

1.	EINLEITUNG.....	1
2.	MATERIAL UND METHODEN.....	9
2.1.	Material.....	9
2.1.1.	Chemikalien und Enzyme	9
2.1.2.	Stämme und Medien	9
2.1.2.1.	Escherichia coli-Stämme	9
2.1.2.2.	Hefestämme und Medien	10
2.1.3.	Synthetische DNA-Oligos	11
2.1.4.	Plasmide	11
2.1.4.1.	Grundvektoren	11
2.1.4.2.	Plasmidkonstruktionen	12
2.1.4.3.	Genbank	13
2.2.	Methoden	14
2.2.1.	Transformation	14
2.2.2.	Nukleinsäure-Präparation.....	14
2.2.2.1.	Präparation von DNA	14
2.2.2.2.	Präparation von RNA	15
2.2.3.	Bestimmung von Nukleinsäure-Konzentrationen ..	15
2.2.4.	DNA-Restriktion	15
2.2.5.	Auftrennung von DNA-Fragmenten durch Gelelektrophorese.....	15
2.2.6.	Isolierung von DNA-Fragmenten aus Agarosegelen	15
2.2.7.	DNA-Ligation.....	15
2.2.8.	Auffüllen überstehender 5'-DNA-Enden	16
2.2.9.	DNA-Dephosphorylierung	16
2.2.10.	Markierung von DNA	16
2.2.11.	Nachweis spezifischer DNA- bzw. RNA-Sequenzen.....	16
2.2.11.1.	Southern-Analyse	16
2.2.11.2.	Northern-Analyse	17
2.2.12.	DNA-Sequenzierung	17
2.2.13.	Autoradiographie	17
2.2.14.	Bestimmung des Transkriptionsstarts	18
2.2.14.1.	Fragmentmarkierung	18
2.2.14.2.	S1-Reaktionsansatz	18
2.2.15.	Induktion der Hyphenbildung bei <i>C. albicans</i>	19

3.	Ergebnisse.....	20
3.1.	Suche nach Genen, die an der Hyphenmorphogenese von <i>C. albicans</i> beteiligt sind	20
3.1.1.	Genbanken	20
3.1.2.	<i>C. albicans</i> Gene regulieren das Pseudohyphenwachstum von <i>S. cerevisiae</i> ...	21
3.1.2.1.	<i>S. cerevisiae</i> Stammkonstruktion	21
3.1.2.2.	Pseudohyphenwachstum von <i>S. cerevisiae</i> Transformanten	22
3.1.2.3.	Suche nach Genen, die die Pseudohyphenbildung unterdrücken	24
3.1.2.4.	Die morphologischen Phänotypen der Klone in <i>S. cerevisiae</i>	25
3.1.3.	Versuche zur Überexpression von Genen in <i>C. albicans</i>	26
3.2.	Sequenzanalysen der Gene <i>EFG1</i> und <i>RFG1</i>	28
3.2.1.	<i>EFG1</i>	28
3.2.1.1.	Sequenzierung des Pseudohyphen-auslösenden Gens.....	28
3.2.1.2.	Phänotyp der Subklone	29
3.2.1.3.	DNA-Sequenz	30
3.2.1.4.	Aminosäuresequenz von Efg1p	33
3.2.1.5.	Homologe Proteine zu Efg1p	34
3.2.1.6.	Homologe Gene zu <i>EFG1</i> in anderen Pilzen.....	36
3.2.1.7.	Untersuchung der homologen ACS	38
3.2.1.8.	Transkriptionsstart im <i>EFG1</i>	39
3.2.2.	<i>RFG1</i>	41
3.2.2.1.	Sequenzierung des Plasmidklons	41
3.2.2.2.	Homologien zu Rfg1p	44
3.3.	Physiologie	45
3.3.1.	Physiologie der Pseudohyphenbildung in <i>S. cerevisiae</i>	45
3.3.1.1.	Ammonium-abhängiges Pseudohyphenwachstum	45
3.3.1.2.	Kohlenstoff-abhängiges Pseudohyphenwachstum	47
3.3.2.	Expression von <i>EFG1</i> und <i>RFG1</i> in <i>C. albicans</i>	47
3.3.2.1.	Überexpression von <i>EFG</i> und <i>RFG1</i>	48
3.3.2.2.	Transkriptregulation von <i>EFG1</i> und <i>RFG1</i> während der Morphogenese....	48
4.	DISKUSSION	54
4.1.	<i>C. albicans</i> Gene können die Morphogenese von <i>S. cerevisiae</i> regulieren	54
4.2.	Isolierung und Charakterisierung des <i>EFG1</i>	55

4.2.1. Isolierte *EFG1*-Plasmide und ihre Phänotypen in *S. cerevisiae*..... 55

4.2.2. ACS am 3'-Ende des *EFG1* und deren *ARS*-Funktion 55

4.2.3. Transkriptionsinitiation von *EFG1* 56

4.2.4. Funktionelle Domänen des Efg1p 57

4.2.5. Physiologie der Pseudohyphenbildung von *S. cerevisiae* 60

4.2.6. Funktion des Efg1p in der Morphogenese 63

4.3. Pleiotroper Phänotyp von *RFG1* 64

4.4. *EFG1* und *RFG1* in *C. albicans* 67

4.4.1. *EFG1* und *RFG1* im Phasenwechsel..... 68

4.4.2. *EFG1* während des „Phenotypic Switching“ .. 69

4.5. Modell zur Funktion des *EFG1* in der Morphogenese von *C. albicans* und *S. cerevisiae* 72

4.6. Schwach exprimierte Gene verändern nicht die Morphologie in *C. albicans*.. 73

5. ZUSAMMENFASSUNG 74

6. LITERATUR 75

7. ABKÜRZUNGEN..... 86