

Univerzita Karlova
Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Biologie
Studijní obor: Biologie (BBI)



Martin Chaun

Úloha transportérů ABC a MFS v lékové rezistenci patogenních kvasinek rodu *Candida*

The role of ABC and MFS transporters in drug resistance of pathogenic *Candida* yeasts

Bakalářská práce

Školitelka: RNDr. Hana Sychrová, DrSc.

Fyziologický ústav AV ČR, v.v.i.

Praha, 2019

Poděkování

Tímto bych rád poděkoval své školitelce RNDr. Haně Sychrové, DrSc. za odborné rady, ochotu a vstřícnost při zpracovávání bakalářské práce. Dále děkuji své rodině za podporu nejen během studia.

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracoval samostatně a že jsem uvedl všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, 31. 7. 2019

Martin Chaun

Abstrakt

Patogeny a jejich hostitelé vedou mezi sebou odvěkou bitvu o své přežití. Neustále dochází k vývoji nových strategií, jak porazit svého protivníka, a protistrategií, jak se svému soku ubránit. Poslední dobou se v důsledku zvýšeného užívání léků patogeny přizpůsobují výskytu těchto látek v prostředí a čím dál častěji na léčbu přestávají odpovídat, vzniká stav lékové rezistence. Postupně se zvyšující léková rezistence se týká i nejčastějších původců mykotických infekcí rodu *Candida*. Jedním z mechanismů, kterým jsou organismy schopny odolat účinkům toxických látek, je jejich transport ven z buňky pomocí membránových transportních proteinů. Tyto transportéry jsou v případě rodu *Candida* členy proteinových nadrodin ABC a MFS. Tato práce představuje proteiny ABC a MFS, jež se podílí na vylučování léčiv u čtyř druhů kandid, konkrétně u druhů *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis* a *Candida auris*.

Klíčová slova: rezistence, transportér ABC, transportér MFS, *Candida*, kvasinka, mykóza

Abstract

Pathogens and their hosts lead an ancient battle of survival among themselves. New strategies are constantly being developed to defeat an opponent and counter-strategy to resist to a rival. Recently, due to increased drug use, pathogens have adapted to the prevalence of these substances in the environment, and are increasingly unresponsive to drug treatment, resulting in drug resistance status. Progressively increasing drug resistance also affects the most common fungal pathogens, *Candida* genus. One of the mechanisms by which organisms are able to withstand the effects of toxic substances is their transport out of the cell by membrane transport proteins. These transporters are members of the ABC and MFS protein superfamily in the *Candida* genus. This thesis presents ABC and MFS proteins involved in drug efflux in four *Candida* species, namely *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis* and *Candida auris*.

Keywords: resistance, ABC transporter, MFS transporter, *Candida*, yeast, mycosis

Seznam zkratk

ABC.....	<i>ATP-Binding Cassette</i>
AFG.....	<i>anidulafungin</i>
ALDp.....	<i>Adrenoleukodystrophy protein</i>
AmB.....	<i>amfotericin B</i>
bp.....	<i>base pair</i> , komplementární pár bází
BRE.....	<i>Benomyl Responsive Element</i>
CCL.....	<i>Central Cytoplasmic Loop</i> , centrální cytoplazmatická smyčka
CLSI.....	<i>Clinical and Laboratory Standards Institute</i>
DHA1, DHA2.....	<i>Drug:H⁺ Antiporter</i> , podrodiny transportérů MFS
DRE.....	<i>Drug Responsive Element</i>
EF3.....	<i>Elongation Factor 3</i>
EL.....	<i>Extracellular Loop</i> , extracelulární smyčka
EUCAST.....	<i>European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing</i>
FLC.....	<i>flukonazol</i>
HRE.....	<i>H₂O₂ Responsive Element</i>
HSE.....	<i>Heat Shock Element</i>
IL.....	<i>Intracellular Loop</i> , intracelulární smyčka
ITC.....	<i>itrakonazol</i>
LTE.....	<i>Lipid-Translocating Exporter</i>
MDR.....	<i>Multiple Drug Resistance</i> , mnohočetná léková rezistence
MDRE.....	<i>MDR1 Drug Resistance Element</i>
MFG.....	<i>micafungin</i>
MFS.....	<i>Major Facilitator Superfamily</i>
MIC.....	<i>minimální inhibiční koncentrace</i>
mRNA.....	<i>messenger RNA</i> , mediátorová ribonukleová kyselina
MRP.....	<i>Multi Drug Resistance associated Protein</i>
MSE.....	<i>Middle Sporulation Element</i>
NBD.....	<i>Nucleotide Binding Domain</i> , nukleotid vazebná doména
PDR.....	<i>Pleiotropic Drug Resistance</i>
RLI.....	<i>RNase L Inhibitor</i>
SRE.....	<i>Steroid Redopnsive Element</i>
SRR.....	<i>Steroid Responsive Region</i>
TMD.....	<i>Transmembrane Domain</i> , transmembránová doména
TMH.....	<i>Transmembrane Helix</i> , transmembránový helix

Obsah

1. Úvod.....	7
2. Mnohočetná léková rezistence (MDR).....	8
2.1. Antimykotika.....	8
2.2. Přirozená a získaná rezistence.....	11
2.3. Mechanismy získané rezistence.....	11
3. Nadrodina proteinů ABC.....	13
3.1. Struktura proteinů ABC.....	13
3.2. Mechanismus transportu proteiny ABC.....	14
3.3. Mechanismy regulace transportérů ABC.....	16
4. Nadrodina proteinů MFS.....	18
4.1. Struktura proteinů MFS.....	18
4.2. Mechanismus transportu proteiny MFS.....	19
4.3. Mechanismy regulace transportérů MFS.....	21
5. Transportéry účastníci se MDR u klinicky významných zástupců rodu <i>Candida</i>	23
5.1 Transportéry účastníci se transportu léčiv u <i>C. albicans</i>	24
5.2 Transportéry účastníci se transportu léčiv u <i>C. glabrata</i>	25
5.3 Transportéry účastníci se transportu léčiv u <i>C. parapsilosis</i>	26
5.4 Transportéry účastníci se transportu léčiv u <i>C. auris</i>	26
6. Závěr.....	28
7. Seznam literatury.....	29
7.1. Webové stránky.....	43

1. Úvod

S lékovou rezistencí neboli sníženým či žádným účinkem léčiva vůči onemocnění se lidstvo setkává již od počátku využívání chemoterapeutik, např. u léčiv proti nádorům a patogenům (Law, 1952; Davies a Davies, 2010). U některých chorob dochází ke vzniku odolnosti vůči působení více léčiv s různou strukturou a mechanismem účinku, tento jev se nazývá mnohočetná léková rezistence (MDR, *Multiple Drug Resistance*) (Sá-Correia *et al.*, 2008). Rostoucí počet případů MDR považuje za vážný problém ohrožující celé lidstvo i Světová zdravotnická organizace, která vytvořila i několik kampaní bojujících s tímto nežádoucím jevem (World Health Organization, 2019).

Se sníženou citlivostí k více druhům chemoterapeutik se lze setkat u mnoha chorob. Velice závažné potíže způsobuje MDR u nádorových onemocnění (Kartal-Yandim, Adan-Gokbulut a Baran, 2016). Velká pozornost je zaměřena na odolnost vůči léčivům u bakterií (Cohen *et al.*, 2015). Dokonce byly objeveny druhy bakterií rezistentních proti všem dostupným lékům (Magiorakos A. P. *et al.*, 2011). Život ohrožující problémy způsobuje MDR u virových infekcí (Sheu *et al.*, 2011). MDR byla pozorována i u nemocí způsobených prvoky a mnohobuněčnými parazity (Traversa *et al.*, 2014; Kooij *et al.*, 2016).

MDR se také vyskytuje u mykotických infekcí. Nejčastějšími původci těchto onemocnění jsou rody *Aspergillus*, *Cryptococcus*, *Pneumocystosis* a *Candida* (Brown *et al.*, 2012). Kvasinky rodu *Candida*, patřící do podkmenu Saccharomycotina vřeckovýtrusých hub (*Ascomycota*) (Shen *et al.*, 2016), jsou komenzály člověka i živočichů, přesto způsobují velmi závažné infekce. Onemocněními způsobenými těmito kvasinkami jsou fatálně ohroženi především imunosuprimované osoby, tj. především HIV pozitivní, lidé po transplantacích a onkologičtí pacienti. Lokální i systémové kandidózy patří k čím dál vážnějším onemocněním ať už z důvodu zvyšujícího počtu imunosuprimovaných lidí, nebo vzrůstajícího počtu klinických izolátů kandid s MDR (Kołaczkowska and Kołaczkowski, 2016).

Jedním z mechanismů MDR nejen u kandid je transport léčiva přes plazmatickou membránu ven z buňky. Tento mechanismus zajišťují transportní systémy nazývané ATPázy a antiportery. ATPázy patří do nadrodiny transportérů typu ABC (*ATP-Binding Cassette*), zatímco antiportery do transportérů typu MFS (*Major Facilitator Superfamily*) (Revie *et al.*, 2018). Cílem předkládané práce je představit úlohu těchto transportérů ve vylučování léčiv z buňky některých druhů rodu *Candida*, konkrétně druhů *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis* a *Candida auris*.

2. Mnohočetná léková rezistence (MDR)

Na MDR u kandid se dá pohlížet z více úhlů pohledu. Jednou z možností je zabývat se tím, jaký je mechanismus účinku léků, proti kterým MDR vznikla. Z toho vyplývá nutnost zjistit, jak se patogeny těmto léčivům brání. Další možností je zkoumat, zda mají kvasinky schopnost odolávat léčivům vrozenou nebo získanou.

2.1. Antimykotika

Z důvodu podobnosti lidských a kvasinkových buněk se k léčbě kandidóz dá využít pouze několik typů léčiv cílících na struktury, které se u lidských buněk nevyskytují. Mezi tyto struktury patří buněčná stěna a sterolová složka plazmatické membrány ergosterol a jeho syntetická dráha.

Mezi běžně používané skupiny antimykotik patří azoly, echinokandiny, polyeny a flucytosin (Pappas *et al.*, 2016). Pro každou z těchto skupin existuje rozdílná hladina rezistence a hladina citlivosti (susceptibility), které se navíc liší u různých druhů kandid. Známé údaje pro některé léky a druhy shrnuje **Tabulka 1**. Citlivost je opakem rezistence, patogen je citlivý, když je léčba vysoce pravděpodobně úspěšná při standardních doporučených dávkách léčiva (SZÚ, 2019).

Tabulka 1. Minimální inhibiční koncentrace (MIC) pro rezistenci a citlivost u vybraných druhů kandid a léčiv.

Druh	Lék	C	R	Druh	Lék	C	R
<i>Candida albicans</i> (EUCAST)	FLC	≤ 2	≥ 4	<i>Candida parapsilosis</i> (EUCAST)	FLC	≤ 2	≥ 4
	ITC	≤ 0,064	≥ 0,064		ITC	≤ 0,125	≥ 0,125
	AmB	≤ 1	≥ 1		AmB	≤ 1	≥ 1
	AFG	≤ 0,032	≥ 0,032		AFG	≤ 0,002	≥ 4
	MFG	≤ 0,016	≥ 0,016		MFG	≤ 0,002	≥ 2
<i>Candida glabrata</i> (EUCAST)	FLC	≤ 0,002	≥ 32	<i>Candida auris</i> * (CLSI)	FLC	—	≥ 32
	ITC	—	—		ITC	—	—
	AmB	≤ 1	≥ 1		AmB	—	≥ 2
	AFG	≤ 0,064	≥ 0,064		AFG	≤ 4	≥ 4
	MFG	≤ 0,032	≥ 0,032		MFG	≤ 4	≥ 4

MIC – koncentrace, při které dochází k zastavení pozorovatelného růstu mikroorganismu; C – hladina citlivosti (susceptibility) v mg/l; R – hladina rezistence v mg/l; FLC – flukonazol; ITC – itrakonazol; AmB – amfotericin B; AFG – anidulafungin; MFG – micafungin; — – údaje nejsou k dispozici; * - údaje pro *C. auris* nejsou potvrzené, jsou předpokládány na základě údajů pro příbuzné druhy kandid. Převzato a upraveno z EUCAST, 2018, CDC, 2019 a Vatanshenassan *et al.*, 2019.

Azoly jsou nejpoužívanější léky proti kandidózám. Výhodou nejrozšířenějšího léčiva z této třídy flukonazolu (viz **Obrázek 1**) jsou malé vedlejší účinky a velká rozpustnost umožňující snadné perorální podání (Pasko, Piscitelli a Van Slooten, 1990). Míra rezistence se u většiny druhů pohybuje v jednotkách procent. Výjimku představuje *Candida krusei*, u které rezistence dosahuje až 96,6 % (Whaley *et al.*, 2017). Azoly mají spíše fungistatický než fungicidní účinek (Schmidt *et al.*, 2008; Venisse *et al.*, 2008). Kromě flukonazolu do této skupiny patří léčiva s imidazolovým kruhem, např. ketokonazol a s triazolovým kruhem, např. itrakonazol (Allen *et al.*, 2015).

Antifugální účinek azolů spočívá v inhibici enzymu 14 α -demetylázy, nezbytného pro správnou syntézu ergosterolu. V kvasince se poté hromadí toxické meziprodukty syntézy ergosterolu a dochází k narušení plazmatické membrány (Kołaczkowska a Kołaczkowski, 2016). Ergosterol se podílí na větší rigiditě membrán a je součástí lipidových raftů. Jde tedy, co do funkce i chemické struktury, o protějšek cholesterolu živočichů (Bagnat *et al.*, 2000; Abe a Hiraki, 2009).

Dalším široce používaným druhem léčiva jsou echinokandiny. Jde o nejnověji vyvinutou třídu antimykotik. Využívají se ve většině případů jako léčiva první volby, vedlejší účinky jsou malé a nevyskytují se u nich významné lékové interakce (Pappas *et al.*, 2016). Léková rezistence se pohybuje v jednotkách procent a dle nové rakouské studie je její úroveň konstantní (Prigent *et al.*, 2016; Beyer *et al.*, 2019). Strukturně se jedná o lipopeptidy, patří k nim léčiva caspofungin (viz **Obrázek 1**), micafungin, dále např. anidulafungin (Kołaczkowska a Kołaczkowski, 2016).

Echinokandiny blokují syntézu buněčné stěny. Jejich cílem jsou 1,3-glukan syntázy, enzymové komplexy umístěné v plazmatické membráně, které se podílejí na syntéze β -1,3-glukanu, důležité složky buněčné stěny (Patil a Majumdar, 2017).

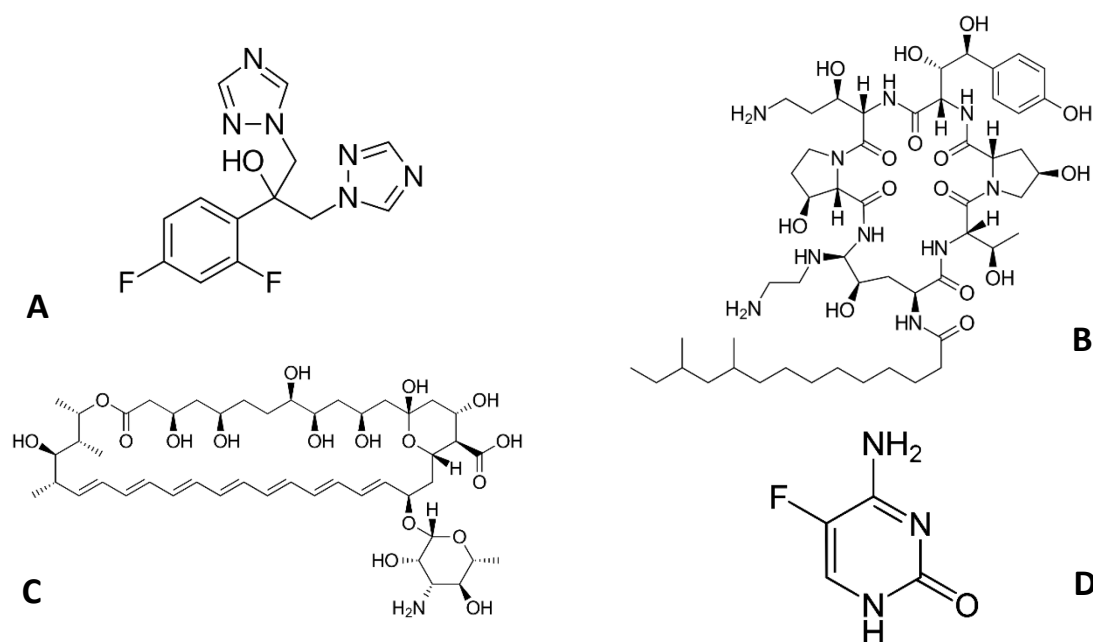
Nejdéle využívaná antimykotika patří do skupiny polyenů, ale jejich využívání v praxi je omezeno kvůli silným vedlejším účinkům. V případě nejužívanějšího léku z této skupiny amfotericinu B (viz **Obrázek 1**) jde zejména o nefrotoxicitu (Bates *et al.*, 2001). Jeho toxicita se projevuje v menší míře u novorozenců než u dospělých osob (Linder *et al.*, 2003; Ascher *et al.*, 2012). Sníženou toxicitu vykazují liposomové formy amfotericinu, kde se jeho molekuly nacházejí ve fosfolipidové dvojvrstvě (Mishra *et al.*, 2013; Falci, da Rosa a Pasqualotto, 2015a, 2015b).

Výhodou při použití amfotericinu B je snížená schopnost nejrozšířenější patogenní kvasinky *C. albicans* vytvořit si proti této látce rezistenci z důvodu snížené životaschopnosti rezistentních kmenů (Vincent *et al.*, 2013). Také *C. glabrata* potvrzuje nízkou míru rezistence

vůči amfotericinu B (Ahmad *et al.*, 2018). Naopak recentní studie dokumentují případy rezistence u poměrně nově objevené kvasinky *C. auris* (Park *et al.*, 2019).

Polyeny se vážou na ergosterol v plazmatické membráně a tvoří v ní póry, čímž dochází ke zkratu membránového potenciálu a buňka umírá (Neumann, Baginski a Czub, 2010). Dalším mechanismem účinku polyenů je tvorba reaktivních forem kyslíku, např. superoxidu a hydroxylového radikálu (Guirao-Abad *et al.*, 2017).

K rychlejší léčbě se také používá společné podávání amfotericinu B s flucytosinem (5-fluorocytosinem; viz **Obrázek 1**). Lze tak podat menší dávku amfotericinu a tím předejít jeho vedlejším účinkům (Smego, Perfect a Durack, 1984; Keele *et al.*, 2001). Samostatně podávaný flucytosin má také fungicidní účinky. Problém pro léčbu samostatným flucytosinem představuje rychle se tvořící a velmi rozšířená rezistence (Bhatt *et al.*, 2015; Charlier *et al.*, 2016). Jde o analog cytosinu s navázaným fluorem v pozici číslo 5, který se po úpravě na 5-fluorouracil uvnitř buňky stává součástí RNA a dochází tak k chybné proteosyntéze. Flucytosin také po přeměně na 5-fluorodeoxyuridinfosfát inhibuje syntézu DNA (Ghannoum a Rice, 1999).

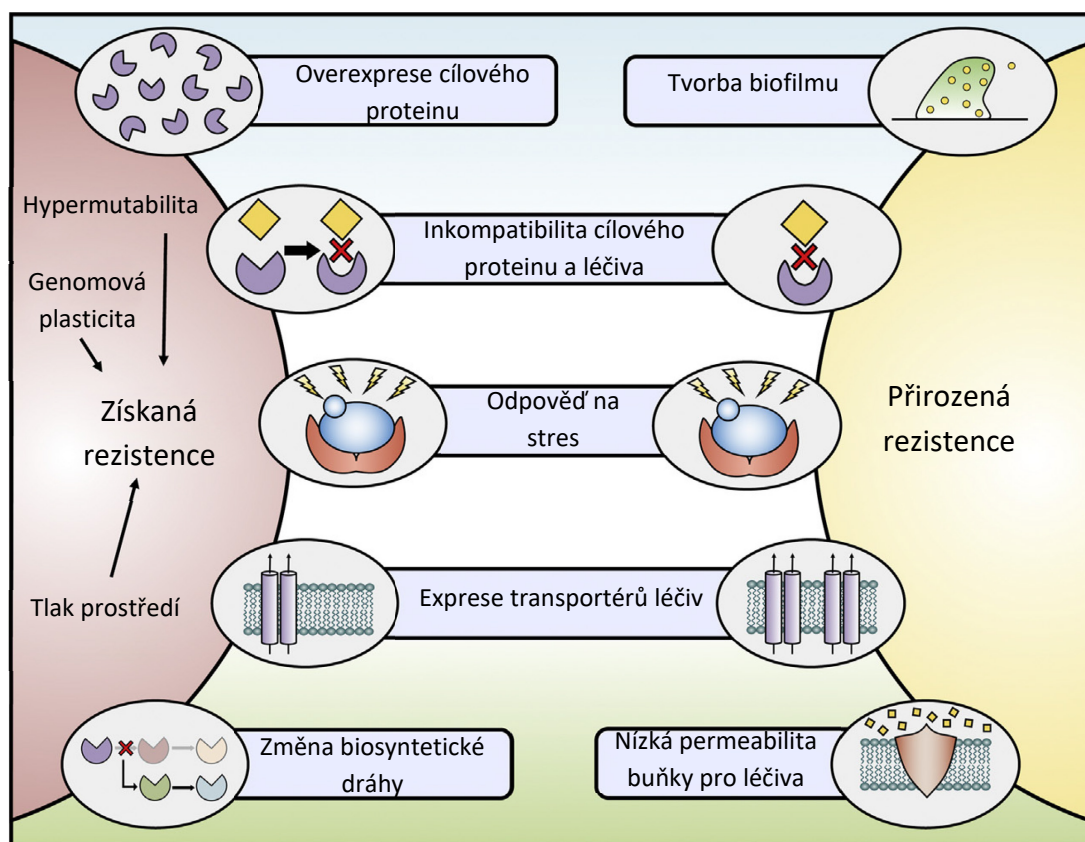


Obrázek 1. Struktura antimykotik. A – flukonazol (azoly); B – caspofungin (echinokandiny); C – amfotericin B (polyeny); D – 5-fluorocytosin (flucytosin). Převzato z Fvasconcellos, 2006; Chemistds, 2012; Vaccinationist, 2012, 2015.

2.2. Přirozená a získaná rezistence

Přirozenou (primární) rezistencí se nazývá stav, kdy je patogen rezistentní vůči léčivu, aniž by se s ním předtím setkal. Příkladem u kandid je rezistence *C. krusei* k flucytosinu (Pfaller *et al.*, 2002) a flukonazolu (Kontoyiannis and Lewis, 2002).

Získaná (sekundární) rezistence je naopak odolnost vůči léčivu objevující se až po setkání s tímto léčivem (Kołaczkowska and Kołaczkowski, 2016). Schopnost získat rezistenci souvisí s plasticitou genomu a výskytem rychle mutujících linií, tzv. hypermutátorů. Zvýšený tlak prostředí také vede k selekci rezistentních patogenů (Revie *et al.*, 2018). Mechanismy přirozené a získané rezistence jsou shrnuty v **Obrázku 2**.



Obrázek 2. Mechanismy získané a přirozené rezistence. Převzato z Revie *et al.*, 2018, upraveno.

2.3. Mechanismy získané rezistence

Mikroorganismy se brání účinku léčiv vícero způsoby. Jedním z nich je zvýšená exprese (tzv. overexprese) genů, proti jejichž produktům je léčivo cíleno. Typickým příkladem je overexprese enzymu 14 α -demethylázy kódovaného genem *ERG11*, který je cílem účinku azolů (He *et al.*, 2015; Feng *et al.*, 2017). Overexprese *ERG11* je umožněna mutacemi v genu *UPC2* pro transkripční faktor spouštějící transkripci *ERG11* (Heilmann *et al.*, 2010).

S overexpresí jsou často v případě rezistence vůči azolům spojené také mutace přímo v genu *ERG11*. Tyto mutace způsobují změny v aminokyselinové sekvenci, jejímž důsledkem je snížená afinita azolu k 14 α -demethyláze. Aminokyselinové záměny ovlivňující rezistenci se vyskytují často blízko místa vázajícího hemovou skupinu cytochromu P450 nebo v kanálu přivádějícím substrát k aktivnímu místu enzymu (Xiang *et al.*, 2013; Feng *et al.*, 2017). Dalším příkladem mohou být mutace v genech *FKS1* a *FKS2*, kódujících podjednotky 1,3-glukan syntázy, jež vedou k rezistenci vůči echinokandinům (Balashov, Park a Perlin, 2006; Jensen *et al.*, 2014; Martí-Carrizosa *et al.*, 2015; Shields *et al.*, 2018). Patogeny s mutacemi v genu *FKS1* mají ale sníženou fitness a virulenci (Ben-Ami a Kontoyiannis, 2012).

Dalším mechanismem je změna biosyntetické dráhy. V buňkách nesoucích tyto mutace se tvoří jiný sterol, dochází ke změnám v plazmatické membráně a může se objevit MDR vůči azolům a polyenům, příklady mohou být mutace v genech *ERG3* a *ERG6*, které jsou součástí biosyntetické dráhy ergosterolu (Berkow *et al.*, 2015; Ahmad *et al.*, 2018; Revie *et al.*, 2018). K rezistenci může přispět i snížení množství ergosterolu (Mishra *et al.*, 2007). Ergosterol není jedinou složkou plazmatické membrány, která se podílí na rezistenci, dalším příkladem je např. zvýšené množství sfingolipidů (Gao *et al.*, 2018). Při rezistenci vůči azolům a echinokandinům byly pozorovány také změny ve stavbě buněčné stěny (Quilès *et al.*, 2017; Vitali *et al.*, 2017).

I tvorba biofilmu snižuje citlivost k lékům, účinná látka má v tomto případě zhoršený přístup přímo k buňkám. Tato vlastnost je velice rozvinuta u kvasinek *Candida tropicalis* a *C. parapsilosis* (Bhatt *et al.*, 2015; Fernandes, Silva and Henriques, 2015).

Na odolnosti proti lékům se mohou také podílet obecné odpovědi buněk na stres. Byla popsána úloha chaperonu Hsp90 v rezistenci jak vůči azolům, tak echinokandinům (Cowen *et al.*, 2006; Singh *et al.*, 2009). Hsp90 je součástí dráhy odpovídající na stres vyvolaný v buněčné stěně přes protein kinázu C (Pkc1) (LaFayette *et al.*, 2010). Transkripční faktor Cas5 uplatňující se v odpovědích na stres u *C. albicans* hraje důležitou roli v rezistenci k echinokandinům (Xie *et al.*, 2017). Součástí stresových signálních drah je také protein Sur7, v případě jeho mutace buňky vykazují vyšší citlivost k některým chemoterapeutikům, ale nižší virulenci (Douglas *et al.*, 2011; Wang *et al.*, 2011). Podobné účinky na rezistenci a virulenci mají mutace v histon acetyltransferáze Hat1 u *C. albicans* (Tscherner *et al.*, 2015).

Jak je zmíněno v úvodu, velmi významným mechanismem rezistence je transport léčiv ven z buňky pomocí transportérů. Kvasinky využívají transportéry dvou typů ATPázy a antiportery. Obě tyto skupiny budou podrobněji popsány v následujících kapitolách.

3. Nadrodina proteinů ABC

Nadrodina ATPáz ABC je široce rozšířena u všech skupin organismů. Počet proteinů ABC se u kandid pohybuje v řádu desítek (Lamping *et al.*, 2010).

U kandid bylo objeveno 6 podrodin proteinů ABC. Jsou to podrodiny MDR/ABCB (*Multi Drug Resistance*), MRP/ABCC (*Multi Drug Resistance associated Protein*), ALDp/ABCD (*Adrenoleukodystrophy protein*), RLI/ABCE (*RNase L Inhibitor*), EF3/ABCF (*Elongation Factor 3*) a PDR/ABCG (*Pleiotropic Drug Resistance*). Zatímco členové podrodin MDR, MRP, ALDp a PDR jsou transportéry, členové podrodin RLI a EF3 mají funkce pravděpodobně v regulaci translace a tvorby ribozómů (Gaur, Choudhury a Prasad, 2005; Kumari *et al.*, 2018).

3.1. Struktura proteinů ABC

Každý protein ABC obsahuje nukleotid vazebnou doménu (NBD, *Nucleotide Binding Domain*). Jedná se o poměrně konzervované struktury, jejichž součástí je i charakteristický znak proteinů ABC motif C (ABC signatura). Motif C se nachází mezi dalšími typickými motivy NBD Walker A a Walker B. Proteiny podrodin RLI a EF3 se skládají pouze ze dvou spojených NBD (Gaur, Choudhury a Prasad, 2005). NBD transportérů fungují společně ve dvojici, takto spojené NBD obsahuje dvě vazebná místa pro nukleotidy, kdy se na každém z těchto míst podílejí obě NBD (Higgins a Linton, 2004).

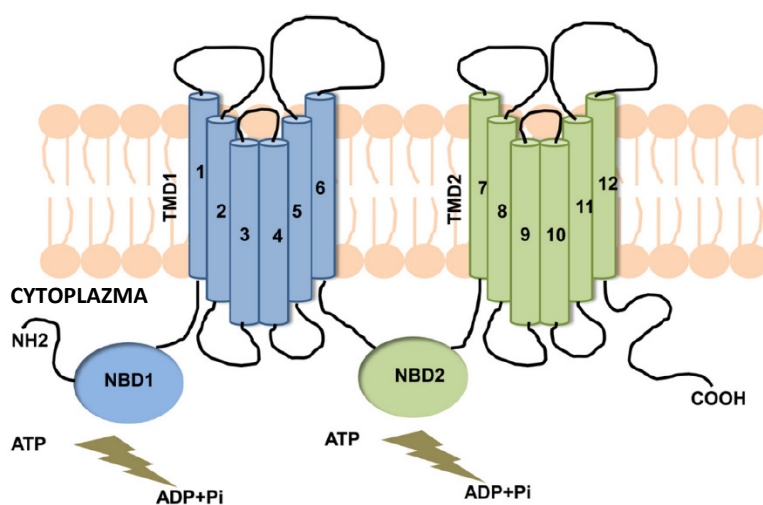
Oproti cytosolickým proteinům podrodin RLI a EF3 mají ostatní podrodiny hydrofobní transmembránové domény (TMD, *Transmembrane Domain*)(Prasad *et al.*, 2015). Ty se skládají zpravidla z šesti transmembránových helixů (TMH, *Trans-membrane Helix*). TMH jsou spojeny extracelulárními smyčkami (EL, *Extracellular Loop*) a intracelulárními smyčkami (IL, *Intracellular Loop*)(Dawson a Locher, 2006). EL jsou důležité především v rozpoznávání substrátu, dále se podílejí na skládání a lokalizaci transportéru (Prasad *et al.*, 2015; Tanabe *et al.*, 2018). Funkcí TMD je vázat přepravovaný substrát a přepravit ho na druhou stranu membrány (Shukla *et al.*, 2003).

Schopnost přenášet přes membránu široké spektrum substrátů je dána stavbou proteinu. Protein obsahuje velkou vazebnou kapsu, na jejíž stavbě se podílí více TMH (Baghel *et al.*, 2017). V této kapse se nachází mnoho aromatických aminokyselin, substráty se v ní mohou vázat do více míst, které se navíc překrývají, proto mohou tyto ATPázy transportovat široké spektrum chemických látek (Prasad *et al.*, 2015). Steroidy se vážou do vazebného místa nacházejícího se na rozhraní TMD a plazmatické membrány (Baghel *et al.*, 2017). Trans-

portní kanál je větvený, důležité jsou zde především hydrofobní aminokyseliny (Prasad *et al.*, 2015). Substráty tak mohou využít více cest, což usnadňuje transport.

IL mají úlohu v komunikaci TMH s NBD, přes toto spojení dochází během transportního cyklu ke konformačním změnám vedoucím k otevření transportního kanálu do extracelulárního prostoru. Důležitou roli v umožnění komunikace mají nabitě aminokyselinové zbytky, při mutaci těchto zbytků dochází k chybnému sbalení a lokalizaci proteinu (Shah *et al.*, 2015).

Dle počtu NBD a TMD se dají rozlišit ABC transportéry se dvěma páry NBD a TMD (viz **Obrázek 3**) a transportéry s polovičním počtem domén, tedy s jednou NBD a TMD (Dawson and Locher, 2006). Tyto „poloviční“ transportéry jsou funkční pouze jako homo- nebo heterodimery (van Roermund *et al.*, 2008; Mishra *et al.*, 2014).



Obrázek 3. Schematické zobrazení transportéru Cdr1 z podrodiny PDR. Transportér má reverzní topologii (NBD-TMD)₂, skládá se ze dvou nukleotid vazebných domén (NBD) a dvou transmembránových domén (TMD). NBD jsou schopny hydrolyzy ATP a slouží jako pohon transportu. Každá TMD je složena z šesti transmembránových helixů, ty jsou spojeny intracelulárními a extracelulárními smyčkami. TMD tvoří vazebná místa pro substráty a transportní kanál. Převzato z Prasad *et al.*, 2015, upraveno.

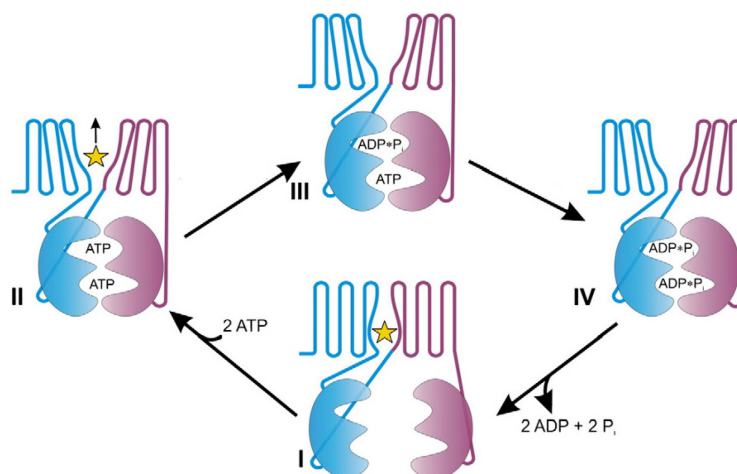
3.2. Mechanismus transportu proteiny ABC

Přesný mechanismus transportu není znám, ale díky krystalovým strukturám a výzkumům využívajících cílené mutace bylo vytvořeno několik hypotéz. Všechny tyto hypotézy vycházejí z modelu „alternate access“, který předpokládá, že po navázání substrátu do vysoko afinního vazebného místa dojde ke konformační změně, transportní kanál se otevře na druhou stranu membrány a substrát se přesune na nízkoafinní místo, ze kterého se uvolní. Konformační změny způsobí buď rozštěpení makroergní chemické vazby (např. ATPázy ABC), nebo transport jiného substrátu po jeho koncentračním spádu (např. transportéry MFS popsané dále)(Jardetzky, 1966; Seeger a van Veen, 2009).

Ač je štěpení ATP zdrojem energie pro transportéry ABC, v současnosti nejpřijímanější hypotézy jejich mechanismu transportu tvrdí, že nedochází k simultánnímu štěpení ATP a že štěpení ATP není zdrojem energie pro konformační změny proteinu při transportu substrátu, ale že ke štěpení ATP dochází až v dalších krocích. Hypotézy se liší právě v tom, co pokládají za zdroj této konformační změny. První a doposud nejpopulárnější takovouto hypotézou je model „*ATP-switch*“ (viz **Obrázek 4**). Tento model předpokládá, že energii pro konformační změnu zajistí navázání dvou molekul ATP do NBD. Po navázání ATP má dojít ke spojení páru NBD a konformačním změnám, před startem nového cyklu musí dojít ke štěpení ATP, společnému uvolnění ADP a fosfátů a disociaci NBD (Higgins a Linton, 2004).

Autoři novějšího modelu „*occlusion-induced switch*“ míní, že pouze navázání ATP do vazebných míst nestačí, ale je nutné, aby v jednom vazebném místě došlo k posunutí (okluzi) ATP. Až poté dojde ke konformační změně, toto ATP se hydrolyzuje a opouští protein. Energie z hydrolyzy druhého ATP se použije k navrácení transportéru do původního stavu (Seeger a van Veen, 2009).

Jiný model předpokládá, že se NBD plně neoddělují, ale zůstávají v neustálém kontaktu. Odtud pochází název tohoto modelu „*constant contact*“ (George a Jones, 2012). Vzhledem k tomu, že např. pro lidský protein ABCG2 byl vytvořen speciální model transportu (Khunweeraphong, Stockner a Kuchler, 2017), lze na tomto poli výzkumu očekávat další objevy.



Obrázek 4. Schéma mechanismu transportu dle modelu *ATP-switch*. Transportní cyklus začíná navázáním substrátu (hvězda) do vysoko afinního vazebného místa (I), poté se do nukleotid vazebné domény (NBD) navážou dvě molekuly ATP, NBD se spojují, dochází ke konformačním změnám proteinu, substrát se váže do nízko afinního místa a opouští transportér (II), následně dochází k hydrolyze jedné molekuly ATP (III), následuje hydrolyza druhé molekuly ATP (IV), nakonec se uvolní ADP a fosfáty z NBD a transportér se vrací do původního stavu (I) schopný dalšího cyklu. Převzato z Seeger a van Veen, 2009, upraveno.

3.3. Mechanismy regulace transportérů ABC

Jako příklad pro popsání mechanismů regulace transportérů ABC uvádím protein Cdr1 *C. albicans* (*Candida Drug Resistance 1*), který je nejstudovanějším transportním proteinem účastnícím se MDR celého rodu. Skládá se z 1 501 aminokyseliny (Shukla *et al.*, 2003). Patří do podrodiny PDR/ABCG, tato podrodina je charakteristická reverzní topologií molekuly transportérů (viz **Obrázek 3**) a tím, že NBD této podrodiny jsou asymetrické (Furman *et al.*, 2013).

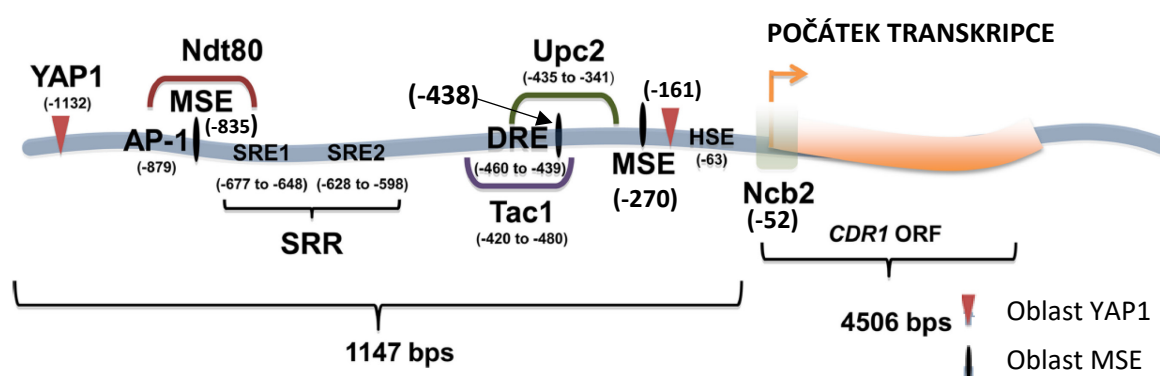
Na rozdíl od antiporteru Mdr1, popsaného dále, se Cdr1 a další transportéry ABC nacházejí v lipidových raftech (Prasad, Khandelwal a Banerjee, 2016). U kvasinek, ve kterých byly poškozeny geny pro syntézu ergosterolu a sfingolipidů, které tvoří lipidové rafty, nedochází k umístění Cdr1 do plazmatické membrány (Pasrija, Panwar a Prasad, 2008). Dalo by se tedy předpokládat, že azoly by mohly inhibicí syntézy ergosterolu ovlivňovat lokalizaci Cdr1 a tím snižovat svoje vylučování z buněk.

Funkce Cdr1 je regulována především na úrovni regulace iniciace transkripce, ale může být také pozitivně regulována posttranslačně fosforylací serinů a threoninů na N-konci transportéru (Tsao *et al.*, 2016). U rezistentních izolátů byla objevena také hyperadenylace mRNA zvyšující její stabilitu (Manoharlal *et al.*, 2010). Mezi transkripční faktory ovlivňující expresi genu *CDR1* (viz **Obrázek 8B**) patří Tac1 (*Transcriptional Activator of CDR genes 1*), Upc2 (*sterol Uptake Control protein 2*), Ncb2 (*Negative Cofactor 2 complex subunit Beta*), Mrr2 (*Multidrug Resistance Regulator 2*), Znc1 (*ZiNc-Cysteine 1*), Ndt80 (*Non-DiTyrosine 80*) a nejspíše i Cap1 (*Candida albicans Activator Protein 1*). Tac1, Ndt80, Mrr2, Znc1 a patrně i Cap1 ovlivňují transkripci pozitivně (Puri *et al.*, 1999; Chen *et al.*, 2004; Liu *et al.*, 2007; Liu, Rossi a Myers, 2018; Nishimoto *et al.*, 2019). Účinek Upc2 a Ncb2 závisí na podmínkách, ve kterých se buňka nachází. Upc2 za běžných podmínek mírně zvyšuje expresi *CDR1*, ale při působení pro kvasinku toxické chemikálie lovastatinu (inhibitoru syntézy ergosterolu) překvapivě funguje jako represor *CDR1* (Znaidi *et al.*, 2008). Ncb2 zvyšuje u kvasinek rezistentních vůči azolům expresi *CDR1*, zatímco u citlivých kmenů k azolům expresi tohoto genu snižuje. Tato změna účinku je způsobena změnou vazebného místa na promotoru. Zatímco u rezistentních kmenů se Ncb2 váže do TATA boxu, u citlivých se váže distálněji od místa počátku transkripce (Shukla *et al.*, 2011). MDR u *C. albicans* poměrně často způsobují ziskové mutace v transkripčních faktorech, tyto mutace byly zjištěny u genů *TAC1*, *UPC2* a *MRR2* (Lohberger, Coste a Sanglard, 2014; Nishimoto *et al.*, 2019). Kmeny

obsahující např. mutovaný gen *UPC2* mají sice zvýšenou expresi *CDR1*, ale jsou méně virulentní a mají sníženou fitness (Lohberger, Coste a Sanglard, 2014).

Transkripční faktory regulující *CDR1* ovlivňují expresi dalších genů rozličných funkcí, např. Tac1, nejdůležitější transkripční faktor *CDR1*, také reguluje gen *CDR2*, kódující další transportér ABC účastní se MDR, a geny podílející se na metabolismu lipidů (Liu *et al.*, 2007). Podobné geny jako Tac1 regulují rovněž transkripční faktory Znc1 a Ncb2 (Yadav, Soni a John, 2014; Liu, Rossi a Myers, 2018). Transkripční faktor Upc2 vedle exprese genu *CDR1* reguluje dále geny pro metabolickou dráhu ergosterolu, např. genu *ERG11* jako jeho hlavní transkripční faktor, účastní se také regulace exprese jiných transportérů např. *MDR1* (Znaidi *et al.*, 2008). Ndt80 se mimo regulace *CDR1* podílí na regulaci růstu a dělení kvasinek (Chen *et al.*, 2004).

Promotor genu *CDR1* (viz **Obrázek 5**) je dlouhý 1 147 bp. Do oblasti DRE (*Drug Responsive Element*) se váže Tac1. Transkripční faktor Ndt80 se váže do oblastí MSE (*Middle Sporulation Element*)(Prasad *et al.*, 2015). Transkripční faktor Cap1 se pravděpodobně může vázat do oblastí pro vazbu transkripčního faktoru YAP1 (*Yeast Activation Protein 1*) a transkripčního faktoru AP-1 (*Activation Protein 1*)(Puri *et al.*, 1999). Steroidy patří mezi substráty Cdr1 a zároveň regulují expresi jeho genu přes vazebnou oblast SRR (*Steroid Responsive Region*) skládající se ze dvou oblastí SRE (*Steroid Responsive Element*), kam se steroidy vážou (Karnani *et al.*, 2004). Promotor také obsahuje oblast HSE (*Heat Shock Element*) pro řízení odpovědi na teplotní šok (Yadav, Soni a John, 2014; Prasad *et al.*, 2015).



Obrázek 5. Promotor genu *CDR1*. Schéma promotoru *CDR1* s vyznačenými vazebnými YAP1 a AP-1, dále oblasti MSE (váže transkripční faktor Ndt80), SRR (složený ze dvou oblastí SRE), DRE a HSE. Převzato z Prasad *et al.*, 2015, upraveno; další zdroj: Puri *et al.*, 1999.

4. Nadrodina proteinů MFS

Transportéry MFS jsou nejrozšířenější skupinou sekundárních transportérů, patří sem antiportery, symportery i uniportery. Zástupci byli nalezeni u všech domén organismů (Zhang *et al.*, 2015).

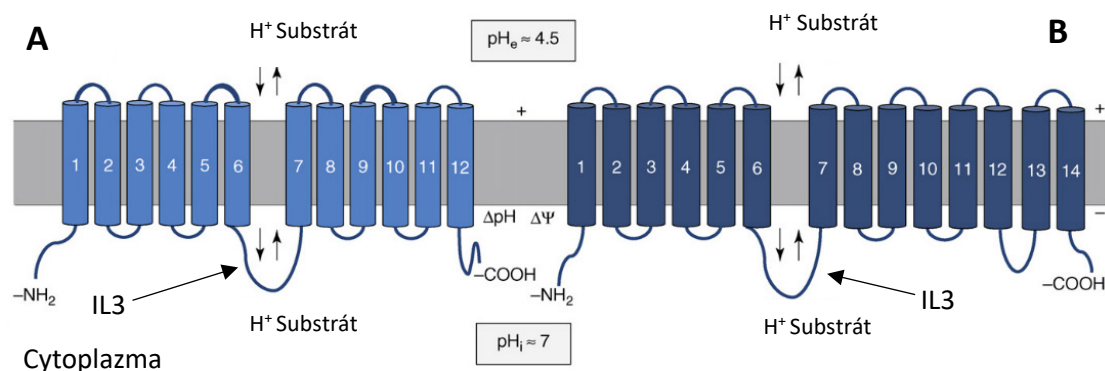
Proteiny MFS vyskytující se u *C. albicans* byly rozděleny do 17 proteinových rodin, rodiny DHA1 (*Drug:H⁺ Antiporter 1*) a DHA2 (*Drug:H⁺ Antiporter 2*) se uplatňují v transportu chemoterapeutik, ostatní se uplatňují v transportu širokého spektra substrátů, např. sacharidů, intermediátů Krebsova cyklu a iontů (Gaur *et al.*, 2008).

4.1. Struktura proteinů MFS

Transportéry MFS se skládají buď z dvanácti, nebo čtrnácti transmembránových helixů (TMH) spojených intracelulárními (IL) a extracelulárními smyčkami (EL). Rodina DHA1 má dvanáct TMH, zatímco DHA2 čtrnáct (Gaur *et al.*, 2008). TMH1 až TMH6 tvoří N-doménu, TMH7 až TMH12, respektive TMH14 tvoří C-doménu (viz **Obrázek 6**). Tyto domény jsou schopny se vůči sobě hýbat, tímto pohybem je zprostředkováno otevření proteinu z jedné strany membrány na druhou (Zhang *et al.*, 2015).

N-doména je od C-domény oddělena IL3, někdy též nazývanou centrální cytoplasmatickou smyčkou (CCL, *Central Cytoplasmic Loop*). IL3 tvoří cytosolickou doménu skládající se z alfa-helixů, která je v kontaktu s plazmatickou membránou. Mutace v IL3 vedou k špatnému sbalení a následné degradaci proteinu (Mandal *et al.*, 2012). V IL1 a IL4 se nachází motif A, jenž je důležitý pro změnu konformace proteinu (Quistgaard *et al.*, 2016).

Pro rodinu DHA1 platí, že transportní kanál a vazebná oblast pro substráty jsou tvořeny TMH1, TMH4, TMH7 a TMH10. TMH4 obsahuje motif B, který má významnou roli při konformačních změnách proteinu, zejména deprotonaci aminokyselin při stavu, kdy je transportní kanál otevřen do cytoplazmy (Zhang *et al.*, 2015). Antiportery účastnící se MDR jsou schopny rozeznat substráty s různou strukturou, protože vazebná oblast je na svých okrajích oproti jiným transportérům z nadrodiny MFS rozšířená o další aminokyselinové zbytky (Redhu *et al.*, 2018). Konformační změny proteinu umožňují TMH2, TMH5, TMH8 a TMH11 tvořící stěny transportního kanálu. Zbylé transmembránové helixy TMH3, TMH6, TMH9 a TMH12 interagují s lipidy plazmatické membrány (Zhang *et al.*, 2015). Některé transportéry MFS mají v TMH5 motif C, který se také účastní transportu a při mutaci v něm dochází ke ztrátě funkce proteinu (Pasrija, Banerjee a Prasad, 2007).



Obrázek 6. Schematické zobrazení antiporterů MFS z rodin DHA1 a DHA2. A – schéma struktury antiporteru z rodiny DHA1, tento transportér se skládá z 12 transmembránových helixů (TMH, označených čísly), TMH 1-6 tvoří N-doménu, TMH 7-12 C-doménu, tyto domény jsou odděleny intracelulární smyčkou 3 (IL3). **B** – schéma struktury antiporteru z rodiny DHA2, tato rodina má oproti rodině DHA1 celkově 14 TMH a C-doména se skládá z TMH 7-14, tyto domény jsou odděleny IL3. $\Delta\Psi$ – rozdíl membránového potenciálu, ΔpH – rozdíl pH, pH_e – extracelulární pH, pH_i – intracelulární pH. Převzato z Sá-Correia et al., 2008, upraveno.

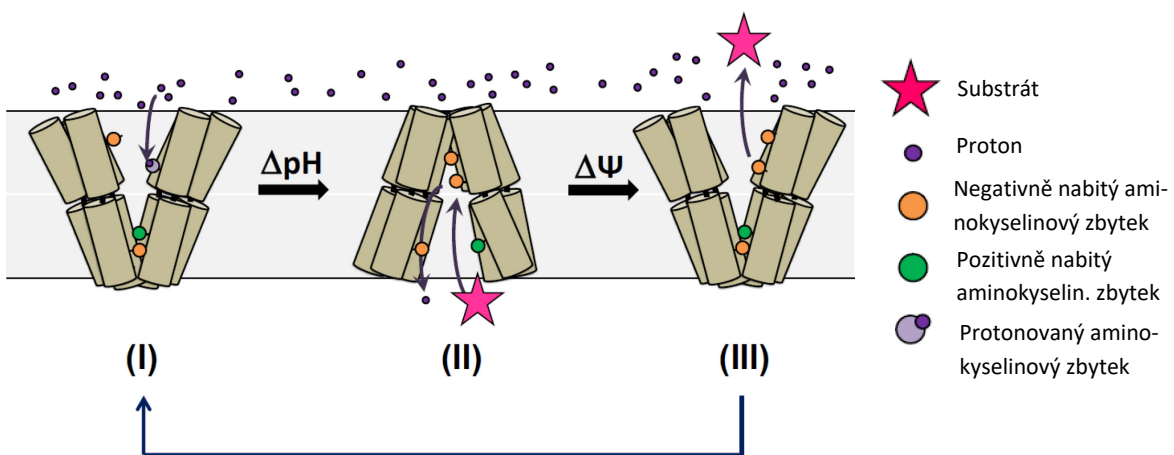
4.2. Mechanismus transportu proteiny MFS

Transport proteiny MFS je poháněn přenášením protonů (H^+) po koncentračním spádu. Při transportu jedné molekuly substrátu se na druhou stranu membrány přesune od jednoho do tří H^+ , což vede k okyselení vnitřního prostoru kvasinkové buňky (Zhang *et al.*, 2015; Roth a Govaerts, 2018). Přebytké H^+ jsou transportovány zpět ven z buňky, např. u kvasinek pomocí ATPázy Pma1 (Billack, Santoro a Lau-Cam, 2009). Co se týče energetických nákladů na transport, jsou transportéry MFS úspornější než ATPázy ABC, které na transportní cyklus spotřebují dvě molekuly ATP, což je u kvasinek ekvivalentní přibližně 5,8 H^+ (Petersen *et al.*, 2012). Základní hypotézou mechanismu stejně jako u ATPáz ABC, ze které vycházejí novější modely transportu, je model „*alternate access*“ (Jardetzky, 1966).

Úpravou modelu „*alternate access*“ vznikl model „*rocker-switch*“ (viz **Obrázek 7**). Podle tohoto modelu se transport uskutečňuje osově symetrickým překlopením proteinu do stavu otevřeného na druhou stranu plazmatické membrány pohybem rigidních N- a C-domén vůči sobě (Law, Maloney a Wang, 2008). Aby mohl proběhnout celý transportní cyklus dle modelu „*rocker-switch*“, musí dojít v případě symporterů a antiporterů k protonaci a deprotonaci aminokyselinových zbytků. Protonovat se mohou aminokyseliny glutamát, aspartát a histidin. V případě antiporterů je na začátku cyklu transportér otevřen do cytoplazmy, což umožní navázání substrátu transportovaného proti koncentračnímu spádu, díky čemuž jsou poté uvolněny H^+ z protonovaných aminokyselinových zbytků. Kvůli deprotonaci

dojde ke konformačním změnám a překlopení transportéru na druhou stranu membrány. Nakonec dochází k uvolnění přenášené látky, protonaci a vrácení konformace do původního stavu, při tomto návratu dochází k přesunu H^+ na jiné aminokyseliny. Rozdíl symporterů od antiporterů je v tom, že symporter je otevřen do extracelulárního prostoru a navázání substrátu umožní protonaci aminokyselin a následnou konformační změnu (Zhang *et al.*, 2015).

Po objevu třetího konformačního stavu, který je uzavřen z obou dvou stran plazmatické membrány, byl představen model „*clamp-switch*“. Transportní cyklus podle tohoto modelu je totožný jako transportní cyklus modelu „*rocker-switch*“ až na uzavření transportního kanálu, které je způsobeno ohnutím cytoplazmatických nebo extracelulárních částí některých TMH podle toho, v jakém stavu se protein nacházel před tím (Quistgaard *et al.*, 2016).



Obrázek 7. Schéma mechanismu antiportu dle modelu „*rocker-switch*“. Transportní cyklus začíná protonací negativně nabitého aminokyselinového zbytku (I), to způsobí symetrické překlopení proteinu na druhou stranu membrány, následuje navázání substrátu a deprotonace (II), deprotonace způsobí překlopení proteinu zpět na původní stranu a uvolnění substrátu (III), to navrátí protein do původní konformace. Transport je poháněn rozdílem pH cytoplazmy a extracelulárního prostoru (ΔpH) a membránovým potenciálem ($\Delta \Psi$). Převzato z Roth a Govaerts, 2018, upraveno.

4.3. Mechanismy regulace transportérů MFS

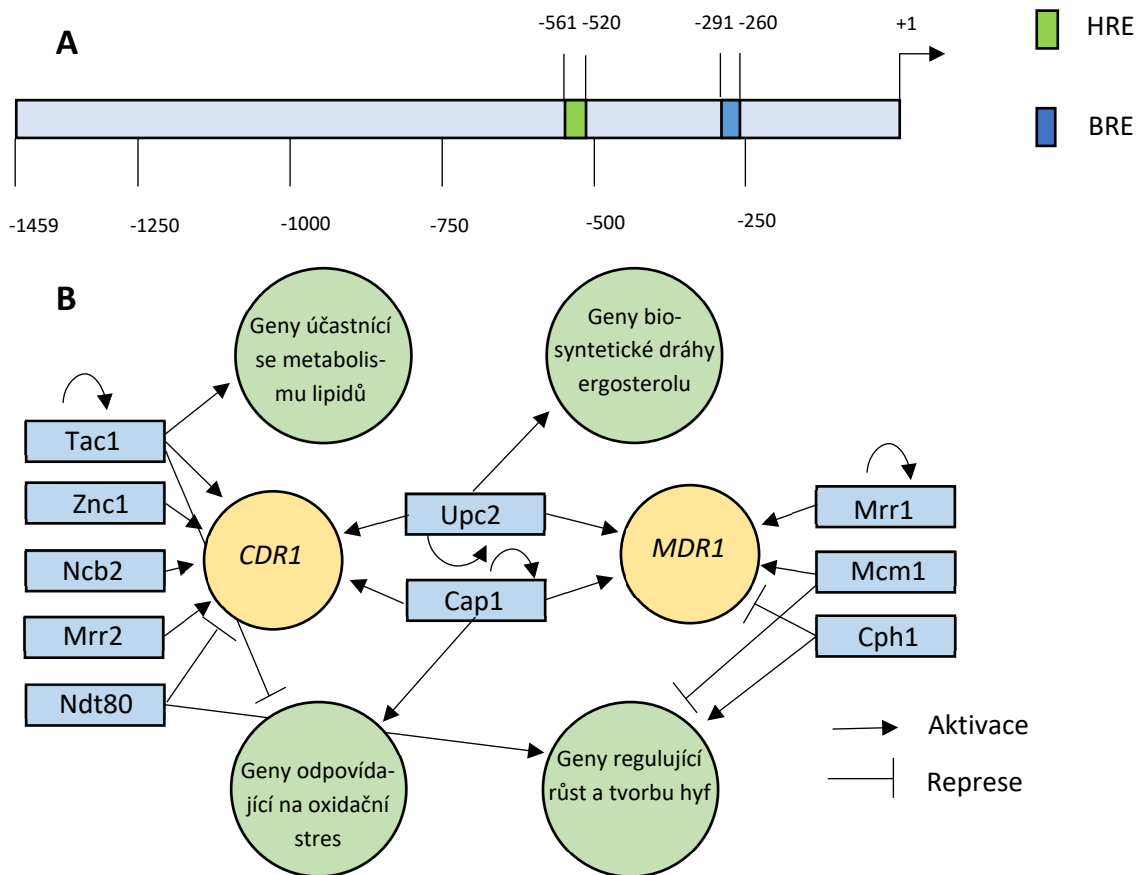
Mechanismy regulace transportérů MFS jsou dále popsány na příkladu nejprostudovanějšího transportéru této nadrodiny u *C. albicans*, antiporteru Mdr1 (*Multi Drug Resistance*) z rodiny DHA1, jeho sekvence obsahuje 564 aminokyselin (Mandal *et al.*, 2012). Regulace tohoto genu probíhá především regulací iniciace transkripce.

Transkripční faktory účastníci se regulace transkripce genu *MDR1* (viz **Obrázek 8B**) jsou Mrr1 (*Multidrug Resistance Regulator 1*), Cap1, Upc2, Cph1 (*Candida PseudoHyphal regulator1*) a Mcm1 (*MiniChromosome Maintenance protein 1*). Mrr1, Upc2 a Mcm1 expresi genu *MDR1* ovlivňují pozitivně (Znaidi *et al.*, 2008; Mogavero *et al.*, 2011; Feng *et al.*, 2018). Cph1 je negativní regulátor (Lo *et al.*, 2015). Cap1 může působit jako negativní transkripční faktor (Alarco a Raymond, 1999), ale dle jiných studií působí na expresi *MDR1* pozitivně (Schubert *et al.*, 2011; Feng *et al.*, 2018). Regulace exprese *MDR1* je spojená s regulací exprese genu *CDR1* (viz **Obrázek 8B**) transkripčním faktorem Upc2 a pravděpodobně i Cap1 (Puri *et al.*, 1999; Sanglard, Coste a Ferrari, 2009).

Mrr1 má hlavní roli ve zvýšení exprese *MDR1* způsobené chemickými látkami, např. flukonazolem nebo benomylem. Ziskové mutace v genu *MRR1* způsobují rezistenci některých kmenů *C. albicans* vůči flukonazolu (Dunkel *et al.*, 2008), ale účinek i takto mutovaného Mrr1 je závislý na spolupůsobení transkripčních faktorů Mcm1 nebo Cap1 (Mogavero *et al.*, 2011). Transkripční faktor Mcm1 se dále podílí na regulaci morfogeneze *C. albicans*, konkrétně jako negativní regulátor tvorby hyf a pseudohyf (Rottmann *et al.*, 2003). Cph1 má opačné účinky než Mcm1, negativně reguluje expresi *MDR1* a pozitivně tvorbu hyf (Braun a Johnson, 2000). Hlavní funkcí transkripčního faktoru Cap1 je podílení se na odpovědi vůči oxidačnímu stresu (Alarco a Raymond, 1999). Jeho formy obsahující ziskovou mutaci způsobují konstitutivní expresi genu *MDR1* a rezistenci vůči flukonazolu a jsou nezávislé na transkripčním faktoru Mrr1, ale jeho účinek je posílen proteinem Ada2, který je součástí histon-transacetylazačního komplexu SAGA/ADA (Mogavero *et al.*, 2011; Ramírez-Zavala *et al.*, 2014).

V promotoru genu *MDR1* (viz **Obrázek 8A**) byly objeveny dvě oblasti pro vazbu transkripčních faktorů. Do vazebného místa BRE (*Benomyl Responsive Element*, někdy označované také jako MDRE (*MDR1 Drug Resistance Element*)) se vážou transkripční faktory spojené s rezistencí vůči chemickým látkám a s morfogenezí kvasinek, např. Mrr1, Mcm1 a Cph1, do druhého vazebného místa HRE (*H₂O₂ Responsive Element*) se vážou transkripční faktory spojené s oxidačním stresem, např. Cap1 (Riggle a Kumamoto, 2006; Sanglard, Coste

a Ferrari, 2009). Transkripční faktory jsou schopné se vázat na promotor buď po navázání chemické látky, která působí buňce stres a zároveň je substrátem Mdr1, nebo ke své aktivaci potřebují proteiny přinášejících informaci o výskytu této chemické látky. Do první skupiny patří např. Upc2 a do druhé např. Mrr1 (Schneider a Morschhäuser, 2015).



Obrázek 8. A – Promotor genu *MDR1*. Jeho délka je 1459 bp. Promotor obsahuje vazebnou oblast HRE, kam se vážou transkripční faktory regulující odpovědi na oxidační stres (např. Cap1), a vazebnou oblast BRE, kam se vážou transkripční faktory regulující rezistenci vůči chemikáliím (např. Mrr1). **B – schéma regulace genů *CDR1* a *MDR1* transkripčními faktory.** Schéma platí pro kmeny *C. albicans* citlivé vůči léčivům a nevystavené stresu. Transkripční faktor Ncb2 má u rezistentních kmenů aktivační účinek. Transkripční faktor Upc2 funguje při výskytu toxických látek v buňce jako represor. Zdroje: Rognon et al., 2006; Prasad et al., 2015; Nishimoto et al., 2019; Liu et al., 2007; Lo et al., 2015; Mogavero et al., 2011; Feng et al., 2018; Znaidi et al., 2008; Shukla et al., 2011.

5. Transportéry účastníci se MDR u klinicky významných zástupců rodu *Candida*

Na celkovém počtu kandidémií v Česku i v ostatních státech má největší podíl *C. albicans*, ale v 90. letech 20. století došlo pravděpodobně v důsledku nasazení azolů do klinické praxe k relativnímu zvýšení podílu ostatních druhů kandid, rezistentnějších k azolům (Haber, Mallátová a Drgoňa, 2009). V Česku podle studie z let 2012-2015 měla *C. albicans* podíl na kandidémiích 49,7 %, *C. glabrata* 15,3 %, *C. parapsilosis* 11,2 % a *C. tropicalis* 8,9 %, oproti podobné studii z let 2000 až 2006 se zvýšil počet izolátů *C. glabrata*, pravděpodobně kvůli poměrně vysokému počtu rezistentních izolátů tohoto druhu vůči azolům (Kocmanová *et al.*, 2018). Na Slovensku měla u pacientů z Jedinoty intenzivní péče významný podíl *C. krusei* (8,6 %) a byla druhou nejčastěji izolovanou kandidou (Hrabovský *et al.*, 2017). *C. glabrata* byla druhým nejčastějším původcem kandidémií jako v Česku, ale také např. v USA a ve Skandinávii, ale podíl *C. albicans* v USA byl menší o více než 10 % (38 %) a podíl *C. glabrata* téměř dvojnásobný (29 %), ve Skandinávii měla *C. albicans* více než 50% podíl na kandidémiích a oproti Česku zde byla méně zastoupena *C. parapsilosis* (3,7-5 %) s menším podílem na kandidémiích než *C. tropicalis* (Guinea, 2014). Naproti tomu např. ve Španělsku a Japonsku byla druhým nejčastějším původcem kandidémie s podílem 24,9 %, respektive 23,3 % *C. parapsilosis* (Martí-Carrizosa *et al.*, 2014; Kakeya *et al.*, 2018). U dětí jsou kandidémie výrazně častěji způsobeny *C. parapsilosis* než *C. glabrata*, např. v Česku způsobila *C. parapsilosis* 23 % a *C. glabrata* 10 % léčených infekcí (Kocmanová *et al.*, 2018).

V následujících podkapitolách budou popsány transportéry ABC a MFS účastníci se transportu klinicky používaných léčiv z buňky u třech nejčastějších druhů kandid způsobujících kandidémie v Česku, tedy *C. albicans*, *C. glabrata* a *C. parapsilosis*. Dále budou tyto transportéry popsány u *C. auris*, která je kvůli značnému výskytu rezistence významnou hrozbou pro veřejné zdraví (viz **Tabulka 2**)(Colombo, Júnior a Guinea, 2017). Transportéry ABC a MFS se na vzniku MDR nepodílejí pouze vylučováním léčiv z buňky, ale také transportem svých dalších substrátů, pomocí nichž upravují podmínky uvnitř těl svých hostitelů, nebo se podílejí na stavbě biofilmu a na úniku imunitnímu systému hostitele a zvyšují virulenci kvasinek (Cavalheiro *et al.*, 2018). Navíc bylo zjištěno, že na transportu klinicky používaných léčiv se nepodílí pouze transportéry z nadrodin ABC a MFS, rezistence vůči azolům se u *C. albicans* účastní např. transportér Rta3 (*Resistance To 7-Aminocholesterol protein 3*) z proteinové rodiny LTE (*Lipid-Translocating Exporter*)(Whaley *et al.*, 2016).

5.1 Transportéry účastníci se transportu léčiv u *C. albicans*

Z 28 ATPáz ABC této kvasinky se na transportu léčiv podílí proteiny Cdr1 (viz **podkapitola 3.3**) a Cdr2 (Sanglard *et al.*, 1995, 1997; Gaur, Choudhury a Prasad, 2005). Oba transportéry způsobují rezistenci vůči azolům a jsou exprimovány u rezistentních kmenů kvasinek (Pourakbari *et al.*, 2017). Cdr1 se na rezistenci podílí větším dílem než Cdr2, při delecí jejich genů se zvýšila citlivost k azolům až osminásobně v případě delecí *cdr1*, zatímco při delecí *cdr2* pouze jeden a půl krát vůči flukonazolu a ketokonazolu (Tsao, Rahkhoodae a Raymond, 2009). Cdr1 přenáší široké spektrum látek, mezi jeho substráty mimo azoly patří i jiné buňce cizí molekuly, např. herbicidy, lidské steroidní hormony a fluorescenční látky používané při výzkumu, tak i přirozené součásti buněk jako fosfolipidy (Maesaki *et al.*, 1999; Smriti *et al.*, 2002; Schmidt *et al.*, 2008; Baghel *et al.*, 2017). Fosfolipidy jsou substrátem Cdr1 i Cdr2, oběma transportéry jsou přenášeny pouze z vnitřního listu plazmatické membrány do vnějšího, fungují tedy jako flopázy (Smriti *et al.*, 2002). V prostředí bohatém na steroidy je působením transkripčního faktoru Tac1 zvýšená exprese kromě *CDR1* i genu *CDR2* (Cheng, Yeater a Hoyer, 2006). Při zvýšené koncentraci estradiolu je zvýšená pravděpodobnost vzniku kandidózy, protože estradiol snižuje množství lymfocytů Th17 podílejících se na imunitní odpovědi proti mykózám (Chen *et al.*, 2015). Při delecí transportéru Roa1 (*Regulator Of Azole sensitivity protein 1*) nacházejícího se v kompartmentu v blízkosti vakuoly dochází k obnovení citlivosti *C. albicans* k azolům (Jiang *et al.*, 2016). Ač se tento transportér nenachází v plazmatické membráně, přispívá k rezistenci snižováním membránového potenciálu, což způsobí snížení transportu azolů do buňky (Jiang *et al.*, 2016).

Jediným klinicky významným transportérem MFS (z celkem 95) této kvasinky způsobujícím rezistenci vůči azolům je pouze antiporter Mdr1 (viz **podkapitola 4.3**) (Gaur *et al.*, 2008; Pourakbari *et al.*, 2017). Mezi azoly, které vylučuje z buňky, patří např. flukonazol a ketokonazol, ale ne itraconazol a mikonazol (Lamping *et al.*, 2007). Delecí genu *mdr1* vedla k dvojnásobné citlivosti k flukonazolu v porovnání s rezistentním kmenem (Morschhäuser *et al.*, 2007). Mdr1 má tedy na rezistenci vůči flukonazolu menší vliv než Cdr1. Dalšími substráty Mdr1 jsou např. cytostatikum methotrexát, fungicid benomyl, depolymerizující mikrotubuly kvasinek, a cykloheximid, fungicid zastavující eukaryontní translaci používaný *in vitro* (Goldway *et al.*, 1995; Kohli *et al.*, 2001; Ramírez-Zavala *et al.*, 2014). Flu1 (*FLUconazole resistance protein 1*) i přes svůj název nezpůsobuje rezistenci vůči flukonazolu ani jiným klinicky používaným lékům, i když flukonazol je jeho substrátem (Calabrese, Sanglard a Bille,

2000). Mezi substráty Flu1 však patří např. histatin 5, fungicidní peptid vytvářený lidskými buňkami, a cykloheximid (Calabrese, Sanglard a Bille, 2000; Li *et al.*, 2013).

5.2 Transportéry účastníci se transportu léčiv u *C. glabrata*

Oproti *C. albicans* se u *C. glabrata* vyskytuje více rezistentních izolátů (Kocmanová *et al.*, 2018). Jednou z příčin větší rezistence tohoto druhu může být i větší množství transportérů účastnících se vylučování léčiv z buňky. Z celkových 25 ATPáz ABC se na vylučování klinicky používaných léků podílí tři, konkrétně Cdr1, Cdr2 (někdy též nazvaný Pdh1 (*Pleomorphic Drug-resistance Homolog protein 1*) a Snq2 (*Sensitivity to 4-NitroQuinoline-N-oxide protein 2*) (Kumari *et al.*, 2018; Whaley *et al.*, 2018). Všechny tyto transportéry jsou ve zvýšené míře exprimovány u izolátů rezistentních vůči azolům (Navarro-Rodríguez *et al.*, 2019). Zvýšená citlivost k azolům byla pozorována pouze při delecí *cdr1*, ne však při delecí *cdr2* a *snq2*, transportér Cdr1 tedy hraje při vzniku rezistence mezi transportéry ABC klíčovou roli (Whaley *et al.*, 2018). Rezistence a zvýšená exprese transportérů podílejících se na MDR u *C. glabrata* je způsobena získovými mutacemi v transkripčním faktoru Pdr1 (*Pleiotropic Drug Resistance protein 1*) (Caudle *et al.*, 2011). Zajímavým příkladem vlivu Pdr1 na vznik MDR je zvýšená exprese Cdr1 při kombinované léčbě kandidózy flukonazolem a flucytosinem; flucytosin poškozuje svým působením mitochondrie kvasinky, což zvýší aktivitu Pdr1, Pdr1 vyvolá zvýšení exprese Cdr1 a tím přispěje ke zvýšení rezistence vůči azolům (Steier *et al.*, 2013).

Stejně jako v případě ATPáz ABC se antiporterů MFS oproti *C. albicans* podílí na transportu léčiv větší množství, z 15 proteinů MFS patřících do rodin DHA1 a DHA2 se vylučování klinicky používaných léčiv účastní sedm, jedná se o antiportery Aqr1 (*Acids Quinidine Resistance protein 1*), Tpo1_1 (*Transporter of POLyamines protein 1_1*), Tpo1_2, Tpo3, Qdr2 (*QuiniDine Resistance protein 2*), Flr1 (*FLuconazole Resistance protein 1*) a Flr2 (Costa *et al.*, 2014, 2016; Pais, Costa, *et al.*, 2016; Pais, Pires, *et al.*, 2016; Vu a Moye-Rowley, 2018). Transportér Aqr1 se podílí na rezistenci proti flucytosinu, dalším substráty jsou azoly, ale role Aqr1 v rezistenci proti nim je malá (Costa *et al.*, 2013). Dalšími transportéry účastnícími se rezistence vůči flucytosinu jsou Flr1 a Flr2. Flr2 má podíl také na rezistenci vůči azolům (Pais, Pires, *et al.*, 2016). Flr1 je schopen transportovat flukonazol, ale v rezistenci proti němu je významný pouze při zvýšené expresi svého indukujícího transkripčního faktoru Yap1 a delecí genu *cdr1* (Vu a Moye-Rowley, 2018). Zbylé transportéry, Tpo1_1, Tpo1_2, Tpo3 a Qdr2, se podílí na rezistenci vůči azolům (Costa *et al.*, 2016; Pais, Costa, *et al.*, 2016).

5.3 Transportéry účastníci se transportu léčiv u *C. parapsilosis*

O úloze transportérů v transportu léčiv není u tohoto druhu příliš jasno. Přestože v genomu této kvasinky bylo nalezeno nejméně 14 zástupců proteinové nadrodiny ABC a 28 transportérů z rodiny DHA1 (Butler *et al.*, 2009; Dias a Sá-Correia, 2014), byly zatím popsány pouze dva transportéry účastníci se transportu léčiv, a to Cdr1 a Mdr1 (Berkow *et al.*, 2015; Souza *et al.*, 2015; Neji *et al.*, 2017). Ty stejně jako u předešlých druhů zprostředkovávají rezistenci vůči azolům. U dalších dvou transportérů ABC byla zjištěna zvýšená exprese v rezistentních kmenech, konkrétně jde o ortolog proteinu Cdr3 *C. albicans* a dosud nepopsaný protein CPAG_02192 (Silva *et al.*, 2011). Rezistence vůči azolům může vzniknout mutací v genu *MRR1*, což vede ke konstitutivní expresi *MDR1* (Branco *et al.*, 2015).

5.4 Transportéry účastníci se transportu léčiv u *C. auris*

Tento druh kvasinky je většinou vysoce rezistentní hlavně vůči flukonazolu, ale rezistence je u této kvasinky v různé míře vyvinuta i proti ostatním typům klinických léčiv (Lockhart *et al.*, 2017). Bohužel ještě nebyly zcela popsány všechny transportéry účastníci se transportu léčiv a jejich přesná role v rezistenci (viz níže), ale některá pozorování ukazují na jejich velký význam v těchto jevech. Zprvce bylo nepřekvapivě zjištěno, že se transportéry podílí na rezistenci vůči azolům (Ben-Ami *et al.*, 2017; Kean *et al.*, 2018; Muñoz *et al.*, 2018). Zadruhé o velkém významu transportérů ABC pro *C. auris* svědčí, že u ní byla zjištěna silná ATPázová aktivita typická pro transportéry ABC, silnější než ATPázová aktivita *C. glabrata*, to ukazuje na vyšší míru konstitutivní exprese těchto transportérů než u *C. glabrata* (Ben-Ami *et al.*, 2017). Zatřetí bylo zjištěno, že aktivita ATPáz je ještě větší v kvasinkovém biofilmu, který je rezistentní vůči flukonazolu (Kean *et al.*, 2018).

V genomu *C. auris* bylo nalezeno více než 30 proteinů ABC a přes sto transportérů MFS (Lockhart *et al.*, 2017). Co se týče konkrétních genů, tak v genomu této kvasinky byl objeven ortolog genů *C. albicans* buď *CDR1*, nebo *CDR2*, nebo *CDR11*, dále dva ortology genu *CDR4*, dva ortology genu *SNQ2*, jeden izolovaný kmen obsahoval navíc další ortolog genu *SNQ2*, u všech kmenů byl objeven ortolog genu *MDR1* (Muñoz *et al.*, 2018). Kean *et al.* objevili, že v biofilmu byly exprimovány transportéry ABC Cdr1 a Snq2 a z transportérů MFS Mdr1, Rdc3 a Yhd3, inhibicí těchto transportérů se několikanásobně zvýšila citlivost k flukonazolu, ale není známa role jednotlivých transportérů na rezistenci (Kean *et al.*, 2018).

Tabulka 2. Dosud charakterizované transportéry podílející se na transportu klinických léčiv z buňky kvasinek druhů *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis* a *C. auris*.

Druh kvasinky	Nadrodina proteinu	Transportér	Účast na rezistenci vůči
<i>Candida albicans</i>	ABC	Cdr1	Azolům
		Cdr2	Azolům
		Roal	Azolům
	MFS	Mdr1	Flukonazolu, ketokonazolu
<i>Candida glabrata</i>	ABC	Cdr1	Azolům
		Cdr2	Azolům
		Snq2	Azolům
	MFS	Aqr1	Flucytosinu, azolům
		Tpo1_1	Azolům
		Tpo1_2	Azolům
		Tpo3	Azolům
		Qdr2	Azolům
	Flr1	Flucytosinu, flukonazolu	
	Flr2	Flucytosinu, azolům	
<i>Candida parapsilosis</i>	ABC	Cdr1	Azolům
		Cdr3 ¹	Azolům
		CPAG_02192 ¹	Azolům
	MFS	Mdr1	Azolům
<i>Candida auris</i> ²	ABC	Cdr1	Flukonazolu
		Snq2	Flukonazolu
	MFS	Mdr1	Flukonazolu
		Rdc3	Flukonazolu
		Yhd3	Flukonazolu

¹ role těchto transportérů v rezistenci není ještě přesně objasněna, v rezistentních kmenech vůči azolům došlo k jejich zvýšené expresi.

² role jednotlivých uvedených transportérů na rezistenci vůči flukonazolu u *C. auris* není ještě známa, nespecifickou inhibicí těchto transportérů ale došlo ke zvýšení citlivosti k flukonazolu.

Zdroje: Lamping *et al.*, 2007; Silva *et al.*, 2011, Costa *et al.*, 2013, 2016; Jiang *et al.*, 2016; Pais, Costa, *et al.*, 2016; Pais, Pires, *et al.*, 2016; Neji *et al.*, 2017; Pourakbari *et al.*, 2017; Vu a Moye-Rowley, 2018; Whaley *et al.*, 2018; Kean *et al.*, 2018; Kumari *et al.*, 2018.

6. Závěr

Transportéry z nadrodin ABC a MFS se přímo na vylučování klinických léčiv podílejí u všech výše popsaných druhů kandid, tj. *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis* a *C. auris*. Významnou úlohu mají především v rezistenci vůči azolům, ale u *C. glabrata* se podílejí i na rezistenci vůči flucytosinu. Tyto skupiny léčiv jsou jejich substráty, protože terapeuticky působí uvnitř buňky, zatímco další používané skupiny léků (echinokandiny a polyeny) mají své cíle na jejím povrchu.

Vylučování léčiv z buňky je důležitým mechanismem rezistence u druhů *C. albicans*, *C. glabrata* a *C. auris*. Hlavním transportérem v rezistenci vůči azolům u *C. albicans* je transportér Cdr1 z nadrodiny ABC a u *C. glabrata* jeho ortolog Cdr1. Jejich delecí dochází k velkému snížení rezistence. Výzkum transportérů podílejících se na vylučování léčiv u *C. auris* je teprve na začátku, nebyly ještě přesně identifikovány konkrétní transportéry podílející se na transportu léčiv, ale již byla potvrzena účast skupiny transportérů na rezistenci vůči flukonazolu. O velkém významu transportérů ABC pro rezistenci u této kvasinky lze zatím uvažovat z velké naměřené aktivity ATPáz. Stejně jako u *C. auris* je výzkum transportérů účastnících se vylučování léčiv u *C. parapsilosis* v plenkách, významnou úlohu ve vylučování léčiv u této kvasinky plní opět transportér Cdr1.

Vznik rezistence je často způsoben ziskovými mutacemi v transkripčních faktorech regulujících expresi transportérů, např. Tac1 u Cdr1, Mrr1 u Mdr1, Pdr1 u mnoha transportérů *C. glabrata* a Mrr1 u transportérů *C. parapsilosis*.

Studium struktury a funkce transportérů má veliký význam pro vývoj nových inhibitorů těchto transportérů, jejichž použití by obnovilo citlivost buněk k léčivu. Poznatky získané při tomto výzkumu se dají využít nejen při léčbě kandidóz, ale i při léčbě dalších nemocí, u kterých se vyskytuje rezistence způsobená transportéry ABC a MFS, např. některých typů nádorových onemocnění.

7. Seznam literatury

Abe, F. and Hiraki, T. (2009) 'Mechanistic role of ergosterol in membrane rigidity and cycloheximide resistance in *Saccharomyces cerevisiae*', *Biochimica et Biophysica Acta - Biomembranes. Elsevier B.V.*, 1788(3), pp. 743–752. doi: 10.1016/j.bbamem.2008.12.002.

Ahmad, S., Joseph, L., Parker, J. E., Asadzadeh, M., Kelly, S. L., Meis, J. F., Khan, Z. (2018) '*ERG6* and *ERG2* Are Major Targets Conferring Reduced Susceptibility to Amphotericin B in Clinical *Candida glabrata* Isolates in Kuwait', *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 63(2), pp. e01900-18. doi: 10.1128/AAC.01900-18.

Alarco, A. M. and Raymond, M. (1999) 'The bZip transcription factor Cap1p is involved in multidrug resistance and oxidative stress response in *Candida albicans*.', *Journal of bacteriology*, 181(3), pp. 700–8. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9922230>.

* Allen, D., Wilson, D., Drew, R., Perfect, J. (2015) 'Azole antifungals: 35 years of invasive fungal infection management', *Expert Review of Anti-Infective Therapy*, 13(6), pp. 787–798. doi: 10.1586/14787210.2015.1032939.

Ascher, S. B., Smith, P. B., Watt, K., Benjamin, D. K., Cohen-Wolkowicz, M., Clark, R. H., Benjamin, D. K., Moran, C. (2012) 'Antifungal Therapy and Outcomes in Infants With Invasive *Candida* Infections', *The Pediatric Infectious Disease Journal*, 31(5), pp. 439–443. doi: 10.1097/INF.0b013e3182467a72.

Baghel, P., Rawal, M. K., Khan, M. F., Sen, S., Siddiqui, M. H., Chaptal, V., Falson, P., Prasad, R. (2017) 'Multidrug ABC transporter Cdr1 of *Candida albicans* harbors specific and overlapping binding sites for human steroid hormones transport', *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes. Elsevier B.V.*, 1859(10), pp. 1778–1789. doi: 10.1016/j.bbamem.2017.05.011.

Bagnat, M., Keränen, S., Shevchenko, A., Shevchenko, A., Simons, K. (2000) 'Lipid rafts function in biosynthetic delivery of proteins to the cell surface in yeast.', *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 97(7), pp. 3254–9. doi: 10.1073/pnas.060034697.

Balashov, S. V., Park, S. and Perlin, D. S. (2006) 'Assessing Resistance to the Echinocandin Antifungal Drug Caspofungin in *Candida albicans* by Profiling Mutations in *FKSI*', *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 50(6), pp. 2058–2063. doi: 10.1128/AAC.01653-05.

Bates, D. W., Su, L., Yu, D. T., Chertow, G. M., Seger, D. L., Gomes, D. R. J., Datsbach, E. J., Platt, R. (2001) 'Mortality and Costs of Acute Renal Failure Associated with Amphotericin B Therapy', *Clinical Infectious Diseases*, 32(5), pp. 686–693. doi: 10.1086/319211.

Ben-Ami, R., Berman, J., Novikov, A., Bash, E., Shachor-Meyouhas, Y., Zakin, S., Maor, Y., Tarabia, J., Schechner, V., Adler, A., Finn, T. (2017) 'Multidrug-Resistant *Candida haemulonii* and *C. auris*, Tel Aviv, Israel', *Emerging Infectious Diseases*, 23(2). doi: 10.3201/eid2302.161486.

Ben-Ami, R. and Kontoyiannis, D. P. (2012) 'Resistance to echinocandins comes at a cost', *Virulence*, 3(1), pp. 95–97. doi: 10.4161/viru.3.1.18886.

Berkow, E. L., Manigaba, K., Parker, J. E., Barker, K. S., Kelly, S. L., Rogers, P. D. (2015) 'Multidrug Transporters and Alterations in Sterol Biosynthesis Contribute to Azole Antifungal Resistance in *Candida parapsilosis*', *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 59(10), pp. 5942–5950. doi: 10.1128/AAC.01358-15.

Beyer, R., Spettel, K., Zeller, I., Lass-Flörl, C., Achleitner, D., Krause, R., Apfalter, P., Buzina, W., Strauss, J., Gregori, C., Schüller, C., Willinger, B. (2019) 'Antifungal susceptibility of yeast bloodstream isolates collected during a 10-year period in Austria', *Mycoses*, 62(4), pp. 357–367. doi: 10.1111/myc.12892.

Bhatt, M., Chayani, N., Mahapatra, A., Das, P., Sarangi, G., Paty, B. P., Mohapatra, D., Sahoo, D. (2015) 'Biofilm as a virulence marker in *Candida* species in Nosocomial blood stream infection and its correlation with antifungal resistance', *Indian Journal of Medical Microbiology*, 33(5), pp. 112-114. doi: 10.4103/0255-0857.150909.

Billack, B., Santoro, M. and Lau-Cam, C. (2009) 'Growth inhibitory action of ebselen on fluconazole-resistant *Candida albicans*: role of the plasma membrane H⁺-ATPase.', *Microbial drug resistance (Larchmont, N.Y.)*, 15(2), pp. 77–83. doi: 10.1089/mdr.2009.0872.

Branco, J., Silva, A. P., Silva, R. M., Silva-Dias, A., Pina-Vaz, C., Butler, G., Rodrigues, A. G., Miranda, I. M. (2015) 'Fluconazole and Voriconazole Resistance in *Candida parapsilosis* Is Conferred by Gain-of-Function Mutations in *MRR1* Transcription Factor Gene.', *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 59(10), pp. 6629–33. doi: 10.1128/AAC.00842-15.

Braun, B. R. and Johnson, A. D. (2000) '*TUP1*, *CPHI* and *EFG1* make independent contributions to filamentation in *Candida albicans*', *Genetics*, 155(1), pp. 57–67.

* Brown, G. D., Denning, D. W., Gow, N. A. R., Levitz, S. M., Netea, M. G., White, T. C. (2012) 'Hidden Killers: Human Fungal Infections', *Science Translational Medicine*, 4(165), pp. 165rv13-165rv13. doi: 10.1126/scitranslmed.3004404.

Butler, G., Rasmussen, M. D., Lin, M. F., Santos, M. A. S., Sakthikumar, S., Munro, C. A., Rheinbay, E., Grabherr, M., Forche, A., Reedy, J. L., Agrafioti, I., Arnaud, M. B., Bates, S., Brown, A. J. P., Brunke, S., Costanzo, M. C., Fitzpatrick, D. A., de Groot, P. W. J., Harris, D., Hoyer, L. L., Hube, B., Klis, F. M., Kodira, C., Lennard, N., Logue, M. E., Martin, R., Neiman, A. M., Nikolaou, E., Quail, M. A., Quinn, J., Santos, M. C., Schmitzberger, F. F., Sherlock, G., Shah, P., Silverstein, K. A. T., Skrzypek, M. S., Soll, D., Staggs, R., Stansfield, I., Stumpf, M. P. H., Sudbery, P. E., Srikantha, T., Zeng, Q., Berman, J., Berriman, M., Heitman, J., Gow, N. A. R., Lorenz, M. C., Birren, B. W., Kellis, M., Cuomo, C. A. (2009) 'Evolution of pathogenicity and sexual reproduction in eight *Candida* genomes', *Nature*, 459(7247), pp. 657–662. doi: 10.1038/nature08064.

Calabrese, D., Sanglard, D. and Bille, J. (2000) 'A novel multidrug efflux transporter gene of the major facilitator superfamily from *Candida albicans* (*FLUI*) conferring resistance to fluconazole', *Microbiology*, 146(11), pp. 2743–2754. doi: 10.1099/00221287-146-11-2743.

Caudle, K. E., Barker, K. S., Wiederhold, N., P., Xu, L., Homayouni, R., Rogers, P. D. (2011) 'Genomewide Expression Profile Analysis of the *Candida glabrata* Pdr1 Regulon', *Eukaryotic Cell*, 10(3), pp. 373–383. doi: 10.1128/EC.00073-10.

* Cavalheiro, M., Pais, P., Galocha, M., Teixeira, M. (2018) 'Host-Pathogen Interactions Mediated by MDR Transporters in Fungi: As Pleiotropic as it Gets!', *Genes*, 9(7), p. 332. doi: 10.3390/genes9070332.

Charlier, C., El Sissy, C., Bachelier-Bassi, S., Scemla, A., Quesne, G., Sitterlé, E., Legendre, C., Lortholary, O., Bougnoux, M.-E. (2016) 'Acquired Flucytosine Resistance during Combination Therapy with Caspofungin and Flucytosine for *Candida glabrata* Cystitis', *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 60(1), pp. 662–665. doi: 10.1128/AAC.02265-15.

Chen, C. G., Yang, Y.-L., Shih, H.-I., Su, C.-L., Lo, H.-J. (2004) 'CaNdt80 is involved in drug resistance in *Candida albicans* by regulating CDR1', *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 48(12), pp. 4505–4512. doi: 10.1128/AAC.48.12.4505-4512.2004.

Chen, R.-Y., Fan, Y.-M., Zhang, Q., Liu, S., Li, Q., Ke, G.-L., Li, C., You, Z. (2015) 'Estradiol Inhibits Th17 Cell Differentiation through Inhibition of ROR γ T Transcription by Recruiting the ER α /REA Complex to Estrogen Response Elements of the ROR γ T Promoter', *The Journal of Immunology*, 194(8), pp. 4019–4028. doi: 10.4049/jimmunol.1400806.

Cheng, G., Yeater, K. M. and Hoyer, L. L. (2006) 'Cellular and Molecular Biology of *Candida albicans* Estrogen Response', *Eukaryotic Cell*, 5(1), pp. 180–191. doi: 10.1128/EC.5.1.180-191.2006.

* Cohen, T., Hanage, W. P., Lipsitch, M., Chang, H.-H., Grad, Y. H., O'Brien, T. F. (2015) 'Origin and Proliferation of Multiple-Drug Resistance in Bacterial Pathogens', *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 79(1), pp. 101–116. doi: 10.1128/membr.00039-14.

* Colombo, A. L., Júnior, J. N. D. A. and Guinea, J. (2017) 'Emerging multidrug-resistant *Candida* species', *Current Opinion in Infectious Diseases*, pp. 528–538. doi: 10.1097/QCO.0000000000000411.

Costa, C., Henriques, A., Pires, C., Nunes, J., Ohno, M., Chibana, H., Sá-Correia, I., Teixeira, M. C. (2013) 'The dual role of *Candida glabrata* drug:H⁺ antiporter CgAqr1 (ORF CAGL0J09944g) in antifungal drug and acetic acid resistance', *Frontiers in Microbiology*, 4, p. 170. doi: 10.3389/fmicb.2013.00170.

* Costa, C., Dias, P. J., Sá-Correia, I., Teixeira, M. C. (2014) 'MFS multidrug transporters in pathogenic fungi: do they have real clinical impact?', *Frontiers in Physiology*, 5, p. 197. doi: 10.3389/fphys.2014.00197.

Costa, C., Ribeiro, J., Miranda, I. M., Silva-Dias, A., Cavalheiro, M., Costa-de-Oliveira, S., Rodrigues, A. G., Teixeira, M. C. (2016) 'Clotrimazole Drug Resistance in *Candida glabrata* Clinical Isolates Correlates with Increased Expression of the Drug:H⁺ Antiporters CgAqr1, CgTpo1_1, CgTpo3, and CgQdr2', *Frontiers in Microbiology*, 7(APR), pp. 1–11. doi: 10.3389/fmicb.2016.00526.

Cowen, L. E., Carpenter, A. E., Matangkasombut, O., Fink, G. R., Lindquist, S. (2006) 'Genetic Architecture of Hsp90-Dependent Drug Resistance', *Eukaryotic Cell*, 5(12), pp. 2184–2188. doi: 10.1128/EC.00274-06.

* Davies, J. and Davies, D. (2010) 'Origins and Evolution of Antibiotic Resistance', *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 74(3), pp. 417–33. doi: 10.1128/MMBR.00016-10.

Dawson, R. J. P. and Locher, K. P. (2006) 'Structure of a bacterial multidrug ABC transporter', *Nature*, 443(7108), pp. 180–185. doi: 10.1038/nature05155.

Dias, P. J. and Sá-Correia, I. (2014) 'Phylogenetic and syntenic analyses of the 12-spanner drug:H⁽⁺⁾ antiporter family 1 (DHA1) in pathogenic *Candida* species: evolution of MDR1 and FLU1 genes.', *Genomics*, 104(1), pp. 45–57. doi: 10.1016/j.ygeno.2014.05.005.

Douglas, L. M., Wang, H. X., Keppler-Ross, S., Dean, N., Konopka, J. B. (2011) ‘Sur7 Promotes Plasma Membrane Organization and Is Needed for Resistance to Stressful Conditions and to the Invasive Growth and Virulence of *Candida albicans*’, *mBio*, 3(1), pp. 1–12. doi: 10.1128/mBio.00254-11.

Dunkel, N., Blass, J., Rogers, P. D., Morschhäuser, J. (2008) ‘Mutations in the multi-drug resistance regulator *MRR1*, followed by loss of heterozygosity, are the main cause of *MDR1* overexpression in fluconazole-resistant *Candida albicans* strains.’, *Molecular microbiology*, 69(4), pp. 827–40. doi: 10.1111/j.1365-2958.2008.06309.x.

Falci, D. R., da Rosa, F. B. and Pasqualotto, A. C. (2015a) ‘Comparison of nephrotoxicity associated to different lipid formulations of amphotericin B: a real-life study’, *Mycoses*, 58(2), pp. 104–112. doi: 10.1111/myc.12283.

Falci, D. R., da Rosa, F. B. and Pasqualotto, A. C. (2015b) ‘Hematological toxicities associated with amphotericin B formulations’, *Leukemia & Lymphoma*, 56(10), pp. 2889–2894. doi: 10.3109/10428194.2015.1010080.

Feng, W., Yang, J., Xi, Z., Qiao, Z., Lv, Y., Wang, Y., Ma, Y., Wang, Y., Cen, W. (2017) ‘Mutations and/or Overexpressions of *ERG4* and *ERG11* Genes in Clinical Azoles-Resistant Isolates of *Candida albicans*’, *Microbial Drug Resistance*, 23(5), pp. 563–570. doi: 10.1089/mdr.2016.0095.

Feng, W., Yang, J., Yang, L., Li, Q., Zhu, X., Xi, Z., Qiao, Z., Cen, W. (2018) ‘Research of *Mrr1*, *Cap1* and *MDR1* in *Candida albicans* resistant to azole medications.’, *Experimental and therapeutic medicine*, 15(2), pp. 1217–1224. doi: 10.3892/etm.2017.5518.

Fernandes, T., Silva, S. and Henriques, M. (2015) ‘*Candida tropicalis* biofilm’s matrix—involvement on its resistance to amphotericin B’, *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*. Elsevier Inc., 83(2), pp. 165–169. doi: 10.1016/j.diagmicrobio.2015.06.015.

Furman, C., Mehla, J., Ananthaswamy, N., Arya, N., Kulesh, B., Kovach, I., Ambudkar, S. V., Golin, J. (2013) ‘The Deviant ATP-binding Site of the Multidrug Efflux Pump *Pdr5* Plays an Active Role in the Transport Cycle’, *Journal of Biological Chemistry*, 288(42), pp. 30420–30431. doi: 10.1074/jbc.M113.494682.

Gao, J., Wang, H., Li, Z., Wong, A. H. H., Wang, Y. Z., Guo, Y., Lin, X., Zeng, G., Wang, Y., Wang, J. (2018) ‘*Candida albicans* gains azole resistance by altering sphingolipid composition’, *Nature Communications*. Springer US, 9(1), p. 4495. doi: 10.1038/s41467-018-06944-1.

Gaur, M., Puri, N., Manoharlal, R., Rai, V., Mukhopadhyay, G., Choudhury, D., Prasad, R. (2008) ‘MFS transportome of the human pathogenic yeast *Candida albicans*’, *BMC Genomics*, 9(1), p. 579. doi: 10.1186/1471-2164-9-579.

Gaur, M., Choudhury, D. and Prasad, R. (2005) ‘Complete Inventory of ABC Proteins in Human Pathogenic Yeast, *Candida albicans*’, *Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology*, 9(1), pp. 3–15. doi: 10.1159/000088141.

* George, A. M. and Jones, P. M. (2012) ‘Perspectives on the structure-function of ABC transporters: The Switch and Constant Contact Models’, *Progress in Biophysics and Molecular Biology*. Elsevier Ltd, 109(3), pp. 95–107. doi: 10.1016/j.pbiomolbio.2012.06.003.

* Ghannoum, M. A. and Rice, L. B. (1999) 'Antifungal agents: mode of action, mechanisms of resistance, and correlation of these mechanisms with bacterial resistance.', *Clinical microbiology reviews*, 12(4), pp. 501–17. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10515900>.

Goldway, M., Teff, D., Schmidt, R., Oppenheim, A. B., Koltin, Y. (1995) 'Multidrug resistance in *Candida albicans*: disruption of the *BENr* gene.', *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 39(2), pp. 422–6. doi: 10.1128/aac.39.2.422.

* Guinea, J. (2014) 'Global trends in the distribution of *Candida* species causing candidemia', *Clinical Microbiology and Infection*. European Society of Clinical Infectious Diseases, 20(6), pp. 5–10. doi: 10.1111/1469-0691.12539.

Guirao-Abad, J. P., Sánchez-Fresneda, R., Alburquerque, B., Hernández, J. A., Argüelles, J.-C. (2017) 'ROS formation is a differential contributory factor to the fungicidal action of Amphotericin B and Micafungin in *Candida albicans*', *International Journal of Medical Microbiology*. Elsevier, 307(4–5), pp. 241–248. doi: 10.1016/j.ijmm.2017.03.005.

* Haber, J., Mallátová, N. and Drgoňa, E. (2009) 'Změna spektra kandid způsobující invazivní kandidózu – status quo v Evropě, České a Slovenské republice', *Onkologia (Bratisl.)*, 4(5), pp. 294–298.

He, X., Zhao, M., Chen, J., Wu, R., Zhang, J., Cui, R., Jiang, Y., Chen, J., Cao, X., Xing, Y., Zhang, Y., Meng, J., Deng, Q., Sui, T. (2015) 'Overexpression of Both *ERG11* and *ABC2* Genes Might Be Responsible for Itraconazole Resistance in Clinical Isolates of *Candida krusei*', *PLoS ONE*, 10(8), p. e0136185. doi: 10.1371/journal.pone.0136185.

Heilmann, C. J., Schneider, S., Barker, K. S., Rogers, P. D., Morschhauser, J. (2010) 'An A643T Mutation in the Transcription Factor Upc2p Causes Constitutive *ERG11* Upregulation and Increased Fluconazole Resistance in *Candida albicans*', *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 54(1), pp. 353–359. doi: 10.1128/AAC.01102-09.

* Higgins, C. F. and Linton, K. J. (2004) 'The ATP switch model for ABC transporters', *Nature Structural and Molecular Biology*, 11(10), pp. 918–926. doi: 10.1038/nsmb836.

Hrabovský, V., Takáčová, V., Schréterová, E., Pastvová, L., Hrabovská, Z., Čurová, K., Siegfried, L. (2017) 'Distribution and antifungal susceptibility of yeasts isolates from intensive care unit patients', *Folia Microbiologica*, 62(6), pp. 525–530. doi: 10.1007/s12223-017-0525-8.

Jardetzky, O. (1966) 'Simple allosteric model for membrane pumps.', *Nature*, 211(5052), pp. 969–70. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/5968307>.

Jensen, R. H., Justesen, U. S., Rewes, A., Perlin, D. S., Arendrup, M. C. (2014) 'Echinocandin Failure Case Due to a Previously Unreported *FKSI* Mutation in *Candida krusei*', *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 58(6), pp. 3550–3552. doi: 10.1128/AAC.02367-14.

Jiang, L., Xu, D., Chen, Z., Cao, Y., Gao, P., Jiang, Y. (2016) 'The putative ABC transporter encoded by the orf19.4531 plays a role in the sensitivity of *Candida albicans* cells to azole antifungal drugs', *FEMS Yeast Research*. Edited by R. Calderone, 16(3), p. fow024. doi: 10.1093/femsyr/fow024.

Takeya, H., Yamada, K., Kaneko, Y., Yanagihara, K., Tateda, K., Maesaki, S., Takesue, Y., Tomono, K., Kadota, J.-I., Kaku, M., Miyazaki, Y., Kamei, K., Shibuya, K., Niki, Y., Yoshida, M., Sei, Y. (2018) 'National Trends in the Distribution of Candida Species Causing Candidemia in Japan from 2003 to 2014', *Medical Mycology Journal*, 59(1), pp. E19–E22. doi: 10.3314/mmj.17-00014.

Karnani, N., Gaur, N. A., Jha, S., Puri, N., Krishnamurthy, S., Goswami, S. K., Mukhopadhyay, G., Prasad, R. (2004) 'SRE1 and SRE2 are two specific steroid-responsive modules of *Candida* drug resistance gene 1 (*CDR1*) promoter.', *Yeast (Chichester, England)*, 21(3), pp. 219–39. doi: 10.1002/yea.1067.

* Kartal-Yandim, M., Adan-Gokbulut, A. and Baran, Y. (2016) 'Molecular mechanisms of drug resistance and its reversal in cancer', *Critical Reviews in Biotechnology*, 36(4), pp. 716–726. doi: 10.3109/07388551.2015.1015957.

Kean, R., Delaney, C., Sherry, L., Borman, A., Johnson, E. M., Richardson, M. D., Rautemaa-Richardson, R., Williams, C., Ramage, G. (2018) 'Transcriptome Assembly and Profiling of *Candida auris* Reveals Novel Insights into Biofilm-Mediated Resistance', *mSphere*. Edited by A. P. Mitchell, 3(4). doi: 10.1128/mSphere.00334-18.

Keele, D. J., DeLallo, V. C., Lewis, R. E., Ernst, E. J., Klepser, M. E. (2001) 'Evaluation of amphotericin B and flucytosine in combination against *Candida albicans* and *Cryptococcus neoformans* using time-kill methodology', *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 41(3), pp. 121–126. doi: 10.1016/S0732-8893(01)00297-8.

Khunweeraphong, N., Stockner, T. and Kuchler, K. (2017) 'The structure of the human ABC transporter ABCG2 reveals a novel mechanism for drug extrusion', *Scientific Reports*. Springer US, 7(1), p. 13767. doi: 10.1038/s41598-017-11794-w.

Kocmanová, I., Lysková, P., Chrenkova, V., Olišarová, P., Dobiáš, R., Janouškovcová, H., Soukupová, H., Mallátová, N., Svobodová, L., Hamal, P., Skružná, M., Bartoníková, N. (2018) 'Nosocomial candidemia in the Czech Republic in 2012-2015: results of a microbiological multicentre study.', *Epidemiologie, mikrobiologie, imunologie: casopis Spolecnosti pro epidemiologii a mikrobiologii Ceske lecarske spolecnosti J.E. Purkyne*, 67(1), pp. 3–10. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30157661>.

Kohli, A., Gupta, V., Krishnamurthy, S., Hasnain, S. E., Prasad, R. (2001) 'Specificity of drug transport mediated by *CaMDR1*: a major facilitator of *Candida albicans*.', *Journal of biosciences*, 26(3), pp. 333–9. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11568478>.

* Kołaczowska, A. and Kołaczowski, M. (2016) 'Drug resistance mechanisms and their regulation in non-albicans *Candida* species', *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 71(6), pp. 1438–1450. doi: 10.1093/jac/dkv445.

* Kontoyiannis, D. P. and Lewis, R. E. (2002) 'Antifungal drug resistance of pathogenic fungi', *The Lancet*, 359(9312), pp. 1135–1144. doi: 10.1016/S0140-6736(02)08162-X.

Kooij, T. W. A., Rijpma, S. R., van der Velden, M., Matuschewski, K., Matz, J. M., van Gemert, G.-J., Russel, F. G. M., Klop, O., Annoura, T., Janse, C. J., Kenthirapalan, S., Siebelink-Stoter, R., Graumans, W., Franke-Fayard, B. M., Koenderink, J. B., Sauerwein, R. W., Ramesar, J., van de Vegte-Bolmer, M. (2016) 'Vital and dispensable roles of *Plasmodium* multidrug resistance transporters during blood- and mosquito-stage development', *Molecular Microbiology*, pp. 78–91. doi: 10.1111/mmi.13373.

Kumari, S., Kumar, M., Khandelwal, N. K., Kumari, P., Varma, M., Vishwakarma, P., Shahi, G., Sharma, S., Lynn, A. M., Prasad, R., Gaur, N. A. (2018) 'ABC transportome inventory of human pathogenic yeast *Candida glabrata*: Phylogenetic and expression analysis', *PLoS ONE*, 13(8), pp. 1–21. doi: 10.1371/journal.pone.0202993.

LaFayette, S. L., Collins, C., Zaas, A. K., Schell, W. A., Betancourt-Quiroz, M., Gunatilaka, A. A. L., Perfect, J. R., Cowen, L. E. (2010) 'PKC Signaling Regulates Drug Resistance of the Fungal Pathogen *Candida albicans* via Circuitry Comprised of Mkc1, Calcineurin, and Hsp90', *PLoS Pathogens*. Edited by A. P. Mitchell, 6(8), p. e1001069. doi: 10.1371/journal.ppat.1001069.

Lamping, E., Monk, B. C., Niimi, K., Holmes, A. R., Tsao, S., Tanabe, K., Niimi, M., Uehara, Y., Cannon, R. D. (2007) 'Characterization of Three Classes of Membrane Proteins Involved in Fungal Azole Resistance by Functional Hyperexpression in *Saccharomyces cerevisiae*', *Eukaryotic Cell*, 6(7), pp. 1150–1165. doi: 10.1128/EC.00091-07.

* Lamping, E., Baret, P. V., Holmes, A. R., Monk, B. C., Goffeau, A., Cannon, R. D. (2010) 'Fungal PDR transporters: Phylogeny, topology, motifs and function', *Fungal Genetics and Biology*. Elsevier Inc., 47(2), pp. 127–142. doi: 10.1016/j.fgb.2009.10.007.

* Law, C. J., Maloney, P. C. and Wang, D.-N. (2008) 'Ins and outs of major facilitator superfamily antiporters.', *Annual review of microbiology*, 62, pp. 289–305. doi: 10.1146/annurev.micro.61.080706.093329.

Law, L. W. (1952) 'Origin of the Resistance of Leukæmic Cells to Folic Acid Antagonists.', *Nature*, 169, pp. 628–629.

Li, R., Kumar, R., Tati, S., Puri, S., Edgerton, M. (2013) '*Candida albicans* flu1-mediated efflux of salivary histatin 5 reduces its cytosolic concentration and fungicidal activity.', *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 57(4), pp. 1832–9. doi: 10.1128/AAC.02295-12.

Linder, N. (2003) 'Treatment of candidaemia in premature infants: comparison of three amphotericin B preparations', *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 52(4), pp. 663–667. doi: 10.1093/jac/dkg419.

Liu, T. T., Znaidi, S., Barker, K. S., Xu, L., Homayouni, R., Saidane, S., Morschhäuser, J., Nantel, A., Raymond, M., Rogers, P. D. (2007) 'Genome-Wide Expression and Location Analyses of the *Candida albicans* Tac1p Regulon', *Eukaryotic Cell*, 6(11), pp. 2122–2138. doi: 10.1128/EC.00327-07.

Liu, Z., Rossi, J. M. and Myers, L. C. (2018) '*Candida albicans* Zn Cluster Transcription Factors Tac1 and Znc1 Are Activated by Farnesol To Upregulate a Transcriptional Program Including the Multidrug Efflux Pump *CDRI*', *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 62(11). doi: 10.1128/AAC.00968-18.

Lo, H.-J., Tseng, K.-Y., Kao, Y.-Y., Tsao, M.-Y., Lo, H.-L., Yang, Y.-L. (2015) 'Cph1p negatively regulates *MDR1* involved in drug resistance in *Candida albicans*', *International Journal of Antimicrobial Agents*, 45(6), pp. 617–621. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2015.01.017.

Lockhart, S. R., Etienne, K. A., Vallabhaneni, S., Farooqi, J., Chowdhary, A., Govender, N. P., Colombo, A. L., Calvo, B., Cuomo, C. A., Desjardins, C. A., Berkow, E. L., Castanheira, M., Magobo, R. E., Jabeen, K., Asghar, R. J., Meis, J. F., Jackson, B., Chiller, T., Litvintseva, A. P. (2017) 'Simultaneous Emergence of Multidrug-Resistant *Candida auris* on 3 Continents Confirmed by Whole-Genome Sequencing and Epidemiological Analyses.', *Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, 64(2), pp. 134–140. doi: 10.1093/cid/ciw691.

Lohberger, A., Coste, A. T. and Sanglard, D. (2014) 'Distinct Roles of *Candida albicans* Drug Resistance Transcription Factors *TAC1*, *MRR1* and *UPC2* in Virulence', *Eukaryotic Cell*, 13(1), pp. 127–142. doi: 10.1128/EC.00245-13.

Maesaki, S., Marichal, P., Bossche, H. V., Sanglard, D., Kohno, S. (1999) 'Rhodamine 6G efflux for the detection of *CDR1*-overexpressing azole-resistant *Candida albicans* strains', *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 44(1), pp. 27–31. doi: 10.1093/jac/44.1.27.

Magiorakos A. P., Srinivasan A., Carey R. B., Carmeli Y., Falagas M. E., Giske C. G., Harbarth S., Hindler J. F., Kahlmeter G., Olsson-Liljequist B., Paterson D. L., Rice L. B., Stelling J., Struelens M., Vatopoulos A., Weber J. T., Monnet D. L. (2011) 'Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance', *Clinical Microbiology and Infection*, 18(3), pp. 268–281.

Mandal, A., Kumar, A., Singh, A., Lynn, A. M., Kapoor, K., Prasad, R. (2012) 'A key structural domain of the *Candida albicans* Mdr1 protein', *Biochemical Journal*, 445(3), pp. 313–322. doi: 10.1042/BJ20120190.

Manoharlal, R., Gorantala, J., Sharma, M., Sanglard, D., Prasad, R. (2010) 'PAP1 [poly(A) polymerase 1] homozygosity and hyperadenylation are major determinants of increased mRNA stability of *CDR1* in azole-resistant clinical isolates of *Candida albicans*', *Microbiology*, 156(2), pp. 313–326. doi: 10.1099/mic.0.035154-0.

Martí-Carrizosa, M., Sánchez-Reus, F., March, F., Coll, P. (2014) 'Fungemia in a Spanish hospital: the role of *Candida parapsilosis* over a 15-year period', *Scandinavian Journal of Infectious Diseases*, 46(6), pp. 454–461. doi: 10.3109/00365548.2014.900190.

Martí-Carrizosa, M., Sánchez-Reus, F., March, F., Cantón, E., Coll, P. (2015) 'Implication of *Candida parapsilosis* *FKS1* and *FKS2* Mutations in Reduced Echinocandin Susceptibility', *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 59(6), pp. 3570–3573. doi: 10.1128/AAC.04922-14.

Mishra, J., Dey, A., Singh, N., Somvanshi, R., Singh, S. (2013) 'Evaluation of toxicity & therapeutic efficacy of a new liposomal formulation of amphotericin B in a mouse model', *Indian Journal of Medical Research*, 137(4), pp. 767–776.

Mishra, N., Prasad, T., Sharma, N., Prasad, R., Gupta, D. (2007) 'Membrane fluidity and lipid composition in clinical isolates of *Candida albicans* isolated from AIDS/HIV patients', *Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica*, 54(4), pp. 367–377. doi: 10.1556/AMicr.54.2007.4.4.

Mishra, S., Verhalen, B., Stein, R. A., Wen, P.-C., Tajkhorshid, E., Mchaourab, H. S. (2014) 'Conformational dynamics of the nucleotide binding domains and the power stroke of a heterodimeric ABC transporter', *eLife*, 3. doi: 10.7554/eLife.02740.

Mogavero, S., Tavanti, A., Senesi, S., Rogers, P. D., Morschhäuser, J. (2011) 'Differential requirement of the transcription factor Mcm1 for activation of the *Candida albicans* multidrug efflux pump *MDR1* by its regulators Mrr1 and Cap1.', *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 55(5), pp. 2061–6. doi: 10.1128/AAC.01467-10.

Morschhäuser, J., Barker, K. S., Liu, T. T., Blaß-Warmuth, J., Homayouni, R., Rogers, P. D. (2007) 'The transcription factor Mrr1p controls expression of the *MDR1* efflux pump and mediates multidrug resistance in *Candida albicans*.' , *PLoS pathogens*, 3(11), p. e164. doi: 10.1371/journal.ppat.0030164.

Muñoz, J. F., Gade, L., Chow, N. A., Loparev, V. N., Juieng, P., Berkow, E. L., Farrer, R. A., Litvintseva, A. P., Cuomo, C. A. (2018) 'Genomic insights into multidrug-resistance, mating and virulence in *Candida auris* and related emerging species', *Nature Communications*. Springer US, 9(1), p. 5346. doi: 10.1038/s41467-018-07779-6.

Navarro-Rodríguez, P., Martín-Vicente, A., López-Fernández, L., Guarro, J., Capilla, J. (2019) 'Expression of ERG11 and efflux pump genes *CDR1*, *CDR2* and *SNQ2* in voriconazole susceptible and resistant *Candida glabrata* strains', *Medical Mycology*, pp. 1–9. doi: 10.1093/mmy/myz014.

Neji, S., Hadrich, I., Trabelsi, H., Abbes, S., Cheikhrouhou, F., Sellami, H., Makni, F., Ayadi, A. (2017) 'Virulence factors, antifungal susceptibility and molecular mechanisms of azole resistance among *Candida parapsilosis* complex isolates recovered from clinical specimens', *Journal of Biomedical Science*, 24(1), p. 67. doi: 10.1186/s12929-017-0376-2.

Neumann, A., Baginski, M. and Czub, J. (2010) 'How Do Sterols Determine the Antifungal Activity of Amphotericin B? Free Energy of Binding between the Drug and Its Membrane Targets', *Journal of the American Chemical Society*, 132(51), pp. 18266–18272. doi: 10.1021/ja1074344.

Nishimoto, A. T., Zhang, Q., Hazlett, B., Morschhäuser, J., Rogers, P. D. (2019) 'The contribution of clinically-derived mutations in the gene encoding the zinc cluster transcription factor Mrr2 to fluconazole antifungal resistance and *CDR1* expression in *Candida albicans*', *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. doi: 10.1128/AAC.00078-19.

Pais, P., Costa, C., Pires, C., Shimizu, K., Chibana, H., Teixeira, M. C. (2016) 'Membrane Proteome-Wide Response to the Antifungal Drug Clotrimazole in *Candida glabrata*: Role of the Transcription Factor CgPdr1 and the Drug:H⁺ Antiporters CgTpo1_1 and CgTpo1_2', *Molecular & Cellular Proteomics*, 15(1), pp. 57–72. doi: 10.1074/mcp.M114.045344.

Pais, P., Pires, C., Costa, C., Okamoto, M., Chibana, H., Teixeira, M. C. (2016) 'Membrane Proteomics Analysis of the *Candida glabrata* Response to 5-Flucytosine: Unveiling the Role and Regulation of the Drug Efflux Transporters CgFlr1 and CgFlr2', *Frontiers in Microbiology*, 7, p. 2045. doi: 10.3389/fmicb.2016.02045.

Pappas, P. G., Clancy, C. J., Reboli, A. C., Vazquez, J. A., Marr, K. A., Schuster, M. G., Kauffman, C. A., Ostrosky-Zeichner, L., Andes, D. R., Sobel, J. D., Walsh, T. J., Zaoutis, T. E. (2016) 'Clinical Practice Guideline for the Management of Candidiasis: 2016 Update by the Infectious Diseases Society of America', *Clinical Infectious Diseases*, 62. doi: 10.1093/cid/civ933.

Park, J. Y., Bradley, N., Brooks, S., Burney, S., Wassner, C. (2019) 'Management of Patients with *Candida auris* Fungemia at Community Hospital, Brooklyn, New York, USA, 2016–2018', *Emerging Infectious Diseases*. Edited by L. C. Berkow and J. C. Sakles. Cambridge: Cambridge University Press, 25(3), pp. 601–602. doi: 10.3201/eid2503.180927.

* Pasko, M. T., Piscitelli, S. C. and Van Slooten, A. D. (1990) 'Fluconazole: a new triazole antifungal agent.', *DICP: the annals of pharmacotherapy*, 24(9), pp. 860–7. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2260347>.

Pasrija, R., Banerjee, D. and Prasad, R. (2007) 'Structure and Function Analysis of CaMdr1p, a Major Facilitator Superfamily Antifungal Efflux Transporter Protein of *Candida albicans*: Identification of Amino Acid Residues Critical for Drug/H⁺ Transport', *Eukaryotic Cell*, 6(3), pp. 443–453. doi: 10.1128/ec.00315-06.

Pasrija, R., Panwar, S. L. and Prasad, R. (2008) 'Multidrug transporters CaCdr1p and CaMdr1p of *Candida albicans* display different lipid specificities: both ergosterol and sphingolipids are essential for targeting of CaCdr1p to membrane rafts.', *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 52(2), pp. 694–704. doi: 10.1128/AAC.00861-07.

* Patil, A. and Majumdar, S. (2017) 'Echinocandins in antifungal pharmacotherapy', *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 69(12), pp. 1635–1660. doi: 10.1111/jphp.12780.

Petersen, J., Förster, K., Turina, P., Gräber, P. (2012) 'Comparison of the H⁺/ATP ratios of the H⁺-ATP synthases from yeast and from chloroplast.', *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 109(28), pp. 11150–5. doi: 10.1073/pnas.1202799109.

Pfaller, M. A., Messer, S. A., Boyken, L., Huynh, H., Hollis, R. J., Diekema, D. J. (2002) 'In Vitro Activities of 5-Fluorocytosine against 8,803 Clinical Isolates of *Candida* spp.: Global Assessment of Primary Resistance Using National Committee for Clinical Laboratory Standards Susceptibility Testing Methods', *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 46(11), pp. 3518–3521. doi: 10.1128/AAC.46.11.3518-3521.2002.

Pourakbari, B., Teymuri, M., Mahmoudi, S., Valian, S. K., Movahedi, Z., Eshaghi, H., Mamishi, S. (2017) 'Expression of Major Efflux Pumps in Fluconazole-Resistant *Candida albicans*.', *Infectious disorders drug targets*, 17(3), pp. 178–184. doi: 10.2174/1871526517666170531114335.

* Prasad, R., Banerjee, A., Khandelwal, N. K., Dhamgayee, S. (2015) 'The ABCs of *Candida albicans* Multidrug Transporter Cdr1', *Eukaryotic Cell*, 14(12), pp. 1154–1164. doi: 10.1128/EC.00137-15.

* Prasad, R., Khandelwal, N. K. and Banerjee, A. (2016) 'Yeast ABC transporters in lipid trafficking', *Fungal Genetics and Biology*. Elsevier Inc., 93, pp. 25–34. doi: 10.1016/j.fgb.2016.05.008.

Prigent, G., Aït-Ammar, N., Levesque, E., Fekkar, A., Costa, J.-M., El Anbassi, S., Foulet, F., Duvoux, C., Merle, J.-C., Dannaoui, E., Botterel, F. (2016) 'Echinocandin resistance in *Candida* spp. isolated from liver transplant recipients', *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 61(2), p. AAC.01229-16. doi: 10.1128/AAC.01229-16.

Puri, N., Krishnamurthy, S., Habib, S., Hasnain, S. E., Goswami, S. K., Prasad, R. (1999) 'CDR1, a multidrug resistance gene from *Candida albicans*, contains multiple regulatory domains in its promoter and the distal AP-1 element mediates its induction by miconazole', *FEMS Microbiology Letters*, 180(2), pp. 213–219. doi: 10.1111/j.1574-6968.1999.tb08798.x.

Quilès, F., Accoceberry, I., Couzigou, C., Francius, G., Noël, T., El-Kirat-Chatel, S. (2017) 'AFM combined to ATR-FTIR reveals *Candida* cell wall changes under caspofungin treatment', *Nanoscale*, 9(36), pp. 13731–13738. doi: 10.1039/C7NR02170D.

* Quistgaard, E. M., Löw, C., Guettou, F., Nordlund, P. (2016) ‘Understanding transport by the major facilitator superfamily (MFS): structures pave the way’, *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. Nature Publishing Group, 17(2), pp. 123–132. doi: 10.1038/nrm.2015.25.

Ramírez-Zavala, B., Mogavero, S., Schöller, E., Sasse, C., Rogers, P. D., Morschhäuser, J. (2014) ‘SAGA/ADA Complex Subunit Ada2 Is Required for Cap1- but Not Mrr1-Mediated Upregulation of the *Candida albicans* Multidrug Efflux Pump *MDR1*’, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 58(9), pp. 5102–5110. doi: 10.1128/AAC.03065-14.

Redhu, A. K., Banerjee, A., Shah, A. H., Moreno, A., Rawal, M. K., Nair, R., Falson, P., Prasad, R. (2018) ‘Molecular Basis of Substrate Polyspecificity of the *Candida albicans* Mdr1p Multidrug/H⁺ Antiporter’, *Journal of Molecular Biology*. Elsevier Ltd, 430(5), pp. 682–694. doi: 10.1016/j.jmb.2018.01.005.

* Revie, N. M., Iyer, K. R., Robbins, N., Cowen, L. E. (2018) ‘Antifungal drug resistance: evolution, mechanisms and impact’, *Current Opinion in Microbiology*. Elsevier Ltd, pp. 70–76. doi: 10.1016/j.mib.2018.02.005.

Riggle, P. J. and Kumamoto, C. A. (2006) ‘Transcriptional Regulation of *MDR1*, Encoding a Drug Efflux Determinant, in Fluconazole-Resistant *Candida albicans* Strains through an Mcm1p Binding Site’, *Eukaryotic Cell*, 5(12), pp. 1957–1968. doi: 10.1128/EC.00243-06.

van Roermund, C. W. T., Visser, W. F., IJlst, L., van Cruchten, A., Boek, M., Kulik, W., Waterham, H. R., Wanders, R. J. A. (2008) ‘The human peroxisomal ABC half transporter ALDP functions as a homodimer and accepts acyl-CoA esters’, *The FASEB Journal*, 22(12), pp. 4201–4208. doi: 10.1096/fj.08-110866.

* Roth, A. and Govaerts, C. (2018) ‘LmrP from *Lactococcus lactis*: a tractable model to understand secondary multidrug transport in MFS’, *Research in Microbiology*, 169(7–8), pp. 468–477. doi: 10.1016/j.resmic.2018.07.006.

Rottmann, M., Dieter, S., Brunner, H., Rupp, S. (2003) ‘A screen in *Saccharomyces cerevisiae* identified *CaMCM1*, an essential gene in *Candida albicans* crucial for morphogenesis’, *Molecular Microbiology*, 47(4), pp. 943–959. doi: 10.1046/j.1365-2958.2003.03358.x.

* Sá-Correia, I., dos Santos, S. C., Teixeira, M. C., Cabrito, T. R., Mira, N. P. (2008) ‘Drug:H⁺ antiporters in chemical stress response in yeast’, *Trends in Microbiology*, 17(1), pp. 22–31. doi: 10.1016/j.tim.2008.09.007.

Sanglard, D., Kuchler, K., Ischer, F., Pagani, J. L., Monod, M., Bille, J. (1995) ‘Mechanisms of resistance to azole antifungal agents in *Candida albicans* isolates from AIDS patients involve specific multidrug transporters’, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 39(11), pp. 2378–2386. doi: 10.1128/AAC.39.11.2378.

Sanglard, D., Ischer, F., Monod, M., Bille, J. (1996) ‘Susceptibilities of *Candida albicans* multidrug transporter mutants to various antifungal agents and other metabolic inhibitors’, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 40(10), pp. 2300–2305.

Sanglard, D., Ischer, F., Monod, M., Bille, J. (1997) ‘Cloning of *Candida albicans* genes conferring resistance to azole antifungal agents: characterization of *CDR2*, a new multidrug ABC transporter gene.’, *Microbiology (Reading, England)*, 143 (Pt 2, pp. 405–16. doi: 10.1099/00221287-143-2-405.

* Sanglard, D., Coste, A. and Ferrari, S. (2009) 'Antifungal drug resistance mechanisms in fungal pathogens from the perspective of transcriptional gene regulation', *FEMS Yeast Research*, 9(7), pp. 1029–1050. doi: 10.1111/j.1567-1364.2009.00578.x.

Schmidt, M., Barker, S., Essmann, M., Larsen, B. (2008) 'Effect of commonly used herbicides on the virulence factor *CDR1* in *Candida albicans*', *Environmental Toxicology and Chemistry*, 27(11), p. 2346. doi: 10.1897/08-060.1.

Schneider, S. and Morschhäuser, J. (2015) 'Induction of *Candida albicans* drug resistance genes by hybrid zinc cluster transcription factors.', *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 59(1), pp. 558–69. doi: 10.1128/AAC.04448-14.

Schubert, S., Barker, K. S., Znaidi, S., Schneider, S., Dierolf, F., Dunkel, N., Aid, M., Boucher, G., Rogers, P. D., Raymond, M., Morschhäuser, J. (2011) 'Regulation of Efflux Pump Expression and Drug Resistance by the Transcription Factors Mrr1, Upc2, and Cap1 in *Candida albicans*', *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 55(5), pp. 2212–2223. doi: 10.1128/aac.01343-10.

* Seeger, M. A. and van Veen, H. W. (2009) 'Molecular basis of multidrug transport by ABC transporters', *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Proteins and Proteomics*. Elsevier B.V., 1794(5), pp. 725–737. doi: 10.1016/j.bbapap.2008.12.004.

Shah, A. H., Banerjee, A., Rawal, M. K., Saxena, A. K., Mondal, A. K., Prasad, R. (2015) 'ABC transporter Cdr1p harbors charged residues in the intracellular loop and nucleotide-binding domain critical for protein trafficking and drug resistance', *FEMS Yeast Research*, 15(5), pp. 1–10. doi: 10.1093/femsyr/fov036.

Shen, X.-X., Zhou, X., Kominek, J., Kurtzman, C. P., Hittinger, C. T., Rokas, A. (2016) 'Reconstructing the Backbone of the Saccharomycotina Yeast Phylogeny Using Genome-Scale Data', *G3: Genes|Genomes|Genetics*, 6(12), pp. 3927–3939. doi: 10.1534/g3.116.034744.

Sheu, T. G., Fry, A. M., Garten, R. J., Deyde, V. M., Shwe, T., Bullion, L., Peebles, P. J., Li, Y., Klimov, A. I., Gubareva, L. V. (2011) 'Dual resistance to adamantanes and oseltamivir among seasonal influenza A(H1N1) viruses: 2008-2010', *Journal of Infectious Diseases*, 203(1), pp. 13–17. doi: 10.1093/infdis/jiq005.

Shields, R. K., Kline, E. G., Healey, K. R., Kordalewska, M., Perlin, D. S., Nguyen, M. H., Clancy, C. J. (2018) 'Spontaneous Mutational Frequency and *FKS* Mutation Rates Vary by Echinocandin Agent against *Candida glabrata*', *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 63(1). doi: 10.1128/AAC.01692-18.

Shukla, S., Saini, P., Smriti, Jha, S., Ambudkar, S. V., Prasad, R. (2003) 'Functional Characterization of *Candida albicans* ABC Transporter Cdr1p', *Eukaryotic Cell*, 2(6), pp. 1361–1375. doi: 10.1128/EC.2.6.1361-1375.2003.

Shukla, S., Yadav, V., Mukhopadhyay, G., Prasad, R. (2011) 'Ncb2 is involved in activated transcription of *CDR1* in azole-resistant clinical isolates of *Candida albicans*.', *Eukaryotic cell*, 10(10), pp. 1357–66. doi: 10.1128/EC.05041-11.

Silva, A. P., Miranda, I. M., Guida, A., Synnott, J., Rocha, R., Silva, R., Amorim, A., Pina-Vaz, C., Butler, G., Rodrigues, A. G. (2011) 'Transcriptional profiling of azole-resistant *Candida parapsilosis* strains.', *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 55(7), pp. 3546–56. doi: 10.1128/AAC.01127-10.

Singh, S. D., Robbins, N., Zaas, A. K., Schell, W. A., Perfect, J. R., Cowen, L. E. (2009) 'Hsp90 Governs Echinocandin Resistance in the Pathogenic Yeast *Candida albicans* via Calcineurin', *PLoS Pathogens*. Edited by A. P. Mitchell, 5(7), p. e1000532. doi: 10.1371/journal.ppat.1000532.

Smego, R. A., Perfect, J. R. and Durack, D. T. (1984) 'Combined therapy with amphotericin B and 5-fluorocytosine for *Candida meningitis*.' *Reviews of infectious diseases*, 6(6), pp. 791–801. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6522917>.

Smriti, Krishnamurthy, S., Dixit, B.L., Gupta, C.M., Milewski, S., Prasad, R. (2002) 'ABC transporters Cdr1p, Cdr2p and Cdr3p of a human pathogen *Candida albicans* are general phospholipid translocators', *Yeast*, 19(4), pp. 303–318. doi: 10.1002/yea.818.

Souza, A. C. R., Fuchs, B. B., Pinhati, H. M. S., Siqueira, R. A., Hagen, F., Meis, J. F., Mylonakis, E., Colombo, A. L. (2015) '*Candida parapsilosis* Resistance to Fluconazole: Molecular Mechanisms and In Vivo Impact in Infected *Galleria mellonella* Larvae.', *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 59(10), pp. 6581–7. doi: 10.1128/AAC.01177-15.

Steier, Z., Vermitsky, J.-P., Toner, G., Gygax, S. E., Edlind, T., Katiyar, S. (2013) 'Flucytosine Antagonism of Azole Activity versus *Candida glabrata*: Role of Transcription Factor Pdr1 and Multidrug Transporter Cdr1', *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 57(11), pp. 5543–5547. doi: 10.1128/AAC.02394-12.

Tanabe, K., Bonus, M., Tomiyama, S., Miyoshi, K., Nagi, M., Niimi, K., Chindamporn, A., Gohlke, H., Schmitt, L., Cannon, R. D., Niimi, M., Lamping, E. (2018) 'FK506 Resistance of *Saccharomyces cerevisiae* Pdr5 and *Candida albicans* Cdr1 Involves Mutations in the Transmembrane Domains and Extracellular Loops', *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 63(1). doi: 10.1128/AAC.01146-18.

Traversa, D., Vanimisetti, B., Kostopoulou, D., Sotiraki, S., Giangaspero, A., Geurden, T., Zanardello, C., Tzanidakis, N., Hoste, H., Gaillac, C., Frangipane di Regalbano, A., Jacquiet, P., Privat, S., Bartram, D., Noé, L. (2014) 'Anthelmintic resistance and multidrug resistance in sheep gastro-intestinal nematodes in France, Greece and Italy', *Veterinary Parasitology*. Elsevier B.V., 201(1–2), pp. 59–66. doi: 10.1016/j.vetpar.2014.01.016.

Tsao, S., Weber, S., Cameron, C., Nehme, D., Ahmadzadeh, E., Raymond, M. (2016) 'Positive regulation of the *Candida albicans* multidrug efflux pump Cdr1p function by phosphorylation of its N-terminal extension', *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 71(11), pp. 3125–3134. doi: 10.1093/jac/dkw252.

Tsao, S., Rakhkhoodae, F. and Raymond, M. (2009) 'Relative Contributions of the *Candida albicans* ABC Transporters Cdr1p and Cdr2p to Clinical Azole Resistance', *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 53(4), pp. 1344–1352. doi: 10.1128/AAC.00926-08.

Tscherner, M., Zwolanek, F., Jenull, S., Sedlazeck, F. J., Petryshyn, A., Frohner, I. E., Mavrianos, J., Chauhan, N., von Haeseler, A., Kuchler, K. (2015) 'The *Candida albicans* Histone Acetyltransferase Hat1 Regulates Stress Resistance and Virulence via Distinct Chromatin Assembly Pathways', *PLoS Pathogens*. Edited by D. J. Krysan, 11(10), p. e1005218. doi: 10.1371/journal.ppat.1005218.

Vatanshenassan, M., Boekhout, T., Meis, J. F., Berman, J., Chowdhary, A., Ben-Ami, R., Sparbier, K., Kostrzewa, M. (2019) '*Candida auris* Identification and Rapid Antifungal Susceptibility Testing Against Echinocandins by MALDI-TOF MS', *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 9, p. 20. doi: 10.3389/fcimb.2019.00020.

Venisse, N., Grégoire, N., Marliat, M., Couet, W. (2008) ‘Mechanism-Based Pharmacokinetic-Pharmacodynamic Models of In Vitro Fungistatic and Fungicidal Effects against *Candida albicans*’, 52(3), pp. 937–943. doi: 10.1128/AAC.01030-07.

Vincent, B. M., Lancaster, A. K., Scherz-Shouval, R., Whitesell, L., Lindquist, S. (2013) ‘Fitness Trade-offs Restrict the Evolution of Resistance to Amphotericin B’, *PLoS Biology*. Edited by A. P. Mitchell, 11(10), p. e1001692. doi: 10.1371/journal.pbio.1001692.

Vitali, A., Vavala, E., Marzano, V., Leone, C., Castagnola, M., Iavarone, F., Angioletta, L. (2017) ‘Cell wall composition and biofilm formation of azoles-susceptible and -resistant *Candida glabrata* strains’, *Journal of Chemotherapy*. Taylor & Francis, 29(3), pp. 164–172. doi: 10.1080/1120009X.2016.1199507.

Vu, B. G. and Moye-Rowley, W. S. (2018) ‘Construction and Use of a Recyclable Marker To Examine the Role of Major Facilitator Superfamily Protein Members in *Candida glabrata* Drug Resistance Phenotypes’, *mSphere*. Edited by A. P. Mitchell, 3(2). doi: 10.1128/mSphere.00099-18.

Wang, H. X., Douglas, L. M., Aimaniananda, V., Latgé, J.-P., Konopka, J. B. (2011) ‘The *Candida albicans* Sur7 Protein Is Needed for Proper Synthesis of the Fibrillar Component of the Cell Wall That Confers Strength’, *Eukaryotic Cell*, 10(1), pp. 72–80. doi: 10.1128/EC.00167-10.

Whaley, S. G., Tsao, S., Weber, S., Zhang, Q., Barker, K. S., Raymond, M., Rogers, P. D. (2016) ‘The *RTA3* Gene, Encoding a Putative Lipid Translocase, Influences the Susceptibility of *Candida albicans* to Fluconazole’, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 60(10), pp. 6060–6066. doi: 10.1128/AAC.00732-16.

* Whaley, S. G., Berkow, E. L., Rybak, J. M., Nishimoto, A. T., Barker, K. S., Rogers, P. D. (2017) ‘Azole antifungal resistance in *Candida albicans* and emerging non-*albicans* *Candida* Species’, *Frontiers in Microbiology*, 7(2173), pp. 1–12. doi: 10.3389/fmicb.2016.02173.

Whaley, S. G., Zhang, Q., Caudle, K. E., Rogers, P. D. (2018) ‘Relative Contribution of the ABC Transporters Cdr1, Pdh1, and Snq2 to Azole Resistance in *Candida glabrata*’, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 62(10). doi: 10.1128/AAC.01070-18.

Xiang, M.-J., Liu, J.-Y., Ni, P.-H., Wang, S., Shi, C., Wei, B., Ni, Y.-X., Ge, H.-L. (2013) ‘Erg11 mutations associated with azole resistance in clinical isolates of *Candida albicans*’, *FEMS Yeast Research*, 13(4), pp. 386–393. doi: 10.1111/1567-1364.12042.

Xie, J. L., Qin, L., Miao, Z., Grysb, B. T., De La Cruz Diaz, J., Ting, K., Krieger, J. R., Tong, J., Tan, K., Leach, M. D., Ketela, T., Moran, M. F., Krysan, D. J., Boone, C., Andrews, B. J., Selmecki, A., Ho Wong, K., Robbins, N., Cowen, L. E. (2017) ‘The *Candida albicans* transcription factor Cas5 couples stress responses, drug resistance and cell cycle regulation’, *Nature Communications*. Springer US, 8(1), p. 499. doi: 10.1038/s41467-017-00547-y.

* Yadav, V., Soni, M. and John, P. J. (2014) ‘Transcriptional Regulation of *CDR1*, a major efflux pump involved in multidrug resistance in *Candida albicans*’, *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 3(6), pp. 399–407. Available at: [https://www.ijcmas.com/vol-3-6/Vipin Yadav, et al.pdf](https://www.ijcmas.com/vol-3-6/Vipin%20Yadav,%20et%20al.pdf).

* Zhang, X. C., Zhao, Y., Heng, J., Jiang, D. (2015) ‘Energy coupling mechanisms of MFS transporters’, *Protein Science*, 24(10), pp. 1560–1579. doi: 10.1002/pro.2759.

Znaidi, S., Weber, S., Zin Al-Abdin, O., Bomme, P., Saidane, S., Drouin, S., Lemieux, S., De Deken, X., Robert, F., Raymond, M. (2008) 'Genomewide Location Analysis of *Candida albicans* Upc2p, a Regulator of Sterol Metabolism and Azole Drug Resistance', *Eukaryotic Cell*, 7(5), pp. 836–847. doi: 10.1128/EC.00070-08.

* – Rewiev

7.1 Webové stránky

CDC (2019) *Candida auris: Antifungal Susceptibility Testing and Interpretation*. Available at: <https://www.cdc.gov/fungal/candida-auris/c-auris-antifungal.html> (Accessed: 22 March 2019).

Chemists, T. (2012) *Amphotericin B Formula*, *Wikimedia commons*. Available at: <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=21968854> (Accessed: 22 March 2019).

EUCAST (2018) *Antifungal Agents Breakpoint tables for interpretation of MICs*. Available at: http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/AFST/Clinical_breakpoints/Antifungal_breakpoints_v_9.0_180212.pdf (Accessed: 22 March 2019).

Fvasconcellos (2006) *5-Fluorocytosine.svg*, *Wikimedia commons*. Available at: <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=991419> (Accessed: 22 March 2019).

Státní zdravotní ústav (2019) *Nové definice C, I a R při testování citlivosti na antibiotika*. Available at: <http://www.szu.cz/nove-definice-c-i-a-r> (Accessed: 17 March 2019).

Vaccinationist (2012) *Caspofungin*. Available at: <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=23394277> (Accessed: 22 March 2019).

Vaccinationist (2015) *Fluconazole skeletal formula*. Available at: <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=43183097> (Accessed: 22 March 2019).

World Health Organization (2019) *Antimicrobial Resistance*. Available at: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance> (Accessed: 17 March 2019).