Original Article

Iranian Journal of Medical Microbiology

Iran J Med Microbiol: Volume 9, Number 1 (03-2015)

Journal homepage: www.ijmm.ir

Prediction of antigenic sites on ALS1 and HWP1 protein sequences in vaginal isolated *C. albicans* of using bioinformatics analysis

Mona Pakdel, Mahboobeh Zarrabi, Ezzat Asgarani, Parisa Mohammadi

Department of Biology, Faculty of Sciences, Alzahra University, Tehran, Iran.

Article Information

Article history:
Received: 2014/07/25
Accepted: 2014/12/14
Available online:2015/03/30

Article Subject:
Medical Mycology

IJMM 1394; 9(1): 29-34

Corresponding author at:

Dr. Parisa Mohammadi

Department of Biology, Faculty of Sciences, Alzahra University, Tehran, Iran.

Email:
p.mohammadi@alzahra.ac.ir

Abstract

Background and Aim: The ability to predict antigenic sites on proteins is of major importance for medication. The aim of this study was to predict the antigenic sites on Agglutinin Like Sequence (ALS1) and Hyphal Wall Protein Sequences (HWP1) in *Candida albicans* isolated of vaginal infections using Physico-Chemical Profiles server.

Materials and Methods: 7 isolates were obtained from women with vaginal infection which were collected from various medical centers of Tehran in 2011 and 2012. At the first,DNA was extracted by Phenol-Chloroform method. Multiplex PCR was performed by using specific primers. In order to do bioinformatic studies, the genes were sequenced and then translated. Antigenic sites of protein sequences were identified by Physico-Chemical Profiles program.

Results: The results showed that the presence of two genes *als1* and *hwp1* in isolates. In ALS1 and HWP1, respectively 2 and 1 antigenic site with the most antigenicity were identified.

Conclusions: According to previous studies, Serine and Threonine phosphorylation is an important mechanism in pathogenesis of ALS1 and HWP1 proteins. Results in this study showed that serine and threonine are the most amino acids in the antigenic sites with high antigenicity property.

Key Words: *Candida albicans*; Biofilm; Vaginal infection; Bioinformatics.

Copyright © 2015 Iranian Journal of Medical Microbiology. All rights reserved.

How to cite this article:

Pakdel M, Zarrabi M, Asgarani E, Mohammadi P. Prediction of antigenic sites on ALS1 and HWP1 protein sequences in vaginal isolated C. albicans of using bioinformatics analysis. Iran J Med Microbiol. 2015; 1394 (1) :29-34

مقاله پژوهشی

مجله میکروب‌شناسی پزشکی ایران

سال ۹ – شماره ۱ – بهار ۱۳۹۴

Journal homepage: www.ijmm.ir

پیشگویی مناطق آنتی ژنی در دو توالی پروتئینی ALS1 و HWP1 در جدایه های واژینالی *کاندیدا آلبیکنس* با تجزیه و تحلیل بیوانفورماتیکی

مونا پاکدل، محبوبه ضرابی، عزت عسگرانی، پریسا محمدی

گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه،دانشگاه الزهرا (س)، تهران، ایران.

اطلاعات مقاله

تاریخچه مقاله

دریافت:۱۳۹۳/۰۳/۱۶

پذیرش:۱۳۹۳/۱۰/۲۵

انتشار آنلاین:۱۳۹۴/۰۱/۱۰

موضوع:

قارچ شناسی پزشکی

IJMM 1394; 9(1): 29-34

نویسنده مسئول:

دکتر پریسا محمدی

گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه الزهرا (س)، تهران، ایران.

تلفن: ۸۵۶۹۲۷۱۴ -۰۲۱

پست الکترونیک:

p.mohammadi@alzahra.ac.ir

چکیده

زمینه و اهداف: توانایی تشخیص مناطق آنتی ژنی در پروتئین ها از جمله عوامل مهم برای درمان می باشد. هدف از این مطالعه پیشگویی مناطق آنتی ژنی در دو توالی پروتئینی ALS1 (Agglutinin Like Sequence) و HWP1 (Hyphal Wall Protein Sequences) در جدایه های *کاندیدا آلبیکنس* عامل عفونت واژینالی با تجزیه و تحلیل بیوانفورماتیکی می باشد.

مواد و روش کار: در این بررسی ۷ جدایه از زنان مبتلا به عفونت واژینال که طی سال های ۱۳۹۰و ۱۳۹۱ از مراکز مختلف پزشکی تهران جدا شده بود انتخاب گردید. استخراج DNA به روش فنل- کلروفرم- ایزوآمیل الکل صورت گرفت. سپس Multiplex PCR با استفاده از پرایمرهای اختصاصی انجام شد. به منظور مطالعات بیوانفورماتیکی، ژن ها توالی یابی و ترجمه شدند. سپس مناطق آنتی ژنی دو توالی پروتئینی از طریق برنامه Physico-Chemical Profiles شناسایی شدند.

یافته‌ها: نتایج حاصل حضور دو ژن *als1* و *hwp1* در جدایه های مورد مطالعه را نشان داد. در دو توالی پروتئینی *ALS1* و *HWP1* به ترتیب ۲ و ۱ منطقه آنتی ژنی تشخیص داده شد.

نتیجه‌گیری: طبق مطالعات گذشته، فسفریلاسیون سرین و ترئونین یکی از مکانیسم های موثر در آنتی ژنسیته دو پروتئین *ALS1* و *HWP1* است. نتایج حاصل از این مطالعه تایید نمود که سرین و ترئونین عمده ترین آمینواسیدها در این مناطق با خاصیت آنتی ژنتی بالا می باشند.

کلمات کلیدی : *کاندیدا آلبیکنس*؛ بیوفیلم؛ عفونت واژینال؛ بیوانفورماتیک.

کپی‌رایت ©: حق چاپ، نشر و استفاده علمی از این مقاله برای مجله میکروب‌شناسی پزشکی ایران محفوظ است.

مقدمه

بسیاری از گونه های کاندیدیایی به شکل همزیست با میزبان خود زندگی می کنند و در شرایط عادی برای انسان غیر بیماری زا هستند. با این وجود هنگام اختلال در عملکرد مخاطی اندام‌های خاص و یا نقص سیستم ایمنی بدن این ارگانیسم می‌تواند به میزبان خود آسیب برساند (۱). *کاندیدا آلبیکنس* از جمله گونه های جدا شده است که باعث ایجاد عفونت کاندیدیازیس در انسان و سایر حیوانات می شود (۲) همچنین *کاندیدا آلبیکنس* از جمله عوامل اصلی ایجاد کننده نوعی عفونت شایع در زنان به نام کاندیدیازیس وولوواژینال می باشد که این عفونت در سال های اخیر شیوع فراوانی داشته است و به درمان های پادزیستی مقاومت نشان می دهند (۳). علت مقاومت، تشکیل ساختارهای بیوفیلمی می باشد. تجمعی از سلول های میکروبی که در یک ماتریکس خارج سلولی تولید شده توسط میکروارگانیسم‌ها، به طور محکم به سطوح متصل شده اند را بیوفیلم گویند. اصطلاح بیوفیلم در سال ۱۹۸۷ توسط Costerton برای اولین بار به چنین اجتماعات میکروبی گفته شد (۴). شیوهٔ زندگی بیوفیلمی، میکروارگانیسم ها را قادر می سازد تا در برابر استرس های اکسیداتیو، درمان پادزیستی و فقر غذایی مقاومت کنند. تشکیل بیوفیلم شامل فعال شدن یک شبکه پیچیده ژنی تنظیم کنندهٔ سیگنال های مختلف زیست محیطی

است (۵). خانواده ژنی *agglutinin-like sequence* (*als*) بزرگترین خانواده ژنی می باشد که در *کاندیدا آلبیکنس* به عنوان یکی از عوامل مهم در اتصال ارگانیسم شناخته شده است. این ژن ها رمز کنندهٔ گلیکوزیل فسفاتیدیل اینوزیتول متصل به گلیکوپروتئین سطحی سلول است که به عنوان عامل چسبندگی شناخته شده است. مشاهده شده است که اعضای خانواده ALS توانایی ایجاد ارتباط با سلول ها و پروتئین های میزبان را دارند. یافته ها نشان داده اند که بیان ژن *als1* در مدت رشد بیوفیلم افزایش یافته و در تشکیل بیوفیلم نقش مهمی را ایفا می کند. ژن‌های (*hwp1*) *hyphal* و *wall protein 1* نیز در تشکیل بیوفیلم نقش مهمی را ایفا می کنند (۶). پروتئین HWP1 یک گلیکوزیل فسفاتیدیل اینوزیتول متصل به مانوپروتئین می باشد که همانند پروتئین رمز شونده توسط ژن های خانوادهٔ *als* نقش مؤثری در اتصال دارد. اتصالی که این پروتئین با سلول میزبان انجام می دهند از نوع کووالانسی است (۷). مولکول های آنتی-ژن، پلیمرهای زیستی بزرگی هستند که معمولاً در سطح سلول وجود دارند و با آنتی‌بادی ها در تعامل می باشند. شناسایی ساختار پروتئین آنتی ژنی در حال حاضر کاری دشوار و زمان بر می باشد. با کسب اطلاعات بیشتر در مورد آنتی‌ژن های پروتئینی، می توان این اطلاعات را به منظور پیشگویی مکان و همچنین اطلاعات ایمنولوژیکی پروتئین مورد نظر به کار برد (۸).

برنامه Physico-chemical profile، از جمله برنامه هایی می باشد که برای تعیین مناطق آنتی ژنی به کار برده می شود. برای کار با این برنامه تنها توالی آمینواسیدی پروتئین لازم است و اطلاعات دیگری مورد نیاز نیست. لازم به ذکر است که این برنامه با زبان basic نوشته شده است (۹). پیش بینی مناطق آنتی ژنی در توالی پروتئین اهمیت بسیار زیادی در تولید واکسن و یا روش های درمانی دارد (۱۰). هدف از این مطالعه تعیین مناطق آنتی ژنی در دو توالی پروتئینی ALS1 و HWP1 در جدایه های واژینالی *کاندیدا آلبیکنس* با استفاده از برنامه Physico-chemical profile می باشد.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه ۷ جدایه‌ی *کاندیدا آلبیکنس* از بیماران مبتلا به عفونت های واژینال جدا و شناسایی مرفولوژیکی و مولکولی روی آنان انجام شده بود. نمونه ها از ترشحات واژن زنان مشکوک به عفونت کاندیدیازیس و از مراکز مختلف پزشکی تهران در تاریخ اردیبهشت ۱۳۹۰ تا اردیبهشت ۱۳۹۱ پس از اخذ رضایت نامه کتبی از بیماران گرفته شده بود. به منظور بررسی مولکولی حضور دو ژن تشکیل دهندهٔ بیوفیلم در جدایه‌ها، استخراج DNA از کشت ۲۴ ساعته‌ی مخمرهای مورد نظر بر محیط potato dextrose agar (PDA) انجام شد. به منظور اثبات حضور و نقش این ژن‌ها در تشکیل بیوفیلم از روش PCR استفاده گردید. استخراج DNA به روش فنل –کلروفرم –ایزوآمیل الکل انجام شد. برای استخراج بهینهٔ DNA، از ورتکس (VTX-3000L) در حضور عوامل دناتوره کننده و گلوله های شیشه ای استفاده شد. شستشوی سلولی با استفاده از بافر و توسط میکروسانتریفوژ انجام شد (ROTINA 380R, Germany). عمل شستشو دو بار در دور rpm ۱۰۰۰۰ به مدت ۵ دقیقه تکرار گردید. برای تخریب دیواره سلول های مخمر، عمل ورتکس به مدت ۱۵ دقیقه انجام شد. سپس عمل شستشو در دو مرحله به مدت ۵ دقیقه با دور rpm ۱۰۰۰۰ در دمای °C ۲۵ صورت گرفت. فاز رویی به یک میکروتیوپ تمیز انتقال داده شد و ۳ برابر حجم آن اتانول مطلق سرد اضافه گردید. میکروتیوپ فوق به مدت ۱ ساعت در فریزر ۲۰°C- نگهداری شد. سپس مجدداً سانتریفوژ با دور rpm۱۲۰۰۰ در دمای °C ۴ انجام گردید تا رسوب DNA جدا شود. پس از دور ریختن مایع رویی به رسوب حاصل ۳۰۰ میکرولیتر اتانول ۷۰٪ سرد اضافه شد. پس از آن عملیات سانتریفیوژ مانند مرحلهٔ قبل انجام گردید و پس از تبخیر کامل اتانول، آب مقطر استریل به میزان ۵۰ میکرولیتر به رسوب حاصل اضافه شد. در نهایت غلظت و کیفیت DNA استخراج شده با استفاده از اسپکتروفتومتری (Thermo, Evolution 100, England) تعیین شد. در نهایت Multiplex PCR برای DNAهای تخلیص شده با کیفیت مناسب (جذب 260/280 بالای ۱/۸) صورت گرفت. برای انجام Multiplex PCR از پرایمرهای اختصاصی ذکر شده در جدول ۱ برای دو ژن*als1* و *hwp1* استفاده شد (۱۲,۱۱) و حجم نهایی مخلوط واکنش PCR به ۲۵میکرولیتر رسانده شد. مخلوط واکنش شامل ۱۹ میکرولیتر آب، ۱ میکرولیتر DNA و ۲۰ میکرولیتر master mix بود. Master Mix شامل ۲/۵ میکرولیتر بافر 10X، ۰/۷۵ میکرولیتر کلرید منیزیم، ۰/۵ میکرولیتر dNTP، ۰/۲۵ میکرولیتر Taq پلی مراز و ۰/۲۵ میکرولیتر از هر کدام از ۴ پرایمر ذکر شده در جدول ۱ می باشد. برای انجام Multiplex PCR از دستگاه ترموسایکلر (Peqlab, United Kingdom) استفاده شد. الکتروفورز محصولات PCR روی ژل آگارز ۲٪ و در بافر TBE ۵X صورت

گرفت و ژل مربوطه توسط اتیدیوم برماید رنگ آمیزی گردید. برنامه دستگاه ترموسایکر جهت انجام Multiplex PCR شامل یک سیکل واسرشت اولیه به مدت ۴ دقیقه در دمای ۹۴ °C و سپس ۳۵ سیکل واسرشت در مدت ۳۰ ثانیه، ۹۴ °C، اتصال ۳۰ ثانیه در ۵۲ °C، طویل شدن در مدت ۲ دقیقه و دمای ۷۲ °C و در نهایت یک سیکل طویل شدن نهایی طی ۵ دقیقه در دمای ۷۲ °C می باشد. به منظور مطالعات بیوانفورماتیکی روی ژن های شناسایی شده، دست یابی به توالی ژن ها ضروری می باشد. بدین منظور ژل بر روی صفحهٔ UV قرار داده و دو باند مورد نظر با کاتر برش زده شد و به شرکت مربوطه جهت تعیین توالی فرستاده شد. نتیجه توالی یابی هر کدام از ژن ها با ژن های گزارش شده در پایگاه اطلاعاتی NCBI، توسط برنامهٔ Nucleotide Blast هم تراز شدند (۱۳) به منظور بررسی خواص فیزیکو– شیمیایی توالی های پروتئینی، سرور Physico-chemical profile به کار گرفته شد. این سرور قادر به شناسایی خواص گوناگونی از قبیل Hydrophilicity، Hydropathy، Flexibility، Antigenicity، Accessibility، Membrane buried-helix و Antigenicity می باشد (۱۴). به کمک این سرور ویژگی آنتی‌ژنسیتی در دو توالی پروتئینی ALS1 و HWP1 حاصل از استخراج ژن ها مورد بررسی قرار گرفتند.

جدول ۱: توالی پرایمرهای مورد استفاده در تکثیر ژن های هدف

Gene	Forward	Reverse	Length of PCR product (bp)
als1	5’-GAC TAG TGA ACC AAC AAA TAC CAG A-3’	5’-CCA GAA GAA ACA GCA GGT GA-3’	318
hwp1	5’-ATG ACT CCA GCT GGT TC-3’	5’-TAG ATC AAG AAT GCA GC-3’	572

یافته‌ها

نتایج حاصل از این پژوهش بیان گر آن است که از میان جدایه های بررسی شده ۴ جدایه دارای ژن *als1* (۵۷٪) و ۲ جدایه دارای ژن *hwp1* (۲۸٪) می باشد و ۳ نمونه نیز فاقد هر دو ژن مورد نظر است. نتایج حاصل از ژل الکتروفورز، تکثیر قطعات اختصاصی مورد نظر را با استفاده از پرایمرهای مربوطه تأیید می کند (شکل۱).

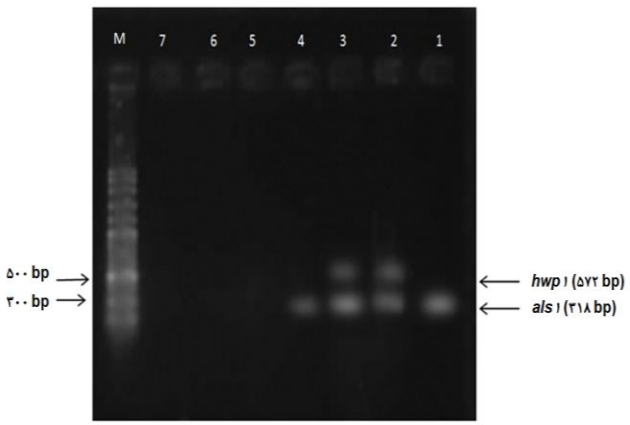
دو توالی زیر نشانگر نتایج حاصل از توالی یابی دو ژن *als1* و *hwp1* می باشد.

als1 F_۱<

GCACACTTCATTTCCACTTCCTTCAAACTCCATCACTGA
AGATATCACCACATCTCAACCTACAGGTGATAATGGAGACAA
TACTTCATCAACCAATCCAGTTCCAACTGTGGCAACAAGTACT
TTAGCATCTGCAAGTGAAGAAGACAACAAAAGCGGTTCTCAT
GAATCAGCATCCACAAGTTTGAAACCAAGTATGGGTGA
AAATTCTGGATTAACTACTTCTACTGAAATTGAAGCT
ACAACAACCAGTCCTACAGAAGCTCCATCA
CCTGCTGTTTCTTCTGGAA

*hwp1*F_۱<

CCATCTGCGAGGACTCTCAGCTGTTCCAAATCAGATGTT
CCAGCTACTGAATCTGCTCCTGCTCCTGAAATGACTCCAGCTG
GTACTGAAACTAAACCAGCTGCTCCAAAATCATCAGCT
CCTGCCACTGAACCTTCCCCAGTTGCTCCAGGTACTGAATCCG
CACCAGCTGGTCCAGGTGCTTCTTCTTCTCCAAAATCTTCTGTT
TTGGCTAGTGAAACCTCACCAATTGCTCCAGGTGCTGAAACC
GCTCCAGCTGGCTCAAGTGGTGCTATTACTATTCCGGAATCTA
GTGCTGTCGTCTCTACGACTGAAGGTGCTATTCCAACTACATT
AGAATCAGTTCCACTCATGCAACCA



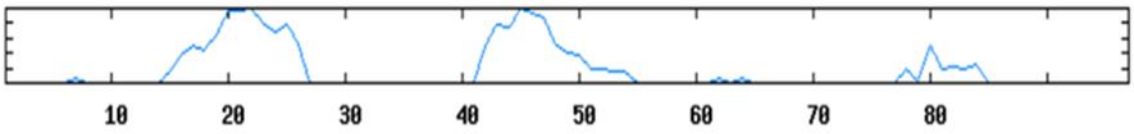
شکل ۱: نتیجهٔ الکتروفورز بخشی از ژن های als1 و hwp1 موجود در ۷ گونهٔ *کاندیدا آلبیکنس*. چاهک های شماره ۷-۱ژن های مورد نظر در جدایه های مورد مطالعه، M: نشانگر (۱۰۰ bp).

نتایج حاصل از همترازی این دو توالی با توالی های *als1* و *hwp1* موجود در پایگاه اطلاعاتی NCBI بیانگر ۹۸٪ شباهت برای ژن *als1* و ۹۹٪ شباهت برای ژن *hwp1* می باشد.

نتایج حاصل از بررسی خاصیت آنتی ژنسیتی در توالی های پروتئینی با کمک برنامه Physico-Chemical Profiles، نشان داده است که در بالاترین مناطق آنتی ژنی دو آمینو اسید سرین و ترئونین با فراوانی بالاتری نسبت به سایر آمینواسیدها وجود دارند (شکل ۲و۳).

>ALS۱

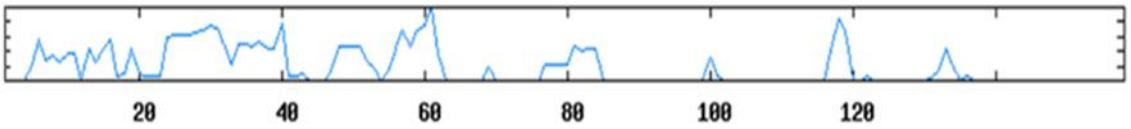
HTSFPLPSNSITEDITTSQ**PTG**DNGDNTSSTNPVPTVATSTLA**SAS**EEDNKSGSHESAST
SLKPSMGENSGLTTSTEIEATTTSPTEAPSPAVSSGX



شکل ۲: دو قله نشان داده شده در شکل بیانگر مناطقی از توالی پروتئینی می باشد که از سایر مناطق پررنگ تر است. این آمینواسیدها (PTGوSAS) در مقایسه با سایرین دارای خاصیت آنتی‌ژنتیسی بالاتری می باشند. (S: سرین. A: آدنین. P: پرولین. T: ترئونین. G: گلوتامات)

>HWP۱

PSARTLSCSKSDVPATESAPAPEMTPAGTETKPAAPKSSAPATEPSPVAPGTESAPAGPG
A**SSS**PKSSVLASETSPIAPGAETAPAGSSGAITIPESSAVVSTTEGAIPTTLESVPLMQP
SANYSSVAPISTFEGAGNNMRLTFGAAIIGIAAFLI*KX



شکل ۳: قله نشان داده شده در شکل بیانگر ناحیه ای از توالی پروتئینی می باشد که از سایر مناطق پررنگ تر است. این آمینواسیدها (SSS) در مقایسه با سایرین دارای خاصیت آنتی‌ژنتیسی بسیار بالاتری می باشند (S: سرین)

بحث

کاندیدا آلبیکنس از جمله عوامل اصلی ایجاد کننده عفونت شایع در زنان به نام کاندیدیازیس وولوواژینال می باشد که این عفونت در سال های اخیر شیوع فراوانی داشته است (۳). ژن های متعددی در تشکیل بیوفیلم کاندیدیایی نقش دارند. مطالعات نشان می دهند که دو ژن *als1* و *hwp1* در ایجاد عفونت های مهمی از جمله کاندیدیازیس ولووژاینال نقش مهمی ایفا می‌کنند. در پژوهشی بیماران مبتلا به کاندیدیازیس ولوواژینال مورد بررسی قرار گرفتند. مطالعه نشان داد که ۴۸٪ جدایه های بیماران ژن *als1* و ۳/۹٪ آن ها ژن *hwp1* را نشان دادند (۷). در تحقیق حاضر از بین نمونه های گرفته شده از بیماران مبتلا به کاندیدیازیس ولوواژینال ۵۷٪ دارنده ژن als1 و ۲۸٪ دارنده ژن *hwp1* بودند. در این تحقیق نیز مانند مطالعات انجام شده توسط Inci و همکاران نمونه های دارای ژن *als1* دارای ژن *hwp1* بودند و این امر پیشنهاد می کند که بیان ژن *als1* بر بیان ژن *hwp1* تأثیر گذار است(۷). تحقیقات نشان می دهد که نوع اسید آمینه بر تشکیل و رشد بیوفیلم مؤثر می‌باشد (۱۵). طی بررسی های انجام شده، انجام فسفریلاسیون سرین و ترئونین برای تشکیل

بیوفیلم امری ضروری می‌باشد (۱۶، ۱۷). به طور کلی مکانیسم فسفریلاسیون پروتئین، مکانیسمی برگشت پذیر است و نقش مهمی در فعالیت‌های سلولی دارد. مشاهده شده است که پروتئین‌کینازها انتقال فسفات گاما را از نوکلئوتید تری فسفات (ATP) به اسید آمینه‌های موجود در زنجیره پروتئین بر عهده دارند که این امر باعث تغییر شکل و عملکرد پروتئین می شود. به طور معمول فسفریلاسیون با تغییر در فعالیت آنزیم، موقعیت سلولی و یا ایجاد ارتباط با دیگر پروتئین ها، منجر به تغییر عملکرد پروتئین می گردد (۱۸). مطالعه مناطق آنتی ژنسیتی در پروتئین مورد بررسی نقش مهمی را در درمان به ویژه در تولید واکسن ایفا می کند (۱۰). در این مطالعه با استفاده از برنامه Physico-chemical profile مناطق با خاصیت آنتی ژنسیتی بالا در دو توالی ALS1 و HWP1 مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج این بررسی بیانگر وجود دو اسید آمینه سرین و ترئونین در مناطق با خاصیت آنتی ژنی می باشد. نتایج این بررسی، مطالعات گذشته را مبنی بر اهمیت فسفریلاسیون دو اسیدآمینه سرین و ترئونین را در تشکیل بیوفیلم تایید می کند.

به دلیل طویل بودن توالی های ژنی *als1* و *hwp1*، در این پژوهش امکان بررسی کل توالی‌های ژنی امکان پذیر نبود و تنها بخش کوچکی از این دو ژن استخراج و مورد تجزیه و تحلیل بیوانفورماتیکی قرار گرفت. با توجه به مطالعات گذشته در خصوص تأثیر فسفریلاسیون دو اسیدآمینه سرین و ترئونین در تشکیل بیوفیلم، که از جمله عوامل آنتی ژنسیتی می باشد، نتیجه مورد انتظار با استفاده از نرم افزار های مذکور مورد تایید قرار گرفت. به منظور بررسی دقیق تر و همچنین عملکرد بهتر برنامه Physico-chemical profile، مطالعات بیشتر در این زمینه پیشنهاد می شود.

تقدیر و تشکر

نویسندگان بر خود فرض می دانند که از کارشناس آزمایشگاه خانم یوسفی به دلیل کمک های تکنیکی تشکر نمایند. این مطالعه در قالب پایان نامه کارشناسی ارشد و در آزمایشگاه ملی میکروبیولوژی صنعتی دانشگاه الزهرا (س) انجام شد.

تعارض منافع:

بین نویسندگان و مجله میکروب‌شناسی پزشکی ایران هیچ گونه تعارض منافعی وجود ندارد.

References

1. Kourkoumpetis TK, Themistoklis K, et al. The effect of cumulative length of hospital stay on the antifungal resistance of Candida strains isolated from critically ill surgical patients. Mycopathologia. 2011; 171:85-91.
2. Fugelsang K, Edwards C. Wine Microbiology. 2nd ed. Springer Science and Business Media, New York; 2010.
3. Elizondo-Zertuche M, Robledo-Leal E, González JG, Ceceñas LA, González GM. Efficacy of Ravuconazole in a murine model of vaginitis by Candida albicansRavuconazole in a vaginal murine model. Rev IberoamMicol. 2013; 1130:1406-13.
4. Kokare CR, Chakraborty S, Khpade AN, Mahadik KR. Biofilm:Importance and Application. Indian journal of biotechnology. 2009; 8:159-168.
5. Chen CY, Hofmann CS, Cottrell BJ, Strobaugh TP, Paoli GC, Nguyen LH, et al. Phenotypic and Genotypic Characterization of Biofilm Forming Capabilities in Non-O157 Shiga Toxin-Producing Escherichia coli Strains. PLoS One. 2013; 8: 84863-76.
6. Hoyer LL, Green CB, Oh SH, Zhao X. Discovering the Secrets of the Candida albicans Agglutinin-Like Sequence (ALS) Gene Family a Sticky Pursuit. Med Mycol. 2008; 46: 1–15.
7. İnci M, Atalay MA, Özer B, Evirgen Ö, Duran N, Motor VK. Investigations of als1 and hwp1 genes in clinical isolates of Candida albicans. Turk J Med Sci. 2013; 43:125-130.
8. Hopp TP, Woods KR. Prediction of protein antigenic determinants from amino acid sequences. ProcNatlAcadSci U S A. 1981;78: 3824-8.
9. Hopp TP, Woods KR. A computer program for predicting protein antigenic determinants. MolImmunol. 1983; 20:483-9.
10. Pollard KM1, Cohen MG. Predicting antigenic determinants of autoantigens. Autoimmunity.1990;5: 265-75..
11. Nas T, Kalkanci A, Fidan I, Hizel K, Bolat S, Yolbakan S, et al. Expression of ALS1, HWP1 and SAP4 genes in Candida albicans strains isolated from women with vaginitis. Folia Microbiol (Praha). 2008;53: 179-83.

12. Green CB, Cheng G, Chandra J, Mukherjee P, Ghannoum MA, Hoyer LL. RT-PCR detection of Candida albicans ALS gene expression in the reconstituted human epithelium (RHE) model of oral candidiasis and in model biofilms. Microbiology. 2004;150: 267-75.

13. http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi.

14. www.npsa-pbil.ibcp.fr.

15. Goh SN, Fernandez A, Ang SZ, Lau WY, Ng DL, Cheah ESG. Effects of Different Amino Acids on Biofilm Growth, Swimming Motility and Twitching Motility in Escherichia Coli BL21. Journal of Biology and Life Science. 2013;4: 104-115.

16. Liu Q, Fan J, Niu C, Wang D, Wang J, et al. The Eukaryotic-Type Serine/Threonine Protein Kinase Stk Is Required for Biofilm Formation and Virulence in Staphylococcus epidermidis. PLoS ONE. 2011;6: 25380.

17. Hussain H, Branny P, Allan E. A Eukaryotic-Type Serine/Threonine Protein Kinase Is Required for Biofilm Formation, Genetic Competence, and Acid Resistance in Streptococcus mutans. J. Bacteriol, 2006;188: 1628-32.

18. Hanks SK, Quinn AM, Hunter T. The protein kinase family: conserved features and deduced phylogeny of the catalytic domains. Science. 1988; 241:42-52.