

総 説

*Candida albicans*におけるMRS (Major repeated sequence) の構造と機能解析

— 遺伝子型解析への応用と全ゲノム解析の永い道のり —

知 花 博 治 三 上 襄

千葉大学真菌医学研究センター

要 旨

Candida albicans のゲノムにはMRS (major repeated sequence) を中心とする数種類の反復配列が含まれている。2004年に *C. albicans* の全ゲノム配列が発表されたが、MRSが主な原因となり assemble と finishing を困難にし、現在でも染色体ごとに1本に編集されたゲノム配列の報告には至っていない。しかし、一方でMRS (Ca3, 27A, RPSが含まれる) は、菌株ごとにシーケンスやサブリピート構造に多型性を現すため、種の簡易同定や菌株の分類同定などに用いられ、*C. albicans* の疫学調査に役立てられて来た。ここでは、MRSの構造解析から全ゲノム構造解析に至るまでの過程とMRSの菌株分類への応用や、さらに最近の知見からMRSが、*C. albicans* の交配型や薬剤感受性、糖の資化性など様々な形質に関与することが分かって来たことを紹介する。

Key words: RFLP, AFLP, 染色体欠損 (chromosome loss), mating, FISH, 動原体 (centromere)

1. 種特異的反復配列を用いた RFLP から AFLP へ

1980年代後半、*C. albicans* の菌株識別の方法として種に特異的反復配列をプローブに用いたRFLP (restriction fragment length polymorphism) 法が開発され、プローブには、Ca3¹⁾、27A²⁾、RPS³⁾などが用いられた。これら3種のプローブは、異なる研究室でクローニングされたものであるが、互いに相同な領域を含んでいる (Fig. 1)。これらのプローブは、現在でも広く使用されており、論文報告は合計70件を越えている⁴⁾。これらの解析では、*C. albicans* のゲノムDNAを制限酵素 *EcoR* I で処理し、プローブをハイブリダイゼーションすると2-3 kbの間に数本のラダーバンドが現れ、そのバンドのパターンの相違を利用して菌株の分類が行われる。ラダーバンドを生じる原因について調べてみると、これらのプローブの内部には、サブリピート alt (172 bp) が含まれており、その繰り返し回数が異なるために、多型を示すことが明らかにされている⁵⁾。この結果にもとづき、altをPCRによって増幅する簡便な方法、すなわちAFLP (amplification fragment length polymorphism) 法によって、前述のRFLPとほぼ同等の解像度が得られることが示された⁶⁾。KanbeらはaltのAFLP法とTOP2のPCRを組み合わせた解析結果を報告しており⁷⁻⁹⁾、現在では、

このような複数の標的を利用した分子分類法が、標準になりつつある^{10, 11)}。

2. 染色体長多型と反復配列の関係

C. albicans の臨床分離株をPFGE (パルスフィールド電気泳動法) により解析すると、染色体長多型 (chromosomal length polymorphism) が観察されるが、その原因にも反復配列が関与していることが分かっている。Iwaguchiらによって、RPSがクローニングされた際に、8本の染色体中で染色体3番^{注)}以外のすべての染色体上にRPSが存在し、特に染色体5番^{注)}に高密度でRPSが存在することが示されている。さらにRPSは、ゲノム中に無秩序に存在するのではなく、各染色体上の特定の領域に局在することが示唆されている³⁾。*C. albicans* のゲノムGC含量をもとに推測すると、制限酵素 *Sfi* I の認識配列の出現は、およそ1 Mbに1カ所の頻度である。それにもかかわらず、RPS (2-3 kb) の配列上には *Sfi* I の認識配列が、高密度 (≥2) で存在している。

RPSがクローニングされた同時期に、ミネソタ大学のChuらによって、ゲノム制限地図の作製には *Sfi* I が適していることが見いだされ、その制限地図を用いて *Sfi* I の近傍で染色体相互転座を起こし、染色体長多型性を引き起こしていることが示されている¹²⁾。Chindampornらによって、RPSが高密度に存在する染色体5番^{注)}の物理地図が作製され、RPSの正確な位置¹³⁾とRPSに隣接してHOKとRB2が存在し、RB2-RPS-HOKの並びで反復単位を形成していることが示され¹⁴⁾、Chibanaらに

別刷請求先: 知花 博治

〒260-8673 千葉市中央区亥鼻1-8-1

千葉大学真菌医学研究センター

chibana@faculty.chiba-u.jp

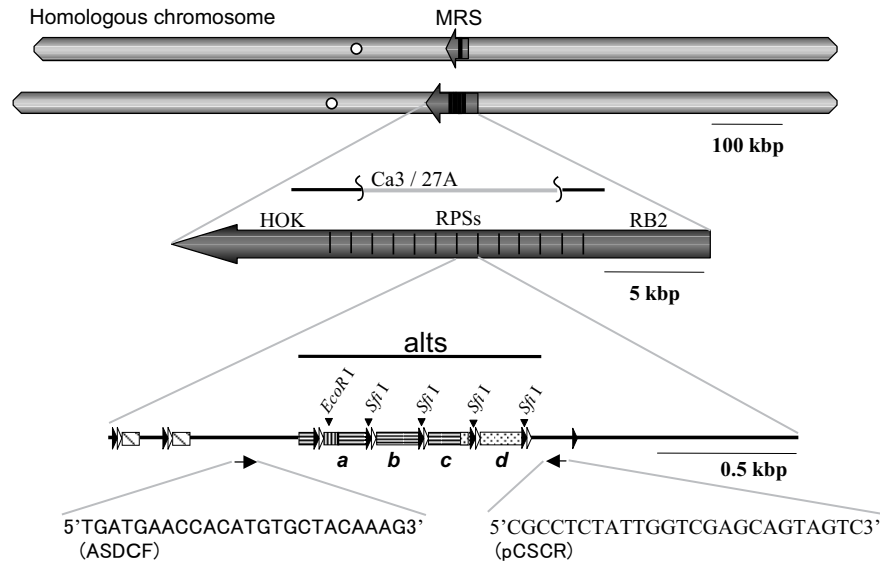


Fig. 1. Anatomic description for MRS: from sequence to chromosome.

Every chromosome except chromosome 3 includes one or two MRS. MRS consists of HOK, RPS and RB2, of which only RPS is repeated tandemly. MRS shares homologous sequences with Ca3 or 27A, which are frequently used as probes for RFLP analyses. RPS includes sub-repeated sequences alts, which are a good target for AFLP. The primer pair of ASDCF and pCSCR for the AFLP has been designed^{6, 7)}

よって、RB2-RPS-HOKの反復単位は他の染色体にも共通して存在していることが確認され、その反復単位はMRS (major repeated sequence) と名付けられている¹⁵⁾ (Fig. 1). さらに、*C. albicans*の染色体長多型性は、MRS領域を介した染色体相互転座とRPSの繰り返された回数の違いで生じていることが明らかにされている¹⁶⁾. 現在、ゲノム全体に分布するMRSや、MRSを部分的に含む配列が、染色体3番を含むすべての染色体上に分布していることが分かっており、MRSの存在意義について研究が進められている。

3. 染色体不分離により誘導される *C. albicans* の交配型

*C. albicans*では長い期間、有性生殖が確認されず、少なくとも主な増殖過程は無性生殖によるとの報告もされていた¹⁷⁾. しかし、Hullらのゲノム情報解析により、*C. albicans*に *Saccharomyces cerevisiae*の交配型遺伝子座であるMAT遺伝子座に類似のMTL (mating-type-like) 遺伝子座 (MTLaとMTLα) が発見された¹⁸⁾. その対立遺伝子座は染色体5番に存在することが確認され、染色体5番を操作することにより実際に交配が可能であることが示されている^{19, 20)}. 臨床分離株は、多くの場合ヘテロ接合体 (MTLa/MTLα) であり交配できないが²¹⁾, *C. albicans*独特の段階を経てホモ接合体が誘導される. MTLのヘテロ接合体では、体細胞分裂時に複製した染色体5番が、(まれに起こる) 染色体不分離 (chromosome non-disjunction) によって2つの染色分体が一方の細胞に分配される. その結果、染色体5番が単染色体

(monosomy) になった細胞が生じる. このとき、他の染色体は二本のままである. 次に2度目の染色体不分離によって染色体5番が二染色体 (disomy) になった細胞が生じ、ホモ接合体 (MTLa/MTLa or MTLα/MTLα) になる. ホモ接合体は、オバーク細胞と呼ばれる交配型に誘導され、接合し四倍体 (tetraploid) になる²²⁾. 四倍体化した細胞において、減数分裂はまだ確認されていないが、全染色体で染色体不分離が任意に起り、徐々に二倍体に近づくと考えられている. このように、*C. albicans*の生活環において、染色体不分離が重要な意味を持つことが分かって来た^{23, 24)}.

4. 染色体不分離により誘導される形質変化

交配型の誘導に加えて、*C. albicans*では、相同染色体の数の変化によってフルコナゾールの感受性が変化することが報告されている²⁵⁾. また、染色体5番が単染色体化した場合にはソルボース (L-sorbose) の資化性が向上することも報告されている²⁶⁾. このような現象から、染色体不分離は新たな環境での生態的地位 (niche) 獲得のための *C. albicans*の戦略の一つと考えられている.

5. FISH法を用いた染色体の観察

1996年に病原真菌では初めてFISH (fluorescence in situ hybridization) 法による解析が報告された. Propidium iodideによる核染色、間接蛍光抗体法によるβ-チューブリン染色、FISH法によるDNA染色の三重染色が施された. これにより *C. albicans*の細胞周期の各ステージにおけるRPS, rDNA, テロメアの核内局在が観察され、*C. albicans*の細胞分裂期では顕著な染色体凝集は起らないことや、分裂後期の所用時間が長いことが示されている²⁷⁾. これらの観察結果より、*C. albicans*の分

注) 染色体3番: Iwaguchiらは染色体4番と表記しているが、後に統一され染色体3番となった. 同様にIwaguchiらが表記した染色体6番は染色体5番に統一された¹²⁾.

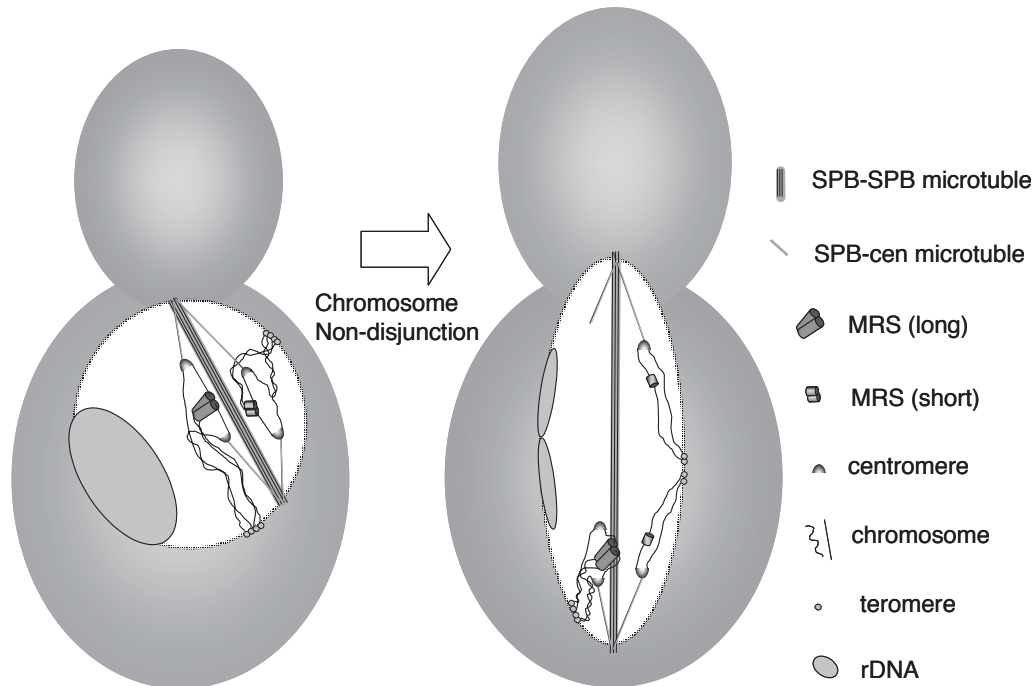


Fig. 2. A model for chromosome non-disjunction events, supported by FISH and genetic analysis.

It is supposed that chromosome disjunction proceeds while undoing chromosomes that have gotten tangled²⁷⁾. This process seems to progress less efficiently due to MRS region, and in rare cases leads to failure of chromosome disjunction. Chromosome nondisjunction occurs more often on the chromosome bearing the longer MRS than the shorter one²⁸⁾.

裂期では、高等生物とは異なり染色体が絡んだ状態になり、絡まった染色体が解かれながら両極へ分離していることが推測された。この推測が正しければ、MRSのような長い繰り返し構造をもつ異質な領域が、染色体分離に何らかの影響を与えるのではないかと仮説が立てられた (Fig. 2)。

6. MRS の染色体不分離への影響

C. albicans をソルボースだけを炭素源にした培地に塗布すると、染色体 5 番が単染色体化したクローンだけが生育できる。このことを利用して染色体 5 番の相同染色体間で、MRS のサイズが異なる株の染色体不分離の頻度が調べられている。その結果、MRS のサイズが長い相同染色体の方が、染色体不分離の頻度が高いことが明らかになっている²⁸⁾。既に述べたように *C. albicans* において、染色体不分離は重要な意味を持っており MRS は染色体分離を介して、交配や核相変換、糖の資化性、薬剤感受性などに影響していることが分かってきた。特に染色体 5 番の染色体不分離では、他の染色体の場合に比べて有効な事例が多いために染色体 5 番の MRS のサイズが長い傾向にあると考えられる。

7. MRS とセントロメア

MRS の構造的特徴として、MRS の中に、RPS があり、RPS の中には alt が存在するという階層的な繰り返し構造が見られる。このような繰り返し構造は、ヒトのセントロメア (動原体) であるアルフォイド DNA²⁹⁾ によく

似ていることから、MRS が *C. albicans* のセントロメアである可能性が示唆されていた。また前述の FISH 法による解析では、MRS がセントロメア、あるいはその近傍に存在することも示唆されていた²⁷⁾。そこで MRS がセントロメアか否かを遺伝学的に検証するために、自立的複製型ベクターである pABSK が構築され MRS (16 kb) を挿入、*C. albicans* の体細胞分裂における分離の効率が調べられた。しかし、安定性は認められず、セントロメアとして機能は示されなかった (未発表)。Sanyel らによって、セントロメアの有力な候補領域が示されたが、その領域に MRS は含まれていないが³⁰⁾、その領域と MRS の関係は現在も解析中であり、結論はまだ得られていない。

8. *C. albicans* 染色体物理地図の構築

C. albicans のゲノム物理地図の作製は、Magee らによって開始された。まず制限酵素 *Sfi* I を用いてマクロ物理地図が作製され、ゲノムあたりの染色体は基本的に 8 本、ゲノムサイズは 16 Mbp、2 倍体であることが明らかにされた¹²⁾。次に、*C. albicans* のゲノム DNA ライブラリーを用いて、染色体 7 番 (約 1 Mbp) のテロメアを除く全域をカバーする STS (sequence tagged sites) map が作製され、*C. albicans* の染色体の基本的構造が明らかにされた¹⁵⁾。その過程で、物理地図の作製方法が改良され³¹⁾、この手法によって、7 番以外の染色体の物理地図の作製が効率的に進められた。

9. *C. albicans* のゲノムシーケンスプロジェクト

スタンフォード大学における *C. albicans* のゲノムシーケンスプロジェクトでは、二倍体細胞から抽出したゲノムをショットガン法で解析するという世界初の試みであった（約30万個のプラスミドのシーケンスが決定され、その合計は *C. albicans* のゲノムの約10倍、156 Mbpにおよんだ）。多少強引な手法であったためアセンブル（assemble）の作業に10年近く費やされたが、Assembly 19として論文発表された³²⁾。しかし、この時、RPSはアセンブルの工程に支障をきたすという理由で、ほとんどのシーケンスが破棄されている。

10. 更新され続けるゲノム情報

Assembly 19は412の contig で構成され、各 contig の末端、または末端付近には、MRS や様々な反復配列³³⁾が存在し、不完全な状態である。特にMRS領域をホールゲノムショットガン法によって、シーケンスを決定することは不可能であった。そこで、先に完成していた染色体7番の物理地図をもとに、染色体7番（1 Mbp）の contig マップが作製された。これによって16カ所のギャップが示され、これらのギャップはPCRで増幅、さらに染色体7番の2つのMRS領域（16 kb）の全シーケンスも決定された³⁴⁾。この時の染色体7番のアノテーションの結果とAssembly 19のアノテーション³⁵⁾の結果にもとづいて作製されたデータベースが、*Candida* Genome Database (CGD) で公開されている [<http://www.candidagenome.org/>]。

カナダ、アメリカ、日本の共同によりAssembly 19にもとづく finishing 作業を進められている。まず、PFGEによって染色体DNAが分離され、ゲルから抽出した各染色体DNAがマイクロアレイにハイブリダイズされた。これにより、Assembly 19の各 contig が、どの染色体に由来するかが示された。マイクロアレイの結果とミネソタ大学で進められてきたSTS mapの情報、さらには進行中の *C. dubliniensis* のゲノムシーケンスデータとの参照結果も合わせて、Assembly 19の contig が、染色体ごとに並ぶゲノム地図が作製された。最後に、各 contig の両端からそれぞれ外側に向けたPCRが行われ、MRSを除くほとんどのギャップが埋められた。（<http://candida.bri.nrc.ca/candida/alignments/index.cfm>）。現在、そのアセンブルによって作製されたAssembly 20が公開されようとしている。ただし、Assembly 20に至っても完全なものではなく、サブテロメアは不完全であり、テロメア領域は全く含まれていない。MRS領域については、染色体6番と7番のシーケンスが決定されたが、それ以外のMRSは、ギャップが残された状態である。

S. cerevisiae のデータベースSGDにおいても、シーケンスとアノテーションのデータは現在でも更新され続けている。これに習い、Assembly 20の公開以降も *Candida* Genome Database (CGD) において、ゲノム情

報は継続的に更新されていくことになっている^{36, 37)}。

おわりに

C. albicans の研究者は、いち早く分子生物学的手法を導入することにより、病原真菌の中で最も早く基礎研究を発展させてきた。現在では、*C. glabrata*, *C. famata*³⁸⁾ や *C. dubliniensis* など non-*albicans* *Candida* や、*Cryptococcus neoformans*³⁹⁾, *Aspergillus fumigatus*⁴⁰⁾ の全ゲノム配列も次々に決定され、ゲノムをプラットフォームに *C. albicans* の研究から得られた遺伝子解析結果が、多くの菌種で瞬時に検証されることが容易となってきた。今後は真菌側と宿主側との分子レベル相互作用がゲノムワイドに研究され、病原真菌の多様性と普遍性が体系的に解析されていくことになるであろう。その結果、MRSのような機能未知で“Junk DNA”と思われたDNAの中にも、予想されなかった新たな病原真菌特有の機能等が見つけられ、病原性の解明と抗真菌薬の開発に役立てられると考えられる。

References

- 1) Soll DR, Staebell M, Langtimm C, Pfaller M, Hicks J, Rao TV: Multiple *Candida* strains in the course of a single systemic infection. *J Clin Microbiol* **26**(8): 1448-1459, 1988.
- 2) Scherer S, Stevens DA: Application of DNA typing methods to epidemiology and taxonomy of *Candida* species. *J Clin Microbiol* **25**(4): 675-679, 1987.
- 3) Iwaguchi S, Homma M, Chibana H, Tanaka K: Isolation and characterization of a repeated sequence (RPS1) of *Candida albicans*. *J Gen Microbiol* **138**(Pt 9): 1893-1900, 1992.
- 4) Soll DR, Pujol C: *Candida albicans* clades. *FEMS Immunol Med Microbiol* **39**(1): 1-7, 2003.
- 5) Chibana H, Iwaguchi S, Homma M, Chindamporn A, Nakagawa Y, Tanaka K: Diversity of tandemly repetitive sequences due to short periodic repetitions in the chromosomes of *Candida albicans*. *J Bacteriol* **176**(13): 3851-3858, 1994.
- 6) Doi M, Chibana H, Nakagawa Y, Tanaka K: Discrimination among the clinical isolates of *Candida albicans* by amplification of the repetitive sequences, *alts. Microbiol Immunol* **42**(3): 227-230, 1998.
- 7) Kanbe T, Kurimoto K, Hattori H, Iwata T, Kikuchi A: Rapid identification of *Candida albicans* and its related species *Candida stellatoidea* and *Candida dubliniensis* by a single PCR amplification using primers specific for the repetitive sequence (RPS) of *Candida albicans*. *J Dermatol Sci* **40**(1): 43-50, 2005.
- 8) Iwata T, Hattori H, Chibana H, Mikami Y, Tomita Y, Kikuchi A, Kanbe T: Genotyping of *Candida albicans* on the basis of polymorphisms of ALT repeats in the repetitive sequence (RPS). *J Dermatol Sci* **41**(1): 43-54, 2006.
- 9) Hattori H, Iwata T, Nakagawa Y, Kawamoto F, Tomita Y, Kikuchi A, Kanbe T: Genotype analysis of *Candida albicans* isolates obtained from different body locations of patients with superficial candidiasis using PCRs

- targeting 25S rDNA and ALT repeat sequences of the RPS. *J Dermatol Sci* **42**(1): 31–46, 2006.
- 10) Bougnoux ME, Aanensen DM, Morand S, Theraud M, Spratt BG, d'Enfert C: Multilocus sequence typing of *Candida albicans*: strategies, data exchange and applications. *Infect Genet Evol* **4**(3): 243–252, 2004.
 - 11) Tavanti A, Davidson AD, Fordyce MJ, Gow NA, Maiden MC, Odds FC: Population structure and properties of *Candida albicans*, as determined by multilocus sequence typing. *J Clin Microbiol* **43**(11): 5601–5613, 2005.
 - 12) Chu WS, Magee BB, Magee PT: Construction of an *Sfi* I macrorestriction map of the *Candida albicans* genome. *J Bacteriol* **175**(20): 6637–6651, 1993.
 - 13) Chindamporn A, Nakagawa Y, Homma M, Chibana H, Doi M, Tanaka K: Analysis of the chromosomal localization of the repetitive sequences (RPSs) in *Candida albicans*. *Microbiology* **141**(Pt 2): 469–476, 1995.
 - 14) Chindamporn A, Nakagawa Y, Mizuguchi I, Chibana H, Doi M, Tanaka K: Repetitive sequences (RPSs) in the chromosomes of *Candida albicans* are sandwiched between two novel stretches, HOK and RB2, common to each chromosome. *Microbiology* **144**(Pt 4): 849–857, 1998.
 - 15) Chibana H, Magee BB, Grindle S, Ran Y, Scherer S, Magee PT: A physical map of chromosome 7 of *Candida albicans*. *Genetics* **149**(4): 1739–1752, 1998.
 - 16) Chibana H, Beckerman JL, Magee PT: Fine-resolution physical mapping of genomic diversity in *Candida albicans*. *Genome Res* **10**(12): 1865–1877, 2000.
 - 17) Pujol C, Reynes J, Renaud F, Raymond M, Tibayrenc M, Ayala FJ, Janbon F, Mallie M, Bastide JM: The yeast *Candida albicans* has a clonal mode of reproduction in a population of infected human immunodeficiency virus-positive patients. *Proc Natl Acad Sci USA* **90**(20): 9456–9459, 1993.
 - 18) Hull CM, Johnson AD: Identification of a mating type-like locus in the asexual pathogenic yeast *Candida albicans*. *Science* **285**(5431): 1271–1275, 1999.
 - 19) Hull CM, Raisner RM, Johnson AD: Evidence for mating of the “asexual” yeast *Candida albicans* in a mammalian host. *Science* **289**(5477): 307–310, 2000.
 - 20) Magee BB, Magee PT: Induction of mating in *Candida albicans* by construction of MTL α and MTL α strains. *Science* **289**(5477): 310–313, 2000.
 - 21) Legrand M, Lephart P, Forche A, Mueller FM, Walsh T, Magee PT, Magee BB: Homozygosity at the MTL locus in clinical strains of *Candida albicans*: karyotypic rearrangements and tetraploid formation. *Mol Microbiol* **52**(5): 1451–1462, 2004.
 - 22) Wu W, Pujol C, Lockhart SR, Soll DR: Chromosome loss followed by duplication is the major mechanism of spontaneous mating-type locus homozygosity in *Candida albicans*. *Genetics* **169**(3): 1311–1327, 2005.
 - 23) Bennett RJ, Johnson AD: Completion of a parasexual cycle in *Candida albicans* by induced chromosome loss in tetraploid strains. *Embo J* **22**(10): 2505–2515, 2003.
 - 24) Magee PT, Magee BB: Through a glass opaquely: the biological significance of mating in *Candida albicans*. *Curr Opin Microbiol* **7**(6): 661–665, 2004.
 - 25) Perepnikhatka V, Fischer FJ, Niimi M, Baker RA, Cannon RD, Wang YK, Sherman F, Rustchenko E: Specific chromosome alterations in fluconazole-resistant mutants of *Candida albicans*. *J Bacteriol* **181**(13): 4041–4049, 1999.
 - 26) Janbon G, Sherman F, Rustchenko E: Monosomy of a specific chromosome determines L-sorbose utilization: a novel regulatory mechanism in *Candida albicans*. *Proc Natl Acad Sci USA* **95**(9): 5150–5155, 1998.
 - 27) Chibana H, Tanaka K: Analysis of the cell cycle in the budding yeast *Candida albicans* by positioning of chromosomes by fluorescence in situ hybridization (FISH) with repetitive sequences. *Genes Cells* **1**(8): 727–740, 1996.
 - 28) Lephart PR, Chibana H, Magee PT: Effect of the major repeat sequence on chromosome loss in *Candida albicans*. *Eukaryot Cell* **4**(4): 733–741, 2005.
 - 29) Willard HF, Wevrick R, Warburton PE: Human centromere structure: organization and potential role of alpha satellite DNA. *Prog Clin Biol Res* **318**: 9–18, 1989.
 - 30) Sanyal K, Baum M, Carbon J: Centromeric DNA sequences in the pathogenic yeast *Candida albicans* are all different and unique. *Proc Natl Acad Sci USA* **101**(31): 11374–11379, 2004.
 - 31) Chibana H, Heinecke EL, Beckerman JL, Magee PT: A system of rapid isolation of end-DNA from a small amount of fosmid DNA, with vector-based PCR for chromosome walking. *Genome* **44**(2): 305–308, 2001.
 - 32) Jones T, Federspiel NA, Chibana H, Dungan J, Kalman S, Magee BB, Newport G, Thorstenson YR, Agabian N, Magee PT, *et al.*: The diploid genome sequence of *Candida albicans*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004.
 - 33) Goodwin TJ, Poulter RT: Multiple LTR-retrotransposon families in the asexual yeast *Candida albicans*. *Genome Res* **10**(2): 174–191, 2000.
 - 34) Chibana H, Oka N, Nakayama H, Aoyama T, Magee BB, Magee PT, Mikami Y: Sequence finishing and gene mapping for *Candida albicans* chromosome 7 and syntenic analysis against the *Saccharomyces cerevisiae* genome. *Genetics* **170**(4): 1525–1537, 2005.
 - 35) Braun BR, van Het Hoog M, d'Enfert C, Martchenko M, Dungan J, Kuo A, Inglis DO, Uhl MA, Hogues H, Berriman M, *et al.*: A human-curated annotation of the *Candida albicans* genome. *PLoS Genet* **1**(1): 36–57, 2005.
 - 36) Nantel A: The long hard road to a completed *Candida albicans* genome. *Fungal Genet Biol* **43**(5): 311–315, 2006.
 - 37) Arnaud MB, Costanzo MC, Skrzypek MS, Binkley G, Lane C, Miyasato SR, Sherlock G: The *Candida* Genome Database (CGD), a community resource for *Candida albicans* gene and protein information. *Nucleic Acids Res* **33**(Database issue): D358–363, 2005.
 - 38) Dujon B, Sherman D, Fischer G, Durrens P, Casaregola S, Lafontaine I, De Montigny J, Marck C, Neuvéglise C, Talla E *et al.*: Genome evolution in

- yeasts. *Nature* **430** (6995): 35–44, 2004.
- 39) Loftus BJ, Fung E, Roncaglia P, Rowley D, Amedeo P, Bruno D, Vamathevan J, Miranda M, Anderson IJ, Fraser JA, *et al.*: The genome of the basidiomycetous yeast and human pathogen *Cryptococcus neoformans*. *Science* **307** (5713): 1321–1324, 2005.
- 40) Nierman WC, Pain A, Anderson MJ, Wortman JR, Kim HS, Arroyo J, Berriman M, Abe K, Archer DB, Bermejo C, *et al.*: Genomic sequence of the pathogenic and allergenic filamentous fungus *Aspergillus fumigatus*. *Nature* **438** (7071): 1151–1156, 2005.

Structural and Functional Analyses of MRS (Major Repeated Sequence) in *Candida albicans* —Application for Genotyping and the Eternal Way to the Complete Genome Sequence—

Hiroji Chibana, Yuzuru Mikami

Research Center for Pathogenic Fungi and Microbial Toxicoses, Chiba University,
1-8-1 Inohana, Chuo-ku, Chiba 260-8673, Japan

There are several different types of repeated sequences in the genome of *Candida albicans*, including the MRS (Major repeated sequence). In 2004, the whole genome sequence of *C. albicans* was published. Assembly of the sequences to chromosomal length contigs was not achieved, mainly due to interruption of the sequences by MRS. However, MRS including Ca3, 27A and RPS have been playing important roles in a number of epidemiological research studies and basic biological investigations into *C. albicans* chromosome loss events and associated phenotypic changes. Here we summarize structural analyses from subrepeat sequences to the chromosome level, and functional analyses of MRS.

(平成17年度 日本医真菌学会奨励賞受賞論文)