

## 5. Zusammenfassung

Pilze der Gattung *Candida* gehören beim Menschen zur normalen mikrobiellen Flora der Haut und Schleimhäute und können in bis zu 71 % der Gesamtbevölkerung nachgewiesen werden. Der häufigste Vertreter ist dabei *C. albicans*, der als Kommensale normalerweise harmlos ist. Wird jedoch das Gleichgewicht der mikrobiellen Flora verändert oder das Immunsystem des Menschen geschwächt, so kann es neben oberflächlichen Infektionen mit *C. albicans* auch zu invasiven Infektionen kommen, bei denen der Pilz in tiefere Gewebeschichten vordringt und in das Blutssystem gelangt. Daneben kann der Pilz aber auch bei z.B. operativen Eingriffen direkt in die Bauchhöhle gelangen und von dort parenchymale Organe infizieren. Nicht alle *C. albicans* Stämme haben jedoch die gleichen invasiven Eigenschaften. So konnte für Stamm SC5314 gezeigt werden, dass er hoch virulent und stark invasiv ist. Stamm ATCC10231 hingegen war in allen bisher getesteten Infektionsmodellen avirulent und nicht-invasiv. Auch in einem in dieser Arbeit etablierten *ex vivo* Infektionsmodell basierend auf perfundierter Schweineleber waren die beiden Stämme SC5314 und ATCC10231 unterschiedlich.

Weiterhin konnte in der vorliegenden Arbeit gezeigt werden, dass sich die beiden *C. albicans* Stämme SC5314 und ATCC10231 außer in ihren Virulenzeigenschaften nur in wenigen phänotypischen und genotypischen Punkten unterscheiden. Dabei konnte keine Korrelation zwischen den unterschiedlichen *in vitro* Phänotypen bzw. den Unterschieden auf genomischer Ebene und der unterschiedlichen Invasivität der beiden Stämme beobachtet werden. Jedoch konnte mit Hilfe von Transkriptionsprofilen der beiden Stämme, welche aus Organproben nach einer intraperitonealen Infektion der Maus gewonnen wurden, gezeigt werden, dass sich die unterschiedlichen Invasionseigenschaften der beiden Stämme auf transkriptioneller Ebene widerspiegeln. So waren die Transkriptionsprofile der frühen Infektionsphasen bei beiden Stämmen noch recht ähnlich, zu Beginn der Invasion von Stamm SC5314 unterschieden sich die Profile jedoch deutlich. Durch die Einbeziehung von Transkriptionsprofilen, welche aus Organproben der *ex vivo* Infektion gewonnen wurden, konnten Gene identifiziert werden, von denen angenommen wurde, dass ihre Expression direkt im Zusammenhang mit der Invasion steht. Während die putative Metalloproteinase Axl1 keinen direkten Einfluss

auf die Invasion *in vitro* hatte, konnte ein solcher Zusammenhang für den putativen pH-Sensor Dfg16 nachgewiesen werden. Eine Deletion des kodierenden Gens *DFG16* führte demnach (1.) zu Defekten in der Hyphenausbildung bei neutralen bis alkalischen pH-Werten, (2.) zu einer fehlenden Invasivität *in vitro* und (3.) zu einer stark abgeschwächten Virulenz der Mutante in einem intravenösen Infektionsmodell. Außerdem spiegelte sich bei der Mutante der Defekt in der Wahrnehmung des extrazellulären alkalischen pH-Wertes auch auf transkriptioneller Ebene wider.

Unterstützt durch eine Lokalisationsstudie, bei der gezeigt wurde, dass Dfg16 in der Plasmamembran von *C. albicans* lokalisiert ist, kann somit postuliert werden, dass die korrekte Wahrnehmung des extrazellulären pH-Wertes durch den putativen pH-Sensor Dfg16 eine entscheidende Voraussetzung für eine erfolgreiche Invasion von *C. albicans* in Wirtsgewebe darstellt.

## 5. Summary

Fungi of the genus *Candida* belong to the normal microbial flora of the skin and mucosa of humans. They can be found in up to 71 % of the total population. The major representative of this genus is *Candida albicans* which is harmless in its commensal lifestyle, but if the balance of the microbial flora is changed or if the immune system of the host is weakened, *C. albicans* is able to produce superficial and invasive infections. During invasive infections, *C. albicans* penetrates into deeper tissue, finally reaching the bloodstream and resulting in disseminated candidosis. Furthermore the fungus can infect the intraperitoneal cavity during e.g. surgery, resulting in infection of parenchymal organs. But not all *C. albicans* strains have the same invasive properties. Strain SC5314 for example is fully virulent and invasive whereas strain ATCC10231 is avirulent and non-invasive in all animal models tested so far. Also in this study it was shown that the two strains differ in their ability to invade into a newly established *ex vivo* infection model based on perfused pig liver. Furthermore, it was shown in this study that the two *C. albicans* strains SC5314 and ATCC10231 differ only in a few phenotypic and genotypic points. No correlation was found between the observed phenotypes *in vitro* and the differences on the genomic level. However, analysing transcriptional profiles of both strains after intraperitoneal infection of mice showed that the different invasive properties of both strains correlate with the transcriptional profiles. At early stages of infection the profiles of both strains were very similar. But at later time points when strain SC5314 began to invade the liver the profiles were significantly different. Including transcriptional profiles from *ex vivo* infected organ samples into the analysis, genes were identified which were only expressed during invasion. Whereas the putative metalloproteinase Axl1 had no direct influence on the invasion of *C. albicans*, such a relationship was observed for the putative pH sensor Dfg16. Deletion of the coding gene *DFG16* resulted in (1.) defects in hyphae formation at neutral to alkaline pH values, (2.) loss of invasiveness *in vitro*, and (3.) significantly reduced virulence of the mutant in an intravenous infection model. In addition, defects in recognition of the extracellular pH were also seen on the transcriptional level of the mutant.

Supported by localisation studies in which it was shown that Dfg16 is located in the plasma membrane of *C. albicans*, it can be postulated that correct sensing of the

---

extracellular pH by the putative pH sensor Dfg16 is essential for successful invasion of *C. albicans* into host tissue.