

白念珠菌 *CaCdc37* 的表达及功能分析

倪 坚 刘晓艳¹ 陈江野^{1*}

(绍兴文理学院生命科学院, 绍兴 312000; ¹中国科学院上海生命科学研究院生物化学与细胞生物学研究所, 分子生物学国家重点实验室, 上海 200031)

摘要 *CDC37* 基因编码的产物是一个参与蛋白激酶折叠成熟的分子伴侣蛋白, 存在于多种真核生物中。在利用酵母双杂交系统筛选白念珠菌蛋白激酶 *Crk1* 相互作用蛋白时, 获得一个 *CDC37* 同源基因。该基因编码区全长 1 524 bp, 编码一含 508 个氨基酸的蛋白质。其氨基酸序列与酿酒酵母 *Cdc37* 蛋白的序列同源性达 41%。该基因在酿酒酵母中的表达能回复 *cdc37-1* 突变株的温度敏感表型, 表明它能互补 *ScCDC37* 的功能。该基因命名为 *CaCDC37*。Northern 杂交显示, 该基因在白念珠菌中呈组成型表达, 转录水平不受形态转变和生长条件的影响; 在 *crk1* 缺失株和 *CRK1* 高表达菌株中或者在 *cph1efg1* 双缺失株中, *CaCDC37* 基因的转录水平没有明显变化。利用酵母双杂交系统分析 *CaCdc37* 与另外两个预测的白念珠菌分子伴侣蛋白 *CaSti1* 和 *CaHsp90* 的相互作用, 结果表明 *CaCdc37* 能与 *CaSti1* 相互作用, 而与 *CaHsp90* 的相互作用未能检测到。根据这些结果推测了 *CaCdc37* 可能的作用机制。

关键词 白念珠菌; *CaCDC37*; 分子伴侣; 表达

CDC37 最初是从酿酒酵母细胞中分离得到的与细胞周期相关的基因, 编码一个细胞通过 G_1 期检查点所必需的分子伴侣蛋白^[1], 酿酒酵母中很多重要的蛋白激酶诸如 *Cdc28*、*Cak1*、*Ste11* 以及 *Mps1*, 它们的稳定性及功能均与 *Cdc37* 蛋白相关^[2-4]。在哺乳动物系统中, *Cdc37* 的功能机制研究的较为清楚, 它是 *Hsp90* 复合体中专一的与蛋白激酶结合的辅助性分子伴侣^[4], 诸如 *Cdk4*、*Raf1*、*Cdk9* 等很多蛋白激酶的折叠成熟均与其相关^[5-7]。*Cdc37* 一方面识别蛋白激酶的激酶活性区, 另一方面与 *Hsp90* 结合, 调节 *Hsp90* 的 ATP 酶活性, 从而使 *Hsp90* 复合体帮助靶蛋白折叠成熟^[8,9]。对其结构的 X 射线衍射分析表明, *Cdc37* N 端主要与蛋白激酶相互作用, 而其中部区域与 *Hsp90* 相互作用, C 末端对这一相互作用有促进作用^[10]。然而, 在酿酒酵母中, *Cdc37* 究竟是与 *Hsp90* 共同参与蛋白激酶的成熟还是单独帮助蛋白激酶折叠, 还没有确定。在对蛋白激酶 *Ste11* 与 *Gcn2* 折叠成熟的研究中, 发现 *Hsp90* 与 *Cdc37* 共同存在于同一复合体^[4,11,12], 而在 *Kin28*, *Cdc28* 与 *Mps1* 成熟过程中, 并未发现 *Cdc37* 与 *Hsp90* 有直接的相互作用^[3,13,14], 而且 *Cdc37* 帮助 *Cdc28* 的折叠成熟也不依赖于 *Hsp90*^[15]。*Cdc37* 中部结构域的缺失不明显影响其活性。这说

明酿酒酵母 *Cdc37* 蛋白有着与哺乳动物 *Cdc37* 蛋白不同的作用机制。

白念珠菌(*Candida albicans*)是一种致病芽殖酵母, 能进行酵母和菌丝形态的转变, 它的致病性与菌丝的形成密切相关^[16], 我们筛选到一个 *Cdc2* 相关的蛋白激酶 *Crk1*, 它对白念珠菌的菌丝生长有重要作用^[17], *crk1/crk1* 缺失株的菌丝生长存在严重缺陷, 菌丝生长特异的基因的表达水平大大下降, 同时对小鼠的致病能力显著下降。*Crk1* 蛋白的 N 端半长是其激酶活性区, 在以 *Crk1* N 端半长为靶蛋白利用双杂交系统筛选相互作用蛋白的过程中, 我们获得一个特异性与 *Crk1* 激酶活性区相互作用的蛋白质片段, 通过测序及同源性比较, 其与酿酒酵母 *Cdc37* 蛋白同源性最高。我们克隆了编码该蛋白质的全长基因, 并对其功能进行了初步分析。

1 材料与方法

1.1 菌种

大肠杆菌 DH5 α [*supE44* Δ *lacU169* (ϕ 80 *lacZ*AM15)]

收稿日期: 2005-12-08 接受日期: 2006-04-12

国家自然科学基金资助项目(No.30330010, No.30400073)

* 通讯作者。Tel: 021-54921251, Fax: 021-54921011, E-mail:

jychen@sibs.ac.cn

hsdR17 recA1 endA1 gurA96 thi-1 relA1]由本实验室保存。

白念珠菌菌株 SC5314, 缺失株 CAW3 [*crk1::hisG/crk1::hisGURA3hisG ura3::imm434/ura3::imm434*], CAW6 [*crk1::hisG/crk1::hisGURA3hisG ura3::imm434/ura3::imm434+CRK1*], CAW7 [*crk1::hisG/crk1::hisGURA3hisG ura3::imm434/ura3::imm434+CRK1*] 由本实验室保存, 白念珠菌缺失株 HLC54^[18] [*cph1::hisG/cph1::hisG efg1::hisG/efg1::hisG-URA3-hisG ura3::1 imm434/ura3::1 imm434*] 获自美国加州大学刘浩平教授实验室。

酿酒酵母菌株 CJY151 [*MAT α , his3, trp1, LexAop (×6)-LEU2, LexAop (×8)-lacZ*] 由本实验室构建并保存, 酿酒酵母缺失株 *cdc37-1*^[12] [*MAT α cdc37-1 leu2 trp1 ura3*] 由 Picard 教授惠赠。

1.2 培养基及生长条件

YPD 培养基, YPD+ 血清培养基与 SD 培养基用于酵母与白念珠菌菌株的生长与保存, 30 °C 或 37 °C 培养。

1.3 试剂与试剂盒

限制性内切酶、碱性磷酸酯酶 CIP、T4 DNA 连接酶、Klenow 酶均购自美国 Gibco BRL 公司; Zymolase 20T 购自 Seikagaku 公司。各种限制性内切酶接头购自 BioLabs 公司; Taq 酶试剂盒、X-gal 购自 Promega 公司。

1.4 质粒、引物与测序

pVTU102 及 pEG202, pJG4-5, pSH17-4, pRFHM1^[19,20] 双杂交系统质粒由本实验室保存; 引物合成和 DNA 序列的测定在基康公司完成。

1.5 感受态酵母的制备及转化

乙酸锂法转化酿酒酵母, 按 Clontech 公司双杂交系统说明书进行。

1.6 序列查询与比较

DNA 序列的翻译和酶切位点分析, 二级结构预测等利用 DNA Star 软件来完成; 同源性比较查询通过 NCBI 网络服务完成, 检索的数据库包括 GenBank、Genpept、Swissport 和 PIR 等。

1.7 白念珠菌 RNA 抽提与 Northern 杂交

50 ml 培养物, 1 000 r/min, 离心 2 min 回收菌体, 再以 5 ml DEPC 处理过的 0 °C 水洗一次后悬于 3 ml 冰冷的 TES 中, 加入 2 ml 酸性酚, 迅速混匀, 65 °C 保温 1 h, 每隔 10 min 振荡一次。然后置冰上冷却 5 min, 10 000 r/min, 离心 5 min, 上清液转

移到 5 ml 离心管, 加入等体积酚抽 3 次, 氯仿抽提 1 次, 上清液转入 1.5 ml 离心管, 加入 1/10 体积 NaAC (pH 5.3), 用 2~3 倍体积乙醇沉淀。-20 °C 或 -70 °C 放置 1 h 以上, 离心 10 000 r/min 5 min 回收 RNA, 75% 乙醇洗一次, 真空抽干, 沉淀用 10~100 ml DEPC 处理过的水溶解, 测 A_{260} 与 A_{280} 分析质量与浓度。

Northern 杂交按照实验室常规方法进行^[21]。

1.8 酵母转化子 β -半乳糖苷酶活性的检测

取一张 Whatman 滤纸, 覆盖于相应的选择性培养基上(碳源为半乳糖), 用灭菌牙签从选择性培养基平板上挑取酵母转化子菌落(直径 1~2 mm)点到滤纸上, 30 °C 培养 2 天, 然后取出小心浸入液氮中(菌落面朝上), 约 0.5 min 后取出, 置室温几分钟, 将滤纸(菌落面朝上)放于用 Z 缓冲液/X-gal 溶液(100 ml Z 缓冲液中加入 1.67 ml 20 g/L 的 X-gal、0.27 ml β -巯基乙醇; Z 缓冲液含 60 mmol/L Na_2HPO_4 、40 mmol/L NaH_2PO_4 、10 mmol/L KCl、1 mmol/L MgSO_4)预湿的滤纸上, 30 °C 培养 0.5~8 h, 检验菌落是否显蓝色。8 h 内显蓝色的菌落 β -半乳糖苷酶活性为阳性。

2 结果

2.1 *CaCDC37* 基因的克隆

在利用 Crk1N 端半长蛋白(含激酶活性区)作为靶蛋白筛选其相互作用蛋白的过程中, 我们约筛选了 107 个转化子。共获得 8 个阳性克隆。通过限制性酶切图谱分析, 分别属于两个基因片断, 我们对其中一个基因片段 NJN1 进行测序, 获得核苷酸序列。通过在白念珠菌基因组数据库的搜索, 进一步获得 NJN1 基因片段的上下游核苷酸序列, 并获得了编码该蛋白质的完整的阅读框。根据所得基因序列设计 5' 端引物 5'-GTCGGATCCTCATGCCAATA-GATTACTCCAAGT-3' 与 3' 端引物 5'-GCTCTCGA-GCGCTATTTAATCAACTGTATCTTCA-3', 通过 PCR 以白念珠菌基因组 DNA 为模板扩增该基因, 显示长度为 1.5 kb 的单一一条带(图 1), 经测序表明, 所得基因与根据数据库信息获得的基因长度及序列吻合, 将所得基因片段通过 *Bam*HI 与 *Xho*I 酶切后克隆到质粒 pVTU102 中。

2.2 *CaCDC37* 在白念珠菌中的转录

为了检测白念珠菌中 *CaCDC37* 的转录水平, 并分析其表达是否受到与菌丝生长相关的信号转导

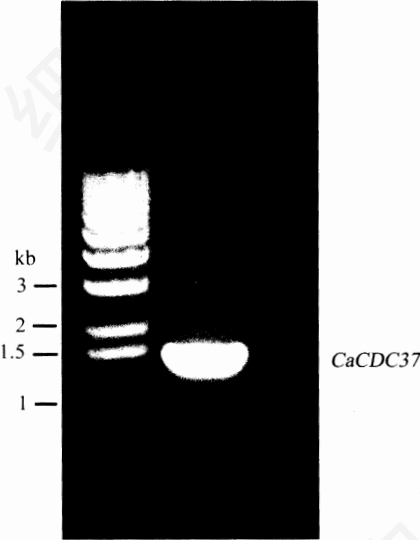


Fig.1 PCR product of the *CaCDC37* DNA fragment amplified from *Candida albicans* genomic DNA

途径的影响，我们以 1.5 kb 的 *CaCDC37* 全长基因作为探针，进行 Northern 杂交实验。我们将 5 个菌株[SC5314, CAW3 (*crk1/crk1*), CAW6 (*crk1/crk1* + *CRK1N*), CAW7 (*crk1/crk1* + *CRK1*), HLC54 (*cph1/cph1*, *egf1/egf1*)] 接种于 YPD 中培养过夜，然后分别转接到 30 °C 的 YPD 培养基(菌体生长条件)和 37 °C 的 YPD 加血清培养基(菌丝生长条件)中培养 3 h，抽提总 RNA，*CaCDC37* 基因探针杂交，检测其表达水平，以组成型表达的 *CaACT1* 基因探针杂交结果为对照，结果显示，*CaCDC37* 在上述菌株中均保持较高的表达水平，不受 *Cph1*、*Egf1* 这两个与菌丝生长信号转导途径中的重要蛋白质缺失的影响，也不受 *Crk1* 蛋白缺失的影响(图 2)。同时，*CaCDC37* 的表达水平不受温度和血清的影响，这些结果表明 *CaCDC37* 的表达与白念珠菌菌丝发育无直接关系，也不受转录因子 *Cph1* 和 *Egf1* 的调控。

2.3 *CaCdc37* 与其他同源蛋白的序列比较

序列分析表明所得基因编码区全长 1 527 bp，推测编码一含 508 个氨基酸的蛋白质。NJN1 为该蛋白质的 93 到 508 个氨基酸的蛋白质片段。通过序列比较与蛋白质同源性分析，其氨基酸序列与酿酒酵母的 *Cdc37* 同源性最高，达到 41%，与裂殖酵母 *Cdc37* 蛋白同源性也达到 37%。而与人、果蝇等多细胞生物的 *Cdc37* 同源性较低，不到 20%。该蛋白质 N 末端 30 个氨基酸保守性相当高，各物种 *Cdc37* 的同源性达到 70% 以上(图 3)，这一区域与

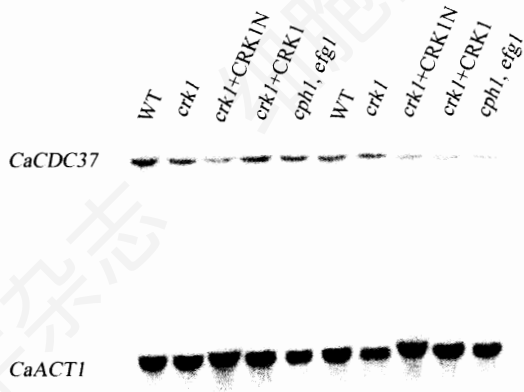


Fig.2 Northern blot analysis of *CaCDC37* in various *C. albicans* strains

1, 6: SC5314; 2, 7: CAW3 (*crk1/crk1*); 3, 8: CAW6 (*crk1/crk1* + *CRK1N*); 4, 9: CAW7 (*crk1/crk1* + *CRK1*); 5, 10: HLC54 (*cph1/cph1*, *egf1/egf1*). Strains from 1 to 5 were cultured in YPD for 6 h at 30 °C, Strains from 6 to 10 were cultured in YPD (with 10% serum) for 3 h at 37 °C. 1.5 kb *CaCDC37* fragment was used as a probe. *CaACT1* served as a control.

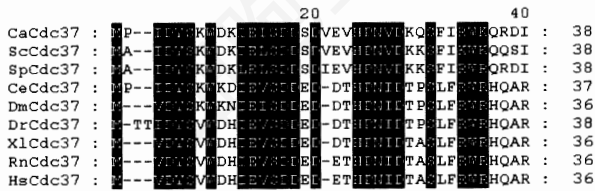


Fig.3 Protein sequence alignment of different *Cdc37* proteins N-terminal domain by Megalign program

Ca: *Candida albicans*; Sc: *Saccharomyces cerevisiae*; Sp: *Schizosaccharomyces pombe*; Ce: *Caenorhabditis elegans*; Dm: *Drosophila melanogaster*; Dr: *Danio rerio*; Xl: *Xenopus laevis*; Rn: *Rattus norvegicus*; Hs: *Human sapiens*.

Cdc37 的功能密切相关。在哺乳动物系统中，Ser13 可以被磷酸化，而且这一磷酸化作用影响 *Cdc37* 结合蛋白激酶及帮助 *Hsp90* 构象改变功能。MALD-TOF 质谱分析表明 Ser13 的磷酸化是 *Cdc37* 与靶蛋白 *Hri* 结合必需的^[22]。在酿酒酵母中，N 端区域有两个 Ser 位点(Ser14, Ser17)，体内实验表明这两个位点可被酪蛋白激酶磷酸化^[23]。酿酒酵母 *CDC37* 基因温度敏感突变株 *cdc37-34* 突变位点为 Ser14。Ser14 在参与比较的各个种属中都相当保守。利用 DNASTar 的 Protean 软件对该蛋白质二级结构分析表明，*CaCdc37* 含较多 α 螺旋结构，蛋白质柔性程度较高，负电荷氨基酸比例较大，这与其他 *Cdc37* 蛋白相似。对来自人、大鼠、爪蟾、斑马鱼、线虫、果蝇、裂殖酵母、酿酒酵母及白念珠菌等模

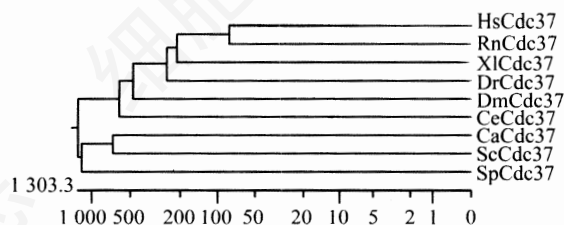


Fig.4 Phylogenetic tree analysis of Cdc37 family member on the basis of their amino acid sequences

式生物的 Cdc37 蛋白家族进化树分析表明, Cdc37 蛋白在物种之间的同源性与物种之间的距离相关性非常明显(图 4)。

2.4 CaCdc37 在酿酒酵母中的表达及功能互补分析

cdc37-1 是酿酒酵母 *CDC37* 基因突变菌株, 其 Cdc37 蛋白的 N 端缺失, 造成它在 37 °C 下生长时被阻遏在 G₁ 和 G₂/M 期, 从而无法顺利完成细胞分裂。为了从功能上验证白念珠菌 *CDC37* 基因的功能, 我们利用 *cdc37-1* 进行了互补实验。*CaCDC37* 与 *NJN1* 基因片段分别被克隆到酿酒酵母表达质粒 pVTU102 的多克隆位点中, 构建了表达质粒 pVTU102-*CaCDC37* 与 pVTU102-*CaCDC37ΔN*。分别将 pVTU102 空质粒、pVTU102-*CaCDC37* 和 pVTU102-*CaCDC37ΔN* 转入 *cdc37-1* 菌株, 所得到的转化子与野生型菌株分别在 25 °C 与 37 °C 下培养。观察生长情况并且拍照。结果表明, 野生型菌株与表达 *CaCDC37* 的 *cdc37-1* 突变株在 25 °C 与 37 °C 下均能正常生长, 而只转化空质粒的 *cdc37-1* 菌株在 25 °C 下生长正常, 而在 37 °C 下无法生长(图 5), 这说明 *CaCDC37* 基因替代了酿酒酵母的 *CDC37* 基因的功能, 是白念珠菌的 *CDC37* 同源基因。同时, 转化了 pVTU102*NJN1* 质粒的菌株在 37 °C 下也无法生长(图 5), 说明 N 端对于 *CaCdc37* 蛋白的功能是必须的。

2.5 CaCdc37 与其他分子伴侣蛋白的相互作用

对哺乳动物 Cdc37 蛋白的研究表明, Cdc37 蛋白是 Hsp90 分子伴侣复合体的成分之一, 通过 Cdc37 与蛋白激酶及 Hsp90 蛋白的相互作用, 特异性的将蛋白激酶募集到 Hsp90 复合体中, 帮助折叠成熟。另外, 另一个分子伴侣蛋白 Sti1/Hop/p60 与 Cdc37 有相似的功能, 两者可以募集靶蛋白, 使之与 Hsp90 复合体结合, 从而帮助靶蛋白折叠。Sti1 参与帮助多种蛋白质的表达, 包括一些蛋白激酶与甾体激素受体^[24,25]。在利用 Crk1 全长蛋白与 Crk1N 端

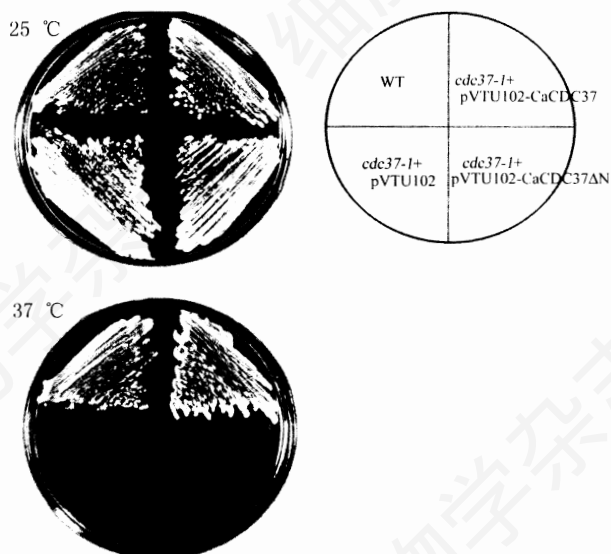


Fig.5 Complementation of a temperature-sensitive *S. cerevisiae cdc37-1* mutant by *CaCDC37*

The strains were grown on YPD plates at 37 °C or 25 °C for 3 days.

半长蛋白作为靶蛋白筛选白念珠菌双杂交文库时, 我们也获得了 *STI1* 基因的同源基因片段^[26], 通过生物信息检索获得了全长编码序列。白念珠菌的 Hsp90 蛋白很早就被克隆^[27]。为检测 *CaHsp90*、*CaSti1* 和 *CaCdc37* 蛋白之间的相互关系, 我们分别克隆了这 3 个基因, 构建 pEG202*CaCDC37*、pJG4-5*CaHSP90* 和 pJG4-5*CaSTI1* 质粒, 利用酵母双杂交系统, 分析了这三者之间的相互作用。 β -半乳糖苷酶测试结果显示, *CaCdc37* 与 *CaSti1* 之间存在相互作用, 而与 *CaHsp90* 之间则未检测到相互作用(图 6)。

3 讨论

Cdc37 蛋白普遍存在于真核细胞中, 目前, 对于哺乳动物 Cdc37 蛋白的功能及作用机制已经研究较为清楚。人的 Cdc37 蛋白全长 378 个氨基酸残基, 大致可分为 3 个结构域, N 端保守区, 大约有 60 个氨基酸残基, 在各物种的 Cdc37 蛋白之间保守性达 70% 以上, 这一区域对于 Cdc37 的功能是必须的, MALD-TOF 质谱分析发现, 这一区域可能参与与蛋白激酶的相互作用^[22], 中部结构域大约有 200 个氨基酸残基, 含有多数 α 螺旋结构, 主要与 Hsp90 蛋白的 N 端相互作用, C 末端大约 100 个氨基酸残基, 帮助 Cdc37 蛋白与 Hsp90 蛋白的相互作用^[10,28]。在哺乳动物系统中, Cdc37 蛋白与 Hsp90 形成复合体, 帮助蛋白激酶的折叠成熟。然而, 在低等的

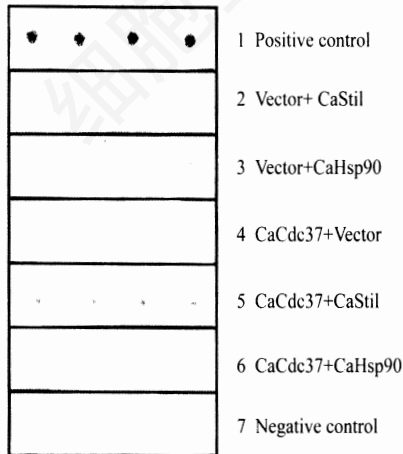


Fig.6 Two-hybrid interactions between CaCdc37 and CaHsp90 or CaSti1

CJY151 was co-transformed with plasmids as following. 1: pSH17-4+pJG4-5; 2: pEG202+pJG4-5CaSti1; 3: pEG202+pJG4-5CaHsp90; 4: pEG202CaCDC37+pJG4-5; 5: pEG202CaCDC37+pJG4-5CaSti1; 6: pEG202CaCDC37+pJG4-5CaHsp90; 7: pRFHM1+pJG4-5.

单细胞生物——酵母系统中, Cdc37 的作用机制却并不十分清楚, 首先, Cdc37 蛋白的长度普遍比高等动物的 Cdc37 蛋白长 100 多个氨基酸残基; 其次, N 端 60 个氨基酸残基保守性很高, 但是其余区域的保守性很低, 不足 15%; 另外, Cdc37 的功能研究中也发现, Cdc37 蛋白帮助蛋白激酶的折叠成熟过程中并不需要 Hsp90 的参与, 其中部结构域(对应于人 Cdc37 蛋白的 Hsp90 结合结构域)的缺失也不影响 Cdc37 蛋白的功能。而且, 在酵母双杂交系统中, 均未检测到白念珠菌 Cdc37 蛋白及酿酒酵母的 Cdc37 蛋白与 Hsp90 蛋白的直接相互作用。从二级结构同源性比较来看, 人的 Cdc37 蛋白中部及 C 端氨基酸残基形成的多个 α 螺旋结构大致与白念珠菌等真菌 Cdc37 的 250~506 氨基酸残基相对应^[10], 而 120~250 氨基酸残基结构域在高等动物 Cdc37 蛋白中没有对应区域, 这一结构域很可能赋予 Cdc37 蛋白额外的作用机制。在裂殖酵母的 Cdc37 蛋白的研究中发现, Cdc37 N 端半长蛋白的存在, 即可以使细胞存活^[29]。这说明 Cdc37 蛋白的 N 端半长就可以帮助重要蛋白激酶的折叠成熟。我们的研究及对酿

酒酵母 Cdc37 蛋白的研究中均发现, Cdc37 蛋白还可以与其他的分子伴侣蛋白如 Sti1 蛋白相互作用, 而且酿酒酵母 Cdc37 蛋白与 Sti1 蛋白一起可以帮助 Cdc28 蛋白的折叠^[25,30]。这些结果表明, 低等真核细胞的 Cdc37 蛋白很可能存在多种作用机制帮助蛋白激酶折叠成熟, 而随着分子进化的进行, Cdc37 蛋白某些区域缺失, 使其功能机制更加单一, 高等多细胞动物的 Cdc37 蛋白演变为专一地与 Hsp90 复合物一起帮助蛋白激酶折叠成熟的辅助性分子伴侣蛋白。

参考文献 (References)

- [1] Reed SI *et al. Genetics*, 1980, **95**: 561
- [2] Farrell A *et al. Mol Cell Biol*, 2000, **20**: 749
- [3] Schutz AR *et al. J Cell Biol*, 1997, **136**: 969
- [4] Abbas-Terki T *et al. FEBS Lett*, 2000, **467**: 111
- [5] Dai K *et al. J Biol Chem*, 1996, **271**: 22030
- [6] Grammatikakis N *et al. Mol Cell Biol*, 1999, **19**: 1661
- [7] O'Keeffe B *et al. J Biol Chem*, 2000, **275**: 279
- [8] Silverstein AM *et al. J Biol Chem*, 1998, **273**: 20090
- [9] Siligardi G *et al. J Biol Chem*, 2002, **277**: 20151
- [10] Roe SM *et al. Cell*, 2004, **116**: 87
- [11] Hunter T *et al. Trends Cell Biol*, 1997, **7**: 157
- [12] Donze O *et al. Mol Cell Biol*, 1999, **19**: 8422
- [13] Gerber MR *et al. Proc Natl Acad Sci USA*, 1995, **92**: 4651
- [14] Mort-Bontemps-Soret M *et al. Mol Genet Genomics*, 2002, **267**: 447
- [15] Kimura Y *et al. Genes Dev*, 1997, **11**: 1775
- [16] Odds FC *et al. Candida and Candidosis*, London: Bailliere Tindal, 1988, 1
- [17] Chen J *et al. Mol Cell Biol*, 2000, **20**: 8696
- [18] Liu H *et al. Science*, 1994, **266**: 1723
- [19] Ausubel F *et al. Current Protocols in Molecular Biology*, Vol.2, John Wiley & Sons, Inc., 1994, 13.4.1
- [20] Toby GG *et al. Methods*, 2001, **24**: 201
- [21] Sambrook J *et al. Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 2nd ed., New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989, 254
- [22] Shao J *et al. J Biol Chem*, 2003, **278**: 38117
- [23] Bandhakavi S *et al. J Biol Chem*, 2003, **278**: 2829
- [24] Chang HC *et al. Mol Cell Biol*, 1997, **17**: 318
- [25] Toufik AT *et al. Biol Chem*, 2002, **383**: 1335
- [26] 倪 坚等. *生物化学与生物物理学报*, 2001, **33**: 198
- [27] Swoboda RK *et al. Infect Immun*, 1995, **63**: 4506
- [28] Zhang W *et al. J Mol Biol*, 2004, **340**: 891
- [29] Turnbull EL *et al. FEBS J*, 2005, **272**: 4129
- [30] MacLean M *et al. Cell Stress Chaperones*, 2003, **8**: 114

Expression and Functional Analysis of *Candida albicans* Cdc37

Jian Ni, Xiao-Yan Liu¹, Jiang-Ye Chen^{1*}

(College of Life Science, University of Shaoxing, Shaoxing 312000, China; ¹State Key Laboratory of Molecular Biology, Institute of Biochemistry and Cell Biology, Shanghai Institutes for Biological Sciences, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200031, China)

Abstract Cdc37 is suggested to act as a molecular chaperone which specifically involved in maturation of protein kinases. A clone containing a CDC37 orthologue was isolated from two hybrid screening with Crk1 kinase domain as a bait. Open reading frame of the gene is 1 524 bp in length and encodes for a protein of 508 amino acids. The deduced amino acid sequence shares the highest similarity with *S. cerevisiae* Cdc37 (41% identity). Based on the amino acid sequence similarity, the gene from *C. albicans* was designated *CaCDC37*. Northern blot analysis showed that the *CaCDC37* was constitutively expressed in *C. albicans*. Transcriptional level of the *CaCDC37* was not regulated in different morphological forms and growth conditions. It is also not affected by deletion or overexpression of the Crk1. Ectopic expression of the *CaCDC37* could complement a *cdc37* thermosensitive mutant (*cdc37-1*) of *S. cerevisiae* indicated that the CaCdc37 has a similar function of the ScCdc37. Yeast two hybrid assay was used to analyse interactions between the CaCdc37 and other two putative chaperons CaHsp90 and CaSti1. The result showed that the CaCdc37 could interact with CaSti1 but not the CaHsp90.

Key words *Candida albicans*; *CaCDC37*; chaperon; expression

Received: December 8, 2005 Accepted: April 12, 2006

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (No.30330010 and No.30400073)

*Corresponding author. Tel: 86-21-54921251, Fax: 86-21-54921011, E-mail: jychen@sibs.ac.cn