oxidativen Stoffwechsels, wie die des Tri-Carbonsäure-Zyklus oder der Glukoneogenese.

#### 1.4 Zielsetzung

Bei der Infektion des menschlichen Körpers kann *C. albicans* in einer Vielzahl von „Nischen“ (z.B. Haut, Gewebe, Blut, Organe, Makrophagen) nachgewiesen werden. Diese unterscheiden sich unter anderem in Temperatur, Oberflächenkontakt und vor allem in ihrem Sauerstoffgehalt. Für eine erfolgreiche Infektion ist es für den humanpathogenen Pilz essentiell sein Transkriptom an die jeweiligen, verschiedenen Bedingungen anzupassen. Ziel dieser Arbeit war es, die Bedeutung und den Einfluss eines Sauerstoffmangels auf die Morphologie und das Transkriptom aufzuklären. Insbesondere sollte die Rolle des Transkriptionsfaktors Efg1p unter hypoxischen Bedingungen mittels Microarray-Analysen untersucht und anschließend durch Northernblot- oder Real-time RT-PCR-Analysen verifiziert werden. Da bereits erste Anhaltspunkte vorhanden waren, dass auch *CaRim15p* und *CaSch9p* eine Rolle bei der hypoxischen Antwort spielen sollte auch deren Bedeutung untersucht werden.

## 2 Material und Methoden

### 2.1 Chemikalien, Gase und Enzyme

In dieser Arbeit verwendete Chemikalien und Enzyme wurden von folgenden Firmen bezogen: Amersham (Braunschweig), Biorad (München), B. Braun (Melsungen), Calbiochem (Bad Soden), Dianova (Hamburg), Difco (Michigan), Fluka (Buchs, Schweiz), Gibco BRL (Eggenstein), Kodak (New Haven), Merck AG (Darmstadt), MBI Fermentas (St. Leon Rot), Millipore (Eschborn), MoBiTec (Göttingen), New England Biolabs (Schwalbach), Oxoid (Wesel), Pharmacia (Freiburg), Pierce (Rockford), Promega (Madison), Qiagen (Hilden), Riedel-De Haen (Hannover), Roche (Mannheim), Roth (Karlsruhe), Schott (Mainz), Serva Feinbiochemica (Heidelberg), Sigma (Deisenhofen), Whatman (Maidstone, GB), Zymo research/HISS (Freiburg). Soweit nicht anders vermerkt wurden Chemikalien der Güteklasse reinst oder p.a. verwendet.

Genutzte Gase stammen von der Firma Air Liquide (Krefeld).

### 2.2 Stämme und Medien

#### 2.2.1 *C. albicans*-Stämme

Tab. 1: In dieser Arbeit verwendete *C. albicans*-Stämme

Stamm	Genotyp	Quelle/Referenz
CAF2-1	<i>URA3/ura3::imm434</i>	Fonzi und Irwin, 1993
CAI4	<i>ura3::imm434/ura3::imm434</i>	Fonzi und Irwin, 1993
AS1	wie CAI4, aber <i>tpk2::hisG/tpk2::hisG</i>	Gerads, pers. Mitteilung
IIHH6-4a	wie CAI4, aber <i>tpk1::hisG/tpk1::hisG</i>	Gerads, pers. Mitteilung
CAR23-7-5-1	wie CAI4, aber <i>rim15::hisG/rim15::hisG</i>	Setiadi, 2002
CAS2	wie CAI4, aber <i>SCH9/sch9::hisG</i>	Giasson, pers. Mitteilung
CAS4	wie CAI4, aber <i>sch9::hisG/sch9::hisG</i>	Giasson, pers. Mitteilung
C4/d63	wie CAI4, aber <i>efh1::hisG/efh1::hisG-URA3-hisG</i>	Doedt <i>et al.</i> , 2004
C4/d63-1	wie CAI4, aber <i>efh1::hisG/efh1::hisG</i>	Doedt <i>et al.</i> , 2004
HLC52	wie CAI4, aber <i>efg1::hisG/efg1::hisG-URA3-hisG</i>	Lo <i>et al.</i> , 1997
HLC67	wie CAI4, aber <i>efg1::hisG/efg1::hisG</i>	Lo <i>et al.</i> , 1997
H/1.22	wie HLC67, aber <i>efh1::hisG/efh1::hisG-URA3-hisG</i>	Doedt <i>et al.</i> , 2004
H/1.22.1	wie HLC67, aber <i>efh1::hisG/efh1::hisG</i>	Doedt <i>et al.</i> , 2004
CAI-URA3	<i>ura3::imm434/ura3::URA3</i>	Park <i>et al.</i> , 2005
DSC10	wie HLC67, aber <i>ura3::imm434/ura3::URA3</i>	Park <i>et al.</i> , 2005
HPY300U	wie IIHH6-4a, aber <i>ura3::imm434/ura3::URA3</i>	Park <i>et al.</i> , 2005
HPY400U	wie AS1, aber <i>ura3::imm434/ura3::URA3</i>	Park <i>et al.</i> , 2005
HLCE	wie HLC67, aber <i>efg1::hisG/efg1::[EFG1p-URA3]</i>	Lengeler, pers. Mitteilung

Stamm	Genotyp	Quelle/Referenz
HLCE/EFG1	(pTD38/ <i>PacI</i> integriert in <i>EFG1p</i> ) wie HLC67, aber <i>efg1::hisG/efg1::[EFG1p-HA-EFG1-URA3]</i> (pTD38-HA/ <i>PacI</i> integriert in <i>EFG1p</i> )	Noffz, pers. Mitteilung
CAE1-5, CAE1-6	wie CAI4, aber <i>EFG1p</i> (+5'UTR)- <i>RLUC-URA3</i> (pSKM46a/ <i>HpaI</i> integriert im <i>EFG1</i> -Promotor)	diese Arbeit
CFLJ-1, CFLJ-2	wie CAF2-1, aber <i>OLE1/ole1::RLUC-SAT</i> (integriertes PCR-Fragment mit Primern OLE1p- Rluc/for und OLE1-SAT/rev auf pRluc-SAT)	Albert, 2004
EGLJ-A, EGLJ-B	wie HLC52, aber <i>OLE1/ole1::RLUC-SAT</i> (integriertes PCR-Fragment mit Primern OLE1p- Rluc/for und OLE1-SAT/rev auf pRluc-SAT)	diese Arbeit
CAA2-1	wie CAF2-1, aber <i>ACC1/acc1::RLUC-SAT</i> (integriertes PCR-Fragment mit Primern ACC1p- Rluc-for und ACC1-SAT-rev auf pRluc-SAT)	diese Arbeit
HLA67-1	wie HLC67, aber <i>ACC1/acc1::RLUC-SAT</i> (integriertes PCR-Fragment mit Primern ACC1p- Rluc-for und ACC1-SAT-rev auf pRluc-SAT)	diese Arbeit
CAP2-1	wie CAF2-1, aber <i>PDB1/pdb1::RLUC-SAT</i> (integriertes PCR-Fragment mit Primern PDB1p- Rluc-for und PDB1-SAT-rev auf pRluc-SAT)	diese Arbeit
HLP52-1	wie HLC52, aber <i>PDB1/pdb1::RLUC-SAT</i> (integriertes PCR-Fragment mit Primern PDB1p- Rluc-for und PDB1-SAT-rev auf pRluc-SAT)	diese Arbeit

## 2.2.2 Medien

LB	: 0,5 % Hefeextrakt, 1% Trypton, 0,5 % NaCl
YPD	: 1 % Hefeextrakt, 2 % Pepton, 2 % Glukose
YPS	: 1 % Hefeextrakt, 2 % Pepton, 2 % Saccharose
SD	: 0,67 % YNB (Yeast Nitrogen Base, ohne Aminosäuren aber mit Ammoniumsulfat), 2 % Glukose; pH 6,9
SS	: 0,67 % YNB (Yeast Nitrogen Base, ohne Aminosäuren aber mit Ammoniumsulfat), 2 % Saccharose; pH 6,9
Serumplatten	: 5-10 % Pferdeserum, 2 % Agar
YPS (pH 4,5)	: 1 % Hefeextrakt, 2 % Pepton, 2 % Saccharose, 2 % Agar ad 533 ml H <sub>2</sub> O, nach autoklavieren + 67 ml Phosphat-Citrat-Puffer (1 M Zitronensäure, 1,6 M K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> [x 3 H <sub>2</sub> O]; pH 4,5 mit fester Zitronensäure)

Festen Medien wurden, falls nicht anders vermerkt, 1,5 % Agar hinzugefügt.

Zur Selektion des *SATI*-Markers wurde dem YPD-Medium 100 µg/ml Nourseothricin hinzugegeben.

### 2.2.3 Medien mit Antimykotika

Zur Phänotypisierung von *C. albicans* Stämmen unter verschiedenen Bedingungen wurde deren Sensitivität gegen unterschiedliche Substanzen getestet. Es wurden YPD-Platten angefertigt, denen nach dem Autoklavieren die entsprechende Chemikalie zusetzt wurde. Vor der Zugabe der zu testenden Substanz wurde der Agar auf mindestens 50°C abgekühlt.

**Tab. 2: Verwendete Substanzen mit den jeweils eingesetzten Konzentrationen**

Testsubstanz	Firma	Stammlösung	Lösungsmittel	Konzentration im YPD-Agar
Clotrimazol	Sigma	10 mg/ml	DMSO	2 µg/ml
Congo red	Sigma	25 mg/ml	dH <sub>2</sub> O	200 µg/ml
Fluconazol	Sigma	5 mg/ml	Aceton	5 µg/ml
Hygromycin B	Calbiochem.	394 mg/ml	dH <sub>2</sub> O	200 µg/ml
Ketoconazol	Sigma	25 mg/ml	DMSO	15 µg/ml
SDS	Sigma	10 %	dH <sub>2</sub> O	0,06 %

## 2.3 Anzucht von *C. albicans*-Stämmen

### 2.3.1 Anzucht unter normoxischen Bedingungen

Flüssigkulturen von *C. albicans*-Stämmen wurden bei 30 °C in YPD- oder zur Selektion in SD-Medium angezogen. Zur Charakterisierung auf unterschiedlichen festen Medien wurde die Temperatur zwischen 24 °, 30 ° und 37 °C variiert.

### 2.3.2 Anzucht unter hypoxischen Bedingungen

Zum einen wurden mikroaerophile Bedingungen mittels einer chemischen Reaktion in einem luftdicht abgeschlossenen Gefäßes der Firma OXOID (Wesel) nach Herstellerangaben generiert. Andererseits wurden hypoxische Bedingungen durch konstante Begasung definierter Gasmischungen erzielt (Tab. 3). Die Begasung flüssiger Medien erfolgte in einer 500ml Gasflasche mit Filterplättchen und einem Schraubverschluss mit Drechsel-Kopf der Firma SCHOTT (Mainz). Zur Anzucht auf festen Medien wurde ein luftdicht verschließbarer Kasten verwendet, an dem sich zwei Öffnungen zur Begasung befanden. Je nach Gaszusammensetzung wurden die Zellen 2-7 Tage bei 24 oder 37 °C inkubiert. Die Durchflussrate der Begasung betrug etwa 280 cm<sup>3</sup>/min.

**Tab. 3: Gasmischungen zur Herstellung hypoxischer Bedingungen**

Bezeichnung	Sauerstoff	Kohlendioxid	Stickstoff	Hersteller
Gas N	≤ 0,1 %	0 %	99,9 %	Air Liquide
Gas NC	≤ 0,1 %	6 %	93,9 %	Air Liquide

### 2.3.3 Hypheninduktion auf festen Medien

Zur Hypheninduktion auf festen Medien wurden Serumplatten verwendet. Diese enthielten 2 % Agar und 10 % Pferdeserum. Die Hyphenbildung wurde bei 37°C induziert und wurde nach etwa zwei Tagen fotografisch dokumentiert.

Die Hypheninduktion konnte auch auf „Mangelmedium“ erfolgen. Hierzu wurden „Spider-Platten“ (Liu *et al.*, 1994) bestehend aus 1 % Nutrient Broth, 1 % Mannitol, 0,2 % K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> und 1,35 % Agar hergestellt. Die Inkubation der Stämme erfolgte für 2-5 Tage bei 37°C.

## 2.4 Plasmide und Primer

### 2.4.1 Plasmide

Tab. 4: Im Rahmen dieser Arbeit eingesetzte Plasmide

Name	Selektionsmarker/ Replikationsmodul	Beschreibung	Quelle
pUC18	Amp <sup>R</sup> /kein	<i>E. coli</i> Klonierungsvektor	Yanisch-Perron <i>et al.</i> , 1985
pUC19	Amp <sup>R</sup> /kein	<i>E. coli</i> Klonierungsvektor	Yanisch-Perron <i>et al.</i> , 1985
pUC21	Amp <sup>R</sup> /kein	<i>E. coli</i> Klonierungsvektor	Vieira und Messing, 1991
pMOS-BLUE	Amp <sup>R</sup> /kein	<i>E. coli</i> Klonierungsvektor	Fa. Amersham
p1367/1	Amp <sup>R</sup> , <i>CaURA3</i> / kein	<i>CaURA3</i> -Gen in pUC18	Losberger und Ernst, 1989
pMOS+SCH9disI	Amp <sup>R</sup> /kein	PCR-Produkt <i>SCH9disI</i> ( <i>Bam</i> HI/ <i>Bg</i> II) in pMOS-Blue	diese Arbeit
pRLUC-SAT	Amp <sup>R</sup> , <i>SAT1</i> /kein	Ligation von <i>RLUC</i> (aus pRLnull/ <i>Xba</i> I+ <i>Nhe</i> I) in pFC1/ <i>Xba</i> I	Cottier, pers. Mitteilung
pSKM46a	Amp <sup>R</sup> , <i>CaURA3</i> / kein	<i>mEFG1p-RLUC</i> in p1367/1	Krishnamurthy <i>et al.</i> , 2004
pSKM58b	Amp <sup>R</sup> /kein	Ligation von invertiertem <i>PCK1-OLE1</i> in pMOS-Blue	Krishnamurthy <i>et al.</i> , 2004
pTD38	Amp <sup>R</sup> , <i>CaURA3</i> / kein	<i>mEFG1p+UTR</i> aus pTD26/ <i>Sph</i> I in p1367/1	Doedt, pers. Mitteilung
pTD38/HA	Amp <sup>R</sup> , <i>CaURA3</i> / kein	Ligation von <i>EFG1-HA</i> (aus pBI-HAHYD/ <i>Bg</i> II) in pTD38	Lengeler, pers. Mitteilung

## 2.4.2 Primer

**Tab. 5: Oligonukleotide für Kolonie-PCR**

Name	Sequenz
ACC1p-ver	5'-CCTTTCAGTCTGAGGAAC-3'
EFG1p-ver	5'-GCTACCATTATTCATTGC-3'
FLO1p-ver I	5'-GCAGCTTTTTATCACCACAC-3'
MDH1p-ver	5'-GGTTGAAGTTGTAACCGGA-3'
OLE1p-for	5'-GTATACAGTTCAAACTGCTC-3'
PDB1p-ver I	5'-CGTATTGATACCTCTCACAAG-3'
PDB1p-ver	5'-CGAACACGAACACGAACCAG-3'
RLUC-rev	5'-ATATGTGGCACAACATGTTCG-3'

**Tab. 6: Oligonukleotide für Luziferasekonstruktionen**

Name	Sequenz
ACC1p-Rluc-for	5'-GACAAAGCAGGAACCCAACAATAAATGAATAAACACTCAAAAACCTA CTCACAACAACAACACTTATTTTCACTTGCTTTATTTCTTCGATTTTTTAT GACTTCGAAAGTTTATGATC-3'
ACC1-SAT-rev	5'-CAACAACACTACTACTTTTCAATGTCATTAATAAAGTTGAATTAATGG AAACCACTTCTACTTCAATGCCTTGAGGAATTTCTCTTTATCTTCTTTTGA CACCAGATTTCCAGATTTCCAG-3'
FLO1p-Rluc-for	5'-GGACTAATTAATCATCTTCATATCAAATATCATTAATCTTTTGATCAA TTAATTCACACTCGCTTTAATTAATTTATCAAATCCAAGAAATAATAATA ATAATGACTTCGAAAGTTTATGATC-3'
FLO1-SAT-rev	5'-GGTATATTGTCTTATGCGAAATAGTTGATTGTGAATCAAAGTGTGAA TGGAGAATGTTAAACTTAAATGAAATAAGCTAATGGAATCAAAGCTAA AGCACCAGATTTCCAGATTTCCAG-3'
MDH1p-Rluc-for	5'-CCTTTCCTTTTCTTTTCTTTTCTTTTCTTTTCTTTTCTTTTCTTTGTAATTGATT TTTATTCATTCAATTGACAATTGCATCTATTTCATAAAAAAATGACTTCGAA AGTTTATGATC-3'
MDH1-SAT-rev	5'-CTGACGTCTGGGGAACCTTGAAGAAAAAAAAAATACGTATCCAAAC CCTCCTTTTTCACCAGTACAAAATACTTTTTCGAAGTCAATAAATATATTCT ACACCAGATTTCCAGATTTCCAG-3'
OLE1p-Rluc/for	5'-CTAAACCACAACGTCCAAAAGTCATCGATCAAGTAACACATACT GTTATTACAAGAACTTGAAAGTCAAGACCAAAAACAAATTAGCATT CACAATGACTTCGAAAGTTTATGATC-3'
OLE1-SAT/rev	5'-CAACCAGCAATTTTCTATTTGCCTAAGATTGCTTTTCTTCTCC ATCATTTGTTCTTGTAATCAAAAAGTGTGACGCGTAACTTCACCAT CTTAACTACCAGATTTCCAGATTTCCAG-3'
PDB1p-Rluc-for	5'-GTTGCGGAACCTCTTTCTTTAAAAAAGACCACATCTCGAAAAC CTTCTACACTTGATTTATTATCACCTAGCCAAAAGAGTTTACTCATTAC AAATGACTTCGAAAGTTTATGATC-3'
PDB1-SAT-rev	5'-CGTATCAAGGGTCTATTTATTATACTTACCTTCAAAGAATATTTACT CTCTATATATACTTTTCTTTTCATGTCTTTCATGTCTATCTGTTACCAGA TTCCAGATTTCCAG-3'

**Tab. 7: Oligonukleotide für Real-time RT-PCR.** Die Oligonukleotidsequenzen wurden mit Hilfe des Programms „Real-time PCR Primer Design“ (<https://www.genscript.com/ssl-bin/app/primer>) ausgewählt.

Name	Sequenz
ACT1(RT)-f	5'-TTGGATTCTGGTGATGGTGT-3'
ACT1(RT)-r	5'-TGGACAAATGGTTGGTCAAG-3'
CDR1(RT)-f	5'-GCCGGTCAAATTACATCAGA-3'
CDR1(RT)-r	5'-CACCTCGAGGATTGACAGAA-3'
EFG1(RT)-for	5'-TAACGGAACCAAATTGCTCA-3'
EFG1(RT)-rev	5'-CTTTCAAATGCATTGATCCG-3'
EFH1(RT)-f	5'-GCGAACAAGATGACGAAGAA-3'
EFH1(RT)-r	5'-CGTCACGTGTTTCCAATAATTT-3'
FAS2.3(RT)-f	5'-TGTTGCCAAAGACAAAGCTC-3'
FAS2.3(RT)-r	5'-TTGGCTCGATTGAATTGTTT-3'
OLE1(RT)-f	5'-AACTTCCATCACGAATTCCC-3'
OLE1(RT)-r	5'-CTTCAAGTTCCAGCCAATC-3'
RIM15(RT)-for	5'-TGGTGGTCTTGAATTGGTA-3'
RIM15(RT)-rev	5'-AATCGATGAGGTGATGCTGA-3'
SCH9(RT)-for	5'-TGGAAATAGCCACAACCTCCA-3'
SCH9(RT)-rev	5'-GACCCAGGAGGTCTAAATGC-3'

**Tab. 8: Oligonukleotide zur Synthese von Northernblot-Sonden**

Name	Sequenz
ACC1nor-for	5'-CCATGGTCCGGTACTGG-3'
ACC1nor-rev	5'-CCCCACACATTAGAAG-3'
MDH1nor-for	5'-CCTCTTCTGCTTCC-3'
MDH1nor-rev	5'-CCATCAACGCCTAAGG-3'
PDB1nor-for	5'-GGAGTGCTAAATTAGC-3'
PDB1nor-rev	5'-GCGGCTTCAACGGC-3'

## 2.5 Präparation und Analyse von Nukleinsäuren

### 2.5.1 Isolierung von Plasmid-DNA aus *E. coli*

Zur Isolierung von Plasmid-DNA für analytische Zwecke wurde die „Mini-Lysat“-Methode angewendet (Birnboim und Doly, 1979). DNA für präparative Zwecke wurde aus 50 ml LB amp-Kulturen mit Anionenaustauscher-Säulen der Firma Qiagen (Hilden) nach Angaben des Herstellers isoliert.

### 2.5.2 Isolierung chromosomaler DNA aus *C. albicans*

Die Präparation chromosomaler DNA erfolgte nach einer für *S. cerevisiae* entwickelten Methode (Sherman *et al.*, 1986). Dabei wurden die mit SCE/Zymolyase-Lösung behandelten Zellen (Sphäroplasten) durch Zugabe von SDS und Inkubation bei 65 °C aufgeschlossen. Die DNA

wurde mit absolutem Ethanol (p.A.) gefällt und mit einer Phenol/Chloroform Extraktion aufgereinigt.

### 2.5.3 Southernblot-Analyse

Mittels einer von Southern (1975) entwickelten Methode (Southernblot) kann DNA aus einem Agarosegel auf eine Membran transferiert werden. Anschließend ist die Sondierung spezifischer DNA-Sequenzen, durch die Hybridisierung mit markierten DNA-Fragmenten, möglich. Es wurde jeweils 1,5 µg DNA über Nacht mit jeweiligen Restriktionsenzymen geschnitten, danach gefällt, rückgelöst und in einem Agarosegel aufgetrennt. Der DNA-Transfer erfolgte mit Hilfe einer Vakuumblokkammer (LKB 2016 VacuGene, Pharmacia) nach Herstellerangaben. Die im Gel aufgetrennte DNA wurde hierfür zuerst 3 min denaturiert, 3 min neutralisiert und schließlich mit Transferpuffer auf die Nylonmembran (Hybond N, Amersham) übertragen. Nach dreiminütiger UV-Fixierung (312 nm) erfolgte die Prähybridisierung und die Hybridisierung mit Digoxigenin markierter Sonde bei 68 °C im Wasserbad. Die Detektion wurde mit Hilfe von polyklonalen Schaf-anti-Digoxigenin-Fab-Fragmenten von Boehringer (Mannheim) nach Angaben des beiliegenden Protokolls durchgeführt. Für den Nachweis spezifischer Hybride wurde die kolorimetrische Variante angewendet. Nach Zugabe von NBT (0,388 mg/ml) und X-Phosphat (0,175 mg/ml) zeigt sich im Bereich der hybridisierten Sonde eine Blaufärbung auf der Nylonmembran.

Denaturierungslösung: 1,5 M NaCl, 0,5 M NaOH

Neutralisierungslösung: 3 M Na-Acetat, pH 5,5

Transferpuffer: 3 M NaCl, 0,3 M Na-Citrat, pH 7,0

### 2.5.4 Isolierung von gesamt-RNA

Für die RNA-Isolierung aus *C. albicans*-Stämmen in Flüssigmedium wurden 50 ml Kulturen bei einer  $OD_{600} = 0,6$  geerntet (4 min, 3500 Upm). Das Zellpellet wurde mit Restüberstand resuspendiert und anschließend tröpfchenweise in einem mit flüssigem Stickstoff gefüllten Eppendorfggefäß aufgefangen. Die Zellkugeln wurden bei -70 °C bis zur eigentlichen Präparation aufgehoben.

Um Gesamt-RNA von Stämmen zu isolieren, die auf festen Medien angezogen wurden, mussten die Zellen mit 40 ml eiskaltem Medium von der Platte abgewaschen werden. Etwa 2-3 der sechs Sektoren der Platte wurden herunter gewaschen, so dass die  $OD_{600}$  ca. 0,7 erreichte. Hieraus wurden ebenfalls Zellkugeln in flüssigem Stickstoff getropft.

Für den Zellaufschluss wurden die gefrorenen Zelltröpfchen zusammen mit einem Metallkugeln ( $\varnothing$  7 mm) in ein vorgekühltes Teflonegefäß gegeben und in einem Micro-Dismembrator (B. Braun Biotech International GmbH, Melsungen) für 2 min bei 2.600 Upm gerüttelt. Der Zellstaub wurde anschließend in 2 ml Trizol<sup>®</sup> (Invitrogen) resuspendiert und nach Überführung in 2 Reaktionsgefäße (Eppendorf) für 1 min geschüttelt. Zur Dissoziation der Nukleoprotein-Komplexe folgte eine 5 minütige Inkubation bei RT. Nach einem Zentrifugationsschritt bei 12.000 Upm (10 min) wurde der Überstand in ein neues Eppendorfggefäß überführt, mit 0,4 Volumen Chloroform versetzt und 15 Sekunden mit der Hand geschüttelt. Anschließend wurde 3-10 min bei RT inkubiert und erneut zentrifugiert. Die obere, farblose Phase wurde wiederum in ein neues Gefäß pipettiert und mit 0,5 Volumen Isopropanol gemischt, um die RNA für 5-15 min

(RT) zu präzipitieren. Nach 10 minütiger Zentrifugation bei 12.000 Upm wurde das Pellet mit 1 ml 70 % Ethanol gewaschen und anschließend luftgetrocknet. Vor dem Einfrieren ÜN (-20 °C) wurde das Pellet in 500 µl DEPC-Wasser (1 ml DEPC/ 1 l MilliQ Wasser) gelöst (10 min bei 37 °C) und anschließend mit 500 µl LiCl-Puffer (4 M LiCl; 20 mM Tris/HCl pH 7,5; 10 mM EDTA) versetzt. Nach Präzipitation wurde die RNA 30 min bei 13.000 Upm pelletiert und schließlich mit 1 ml eiskalten 70 % Ethanol gewaschen (10 min bei 13.000 Upm). Ein zweiter Waschschrift mit 500µl Ethanol folgte. Das RNA-Pellet wurde dann kurz bei 37 °C getrocknet und in 50 µl DEPC-Wasser resuspendiert.

Zur Quantifizierung der RNA, wurde eine Verdünnung von 1:1000 eingesetzt.

### 2.5.5 Konzentrationsbestimmung von Nukleinsäuren

DNA und RNA wurden für die photometrische Konzentrationsbestimmung in unvergälltem Ethanol gefällt, da Vergällungsmittel bei 260 nm absorbieren. Die Extinktion  $E_{260} = 1$  entspricht 50 µg/ml doppelsträngiger DNA bzw. 40 µg/ml RNA sowie 33 µg/ml ss DNA (Müller *et al.*, 1993). Außerdem konnte die DNA Konzentration auch mittels eines Größenstandards mit definierten DNA-Mengen in einem Agarosegel bestimmt werden.

### 2.5.6 Auftrennung von DNA-Fragmenten durch Gelelektrophorese

Es wurden 0,7-1 %ige ethidiumbromidhaltige Agarosegele verwendet, um beispielsweise DNA-Fragmente nach einer Restriktionsendonukleolyse der Größe nach auftrennen zu können. Restriktionen von Nukleinsäuren erfolgten nach Angaben der Hersteller (Boehringer, MBI Fermentas und Biolabs). Die DNA wurde nach der Auftrennung durch Bestrahlung mit UV-Licht (254 nm) sichtbar gemacht. Die gelelektrophoretisch aufgetrennten DNA-Fragmente können aus dem Gel herausgeschnitten und mit Hilfe des „QiaexII DNA Gel Extraction“-Kits (Qiagen, Hilden) nach Herstellerangaben von Agaroseresten befreit werden.

Als Größenstandard wurde DNA des Phagen Lambda genutzt (MBI-Fermentas), welche mit den Restriktionsenzymen *EcoRI* und *HindIII* geschnitten wurde. Es entstehen dadurch DNA-Fragmente mit folgender Größe (bp): 24756, 21226, 5148, 4973, 4268, 3530, 2027, 1904, 1584, 1375, 947, 831, 564, 125.

### 2.5.7 PCR (Polymerase-Kettenreaktion)

Die Polymerase-Kettenreaktion (PCR) von Mullis und Faloona (1987) dient der Amplifizierung spezifischer DNA-Sequenzen und wurde in einem Thermozykler der Firma Biometra durchgeführt. Die Annealing-Temperaturen, sowie die Elongationszeit wurden den eingesetzten Primern, bzw. dem erwarteten PCR-Fragment angepasst. PCR-Fragmente wurden mit dem „QIAquick PCR-Purification-Kit“ der Firma Qiagen aufgereinigt.

Die „Kolonie-PCR“ dient der Verifizierung potentieller DNA-Integrianten von *C. albicans*. Dazu wurde eine geringe Menge Zellmaterial in 40 µl 0,02 M NaOH resuspendiert und 10 min bei 95 °C aufgeköcht. Anschließend wurde die Suspension kurz abzentrifugiert und auf Eis gehalten. In die folgende PCR wurden 4 µl der Suspension bei einem Gesamtvolumen von 50 µl eingesetzt. Es wurde die von Eppendorf bezogene Taq-Polymerase eingesetzt und für die PCR den Angaben des Herstellers gefolgt.

## 2.6 Transformation

### 2.6.1 Transformation von *E. coli*

*E. coli* ist ein geeigneter Organismus, um in ein Plasmid klonierte Gensequenzen zu amplifizieren. Das Bakterium besitzt eine hohe Transformationseffizienz und zudem auch eine geringe Verdopplungszeit. Die Transformation von *E. coli* erfolgte nach der Rubidiumchlorid-Methode von Hanahan (1983).

### 2.6.2 Transformation von *C. albicans*

Bei der Transformation von *C. albicans* wurden drei unterschiedliche Methoden angewendet. Um Plasmide zu transformieren, wurde eine schnelle, aber geringer effizientere Methode durchgeführt. Dafür wurde einer 5 ml Übernachtkultur 0,2 ml entnommen und die Probe im Eppendorf-Gefäß für 4 min bei 5.000 Upm zentrifugiert. Das Pellet wurde in 0,1 ml OSB (frisch) resuspendiert und 5 µl Heringsperma-DNA sowie 4-6 µg der zu transformierenden DNA hinzugefügt. Die DNA-Zell-Suspension wurde kurz geschüttelt, worauf eine Inkubationszeit von 30-45 min bei 42,5 °C folgte. Die Ansätze wurden auf Selektionsmedien ausplattiert und bei 30 °C für 1-2 Tage inkubiert.

OSB (für 10 Ansätze): 0,2 ml 1 M LiAc, 0,8 ml 50 % PEG8000, 15 mg DTT

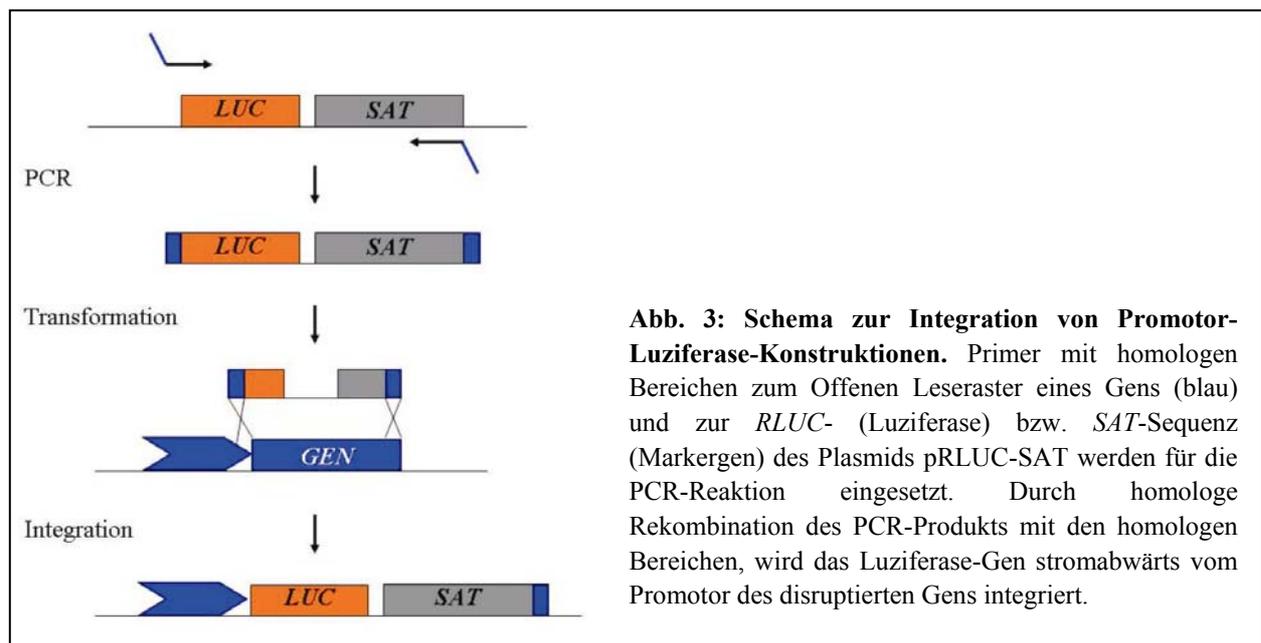
Zur Integration von DNA-Fragmenten wurde 5 µg DNA in sphäroplastierte Zellen transformiert. Die Transformation erfolgte in Anlehnung an die Methode von Sherman *et al.* (1986), in der von Srikantha *et al.* (1995) modifizierten Form. Die Transformationsmethode nach Mitchell (Wilson *et al.*, 2000) wurde zur Integration von nicht aufgereinigten PCR-Fragmenten eingesetzt. Dabei wurde einer 5 ml YPD Übernachtkultur 500 µl abgenommen und 50 ml frischem YPD hinzugefügt. Bei 30 °C wurden die Zellen 4 Stunden im Schüttler inkubiert, so dass die Kultur bis zu einer OD von 0,5-0,8 wuchs. Nach Zentrifugation (5 min, 3.500 Upm) wurde das Pellet mit 5 ml LATE-Puffer (0,1 M Lithiumacetat, 10 mM Tris-HCl (pH 7,5), 1 mM EDTA) gewaschen und anschließend in 0,5 ml desselben Puffers resuspendiert. Pro Transformation wurden 0,1 ml Zellen mit 5 µl Heringsperma-DNA sowie maximal 80 µl PCR-Produkt bzw. mindestens 2-10 µg DNA versetzt und bei 30 °C für 30 min inkubiert. Danach wurden 0,7 ml PLATE-Puffer (40 % PEG3350 in LATE-Puffer) hinzugefügt und die Probe nach kurzem Schütteln (2 sec) über Nacht bei 30 °C inkubiert. Nach Inkubation folgte ein einstündiger Hitzeschock bei 42 °C. Die Zellen wurden anschließend abzentrifugiert (5 min 3500 Upm) und mit 1 ml TE-Puffer gewaschen. Nach Resuspendierung in 0,2 ml TE-Puffer wurde auf Selektionsmedien ausplattiert.

## 2.7 Promotoranalyse

### 2.7.1 Bestimmung der *Renilla*-Luziferase Aktivität

Zur Bestimmung der Promotoraktivität eines Gens wurde die Luziferase als Reporter gen stromabwärts vom Promotor fusioniert und dessen Aktivität unter Verwendung des „Luciferase Assay Systems“ (Promega) bestimmt. Die auf einem Plasmid kodierende Sequenz der *Renilla* Luziferase und ein Selektionsmarker (*SAT*) wurden mittels PCR amplifiziert (Abb. 3). Die

hierfür eingesetzten Primer mit ihren homologen Sequenzen zu dem jeweiligen Promotor und dem 5'-Ende des Orfs sind in Tab. 6 angegeben. Durch homologe Rekombination des PCR-Produkts und Selektion auf Nourseothricin-Platten (100 ng/ $\mu$ l Nourseothricin), wurde der Reporter *RLUC* stromabwärts vom Promotor des Gens integriert und dessen kodierende Region gleichzeitig disruptiert. Alle potentiellen Integranten wurden über eine Kolonie-PCR überprüft (Primer siehe Tab. 5). Die Messung der Luziferaseaktivität erfolgte in einem Luminometer der Marke Fluoroskan Ascent Fl der Firma Labsystems. In weißen 96er Well-Platten (Labsystems) wurden 100  $\mu$ l „Luciferase Assay Substrate“ vorgelegt und die Reaktion durch Zugabe von 10  $\mu$ l Rohextrakt gestartet. Unmittelbar danach wurde die Aktivität über einen Zeitraum von 10 Sekunden gemessen. Die Enzymaktivität wurde nach der Bestimmung der Proteinkonzentration (2.9.2) auf den Proteingehalt der Probe bezogen.



## 2.8 Transkriptomanalyse

### 2.8.1 DNA-Microarrays

Der Einsatz von Microarrays ermöglicht eine umfassende Analyse der Genexpression auf mRNA-Ebene. Es können sich Expressionsmuster abzeichnen oder einzelne Gene identifiziert werden, die nur unter bestimmten Bedingungen exprimiert werden. Die hier eingesetzten Microarrays bestehen aus einem Aldehyd beschichteten Glasträger, auf dem kurze DNA-Sequenzen der 5907 *C. albicans*-Gene sowie diverse Kontrollen (*C. albicans* mitochondriale Gene, *S. cerevisiae* und bakterielle Gene) punktgenau aufgebracht sind. Mit Fluorochromen (Cy3 und Cy5) markierte cDNA, der aus *C. albicans* isolierten mRNA, kann an komplementäre Sequenzen auf dem Glasträger binden. Nach scannen mit zwei unterschiedlichen Wellenlängen (Cy3: 532nm und Cy5: 640 nm) erfolgt eine Quantifizierung der hybridisierten cDNA. Der Vergleich der Signalintensitäten der beiden Wellenlängen liefert eine Aussage über die Expression jedes einzelnen Gens. Die DNA-Arrays wurden vom „Galar Fungail Consortium“ (<http://www.galarfungail.org/>) entwickelt und von der Firma Eurogentec (Seraing, Belgien) hergestellt.

### 2.8.1.1 cDNA Synthese aus gesamt-RNA

Die Isolierung der gesamt-RNA von *C. albicans* wurde wie in Abschnitt 2.5.4 beschrieben durchgeführt. Weitere Schritte der cDNA Synthese wurden von Doedt (2004) zusammengefasst und übernommen.

Mit Hilfe einer Reversen-Transkriptase-Reaktion und Fluorochrom-modifizierter Nukleotide (Cy3- bzw. Cy5 dCTP) wurde eine farblich markierte cDNA aus Gesamt-RNA hergestellt. Die folgenden Reaktionen wurden soweit wie möglich unter Lichtausschluss durchgeführt, da die benutzen Fluorochrome lichtempfindlich sind. Der Reaktionsansatz (Tab. 9) wurde nach fünfminütiger Denaturierung bei 65°C für 5 min auf 42°C abgekühlt, mit 3 µl RNasin (Promega) sowie mit 3 µl Superscript II RT (Invitrogen) versetzt und für 2 h bei 42°C inkubiert. Nach 1 h wurden weitere 3 µl Enzym hinzugefügt. Durch Zugabe von 15 µl EDTA (50 mM, pH 8,0) wurde die Reaktion gestoppt. Zur Degradation der RNA wurde der Ansatz dann mit 10 µl NaOH-Lösung (10 M) versetzt und für 20 min bei 65°C inkubiert. Nach Neutralisierung des Ansatzes mit 20 µl Essigsäure (5 M) wurde die cDNA mit Hilfe des Qia-quick PCR Purification Kit (Qiagen, Hilden) nach Herstellerangaben aufgereinigt. Die Elution der cDNA von den Säulen erfolgte abweichend vom Herstellerprotokoll mit 2 x 50 µl auf 42°C vorgewärmtem Wasser. Nach Vereinigung der zwei Eluate wurden diese mit Hilfe von Microcon-YM30 Säulen (Millipore) auf ein Volumen von 10 µl aufkonzentriert.

**Tab. 9: Reaktionsansatz zur Herstellung von markierter cDNA aus gesamt-RNA**

Komponente	Volumen [µl]
5x Erststrang Puffer	24
<i>C. albicans</i> specific primer mix (0,1 pmol/µl)	3
AncT mRNA primer (1,5 µg/µl)	3
Oligo dT18-21 (0,5 µg/µl)	6
10 mM dNTP-dCTP	18
1 mM dCTP	3
1 mM Cy3- oder Cy5 dCTP	4,5
0,1 M DTT	12
RNasin	3
gesamt-RNA	x µl (30µg) ad H <sub>2</sub> O 120 µl

### 2.8.1.2 Hybridisierung, Waschen und Scannen der DNA-Microarrays

Für die Hybridisierung der markierten cDNA wurden die Objektträger mit einem speziellen Deckglas (Erie Scientific Company, USA) bedeckt. Je 10 µl der markierten cDNA (Cy3 und Cy5) wurden zusammen mit 10 µl Heringsperma-DNA (10 mg/ml) für 2 min bei 95°C denaturiert und anschließend für 2 min auf Eis gekühlt. Die Probe wurde nun mit 60 µl Hybridisierungspuffer (Roche) versetzt und dann seitlich unter den Rand des Deckglases pipettiert. Durch Kapillarkräfte wird die Hybridisierungslösung gleichmäßig unter das Deckglas gezogen. Der Objektträger wurde dann in eine Hybridisierungskammer (Corning) gelegt und am Rand mit 2 mal 10 µl Wasser versehen. Die Hybridisierung erfolgte im Wasserbad für 24 h bei

42°C. Die Objektträger wurden aus den Hybridisierungskammern entnommen und je zweimal für 10 min mit Waschlösung 1 (30 mM NaCl, 3 mM Citrat, 0,1 % SDS) und Waschlösung 2 (30 mM NaCl, 3 mM Citrat) unter sehr leichtem Schütteln gewaschen. Anschließend wurden diese durch Zentrifugation (6 min, 550 Upm) in 50 ml Falcon-Gefäßen getrocknet und bei den Wellenlängen 532 nm (Cy3) und 640 nm (Cy5) gescannt (FLA-8000, Fuji). Die Auflösung des Gerätes beträgt 10 µm.

### 2.8.1.3 Normalisierung und statistische Auswertung

Die statistisch signifikante Auswertung der Microarrays setzt eine sechsfache Bestimmung der Werte voraus. Drei Replikate mit jeweils doppelter Aufbringung jedes Gens auf dem Glasträger führen zu sechs Einzelwerten, die später gemittelt werden.

Die Quantifizierung der Signale von Cy3 und Cy5 und des Signalhintergrunds wurden mit dem Programm AIDA Array Metrix (Raytest) Version 3.50 ausgewertet. Folgende Parameter wurden hierbei verwendet:

#### 1. Background Definition

Grid Bkg Dots  
By Area: Me

#### 2. Reference Definition

Ignore Upper 0 %  
Ignore Lower 20 %  
exclude guide dots  
exclude empty dots

#### 3. Alignment Defaults

##### *Tab: Parameter*

Diameter 100 %  
Mobility 3 %  
use spotting pattern  
align grids  
align dots

##### *Tab: Process*

Bkg Deviation  
Threshold (3.0\* StdDev)

#### 4. Rating Dot Values

##### *Tab: Repetition Deviation*

above average  
below average  
Deviation-Bkg 10 %  
Average 2\* Bkg

##### *Dot Homogeneity* (nicht angewendet)

Nicht auswertbare Bereiche schlecht gewaschener Arrays mussten per Hand markiert und somit aussortiert werden. Die Ergebnistabelle aus AIDA wurde in das Programm Genespring (Silicon Genetics) exportiert. Es wurde eine Intensitätsabhängige (niedrigste) Normalisierung der Rohdaten durchgeführt und diese zur weiteren Auswertung in Excel (Microsoft) importiert. Um

statistisch signifikante Abweichungen der Genregulation ermitteln zu können, wurde das Programm SAM (<http://www-stat.stanford.edu/~tibs/SAM>) eingesetzt. Es benötigt einen delta-Wert, der durch einen variablen FDR-Wert (false discovery rate) bestimmt wird. Dieser Wert wurde auf 5 % festgelegt. Lag der nächste von SAM angezeigte Wert unterhalb oder oberhalb der 5 % wurde dieser gewählt, um die Liste der signifikant regulierten Gene zu erhalten. Für diese Arbeit wurden lediglich diejenigen Gene als signifikant bezeichnet, deren Mittelwerte der Transkriptspiegel aus den sechs Einzelwerten mindestens 1,5-fach erhöht oder erniedrigt sind.

## 2.8.2 Real-time RT-PCR

Die real-time RT-PCR Methode wurde entwickelt, um Unterschiede in der mRNA Expression quantifizieren zu können. Die geringe Menge an benötigter mRNA und der mittels Fluoreszenz parallel zur Reaktion gemessene Produktanstieg bietet einen großen Vorteil gegenüber anderen Quantifizierungs- und Detektionsmethoden wie der einfachen RT-PCR, Northernblot-Analyse, RPA (ribonuclease protection assays) oder der *in situ* Hybridisierung. In dieser Arbeit wurde der Fluoreszenzfarbstoff SYBRT-Green verwendet, der bei einer Wellenlänge von 497 nm angeregt wird und bei 520 nm emittiert. Da dieser Farbstoff im Gegensatz zu Taqman-Sonden und Molecular Beacon's unspezifisch in doppelsträngige DNA interkaliert, ist es nötig nach die Spezifität der Reaktion mittels Schmelzkurven zu verifizieren. Die Amplifikation, Detektion und die Schmelzkurve wurde in einem Real-time-PCR-Cycler (ABI Prism 7000) der Firma Applied Biosystems durchgeführt.

### 2.8.2.1 cDNA-Synthese aus gesamt-RNA mit Oligo(dT) Primern

Zunächst musste für eine cDNA-Synthese mit Reverser Transkriptase die RNA aus *C. albicans* isoliert werden (2.5.4) Für jede Real-time RT-PCR wurde die gesamt-RNA von zwei unabhängig angezogenen Kulturen, zwecks Doppelbestimmung, isoliert. Es folgte eine DNase Behandlung (TURBO DNase Kit, Ambion) mit 8 µg der isolierten RNA, die in einem 20 µl Ansatz mit 2 µl 10x DNase I Puffer und 1 µl DNase versetzt wurde. Nach 30 minütiger Inkubation bei 30 °C folgt eine Aufreinigung nach Herstellerangaben mit Hilfe eines RNA Clean-up Kits (Zymo research). 1-2 µg der aufgereinigten RNA wurden mit 2 µl Oligo(dT) (RETROscript® First Strand Synthesis Kit for RT-PCR, Ambion) und Nuklease freiem Wasser in einem Gesamtvolumen von 12 µl für 3 min bei 70°C denaturiert und auf Eis gestellt. Für die Reverse Transkriptase Reaktion wurden weitere Komponenten des Kits wie folgt hinzugefügt:

10x RT Puffer	2 µl
dNTP Mix	4 µl
RNase inhibitor	1 µl
Reverse Transkriptase	1 µl
<b>Σ</b>	<b>20 µl</b>

Das RNA-Gemisch wurde 1 h lang bei 42 °C inkubiert und anschließend die Reaktion bei 92 °C, 10 min hitzeinaktiviert. Die so genannte „No RT control“ wurde nach jeder RNA Aufreinigung angesetzt. Sie beinhaltet lediglich die 1-2 µg RNA aufgefüllt mit Nuklease freiem Wasser zu einem Gesamtvolumen von 20 µl. Die „No RT control“ dient dem Nachweis von DNA Kontaminationen im PCR-Ansatz.

### 2.8.2.2 Real-time PCR Reaktion und Quantifizierung

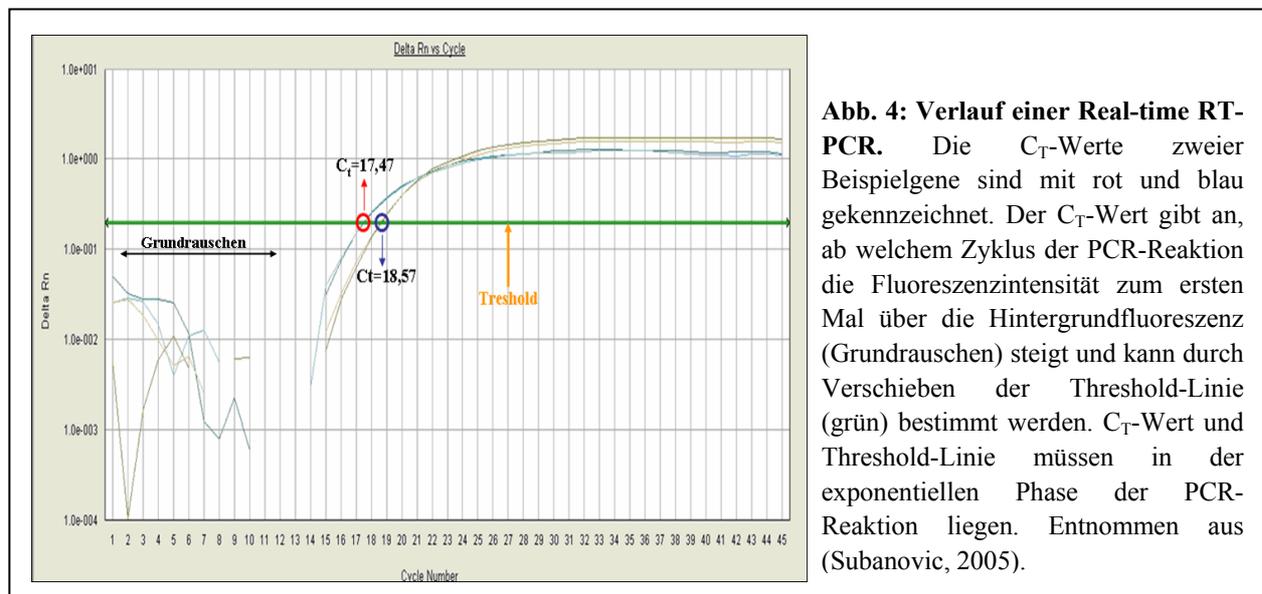
Die mit Oligo(dT) und Reverse Transkriptase synthetisierten cDNA-Ansätze (2.8.2.1) wurden 1:10 bis 1:50 verdünnt. Diese wurden dann im folgenden PCR-Reaktionsansatz eingesetzt:

cDNA	10 $\mu$ l
SYBR Green Mix (Invitrogen)	12,5 $\mu$ l
Primer-hin [10 pmol/ $\mu$ l]	1 $\mu$ l
Primer-rück [10 pmol/ $\mu$ l]	1 $\mu$ l
$\Sigma$	<b>24,5 <math>\mu</math>l</b>

Von jeder cDNA wurde eine Doppelbestimmung in eine 96-well PCR Platte (Applied Biosystems, Frankfurt) pipettiert und mit 14,5  $\mu$ l SYBR Green/ Primer Master Mix vermischt. Eingesetzte Primer wurden mit Hilfe des Programms „Real-time PCR Design“ ([www.genscript.com/ssl-bin/app/primer](http://www.genscript.com/ssl-bin/app/primer)) ausgewählt und sind der Tab. 7 zu entnehmen. Für die Normalisierung mussten die Primer ACT1(RT)-for und ACT1(RT)-rev bei jeder real-time PCR mit angesetzt werden. Anschließend wurde die Real-time PCR Maschine (ABI PRISM 7000, Applied Biosystems) mit folgendem Programm gestartet:

AmpliTaQ Aktivierung	95 °C, 10 min
PCR: Denaturierung	95 °C, 15 s
Annealing/ Extension	60 °C, 1 min (Wiederholung 40x)

Ein Dissoziationsprotokoll sollte ebenfalls aufgenommen werden.



Nach jedem Zyklus wird die Fluoreszenz der Proben von einer speziellen Software (ABI) gemessen und protokolliert. Wurde das PCR-Programm vollständig durchlaufen, kann der Kurvenverlauf jedes Ansatzes visualisiert werden (Abb. 4). Zu Beginn der PCR-Reaktion wird lediglich die Basis- oder Hintergrundfluoreszenz gemessen, da die Reporterfluoreszenz auf Grund der geringen Templatmenge noch nicht detektierbar ist. Anschließend steigt die Kurve exponentiell an und erreicht am Ende ein Plateau, weil die Enzymaktivität nachlässt und die

amplifizierten DNA-Fragmente untereinander hybridisieren. Für die Auswertung einer Real-time benötigt man die Fluoreszenz-Schwellenwerte (Threshold Cycle oder  $C_T$ -Wert) der Kurven. Der  $C_T$ -Wert drückt die Zyklenzahl aus, bei dem die Reporterfluoreszenz die Hintergrundfluoreszenz zum ersten Mal signifikant übersteigt. Durch Festlegen der Zyklenzahlen für die Hintergrundfluoreszenz (meistens 3-15) und des Thresholds für jedes Primerpaar, können die  $C_T$ -Werte für jede Kurve berechnet und einer Ergebnistabelle dargestellt werden.

Um die tatsächliche Änderung des Transkriptlevels unter bestimmten Bedingungen erhalten zu können, wurde die vergleichende  $C_T$ -Methode ( $\Delta\Delta C_T$ ) für die relative Quantifizierung der Genexpression verwendet. Diese sollte lediglich eingesetzt werden, wenn die Steigungen aller Kurven parallel verläuft, da die Effizienz der Amplifikation des Standardgens und des Zielgens nicht abweichen darf. Für die Auswertung und Darstellung der Real-time Daten wurde die Ergebnistabelle aus der ABI-Software in Excel exportiert und folgende Formel angewendet:

$$\Delta C_T = C_T(\text{Zielgen}) - C_T(\text{Normalisiergen})$$

$$\Delta\Delta C_T = \Delta C_T(\text{Versuchsbedingung}) - \Delta C_T(\text{Kontrollbedingung})$$

Der vergleichbare Expressionslevel ergibt sich bei einer idealisierten Amplifikationseffizienz (= 2) durch:

$$= 2^{-\Delta\Delta C_T}$$

### 2.8.3 Northernblot-Analyse

Der Nachweis spezifischer mRNA-Sequenzen mittels eines Northernblots setzt die Isolierung (2.5.4), die Auftrennung der Gesamt-RNA und den Transfer auf eine Membran voraus. Es wurden 30  $\mu\text{g}$  Gesamt-RNA in einem denaturierenden Formaldehydgel 4 Stunden lang bei 100 V aufgetrennt und anschließend mit Hilfe eines Kapillarblots (Sambrook *et al.*, 1989) auf eine Nylonmembran (Hybond N, Amersham) übertragen. Die Fixierung der RNA auf der Membran erfolgte durch Bestrahlung mit UV-Licht (254 nm, 3 min) und anschließender Inkubation bei 80°C (2 h).

Die für die Detektion benötigte DNA-Sonde wurde radioaktiv markiert. Hierfür wurde das Prinzip des „random priming“ (Feinberg und Vogelstein, 1983) angewendet. In einem Reaktionsansatz von 20  $\mu\text{l}$  kamen 10-20 ng denaturierter DNA sowie 50  $\mu\text{Ci}$  [ $\alpha$ - $^{32}\text{P}$ ] dATP zum Einsatz, so dass 5'-überhängende DNA-Enden durch Klenow-Fragment (3 U) in 30-60 min bei 37 °C zu Doppelsträngen ergänzt werden konnten. Die markierte DNA wurde anschließend über Sephadex-Säulen (Mobispin S200, MoBiTec) aufgereinigt (4 min, 6.000 Upm) und nach Denaturierung (10 min, 95 °C) für die Hybridisierung mit RNA eingesetzt.

Vor der Hybridisierung mit der Sonde wurde die Membran für 1 Stunde bei 42 °C mit Prähybridisierungslösung (5x SSPE; 50 % deionisiertes Formamid; 1 % Ficoll; 1 % Polyvinylpyrrolidon; 1 % BSA; 0,5 % SDS; 50 ng denaturierte Heringssperma DNA) prähybridisiert. Anschließend wurde die markierte Sonde hinzugegeben und die Membran für 16 h bei 42°C inkubiert. Nach der Inkubation folgten zwei je 10 minütige Waschschrte mit Waschlösung I (2x SSPE; 0,1 % SDS; Raumtemperatur) und Waschlösung II (1x SSPE; 0,1 % SDS; 50°C). Die

Detektion erfolgte durch Autoradiographie unter Verwendung von Röntgenfilmen (X-OMAT AR, Kodak) und eines Expositionsverstärkers (Biomax MS Screen, Kodak) bei  $-70^{\circ}\text{C}$ . Die in der Northernblot-Analyse verwendeten Sonden wurden durch PCR generiert. Die genutzten Primer sind in Tab. 8 angegeben.

### **2.8.4 Analyse der Degradation spezifischer mRNA-Sequenzen**

Die Halbwertszeit von mRNA in der Zelle kann mittels eines Northernblots bestimmt werden. Hierfür wurde angelehnt an ein Protokoll, welches in *S. cerevisiae* angewendet wird (Dutttagupta *et al.*, 2003), Thiolutin als Hemmer der RNA-Polymerasen eingesetzt. Zunächst wurden 150 ml YPD-Medium mit *Candida*-Zellen beimpft und bis zu einer  $\text{OD}_{600} = 0,6$  bei  $30^{\circ}\text{C}$  inkubiert. Dann wurden  $225\mu\text{l}$   $0,1\text{ M}$  Bathocupriinedisulphonic Säure (BCS) ( $150\mu\text{M}$ ) hinzugefügt und weitere 10 min bei selber Temperatur geschüttelt, wodurch die Aufnahme von Thiolutin in die Zelle erleichtert wird (Dutttagupta *et al.*, 2003). Nun wurden 20 ml Probe entnommen, welches den Zeitpunkt „0“ markierte. Durch die Zugabe von  $225\mu\text{l}$   $0,1\text{ mM}$   $\text{CuSO}_4$  ( $150\text{ nM}$ ) und  $90\mu\text{l}$   $50\text{ mg/ml}$  Thiolutin ( $30\mu\text{g/ml}$ ) wurde die Inhibition der Transkription gestartet. Es wurden weitere Proben zwischen 10-20 ml zu verschiedenen Zeitpunkten entnommen. Die einzelnen Proben wurden sofort als Zellkugeln in flüssigem Stickstoff eingefroren, worauf die RNA-Präparation so wie die Northernblot-Analyse (2.5.4 und 2.8.3) folgte.

## **2.9 Analyse von Proteinen**

### **2.9.1 Herstellung von Rohextrakten aus Hefekulturen**

Zur Herstellung von Rohextrakten wurden 20-50 ml Medium aus einer Übernachtskultur auf  $\text{OD}_{600} = 0,05$  angeimpft und bei einer  $\text{OD}_{600} = 0,8-4$  abzentrifugiert (5 min, 3.500 Upm). Das Pellet wurde in 2 ml  $\text{dH}_2\text{O}$  gewaschen und über Nacht bei  $-20^{\circ}\text{C}$  gelagert. Für den Zellaufschluss wurde das Pellet in  $500\mu\text{l}$  RE-Puffer (50 mM HEPES-KOH; 150 mM NaCl; 5 mM EDTA; 1 % Triton X-100, pH 7,5) aufgenommen und mit einem Volumen Glasperlen versetzt. Nach 10 minütigen Schütteln auf einem Vibrax (VX 2E, Janke & Kunkel) mit höchster Stufe bei  $4^{\circ}\text{C}$ , erfolgte eine Abtrennung der Zelltrümmer und der Glasperlen von dem klaren Überstand durch Zentrifugation (3 min, 3500 Upm). Nach Bestimmung der Proteinkonzentration (2.9.2) wurden die Rohextrakte bei  $-20^{\circ}\text{C}$  gelagert.

### **2.9.2 Bestimmung der Proteinkonzentration nach Bradford**

Die Proteingehaltsbestimmung nach Bradford (1976) beruht darauf, dass der Farbstoff Coomassie Brilliant Blue G 250 sein Absorptionsmaximum nach der Bindung an Proteine von 465 nm auf 595 nm verschiebt. Es wurden 1-15  $\mu\text{g}$  Protein auf ein Gesamtvolumen von 0,8 ml mit Wasser verdünnt und mit 0,2 ml „BioRad Protein Assay Dye Reagent“ (BioRad) versetzt. Das Gemisch wurde 10 min bei RT inkubiert und die Messung erfolgte in einem Spektrometer bei 595 nm. Als Standard wurde eine Eichkurve mit 1-40  $\mu\text{g}$  BSA erstellt.

### 2.9.3 SDS-Polyacrylamidgelelektrophorese (SDS-PAGE)

Proteine lassen sich ihrem Molekulargewicht und damit ihrer Größe nach elektrophoretisch auftrennen. Angewendet und modifiziert wurde die Methode von Laemmli (1970), in der ein denaturierendes SDS-Gel eingesetzt wird. Hierbei wurden 8 %igen Tris-Glycin SDS-Gele (1,5 mm) der Firma Invitrogen nach Herstellerangaben verwendet und „SeeBlue® Plus2“ (pre-stained) als Größenstandard für Proteine genutzt. Die Proteine besitzen eine molekulare Masse von 250, 148, 98, 64, 50, 36, 22, 16, 6 und 4 kDa.

### 2.9.4 Nachweis spezifischer Proteine mittels Immunoblot-Analyse

Nach Auftrennung von Proteinen eines Rohextraktes über ein SDS-Gel können diese auf eine Immobilon-P-Membran transferiert werden. Die Blot-Apparatur wurde den Herstellerangaben (Invitrogen) nach aufgebaut und der einstündige Transfer gestartet. Anschließend wurde die Membran für 1-2 Stunden in 1 % „Blocking“-Lösung (Roche) leicht geschüttelt, um unspezifische Bindungsstellen abzusättigen. Die Membran wurde dann eine Stunde mit einem monoklonalen Peroxidase gekoppelten Anti-HA Antikörper (Roche) bei einer 1:2000 Verdünnung inkubiert. Zur Entfernung nichtgebundener Antikörper wurde die Membran anschließend dreimal mit TBST-Puffer (0,1 % (w/w) Tween 20 in TBS) jeweils 15 min gewaschen. Die Detektion erfolgte durch die Verwendung des Chemilumineszenz-Substrates „Super-SignalULTRA“ (Pierce) entsprechend der Anweisung des Herstellers und Röntgenfilmen (Fuji).

## 2.10 Bestimmung der Fettsäurezusammensetzung der Zelle

Um eine Fettsäureanalyse mittels Gaschromatographie (GC) durchführen zu können, mussten zunächst die Lipide einer *C. albicans*-Kultur gewonnen werden. Hierfür wurde eine Übernachtskultur in 50 ml YPD-Medium auf eine  $OD_{600} = 0,05$  angeimpft und bei 30 °C inkubiert. Bei einer  $OD_{600} = 0,6$ , bzw. in der stationären Phase, wurden die Zellen geerntet (4 min, 3.500 Upm) und das Pellet (ca. 25-100 mg Zellen) mit 1 ml dH<sub>2</sub>O gewaschen. Das Zellmaterial wurde bei -70 °C eingefroren.

Die Lipidextraktion wurde nach der Methode von Floch *et al.* (1957) durchgeführt. Das Zellpellet wurde hierbei mit 10 ml dH<sub>2</sub>O resuspendiert und 6 Mal mit 10 g Glasperlen (Ø 0,25-0,5 mm) 30 Sekunden lang stark geschüttelt und bei 4 °C gekühlt. Es folgte eine 1-2 stündige Extraktion der Lipide durch 70 ml Chloroform/Methanol (2:1) in einem Erlenmeyerkolben, das bei 4 °C gelegentlich geschwenkt werden musste. Die im Chloroform/Methanol (2:1) gelösten Lipide wurden über einen Büchner-Trichter mit Filter und einer Fritte von den Glasperlen getrennt und in einem Scheidetrichter aufgefangen. Die Glasperlen wurden mit weiteren 10 ml Chloroform/Methanol gewaschen, und dem Filtrat (80 ml) wurde 10 ml einer 0,069%igen MgCl<sub>2</sub>-Lösung hinzugefügt. Nach dem Mischen wurden die wässrige und die organische Phase über Nacht separiert und die untere organische Phase in einem Spitzkolben aufgefangen. Anschließend wurde diese in einem Rotavapor eingedampft, so dass der Rückstand (Lipide) in 1 ml Chloroform/Methanol (2:1) aufgenommen werden konnte. Die Umwandlung der extrahierten Lipide (Carboxylester) mit BF<sub>3</sub>/Methanol in Fettsäuremethylester (Morrison und Smith, 1964), sowie die Durchführung der GC-Methode wurde freundlicher Weise vom Chem. Lebensmittel-Untersuchungsamt des Kreises Mettmann übernommen.

## 3 Ergebnisse

### 3.1 Zellmorphologie unter hypoxischen Bedingungen

Der Transkriptionsfaktor Efg1p spielt eine bedeutende Rolle als Aktivator und Repressor der Genregulation des humanpathogenen Pilzes *C. albicans*. Neben wichtigen Genen des Metabolismus wird vor allem auch die Morphogenese des einzelligen Pilzes durch Efg1p kontrolliert. Unter bestimmten Bedingungen wie z.B. höherer Temperatur oder Zugabe von Serum wird das filamentöse Wachstum induziert. Nach Disruption von *EFG1* sind die Stämme unter den allgemein üblichen, aeroben Anzuchtbedingungen afilementös. Bei den so genannten „eingebetteten“ Bedingungen konnte jedoch bereits beobachtet werden, dass sich *efg1*-Mutanten hyperfilamentös gegenüber dem Wildtyp verhalten (Giusani *et al.*, 2002). Dies trifft genauso auf Zellen zu, die unter einem Deckglas auf Maismehlagar bei Raumtemperatur inkubiert werden (Sonneborn *et al.*, 1999). Doedt *et al.* (2004) konnten ebenfalls das hyperfilamentöse Wachstum der *efg1*-Mutante dokumentieren, indem Zellen auf Agarplatten ausgestrichen und in einem Mikroaerobier-Topf (OXOID) bei 30 °C angezogen wurden. Offensichtlich fungiert der Transkriptionsfaktor Efg1p unter den sauerstoffarmen Bedingungen, wie sie teilweise auch im menschlichen Körper gefunden werden, als Repressor der Hyphenbildung während er unter aeroben Bedingungen induzierend wirkt.

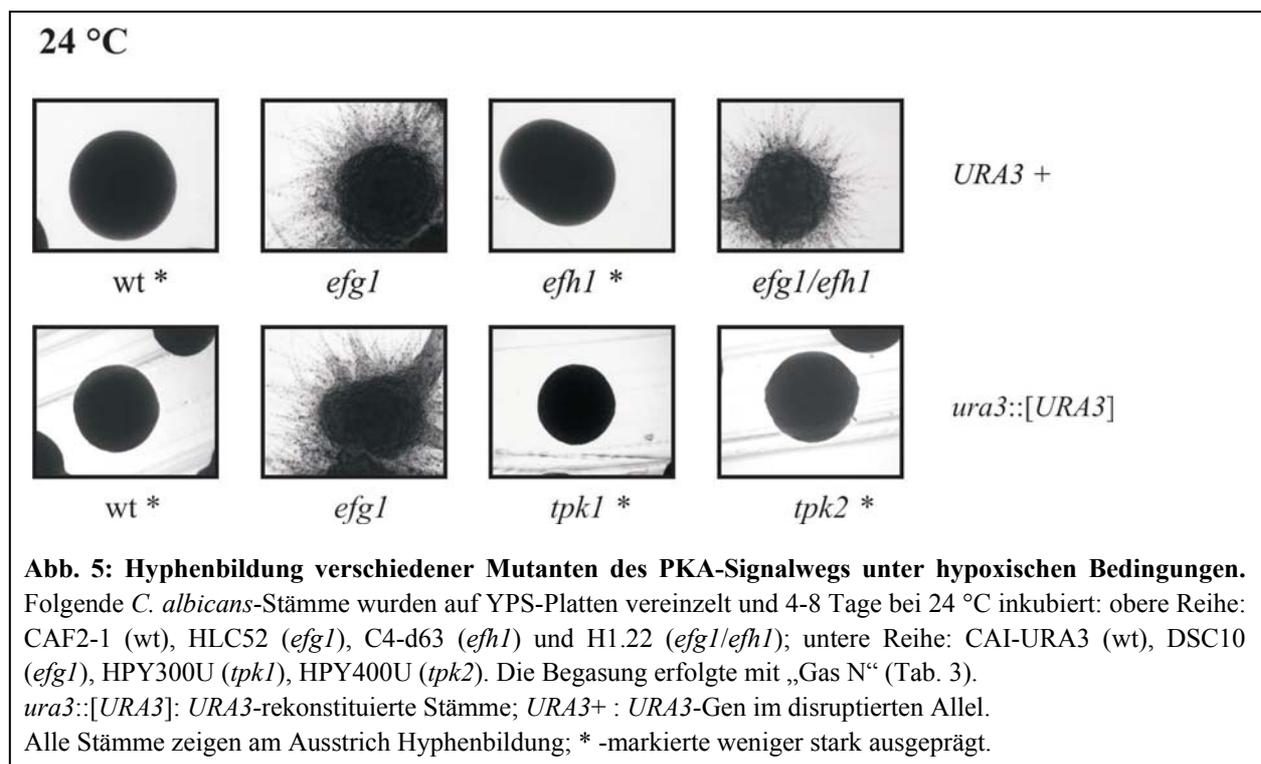
In diesem Kapitel wurde untersucht, ob eine Reduzierung des Sauerstoffgehalts allein bereits ausreichend ist, um die Hyphenbildung bei *efg1*-Mutanten auszulösen. Des Weiteren stellte sich die Frage, ob die Regulation von Efg1p wie unter normoxischen Bedingungen über den PKA-Signalweg vermittelt wird (Bockmühl und Ernst, 2001). Aufgrund dessen wurde die Zellmorphologie der PKA-Mutanten *tpk1* und *tpk2* ebenfalls beobachtet.

#### 3.1.1 Morphogenese bei Begasung mit 99,9 % N<sub>2</sub>

Zunächst wurde untersucht welchen Einfluss die Begasung mit lediglich 99,9 % N<sub>2</sub> (Tab. 3 „Gas N“) auf die Morphogenese der Zelle hat. Zu finden sind diese geringen Sauerstoffkonzentrationen hauptsächlich in Geweben und Organen des Menschen. Für die Experimente wurden Wildtyp- und Mutantenstämme auf YPS-Agarplatten vereinzelt. Das YPS-Medium wurde aufgrund der Beobachtungen unter eingebetteten Bedingungen, die ebenfalls mit selbigem Medium durchgeführt wurden, ausgewählt. Dasselbe gilt für die Temperatur von 24 °C, bei der die Platten für 4-8 Tage inkubiert wurden. So kann verglichen werden, ob der Sauerstoffmangel oder der Kontakt mit der Matrix ausschlaggebend für die starke Hyphenbildung der *efg1*-Mutante ist.

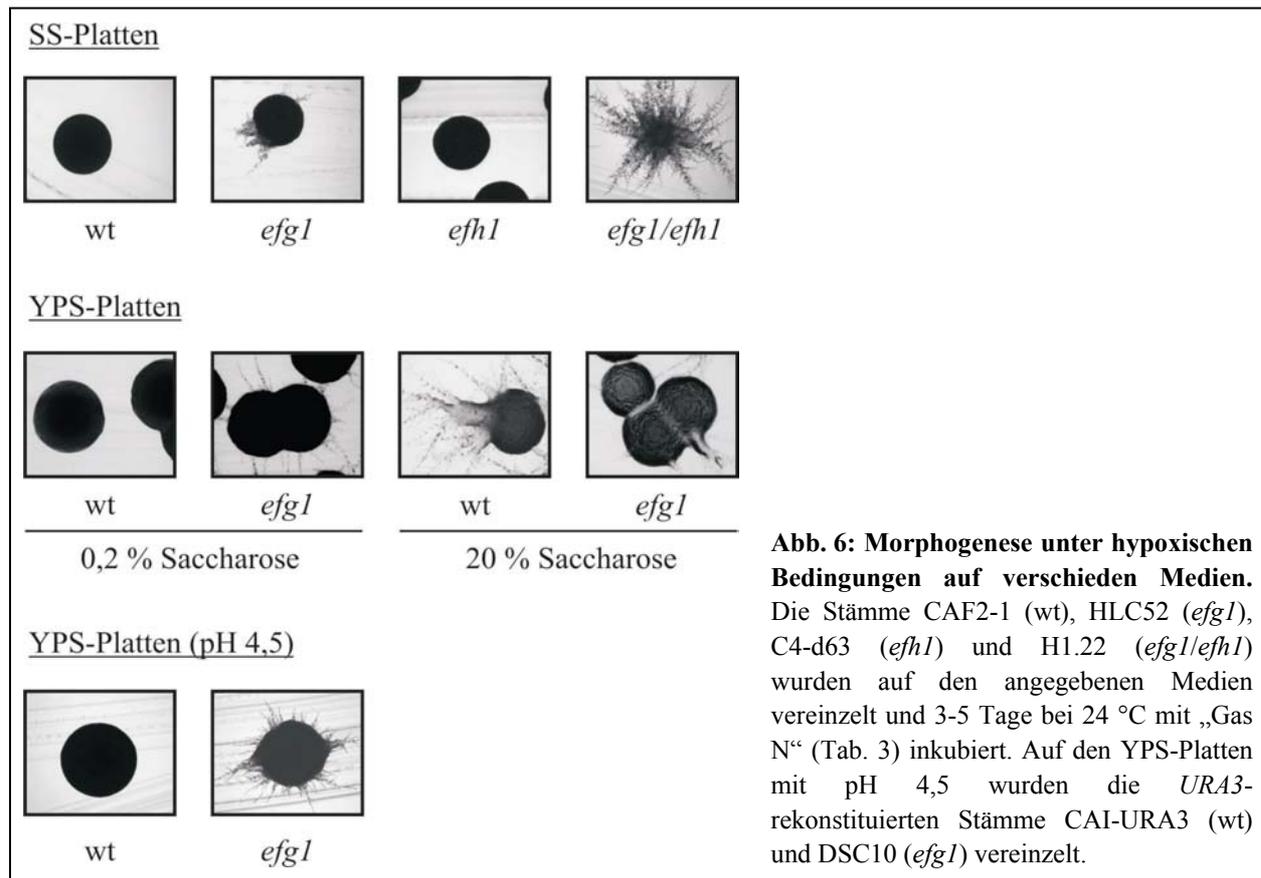
Die mikroskopischen Aufnahmen in Abb. 5 zeigen die Kolonien verschiedener Mutanten. Die obere Reihe der Abbildung zeigt Stämme, die das *URA3*-Markergen in einem der disruptierten Allele besitzen. Tatsächlich wird deutlich, dass die *efg1*-Mutante ebenfalls wie unter den eingebetteten Bedingungen hyperfilamentös auf die hypoxischen Bedingungen reagiert. Sowohl am Ausstrich (Abb. 5 [\*]), der für die Vereinzlung nötig ist, als auch bei den einzelnen Kolonien lässt sich ein starkes Hyphenwachstum beobachten (Abb. 5, obere Reihe). Beim Wildtyp hingegen hat das filamentöse Wachstum am Ausstrich begonnen (Abb. 5 [\*]), die Kolonien jedoch zeigen keine Filamente. Nach längerer Inkubationszeit fangen auch diese an Filamente zu bilden (Daten nicht gezeigt). Aufgrund der Tatsache, dass der *URA3*-Status von

ansonsten isogenen Stämmen entscheidend für den Phänotypen der Mutante sein kann (Bain *et al.*, 2001; Staab und Sundstrom, 2003), wurden zusätzlich *URA3*-rekonstituierte Stämme (*URA3* im eigenen Locus) untersucht (Abb. 5, untere Reihe). Durch den Vergleich kann bestimmt werden, ob morphogenetische Phänotypen unabhängig vom *URA3*-Status existieren. Es zeigt sich, dass auch der *URA3*-rekonstituierte *efg1*-Stamm gegenüber dem entsprechenden Wildtypstamm hyperfilamentös erscheint. Des Weiteren konnte ebenfalls beobachtet werden, dass die Filamentbildung des Wildtyps zu dem Zeitpunkt der Aufnahme lediglich am Ausstrich begonnen hat (Abb. 5 [\*]). Der beschriebene *efg1*-Phänotyp findet also unabhängig vom *URA3*-Status der Zelle statt. Die Doppelmutante *efg1/efh1* zeigt den Phänotypen der *efg1*-Einfachmutante, während *tpk1*-, *tpk2*- und *efh1*-Mutanten sich wie der Wildtyp verhalten. Somit wird deutlich, dass der hyperfilamentöse Phänotyp der *efg1*-Mutante in den „eingebetteten“ Bedingungen (Giusani *et al.*, 2002), den mikroaerophilen Bedingungen im Mikroaerobier-Topf (Doedt *et al.*, 2004) oder unter einem Deckgläschen (Sonneborn *et al.*, 1999) hauptsächlich durch einen Sauerstoffmangel ausgelöst wird. Unter den hier gegebenen hypoxischen Bedingungen scheint der PKA-Signalweg keine Rolle bei der Repression der Hyphenbildung zu spielen.



Um einen Einfluss des Nährmediums auf die Hyphenbildung auszuschließen, wurden anschließend weitere Medien getestet (Abb. 6). Auch auf dem Minimalmedium „SS“ (YNB + 2 % Saccharose) wachsen die *efg1*- und *efg1/efh1*-Mutanten hyperfilamentös. Wie auch schon von Doedt *et al.* (2004) beobachtet zeigt die Doppelmutante hier sogar ein verstärktes Hyphenwachstum gegenüber der *efg1*-Einfachmutante. Zunächst wurde die Konzentration an Saccharose im Medium von 0,2 % bis 20 % variiert. Das Ergebnis in Abb. 6 zeigt, dass der Wildtyp bei einer hohen Konzentration mindestens genauso filamentös wächst wie die *efg1*-Mutante. Dass die Mutante ihre hyperfilamentöse Eigenschaft verliert, kann bereits bei 8 % Saccharose, etwas weniger eindeutig, beobachtet werden (Daten nicht gezeigt). Eine niedrige

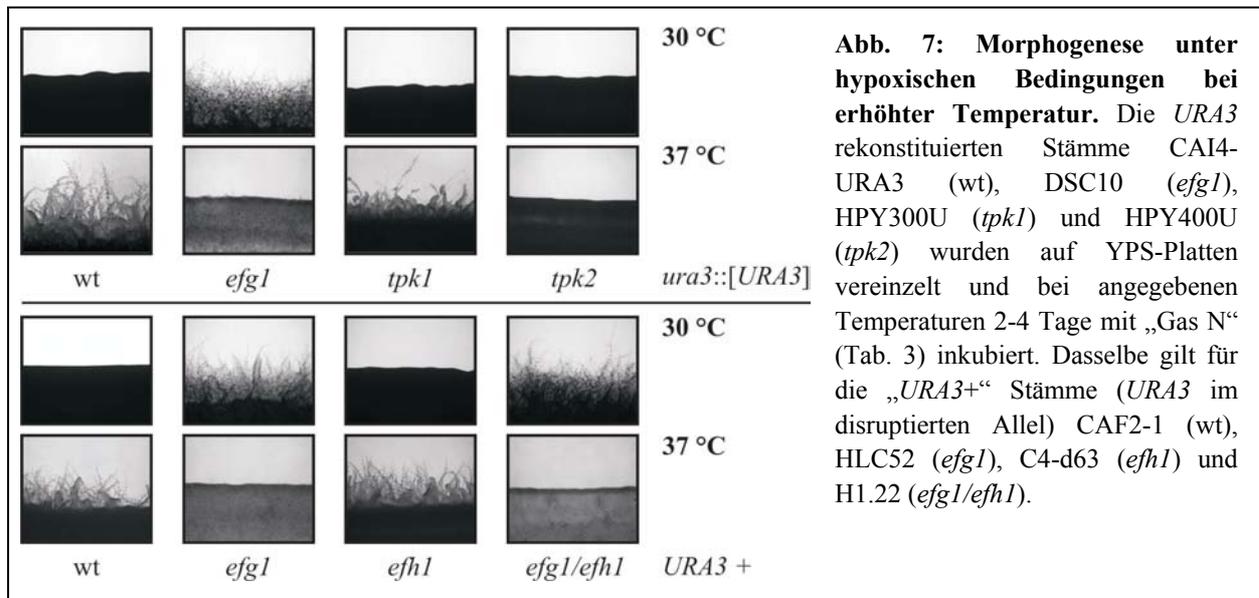
Saccharose-Konzentration (0,2 %) scheint keinen Einfluss auf das hyperfilamentöse Wachstum der *efg1*-Mutante zu besitzen. Diese wächst aufgrund der verminderten Kohlenstoffquelle lediglich langsamer, so dass die Hyphenbildung dementsprechend später als bei 2 % Saccharose im Medium einsetzt. Auf anderen Kohlenstoffquellen wie 2 % Na-Lactat oder Na-Succinat zeigten sich *efg1*-Mutanten jeweils hyperfilamentös (Daten nicht gezeigt) wie beim Wachstum mit 2 % Saccharose. Da das hyperfilamentöse Wachstum der *efg1*-Mutante in Flüssigmedien nicht beobachtet werden konnte (Daten nicht gezeigt), wurde weiterhin untersucht, ob die Struktur der Matrix oder der Kontakt zu ihr wichtig für die Hyphenbildung ist. Zum einen wurde der Agar durch Agarose ausgetauscht, zum anderen wurde eine Nylonmembran auf festem YPS-Medium gelegt und die Zellen darauf ausgestrichen, um den Zellkontakt zur Matrix zu verhindern. Auch auf diesen Platten wuchs die *efg1*-Mutante hyperfilamentös. Lediglich auf einer auf Agar gelegten Nitrocellulose-Membran waren *C. albicans*-Zellen nicht in der Lage zu wachsen (Daten nicht gezeigt). Die Beschaffenheit der Matrix und die Kohlenstoffquelle scheinen demnach nicht für die reprimierende Funktion von Efg1p unter hypoxischen Bedingungen ausschlaggebend zu sein.



In einem weiteren Experiment wurde der pH-Wert des YPS-Mediums auf 4,5 herabgesetzt. Der pH-Wert könnte eine Rolle spielen, da bekannt ist, dass ein niedriger pH die Hyphenbildung unter normoxischen Bedingungen hemmt (Auger und Joly, 1977; Davis, 2003). In Abb. 6 wird allerdings deutlich, dass das filamentöse Wachstum unter hypoxischen Bedingungen durch einen sauren pH nicht beeinflusst wird. Die *efg1*-Mutante verhält sich dem Wildtyp gegenüber immer noch hyperfilamentös. Des Weiteren wurden das anaerobe Wachstum auf Medien beobachtet, welche unter normoxischen Bedingungen Hyphen induzieren (Serum- und Lee's-Platten). Nach

7-9 Tagen Inkubationszeit unter hypoxischen Bedingungen bei 24 °C konnten bei beiden Medien Hyphen der Einzelkolonien von *efg1*-Mutanten beobachtet werden. Der Wildtyp zeigte sich zu diesem Zeitpunkt noch nicht filamentös (Daten nicht gezeigt).

Alle bis hierhin beschriebenen Ergebnisse wurden bei einer Raumtemperatur von 24 °C durchgeführt. Da es sich bei *C. albicans* um einen humanpathogenen Pilz handelt, und die Körpertemperatur des Menschen 37 °C beträgt, wurden die hypoxischen Bedingungen auch bei höheren Temperaturen getestet. Unter normoxischen Bedingungen kann das filamentöse Wachstum im Wildtyp durch eine Temperaturerhöhung auf 37 °C ausgelöst werden. Die *efg1*-Mutante bleibt jedoch afilamentös. Der unter hypoxischen Bedingungen bei 24 °C beobachtete hyperfilamentöse Phänotyp der *efg1*-Mutante hingegen, ist bei einer Temperaturerhöhung auf 37 °C nicht mehr zu erkennen (Abb. 7). Stattdessen wächst der Wildtyp wie unter normoxischen Bedingungen filamentös, die Mutante kaum mehr. Bei 37 °C inkubierte *tpk1*-Mutanten verhalten sich ähnlich wie der Wildtyp; dieser filamentiert nur geringfügig stärker als die Mutante. *tpk2*-Mutanten hingegen, sind auch nach längerer Inkubationszeit nicht in der Lage Hyphen zu bilden (Abb. 7).



**Abb. 7: Morphogenese unter hypoxischen Bedingungen bei erhöhter Temperatur.** Die *URA3* rekonstituierten Stämme CAI4-*URA3* (wt), DSC10 (*efg1*), HPY300U (*tpk1*) und HPY400U (*tpk2*) wurden auf YPS-Platten vereinzelt und bei angegebenen Temperaturen 2-4 Tage mit „Gas N“ (Tab. 3) inkubiert. Dasselbe gilt für die „*URA3*+“ Stämme (*URA3* im disruptierten Allel) CAF2-1 (wt), HLC52 (*efg1*), C4-d63 (*efh1*) und H1.22 (*efg1/efh1*).

Zusätzlich wurde die Morphogenese des Wildtyps und der *efg1*-Mutante bei Temperaturen zwischen 30 und 37 °C untersucht (Daten nicht gezeigt). Während bei 24 °C (6 Tage Inkubation) und 30 °C (4 Tage) 0 % der Wildtypkolonien und 100 % der Kolonien der *efg1*-Mutante Hyphen bilden, zeigen bei 33-35 °C (3 Tage) etwa 5 % Einzelkolonien des Wildtyps Filamente und nur noch ca. 50 % bei der Mutante. Erst ab einer Temperatur von 37 °C (2 Tage) findet der Wechsel von Efg1p vom Repressor zum Aktivator der Hyphenbildung statt: 90-100 % hyphende Kolonien beim Wildtyp und  $\leq 10$  % bei der *efg1*-Mutante. Bei 40 °C wurde diese Beobachtung bestätigt. Der Abbildung kann ebenfalls entnommen werden, dass auch bei höheren Temperaturen der *URA3*-Status der Zellen nicht entscheidend ist. Der *URA3*-rekonstituierte *efg1*-Stamm (DSC10) sowie der *URA3*-positive Stamm (HLC52) verhalten sich gleich gegenüber den jeweiligen Wildtypstämmen.

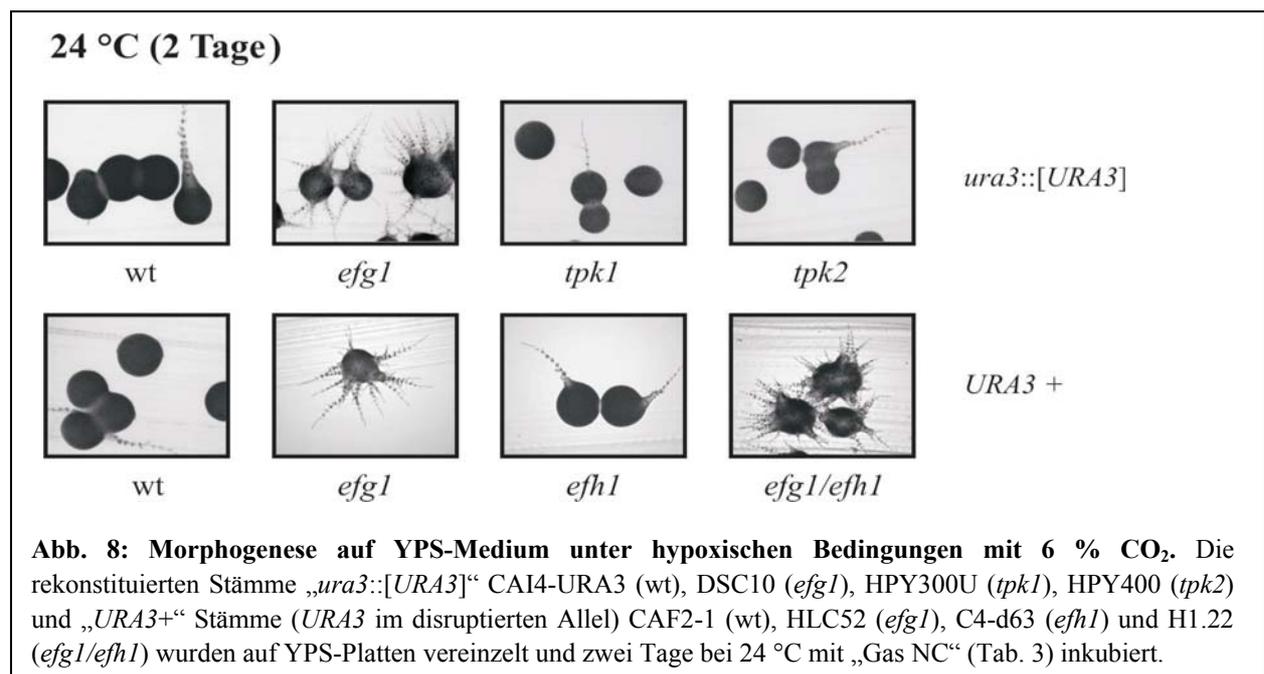
Scheinbar agiert der Transkriptionsfaktor Efg1p hypoxisch ab Temperaturen von 37 °C als Aktivator des filamentösen Wachstums und nicht als Repressor eines alternativen Signalwegs, wie es bei niedrigeren Temperaturen der Fall ist (Abb. 5). Wie auch unter normoxischen

Bedingungen scheint die hypoxische Induzierung der Hyphenbildung bei 37 °C über den PKA-Weg zu verlaufen, wobei hier offenbar Tpk2p die Signalweiterleitung übernimmt.

### 3.1.2 Morphogenese bei Begasung mit 99,9 % N<sub>2</sub>, 6 % CO<sub>2</sub>

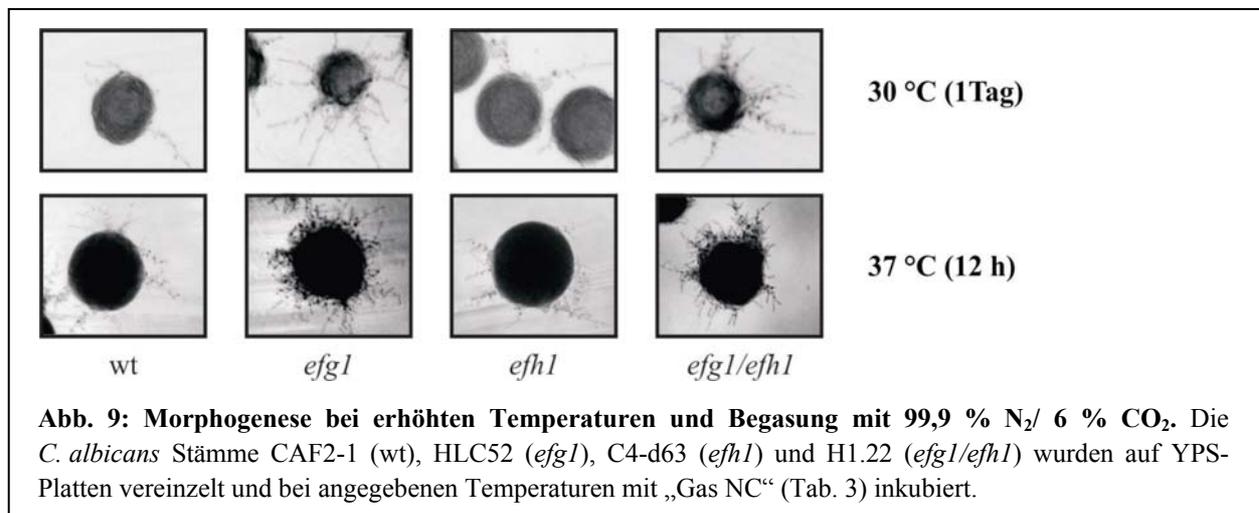
In diesem Kapitel wird der Einfluss eines zusätzlich erhöhten CO<sub>2</sub>-Gehalts auf die Morphogenese unter hypoxischen Bedingungen untersucht. Auch in menschlichen Geweben lassen sich höhere CO<sub>2</sub>-Konzentrationen (5-6 %) finden als in der Luft (0,033 %) (Guyton und Hall, 2000; Monnin *et al.*, 2001; Klengel *et al.*, 2005).

Für die Untersuchungen wurden die auf YPS-Platten ausgestrichenen Zellen nicht nur mit 99,9 % N<sub>2</sub> begast, sondern zusätzlich mit 6 % CO<sub>2</sub> (Tab. 3 „Gas NC“). Aus Abb. 8 wird ersichtlich, dass *efg1*- und *efg1/efh1*-Mutanten auch bei erhöhtem CO<sub>2</sub>-Gehalt hyperfilamentös im Vergleich zum Wildtyp sind. Wie bei Begasung mit 99,9 % N<sub>2</sub> verhält sich die Doppelmutante auf SS-Platten gegenüber der *efg1*-Mutante hyperfilamentös (Daten nicht gezeigt). Alle anderen Stämme verhalten sich weiterhin wie der Wildtyp. Der einzige Unterschied zu den Bedingungen ohne CO<sub>2</sub>-Begasung besteht darin, dass die Einzelkolonien der *efg1*-Mutante bereits nach zwei Tagen deutlich filamentös wachsen. Somit beginnen die Zellen in der halben Zeit Filamente zu bilden, als ohne Kohlendioxid in der Umgebung.



Da sich bei hypoxischen Bedingungen (99,9 % N<sub>2</sub>) ein deutlicher Temperatureinfluss auf die Filamentbildung der unterschiedlichen Stämme zeigte (3.1.1), wurde weiterhin untersucht, ob dieser Einfluss auch bei zusätzlicher Begasung mit 6 % CO<sub>2</sub> bestehen bleibt. Wie in Abb. 9 zu sehen sind unter diesen Bedingungen sowohl der Wildtyp als auch die *efg1*-Mutante in der Lage, bei 37 °C Hyphen zu bilden, die Mutante etwas stärker als der Wildtyp. Somit scheint für die Hyphenbildung der *efg1*-Mutante, neben der Temperatur und dem Sauerstoffgehalt, auch die CO<sub>2</sub>-Konzentration eine Rolle zu spielen. Der erhöhte CO<sub>2</sub>-Gehalt führt dazu, dass Efg1p auch bei einer Temperatur von 37 °C immer noch als Repressor der Hyphenbildung fungiert. Möglicherweise zeigt sich ein Wechsel der Efg1p-abhängigen Regulation, vom Repressor zum

Aktivator der Hyphenbildung, erst nach Überschreiten dieser Temperatur. Ohne CO<sub>2</sub>-Begasung wird die Funktion von Efg1p als Aktivator ab einer Temperatur von 37 °C induziert (3.1.1).



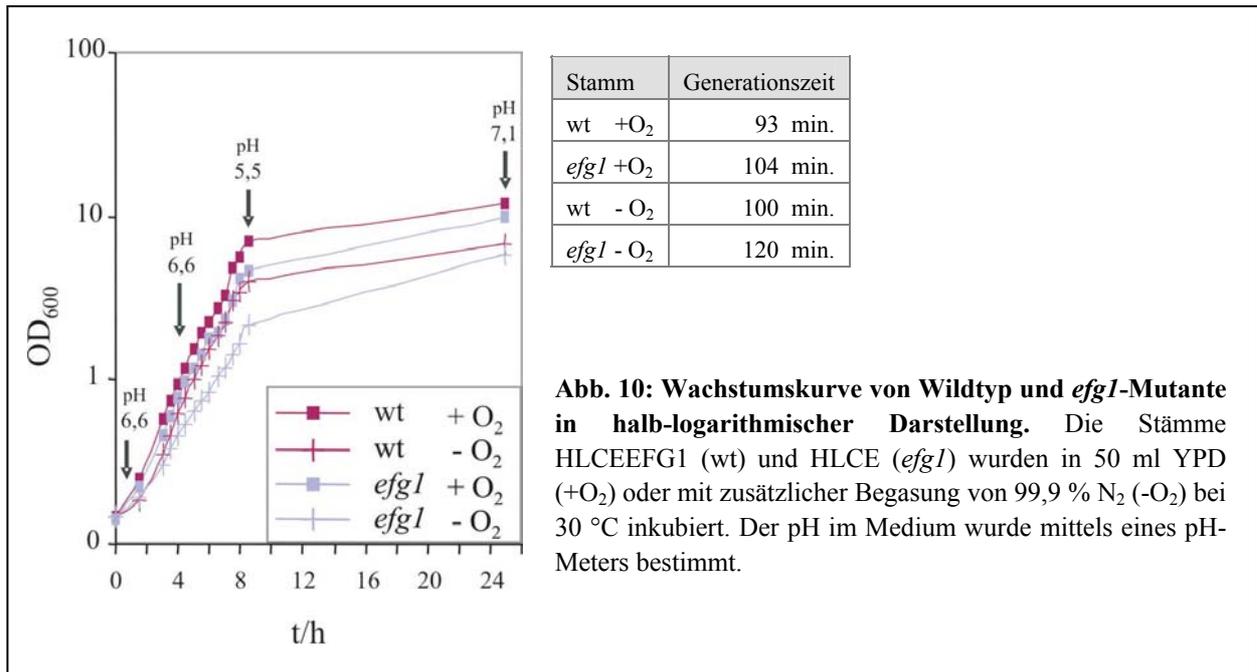
**Abb. 9: Morphogenese bei erhöhten Temperaturen und Begasung mit 99,9 % N<sub>2</sub>/ 6 % CO<sub>2</sub>.** Die *C. albicans* Stämme CAF2-1 (wt), HLC52 (*efg1*), C4-d63 (*efh1*) und H1.22 (*efg1/efh1*) wurden auf YPS-Platten vereinzelt und bei angegebenen Temperaturen mit „Gas NC“ (Tab. 3) inkubiert.

## 3.2 Regulation von *EFG1* unter hypoxischen Bedingungen

Im vorangegangenen Kapitel (3.1) wurde u.a. die Rolle von Efg1p bei der Morphogenese von *C. albicans* unter hypoxischen Bedingungen thematisiert. Es zeigte sich bei Abwesenheit des Transkriptionsfaktors eine verstärkte Hyphenbildung, anders als unter normoxischen Bedingungen. Da die eigene Genregulation dieses APSES-Proteins und dessen Einfluss auf das Transkriptom insbesondere unter hypoxischen Bedingungen noch weitestgehend unbekannt ist, soll hier näher darauf eingegangen werden.

### 3.2.1 Wachstum von *efg1*-Mutanten unter hypoxischen Bedingungen

Zunächst wurde das Wachstum von *efg1*-Mutanten unter hypoxischen Bedingungen (99,9 % N<sub>2</sub>) beobachtet. Um ein möglichst präzises und verlässliches Ergebnis zu erhalten, waren gleiche Ausgangsbedingungen des genetischen Hintergrunds für den Wildtyp und die Mutante Voraussetzung. Aus diesem Grunde wurden zwei isogene Stämme genutzt, die sich lediglich durch eine Integration des *EFG1*-Gens in den deletierten *EFG1*-Loki unterscheiden. Hierzu wurden die mit dem Restriktionsenzym *PacI* linearisierten Plasmide pTD38-HA (*EFG1p*-*EFG1*) und pTD38 (*EFG1p*) in einen Bereich des *EFG1*-Promotors des Stammes HLC67 (*efg1::hisG/efg1::hisG*) integriert. Die entstandenen Stämme HLCEEFG1 (*EFG1*) und HLCE (*efg1*) wurden durch eine PCR verifiziert (Lengeler und Noffz, pers. Mitteilung). Von beiden Stämmen wurde eine Wachstumskurve über 25 Stunden aufgenommen und graphisch dargestellt (Abb. 10).



**Abb. 10: Wachstumskurve von Wildtyp und *efg1*-Mutante in halb-logarithmischer Darstellung.** Die Stämme HLCEEFG1 (wt) und HLCE (*efg1*) wurden in 50 ml YPD (+O<sub>2</sub>) oder mit zusätzlicher Begasung von 99,9 % N<sub>2</sub> (-O<sub>2</sub>) bei 30 °C inkubiert. Der pH im Medium wurde mittels eines pH-Meters bestimmt.

In der Abbildung wird ersichtlich, dass sowohl der Wildtyp als auch die *efg1*-Mutante unter hypoxischen Bedingungen langsamer wachsen als normoxisch. Dies wird auch anhand der errechneten Generationszeiten in der in Abb. 10 eingebetteten Tabelle deutlich. Die *efg1*-Mutante wächst bei Sauerstoffabwesenheit am langsamsten. Sie hat eine Generationszeit von 120 Minuten, während sich Wildtyp-Zellen unter diesen Bedingungen bereits nach 100 Minuten verdoppeln. Der Faktor 1,2, mit dem die Mutante unter hypoxischen Bedingungen langsamer wächst als der Wildtyp, steht dem Faktor 1,1 unter normoxischen Bedingungen gegenüber. Ohne Efg1p wächst *C. albicans* hypoxisch demnach um rund 10 % langsamer als normoxisch. Dies deutet auf eine positive Wachstumsbeeinflussung von Efg1p unter Sauerstoff-Limitierenden Bedingungen. Das Ergebnis konnte mit dem Wildtypstamm CAF2-1 und der *efg1*-Mutante HLC52 nochmals bestätigt werden (Daten nicht gezeigt).

Um auszuschließen, dass eine Ansäuerung des Mediums das Wachstum unter hypoxischen Bedingungen beeinflusst, wurden während des Wachstums Proben gezogen und der pH-Wert des Mediums kontrolliert. Wie in Abb. 10 zu erkennen, bleibt der pH-Wert des Mediums in der logarithmischen Wachstumsphase nahezu konstant. Erst bei einer OD<sub>600</sub> = 7 fällt der pH-Wert leicht von 6,6 auf 5,5. Bei einer OD<sub>600</sub> = 14 nach 25 Stunden Inkubationszeit neutralisiert sich der pH wieder.

### 3.2.2 Genregulation von *EFG1* unter sauerstoffarmen Bedingungen

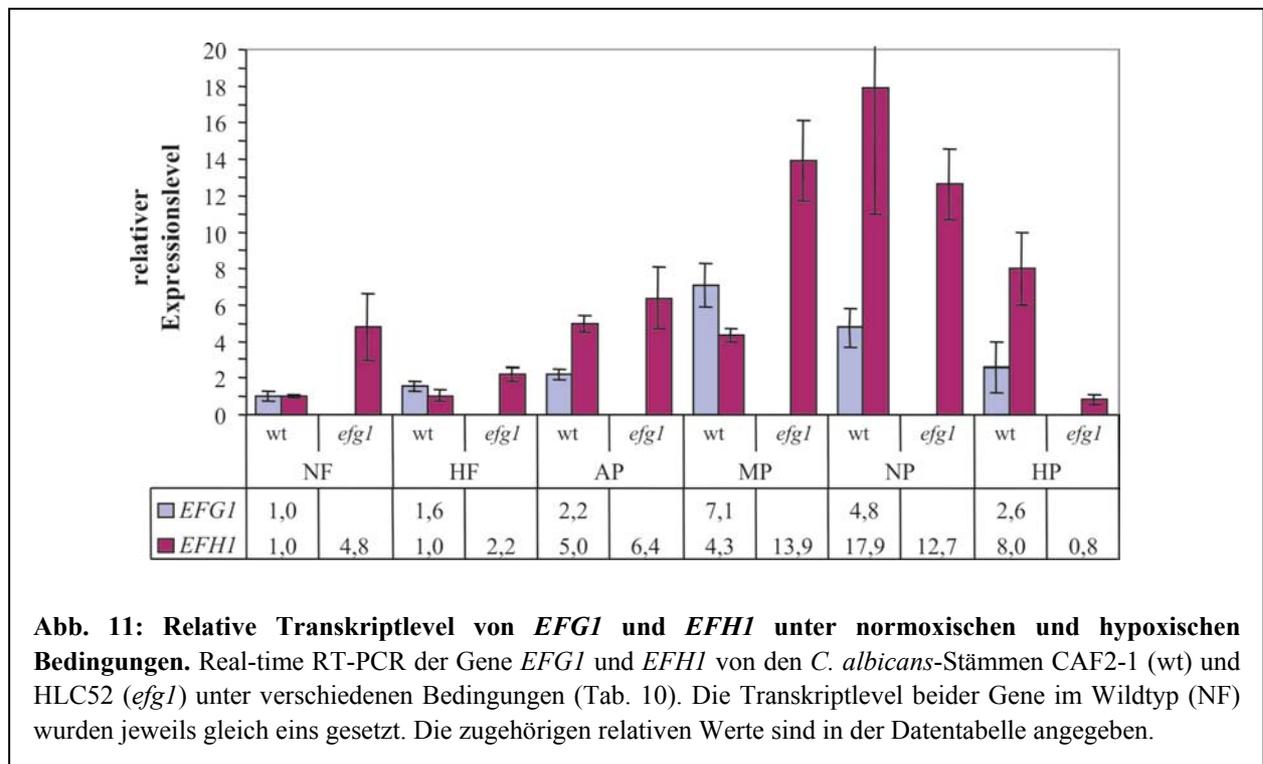
Um die Regulation des *EFG1*-Gens unter verschiedenen hypoxischen Wachstumsbedingungen zu untersuchen, wurde zunächst die Expression mittels Real-time RT-PCR analysiert. Neben den Bedingungen aus Kapitel 3.1, bei denen der hyperfilamentöse Phänotyp der *efg1*-Mutante beobachtet wurde (HP mit NP als Referenz) wurde die *EFG1*-Expression unter weiteren Bedingungen untersucht. Hierzu gehörten einerseits eine hypoxische Anzucht im flüssigen Vollmedium bei Standardwachstumsbedingungen (HF mit NF als Referenz), sowie andererseits

die bereits von Doedt *et al.* (2004) genutzten mikroaerophilen Wachstumsbedingungen auf festen Medium (MP mit AP als Referenz) (Tab. 10).

**Tab. 10: Übersicht der Anzuchtbedingungen unter aeroben und sauerstoffarmen Bedingungen**

Bezeichnung	Bedeutung	Anzucht	Inkubationszeit
NF	normoxisch flüssig	aerob, 30 °C flüssiges YPD-Medium	OD <sub>600</sub> = 0,05 bis OD <sub>600</sub> = 0,6-0,7
HF	hypoxisch flüssig	Begasung mit 99,9 % N <sub>2</sub> , 30°C flüssiges YPD-Medium	OD <sub>600</sub> = 0,05 bis OD <sub>600</sub> = 0,6-0,7
AP	aerob Platte	aerob, 30 °C festes YPD-Medium	4-5 Tage
MP	mikroaerophil Platte	Mikroaerobier-Topf (OXOID), 30 °C festes YPD-Medium	4-5 Tage
NP	normoxisch Platte	Aerob, 24 °C festes YPS-Medium	4-5 Tage
HP	hypoxisch Platte	Begasung mit 99,9 % N <sub>2</sub> , 24 °C festes YPS-Medium	4-5 Tage

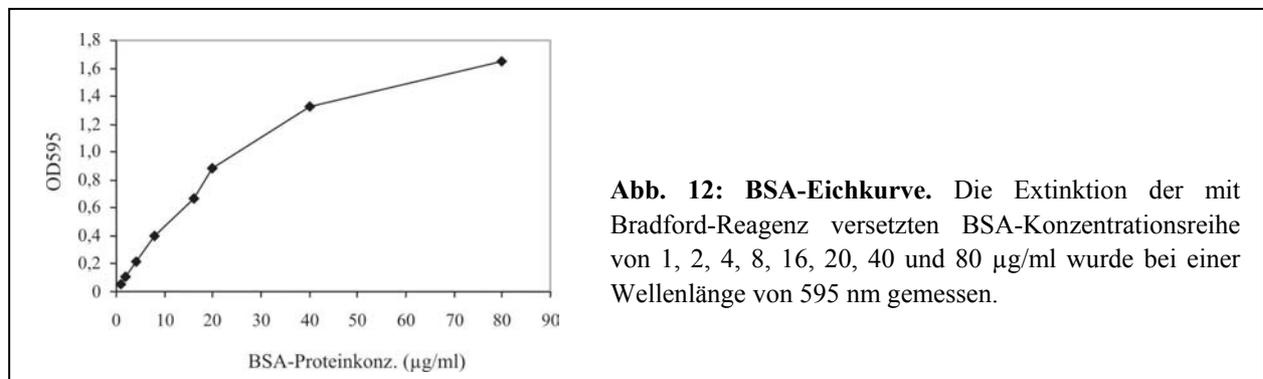
Für die Expressionsanalysen wurden der Wildtypstamm CAF2-1 und der *efg1*-Deletionsstamm HLC52 in den entsprechenden Medien angezogen und die Gesamt-RNA präpariert. Die Expression von *EFG1* wurde dann mittels Real-Time PCR analysiert. Parallel dazu wurde ebenfalls die Expression des noch wenig charakterisierten, zu *EFG1* homologen Gens *EFH1* untersucht.



**Abb. 11: Relative Transkriptlevel von *EFG1* und *EFH1* unter normoxischen und hypoxischen Bedingungen.** Real-time RT-PCR der Gene *EFG1* und *EFH1* von den *C. albicans*-Stämmen CAF2-1 (wt) und HLC52 (*efg1*) unter verschiedenen Bedingungen (Tab. 10). Die Transkriptlevel beider Gene im Wildtyp (NF) wurden jeweils gleich eins gesetzt. Die zugehörigen relativen Werte sind in der Datentabelle angegeben.

Wie in Abb. 9 zu sehen, zeigten sich sowohl für *EFG1* als auch für *EFH1* starke Änderungen des Transkriptspiegels je nach Wachstumsbedingungen und Stammhintergrund. Ein Vergleich der  $\Delta C_T$ -Werte (s. auch 2.8.2.2) beider Gene, lässt darauf schließen, dass *EFH1* etwa zehn Mal geringer exprimiert wird als sein homologes Protein (Daten nicht gezeigt). Unter den sauerstoffarmen Bedingungen HF und MP ist der Transkriptlevel von *EFG1*, verglichen mit dem Level unter aeroben Bedingungen (NF und AP), erhöht. Lediglich bei den Zellen der hypoxischen Platten (HP) zeigt sich eine Abnahme des Transkripts, welche aufgrund der hohen Standardabweichung allerdings relativiert wird. Weiter zu beobachten ist, dass die *EFG1*-Transkriptmenge der auf festen Medien angezogenen Zellen höher ist, als die der im Flüssigmedium angezogenen Kulturen (NF und HF). Wie schon die Untersuchungen zur Morphogenese von *C. albicans* vermuten ließen (3.1.1), scheint Efg1p für die hypoxische Genregulation wichtig zu sein. Zum *EFG1*-homologen Gen *EFH1* lässt sich zusammenfassend beschreiben, dass der Transkriptlevel in der *efg1*-Mutante im Vergleich zum Wildtyp erhöht ist. Nur bei hypoxischen Bedingungen auf Platte (HP) ist der Transkriptlevel von *EFH1* in der Mutante signifikant geringer (10-fach) als im Wildtyp. Unter diesen Bedingungen zeigte sich auch der hyperfilamentöse Phänotyp der *efg1*-Einfachmutante und ein verstärkender Effekt einer *EFH1*-Disruption in der *efg1*-Mutante (Abb. 6).

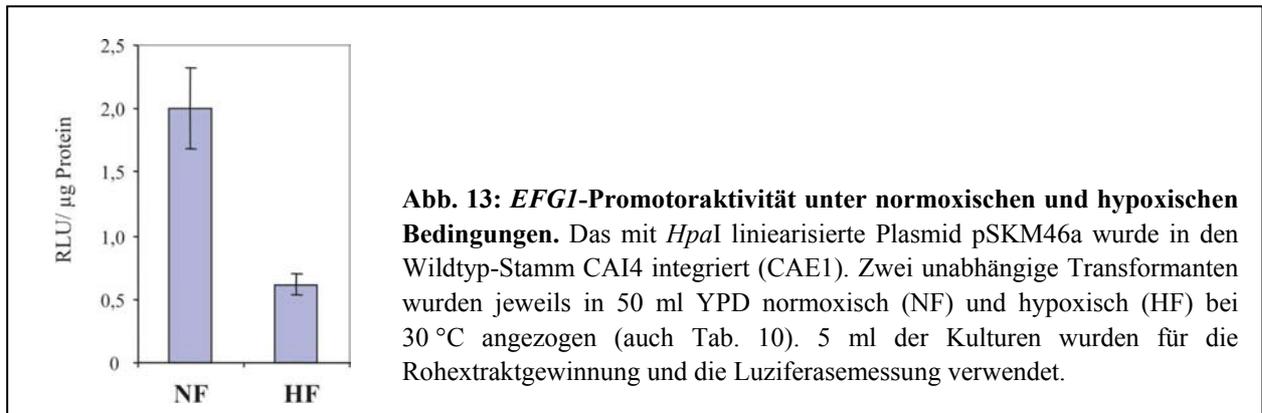
Um zu überprüfen, ob der erhöhte *EFG1*-Transkriptlevel unter hypoxischen Bedingungen, auf eine erhöhte Promotoraktivität zurückzuführen ist, wurde die *EFG1*-Promotoraktivität mittels einer Reporteragenfusion untersucht. Hierzu wurde das Plasmid pSKM46a (*EFG1p-RLUC*) mit dem Restriktionsenzym *HpaI* geschnitten und in den *EFG1*-Promotor des Wildtyp-Stamms CA14 integriert. Dadurch konnte die Promotoraktivität von *EFG1* unter normoxischen und hypoxischen Bedingungen gemessen werden. Zwei unabhängige Transformanten wurden in 50 ml YPD jeweils aerob und unter Stickstoffbegasung (hypoxisch) bis zu einer  $OD_{600} = 0,8$  wachsen gelassen. Anschließend wurden aus 5-10 ml Rohextrakte hergestellt und die Proteinkonzentration bestimmt. Dafür wurde zunächst eine BSA-Eichkurve als Standard erstellt, die so auch für anschließende Proteinbestimmungen durchgeführt wurde (Abb. 12). Die Luziferaseaktivität wurde mittels eines Luminometers protokolliert. Der Standardkurve kann entnommen werden, dass lediglich Proteinmengen bis zu 20  $\mu\text{g/ml}$  im linearen Bereich der Extinktion liegen.



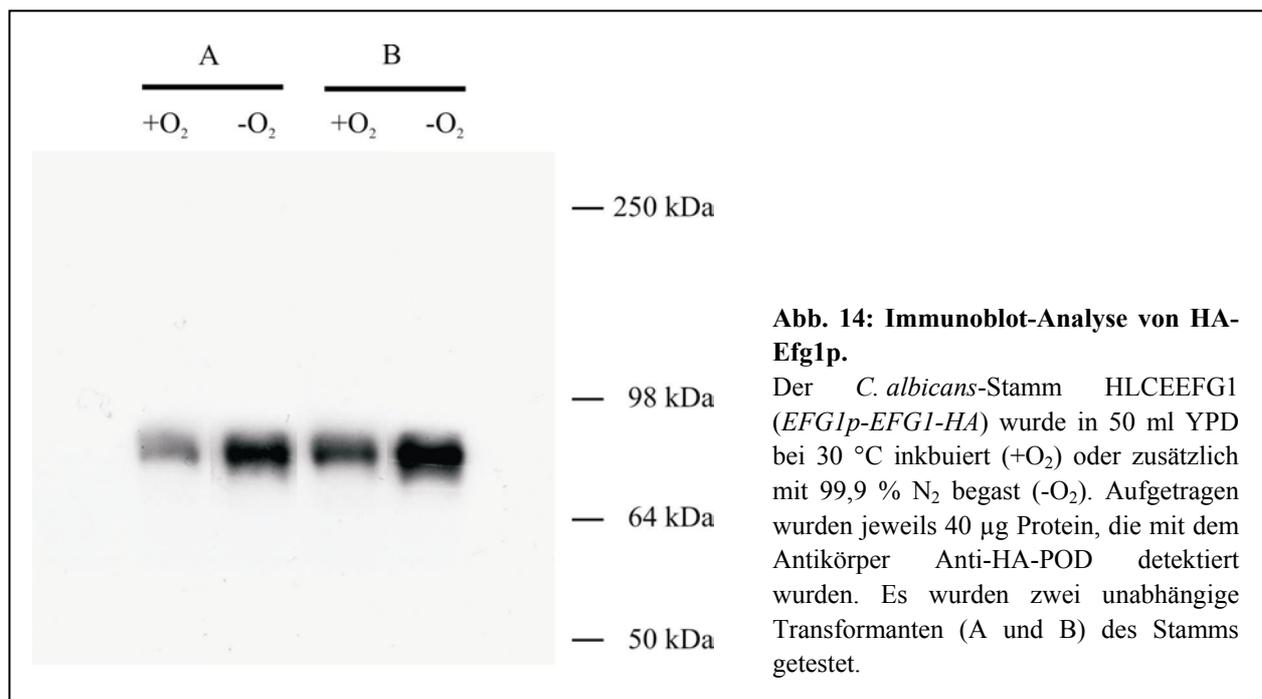
**Abb. 12: BSA-Eichkurve.** Die Extinktion der mit Bradford-Reagenz versetzten BSA-Konzentrationsreihe von 1, 2, 4, 8, 16, 20, 40 und 80  $\mu\text{g/ml}$  wurde bei einer Wellenlänge von 595 nm gemessen.

Nach Bestimmung der Promotoraktivität pro  $\mu\text{g}$  Protein, konnte die Aktivität in einem Diagramm graphisch dargestellt werden (Abb. 13). Es zeigt sich, dass der Promotor von *EFG1* unter hypoxischen Bedingungen (HF) rund viermal weniger aktiv ist als normoxisch (NF). Der

Transkriptlevel hingegen steigt bei einer Sauerstoffarmut (HF) (Abb. 11). Denkbar ist, dass diese Unterschiede z.B. auf eine erhöhte Transkriptstabilität bei Hypoxie zurückzuführen sind.



Aufgrund dieser Diskrepanz zwischen Promoteraktivität und Transkriptmenge war es wichtig zu untersuchen, ob die erhöhten *EFG1*-Transkriptmengen unter hypoxischen Bedingungen auch tatsächlich zu einer erhöhten Menge des Efg1p-Proteins führen. Um dies zu untersuchen, wurde im weiteren Verlauf eine Immunoblot-Analyse durchgeführt. Hierzu wurde ein Stamm genutzt, welcher eine Epitop markierte Efg1p-Version unter der Kontrolle des eigenen Promotors produziert. Das für das HA-Efg1p kodierende Plasmid pTD38-HA wurde dazu, wie bereits in 3.2.1 beschrieben, in den Stamm HLC67 integriert (Lengeler, pers. Mitteilung). Der integrierte Stamm wurde in 50 ml YPD-Medium sowohl normoxisch als auch hypoxisch bis zu einer  $OD_{600} = 0,8$  wachsen gelassen. Anschließend wurden Rohextrakte hergestellt und die Proteinkonzentration bestimmt, um eine definierte Menge an Protein, auf ein SDS-Gel auftragen zu können.



Die daraufhin durchgeführte Immunoblot-Analyse zeigt, dass in den hypoxisch angezogenen Zellen mehr Efg1-Protein synthetisiert wird als unter normoxischen Bedingungen (Abb. 14). Die Erhöhung des Transkriptspiegels von *EFG1* unter hypoxischen Bedingungen (HF) (Abb. 11), führt somit tatsächlich zu einer größeren Menge an Efg1p (Abb. 14).

### 3.3 Genomweite Transkriptomanalyse des Wildtyps und der *efg1*-Mutante bei Hypoxie

Im Kapitel 3.1 wurde beschrieben, dass eine *EFG1*-Disruption zu einem hyperfilamentösen Phänotyp unter hypoxischen Bedingungen auf festem Medium führt. Bei einem normalen Sauerstoffgehalt in der Umgebung kann dieses Verhalten einer *efg1*-Mutante nicht beobachtet werden. Zudem wurde in 3.2 gezeigt, dass der *EFG1*-Transkriptlevel unter Normoxie und Hypoxie unterschiedlich reguliert wird. Diese Beobachtungen führten zu der Annahme, dass der Transkriptionsfaktor Efg1p an der Aktivierung bzw. Repression hypoxisch regulierter Gene beteiligt ist. Die bei Sauerstoffmangel anders regulierten Gene könnten wiederum für die Morphogenese von *C. albicans* unter hypoxischen Bedingungen von Bedeutung sein. Um mehr Einblicke in die Genregulation von *C. albicans* unter hypoxischen Bedingungen zu erlangen, wurden im Folgenden genomweite Transkriptomanalysen des Wildtyps sowie der *efg1*-Mutante unter sauerstoffarmen Bedingungen durchgeführt.

Dazu wurden kommerzielle DNA-Microarrays der Firma Eurogentec genutzt, welche mit 6039 Offenen Leserastern etwa 98 % der Gene von *C. albicans* enthalten. Die markierte cDNA von je zwei zu vergleichenden Proben wurde mit einem DNA-Microarray hybridisiert. Nach dem Waschen und dem Scannen der Arrays erfolgte die Normalisierung und statistische Auswertung der Daten (2.8.1.3). Als reguliert wurden in allen Experimenten nur diese Gene bezeichnet, die eine mit Hilfe des Programms „SAM“ (Significance Analysis of Microarrays) ermittelte, statistisch signifikante Abweichung von der Referenz zeigten und zusätzlich eine mindestens 1,5-fache Änderung zur Referenz aufwiesen.

In Tab. 11 werden alle durchgeführten Microarray-Experimente aufgeführt. Es wird zudem kurz beschrieben, welche Gene durch die jeweiligen Experimente identifiziert werden sollten. Untersucht wurde zunächst das Transkriptom hypoxisch angezogener Zellen im YPD-Medium bei 30 °C. Dabei wurden der Wildtyp, die *efg1*-Mutante sowie die *rim15*-Mutante, welche unter hypoxischen Bedingungen leicht hyperfilamentös wächst (3.6.3.1), in Betracht gezogen. Des Weiteren wurden Transkriptomanalysen von auf festem Medium angezogener Zellen durchgeführt, da sich lediglich auf bzw. in einer Matrix wachsende *efg1*-Mutanten hyperfilamentös gegenüber dem Wildtyp verhalten. Es wurden zum einen mikroaerophile Bedingungen untersucht, aber auch hypoxische Bedingungen bei einer Temperatur von 24 °C.

**Tab. 11: Übersicht durchgeführter Microarray-Analysen.** wt: CAF2-1, *efg1*: HLC52, *rim15*: CAR23-7-5. Detaillierte Angaben zu den Anzuchtbedingungen sind der Tab. 10 zu entnehmen.

Experiment Bezeichnung	Experiment	Referenz	Identifizierte Gene
wt HF/NF	wt Hypoxisch Flüssig	wt Normoxisch Flüssig	Gene, die durch Hypoxie im Wildtyp reguliert werden.
<i>efg1</i> HF/NF	<i>efg1</i> Hypoxisch Flüssig	<i>efg1</i> Normoxisch Flüssig	Gene, die unabhängig von Efg1p durch Hypoxie reguliert werden.

Experiment Bezeichnung	Experiment	Referenz	Identifizierte Gene
<i>efg1</i> /wt HF	<i>efg1</i> Hypoxisch Flüssig	wt Hypoxisch Flüssig	Von Efg1p unter hypoxischen Bedingungen regulierte Gene.
<i>efg1</i> /wt AP	<i>efg1</i> Aerob auf Platte	wt Aerob auf Platte	Von Efg1p unter aeroben Bedingungen auf festem Medium bei 30 °C regulierte Gene.
<i>efg1</i> /wt MP	<i>efg1</i> Mikroaerophil auf Platte	wt Mikroaerophil auf Platte	Von Efg1p unter mikroaerophilen Bedingungen auf festem Medium bei 30 °C regulierte Gene.
<i>efg1</i> /wt NP	<i>efg1</i> Normoxisch auf Platte	wt Normoxisch auf Platte	Von Efg1p unter normoxischen Bedingungen auf festem Medium bei 24 °C regulierte Gene.
<i>efg1</i> /wt HP	<i>efg1</i> Hypoxisch auf Platte	wt Hypoxisch auf Platte	Von Efg1p unter hypoxischen Bedingungen auf festem Medium bei 24 °C regulierte Gene.
<i>rim15</i> /wt HF	<i>rim15</i> Hypoxisch Flüssig	wt Hypoxisch Flüssig	Gene, die unter hypoxischen Bedingungen von Rim15p reguliert werden.
<i>efg1</i> /wt NF (Doedt <i>et al.</i> , 2004)	<i>efg1</i> Normoxisch Flüssig	wt Normoxisch Flüssig	Gene, die unter normoxischen Bedingungen von Efg1p reguliert werden.

### 3.3.1 Transkriptomanalysen bei Hypoxie im Flüssigmedium

Hypoxische Bedingungen lösen bei flüssig angezogenen *efg1*-Mutanten kein filamentöses Wachstum aus (Daten nicht gezeigt). Es sollte dennoch zunächst gezeigt werden, welche Gene bzw. Gengruppen unter den üblichen Anzuchtbedingungen (Vollmedium, 30 °C) durch eine Hypoxie beeinflusst werden. Geerntet wurden die Zellen während der logarithmischen Wachstumsphase bei einer  $OD_{600} = 0,6$ .

#### 3.3.1.1 Hypoxisch regulierte Gene

Um herauszufinden, welche Gene unter hypoxischen Bedingungen im Wildtyp reguliert werden, wurde die cDNA-Menge hypoxisch angezogener Zellen mit der von normoxisch angezogenen Zellen verglichen („wt HF/NF“, Tab. 11). In diesem Microarray-Experiment wurden 164, der rund 6000 offenen Leseraster als signifikant reguliert identifiziert. Die Signifikanz wurde aus den Werten von mindestens sechs Replikaten mittels des Programms „SAM“ bestimmt. Im Wildtyp werden die Transkriptspiegel von 114 Genen bei einer Hypoxie erhöht und 50 erniedrigt. Um eine Übersicht zu erhalten, wurden diese in Gruppen sortiert (Tab. 12). So wurden beispielsweise die Transkriptlevel von 12 Genen der Glykolyse als signifikant hoch reguliert identifiziert, während sieben Gene des Tri-Carbonsäure-Zyklus bei den Genen mit erniedrigtem Transkriptspiegel zu finden sind. Auch die Transkription vieler Fettsäurebiosynthese- sowie Zellwandgene wird bei Sauerstoffmangel gefördert. Bei den hypoxisch induzierten Genen der Translation handelt es sich hauptsächlich um Gene für ribosomale Proteine. Identifizierte Gene der Atmungskette wie *RIP1* kodieren für Cytochrom-c-Reduktasen und Gene der ATP-Synthese größtenteils für  $F_1F_0$ -ATPase Komplexe, welche bei

Hypoxie reprimiert werden. Eine detaillierte Liste aller 164 signifikant regulierten Gene ist dem Anhang zu entnehmen (Tab. 19).

**Tab. 12: Auswahl von im Wildtyp unter hypoxischen gegenüber normoxischen Bedingungen regulierten Gengruppen.** Identifizierte Gene aus dem Microarray-Experiment „wt HF/NF“ (Tab. 11) sind mindestens 1,5-fach, statistisch signifikant reguliert. Eine Liste aller regulierten Gene und Gengruppen ist dem Anhang (Tab. 19) zu entnehmen.

114 Gene mit erhöhtem Transkriptspiegel	50 Gene mit erniedrigtem Transkriptspiegel
Fermentation (3) <i>ADH1 ADH2 ADH3</i> Fettsäure- und Ergosterolbiosynthese (10) <i>ACC1 FAS1 FAS2.3F FAS2.5F OLE1 EFG11 EFG251 ERG3 ERG5 orf19.391 POT14</i> Glykolyse (12) <i>ENO1 FBA1 GAP1 GLK1 GPM1 PDC11 PFK2 PGII PGK1 PYC2 TPI1 TPS3</i> Hyphen spezifische Gene (4) <i>ALS12 DDR48 HWP1 RBT5</i> Stressantwort (7) <i>CTA1 GRP2 HSP12 SSA1 SSA4 SSC1 SSU81</i> Translation (6) <i>BEL1 PRT1 RNR21 RPL10E RPL18 RPS7A</i> Zellwand/ -membran (7) <i>ALG2 ECM33 PGA6 PLB4 SUN41 SUN42</i>	Atmungskette (7) <i>COX13 CYT1 orf19.2821 orf19.4016 orf19.913.2 QCR2 RIP1</i> ATP-Synthese (11) <i>ATP1 ATP2 ATP3 ATP5 ATP7 orf19.5598.2 MIR1 orf19.5231.2 orf19.5598.2 PHO84 STF2</i> Tri-Carbonsäure-Zyklus (7) <i>ACO1 CIT1 FUM12.3F FUM12.5F IDH1 IDH2 KGD2</i>

### 3.3.1.2 Efg1p regulierte Gene unter hypoxischen Bedingungen

Mittels des im vorangegangenen Abschnitt beschriebenen Experiments wurden Gene identifiziert, die im Wildtyp unter hypoxischen anders als unter normoxischen Bedingungen reguliert werden. Von letzterer Bedingung ist bekannt, dass Efg1p die Transkription von 283 Genen ( $\geq 1,5$ -fache Regulation) kontrolliert (Doedt *et al.*, 2004). Da der Transkriptionsfaktor zudem eine entscheidende Rolle in der Morphogenese von *C. albicans* auch unter sauerstoffarmen Bedingungen spielt (3.1), wurde untersucht welche der von Hypoxie beeinflussten Gene durch Efg1p reguliert werden. Hierzu wurde ein Microarray-Experiment durchgeführt, welches das Transkriptom der *efg1*-Mutante mit dem des Wildtyps unter hypoxischen Bedingungen vergleicht („*efg1*/wt HF“: Tab. 11). Es wurden 181 signifikant regulierte Gene ( $\geq 1,5$ -fach reguliert) in Gruppen eingeteilt, welche der Tab. 13 entnommen werden können. Um diejenigen Gengruppen zu finden, die im Wildtyp und gleichzeitig von Efg1p bei einer Hypoxie reguliert werden, wurden die Gruppen der Tabellen 12 und 13 miteinander verglichen. Es musste hierbei nach Gengruppen gesucht werden, die in beiden Tabellen zu finden sind, aber im Experiment „wt HF/NF“ entgegengesetzt reguliert zum Experiment „*efg1*/wt HF“. So wird beispielsweise ein Gen mit erhöhtem Transkriptlevel im Experiment „wt HF/NF“ genau dann von Efg1p aktiviert, wenn sein Transkriptlevel im Experiment „*efg1*/wt HF“ erniedrigt vorliegt. Die im Wildtyp („wt HF/NF“) durch Hypoxie reprimierte Gengruppe „Atmungskette“ lässt sich in der *efg1*-Mutante („*efg1*/wt HF“) bei den Genen mit erhöhtem Transkriptspiegel wieder finden (Tab. 13). Es wird jedoch nur die Ubiquinol-cytochrom-c-Reduktase (*RIP1*) der Atmungskette von Efg1p reprimiert. Beinahe alle im Wildtyp unter hypoxischen Bedingungen aktivierten Gengruppen werden durch Efg1p

reguliert (Tab. 13). Darunter fallen Gene der Fettsäurebiosynthese, hyphenspezifische Gene sowie Gene der Stressantwort. Glykolysegene werden ebenfalls in beiden Experimente wieder gefunden, allerdings werden in dem Microarray-Experiment „*efg1*/wt HF“ nur drei Gene mit erniedrigtem Transkriptlevel identifiziert; die Transkriptlevel von 12 Glykolysegenen werden aber unter hypoxischen Bedingungen im Wildtyp erhöht.

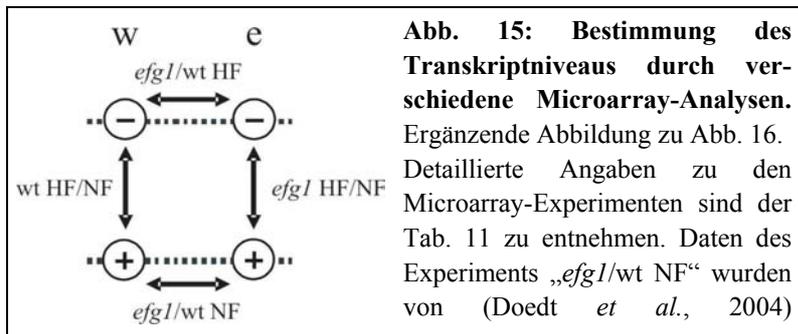
**Tab. 13: Auswahl von in der *efg1*-Mutante gegenüber dem Wildtyp unter hypoxischen Bedingungen regulierten Gengruppen.** Identifizierte Gene aus dem Microarray-Experiment „*efg1*/wt HF“ (Tab. 11) sind mindestens 1,5-fach, statistisch signifikant reguliert. Eine Liste der regulierten Gene ist dem Anhang zu entnehmen (Tab. 21).

103 Gene mit erhöhtem Transkriptspiegel	78 Gene mit erniedrigtem Transkriptspiegel
Atmungskette (1) <i>RIP1</i>	Fermentation (1) <i>ADH5</i>
Eisenmetabolismus (6) <i>FET31 FET32 FET34 FET5 FTR1 FTR2</i>	Fettsäurebiosynthese (6) <i>ACB1 ACC1 FAS2.3F OLE1 PDA1 PDB1</i>
Translation (4) <i>ATE1 KRS1 RPS15 SEN15</i>	Glykolyse (3) <i>ENO1 GLK1 GPH1</i>
Transkription (6) <i>CTA4 HOS1 JA2 MBP1 MED9 RPC53</i>	Hyphen spezifische Gene (3) <i>ALS4 DDR48 RBT5</i>
	Tri-Carbonsäure-Zyklus (2) <i>GAD1 MDH1</i>
	Stressantwort (6) <i>CTA1 GRP2 HSP104 HSP12 SOD1 SSA4</i>

Ein Vergleich der Tab. 12 und Tab. 13 (Microarray-Experimente „wt HF/NF“ und „*efg1*/wt HF“) konnte bereits aufzeigen, welche Gengruppen im Wildtyp durch Efg1p reguliert werden. Aus den beiden Tabellen geht jedoch nicht hervor, um welche Gene es sich im Einzelnen handelt, und ob die Aktivierung bzw. Repression durch Efg1p tatsächlich nur unter hypoxischen und nicht auch unter normoxischen Bedingungen stattfindet. Gene, die unter diese Kategorie fallen, könnten auch für die Morphogenese von *C. albicans* bei Sauerstoffmangel von Bedeutung sein. Um eine detaillierte Vorstellung zu bekommen, wie bestimmte Gene unter normoxischen und hypoxischen Bedingungen von Efg1p reguliert werden, wurden zwei weitere Experimente berücksichtigt. Ersteres vergleicht das Transkriptom der *efg1*-Mutante unter hypoxischen und normoxischen Bedingungen („*efg1* HF/NF“: Tab. 11). Hier werden 374 Gene reguliert, wovon 202 einen erhöhten und 172 einen erniedrigten Transkriptspiegel aufweisen (Tab. 20, Anhang). Das zweite Experiment wurde von Doedt *et al.* (2004) durchgeführt, wird aber für die Vervollständigung einer schematischen Darstellung der Transkriptlevel benötigt. Dieses Experiment vergleicht das Transkriptom der *efg1*-Mutante mit dem des Wildtyps unter normoxischen Bedingungen.

Zunächst wurde ein Venn-Diagramm der drei Experimente „wt HF/NF“, „*efg1* HF/NF“ und „*efg1*/wt HF“ erstellt (Abb. 16). Hierbei werden nur signifikant regulierte Gene berücksichtigt, die mindestens eine 1,5-fache Änderung des Expressionslevels zeigen. Die Schnittmengen beinhalten Gene, die in zwei bzw. drei Experimenten gleichzeitig reguliert werden. Um die Bedeutung von Efg1p bei der Genregulation besser verdeutlichen zu können, wurden Schemata der am häufigsten vorkommenden Regulationstypen, von den Schnittmengen ausgehend, zur Visualisierung der Transkriptlevel erstellt. Für die graphische Darstellung mussten alle Gene des Venn-Diagramms auf ihre Regulation in allen vier genannten Experimenten hin untersucht werden. Dabei wurde das vierte Experiment mit der *efg1*-Mutante unter normoxischen

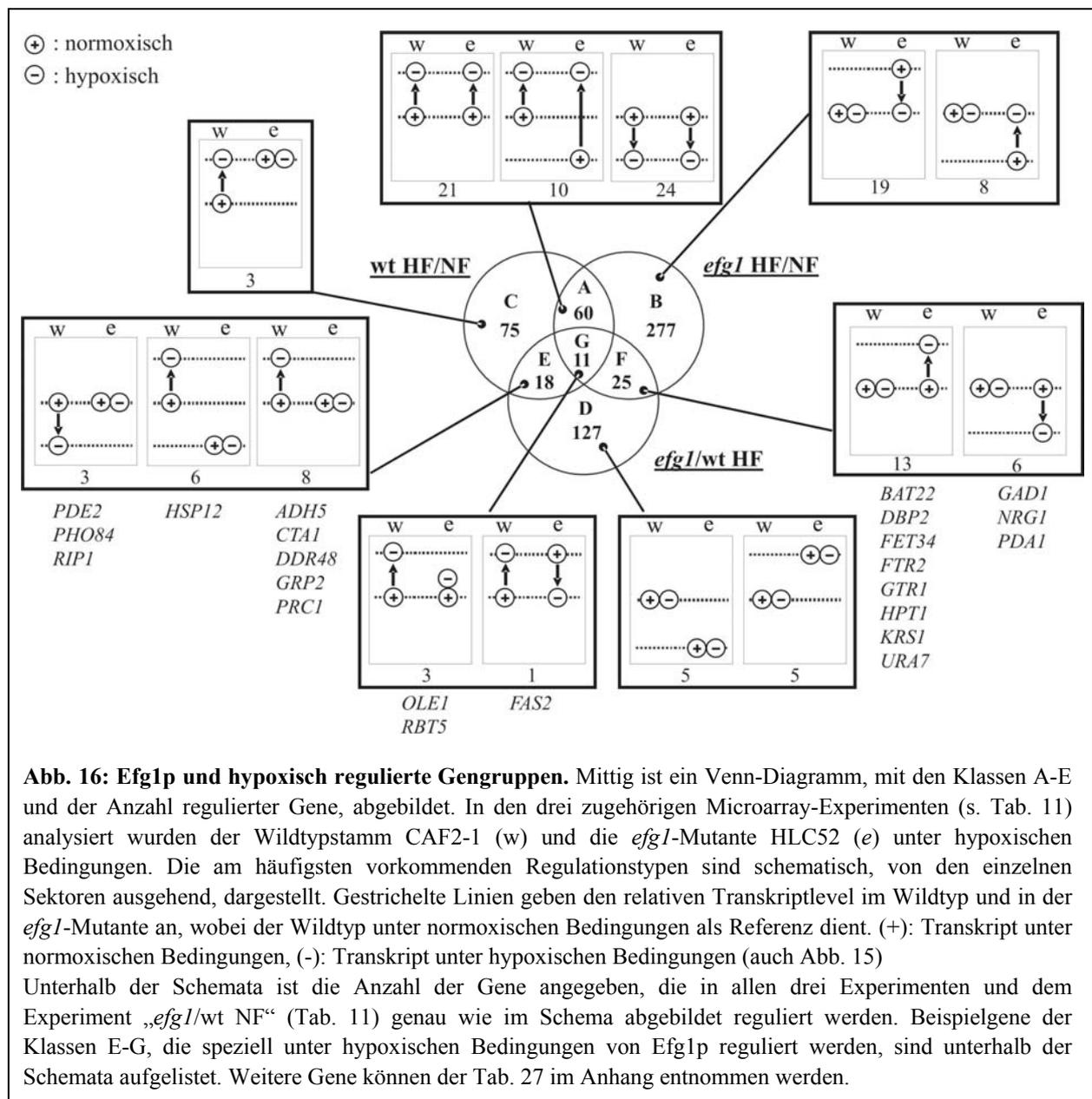
Bedingungen verglichen zum Wildtyp (Doedt *et al.*, 2004) lediglich zur Kontrolle hinzugezogen, aber nicht im Venn-Diagramm abgebildet. Der zur Abb. 16 ergänzenden Abb. 15 kann entnommen werden, an welcher Stelle die vier Experimente in den Schemata wieder gefunden werden können. Ein Pluszeichen repräsentiert das Transkript unter normoxischen, ein Minuszeichen unter hypoxischen Bedingungen auf dem jeweiligen Transkriptniveau (gestrichelte Linie). Zusätzlich deuten die Pfeile in der Abb. 16 auf eine erhöhte ( $\uparrow$ ) bzw. erniedrigte ( $\downarrow$ ) Regulation an. Unterhalb der einzelnen Abbildungen werden die Anzahl und einige Beispiele der so regulierten Gene angegeben. Dabei wurden lediglich Gene berücksichtigt, auf die das Regulationsmuster in allen vier Experimenten zutrifft. Eine vollständige Liste aller auf diesem Wege identifizierter Gene ist im Anhang (Tab. 27) gegeben.



**Abb. 15: Bestimmung des Transkriptniveaus durch verschiedene Microarray-Analysen.** Ergänzende Abbildung zu Abb. 16. Detaillierte Angaben zu den Microarray-Experimenten sind der Tab. 11 zu entnehmen. Daten des Experiments „*efg1/wt NF*“ wurden von (Doedt *et al.*, 2004)

Das Venn-Diagramm in Abb. 16 zeigt, dass etwa 20 % (29/164) der im Wildtyp hypoxisch regulierten Gene von Efg1p kontrolliert werden. Dieser Prozentsatz ergibt sich aus der Anzahl der Gene der Schnittmengen E und G im Verhältnis zu der Anzahl des

Experiments „wt HF/NF“. Hierbei handelt es sich z.B. um Gene der Stressantwort (*HSP12*), Fettsäurebiosynthese (*OLE1*, *FAS2*) oder auch der Atmungskette (*RIP1*). Das zur Kategorie G gehörende *OLE1*-Gen beispielsweise wird unter normoxischen Bedingungen nicht von Efg1p reguliert, während der Transkriptionsfaktor unter hypoxischen Bedingungen zusätzlich aktivierend wirkt. Die Aktivierung von *FAS2* unter hypoxischen Bedingungen wird sogar, durch die reprimierenden Eigenschaften von Efg1p unter Normoxie, unterstützt. Gene der Kategorie A sind im Wildtyp und in der *efg1*-Mutante unter hypoxischen Bedingungen gleich reguliert. Ihre Aktivierung bzw. Repression erfolgt somit unabhängig von Efg1p. Auch die Kategorien C und B repräsentieren Gene, die unter hypoxischen Bedingungen unabhängig von Efg1p reguliert (C) bzw. nicht reguliert (B) werden. Im Gegensatz zu Kategorie A-Genen, ist hier der Transkriptlevel unter normoxischen Bedingungen von der Aktivität des Transkriptionsfaktors abhängig. Die Schnittmenge der Experimente „*efg1 HF/NF*“ und „*efg1/wt HF*“ mit der Kategorie F, enthält Gene (u.a. *NRG1*), die im Wildtyp unter hypoxischen Bedingungen nicht reguliert werden, aber in der *efg1*-Mutante. Bei Sauerstoffmangel ist Efg1p demnach für die Unterdrückung einer Regulation der Gene verantwortlich. Die größte Anzahl von Genen (127), neben der von Kategorie B (277), gehören der Gruppe D an. Die Genregulation ist hier von Efg1p abhängig, aber unabhängig vom Sauerstoffgehalt der Umgebung.



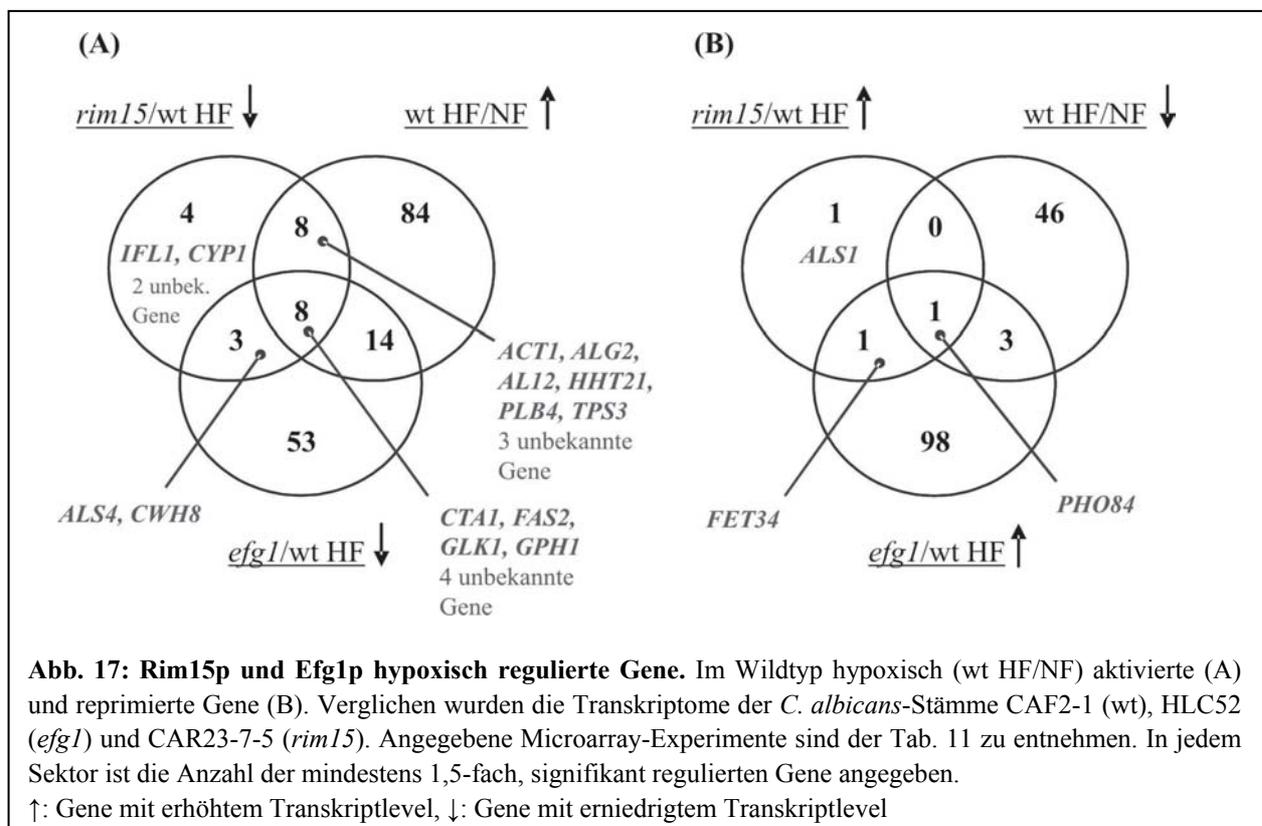
**Abb. 16: Efg1p und hypoxisch regulierte Gengruppen.** Mittig ist ein Venn-Diagramm, mit den Klassen A-E und der Anzahl regulierter Gene, abgebildet. In den drei zugehörigen Microarray-Experimenten (s. Tab. 11) analysiert wurden der Wildtypstamm CAF2-1 (w) und die *efg1*-Mutante HLC52 (e) unter hypoxischen Bedingungen. Die am häufigsten vorkommenden Regulationstypen sind schematisch, von den einzelnen Sektoren ausgehend, dargestellt. Gestrichelte Linien geben den relativen Transkriptlevel im Wildtyp und in der *efg1*-Mutante an, wobei der Wildtyp unter normoxischen Bedingungen als Referenz dient. (+): Transkript unter normoxischen Bedingungen, (-): Transkript unter hypoxischen Bedingungen (auch Abb. 15) Unterhalb der Schemata ist die Anzahl der Gene angegeben, die in allen drei Experimenten und dem Experiment „*efg1/wt NF*“ (Tab. 11) genau wie im Schema abgebildet reguliert werden. Beispielgene der Klassen E-G, die speziell unter hypoxischen Bedingungen von Efg1p reguliert werden, sind unterhalb der Schemata aufgelistet. Weitere Gene können der Tab. 27 im Anhang entnommen werden.

### 3.3.1.3 Rim15p regulierte Gene unter hypoxischen Bedingungen

Im Abschnitt 3.3.1.2 wurde gezeigt, dass Efg1p für die Regulation vieler Gene unter hypoxischen Bedingungen benötigt wird. Unter normoxischen Bedingungen ist bekannt, dass der Transkriptionsfaktor über den PKA-Signaltransduktionsweg aktiviert wird (Sonneborn *et al.*, 2000; Bockmühl und Ernst, 2001). In der Bäckerhefe *S. cerevisiae* ist neben der Proteinkinase A auch die Proteinkinase Rim15p in diesem Signalweg involviert (Reinders *et al.*, 1998). In *C. albicans* konnte eine Beteiligung des homologen Proteins CaRim15p bisher nicht gezeigt werden. Es konnte jedoch beobachtet werden, dass *C. albicans rim15*-Mutanten leicht hyperfilamentös auf „eingebettete“ Bedingungen reagieren (Setiadi, 2002). Die *efg1*-Mutante zeigt denselben Phänotyp unter diesen Bedingungen, allerdings wesentlich stärker als Zellen mit *RIM15*-Disruption. Es ist daher denkbar, dass die Proteine beider Gene im selben Signalweg

involviert sind und gemeinsam die Hyphenbildung unter hypoxischen Bedingungen regulieren. In einer Transkriptomanalyse unter hypoxischen Bedingungen könnten Gene zu finden sein, die sowohl von Efg1p als auch von Rim15p abhängig sind. Diese wiederum könnten für die Morphogenese von *C. albicans* bei Hypoxie von Bedeutung sein.

Um Gene identifizieren zu können, die von Rim15p reguliert werden, wurde das Microarray-Experiment „*rim15/wt HF*“ (Tab. 11) durchgeführt. Es wurden 26 regulierte Gene gefunden, wovon lediglich die Transkriptspiegel von drei Genen in der Mutante erhöht vorliegen (Anhang: Tab. 26). Die Schnittmengen des Venn-Diagramms der Experimente „*rim15/wt HF*“, „*efg1/wt HF*“ und „*wt HF/NF*“ in Abb. 17 A zeigen Gene, die unter hypoxischen Bedingungen von Rim15p und/oder Efg1p aktiviert werden (erniedrigter Transkriptlevel in den Mutanten) und so im Wildtyp einen erhöhten Transkriptspiegel aufweisen. Abb. 17 B hingegen zeigt Gene auf, die durch Hypoxie reprimiert werden. Den Abbildungen kann entnommen werden, dass tatsächlich 80 % der in der *rim15*-Mutante regulierten Gene in der *efg1*-Mutante und/oder im Wildtyp ebenfalls reguliert werden. Unter den von Rim15p und Efg1p gemeinsam regulierten Genen (50 %) fallen unter anderem Gene der Stressantwort (*CTA1*), der Fettsäurebiosynthese (*FAS2*) und die für Zellwandproteine kodierenden *ALS*-Gene. Möglicherweise kontrolliert Rim15p die Expression dieser Gene tatsächlich durch Aktivierung des Transkriptionsfaktors unter mikroaerophilen Bedingungen. Die genaue Regulation der Gene *CTA1* und *FAS2* durch Efg1p kann aus den Schemata des Venn-Diagramms der Abb. 16 (3.3.1.2) entnommen werden.



### 3.3.2 Transkriptomanalysen von *efg1*-Mutanten bei Hypoxie auf festem Medium

Im Kapitel 3.3.1 wurde gezeigt, dass Efg1p eine entscheidende Rolle für die Genregulation unter hypoxischen Bedingungen besitzt. Ganze Gengruppen werden durch dieses APSES-Protein kontrolliert, einige sogar nur unter hypoxischen Bedingungen. Ein Ziel der Arbeit war es, solche Gene zu identifizieren, die eine mögliche Rolle bei der Morphogenese von *C. albicans* unter hypoxischen Bedingungen spielen. Da sich der hyperfilamentöse Phänotyp der *efg1*-Mutante, wie in 3.1 beschrieben, lediglich auf festem Medium nach etwa vier Tagen Wachstum zeigt, wurden im folgenden Microarrays von auf festem Medium wachsenden Kulturen durchgeführt. Es handelt sich dabei um die Experimente „*efg1*/wt MP“, „*efg1*/wt HP“ mit den jeweiligen aeroben/ normoxischen Kontrollen „*efg1*/wt AP“, „*efg1*/wt NP“ (Tab. 11). Die Kontrollen dienen dem Vergleich, um feststellen zu können, welche Gengruppen normoxisch anders oder nicht reguliert werden.

Die Tabellen 14 und 15 zeigen eine Übersicht der in der *efg1*-Mutante gegenüber dem Wildtyp regulierten Gengruppen unter mikroaerophilen bzw. hypoxischen Bedingungen. Da der hyperfilamentöse Phänotyp der *efg1*-Mutante erst nach einigen Tagen Inkubationszeit auftritt, handelt es sich hier um die Transkriptomprofile stationärer Zellen. Bei Gengruppen, die mit den Gruppen des Microarray-Experiments unter Flüssigbedingungen übereinstimmen, könnte der Sauerstoffmangel der Auslöser für die Regulation sein. Unterschiede in den Gengruppen, könnten auf Gene hinweisen, die für das starke Hyphenwachstum der *efg1*-Mutante auf Agarplatten mitverantwortlich sind. Dazu gehören vor allem die Gruppen der Zellwandgene, des Vesikelverkehrs, der Transkription und Translation, die in der *efg1*-Mutante auf festem Medium einen erniedrigten Transkriptlevel gegenüber dem Wildtyp besitzen (Tab. 14). Auffällig ist weiterhin, dass Gene, die für die Fettsäurebiosynthese benötigt werden, bei den Genen mit erhöhtem Transkriptspiegel zu finden sind. Im flüssigen Medium angezogene *efg1*-Mutanten (*efg1*/wt HF) zeigten einen erniedrigten Transkriptspiegel bei Genen der Fettsäurebiosynthese (Tab. 13). Die auf festem Medium im Vergleich zum flüssigen Medium entgegengesetzte Regulation dieser Gene, ist wahrscheinlich in der Art der Anzucht begründet. Bei den auf festem Medium angezogenen Stämmen handelt es sich um Zellen, die sich in der stationären Wachstumsphase befanden. Die *efg1*-Mutante gleicht die geringere Synthese an Fettsäuren während der exponentiellen Wachstumsphase im Vergleich zum Wildtyp möglicherweise aus, indem die Transkriptspiegel auch in der stationären Phase erhöht gehalten werden.

**Tab. 14: In der *efg1*-Mutante gegenüber dem Wildtyp auf festem Medium regulierte Gengruppen unter mikroaerophilen Bedingungen.** Analysiert wurde das Microarray-Experiment „*efg1*/wt MP“ (Tab. 11). Identifizierte Gene sind mindestens 1,5-fach, statistisch signifikant reguliert (Tab. 23, Anhang).

140 Gene mit erhöhtem Transkriptspiegel	268 Gene mit erniedrigtem Transkriptspiegel
Drogenresistenz-Gene (5) <i>CDR1 CDR4 CDR11.3F CDR11.5F HOL5</i>	Atmungskette (1) <i>RIP1</i>
Fettsäurebiosynthese (2) <i>FAA4 FAS2</i>	Aminosäure-Permeasen (8) <i>AGP1 AGP2 ALP1 HIP1 GAD1 GAP3 GAP6 CAN2</i>
Stressantwort (5) <i>HSP90 SIS1 SSA1 SSE1 SOD22</i>	Eisenaufnahme (5) <i>FET31 FET32 FET33 FRE30.3 FRE30.53</i>
Transkriptionsfaktoren (4) <i>RIM101 orf19.7359 orf19.2432 orf19.5592</i>	Fermentation (2) <i>ADH1 ADH5</i>
	Glykolyse (7) <i>CDC19 ENO1 FBA1 GLK1 GPM1 PFK2 PGK1</i>
	Hyphen spezifische Gene (4)

140 Gene mit erhöhtem Transkriptspiegel	268 Gene mit erniedrigtem Transkriptspiegel
	<i>DDR48 RBT2 RBT4 RBT5</i>  Stressantwort (12) <i>CTA1 HSP12 HSP30 HSP31 GRP2 GRP5 GRP6 MGE1 TPS2 TPS3 orf19.2344 orf19.2108</i> Transkription, Transkriptionsfaktoren (5, 4) <i>ADA2 RET1 TFB4 HHF21 HTA1, TYE7 CTA29 orf19.2356 SSN6</i> Translation (9) <i>MRPL28 RPL82 RPS10 RPS21 RPS25B RPS28B.3 RPS620A RPS620B</i> Tri-Carbonsäure-Zyklus (2) <i>ACO1 CIT1</i> Vesikelverkehr (8) <i>SNC2 TLG1 TLG2 YKT6 SEC16 SLY41 SNF7 TRS23</i> Zellwand/ -membran (7) <i>CHT2 ECM21SUN42 ECM33 ECM4 orf19.1920 orf19.3618</i> Zuckertransporter (4) <i>HXT5 HXT62 orf19.6803 orf19.4386</i>

**Tab. 15: In der *efg1*-Mutante gegenüber dem Wildtyp auf festem Medium regulierte Gengruppen unter hypoxischen Bedingungen.** Analysiert wurde das Microarray-Experiment „*efg1*/wt HP“ (s. Tab. 11). Identifizierte Gene sind mindestens 1,5-fach, statistisch signifikant reguliert (Tab. 25, Anhang).

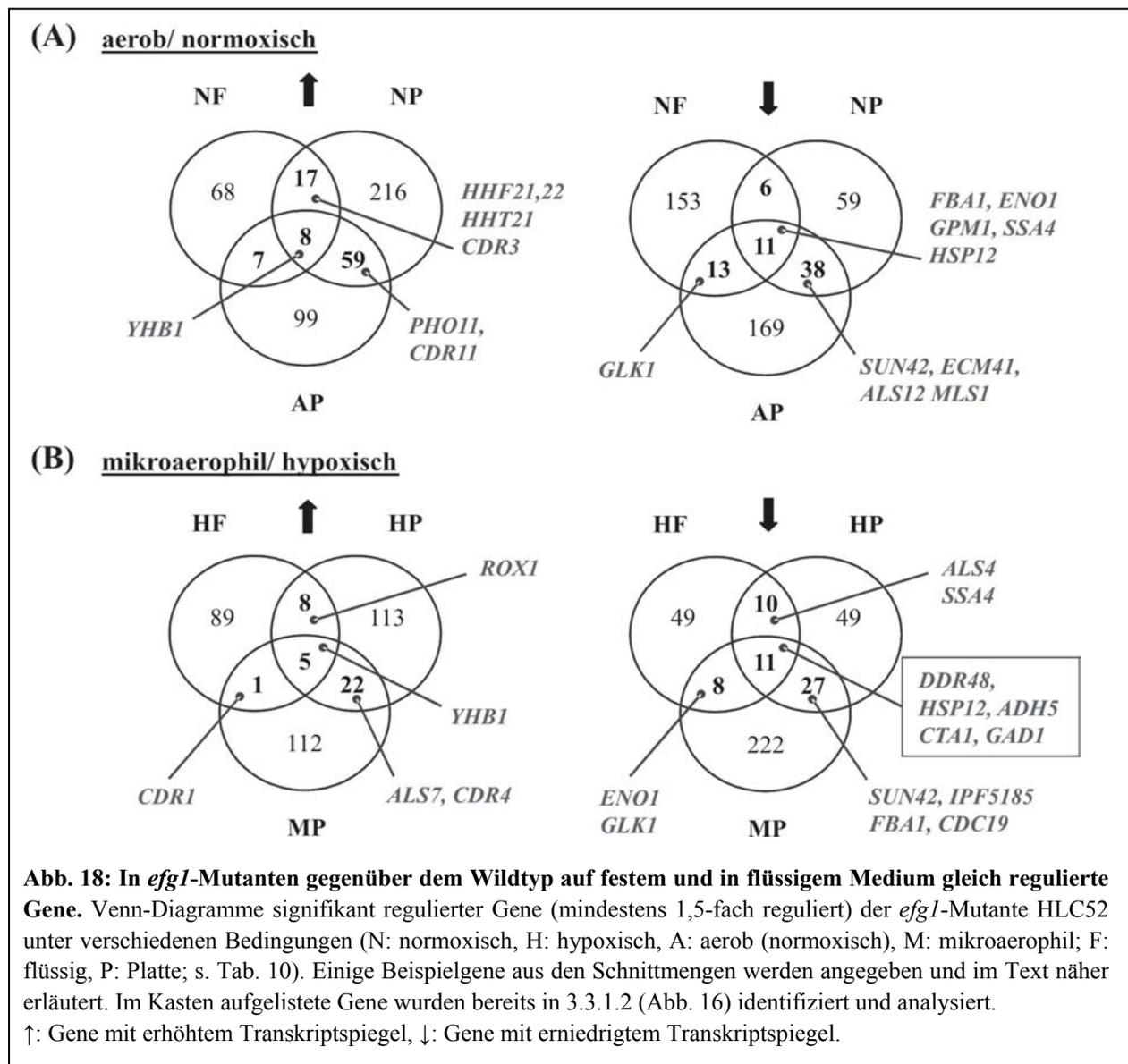
148 Gene mit erhöhtem Transkriptspiegel	97 Gene mit erniedrigtem Transkriptspiegel
Eisenmetabolismus (3) <i>FRE30 FRE5 FTR1</i> Fettsäure-, Ergosterolbiosynthese (4, 3) <i>FAS1 FAS2 OLE1, ERG4 ERG25 ERG251 orf19.4048</i> Hyphenspezifische Gene (2) <i>HWP1 RBT5</i> Transkriptionsfaktoren (6) <i>RIM101 CAP1 ROX1 SEF1 TBP1 orf19.2432</i> Tri-Carbonsäure-Zyklus (3) <i>MLS1 CIT1 LSC2</i> Zellwand/- membran (3) <i>ALS7 ECM21 EXG1</i>	Aminosäure-Permeasen (4) <i>MTR1 CAN1 GNPI MEP3</i> Glykolyse (4) <i>CDC19 FBA1 PGII PGK1</i> Stressantwort (6) <i>HSP12 HSP30 HSP78 SOD2 SSA4 orf19.2344</i> Transkriptionsfaktoren (2) <i>CTA211 orf19.2356</i> Zellwand/ -membran (5) <i>ALS4 ALS12 SUN42 orf19.220 orf19.3618</i> Zuckertransport (4) <i>HGT12 HXT5 HXT61 HXT62</i>

### 3.3.3 Vergleich Efg1p-regulierter Gene in flüssigem und auf festem Medium

Um einen besseren Überblick zu erhalten, wie die Microarray-Daten der in Flüssigmedium angezogenen Zellen und die der auf festem Medium wachsenden Zellen untereinander korrelieren, wurden vier Venn-Diagramme erstellt (Abb. 18). Diese vergleichen jeweils die Efg1p-regulierten Gene der drei unterschiedlichen Anzuchtmethoden (flüssig und zweimal auf festem Medium). Dabei werden die Gene mit erhöhtem und die mit erniedrigtem Transkriptspiegel in zwei unterschiedlichen Venn-Diagrammen analysiert. Abb. 18 A zeigt die aerob bzw. normoxisch Efg1p regulierten Gene und Abb. 18 B die mikroaerophil bzw. hypoxisch regulierten.

Es zeigt sich, dass etwa 25 % der unter flüssigen Bedingungen identifizierten Efg1p-regulierten Gene (NF bzw. HF) mit denen der auf festen Medien (AP, NP bzw. MP, HP) identifizierten Gene identisch sind. Die Schnittmengen der beiden auf festen Medien durchgeführten Experimente weisen jedoch drei bis siebenmal so viele Gene auf als die jeweiligen

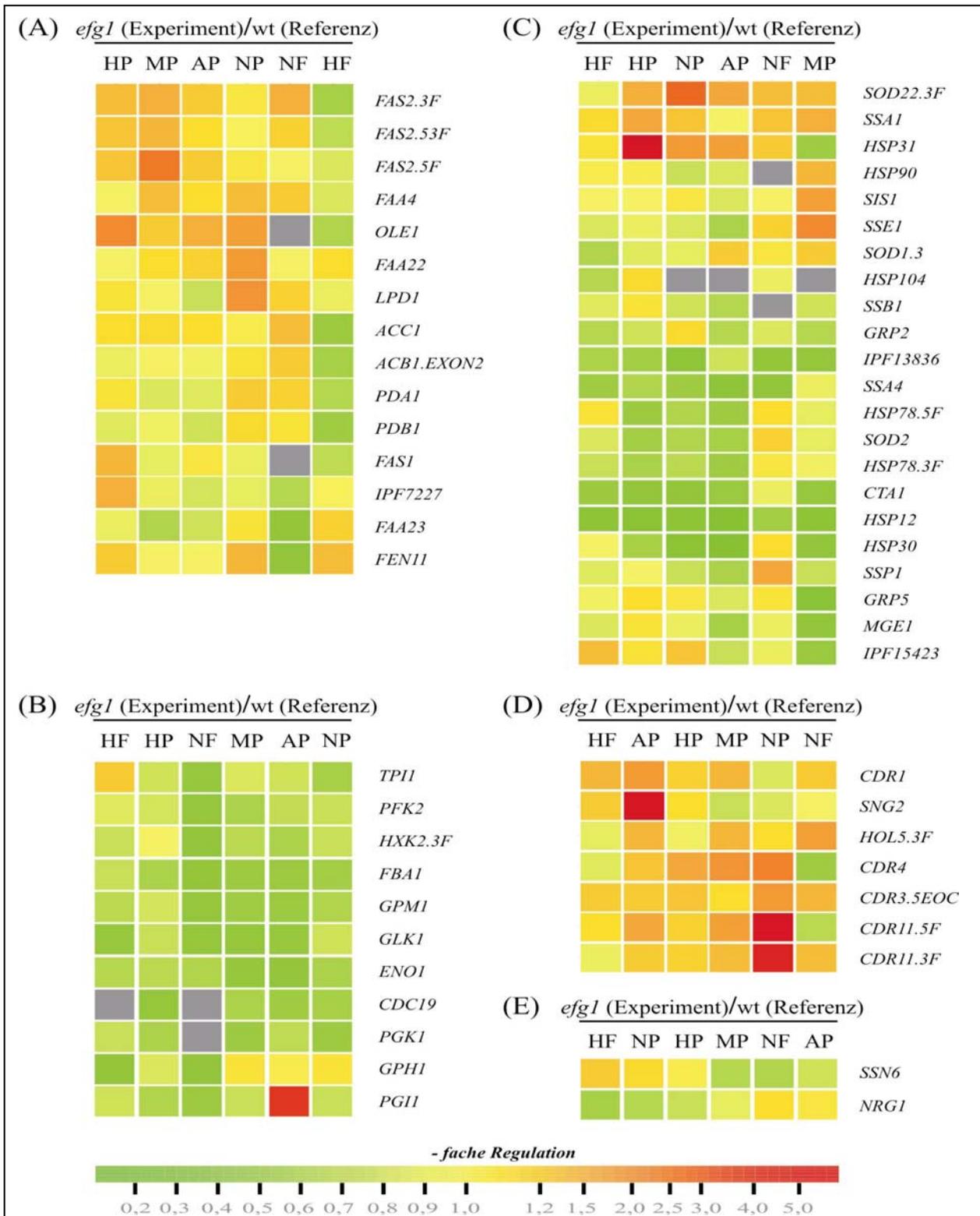
Schnittmengen mit den im Flüssigmedium regulierten Genen. Da die Bedingungen der Experimente „*efg1/wt* NP oder HP“ und „*efg1/wt* AP oder MP“ ähnlicher sind als die zu den Experimenten „*efg1/wt* NF oder HF“, war zu erwarten, dass in einem Vergleich untereinander die regulierten Gene der auf festem Medium angezogenen Zellen besser korrelieren. Es könnte sich hierbei um Gene handeln, die aufgrund des Kontakts zu einer Matrix oder des Wachstums während der stationären Phase reguliert werden, wie z.B. Gene der Zellwand-Synthese/-Architektur (*SUN42*, *ECM41*, *IPF5185*) oder kodierend für Agglutinin-ähnliche Proteine (*ALS7*, *ALS12*) (Abb. 18 A und B). Des Weiteren kann zusammengefasst werden, dass obwohl die Anzuchtbedingungen für die Transkriptomanalyse sehr unterschiedlich waren (festes Medium, Flüssigmedium, Temperaturunterschiede, andere Kohlenhydratquellen) ein Viertel der hypoxisch im Flüssigmedium regulierten Gene mit denen der anderen Experimente übereinstimmt. Gerade diese Gene sind interessant, da die Änderung in der Expression (z.B. *DDR48* und *HSP12*) wahrscheinlich auf den Sauerstoffmangel zurückzuführen ist. Bei den in Abb. 18 A aufgeführten Beispielgenen, handelt es sich u.a. um Efg1p (normoxisch) regulierte Gene der Transkriptionsmaschinerie (*HHF21*, *HHF22*, *HHT21*) sowie Resistenzgene (*CDR3*). Die Transkriptspiegel liegen sowohl bei flüssig angezogenen *efg1*-Mutanten, als auch in dem „Plattenexperiment NP“ erhöht vor. Nicht nur unter normoxischen, aber auch unter hypoxischen Bedingungen, werden Resistenzgene (z.B. *CDR1*, *CDR4*) von Efg1p reprimiert (Abb. 18 B). In allen drei Experimenten, sowohl normoxisch als auch hypoxisch, ist das für ein Flavohämoglobin kodierende Gen *YHB1* reguliert. Allerdings wird *YHB1* unter normoxischen Bedingungen bis zu zehnfach stärker von Efg1p reprimiert (Anhang: Tab. 21 bis Tab. 25). Einen in allen drei Experimenten erniedrigten Transkriptspiegel zeigen vor allem Gene, die bereits in 3.3.1.2 (Abb. 16) als Efg1p-regulierte Gene identifiziert wurden wie beispielsweise Gene der Stressantwort (Abb. 18 B). Aber auch Gene der Glykolyse (*FBA1*, *ENO1*, *GLK1*) sowie Zellwandgene (*ALS4*), lassen sich in den Schnittmengen wieder finden (Abb. 18 A und B).



Nach dem Vergleich der regulierten Gene im Flüssigmedium und auf festem Medium mittels Venn-Diagrammen wurden die identifizierten Gene zusätzlich einer Cluster-Analyse unterzogen. In einem Venn-Diagramm werden nur signifikant regulierte Gene in Betracht gezogen. Somit werden einzelne Gene herausgestellt, die in zwei oder drei Experimenten mindestens 1,5-fach oder höher reguliert wurden. Cluster-Analysen ermöglichen es, ganze Gengruppen eines Experiments mit anderen Microarray-Daten zu vergleichen, unabhängig von der Signifikanz der Expressionsunterschiede und der Anzahl der Experimente. So sollte festgestellt werden, ob ganze Genfamilien bzw. Gene eines Biosynthesewegs von Efg1p reguliert werden oder aber lediglich ein einzelnes Gen.

In Abb. 19 sind Gengruppen dargestellt, die ein interessantes Expressionsmuster in den Microarray-Experimenten der *efg1*-Mutante im Vergleich zum Wildtyp (normoxisch und hypoxisch) zeigen. Die Transkriptlevel von Genen der Fettsäurebiosynthese werden unter den meisten Wachstumsbedingungen bei Abwesenheit von Efg1p erhöht bzw. nicht reguliert. Werden die Zellen jedoch hypoxisch und flüssig angezogen (HF) ändert sich die Expression und

die der meisten Gene wird in der *efg1*-Mutante reprimiert. Efg1p scheint somit bei hypoxisch im Flüssigmedium angezogenen Zellen eine besondere Rolle als Aktivator der Fettsäuresynthese zu spielen. Des Weiteren wurden **Glykolyse- und Resistenzgene** untersucht (Abb. 19 B, D). Im Gegensatz zu den Genen für die Fettsäurebiosynthese zeigte sich hier keine unterschiedliche Regulation je nach Wachstumsbedingungen. Die Transkriptspiegel von Genen, die für Enzyme der Glykolyse kodieren (Abb. 19 D) liegen unter allen Anzuchtbedingungen in der *efg1*-Mutante erniedrigt vor, während die Transkriptspiegel der Gene, die für die Resistenz der Zelle wichtig sind, stets tendenziell erhöht sind. Gene für die Resistenz werden im Wildtyp nicht durch Hypoxie reguliert und werden in der Tabelle des Microarray-Experiments „wt HF/NF“ nicht aufgeführt (Tab. 19). Efg1p ist für die vom Sauerstoffgehalt der Umgebung unabhängige Expression beider Gengruppen zuständig. Eine weitere Gruppe regulierter Gene ist die der **Stressantwort** (Abb. 19 C). Hierbei werden die Transkriptspiegel vieler Gene erniedrigt, aber auch einige erhöht bzw. werden nicht reguliert. Tendenziell werden Gene der Stressantwort bei Normoxie im Flüssigmedium (NF) von Efg1p reprimiert, und die Transkriptlevel liegen in der *efg1*-Mutante höher als beim Wildtyp. Dies kann damit begründet werden, dass diese Anzuchtbedingung die geringste Stresseinwirkung für die Zelle darstellt. Weiterhin ergab auch der Vergleich zwischen *NRG1* und *SSN6* (Abb. 19 E) ein interessantes Expressionsmuster. *NRG1*, ein Repressor der Hyphenbildung, ist genauso für die Morphogenese von *C. albicans* verantwortlich wie auch der Transkriptionsrepressor *SSN6* (Braun *et al.*, 2001; Garcia-Sanchez *et al.*, 2005). Bei Betrachtung des Clusters fällt auf, dass die Gene jeweils entgegengesetzt reguliert werden. Wenn *NRG1*-Transkriptspiegel in den Experimenten erniedrigt vorliegt, kann beobachtet werden, dass der Spiegel von *SSN6* nicht bzw. leicht erhöht wird und umgekehrt. Bisher ist von Ssn6p im Zusammenhang mit Nrg1p lediglich bekannt, dass er zusammen mit Tup1p für die Repression einiger Nrg1p-abhängiger Gene benötigt wird, die für die Morphogenese von *C. albicans* von Bedeutung sind (Garcia-Sanchez *et al.*, 2005).



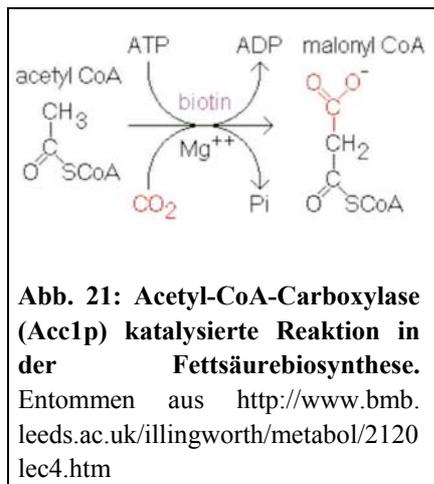
**Abb. 19: Clusteranalysen regulierter Gene der *efg1*-Mutante gegenüber dem Wildtyp unter verschiedenen Bedingungen.** Das Transkriptom von HLC52 (*efg1*) im Vergleich zum Wildtypstamm CAF2-1 wurde einer Clusteranalyse unterzogen. Analysiert wurden Gene der (A) Fettsäurebiosynthese, (B) Glykolyse, (C) Stressantwort und (D) Resistenz.

N: normoxisch, H: hypoxisch, A: aerob (normoxisch), M: mikroaerophil; F: flüssig, P: Platte; siehe Tab. 10.

### 3.4 Einfluss von Efg1p auf die Fettsäurebiosynthese unter hypoxischen Bedingungen

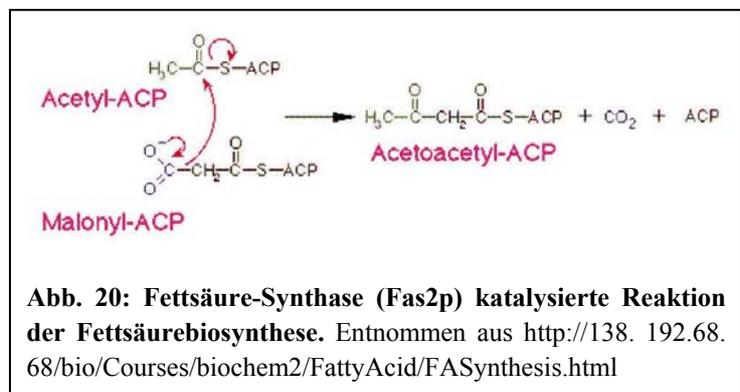
In Abschnitt 3.3 wurde die Efg1p-abhängige Regulation des *C. albicans* Genoms unter hypoxischen Bedingungen untersucht und analysiert. Unerwarteterweise werden auch Gene der Fettsäurebiosynthese von Efg1p reguliert. Ein besonderes Augenmerk gilt dabei dem für *C. albicans* essentiellen Gen *OLE1*, welches für die **Stearoyl-CoA-Desaturase** kodiert. Dieses Enzym benötigt für die Einführung einer Doppelbindung zwischen den C-Atomen neun und zehn von Fettsäuren molekularen Sauerstoff (Mitchell und Martin, 1995; Krishnamurthy *et al.*, 2004). Das Produkt dieser Reaktion ist eine einfach ungesättigte C18:1-Fettsäure (Ölsäure), die durch weitere Desaturierung durch Fad2p und Fad3p in Linol- (C18:2) und Linolensäure (C18:3) umgewandelt werden kann (Murayama *et al.*, 2006). Im Microarray-Experiment „*efg1/wt HF*“ (3.3.1.2, Abb. 16) wurde *OLE1* als ein von Efg1p aktiviertes Gen identifiziert. Efg1p könnte demnach für die Lipidzusammensetzung der Membran und das Zellwachstum unter hypoxischen Bedingungen wichtig sein. In diesem Kapitel wird die transkriptionelle Regulation von *OLE1* durch Efg1p unter sauerstoffarmen Bedingungen untersucht, sowie die daraus resultierende physiologische Bedeutung für *C. albicans*.

#### 3.4.1 Transkriptionelle Regulation von Genen der Fettsäurebiosynthese durch Efg1p

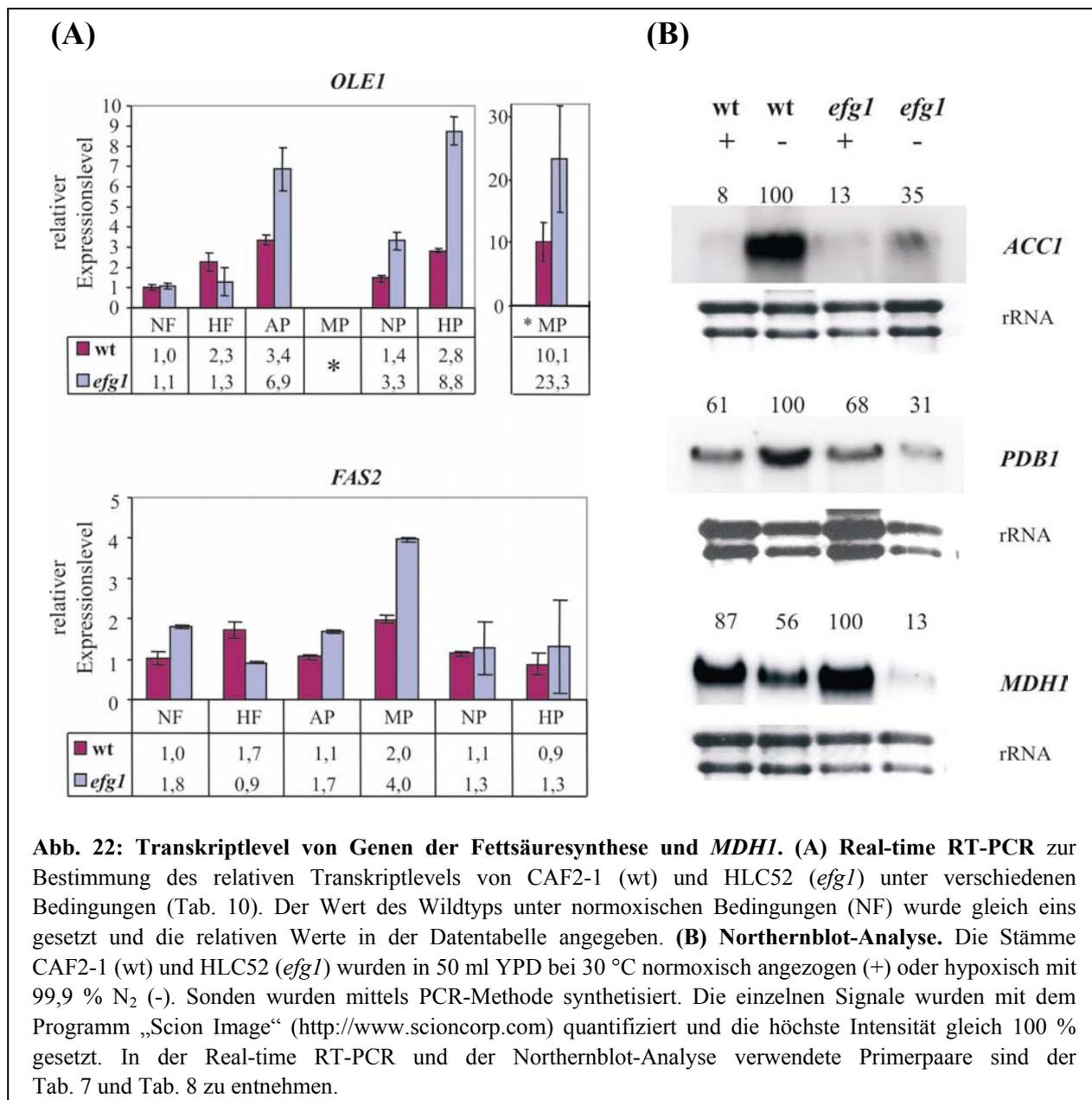


Biotin ist ein Überträger von „aktiviertem CO<sub>2</sub>“ und ist durch eine Carboxylseitenkette mit dem Lysinrest des Carrierproteins verknüpft. Die Biotin-Carboxylase ist zunächst für die Carboxylierung des Biotins unter Verwendung eines Moleküls ATP verantwortlich. Anschließend kann die Transferase die Kohlensäuregruppe auf Acetyl-CoA übertragen, so dass Malonyl-CoA für weitere Biosyntheseschritte zur Verfügung steht. Im weiteren Verlauf der Fettsäuresynthese wird das Protein **Fas2p (Fettsäure-Synthase)** benötigt (Abb. 20). In einer

Zunächst wurde der relative Transkriptspiegel von *OLE1* unter normoxischen und hypoxischen Bedingungen im Wildtyp sowie in der *efg1*-Mutante untersucht. Parallel dazu wurde ebenfalls die Expression einiger anderer in den Microarrays identifizierter Fettsäuregene (*ACCI*, *FAS2* und *PDB1*) analysiert (Abb. 22). *ACCI* kodiert für das Enzym **Acetyl-CoA-Carboxylase**, welches in der Fettsäurebiosynthese den Schritt vom Acetyl-CoA zum Malonyl-CoA katalysiert (Abb. 21). Genau betrachtet handelt es sich bei der Acetyl-CoA-Carboxylase um einen großen Multienzymkomplex, der aus dem Biotin-Carboxyl-Carrierprotein, der Biotin-Carboxylase und Carboxyl-Transferase besteht (Ohlrogge und Browse, 1995). Das



Kondensationsreaktion wird aus Acetyl-ACP und Malonyl-ACP  $\beta$ -D-Hydroxyacyl-ACP (Acetoacetyl-ACP) gebildet. Bei dem Vierten zu untersuchendem Gen handelt es sich um *PDB1*, das für die **Pyruvat-Dehydrogenase** kodiert. Es katalysiert die Reaktion der oxidativen Decarboxylierung des Pyruvats, wobei Acetyl-CoA entsteht, welches unter anderem für die Fettsäurebiosynthese verwendet werden kann. Der Transkriptomanalyse zur Folge werden alle vier Gene unter hypoxischen Bedingungen von Efg1p aktiviert (Anhang: Tab. 21). Zur Verifizierung wurden die Methoden der Northernblot-Analyse und der Real-time RT-PCR eingesetzt. Die Northernblot-Analyse besitzt den Vorteil, dass die Qualität der mRNA überprüft werden kann, während die Real-time RT-PCR eine genauere Quantifizierung des Transkriptlevels ermöglicht. Verwendete Primerpaare für die Real-time RT-PCR und für die Synthese von Northernblot-Sonden mittels PCR-Reaktion sind den Tabellen 7 und 8 zu entnehmen.



Das in Abb. 22 A abgebildete Diagramm der Real-time RT-PCR von *OLE1* bestätigt die Ergebnisse der Microarray-Analysen (3.3). Die in Flüssigmedium angezogenen *EFG1*-deletierten Zellen besitzen unter hypoxischen Bedingungen (HF) einen erniedrigten *OLE1*-Transkriptlevel. Eine von Albert (2004) durchgeführte Northernblot-Analyse weist ebenfalls eine Aktivierung der Fettsäuresaturase durch Efg1p nach, allerdings ist die Aktivierung stärker im Vergleich zu dem Ergebnis der Real-time RT-PCR. Dies könnte dadurch begründet sein, dass die genauen Effizienzen der verwendeten *OLE1*-Primer nicht untersucht wurden. Auf festen Medien angezogene, in der stationären Phase befindliche *efg1*-Mutanten zeigen sowohl normoxisch (AP, NP) als auch unter sauerstoffarmen Bedingungen (MP, HP) einen erhöhten Transkriptspiegel des *OLE1*-Gens. Hier zeigt sich eine reprimierende Funktion von Efg1p, was ebenfalls den Microarray-Daten entspricht. Dies kann auf das Medium (Matrixkontakt) oder aber auch auf die Wachstumsphase (exponentiell oder stationär) zurückgeführt werden. Außerdem fällt auf, dass die *OLE1*-Transkriptmenge im Wildtyp bei Sauerstoffarmut (HF, MP, HP) im Vergleich zu den jeweiligen normoxischen Bedingungen (NF, AP, NP) mindestens verdoppelt wird. Möglicherweise wird mehr Ole1p synthetisiert, um die wenigen Sauerstoffmoleküle mit größtmöglicher Effizienz umsetzen zu können.

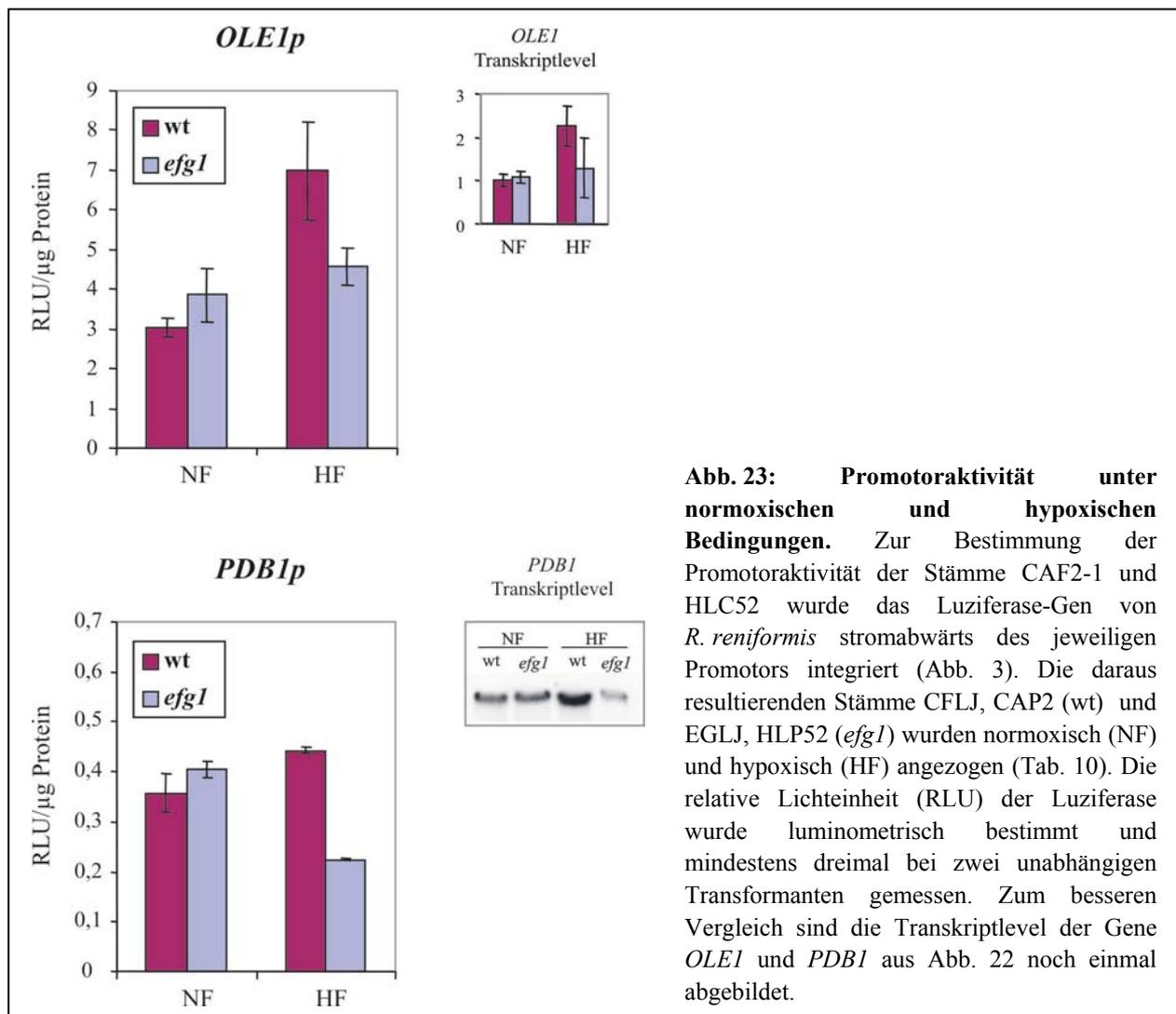
Auch der Transkriptspiegel des Gens *FAS2*, welche für die Fettsäure-acyl-CoA-Synthase kodiert, wird im Wildtyp unter sauerstoffarmen Bedingungen mindestens 1,5-fach erhöht (Abb. 22 A). Lediglich für die hypoxisch auf festem Medium angezogenen Zellen (HP) trifft diese Aussage nicht zu. Dies kann durch die Anzuchtbedingungen begründet sein, kann aber auch technische Ursachen haben. Wie auch bei *OLE1*, wird der Transkriptspiegel von *FAS2* je nach Anzuchtbedingung unterschiedlich durch Efg1p reguliert. Unter normoxischen Bedingungen (NF) liegt der Transkriptlevel von *FAS2* in der Mutante höher als im Wildtyp. Der Transkriptionsfaktor agiert somit als Repressor dieses Gens. Unter hypoxischen Bedingungen im Flüssigmedium (HF) wird die Genexpression durch Efg1p aktiviert. Eine durchgeführte Northernblot-Analyse mit einer *FAS2*-spezifischen Sonde bestätigt die Ergebnisse der Real-time PCR der in flüssigem Medium angezogenen, exponentiell wachsenden Zellen (Daten nicht gezeigt). Auf festem Medium hingegen wirkt Efg1p unabhängig vom Sauerstoffgehalt reprimierend auf die Genexpression.

Die Northernblot-Analysen, der ebenfalls bei der Fettsäuresynthese beteiligten Gene *ACCI* (Acetyl-CoA-Carboxylase) und *PDB1* (Pyruvat-Dehydrogenase), zeigen unter hypoxischen Bedingungen auch einen erhöhten Transkriptspiegel im Wildtyp (Abb. 22 B). Bei *ACCI* ist die Hypoxie-bedingte Aktivierung zusätzlich in der *efg1*-Mutante zu beobachten (dreifache Regulation). Allerdings fällt diese deutlich schwächer aus als beim Wildtyp (12-fache Regulation), was auf einen deutlichen Einfluss von Efg1p auf die Genexpression von *ACCI* unter hypoxischen Bedingungen hinweist. Bei *PDB1* hingegen fehlt die Aktivierung aufgrund des Sauerstoffmangels in der *efg1*-Mutante. Die Expression ist bei einer Hypoxie sogar stärker als normoxisch, was wahrscheinlich auf leichte Unterschiede in der aufgetragenen Proteinmenge zurückzuführen ist. Wie schon für *OLE1* und *FAS2* gezeigt werden konnte ist Efg1p auch für die Aktivierung dieser beiden Gene unter hypoxischen Bedingungen verantwortlich.

Zur Kontrolle wurden neben der Expression von Fettsäuresynthese-Genen auch die von *MDHI* analysiert. Die **Malat-Dehydrogenase** (Mdh1p) katalysiert die Reaktion von Malat zu Oxalacetat im Zitronensäurezyklus und ist somit Bestandteil des oxidativen Stoffwechsels der Zelle. Vorangegangene Microarray-Experimente zeigten bereits, dass *MDHI* unter normoxischen Bedingungen durch Efg1p reprimiert wird (Doedt *et al.*, 2004). Das Microarray-Experiment „*efg1/wt HF*“ (Tab. 11) zeigte allerdings, dass der Transkriptionsfaktor unter

hypoxischen Bedingungen für die Aktivierung von *MDHI* wichtig ist (Tab. 21, Anhang). Diese bivalente Funktion von Efg1p sollte mittels eines Northernblots bestätigt werden (Abb. 22 B). Der Transkriptlevel in der *efg1*-Mutante unter normoxischen Bedingungen (100 %) liegt tendenziell höher als im Wildtyp (87 %), bei Sauerstoffarmut hingegen viermal niedriger (Abb. 22 B). Die Menge des *MDHI*-Transkripts im Wildtyp wiederum ist unter hypoxischen geringer als unter normoxischen Bedingungen. Dies stimmt damit überein, dass der oxidative Metabolismus im Allgemeinen durch einen Sauerstoffmangel reprimiert wird (Tab. 12 „wt HF/NF“). Den Analysen von *efg1*-Mutanten zufolge ist Efg1p allerdings nicht für diese Repression im Wildtyp verantwortlich.

In den Northernblot- und Real-time RT-PCR-Analysen wurde gezeigt, dass die Transkriptlevel untersuchter Gene von einer *EFG1*-Deletion beeinflusst werden. Es sollte nun der Mechanismus der Regulation geklärt werden. Da es sich bei Efg1p um einen Transkriptionsfaktor handelt, könnte der Transkriptspiegel der Gene über ihre Promotoraktivität reguliert werden. Zur Klärung wurden Promotoranalysen der Gene *OLE1* und *PDB1* durchgeführt. Das Reporteragen *RLUC* der Seegurke *R. reniformis* wurde wie in 2.7 beschrieben stromabwärts vom jeweiligen Promotor anstelle des offenen Leserasters integriert und anschließend seine Aktivität gemessen.



**Abb. 23: Promotoraktivität unter normoxischen und hypoxischen Bedingungen.** Zur Bestimmung der Promotoraktivität der Stämme CAF2-1 und HLC52 wurde das Luziferase-Gen von *R. reniformis* stromabwärts des jeweiligen Promotors integriert (Abb. 3). Die daraus resultierenden Stämme CFLJ, CAP2 (wt) und EGLJ, HLP52 (*efg1*) wurden normoxisch (NF) und hypoxisch (HF) angezogen (Tab. 10). Die relative Lichteinheit (RLU) der Luziferase wurde luminometrisch bestimmt und mindestens dreimal bei zwei unabhängigen Transformanten gemessen. Zum besseren Vergleich sind die Transkriptlevel der Gene *OLE1* und *PDB1* aus Abb. 22 noch einmal abgebildet.

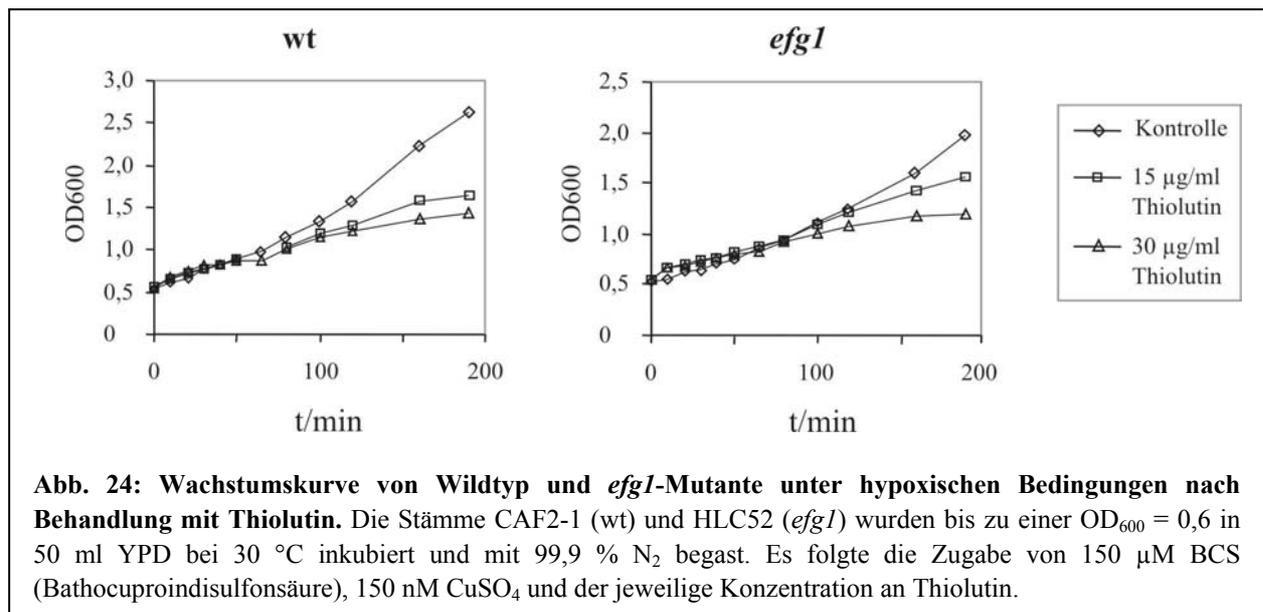
In Abb. 23 wird die Promotoraktivität als relative Lichteinheit (RLU) pro  $\mu\text{g}$  Protein in einem Balkendiagramm dargestellt. Daneben ist der Transkriptlevel des jeweiligen Gens, zum besseren Vergleich noch einmal wie in Abb. 22 abgebildet. Unter normoxischen Bedingungen (NF) ist die *OLE1*-Promotoraktivität im Wildtyp und in der *efg1*-Mutante gleich stark. Unter hypoxischen Bedingungen (HF) wird die Aktivität des Promotors im Wildtyp um das doppelte induziert. In der *efg1*-Mutante hingegen verändert sich die Aktivität kaum. Es kann daraus geschlossen werden, dass Efg1p für die Aktivierung des *OLE1*-Promotors unter hypoxischen Bedingungen benötigt wird, damit sich der Transkriptspegel des Gens erhöht. Die *PDB1*-Promotoraktivität zeigt, wie auch der Transkriptlevel, unter normoxischen Bedingungen keinen Unterschied zwischen dem Wildtyp und der *efg1*-Mutante. Unter hypoxischen Bedingungen steigt die Promotoraktivität im Wildtyp leicht an, während sie in der *efg1*-Mutante um etwa die Hälfte sinkt. Auch hier ist Efg1p für die Aktivierung des Promotors bei einer Hypoxie von Bedeutung. Bei beiden Genen ist jedoch der Unterschied der Transkriptlevel zwischen Wildtyp und Mutante (*PDB1*: Northernblot-Analyse, Abb. 22; *OLE1*: Albert (2004)) größer als die Differenz der Promotoraktivitäten. Die Promotormessungen scheinen den Transkriptspegel nicht vollständig widerzuspiegeln.

Um eine Bindung des Transkriptionsfaktors an den Promotor von *OLE1* nachzuweisen, wurde das von T. Doedt gewonnene Eluat einer Chromatin-Immunopräzipitation (ChIP), in einer PCR-Reaktion mit *OLE1* spezifischen Primern, untersucht (Doedt, 2004). Eine direkte Bindung von Efg1p an den *OLE1*-Promotor konnte mit dieser Methode jedoch nicht nachgewiesen werden (Daten nicht gezeigt).

### 3.4.2 Analyse der mRNA Degradation von *OLE1* und *PDB1* bei Hypoxie

In Abschnitt 3.4.1 wurde die Abhängigkeit des Transkriptlevels von der Promotoraktivität der für die Fettsäurebiosynthese wichtigen Gene *OLE1* und *PDB1* untersucht. Sowohl die Promotoraktivität als auch der Transkriptlevel dieser Gene werden unter hypoxischen Bedingungen von Efg1p aktiviert. Werden die Northernblot-Analysen von *PDB1* (Abb. 22) und *OLE1* (Albert, 2004) hinzugezogen scheinen die Promotormessungen den Transkriptspegel nicht vollständig widerzuspiegeln. Während die Transkriptspegel im Wildtyp etwa dreimal höher liegen als in der Mutante, steigt die Promotoraktivität jedoch nur um das zweifache.

Es sollte untersucht werden, ob der Transkriptlevel tatsächlich über die Promotoraktivität oder möglicherweise auch über die Halbwertszeit der mRNA von Efg1p reguliert wird. Ein niedrigerer Level in der *efg1*-Mutante könnte einer schnelleren Degradation der mRNA zugrunde liegen. Um dies überprüfen zu können, musste die Transkription in der Zelle gestoppt werden. In *S. cerevisiae* ist die Hemmung der RNA-Polymerasen I und II durch Zugabe von Thiolutin bereits untersucht worden (Tipper, 1973; Duttagupta *et al.*, 2003). Aufgrund der anders aufgebauten Zellwand von *C. albicans* ist es möglich, dass die Substanz schlechter in die Zelle gelangt als bei der Bäckerhefe. Um die Wirksamkeit und eine geeignete Konzentration des Thiolutins in *C. albicans* zu bestimmen, wurde zunächst eine Wachstumskurve mit unterschiedlichen Konzentrationen von Thiolutin aufgenommen. Die Abb. 24 zeigt, dass das Wachstum des Wildtyps und der *efg1*-Mutante erst bei 30  $\mu\text{g}/\text{ml}$  Thiolutin vollständig gehemmt wird. Bei *S. cerevisiae* ist bereits eine Konzentration von 15  $\mu\text{g}/\text{ml}$  ausreichend.

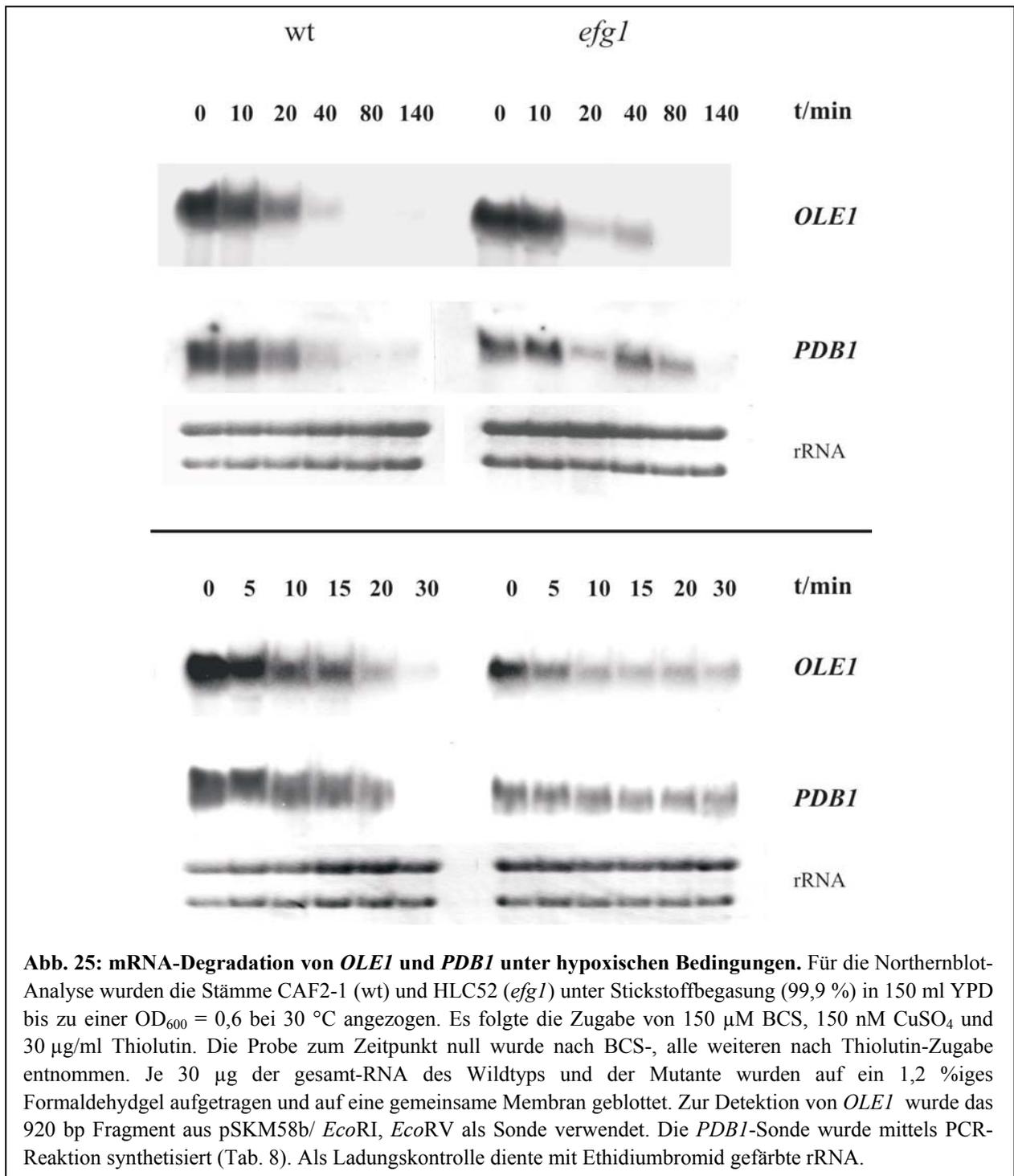


Darauf folgend konnte nun die Degradation der mRNA mittels einer Northernblot-Analyse sichtbar gemacht werden (Abb. 25). Hierzu wurde die Gesamt-RNA von mit Thiolutin behandelten Kulturen des Wildtyps und der *efg1*-Mutante zu unterschiedlichen Zeitpunkten isoliert. Zur Detektion wurden *OLE1*- und *PDB1*-spezifische Sonden radioaktiv markiert. In Abb. 25 ist die Degradation der mRNA über einen Zeitraum von 140 Minuten und über einen kürzeren Zeitraum von 30 Minuten abgebildet.

Ersterer Northernblot gibt einen Überblick über den Verlauf der Degradation im Wildtyp und der *efg1*-Mutante. Hier ist bereits zu erkennen, dass weder das *OLE1*-Transkript noch das von *PDB1* in der Mutante schneller abgebaut wird als im Wildtyp. Eher noch scheinen die Transkripte stabiler zu sein, wenn Efg1p in der Zelle fehlt. Beide weisen eine geringere Ausgangsmenge an mRNA als im Wildtyp auf, sind dennoch nach 40 bzw. 80 Minuten besser detektierbar. Die Unregelmäßigkeit im Verlauf der Transkriptmenge bei 20 Minuten in der *efg1*-Mutante ist möglicherweise auf einen Fehler in der technischen Durchführung des Experiments zurückzuführen, da der geringe Transkriptlevel sowohl bei *OLE1* als auch bei *PDB1* zu beobachten ist. Für beide Gene wurde derselbe Northernblot verwendet.

Der zweite Northernblot mit RNA-Proben von null bis 30 Minuten bestätigt, dass die Transkripte in der Mutante nicht schneller abgebaut werden als im Wildtyp. Es zeigt sich auch hier, dass nach 30 Minuten in der *efg1*-Mutante mehr mRNA vorhanden ist als im Wildtyp. Die Betrachtung beider Northernblot-Analysen führt außerdem zu dem Schluss, dass *OLE1* bereits nach etwa fünf Minuten seine Halbwertszeit erreicht, während *PDB1* erst nach 15-20 Minuten um die Hälfte abgebaut wird. Bei der *efg1*-Mutante liegt die Halbwertszeit von *OLE1* bei 10-15 Minuten und von *PDB1* bei etwa 40 Minuten. Die Halbwertszeit von *OLE1* in *S. cerevisiae* liegt bei etwa 10 Minuten (Kandasamy *et al.*, 2004).

Mit diesem Experiment kann ausgeschlossen werden, dass eine höhere Transkriptinstabilität in der *efg1*-Mutante zu dem großen Unterschied der *OLE1*- bzw. *PDB1*-Transkriptspiegel zwischen Wildtyp und Mutante führt. Möglicherweise enthalten die Promotor-*RLUC*-Fusionen nicht alle regulatorischen Elemente der kodierenden oder 3'-untranslatierten Region der jeweiligen Gene.



**Abb. 25: mRNA-Degradation von *OLE1* und *PDB1* unter hypoxischen Bedingungen.** Für die Northernblot-Analyse wurden die Stämme CAF2-1 (wt) und HLC52 (*efg1*) unter Stickstoffbegasung (99,9 %) in 150 ml YPD bis zu einer  $OD_{600} = 0,6$  bei 30 °C angezogen. Es folgte die Zugabe von 150  $\mu$ M BCS, 150 nM  $CuSO_4$  und 30  $\mu$ g/ml Thiolutin. Die Probe zum Zeitpunkt null wurde nach BCS-, alle weiteren nach Thiolutin-Zugabe entnommen. Je 30  $\mu$ g der gesamt-RNA des Wildtyps und der Mutante wurden auf ein 1,2 %iges Formaldehydgel aufgetragen und auf eine gemeinsame Membran geblottet. Zur Detektion von *OLE1* wurde das 920 bp Fragment aus pSKM58b/ *EcoRI*, *EcoRV* als Sonde verwendet. Die *PDB1*-Sonde wurde mittels PCR-Reaktion synthetisiert (Tab. 8). Als Ladungskontrolle diente mit Ethidiumbromid gefärbte rRNA.

### 3.4.3 Vergleich der Fettsäurezusammensetzung von Wildtyp und *efg1*-Mutanten

In den vorangegangenen Abschnitten wurde gezeigt, dass die Transkriptmenge von Genen der Fettsäurebiosynthese wie *OLE1* durch eine Deletion von *EFG1* sowie durch den Entzug von Sauerstoff beeinflusst wird. Es stellte sich nunmehr die Frage, ob diese Veränderungen auf Transkriptionsebene letztendlich auch Auswirkungen auf den Metabolismus und die Physiologie von *C. albicans* hat. Ein verringerter *OLE1*-Transkriptspiegel unter hypoxischen Bedingungen,

wie in Abb. 22 zu sehen, könnte dazu führen, dass weniger Stearoyl-CoA-Desaturasen in der Zelle vorhanden sind. Dadurch könnte es wiederum zu einer Abnahme der ungesättigten C16:1 und C18:1 Fettsäuren kommen. Eine Analyse der Fettsäurezusammensetzung des Wildtyps als auch der *efg1*-Mutante unter normoxischen und hypoxischen Bedingungen sollte hierüber Aufschluss geben. Für die gaschromatographischen Untersuchungen, die freundlicher Weise vom chemischen Lebensmittel-Untersuchungsamt des Kreises Mettmanns durchgeführt wurden, wurden exponentiell wachsende Kulturen bei einer  $OD_{600} = 0,6$  geerntet und die wie in 2.10 beschriebenen Lipide der Zellen extrahiert. Die Ergebnisse der Gaschromatographie sind in Tab. 16 A zusammengefasst.

**Tab. 16: Fettsäurezusammensetzung von Wildtyp und *efg1*-Mutanten unter normoxischen und hypoxischen Bedingungen.** Gaschromatographische Untersuchung (A) exponentiell wachsender Zellen und (B) stationärer Zellen. Die Stämme CAF2-1 (wt) und HLC52 (*efg1*) wurden in 50 ml YPD bei 30 °C normoxisch (+) oder unter Begasung mit 99,9 % N<sub>2</sub> hypoxisch (-) angezogen. Ole1p synthetisiert die Ölsäure (C18:1); hellgelb hinterlegt. Graue und gelbe Felder werden im Text näher erläutert.

(A)

Fettsäure (FS)	Flächen [%] bezogen auf FS C14:0-C18:3			
	wt		<i>efg1</i>	
	+	-	+	-
C14:0	3,4	2,8	3,5	1,5
C16:0	24,8	20,9	22,6	20,7
C16:1	10,5	9,5	9,6	14,4
C18:0	8,5	7,9	6,9	6,3
C18:1	22,4	43,0	22,2	42,3
C18:2	21,2	14,2	24,6	13,0
C18:3	9,7	1,6	10,7	1,9
Summe	100	100	100	100

(B)

Fettsäure (FS)	Flächen [%] bezogen auf FS C14:0-C18:3			
	wt		<i>efg1</i>	
	+	-	+	-
C14:0	2,4	3,0	1,3	1,6
C16:0	19,8	20,3	17,1	24,3
C16:1	15,2	18,8	17,9	21,3
C18:0	5,0	6,0	4,3	8,6
C18:1	40,5	32,8	38,4	39,2
C18:2	14,9	17,9	18,3	5,0
C18:3	2,1	1,2	2,7	0,0
Summe	100	100	100	100

**Tab. 17: Verhältnis von ungesättigten zu gesättigten Fettsäuren zur Ergänzung von Tab. 16.**

Dichte der Kulturen	Verhältnis FS ungesättigt / gesättigt			
	wt		<i>efg1</i>	
	+	-	+	-
OD <sub>600</sub> = 0,6	1,7	2,2	2,0	2,5
OD <sub>600</sub> > 7	2,7	2,4	3,4	1,9

Es zeigt sich in der Tab. 16 A, dass die von Ole1p katalysierte Reaktion von der Stearinsäure (C18:0) zur Ölsäure (C18:1) durch die sauerstoffarmen Bedingungen beeinflusst wird. Bei Sauerstoffarmut wird fast doppelt so viel C18:1 Fettsäure in der Zelle angelagert als unter normoxischen Bedingungen. Mindestens 40 % der Fettsäurezusammensetzung besteht hier aus Ölsäure. Bei der Linol- (C18:2) und Linolensäure (C18:3) verhält es sich genau umgekehrt. Ihr prozentualer Gehalt in der Zelle verringert sich unter hypoxischen Bedingungen um 35-50 %, letztere sogar um 80 %. Der Anstieg an Ölsäure in der Zelle wurde vermutet, da auch der *OLE1*-Transkriptlevel unter hypoxischen Bedingungen höher liegt als normoxisch (Abb. 23). In

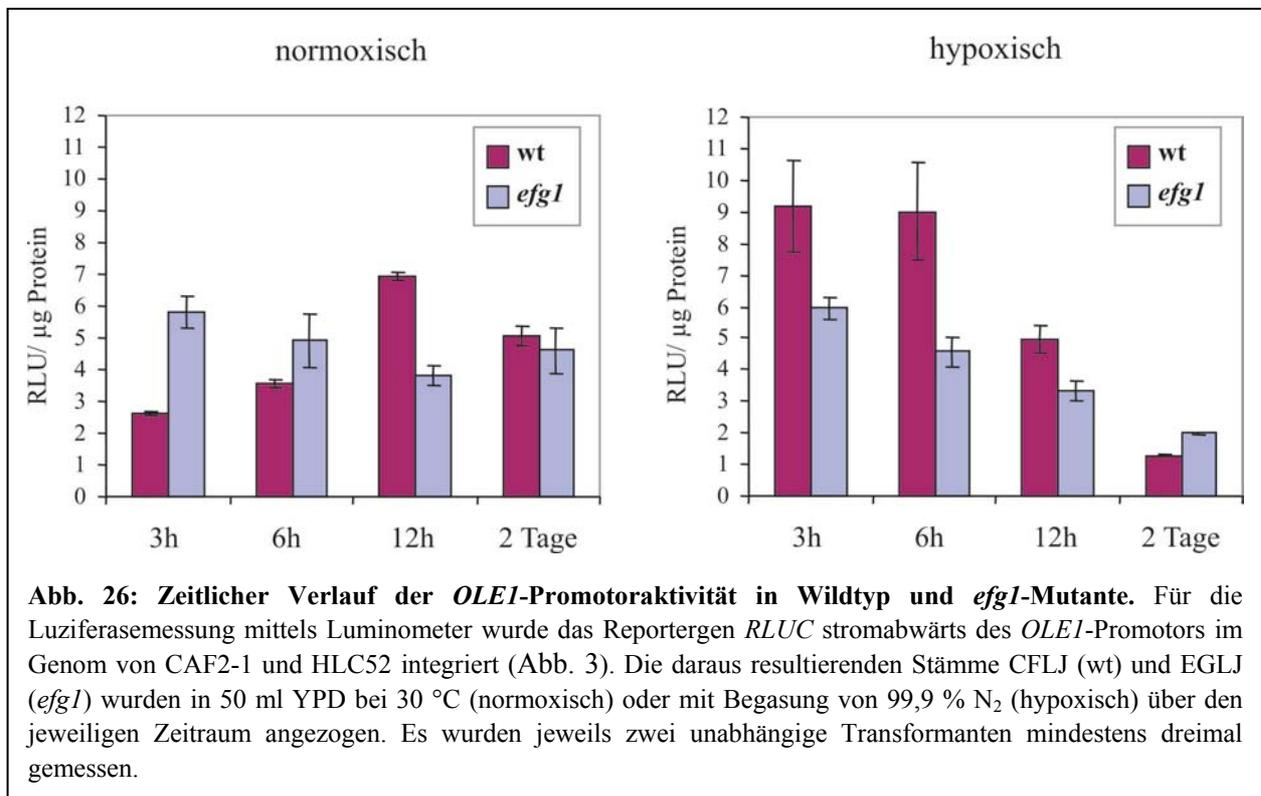
Anbetracht des geringeren *OLE1*-Transkriptspiegels unter hypoxischen Bedingungen in der *efg1*-Mutante (Abb. 22) wäre demnach eine Abnahme an Öl- (C18:1) oder Palmitoleinsäure (C16:1) in der Zelle zu erwarten. Diese Vermutung bestätigt sich jedoch nicht. Stattdessen zeigt sich eher eine leichte Erhöhung des Palmitoleinsäuregehalts in der *efg1*-Mutante (Tab. 16 A). Da kein Unterschied im Anteil der Ölsäure zwischen Wildtyp und *efg1*-Mutante zu erkennen ist, sollte überprüft werden, ob sich der niedrige Transkriptspiegel erst zu einem späteren Zeitpunkt bemerkbar macht. Dafür wurden die *C. albicans* Zellen über 1,5 Tage inkubiert, so dass eine Fettsäureanalyse von stationären Kulturen erfolgen konnte (Tab. 16 B). Die OD<sub>600</sub> des Wildtyps unter normoxischen Bedingungen betrug etwa 15, die der *efg1*-Mutante 12 und die OD<sub>600</sub> unter hypoxischen Bedingungen ungefähr zehn bzw. sieben.

Zunächst sollen Unterschiede zwischen den Fettsäureanteilen exponentiell wachsender und in der stationären Phase befindlicher Zellen herausgestellt werden. Im Wildtyp und in der *efg1*-Mutante sind etwa 1,5-fach bis doppelt soviel C16:1 Fettsäuren (Palmitoleinsäure) vorhanden als in exponentiell wachsenden Kulturen (A). Bei Betrachtung der durch Ole1p synthetisierten Ölsäure, der Linol- (C18:2) und Linolensäure (C18:3) ist auffallend, dass sich die normoxischen Werte denen der hypoxischen angeglichen haben (Tab. 16). Der Anteil der Ölsäure beträgt nun unabhängig vom Sauerstoffgehalt in etwa 40 %. Lediglich der unter Sauerstoffmangel, stationär angezogene Wildtyp besitzt einen geringeren Anteil. Mit 32,8 % (B) liegt der Prozentsatz dennoch deutlich höher als bei Zellen, die exponentiell unter normoxischen Bedingungen angezogen wurden (22 % (A)). Die Zusammensetzung der mehrfach ungesättigten Fettsäuren ist vergleichbar mit der hypoxisch, exponentiell wachsender Zellen (A). Eine Ausnahme bildet die unter hypoxischen Bedingungen angezogene *efg1*-Mutante. In diesen Zellen ist nur 5 % der Linolensäure nachweisbar, etwa 85 % weniger als bei den anderen untersuchten Kulturen. Die dreifach ungesättigte Linolensäure ist unter den sauerstoffarmen Bedingungen nicht detektierbar. Diese starke Reduktion der mehrfach ungesättigten Fettsäuren in der *efg1*-Mutante konnte bei exponentiell wachsenden Zellen nicht beobachtet werden (Tab. 16 A). Somit kann in der *efg1*-Mutante zwar keine Reduzierung des prozentualen Gehalts der von Ole1p synthetisierten Ölsäure nachgewiesen werden, dafür verringert sich der Gesamtgehalt an Linol- und Linolensäure deutlich. Für beide Fettsäuren dient die Ölsäure als Vorstufe für weitere Desaturierungsschritte durch Fad2p und Fad3p (Murayama *et al.*, 2006). Möglicherweise wird eine verringerte Synthese der Ölsäure in der *efg1*-Mutante auf Kosten der mehrfach ungesättigten Fettsäuren ausgeglichen. Das Fehlen des Transkriptionsfaktors scheint sich tatsächlich erst zu einem späteren Zeitpunkt, nach der exponentiellen Wachstumsphase bemerkbar zu machen.

Wird die Fettsäurezusammensetzung der *efg1*-Mutante unter normoxischen und hypoxischen Bedingungen in der stationären Phase verglichen so zeigt sich, dass letztere Bedingung zu einem deutlich niedrigeren Level an mehrfach ungesättigten Fettsäuren führt. Dafür steigt der Anteil an gesättigten Fettsäuren (C16:0, C18:0; Tab. 16 B) leicht an. Dieses wird auch in der ergänzenden Tab. 17 deutlich. Die *efg1*-Mutante unter hypoxischen Bedingungen (OD<sub>600</sub> > 7) besitzt lediglich das 1,9-fache an ungesättigten Fettsäuren, während das Verhältnis der Fettsäuren unter normoxischen Bedingungen 3,4 beträgt. Der Unterschied im Wildtyp fällt nicht so deutlich aus (2,4 und 2,7). Dies deutet wieder darauf hin, dass der Transkriptionsfaktor Efg1p unter hypoxischen Bedingungen eine andere Aufgabe besitzt als bei sauerstoffreichen Bedingungen. Der Prozentsatz an ungesättigten Fettsäuren ist bei einer Hypoxie, während der stationären Phase, stärker von Efg1p abhängig als normoxisch.

Zusammenfassend lässt sich aus den Tabellen 16 A und B beschreiben, dass der Anteil an Ölsäure unter hypoxischen Bedingungen und bei stationären Zellen beinahe die Hälfte der C14:0-C18:3 Fettsäuren ausmacht. Auch der Anteil an Palmitoleinsäure steigt im Vergleich zu den unter normoxischen Bedingungen wachsenden Zellen an. Ein höherer Prozentsatz an einfach ungesättigten Fettsäuren (C16:1 und C18:1) macht sich hauptsächlich in einem geringeren Anteil an C18:2 und C18:3 Fettsäuren bemerkbar. Weiterhin führt das Fehlen von *EFG1* bei stationären Kulturen unter hypoxischen Bedingungen zu einer weiteren Abnahme der mehrfach ungesättigten Fettsäuren.

Da sich eine Veränderung des prozentualen Anteils der Ölsäure bei stationären Zellen zeigte (3.4.3), wurde die Promotoraktivität von *OLE1* zu unterschiedlichen Zeitpunkten sowohl normoxisch als auch hypoxisch protokolliert und in einem Balkendiagramm dargestellt (Abb. 26). Untersucht werden sollte, ob die Promotoraktivität sich ebenfalls verändert und zu welchem Zeitpunkt der Wachstumsphase diese Veränderung eintritt.



Unter normoxischen Bedingungen steigt die *OLE1*-Promotoraktivität des Wildtyps nach 12 stündiger Inkubationszeit (stationäre Phase) verglichen mit der Aktivität nach drei Stunden Inkubation (exponentielle Phase) um das Doppelte an. Nach zwei Tagen Wachstum sinkt die Promotoraktivität wieder leicht auf den Transkriptlevel der *efg1*-Mutante, welche über den gesamten Zeitraum konstant bleibt. Auch der prozentuale Anteil der Ölsäure steigt in der stationären Phase an (Tab. 16 B im Vergleich zu A; [+]), wobei dies auf Wildtyp und *efg1*-Mutante gleichermaßen zutrifft.

Unter hypoxischen Bedingungen, in der exponentiellen Phase (3-6 h) ist die *OLE1*-Promotoraktivität im Wildtyp, wie schon in 3.4.1 beschrieben, höher als bei Normoxie und höher

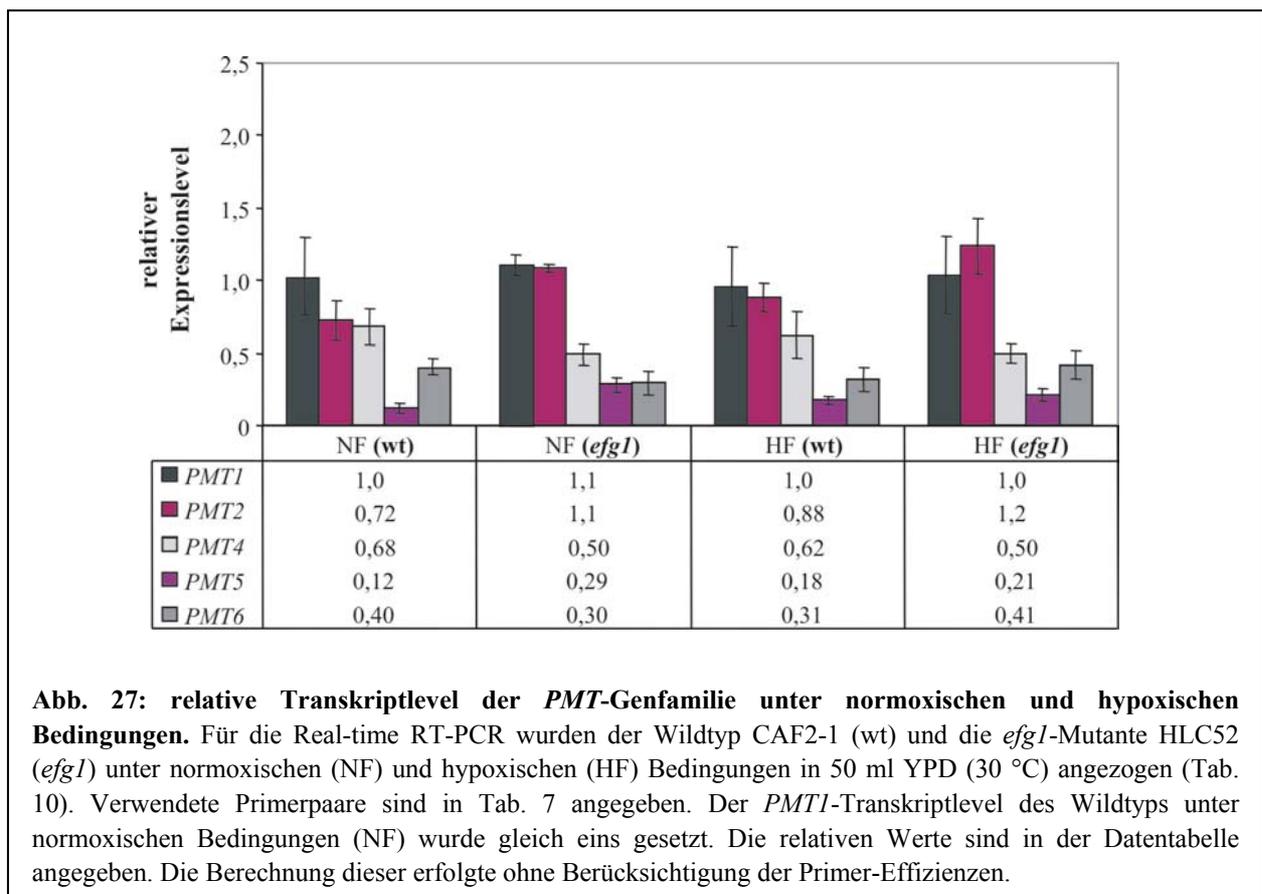
als in der *efg1*-Mutante. Ebenso steigt der Anteil der Ölsäure in den Zellen an (Tab. 16 A: [-] im Vergleich zu [+]). Die Promotoraktivität im Wildtyp sinkt nach zwei Tagen unter hypoxisch Bedingungen um mehr als die Hälfte. Die Aktivität in der *efg1*-Mutante ist nun höher als im Wildtyp. Ergebnisse der Microarray-Analysen (Anhang: Tab. 25, „*efg1/wt* HP“) und Real-time RT-PCR (Abb. 22: „HP“) zeigten, dass auch der *OLE1*-Transkriptspiegel in *efg1*-Mutanten der stationären Phase höher liegt als im Wildtyp. Begründet wurde dies damit, dass *efg1*-Mutanten ihr Defizit an Fettsäuren aus der exponentiellen Phase gegenüber dem Wildtyp ausgleichen müssen. Im Gegensatz zur Promotoraktivität sinkt der Anteil der Ölsäure unter hypoxischen Bedingungen nach zwei Tagen Inkubation (stationäre Phase) nur geringfügig (Tab. 16 B [-]) im Vergleich zum prozentualen Anteil exponentiell wachsender Zellen (Tab. 16 A [-]).

Sowohl die *OLE1*-Promotoraktivität als auch der prozentuale Anteil der Ölsäure zeigen Veränderungen, wenn Kulturen der exponentiellen und der stationären Phase verglichen werden. Die Veränderungen in der Promotoraktivität und dem Ölsäuregehalt in den Zellen stimmen nicht immer überein. Wie bereits festgestellt wurde kann sich eine Veränderung auf Transkriptebene mit Verzögerung in der Fettsäurezusammensetzung von *C. albicans* bemerkbar machen. Aber auch andere Prozesse oder Signalwege können die Menge an Ölsäure in der Zelle beeinflussen.

### 3.5 Genexpression der *PMT*-Genfamilie unter hypoxischen Bedingungen

Gene der *PMT*-Familie kodieren für Protein *O*-Mannosyltransferasen, die viele Proteine des eukaryontischen Sekretionsweg an den Aminosäuren Serin oder Threonin glykosylieren (Strahl-Bolsinger *et al.*, 1999). Ein Gen dieser Familie (*PMT4*) konnte im Microarray-Experiment „*efg1/wt* MP“ (Tab. 11) als 1,6-fach niedriger exprimiertes Gen identifiziert werden (Anhang: Tab. 23). Seine Genexpression unter hypoxischen Bedingungen (99,9 % Stickstoff) und die der anderen *PMT*-Gene schien zudem interessant, da *pmt4*- und *pmt4/pmt6*-Mutanten unter diesen Bedingungen einen hyperfilamentösen Phänotyp zeigen (Prill *et al.*, 2005). Auf der anderen Seite zeigt eine *pmt1*-Mutante ein reduziertes filamentöses Wachstum bei Sauerstoffmangel. In einer Real-time RT-PCR sollte bestätigt werden, dass Efg1p für die Genexpression von *PMT4* verantwortlich ist. Außerdem sollte die Regulation aller *PMT*-Gene in Abhängigkeit von Efg1p und des Sauerstoffgehalts untersucht werden.

Aus Abb. 27 lässt sich entnehmen, dass der Transkriptspiegel von *PMT4* in der *efg1*-Mutante im Vergleich zum Wildtyp leicht erniedrigt vorliegt, aber aufgrund der hohen Standardabweichung nicht signifikant reguliert wird. Das Ergebnis unterstützt jedoch das Microarray-Experiment „*efg1/wt* MP“, in dem *PMT4* ebenfalls bei den Genen mit erniedrigten Transkriptlevel gefunden wurde. Zu beachten ist, dass es sich bei den Kulturen für die Real-time PCR nicht um dieselbe Anzuchtbedingung handelt wie bei angegebener Transkriptomanalyse. Die Expressionsanalysen der anderen *PMT*-Gene zeigen, dass das für *C. albicans* essentielle Gen *PMT2* in der *efg1*-Mutante sowohl normoxisch (NF) als auch hypoxisch (HF) signifikant hoch reguliert wird. Für *PMT5* trifft dies lediglich auf die normoxischen Bedingungen zu. Der Faktor der Regulation beträgt bei *PMT2* maximal 1,5-fach, bei *PMT5* jedoch mindestens zweifach. Letzteres wird im Vergleich zu *PMT1*, 2 und 4 nur sehr niedrig in der Zelle exprimiert. Allerdings ist ein Vergleich der Transkriptlevel verschiedener *PMT*-Gene nur bedingt möglich, da die Effizienzen der jeweiligen Primerpaare nicht berücksichtigt wurden.



**Abb. 27: relative Transkriptlevel der *PMT*-Genfamilie unter normoxischen und hypoxischen Bedingungen.** Für die Real-time RT-PCR wurden der Wildtyp CAF2-1 (wt) und die *efg1*-Mutante HLC52 (*efg1*) unter normoxischen (NF) und hypoxischen (HF) Bedingungen in 50 ml YPD (30 °C) angezogen (Tab. 10). Verwendete Primerpaare sind in Tab. 7 angegeben. Der *PMT1*-Transkriptlevel des Wildtyps unter normoxischen Bedingungen (NF) wurde gleich eins gesetzt. Die relativen Werte sind in der Datentabelle angegeben. Die Berechnung dieser erfolgte ohne Berücksichtigung der Primer-Effizienzen.

### 3.6 Proteinkinase Sch9p von *C. albicans*

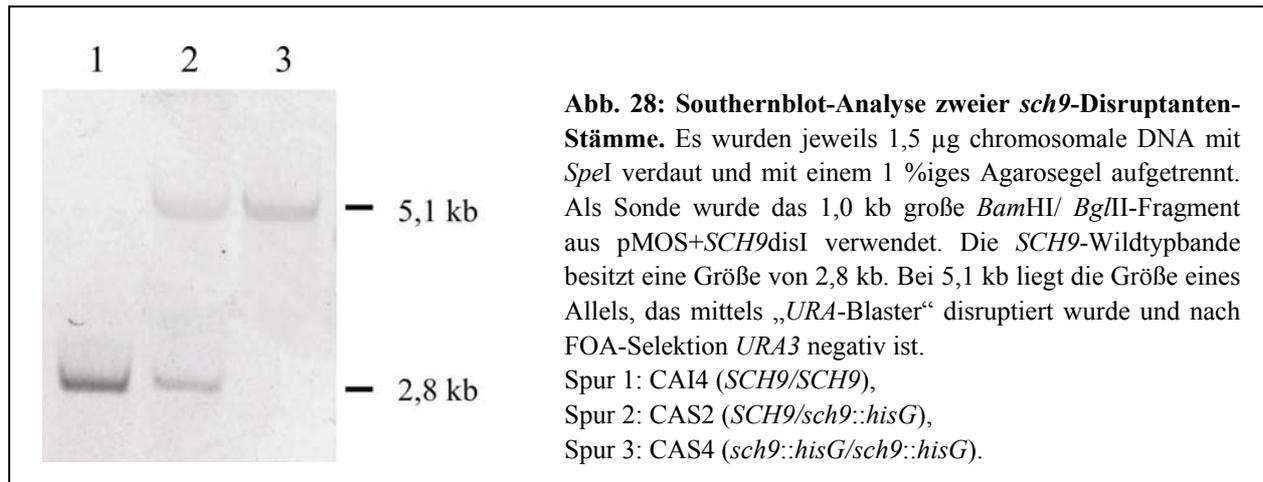
Die Serin/Threonin-Proteinkinase Sch9p ist für die Regulation der Langlebigkeit und Stressresistenz in der Bäckerhefe *S. cerevisiae* verantwortlich. *sch9*-Mutanten wachsen langsamer, leben jedoch dreimal länger als der Wildtyp und sind zudem auch stressresistenter (Fabrizio *et al.*, 2001). Die Regulation der Stressantwort in *S. cerevisiae* wird durch den PKA-Signaltransduktionsweg über die Proteinkinase Rim15p und die Transkriptionsfaktoren Msn2p/Msn4p gesteuert. Sch9p kontrolliert in einem PKA-unabhängigen Signalweg ebenfalls die Stressantwort und das Wachstum der Zellen, indem vermutlich Rim15p durch Sch9p gehemmt wird (Longo, 2003).

In *C. albicans* wurde ein zu *SCH9* homologes Protein in einem Screen nach Mutanten identifiziert, die einen Defekt in der Chlamydosporenbildung zeigen (Nobile *et al.*, 2003). Im Gegensatz dazu ist, wie bereits beschrieben (3.1), die *efg1*-Mutante unter diesen sauerstoffarmen Bedingungen hyperfilamentös. Da es denkbar ist, dass die Proteinkinase regulierend auf Efg1p wirkt und einen Einfluss auf die Regulation des filamentösen Wachstums unter hypoxischen Bedingungen besitzt sollte *CaSCH9* in dieser Arbeit charakterisiert werden.

#### 3.6.1 Southernblot-Analyse von *sch9* disruptierten Stämmen

Der von Nobile *et al.* (2003) durchgeführte Screen, in dem die *sch9*-Mutante ursprünglich identifiziert wurde, beruht auf einer Insertionsbibliothek. Bei dieser mit der *UAU*-Methode

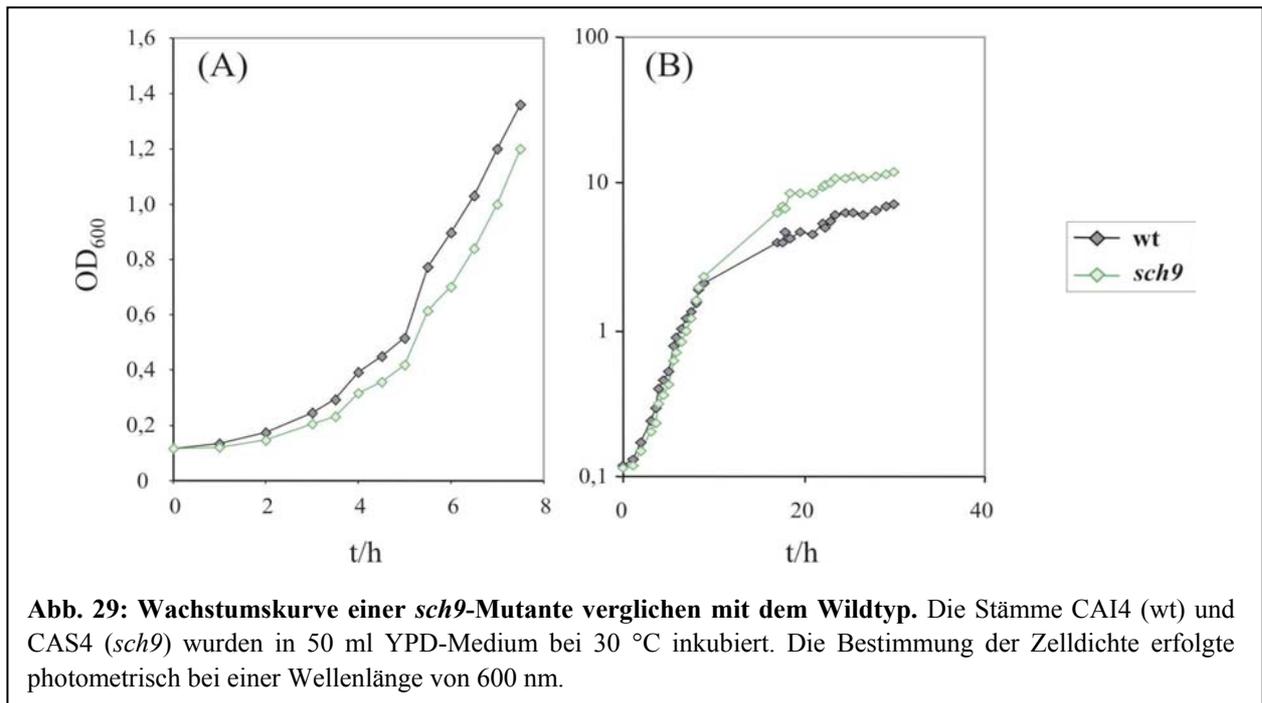
hergestellten Bibliothek kommt es vor, dass Gene nur teilweise disruptiert werden. Die *UAU*-Methode beruht auf einer springenden *Tn7-UAUI*-Kassette, durch die die Gene zufällig mittels Transposonmutagenese disruptiert werden (Davis *et al.*, 2002). Die beiden Allele des *Orf19.829* (*SCH9*) wurden noch mal vollständig mittels der „*URA3*-Blaster“-Methode disruptiert (Giasson, pers. Mitteilung). Nach Disruption und Selektion auf FOA-Platten, auf denen nur Zellen wachsen können, die kein *URA3*-Gen mehr besitzen, wurden die erhaltenen Stämme in dieser Arbeit mittels einer Southernblot-Analyse verifiziert. Wie in Abb. 28 zu sehen ist Stamm 2 (CAS2) eine Halbdisruptante und Stamm 3 (CAS4) eine *sch9*-Volldisruptante.



### 3.6.2 Wachstum und Stressantwort von *sch9*-Mutanten in *C. albicans*

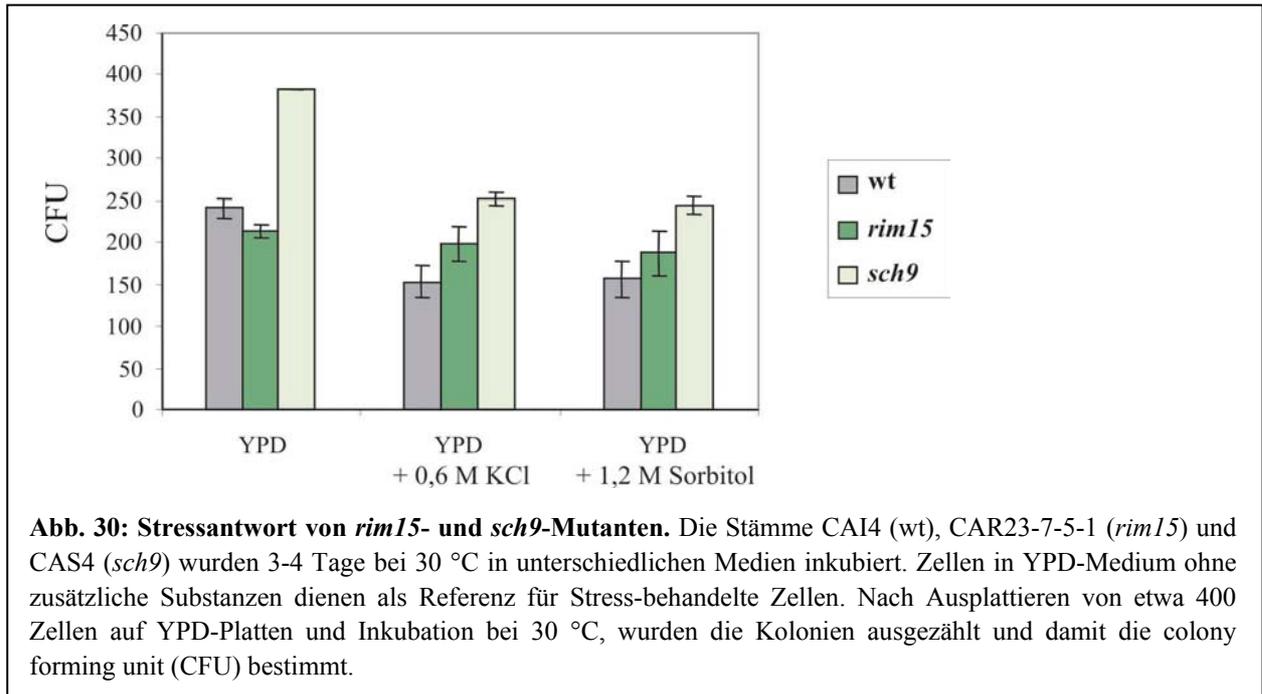
Nach Verifizierung der Stämme wurde die *sch9*-Volldisruptante CAS4 mit dem Wildtypstamm CAI4 zur Überprüfung des Defekts in der Chlamydosporenbildung auf eine Maismehlagar-Platte (+ 0,002 % Uridin) ausgestrichen. Die ausgestrichenen Zellen wurden dann mit einem Deckgläschen bedeckt und die Platten für 3-5 Tage bei Raumtemperatur inkubiert. Nach mikroskopischer Beobachtung wurde deutlich, dass sich der bereits von Nobile *et al.* (2003) beobachtete Defekt in der Chlamydosporenbildung bestätigte (Daten nicht gezeigt). Weitere Untersuchungen auf hypheninduzierenden Medien, wie Serum- und Lee's-Platten, zeigten keine Unterschiede in der Morphogenese der *sch9*-Mutante im Vergleich zum Wildtyp (Daten nicht gezeigt). Um zu überprüfen, ob eine ähnliche Funktion von *CaSch9p* wie in *S. cerevisiae* in der Langlebigkeit besteht, wurde im weiteren Verlauf eine Wachstumskurve durchgeführt. Übernachtskulturen des Wildtyps und der *sch9*-Mutante wurden auf eine  $OD_{600} = 0,12$  in 50 ml YPD angeimpft und bei 30 °C inkubiert. Die  $OD_{600}$  wurde über einen Zeitraum von 30 Stunden protokolliert (Abb. 29).

In den ersten sieben Stunden, die sowohl lag-Phase als auch exponentielle Wachstumsphase einschließen, zeigt die *sch9*-Mutante ein geringfügig langsames Wachstum als der Wildtyp (Abb. 29 A). Nach etwa zehn Stunden beginnt der Wildtyp in die stationäre Phase überzugehen und wird dann im Wachstum von der *sch9*-Mutante eingeholt (Abb. 29 B). Der Eintritt in die stationäre Phase erfolgt somit bei der *sch9*-Mutante, wie auch in *S. cerevisiae*, deutlich langsamer. Somit scheint auch *CaSch9p* für die Regulation von Wachstumsprozessen der Zelle verantwortlich zu sein.



Neben der Langlebigkeit beeinflusst Sch9p auch die Stressantwort in *S. cerevisiae*. Enjalbert *et al.* (2003) fanden heraus, dass in *C. albicans* im Gegensatz zu *S. cerevisiae* keine generelle Stressantwort vorhanden ist. Höhere Stressbedingungen als die gewöhnlichen führen dennoch zu einer Antwort, bei denen spezielle Gene der generellen Stressantwort aktiviert werden (Brown, pers. Mitteilung). Zur Beobachtung hinzugezogen wurde, neben der *sch9*-Mutante, auch die von Setiadi (2002) charakterisierte *rim15*-Mutante. In *S. cerevisiae* ist Rim15p im PKA-Signalweg involviert und reguliert Wachstum und Stressantwort der Zelle (Reinders *et al.*, 1998). Der Einfluss von CaRim15p wurde lediglich unter moderateren Stressbedingungen getestet, bei denen sich die Mutante wie der Wildtyp verhielt.

Es sollte nun gezeigt werden, ob *rim15*- und *sch9*-Mutanten unter sehr hohem Stress einen Defekt in der Stressantwort aufweisen. Die Zellen wurden dafür in YPD-Flüssigmedium mit 0,6 M KCl oder 1,2 M Sorbitol inkubiert und anschließend auf YPD-Platten ausplattiert. Die Anzahl an überlebenden Zellen wurde anhand der Kolonien auf den Platten bestimmt und in einem Balkendiagramm graphisch dargestellt (Abb. 30). Nach Stressinduzierung durch Kaliumchlorid oder Sorbitol überleben rund 70 % der Zellen des Wildtyps und sind in der Lage, Kolonien auf YPD-Agarplatten zu bilden. Im Vergleich dazu reagiert die *rim15*-Mutante sogar leicht tolerant auf diese Stressbedingungen („YPD“ Abb. 30). Anders als in *S. cerevisiae*, wo der entsprechende disruptierte Stamm eine erhöhte Sensitivität während der stationären Wachstumsphase zeigt (Reinders *et al.*, 1998), könnte CaRim15p für die Repression von Genen der Stressantwort verantwortlich sein. *SCH9*-disruptierte Zellen hingegen zeigen die gleiche Sensitivität gegenüber Stress wie Wildtypzellen. Auffällig ist allerdings der höhere Ausgangswert der CFU von *sch9*-Mutanten, die in YPD-Medium inkubiert wurden (Referenzwert). So liegt die Anzahl der CFU von stressinduzierten *sch9*-Zellen in etwa auf gleicher Höhe, mit der des Wildtyps ohne Stresseinwirkung („YPD“). Wie bereits die Wachstumskurve von *sch9*-Mutanten zeigte (Abb. 29), deutet auch dieses Ergebnis darauf hin, dass Zellen in Abwesenheit von Sch9p langlebiger sind als Wildtypzellen. Ein direkter Einfluss des Proteins auf die Stressantwort konnte nicht gezeigt werden.



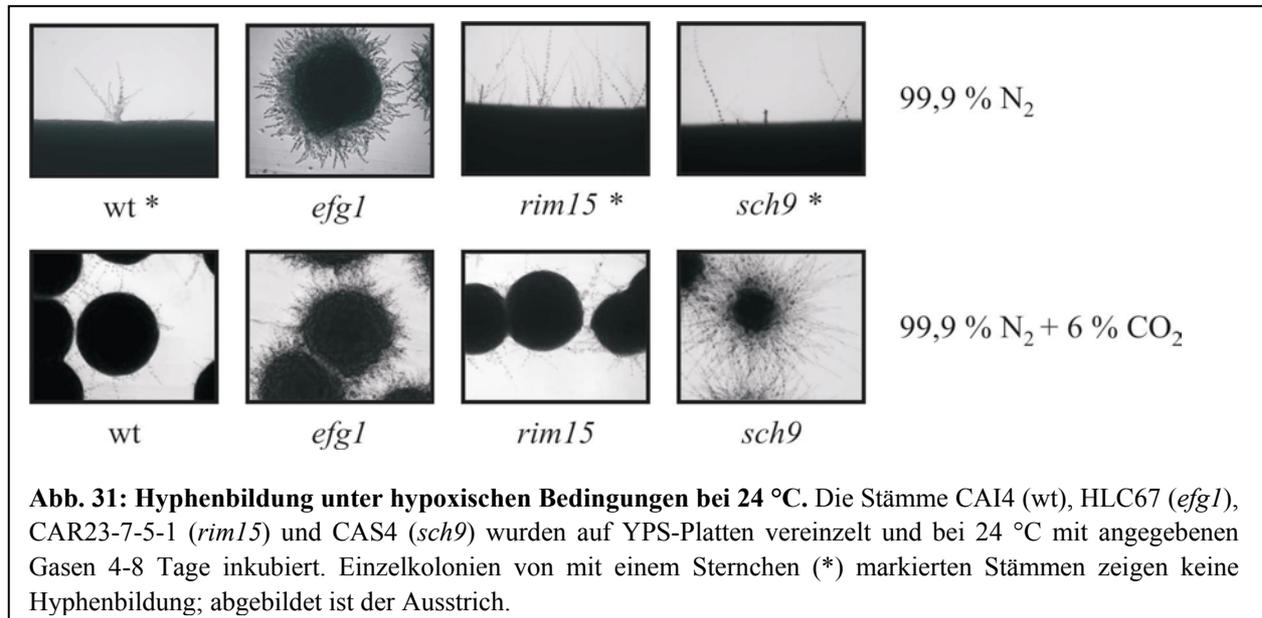
### 3.6.3 Untersuchungen zu *SCH9* und *RIM15* unter sauerstoffarmen Bedingungen

Sch9p und Rim15p sind Regulatoren des filamentösen Wachstums unter sauerstoffarmen Bedingungen. *sch9*-Mutanten sind nicht in der Lage Chlamydosporen zu bilden, während *rim15*-Mutanten auf die „eingebetteten“ Bedingungen leicht hyperfilamentös gegenüber dem Wildtyp reagieren (Setiadi, 2002). Aufgrund dieser Kenntnis wurde untersucht, ob allein der Mangel an Sauerstoff in der Lage ist, eine verstärkte Filamentierung auszulösen. Dies wurde bereits im Zusammenhang mit der Rolle von *EFG1* bei der Hyphenbildung beschrieben (3.1). Des Weiteren wird in diesem Kapitel die Regulation der Transkripte beider Gene unter sauerstoffarmen Bedingungen behandelt.

#### 3.6.3.1 Morphologische Untersuchungen

Die Abb. 31 zeigt mikroskopische Aufnahmen der Morphologie von *sch9*- und *rim15*-Mutanten unter hypoxischen Bedingungen in Anwesenheit und Abwesenheit von 6 % CO<sub>2</sub>. Die *efg1*-Mutante dient hierbei als Positivkontrolle für das starke Hyphenwachstum unter angegebenen Bedingungen. Wurden die verschiedenen Stämme mit 99,9 % N<sub>2</sub> bei 24 °C inkubiert, so zeigt sich, dass die *rim15*-Mutante leicht hyperfilamentös im Vergleich zum Wildtyp ist. Dies korreliert mit dem Ergebnis der eingebetteten Bedingungen, wo sich die Mutante ebenfalls leicht hyperfilamentös zeigte (Setiadi, 2002). Rim15p könnte somit ebenfalls wie Efg1p an der Repression eines alternativen Signalwegs für die Hyphenbildung unter hypoxischen Bedingungen beteiligt sein. Die *sch9*-Mutante zeigt bei Begasung mit nur 99,9 % N<sub>2</sub> keine morphologischen Unterschiede im Vergleich zum Wildtyp. Die zusätzliche Begasung mit 6 % CO<sub>2</sub> („Gas NC“, Tab. 3) löst jedoch ein stark hyperfilamentöses Wachstum aus, welches noch stärker ist als bei der *efg1*-Mutante. Eine Temperaturerhöhung auf 30 oder 37 °C unter diesen Bedingungen zeigte keinen Einfluss auf den *sch9*-Phänotypen (Daten nicht gezeigt). Bei niedrigen Sauerstoffkonzentrationen und 6 % CO<sub>2</sub> ist Sch9p ein starker Repressor des

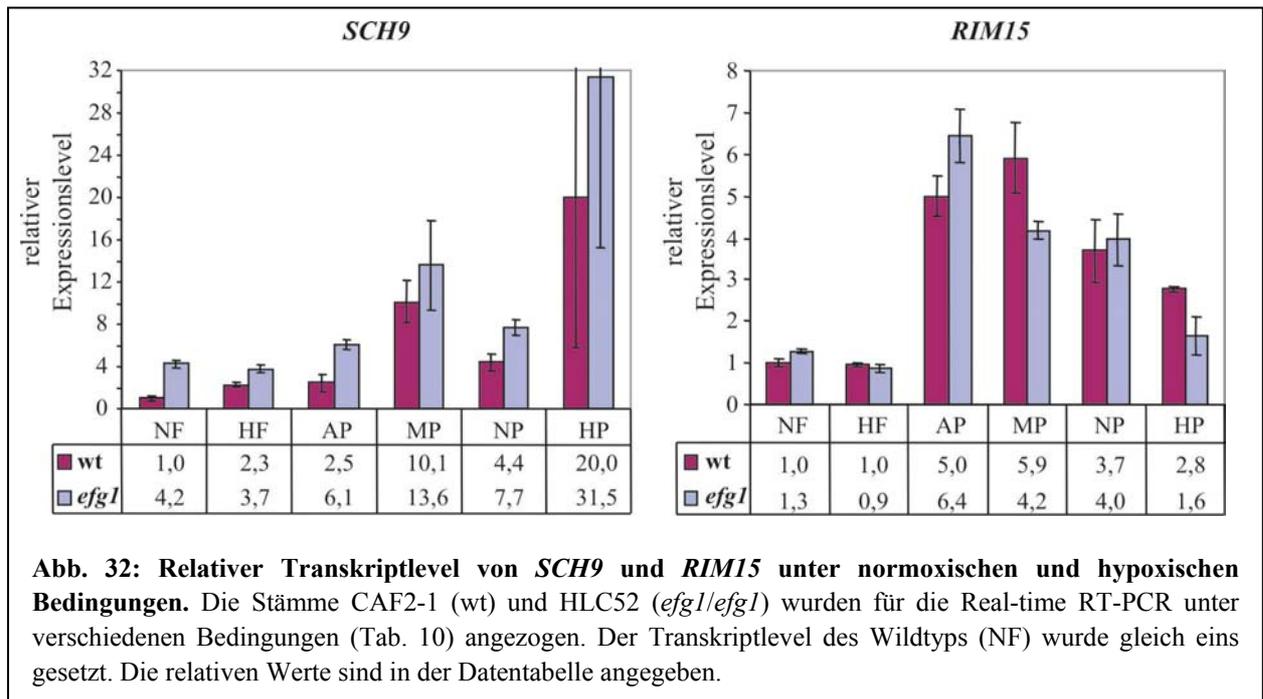
filamentösen Wachstums. Im Gegensatz zu Efg1p scheint Sch9p speziell für die Repression bei erhöhten Kohlendioxidwerten verantwortlich zu sein. Es deutet sich an, dass mehrere Signalwege für die Regulierung der Filamentbildung unter hypoxischen Bedingung existieren.



### 3.6.3.2 Transkriptlevel der Gene *SCH9* und *RIM15*

Den Ergebnissen aus 3.6.3.1 zufolge spielen Sch9p und Rim15p eine Rolle bei der Regulation des Hyphenwachstums unter hypoxischen Bedingungen. Um zu untersuchen, ob dieser Einfluss auf unterschiedliche Expressionsniveaus zurückzuführen sein könnte und zudem vom Transkriptionsfaktor Efg1p abhängig ist, wurde eine Real-time RT-PCR durchgeführt. Hierzu wurde die Gesamt-RNA von Wildtyp und *efg1*-Mutanten Zellen analysiert, die unter normoxischen und sauerstoffarmen Bedingungen angezogen wurden.

Wie in Abb. 32 zu erkennen, wird *SCH9* unter sauerstoffarmen Bedingungen (HF, MP, HP) stärker exprimiert als unter normoxischen Bedingungen (NF, AP, NP). Lediglich bei in Flüssigmedium (HF) angezogenen *efg1*-Mutanten verändert sich der Transkriptlevel im Vergleich zu normoxisch (NF) angezogenen Zellen nicht. Obwohl die morphologischen Untersuchungen bei Hypoxie (ohne CO<sub>2</sub>-Begasung) ergaben, dass Sch9p keinen Einfluss auf die Hyphenbildung hat (3.6.3.1), zeigen sich Unterschiede auf Transkriptebene. Wird die Expression der beiden Stämme gegenübergestellt, wird deutlich, dass *SCH9* in der *efg1*-Mutante unter allen Bedingungen stärker exprimiert wird. Die Regulation der Expression von *SCH9* ist somit Efg1p-abhängig. Bei *RIM15* zeigt sich im Gegensatz zu *SCH9* kein Unterschied zwischen den beiden Stämmen oder den beiden untersuchten Bedingungen. Morphologische Untersuchungen unter hypoxischen Bedingungen zeigten ebenfalls nur geringe reprimierende Eigenschaften von Rim15p bezüglich der Hyphenbildung (3.6.3.1). Auffällig ist die starke Induktion des *RIM15*-Transkriptspiegels bei Anzucht auf festen Medien (AP, MP, NP und HP). Dies deutet darauf hin, dass Rim15p möglicherweise an der Matrixkontakt-Sensorik beteiligt ist.



### 3.7 Einfluss verschiedener Substanzen auf Zellwand/-membran bei Hypoxie

Die Zellwand von *C. albicans* ist aus ungefähr 40 %  $\beta$ 1,3-Glucan, 20 %  $\beta$ 1,6-Glucan, 35-40 % Mannoproteinen und nur 1-2 % Chitin aufgebaut (Klis *et al.*, 2001). Bei *efg1*-Mutanten zeigen bereits elektronenmikroskopische Aufnahmen eine veränderte Struktur der Zelloberfläche. Auch die Zellform der Mutante ist gegenüber dem Wildtyp verändert. *EFG1*-deletierte Zellen besitzen eine längliche, ovalere Form als die rundlich geformte Wildtypzelle. Die an die Zellwand angrenzende Membran der Hefe besteht aus einem Phospholipid-Bilayer, der aus ungesättigten und gesättigten Fettsäuren aufgebaut ist. In Kapitel 3.3 wurde gezeigt, dass die Fettsäurezusammensetzung von Efg1p in Abhängigkeit vom Sauerstoffgehalt der Umgebung beeinflusst wird. Um weitere Aufschlüsse über die Funktion von Efg1p, in Bezug auf Zellwand- und Membranstrukturen, insbesondere unter hypoxischen Bedingungen zu erhalten, wurden Sensitivitätsstudien durchgeführt. Sensitivitäten gegenüber bestimmten Substanzen geben oft Aufschluss über die Funktion eines Proteins und der Beteiligung an bestimmten Synthesewegen. Eingesetzt wurden Agenzien, die auf Zellwand oder -membran einwirken, wie SDS, diverse Azole und Congo red. Darüber hinaus wurde Hygromycin B hinzugezogen, da die Substanz Fehllesungen während des Translationsvorgangs induziert. In Kapitel 3.3 wurden einige Gene der Translation als von Efg1p reguliert identifiziert.

#### 3.7.1 Sensitivitätstests bei verschiedenen Temperaturen

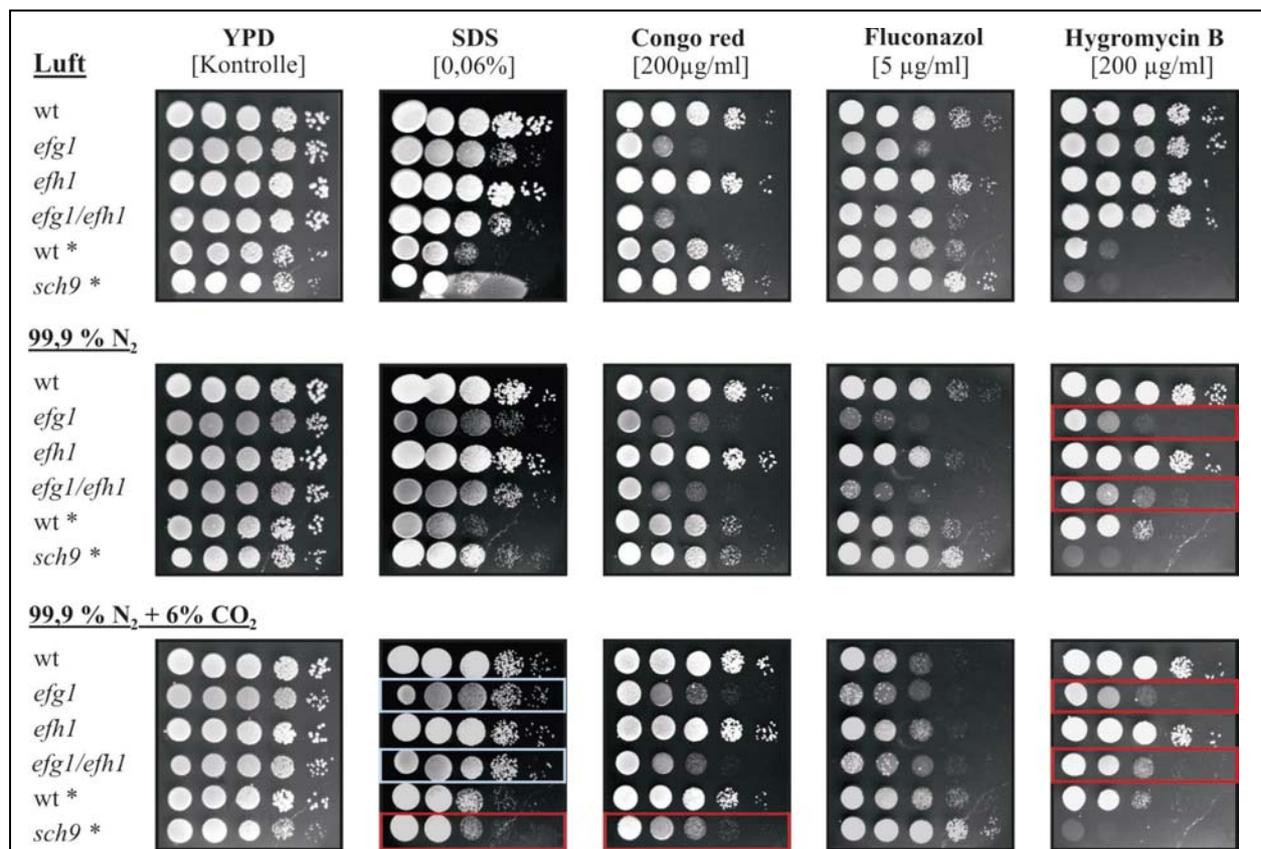
Zunächst wurde ein Sensitivitätstest mit *efg1*-, *efh1*-, *efg1/efh1*- und *sch9*-Mutanten bei der optimalen Wachstumstemperatur von 30 °C durchgeführt. In Abb. 33 zeigt sich, dass die *efg1*-Mutante unter **normoxischen Bedingungen** leicht sensitiv gegenüber 0,06 % SDS, sowie stark sensitiv gegenüber Congo red und Fluconazol ist. Die *efh1*-Mutante verhält sich auf allen getesteten Platten wie der Wildtyp, während die *efg1/efh1*-Doppelmutante genauso sensitiv wie

die *efg1*-Einfachmutante ist. Lediglich auf Fluconazol-Platten kann eine leichte Resistenz gegenüber der *efg1*-Mutante beobachtet werden. Der Vergleich zwischen der *sch9*-Mutante und dem Wildtyp erfolgte mit einem weiteren, vergleichbaren Wildtypstamm (CAI4), da es sich bei dieser Mutante um einen *URA3*-negativen Stamm handelt. Die *sch9*-Mutante ist leicht resistenter gegenüber SDS, Congo red- und Fluconazol als der Wildtyp. Bei Hygromycin B verhält es sich umgekehrt; die Mutante ist leicht sensitiver als der Wildtypstamm. Es wird außerdem deutlich, dass die Substanz das Wachstum der *ura3*-Stämme stärker hemmt, als das der *URA3* positiven Stämme. Das Gen kodiert für die Orotidin-5'-Phosphat-Decarboxylase, die in der Pyrimidin-Ribonukleotid-Synthese involviert ist. Dadurch zeigt der Translationshemmer Hygromycin B bei *URA3*-disruptierte Zellen eine stärkere Wirkung.

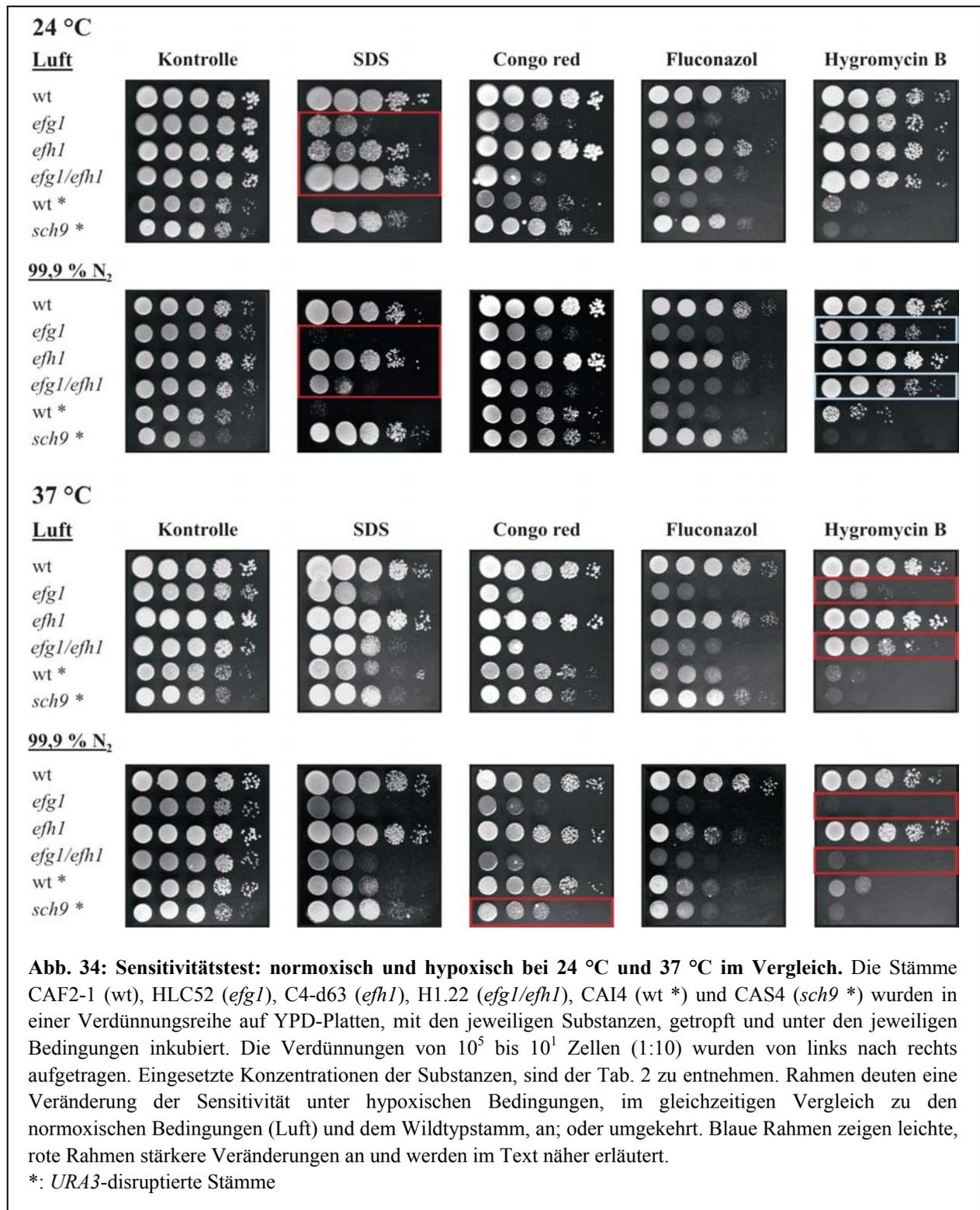
Um die Auswirkung **hypoxischer Bedingungen** auf die Sensitivität der Zellen bestimmen zu können, wurden dieselben Platten wie normoxisch mit „Gas N“ (99,9 % N<sub>2</sub>) und „Gas NC“ (+ 6 % CO<sub>2</sub>, beide Tab. 3) inkubiert. Da neben dem Sauerstoffgehalt zudem die Temperatur entscheidend für die Morphogenese von *C. albicans* ist (3.1.1), wurden die Sensitivitäten bei 24 und 37 °C unter hypoxischen Bedingungen analysiert (Abb. 34). So zeigt sich eine starke Sensitivität von *efg1*-Mutanten gegenüber **Hygromycin B** bei 30 °C und 99,9 % N<sub>2</sub> (Abb. 33). Beim weiteren Vergleich fällt auf, dass diese Hygromycin B-Sensitivität der *efg1*-Mutante sowohl Sauerstoff- als auch Temperaturabhängig ist. Bei höheren Temperaturen und geringem Sauerstoffgehalt wird die Sensitivität stärker (Abb. 33 und Abb. 34). Folgerichtig kann die stärkste Sensitivität bei 37 °C und hypoxischen Bedingungen beobachtet werden (Abb. 34). Auch die Regulation der Morphogenese von *C. albicans* durch Efg1p ist sowohl vom Sauerstoffgehalt als auch der Temperatur abhängig. Weiterhin bestätigt sich, wie bereits aufgrund der Microarray-Analysen vermutet (3.3.2, Tab. 14), dass Efg1p für die Regulation der Translation unter sauerstoffarmen Bedingungen (u.a. Expression ribosomaler Proteine) wichtig ist. Bezüglich der SDS-Sensitivität der *efg1*-Mutante sind einige Auffälligkeiten im Wachstum bei 24 °C zu beobachten. Hier ist die Sensitivität unter normoxischen und vor allem unter hypoxischen Bedingungen besonders stark ausgeprägt (Abb. 34). Dies bedeutet, dass die Zellmembran von *efg1*-Mutanten besonders bei Sauerstoffmangel und einer niedrigen Temperatur durch SDS angreifbar ist. Transkriptomanalysen zeigen, dass die erhöhte Sensitivität von *efg1*-Mutanten unter hypoxischen Bedingungen nicht etwa durch einen erniedrigten Transkriptspiegel von Resistenzgenen (z.B. *CDR1*) ausgelöst wird (Anhang: Tab. 21 und Abb. 19 D). Vielmehr könnten Veränderungen in der Fettsäurezusammensetzung der Membran die Ursache dafür sein (3.4.3, Tab. 16 B). Ebenfalls in Abb. 34 zeigt sich zum ersten Mal eine leichte Sensitivität der *efh1*-Mutante gegenüber einer Substanz (SDS). Allerdings verhält sie sich nur bei normoxischen Bedingungen und niedriger Temperatur (24 °C) anders als der Wildtyp. Des Weiteren kann beobachtet werden, dass die *efg1/efh1*-Doppelmutante anders auf eine SDS-Behandlung reagiert als die *efg1*-Einfachmutante. Die Doppelmutante ist unter hypoxischen Bedingungen resistenter als die *efg1*-Mutante und verhält sich bei normoxischen Bedingungen sogar wie der Wildtyp (Abb. 34, 24 °C). Somit ist die zusätzliche *EFH1*-Disruption in der Lage, die starke Sensitivität der *efg1*-Mutante zu supprimieren. Ähnliche supprimierende Effekte, wenn auch schwächer, sind auf Fluconazol- (z.B. normoxisch, Abb. 33, Abb. 34) und Hygromycin B-haltigen Medien (z.B. hypoxisch 30 °C, Abb. 33 und normoxisch 37 °C, Abb. 34) zu beobachten.

Änderungen bezüglich der Sensitivität von *sch9*-Mutanten unter hypoxischen Bedingungen oder bei Temperaturen von 24 bzw. 37 °C zeigen sich auf **Congo red**-haltigem Medium. Die Mutante ist hypoxisch nicht mehr resistenter als der der Wildtyp (Abb. 33 und Abb. 34). Ähnlich wie bei

der *efg1*-Mutante kann auch hier eine Abhängigkeit der Sensitivität vom Sauerstoffgehalt der Umgebung und der Temperatur beobachtet werden. So verliert der Stamm bei sauerstoffarmen Bedingungen oder erhöhter Temperatur seine Resistenz und wird bei einer Kombination beider Bedingungen sogar sensitiver als der Wildtyp. Interessanterweise verändert sich die leichte Resistenz der *sch9*-Mutante gegen Congo red und 0,06 % SDS, unter hypoxischen Bedingungen mit zusätzlicher CO<sub>2</sub>-Begasung. Bei diesen Bedingungen, unter denen auch der stark hyperfilamentöse Phänotyp der *sch9*-Mutante beobachtet wurde, ist der Stamm sensitiver als der Wildtyp. Eine weitere Auffälligkeit ist die starke Sensitivität von *sch9*-Mutanten gegenüber Hygromycin B. Bei keinen der untersuchten Bedingungen ist die Mutante in der Lage, auf Hygromycin B-haltigem Medium zu wachsen. Da bekannt ist, dass die Substanz Fehllesungen an Ribosomen induziert, könnte dies auf einen möglichen Einfluss von Sch9p auf die Ribosomenbiogenese hindeuten, wie es in *S. cerevisiae* der Fall ist (Jorgensen *et al.*, 2002).



**Abb. 33: Sensitivitätstest bei 30 °C unter hypoxischen Bedingungen im Vergleich zu normoxischen Bedingungen.** Die Stämme CAF2-1 (wt), HLC52 (*efg1*), C4-d63 (*efh1*), H1.22 (*efg1/efh1*), CAI4 (wt \*) und CAS4 (*sch9* \*) wurden in einer Verdünnungsreihe auf YPD-Platten, mit den jeweiligen Substanzen, getropft und unter den jeweiligen Bedingungen inkubiert. Die Verdünnungen von 10<sup>5</sup> bis 10<sup>1</sup> Zellen (1:10) wurden von links nach rechts aufgetragen. Rahmen deuten eine Veränderung der Sensitivität unter hypoxischen Bedingungen, im gleichzeitigen Vergleich zu den normoxischen Bedingungen (Luft) und dem Wildtypstamm, an. Blaue Rahmen zeigen leichte, rote Rahmen stärkere Veränderungen an und werden im Text näher erläutert.  
\*: *URA3*-disruptierte Stämme



## 4 Diskussion

*C. albicans* ist ein einzelliger Pilz, der aufgrund seiner Fähigkeit zwischen unterschiedlichen Wachstumsformen zu wechseln (Ernst, 2000a) und zudem Virulenzfaktoren zu exprimieren (Kumamoto und Vines, 2005), viele Nischen im menschlichen Organismus vorfindet. Der opportunistische Erreger ist ein Kommensale des gesunden Menschen, kann allerdings bei immunsupprimierten Menschen sowohl oberflächliche als auch systemische Mykosen auslösen (Odds, 1994). Unter normoxischen Bedingungen wird der Wechsel von der Hefeform, bei der eine schnelle Vermehrung garantiert ist, zur Hyphenform über den Proteinkinase A (PKA)-Weg durch den Transkriptionsfaktor Efg1p aktiviert (Stoldt *et al.*, 1997; Bockmühl und Ernst, 2001). In der Hyphenform ist *C. albicans* in der Lage, in Gewebe und einzelne Zellen zu penetrieren und invasiv zu wachsen, Hefezellen hingegen sind avirulent (Lo *et al.*, 1997). In diesen Nischen ist nur sehr wenig Sauerstoff vorzufinden (hypoxische Bedingungen), worauf die Pilzzellen ihren Metabolismus umstellen müssen. Die hypoxische Antwort auf diese Bedingungen ist in *C. albicans* noch weitestgehend unbekannt. Es konnte jedoch beobachtet werden, dass das APSES-Protein Efg1p unter sauerstoffarmen Bedingungen nunmehr als Repressor der Hyphenbildung agiert (Brown *et al.*, 1999; Sonneborn *et al.*, 1999).

In dieser Arbeit konnte durch morphogenetische Untersuchungen von *efg1*-Mutanten unter Stickstoffbegasung (99,9 %) gezeigt werden, dass der hyperfilamentöse Phänotyp der Mutante allein durch die Sauerstoffreduktion ausgelöst werden kann. Weitere Beobachtungen unter diesen Bedingungen deuten darauf hin, dass Efg1p, Sch9p und Rim15p einen alternativen Signalweg reprimieren, Tpk1p und Tpk2p jedoch nicht. Mit einer genomweiten Transkriptomanalyse wurde die hypoxische Antwort von *C. albicans* charakterisiert und Efg1p als Bestandteil dieser Genregulation identifiziert. Neben Genen der Stressantwort und hyphenspezifischen Genen gehören weitere Zielgene des Transkriptionsfaktors der Fettsäurebiosynthese an. Eine Fettsäureanalyse bestätigte die Aktivierung der Fettsäure-Desaturase Ole1p unter hypoxischen Bedingungen durch Efg1p.

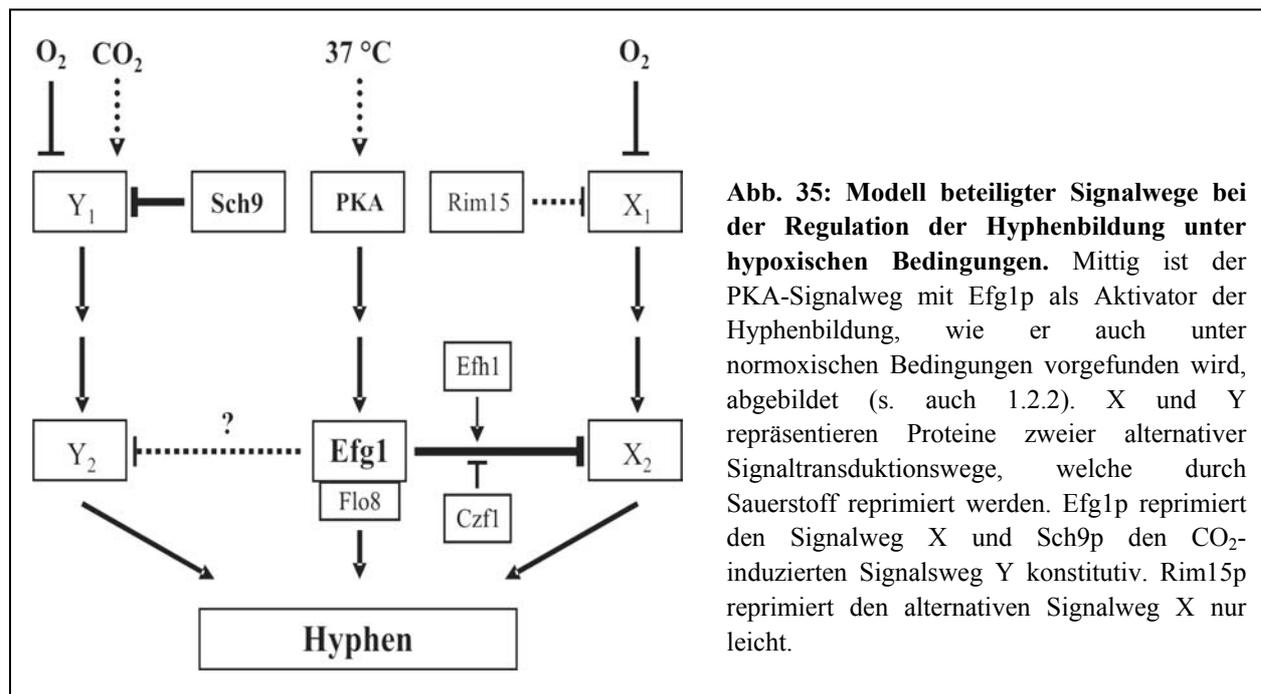
### 4.1 Regulation des filamentösen Wachstums bei Hypoxie durch einen alternativen Signaltransduktionsweg in *C. albicans*

Die Regulation des filamentösen Wachstums von *C. albicans* verläuft unter den bisher charakterisierten, normoxischen Induktionsbedingungen über den cAMP/PKA-Signalweg (Abb. 2). Das hypheninduzierende Signal wird dabei über die Adenylatcyclase, den beiden Untereinheiten der PKA (Tpk1p und Tpk2p) bis zum Transkriptionsfaktor Efg1p in den Kern weitergeleitet (Bockmühl und Ernst, 2001). Dieser aktiviert schließlich Gene, die für die Hyphenbildung von Bedeutung sind. Signale, die das filamentöse Wachstum bei Normoxie auslösen, können zum einen Temperaturen von 37 °C sein oder aber auch die Zugabe von Serum oder N-Acetylglucosamin in einem Medium mit neutralem pH (Shepherd *et al.*, 1980; Buffo *et al.*, 1984; Cassone *et al.*, 1985). Im Folgenden wird die Regulation der Morphogenese unter hypoxischen Bedingungen beschrieben und mögliche Regulationsmechanismen diskutiert.

#### 4.1.1 Efg1p agiert als Repressor und Aktivator des filamentösen Wachstums in Abhängigkeit von Sauerstoff und Temperatur

Untersuchungen zu den eingebetteten und mikroaerophilen Bedingungen von *efg1*-Mutanten suggerierten bereits, dass Efg1p ein Repressor der Hyphenbildung unter sauerstoffarmen Bedingungen ist (Brown *et al.*, 1999; Sonneborn *et al.*, 1999; Doedt *et al.*, 2004). Unklar war jedoch aufgrund der undefinierten Gaszusammensetzungen, ob der Mangel an Sauerstoff das hyperfilamentöse Wachstum auslöst. Morphologische Untersuchungen bei Temperaturen unter 37 °C konnten zeigen, dass Efg1p bei Begasung mit nur 99,9 % N<sub>2</sub> tatsächlich als ein Repressor der Hyphenbildung fungiert (3.1.1; Abb. 5, Abb. 6). Im Gegensatz zum Wildtyp sind *efg1*-Mutanten stark filamentös, auch wenn das Medium einen sauren pH aufweist, welcher unter normoxischen Bedingungen die Hyphenbildung hemmt (Buffo *et al.*, 1984). Dies unterstützt die Vermutung, dass die Morphogenese von *C. albicans* hypoxisch anders reguliert wird als normoxisch. Eine Bestätigung wurde darin gefunden, dass *tpk1*- und *tpk2*-Mutanten sich wie der Wildtyp verhalten. Der klassische Signaltransduktionsweg von *C. albicans*, reguliert durch die Proteinkinase A, ist somit nicht an der Repression der Hyphenbildung bei sauerstoffarmen Bedingungen beteiligt. Demnach muss eine zum PKA-Weg parallele Signaltransduktion für die Regulation der Morphogenese vorhanden sein.

Das aus den Ergebnissen entwickelte Modell in Abb. 35 zeigt eine Möglichkeit der Regulation des filamentösen Wachstums unter hypoxischen Bedingungen. Neben dem APSES-Protein Efg1p werden außerdem zwei weitere Transkriptionsfaktoren (Flo8p und Czf1p) in dem Modell mit einbezogen. Denkbar wäre, dass Sauerstoff einen alternativen Signalweg reprimiert, der durch hypoxische Bedingungen induziert wird. Die Hyphenbildung wird dennoch nicht aktiviert, da Efg1p diesen hypoxisch aktiven Signalweg konstitutiv reprimiert. Im Zusammenhang hierzu wurde beobachtet, dass der *EFGI*-Transkriptlevel und die Proteinmenge hypoxisch höher liegen als normoxisch (3.2.2; Abb. 11, Abb. 14), vermutlich weil Efg1p bei Sauerstoffabwesenheit für die Repression des alternativen Signalwegs benötigt wird. Unter normoxischen Bedingungen hingegen könnte eine geringe Menge des Transkriptionsfaktors damit begründet sein, dass molekularer Sauerstoff bereits den alternativen Weg hemmt, und Efg1p nicht oder nur zum Teil für dessen Repression benötigt wird. Der von Cao *et al.* (2006) charakterisierte Transkriptionsfaktor Flo8p könnte ebenfalls ein Repressor desselben alternativen Signalwegs sein, da *C. albicans*-Zellen in Abwesenheit von Flo8p unter eingebetteten Bedingungen wie *efg1*-Mutanten hyperfilamentös erscheinen. Während Efg1p eine Vielzahl von Prozessen (u.a. Kohlenstoffmetabolismus, Fettsäurebiosynthese, Morphologie) steuert, ist die Funktion von Flo8p auf die Expression hyphenspezifischer Gene beschränkt (Cao *et al.*, 2006). Unklar bleibt, ob das verstärkt filamentöse Wachstum von *flo8*-Mutanten auch ohne die Einbettung, allein durch einen Sauerstoffmangel ausgelöst werden kann. Cao *et al.* (2006) konnten mittels einer Chromatin-Immuno-Präzipitation eine Interaktion beider Proteine *in vivo* nachweisen. Denkbar wäre, dass Flo8p die Repression des alternativen Signalwegs durch Interaktion mit Efg1p unterstützt.

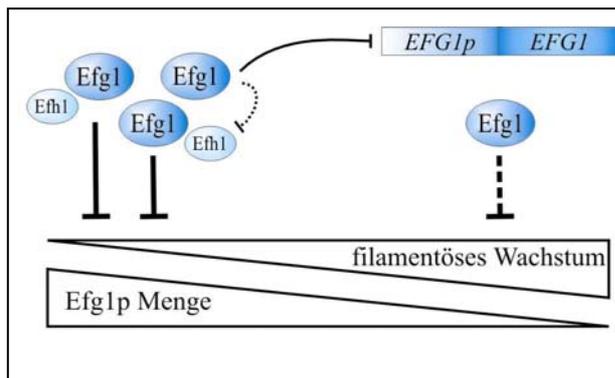


**Abb. 35: Modell beteiligter Signalwege bei der Regulation der Hyphenbildung unter hypoxischen Bedingungen.** Mittig ist der PKA-Signalweg mit Efg1p als Aktivator der Hyphenbildung, wie er auch unter normoxischen Bedingungen vorgefunden wird, abgebildet (s. auch 1.2.2). X und Y repräsentieren Proteine zweier alternativer Signaltransduktionswege, welche durch Sauerstoff reprimiert werden. Efg1p reprimiert den Signalweg X und Sch9p den CO<sub>2</sub>-induzierten Signalweg Y konstitutiv. Rim15p reprimiert den alternativen Signalweg X nur leicht.

In dieser Arbeit wurde verdeutlicht, dass Efg1p allein aufgrund des Sauerstoffmangels als Repressor eines alternativen, hypheninduzierenden Signalwegs aktiv wird und nicht etwa aufgrund von erhöhten CO<sub>2</sub>-Werten wie von Klengel *et al.* (2005) beschrieben. Trotz Repression des alternativen Signalwegs durch Efg1p ist der Wildtypstamm bei Sauerstoffmangel allerdings nicht vollkommen afilamentös (3.1.1). Die Hyphenbildung beginnt lediglich zu einem späteren Zeitpunkt als bei der *efg1*-Mutante. Eine mögliche Erklärung hierfür wäre, dass eine hohe Zelldichte den alternativen Signalweg zusätzlich aktiviert. Oder aber, ein dereprimierender Mechanismus hebt die repressorische Eigenschaft von Efg1p auf. Mutanten des Zink-Finger-Proteins Czf1p beispielsweise sind unter eingebetteten, mikroaerophilen Bedingungen im Vergleich zum Wildtyp in ihrer Fähigkeit zur Hyphenbildung leicht eingeschränkt (Brown *et al.*, 1999). Giusani *et al.* (2002) konnten eine Interaktion zwischen Czf1p und Efg1p nachweisen. Möglicherweise ist Czf1p auch hypoxisch, durch die Bindung an Efg1p, für eine DeRepression des alternativen Signalwegs verantwortlich ist (Abb. 35).

Denkbar wäre aber auch eine Autoregulation des eigenen Promotors, wie sie bereits unter normoxischen Bedingungen von Tebarth *et al.* (2003) beobachtet wurde: Nach Induzierung der Keimschläuche reprimiert Efg1p seinen eigenen Promotor, wahrscheinlich mit Hilfe des Sin3p-Histondeacetylase-Komplexes, um das filamentöse Wachstum nicht negativ zu beeinflussen. Durch hypoxische Bedingungen wird die *EFG1*-Expression wie bereits erwähnt aktiviert (3.2.2; Abb. 11). Die erhöhte Efg1p-Menge könnte die Repression des eigenen Promotors auslösen und nach einer gewissen Zeit wieder zu einer verringerten Produktion an Efg1p führen (Abb. 36). Doedt (2004) konnte zeigen, dass der *EFH1*-Promotor ebenfalls durch Efg1p reprimiert werden kann. Die Daten der Real-time RT-PCR (3.2.2, Abb. 11) korrelieren mit der Beobachtung der Promotoraktivitäten, da der *EFH1*-Transkriptlevel in einer *efg1*-Mutante zunimmt. Möglicherweise kann Efg1p den alternativen Signalweg ohne die unterstützende Funktion von Efh1p nicht mehr vollständig reprimieren. Der alternative Signalweg würde schließlich dereprimiert werden, und die Hyphenbildung beim Wildtyp könnte so verzögert induziert

werden. Ein Beleg, z.B. mittels Immunoblot-Analyse, für die Abnahme der Menge an Efg1-Proteinen wurde in dieser Arbeit nicht gezeigt. Allerdings wurde die Menge des *EFG1*-Transkripts nach längerer Inkubationszeit untersucht, welche ebenfalls den Real-time-Daten entnommen werden kann (3.2.2, Abb. 11). Hier wurde unter hypoxischen Bedingungen (HP) tatsächlich weniger *EFG1*-Transkript detektiert als unter Normoxie (NP). Da Transkriptlevel und Proteinmenge bei flüssig angezogenen Zellen in etwa übereinstimmen, kann auch hier davon ausgegangen werden, dass die relativen Transkriptmengen mit den Proteinmengen korrelieren.



**Abb. 36: Modell der Regulation des filamentösen Wachstums unter hypoxischen Bedingungen durch *EFG1p*-Autoregulation.** Hypoxische Bedingungen bewirken, dass mehr Efg1-Protein produziert wird (Abb. 14), welches die Hyphenbildung mittels Unterstützung durch Efh1p reprimiert. Die Autoregulation des eigenen Promotors führt zu einer Abnahme der Expression des Repressors, wodurch die Hyphenbildung durch einen alternativen Signalweg ausgelöst werden kann (Abb. 35).

Bis hierhin wurde die Repression eines alternativen Signalwegs durch Efg1p bei Temperaturen unter 37 °C diskutiert. Wie die Ergebnisse im Abschnitt 3.1.1 (Abb. 7) zeigen wird die Funktion des Transkriptionsfaktors nicht nur durch den Sauerstoff in der Umgebung bestimmt, sondern auch durch die Temperatur. Bisher besagt die Theorie, dass Efg1p unter hypoxischen Bedingungen als Repressor der Hyphenbildung agiert. Bei Temperaturen ab 37 °C jedoch scheint das APSES-Protein wieder eine aktivierende Funktion, ähnlich wie unter normoxischen Bedingungen, zu besitzen. Der einzige Unterschied besteht darin, dass *efg1*-Mutanten bei einem Sauerstoffmangel nicht vollkommen afilamentös sind. Die Hyphenbildung ist aber gegenüber dem Wildtyp deutlich reduziert (Abb. 7). Anders als bei niedrigeren Temperaturen verläuft die Regulation der Morphogenese hier vermutlich wieder über den Proteinkinase A (PKA)-Signaltransduktionsweg; *tpk2*-Mutanten sind vollkommen defekt in der Hyphenbildung, *tpk1*-Mutanten nur geringfügig. Dem Modell (Abb. 35) kann entnommen werden, dass durch hypoxische Bedingungen und einer Temperatur von 37 °C beide Signalwege aktiviert werden (PKA- und alternativer Weg), Efg1p aber den alternativen Signalweg konstitutiv reprimiert. So kommt es zu einer PKA-induzierten Hyphenbildung des Wildtyps. Fehlt Efg1p so kann dieser das filamentöse Wachstum nicht induzieren, aber den alternativen Signalweg auch nicht mehr reprimieren. Dadurch sind *efg1*-Mutanten unter hypoxischen Bedingungen bei 37 °C immer noch in der Lage Hyphen zu bilden. Obwohl der alternative Signalweg in der Mutante dereprimiert vorliegt, fällt das filamentöse Wachstum nicht sehr stark aus. Nur etwa 10 % der Kolonien zeigen Hyphenbildung (3.1.1). Erklärbar wäre dies dadurch, dass im alternativen Weg ein Transkriptionsfaktor aktiv ist (Abb. 35: Protein X<sub>2</sub>), der weniger stark induzierend wirkt als Efg1p. Andererseits könnte neben dem starken Repressor Efg1p ein weiteres Protein an der Repression des alternativen Wegs bei hohen Temperaturen beteiligt sein.

*CaRIM15* wurde bereits durch Setiadi (2002) charakterisiert. Es stellte sich heraus, dass Rim15p unter normoxischen Bedingungen keinen regulatorischen Einfluss auf die Morphogenese von *C. albicans* besitzt. Untersuchungen bezüglich der Mutante und des Proteins gaben keine Hinweise darauf, dass Rim15p, wie sein Homologes in *S. cerevisiae*, im PKA-Weg involviert sein könnte. Lediglich unter eingebetteten Bedingungen konnte *CaRim15p* als ein schwacher

Repressor der Hyphenbildung identifiziert werden (Setiadi, 2002). In dieser Arbeit wurde gezeigt, dass die Abwesenheit von Sauerstoff der Auslöser für den schwach hyperfilamentösen Phänotyp der *rim15*-Mutante ist (3.6.3.1; Abb. 31). Rim15p könnte die Komponente sein, die den alternativen Signalweg zusätzlich zu Efg1p reprimiert (Abb. 35). Eine *RIM15*-Disruption führt unter hypoxischen Bedingungen dazu, dass die schwache Repression des hypheninduzierenden Wegs dereprimiert wird, die starke Repression durch Efg1p aber bestehen bleibt. Dadurch wird kein stark hyperfilamentöses Wachstum ausgelöst. Die unter hypoxischen Bedingungen durchgeführten Microarray-Experimente und die darauf folgend erstellten Venn-Diagramme der Transkriptome von *efg1*- und *rim15*-Mutanten bestätigen die Theorie, dass Rim15p und Efg1p denselben Signalweg beeinflussen (3.3.1; Abb. 17). Etwa 80 % der 26 von Rim15p hypoxisch regulierten Gene unterliegen auch der Kontrolle des Transkriptionsfaktors. Darunter fällt beispielsweise die Aktivierung des hyphenspezifischen Gens *ALS4*.

Dem Modell in Abb. 35 ist weiterhin zu entnehmen, dass das zu Efg1p homologe APSES-Protein Efh1p die reprimierende Eigenschaft von Efg1p unter hypoxischen Bedingungen unterstützt. Bereits Doedt *et al.* (2004) konnten diese Funktion von Efh1p unter den eingebetteten Bedingungen beobachten. In dieser Arbeit konnte dies noch mal auf SS-Medium bei Begasung mit 99,9 % N<sub>2</sub> bestätigt werden: *efg1/efh1*-Doppelmutanten filamentieren stärker als *efg1*-Einfachmutanten (3.3.1; Abb. 6). Dieser synthetische Phänotyp der Doppelmutante konnte allerdings nur auf Minimalmedium (SS) und nicht auf Vollmedium (YPS) beobachtet werden. Eine *efh1*-Mutante zeigt jedoch kein hyperfilamentöses Verhalten gegenüber dem Wildtyp. Entweder wird Efh1p nur unter bestimmten Bedingungen als zusätzlicher Aktivator von Efg1p benötigt, weil die Repression des alternativen Signalwegs durch Efg1p allein ansonsten ausreichend ist, oder aber der Effekt fällt auf Vollmedium weniger stark aus, so dass er nicht entscheidend wahrgenommen wurde. Der Einfluss von Efh1p in einer *efg1*-Mutante kann auch in den durchgeführten Sensitivitätstests (3.7.1) gezeigt werden. Auf Fluconazol-, Hygromycin B- und vor allem SDS-haltigen Medien kann eine *EFH1*-Disruption in der Mutante zu einer Supprimierung seiner Sensitivität gegenüber genannten Substanzen führen (Abb. 33, Abb. 34). Da in einer Real-time RT-PCR eine Erhöhung des *EFH1*-Transkriptspiegels in *efg1*-Mutanten aufgezeigt wurde (3.2.2, Abb. 11), besteht die Möglichkeit, dass eine vermehrte Efh1p-Aktivität der Grund der stärkeren Sensitivität von *efg1*-Mutanten ist. Es wäre denkbar, dass der Repressor Efg1p die Genexpression von *EFH1* reprimiert, um die Expression bestimmter Gene niedrig zu halten.

#### 4.1.2 Sch9p – ein Repressor des alternativen Signalwegs bei hohen CO<sub>2</sub>-Konzentrationen

In Abschnitt 4.1.1 wurde bereits ein alternativer Signalweg vorgestellt, der unter hypoxischen Bedingungen von Efg1p und Rim15p reprimiert wird. In diesem Teil der Arbeit soll nun die Rolle von Sch9p während der hypoxischen Antwort von *C. albicans* diskutiert werden. Wie das Ergebnis einer Wachstumskurve zwischen Wildtyp und *sch9*-Mutante zeigt, ist das Protein für die Regulation des Wachstums der Zelle verantwortlich (3.6.1, Abb. 29). *SCH9*-disruptierte Zellen wachsen während der exponentiellen Phase etwas langsamer als der Wildtyp, treten aber erst später in den G<sub>0</sub>-Arrest und leben somit länger. Des Weiteren sind *sch9*-Mutanten sehr empfindlich gegenüber Hygromycin B, das Fehllösungen an Ribosomen induziert (3.7.1; Abb. 33, Abb. 34). Die hohe Sensitivität könnte damit begründet sein, dass Sch9p in *C. albicans* ebenfalls wie in *S. cerevisiae* für die Ribosomenbiogenese wichtig ist (Jorgensen *et al.*, 2002). Ein Fehlen des Proteins würde somit eine zusätzlich negative Beeinflussung der Translation

bedeuten und damit auch des Wachstums der Hefe. Die beschriebene Charakterisierung von *SCH9* entspricht auch den Untersuchungen in *S. cerevisiae* zum homologen Gen (*ScSCH9*) (Fabrizio *et al.*, 2001; Jorgensen *et al.*, 2002). Ein Unterschied besteht darin, dass *ScSch9p* die Stressantwort reguliert, während *CaSch9p* nicht daran beteiligt zu sein scheint (Abb. 30). Da in *C. albicans* jedoch keine generelle Stressantwort vorhanden ist (Enjalbert *et al.*, 2003), wäre denkbar, dass das Protein unter anderen sehr speziellen Stress-induzierenden Bedingungen Gene der Stressantwort reguliert. Eine Stressbedingung könnte auch das Wachstum bei einer Hypoxie darstellen. Hier zeigten Beobachtungen der Morphogenese von *sch9*-Mutanten, dass diese unter hypoxischen Bedingungen mit zusätzlicher CO<sub>2</sub>-Begasung (6 %) stark hyperfilamentös sind (3.6.3.1; Abb. 31). Ohne CO<sub>2</sub> (hypoxisch) oder normoxisch (auch mit 6 % CO<sub>2</sub>, Daten nicht gezeigt) verhält sich die Mutante wie der Wildtyp. *Sch9p* ist somit wie *Efg1p* ebenfalls ein starker Repressor der Hyphenbildung, der allerdings nur bei hohen CO<sub>2</sub>-Konzentrationen und unter hypoxischen Bedingungen aktiviert wird. Da *sch9*-Mutanten eine noch stärkere Hyphenbildung zeigen als *efg1*-Mutanten, bei 99,9 % N<sub>2</sub>-Begasung ohne CO<sub>2</sub> jedoch afilamentös sind, besteht die Möglichkeit, dass *Sch9p* einen weiteren alternativen Signalweg reguliert (Abb. 35).

Der Einfluss von Kohlendioxid auf *Sch9p* wird auch durch Sensitivitätstests auf Congo red- und SDS-haltigen Medien deutlich (3.7.1; Abb. 33). Unter hypoxischen Bedingungen ohne CO<sub>2</sub> (99,9 % N<sub>2</sub>) sind *sch9*-Mutanten leicht resistent gegenüber den eingesetzten Substanzen. Bei Begasung mit 99,9 % N<sub>2</sub> und 6 % CO<sub>2</sub> hingegen, bei der sich das hyperfilamentöse Wachstum erst bemerkbar machte, zeigte sich die Mutante sensitiv im Vergleich zum Wildtyp. Da *Sch9p* in *S. cerevisiae* unter hypoxischen Bedingungen für die Aktivierung der Alkoholacetyl-Transferase (*Atf1p*) verantwortlich ist (Fujiwara *et al.*, 1999), die mutmaßlich an der Fettsäurebiosynthese beteiligt ist (Mason und Dufour, 2000) und somit vermutlich den Aufbau der Zellmembran beeinflusst, könnte so der Einfluss der Membran angreifenden Substanz SDS auf *sch9*-Mutanten erklärt werden.

Unter hypoxischen Bedingungen scheinen mehrere Signaltransduktionswege die Hyphenbildung des humanpathogenen Pilz *C. albicans* zu kontrollieren. Bei Temperaturen unterhalb von 37 °C wird ein zum PKA-Weg paralleler Signaltransduktionsweg von *Efg1p* (möglicherweise durch Interaktion mit *Flo8p*) und *Rim15p* gehemmt. Steigt zusätzlich zum niedrigen Sauerstoffgehalt die Kohlendioxidkonzentration wird das filamentöse Wachstum zusätzlich durch *Sch9p* reprimiert. Wie die Signalwege dereprimiert werden ist unklar. Möglicherweise wird das filamentöse Wachstum bei niedrigem Sauerstoffgehalt zunächst reprimiert, weil es von Vorteil sein könnte, wenn sich die Hefen im menschlichen Organismus rasch vermehren, bevor sie das Gewebe durch die Hyphenbildung schädigen. Da es im Körper des Menschen viele unterschiedliche Nischen gibt, die *C. albicans* in der Lage ist zu besiedeln, muss der Pilz sich auch auf unterschiedliche Gaszusammensetzungen einstellen können. Es wäre also günstig mehrere Sensoren für Signale (z.B. O<sub>2</sub>- und CO<sub>2</sub>-Sensoren) zu besitzen, um zwischen den unterschiedlichen Wachstumsbedingungen differenzieren zu können. Es lässt sich nur darüber spekulieren wie viele Signalwege tatsächlich für die Regulation der Morphogenese verantwortlich sind und ob beispielsweise *Sch9p* doch denselben Signalweg reguliert wie *Efg1p* (Abb. 35). Hierzu müssten Epistaseexperimente durchgeführt, Doppelmutanten wie *efg1/sch9* hergestellt und deren Morphologie analysiert werden. Des Weiteren konnte beobachtet werden, dass Temperaturen oberhalb von 37 °C den PKA-Signalweg induzieren und dass *Efg1p* hier wie unter normoxischen Bedingungen als Aktivator der Hyphenbildung fungiert. *efg1*-Mutanten

verhalten sich unter hypoxischen Bedingungen wie andere dimorphe Pilze (z.B. *Histoplasma capsulatum*). Bei niedrigen Temperaturen bilden sie Hyphen aus, bei erhöhten Temperaturen wechseln die Pilze in die Hefeform. Vielleicht wurde Efg1p im Laufe der Evolution von *C. albicans* hinzugezogen, um den alternativen Signalweg der Hyphenbildung zu hemmen und so sein dimorphes Verhalten besser an die Wirtsbedingungen anpassen zu können.

## 4.2 Hypoxische Genregulation in *C. albicans*

### 4.2.1 Genregulation in *C. albicans* weicht der von *S. cerevisiae* ab

Nachdem deutlich wurde, dass Sauerstoffmangel eine komplexe Regulation morphogenetischer Prozesse auslöst (4.1), wurde mittels Microarray-Analyse das gesamte Transkriptom von *C. albicans* unter hypoxischen Bedingungen untersucht. Es wurden einzelne Gene und auch ganze Gengruppen identifiziert, die aufgrund des Sauerstoffmangels reguliert werden (3.3.1.1; Tab. 12). Ähnlich wie in *S. cerevisiae* (ter Linde *et al.*, 1999; Becerra *et al.*, 2002; Kwast *et al.*, 2002) fallen darunter Gene der Fettsäure- (u.a. *OLE1*, *FAS2*) und Ergosterolbiosynthese (z.B. *ERG11*) sowie Gene der Stressantwort (z.B. *HSP12*, *SSA4*) und der Zellwandbiosynthese (z.B. *ECM33*), welche durch einen Sauerstoffmangel aktiviert werden. Wachstumsprozesse verlaufen bei einer Hypoxie anders als normoxisch; Zellwand und die Lipide in der Membran werden umgebaut (Abramova *et al.*, 2001), weshalb Gene der Fettsäure- und Zellwandbiosynthese reguliert werden. Auch bedeutet der Mangel an Sauerstoff eine Stress-Situation sowohl für *C. albicans* als auch für *S. cerevisiae*, so dass bei beiden Organismen eine Stressantwort aktiviert werden muss.

Neben diesen Parallelen wurden auch Unterschiede in der hypoxischen Genexpression ersichtlich. Glykolyse und Fermentation werden in *C. albicans* aktiviert, während Gene des oxidativen Metabolismus (Atmungskette, ATP-Synthese, Tri-Carbonsäure-Zyklus) reprimiert werden (3.3.1.1; Tab. 12). Dieses Muster entspricht der Genexpression von Säugerzellen (Hochachka *et al.*, 1996), aber nicht dem von *S. cerevisiae*. In der Bäckerhefe werden unter hypoxischen Bedingungen weder Glykolyse noch Gene der Atmungskette anders reguliert als unter Normoxie (ter Linde *et al.*, 1999; Becerra *et al.*, 2002), weil der so genannte Pasteur-Effekt, anders als bei Säuger- und *C. albicans*-Zellen, hier nicht statt findet (Gancedo, 1992). Die Glykolyse wird unabhängig vom Sauerstoffgehalt erhöht gehalten so lange genügend Glukose im Medium vorhanden ist. Des Weiteren werden auch Translationsvorgänge unterschiedlich reguliert. In *C. albicans* werden unter hypoxischen Bedingungen mehrere Gene für ribosomale Proteine aktiviert (Anhang: Tab. 19) sowie *PTR1*, ein Gen kodierend für den Translations-Initiationsfaktor eIF-3. Dieser wird in *S. cerevisiae* nicht reguliert, dafür wird hier ein anderer Initiationsfaktor eIF-5A (*ANB1*) speziell durch die Hypoxie induziert. Das homologe Protein in *C. albicans* (*orf19.3426*) wurde in der Transkriptomanalyse zumindest nicht als signifikant reguliert identifiziert. Dasselbe gilt für Gene von Zellwand-Mannoproteinen der *DAN/TIR*-Gruppe, die für das anaerobe Wachstum von *S. cerevisiae* essentiell sind (Cohen *et al.*, 2001), sowie für Gene der Hämbiosynthese (z.B. *HEM13*). Da seine Biosynthese sauerstoffabhängig ist, ist Häm ein Sauerstoffsensoren und Regulator der hypoxischen Genexpression. In *C. albicans* scheint die Sauerstoffsensoren über ein anderes Protein zu verlaufen, welches den in 4.1.1 beschriebenen alternativen Signalweg aktivieren könnte.

Eine weitere Gengruppe, nämlich die der hyphenspezifischen Gene, wird nur in *C. albicans* hypoxisch aktiviert. Da *S. cerevisiae* weder humanpathogen ist, noch in der Lage ist echte

Hyphen zu bilden, war auch nicht zu erwarten, dass homologe Gene existieren bzw. reguliert werden. Zu den in *C. albicans* identifizierten Genen gehören *ALS12* (Agglutinin ähnliches Protein), *RBT5* oder *HWPI* (hyphal wall protein). Trotz der Erhöhung des Transkriptspiegels dieser Gene bei Sauerstoffarmut konnte kein filamentöses Wachstum der Zellen beobachtet werden. Die Expression hyphenspezifischer Gene muss nicht gleichbedeutend mit einer Hyphenbildung sein, wie anhand von *hgc1*-Mutanten gezeigt werden konnte. Diese sind nicht in der Lage Hyphen zu bilden, exprimieren aber hyphenspezifische Gene wie *HWPI* und *ECE1* (Zheng und Wang, 2004). Es wäre also denkbar, dass ein wichtiger Aktivator für die Morphogenese von Hyphen im Flüssigmedium unter hypoxischen Bedingungen nicht induziert wurde. Eventuell fehlt der Kontakt zu einer Matrix, so dass ein Sensor über einen Signaltransduktionsweg z.B. Hgc1p aktivieren könnte. Eine andere Erklärung wäre, dass die Expression durch die Hypoxie lediglich einen Level beispielsweise an Hwp1-Protein erreicht, der für die Hyphenbildung nicht entscheidend ist.

Neben Gengruppen, die hypoxisch unterschiedlich reguliert werden, konnten in *C. albicans* auch keine homologen Proteine identifiziert werden, die in *S. cerevisiae* die hypoxische Antwort regulieren. *CaRfg1p* ist das Homologe zu *ScRox1p*, welches jedoch nicht für die Regulation hypoxischer Gene verantwortlich ist sondern das filamentöse Wachstum kontrolliert (Kadosh und Johnson, 2001). Auch das zu *ScHap1p* homologe Protein, welches unter normoxischen Bedingungen die Expression von *ROX1* aktiviert (Zitomer *et al.*, 1997), wurde in der Transkriptomanalyse nicht als hypoxisch reguliertes Gen identifiziert. Genomweite Transkriptomanalysen von Mutanten des generellen Repressorkomplexes Tup1p/Ssn6p zeigten, dass in *S. cerevisiae* hypoxische Gene bei Sauerstoffanwesenheit durch diesen Komplex reprimiert und bei Hypoxie dereprimiert werden (Mennella *et al.*, 2003). Transkriptomanalysen von *C. albicans* konnten hingegen keine Repression hypoxischer Gene durch Tup1p/Ssn6p zeigen (Garcia-Sanchez *et al.*, 2005; Kadosh und Johnson, 2005).

Die hypoxische Genregulation von *C. albicans* ist der von Säugerzellen ähnlicher als der von *S. cerevisiae*, vor allem Gene des allgemeinen Stoffwechsels betreffend. Wahrscheinlich ein Grund dafür ist, dass es sich bei *C. albicans* um eine humanpathogene Hefe handelt, die ihren Stoffwechsel dem schwankenden Sauerstoff- und Nährstoffangebot im Menschen anpassen muss. Die Bäckerhefe hingegen besiedelt ökologische Nischen, die sowohl hypoxische als auch normoxische Bedingungen mit einem reichlichen Angebot an Zucker einschließen. Diese Unterschiede zu *S. cerevisiae* unterstützen die Theorie von Lott *et al.* (2005), die besagt, dass *C. albicans* einen alte Entstehungsgeschichte besitzt, und sich seine Evolution schon früh mit dem des Menschen entwickelt hat.

#### 4.2.2 Efg1p-abhängige Genregulation der hypoxischen Antwort in *C. albicans*

Unter normoxischen Bedingungen ist bereits bekannt, welche Gene abhängig vom Transkriptionsfaktor Efg1p exprimiert werden. Doedt *et al.* (2004) fanden heraus, dass Efg1p nicht nur morphologisch wichtige Gene reguliert (z.B. *ALS*-Gene) sondern überraschenderweise auch Gene des Metabolismus. In einer genomweiten Transkriptomanalyse konnten beinahe alle Gene der Glykolyse als von Efg1p aktiviert identifiziert werden, während Gene des Tri-Carbonsäure-Zyklus reprimiert werden. Somit ist nicht verwunderlich, dass Efg1p unter hypoxischen Bedingungen neben Genen für Zellwandproteine und hyphenspezifische Genen, ebenfalls einige Gene der **Glykolyse** aktiviert und einige des **oxidativen Metabolismus**, wenn auch wenige, reprimiert (3.3.1.2 und 3.3.2; Tab. 13-Tab. 15). Die Cluster-Analyse der Abb. 19

zeigt ebenfalls, dass beinahe alle Gene der Glykolyse durch den Transkriptionsfaktor aktiviert werden. Allerdings ist eine höhere Expression im Wildtyp im Vergleich zur *efg1*-Mutante unabhängig vom Sauerstoffgehalt zu beobachten. Darüber hinaus wurden im Microarray-Experiment „*efg1* HF/NF“ (Tab. 20) gezeigt, dass die Glykolyse in der *efg1*-Mutante ebenfalls durch eine Hypoxie aktiviert wird. Die stark erhöhte Expression im Wildtyp unter hypoxischen im Vergleich zu normoxischen Bedingungen ist somit auf andere regulatorische Proteine zurückzuführen. Dieses wird nochmals dadurch bestätigt, dass keine Gene der Glykolyse im Venn-Diagramm (s. Abb. 16) den Kategorien E und G zugeordnet werden konnten. In diesen Kategorien ist Efg1p der entscheidende Regulator der hypoxischen Antwort von *C. albicans*. Auch Gene der Kategorie B und C werden hypoxisch unabhängig von Efg1p reguliert und repräsentieren eine sehr große Anzahl an Genen. Jedoch muss die Zahl etwas relativiert werden, da für die Entwicklung der Schemata vier Microarray-Experimente überprüft wurden, deren nicht-regulierte Gene mitberücksichtigt wurden. Eine Nicht-Regulation ist allerdings nicht statistisch signifikant, so dass sicherlich einige Gene anderen Kategorien angehören. Sehr viele Gene sind auch in der Kategorie D zu finden. Diese werden unabhängig vom Sauerstoffgehalt immer gleich durch den Transkriptionsfaktor reguliert.

Wie bereits erwähnt werden Gene der Kategorien E-G in Abhängigkeit von Efg1p hypoxisch reguliert. Die Kategorie E enthält beispielsweise Gene der **Stressantwort** wie *HSP12*, *CTA1* und *DDR48*, die von dem APSES-Protein aktiviert werden, welches zu einem erhöhten Transkriptspiegel im Wildtyp führt (Abb. 16). Wachstum unter sauerstoffarmen Bedingungen stellt einen Stressfaktor dar, weshalb die Efg1p-abhängige Regulation unter diesen Bedingungen besonders wichtig für die Zelle ist. Möglicherweise wachsen *efg1*-Mutanten hypoxisch noch langsamer als unter normoxischen Bedingungen (3.2.1, Abb. 10), weil sie schlechter mit dieser Stress-Situation zurechtkommen als Wildtypzellen mit einer funktionierenden Stressantwort. In einer Cluster-Analyse konnte gezeigt werden, dass nicht alle Gene der Stressantwort von Efg1p aktiviert werden (3.3.3, Abb. 19). Viele werden nicht reguliert, einige sogar reprimiert. Da Enjalbert *et al.* (2003) aufklären konnten, dass eine generelle Stressantwort in *C. albicans* nicht vorhanden ist, wäre denkbar, dass die hier aktivierten Gene speziell unter hypoxischen Bedingungen benötigt werden. Andere Stressbedingungen hingegen würden die Expression anderer Gene, möglicherweise durch weitere Transkriptionsfaktoren, induzieren. Weiterhin scheint Efg1p genauso wichtig zu sein, um Gene zu reprimieren oder aktivieren, wenn diese unter hypoxischen Bedingungen nicht reguliert werden dürfen (Abb. 16, Kategorie F). Darunter fällt beispielsweise auch *NRG1*, kodierend für einen **Repressor der Hyphenbildung** (Braun *et al.*, 2001; Murad *et al.*, 2001). In 4.1 wurde bereits diskutiert, dass die Hyphenbildung unter hypoxischen Bedingungen zunächst reprimiert wird. Damit es im Wildtyp nicht zu einer DeRepression kommt, wird der *NRG1*-Level eventuell durch Efg1p erhöht gehalten und somit möglicherweise der alternative Signaltransduktionsweg der Hyphenbildung inaktiviert. Entsprechend dazu könnte der niedrige Level von *NRG1* mit ein Grund sein, weshalb sich die *efg1*-Mutante unter hypoxischen Bedingungen hyperfilamentös gegenüber dem Wildtyp zeigt (3.1.1).

Eine weitere, unerwartete Klasse Efg1p-regulierter Gene wurde in den Microarray-Analysen identifiziert und der Kategorie G des Venn-Diagramms (Abb. 16) zugeordnet. Dabei handelt es sich um einige Gene der **Fettsäurebiosynthese** wie *OLE1* und *FAS2*, die den Transkriptionsfaktor benötigen, um das erforderliche Transkriptniveau unter hypoxischen Bedingungen erreichen zu können. Bislang wurden noch keine APSES-Proteine identifiziert (z.B. Phd1p, Sok2p in *S. cerevisiae*), die an der Regulation von Fettsäurebiosynthesegenen

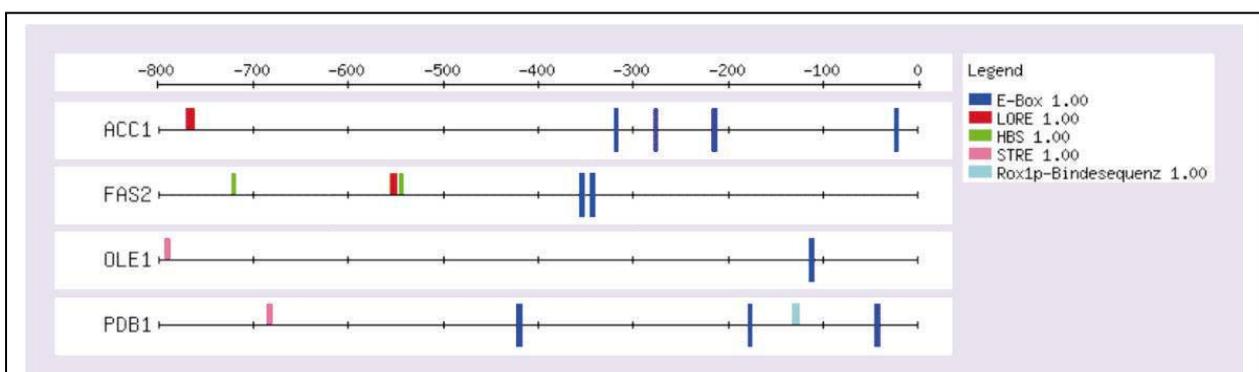
beteiligt sind. Die Aktivierung durch Efg1p scheint sich jedoch auf die exponentielle Wachstumsphase unter hypoxischen Bedingungen („HF“, s. Tab. 10) zu beschränken, wie Real-time-Experimente (3.4.1, Abb. 22) und Cluster-Analysen (3.3.3, Abb. 19) zeigen. Hier liegen die Transkriptspiegel der Fettsäuregene in der *efg1*-Mutante niedriger als im Wildtyp. Die Transkriptlevel von normoxisch oder auf festem Medium (Zellen der stationären Phase) angezogenen *efg1*-Mutanten hingegen zeigen keinen Unterschied zum Wildtyp oder sind sogar erhöht (Abb. 19, Abb. 22). Denkbar wäre, dass Efg1p die Fettsäurebiosynthese zu Beginn des Wachstums unter hypoxischen Bedingungen aktiviert, weil möglicherweise eine Umstrukturierung der Zellmembran erforderlich ist. Die Fettsäuredesaturase Ole1p wird ebenfalls verstärkt synthetisiert, vielleicht um die geringen Mengen an Sauerstoffmolekülen so effizient wie möglich verwenden zu können, um die Synthese von ungesättigten Fettsäuren aufrecht zu erhalten. Zu einem späteren Zeitpunkt des Wachstums könnte der Umbau der Membran abgeschlossen sein, die Zellen befinden sich im G<sub>0</sub>-Arrest und die Fettsäuresynthese muss nicht weiter von Efg1p aktiviert werden.

Anhand von Promotorstudien konnte geklärt werden, dass der Transkriptionsfaktor Efg1p den Transkriptlevel von Genen der Fettsäurebiosynthese (*OLE1*, *PDB1*) unter hypoxischen Bedingungen erhöht, indem die Promotoraktivität induziert wird (3.4.1, Abb. 23). Dabei stellte sich jedoch heraus, dass die Änderung des Transkriptlevels zwischen Wildtyp und *efg1*-Mutante größer ist als die der Promotoraktivität. Messungen der mRNA-Degradation in beiden *C. albicans*-Stämmen schlossen aus, dass mRNA-Stabilisierung ebenfalls einen Einfluss auf den Transkriptspiegel im Wildtyp besitzt. Statt dessen könnte es sein, dass regulierende Sequenzen des offenen Leserasters oder des 3'-untranslatierten Bereichs (Fantino *et al.*, 1992; Greger und Proudfoot, 1998) in der Promotor-Reportergen-Fusion (2.7, Abb. 3) für eine vollständige Aktivierung fehlten. Die Auswertung der Transkriptstabilitätsmessungen ergaben genau genommen sogar eine leichte Stabilisierung von *OLE1* und *PDB1* in der *efg1*-Mutante unter hypoxischen Bedingungen (3.4.2; Abb. 25). Möglicherweise fallen die Transkriptlevel in *efg1*-Mutanten, welche auf festem Medium angezogen wurden und sich in der stationären Phase befinden, auch deshalb höher aus als im Wildtyp (3.4.1, Abb. 22). Aus *S. cerevisiae* ist bekannt, dass Cth2p im 3'-untranslatierten Bereich der mRNA bindet, wodurch diese anschließend abgebaut wird (Puig *et al.*, 2005). Da der Transkriptspiegel des zu *ScCTH2* homologen Gens (*orf19.5334*) in *efg1*-Mutanten leicht erniedrigt vorliegt (Daten nicht gezeigt), könnte dies mit ein Grund für die leichte Transkriptstabilisierung sein.

Ob nun Efg1p die Promotoraktivität und damit den Transkriptspiegel von Fettsäuregenen direkt oder indirekt reguliert, darüber kann nur spekuliert werden. In der Tab. 18 werden Sequenzen in der Promotorregion einiger Efg1p-regulierter Gene der Fettsäurebiosynthese angegeben, die für die regulatorische Bindung von Proteinen bei einer Hypoxie von Bedeutung sein könnten. **LORE** (low oxygen response element)-Sequenzen werden beispielsweise von dem hypoxischen Regulator *ScMga2p* erkannt, so dass das ER-Membranprotein die Expression von *OLE1* in *S. cerevisiae* aktivieren kann (Martin *et al.*, 2002). Efg1p könnte das homologe Gen *CaMGA2* (*orf19.1751*) regulieren, um so indirekt die Expression von *CaOLE1* unter hypoxischen Bedingungen zu induzieren. *CaMGA2* konnte in den Transkriptomanalysen nicht als Efg1p-reguliertes Gen identifiziert werden, da dieses Gen nicht auf den Microarrays vorhanden war. **HBS** (HIF-1 binding site)-Sequenzen, die in HRE's (hypoxia recognition element) gefunden werden, können mit 100 %iger Homologie im Promotorbereich von *FAS2* und *PDA1* identifiziert

werden. Der wichtige Regulator hypoxischer Gene HIF-1 von Säugerzellen bindet beispielsweise an diese Sequenz (Semenza und Wang, 1992; Semenza *et al.*, 1996). **STRE** (general stress responsive element)-Sequenzen könnten mitunter von Bedeutung sein, da ein Sauerstoffmangel gleichzeitig Stress in der Zelle auslöst. Die letzte aufgeführte Sequenz ist in *S. cerevisiae* für die Bindung von HMG-Domäne-Proteinen wie Rox1p wichtig. Deckert *et al.* (1999) fanden heraus, dass der *ROX1*-Promotor selber diese **Rox1p-Bindesequenz** enthält und *ScRox1p* wie *CaEfg1p* somit in der Lage ist, sich selbst zu autoregulieren (Deckert *et al.*, 1995; Tebarth *et al.*, 2003). Parallelen von *CaEfg1p* zu *ScRox1p* lassen sich zudem in der Regulation des Lipidmetabolismus (Rox1p allerdings auch Sterolbiosynthese) ziehen (3.3.1.2, Tab. 13) (Kwast *et al.*, 2002; Sertil *et al.*, 2003). Ob *Efg1p* selber in der Lage ist, an eine dieser Sequenzen zu binden, wurde in dieser Arbeit nicht untersucht.

Neben regulatorischen Sequenzen, die in *S. cerevisiae* bereits bei hypoxisch regulierten Genen identifiziert wurden, wurden auch einige E-Boxen im Promotorbereich von Genen der Fettsäurebiosynthese identifiziert (Abb. 37, Tab. 18). Viele Proteine mit bHLH-Domäne wie beispielsweise *c-myc* (humanes Onkogen) binden über ihre basische Region an die palindromische Sequenz der E-Box (5'-CANNTG-3') (Murre *et al.*, 1989; Ellenberger *et al.*, 1994). Die DNA-Bindung des bHLH-Proteins *Efg1p* an diese Sequenz konnte *in vitro* nachgewiesen werden (Leng *et al.*, 2001). Somit besteht die Möglichkeit einer direkten Regulation der Transkription angegebener Fettsäuregene durch *Efg1p*. So ist es denkbar, dass *Efg1p* die Expression dieser Gene über eine E-Box steuert, während andere Transkriptionsfaktoren möglicherweise zusätzlich stromaufwärts an die LORE-, HBS- oder STRE-Sequenzen binden. Eine DNA-Bindung von *Efg1p* z.B. an *OLE1p* konnte mittels einer Chromatin-Immuno-Präzipitation (ChIP) in dieser Arbeit nicht nachgewiesen werden (Daten nicht gezeigt). Allerdings wurden die Analysen mit Präzpitaten durchgeführt, die von Doedt (2004) unter aeroben Bedingungen gewonnen wurden. Wahrscheinlich ist aber, dass *Efg1p* nur unter Sauerstoff-limitierenden Bedingungen diese Promotoren bindet, wodurch eine Bindung mit diesen Präzpitaten nicht gezeigt werden kann.



**Abb. 37: Bindesequenzen im Promotorbereich von Genen der Fettsäurebiosynthese.** Dargestellt ist der Promotorbereich der jeweiligen Gene 800 Basenpaare stromaufwärts vom ATG. Der Wert 1.00 entspricht einer Homologie der Sequenz von 100 %. Nach oben weisende Balken deuten auf Sequenzen des kodierenden, nach unten weisende des nicht-kodierenden Strangs. Die Abbildung wurde mit Hilfe des Programms „RSAT“ erstellt (<http://rsat.ulb.ac.be/rsat/>).

**Tab. 18: Bindesequenzen im Promotorbereich von Genen der Fettsäurebiosynthese.** Die Identifizierung und Lokalisierung der Sequenzen wurde mit Hilfe des Programms „RSAT“ (<http://rsat.ulb.ac.be/rsat/>) durchgeführt.

Bezeichnung	Sequenz	Promotor	Position vor ATG	Homologie [%]
<b>LORE</b>	ACTCAACAA	<i>ACC1p</i>	-770	100
		<i>FAS2p</i>	-556	100
		<i>OLE1p</i>	-383	89
		<i>PDB1p</i>	-545	78
<b>HRE mit HBS</b>	GCCC <b>ACGTG</b> CTGTCTCA	<i>FAS2p</i>	-546, -722	100
<b>STRE</b>	AGGGG(A/T)	<i>OLE1p</i>	-793	100
		<i>PDB1p</i>	-685	100
<b>Rox1p-Bindesequenz</b>	YYYATTGTTCT	<i>PDB1p</i>	-132	100
		<i>OLE1p</i>	-516	88
		<i>ACC1p</i>	-745	88
		<i>FAS2p</i>	-467	88
<b>E-Box</b>	CAATTG	<i>ACC1p</i>	-279, -321	100
		<i>OLE1p</i>	-115	100
	CAGCTG	<i>ACC1p</i>	-218	100
		<i>FAS2p</i>	-3, -346	100
	CACTTG	<i>ACC1p</i>	-26	100
		<i>PDB1p</i>	-46	100
	CAAATG	<i>FAS2p</i>	-357	100
	CAGATG	<i>PDB1p</i>	-180	100
CAACTG	<i>PDB1p</i>	-423	100	

### 4.3 Efg1p ist für Membran- und Zellwandaufbau bei Hypoxie von Bedeutung

Im Abschnitt 4.2.2 wurde der Einfluss des Transkriptionsfaktors Efg1p auf die Fettsäurebiosynthese unter hypoxischen Bedingungen diskutiert. Es wurde vermutet, dass der niedrige Transkriptlevel an Fettsäurebiosynthesegenen in einer *efg1*-Mutante schließlich auch Auswirkungen auf die gesamte Fettsäurezusammensetzung in der Zelle hat. Mit einer Analyse der Zusammensetzung von C14:0 bis C18:3 Fettsäuren wurde der Efg1p-abhängige Anstieg des *OLE1*-Transkripts verifiziert (3.4.3; Tab. 16). Es stellte sich heraus, dass eine *EFGI*-Disruption unter hypoxischen Bedingungen zu einer deutlichen Verminderung an ungesättigten Fettsäuren führt, welche sich allerdings erst nach längerem Wachstum unter diesen Bedingungen bemerkbar macht (Tab. 16). Möglicherweise können die Zellen den Verlust von Efg1p durch andere *OLE1* induzierende Faktoren oder aber durch bereits vorhandene Fettsäuren über einen gewissen Zeitraum kompensieren. Letztere Möglichkeit ist auch dadurch gegeben, dass die hypoxisch angezogenen Kulturen von aeroben Vorkulturen angeimpft wurden. Ist genügend Sauerstoff vorhanden, so ist die *OLE1*-Expression nicht von Efg1p abhängig (3.4.1, Abb. 22), so dass zumindest zu Beginn des hypoxischen Wachstums noch genügend Ole1-Protein bzw. Ölsäure in den *efg1*-Mutantenzellen vorhanden gewesen sein könnte.

Hypoxische Bedingungen im Wildtyp bewirken eine Zunahme an Ölsäure (C18:1) und gleichzeitiger Abnahme an C18:2 und C18:3 Fettsäuren (Tab. 16). Bei stationären Kulturen zeigt sich derselbe Effekt, was wahrscheinlich darauf zurückzuführen ist, dass die Zellen bei der hohen Dichte ebenfalls leicht anaerob wachsen. Die normoxisch angezogenen *efg1*-Mutante

(Tab. 16 B) zeigt hier, trotz hoher Zelldichte ( $OD_{600} > 7$ ) und damit Abnahme der Sauerstoffverfügbarkeit, keine Verringerung an C18:2 und C18:3 Fettsäuren. Vermutlich spiegelt sich, wie unter hypoxischen Bedingungen, das Fehlen von Efg1p erst zu einem späteren Zeitpunkt in der Fettsäurezusammensetzung wider. Messungen der Promotoraktivität unter normoxischen und hypoxischen Bedingungen über mehrere Stunden unterstützen diese Hypothese (3.4.3, Abb. 25). Bei Normoxie liegt die *OLE1*-Promotoraktivität der *efg1*-Mutante erst nach 12 Stunden Wachstum unterhalb der des Wildtyps, bei Hypoxie direkt zu Beginn (3 h). Der Theorie zufolge könnte eine Änderung der Fettsäurezusammensetzung bei Sauerstoffanwesenheit somit frühestens 12 Stunden später als bei Sauerstoffabwesenheit beobachtet werden. Die Kulturen für die Analysen wurden jedoch zu denselben Zeitpunkten geerntet.

Die Werte der Tab. 17 (3.4.3) zeigen das Verhältnis der ungesättigten zu den gesättigten Fettsäuren in Wildtyp und *efg1*-Mutanten an. Unter hypoxischen Bedingungen (auch stationäre Wachstumsphase) verschiebt sich das Verhältnis mehr auf die Seite der ungesättigten Fettsäuren, was sich womöglich auch in der Lipidzusammensetzung der Membran auswirkt. Ausschlaggebend ist hauptsächlich der Anstieg der Ölsäure (C18:1), während Zellen der exponentiellen Wachstumsphase unter normoxischen Bedingungen insgesamt einen geringeren Anteil an ungesättigten Fettsäuren besitzen, aber dennoch einen höheren Anteil an mehrfach ungesättigten Fettsäuren (C18:2, C18:3) (Tab. 16). Denkbar wäre, dass die Membran von Hefezellen normoxisch zwar insgesamt aus weniger ungesättigten Fettsäuren aufgebaut ist als hypoxisch, dieses aber durch einen höheren Anteil an mehrfach ungesättigten Fettsäuren ausgeglichen wird. Hypoxisch wachsende Zellen können aufgrund des Sauerstoffmangels weniger Fettsäuren desaturieren und behalten mehr C18:1 Fettsäuren zurück, um die Fluidität der Membran nicht zu stark zu beeinflussen. Vielleicht benötigen die Zellen unter hypoxischen Bedingungen zwar eine fluide, aber trotzdem stabilere Membran als bei Normoxie. Auffällig ist, dass das Verhältnis der Fettsäuren (ungesättigt/gesättigt) von *efg1*-Mutanten, die länger mit 99,9 %  $N_2$  begast wurden, einen niedrigen Wert aufweist, weil etwa 80 % der mehrfach ungesättigten Fettsäuren fehlen (Tab. 16). Da die Ölsäure essentiell für das Wachstum von *C. albicans* ist (Krishnamurthy *et al.*, 2004) und *efg1*-Mutanten weniger Ole1p synthetisieren, werden möglicherweise weitere Desaturierungsschritte reprimiert, um trotz Hypoxie und Abwesenheit von Efg1p ein Wachstum zu erlauben. Die Reduktion an Linol- und Linolensäure scheint sich dennoch in einem langsameren Wachstum bemerkbar zu machen, wie der Wachstumskurve von Wildtyp und Mutante der Abb. 10 (3.2.1) entnommen werden kann. Anscheinend wird Efg1p bei längerem Wachstum unter hypoxischen Bedingungen benötigt, um eine effektive Synthese von ungesättigten Fettsäuren zu gewährleisten, wodurch auch das Wachstum von *C. albicans* unterstützt wird.

Weitere Hinweise darauf, dass das APSES-Protein Efg1p neben dem filamentösen Wachstum auch die Zusammensetzung der Zellwand/-membran reguliert, können den Sensitivitätstests auf SDS- und Congo red-Medium entnommen werden (3.7; Abb. 33, Abb. 34). *efg1*-Mutanten sind stark sensitiv gegenüber der Zellwand angreifenden Substanz Congo red. Entsprechend dazu werden den Transkriptomanalysen zufolge einige Gene für Zellwandproteine (z.B. *ALS4*) und Zellwandbiogenese (z.B. *ECM21*) in *efg1*-Mutanten geringer exprimiert als im Wildtyp (Tab. 21 bis Tab. 25, Anhang). Da Efg1p unter hypoxischen Bedingungen induzierend auf die Biosynthese von ungesättigten Fettsäuren wirkt (3.4.3, Tab. 16) und damit wahrscheinlich auch auf die Lipidzusammensetzung der Membran, ist eine Sensitivität gegenüber der Membran-

Schädigenden Substanz SDS zu erklären (3.7.1). Diese macht sich vor allem bei einem Sauerstoffmangel und niedrigen Temperaturen (24 °C) stark bemerkbar (Abb. 34) und wird nicht etwa durch eine verminderte Expression von Genen der Resistenz ausgelöst (3.3.3, Abb. 19 D). Die *efg1*-Mutante zeigt einen Defekt in der Synthese von mehrfach ungesättigten Fettsäuren, welche um 80 % reduziert werden (3.4.3). Je niedriger die Temperatur, desto mehr ungesättigte Fettsäuren werden allerdings benötigt, um die Membranflexibilität beibehalten zu können. Greift nun SDS zusätzlich in die Membranstrukturen ein, so ist denkbar, dass die Mutante deshalb besonders empfindlich gegenüber SDS reagiert und nicht mehr in der Lage ist zu wachsen (3.7; Abb. 34: 24 °C, 99,9 % N<sub>2</sub>). Wie bei der Regulation des filamentösen Wachstums unter hypoxischen Bedingungen (4.1.1, Abb. 35), scheint Efg1p auch beim Membranaufbau einen Einfluss auf die Funktion von Efg1p zu besitzen. Bei Wachstum auf SDS-haltigem Medium kann eine zusätzliche Disruption von *EFH1* in einer *efg1*-Mutante deren Sensitivität leicht supprimieren.

Der Transkriptionsfaktor Efg1p ist unter hypoxischen Bedingungen sowohl für die Repression der Hyphenbildung, als auch für die Aktivierung der Biosynthese von mehrfach ungesättigten Fettsäuren verantwortlich. Wie und ob das filamentöse Wachstum im Zusammenhang mit einer verringerten Synthese mehrfach ungesättigter Fettsäuren steht ist ungeklärt. Es wäre zumindest denkbar, dass das filamentöse Wachstum, auch in Anbetracht der Funktion einer Hyphe (Invasion, Penetration), eine stabilere Membran benötigt als beim Wachstum in der Hefeform.

## 5 Zusammenfassung

*Candida albicans* ist ein humanpathogener Pilz, der sowohl oberflächliche als auch systemische Mykosen verursachen kann. Während der Infektion stößt der Pathogen somit auf sauerstoffreiche (normoxische), aber vor allem auch auf sauerstoffarme (hypoxische) Bedingungen, wie sie in Organen oder während der Phagozytose durch Wirtszellen vorkommen. Um bei unterschiedlichen Sauerstoff-Konzentrationen die Überlebensfähigkeit und die Virulenz aufrecht zu erhalten, muss der Pilz seinen Metabolismus und seine Morphologie den Bedingungen anpassen. Im Rahmen dieser Arbeit wurde mit Hilfe von genomweiten Transkriptomanalysen sowie Untersuchungen zur Zellmorphologie, die hypoxische Antwort von *C. albicans* untersucht. Hierbei stand die Beteiligung des Transkriptionsfaktors Efg1p im Vordergrund. Efg1p ist ein zentraler Regulator der Morphogenese und des Metabolismus von *C. albicans*. Unter normoxischen Bedingungen vermittelt er über einen Proteinkinase A (PKA)-abhängigen Signalweg die Aktivierung des filamentösen Wachstums und der Glykolyse sowie die Repression des oxidativen Stoffwechsels.

Durch Transkriptomanalysen konnte gezeigt werden, dass *C. albicans* bei Sauerstoffmangel die Expression von Genen des fermentativen Metabolismus, der Stressantwort, der Fettsäurebiosynthese sowie hyphenspezifischer Gene induziert, während Gene des oxidativen Metabolismus reprimiert werden. Eine Induktion glykolytischer Gene wird bei der Modellhefe *Saccharomyces cerevisiae* dagegen nicht beobachtet. Weiterhin wurde durch Transkriptomanalysen einer *efg1*-Mutante deutlich, dass Efg1p eine entscheidende Rolle für die hypoxische Regulation mehrerer Gene besitzt. Unerwarteterweise ist Efg1p aber nicht an der hypoxischen Aktivierung und Repression der Glykolyse bzw. des oxidativen Stoffwechsels beteiligt. Der durch Hypoxie ausgelöste positive Einfluss von Efg1p auf die Fettsäurebiosynthese konnte durch Analysen der Fettsäurezusammensetzung bestätigt werden. Erhöhte Sensitivitäten einer *efg1*-Mutante gegenüber Inhibitoren werden möglicherweise durch eine veränderte Zusammensetzung der Membranlipide verursacht.

Die Bedeutung von Efg1p für das hypoxische Verhalten von *C. albicans* wurde durch Untersuchungen der Zellmorphologie bestätigt. Bei Temperaturen unterhalb von 37 °C und Sauerstoff-Limitierung wuchsen *efg1*-Mutanten im Vergleich zum Wildtyp in hyperfilamentöser Form. Zwei Proteinkinasen (Sch9p, Rim15p) wurden identifiziert, deren Ausfall ebenfalls ein verstärkt filamentöses Wachstum auslöste, während sich PKA-Mutanten wie der Wildtyp verhielten. Somit sind Efg1p, Sch9p und Rim15p drei Komponenten, die die Hyphenbildung unter hypoxischen Bedingungen blockieren. Bei höheren Temperaturen hingegen ist Efg1p, nicht aber Sch9p und Rim15p, auch unter hypoxischen Bedingungen an der Aktivierung der Hyphenbildung beteiligt. Möglicherweise ist die vorübergehende Repression der Hyphenbildung bei Sauerstoffmangel eine Voraussetzung für die Proliferation in menschlichem Gewebe und Zellen und somit eine wichtige Voraussetzung für die Virulenz von *C. albicans*.

## 6 Literaturverzeichnis

- Abramova, N.E., Cohen, B.D., Sertil, O., Kapoor, R., Davies, K.J. und Lowry, C.V. (2001)** Regulatory mechanisms controlling expression of the DAN/TIR mannoprotein genes during anaerobic remodeling of the cell wall in *Saccharomyces cerevisiae*. *Genetics* 157, 1169-1177.
- Albert, J. (2004)** Charakterisierung des Gens für eine potentielle Fettsäuredesaturase (*OLE2*) von *Candida albicans*. Diplomarbeit, Heinrich-Heine-Universität, Düsseldorf.
- Aramayo, R., Peleg, Y., Addison, R. und Metzberg, R. (1996)** Asm-1+, a *Neurospora crassa* gene related to transcriptional regulators of fungal development. *Genetics* 144, 991-1003.
- Auger, P. und Joly, J. (1977)** Factors influencing germ tube production in *Candida albicans*. *Mycopathologia* 61, 183-186.
- Axelsson, H., Fredlund, E., Ovenberger, M., Landberg, G. und Pahlman, S. (2005)** Hypoxia-induced dedifferentiation of tumor cells--a mechanism behind heterogeneity and aggressiveness of solid tumors. *Semin Cell Dev Biol* 16, 554-563.
- Bain, J.M., Stubberfield, C. und Gow, N.A. (2001)** Ura-status-dependent adhesion of *Candida albicans* mutants. *FEMS Microbiol Lett* 204, 323-328.
- Baumgartl, H., Zimelka, W. und Lubbers, D.W. (2002)** Evaluation of PO(2) profiles to describe the oxygen pressure field within the tissue. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol* 132, 75-85.
- Becerra, M., Lombardia-Ferreira, L.J., Hauser, N.C., Hoheisel, J.D., Tizon, B. und Cerdan, M.E. (2002)** The yeast transcriptome in aerobic and hypoxic conditions: effects of *hap1*, *rox1*, *rox3* and *srb10* deletions. *Mol Microbiol* 43, 545-555.
- Bennett, R.J. und Johnson, A.D. (2005)** Mating in *Candida albicans* and the search for a sexual cycle. *Annu Rev Microbiol* 59, 233-255.
- Bernards, R. (1995)** Transcriptional regulation. Flipping the Myc switch. *Curr Biol* 5, 859-861.
- Birnboim, H.C. und Doly, J. (1979)** A rapid alkaline extraction procedure for screening recombinant plasmid DNA. *Nucleic Acids Res* 7, 1513-1523.
- Bockmühl, D.P. und Ernst, J.F. (2001)** A potential phosphorylation site for an A-type kinase in the Efg1 regulator protein contributes to hyphal morphogenesis of *Candida albicans*. *Genetics* 157, 1523-1530.
- Bockmühl, D.P., Krishnamurthy, S., Gerads, M., Sonneborn, A. und Ernst, J.F. (2001)** Distinct and redundant roles of the two protein kinase A isoforms Tpk1p and Tpk2p in morphogenesis and growth of *Candida albicans*. *Mol Microbiol* 42, 1243-1257.
- Bourdineaud, J.P., De Sampaio, G. und Lauquin, G.J. (2000)** A Rox1-independent hypoxic pathway in yeast. Antagonistic action of the repressor Ord1 and activator Yap1 for hypoxic expression of the *SRP1/TIR1* gene. *Mol Microbiol* 38, 879-890.
- Bradford, M.M. (1976)** A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem* 72, 248-254.
- Braun, B.R., Head, W.S., Wang, M.X. und Johnson, A.D. (2000)** Identification and characterization of *TUPI1*-regulated genes in *Candida albicans*. *Genetics* 156, 31-44.
- Braun, B.R., Kadosh, D. und Johnson, A.D. (2001)** *NRG1*, a repressor of filamentous growth in *C. albicans*, is down-regulated during filament induction. *EMBO J* 20, 4753-4761.

- Brown, D.H., Jr., Giusani, A.D., Chen, X. und Kumamoto, C.A. (1999)** Filamentous growth of *Candida albicans* in response to physical environmental cues and its regulation by the unique *CZF1* gene. *Mol Microbiol* 34, 651-662.
- Bruick, R.K. und McKnight, S.L. (2001)** A conserved family of prolyl-4-hydroxylases that modify HIF. *Science* 294, 1337-1340.
- Buck, L.T. und Hochachka, P.W. (1993)** Anoxic suppression of Na(+)-K(+)-ATPase and constant membrane potential in hepatocytes: support for channel arrest. *Am J Physiol* 265, R1020-1025.
- Buffo, J., Herman, M.A. und Soll, D.R. (1984)** A characterization of pH-regulated dimorphism in *Candida albicans*. *Mycopathologia* 85, 21-30.
- Cao, F., Lane, S., Raniga, P.P., Lu, Y., Zhou, Z., Ramon, K., Chen, J. und Liu, H. (2006)** The Flo8 transcription factor is essential for hyphal development and virulence in *Candida albicans*. *Mol Biol Cell* 17, 295-307.
- Cassone, A., Sullivan, P.A. und Shepherd, M.G. (1985)** N-acetyl-D-glucosamine-induced morphogenesis in *Candida albicans*. *Microbiologica* 8, 85-99.
- Choi, J.Y., Stuke, J., Hwang, S.Y. und Martin, C.E. (1996)** Regulatory elements that control transcription activation and unsaturated fatty acid-mediated repression of the *Saccharomyces cerevisiae* *OLE1* gene. *J Biol Chem* 271, 3581-3589.
- Cohen, B.D., Sertil, O., Abramova, N.E., Davies, K.J. und Lowry, C.V. (2001)** Induction and repression of *DANI* and the family of anaerobic mannoprotein genes in *Saccharomyces cerevisiae* occurs through a complex array of regulatory sites. *Nucleic Acids Res* 29, 799-808.
- Davis, D. (2003)** Adaptation to environmental pH in *Candida albicans* and its relation to pathogenesis. *Curr Genet* 44, 1-7.
- Davis, D.A., Bruno, V.M., Loza, L., Filler, S.G. und Mitchell, A.P. (2002)** *Candida albicans* Mds3p, a conserved regulator of pH responses and virulence identified through insertional mutagenesis. *Genetics* 162, 1573-1581.
- Deckert, J., Khalaf, R.A., Hwang, S.M. und Zitomer, R.S. (1999)** Characterization of the DNA binding and bending HMG domain of the yeast hypoxic repressor Rox1. *Nucleic Acids Res* 27, 3518-3526.
- Deckert, J., Perini, R., Balasubramanian, B. und Zitomer, R.S. (1995)** Multiple elements and auto-repression regulate Rox1, a repressor of hypoxic genes in *Saccharomyces cerevisiae*. *Genetics* 139, 1149-1158.
- Doedt, T. (2004)** Transkriptionelle Steuerung von Morphogenese und Metabolismus des humanpathogenen Pilzes *Candida albicans* durch die APSES-Proteine Efg1p und Efh1p. Dissertation, Heinrich-Heine-Universität, Düsseldorf.
- Doedt, T., Krishnamurthy, S., Bockmühl, D.P., Tebarth, B., Stempel, C., Russell, C.L., Brown, A.J. und Ernst, J.F. (2004)** APSES proteins regulate morphogenesis and metabolism in *Candida albicans*. *Mol Biol Cell* 15, 3167-3180.
- Duttagupta, R., Vasudevan, S., Wilusz, C.J. und Peltz, S.W. (2003)** A yeast homologue of Hsp70, Ssa1p, regulates turnover of the MFA2 transcript through its AU-rich 3' untranslated region. *Mol Cell Biol* 23, 2623-2632.
- Dutton, J.R., Johns, S. und Miller, B.L. (1997)** StuAp is a sequence-specific transcription factor that regulates developmental complexity in *Aspergillus nidulans*. *Embo J* 16, 5710-5721.
- Ellenberger, T., Fass, D., Arnaud, M. und Harrison, S.C. (1994)** Crystal structure of transcription factor E47: E-box recognition by a basic region helix-loop-helix dimer. *Genes Dev* 8, 970-980.

- Enjalbert, B., Nantel, A. und Whiteway, M. (2003)** Stress-induced gene expression in *Candida albicans*: absence of a general stress response. *Mol Biol Cell* 14, 1460-1467.
- Ernst, J.F. (2000a)** Regulation of dimorphism in *Candida albicans*. *Contrib Microbiol* 5, 98-111.
- Ernst, J.F. (2000b)** Transcription factors in *Candida albicans* - environmental control of morphogenesis. *Microbiology* 146 (Pt 8), 1763-1774.
- Fabrizio, P., Pletcher, S.D., Minois, N., Vaupel, J.W. und Longo, V.D. (2004)** Chronological aging-independent replicative life span regulation by Msn2/Msn4 and Sod2 in *Saccharomyces cerevisiae*. *FEBS Lett* 557, 136-142.
- Fabrizio, P., Pozza, F., Pletcher, S.D., Gendron, C.M. und Longo, V.D. (2001)** Regulation of longevity and stress resistance by Sch9 in yeast. *Science* 292, 288-290.
- Fantino, E., Marguet, D. und Lauquin, G.J. (1992)** Downstream activating sequence within the coding region of a yeast gene: specific binding in vitro of RAP1 protein. *Mol Gen Genet* 236, 65-75.
- Feinberg, A.P. und Vogelstein, B. (1983)** A technique for radiolabeling DNA restriction endonuclease fragments to high specific activity. *Anal Biochem* 132, 6-13.
- Fonzi, W.A. und Irwin, M.Y. (1993)** Isogenic strain construction and gene mapping in *Candida albicans*. *Genetics* 134, 717-728.
- Fu, Y., Ibrahim, A.S., Sheppard, D.C., Chen, Y.C., French, S.W., Cutler, J.E., Filler, S.G. und Edwards, J.E., Jr. (2002)** *Candida albicans* Als1p: an adhesin that is a downstream effector of the *EFG1* filamentation pathway. *Mol Microbiol* 44, 61-72.
- Fujiwara, D., Kobayashi, O., Yoshimoto, H., Harashima, S. und Tamai, Y. (1999)** Molecular mechanism of the multiple regulation of the *Saccharomyces cerevisiae* *ATF1* gene encoding alcohol acetyltransferase. *Yeast* 15, 1183-1197.
- Gancedo, J.M. (1992)** Carbon catabolite repression in yeast. *Eur J Biochem* 206, 297-313.
- Gancedo, J.M. (2001)** Control of pseudohyphae formation in *Saccharomyces cerevisiae*. *FEMS Microbiol Rev* 25, 107-123.
- Garcia-Sanchez, S., Mavor, A.L., Russell, C.L., Argimon, S., Dennison, P., Enjalbert, B. und Brown, A.J. (2005)** Global roles of Ssn6 in Tup1- and Nrg1-dependent gene regulation in the fungal pathogen, *Candida albicans*. *Mol Biol Cell* 16, 2913-2925.
- Giusani, A.D., Vinces, M. und Kumamoto, C.A. (2002)** Invasive filamentous growth of *Candida albicans* is promoted by Czf1p-dependent relief of Efg1p-mediated repression. *Genetics* 160, 1749-1753.
- Graven, K.K. und Farber, H.W. (1998)** Endothelial cell hypoxic stress proteins. *J Lab Clin Med* 132, 456-463.
- Greenspan, D. und Greenspan, J.S. (1996)** HIV-related oral disease. *Lancet* 348, 729-733.
- Greger, I.H. und Proudfoot, N.J. (1998)** Poly(A) signals control both transcriptional termination and initiation between the tandem *GAL10* and *GAL7* genes of *Saccharomyces cerevisiae*. *Embo J* 17, 4771-4779.
- Grishin, A.V., Rothenberg, M., Downs, M.A. und Blumer, K.J. (1998)** Mot3, a Zn finger transcription factor that modulates gene expression and attenuates mating pheromone signaling in *Saccharomyces cerevisiae*. *Genetics* 149, 879-892.
- Guyton und Hall. (2000)** Textbook of Medical Physiology. Saunders, W.B.: Philadelphia, PA.
- Hanahan, D. (1983)** Studies on transformation of *Escherichia coli* with plasmids. *J Mol Biol* 166, 557-580.

- Hochachka, P.W., Buck, L.T., Doll, C.J. und Land, S.C. (1996)** Unifying theory of hypoxia tolerance: molecular/metabolic defense and rescue mechanisms for surviving oxygen lack. *Proc Natl Acad Sci U S A* *93*, 9493-9498.
- Hongay, C., Jia, N., Bard, M. und Winston, F. (2002)** Mot3 is a transcriptional repressor of ergosterol biosynthetic genes and is required for normal vacuolar function in *Saccharomyces cerevisiae*. *Embo J* *21*, 4114-4124.
- Hoppeler, H., Vogt, M., Weibel, E.R. und Fluck, M. (2003)** Response of skeletal muscle mitochondria to hypoxia. *Exp Physiol* *88*, 109-119.
- Hoyer, L.L., Payne, T.L., Bell, M., Myers, A.M. und Scherer, S. (1998)** *Candida albicans* ALS3 and insights into the nature of the ALS gene family. *Curr Genet* *33*, 451-459.
- Huang, L.E., Gu, J., Schau, M. und Bunn, H.F. (1998)** Regulation of hypoxia-inducible factor 1alpha is mediated by an O<sub>2</sub>-dependent degradation domain via the ubiquitin-proteasome pathway. *Proc Natl Acad Sci (USA)* *95*, 7987-7992.
- Jorgensen, P., Nishikawa, J.L., Breikreutz, B.J. und Tyers, M. (2002)** Systematic identification of pathways that couple cell growth and division in yeast. *Science* *297*, 395-400.
- Kadosh, D. und Johnson, A.D. (2001)** Rfg1, a protein related to the *Saccharomyces cerevisiae* hypoxic regulator *Rox1*, controls filamentous growth and virulence in *Candida albicans*. *Mol Cell Biol* *21*, 2496-2505.
- Kadosh, D. und Johnson, A.D. (2005)** Induction of the *Candida albicans* filamentous growth program by relief of transcriptional repression: a genome-wide analysis. *Mol Biol Cell* *16*, 2903-2912.
- Kandasamy, P., Vemula, M., Oh, C.S., Chellappa, R. und Martin, C.E. (2004)** Regulation of unsaturated fatty acid biosynthesis in *Saccharomyces*: the endoplasmic reticulum membrane protein, Mga2p, a transcription activator of the *OLE1* gene, regulates the stability of the *OLE1* mRNA through exosome-mediated mechanisms. *J Biol Chem* *279*, 36586-36592.
- Kastaniotis, A.J., Mennella, T.A., Konrad, C., Torres, A.M. und Zitomer, R.S. (2000)** Roles of transcription factor Mot3 and chromatin in repression of the hypoxic gene *ANB1* in yeast. *Mol Cell Biol* *20*, 7088-7098.
- Kastaniotis, A.J. und Zitomer, R.S. (2000)** Rox1 mediated repression. Oxygen dependent repression in yeast. *Adv Exp Med Biol* *475*, 185-195.
- Keng, T. (1992)** *HAP1* and *ROX1* form a regulatory pathway in the repression of *HEM13* transcription in *Saccharomyces cerevisiae*. *Mol Cell Biol* *12*, 2616-2623.
- Kitagaki, H., Shimoi, H. und Itoh, K. (1997)** Identification and analysis of a static culture-specific cell wall protein, Tir1p/Srp1p in *Saccharomyces cerevisiae*. *Eur J Biochem* *249*, 343-349.
- Klengel, T., Liang, W.J., Chaloupka, J., Ruoff, C., Schroppel, K., Naglik, J.R., Eckert, S.E., Mogensen, E.G., Haynes, K., Tuite, M.F., Levin, L.R., Buck, J. und Muhlschlegel, F.A. (2005)** Fungal adenylyl cyclase integrates CO<sub>2</sub> sensing with cAMP signaling and virulence. *Curr Biol* *15*, 2021-2026.
- Klis, F.M., de Groot, P. und Hellingwerf, K. (2001)** Molecular organization of the cell wall of *Candida albicans*. *Med Mycol* *39 Suppl 1*, 1-8.
- Krishnamurthy, S., Plaine, A., Albert, J., Prasad, T., Prasad, R. und Ernst, J.F. (2004)** Dosage-dependent functions of fatty acid desaturase Ole1p in growth and morphogenesis of *Candida albicans*. *Microbiology* *150*, 1991-2003.
- Kumamoto, C.A. und Vinces, M.D. (2005)** Contributions of hyphae and hypha-co-regulated genes to *Candida albicans* virulence. *Cell Microbiol* *7*, 1546-1554.

- Kwast, K.E., Lai, L.C., Menda, N., James, D.T., 3rd, Aref, S. und Burke, P.V. (2002)** Genomic analyses of anaerobically induced genes in *Saccharomyces cerevisiae*: functional roles of *Rox1* and other factors in mediating the anoxic response. *J Bacteriol* 184, 250-265.
- Laemmli, U.K. (1970)** Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* 227, 680-685.
- Land, S.C., Buck, L.T. und Hochachka, P.W. (1993)** Response of protein synthesis to anoxia and recovery in anoxia-tolerant hepatocytes. *Am J Physiol* 265, R41-48.
- Land, S.C. und Hochachka, P.W. (1994)** Protein turnover during metabolic arrest in turtle hepatocytes: role and energy dependence of proteolysis. *Am J Physiol* 266, C1028-1036.
- Leng, P., Lee, P.R., Wu, H. und Brown, A.J. (2001)** Efg1, a morphogenetic regulator in *Candida albicans*, is a sequence-specific DNA binding protein. *J Bacteriol* 183, 4090-4093.
- Liu, H., Kohler, J. und Fink, G.R. (1994)** Suppression of hyphal formation in *Candida albicans* by mutation of a *STE12* homolog. *Science* 266, 1723-1726.
- Liu, K., Zhang, X., Lester, R.L. und Dickson, R.C. (2005)** The sphingoid long chain base phytosphingosine activates AGC-type protein kinases in *Saccharomyces cerevisiae* including Ypk1, Ypk2, and Sch9. *J Biol Chem* 280, 22679-22687.
- Lo, H.J., Kohler, J.R., DiDomenico, B., Loebenberg, D., Cacciapuoti, A. und Fink, G.R. (1997)** Nonfilamentous *C. albicans* mutants are avirulent. *Cell* 90, 939-949.
- Longo, V.D. (2003)** The Ras and Sch9 pathways regulate stress resistance and longevity. *Exp Gerontol* 38, 807-811.
- Lorenz, M.C. und Heitman, J. (1997)** Yeast pseudohyphal growth is regulated by *GPA2*, a G protein alpha homolog. *Embo J* 16, 7008-7018.
- Losberger, C. und Ernst, J.F. (1989)** Sequence and transcript analysis of the *C. albicans* *URA3* gene encoding orotidine-5'-phosphate decarboxylase. *Curr Genet* 16, 153-158.
- Lott, T.J., Fundyga, R.E., Kuykendall, R.J. und Arnold, J. (2005)** The human commensal yeast, *Candida albicans*, has an ancient origin. *Fungal Genet Biol* 42, 444-451.
- Lutz, P.L., Nilsson, G.E. und Perez-Pinzon, M.A. (1996)** Anoxia tolerant animals from a neurobiological perspective. *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol* 113, 3-13.
- Martin, C.E., Oh, C.S., Kandasamy, P., Chellapa, R. und Vemula, M. (2002)** Yeast desaturases. *Biochem Soc Trans* 30, 1080-1082.
- Martinez-Pastor, M.T., Marchler, G., Schuller, C., Marchler-Bauer, A., Ruis, H. und Estruch, F. (1996)** The *Saccharomyces cerevisiae* zinc finger proteins Msn2p and Msn4p are required for transcriptional induction through the stress response element (STRE). *Embo J* 15, 2227-2235.
- Mason, A.B. und Dufour, J.P. (2000)** Alcohol acetyltransferases and the significance of ester synthesis in yeast. *Yeast* 16, 1287-1298.
- McCullough, M.J., Ross, B.C. und Reade, P.C. (1996)** *Candida albicans*: a review of its history, taxonomy, epidemiology, virulence attributes, and methods of strain differentiation. *Int J Oral Maxillofac Surg* 25, 136-144.
- McDonough, V.M., Stuke, J.E. und Martin, C.E. (1992)** Specificity of unsaturated fatty acid-regulated expression of the *Saccharomyces cerevisiae* *OLE1* gene. *J Biol Chem* 267, 5931-5936.

- Mennella, T.A., Klinkenberg, L.G. und Zitomer, R.S. (2003)** Recruitment of Tup1-Ssn6 by yeast hypoxic genes and chromatin-independent exclusion of TATA binding protein. *Eukaryot Cell* 2, 1288-1303.
- Mitchell, A.G. und Martin, C.E. (1995)** A novel cytochrome b5-like domain is linked to the carboxyl terminus of the *Saccharomyces cerevisiae* delta-9 fatty acid desaturase. *J Biol Chem* 270, 29766-29772.
- Monnin, E., Indermuhle, A., Dallenbach, A., Fluckiger, J., Stauffer, B., Stocker, T.F., Raynaud, D. und Barnola, J.M. (2001)** Atmospheric CO<sub>2</sub> concentrations over the last glacial termination. *Science* 291, 112-114.
- Morrison, W.R. und Smith, L.M. (1964)** Preparation of Fatty Acid Methyl Esters and Dimethylacetals from Lipids with Boron Fluoride--Methanol. *J Lipid Res* 5, 600-608.
- Mösch, H.U., Roberts, R.L. und Fink, G.R. (1996)** Ras2 signals via the Cdc42/Ste20/mitogen-activated protein kinase module to induce filamentous growth in *Saccharomyces cerevisiae*. *Proc Natl Acad Sci U S A* 93, 5352-5356.
- Müller, H., Ziegler, B. und Schweizer, B. (1993)** UV/VIS-Spektroskopie in der Nucleinsäureanalytik. *BioTec* 4, 25-29.
- Mullis, K.B. und Faloona, F.A. (1987)** Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase-catalyzed chain reaction. *Methods Enzymol* 155, 335-350.
- Murad, A.M., Leng, P., Straffon, M., Wishart, J., Macaskill, S., MacCallum, D., Schnell, N., Talibi, D., Marechal, D., Tekaia, F., d'Enfert, C., Gaillardin, C., Odds, F.C. und Brown, A.J. (2001)** *NRG1* represses yeast-hypha morphogenesis and hypha-specific gene expression in *Candida albicans*. *Embo J* 20, 4742-4752.
- Murayama, S.Y., Negishi, Y., Umeyama, T., Kaneko, A., Oura, T., Niimi, M., Ubukata, K. und Kajiwara, S. (2006)** Construction and functional analysis of the fatty acid desaturase gene disruptants in *Candida albicans*. *Microbiology*, in press.
- Murre, C., McCaw, P.S., Vaessin, H., Caudy, M., Jan, L.Y., Jan, Y.N., Cabrera, C.V., Buskin, J.N., Hauschka, S.D., Lassar, A.B. und et al. (1989)** Interactions between heterologous helix-loop-helix proteins generate complexes that bind specifically to a common DNA sequence. *Cell* 58, 537-544.
- Naglik, J.R., Challacombe, S.J. und Hube, B. (2003)** *Candida albicans* secreted aspartyl proteinases in virulence and pathogenesis. *Microbiol Mol Biol Rev* 67, 400-428.
- Nobile, C.J., Bruno, V.M., Richard, M.L., Davis, D.A. und Mitchell, A.P. (2003)** Genetic control of chlamydospore formation in *Candida albicans*. *Microbiology* 149, 3629-3637.
- Odds, F.C. (1994)** Pathogenesis of *Candida* infections. *J Am Acad Dermatol* 31, S2-5.
- Ohlrogge, J. und Browse, J. (1995)** Lipid biosynthesis. *Plant Cell* 7, 957-970.
- Pan, X. und Heitman, J. (1999)** Cyclic AMP-dependent protein kinase regulates pseudohyphal differentiation in *Saccharomyces cerevisiae*. *Mol Cell Biol* 19, 4874-4887.
- Park, H., Myers, C.L., Sheppard, D.C., Phan, Q.T., Sanchez, A.A., J, E.E. und Filler, S.G. (2005)** Role of the fungal Ras-protein kinase A pathway in governing epithelial cell interactions during oropharyngeal candidiasis. *Cell Microbiol* 7, 499-510.
- Pedruzzi, I., Burckert, N., Egger, P. und De Virgilio, C. (2000)** *Saccharomyces cerevisiae* Ras/cAMP pathway controls post-diauxic shift element-dependent transcription through the zinc finger protein Gis1. *Embo J* 19, 2569-2579.
- Prill, S.K., Klinkert, B., Timpel, C., Gale, C.A., Schroppel, K. und Ernst, J.F. (2005)** *PMT* family of *Candida albicans*: five protein mannosyltransferase isoforms affect growth, morphogenesis and antifungal resistance. *Mol Microbiol* 55, 546-560.

- Puig, S., Askeland, E. und Thiele, D.J. (2005)** Coordinated remodeling of cellular metabolism during iron deficiency through targeted mRNA degradation. *Cell* 120, 99-110.
- Reinders, A., Burckert, N., Boller, T., Wiemken, A. und De Virgilio, C. (1998)** *Saccharomyces cerevisiae* cAMP-dependent protein kinase controls entry into stationary phase through the Rim15p protein kinase. *Genes Dev* 12, 2943-2955.
- Salceda, S. und Caro, J. (1997)** Hypoxia-inducible factor 1alpha (HIF-1alpha) protein is rapidly degraded by the ubiquitin-proteasome system under normoxic conditions. Its stabilization by hypoxia depends on redox-induced changes. *J Biol Chem* 272, 22642-22647.
- Sambrook, J., Fritsch, E.F. und Maniatis, T. (1989)** Molecular cloning: A laboratory manual. 2<sup>nd</sup> edition. Cold Spring Harbor Laboratory Press NY.
- Schröppel, K., Sprosser, K., Whiteway, M., Thomas, D.Y., Rollinghoff, M. und Csank, C. (2000)** Repression of hyphal proteinase expression by the mitogen-activated protein (MAP) kinase phosphatase Cpp1p of *Candida albicans* is independent of the MAP kinase Cek1p. *Infect Immun* 68, 7159-7161.
- Schumacker, P.T. (2002)** Hypoxia, anoxia, and O<sub>2</sub> sensing: the search continues. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 283, L918-921.
- Schwelberger, H.G., Kang, H.A. und Hershey, J.W. (1993)** Translation initiation factor eIF-5A expressed from either of two yeast genes or from human cDNA. Functional identity under aerobic and anaerobic conditions. *J Biol Chem* 268, 14018-14025.
- Semenza, G.L. (1998)** Hypoxia-inducible factor 1: master regulator of O<sub>2</sub> homeostasis. *Curr Opin Genet Dev* 8, 588-594.
- Semenza, G.L., Jiang, B.H., Leung, S.W., Passantino, R., Concordet, J.P., Maire, P. und Giallongo, A. (1996)** Hypoxia response elements in the aldolase A, enolase 1, and lactate dehydrogenase A gene promoters contain essential binding sites for hypoxia-inducible factor 1. *J Biol Chem* 271, 32529-32537.
- Semenza, G.L. und Wang, G.L. (1992)** A nuclear factor induced by hypoxia via de novo protein synthesis binds to the human erythropoietin gene enhancer at a site required for transcriptional activation. *Mol Cell Biol* 12, 5447-5454.
- Sertil, O., Kapoor, R., Cohen, B.D., Abramova, N. und Lowry, C.V. (2003)** Synergistic repression of anaerobic genes by Mot3 and Rox1 in *Saccharomyces cerevisiae*. *Nucleic Acids Res* 31, 5831-5837.
- Setiadi, E. (2002)** Charakterisierung der cAMP-abhängigen Proteinkinase Rim15p des humanpathogenen Pilzes *Candida albicans*. Diplomarbeit, Heinrich-Heine-Universität, Düsseldorf.
- Sharkey, L.L., McNemar, M.D., Saporito-Irwin, S.M., Sypherd, P.S. und Fonzi, W.A. (1999)** *HWP1* functions in the morphological development of *Candida albicans* downstream of *EFG1*, *TUP1*, and *RBF1*. *J Bacteriol* 181, 5273-5279.
- Shepherd, M.G., Yin, C.Y., Ram, S.P. und Sullivan, P.A. (1980)** Germ tube induction in *Candida albicans*. *Can J Microbiol* 26, 21-26.
- Sheppard, D.C., Doedt, T., Chiang, L.Y., Kim, H.S., Chen, D., Nierman, W.C. und Filler, S.G. (2005)** The *Aspergillus fumigatus* StuA protein governs the up-regulation of a discrete transcriptional program during the acquisition of developmental competence. *Mol Biol Cell* 16, 5866-5879.
- Sherman, F., Fink, G.R. und Hicks, J.B. (1986)** Laboratory course manual for methods in yeast genetics.: Cold Spring Harbour, NY.
- Sia, R.A., Lengeler, K.B. und Heitman, J. (2000)** Diploid strains of the pathogenic basidiomycete *Cryptococcus neoformans* are thermally dimorphic. *Fungal Genet Biol* 29, 153-163.

- Sobel, J.D. (1997)** Vaginitis. *N Engl J Med* 337, 1896-1903.
- Sonneborn, A., Bockmuhl, D.P. und Ernst, J.F. (1999)** Chlamydospore formation in *Candida albicans* requires the Efg1p morphogenetic regulator. *Infect Immun* 67, 5514-5517.
- Sonneborn, A., Bockmuhl, D.P., Gerads, M., Kurpanek, K., Sanglard, D. und Ernst, J.F. (2000)** Protein kinase A encoded by *TPK2* regulates dimorphism of *Candida albicans*. *Mol Microbiol* 35, 386-396.
- Southern, E.M. (1975)** Detection of specific sequences among DNA fragments separated by gel electrophoresis. *J. Mol. Biol.* 98, 503-517.
- Srikantha, T., Morrow, B., Schroppel, K. und Soll, D.R. (1995)** The frequency of integrative transformation at phase-specific genes of *Candida albicans* correlates with their transcriptional state. *Mol Gen Genet* 246, 342-352.
- Staab, J.F. und Sundstrom, P. (2003)** *URA3* as a selectable marker for disruption and virulence assessment of *Candida albicans* genes. *Trends Microbiol* 11, 69-73.
- Stoldt, V.R., Sonneborn, A., Leuker, C.E. und Ernst, J.F. (1997)** Efg1p, an essential regulator of morphogenesis of the human pathogen *Candida albicans*, is a member of a conserved class of bHLH proteins regulating morphogenetic processes in fungi. *Embo J* 16, 1982-1991.
- Strahl-Bolsinger, S., Gentsch, M. und Tanner, W. (1999)** Protein O-mannosylation. *Biochim Biophys Acta* 1426, 297-307.
- Subanovic, M. (2005)** Regulation der Genexpression durch defekte O-Glykosylierung bei dem humanpathogenen Pilz *Candida albicans*. Diplomarbeit, Heinrich-Heine-Universität, Düsseldorf.
- Sudbery, P., Gow, N. und Berman, J. (2004)** The distinct morphogenic states of *Candida albicans*. *Trends Microbiol* 12, 317-324.
- Sundstrom, P. (2002)** Adhesion in *Candida* spp. *Cell Microbiol* 4, 461-469.
- Tebarth, B., Doedt, T., Krishnamurthy, S., Weide, M., Monterola, F., Dominguez, A. und Ernst, J.F. (2003)** Adaptation of the Efg1p morphogenetic pathway in *Candida albicans* by negative autoregulation and PKA-dependent repression of the *EFG1* gene. *J Mol Biol* 329, 949-962.
- ter Linde, J.J., Liang, H., Davis, R.W., Steensma, H.Y., van Dijken, J.P. und Pronk, J.T. (1999)** Genome-wide transcriptional analysis of aerobic and anaerobic chemostat cultures of *Saccharomyces cerevisiae*. *J Bacteriol* 181, 7409-7413.
- Tipper, D.J. (1973)** Inhibition of yeast ribonucleic acid polymerases by thiolutin. *J Bacteriol* 116, 245-256.
- Toda, T., Cameron, S., Sass, P., Zoller, M., Scott, J.D., McMullen, B., Hurwitz, M., Krebs, E.G. und Wigler, M. (1987)** Cloning and characterization of *BCY1*, a locus encoding a regulatory subunit of the cyclic AMP-dependent protein kinase in *Saccharomyces cerevisiae*. *Mol Cell Biol* 7, 1371-1377.
- Tsai, A.G., Friesenecker, B., Mazzoni, M.C., Kerger, H., Buerk, D.G., Johnson, P.C. und Intaglietta, M. (1998)** Microvascular and tissue oxygen gradients in the rat mesentery. *Proc Natl Acad Sci U S A* 95, 6590-6595.
- Vieira, J. und Messing, J. (1991)** New pUC-derived cloning vectors with different selectable markers and DNA replication origins. *Gene* 100, 189-194.
- Ward, M.P., Gimeno, C.J., Fink, G.R. und Garrett, S. (1995)** *SOK2* may regulate cyclic AMP-dependent protein kinase-stimulated growth and pseudohyphal development by repressing transcription. *Mol Cell Biol* 15, 6854-6863.

- Wenger, R.H. (2002)** Cellular adaptation to hypoxia: O<sub>2</sub>-sensing protein hydroxylases, hypoxia-inducible transcription factors, and O<sub>2</sub>-regulated gene expression. *FASEB J* 16, 1151-1162.
- Wilson, R.B., Davis, D., Enloe, B.M. und Mitchell, A.P. (2000)** A recyclable *Candida albicans* URA3 cassette for PCR product-directed gene disruptions. *Yeast* 16, 65-70.
- Yanisch-Perron, C., Vieira, J. und Messing, J. (1985)** Improved M13 phage cloning vectors and host strains: nucleotide sequences of the M13mp18 and pUC19 vectors. *Gene* 33, 103-119.
- Zagorec, M., Buhler, J.M., Treich, I., Keng, T., Guarente, L. und Labbe-Bois, R. (1988)** Isolation, sequence, and regulation by oxygen of the yeast *HEM13* gene coding for coproporphyrinogen oxidase. *J Biol Chem* 263, 9718-9724.
- Zhang, L. und Guarente, L. (1994)** Evidence that *TUPI/SSN6* has a positive effect on the activity of the yeast activator *HAP1*. *Genetics* 136, 813-817.
- Zhang, L. und Hach, A. (1999)** Molecular mechanism of heme signaling in yeast: the transcriptional activator Hap1 serves as the key mediator. *Cell Mol Life Sci* 56, 415-426.
- Zhao, X., Oh, S.H., Cheng, G., Green, C.B., Nuessen, J.A., Yeater, K., Leng, R.P., Brown, A.J. und Hoyer, L.L. (2004)** *ALS3* and *ALS8* represent a single locus that encodes a *Candida albicans* adhesin; functional comparisons between Als3p and Als1p. *Microbiology* 150, 2415-2428.
- Zheng, X. und Wang, Y. (2004)** Hgc1, a novel hypha-specific G1 cyclin-related protein regulates *Candida albicans* hyphal morphogenesis. *Embo J* 23, 1845-1856.
- Zitomer, R.S., Carrico, P. und Deckert, J. (1997)** Regulation of hypoxic gene expression in yeast. *Kidney Int* 51, 507-513.

## 7 Abkürzungsverzeichnis

°C	Grad Celsius
μ	mikro
A	Adenin
Abb.	Abbildung
ACP	Acylcarrierprotein
Amp	Ampicillin
AP	Alkalische Phosphatase
APS	Ammoniumpersulfat
ARS	Autonom replizierende Sequenz
AS	Aminosäure
ATP	Adenosin-5'-triphosphat
b (bp)	Basen (Basenpaare)
BCS	Bathocuproindisulfonsäure
bHLH	basic Helix-Loop-Helix
bidest.	bidestilliert
BSA	Rinderserumalbumin
bzw.	beziehungsweise
ca.	circa
C	Cytosin
<i>C. albicans</i>	<i>Candida albicans</i>
CASA	Casaminsäuren
cDNA	komplementäre DNA
CFU	Colony Forming Unit
ChIP	Chromatinimmunpräzipitation
C-Quelle	Kohlenstoffquelle
DAPI	4',6-Diamidino-2-phenylindol
DEPC	Diethylpyrocarbonat
DMF	Dimethylformanid
DMSO	Dimethylsulfoxid
DNA	Desoxyribonukleinsäure
dNTP	Desoxynukleotid
DTT	1,4-Dithiothreitol
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
ER	endoplasmatisches Retikulum
Fa.	Firma
FDR	false discovery rate
g	Gramm
G	Guanin
h	Stunde
HA	Hämagglutinin
HEPES	N-(2-Hydroxyethyl)-piperazin-N'-2-ethansulfonsäure
HRE	hypoxia response element
IP	Immunpräzipitation

k.A.	keine Angabe
kb	Kilobasenpaare
kDa	Kilodalton
LB	Nährmedium nach Luria-Bertani
log	logarithmisch
LORE	low oxygen response element
M	Molar
mA	Milliampere
MCB	MluI cell cycle box
MCS	multiple cloning site
min	Minuten
ml	Milliliter
mM	Millimolar
MOPS	4-Morpholinopropansulfonsäure
mRNA	messenger RNA
nm	Nanometer
ODX	optische Dichte bei $\lambda = x \text{ nm}$
ONPG	o-Nitrophenyl $\beta$ -D-Galactopyranosid
ORF	offener Leserahmen
PAA	Polyacrylamid
PBS	Phosphate buffered saline
PCK1p	PCK1-Promotor
PCR	'polymerase chain reaction'
PEG	Polyethylenglycol
pers.	persönlich
pH	negativer dekadischer Logarithmus der Wasserstoffionen-konzentration
PKA	Proteinkinase A
POD	Peroxidase
PVDF	Polyvinyliden Fluorid
RLU	relative Lichteinheiten
RNA	Ribonukleinsäure
RNase	Ribonuklease
mRNA	messenger RNA
rRNA	ribosomale RNA
RSAT	regulatory sequence analysis tools
RT	Raumtemperatur
RT-PCR	reverse transcriptase polymerase chain reaction
SAM	Significance Analysis of Microarrays
SAT1	Gen für Streptothricin-Acetyl-Transferase
s	Sekunde
<i>S.c.</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
SDS	Natriumdodecylsulfat
ss	Einzelstrang
SSC	standard saline citrate
SSPE	saline sodiumphosphat-EDTA
STRE	general stress responsive element

---

T	Thymidin
Tab.	Tabelle
TAE	Tris-Acetat-EDTA
TBE	Tris-Borat-EDTA
TE	Tris-EDTA
TEMED	N,N,N',N'-Tetramethylethylen-diamin
Tris	2-Amino-2-(hydroxymethyl)-1,3-propandiol
u	units
u.a.	unter anderem
ÜN	über Nacht
Upm	Umdrehungen pro Minute
vgl.	vergleiche
X-Gal	5-Brom-4-chlor-3-indolyl- $\beta$ -D-galactopyranosid
YNB	Yeast nitrogen base
YPD	Yeast extract-Pepton-Dextrose (Vollmedium)
wt	Wildtyp
z. B.	zum Beispiel

## 8 Anhang

**Tab. 19: Microarray-Experiment „wt HF/NF“.** Regulierte Gene im Wildtyp CAF2-1 unter hypoxischen im Vergleich zu normoxischen Bedingungen (164 Gene bei einer FDR<sup>1</sup> von 5,5 %). Die Anzucht erfolgte in flüssigem YPD-Medium bei 30 °C (Tab. 10).

<sup>1</sup>FDR: „false discovery rate“: Prozentsatz nicht-signifikant regulierter Gene

<sup>2</sup>q-Wert: bezeichnet die niedrigste FDR, bei der das Gen als „signifikant reguliert“ bezeichnet wird.

Gen-Name	Orf- Nummer	CA- Nummer	Beschreibung (nach CandidaDB: <a href="http://genolist.pasteur.fr/CandidaDB/">http://genolist.pasteur.fr/CandidaDB/</a> )	-fache Regulation	q- Wert <sup>2</sup>
<b>Positiv regulierte Gene</b>					
<b>Ergosterolsynthese</b>					
<i>ERG11</i>	CA1387	orf19.922	cytochrome P450 lanosterol 14a-demethylase	2,5	0,52
<i>ERG251</i>	CA0875	orf19.4631	C-4 sterol methyl oxidase	1,6	0,52
<i>ERG3</i>	CA1956	orf19.767	C5,6 desaturase	2,4	0,52
<i>ERG5</i>	CA4418	orf19.5178	C-22 sterol desaturase	2,2	0,52
<i>orf19.391</i>	CA3878	orf19.391	Upc2p RNA polymerase II transcription factor	1,6	0,52
<i>POT14</i>	CA0290	orf19.1591	acetyl-CoA acetyltransferase	1,7	0,52
<b>Eisenmetabolismus</b>					
<i>FRE5</i>	CA2556	orf19.5634	ferric reductase transmembrane component	3,4	5,53
<i>FTR1</i>	CA5345	orf19.7219	high affinity iron permease	1,6	0,52
<b>Fermentation</b>					
<i>ADH1</i>	CA4765	orf19.3997	alcohol dehydrogenase	3,8	0,52
<i>ADH2</i>	CA3923	orf19.5113	alcohol dehydrogenase I	1,6	0,52
<i>ADH5</i>	CA2391	orf19.2608	probable alcohol dehydrogenase	1,5	0,52
<b>Fettsäuresynthese</b>					
<i>ACC1</i>	CA5816	orf19.7466	acetyl-coenzyme-A carboxylase	2,8	0,52
<i>FAS1</i>	CA5426	orf19.979	Fatty-acyl-CoA synthase	2,8	2,29
<i>FAS2.3F</i>	CA6107	orf19.5949	fatty-acyl-CoA synthase	1,7	4,17
<i>FAS2.5F</i>	CA6105	orf19.5951	fatty-acyl-CoA synthase	1,5	0,52
<i>OLE1</i>	CA3921	orf19.5117	Stearoyl-CoA desaturase	3,5	0,52
<b>Glykolyse</b>					
<i>ENO1</i>	CA3874	orf19.395	Enolase I (2-phosphoglycerate dehydratase)	2,4	0,52
<i>FBA1</i>	CA5180	orf19.4618	fructose-bisphosphate aldolase	3,5	0,52
<i>GAP1</i>	CA5892	orf19.6814	Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase	3,4	0,52
<i>GLK1</i>	CA0263	orf19.13	aldohexose specific glucokinase	2,9	0,52
<i>GPM1</i>	CA4671	orf19.903	phosphoglycerate mutase	2,9	0,52
<i>PDC11</i>	CA2474	orf19.2877	Pyruvate decarboxylase	2,6	0,52
<i>PFK2</i>	CA3112	orf19.6540	6-phosphofruktokinase	1,6	0,80
<i>PGI1</i>	CA3559	orf19.3888	Glucose-6-phosphate isomerase	2,8	0,52
<i>PGK1</i>	CA1691	orf19.3651	Phosphoglycerate kinase	4,2	0,52
<i>PYC2.EXON2</i>	CA1464	orf19.789	Pyruvate carboxylase 2	1,6	2,29
<i>TPI1</i>	CA5950	orf19.6745	Triose phosphate isomerase	2,5	0,52
<i>TPS3.3</i>	CA5505	orf19.5348	alpha,alpha-trehalose-phosphate synthase	2,3	0,52
<b>Hyphenspezifische Gene</b>					
<i>ALS12.3F</i>	CA0413	orf19.2122	agglutinin-like protein	8,5	0,52
<i>DDR48</i>	CA4336	orf19.4082	stress protein	2,3	0,52
<i>HWP1</i>	CA2825	orf19.1321	Hyphal wall protein	4,1	2,29
<i>RBT5</i>	CA2558	orf19.5636	repressed by TUP1 protein	5,5	0,52
<b>Stressantwort</b>					
<i>CTA1</i>	CA3011	orf19.6229	catalase A, peroxisomal	3,6	1,83
<i>GRP2</i>	CA2644	orf19.4309	Reductase	1,7	2,29
<i>HSP12</i>	CA0627	orf19.3160	Heat shock protein	9,6	0,52
<i>SSA1</i>	CA2857	orf19.1065	Heat shock protein of HSP70 family	2,5	2,29
<i>SSA4</i>	CA1230	orf19.4980	cahsp70 mRNA for heat shock	1,6	0,52
<i>SSC1</i>	CA4474	orf19.1896	Mitochondrial heat shock protein 70-related protein	1,7	4,17
<i>SSU81</i>	CA2188	orf19.4772	protein involved in HOG1 signal transduction pathway	1,7	4,17
<b>Translation</b>					
<i>BEL1.EXON2</i>	CA4589	orf19.6906.1	protein of the 40S ribosomal subunit	1,6	1,83

<i>PRT1</i>	CA4892	orf19.6584	Translation initiation factor eIF3	5,3	3,08
<i>RNR21</i>	CA4155	orf19.5801	ribonucleoside-diphosphate reductase	1,7	0,80
<i>RPL10E</i>	CA5200	orf19.7015	Ribosomal protein L10, cytosolic	2,0	2,29
<i>RPL18.EXON2</i>	CA6079	orf19.5981.1	Ribosomal Protein RPL18B	1,5	0,80
<i>RPS7A</i>	CA1502	orf19.1700	ribosomal protein	1,7	2,29
<b>Zellwand/-membran</b>					
<i>ALG2.5</i>	CA1530	orf19.1221	mannosyltransferase, 5-prime end	2,1	3,08
<i>ECM33.3</i>	CA3115	orf19.3010.1	cell wall biogenesis	2,5	0,52
<i>PGA6</i>	CA2625	orf19.4765	Putative glycosylphosphatidylinositol-modified protein	1,6	0,52
<i>PLB4.3F</i>	CA0186	orf19.1443	Phospholipase, 3-prime end	1,6	0,52
<i>PLB4.5F</i>	CA0185	orf19.1442	Phospholipase, 5-prime end	1,8	1,43
<i>SUN41</i>	CA0883	orf19.3642	Putative cell wall beta-glucosidase	1,9	0,52
<i>SUN42</i>	CA5232	orf19.5032	Putative cell wall beta-glucosidase	2,1	0,52
<b>Unbekannte und unklassifizierte</b>					
<i>ACT1</i>	CA5255	orf19.5007	actin	1,9	0,80
<i>CBP1</i>	CA5559	orf19.7323	Corticosteroid binding protein	1,7	0,80
<i>CDC5</i>	CA2986	orf19.6010	Cell-cycle protein kinase	1,6	0,80
<i>CPY1.3F (PRC1)</i>	CA0430	orf19.1339	Carboxypeptidase Y precursor	1,6	0,52
<i>FUN30</i>	CA3229	orf19.6291	helicases of the Snf2/Rad54 family	2,0	0,52
<i>GPH1</i>	CA5206	orf19.7021	Glycogen phosphorylase	1,7	1,83
<i>HHT21</i>	CA2861	orf19.1061	Histone H3	2,0	1,41
<i>HXK2.3F</i>	CA0127	orf19.542	hexokinase II, 3-prime end	1,5	1,43
<i>HXT62</i>	CA1067	orf19.2023	sugar transporter	1,8	0,52
<i>IFA6</i>	CA4419	orf19.5177	Unknown function	2,1	1,41
<i>orf19.1151</i>	CA1330	orf19.1151	unknown function	1,6	0,52
<i>orf19.1573</i>	CA0761	orf19.1573	P-type ATPase	1,6	2,29
<i>orf19.1728</i>	CA1644	orf19.1728	unknown function	1,7	0,80
<i>orf19.1729</i>	CA1643	orf19.1729	unknown function	3,5	0,52
<i>orf19.1872</i>	CA4490	orf19.1872	unknown function	2,2	0,52
<i>orf19.1964</i>	CA2947	orf19.1964	unknown function	2,4	0,52
<i>orf19.1964</i>	CA2302	orf19.1691	unknown function	6,9	0,52
<i>orf19.2119</i>	CA2727	orf19.2119	Ndt80p meiosis-specific protein	1,5	0,80
<i>orf19.2296</i>	CA0446	orf19.2296	Similar to mucin proteins	1,7	0,52
<i>orf19.2368</i>	CA2748	orf19.2368	unknown function	8,6	5,53
<i>orf19.2374</i>	CA2752	orf19.2374	GAG protein of retrotransposon pCal	2,4	0,52
<i>orf19.2451</i>	CA0380	orf19.2451	unknown function	2,2	0,52
<i>orf19.251</i>	CA0828	orf19.251	unknown function	3,0	0,52
<i>orf19.2758</i>	CA1898	orf19.2758	unknown function	1,6	0,80
<i>orf19.2762</i>	CA4127	orf19.2762	unknown function	2,3	0,52
<i>orf19.2825</i>	CA0381	orf19.2825	unknown function	1,6	0,52
<i>orf19.3037</i>	CA5065	orf19.3037	Pab1p mRNA polyadenylate-binding protein	1,8	0,52
<i>orf19.3261</i>	CA5454	orf19.3261	member of the FRP family of proteins	3,5	0,52
<i>orf19.3414</i>	CA0055	orf19.3414	unknown function	1,6	0,80
<i>orf19.3712</i>	CA3141	orf19.3712	unknown function	1,5	0,80
<i>orf19.4246</i>	CA2186	orf19.4246	putative phosphatidyl synthase	2,3	1,43
<i>orf19.4280</i>	CA3067	orf19.4280	unknown function	2,5	0,52
<i>orf19.5315</i>	CA5482	orf19.5315	repeated protein (10 times) of unknown function	1,8	0,80
<i>orf19.5372</i>	CA2216	orf19.5372	Candida albicans Tca2 retrotransposon	2,7	0,52
<i>orf19.5525</i>	CA0210	orf19.5525	unknown function	2,5	0,52
<i>orf19.5539</i>	CA1923	orf19.5539	unknown function	6,5	0,52
<i>orf19.5667</i>	CA4376	orf19.5667	unknown function	1,5	4,17
<i>orf19.5976</i>	CA6083	orf19.5976	unknown function	1,6	3,08
<i>orf19.6608</i>	CA3848	orf19.6608	unknown function	1,7	0,80
<i>orf19.6614</i>	CA5811	orf19.6614	unknown function	1,6	0,52
<i>orf19.6882</i>	CA4570	orf19.6882	Osm1p osmotic growth protein	1,6	3,08
<i>orf19.7310</i>	CA5547	orf19.7310	Gin3p	2,3	3,08
<i>orf19.7350</i>	CA5650	orf19.7350	unknown function	1,5	0,52
<i>orf19.842</i>	CA2020	orf19.842	unknown function	1,7	2,29
<i>PGA34</i>	CA2548	orf19.2833	unknown function	4,7	1,43
<i>PGA54</i>	CA2769	orf19.2685	unknown function	1,7	2,29
<i>PGA56</i>	CA0171	orf19.1105.2	unknown function	1,9	2,29
<i>PHO88</i>	CA5563	orf19.7327	Involved in phosphate transport	6,5	2,29
<i>PMA1</i>	CA2300	orf19.5383	plasma membrane H <sup>+</sup> -transporting ATPase	1,8	2,29
<i>POL0</i>	CA2217	orf19.5373	pol polyprotein, reverse transcripase	3,8	0,52
<i>PRC1</i>	CA0430	orf19.1339	Carboxypeptidase Y precursor	1,8	0,52
<i>QDR1</i>	CA4501	orf19.508	putative antibiotic resistance proteins	2,0	0,52

<i>RAT1</i>	CA3242	orf19.4681	5'-3' Exoribonuclease	1,7	4,17
<i>SBP1</i>	CA2951	orf19.5854	RNA binding protein-like	1,5	5,53
<i>SCS7</i>	CA4852	orf19.3822	Required for hydroxylation of ceramide	1,6	1,41
<i>SCW1</i>	CA0156	orf19.1779	glucanase	2,0	0,52
<i>SIK1</i>	CA5975	orf19.7569	nucleolar protein involved in pre-rRNA processing	6,3	2,29
<i>SPB1</i>	CA0443	orf19.76	Putative methyltransferase	5,1	4,17
<i>SUR2</i>	CA2225	orf19.5818	Hydroxylation of C-4 of the sphingoid moiety of ceramide	1,6	0,80
<i>TKL1</i>	CA3924	orf19.5112	transketolase	8,2	0,80
<i>TOS1</i>	CA2303	orf19.1690	putative Anchor subunit of a-agglutinin	1,7	0,52
<i>UBI4</i>	CA5932	orf19.6771	Polyubiquitin	2,2	0,80

## Negativ regulierte Gene

### Atmungskette

<i>COX13</i>	CA4536	orf19.1467	cytochrome-c oxidase chain VIa	0,62	0,52
<i>CYT1</i>	CA0864	orf19.3527	cytochrome-c1	0,64	1,43
<i>orf19.2821</i>	CA0540	orf19.2821	NADH dehydrogenase (ubiquinone)	0,67	1,83
<i>orf19.4016</i>	CA4783	orf19.4016	ubiquinol-cytochrome-c reductase	0,58	0,52
<i>orf19.913.2</i>	CA0118	orf19.913.2	Qcr6p ubiquinol-cytochrome-c reductase	0,63	1,83
<i>QCR2</i>	CA2065	orf19.2644	Ubiquinol--cytochrome-c reductase 40KD	0,55	0,52
<i>RIP1</i>	CA6149	orf19.5893	Ubiquinol cytochrome-c reductase	0,63	0,52

### (ATP-Synthese)

<i>ATP1.EXON3</i>	CA4457	orf19.6853.3	F1F0-ATPase complex, F1 alpha subunit	0,45	0,52
<i>ATP2</i>	CA4362	orf19.5653	F1F0-ATPase complex, F1 beta subunit	0,52	0,52
<i>ATP3.3</i>	CA1489	orf19.3223	F1F0-ATPase complex, F1 gamma subunit	0,56	0,52
<i>ATP5</i>	CA5775	orf19.5419	F1F0-ATPase complex, OSCP subunit	0,52	0,52
<i>ATP7</i>	CA1907	orf19.2785	F1F0-ATPase complex, FO D subunit	0,56	0,52
<i>orf19.5598.2</i>	CA2973	orf19.5598.2	F1-ATPase epsilon subunit	0,63	2,29
<i>MIR1</i>	CA1513	orf19.4885	phosphate transport protein, mitochondrial	0,39	0,52
<i>orf19.5231.2</i>	CA1107	orf19.5231.2	ATP19 subunit K of mitochondrial F1F0-ATP synthase	0,62	0,52
<i>orf19.5598.2</i>	CA2973	orf19.5598.2	F1-ATPase epsilon subunit	0,64	2,29
<i>PHO84.3EOC</i>	CA1782	orf19.1172	Inorganic phosphate transport protein,	0,61	0,52
<i>STF2</i>	CA2738	orf19.2107.1	ATP synthase regulatory factor	0,67	1,83

### Tri-Carbonsäure-Zyklus

<i>ACO1</i>	CA3546	orf19.6385	aconitate hydratase	0,63	1,41
<i>CIT1.EXON2</i>	CA3909	orf19.4393	Citrate synthase, exon 2	0,56	0,52
<i>FUM12.3F</i>	CA4351	orf19.6725	Fumarate hydratase,	0,41	0,52
<i>FUM12.5F</i>	CA4349	orf19.6724	Fumarate hydratase,	0,53	0,52
<i>IDH1.3</i>	CA4753	orf19.4826	isocitrate dehydrogenase (NAD+)	0,54	0,52
<i>IDH2</i>	CA4148	orf19.5791	Isocitrate dehydrogenase (NAD+)	0,55	0,52
<i>KGD2</i>	CA2997	orf19.6126	2-oxoglutarate dehydrogenase	0,65	0,52

### Unbekannte und unklassifizierte

<i>DBF2</i>	CA0205	orf19.1223	putative ser/thr protein kinase	0,48	0,52
<i>FRE30.3</i>	CA3416	orf19.6139	ferric reductase Fre2p	0,55	0,52
<i>FRE30.53</i>	CA3415	orf19.6140	ferric reductase	0,56	0,52
<i>GPX2</i>	CA0558	orf19.85	glutathione peroxidase	0,63	0,80
<i>IFE2</i>	CA2075	orf19.5288	Unknown function	0,51	0,52
<i>FKH2</i>	CA5754	orf19.5390	Fork head protein type transcription factor	0,64	2,29
<i>OGG1</i>	CA5318	orf19.7190	8-oxoguanine DNA glycosylase	0,60	0,80
<i>orf19.1590</i>	CA0289	orf19.1590	unknown function	0,61	0,52
<i>orf19.1682</i>	CA0216	orf19.1682	unknown function	0,63	0,52
<i>orf19.26</i>	CA3609	orf19.26	Png1P peptide:N-glycanase	0,64	1,83
<i>orf19.2954</i>	CA4178	orf19.2954	unknown function	0,66	2,29
<i>orf19.3264</i>	CA5456	orf19.3264	unknown function	0,54	3,08
<i>orf19.3679</i>	CA4048	orf19.3679	unknown function	0,33	0,52
<i>orf19.3926</i>	CA2231	orf19.3926	Rny1 ribonuclease	0,66	1,83
<i>orf19.6124</i>	CA2996	orf19.6124	Ace2p transcription factor	0,50	3,08
<i>orf19.6223</i>	CA0400	orf19.6223	Spo22 involved in sporulation,	0,48	0,52
<i>orf19.6474</i>	CA0973	orf19.6474	unknown function	0,43	1,83
<i>orf19.6493</i>	CA1727	orf19.6493	unknown function	0,54	0,52
<i>orf19.695</i>	CA2209	orf19.695	unknown function	0,64	3,08
<i>orf19.718</i>	CA1240	orf19.718	Rrn1 lp involved in RNA polymerase I	0,51	0,52
<i>orf19.7386</i>	CA5684	orf19.7386	unknown function	0,65	0,52
<i>orf19.952</i>	CA5408	orf19.952	unknown function	0,44	0,52

<i>PDE2</i>	CA3450	orf19.2972	Nucleotide phosphodiesterase	0,65	2,29
<i>YHB1</i>	CA0943	orf19.3707	flavohemoglobin	0,27	0,52
<i>YNK1</i>	CA2645	orf19.4311	Nucleoside diphosphate kinase	0,53	0,52

**Tab. 20: Microarray-Experiment „*efg1* HF/NF“.** Regulierte Gene in der *efg1*-Mutante HLC52 im Vergleich zum Wildtyp CAF-21 unter hypoxischen Bedingungen (373 Gene bei einer FDR<sup>1</sup> von 5,5 %). Die Anzucht erfolgte in flüssigem YPD-Medium bei 30 °C (Tab. 10).

<sup>1</sup>FDR: „false discovery rate“: Prozentsatz nicht-signifikant regulierter Gene

<sup>2</sup>q-Wert: bezeichnet die niedrigste FDR, bei der das Gen als „signifikant reguliert“ bezeichnet wird.

Gen-Name	Orf- Nummer	CA-Nummer	Beschreibung (nach CandidaDB: <a href="http://genolist.pasteur.fr/CandidaDB/">http://genolist.pasteur.fr/CandidaDB/</a> )	-fache Regulation	q- Wert <sup>2</sup>
<b>Positiv regulierte Gene</b>					
<b>Atmungskette</b>					
<i>COX15</i>	CA1688	orf19.3656	cytochrome oxidase assembly factor	1,9	0,82
<i>CYB5</i>	CA5645	orf19.7049	Cytochrome b5	1,9	1,17
<i>NCP1</i>	CA3327	orf19.2672	NADPH-cytochrome P450 reductase	1,5	0,45
<b>DNA Replikation</b>					
<i>MCM3</i>	CA4471	orf19.1901	replication initiation protein	1,7	2,46
<i>RNR21</i>	CA4155	orf19.5801	ribonucleoside-diphosphate reductase	1,8	1,59
<i>RNR22</i>	CA4492	orf19.1868	ribonucleoside-diphosphate reductase	2,3	0,45
<b>Eisenmetabolismus</b>					
<i>FET34.3EOC</i>	CA1431	orf19.1206	iron transport multicopper oxidase	8,1	0,25
<i>FET5</i>	CA2920	orf19.4215	multicopy oxidase	5,2	0,25
<i>FTR1</i>	CA5345	orf19.7219	high affinity iron permease	3,5	0,25
<i>FTR2</i>	CA5354	orf19.7231	high affinity iron permease	2,0	0,45
<b>Ergosterolsynthese</b>					
<i>ERG13</i>	CA5549	orf19.7312	3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A synthase	1,5	0,25
<i>ERG11</i>	CA1387	orf19.922	cytochrome P450 lanosterol 14a-demethylase	3,1	0,25
<i>ERG251</i>	CA0875	orf19.4631	C-4 sterol methyl oxidase	1,9	0,25
<i>ERG3</i>	CA1956	orf19.767	C5,6 desaturase	8,1	0,25
<i>ERG5</i>	CA4418	orf19.5178	C-22 sterol desaturase	2,4	0,25
<i>ERG7</i>	CA3994	orf19.1570	lanosterol synthase	1,6	4,45
<i>orf19.391</i>	CA3878	orf19.391	Upc2p RNA polymerase II TF (sterol uptake)	2,0	0,25
<i>POT14</i>	CA0290	orf19.1591	acetyl-CoA acetyltransferase	1,9	0,25
<b>Fermentation</b>					
<i>ADH1</i>	CA4765	orf19.3997	alcohol dehydrogenase	2,3	0,82
<i>ADH2</i>	CA3923	orf19.5113	alcohol dehydrogenase I	2,6	0,25
<b>Fettsäuresynthese</b>					
<i>OLE1</i>	CA3921	orf19.5117	Stearoyl-CoA desaturase	1,7	1,08
<i>orf19.4048</i>	CA2493	orf19.4048	putative fatty acid desaturase	1,9	0,25
<b>Glykosylierung</b>					
<i>ALG2.5</i>	CA1530	orf19.1221	mannosyltransferase	2,0	3,54
<i>PMT2</i>	CA5894	orf19.6812	O-D-mannosyltransferase	1,5	1,17
<b>Glykolyse</b>					
<i>ENO1</i>	CA3874	orf19.395	Enolase I (2-phosphoglycerate dehydratase)	1,9	0,25
<i>FBA1</i>	CA5180	orf19.4618	fructose-bisphosphate aldolase	4,0	0,25
<i>GAP1</i>	CA5892	orf19.6814	Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase	2,0	0,25
<i>GPM1</i>	CA4671	orf19.903	phosphoglycerate mutase	3,7	0,25
<i>PFK1</i>	CA1834	orf19.3967	6-phosphofruktokinase, alpha subunit	2,1	0,45
<i>PGI1</i>	CA3559	orf19.3888	Glucose-6-phosphate isomerase	2,4	0,25
<i>PGK1</i>	CA1691	orf19.3651	Phosphoglycerate kinase	2,2	0,82
<i>TPI1</i>	CA5950	orf19.6745	Triose phosphate isomerase	2,2	0,25
<b>GTP-Bindung</b>					
<i>ARF22</i>	CA6093	orf19.5964	GTP-binding protein of the ARF family	1,5	0,93
<i>FUN11</i>	CA3893	orf19.5083	putative GTP-binding protein	5,2	2,88
<i>GSP1</i>	CA2675	orf19.5493	GTP-binding protein	1,8	1,08
<i>GTR1</i>	CA1677	orf19.3617	GTP-binding protein	2,8	3,54
<i>orf19.3977</i>	CA3401	orf19.3977	putative GTP-binding protein	1,6	0,25
<i>SAR1.3</i>	CA2029	orf19.3462	GTP-binding protein of the ARF family	1,7	2,88

**Hyphenspezifische Gene**

<i>RBT5</i>	CA2558	orf19.5636	repressed by TUP1 protein 5	2,5	0,25
<b>Transkription</b>					
<i>GAL11</i>	CA3928	orf19.5105	DNA-directed RNA polymerase II holoenzyme	2,2	5,46
<i>RPA49</i>	CA0912	orf19.2017	DNA-directed RNA polymerase A	1,6	4,45
<i>RPO26</i>	CA2066	orf19.2643	DNA-directed RNA polymerase I, II, III 18 KD	2,4	2,88
<b>Translation</b>					
<i>BEL1.EXON1</i>	CA4588	orf19.6906.1	protein of the 40S ribosomal subunit	1,6	1,59
<i>BEL1.EXON2</i>	CA4589	orf19.6906.1	protein of the 40S ribosomal subunit	2,0	2,46
<i>CDC61.3F</i>	CA2060	orf19.2560	Cytosolic leucyl-tRNA synthetase	1,8	0,83
<i>HCR1</i>	CA6012	orf19.7613	putative translation initiation factor 3 subunit	1,8	1,59
<i>HTS1</i>	CA2494	orf19.4051	histidine tRNA synthetase	1,6	0,93
<i>KRS1</i>	CA5947	orf19.6749	Lysyl-tRNA synthetase	1,6	1,17
<i>MRPL16</i>	CA0910	orf19.2019	ribosomal protein	1,6	2,88
<i>MRPL38</i>	CA2607	orf19.5684	ribosomal protein of the large subunit(L14)	1,6	3,54
<i>MRPL9</i>	CA5830	orf19.7485	Mitochondrial ribosomal protein of the large subunit	1,5	4,45
<i>orf19.3341</i>	CA2720	orf19.3341	Arginyl-tRNA synthetase	1,7	1,59
<i>RPL82</i>	CA3304	orf19.2311	60S ribosomal protein L7a.e.B	1,9	0,82
<i>RPS13.3</i>	CA1304	orf19.4193.1	ribosomal protein	1,5	1,17
<i>RPS19A.3</i>	CA6068	orf19.5996.1	ribosomal protein S19.e	1,7	3,54
<i>RPS21</i>	CA1715	orf19.3334	ribosomal protein	1,5	0,83
<i>SES1</i>	CA1598	orf19.269	seryl-tRNA synthetase	1,9	0,25
<i>SUI3</i>	CA5298	orf19.7161	Translation initiation factor eIF2 beta subunit	1,7	2,08
<i>TIF3</i>	CA3754	orf19.3423	translation initiation factor eIF4B	2,0	0,25
<i>TIF34</i>	CA4166	orf19.2967	Translation initiation factor eIF3, p39 subunit	1,9	1,59
<i>TIF35</i>	CA5359	orf19.7236	translation initiation factor eIF3, p33 subunit	1,5	1,59
<i>TIF5</i>	CA0667	orf19.4261	Translation initiation factor eIF5	1,8	0,25
<i>TRM1</i>	CA5457	orf19.3265	N2,N2-dimethylguanine tRNA methyltransferase	1,8	4,45
<b>Zellwand/-membran</b>					
<i>EXG1</i>	CA0822	orf19.2990	glucan 1,3-beta-glucosidase	5,2	1,19
<i>SUN41</i>	CA0883	orf19.3642	Putative cell wall beta-glucosidase	1,7	0,25
<i>SUN42</i>	CA5232	orf19.5032	Putative cell wall beta-glucosidase	2,1	0,25
<b>Unbekannte und unklassifizierte</b>					
<i>ARO2</i>	CA0398	orf19.1986	chorismate synthase	1,7	2,08
<i>BAT22</i>	CA5040	orf19.6994	branched chain amino acid aminotransferase	1,6	3,54
<i>CC43</i>	CA3005	orf19.6237	Cell Division Control -like	1,8	5,46
<i>COS162</i>	CA4134	orf19.4240	involved in manganese homeostasis	1,8	3,54
<i>CYS3</i>	CA5127	orf19.6402	cystathionine gamma-lyase	1,9	1,17
<i>DAK2.3EOC</i>	CA0776	orf19.4777	dihydroxyacetone kinase	1,6	3,54
<i>DBP2.EXON2</i>	CA1415	orf19.171	ATP-dependent RNA helicase of DEAD box family	1,9	0,25
<i>DBP3</i>	CA1202	orf19.4870	ATP-dependent RNA helicase	3,3	0,25
<i>DIP2</i>	CA3927	orf19.5106	beta transducin	1,7	2,08
<i>EBP4</i>	CA4030	orf19.3433	NADPH dehydrogenase	1,8	1,17
<i>ENP1</i>	CA2449	orf19.5507	Essential nuclear protein	1,7	0,25
<i>FUR1</i>	CA2069	orf19.2640	Uracil phosphoribosyltransferase	1,8	5,46
<i>GAA1</i>	CA2612	orf19.5693	required for attachment of GPI anchor onto proteins	2,8	2,88
<i>GAP3</i>	CA2638	orf19.4304	General amino acid permease	1,7	2,08
<i>GAP6</i>	CA4265	orf19.6659	General amino acid permease	1,5	1,17
<i>GAP7.5EOC</i>	CA0160	orf19.3195	general amino acid permease	1,6	2,08
<i>GOG5</i>	CA2980	orf19.1232	GDP-mannose transporter	1,6	0,25
<i>HEM15</i>	CA4484	orf19.1880	ferrochelatae precursor	1,9	5,46
<i>HIS7</i>	CA2447	orf19.5505	Histidine biosynthesis	4,0	1,19
<i>HPT1</i>	CA3787	orf19.5832	hypoxanthine guanine phosphoribosy transferase	1,8	2,46
<i>HSH49</i>	CA3579	orf19.2261	spliceosome-associated essential protein	1,6	0,25
<i>ICL1</i>	CA4446	orf19.6844	Isocitrate lyase (glyoxylate cycle)	1,5	0,25
<i>IFO3</i>	CA1393	orf19.1766	putative hydrolase	3,6	0,45
<i>ILV2</i>	CA0428	orf19.1613	acetolactate synthase	2,8	1,59
<i>IMH3.EXON1</i>	CA1246	orf19.19	IMP dehydrogenase	1,5	1,17
<i>IPF3767</i>	CA0057	unknown	unknown fuction	1,7	2,88
<i>LYS2</i>	CA0916	orf19.2970	L-aminoadipate-semialdehyde dehydrogenase	1,7	5,46
<i>MAK11</i>	CA2461	orf19.1791	involved in cell growth and replication of M1 dsRNA virus	2,7	3,54
<i>MIS12</i>	CA5869	orf19.7534	mitochondrial C1-tetrahydrofolate synthase	2,4	5,46
<i>MRT4</i>	CA2283	orf19.5550	required for mRNA decay	1,7	1,08
<i>NOG2.EXON2</i>	CA2848	orf19.5733	unknown function Nuclear/Nucleolar GTP-binding protein,	1,5	1,19
<i>NOPI</i>	CA3570	orf19.3138	Fibrillarin	1,6	0,25

<i>NOP2</i>	CA4505	orf19.501	nucleolar protein	1,5	1,17
<i>NUP2</i>	CA4270	orf19.6665	Nuclear pore protein	1,5	4,45
<i>orf19.1086</i>	CA0372	orf19.1086	unknown fuction	1,6	0,25
<i>orf19.1168</i>	CA1786	orf19.1168	unknown fuction	3,1	0,45
<i>orf19.150</i>	CA0010	orf19.150	Tim17p mitochondrial inner membrane import translocase	1,6	2,08
<i>orf19.1518.3</i>	CA1749	orf19.1518.3	unknown fuction	2,0	1,17
<i>orf19.1566</i>	CA3990	orf19.1566	beta-transducin	2,2	1,59
<i>orf19.1569</i>	CA3993	orf19.1569	unknown fuction	1,5	2,08
<i>orf19.1573</i>	CA0761	orf19.1573	P-type ATPase	1,7	1,59
<i>orf19.1595</i>	CA0295	orf19.1595	unknown fuction	1,6	1,08
<i>orf19.1679</i>	CA0837	orf19.1679	unknown fuction	1,7	2,08
<i>orf19.1691</i>	CA2302	orf19.1691	unknown fuction	4,9	0,25
<i>orf19.1697</i>	CA1500	orf19.1697	unknown fuction	1,6	4,45
<i>orf19.1729</i>	CA1643	orf19.1729	unknown fuction	1,6	0,25
<i>orf19.1800</i>	CA0982	orf19.1800	unknown fuction	1,7	1,17
<i>orf19.1802</i>	CA0984	orf19.1802	unknown fuction	1,9	0,25
<i>orf19.1865</i>	CA4495	orf19.1865	aldehyde dehydrogenase	1,9	0,25
<i>orf19.1917</i>	CA0812	orf19.1917	unknown fuction	2,1	1,19
<i>orf19.2119</i>	CA2727	orf19.2119	Ndt80p meiosis-specific protein	1,5	0,83
<i>orf19.2286</i>	CA1114	orf19.2286	unknown fuction	2,3	0,25
<i>orf19.2314</i>	CA3301	orf19.2314	unknown fuction	2,6	0,82
<i>orf19.2374</i>	CA2752	orf19.2374	GAG protein of retrotransposon pCal	1,9	0,25
<i>orf19.2503</i>	CA1040	orf19.2503	unknown fuction	1,8	1,08
<i>orf19.2810</i>	CA2619	orf19.2810	amino acid permease	2,9	5,46
<i>orf19.2998</i>	CA2814	orf19.2998	unknown fuction	1,5	0,25
<i>orf19.3034</i>	CA5063	orf19.3034	nontransporter of ATP-binding cassette superfamily	1,8	0,25
<i>orf19.3063</i>	CA5088	orf19.3063	Dpb3p DNA-directed DNA polymerase epsilon	1,8	3,54
<i>orf19.3159</i>	CA1268	orf19.3159	unknown fuction	1,8	4,45
<i>orf19.319</i>	CA3389	orf19.319	unknown fuction	2,6	2,08
<i>orf19.3261</i>	CA5454	orf19.3261	member of the FRP family of proteins	3,7	0,82
<i>orf19.3350</i>	CA0986	orf19.3350	Mrp20p ribosomal protein of the large subunit	1,6	1,17
<i>orf19.3463</i>	CA2030	orf19.3463	unknown fuction	1,6	1,17
<i>orf19.3799</i>	CA1423	orf19.3799	unknown fuction	1,6	1,19
<i>orf19.3859</i>	CA3097	orf19.3859	unknown fuction	3,3	2,46
<i>orf19.3876</i>	CA3551	orf19.3876	unknown fuction	1,5	2,08
<i>orf19.3914</i>	CA3016	orf19.3914	unknown fuction	1,6	1,19
<i>orf19.3969</i>	CA1309	orf19.3969	unknown fuction	1,6	2,08
<i>orf19.4002</i>	CA4770	orf19.4002	Dun1p protein kinase	1,6	1,59
<i>orf19.4013</i>	CA4780	orf19.4013	unknown fuction	1,6	1,08
<i>orf19.4030</i>	CA4795	orf19.4030	Pri1p DNA-directed DNA polymerase	1,7	1,08
<i>orf19.4068</i>	CA1140	orf19.4068	unknown fuction	1,5	1,17
<i>orf19.4070</i>	CA1142	orf19.4070	unknown fuction	2,3	0,25
<i>orf19.4219</i>	CA1318	orf19.4219	Nuclear valosin-containing protein-like	1,6	1,59
<i>orf19.4282</i>	CA3065	orf19.4282	unknown fuction	3,5	0,25
<i>orf19.4283</i>	CA3064	orf19.4283	unknown fuction	1,5	3,54
<i>orf19.4330</i>	CA0646	orf19.4330	unknown fuction	4,8	3,54
<i>orf19.4612</i>	CA5175	orf19.4612	Similar to Legionella pneumophila sbpA	6,5	2,88
<i>orf19.4742</i>	CA1947	orf19.4742	starvation protein -like	7,0	3,54
<i>orf19.4831</i>	CA4749	orf19.4831	unknown fuction	1,5	5,46
<i>orf19.494</i>	CA4511	orf19.494	unknown fuction	1,9	1,19
<i>orf19.506</i>	CA4502	orf19.506	Similar to dnaJ proteins	1,6	1,17
<i>orf19.5067</i>	CA0533	orf19.5067	unknown fuction	2,0	5,46
<i>orf19.5103</i>	CA3931	orf19.5103	unknown fuction	1,6	2,08
<i>orf19.5246</i>	CA5001	orf19.5246	unknown fuction	1,9	5,46
<i>orf19.5279</i>	CA4973	orf19.5279	unknown fuction	2,0	1,17
<i>orf19.5305</i>	CA5476	orf19.5305	unknown fuction	1,7	1,19
<i>orf19.5356</i>	CA5510	orf19.5356	unknown fuction	1,5	3,54
<i>orf19.5372</i>	CA2216	orf19.5372	Candida albicans Tca2 retrotransposon	2,4	0,25
<i>orf19.5884</i>	CA6155	orf19.5884	unknown fuction	3,3	2,46
<i>orf19.5885</i>	CA6154	orf19.5885	Snu13p U4/U6.U5 snRNP associated protein	1,9	1,19
<i>orf19.6227</i>	CA3012	orf19.6227	unknown fuction	1,7	0,25
<i>orf19.6234</i>	CA3007	orf19.6234	unknown fuction	2,4	0,25
<i>orf19.6379</i>	CA3543	orf19.6379	unknown fuction	2,7	3,54
<i>orf19.6686</i>	CA4289	orf19.6686	unknown fuction	1,6	0,25
<i>orf19.6705</i>	CA4305	orf19.6705	unknown fuction	1,5	1,17
<i>orf19.6710</i>	CA4339	orf19.6710	unknown fuction	1,6	1,59

<i>orf19.6723</i>	CA4348	<i>orf19.6723</i>	unknown fuction	1,6	4,45
<i>orf19.6803</i>	CA5903	<i>orf19.6803</i>	transmembrane sugar transporter	1,5	0,93
<i>orf19.6862</i>	CA4465	<i>orf19.6862</i>	unknown fuction	1,5	3,54
<i>orf19.6882</i>	CA4570	<i>orf19.6882</i>	Osm1p osmotic growth protein	2,0	1,59
<i>orf19.6955</i>	CA4718	<i>orf19.6955</i>	unknown fuction	1,8	5,46
<i>orf19.6984</i>	CA5030	<i>orf19.6984</i>	unknown fuction	2,5	3,54
<i>orf19.7098</i>	CA5601	<i>orf19.7098</i>	transcriptional regulator	1,5	1,19
<i>orf19.7200</i>	CA5326	<i>orf19.7200</i>	unknown fuction	2,0	1,19
<i>orf19.7307</i>	CA5545	<i>orf19.7307</i>	similar to cytochrome-b5- and nitrate reductases	1,9	5,46
<i>orf19.7310</i>	CA5547	<i>orf19.7310</i>	Gin3p	2,8	2,88
<i>orf19.7463</i>	CA5814	<i>orf19.7463</i>	putative protease	1,8	0,45
<i>orf19.853</i>	CA0771	<i>orf19.853</i>	asaprtic proteinase	2,9	5,46
<i>orf19.927</i>	CA1383	<i>orf19.927</i>	unknown fuction	4,5	1,17
<i>PAN3</i>	CA4777	<i>orf19.4010</i>	comp. of Pab1p-dependent poly(A) ribonuclease	1,7	2,46
<i>PGA26</i>	CA2885	<i>orf19.2475</i>	unknown fuction	2,0	0,93
<i>PGA50</i>	CA1777	<i>orf19.1824</i>	unknown fuction	2,0	3,54
<i>PGA54</i>	CA2769	<i>orf19.2685</i>	unknown fuction	1,6	0,83
<i>PHO85</i>	CA4448	<i>orf19.6846</i>	Negative regulator of PHO system	1,5	2,88
<i>PHO88</i>	CA5563	<i>orf19.7327</i>	Involved in phosphate transport	1,5	1,19
<i>POL0</i>	CA2217	<i>orf19.5373</i>	pol polyprotein, reverse transcripase	2,5	0,25
<i>POL30</i>	CA5178	<i>orf19.4616</i>	Proliferating Cell Nuclear Antigen	1,6	2,08
<i>PRY2</i>	CA5344	<i>orf19.7218</i>	putative pathogen related proteins	3,0	1,08
<i>RAT1</i>	CA3242	<i>orf19.4681</i>	5 -3 Exoribonuclease	3,4	2,46
<i>RCK2</i>	CA1881	<i>orf19.2268</i>	Ca/calmodulin-dependent ser/thr protein kinase	4,1	1,17
<i>RHR2</i>	CA5788	<i>orf19.5437</i>	DL-glycerol phosphatase	1,6	0,25
<i>RRP9</i>	CA2545	<i>orf19.2830</i>	U3 small nucleolar ribonucleoprot.associated protein	1,7	0,25
<i>SBH1</i>	CA1072	<i>orf19.2533.1</i>	involved in translocation into the ER	1,7	3,54
<i>SCS7</i>	CA4852	<i>orf19.3822</i>	Required for hydroxylation of ceramide	1,8	4,45
<i>SOU2</i>	CA3770	<i>orf19.2897</i>	Sorbitol utilization protein Sou2p	1,7	0,45
<i>SPO70.5F</i>	CA6102	<i>orf19.5954</i>	involved in meiosis and sporulation	2,0	2,08
<i>SSH1.3</i>	CA0898	<i>orf19.412</i>	involved in co-translational pathway of prot. transp.	1,6	2,88
<i>SUR2</i>	CA2225	<i>orf19.5818</i>	Hydroxylation of C-4 of sphingoid moiety of ceramide	1,7	2,88
<i>THR4</i>	CA4139	<i>orf19.4233</i>	threonine synthase	1,8	4,45
<i>TOS1</i>	CA2303	<i>orf19.1690</i>	putative Anchor subunit of a-agglutinin	1,6	0,45
<i>UGA6.3EOC</i>	CA3798	<i>orf19.5820</i>	GABA-specific transport protein, 3-prime end	2,0	0,25
<i>URA7</i>	CA1635	<i>orf19.3941</i>	CTP synthase 1	1,6	0,45
<i>YBN5</i>	CA1927	<i>orf19.754</i>	Putative purine nucleotide-binding protein	1,6	3,54
<i>YRB1</i>	CA5822	<i>orf19.7477</i>	GTPase-activating protein	1,5	1,08

## Negativ regulierte Gene

### Atmungskette

<i>COX4</i>	CA4533	<i>orf19.1471</i>	cytochrome-c oxidase	0,62	0,25
<i>CYT1</i>	CA0864	<i>orf19.3527</i>	cytochrome-c1	0,66	2,88
<i>MCR1</i>	CA2457	<i>orf19.3507</i>	NADH-cytochrome-b5 reductase	0,52	0,25
<i>NDH1</i>	CA4633	<i>orf19.339</i>	Mitochondrial NADH dehydrogenase	0,45	0,25
<i>orf19.2091</i>	CA4810	<i>orf19.2091</i>	Subunit of NADH:Ubiquinone Oxidoreductase	0,57	0,25
<i>orf19.2821</i>	CA0540	<i>orf19.2821</i>	NADH dehydrogenase (ubiquinone)	0,47	0,25
<i>QCR2</i>	CA2065	<i>orf19.2644</i>	Ubiquinol--cytochrome-c reductase	0,51	0,25
<i>QCR9</i>	CA0376	<i>orf19.2707.1</i>	ubiquinol--cytochrome-c reductase	0,59	1,08

### (ATP-Synthese)

<i>ATP1.EXON3</i>	CA4457	<i>orf19.6853.3</i>	F1F0-ATPase complex, F1 alpha subunit	0,41	0,25
<i>ATP2</i>	CA4362	<i>orf19.5653</i>	F1F0-ATPase complex, F1 beta subunit	0,30	0,25
<i>ATP3.3</i>	CA1489	<i>orf19.3223</i>	F1F0-ATPase complex, F1 gamma subunit	0,62	0,82
<i>ATP5</i>	CA5775	<i>orf19.5419</i>	F1F0-ATPase complex, OSCP subunit	0,59	1,08
<i>ATP7</i>	CA1907	<i>orf19.2785</i>	F1F0-ATPase complex, FO D subunit	0,45	0,25
<i>ATP8.EXON2</i>	CA4830	<i>orf19.2066.1</i>	F1F0-ATPase complex, Atp8 subunit, exon 2	0,65	1,59
<i>orf19.5231.2</i>	CA1107	<i>orf19.5231.2</i>	ATP19 subunit K of F1F0-ATP synthase	0,46	0,25
<i>orf19.5598.2</i>	CA2973	<i>orf19.5598.2</i>	F1-ATPase epsilon subunit	0,59	0,25
<i>STF2</i>	CA2738	<i>orf19.2107.1</i>	ATP synthase regulatory factor	0,35	0,25

### Fettsäuresynthese

<i>FAS2.3F</i>	CA6107	<i>orf19.5949</i>	fatty-acyl-CoA synthase	0,57	0,25
----------------	--------	-------------------	-------------------------	------	------

### (Acetyl-CoA-Synthese)

<i>ACH1</i>	CA0345	<i>orf19.3171</i>	acetyl-coenzyme-A hydrolase	0,62	0,82
<i>PDA1</i>	CA4412	<i>orf19.3097</i>	Pyruvate dehydrogenase alpha chain	0,32	0,25

<i>PDX1</i>	CA5242	orf19.5021	Pyruvate dehydrogenase complex protein X	0,51	0,25
<b>Fermentation</b>					
<i>ALD5</i>	CA4159	orf19.5806	aldehyde dehydrogenase (NAD <sup>+</sup> )	0,44	0,25
<b>Glukoneogenese</b>					
<i>FBP26</i>	CA5110	orf19.6423	Fructose-2,6-bisphosphatase	0,65	5,46
<i>PCK1</i>	CA5857	orf19.7514	phosphoenolpyruvate carboxykinase	0,28	0,25
<b>GTP-Bindung</b>					
<i>TEM1</i>	CA2812	orf19.3001	GTP-binding protein of the RAS superfamily	0,64	2,08
<b>Streßantwort</b>					
<i>HSP104</i>	CA5135	orf19.6389	Heat shock protein	0,61	0,82
<i>SOD22.3F</i>	CA5588	orf19.7111.2	superoxide dismutase	0,41	0,25
<i>YHB1</i>	CA0943	orf19.3707	flavo-hemoglobin	0,22	0,25
<b>Transkription</b>					
<i>CAP1</i>	CA0183	orf19.1623	transcriptional activator	0,58	0,25
<i>CTA24.3</i>	CA5387	orf19.7276.1	transcriptional activator	0,51	0,25
<i>CTA241.EXON1</i>	CA2615	orf19.5700	transcriptional activator, exon 1	0,53	0,25
<i>MRPL8</i>	CA2999	orf19.6129	mitochondrial 60s ribosomal subunit	0,48	0,25
<i>orf19.5338</i>	CA5497	orf19.5338	transcriptional activator	0,59	0,25
<b>Tri-Carbonsäure-Zyklus</b>					
<i>ACO1</i>	CA3546	orf19.6385	aconitate hydratase	0,27	0,25
<i>CIT1.EXON2</i>	CA3909	orf19.4393	Citrate synthase, exon 2	0,50	0,25
<i>FUM12.3F</i>	CA4351	orf19.6725	Fumarate hydratase	0,29	0,25
<i>FUM12.5F</i>	CA4349	orf19.6724	Fumarate hydratase	0,38	0,25
<i>IDH1.3</i>	CA4753	orf19.4826	isocitrate dehydrogenase (NAD <sup>+</sup> )	0,36	0,25
<i>IDH2</i>	CA4148	orf19.5791	Isocitrate dehydrogenase (NAD <sup>+</sup> )	0,59	0,25
<i>IDP1</i>	CA2131	orf19.5211	isocitrate dehydrogenase, cytosolic	0,62	0,25
<i>IDP2</i>	CA0643	orf19.3733	isocitrate dehydrogenase, cytosolic	0,34	0,25
<i>KGD1</i>	CA3149	orf19.6165	2-oxoglutarate dehydrogenase	0,47	0,25
<i>KGD2</i>	CA2997	orf19.6126	2-oxoglutarate dehydrogenase complex E2	0,62	0,45
<i>LSC1</i>	CA0791	orf19.3358	succinate-CoA ligase / synthetase	0,64	0,25
<i>MDH1</i>	CA5164	orf19.4602	Mitochondrial malate dehydrogenase	0,33	0,25
<b>Unbekannte und unklassifizierte</b>					
<i>ADE2</i>	CA6139	orf19.5906	phosphoribosylaminoimidazole carboxylase	0,51	0,25
<i>AIP2</i>	CA2406	orf19.300	actin interacting protein 2	0,59	0,25
<i>AM3</i>	CA5025	orf19.6979	protein required for normal mitochondrial structure	0,66	1,08
<i>AOX2</i>	CA2189	orf19.4773	alternative oxidase	0,33	0,25
<i>BUB3</i>	CA0526	orf19.2655	cell cycle arrest protein	0,56	0,25
<i>CAN2</i>	CA1191	orf19.111	amino acid permease	0,65	1,19
<i>CBF1</i>	CA2473	orf19.2876	putative centromere binding factor 1	0,53	0,25
<i>CDC55</i>	CA4535	orf19.1468	B subunit of protein phosphatase 2A	0,58	0,25
<i>CDR11.3F</i>	CA0609	orf19.919	multidrug resistance protein	0,66	0,25
<i>CSA1</i>	CA5585	orf19.7114	mycelial surface antigen	0,58	0,83
<i>DBF2</i>	CA0205	orf19.1223	putative ser/thr protein kinase	0,55	0,25
<i>DPH52.3EOC</i>	CA4284	orf19.6682	Diphthamide methyltransferase	0,55	2,88
<i>ECM21.3</i>	CA1707	orf19.4887	Involved in cell wall biogenesis	0,47	0,25
<i>FDH11.3</i>	CA6000	orf19.7600	formaldehyde dehydrogenase	0,60	0,25
<i>FDH12</i>	CA1846	orf19.638	Formate dehydrogenase	0,41	0,25
<i>FRE7</i>	CA5621	orf19.7077	Ferric reductase transmembrane component	0,46	0,25
<i>FTI1</i>	CA2642	orf19.4307	Rad52 inhibitor	0,64	2,88
<i>FUN34.5EOC</i>	CA3154	orf19.6169.2	unknown function	0,65	0,25
<i>GAD1</i>	CA1564	orf19.1153	Glutamate decarboxylase	0,51	0,25
<i>GAL1</i>	CA4040	orf19.3670	galactokinase	0,54	0,25
<i>GAL10</i>	CA4041	orf19.3672	UDP-glucose 4-epimerase	0,63	0,25
<i>GDH2</i>	CA1775	orf19.2192	NAD-specific glutamate dehydrogenase	0,34	0,25
<i>IFE2</i>	CA2075	orf19.5288	unknown function	0,57	0,25
<i>IFN1</i>	CA1137	orf19.1979	glycerophosphoinositol transporter	0,54	0,25
<i>IFQ1.3F</i>	CA2241	orf19.4674	unknown function	0,60	1,19
<i>IFR2</i>	CA1964	orf19.2396	unknown function	0,41	0,25
<i>IFS4</i>	CA2891	orf19.2467	Pirin protein	0,58	0,25
<i>IPF17799</i>	CA0019	unknown	unknown function	0,52	0,25
<i>IPF18859</i>	CA0827	unknown	unknown function	0,64	1,08
<i>MAF1</i>	CA3745	orf19.2173	nuclear protein	0,53	0,45
<i>MEP3</i>	CA0302	orf19.1614	low affinity high capacity ammonium permease	0,48	0,25
<i>MIR1</i>	CA1513	orf19.4885	phosphate transport protein	0,49	0,25
<i>MTD1</i>	CA4842	orf19.3810	methylenetetrahydrofolate dehydrogenase	0,34	0,45
<i>NCE102</i>	CA6097	orf19.5960	secretion of proteins that lack classical secretory signal sequence	0,63	0,93

<i>NRG1</i>	CA5289	orf19.7150	similar to transcriptional repressor Nrg1p/Nrg2p	0,56	0,25
<i>orf19.1151</i>	CA1330	orf19.1151	unknown function	0,66	0,82
<i>orf19.1277</i>	CA1411	orf19.1277	unknown function	0,59	0,25
<i>orf19.1306</i>	CA1326	orf19.1306	unknown function	0,62	1,19
<i>orf19.1356</i>	CA0258	orf19.1356	thiosulfate sulfurtransferase	0,60	0,25
<i>orf19.1562</i>	CA3986	orf19.1562	unknown function	0,60	0,25
<i>orf19.1664</i>	CA3468	orf19.1664	beta-glucosidase	0,66	0,25
<i>orf19.1785</i>	CA1168	orf19.1785	unknown function	0,49	0,25
<i>orf19.1795</i>	CA2465	orf19.1795	unknown function	0,61	0,25
<i>orf19.1861</i>	CA0385	orf19.1861	unknown function	0,60	0,25
<i>orf19.204</i>	CA3621	orf19.204	unknown function	0,64	0,25
<i>orf19.2397.3</i>	CA0026	orf19.2397.3	unknown function	0,61	0,25
<i>orf19.2398</i>	CA1962	orf19.2398	unknown function	0,45	0,25
<i>orf19.2414</i>	CA0005	orf19.2414	unknown function	0,57	0,25
<i>orf19.2439.1</i>	CA1916	orf19.2439.1	unknown function	0,65	2,46
<i>orf19.251</i>	CA0828	orf19.251	unknown function	0,65	0,25
<i>orf19.26</i>	CA3609	orf19.26	Png1P peptide:N-glycanase	0,62	0,25
<i>orf19.2647</i>	CA1726	orf19.2647	unknown function	0,57	0,25
<i>orf19.2659</i>	CA0495	orf19.2659	unknown function	0,28	0,25
<i>orf19.2730</i>	CA1163	orf19.2730	unknown function	0,64	0,25
<i>orf19.2749</i>	CA1170	orf19.2749	unknown function	0,55	0,25
<i>orf19.2753</i>	CA1892	orf19.2753	Similarity to transcriptionfactors	0,43	0,25
<i>orf19.279</i>	CA2779	orf19.279	unknown function	0,54	0,25
<i>orf19.285</i>	CA2782	orf19.285	unknown function	0,55	0,25
<i>orf19.2954</i>	CA4178	orf19.2954	unknown function	0,66	2,46
<i>orf19.3007.2</i>	CA3119	orf19.3007.2	unknown function	0,67	0,25
<i>orf19.3071</i>	CA0578	orf19.3071	Mih1p M-phase inducing prot. tyrosine phosphatase	0,63	0,25
<i>orf19.3233</i>	CA5431	orf19.3233	unknown function	0,52	0,25
<i>orf19.3335</i>	CA1716	orf19.3335	unknown function	0,58	0,25
<i>orf19.3364</i>	CA1196	orf19.3364	unknown function	0,47	0,25
<i>orf19.3378</i>	CA0338	orf19.3378	unknown function	0,66	0,25
<i>orf19.3406</i>	CA2427	orf19.3406	probable formate dehydrogenase	0,66	0,25
<i>orf19.3782.2</i>	CA1184	orf19.3782.2	unknown function	0,62	0,93
<i>orf19.3926</i>	CA2231	orf19.3926	Rny1 ribonuclease	0,65	1,59
<i>orf19.3963</i>	CA1838	orf19.3963	unknown function	0,48	0,25
<i>orf19.4127</i>	CA1158	orf19.4127	unknown function	0,65	2,08
<i>orf19.4246</i>	CA2186	orf19.4246	putative phosphatidyl synthase	0,63	1,08
<i>orf19.4347</i>	CA2193	orf19.4347	Probable ser/thr protein kinase	0,65	0,25
<i>orf19.4424</i>	CA1363	orf19.4424	acid phosphatase	0,59	0,45
<i>orf19.4430</i>	CA1287	orf19.4430	unknown function	0,54	1,19
<i>orf19.449</i>	CA0670	orf19.449	phosphatidyl synthase	0,35	0,25
<i>orf19.4544</i>	CA4202	orf19.4544	unknown function	0,38	0,25
<i>orf19.4579</i>	CA5142	orf19.4579	Erv29p ER-Golgi transport vesicle protein	0,63	0,83
<i>orf19.4684.2</i>	CA3239	orf19.4684.2	unknown function	0,66	4,45
<i>orf19.4698</i>	CA0641	orf19.4698	unknown function	0,59	0,83
<i>orf19.4811</i>	CA3073	orf19.4811	putative tricarboxylate carrier	0,44	0,25
<i>orf19.4897</i>	CA2360	orf19.4897	unknown function	0,66	1,17
<i>orf19.4907</i>	CA2021	orf19.4907	unknown function	0,35	0,25
<i>orf19.5008.1</i>	CA5254	orf19.5008.1	unknown function	0,54	0,83
<i>orf19.5069</i>	CA1098	orf19.5069	unknown function	0,45	0,25
<i>orf19.5193</i>	CA1761	orf19.5193	oxidoreductase	0,46	0,25
<i>orf19.5282</i>	CA4970	orf19.5282	unknown function	0,41	0,25
<i>orf19.5513</i>	CA2516	orf19.5513	unknown function	0,61	2,88
<i>orf19.5552</i>	CA2285	orf19.5552	unknown function	0,62	0,82
<i>orf19.5917</i>	CA6131	orf19.5917	Stp2p involved in pre-tRNA splicing	0,41	0,25
<i>orf19.5961</i>	CA6096	orf19.5961	Nas6p subunit of 26S proteasome	0,65	0,25
<i>orf19.6223</i>	CA0400	orf19.6223	Spo22 involved in sporulation, 3-prime end	0,39	0,25
<i>orf19.6225</i>	CA3014	orf19.6225	Pcl7p cyclin protein interacting with Pho85p	0,64	4,45
<i>orf19.6435</i>	CA5104	orf19.6435	unknown function	0,65	0,25
<i>orf19.6580</i>	CA4888	orf19.6580	unknown function	0,61	0,25
<i>orf19.6713</i>	CA4341	orf19.6713	unknown function	0,46	0,25
<i>orf19.6720</i>	CA4346	orf19.6720	unknown function	0,64	0,45
<i>orf19.6757</i>	CA5940	orf19.6757	aldo/keto reductase	0,66	2,46
<i>orf19.6763</i>	CA5936	orf19.6763	unknown function	0,63	0,93
<i>orf19.6807</i>	CA5899	orf19.6807	unknown function	0,64	2,08
<i>orf19.6918</i>	CA4599	orf19.6918	unknown function	0,57	5,46
<i>orf19.6971</i>	CA5018	orf19.6971	unknown function	0,61	1,17

<i>orf19.7006</i>	CA5194	orf19.7006	unknown function	0,59	0,25
<i>orf19.7085</i>	CA5613	orf19.7085	unknown function	0,53	0,25
<i>orf19.7209</i>	CA5335	orf19.7209	unknown function	0,29	0,25
<i>orf19.7306</i>	CA5544	orf19.7306	unknown function	0,49	0,25
<i>orf19.7341</i>	CA5574	orf19.7341	unknown function	0,65	1,17
<i>orf19.7381</i>	CA5678	orf19.7381	unknown function	0,62	0,25
<i>orf19.93</i>	CA1987	orf19.93	unknown function	0,63	0,25
<i>orf19.952</i>	CA5408	orf19.952	unknown function	0,50	0,25
<i>PCL2</i>	CA1351	orf19.403	G1/S specific cyclin	0,24	0,25
<i>PET9</i>	CA5388	orf19.930	ADP/ATP carrier protein	0,35	0,25
<i>PGA16</i>	CA2015	orf19.848	unknown function	0,51	0,25
<i>PTC5</i>	CA3540	orf19.6376	Type 2C Protein Phosphatase	0,58	1,08
<i>RPS31</i>	CA2011	orf19.3087	Ubiquitin fusion protein	0,64	0,25
<i>SDS24</i>	CA3920	orf19.5118	Similar to <i>S. cerevisiae</i> YBR214w	0,43	0,25
<i>SHM2</i>	CA0895	orf19.5750	Serine hydroxymethyltransferase precursor	0,63	1,17
<i>SKS1</i>	CA4039	orf19.3669	serine/threonine kinase	0,59	0,93
<i>SNC2.EXON2</i>	CA5257	orf19.5006.2	Strong similarity to synaptobrevin, exon 2	0,67	0,83
<i>SPC19</i>	CA2420	orf19.4473	spindle pole body protein	0,61	0,25
<i>SPT16</i>	CA1409	orf19.2884	general chromatin factor	0,49	0,25
<i>SRB10</i>	CA1468	orf19.794	cyclin-dependent kinase	0,66	0,25
<i>STE23</i>	CA1653	orf19.5561	protease involved in a-factor processing	0,66	0,25
<i>TAL1</i>	CA2582	orf19.4371	transaldolase	0,56	0,25
<i>TPS2</i>	CA5066	orf19.3038	Threulose-6-phosphate phosphatase	0,55	0,45
<i>UGT51</i>	CA0618	orf19.2616	UDP-glucose:sterol glucosyltransferase	0,64	1,08
<i>YDC1</i>	CA4406	orf19.3104	alkaline dihydroceramidase	0,56	2,88
<i>YNK1</i>	CA2645	orf19.4311	Nucleoside diphosphate kinase	0,37	0,25

**Tab. 21: Microarray-Experiment „*efg1*/wt HF“.** Regulierte Gene in der *efg1*-Mutante HLC52 unter hypoxischen Bedingungen im Vergleich zum Wildtyp CAF2-1 (181 Gene bei einer FDR<sup>1</sup> von 5,2 %). Die Anzucht erfolgte in flüssigem YPD-Medium bei 30 °C (Tab. 10).

<sup>1</sup>FDR: „false discovery rate“: Prozentsatz nicht-signifikant regulierter Gene

<sup>2</sup>q-Wert: bezeichnet die niedrigste FDR, bei der das Gen als „signifikant reguliert“ bezeichnet wird.

Gen-Name	Orf- Nummer	CA-Nummer	Beschreibung (nach CandidaDB: <a href="http://genolist.pasteur.fr/CandidaDB/">http://genolist.pasteur.fr/CandidaDB/</a> )	-fache Regulation	q- Wert <sup>2</sup>
<b>Positiv regulierte Gene</b>					
<b>Atmungskette</b>					
<i>RIP1</i>	CA6149	orf19.5893	Ubiquinol cytochrome-c reductase	1,7	1,84
<b>Eisenmetabolismus</b>					
<i>FET31</i>	CA2922	orf19.4213	cell surface ferroxidase	1,6	4,40
<i>FET32</i>	CA2923	orf19.4212	cell surface ferroxidase	1,8	0,53
<i>FET34.3EOC</i>	CA1431	orf19.1206	iron transport multicopper oxidase,	3,6	0,53
<i>FET5</i>	CA2920	orf19.4215	multicopy oxidase	2,2	4,40
<i>FTR1</i>	CA5345	orf19.7219	high affinity iron permease	3,6	0,53
<i>FTR2</i>	CA5354	orf19.7231	high affinity iron permease	2,5	1,76
<b>Ergosterolsynthese</b>					
<i>ERG1</i>	CA1353	orf19.406	squalene epoxidase	1,5	4,40
<b>Glukoneogenese</b>					
<i>FBP1</i>	CA3199	orf19.6178	Fructose-1,6-bisphosphatase	1,6	0,53
<b>GTP-Bindung</b>					
<i>GTR1</i>	CA1677	orf19.3617	GTP-binding protein	1,5	2,52
<b>Glykosylierung</b>					
<i>KTR2</i>	CA1444	orf19.4494	mannosyltransferase	1,6	3,17
<i>MNN9</i>	CA5681	orf19.7383	Required for complex N-glycosylation	1,5	0,53
<b>Transkription</b>					
<i>CTA4</i>	CA5671	orf19.7374	Probable transcription factor	1,5	1,69
<i>HOS1</i>	CA1453	orf19.4411	Putative histon deacetylase	1,6	0,80
<i>JA2</i>	CA1155	orf19.107	ATP-dependent RNA helicases-like	1,6	0,80
<i>MBP1</i>	CA2953	orf19.5855	transcription factor	2,4	0,80
<i>MED8</i>	CA2328	orf19.4497	transcriptional regulation mediator	1,5	4,40

<i>RPC53</i>	CA1275	orf19.2715	DNA-directed RNA polymerase III	1,5	5,24
<b>Translation</b>					
<i>ATE1</i>	CA2736	orf19.2110	arginyl tRNA transferase	1,9	4,40
<i>KRS1</i>	CA5947	orf19.6749	Lysyl-tRNA synthetase	1,6	0,53
<i>RPS15.3</i>	CA6123	orf19.5927	40S ribosomal protein S15,	2,0	0,53
<i>SEN15</i>	CA0857	orf19.4464	tRNA splicing endonuclease delta subunit	1,5	0,80
<b>Unbekannte und unklassifizierte</b>					
<i>AOX2</i>	CA2189	orf19.4773	alternative oxidase	1,5	0,53
<i>APN1</i>	CA5723	orf19.7428	AP endonuclease, exonuclease III homologue	1,9	1,84
<i>BAT22</i>	CA5040	orf19.6994	branched chain amino acid aminotransferase	1,7	0,53
<i>CAN2</i>	CA1191	orf19.111	amino acid permease	1,9	1,76
<i>CCT2</i>	CA3174	orf19.1402	chaperonin of the TCP1 ring complex,cytosolic	2,3	4,40
<i>CDR1</i>	CA6066	orf19.6000	multidrug resistance protein	1,6	0,53
<i>CRD1</i>	CA2832	orf19.4784	Cu-transporting P1-type ATPase	1,9	1,69
<i>CTK1</i>	CA4014	orf19.1619	probable cell division protein kinase	1,9	3,51
<i>DBP2.EXON2</i>	CA1415	orf19.171	ATP-dependent RNA helicase of DEAD box family	1,5	0,53
<i>ENA21.3</i>	CA4425	orf19.5170	P-type ATPase,	1,5	2,77
<i>ENA22</i>	CA4929	orf19.6070	P-type ATPase involved in Na <sup>+</sup> efflux	1,8	0,53
<i>FDH3.3F</i>	CA1253	orf19.1774	formate dehydrogenase,	2,2	1,27
<i>HGT11</i>	CA1506	orf19.4527	hexose transporter	1,5	3,51
<i>HOM2</i>	CA3984	orf19.1559	Aspartate-semialdehyde dehydrogenase	1,7	0,53
<i>HPT1</i>	CA3787	orf19.5832	hypoxanthine guanine phosphoribosy transferase	1,6	4,40
<i>HUB1</i>	CA1206	orf19.3774.1	Ubiquitin-like modifier	1,8	5,24
<i>IFA12</i>	CA2755	orf19.5619	unknown function	1,6	1,27
<i>IFA5</i>	CA3506	orf19.6353	unknown function	1,6	3,17
<i>IFC4</i>	CA0442	orf19.2292	unknown function	1,8	2,77
<i>KRE1</i>	CA2589	orf19.4377	secretory pathway protein	1,9	0,53
<i>NOG2</i>	CA2847	orf19.5733	unknown function	1,5	0,53
<i>NPR2</i>	CA3381	orf19.328	nitrogen permease regulator	1,8	1,84
<i>orf19.1049</i>	CA0925	orf19.1049	unknown function	1,5	0,53
<i>orf19.138</i>	CA1815	orf19.138	unknown function	1,6	3,17
<i>orf19.1418</i>	CA3959	orf19.1418	Sec15p component of the exocyst complex	1,5	1,84
<i>orf19.1490</i>	CA1345	orf19.1490	Msb2p multicopy suppressor of CDC24	1,6	1,76
<i>orf19.1539</i>	CA1028	orf19.1539	unknown function	2,0	1,76
<i>orf19.1588</i>	CA3157	orf19.1588	unknown function	1,9	2,77
<i>orf19.1708</i>	CA1559	orf19.1708	unknown function	1,8	0,53
<i>orf19.1863</i>	CA4497	orf19.1863	unknown function	1,6	4,40
<i>orf19.1885</i>	CA4481	orf19.1885	Mpt1p required for protein synthesis	1,5	0,53
<i>orf19.1902</i>	CA4470	orf19.1902	unknown function	1,8	4,40
<i>orf19.2041</i>	CA3650	orf19.2041	unknown function	1,5	0,53
<i>orf19.2049</i>	CA3657	orf19.2049	unknown function	1,5	1,76
<i>orf19.2333</i>	CA3338	orf19.2333	unknown function	1,8	0,53
<i>orf19.2459</i>	CA1872	orf19.2459	unknown function	1,9	1,27
<i>orf19.2685</i>	CA2769	orf19.2685	unknown function	1,8	0,53
<i>orf19.284</i>	CA2781	orf19.284	unknown function	4,6	0,53
<i>orf19.286</i>	CA2783	orf19.286	unknown function	2,8	1,05
<i>orf19.3245</i>	CA5442	orf19.3245	unknown function	1,7	5,24
<i>orf19.3261</i>	CA5454	orf19.3261	member of the FRP family	1,6	3,17
<i>orf19.3475</i>	CA2903	orf19.3475	unknown function	1,7	0,53
<i>orf19.3852</i>	CA1032	orf19.3852	unknown function	2,3	3,51
<i>orf19.3876</i>	CA3551	orf19.3876	unknown function	1,5	4,40
<i>orf19.3969</i>	CA1309	orf19.3969	unknown function	2,0	1,76
<i>orf19.4191.2</i>	CA1307	orf19.4191.2	unknown function	2,2	1,84
<i>orf19.4193</i>	CA1305	orf19.4193	unknown function	2,2	4,40
<i>orf19.4282</i>	CA3065	orf19.4282	unknown function	1,6	1,76
<i>orf19.454</i>	CA0475	orf19.454	unknown function	1,5	4,40
<i>orf19.4612</i>	CA5175	orf19.4612	Similar to Legionella pneumophila sbpA	1,7	1,05
<i>orf19.4792</i>	CA2839	orf19.4792	unknown function	3,1	0,53
<i>orf19.5019</i>	CA5244	orf19.5019	unknown function	2,1	0,53
<i>orf19.5065</i>	CA0535	orf19.5065	Erd1p required for retention of luminal ER proteins	1,7	0,53
<i>orf19.5297</i>	CA2159	orf19.5297	Tfb1p transcription initiation factor	1,6	1,84
<i>orf19.5305</i>	CA5476	orf19.5305	unknown function	3,8	0,53
<i>orf19.5314</i>	CA0097	orf19.5314	unknown function	2,9	4,40
<i>orf19.5340</i>	CA5498	orf19.5340	unknown function	1,5	0,53
<i>orf19.5491</i>	CA2678	orf19.5491	unknown function	1,5	2,77
<i>orf19.5725</i>	CA2049	orf19.5725	unknown function	1,7	4,40
<i>orf19.5840</i>	CA3780	orf19.5840	unknown function	1,6	1,76

<i>orf19.5890</i>	CA6151	orf19.5890	unknown function	1,6	1,76
<i>orf19.5919</i>	CA6128	orf19.5919	unknown function	3,0	2,52
<i>orf19.6175</i>	CA3196	orf19.6175	unknown function	1,7	1,69
<i>orf19.6736</i>	CA4359	orf19.6736	unknown function	1,6	4,40
<i>orf19.6742</i>	CA5952	orf19.6742	Fcp1p TFIIF interacting component of CTD phosphatase	1,5	0,80
<i>orf19.6824</i>	CA5885	orf19.6824	unknown function	1,8	2,52
<i>orf19.7050</i>	CA5644	orf19.7050	unknown function	1,5	3,17
<i>orf19.7576</i>	CA5980	orf19.7576	unknown function	1,5	3,51
<i>orf19.938</i>	CA5395	orf19.938	unknown function	1,5	3,17
<i>PDE2</i>	CA3450	orf19.2972	Nucleotide phosphodiesterase	1,5	5,24
<i>PHO84.3EOC</i>	CA1782	orf19.1172	Inorganic phosphate transport protein,	1,7	1,27
<i>PTR21</i>	CA4707	orf19.6937	peptide transporter	1,6	0,53
<i>PUB1</i>	CA5666	orf19.7368	Major polyadenylated RNA-binding protein	1,5	1,27
<i>RFG1.3f</i>	CA0346	orf19.2824	regulator of filamentous growth and virulence	1,5	1,76
<i>RIM1</i>	CA3804	orf19.2483	telomere-binding protein	1,5	0,53
<i>RIM9</i>	CA1150	orf19.101	regulator for sporulation and invasive growth	2,5	2,52
<i>SPE2</i>	CA2712	orf19.568	adenosylmethionine decarboxylase precursor	2,4	0,80
<i>SRP40</i>	CA1666	orf19.2859	RNA I and II suppressor	2,9	4,40
<i>URA7</i>	CA1635	orf19.3941	CTP synthase 1	1,6	0,53
<i>YHB1</i>	CA0943	orf19.3707	flavohemoglobin	2,0	0,53
<i>ZRC1</i>	CA1030	orf19.1537	Zinc and cadmium resistance protein	1,8	3,17

## Negativ regulierte Gene

### Fettsäuresynthese

<i>ACB1.EXON2</i>	CA5225	orf19.7043.1	acyl-coenzyme-A-binding protein	0,57	0,53
<i>ACCI</i>	CA5816	orf19.7466	acetyl-coenzyme-A carboxylase	0,49	0,53
<i>FAS2.3F</i>	CA6107	orf19.5949	fatty-acyl-CoA synthase, alpha chain	0,56	0,53
<i>OLE1</i>	CA3921	orf19.5117	Stearoyl-CoA desaturase	0,63	1,69
<i>PDA1</i>	CA4412	orf19.3097	Pyruvate dehydrogenase alpha chain	0,65	0,80
<i>PDB1</i>	CA2162	orf19.5294	pyruvate dehydrogenase	0,51	1,69

### Fermentation

<i>ADH5</i>	CA2391	orf19.2608	probable alcohol dehydrogenase	0,59	0,53
-------------	--------	------------	--------------------------------	------	------

### Glykolyse

<i>ENO1</i>	CA3874	orf19.395	Enolase I	0,65	0,53
<i>GLK1</i>	CA0263	orf19.13	aldohexose specific glucokinase	0,44	0,53
<i>GPH1</i>	CA5206	orf19.7021	Glycogen phosphorylase	0,38	0,53

### Hyphenspezifische Gene

<i>ALS4.3F</i>	CA1528	orf19.4556	agglutinin-like protein	0,38	0,53
<i>DDR48</i>	CA4336	orf19.4082	stress protein	0,46	0,53
<i>NRG1</i>	CA5289	orf19.7150	transcriptional repressor Nrg1p/Nrg2p	0,56	0,53
<i>RBT5</i>	CA2558	orf19.5636	repressed by TUP1 protein 5	0,63	2,77

### Streßantwort

<i>CTA1</i>	CA3011	orf19.6229	catalase A, peroxisomal	0,48	1,05
<i>GRP2</i>	CA2644	orf19.4309	Reductase	0,65	0,53
<i>HSP104</i>	CA5135	orf19.6389	Heat shock protein	0,65	1,05
<i>HSP12</i>	CA0627	orf19.3160	Heat shock protein	0,27	0,53
<i>SOD1.3</i>	CA4120	orf19.2770.1	Cu,Zn-superoxide dismutase	0,62	1,05
<i>SSA4</i>	CA1230	orf19.4980	cahsp70 mRNA for heat shock	0,52	0,53

### Tri-Carbonsäure-Zyklus

<i>GAD1</i>	CA1564	orf19.1153	Glutamate decarboxylase	0,58	0,53
<i>MDH1</i>	CA5164	orf19.4602	Mitochondrial malate dehydrogenase	0,61	0,53

### Unbekannte und unklassifizierte

<i>ADE1</i>	CA5829	orf19.7484	phosphoribosyl-amidoimidazole-succinocarboxamide synthetase	0,66	0,80
<i>CPY1.3F (PRC1)</i>	CA0430	orf19.1339	Carboxypeptidase Y precursor	0,64	0,53
<i>CWH8</i>	CA1146	orf19.3682	putative required protein for dolichol-linked oligosaccharides in the ER	0,59	0,53
<i>EFG1</i>	CA2787	orf19.610	Enhanced filamentous growth factor	0,65	1,84
<i>IFQ3</i>	CA2597	orf19.54	unknown function	0,55	0,53
<i>IFU6.3F</i>	CA2687	unknown	Unknown function	0,67	0,53
<i>GSY1</i>	CA5467	orf19.3278	glycogen synthase	0,49	0,53
<i>MSW1</i>	CA2636	orf19.4299	Mitochondrial tryptophanyl-tRNA synthetase	0,65	0,53
<i>orf19.1122</i>	CA0360	orf19.1122	unknown function	0,64	0,53
<i>orf19.1721</i>	CA2796	orf19.1721	Nce103p inv. in non-classical prot. export pathway	0,61	0,53

<i>orf19.1728</i>	CA1644	<i>orf19.1728</i>	unknown function	0,65	1,84
<i>orf19.1729</i>	CA1643	<i>orf19.1729</i>	unknown function	0,56	0,80
<i>orf19.1862</i>	CA0386	<i>orf19.1862</i>	unknown function	0,61	0,80
<i>orf19.1889</i>	CA4478	<i>orf19.1889</i>	unknown function	0,63	0,53
<i>orf19.2071</i>	CA4825	<i>orf19.2071</i>	unknown function	0,64	0,53
<i>orf19.2296</i>	CA0446	<i>orf19.2296</i>	Similar to mucin proteins	0,61	1,05
<i>orf19.2344</i>	CA2342	<i>orf19.2344</i>	probable heat shock protein	0,61	0,80
<i>orf19.251</i>	CA0828	<i>orf19.251</i>	unknown function	0,48	4,40
<i>orf19.260</i>	CA0109	<i>orf19.260</i>	unknown function	0,65	0,80
<i>orf19.2607</i>	CA2392	<i>orf19.2607</i>	unknown function	0,63	0,80
<i>orf19.2762</i>	CA4127	<i>orf19.2762</i>	unknown function	0,25	0,53
<i>orf19.28</i>	CA3611	<i>orf19.28</i>	unknown function	0,52	0,53
<i>orf19.3139</i>	CA3571	<i>orf19.3139</i>	unknown function	0,64	0,53
<i>orf19.3325</i>	CA2938	<i>orf19.3325</i>	Glg2p self-glucosylating initiator of glycogen synth.	0,65	2,52
<i>orf19.3335</i>	CA1716	<i>orf19.3335</i>	unknown function	0,56	0,53
<i>orf19.424</i>	CA4049	<i>orf19.424</i>	unknown function	0,62	1,05
<i>orf19.4246</i>	CA2186	<i>orf19.4246</i>	putative phosphatidyl synthase	0,52	0,53
<i>orf19.4390</i>	CA3912	<i>orf19.4390</i>	unknown function	0,52	0,53
<i>orf19.4907</i>	CA2021	<i>orf19.4907</i>	unknown function	0,52	0,53
<i>orf19.5145</i>	CA3629	<i>orf19.5145</i>	related to flavin-containing monooxygenase	0,16	0,53
<i>orf19.5232.1</i>	CA1105	<i>orf19.5232.1</i>	unknown function	0,60	0,80
<i>orf19.5267</i>	CA4983	<i>orf19.5267</i>	unknown function	0,56	0,53
<i>orf19.5334</i>	CA5494	<i>orf19.5334</i>	Tis11p tRNA-specific adenosine deaminase 3	0,66	0,53
<i>orf19.5431</i>	CA5784	<i>orf19.5431</i>	unknown function	0,64	2,52
<i>orf19.566</i>	CA0059	<i>orf19.566</i>	unknown function	0,62	0,53
<i>orf19.5689</i>	CA2609	<i>orf19.5689</i>	Sec28p epsilon-COP coatomer subunit	0,67	0,53
<i>orf19.6024</i>	CA2152	<i>orf19.6024</i>	unknown function	0,65	2,52
<i>orf19.6313</i>	CA3279	<i>orf19.6313</i>	unknown function	0,61	0,80
<i>orf19.6407</i>	CA5121	<i>orf19.6407</i>	unknown function	0,66	0,80
<i>orf19.675</i>	CA4111	<i>orf19.675</i>	unknown function	0,61	1,05
<i>orf19.6757</i>	CA5940	<i>orf19.6757</i>	aldo/keto reductase	0,61	0,53
<i>orf19.6816</i>	CA5891	<i>orf19.6816</i>	putative aldehyde reductase	0,65	0,53
<i>orf19.7350</i>	CA5650	<i>orf19.7350</i>	unknown function	0,49	0,53
<i>orf19.868</i>	CA1203	<i>orf19.868</i>	Unknown function	0,58	0,53
<i>PET8</i>	CA5616	<i>orf19.7082</i>	mitochondrial carrier protein	0,46	0,53
<i>PHR2</i>	CA3867	<i>orf19.6081</i>	pH-regulated protein 2	0,67	2,77
<i>PRC1</i>	CA0430	<i>orf19.1339</i>	Carboxypeptidase Y precursor	0,41	0,53
<i>PST2</i>	CA1673	<i>orf19.3612</i>	1,4-benzoquinone reductase	0,59	0,53
<i>RIB2</i>	CA2531	<i>orf19.3177</i>	DRAP deaminase	0,66	0,53
<i>SKI2</i>	CA5108	<i>orf19.6425</i>	Antiviral protein and putative helicase	0,65	2,77
<i>SNZ1</i>	CA4184	<i>orf19.2947</i>	stationary phase protein	0,63	0,80
<i>SOU1</i>	CA3771	<i>orf19.2896</i>	Sorbitol utilization protein Sou1p	0,67	5,24
<i>TAL1</i>	CA2582	<i>orf19.4371</i>	transaldolase	0,65	1,84
<i>TFS1</i>	CA0748	<i>orf19.1974</i>	cdc25-dependent cell-cycle regulator	0,64	1,27
<i>URA3</i>	CA2801	<i>orf19.1716</i>	orotidine-5 -monophosphate decarboxylase	0,47	0,53
<i>ZORRO2B.5F</i>	CA5386	<i>orf19.7277</i>	Putative gag protein, 5-prime end	0,66	1,69

**Tab. 22: Microarray-Experiment „*efg1*/wt AP“.** Regulierte Gene in der *efg1*-Mutante HLC52 unter aeroben (bzw. normoxischen) Bedingungen im Vergleich zum Wildtyp CAF2-1 (404 Gene bei einer FDR<sup>1</sup> von 5,0 %). Die Anzucht erfolgte auf festem YPD-Medium bei 30 °C (Tab. 10).

<sup>1</sup>FDR: „false discovery rate“: Prozentsatz nicht-signifikant regulierter Gene

<sup>2</sup>q-Wert: bezeichnet die niedrigste FDR, bei der das Gen als „signifikant reguliert“ bezeichnet wird.

Gen-Name	Orf- Nummer	CA-Nummer	Beschreibung (nach CandidaDB: <a href="http://genolist.pasteur.fr/CandidaDB/">http://genolist.pasteur.fr/CandidaDB/</a> )	-fache Regulation	q- Wert <sup>2</sup>
<b>Positiv regulierte Gene</b>					
<b>Atmungskette</b>					
<i>RIP1</i>	CA6149	<i>orf19.5893</i>	Ubiquinol cytochrome-c reductase	1,9	0,16
<b>Drogenresistenz</b>					
<i>CDR1</i>	CA6066	<i>orf19.6000</i>	multidrug resistance protein	2,0	0,16

<i>CDR11.5F</i>	CA0610	orf19.918	multidrug resistance protein	1,8	0,16
<i>HOL5.3F</i>	CA3162	orf19.1583	member of superfamily multidrug-resistance protein	1,5	0,70
<i>SNG2</i>	CA2618	orf19.2812	drug transporter	5,6	2,18
<b>Fermentation</b>					
<i>IPF20104</i>	CA2520	orf19.5517	alcohol dehydrogenase	1,6	0,41
<i>ALD5</i>	CA4159	orf19.5806	aldehyde dehydrogenase (NAD <sup>+</sup> )	1,7	0,16
<b>Fettsäuresynthese</b>					
<i>OLE1</i>	CA3921	orf19.5117	Stearoyl-CoA desaturase	1,7	0,16
<i>PLB1</i>	CA1975	orf19.689	phospholipase B	1,9	0,51
<b>Hyphenspezifische Gene</b>					
<i>ECE1</i>	CA1402	orf19.3374	Cell Elongation Protein	3,4	0,16
<i>HWP1</i>	CA2825	orf19.1321	Hyphal wall protein	1,6	0,16
<b>Transkription</b>					
<i>CTA24</i>	CA2495	orf19.4054	transcriptional regulation	1,5	0,16
<i>CTA241.EXON2</i>	CA2614	orf19.5699.1	transcriptional activator	1,6	0,16
<i>CTA25</i>	CA0050	orf19.362	transcriptional activation	1,5	0,41
<i>HOS1</i>	CA1453	orf19.4411	Putative histon deacetylase	3,1	1,68
<i>IPF1266</i>	CA5670	orf19.7372	Probable transcription factor	2,4	4,59
<i>MBP1</i>	CA2953	orf19.5855	transcription factor	1,8	1,56
<i>SNF5.5F</i>	CA6164	orf19.5872	Component of SWI/SNF transcript. activator compl.	1,6	4,99
<i>SRB9</i>	CA4547	orf19.1451	DNA-directed RNA polymerase II	1,5	0,16
<b>Transporter</b>					
<i>JEN1</i>	CA5737	orf19.7447	Carboxylic acid transporter protein	2,1	0,16
<i>PHO84</i>	CA0083	orf19.655	high-affinity inorganic phosphate/H <sup>+</sup> symporter	2,7	0,16
<i>PHO84.3EOC</i>	CA1782	orf19.1172	Inorganic phosphate transport protein	1,7	4,99
<i>IPF5942</i>	CA5903	orf19.6803	transmembrane sugar transporter	1,6	1,56
<i>ZRT1</i>	CA4398	orf19.3112	high-affinity zinc transport protein	2,5	0,16
<i>ZRT2</i>	CA3160	orf19.1585	zinc transport protein	12,0	0,16
<b>(Peptidtransporter)</b>					
<i>OPT2.53F</i>	CA2870	orf19.2847.1	Oligopeptide transporter	2,0	2,07
<i>PTR21</i>	CA4707	orf19.6937	peptide transporter	2,6	0,16
<b>Tri-Carbonsäure-Zyklus</b>					
<i>LSC2.3EOC2</i>	CA3376	orf19.1857.1	succinate-CoA ligase beta subunit	2,8	4,59
<b>Unbekannte und unklassifizierte</b>					
<i>ACF3</i>	CA5091	orf19.3066	endo-1,3-beta-glucanase	1,7	1,68
<i>ALS5</i>	CA2852	orf19.5736	agglutinin-like protein	1,6	0,16
<i>ALS7</i>	CA5699	orf19.7400	agglutinin-like protein	3,4	1,56
<i>AMO1</i>	CA2809	orf19.5784	amine oxidase	1,5	0,51
<i>BET5</i>	CA2508	orf19.302	targeting and fusion of ER to Golgi transp. vesicles	1,5	4,59
<i>CHA12</i>	CA3945	orf19.1996	L-serine/L-threonine deaminase	1,7	0,16
<i>DFG5</i>	CA4822	orf19.2075	Required for filamentous growth	1,6	0,16
<i>DPH52.3EOC</i>	CA4284	orf19.6682	Diphthamide methyltransferase	2,8	4,59
<i>DRS23</i>	CA3385	orf19.323	Membrane-spanning Ca-ATPase	3,7	1,08
<i>FDH3.3F</i>	CA1253	orf19.1774	formate dehydrogenase	1,5	1,08
<i>FRE7</i>	CA5621	orf19.7077	Ferric reductase transmembrane component	2,5	0,16
<i>FRP1</i>	CA3813	orf19.2496	member of the FRP family	2,4	0,16
<i>FRP2</i>	CA3153	orf19.6169	member of the FRP family	2,1	0,16
<i>FUN34.5EOC</i>	CA3154	orf19.6169.2	unknown function	1,7	0,16
<i>GAC1</i>	CA5641	orf19.7053	ser/thr phosphoprotein phosphatase 1	1,9	0,16
<i>GFA1</i>	CA4016	orf19.1618	glutamine:fructose-6-phosphate amidotransferase	2,9	4,59
<i>HOK</i>	CA5192	orf19.7004	unknown function	1,9	0,51
<i>HRR25</i>	CA2902	orf19.3476	casein kinase I	1,5	0,16
<i>HYR1</i>	CA1576	orf19.4975	hyphally regulated protein	1,6	0,16
<i>IFC1</i>	CA3257	orf19.3746	Unknown Function	1,6	0,16
<i>IFC4</i>	CA0442	orf19.2292	unknown function	3,2	0,16
<i>IFD1</i>	CA0840	unknown	Putative aryl-alcohol dehydrogenase	2,0	0,51
<i>IFD5</i>	CA0924	orf19.1048	Putative aryl-alcohol dehydrogenase	2,6	2,07
<i>IFF6</i>	CA1621	orf19.4072	unknown function	1,7	0,16
<i>IPF10124</i>	CA2776	orf19.276	Alcohol acetyltransferase	1,6	0,70
<i>IPF10214</i>	CA1476	orf19.1093	unknown function	1,7	0,16
<i>IPF10490</i>	CA2124	orf19.419	unknown function	1,7	0,16
<i>IPF11469</i>	CA2248	orf19.2366	unknown function	4,4	3,53
<i>IPF11725</i>	CA2903	orf19.3475	unknown function	4,0	0,16
<i>IPF12076</i>	CA5879	orf19.6830	enoyl CoA hydratase	1,5	0,16
<i>IPF12209</i>	CA1743	orf19.5053	Eco1p inv. in sister chromatid cohesion during repl.	1,5	3,94
<i>IPF12316</i>	CA1098	orf19.5069	unknown function	2,6	0,16
<i>IPF1252</i>	CA5664	orf19.7366	Conserved hypothetical protein	1,9	2,18

<i>IPF12758.3F</i>	CA0393	orf19.333.2	unknown function	1,5	0,16
<i>IPF12758.5F</i>	CA0394	orf19.334	unknown function	3,3	0,16
<i>IPF12946</i>	CA2040	orf19.4356	unknown function	1,5	0,41
<i>IPF12992</i>	CA0921	orf19.1043	unknown function	1,8	0,16
<i>IPF13121.3</i>	CA3161	orf19.1584	unknown function	2,2	0,16
<i>IPF13131.3</i>	CA3158	orf19.1587	unknown function	1,7	0,16
<i>IPF13352</i>	CA2078	orf19.4873	unknown function	1,8	0,16
<i>IPF13398</i>	CA0724	orf19.35	protein kinase	4,5	3,53
<i>IPF13582</i>	CA3338	orf19.2333	unknown function	2,4	0,16
<i>IPF13607</i>	CA4951	orf19.6527	unknown function	1,5	1,56
<i>IPF14109</i>	CA0380	orf19.2451	unknown function	1,8	0,70
<i>IPF14348.3</i>	CA3231	orf19.6293.1	unknown function	1,8	1,56
<i>IPF14510</i>	CA1779	orf19.1826	unknown function	2,1	0,16
<i>IPF14618</i>	CA0286	orf19.6079	unknown function	3,0	0,16
<i>IPF15119</i>	CA0200	orf19.1534	unknown function	3,3	0,16
<i>IPF1531</i>	CA4632	orf19.338	unknown function	1,6	0,51
<i>IPF15581</i>	CA1720	orf19.4651	unknown function	3,2	4,59
<i>IPF1566</i>	CA5412	orf19.956	unknown function	2,2	2,70
<i>IPF15781</i>	CA1238	orf19.716	unknown function	2,7	0,16
<i>IPF15784</i>	CA1237	orf19.715	unknown function	1,7	0,41
<i>IPF15870</i>	CA2769	orf19.2685	unknown function	3,0	0,16
<i>IPF16233</i>	CA0814	orf19.1914	unknown function	1,7	0,16
<i>IPF16320</i>	CA1754	orf19.5131	Unknown function	1,9	0,16
<i>IPF16758</i>	CA1697	orf19.5043	unknown function	1,8	2,70
<i>IPF17068</i>	CA3275	orf19.6309	unknown function	1,7	1,08
<i>IPF17272</i>	CA0860	orf19.3522	unknown function	2,4	0,16
<i>IPF17358</i>	CA0112	orf19.5754	unknown function	2,6	0,16
<i>IPF17652.3</i>	CA0037	orf19.6078	reverse transcriptase	2,6	0,16
<i>IPF1839</i>	CA6158	orf19.5879	1-Acyl dihydroxyacetone phosphate reductase	5,7	4,59
<i>IPF18512</i>	CA2209	orf19.695	unknown function	1,5	0,16
<i>IPF1857</i>	CA6150	orf19.5892	Hul4p hect domain E3 ubiquitin-protein ligase	1,5	3,94
<i>IPF1862.5F</i>	CA6147	orf19.5895	unknown function	1,5	0,16
<i>IPF1863</i>	CA6146	orf19.5896	unknown function	2,2	0,16
<i>IPF1869</i>	CA6145	orf19.5897	unknown function	1,6	0,16
<i>IPF19700</i>	CA0614	orf19.1600	unknown function	1,6	0,51
<i>IPF19702</i>	CA0646	orf19.4330	unknown function	1,9	0,16
<i>IPF19896</i>	CA1032	orf19.3852	unknown function	4,0	1,56
<i>IPF19906</i>	CA1201	orf19.4869	unknown function	2,9	2,70
<i>IPF19908</i>	CA1242	orf19.1344	unknown function	1,6	1,08
<i>IPF1992</i>	CA5570	orf19.7336	putative MFS transporter	2,8	0,16
<i>IPF19977</i>	CA3211	orf19.6192	unknown function	1,6	3,53
<i>IPF20008</i>	CA4124	orf19.2767	unknown function	1,8	0,16
<i>IPF2382</i>	CA5899	orf19.6807	unknown function	1,6	0,16
<i>IPF2471</i>	CA5728	orf19.7437	maltose acetyltransferase	1,6	0,16
<i>IPF2702</i>	CA1134	orf19.2163	unknown function	1,6	0,16
<i>IPF2710.REPEAT1</i>	CA1133	orf19.2160	putative permease	1,5	2,07
<i>IPF2795</i>	CA5936	orf19.6763	unknown function	1,8	0,41
<i>IPF2908</i>	CA5749	orf19.7459	unknown function	1,5	2,18
<i>IPF3309.3EOC</i>	CA5696	orf19.7398	unknown function	1,9	0,16
<i>IPF3311</i>	CA5694	orf19.7396	unknown function	1,9	0,16
<i>IPF3393</i>	CA2087	orf19.836	unknown function	1,5	2,18
<i>IPF3418</i>	CA3193	orf19.6170	unknown function	2,1	1,68
<i>IPF3439</i>	CA3200	orf19.6180	unknown function	1,7	0,16
<i>IPF3446</i>	CA3204	orf19.6186	Unknown function	1,7	0,16
<i>IPF3624</i>	CA4341	orf19.6713	unknown function	1,8	0,16
<i>IPF4129</i>	CA3647	orf19.2038	unknown function	2,6	0,16
<i>IPF4292</i>	CA4250	orf19.539	bleomycin Hydrolase	2,8	0,16
<i>IPF4450</i>	CA0684	unknown	unknown function	1,6	0,16
<i>IPF4580</i>	CA4955	orf19.6522	putative allantoate permease	1,6	0,70
<i>IPF4764</i>	CA3938	orf19.2005	unknown Function	3,1	0,41
<i>IPF4842</i>	CA6070	orf19.5994	Rsg1p ras-related GTP-binding protein	2,4	0,16
<i>IPF4847</i>	CA6069	orf19.5995	unknown function	4,3	0,16
<i>IPF498</i>	CA5626	orf19.7071	unknown function	1,9	4,59
<i>IPF5556</i>	CA1363	orf19.4424	acid phosphatase	2,7	0,41
<i>IPF5915</i>	CA0670	orf19.449	phosphatidyl synthase	1,6	1,56
<i>IPF5965</i>	CA5911	orf19.6794	NADH-ubiquinone oxidoreductase	1,5	0,16
<i>IPF5972</i>	CA5551	orf19.7314	putative cysteine dioxygenase	2,1	0,16

<i>IPF6003</i>	CA1345	orf19.1490	Msb2p multicopy suppressor	2,0	0,16
<i>IPF6011</i>	CA1000	orf19.1486	unknown function	2,4	0,16
<i>IPF6235</i>	CA2216	orf19.5372	<i>Candida albicans</i> Tca2 retrotransposon	1,7	0,16
<i>IPF643</i>	CA6009	orf19.7610	Ptp3p protein tyrosine phosphatase	1,6	0,16
<i>IPF6488</i>	CA1028	orf19.1539	unknown function	3,1	1,08
<i>IPF6493</i>	CA0193	orf19.1541	unknown function	1,9	0,16
<i>IPF650</i>	CA6007	orf19.7608	unknown function	1,8	1,56
<i>IPF6748</i>	CA3393	orf19.315	unknown function	3,3	4,99
<i>IPF6916</i>	CA1522	orf19.3791	unknown function	1,6	0,51
<i>IPF7561</i>	CA5016	orf19.6968	unknown function	1,5	0,16
<i>IPF7635</i>	CA1783	orf19.1171	unknown function	1,6	0,41
<i>IPF8336</i>	CA2839	orf19.4792	unknown function	2,0	4,59
<i>IPF8527</i>	CA5476	orf19.5305	unknown function	2,3	0,16
<i>IPF8535</i>	CA2156	orf19.5302	unknown function	1,5	0,41
<i>IPF9101</i>	CA2548	orf19.2833	unknown function	2,8	0,16
<i>IPF9251</i>	CA3639	orf19.5133	unknown function	1,8	0,16
<i>IPF9282</i>	CA2178	orf19.1510	unknown function	1,5	0,41
<i>IPF9413</i>	CA3411	orf19.6146	unknown function	1,9	0,41
<i>IPF9955</i>	CA2452	orf19.3499	unknown function	1,9	0,16
<i>LPI9</i>	CA3110	orf19.6544	Microtubule-associated protein	2,0	0,16
<i>LYS2</i>	CA0916	orf19.2970	L-aminoadipate-semialdehyde dehydrogenase	1,5	0,16
<i>NCE102</i>	CA6097	orf19.5960	secretion of prot. that lack classical secretory signal sequence	2,1	0,16
<i>NOG1</i>	CA5682	orf19.7384	Nucleolar G-protein	2,5	4,99
<i>OPS4</i>	CA3713	orf19.4934	opaque - phase specific protein OP4	4,7	0,16
<i>PEP1.3</i>	CA2171	orf19.3767	Vacuolar protein sorting/targeting protein	1,7	0,16
<i>PHO11</i>	CA0616	orf19.2619	Secreted acid phosphatase	3,3	0,16
<i>PMA1</i>	CA2300	orf19.5383	plasma membrane H <sup>+</sup> -transporting ATPase 1	1,7	0,16
<i>PMC1</i>	CA1645	orf19.1727	Ca <sup>2+</sup> -transporting P-type ATPase	2,1	0,16
<i>POL1</i>	CA6163	orf19.5873	DNA-directed DNA polymerase alpha	1,7	0,16
<i>PRA1</i>	CA4399	orf19.3111	pH-regulated antigen	4,7	0,16
<i>RGT1</i>	CA1172	orf19.2747	Regulator of glucose-induced genes	1,9	1,08
<i>RIM9</i>	CA1150	orf19.101	regulator for sporulation and invasive growth	3,7	4,99
<i>RNH1</i>	CA0277	orf19.5614	ribonuclease H	1,9	0,16
<i>RPN4</i>	CA2854	orf19.1069	26S proteasome subunit	2,0	0,16
<i>RPS620A</i>	CA3267	orf19.6300	unknown function	2,0	0,70
<i>RPS620B</i>	CA3268	orf19.6301	unknown function	1,9	0,41
<i>SCW1</i>	CA0156	orf19.1779	glucanase	1,7	0,16
<i>SNU71</i>	CA0492	orf19.1491	Associated with U1 snRNP	1,9	0,70
<i>SOD22.3F</i>	CA5588	unknown	superoxide dismutase	1,8	1,56
<i>STE23</i>	CA1653	orf19.5561	protease involved in a-factor processing	2,8	0,16
<i>TIM22</i>	CA0367	orf19.1352	Mitochondrial import inner membrane translocase	1,8	0,51
<i>VTC2</i>	CA3918	orf19.4381	putative polyphosphate synthetase	2,3	0,16
<i>YHB1</i>	CA0943	orf19.3707	flavo-hemoglobin	12,3	0,16
<i>YHV1</i>	CA6087	orf19.5971	unknown function	1,6	0,16
<i>ZORRO2A.3F</i>	CA0709	orf19.3387	Reverse transcriptase	1,5	0,70

## Negativ regulierte Gene

### Aminosäurepermease

<i>AGP2</i>	CA3244	orf19.4679	amino-acid permease	0,52	0,16
<i>GAP6</i>			General amino acid permease	0,39	0,16

### Eisenaufnahme

<i>FRE30.3</i>	CA3416	orf19.6139	Strong similarity to ferric reductase Fre2p	0,34	0,16
<i>FRE30.53</i>	CA3415	orf19.6140	Strong similarity to ferric reductase	0,37	0,16
<i>FRE5</i>	CA2556	orf19.5634	ferric reductase transmembrane component	0,62	0,16
<i>CFL2</i>	CA3461	orf19.1264	ferric reductase	0,63	0,16

### Fermentation

<i>ADH1</i>	CA4765	orf19.3997	alcohol dehydrogenase	0,44	0,16
<i>ADH2</i>	CA3923	orf19.5113	alcohol dehydrogenase I	0,52	0,16
<i>ADH5</i>	CA2391	orf19.2608	probable alcohol dehydrogenase	0,11	0,16

### Glykolyse

<i>HXK2.3F</i>	CA0127	orf19.542	hexokinase II	0,60	0,70
<i>GPM1</i>	CA4671	orf19.903	phosphoglycerate mutase	0,46	0,16
<i>GLK1</i>	CA0263	orf19.13	aldohexose specific glucokinase	0,41	0,16
<i>ENO1</i>	CA3874	orf19.395	Enolase I (2-phosphoglycerate dehydratase)	0,34	0,16

<i>FBA1</i>	CA5180	orf19.4618	fructose-bisphosphate aldolase	0,45	0,16
<b>Hyphe-spezifische Gene</b>					
<i>DDR48</i>	CA4336	orf19.4082	stress protein	0,26	0,16
<i>RBT5</i>	CA2558	orf19.5636	repressed by TUP1 protein 5	0,34	0,16
<i>SAP4</i>	CA2055	orf19.5716	secreted aspartyl proteinase	0,05	1,68
<i>SAP6</i>	CA0968	orf19.5542	secreted aspartyl protease	0,18	0,16
<b>Streßantwort</b>					
<i>CTA1</i>	CA3011	orf19.6229	catalase A, peroxisomal	0,44	0,16
<i>HSP12</i>	CA0627	orf19.3160	Heat shock protein	0,09	0,16
<i>HSP30</i>	CA1507	orf19.4526	heat shock protein	0,09	0,16
<i>HSP78.3F</i>	CA4683	orf19.884	heat shock protein of clpb family of ATP-dependent proteases	0,52	0,16
<i>HSP78.5F</i>	CA4684	orf19.882	heat shock protein of clpb family of ATP-dependent proteases	0,51	0,16
<i>GRP2</i>	CA2644	orf19.4309	Reductase	0,65	3,53
<i>MGE1</i>	CA1738	orf19.2524	heat shock protein	0,56	0,16
<i>SOD2</i>	CA2719	orf19.3340	Manganese-superoxide dismutase	0,58	0,16
<i>SSA4</i>	CA1230	orf19.4980	cahsp70 mRNA for heat shock	0,31	0,16
<i>SSB1</i>	CA3534	orf19.6367	heat shock protein 70	0,65	0,16
<i>SSC1</i>	CA4474	orf19.1896	Mitochondrial heat shock protein 70-related protein	0,59	0,16
<i>SSE1</i>	CA1911	orf19.2435	heat shock protein of HSP70 family	0,59	0,16
<i>TPS2</i>	CA5066	orf19.3038	Threulose-6-phosphate phosphatase	0,40	0,16
<i>TPS3.3</i>	CA5505	orf19.5348	alpha,alpha-trehalose-phosphate synthase	0,63	0,16
<b>Transkription</b>					
<i>PTR3</i>	CA4194	orf19.4535	transcriptional regulator	0,63	3,94
<i>SUA70</i>	CA5082	orf19.3059	TFIIB subunit (transcription initiation factor E)	0,57	0,41
<i>MBF1</i>	CA4604	orf19.3294	Multiprotein bridging factor mediates GCN4-dependent transcriptional activation	0,65	0,16
<b>Transkriptionsfaktor</b>					
<i>CTA211.3F</i>	CA0498	orf19.2661	transcriptional activator	0,04	0,16
<i>TYE7</i>	CA3707	orf19.4941	Basic helix-loop-helix transcription factor	0,32	0,16
<i>TBP1</i>	CA2369	orf19.1837	TATA-binding protein	0,52	0,16
<i>TFC4</i>	CA2774	orf19.274	transcription factor IIIC chain TFC4- like	0,04	0,41
<b>Translation</b>					
<i>EFB1</i>	CA4862	orf19.3838	translation elongation factor eEF1beta	0,55	2,18
<i>RPL10</i>	CA2047	orf19.2935	Ribosomal protein L10	0,59	0,16
<i>RPL11</i>	CA0763	orf19.2232	60S ribosomal protein	0,57	0,16
<i>RPL12</i>	CA4001	orf19.1635	ribosomal protein	0,09	0,16
<i>RPL2.3</i>	CA3307	orf19.2309.2	ribosomal protein L8	0,57	0,16
<i>RPL20B</i>	CA0736	orf19.4632	ribosomal protein	0,59	0,16
<i>RPL21A.3</i>	CA2092	orf19.840	Ribosomal protein	0,61	0,16
<i>RPL23B.3</i>	CA2454	orf19.3504	ribosomal protein L23.e	0,54	0,16
<i>RPL25.3</i>	CA1977	orf19.687.1	ribosomal protein L23a	0,48	0,16
<i>RPL28.3F</i>	CA1662	unknown	Ribosomal protein	0,57	0,41
<i>RPL29</i>	CA3305	orf19.2310.1	ribosomal protein	0,51	0,16
<i>RPL3</i>	CA0615	orf19.1601	60S large subunit ribosomal protein L3.e	0,67	0,16
<i>RPL33.3</i>	CA4571	orf19.6882.1	ribosomal protein L35a	0,51	0,16
<i>RPL43A.3</i>	CA1637	orf19.3942.1	ribosomal protein	0,48	0,16
<i>RPL5</i>	CA3111	orf19.6541	ribosomal protein	0,53	0,16
<i>RPL7A.3</i>	CA3800	orf19.2478.1	60S Ribosomal Protein L7-A	0,66	0,16
<i>RPP1B</i>	CA5317	orf19.7188	Acidic ribosomal protein L44	0,63	0,16
<i>RPP2</i>	CA5125	orf19.6403.1	acidic ribosomal protein	0,66	0,16
<i>RPS10.3</i>	CA3739	orf19.2179.2	ribosomal protein	0,57	0,16
<i>RPS17.3</i>	CA3341	orf19.2329.1	Ribosomal protein S17	0,62	0,41
<i>RPS21</i>	CA1715	orf19.3334	ribosomal protein	0,59	0,16
<i>RPS22</i>	CA3539	orf19.6375	ribosomal protein	0,59	0,16
<i>RPS23</i>	CA0567	orf19.6253	Ribosomal protein S23	0,47	0,16
<i>RPS25B</i>	CA4269	orf19.6663	Cytosolic ribosomal protein	0,50	0,16
<i>RPS28B.3</i>	CA5646	orf19.7048.1	Ribosomal protein S28B	0,50	0,16
<i>RPS3</i>	CA3278	orf19.6312	Ribosomal protein S3.e	0,63	0,16
<i>RPS31</i>	CA2011	orf19.3087	Ubiquitin fusion protein	0,55	0,16
<i>RPS6A</i>	CA2708	orf19.4660	ribosomal protein S6	0,62	0,16
<i>RPS8A</i>	CA4562	orf19.6873	ribosomal protein	0,60	0,16
<i>TUF1</i>	CA4909	orf19.6047	Translation elongation factor TU	0,66	0,16
<b>Tri-Carbonsäure-Zyklus</b>					
<i>MDH1</i>	CA5164	orf19.4602	Mitochondrial malate dehydrogenase precursor	0,66	0,16
<b>Zellwand/-membran</b>					

<i>ALS12.3F</i>	CA0413	orf19.2122	agglutinin-like protein	0,27	0,16
<i>ALS4.3F</i>	CA1528	orf19.4556	agglutinin-like protein	0,33	0,16
<i>ECM41.3</i>	CA2386	orf19.2613	involved in cell wall biogenesis and architecture	0,57	0,16
<i>SUN42</i>	CA5232	orf19.5032	Putative cell wall beta-glucosidase	0,63	0,51
<i>EXG2</i>	CA4180	orf19.2952	glucan 1,3-beta-glucosidase-like	0,14	0,16
<b>Zuckertransporter</b>					
<i>HXT5.3F</i>	CA1069	orf19.2021	sugar transporter	0,42	0,16
<i>HXT61</i>	CA1070	orf19.2020	sugar transporter	0,61	0,16
<b>Unbekannte und unklassifizierte</b>					
<i>ACH1</i>	CA0345	orf19.3171	acetyl-coenzyme-A hydrolase	0,64	0,41
<i>ACR1</i>	CA0783	orf19.3931	Succinate-fumarate transporter	0,66	1,08
<i>ARC19.EXON2</i>	CA5448	orf19.3251	subunit of the Arp2/3 complex	0,45	2,70
<i>ARD8</i>	CA3288	orf19.6322	D-arabinitol dehydrogenase	0,63	0,16
<i>ATP7</i>	CA1907	orf19.2785	F1F0-ATPase complex	0,59	0,16
<i>BNA1</i>	CA0804	orf19.3515	3-hydroxyanthranilic acid dioxygenase	0,63	2,70
<i>BUB3</i>	CA0526	orf19.2655	cell cycle arrest protein	0,55	0,16
<i>CAR2</i>	CA2561	orf19.5641	ornithine aminotransferase	0,42	0,16
<i>CDC19</i>	CA3483	orf19.3575	pyruvate kinase	0,51	0,16
<i>COF1</i>	CA5409	orf19.953.1	cofilin	0,54	1,68
<i>CRN1.3F</i>	CA4940	orf19.6535	actin-binding protein	0,08	0,16
<i>CYP1</i>	CA0972	orf19.6472	cyclophilin (peptidylprolyl isomerase)	0,50	0,16
<i>CYS4</i>	CA4195	orf19.4536	cystathionine beta-synthase	0,64	0,16
<i>EFG1</i>	CA2787	orf19.610	Enhanced filamentous growth factor	0,43	0,16
<i>EGD1</i>	CA1565	orf19.1154	GAL4 DNA-binding enhancer protein	0,62	0,16
<i>FDH11.3</i>	CA6000	orf19.7600	glutathione-dependent formaldehyde dehydrogenase	0,56	0,16
<i>FMT1</i>	CA2352	orf19.4418	Methionyl-tRNA Transformylase	0,18	0,41
<i>GDH3</i>	CA1579	orf19.4716	NADP-glutamate dehydrogenase	0,27	0,16
<i>GSH1.EXON1</i>	CA0584	orf19.5060	Gamma-glutamylcysteine synthetase	0,67	3,94
<i>HNT1</i>	CA2345	orf19.2341	similarity to protein kinase C	0,49	0,16
<i>ICL1</i>	CA4446	orf19.6844	Isocitrate lyase	0,66	0,16
<i>IFU5</i>	CA2679	orf19.2568	Unknown function	0,38	2,70
<i>ILV5</i>	CA1983	orf19.88	ketol-acid reducto-isomerase	0,65	0,41
<i>IPF10138.3F</i>	CA1355	orf19.408	unknown function	0,29	0,16
<i>IPF10138.5F</i>	CA1356	orf19.409	unknown function	0,45	0,16
<i>IPF10455</i>	CA1153	orf19.104	unknown function	0,65	0,41
<i>IPF10482</i>	CA4049	orf19.424	unknown function	0,57	1,68
<i>IPF10558</i>	CA3239	orf19.4684.2	unknown function	0,47	0,16
<i>IPF11625</i>	CA3084	orf19.4149	unknown function	0,56	0,16
<i>IPF11646</i>	CA0368	orf19.1353	unknown function	0,65	1,08
<i>IPF11738</i>	CA3306	orf19.2310	unknown function	0,66	4,59
<i>IPF1193</i>	CA4818	orf19.2079	unknown function	0,59	0,16
<i>IPF12428</i>	CA0599	orf19.2667	unknown function	0,63	0,16
<i>IPF12793</i>	CA2534	orf19.3182	Gis2p containing seven zinc finger motifs	0,64	0,41
<i>IPF13493</i>	CA0586	orf19.5063	Unknown function	0,63	0,16
<i>IPF13838</i>	CA2341	orf19.2346	unknown function	0,55	3,53
<i>IPF14282</i>	CA0446	orf19.2296	Similar to mucin proteins	0,40	0,16
<i>IPF14495.3</i>	CA0859	orf19.4466	Erf2p involved in palmitoylation and localization of Ras2p	0,60	3,53
<i>IPF14559.5F</i>	CA1757	orf19.5128	unknown function	0,60	2,18
<i>IPF14994</i>	CA0005	orf19.2414	unknown function	0,44	0,16
<i>IPF15177</i>	CA0365	orf19.750	unknown function	0,11	0,16
<i>IPF15220</i>	CA0326	orf19.3780	unknown function	0,07	0,16
<i>IPF15297</i>	CA5078	orf19.3053	unknown function	0,66	1,56
<i>IPF15672</i>	CA2392	orf19.2607	unknown function	0,66	0,16
<i>IPF15957</i>	CA0171	orf19.1105.2	unknown function	0,65	2,07
<i>IPF16016</i>	CA2477	orf19.2881	unknown function	0,51	0,16
<i>IPF16253</i>	CA0782	orf19.3932	unknown function	0,46	0,16
<i>IPF16761</i>	CA0502	orf19.2664	unknown function	0,12	2,07
<i>IPF16981</i>	CA1871	orf19.2458	unknown function	0,45	0,16
<i>IPF16981.EXON2</i>	CA1870	unknown	unknown function	0,47	0,16
<i>IPF17054</i>	CA1693	orf19.5037	unknown function	0,60	0,16
<i>IPF17074</i>	CA2001	orf19.2792	unknown function	0,67	2,07
<i>IPF17283</i>	CA2021	orf19.4907	unknown function	0,51	0,16
<i>IPF17840</i>	CA0059	orf19.566	unknown function	0,37	0,16
<i>IPF18393</i>	CA3028		unknown function	0,37	0,41
<i>IPF18508</i>	CA2218	orf19.5375	unknown function	0,17	3,94
<i>IPF19126</i>	CA0202	orf19.1210	putative aminoacid transporter	0,58	0,16

<i>IPF19421</i>	CA0022	orf19.162	unknown function	0,18	0,16
<i>IPF19435</i>	CA0018		unknown function	0,12	0,16
<i>IPF19766</i>	CA2746		unknown function	0,61	0,41
<i>IPF19785</i>	CA3599	orf19.4929	unknown function	0,58	2,18
<i>IPF19801</i>	CA4566	orf19.6877	unknown function	0,39	0,16
<i>IPF19802</i>	CA4610	orf19.3301	Met30p involved in cell cycle progression	0,64	0,16
<i>IPF19980</i>	CA0093	orf19.100	putative lipase	0,01	2,07
<i>IPF19998</i>	CA3743	orf19.2175	unknown function	0,55	0,16
<i>IPF20054</i>	CA0262	orf19.6117	unknown function	0,63	0,41
<i>IPF20161</i>	CA4125	orf19.2765	unknown function	0,46	0,16
<i>IPF20169</i>	CA4381	orf19.5674	unknown function	0,43	0,16
<i>IPF2373</i>	CA5210	orf19.7027	unknown function	0,63	0,41
<i>IPF2485</i>	CA5827	orf19.7482	unknown function	0,64	0,41
<i>IPF2615</i>	CA4291	orf19.6688	unknown function	0,10	0,16
<i>IPF277</i>	CA5460	orf19.3268	human IgE-dependent histamine-releasing factor homolog	0,53	0,16
<i>IPF2839</i>	CA5535	orf19.7296	unknown function	0,39	0,16
<i>IPF2857</i>	CA5526	orf19.7284	unknown function	0,42	0,16
<i>IPF2873</i>	CA5733	orf19.7443	unknown function	0,65	2,70
<i>IPF3161</i>	CA0626	orf19.3161	unknown function	0,48	2,18
<i>IPF3598</i>	CA5072	orf19.3047	Sip3p protein which interacts with Snf1p prot kinase	0,44	0,16
<i>IPF3659</i>	CA4672	orf19.900	Nsp1p nuclear pore protein	0,52	0,16
<i>IPF3701</i>	CA5055	orf19.3021	unknown function	0,60	0,16
<i>IPF3937</i>	CA1203	orf19.868	Unknown function	0,54	0,16
<i>IPF4065</i>	CA0386	orf19.1862	unknown function	0,30	0,16
<i>IPF4071</i>	CA0385	orf19.1861	unknown function	0,33	0,16
<i>IPF4119</i>	CA0125	orf19.2030	unknown function	0,56	0,16
<i>IPF4181</i>	CA5798	orf19.5447	putative permease	0,51	0,16
<i>IPF4182</i>	CA5797	orf19.5446	unknown function	0,40	0,16
<i>IPF4608</i>	CA3865	orf19.6084	unknown function	0,41	0,16
<i>IPF4696</i>	CA4970	orf19.5282	unknown function	0,53	0,16
<i>IPF4722</i>	CA3252	orf19.3738	unknown function	0,11	1,68
<i>IPF4817</i>	CA1023	orf19.3351.1	unknown function	0,61	0,41
<i>IPF4820</i>	CA1022	orf19.3353	complex I intermediate associated prot. CIA30	0,57	0,16
<i>IPF4905</i>	CA0899	orf19.411	unknown function	0,66	0,16
<i>IPF4929</i>	CA6045	orf19.7661	Hmi1p mitochondrial DNA helicase	0,65	4,59
<i>IPF4959</i>	CA6057	orf19.7676	D-xylulose reductase	0,50	0,16
<i>IPF4991</i>	CA1075	orf19.2531	putative membrane protein	0,58	0,16
<i>IPF5009</i>	CA4089	orf19.6648	unknown function	0,56	1,68
<i>IPF514</i>	CA5619	orf19.7079	Bud3p budding protein	0,42	2,07
<i>IPF5185</i>	CA1678	orf19.3618	putative cell wall protein	0,32	0,16
<i>IPF5330</i>	CA1339	orf19.3448	unknown function	0,63	0,16
<i>IPF5625</i>	CA5586	orf19.7112	unknown function	0,56	0,16
<i>IPF5742</i>	CA4625	orf19.3319	thioredoxin-like protein	0,64	3,53
<i>IPF5981</i>	CA5547	orf19.7310	Gin3p	0,51	0,16
<i>IPF6006</i>	CA1001	orf19.1488	unknown function	0,18	1,56
<i>IPF6328</i>	CA1807	orf19.1114	unknown function	0,67	0,16
<i>IPF6340</i>	CA1459	orf19.1107	unknown function	0,46	0,16
<i>IPF6391</i>	CA3435	orf19.583	similare mammalian indoleamine 2,3-dioxygenase	0,65	0,16
<i>IPF6624</i>	CA0293	orf19.6489	unknown function	0,35	0,16
<i>IPF6629</i>	CA4127	orf19.2762	unknown function	0,50	0,16
<i>IPF7141</i>	CA3986	orf19.1562	unknown function	0,33	0,16
<i>IPF7477</i>	CA1919	orf19.2442	unknown function	0,61	1,68
<i>IPF7530</i>	CA4190	orf19.4531	ATP-binding-cassette protein	0,36	0,16
<i>IPF7539</i>	CA1514	orf19.4886	unknown function	0,45	0,16
<i>IPF7715</i>	CA0706	orf19.682	unknown function	0,27	0,16
<i>IPF7733</i>	CA4732	orf19.4855	unknown function	0,07	2,18
<i>IPF7737</i>	CA4730	orf19.4857	unknown function	0,18	4,59
<i>IPF857</i>	CA5351	orf19.7227	unknown function	0,25	0,16
<i>IPF8762</i>	CA4220	orf19.822	unknown function	0,20	0,16
<i>IPF8915</i>	CA3127	orf19.1359	unknown function	0,02	1,08
<i>IPF8951</i>	CA2360	orf19.4897	unknown function	0,03	1,08
<i>IPF9057</i>	CA2649	orf19.1189	unknown function	0,48	0,16
<i>IPF9113</i>	CA2995	orf19.6121	unknown function	0,58	0,16
<i>IPF9145</i>	CA0962	orf19.6245	unknown function	0,43	0,16
<i>IPF9167</i>	CA2697	orf19.2737	unknown function	0,50	0,16
<i>IPF9169</i>	CA2696	orf19.2736	Bur6p functional homolog of human NC2alpha	0,55	0,16

<i>IPF946</i>	CA5968	orf19.7561	unknown function	0,58	0,16
<i>IPF9496</i>	CA2620	orf19.2809	carnitine O-acetyltransferase	0,50	0,16
<i>IPF9552</i>	CA4569	orf19.6881	unknown function	0,55	0,16
<i>IPF9655</i>	CA4759	orf19.3988	unknown function	0,38	0,16
<i>IPF9808</i>	CA3148	orf19.6163	cse4p with strong similarity to histone H3	0,06	0,41
<i>KAP114</i>	CA5612	orf19.7086	putative RAN-binding protein/importin	0,56	0,16
<i>LEU42</i>	CA2310	orf19.1375	2-isopropylmalalate synthase	0,46	0,16
<i>MAM33</i>	CA5316	orf19.7187	Mitochondrial acidic matrix protein	0,61	0,16
<i>MET3</i>	CA5238	orf19.5025	ATP sulfurylase	0,64	0,16
<i>MGT1</i>	CA4402	orf19.3108	O6-methylguanine DNA repair methyltransferase	0,61	0,16
<i>MLS1</i>	CA4748	orf19.4833	malate synthase	0,66	2,07
<i>MNT2</i>	CA3467	orf19.1663	Alpha-1,2-mannosyltransferase	0,65	0,16
<i>MSN5.3F</i>	CA0601	orf19.2665	Importin-beta family member	0,58	0,16
<i>MSN5.5F</i>	CA0600	orf19.2666	Importin-beta family member	0,58	0,16
<i>NOP1</i>	CA3570	orf19.3138	Fibrillarlin	0,62	2,07
<i>PEX13</i>	CA5525	orf19.7282	Peroxisome import protein - peroxin	0,66	0,16
<i>PEX4</i>	CA4803	orf19.4041	E2 ubiquitin-conjugating enzyme -peroxin	0,63	0,16
<i>PLB3</i>	CA3834	orf19.6594	phospholipase B	0,64	0,16
<i>PPT1</i>	CA0298	orf19.1673	Protein ser/thr phosphatase	0,02	1,08
<i>PUT1</i>	CA1552	orf19.4274	proline oxidase	0,65	0,16
<i>RAD16</i>	CA0917	orf19.2969	nucleotide excision repair protein	0,64	2,07
<i>SEC2</i>	CA3598	orf19.4928	GDP/GTP exchange factor	0,54	0,16
<i>STF2</i>	CA2738	orf19.2107.1	ATP synthase regulatory factor	0,39	0,16
<i>SUR2</i>	CA2225	orf19.5818	Hydrox. of C-4 of the sphingoid moiety of ceramide	0,45	0,16
<i>TCA5A</i>	CA0455	orf19.2427	polyprotein of Tca5 retrotransposon	0,59	0,16
<i>TFS1</i>	CA0748	orf19.1974	cdc25-dependent nutrient- and ammonia-response cell-cycle regulator	0,66	0,16
<i>TPK1</i>	CA2355	orf19.4892	cAMP-dependent protein kinase 2	0,59	0,16
<i>TRX1</i>	CA6010	orf19.7611	thioredoxin	0,59	0,16
<i>TRX2</i>	CA0467	orf19.1976	thioredoxin	0,65	0,16
<i>YAK1.3F</i>	CA0353	orf19.147	serine/threonine protein kinase	0,54	0,16
<i>ZORRO1A</i>	CA0930	orf19.559	Putative reverse transcriptase	0,66	0,16

**Tab. 23: Microarray-Experiment „*efg1*/wt MP“.** Regulierte Gene in der *efg1*-Mutante HLC52 unter mikroaerophilen Bedingungen im Vergleich zum Wildtyp CAF2-1 (408 Gene bei einer FDR<sup>1</sup> von 4,7 %). Die Anzucht erfolgte auf festem YPD-Medium bei 30 °C (Tab. 10).

<sup>1</sup>FDR: „false discovery rate“: Prozentsatz nicht-signifikant regulierter Gene

<sup>2</sup>q-Wert: bezeichnet die niedrigste FDR, bei der das Gen als „signifikant reguliert“ bezeichnet wird.

Gen-Name	Orf-Nummer	CA-Nummer	Beschreibung (nach CandidaDB: <a href="http://genolist.pasteur.fr/CandidaDB/">http://genolist.pasteur.fr/CandidaDB/</a> )	-fache Regulation	q-Wert <sup>2</sup>
<b>Positiv regulierte Gene</b>					
<b>Drogenresistenz</b>					
<i>CDR1</i>	CA6066	orf19.6000	multidrug resistance protein	1,6	0,15
<i>CDR11.3F</i>	CA0609	orf19.919	multidrug resistance protein	1,5	0,15
<i>CDR11.5F</i>	CA0610	orf19.918	multidrug resistance protein	1,9	0,15
<i>CDR4</i>	CA3895	orf19.5079	Multidrug resistance protein	2,3	0,15
<i>HOL5.3F</i>	CA3162	orf19.1583	member of multidrug-resistance protein	1,5	0,15
<b>Eisentransport</b>					
<i>ZRT2</i>	CA3160	orf19.1585	zinc transport protein	8,3	0,15
<b>Fettsäuresynthese</b>					
<i>FAA4</i>	CA5992	orf19.7592	long-chain fatty acid--CoA ligase and synthetase 4	1,5	0,15
<i>FAS2.3F</i>	CA6107	orf19.5949	fatty-acyl-CoA synthase	1,7	0,15
<i>FAS2.53F</i>	CA6106	orf19.5948.1	fatty-acyl-CoA synthase	1,6	0,15
<i>FAS2.5F</i>	CA6105	orf19.5951	fatty-acyl-CoA synthase	2,7	0,29
<b>Hyphenspezifische Gene</b>					
<i>ECE1</i>	CA1402	orf19.3374	Cell Elongation Protein	1,8	0,23
<b>Proteinmodifikation (Phosphorylierung)</b>					
<i>IPF3001</i>	CA5026	orf19.6980	serine/threonine protein kinase	1,7	0,59
<i>MCK1</i>	CA2027	orf19.3459	ser/thr/tyr protein kinase	1,5	0,15

<i>MRS6</i>	CA5922	orf19.6783	geranylgeranyltransferase regulatory subunit	2,0	0,15
<b>Streßantwort</b>					
<i>HSP90</i>	CA4959	orf19.6515	heat shock protein	1,6	0,15
<i>SIS1</i>	CA3098	orf19.3861	heat shock protein	1,9	0,15
<i>SSA1</i>	CA2857	orf19.1065	Heat shock protein of HSP70 family	1,7	0,15
<i>SSE1</i>	CA1911	orf19.2435	heat shock protein of HSP70 family	2,4	0,15
<i>SOD22.3F</i>	CA5588	orf19.7111.2	superoxide dismutase	1,5	0,29
<b>Transkriptionsfaktoren</b>					
<i>RIM101</i>	CA5367	orf19.7247	Zn finger transcription factor homolog	1,6	0,15
<i>IPF14682</i>	CA5657	orf19.7359	putative transcription factor	1,6	0,15
<i>IPF15604</i>	CA0457	orf19.2432	transcription factor	1,9	0,41
<i>IPF4835</i>	CA6071	orf19.5992	zinc finger protein	1,6	2,11
<b>Translation</b>					
<i>MRPL31</i>	CA0908	orf19.1485	Mitochondrial ribosomal protein	1,6	0,15
<i>RPL4B</i>	CA5343	orf19.7217	Ribosomal protein L4B	1,7	0,15
<i>RPS18</i>	CA5203	orf19.7018	Ribosomal protein S18	1,6	2,43
<b>Zellwand/-membran</b>					
<i>ALS7</i>	CA5699	orf19.7400	agglutinin-like protein	2,0	0,15
<b>Unbekannte und unklassifizierte</b>					
<i>ALK2</i>	CA5856	orf19.7513	n-alkane inducible cytochrome P-450	1,5	0,15
<i>ALR1</i>	CA0796	orf19.1607	divalent cation transporter	1,7	2,11
<i>AOX2</i>	CA2189	orf19.4773	alternative oxidase	1,5	3,69
<i>APL3</i>	CA1908	orf19.2786	AP-2 complex subunit	1,6	0,41
<i>AUT2</i>	CA0113	orf19.2401	anchor protein mediateing attachment of autophagosomes to microtubules	1,5	0,15
<i>CDC4</i>	CA2059	orf19.2559	CANAL CELL DIVISION CONTROL PROTEIN 4	2,5	0,46
<i>CDC45</i>	CA0399	orf19.1988	Chromosomal DNA replication initiation protein	1,6	0,15
<i>CHL4</i>	CA4453	orf19.6851	chromosome segregation protein	1,6	2,43
<i>CMP2</i>	CA1587	orf19.6033	Calcineurin B	1,6	0,23
<i>CPA2</i>	CA0687	orf19.3221	arginine-specific carbamoylphosphate	1,7	0,15
<i>CRD1</i>	CA2832	orf19.4784	Cu-transporting P1-type ATPase	1,8	0,15
<i>DRS1</i>	CA6029	orf19.7635	ATP dependent RNA helicase	1,5	0,82
<i>GCV2</i>	CA3883	orf19.385	Glycine decarboxylase P subunit	1,8	2,11
<i>IDP1</i>	CA2131	orf19.5211	isocitrate dehydrogenase	1,6	0,15
<i>IFR1</i>	CA2258	orf19.1763	Unknown function	1,6	0,46
<i>IPF10457</i>	CA1152	orf19.103	nuclear fusion protein-like	1,8	0,15
<i>IPF10490</i>	CA2124	orf19.419	unknown function	1,8	0,15
<i>IPF11347</i>	CA1342	orf19.4340.1	unknown function	1,6	0,29
<i>IPF11378</i>	CA0080	orf19.632	unknown function	2,1	0,15
<i>IPF11388</i>	CA0176	orf19.652	unknown function	1,7	2,11
<i>IPF11445</i>	CA1800	orf19.2921	Pac2p involved in the stabilization of microtubules	1,8	2,98
<i>IPF11646</i>	CA0368	orf19.1353	unknown function	1,5	1,85
<i>IPF11725</i>	CA2903	orf19.3475	unknown function	3,4	0,15
<i>IPF11829</i>	CA3109	orf19.6548	unknown function	1,5	0,15
<i>IPF12086</i>	CA3103		unknown function	1,5	2,98
<i>IPF12141</i>	CA0222	orf19.1952	unknown function	1,5	1,85
<i>IPF12253</i>	CA4727	orf19.4861	unknown function	1,9	0,82
<i>IPF12316</i>	CA1098	orf19.5069	unknown function	2,7	0,15
<i>IPF12758.5F</i>	CA0394	orf19.334	unknown function	2,6	0,15
<i>IPF12964</i>	CA3887	orf19.5093	Sfh1p of the RSC chromatin remodeling complex	1,5	0,15
<i>IPF13582</i>	CA3338	orf19.2333	unknown function	2,0	0,15
<i>IPF13618</i>	CA3397	orf19.3972	unknown function	1,8	2,11
<i>IPF13704</i>	CA4628		unknown function	1,5	0,15
<i>IPF1394</i>	CA5092	orf19.6450	unknown function	1,6	0,23
<i>IPF14506</i>	CA2949	orf19.1961	unknown function	1,9	0,15
<i>IPF14510</i>	CA1779	orf19.1826	unknown function	1,7	0,41
<i>IPF14514</i>	CA0682	orf19.4701	unknown function	1,6	2,43
<i>IPF14618</i>	CA0286	orf19.6079	unknown function	2,7	0,15
<i>IPF14630</i>	CA1850	orf19.641	unknown function	1,7	0,41
<i>IPF15015</i>	CA0276	orf19.5612	unknown function	1,6	0,85
<i>IPF15119</i>	CA0200	orf19.1534	unknown function	2,2	0,15
<i>IPF1514</i>	CA4637	orf19.344	unknown function	1,5	0,15
<i>IPF15581</i>	CA1720	orf19.4651	unknown function	2,0	0,23
<i>IPF15832</i>	CA3247	orf19.4676	unknown function	1,7	0,23
<i>IPF1621</i>	CA4893	orf19.6585	unknown function	1,6	0,23
<i>IPF16925</i>	CA2543	orf19.2828	unknown function	1,6	0,69
<i>IPF17021</i>	CA3662	orf19.6464	unknown function	1,7	2,43

<i>IPF17272</i>	CA0860	orf19.3522	unknown function	3,5	0,15
<i>IPF17358</i>	CA0112	orf19.5754	unknown function	2,1	0,15
<i>IPF17652.3</i>	CA0037	orf19.6078	reverse transcriptase	2,2	0,15
<i>IPF1837</i>	CA6159	orf19.5877	unknown function	1,5	0,59
<i>IPF19142</i>	CA0184	orf19.3984	unknown function	1,5	0,15
<i>IPF19617</i>	CA0249	orf19.1350	unknown function	1,6	0,15
<i>IPF19664</i>	CA2141	orf19.2511	unknown function	1,5	0,46
<i>IPF1968</i>	CA5557	orf19.7321	unknown function	1,5	0,15
<i>IPF19688</i>	CA0301	orf19.1606	unknown function	1,5	0,15
<i>IPF19947</i>	CA2351	orf19.4420	unknown function	1,6	0,15
<i>IPF20065</i>	CA0779	orf19.3491	Yku70p high-affinity DNA-binding protein	1,6	0,15
<i>IPF2268.3</i>	CA4441	orf19.6834.3	unknown function	2,2	2,43
<i>IPF2409</i>	CA5889	orf19.6818	RNA-dependent ATPase	1,5	0,48
<i>IPF3540</i>	CA2616	orf19.2814	unknown function	1,5	0,23
<i>IPF3618</i>	CA4339	orf19.6710	Unknown function	1,7	0,15
<i>IPF3737</i>	CA0950	orf19.1012	Aps1p AP-1 complex subunit	1,5	0,15
<i>IPF4450</i>	CA0684	unknown	unknown function	1,7	0,15
<i>IPF4684</i>	CA3375	orf19.1857	unknown Function	1,5	0,23
<i>IPF4764</i>	CA3938	orf19.2005	unknown Function	1,6	0,15
<i>IPF4842</i>	CA6070	orf19.5994	Rsg1p ras-related GTP-binding protein	2,4	0,15
<i>IPF4847</i>	CA6069	orf19.5995	unknown function	1,6	0,15
<i>IPF5009</i>	CA4089	orf19.6648	unknown function	1,6	1,17
<i>IPF525</i>	CA5613	orf19.7085	unknown function	3,2	0,15
<i>IPF5915</i>	CA0670	orf19.449	phosphatidyl synthase	1,9	0,15
<i>IPF6011</i>	CA1000	orf19.1486	unknown function	1,7	0,29
<i>IPF6149</i>	CA1392	orf19.1767	Ubp8p deubiquinating enzyme	1,5	1,45
<i>IPF6255</i>	CA4542	orf19.1460	unknown function	2,1	2,11
<i>IPF6266</i>	CA3277	orf19.6311	unknown function	2,0	0,15
<i>IPF6325</i>	CA1809	orf19.1116	unknown function	1,6	0,29
<i>IPF6424</i>	CA2394	orf19.3535	unknown function	1,5	0,15
<i>IPF6679</i>	CA1326	orf19.1306	unknown function	1,5	1,45
<i>IPF7271</i>	CA1906	orf19.2784	unknown function	1,6	2,98
<i>IPF8744</i>	CA1549	orf19.4278	unknown function	1,5	0,41
<i>IPF8923</i>	CA5917	orf19.6788	unknown function	1,5	0,59
<i>IPF8942</i>	CA3621	orf19.204	unknown function	1,8	0,46
<i>IPF8976</i>	CA3137	orf19.1369	unknown function	1,6	0,29
<i>IPF9062</i>	CA2648	orf19.1187	unknown function	1,7	0,15
<i>IPF9063</i>	CA3620	orf19.203	Stb3p protein binding Sin3p	2,1	0,15
<i>IPF9098</i>	CA2551	orf19.2836	unknown function	1,6	0,15
<i>IPF9101</i>	CA2548	orf19.2833	unknown function	1,8	0,15
<i>IPF9413</i>	CA3411	orf19.6146	unknown function	2,1	0,15
<i>IPF9955</i>	CA2452	orf19.3499	unknown function	1,8	0,15
<i>KAR2</i>	CA0915	orf19.2013	dnaK-type molecular chaperone	1,6	0,15
<i>LPI9</i>	CA3110	orf19.6544	Microtubule-associated protein	2,3	0,15
<i>MCI4</i>	CA2680	orf19.2570	NADH dehydrogenase (ubiquinone)	1,6	2,11
<i>MPP10</i>	CA0813	orf19.1915	component of the U3 nucleolar ribonucleoprotein	1,5	0,15
<i>NCE102</i>	CA6097	orf19.5960	secretion of proteins that lack classical secretory signal sequence	1,7	0,15
<i>NUP116</i>	CA5724	orf19.7433	nuclear pore protein	1,5	0,46
<i>PDC12.EXON2</i>	CA5170	orf19.4607.2	Pyruvate decarboxylase I	1,5	2,43
<i>PHO80</i>	CA0409	orf19.5755	Cyclin	1,7	0,23
<i>PHO89</i>	CA5160	orf19.4599	Na <sup>+</sup> -coupled phosphate transport	1,8	0,23
<i>PLP2</i>	CA1389	orf19.1769	Might regulate Ste4p in pheromone response	2,1	0,15
<i>POR1</i>	CA0919	orf19.1042	mitochondrial outer membrane porin	1,6	0,15
<i>PRA1</i>	CA4399	orf19.3111	pH-regulated antigen	1,6	0,15
<i>RFC5</i>	CA0124	orf19.2029	DNA replication factor C	2,0	3,69
<i>RIB2</i>	CA2531	orf19.3177	DRAP deaminase	1,6	0,15
<i>RNH1</i>	CA0277	orf19.5614	ribonuclease H	1,6	1,85
<i>RPN4</i>	CA2854	orf19.1069	26S proteasome subunit	2,8	0,15
<i>SAM2</i>	CA0959	orf19.657	S-adenosylmethionine synthetase 2	1,6	1,17
<i>SCW1</i>	CA0156	orf19.1779	glucanase	1,8	0,15
<i>SFT2</i>	CA2344	orf19.2342	Sft2p suppressor of SED5	1,5	0,53
<i>STB5</i>	CA4617	orf19.3308	SIN3 binding protein	1,6	0,29
<i>UBA1</i>	CA5729	orf19.7438	Ubiquitin-activating enzyme	1,5	2,11
<i>YCF1</i>	CA1997	orf19.6478	Glutathione S-conjugate transporter	1,5	0,46
<i>YHB1</i>	CA0943	orf19.3707	flavo-hemoglobin	5,5	0,15
<i>IPF19968</i>	CA3030	orf19.220	putative cell wall protein of the PIR family	1,9	0,15

**Negativ regulierte Gene**

<b>Atmungskette</b>					
RIP1	CA6149	orf19.5893	Ubiquinol cytochrome-c reductase	0,65	0,95
<b>Eisenaufnahme</b>					
FET31	CA2922	orf19.4213	cell surface ferroxidase	0,43	0,15
FET32	CA2923	orf19.4212	cell surface ferroxidase	0,64	2,43
FET33	CA2924	orf19.4211	cell surface ferroxidase	0,58	0,53
FRE30.3	CA3416	orf19.6139	Strong similarity to ferric reductase Fre2p	0,22	0,15
FRE30.53	CA3415	orf19.6140	Strong similarity to ferric reductase	0,57	0,46
<b>Fermentation</b>					
ADH1	CA4765	orf19.3997	alcohol dehydrogenase	0,37	0,15
ADH5	CA2391	orf19.2608	probable alcohol dehydrogenase	0,15	0,15
<b>Glykolyse</b>					
CDC19	CA3483	orf19.3575	pyruvate kinase	0,59	0,23
ENO1	CA3874	orf19.395	Enolase I (2-phosphoglycerate dehydratase)	0,41	0,15
FBA1	CA5180	orf19.4618	fructose-bisphosphate aldolase	0,47	0,15
GLK1	CA0263	orf19.13	aldohexose specific glucokinase	0,39	0,15
GPM1	CA4671	orf19.903	phosphoglycerate mutase	0,52	0,15
PFK2	CA3112	orf19.6540	6-phosphofructokinase	0,61	0,15
PGK1	CA1691	orf19.3651	Phosphoglycerate kinase	0,48	0,15
<b>Hyphenspezifische Gene</b>					
DDR48	CA4336	orf19.4082	stress protein	0,21	0,15
RBT2	CA3957	orf19.1415	Repressed by TUP1 protein 2	0,63	2,11
RBT4	CA0104	orf19.6202	repressed by TUP1 protein	0,40	0,41
RBT5	CA2558	orf19.5636	repressed by TUP1 protein 5	0,16	0,48
<b>Permeasen</b>					
IPF2710.REPEAT1	CA1133	orf19.2160	putative permease	0,61	0,85
IPF8610	CA0480	orf19.2633	permease	0,66	1,17
IPF4181	CA5798	orf19.5447	putative permease	0,56	0,15
<b>(Aminosäurepermease)</b>					
AGP2	CA3244	orf19.4679	amino-acid permease	0,20	0,15
ALP1	CA3334	orf19.2337	amino-acid permease	0,51	0,15
AGP1	CA1373	orf19.1193	asparagine and glutamine permease	0,57	0,15
HIP1	CA3708	orf19.4940	Histidine permease	0,51	0,29
GAD1	CA1564	orf19.1153	Glutamate decarboxylase	0,64	0,15
GAP3	CA2638	orf19.4304	General amino acid permease	0,55	2,11
GAP6	CA4265	orf19.6659	General amino acid permease	0,47	0,15
CAN2	CA1191	orf19.111	amino acid permease	0,49	0,29
<b>Streßantwort</b>					
CTA1	CA3011	orf19.6229	catalase A	0,43	0,15
HSP12	CA0627	orf19.3160	Heat shock protein	0,29	0,15
HSP30	CA1507	orf19.4526	heat shock protein	0,33	0,15
HSP31	CA4034	orf19.3664	heat shock protein	0,52	0,15
IPF13836	CA2342	orf19.2344	probable heat shock protein	0,40	0,29
MGE1	CA1738	orf19.2524	heat shock protein	0,37	0,46
IPF15423	CA2737	orf19.2108	putative superoxide dismutase	0,46	0,15
GRP2	CA2644	orf19.4309	Reductase	0,66	1,85
GRP5	CA4558	orf19.6868	dihydroflavonol-4-reductases	0,23	0,15
GRP6	CA0672	orf19.3151	Putative reductase	0,39	0,95
TPS2	CA5066	orf19.3038	Threalose-6-phosphate phosphatase	0,42	0,15
TPS3.3	CA5505	orf19.5348	alpha.alpha-trehalose-phosphate synthase	0,63	0,15
<b>Transkription</b>					
ADA2	CA3340	orf19.2331	general transcriptional adaptor or co-activator	0,64	0,85
RET1	CA2878	orf19.5847	DNA-directed RNA polymerase III	0,48	0,69
TFB4	CA1303	orf19.4194	comp. of RNA polymerase TFIIF factor	0,58	0,41
HHF21	CA2862	orf19.1059	histone H4	0,58	0,23
HTA1	CA4696	orf19.6924	Histone H2A	0,53	0,15
<b>Transkriptionsfaktoren</b>					
TYE7	CA3707	orf19.4941	Basic helix-loop-helix transcription factor	0,28	0,15
CTA29.EXON2	CA5278	orf19.7127.1	Protein with putative transcription activation domain	0,60	1,17
IPF10795	CA0424	orf19.2356	putative transcription factor	0,37	0,41
SSN6	CA5907	orf19.6798	transcriptional repressor	0,65	0,59
<b>Translation</b>					
MRPL28	CA3872	orf19.397	mitochondrial ribosomal protein of the large subunit	0,60	0,48

RPL14B.3	CA3602	orf19.4931.1	ribosomal protein L14B	0,64	2,98
RPL82	CA3304	orf19.2311	60S ribosomal protein L7a.e.B	0,57	0,46
RPS10	CA2811	orf19.3002	Ribosomal protein 10	0,64	0,59
RPS21	CA1715	orf19.3334	ribosomal protein	0,66	0,46
RPS25B	CA4269	orf19.6663	Cytosolic ribosomal protein	0,66	0,29
RPS28B.3	CA5646	orf19.7048.1	Ribosomal protein S28B	0,60	0,59
RPS620A	CA3267	orf19.6300	unknown function	0,55	1,17
RPS620B	CA3268	orf19.6301	unknown function	0,64	0,69
<b>Transporter</b>					
CTR1	CA1496	orf19.3646	copper transport protein	0,53	0,15
SMF2	CA4827	orf19.2069	Manganese transporter	0,64	1,31
PTR21	CA4707	orf19.6937	peptide transporter	0,58	0,53
<b>(Zuckertransporter)</b>					
HXT5.3F	CA1069	orf19.2021	sugar transporter	0,33	0,15
HXT62	CA1067	orf19.2023	sugar transporter	0,49	0,85
IPF5942	CA5903	orf19.6803	transmembrane sugar transporter	0,64	0,69
IPF3282	CA3914	orf19.4386	hexose transporter	0,62	2,43
<b>Tri-Carbonsäure-Zyklus</b>					
ACO1	CA3546	orf19.6385	aconitate hydratase	0,64	0,69
CIT1.EXON2	CA3909	orf19.4393	Citrate synthase	0,38	0,15
<b>Vesikelverkehr</b>					
SNC2.EXON2	CA5257	orf19.5006.2	Strong similarity to synaptobrevin	0,63	1,31
TLG1	CA1049	orf19.3898	tSNARE that affects a Late Golgi compartment	0,66	0,35
TLG2	CA1029	orf19.1538	Syntaxin family of t-SNAREs	0,66	2,43
YKT6	CA3448	orf19.2974	Endoplasmic Reticulum-Golgi transport	0,65	0,59
SEC16.3F	CA0738	orf19.4346	Multidomain vesicle coat protein	0,55	0,41
SLY41	CA1300	orf19.4199	vesicular transport	0,59	0,15
SNF7	CA4903	orf19.6040	Class E Vps protein	0,65	0,41
TRS23	CA4042	orf19.3673	targeting and fusion of ER to golgi transport vesicles	0,42	0,35
<b>Zellwand/-membran</b>					
CHT2	CA1051	orf19.3895	chitinase 2 precursor	0,58	0,41
ECM21.3	CA1707	orf19.4887	Involved in cell wall biogenesis and architecture	0,64	0,35
IPF5185	CA1678	orf19.3618	putative cell wall protein	0,26	0,15
SUN42	CA5232	orf19.5032	Putative cell wall beta-glucosidase	0,20	0,15
ECM33.3	CA3115	orf19.3010.1	cell wall biogenesis	0,66	1,17
ECM41.3	CA2386	orf19.2613	involved in cell wall biogenesis and architecture	0,46	0,15
IPF17625	CA0811	orf19.1920	putative cell wall protein of the PIR family	0,06	0,69
<b>Unbekannte und unklassifizierte</b>					
AOX1	CA2190	orf19.4774	alternative oxidase	0,60	0,46
APS2	CA0568	orf19.1136	AP-2 complex subunit	0,54	0,23
ATP17.3	CA5852	orf19.7509.1	F1F0-ATPase complex	0,57	0,41
BEM1	CA0514	orf19.4645	bud emergence mediator	0,59	1,17
CAP2	CA5159	orf19.4597	F-actin capping protein	0,65	0,46
CCL1	CA4200	orf19.4542	cyclin	0,51	4,68
CCT8	CA3857	orf19.6099	component of chaperonin-containing T-complex	0,61	0,46
CDC22.3EOC	CA1828		DNA Polymerase III	0,64	0,35
CYP1	CA0972	orf19.6472	cyclophilin (peptidylprolyl isomerase)	0,64	0,69
EFG1	CA2787	orf19.610	Enhanced filamentous growth factor	0,63	0,23
ENA22	CA4929	orf19.6070	P-type ATPase involved in Na <sup>+</sup> efflux	0,55	0,48
ENP1	CA2449	orf19.5507	Essential nuclear protein	0,65	0,23
FAA23	CA4311	orf19.4114	Long-chain-fatty-acid--CoA ligase	0,64	0,29
FDH12	CA1846	orf19.638	Formate dehydrogenase	0,41	0,15
GDH2	CA1775	orf19.2192	NAD-specific glutamate dehydrogenase (NAD)	0,66	0,23
GLN1	CA1855	orf19.646	glutamate-ammonia ligase	0,56	0,15
GUT2	CA3566	orf19.3133	Glycerol-3-phosphate dehydrogenase	0,52	1,17
HNT1	CA2345	orf19.2341	similarity to protein kinase C inhibitor-1	0,52	0,15
IFA2	CA0335	orf19.195	unknown function	0,64	1,45
IFF8	CA2713	orf19.570	unknown function	0,49	0,85
ILV3	CA4802	orf19.4040	dihydroxyacid dehydratase	0,60	0,15
IMP1	CA5084	orf19.3061	protease	0,59	0,15
IPF10404	CA1199	orf19.3369	unknown function	0,62	0,15
IPF10558	CA3239	orf19.4684.2	unknown function	0,57	1,85
IPF10919	CA2625	orf19.4765	Similar to Flo1p	0,56	0,59
IPF11328	CA3440	orf19.2985	unknown function	0,61	0,46
IPF11484	CA2099	orf19.2386	unknown function	0,64	0,46
IPF11620	CA1045	orf19.1648	Rad50p DNA repair protein	0,63	0,53
IPF11644	CA0496	orf19.2660	unknown function	0,65	4,68

IPF11998	CA1898	orf19.2758	unknown function	0,42	0,35
IPF12033	CA0901	orf19.3412	unknown function	0,58	0,82
IPF12442	CA0055	orf19.3414	unknown function	0,64	0,46
IPF12736	CA4380	orf19.5673	unknown function	0,63	0,48
IPF1274	CA5674	orf19.7377	Ase1p component of the anaphase spindle midzone	0,61	0,35
IPF14282	CA0446	orf19.2296	Similar to mucin proteins	0,30	0,15
IPF14389	CA2631	orf19.4758	ubiquinone oxidoreductase subunit NUIM	0,40	0,46
IPF14536	CA1617	orf19.3220	unknown function	0,46	0,41
IPF1461	CA4898	orf19.6035	putative NADH dehydrogenase (ubiquinone)	0,59	0,95
IPF14994	CA0005	orf19.2414	unknown function	0,65	0,23
IPF15297	CA5078	orf19.3053	unknown function	0,56	0,15
IPF15348	CA1857	orf19.1504	unknown function	0,59	0,69
IPF15468	CA3584	orf19.2256	unknown function	0,54	0,15
IPF1548	CA5407	orf19.951	unknown function	0,54	0,15
IPF15672	CA2392	orf19.2607	unknown function	0,64	0,41
IPF15772	CA0278	orf19.4883.3	unknown function	0,63	0,46
IPF16253	CA0782	orf19.3932	unknown function	0,40	0,15
IPF16273	CA0793	orf19.553	Dtr1p dityrosine transporter	0,65	0,53
IPF16368.3F	CA0152	orf19.254	unknown function	0,61	0,59
IPF16368.5F	CA0153	orf19.255	Unknown function	0,39	0,15
IPF16514	CA1388	orf19.921	unknown function	0,38	0,15
IPF16564	CA1914	orf19.2438	putative mitochondrial ribosomal protein S12	0,66	0,53
IPF16640	CA3841	orf19.6601	unknown function	0,46	0,85
IPF16652	CA4515	orf19.490	unknown function	0,57	0,59
IPF1680	CA4871	orf19.6557	probable amidase	0,56	0,53
IPF16981.EXON1	CA1871	orf19.2458	unknown function	0,33	0,15
IPF17050	CA0925	orf19.1049	unknown function	0,59	0,48
IPF17057	CA2853	orf19.1070	unknown function	0,45	0,59
IPF17283	CA2021	orf19.4907	unknown function	0,45	0,15
IPF17840	CA0059	orf19.566	unknown function	0,59	0,53
IPF1804	CA5262	orf19.5001	putative transcription factor	0,63	3,69
IPF18105.3F	CA5442	orf19.3245	unknown function	0,50	0,15
IPF18105.5F	CA5443	orf19.3246	unknown function	0,55	0,15
IPF18125	CA5211	orf19.7028	similar to glutenin and glutamine-rich proteins	0,56	0,15
IPF18608.5F	CA1793	orf19.5207	unknown function	0,60	0,41
IPF1873	CA6143	orf19.5902	putative GTP-binding protein	0,63	1,85
IPF18732	CA1234	orf19.711	histidine-rich glycoprotein precursor	0,51	0,23
IPF1922	CA5287	orf19.7148	similar to multidrug resistance proteins	0,65	0,59
IPF19766	CA2746		unknown function	0,45	0,15
IPF19775	CA3065	orf19.4282	unknown function	0,64	0,15
IPF19801	CA4566	orf19.6877	unknown function	0,39	0,15
IPF19802	CA4610	orf19.3301	Met30p inv. in regulation of cell cycle progression	0,52	0,15
IPF19813	CA5575	orf19.7342	unknown function	0,56	1,17
IPF19998	CA3743	orf19.2175	unknown function	0,56	0,15
IPF20009	CA4130	orf19.4245	Unknown function	0,51	0,59
IPF20058	CA0500	orf19.4793	unknown function	0,62	0,35
IPF20135	CA3523	orf19.993	unknown function	0,66	0,41
IPF20161	CA4125	orf19.2765	unknown function	0,20	0,15
IPF20169	CA4381	orf19.5674	unknown function	0,62	3,69
IPF2283	CA4266	orf19.6660	unknown function	0,49	0,15
IPF2326	CA0361	orf19.1124	unknown function	0,54	0,15
IPF2373	CA5210	orf19.7027	unknown function	0,62	3,69
IPF2485	CA5827	orf19.7482	unknown function	0,50	1,17
IPF2615	CA4291	orf19.6688	unknown function	0,27	0,15
IPF2690.3F	CA5812		unknown function	0,63	0,95
IPF2804	CA5933	orf19.6770	unknown function	0,66	2,43
IPF2857	CA5526	orf19.7284	unknown function	0,58	1,31
IPF3081	CA5224	orf19.7043	unknown function	0,65	1,85
IPF3229	CA3477	orf19.3582	unknown function	0,60	0,95
IPF3277	CA3915	orf19.4386	unknown function	0,48	0,48
IPF3304	CA3907	orf19.4395	Aip1p actin cytoskeleton component	0,62	0,35
IPF3367	CA4790	orf19.4024	Riboflavin synthase	0,67	0,59
IPF3370	CA4791	orf19.4025	Pre1p 20S proteasome subunit C11(beta4)	0,61	0,82
IPF3520	CA4449	orf19.6847	unknown function	0,64	0,35
IPF3530	CA4445	orf19.6843	unknown function	0,58	0,46
IPF3584	CA5065	orf19.3037	Pab1p mRNA polyadenylate-binding protein	0,59	0,23
IPF3598	CA5072	orf19.3047	Sip3p prot. which interacts with Snf1p prot. kinase	0,60	0,41

IPF3698	CA5056	orf19.3022	Rsm24p mitochondrial ribosomal protein	0,62	0,95
IPF3875.5EOC	CA0630	orf19.776	unknown function	0,64	0,48
IPF3912	CA4960	orf19.6514	unknown function	0,62	0,15
IPF3923	CA4966	orf19.6507	unknown function	0,64	1,45
IPF3937	CA1203	orf19.868	Unknown function	0,58	0,15
IPF4059	CA4495	orf19.1865	aldehyde dehydrogenase	0,64	0,85
IPF4064	CA4497	orf19.1863	unknown function	0,66	4,68
IPF4071	CA0385	orf19.1861	unknown function	0,29	0,15
IPF4119	CA0125	orf19.2030	unknown function	0,63	4,68
IPF4182	CA5797	orf19.5446	unknown function	0,48	0,15
IPF4322	CA2524	orf19.5521	unknown function	0,66	1,31
IPF4696	CA4970	orf19.5282	unknown Function	0,64	0,15
IPF4782	CA2327	orf19.4496	probable membrane protein	0,65	0,53
IPF4939	CA6050	orf19.7666	Seo1p suppressor of sulfoxide ethionine resistance	0,59	0,23
IPF4959	CA6057	orf19.7676	D-xylulose reductase	0,60	0,15
IPF5062	CA1178	orf19.805	unknown function	0,65	0,46
IPF5158	CA4943	orf19.6534	unknown function	0,45	1,17
IPF559	CA5600	orf19.7100	unknown function	0,57	0,15
IPF5981	CA5547	orf19.7310	Gin3p	0,64	0,15
IPF652	CA6006	orf19.7606	unknown function	0,55	2,43
IPF6629	CA4127	orf19.2762	unknown function	0,57	0,15
IPF6881	CA2186	orf19.4246	putative phosphatidyl synthase	0,61	0,15
IPF6945.3F	CA4846	orf19.3814	unknown function	0,66	1,45
IPF7141	CA3986	orf19.1562	unknown function	0,44	0,15
IPF7217	CA2489	orf19.4043	unknown function	0,65	2,11
IPF7298	CA3044	orf19.2418	unknown function	0,63	3,69
IPF7324	CA3446	orf19.2977	unknown function	0,53	0,15
IPF7374	CA2718	orf19.3338	unknown function	0,64	0,59
IPF7527	CA4189	orf19.4530.1	unknown function	0,48	0,35
IPF7535	CA4193	orf19.4534	unknown function	0,49	0,15
IPF7539	CA1514	orf19.4886	unknown function	0,59	0,15
IPF7629	CA1786	orf19.1168	unknown function	0,55	0,15
IPF7666	CA1120	orf19.4056	unknown function	0,40	0,15
IPF7704	CA4114	orf19.679	unknown function	0,62	0,41
IPF7711	CA0707	orf19.681	AP-1-like transcription factor	0,64	0,59
IPF7715	CA0706	orf19.682	unknown function	0,31	0,15
IPF7719	CA4057	orf19.432	unknown function	0,62	1,17
IPF7726	CA4735	orf19.4850	unknown function	0,63	0,53
IPF8030	CA2115	orf19.1331	unknown function	0,59	0,46
IPF8166	CA4236	orf19.519	unknown function	0,64	0,95
IPF8321	CA2938	orf19.3325	Gig2p initiator of glycogen synthesis	0,58	0,15
IPF836.3	CA5362	orf19.7239	regulation of G-protein function	0,61	0,15
IPF846	CA5358	orf19.7235	WD-repeat protein	0,59	0,15
IPF857	CA5351	orf19.7227	unknown function	0,62	0,46
IPF8741.5F	CA1550	orf19.4276	unknown function	0,59	0,85
IPF8762	CA4220	orf19.822	unknown function	0,38	0,15
IPF8901	CA1004	orf19.3758	unknown function	0,64	0,29
IPF9057	CA2649	orf19.1189	unknown function	0,63	0,35
IPF9126	CA1924	orf19.5537	unknown function	0,66	0,23
IPF9145	CA0962	orf19.6245	unknown function	0,52	0,15
IPF9162	CA4486	orf19.1877	unknown function	0,66	2,43
IPF9207	CA4048	orf19.3679	unknown function	0,64	0,15
IPF931	CA5973	orf19.7567	unknown function	0,64	4,68
IPF9315	CA1717	orf19.4647	putative CCAAT-binding factor subunit	0,63	0,69
IPF9370	CA3964	orf19.1424	unknown function	0,45	0,15
IPF946	CA5968	orf19.7561	unknown function	0,45	0,15
IPF9550	CA4570	orf19.6882	Osm1p osmotic growth protein	0,55	0,15
IPF9555	CA4567	orf19.6879	unknown function	0,66	2,11
IPF9605	CA0578	orf19.3071	Mih1p M-phase inducing prot. tyrosine phosphatase	0,56	0,41
IPF9887.3EOC	CA1261	orf19.1240	unknown function	0,64	0,46
IPF9939	CA2214	orf19.4752	Msn4p transcriptional activator	0,61	1,31
LAB2	CA3116	orf19.3010	LIPOATE BIOSYNTHESIS PROTEIN	0,64	0,23
LAP42	CA4274	orf19.6671	Aminopeptidase yscI precursor	0,56	1,45
LEU42	CA2310	orf19.1375	2-isopropylmalate synthase	0,62	0,15
MSN5.3F	CA0601	orf19.2665	Importin-beta family member	0,49	0,15
MTR2.3	CA5501	orf19.5342.1	mRNA transport protein	0,59	0,46
NEM1	CA2705	orf19.4657	required for nuclear morphology	0,04	0,23

NHP6A	CA5185	orf19.4623.3	nonhistone chromosomal protein related to HMG1	0,47	0,15
NSP49.5F	CA4460	orf19.6857	nuclear pore protein	0,46	3,69
OAC1	CA5710	orf19.7411	Mitochondrial oxaloacetate transport protein	0,66	0,69
PDX3	CA4261	orf19.550	pyridoxamine-phosphate oxidase	0,47	0,15
PEX14	CA0573	orf19.1805	peroxisomal protein	0,66	0,35
PLB3	CA3834	orf19.6594	phospholipase B	0,55	0,15
PMT4	CA4314	orf19.4109	Mannosyltransferase	0,60	0,35
PRS3	CA3168	orf19.1575	ribose-phosphate pyrophosphokinase	0,66	0,48
QDR1	CA4501	orf19.508	putative antibiotic resistance proteins	0,62	0,53
RHO3	CA2393	orf19.3534	GTP-binding protein of the rho family	0,54	0,23
RHR2	CA5788	orf19.5437	DL-glycerol phosphatase	0,65	0,35
RNH35	CA4876	orf19.6562	RNase H	0,55	1,85
RNR22	CA4492	orf19.1868	ribonucleoside-diphosphate reductase	0,54	0,15
RPT5	CA4389	orf19.3123	26S proteasome regulatory subunit	0,63	0,82
SAP9	CA4700	orf19.6928	aspartyl proteinase 9	0,67	0,46
SRP54	CA5440	orf19.3243	54 kD signal recognition particle subunit	0,66	0,46
STF2	CA2738	orf19.2107.1	ATP synthase regulatory factor	0,48	0,15
SUR2	CA2225	orf19.5818	Hydroxylation of C-4 of the sphingoid moiety of ceramide	0,35	0,15
TUB1.3	CA5546	orf19.7308	Alpha-1 tubulin	0,66	0,23
YKE2.3	CA3842	orf19.6601.1	Gim complex component	0,65	0,15
YOX1	CA5202	orf19.7017	Similar to homoeodomain protein	0,57	0,23

**Tab. 24: Microarray-Experiment „*efg1*/wt NP“.** Regulierte Gene in der *efg1*-Mutante HLC52 unter normoxischen Bedingungen im Vergleich zum Wildtyp CAF2-1 (414 Gene bei einer FDR<sup>1</sup> von 5,5 %). Die Anzucht erfolgte auf festem YPS-Medium bei 24 °C (Tab. 10).

<sup>1</sup>FDR: „false discovery rate“: Prozentsatz nicht-signifikant regulierter Gene

<sup>2</sup>q-Wert: bezeichnet die niedrigste FDR, bei der das Gen als „signifikant reguliert“ bezeichnet wird.

Gen-Name	Orf-Nummer	CA-Nummer	Beschreibung (nach CandidaDB: <a href="http://genolist.pasteur.fr/CandidaDB/">http://genolist.pasteur.fr/CandidaDB/</a> )	-fache Regulation	q-Wert <sup>2</sup>
<b>Positiv regulierte Gene</b>					
<b>Drogenresistenz</b>					
<i>CDR11.3F</i>	CA0609	orf19.919	multidrug resistance protein	4,5	0,08
<i>CDR11.5F</i>	CA0610	orf19.918	multidrug resistance protein	6,9	0,08
<i>CDR3.5EOC</i>	CA1545	orf19.1313	ABC transporter, multidrug resistance protein	2,0	0,08
<i>CDR4</i>	CA3895	orf19.5079	Multidrug resistance protein	2,5	0,08
<b>Eisenmetabolismus</b>					
<i>FRE30.3</i>	CA3416	orf19.6139	Strong similarity to ferric reductase Fre2p	2,0	0,38
<i>FRE31</i>	CA0397	orf19.1930	Ferric reductase	2,8	2,13
<i>FRE5</i>	CA2556	orf19.5634	ferric reductase transmembrane component	3,1	0,08
<i>FRE7</i>	CA5621	orf19.7077	Ferric reductase transmembrane component	2,5	0,08
<i>FET33</i>	CA2924	orf19.4211	cell surface ferroxidase	1,8	0,22
<i>FTR1</i>	CA5345	orf19.7219	high affinity iron permease	7,7	0,08
<b>Ergosterolsynthese</b>					
<i>ERG251</i>	CA0875	orf19.4631	C-4 sterol methyl oxidase	2,3	0,08
<b>Fettsäuresynthese</b>					
<i>OLE1</i>	CA3921	orf19.5117	Stearoyl-CoA desaturase	1,9	0,08
<i>FAA22</i>	CA5676	orf19.7379	Long-chain-fatty-acid--CoA ligase	2,0	0,08
<i>FEN11</i>	CA3497	orf19.6343	Fatty acid elongase for sphingolipid formation	1,5	0,08
<i>LPD1</i>	CA2998	orf19.6127	dihydrolipoamide dehydrogenase	2,1	0,08
<i>PLB4.3F</i>	CA0186	orf19.1443	phospholipase	1,7	0,08
<i>PLB4.5F</i>	CA0185	orf19.1442	Phospholipase	1,7	0,08
<b>Fermentation</b>					
<i>ADH2</i>	CA3923	orf19.5113	alcohol dehydrogenase I	2,5	0,08
<i>ADH3</i>	CA2334	orf19.4505	probable alcohol dehydrogenase	4,4	0,08
<i>ALD4</i>	CA3272	orf19.6306	aldehyde dehydrogenase	1,5	0,08
<i>ALD5</i>	CA4159	orf19.5806	aldehyde dehydrogenase (NAD <sup>+</sup> )	2,5	0,25
<b>Permeasen (Aminosäuren)</b>					
<i>AGP1</i>	CA1373	orf19.1193	asparagine and glutamine permease	2,0	0,08

<i>DIP51.3F</i>	CA2203	orf19.2942	dicarboxylic amino acid permease	2,0	0,25
<i>IPF9490</i>	CA2619	orf19.2810	amino acid permease	1,9	0,08
<b>Proteinphosphorylierung</b>					
<i>GAC1</i>	CA5641	orf19.7053	ser/thr phosphoprotein phosphatase 1	2,4	0,08
<i>SKS1</i>	CA4039	orf19.3669	serine/threonine kinase by homology	2,0	0,08
<i>GIN4</i>	CA4097	orf19.663	ser/thr protein kinase	2,1	0,16
<i>IPF10223</i>	CA1200	orf19.4867	putative serine/threonine kinase	1,6	0,08
<i>IPF12811</i>	CA2348	orf19.3751	putative serine/threonine kinase	1,6	0,08
<i>IPF3414</i>	CA2017	orf19.846	putative serine/threonine protein kinase	1,6	0,08
<i>IPF13398</i>	CA0724	orf19.35	protein kinase	2,0	0,08
<b>Transkription</b>					
<i>HHF21</i>	CA2862	orf19.1059	histone H4	2,4	0,08
<i>HHF22</i>	CA3372	orf19.1854	histone H4	2,2	0,08
<i>HHT21</i>	CA2861	orf19.1061	Histone H3	2,4	0,08
<i>HTA1</i>	CA4696	orf19.6924	Histone H2A	2,1	0,08
<i>HTA3</i>	CA3382	orf19.327	histone H2A F/Z variant	1,7	0,08
<i>HTB1</i>	CA4697	orf19.6925	Histone H2B	1,8	0,08
<b>Transkriptionsfaktoren</b>					
<i>GCN4</i>	CA3126	orf19.1358	transcriptional activator	1,7	0,08
<i>IPF100.3</i>	CA6113	orf19.5940	zinc finger protein	1,8	1,10
<i>IPF15604</i>	CA0457	orf19.2432	transcription factor	2,6	0,08
<i>IPF29</i>	CA6084	orf19.5975	zinc finger protein	2,2	0,08
<i>IPF4835</i>	CA6071	orf19.5992	zinc finger protein	3,5	0,08
<i>IPF763</i>	CA5502	orf19.5343	putative transcription factor with a Cys4- zinc finger	1,8	0,08
<i>MIG1</i>	CA1593	orf19.4318	transcriptional regulator	1,5	0,08
<i>RIM101</i>	CA5367	orf19.7247	Zn finger transcription factor homolog	2,3	0,08
<i>IPF776</i>	CA5497	orf19.5338	transcriptional activator	3,0	0,08
<b>Transporter (Ionen)</b>					
<i>CTR1</i>	CA1496	orf19.3646	copper transport protein	3,9	0,08
<i>CTR2</i>	CA1600	orf19.4720	copper transport protein	1,6	0,08
<i>ZRT2</i>	CA3160	orf19.1585	zinc transport protein	49,1	0,08
<i>SMF12</i>	CA1879	orf19.2270	manganese transporter	3,5	0,08
<b>(Peptide)</b>					
<i>PTR21</i>	CA4707	orf19.6937	peptide transporter	1,9	0,08
<i>OPT2.53F</i>	CA2870	orf19.2847.1	Oligopeptide transporter	1,6	0,08
<b>Zellwand/-membran</b>					
<i>ECM21.3</i>	CA1707	orf19.4887	Involved in cell wall biogenesis	4,2	0,08
<i>ECM22</i>	CA0471	orf19.2623	putative protein involved in cell wall biogenesis	5,1	0,08
<i>ECM331</i>	CA2181	orf19.4255	Involved in cell wall biogenesis	1,7	0,08
<i>EXG1</i>	CA0822	orf19.2990	glucan 1,3-beta-glucosidase	3,2	0,08
<i>SCW4</i>	CA2202	orf19.2941	cell wall glucanase	1,9	0,08
<i>SUN41</i>	CA0883	orf19.3642	Putative cell wall beta-glucosidase	1,8	0,08
<i>PHR1</i>	CA4857	orf19.3829	GPI-anchored pH responsive glycosyl transferase	3,1	0,25
<i>IPF8796</i>	CA4800	orf19.4035	putative GPI-anchored prot. related to Phr1-Phr3	1,6	0,08
<i>IPF5723.EXON1</i>	CA3295	orf19.6336	cell surface GPI-anchored protein	1,7	0,08
<b>Unbekannte und unklassifizierte</b>					
<i>AAT1</i>	CA2661	orf19.3554	aspartate aminotransferase	2,3	0,08
<i>ALK5.5F</i>	CA2843	orf19.5728	n-alkane-inducible cytochrome P-450	2,2	0,08
<i>AMO2</i>	CA0673	orf19.3152	amine oxidase	1,7	2,13
<i>AMYG2</i>	CA3518	orf19.999	glucoamylase	2,2	0,08
<i>AOX2</i>	CA2189	orf19.4773	alternative oxidase	9,0	0,08
<i>ARF21</i>	CA5095	orf19.6447	GTP-binding protein of the ARF family	1,6	0,08
<i>ARG1</i>	CA5818	orf19.7469	argininosuccinate synthetase	2,6	0,08
<i>ASPI</i>	CA5993	orf19.7593	L-asparaginase	4,3	0,08
<i>AXL2</i>	CA2164	orf19.5292	Axl2p required for axial pattern of budding	1,5	0,08
<i>BDF1</i>	CA5425	orf19.978	sporulation protein	1,8	0,08
<i>CBF1</i>	CA2473	orf19.2876	putative centromere binding factor 1	2,0	0,08
<i>CDC5</i>	CA2986	orf19.6010	Cell-cycle protein kinase	1,5	0,08
<i>CDC54</i>	CA2176	orf19.3761	cell division control protein	1,7	0,52
<i>CDR3.3EOC</i>	CA2821		Opaque-specific ABC transporter	2,1	0,08
<i>CHA12</i>	CA3945	orf19.1996	L-serine/L-threonine deaminase	1,6	0,08
<i>CHT3</i>	CA5987	orf19.7586	chitinase 3 precursor	1,7	0,74
<i>CRD1</i>	CA2832	orf19.4784	Cu-transporting P1-type ATPase	1,6	0,08
<i>CRH11</i>	CA0375	orf19.2706	Probable membrane protein	1,6	0,22
<i>CSA1</i>	CA5585	orf19.7114	mycelial surface antigen by homology	2,0	0,08
<i>CTM1</i>	CA6011	orf19.7612	cytochrome c methyltransferase	1,7	0,08
<i>CYS3</i>	CA5127	orf19.6402	cystathionine gamma-lyase by homology	1,5	0,22

<i>DLD2</i>	CA5942	orf19.6755	D-lactate ferricytochrome C oxidoreductase	7,3	5,53
<i>ENA21.3</i>	CA4425	orf19.5170	P-type ATPase	1,7	0,08
<i>ENA22</i>	CA4929	orf19.6070	P-type ATPase involved in Na <sup>+</sup> efflux	1,6	0,08
<i>ERO1</i>	CA2076	orf19.4871	Required for protein disulfide bond formation in the ER	1,7	0,08
<i>FRP1</i>	CA3813	orf19.2496	member of the FRP family	2,3	4,23
<i>GAL1</i>	CA4040	orf19.3670	galactokinase	1,7	1,16
<i>GLC3</i>	CA2758	orf19.5622	1,4-glucan branching enzyme	1,6	0,08
<i>GLY1</i>	CA3528	orf19.986	L-threonine aldolase	2,2	1,00
<i>GRD19</i>	CA3922	orf19.5114	Probable golgi membrane protein-sorting protein	2,2	0,08
<i>GSY1</i>	CA5467	orf19.3278	glucosyltransferase, glycogen synthase	3,8	0,08
<i>HEM3</i>	CA0306	orf19.1742	porphobilinogen deaminase	1,5	0,08
<i>HMO1</i>	CA4088	orf19.6645	High-mobility protein 1 by homology	2,1	0,08
<i>HRR25</i>	CA2902	orf19.3476	casein kinase I	1,9	0,08
<i>HSP31</i>	CA4034	orf19.3664	heat shock protein	2,0	0,08
<i>IFC1</i>	CA3257	orf19.3746	Unknown Function	1,6	0,08
<i>IFC4</i>	CA0442	orf19.2292	unknown function	3,5	0,08
<i>IFC5</i>	CA3919	orf19.5121	unknown function	1,7	1,16
<i>IFD1</i>	CA0840	unknown	Putative aryl-alcohol dehydrogenase	3,5	0,08
<i>IFD4</i>	CA2416	orf19.4477	Putative aryl-alcohol dehydrogenase	2,1	0,08
<i>IFD5</i>	CA0924	orf19.1048	Putative aryl-alcohol dehydrogenase	2,9	0,08
<i>IFE2</i>	CA2075	orf19.5288	Unknown function	5,0	0,08
<i>IFF2</i>	CA2714	orf19.575	unknown function	1,6	0,08
<i>IFR2</i>	CA1964	orf19.2396	unknown function	1,9	0,08
<i>IFS1</i>	CA2895	orf19.2461	Unknown function	1,6	0,74
<i>IFT1</i>	CA3585	orf19.2253	unknown function	1,5	0,08
<i>INO1</i>	CA5986	orf19.7585	myo-inositol-1-phosphate synthase	1,6	0,08
<i>INT1</i>	CA0665	orf19.4257	integrin-like protein alpha chain	1,6	0,08
<i>IPF10027</i>	CA3016	orf19.3914	unknown function	2,2	5,53
<i>IPF10138.3F</i>	CA1355	orf19.408	unknown function	2,0	0,08
<i>IPF10138.5F</i>	CA1356	orf19.409	unknown function	2,1	0,08
<i>IPF10153</i>	CA3747	orf19.2170	membrane transporter by homology	2,4	0,08
<i>IPF10533.EXON2</i>	CA3455	orf19.1256	unknown function	1,5	0,08
<i>IPF10571</i>	CA5392	orf19.935	Unknown function	1,6	0,08
<i>IPF11323</i>	CA3444	orf19.2980	unknown function	1,7	5,53
<i>IPF11503</i>	CA3025	orf19.3902	unknown function	3,6	0,08
<i>IPF11646</i>	CA0368	orf19.1353	unknown function	1,5	0,08
<i>IPF11713</i>	CA1330	orf19.1151	unknown function	2,3	0,08
<i>IPF11725</i>	CA2903	orf19.3475	unknown function	3,5	0,08
<i>IPF11888</i>	CA4416	orf19.5180	unknown function	2,1	0,08
<i>IPF11998</i>	CA1898	orf19.2758	unknown function	4,8	0,08
<i>IPF12061</i>	CA0007	orf19.174	unknown function	3,0	0,08
<i>IPF12084</i>	CA3104	orf19.6554	unknown function	3,2	0,08
<i>IPF12101</i>	CA2557	orf19.5635	mycelial surface antigen precursor	2,0	0,08
<i>IPF1218</i>	CA4835	orf19.2062	Similar to superoxide dismutase	2,3	0,08
<i>IPF12297</i>	CA4394	orf19.3117	mycelial surface antigen	3,6	0,08
<i>IPF12316</i>	CA1098	orf19.5069	unknown function	3,6	0,08
<i>IPF12629</i>	CA2285	orf19.5552	unknown function	2,2	0,08
<i>IPF12758.5F</i>	CA0394	orf19.334	unknown function	3,5	0,08
<i>IPF1292</i>	CA5678	orf19.7381	unknown function Hypothetical zinc-finger protein	1,6	0,08
<i>IPF12992</i>	CA0921	orf19.1043	unknown function	2,8	0,08
<i>IPF13017</i>	CA1168	orf19.1785	unknown function	4,1	0,08
<i>IPF13121.3</i>	CA3161	orf19.1584	unknown function	1,8	1,16
<i>IPF13202</i>	CA3033	orf19.215	unknown function	2,5	0,08
<i>IPF13582</i>	CA3338	orf19.2333	unknown function	1,9	0,08
<i>IPF13921</i>	CA2211	orf19.4749	Unknown function	1,8	0,08
<i>IPF13971</i>	CA1790	orf19.5204	unknown function	1,8	5,53
<i>IPF14040</i>	CA1963	orf19.2397	probable transporter	1,5	0,08
<i>IPF14109</i>	CA0380	orf19.2451	unknown function	2,8	0,16
<i>IPF14155</i>	CA1403	orf19.3373	Rim4p involved in sporulation	1,6	0,08
<i>IPF14284</i>	CA1961	orf19.2399	putative dnaJ-like protein	1,6	3,33
<i>IPF14295</i>	CA3287	orf19.6321	putative Sed1p-like cell surface protein	2,0	0,08
<i>IPF14510</i>	CA1779	orf19.1826	unknown function	4,6	0,08
<i>IPF14618</i>	CA0286	orf19.6079	unknown function	37,1	0,08
<i>IPF14623</i>	CA1344	orf19.4342	unknown function	1,6	0,08
<i>IPF14744</i>	CA1759	orf19.5125	unknown function	1,8	0,08
<i>IPF14797.3</i>	CA1081	orf19.4818.3	unknown function	1,9	0,08

<i>IPF15013</i>	CA2761	orf19.5626	pyruvate decarboxylase regulatory protein	4,9	0,08
<i>IPF1524</i>	CA4635	orf19.341	putative multidrug resistance protein	1,6	0,08
<i>IPF15641</i>	CA0795	orf19.551	unknown function	2,0	0,08
<i>IPF15781</i>	CA1238	orf19.716	unknown function	1,8	0,08
<i>IPF15822</i>	CA1869	orf19.2457	unknown function	1,6	0,08
<i>IPF15844</i>	CA1372	orf19.4961	Stp2p involved in pre-tRNA splicing	2,4	0,08
<i>IPF15870</i>	CA2769	orf19.2685	unknown function	2,6	0,08
<i>IPF15977</i>	CA0641	orf19.4698	unknown function	2,2	1,10
<i>IPF16761</i>	CA0502	orf19.2664	unknown function	16,6	0,16
<i>IPF16843</i>	CA0026	orf19.2397.3	unknown function	2,8	0,08
<i>IPF17068</i>	CA3275	orf19.6309	unknown function	1,9	0,52
<i>IPF17074</i>	CA2001	orf19.2792	unknown function	1,9	0,08
<i>IPF17272</i>	CA0860	orf19.3522	unknown function	3,1	2,13
<i>IPF1732</i>	CA2009	orf19.3089	intramitochondrial protein sorting	1,5	0,08
<i>IPF17358</i>	CA0112	orf19.5754	unknown function	2,3	0,08
<i>IPF17483</i>	CA1537	orf19.450	unknown function	1,6	5,53
<i>IPF17652.3</i>	CA0037	orf19.6078	reverse transcriptase	14,0	0,08
<i>IPF17790</i>	CA0030	orf19.48	unknown function	1,7	0,08
<i>IPF18690</i>	CA1377	orf19.461	unknown function	2,5	0,08
<i>IPF19142</i>	CA0184	orf19.3984	unknown function	5,8	0,08
<i>IPF19154</i>	CA0172	orf19.1126	unknown function	1,7	1,16
<i>IPF19540</i>	CA3685	orf19.723	unknown function	1,6	0,08
<i>IPF19568</i>	CA4870	orf19.6556	unknown function	2,4	0,08
<i>IPF19908</i>	CA1242	orf19.1344	unknown function	15,8	2,13
<i>IPF1992</i>	CA5570	orf19.7336	putative MFS transporter	5,6	0,38
<i>IPF19998</i>	CA3743	orf19.2175	unknown function	2,1	0,08
<i>IPF20008</i>	CA4124	orf19.2767	unknown function	1,6	0,08
<i>IPF20056</i>	CA0495	orf19.2659	unknown function	2,4	0,08
<i>IPF20135</i>	CA3523	orf19.993	unknown function	2,1	0,08
<i>IPF20169</i>	CA4381	orf19.5674	unknown function	6,5	0,08
<i>IPF2045</i>	CA4987	orf19.5262	unknown function	1,7	0,52
<i>IPF2067</i>	CA1619	orf19.4077	Required for mannosylation of sphingolipids	1,6	0,08
<i>IPF2471</i>	CA5728	orf19.7437	maltose acetyltransferase	1,9	1,16
<i>IPF2535</i>	CA0355	unknown	unknown function	1,6	0,16
<i>IPF2690.5F</i>	CA5811	orf19.6614	unknown function	3,3	0,74
<i>IPF2710</i>	CA1133	orf19.2160	putative permease	1,7	5,53
<i>IPF2795</i>	CA5936	orf19.6763	unknown function	1,6	0,08
<i>IPF2878</i>	CA5735	orf19.7445	unknown function	2,2	0,08
<i>IPF2908</i>	CA5749	orf19.7459	unknown function	1,5	0,08
<i>IPF3092</i>	CA4658	orf19.4445	unknown function	2,8	0,08
<i>IPF32</i>	CA6085	orf19.5974	Apg9p integral membrane prot	1,5	0,08
<i>IPF361</i>	CA5866	orf19.7527	unknown function	1,5	4,23
<i>IPF3624</i>	CA4341	orf19.6713	unknown function	1,5	0,08
<i>IPF3664</i>	CA4675	orf19.897	unknown function	1,7	0,08
<i>IPF3806</i>	CA2782	orf19.285	unknown function	1,7	0,38
<i>IPF3964</i>	CA4111	orf19.675	unknown function	2,2	0,08
<i>IPF3980</i>	CA4103	orf19.668	unknown function	1,7	0,08
<i>IPF4010</i>	CA1040	orf19.2503	unknown function	1,6	0,38
<i>IPF4071</i>	CA0385	orf19.1861	unknown function	1,8	0,08
<i>IPF4085</i>	CA4865	orf19.3841	Apg1p essential for autophagocytosis	1,7	0,08
<i>IPF4292</i>	CA4250	orf19.539	bleomycin Hydrolase	3,3	0,08
<i>IPF4293</i>	CA4249	orf19.538	Gpi2p GlcNAc-phosphatidylinositol biosynth. prot.	1,6	2,66
<i>IPF4303</i>	CA4245	orf19.532	unknown function	1,7	2,66
<i>IPF4326</i>	CA0211	orf19.5524	unknown function	1,7	1,16
<i>IPF4395</i>	CA4529	orf19.1477	unknown function	1,6	0,08
<i>IPF4450</i>	CA0684	unknown	unknown function	3,2	0,08
<i>IPF4667</i>	CA3367	orf19.1847	unknown Function	1,9	0,74
<i>IPF4820</i>	CA1022	orf19.3353	complex I intermediate associated protein CIA30	2,3	0,08
<i>IPF4842</i>	CA6070	orf19.5994	Rsg1p ras-related GTP-binding protein	2,8	0,08
<i>IPF4942</i>	CA6052	orf19.7668	Mal32p alpha-glucosidase	3,1	0,08
<i>IPF4999</i>	CA2874	orf19.5843	unknown function	2,0	0,08
<i>IPF525</i>	CA5613	orf19.7085	unknown function	4,4	0,08
<i>IPF5330</i>	CA1339	orf19.3448	unknown function	1,8	0,22
<i>IPF5369</i>	CA2286	orf19.5553	unknown function	3,5	0,08
<i>IPF5681</i>	CA1100	orf19.4952	unknown function	1,6	0,08
<i>IPF5915</i>	CA0670	orf19.449	phosphatidyl synthase	7,8	0,08
<i>IPF5972</i>	CA5551	orf19.7314	putative cysteine dioxygenase	2,4	0,08

<i>IPF6003</i>	CA1345	orf19.1490	Msb2p multicopy suppressor of a CDC24	1,8	0,08
<i>IPF6011</i>	CA1000	orf19.1486	unknown function	2,4	0,08
<i>IPF61</i>	CA6098	orf19.5959	unknown function	1,6	3,33
<i>IPF6488</i>	CA1028	orf19.1539	unknown function	1,5	0,08
<i>IPF6493</i>	CA0193	orf19.1541	unknown function	2,3	0,08
<i>IPF6518</i>	CA2302	orf19.1691	unknown function	2,7	0,08
<i>IPF6594</i>	CA3100	orf19.3863	unknown function	1,6	0,08
<i>IPF6654</i>	CA4305	orf19.6705	unknown function	1,7	0,08
<i>IPF6696</i>	CA1873	orf19.2460	unknown function	2,3	0,08
<i>IPF7062</i>	CA2856	orf19.1066	unknown function	1,8	0,08
<i>IPF7141</i>	CA3986	orf19.1562	unknown function	2,0	0,08
<i>IPF7171.5F</i>	CA4029	orf19.3434	unknown function	1,8	0,08
<i>IPF7204</i>	CA2885	orf19.2475	unknown function	1,9	0,08
<i>IPF7377</i>	CA3750	orf19.3428	unknown function	1,7	0,08
<i>IPF7530</i>	CA4190	orf19.4531	ATP-binding-cassette protein	2,0	0,08
<i>IPF7635</i>	CA1783	orf19.1171	unknown function	3,4	0,08
<i>IPF7711</i>	CA0707	orf19.681	AP-1-like transcription factor	1,7	2,66
<i>IPF8336</i>	CA2839	orf19.4792	unknown function	3,5	0,08
<i>IPF8527</i>	CA5476	orf19.5305	unknown function	5,5	0,08
<i>IPF8535</i>	CA2156	orf19.5302	unknown function	3,6	0,08
<i>IPF857</i>	CA5351	orf19.7227	unknown function	1,8	0,08
<i>IPF8627</i>	CA1309	orf19.3969	unknown function	2,8	0,08
<i>IPF8644</i>	CA3405	orf19.3982	maltase	2,3	0,08
<i>IPF9057</i>	CA2649	orf19.1189	unknown function	2,0	0,16
<i>IPF9062</i>	CA2648	orf19.1187	unknown function	3,5	0,08
<i>IPF9063</i>	CA3620	orf19.203	Stb3p protein binding Sin3p	2,6	0,08
<i>IPF9101</i>	CA2548	orf19.2833	unknown function	7,3	0,08
<i>IPF9108</i>	CA2996	orf19.6124	Ace2p transcription factor	1,5	0,08
<i>IPF9169</i>	CA2696	orf19.2736	Bur6p functional homolog of human NC2alpha	1,5	0,08
<i>IPF9211.3F</i>	CA3141	orf19.3712	unknown function	1,8	0,08
<i>IPF9211.5F</i>	CA3142	orf19.3713	unknown function	2,6	0,08
<i>IPF9282</i>	CA2178	orf19.1510	unknown function	1,5	0,08
<i>IPF9302</i>	CA4164	orf19.5813	unknown function	1,7	0,08
<i>IPF9413</i>	CA3411	orf19.6146	unknown function	1,6	0,74
<i>IPF9552</i>	CA4569	orf19.6881	unknown function	1,6	0,08
<i>IPF9616</i>	CA2024	orf19.4910	unknown function	2,6	0,08
<i>IPF9803</i>	CA3147	orf19.6160	unknown function	1,7	0,08
<i>JEN1</i>	CA5737	orf19.7447	Carboxylic acid transporter protein	3,1	0,08
<i>LPI9</i>	CA3110	orf19.6544	Microtubule-associated protein	3,2	0,08
<i>MAE1</i>	CA3757	orf19.3419	mitochondrial malic enzyme	2,2	0,08
<i>MAL31</i>	CA3404	orf19.3981	maltose permease	2,9	0,08
<i>MCM3</i>	CA4471	orf19.1901	replication initiation protein	1,9	0,08
<i>MET15</i>	CA2565	orf19.5645	O-acetylhomoserine O-acetylserine sulphhydrylase	1,6	2,13
<i>MNN4</i>	CA0217	orf19.849	regulates the mannosylphosphorylation	2,0	0,08
<i>NCE102</i>	CA6097	orf19.5960	secr. of prot. that lack classical secretory signal seq.	2,2	0,08
<i>NHP6A</i>	CA5185	orf19.4623.3	nonhistone chromosomal protein related to HMG1	2,1	0,08
<i>OPS4</i>	CA3713	orf19.4934	opaque - phase specific protein OP4	6,2	0,08
<i>PBN1</i>	CA4017	orf19.3447	protease by homology	1,6	1,10
<i>PCK1</i>	CA5857	orf19.7514	phosphoenolpyruvate carboxykinase	4,6	0,08
<i>PEP1.3</i>	CA2171	orf19.3767	Vacuolar protein sorting/targeting protein	1,6	0,08
<i>PGM2</i>	CA0692	orf19.2841	Phosphoglucomutase	1,7	0,08
<i>PHO11</i>	CA0616	orf19.2619	Secreted acid phosphatase	13,3	0,16
<i>PHO80</i>	CA0409	orf19.5755	Cyclin	2,4	0,08
<i>PHO89</i>	CA5160	orf19.4599	Na <sup>+</sup> -coupled phosphate transport	3,2	0,08
<i>PMC1</i>	CA1645	orf19.1727	Ca <sup>2+</sup> -transporting P-type ATPase	1,8	0,08
<i>PPQ1</i>	CA3829	orf19.5758	phosphoprotein phosphatase	2,2	0,08
<i>PRB2</i>	CA0270	orf19.2242	Protease B	1,5	0,08
<i>PRY2</i>	CA5344	orf19.7218	putative pathogen related proteins	1,9	0,08
<i>PUT1</i>	CA1552	orf19.4274	proline oxidase	2,1	0,08
<i>RBT2</i>	CA3957	orf19.1415	Repressed by TUP1 protein 2	2,0	0,08
<i>RBT5</i>	CA2558	orf19.5636	repressed by TUP1 protein 5	43,1	0,08
<i>RNH1</i>	CA0277	orf19.5614	ribonuclease H	2,8	0,08
<i>RNR21</i>	CA4155	orf19.5801	ribonucleoside-diphosphate reductase	1,6	1,16
<i>RTA2</i>	CA3607	orf19.24	Unknown function	2,4	0,08
<i>RTA4</i>	CA3835	orf19.6595	Protein involved in 7-aminosterol resistance	1,6	0,08
<i>SAP9</i>	CA4700	orf19.6928	aspartyl proteinase 9	1,9	0,08
<i>SCW11.3EOC</i>	CA1053	orf19.3893	glucanase gene family member	2,5	0,08

<i>SDS24</i>	CA3920	orf19.5118	ScYBR214w strong similarity to protein YGL056c	13,8	0,08
<i>SHM1</i>	CA0433	orf19.1342	Serine hydroxymethyltransferase precursor	1,9	0,08
<i>SMI1</i>	CA1740	orf19.5058	beta-1,3-glucan synthesis protein	1,9	0,08
<i>SNG3</i>	CA2117	orf19.1333	Drug transporter	1,5	0,08
<i>SOD22.3F</i>	CA5588	orf19.7111.2	superoxide dismutase	3,1	0,08
<i>SSU1</i>	CA5550	orf19.7313	Sulfite sensitivity protein	1,7	0,08
<i>STE23</i>	CA1653	orf19.5561	protease involved in a-factor processing	1,8	2,66
<i>STL1</i>	CA0472	orf19.5753	sugar transporter	2,8	0,08
<i>SUR1</i>	CA1524	orf19.3794	Suppressor of ROK1	1,8	3,33
<i>TCA5A</i>	CA0455	orf19.2427	polyprotein of Tca5 retrotransposon	1,5	0,08
<i>TOS1</i>	CA2303	orf19.1690	putative Anchor subunit of a-agglutinin	2,5	0,08
<i>TRAI.5EOC</i>	CA1814	orf19.139	ATM/Mec1/TOR1+2-related	1,9	0,74
<i>VTC2</i>	CA3918	orf19.4381	putative polyphosphate synthetase	2,0	0,08
<i>VTC4</i>	CA0697	orf19.3363	putative polyphosphate synthetase	1,9	0,08
<i>YCF1</i>	CA1997	orf19.6478	Glutathione S-conjugate transporter	1,6	0,08
<i>YHB1</i>	CA0943	orf19.3707	flavo-hemoglobin	26,6	0,08
<i>YHB3</i>	CA3139	orf19.3710	flavo-hemoglobin	2,5	0,08
<i>YOX1</i>	CA5202	orf19.7017	Similar to homoeodomain protein	1,6	0,85

### Negativ regulierte Gene

#### Glykolyse

<i>CDC19</i>	CA3483	orf19.3575	pyruvate kinase	0,55	0,25
<i>ENO1</i>	CA3874	orf19.395	Enolase I (2-phosphoglycerate dehydratase)	0,57	0,16
<i>FBA1</i>	CA5180	orf19.4618	fructose-bisphosphate aldolase	0,51	0,08
<i>GPM1</i>	CA4671	orf19.903	phosphoglycerate mutase	0,61	0,25
<i>PGK1</i>	CA1691	orf19.3651	Phosphoglycerate kinase	0,45	0,08
<i>TPI1</i>	CA5950	orf19.6745	Triose phosphate isomerase	0,55	0,08

#### Proteinmodifikation (Glykosylierung)

<i>MNN22</i>	CA0752	orf19.3803	Golgi alpha-1,2-mannosyltransferase	0,42	0,08
<i>MNT1</i>	CA3469	orf19.1665	Mannosyltransferase	0,63	0,08
<i>MNT2</i>	CA3467	orf19.1663	Alpha-1,2-mannosyltransferase	0,65	0,08
<i>UFD1</i>	CA3786	orf19.5833	Ubiquitin fusion degradation protein	0,65	0,08
<i>RPS31</i>	CA2011	orf19.3087	Ubiquitin fusion protein	0,54	0,08

#### Stressantwort

<i>DDR48</i>	CA4336	orf19.4082	stress protein	0,58	0,08
<i>HSP12</i>	CA0627	orf19.3160	Heat shock protein	0,27	0,08
<i>HSP30</i>	CA1507	orf19.4526	heat shock protein	0,25	0,08
<i>HSP78.3F</i>	CA4683	orf19.884	heat shock prot. of clpb	0,65	0,25
<i>HSP78.5F</i>	CA4684	orf19.882	heat shock protein of clpb family	0,61	0,08
<i>CTA1</i>	CA3011	orf19.6229	catalase A, peroxisomal	0,35	0,08
<i>IPF13836</i>	CA2342	orf19.2344	probable heat shock protein	0,29	0,08
<i>SSA4</i>	CA1230	orf19.4980	cahsp70 mRNA for heat shock	0,50	0,08

#### Transkriptionsfaktor

<i>IPF6067</i>	CA4358	orf19.6734	putative transcription factor	0,66	2,66
<i>IPF10795</i>	CA0424	orf19.2356	putative transcription factor	0,53	0,08
<i>TYE7</i>	CA3707	orf19.4941	Basic helix-loop-helix transcription factor	0,57	0,08
<i>NRG1</i>	CA5289	orf19.7150	similar to transcriptional repressor Nrg1p/Nrg2p	0,63	0,08
<i>MBF1</i>	CA4604	orf19.3294	Multiprotein bridging factor mediates GCN4-dependent transcriptional activation	0,53	0,08

#### Translation

<i>RPL29</i>	CA3305	orf19.2310.1	ribosomal protein	0,63	0,08
<i>RPS21</i>	CA1715	orf19.3334	ribosomal protein	0,66	0,25

#### Tri-Carbonsäure-Zyklus

<i>ACO1</i>	CA3546	orf19.6385	aconitate hydratase	0,61	0,08
<i>MLS1</i>	CA4748	orf19.4833	malate synthase	0,66	0,08

#### Zellwand/-membran

<i>ALS12.3F</i>	CA0413	orf19.2122	agglutinin-like protein	0,24	0,08
<i>ALS4.3F</i>	CA1528	orf19.4556	agglutinin-like protein	0,25	0,08
<i>ECM41.3</i>	CA2386	orf19.2613	involved in cell wall biogenesis	0,65	0,08

#### Unbekannte und unklassifizierte

<i>AQY1</i>	CA2873	orf19.2849	plasma membrane and water channel proteins	0,54	0,08
<i>CCT8</i>	CA3857	orf19.6099	component of chaperonin-containing Tcomplex	0,59	0,08
<i>CPR6</i>	CA6040	orf19.7654	cyclophillin	0,59	0,08
<i>DUR1,2</i>	CA2280	orf19.780	urea amidolyase	0,50	0,08
<i>EFG1</i>	CA2787	orf19.610	Enhanced filamentous growth factor	0,36	0,08

<i>FDH11.3</i>	CA6000	orf19.7600	glutathione-dependent formaldehyde dehydrogenase	0,58	0,08
<i>GAD1</i>	CA1564	orf19.1153	Glutamate decarboxylase	0,59	0,08
<i>ICL1</i>	CA4446	orf19.6844	Isocitrate lyase	0,58	0,08
<i>IFN1</i>	CA1137	orf19.1979	glycerophosphoinositol transporter	0,66	0,25
<i>IFQ3</i>	CA2597	orf19.54	unknown function	0,65	0,08
<i>IPF10404</i>	CA1199	orf19.3369	unknown function	0,47	0,08
<i>IPF1129</i>	CA5784	orf19.5431	unknown function	0,44	0,08
<i>IPF11858</i>	CA1411	orf19.1277	unknown function	0,66	0,08
<i>IPF12040</i>	CA4035	orf19.3665	unknown function	0,66	3,33
<i>IPF12093</i>	CA2834	orf19.4786	unknown function	0,65	0,08
<i>IPF12201</i>	CA0189	orf19.4118	Na <sup>+</sup> -nucleoside cotransporter	0,63	0,25
<i>IPF12884</i>	CA0778	orf19.4779	unknown function	0,50	0,08
<i>IPF1341</i>	CA5112	orf19.6420	Similarity to mucin proteins	0,64	0,08
<i>IPF13867</i>	CA4437	orf19.5158	unknown function	0,65	0,08
<i>IPF14282</i>	CA0446	orf19.2296	Similar to mucin proteins	0,35	0,08
<i>IPF15015</i>	CA0276	orf19.5612	unknown function	0,65	0,08
<i>IPF15297</i>	CA5078	orf19.3053	unknown function	0,50	0,08
<i>IPF15813</i>	CA3066	orf19.4281	unknown function	0,62	5,53
<i>IPF1617</i>	CA4894	orf19.6586	unknown function	0,61	0,08
<i>IPF16368.3F</i>	CA0152	orf19.254	unknown function	0,43	0,08
<i>IPF16368.5F</i>	CA0153	orf19.255	Unknown function	0,40	0,08
<i>IPF16795</i>	CA0821	orf19.2989	glycerate/formate-dehydrogenase	0,58	0,85
<i>IPF17054</i>	CA1693	orf19.5037	unknown function	0,53	0,08
<i>IPF17186</i>	CA0828	orf19.251	unknown function	0,64	0,22
<i>IPF17237</i>	CA1716	orf19.3335	unknown function	0,66	0,16
<i>IPF17840</i>	CA0059	orf19.566	unknown function	0,45	0,08
<i>IPF19160</i>	CA0167	orf19.1075	unknown function	0,61	3,33
<i>IPF19766</i>	CA2746		unknown function	0,33	0,25
<i>IPF19980</i>	CA0093	orf19.100	putative lipase	0,01	0,74
<i>IPF2419</i>	CA5885	orf19.6824	unknown function	0,62	0,52
<i>IPF2441</i>	CA5719	orf19.7424	unknown function	0,45	0,85
<i>IPF2615</i>	CA4291	orf19.6688	unknown function	0,18	0,08
<i>IPF2839</i>	CA5535	orf19.7296	unknown function	0,64	0,08
<i>IPF2857</i>	CA5526	orf19.7284	unknown function	0,25	0,08
<i>IPF3121</i>	CA4651	orf19.4438	unknown function	0,49	0,08
<i>IPF3262.3</i>	CA0740	orf19.3140.1	unknown function	0,65	0,08
<i>IPF3485</i>	CA5940	orf19.6757	aldo/keto reductase	0,57	0,08
<i>IPF3912</i>	CA4960	orf19.6514	unknown function	0,65	0,08
<i>IPF4065</i>	CA0386	orf19.1862	unknown function	0,52	0,08
<i>IPF4181</i>	CA5798	orf19.5447	putative permease	0,55	0,08
<i>IPF4182</i>	CA5797	orf19.5446	unknown function	0,50	0,08
<i>IPF4776</i>	CA1443	orf19.4492	unknown function	0,65	0,08
<i>IPF4902</i>	CA0897	orf19.413	unknown function	0,14	0,08
<i>IPF4905</i>	CA0899	orf19.411	unknown function	0,53	0,08
<i>IPF4959</i>	CA6057	orf19.7676	D-xylulose reductase	0,59	0,08
<i>IPF5185</i>	CA1678	orf19.3618	putative cell wall protein	0,17	0,08
<i>IPF5389</i>	CA1650	orf19.5565	3-hydroxyisobutyrate dehydrogenase	0,50	0,08
<i>IPF5981</i>	CA5547	orf19.7310	Gin3p	0,58	0,08
<i>IPF6257</i>	CA4541	orf19.1461	unknown function	0,62	1,10
<i>IPF6339</i>	CA0817	orf19.2724	unknown function	0,33	0,08
<i>IPF6624</i>	CA0293	orf19.6489	unknown function	0,48	0,25
<i>IPF7109</i>	CA5650	orf19.7350	unknown function	0,60	0,08
<i>IPF7539</i>	CA1514	orf19.4886	unknown function	0,62	0,38
<i>IPF7602</i>	CA1761	orf19.5193	oxidoreductase	0,57	0,08
<i>IPF7715</i>	CA0706	orf19.682	unknown function	0,43	0,08
<i>IPF8048</i>	CA4201	orf19.4543	probable succinate-semialdehyde dehydrogenase	0,66	0,08
<i>IPF8108</i>	CA2046	orf19.2934	unknown function	0,60	0,74
<i>IPF8405</i>	CA2796	orf19.1721	Nce103p inv. in non-classical prot. export pathway	0,46	0,08
<i>IPF8866</i>	CA0076	orf19.4906	unknown function	0,64	0,08
<i>IPF946</i>	CA5968	orf19.7561	unknown function	0,49	0,08
<i>JEN2</i>	CA5478	orf19.5307	carboxylic acid transporter protein	0,55	0,08
<i>MAP2</i>	CA1534	orf19.1214	methionine aminopeptidase	0,57	0,85
<i>MEP3</i>	CA0302	orf19.1614	low affinity high capacity ammonium permease	0,58	0,08
<i>MRF1</i>	CA1333	orf19.1149	mitochondrial respiratory protein	0,62	0,08
<i>PFY1</i>	CA3897	orf19.5076	BINDS TO ACTIN	0,61	0,08
<i>PST2</i>	CA1673	orf19.3612	1,4-benzoquinone reductase	0,58	0,25
<i>RAD16</i>	CA0917	orf19.2969	nucleotide excision repair protein	0,47	0,08

<i>RHR2</i>	CA5788	orf19.5437	DL-glycerol phosphatase	0,55	0,08
<i>SOD2</i>	CA2719	orf19.3340	Manganese-superoxide dismutase	0,60	0,08
<i>SUN42</i>	CA5232	orf19.5032	Putative cell wall beta-glucosidase	0,63	0,08
<i>TFS1</i>	CA0748	orf19.1974	cdc25-dependent nutrient- and ammonia-response	0,64	0,08
<i>TOM72</i>	CA1397	orf19.3700	mitochondrial import receptor	0,56	3,33
<i>TRX2</i>	CA0467	orf19.1976	thioredoxin	0,67	0,74
<i>TTR1</i>	CA4919	orf19.6059	Glutaredoxin	0,51	0,08
<i>UGA12.3F</i>	CA1180	orf19.803	4-aminobutyrate aminotransferase	0,66	0,74
<i>UGA12.5F</i>	CA1181	orf19.802	4-aminobutyrate aminotransferase	0,59	0,08
<i>URA2.5EOC</i>	CA1315	orf19.2360	multifunctional pyrimidine biosynthesis protein	0,60	0,08
<i>YAT1</i>	CA4207	orf19.4551	carnitine acetyltransferase	0,42	0,08

**Tab. 25: Microarray-Experiment „*efg1*/wt HP“.** Regulierte Gene in der *efg1*-Mutante HLC52 unter hypoxischen Bedingungen im Vergleich zum Wildtyp CAF2-1 (245 Gene bei einer FDR<sup>1</sup> von 5,0 %). Die Anzucht erfolgte auf festem YPS-Medium bei 24 °C (Tab. 10).

<sup>1</sup>FDR: „false discovery rate“: Prozentsatz nicht-signifikant regulierter Gene

<sup>2</sup>q-Wert: bezeichnet die niedrigste FDR, bei der das Gen als „signifikant reguliert“ bezeichnet wird.

Gen-Name	Orf-Nummer	CA-Nummer	Beschreibung (nach CandidaDB: <a href="http://genolist.pasteur.fr/CandidaDB/">http://genolist.pasteur.fr/CandidaDB/</a> )	-fache Regulation	q-Wert <sup>2</sup>
<b>Positiv regulierte Gene</b>					
<b>Drogenresistenz</b>					
<i>CDR4</i>	CA3895	orf19.5079	Multidrug resistance protein	1,8	0,17
<b>Ergosterolsynthese</b>					
<i>ERG25</i>	CA0642	orf19.3732	C-4 sterol methyl oxidase	1,6	0,17
<i>ERG251</i>	CA0875	orf19.4631	C-4 sterol methyl oxidase	1,7	0,17
<i>ERG4</i>	CA2297	orf19.5379	sterol C-24 reductase	1,5	0,52
<b>Eisenmetabolismus</b>					
<i>FRE30.3</i>	CA3416	orf19.6139	Strong similarity to ferric reductase Fre2p	2,2	0,17
<i>FRE30.53</i>	CA3415	orf19.6140	Strong similarity to ferric reductase	1,7	0,17
<i>FRE5</i>	CA2556	orf19.5634	ferric reductase transmembrane component	1,5	0,17
<i>FTR1</i>	CA5345	orf19.7219	high affinity iron permease	1,8	0,17
<b>Fermentation</b>					
<i>ALD5</i>	CA4159	orf19.5806	aldehyde dehydrogenase (NAD+)	2,1	0,17
<b>Fettsäuresynthese</b>					
<i>FAS1</i>	CA5426	orf19.979	Fatty-acyl-CoA synthase	1,6	0,17
<i>FAS2.3F</i>	CA6107	orf19.5949	fatty-acyl-CoA synthase	1,5	0,17
<i>IPF7227</i>	CA2493	orf19.4048	putative fatty acid desaturase	1,7	0,17
<i>OLE1</i>	CA3921	orf19.5117	Stearoyl-CoA desaturase	2,4	0,17
<b>Hyphenspezifische Gene</b>					
<i>HWP1</i>	CA2825	orf19.1321	Hyphal wall protein	2,0	0,17
<i>RBT5</i>	CA2558	orf19.5636	repressed by TUP1 protein 5	2,8	3,46
<b>Transporter (Ionen)</b>					
<i>CTR1</i>	CA1496	orf19.3646	copper transport protein	1,9	0,17
<i>SMF12</i>	CA1879	orf19.2270	manganese transporter	2,2	1,63
<b>Streßantwort</b>					
<i>SSA1</i>	CA2857	orf19.1065	Heat shock protein of HSP70 family	1,9	3,46
<i>SOD22.3F</i>	CA5588	orf19.7111.2	superoxide dismutase	1,7	0,74
<b>Transkriptionsfaktoren</b>					
<i>RIM101</i>	CA5367	orf19.7247	Zn finger transcription factor homolog	2,0	0,17
<i>IPF15604</i>	CA0457	orf19.2432	transcription factor	1,6	0,17
<i>CAP1</i>	CA0183	orf19.1623	transcriptional activator	1,7	0,17
<i>ROX1</i>	CA0346	orf19.2824	Possible heme-dependent transcriptional repressor	1,6	2,42
<i>SEF1</i>	CA2346	orf19.3753	Putative transcription factor1	1,9	0,17
<i>TBP1</i>	CA2369	orf19.1837	TATA-binding protein	1,6	0,17
<b>Tri-Carbonsäure-Zyklus</b>					
<i>MLS1</i>	CA4748	orf19.4833	malate synthase	2,1	0,17
<i>CIT1.EXON2</i>	CA3909	orf19.4393	Citrate synthase	1,6	0,17
<i>LSC2.3EOC2</i>	CA3376	orf19.1857.1	succinate-CoA ligase beta subunit	1,6	0,17
<b>Zellwand/-membran</b>					

<i>ALS7</i>	CA5699	orf19.7400	agglutinin-like protein	5,5	0,17
<i>ECM21.3</i>	CA1707	orf19.4887	Involved in cell wall biogenesis and architecture	1,9	0,95
<i>EXG1</i>	CA0822	orf19.2990	glucan 1,3-beta-glucosidase	1,7	0,17
<b>Unbekannte und unklassifizierte</b>					
<i>AAH1</i>	CA3587	orf19.2251	adenosine deaminase	1,5	0,17
<i>AOX2</i>	CA2189	orf19.4773	alternative oxidase	4,3	0,17
<i>ASNI</i>	CA3616	orf6.5930	asparagine synthetase	1,5	0,74
<i>ATX1</i>	CA2750	orf19.2369.1	antioxidant protein and metal homeostasis factor	3,2	0,17
<i>CHA12</i>	CA3945	orf19.1996	L-serine/L-threonine deaminase	1,5	0,17
<i>CHT2</i>	CA1051	orf19.3895	chitinase 2 precursor	3,5	0,17
<i>COX8</i>	CA2134	orf19.5213.1	CYTOCHROME C OXIDASE	1,5	0,17
<i>CPP1</i>	CA4721	orf19.4866	probable protein-tyrosine phosphatase	1,6	0,17
<i>CRD1</i>	CA2832	orf19.4784	Cu-transporting P1-type ATPase	3,8	0,17
<i>CRH11</i>	CA0375	orf19.2706	Probable membrane protein	1,8	0,17
<i>CWH8</i>	CA1146	orf19.3682	protein for full levels of dolichol-linked oligosaccharides in the endoplasmic reticulum	2,1	0,17
<i>CYS3</i>	CA5127	orf19.6402	cystathionine gamma-lyase by homology	1,7	0,17
<i>DBP3</i>	CA1202	orf19.4870	ATP-dependent RNA helicase	1,7	0,17
<i>ERO1</i>	CA2076	orf19.4871	Required for prot disulfide bond formation in the ER	1,8	0,17
<i>FDH12</i>	CA1846	orf19.638	Formate dehydrogenase	2,2	0,17
<i>GAP7.3EOC</i>	CA0757	orf19.3195	general amino-acid permease	1,6	5,05
<i>GAP7.5EOC</i>	CA0160	orf19.3195	general amino acid permease	1,9	0,17
<i>GCV2</i>	CA3883	orf19.385	Glycine decarboxylase P subunit	2,5	0,17
<i>GCV3</i>	CA5258	orf19.5006	Glycine decarboxylase	1,5	0,17
<i>GDS1</i>	CA2948	orf19.1963	nam9-1 suppressor	1,7	0,17
<i>HEM3</i>	CA0306	orf19.1742	porphobilinogen deaminase	1,7	0,17
<i>IFE2</i>	CA2075	orf19.5288	Unknown function	3,5	0,17
<i>IFF10.5</i>	CA5763	orf19.5404	unknown function	4,1	0,17
<i>IFG1</i>	CA1197		probable d-amino acid oxidase	1,8	0,17
<i>IFII</i>	CA0182	orf19.1130	unknown function	1,5	0,17
<i>INT1</i>	CA0665	orf19.4257	integrin-like protein alpha chain	1,7	0,74
<i>IPF10138.3F</i>	CA1355	orf19.408	unknown function	2,5	0,17
<i>IPF10138.5F</i>	CA1356	orf19.409	unknown function	2,3	0,17
<i>IPF10318</i>	CA2727	orf19.2119	Ndt80p meiosis-specific protein	1,5	0,17
<i>IPF1084.3</i>	CA5762	orf19.5401	unknown function	5,5	0,17
<i>IPF10919</i>	CA2625	orf19.4765	Similar to Flo1p	1,8	0,17
<i>IPF11233</i>	CA3963	orf19.1422	Fzo1p required for biogenesis of mitochondria	1,6	0,17
<i>IPF11503</i>	CA3025	orf19.3902	unknown function	2,6	0,17
<i>IPF11644</i>	CA0496	orf19.2660	unknown function	1,8	0,74
<i>IPF11725</i>	CA2903	orf19.3475	unknown function	4,4	0,17
<i>IPF11998</i>	CA1898	orf19.2758	unknown function	1,5	0,17
<i>IPF12061</i>	CA0007	orf19.174	unknown function	1,6	0,17
<i>IPF12084</i>	CA3104	orf19.6554	unknown function	1,8	0,17
<i>IPF12110</i>	CA0008	orf19.376	1,4-butanediol diacrylate esterase	1,6	0,17
<i>IPF12316</i>	CA1098	orf19.5069	unknown function	3,3	0,17
<i>IPF12758.5F</i>	CA0394	orf19.334	unknown function	2,0	0,17
<i>IPF12811</i>	CA2348	orf19.3751	putative serine/threonine kinase	1,5	0,95
<i>IPF13582</i>	CA3338	orf19.2333	unknown function	2,3	0,17
<i>IPF14510</i>	CA1779	orf19.1826	unknown function	2,5	0,17
<i>IPF14618</i>	CA0286	orf19.6079	unknown function	2,9	0,17
<i>IPF15013</i>	CA2761	orf19.5626	pyruvate decarboxylase regulatory protein	2,2	0,17
<i>IPF1548</i>	CA5407	orf19.951	unknown function	1,6	0,17
<i>IPF15641</i>	CA0795	orf19.551	unknown function	2,0	0,17
<i>IPF15822</i>	CA1869	orf19.2457	unknown function	1,5	5,05
<i>IPF15844</i>	CA1372	orf19.4961	Stp2p involved in pre-tRNA splicing	1,6	0,17
<i>IPF15870</i>	CA2769	orf19.2685	unknown function	2,4	0,17
<i>IPF16514</i>	CA1388	orf19.921	unknown function	1,6	2,42
<i>IPF16843</i>	CA0026	orf19.2397.3	unknown function	1,5	0,95
<i>IPF17272</i>	CA0860	orf19.3522	unknown function	1,9	0,17
<i>IPF1732</i>	CA2009	orf19.3089	intramitochondrial protein sorting	1,7	0,17
<i>IPF17358</i>	CA0112	orf19.5754	unknown function	1,9	0,17
<i>IPF17652.3</i>	CA0037	orf19.6078	reverse transcriptase	4,0	0,17
<i>IPF19568</i>	CA4870	orf19.6556	unknown function	2,1	0,17
<i>IPF19998</i>	CA3743	orf19.2175	unknown function	1,5	0,17
<i>IPF20058</i>	CA0500	orf19.4793	unknown function	1,5	0,17
<i>IPF2050</i>	CA4985	orf19.5265	Kip1p kinesin-related protein	1,6	0,17
<i>IPF2053</i>	CA4983	orf19.5267	unknown function	1,6	0,17

<i>IPF2382</i>	CA5899	orf19.6807	unknown function	1,5	0,17
<i>IPF2878</i>	CA5735	orf19.7445	unknown function	1,7	0,17
<i>IPF2908</i>	CA5749	orf19.7459	unknown function	1,8	0,17
<i>IPF3865</i>	CA3605	orf19.22	unknown function	1,9	0,17
<i>IPF3964</i>	CA4111	orf19.675	unknown function	2,0	0,17
<i>IPF4012</i>	CA1039	orf19.2501	Unknown Function	1,6	1,17
<i>IPF4406</i>	CA0906	orf19.1483	unknown function	1,6	0,17
<i>IPF4503</i>	CA4736	orf19.4849	unknown function	1,6	0,17
<i>IPF4696</i>	CA4970	orf19.5282	unknown Function	1,8	0,17
<i>IPF4703</i>	CA4973	orf19.5279	unknown Function	1,5	0,17
<i>IPF4835</i>	CA6071	orf19.5992	zinc finger protein	2,3	0,17
<i>IPF4859</i>	CA3700	orf19.6276	unknown function	1,6	0,17
<i>IPF5915</i>	CA0670	orf19.449	phosphatidyl synthase	2,1	0,17
<i>IPF6003</i>	CA1345	orf19.1490	Msb2p multicopy suppressor	1,6	0,17
<i>IPF6041</i>	CA5175	orf19.4612	Similar to Legionella pneumophila sbpA	1,7	0,17
<i>IPF6391</i>	CA3435	orf19.583	mammalian indoleamine 2,3-dioxygenase	1,8	0,17
<i>IPF6518</i>	CA2302	orf19.1691	unknown function	2,1	0,17
<i>IPF66</i>	CA6100	orf19.5956	unknown function	2,0	0,17
<i>IPF6654</i>	CA4305	orf19.6705	unknown function	1,9	0,17
<i>IPF6700</i>	CA1872	orf19.2459	unknown function	1,7	0,17
<i>IPF708</i>	CA5522	orf19.5370	unknown function	1,6	1,17
<i>IPF7081</i>	CA4121	orf19.2770	unknown function	1,6	0,17
<i>IPF7681</i>	CA3171	orf19.1397	unknown function	1,5	2,42
<i>IPF779</i>	CA5496	orf19.5337	E2 ubiquitin conjugating enzyme	1,7	0,52
<i>IPF8336</i>	CA2839	orf19.4792	unknown function	2,8	0,17
<i>IPF8374</i>	CA4932	orf19.6073	unknown function	1,7	2,42
<i>IPF8527</i>	CA5476	orf19.5305	unknown function	7,0	0,17
<i>IPF8796</i>	CA4800	orf19.4035	putative GPI-anchored protein	1,7	0,17
<i>IPF9057</i>	CA2649	orf19.1189	unknown function	2,0	0,17
<i>IPF9062</i>	CA2648	orf19.1187	unknown function	1,6	0,48
<i>IPF9101</i>	CA2548	orf19.2833	unknown function	3,1	0,17
<i>IPF9302</i>	CA4164	orf19.5813	unknown function	1,6	0,17
<i>IPF9413</i>	CA3411	orf19.6146	unknown function	1,6	0,17
<i>MIR1</i>	CA1513	orf19.4885	phosphate transport protein	1,6	0,17
<i>MUP1</i>	CA4972	orf19.5280	High affinity methionine permease	2,1	0,17
<i>PCK1</i>	CA5857	orf19.7514	phosphoenolpyruvate carboxykinase	2,1	0,48
<i>PDX3</i>	CA4261	orf19.550	pyridoxamine-phosphate oxidase	1,6	0,17
<i>PHO89</i>	CA5160	orf19.4599	Na <sup>+</sup> -coupled phosphate transport	1,8	0,17
<i>PHR1</i>	CA4857	orf19.3829	GPI-anchored pH responsive glycosyl transferase	3,7	0,17
<i>PRY2</i>	CA5344	orf19.7218	putative pathogen related proteins	2,2	0,17
<i>SAM2</i>	CA0959	orf19.657	S-adenosylmethionine synthetase 2	1,6	0,17
<i>SAP9</i>	CA4700	orf19.6928	aspartyl proteinase 9	1,6	0,17
<i>SDS24</i>	CA3920	orf19.5118	Similar to S. cerevisiae YBR214w	2,3	0,17
<i>SEC14</i>	CA5398	orf19.941	phosphatidylinositol/ phosphatidylcholine transfer	1,5	0,17
<i>SHM1</i>	CA0433	orf19.1342	Serine hydroxymethyltransferase precursor	1,9	0,17
<i>SKN1.3</i>	CA5660	orf19.7362	Glucan synthase subunit	3,4	0,17
<i>SPE4</i>	CA1249	orf19.4960	spermine synthase	1,5	0,17
<i>TOS1</i>	CA2303	orf19.1690	putative Anchor subunit of a-agglutinin	1,6	0,17
<i>TPK1</i>	CA2355	orf19.4892	cAMP-dependent protein kinase 2	1,7	0,17
<i>TUB2.3</i>	CA4897	orf19.6034	Beta-tubulin	1,6	0,17
<i>UBI4</i>	CA5932	orf19.6771	Polyubiquitin	1,8	2,92
<i>YHB3</i>	CA3139	orf19.3710	flavo-hemoglobin	1,7	0,17
<i>YIP3.3</i>	CA3688	orf19.6264.3	protein of unknown function	1,7	0,17

## Negativ regulierte Gene

### Transporter (Aminosäuren)

<i>MTR</i>	CA2778	orf19.278	neutral amino acid permease-like	0,65	0,17
<i>CAN1</i>	CA1148	orf19.97	amino acid permease	0,63	0,17
<i>GNP1</i>	CA5972	orf19.7566	high affinity glutamine permease	0,60	0,17
<i>MEP3</i>	CA0302	orf19.1614	low affinity high capacity ammonium permease	0,66	0,17
<b>(Zucker)</b>					
<i>HGT12</i>	CA4038	orf19.3668	hexose transporter	0,66	0,17
<i>HXT5.3F</i>	CA1069	orf19.2021	sugar transporter	0,21	0,17
<i>HXT61</i>	CA1070	orf19.2020	sugar transporter	0,40	0,17
<i>HXT62</i>	CA1067	orf19.2023	sugar transporter	0,39	0,17

**Zellwand/-membran**

<i>ALS12.3F</i>	CA0413	orf19.2122	agglutinin-like protein	0,13	0,17
<i>ALS4.3F</i>	CA1528	orf19.4556	agglutinin-like protein	0,14	0,17
<i>IPF19968</i>	CA3030	orf19.220	putative cell wall protein of the PIR family	0,49	0,17
<i>IPF5185</i>	CA1678	orf19.3618	putative cell wall protein	0,08	0,17
<i>SUN42</i>	CA5232	orf19.5032	Putative cell wall beta-glucosidase	0,37	0,17

**Glykolyse**

<i>CDC19</i>	CA3483	orf19.3575	pyruvate kinase	0,39	0,17
<i>FBA1</i>	CA5180	orf19.4618	fructose-bisphosphate aldolase	0,59	0,17
<i>PGII</i>	CA3559	orf19.3888	Glucose-6-phosphate isomerase	0,64	0,17
<i>PGK1</i>	CA1691	orf19.3651	Phosphoglycerate kinase	0,61	0,17

**Streßantwort**

<i>HSP12</i>	CA0627	orf19.3160	Heat shock protein	0,20	0,17
<i>HSP30</i>	CA1507	orf19.4526	heat shock protein	0,56	0,17
<i>HSP78.3F</i>	CA4683	orf19.884	heat shock protein of clpb family	0,61	0,17
<i>HSP78.5F</i>	CA4684	orf19.882	heat shock protein of clpb family	0,48	0,17
<i>IPF13836</i>	CA2342	orf19.2344	probable heat shock protein	0,54	0,17
<i>SOD2</i>	CA2719	orf19.3340	Manganese-superoxide dismutase	0,54	0,17
<i>SSA4</i>	CA1230	orf19.4980	cahsp70 mRNA for heat shock	0,62	0,17

**Transkriptionsfaktoren**

<i>CTA211.3F</i>	CA0498	orf19.2661	transcriptional activator	0,03	0,17
<i>IPF10795</i>	CA0424	orf19.2356	putative transcription factor	0,35	0,17

**Unbekannte und unklassifizierte**

<i>ADH5</i>	CA2391	orf19.2608	probable alcohol dehydrogenase	0,47	0,17
<i>AMD1</i>	CA4680	orf19.891	AMP deaminase	0,59	0,17
<i>AQY1</i>	CA2873	orf19.2849	plasma membrane and water channel proteins	0,31	0,17
<i>CCC1</i>	CA4713	orf19.6948	Transmembrane Ca <sup>2+</sup> transporter	0,61	0,17
<i>CTA1</i>	CA3011	orf19.6229	catalase A	0,37	0,17
<i>CYP1</i>	CA0972	orf19.6472	cyclophilin (peptidylprolyl isomerase)	0,62	0,17
<i>DDR48</i>	CA4336	orf19.4082	stress protein	0,30	0,17
<i>EFG1</i>	CA2787	orf19.610	Enhanced filamentous growth factor	0,31	0,17
<i>GAD1</i>	CA1564	orf19.1153	Glutamate decarboxylase	0,63	0,17
<i>GAL10</i>	CA4041	orf19.3672	UDP-glucose 4-epimerase	0,47	0,17
<i>IPF10153</i>	CA3747	orf19.2170	membrane transporter	0,61	0,17
<i>IPF10327</i>	CA2732	orf19.2113	unknown function	0,66	4,47
<i>IPF10404</i>	CA1199	orf19.3369	unknown function	0,39	0,17
<i>IPF1129</i>	CA5784	orf19.5431	unknown function	0,27	0,17
<i>IPF11858</i>	CA1411	orf19.1277	unknown function	0,54	0,17
<i>IPF12950</i>	CA2430	orf19.3402	unknown function	0,66	0,17
<i>IPF14282</i>	CA0446	orf19.2296	Similar to mucin proteins	0,29	0,17
<i>IPF14994</i>	CA0005	orf19.2414	unknown function	0,54	0,17
<i>IPF1617</i>	CA4894	orf19.6586	unknown function	0,64	0,17
<i>IPF16368.3F</i>	CA0152	orf19.254	unknown function	0,38	0,17
<i>IPF16368.5F</i>	CA0153	orf19.255	Unknown function	0,48	0,17
<i>IPF17054</i>	CA1693	orf19.5037	unknown function	0,61	0,17
<i>IPF17186</i>	CA0828	orf19.251	unknown function	0,32	0,17
<i>IPF17840</i>	CA0059	orf19.566	unknown function	0,55	4,47
<i>IPF19766</i>	CA2746		unknown function	0,60	0,17
<i>IPF19767</i>	CA2757	orf19.5621	unknown function	0,66	0,17
<i>IPF19801</i>	CA4566	orf19.6877	unknown function	0,42	0,17
<i>IPF2419</i>	CA5885	orf19.6824	unknown function	0,52	0,17
<i>IPF2615</i>	CA4291	orf19.6688	unknown function	0,13	0,17
<i>IPF2857</i>	CA5526	orf19.7284	unknown function	0,50	0,17
<i>IPF3121</i>	CA4651	orf19.4438	unknown function	0,44	0,17
<i>IPF3485</i>	CA5940	orf19.6757	aldo/keto reductase	0,64	0,17
<i>IPF3937</i>	CA1203	orf19.868	Unknown function	0,36	0,17
<i>IPF4065</i>	CA0386	orf19.1862	unknown function	0,67	0,17
<i>IPF4667</i>	CA3367	orf19.1847	unknown Function	0,58	0,17
<i>IPF4905</i>	CA0899	orf19.411	unknown function	0,63	0,17
<i>IPF4991</i>	CA1075	orf19.2531	putative membrane protein	0,33	0,17
<i>IPF5291</i>	CA4043	orf19.3674	UDP-glucose 4-epimerase	0,62	0,17
<i>IPF5981</i>	CA5547	orf19.7310	Gin3p	0,43	0,17
<i>IPF6108</i>	CA3073	orf19.4811	putative tricarboxylate carrier	0,55	0,17
<i>IPF6266</i>	CA3277	orf19.6311	unknown function	0,61	0,17
<i>IPF6339</i>	CA0817	orf19.2724	unknown function	0,16	0,17
<i>IPF6624</i>	CA0293	orf19.6489	unknown function	0,60	0,17
<i>IPF6629</i>	CA4127	orf19.2762	unknown function	0,64	0,17

<i>IPF7109</i>	CA5650	orf19.7350	unknown function	0,61	4,47
<i>IPF7145</i>	CA3988	orf19.1564	unknown function	0,63	0,17
<i>IPF7147</i>	CA3989	orf19.1565	unknown function	0,57	0,17
<i>IPF7374</i>	CA2718	orf19.3338	unknown function	0,40	0,17
<i>IPF7539</i>	CA1514	orf19.4886	unknown function	0,64	0,17
<i>IPF7666</i>	CA1120	orf19.4056	unknown function	0,64	3,46
<i>IPF7715</i>	CA0706	orf19.682	unknown function	0,28	0,17
<i>IPF8047</i>	CA4202	orf19.4544	unknown function	0,64	0,17
<i>IPF8405</i>	CA2796	orf19.1721	Nce103p involved in non-classical prot export pathw.	0,38	0,17
<i>IPF8762</i>	CA4220	orf19.822	unknown function	0,59	0,17
<i>IPF946</i>	CA5968	orf19.7561	unknown function	0,56	0,17
<i>IPF9740</i>	CA2291	orf19.744	oligo-1,4 -1,4-glucontransferase/ amylo-1,6- glucosidase	0,57	0,17
<i>IPF9808</i>	CA3148	orf19.6163	cse4p with strong similarity to histone H3	0,64	0,17
<i>IPF9939</i>	CA2214	orf19.4752	Msn4p transcriptional activator	0,66	0,17
<i>PHO84</i>	CA0083	orf19.655	high-affinity inorganic phosphate symporter	0,56	0,17
<i>PHO84.3EOC</i>	CA1782	orf19.1172	Inorganic phosphate transport protein	0,58	0,48
<i>PRC1</i>	CA0430	orf19.1339	Carboxypeptidase Y precursor	0,63	0,17
<i>PST2</i>	CA1673	orf19.3612	1,4-benzoquinone reductase	0,53	0,17
<i>PUT1</i>	CA1552	orf19.4274	proline oxidase	0,60	0,17
<i>PUT2</i>	CA3399	orf19.3974	1-pyrroline-5-carboxylate dehydrogenase	0,65	0,17
<i>RAD16</i>	CA0917	orf19.2969	nucleotide excision repair protein	0,59	0,17
<i>RAD26</i>	CA2788	orf19.607	DNA repair and recombination protein	0,64	0,17
<i>RHR2</i>	CA5788	orf19.5437	DL-glycerol phosphatase	0,66	0,17
<i>SEC2</i>	CA3598	orf19.4928	GDP/GTP exchange factor	0,65	0,17
<i>SSK1</i>	CA5233	orf19.5031	reponse regulator two-component phosphorelay gene	0,67	0,17
<i>UGA12.5F</i>	CA1181	orf19.802	4-aminobutyrate aminotransferase	0,54	0,17
<i>URA2.5EOC</i>	CA1315	orf19.2360	multifunctional pyrimidine biosynthesis protein	0,63	0,17

**Tab. 26: Microarray-Experiment „rim15/wt HF“.** Regulierte Gene in der *rim15*-Mutante CAR23-7-5 unter hypoxischen Bedingungen im Vergleich zum Wildtyp CAF2-1 (26 Gene bei einer FDR<sup>1</sup> von 4,9 %). Die Anzucht erfolgte auf festem YPD-Medium bei 30 °C (Tab. 10).

<sup>1</sup>FDR: „false discovery rate“: Prozentsatz nicht-signifikant regulierter Gene

<sup>2</sup>q-Wert: bezeichnet die niedrigste FDR, bei der das Gen als „signifikant reguliert“ bezeichnet wird.

Gen-Name	Orf- Nummer	CA-Nummer	Beschreibung (nach CandidaDB: <a href="http://genolist.pasteur.fr/CandidaDB/">http://genolist.pasteur.fr/CandidaDB/</a> )	-fache Regulation	q- Wert <sup>2</sup>
<b>Positiv regulierte</b>					
<b>Unbekannte und unklassifizierte</b>					
<i>ALS1.3EOC</i>	CA0316	orf19.5741	agglutinin-like protein	2,53	0,63
<i>FET34.3EOC</i>	CA1431	orf19.1206	iron transport multicopper oxidase	1,60	3,78
<i>PHO84.3EOC</i>	CA1782	orf19.1172	Inorganic phosphate transport protein	1,62	0,63
<b>Negativ regulierte</b>					
<b>Unbekannte und unklassifizierte</b>					
<i>ACT1</i>	CA5255	orf19.5007	actin	0,66	0,63
<i>ALG2.5</i>	CA1530	orf19.1221	mannosyltransferase	0,57	0,63
<i>ALS12.3F</i>	CA0413	orf19.2122	agglutinin-like protein	0,64	0,63
<i>ALS4.3F</i>	CA1528	orf19.4556	agglutinin-like protein	0,66	0,82
<i>CTA1</i>	CA3011	orf19.6229	catalase A	0,57	0,63
<i>CWH8</i>	CA1146	orf19.3682	protein for dolichol-linked oligosaccharides	0,59	0,63
<i>CYP1</i>	CA0972	orf19.6472	cyclophilin (peptidylprolyl isomerase)	0,66	0,82
<i>FAS2.3F</i>	CA6107	orf19.5949	fatty-acyl-CoA synthase	0,65	0,63
<i>GLK1</i>	CA0263	orf19.13	aldohexose specific glucokinase	0,65	0,63
<i>GPH1</i>	CA5206	orf19.7021	Glycogen phosphorylase	0,54	0,63
<i>HHT21</i>	CA2861	orf19.1061	Histone H3	0,64	0,63
<i>IFL1</i>	CA0856	orf19.4463	unknown function	0,06	2,02

<i>IPF13316</i>	CA1880	orf19.2269	unknown function	0,63	0,63
<i>IPF17186</i>	CA0828	orf19.251	unknown function	0,59	0,63
<i>IPF4045</i>	CA4490	orf19.1872	unknown function	0,65	0,63
<i>IPF6518</i>	CA2302	orf19.1691	unknown function	0,49	0,63
<i>IPF6629</i>	CA4127	orf19.2762	unknown function	0,50	0,63
<i>IPF8321</i>	CA2938	orf19.3325	Glg2p initiator of glycogen synthesis	0,64	0,63
<i>IPF867</i>	CA5346	orf19.7221	unknown function	0,64	0,63
<i>IPF9345</i>	CA1644	orf19.1728	unknown function	0,66	0,63
<i>IPF9347</i>	CA1643	orf19.1729	unknown function	0,58	0,63
<i>PLB4.3F</i>	CA0186	orf19.1443	phospholipase	0,61	0,63
<i>TPS3.3</i>	CA5505	orf19.5348	alpha,alpha-trehalose-phosphate synthase	0,65	0,63

**Tab. 27: Unter hypoxischen Bedingungen in der *efg1*-Mutante oder im Wildtyp anders regulierte Gene.**

<sup>1</sup> Verhältnisse der Transkripte des Stämms CAF2-1 (wt) oder der *efg1*-Mutante HLC52 wurden bestimmt. Es wurden die Klassen der Gene, die den angegebenen Regulationstypen entsprechen, aus dem Venn-Diagramm der Abb. 16 ausgewählt. Nur diejenigen Gene werden aufgelistet, deren Vergleich in allen vier Transkriptomanalysen mit dem jeweiligen Schema übereinstimmen.

<sup>2</sup> Für die Transkriptomanalysen wurden die Stämme unter normoxisch (n) oder hypoxischen Bedingungen (h) angezogen.

<sup>3</sup> Genklassen benannt nach dem Venn-Diagramm der Abb. 16.

hypoxische Regulation, Typ <sup>1</sup>	Gen-Name	orf19-Nummer	Funktion nach CandidaDB: <a href="http://genolist.pasteur.fr/CandidaDB">http://genolist.pasteur.fr/CandidaDB</a>	-fache Regulation <sup>2</sup>				Klasse <sup>3</sup>
				wt h/n	<i>efg1</i> h/n	<i>efg1</i> /wt h	<i>efg1</i> /wt n	
<b>im wt, nicht im <i>efg1</i> Stamm</b>	<i>ACC1</i>	<i>orf19.7466</i>	acetyl-coenzyme-A carboxylase	2.8	1	0.49	1.5	E
	<i>PDE2</i>	<i>orf19.2972</i>	nucleotide phosphodiesterase	0.65	1	1.5	1	E
	<i>PHO84</i>	<i>orf19.1172</i>	inorganic phosphate transp.prot.	0.61	1	1.7	1	E
	<i>RIP1</i>	<i>orf19.5893</i>	ubiquinol cytochrome-c reductase	0.63	1	1.7	1	E
	<i>ADH5</i>	<i>orf19.2608</i>	probable alcohol dehydrogenase	1.5	1	0.59	1	E
	<i>CPY1.3F (PRC1)</i>	<i>orf19.1339</i>	carboxypeptidase Y precursor	1.6	1	0.64	1	E
	<i>CTA1</i>	<i>orf19.6229</i>	catalase A, peroxisomal	3.6	1	0.48	1	E
	<i>DDR48</i>	<i>orf19.4082</i>	stress protein	2.3	1	0.46	1	E
	<i>GRP2</i>	<i>orf19.4309</i>	reductase	1.7	1	0.65	1	E
	<i>PRC1</i>	<i>orf19.1339</i>	carboxypeptidase Y precursor	1.8	1	0.41	1	E
	<i>orf19.1728</i>	<i>orf19.1728</i>	unknown function	1.7	1	0.65	1	E
	<i>orf19.7350</i>	<i>orf19.7350</i>	unknown function	1.5	1	0.49	1	E
	<i>GLK1</i>	<i>orf19.13</i>	aldohexose specific glucokinase	2.9	1	0.44	0.40	E
	<i>GPH1</i>	<i>orf19.7021</i>	glycogen phosphorylase	1.7	1	0.38	0.34	E
	<i>SSA4</i>	<i>orf19.4980</i>	hsp70 heat shock protein	1.6	1	0.52	0.56	E
	<i>HSP12</i>	<i>orf19.3160</i>	heat shock protein	9.6	1	0.27	0.56	E
	<i>orf19.2296</i>	<i>orf19.2296</i>	Similar to mucin proteins	1.7	1	0.61	0.59	E
	<i>orf19.2762</i>	<i>orf19.2762</i>	unknown function	2.3	1	0.25	0.38	E
	<i>HHT21</i>	<i>orf19.1061</i>	histone H3	2.0	1	1	2.0	C
	<i>UBI4</i>	<i>orf19.6771</i>	polyubiquitin	2.2	1	1	1.8	C
<i>SSC1</i>	<i>orf19.1896</i>	mitochondrial heat shock protein 70	1.7	1	1	1.9	C	
<b>im <i>efg1</i>-, nicht im wt Stamm</b>	<i>GAD1</i>	<i>orf19.1153</i>	glutamate decarboxylase	1	0.51	0.59	1	F
	<i>NRG1</i>	<i>orf19.7150</i>	transcriptional repressor	1	0.56	0.56	1	F
	<i>PDA1</i>	<i>orf19.3097</i>	pyruvate dehydrogenase alpha chain	1	0.32	0.67	1	F
	<i>orf19.3335</i>	<i>orf19.3335</i>	unknown function	1	0.58	0.56	1	F

hypoxische Regulation, Typ <sup>1</sup>	Gen-Name	orf19-Nummer	Funktion nach CandidaDB: <a href="http://genolist.pasteur.fr/CandidaDB">http://genolist.pasteur.fr/CandidaDB</a>	-fache Regulation <sup>2</sup>				Klasse <sup>3</sup>
				wt h/n	<i>efg1</i> h/n	<i>efg1</i> /wt h	<i>efg1</i> /wt n	
	<i>orf19.4907</i>	<i>orf19.4907</i>	unknown function	1	0.35	0.52	1	F
	<i>orf19.6757</i>	<i>orf19.6757</i>	aldo/keto reductase	1	0.66	0.61	1	F
	<i>BAT22</i>	<i>orf19.6994</i>	branched chain amino acid aminotransferase	1	1.6	1.7	1	F
	<i>DBP2</i>	<i>orf19.170</i>	ATP-dependent RNA helicase	1	1.9	1.5	1	F
	<i>FET34</i>	<i>orf19.1206</i>	iron transport multicopper oxidase	1	8.1	3.6	1	F
	<i>FTR2</i>	<i>orf19.7231</i>	high affinity iron permease	1	2.0	2.5	1	F
	<i>GTR1</i>	<i>orf19.3617</i>	GTP-binding protein	1	2.8	1.5	1	F
	<i>HPT1</i>	<i>orf19.5832</i>	hypoxanthine guanine phosphoribosyl transferase	1	1.8	1.6	1	F
	<i>KRS1</i>	<i>orf19.6749</i>	lysyl-tRNA synthetase	1	1.6	1.6	1	F
	<i>URA7</i>	<i>orf19.3941</i>	CTP synthase 1	1	1.6	1.6	1	F
	<i>orf19.3876</i>	<i>orf19.3876</i>	unknown function	1	1.5	1.5	1	F
	<i>orf19.3969</i>	<i>orf19.3969</i>	unknown function	1	1.6	2.0	1	F
	<i>orf19.4282</i>	<i>orf19.4282</i>	unknown function	1	3.5	1.6	1	F
	<i>orf19.4612</i>	<i>orf19.4612</i>	Similar to <i>L. pneumophila</i> sbpA	1	6.5	1.7	1	F
	<i>orf19.5305</i>	<i>orf19.5305</i>	unknown function	1	1.7	3.8	1	F
	<i>MDH1</i>	<i>orf19.4602</i>	mitochondrial malate dehydrogenase	1	0.33	0.61	1.6	F
	<i>TAL1</i>	<i>orf19.4371</i>	transaldolase	1	0.56	0.65	0.66	F
	<i>DAK2</i>	<i>orf19.4777</i>	dihydroxyacetone kinase	1	1.6	1	0.44	B
	<i>EBP4</i>	<i>orf19.3433</i>	NADPH dehydrogenase	1	1.8	1	0.67	B
	<i>PFK1</i>	<i>orf19.3967</i>	6-phosphofructokinase	1	2.1	1	0.46	B
	<i>RHR2</i>	<i>orf19.5437</i>	DL-glycerol phosphatase	1	1.6	1	0.23	B
	<i>RNR22</i>	<i>orf19.1868</i>	ribonucleoside-diphosphate reductase	1	2.3	1	0.24	B
	<i>orf19.1595</i>	<i>orf19.1595</i>	unknown function, 5-prime end	1	1.6	1	0.61	B
	<i>orf19.1802</i>	<i>orf19.1802</i>	unknown function	1	1.9	1	0.67	B
	<i>orf19.2286</i>	<i>orf19.2286</i>	unknown function	1	2.3	1	0.64	B
	<i>ACH1</i>	<i>orf19.3171</i>	acetyl-coenzyme-A hydrolase	1	0.62	1	2.3	B
	<i>CAP1</i>	<i>orf19.1623</i>	transcriptional activator	1	0.58	1	2.1	B
	<i>CDC55</i>	<i>orf19.1468</i>	B subunit of protein phosphatase 2A	1	0.58	1	1.8	B
	<i>CDR11.3f</i>	<i>orf19.919</i>	multidrug resistance protein	1	0.66	1	1.6	B
	<i>CTA241.3</i>	<i>orf19.5700</i>	transcriptional activator	1	0.53	1	1.9	B
	<i>FDH12</i>	<i>orf19.638</i>	formate dehydrogenase	1	0.41	1	2.1	B
	<i>KGD1</i>	<i>orf19.6165</i>	2-oxoglutarate dehydrogenase	1	0.47	1	2.0	B
	<i>NCE102</i>	<i>orf19.5960</i>	secretion of proteins that lack classical secretory signal sequence	1	0.63	1	2.0	B
	<i>PET9</i>	<i>orf19.930</i>	ADP/ATP carrier protein	1	0.35	1	1.6	B
	<i>QCR9</i>	<i>orf19.2707.1</i>	ubiquinol--cytochrome-c reductase	1	0.59	1	1.6	B
	<i>SOD22.3f</i>	<i>orf19.7111.2</i>	superoxide dismutase	1	0.41	1	1.6	B
	<i>orf19.1562</i>	<i>orf19.1562</i>	unknown function	1	0.60	1	1.9	B
	<i>orf19.2091</i>	<i>orf19.2091</i>	subunit NUHM of ubiquinone oxidoreductase	1	0.57	1	1.5	B
	<i>orf19.2398</i>	<i>orf19.2398</i>	unknown function	1	0.45	1	1.8	B
	<i>orf19.449</i>	<i>orf19.449</i>	phosphatidyl synthase	1	0.35	1	1.8	B
	<i>orf19.5069</i>	<i>orf19.5069</i>	unknown function	1	0.45	1	1.7	B
	<i>orf19.6763</i>	<i>orf19.6763</i>	unknown function	1	0.63	1	1.5	B
	<i>orf19.7306</i>	<i>orf19.7306</i>	unknown function	1	0.49	1	1.6	B

hypoxische Regulation, Typ <sup>1</sup>	Gen-Name	orf19-Nummer	Funktion nach CandidaDB: <a href="http://genolist.pasteur.fr/CandidaDB">http://genolist.pasteur.fr/CandidaDB</a>	-fache Regulation <sup>2</sup>				Klasse <sup>3</sup>
				wt h/n	<i>efg1</i> h/n	<i>efg1</i> /wt h	<i>efg1</i> /wt n	
	<i>orf19.93</i>	<i>orf19.93</i>	unknown function	1	0.63	1	2.0	B
<b>unterschiedlich im wt und <i>efg1</i>-Stamm</b>	<i>OLE1</i>	<i>orf19.5117</i>	stearoyl-CoA desaturase	3.5	1.7	0.63	1	G
	<i>RBT5</i>	<i>orf19.5636</i>	repressed by TUP1 protein 5	5.5	2.5	0.63	1	G
	<i>orf19.1729</i>	<i>orf19.1729</i>	unknown function	3.5	1.6	0.56	1	G
	<i>ENO1</i>	<i>orf19.395</i>	enolase I	2.4	1.9	0.65	0.66	G
	<i>orf19.3261</i>	<i>orf19.3261</i>	member of the FRP family	3.5	3.7	1.6	0.6	G
	<i>FAS2.3f</i>	<i>orf19.5949</i>	fatty-acyl-CoA synthase	1.7	0.57	0.56	1.8	G
	<i>PGA54</i>	<i>orf19.2685</i>	unknown function	1.7	1.6	1.8	1	G
	<i>FTR1</i>	<i>orf19.7219</i>	high affinity iron permease	1.6	3.5	3.6	1.8	G
	<i>orf19.251</i>	<i>orf19.251</i>	unknown function	3.0	0.65	0.48	1	G
	<i>orf19.4246</i>	<i>orf19.4246</i>	putative phosphatidyl synthase	2.3	0.63	0.52	0.50	G
	<i>YHB1</i>	<i>orf19.3707</i>	flavo-hemoglobin	0.27	0.22	2.0	2.9	G
	<i>ADH1</i>	<i>orf19.3997</i>	alcohol dehydrogenase	3.8	2.3	1	0.48	A
	<i>GPM1</i>	<i>orf19.903</i>	phosphoglycerate mutase	2.9	3.7	1	0.40	A
	<i>ERG251</i>	<i>orf19.4631</i>	C-4 sterol methyl oxidase	1.6	1.9	1	0.51	A
	<i>FBA1</i>	<i>orf19.4618</i>	fructose-bisphosphate aldolase	3.5	4.0	1	0.37	A
	<i>PGII</i>	<i>orf19.3888</i>	glucose-6-phosphate isomerase	2.8	2.4	1	0.50	A
	<i>SUR2</i>	<i>orf19.5818</i>	hydroxylation of C-4 of the sphingoid moiety of ceramide	1.6	1.7	1	0.28	A
	<i>TP11</i>	<i>orf19.6745</i>	triose phosphate isomerase	2.5	2.2	1	0.44	A
	<i>orf19.2374</i>	<i>orf19.2374</i>	GAG protein of retrotransposon pCal	2.4	1.9	1	0.35	A
	<i>orf19.391</i>	<i>orf19.391</i>	Upc2p RNA polymerase II transcription factor	1.6	2.0	1	0.47	A
	<i>orf19.5372</i>	<i>orf19.5372</i>	<i>C. albicans</i> Tca2 retrotransposon	2.7	2.4	1	0.45	A
	<i>orf19.6882</i>	<i>orf19.6882</i>	Osm1p osmotic growth protein	1.6	2.0	1	0.33	A
	<i>ADH2</i>	<i>orf19.5113</i>	alcohol dehydrogenase I	1.6	2.6	1	1	A
	<i>ALG2.5</i>	<i>orf19.1221</i>	mannosyltransferase	2.1	2.0	1	1	A
	<i>BEL1</i>	<i>orf19.6906.1</i>	protein of 40S ribosomal subunit	1.6	2.0	1	1	A
	<i>ERG3</i>	<i>orf19.767</i>	C5,6 desaturase	2.4	8.1	1	1	A
	<i>ERG5</i>	<i>orf19.5178</i>	C-22 sterol desaturase	2.2	2.4	1	1	A
	<i>ERG16</i>	<i>orf19.922</i>	lanosterol 14a-demethylase	2.5	3.1	1	1	A
	<i>GAP1</i>	<i>orf19.6814</i>	glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase	3.4	2.0	1	1	A
	<i>PGK1</i>	<i>orf19.3651</i>	phosphoglycerate kinase	4.2	2.2	1	1	A
	<i>PHO88</i>	<i>orf19.7327</i>	involved in phosphate transport	6.5	1.5	1	1	A
	<i>POL0</i>	<i>orf19.5373</i>	pol polyprotein, reverse transcriptase	3.8	2.5	1	1	A
	<i>POT14</i>	<i>orf19.1591</i>	acetyl-CoA acetyltransferase	1.7	1.9	1	1	A
<i>RAT1</i>	<i>orf19.4681</i>	5'-3' Exoribonuclease	1.7	3.4	1	1	A	
<i>RNR21</i>	<i>orf19.5801</i>	ribonucleoside-diphosph. reductase	1.7	1.8	1	1	A	
<i>SCS7</i>	<i>orf19.3822</i>	required for hydroxyl. of ceramide	1.6	1.8	1	1	A	
<i>SUN41</i>	<i>orf19.3642</i>	putative cell wall beta-glucosidase	1.9	1.7	1	1	A	

hypoxische Regulation, Typ <sup>1</sup>	Gen-Name	orf19-Nummer	Funktion nach CandidaDB: <a href="http://genolist.pasteur.fr/CandidaDB">http://genolist.pasteur.fr/CandidaDB</a>	-fache Regulation <sup>2</sup>				Klasse <sup>3</sup>
				wt h/n	efg1 h/n	efg1 /wt h	efg1 /wt n	
	<i>SUN42</i>	<i>orf19.5032</i>	putative cell wall beta-glucosidase	2.1	2.1	1	1	A
	<i>TOS1</i>	<i>orf19.1690</i>	Anchor subunit of a-agglutinin	1.7	1.6	1	1	A
	<i>orf19.1573</i>	<i>orf19.1573</i>	P-type ATPase	1.6	1.7	1	1	A
	<i>orf19.1691</i>	<i>orf19.1691</i>	unknown function	6.9	1.8	1	1	A
	<i>orf19.2119</i>	<i>orf19.2119</i>	Ndt80p meiosis-specific protein	1.5	1.5	1	1	A
	<i>orf19.7310</i>	<i>orf19.7310</i>	similar to <i>S. cerevisiae</i> Gin3p	2.3	2.8	1	1	A
	<i>ACO1</i>	<i>orf19.6385</i>	aconitate hydratase	0.63	0.27	1	1	A
	<i>ATP2</i>	<i>orf19.5653</i>	F1F0-ATPase compl, F1 beta sub	0.52	0.30	1	1	A
	<i>ATP3.3f</i>	<i>orf19.3223</i>	F1F0-ATPase compl, F1 gamma sub	0.56	0.62	1	1	A
	<i>ATP5</i>	<i>orf19.5419</i>	F1F0-ATPase compl, OSCP sub	0.52	0.59	1	1	A
	<i>ATP7</i>	<i>orf19.2785</i>	F1F0-ATPase complex, FO D sub	0.56	0.45	1	1	A
	<i>CIT1.exon2</i>	<i>orf19.4393</i>	Citrate synthase	0.56	0.50	1	1	A
	<i>CYT1</i>	<i>orf19.3527</i>	cytochrome-c1	0.64	0.66	1	1	A
	<i>DBF2</i>	<i>orf19.1223</i>	putative ser/thr protein kinase	0.48	0.55	1	1	A
	<i>IDH1.3</i>	<i>orf19.4826</i>	isocitrate dehydrogenase (NAD <sup>+</sup> )	0.54	0.36	1	1	A
	<i>IDH2</i>	<i>orf19.5791</i>	isocitrate dehydrogenase (NAD <sup>+</sup> )	0.55	0.59	1	1	A
	<i>KGD2</i>	<i>orf19.6126</i>	2-oxoglutarate dehydrogenase compl	0.65	0.47	1	1	A
	<i>MIR1</i>	<i>orf19.4885</i>	phosphate transport protein, mitochondrial (MCF)	0.39	0.49	1	1	A
	<i>QCR2</i>	<i>orf19.2644</i>	ubiquinol--cytochrome-c reductase	0.55	0.51	1	1	A
	<i>YNK1</i>	<i>orf19.4311</i>	nucleoside diphosphate kinase	0.53	0.37	1	1	A
	<i>orf19.26</i>	<i>orf19.26</i>	Png1P peptide:N-glycanase	0.64	0.62	1	1	A
	<i>orf19.2821</i>	<i>orf19.2821</i>	NADH dehydrogenase (ubiquinone) 22K chain precursor	0.67	0.47	1	1	A
	<i>orf19.2954</i>	<i>orf19.2954</i>	unknown function	0.66	0.66	1	1	A
	<i>orf19.3926</i>	<i>orf19.3926</i>	Rny1 ribonuclease	0.66	0.65	1	1	A
	<i>orf19.5231.2</i>	<i>orf19.5231.2</i>	ATP19 subunit K	0.62	0.46	1	1	A
	<i>orf19.5598.2</i>	<i>orf19.5598.2</i>	F1-ATPase epsilon sub.respiration	0.63	0.59	1	1	A
	<i>orf19.6223</i>	<i>orf19.6223</i>	Spo22 involved in sporulation	0.48	0.39	1	1	A
	<i>orf19.952</i>	<i>orf19.952</i>	unknown function	0.44	0.50	1	1	A
	<i>ATP1</i>	<i>orf19.6853.3</i>	F1F0-ATPase complex	0.45	0.41	1	1.6	A
	<i>FUM12.3f</i>	<i>orf19.6725</i>	fumarate hydratase, 3-prime end	0.41	0.29	1	3.1	A
	<i>FUM12.5f</i>	<i>orf19.6724</i>	fumarate hydratase, 5-prime end	0.53	0.38	1	2.1	A
	<i>STF2</i>	<i>orf19.2107.1</i>	ATP synthase regulatory factor	0.67	0.35	1	2.5	A
	<i>IFE2</i>	<i>orf19.5288</i>	unknown function	0.51	0.57	1	0.41	A

## **Danksagung**

An dieser Stelle möchte ich zunächst Herrn Prof. Dr. J. F. Ernst für die Unterstützung und Betreuung während der gesamten Doktorarbeit danken. Vielen Dank auch für die Möglichkeit interessante Meetings und andere Labore besuchen zu können.

Des Weiteren möchte ich Herrn Prof. Dr. R. Freudl für die Übernahme des Korefferats herzlichst danken.

Der gesamten, lieben AG Ernst/ AG Lengeler danke ich für die lustige Zusammenarbeit im Labor und dem ganzen Institut (einschließlich der guten Seele Anna) für die Karnevalparties, Grillabende, Kirmesbesuche und Volleyballstunden.

Danke an meine „Labor-Mädels“ Jessica und Christine für die spannenden, unterhaltsamen Restaurantbesuche und vor allem Christine für die Diskussionen über die Arbeit und sonstiges, sowie für das „Aufpäppeln“ durch milchfreien Kuchen und gutes Zureden während des Zusammenschreibens.

Herzlichen Dank an den Microarray-Profi Gido für die Mühen und die vielen vielen Stunden auf der AIDA (schön wär's!).

Cosima und der AG Alfermann möchte ich für die Bereitstellung von Geräten und die Hilfe bei der Lipidextraktion danken, sowie Frau Petra Schwendig-Radtke und Frau Thomae vom Chem. Lebensmittel-Untersuchungsamt des Kreises Mettmann für die Analysen dieser Proben.

Einen Dank geht auch an meine Freunde, die einige Monate auf mich verzichten mussten und an Kathrin, die es geschafft hat, mich mittels einer „Bestechung“ immer wieder zu motivieren.

Ein besonderes Dankeschön gilt meinen Eltern, die mich während der gesamten Zeit der Doktorarbeit finanziell und moralisch unterstützt haben. Darüber hinaus haben sie mich spontan für das Zusammenschreiben dieser Arbeit wieder bei sich aufgenommen, um mich regelmäßig mit „Menüs aus aller Welt“ zu verwöhnen.

Ich möchte auch meinen Geschwistern und der Familie Doedt für ihr Verständnis danken, denn Besuche, Shopping-Touren etc. wurden rar.

Der letzte liebe Dank geht an meinen Freund Tom, der es (ob Fern oder Nah!) immer wieder Verstand mich aufzubauen, mich zu belustigen, mir zuhörte, meine Hochs und Tiefs während des Zusammenschreibens ertrug und schließlich auch diese Arbeit als ehemaliger Efg1p-Experte kritisch durchlas.

Die hier vorgelegte Dissertation habe ich eigenständig und ohne unerlaubte Hilfe angefertigt. Die Dissertation wurde in der vorgelegten oder in ähnlicher Form noch bei keiner anderen Institution eingereicht. Ich habe bisher keine erfolglosen Promotionsversuche unternommen.

Düsseldorf, den 20.06.06

(Eleonora Setiadi)

Teile dieser Arbeit wurden zur Veröffentlichung eingereicht:

**Eleonora R. Setiadi, Thomas Doedt, Fabien Cottier, Christine Noffz und Joachim F. Ernst (2006)**

Transcriptional response of *Candida albicans* to hypoxia: linkage of oxygen sensing- and Efg1p- regulatory networks.

Eingereicht bei: *Journal of Molecular Biology*