

MANTARLARDA ÇAPRAZLAŞMA TİPLERİ, EŞEYLİ ÇOĞALMA VE PLOİDİNİN VİRÜLANS ÜZERİNE ETKİLERİ

MATING TYPES, SEXUAL REPRODUCTION AND PLOIDY IN FUNGI: EFFECTS ON VIRULENCE

Nilgün ÇERİKÇİOĞLU¹

¹ Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul. (nilguncerik@yahoo.com)

ÖZET

Eşeyli çoğalma; yararlı mutasyonların yayılımına, zararlı mutasyonların seyrelmesine izin vererek organizmaların doğal seleksiyonunu ve çevre koşullarına uyumunu sağlar. Son yıllarda, eşeyli çoğalmanın mantarların patojenitesi üzerindeki rolünü gösteren yeni bulgular elde edilmiştir. Ancak, fungal patojenler rekombinantların yerine çevrede ve yer aldıkları konakta, antimikrobiyal tedavi gibi yeni gelişen koşullara uyum sağlayabilecek klonal popülasyonları oluşturmak üzere eşeyli evrelerini sınırlar. *Cryptococcus neoformans* laboratuvar koşullarında tanımlanmış olan eşeyli çoğalma evresine ve "a ve α " çaprazlaşma tiplerinde hücrelere sahip, haploid bir mikroorganizmadır. Besin kıtlığının indüklediği feromonlar, hücre-hücre füzyonuna, dikaryon filamentöz formların ve bazidiumda karyogami ve mayoz bölünmeyi takiben enfektivitesi yüksek bazidiospor zincirlerin oluşumuna yol açar. a ve α alleller, MAT (Mating Type) gen bölgesinde yer alır. Çevrede ve klinik izolatlarda α çaprazlaşma tipi baskındır ve a- α koenfeksiyon modelinde α hücreler kongenik a hücrelerden daha patojen davranış sergiler. En patojen varyete olan *grubii*'de (serotip A) zıt çaprazlaşma tiplerindeki hücreler arasında virülans farklılığı olmamakla birlikte, koenfeksiyon sürecinde α hücreler kan-beyin engelini daha kolay geçer. Ek olarak α -hücreler, santral sinir sisteminde yayımlarını artıran melanin ve üreazı da fazla miktarlarda üretir. *C. neoformans*'da aynı eşeyler arası çaprazlaşma olarak adlandırılan yeni bir eşeyli evre daha saptanmıştır. α - α hücreler bir a tipi eş olmaksızın kendi aralarında eşleşir. Böylece çeşitlenmelerin yanı sıra bulaşıcı bazidiosporları oluşturur. Bu süreç aynı zamanda "paraseksüel" rekombinasyon olarak da adlandırılmaktadır. *C. neoformans*'ın bir diğer biyolojik özelliği var. *grubii* (serotip A) ve var. *neoformans* (serotip D) arasında eşeyli yolla bir AD hibridi oluşumudur. Bu suşlar, α ADa ya da aAD α olmak üzere her iki çaprazlaşma tipini de bulundurmaktadır. *Candida albicans* diploid bir mikroorganizma olduğundan, suşların çoğunda çaprazlaşma-tipi gen bölgesinde heterozigot a/ α olmak üzere her iki çaprazlaşma tipinin allelleri yer alır. Buna bağlı olarak α / α /a/a tetraploid hücreler, konakta paraseksüel çoğalma olarak nitelenen ve mayozdan farklı bir yolla kromozom kaybederek α / α ve a/a diploid konuma döner. Deneysel enfeksiyonlarda tetraploidlerin daha az virülans oldukları ve diploid hücrelere göre daha hızlı temizlendikleri saptanmıştır. *C. albicans*'ta opak-beyaz fenotipik dönüşümünün de kısmen çaprazlaşma gen bölgesince kontrol edildiği bildirilmiştir. Bu 2 fırsatçı patojene benzer olarak *Pneumocystis jiroveci*, *Histoplasma capsulatum* ve *Aspergillus* türlerinde de çaprazlaşma tipleri, eşeyli çoğalma, virülans özellikleri, antifungal ilaçlara direnç ile ilgili genleri ve bunlar arasındaki ilişkileri tanımlayan çalışmalar yürütülmektedir.

Anahtar sözcükler: Mantarlar, çaprazlaşma tipleri, eşeyli çoğalma, virülans.

ABSTRACT

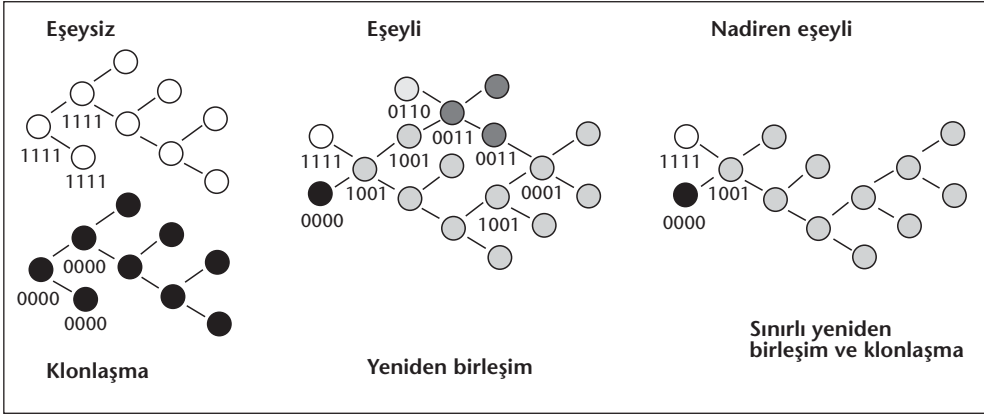
Sexual reproduction provides natural selection and adaptation of the organisms to environmental conditions by allowing beneficial mutations to spread and by diluting deleterious mutations. In recent years new findings which indicate the role of sexual reproduction in fungal pathogenicity, have been obtained. However, the pathogenic fungi limit their sexual cycles to generate clonal populations instead of recombinants, to enable themselves to adapt to the new conditions in the environment and in the host such as antimicrobial therapy. *Cryptococcus neoformans* being a haploid organism has a laboratory diagnosed sexual cycle and mating cell types "a and α ". Nutrient limitation stimulates production of pheromones that induce cell-cell fusion and the resulting dikaryon undergoes filamentous transition, karyogamy and meiosis in basidia and chains of very infective basidiospores develop. The "a" and " α " alleles take place in MAT (Mating Type) locus. Strains of " α " mating-type predominate in environment and clinical isolates and, in "a- α " coinfection model, α -cells exhibit more pathogenic behaviour than congenic "a" cells. In the most common pathogenic variety *grubii*, (serotype A) there is no difference in the virulence of cells of opposite mating types but, during co-infection α -cells more easily cross the blood-brain barrier. Additionally, α strains produce increased amounts of melanin and urease which enhance invasion of central nervous system. In *C. neoformans* a novel sexual cycle named as same-sex (monokaryotic) mating has been discovered. α - α cells engage in sex without an "a" partner that can contribute to generate diversity and produce infectious haploid basidiospores. This process is also called as "parasexual" recombination. Another aspect for *C. neoformans* biological property is naturally occurring AD hybrid strains between var. *grubii* (serotype A) and var. *neoformans* (serotype D) via sexual crosses. Those strains often contain both mating types, either aAD α or α ADa. In *Candida albicans* due to its diploid property, most strains are a/ α heterozygous at the mating-type locus and contain both mating-type alleles. Thus, the tetraploid cells (a/a/ α / α) generated during mating can turn to diploid state (a/a and α / α) by random chromosome loss via parasexual process but without meiosis, within the host. Tetraploids were found to be less virulent in murine infections and could be cleared more rapidly than the diploids. In *C. albicans*, control of white-opaque switching is believed to be regulated in part by the mating locus, suggesting switch may be involved in mating. Like these 2 opportunistic pathogens, in *Pneumocystis jiroveci*, *Histoplasma capsulatum* and *Aspergillus* spp. genetic studies are being carried out to identify genes related to mating types, sexual cycle, virulence and resistance to antifungal drugs, and the interactions between them.

Key words: Fungi, mating types, sexual reproduction, virulence.

GİRİŞ

Eşeyli çoğalma, 2 atadan gelen genetik materyalin bir progeni (yavru) oluşturacak şekilde karışmasıdır. Eşeyli çoğalma yararlı mutasyonların yayılmasına yol açarak ya da zararlı mutasyonların seyrelmesini sağlayarak doğal seçimde ve organizmaların evrimleşmesinde rol oynar^{1,2}. Eşeyli çoğalma, klonlanmaya karşı rekombinasyonun da yolunu açar (Şekil 1).

Ökaryotik mikroorganizmalar eşeyli üreyebilme yeteneklerine sahip çıkarken, bir yandan da bunda sınırlamaya gider. Sınırlı eşeylilik (paraseksüel çoğalma), çevreye uyum yapan klonlanmış popülasyonların oluşumuna yol açar². Ökaryotik mikroorganizmalar içinde yer alan mantarlarda, bir çeşit eşeyli çoğalma olan "mating" in (çaprazlaşma, eşleşme), insan patojeni olan mantarların virülansıyla bağlantısı olduğuna dair bulgular artmaktadır.



Şekil 1. Eşeylessiz, eşeyli ve sınırlanmış eşeyli üreme (2 no'lu kaynaktan alınmıştır).

Mantarlarda eşeylessiz ve eşeyli çoğalma fazları farklı çevresel koşullara göre belirlenir; özellikle nitrojen yokluğunda eşeyli çoğalmaya gidilir³. Mantarlarda eşeyli çoğalmanın temeli, "çaprazlaşma tipi" açısından birbirinden farklı haploid hücrelerin füzyonuna dayanır.

Saccharomyces cerevisiae, eşleşme olgusunun en iyi incelendiği mantardır ve bu açıdan bir model teşkil etmektedir. Bu modele göre eşeyli çoğalmada bazı "çaprazlaşma aygıtlarının" varlığı gereklidir. Bu aygıtlar ve işleyen süreçle ilgili bazı terimleri bilmekte yarar vardır:

Çaprazlaşma Tipi

Bir hücrenin haploid evreden diploid evreye ve mayoz bölünmeye geçmesi için gerekli tüm özgül etkinlikleri içerir. Bu etkinlikler MAT (Mating Type) lokusunda yer alan genetik bilgi ile belirlenir. Kodlanan düzenleyici proteinler, haploid, "a" ya da "α" çaprazlaşma tipindeki özgül genlerin ifade edilmesini denetler. Bu gen bölgesinde yer alan genler arasında "hücre-hücre tanışması" ve "hücrelerin füzyonu" için önemli olanlar, feromon ve feromon reseptörlerini kodlayanlardır. Bu gen ürünlerinin kaybı durumunda, çoğalamayan, steril (kısır) mutantlar oluşur⁴.

Feromonlar

Ortama difüze olabilen ve peptid yapıda olan çaprazlaşma faktörleridir. Yüksek düzey ökaryotiklerin homeodomain proteinleri ile akrabadır. Feromonlar, G proteinleri ile bir arada bulunan feromon reseptörlerine bağlanır. Bu bağlanma ile aktive olan G proteini βγ alt birimleri de MAP kinaz kaskadını etkinleştirir. Oluşan sinyal akışı, eşleşecek hücreyi G1 fazında tutar⁴.

MAP Kinaz

Bu enzim, çaprazlaşma sürecinde rolü olan sekonder metabolik faaliyetleri, füzyon için gerekli çıkıntının oluşmasıyla ilişkili hücre iskeleti bileşenlerinin kutuplaşmasını, invaziv

hifal form oluşumunu ya da tomurcuklanmayı denetler. MAP kinaz üretimini denetleyen gen grubundan olan *STE12*, aynı zamanda melanin üretimi ve kapsül yapımı ile de ilgilidir. Bir kez α -a füzyonu oluştuktan sonra tüm haploid genler, α ve a çaprazlaşma genleri baskılanır ve mayoz ve spor oluşumu için gerekli diploid genler eksprese edilir^{5,6}.

S.cerevisiae'da α -faktörü 13 aminoasitlik peptid yapıda olup, *MFA1* ve *MFA2* genleri tarafından kodlanır. "a" faktörü ise *MFA1* ve *MFA2* genlerince kodlanan 12 aminoasitlik bir peptiddir. "a" faktörünün oluşumuna yol açtığı çıkıntı, α çaprazlaşma tipine yönelir ve a/ α füzyonu meydana gelir. Füzyonu takiben çekirdeklerin kaynaşması da gerçekleşir ve diploid hücreler ortaya çıkar. Bu noktada feromon ve feromon reseptör genleri kapanır, çaprazlaşma süreci durur. Nitrojen kıtlığı başta olmak üzere besin eksikliği varsa mayoz yoksa mitoz evreye geçilir⁴.

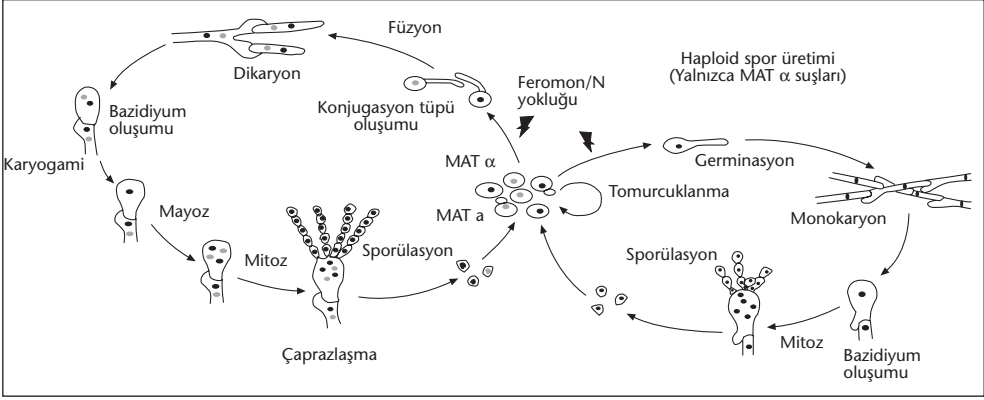
CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS'TA ÇAPRAZLAŞMANIN VİRÜLANS ile İLİŞKİSİ

C.neoformans, eşeyli evresinde bazidiosporları ile çoğalan (*Filobasidiella neoformans*) patojen bir mayadır. Son genetik çalışmalara göre, *grubii* (serotip A), *neoformans* (serotip D) ve *gattii* (serotip B ve serotip C) olmak üzere 3 varyetesi (var.) mevcuttur. AD ve son zamanlarda BD serotip hibridleri de tanımlanmıştır⁷.

AIDS hastalarının %6-10'unda *C.neoformans* menenjiti gelişmektedir. Sahra-altı Afrika'da ise erişkin menenjitlerinin %45'inden sorumludur. Serotip A, tüm *C.neoformans* enfeksiyonlarının %95'inden ve Amerika Birleşik Devletleri (ABD)'nde AIDS hastalarında ortaya çıkan *C.neoformans* menenjitlerinin %99'undan sorumludur. Ancak serotip D ve AD hibrid kökenleri Avrupa'daki klinik izolatların %5-30'unu oluşturmaktadır; B ve C serotipleri ise daha az sıklıkta izole edilmektedir. AD hibridlerinin hem klinik hem de çevresel kaynaklarda ve Avrupa sınırlarının dışında da saptanması, hibridizasyonun ortama uyum açısından önemini göstermektedir^{3,8,9}. *C.neoformans*, baskın özellik olarak haploid bir mikroorganizmadır ve a ve α olmak üzere iki MAT vardır. İnsan kriptokoklarının çoğu α tipi kökenlerle ortaya çıkmaktadır. Çaprazlaşma tipi allelleri MAT gen bölgesinde yer alır; bu bölge > 100 kb büyüklüğünde olup, 25 adet gen içermektedir^{2,8,10}.

İnsan enfeksiyonlarının kurumuş maya hücrelerinden çok, alveollere ulaşabilecek kadar küçük olan bazidiosporların solunması sonucu geliştiği düşünülmektedir. Yapılan çalışmalara göre a ve α hücreleri dikaryotik filamentler oluşturmak üzere füzyon yapmakta; genişlemiş bazidiumlar (taban) meydana gelmekte, geçici bir a/ α diploidi oluşturmak üzere çekirdekler arası füzyon ve bunu takiben mayoz bölünme olmaktadır. Sonuç olarak, zincirler oluşturan a ve α haploid yavrular yani enfektif sporlar üretilmektedir (Şekil 2)^{1,9}. *C.neoformans*'ta sıklıkla zıt tipler arası çaprazlaşma tercih edilmekle birlikte, özellikle α hücreler arası tek cinsiyetli çaprazlaşma ve α / α diploidi ve bunu takiben α haploid yavru sporlar da oluşabilmektedir.

Bu çaprazlaşmalar A ve D serotipleri arasında olduğunda normal "hücre-hücre füzyonu"na karşın, serotipler arası %10-15 nükleotid polimorfizmine bağlı olarak normal mayoz süreci bozulmakta ve ancak birkaçı canlı olan haploid yavru sporlar üretilmektedir. Bu nedenle, bu tip (varyeteler arası) çaprazlaşmalar sonucu oluşan AD hibridlerinin ço-



Şekil 2. *Cryptococcus neoformans*'ın yaşam döngüsü. Çaprazlaşma konjugasyon tüpünün oluşumu ile başlar, hücreler füzyona gider ve dikaryotik filamentler oluşur. Çaprazlaşan filamentlerdeki çekirdekler arası füzyonu (karyogami) takiben terminal bazidyumlar oluşur. Bunu mayoz ve sporlanma izler ve uzun zincirler oluşturan bazidiosporlar meydana gelir (4 no'lu kaynaktan alınmıştır).

ğu tek çekirdekli (monokaryotik) fakat diploid ($2N$) ya da anöplid ($2N + 1$) safhada bulunmaktadır.

Bu mikroorganizmanın hem serotipleri hem de çaprazlaşma tipleri virülans ile ilgilidir. Dünya genelinde en sık saptanan serotip A, serotip D'den daha patojendir; $A\alpha$ suşları da $D\alpha$ suşlarına göre daha virüldür. A serotipinin a ve α izolatları arasında virülans farkı saptanmamıştır, ancak birlikte enfeksiyon sırasında α hücreler kan-beyin engelini aşmada daha başarılıdır. Bununla ilgili olarak öne sürülen görüşlerden birisi; makrofajlar içine alınan sporlarda MAT genlerinin indüklenmesini takiben üretilen feromonların, α hücrelerde virülans ile ilgili olan lakkaz ve üreaz enzimlerinin fazlaca üretilmesine yol açtığı ve böylece hücrelerin santral sinir sisteminde daha fazla yayıldığı şeklindedir. İkinci hipotez, α hücre feromonlarının a tipi hücrelerde boyutça büyümeye yol açması ve böylece kan-beyin engelini aşamaz hale gelmelerine neden olmasıdır⁸. Klinik kökenler arasında α tipinin fazla olması, bu çaprazlaşma tipinin çevrede de daha fazla bulunmasıyla açıklanabilir. Bu da, hücreler arasında eşyılı çoğalma çevriminin önlenmesi ve enfeksiyöz α sporları oluşturmak üzere kısıtlı rekombinasyonun (α - α arası aynı tip ile rekombinasyon, takiben mayoz ve α tipi hücrelerin klonlaşması) olmasıyla gerçekleşebilir. Bu tip hibridleşmelerin, Vancouver, Avustralya ve Kuzey Batı Pasifik'te "hipervirülan" bir α suşuna bağlı salgınların ortaya çıkmasına yol açtığı anlaşılmıştır².

Yakın zamanda ABD'de yapılan geniş çaplı bir çalışmada, *C. neoformans*'ın virülansında serotip ve çaprazlaşma tipinin yanı sıra ploidin ve çevresel koşulların da rolleri araştırılmıştır⁹. Örneğin; 22°C'de haploid $A\alpha$ ve Aa kökenlerinin ve diploid $\alpha A\alpha$, $\alpha AD\alpha$, $\alpha A Da$, $aADa$, $aAD\alpha$ hibridlerinin yüksek düzeyde melanin ürettiği saptanmıştır. Aynı ısıda $D\alpha$ ve Da haploidleri ile $\alpha DD\alpha$ diploidleri ise daha az melanin üretmiştir. 37°C'de haploidler yüksek düzeyde melanin üretirken, diploidler (AD hibridleri) iyi çoğalmalarına karşın zayıf düzeyde melanin üretmiştir. 39°C'de ise suşların hiçbirisi melanin üretememiş-

tır. Yani bazı çevresel koşulların yanı sıra, yüksek ploidide virülans olumsuz yönde etkilmiştir. Fare deneylerinde, diploid hücrelerin ($\alpha AA\alpha$ izogenik kökeni ve AD hibridleri) solunum yoluyla alınmalarının da, haploidlere göre daha zayıf kaldığı saptanmıştır. Bu durum, diploid hücrelerin boyut olarak daha büyük olmasıyla açıklanmıştır. Ancak damar içi enfeksiyonda bir farklılık gözlenmemiştir. Bir diğer bulgu da, aADa hibridlerinin “en zayıf” patojen olmalarıdır; bu da çaprazlaşma tipinin virülanstaki rolünü açıkça göstermektedir. Serotip A kaynaklı α tiplerinin, serotip D kaynaklı α tiplerine göre daima daha yüksek virülansa sahip olması, serotipin virülans üzerindeki etkisini ve klinik kökenlerde A serotipinin yüksek sıklıkta izolasyonunu açıklamaktadır.

CANDIDA ALBICANS'TA ÇAPRAZLAŞMA ve PLOİDİNİN VİRÜLANS ile İLİŞKİSİ

Candida albicans diploid bir mikroorganizmadır. MTL (Mating Type Locus) gen bölgesi çoğunlukla heterozigot olup a/α allellerini taşımaktadır. Ancak klinik izolatların %5-7'sinde a/a veya α/α homozigotluğu mevcuttur ve bunlar potansiyel çaprazlaşma yeteneğine sahiptir. Oluşan homozigot diploid hücreler in vitro ortamda birlikte inkübe edildiğinde “hücre-hücre füzyonu”na bağlı olarak “tetraploid” $a/a/\alpha/\alpha$ yavru oluşturmaktadır. Ancak klinik izolatlar arasında tetraploid suşlar bulunmamaktadır. Hayvan deneylerinde tetraploid suşların zayıf patojen olduğu ve vücuttan hızla temizlendikleri gözlenmiştir. Yapılan çalışmalarda, tetraploid hücrelerde paraseksüel evre (veya kısıtlı rekombinasyon) olarak da tanımlanan mayoz dışı bir mekanizma ile kromozom sayısında azalma meydana geldiği; bunun, indüklenen kromozom kaybı ile gerçekleştiği ve sonuçta diploid ya da anöploid yeni hücrelerin oluştuğu saptanmıştır. Yani çaprazlaşmadan çok, ploidin virülans ile ilişkili olduğu anlaşılmıştır¹¹.

C. albicans'ın WO-1 (white-opaque/beyaz-opak) dönüşümü gösteren suşlarında, özellikle opak hücrelerde çaprazlaşmaların daha sık olduğu, ancak “opak” hücreler tarafından üretilen α feromonun “beyaz” hücrelerde biyofilm üretimini teşvik ettiği belirtilmiştir¹¹. Elektron mikroskopisi çalışmalarında, *C. albicans* hücrelerinin insan vücudunda en fazla deride (31-32°C) çaprazlaşma yaptığı gözlenmiştir.

C. albicans'ta mayoz bölünme ve askus (eşeyli askosporlar kesesi) oluşumuna dair veri yoktur. Bu da, besin açısından rekabetin olmadığı bir ortam olan memeli mukozasına uyum sonucu sporlanmaya gerek kalmaması ile açıklanmaktadır. Azollere karşı dirençli olan *C. albicans* suşlarında MTL bölgesinde homozigotluk oranı daha fazladır. Bu da azollerin etkinliğini belirleyen *ERG11* ve *TAC1* genlerinin MTL kromozomu üzerinde bulunduğunu göstermektedir. Paraseksüel evrenin de ilaçlara dirençli rekombinantların seçiminde rol alabileceği belirtilmiştir^{2,3,11}.

DİĞER MANTARLARDA ÇAPRAZLAŞMANIN VİRÜLANS ile İLİŞKİSİ

Aspergillus cinsi içinde en virülant tür olan *Aspergillus fumigatus*'ta, α ve a tiplerinin çevrede bulunma oranları yaklaşık olarak eşittir³.

Birincil patojen mantarlar grubunda yer alan *Histoplasma capsulatum*'da, pozitif ve negatif olarak tanımlanan zıt çaprazlaşma tipleri saptanmıştır; bunlar çaprazlaşma sonucu kıvrımlı bir normal dışı hif oluşturur³.

Pneumocystis jirovecii'de eşeysiz ve eşeyli evreler, enfekte akciğer dokusunda izlenmiştir. Trofozoit form haploiddir ve aynı zamanda çoğalabilen (kısır olmayan) hücre tipidir. Dokuda henüz bilinmeyen bir uyarı sonucu zıt çaprazlaşma tipleri karyogami evresine geçmekte, diploid prekist ve mayozu takiben 4 çekirdekli olgun kist (askus) oluşmaktadır. *P.jirovecii*'nin eşeyli sporlarının bulaşıcı özellikte olduğu düşünölmektedir³.

Sonuç olarak, mantarlarda bir eşeyli çoğalma tipi olan çaprazlaşmanın ve ploidin, virölans ve patogenezdaki rolleri çözöldükçe, mikozların tanısında ve farklı hedeflere yönelik yeni antifungal ilaçların geliştirilmesinde ufuklar açılacağı umut edilmektedir.

KAYNAKLAR

1. Nielsen K, Cox GM, Wang P, Toffaletti DL, Perfect JR, Heitman J. Sexual cycle of *Cryptococcus neoformans* var. *grubii* and virulence of congenic α and α isolates. *Infect Immun* 2003; 71: 4831-41.
2. Heitman J. Sexual reproduction and the evolution of microbial pathogens. *Curr Biol* 2006; 16: 711-25.
3. Nielsen K, Heitman J. Sex and virulence of human pathogenic fungi. *Adv Gen* 2007; 57: 143-67.
4. Lengeler KB, Davidson RC, D'souza C, et al. Signal transduction cascades regulating fungal development and virulence. *Microbiol Mol Biol Rev* 2000; 64: 746-85.
5. Xu JR. Map kinases in fungal pathogens. *Fungal Genet Biol* 2000; 31: 137-56.
6. Roman E, Arana DM, Nombela C, Alonso-Monge R, Pla J. MAP kinase pathways as regulator of fungal virulence. *Trends Microbiol* 2007; 15: 181-90.
7. Escandon P, Ngamskulrungrroj P, Meyer W, Castaneda E. In vitro mating of Colombian isolates of the *Cryptococcus neoformans* species complex. *Biomedica* 2007; 27: 308-14.
8. Nielsen K, Cox GM, Litvintseva AP, et al. *Cryptococcus neoformans* α strains preferentially disseminate to the central nervous system during coinfection. *Infect Immun* 2005; 73: 4922-33.
9. Lin X, Nielsen K, Patel S, Heitman J. Impact of mating type, serotype, and ploidy on the virulence of *Cryptococcus neoformans*. *Infect Immun* 2008; 76: 2923-38.
10. Nielsen K, Marra ER, Hagen F, et al. Interaction between genetic background and the mating type locus in *Cryptococcus neoformans* virulence potential. *Genetics* 2005; 171: 975-83.
11. Ibrahim AS, Magee BB, Sheppard DC, Yang M, Kauffman S, Becker J. Effects of ploidy and mating type on virulence of *Candida albicans*. *Infect Immun* 2005; 73: 7366-74.