



*The Biology of Black Yeast Genomes*  
L. Ferreira Moreno

Het rijk van de fungi bevat een enorme diversiteit aan organismen die op allerlei substraten kunnen groeien, zoals in de bodem, in levend plantaardig of dierlijk weefsel, in water, en op dood materiaal. Naast generalisten en kosmopolitische soorten zijn er specialistische fungi die slechts in enkele milieus en op specifieke plaatsen voorkomen. De zgn. zwarte gisten in de orde Chaetothyriales (Pezizomycotina, Ascomycetes) bevatten soorten die aan zeer bepaalde, ongewone habitats zijn aangepast; vaak zijn dat micro-niches met extreme omstandigheden. Zwarte gisten komen vooral voor in menselijke, urbane milieus, zoals op eikenhouten, met creosoot behandelde spoorbielzen, in vaatwassers en in sauna's. Ze leven onder condities van permanente stress van gif, zuur, alkali, hitte, droogte, geringe beschikbaarheid van voedsel, of onder osmotische of mechanische stress. In de natuur komen bepaalde soorten voor in symbiose met mieren, terwijl andere het best gedijen op kale rotsen, of juist in rottende materialen vol lipiden en vluchtige organische stoffen. Daarnaast zijn sommige soorten in staat humane infecties te veroorzaken, vooral chromoblastomycose, mycetoom en verschillende typen phaeohyphomycose – ziektebeelden die worden onderscheiden aan de hand van de invasieve vorm van de veroorzaker.

Chromoblastomycose is een gelokaliseerde, cutane of subcutane infectie die wordt gekenmerkt door de aanwezigheid van muriform (sclerotische) cellen in het weefsel van de gastheer. Zonder uitzondering zijn de veroorzakers van dit type infectie fylogenetisch verwant met de Chaetothyriales, maar binnen deze orde worden ze geclassificeerd in verschillende genera: *Cladophialophora*, *Exophiala*, *Fonsecaea*, *Phialophora*, en *Rhinocladiella*. *Cladophialophora carrionii*, *Fonseca pedrosoi* en *Fonsecaea monophora* zijn de belangrijkste soorten. Deze fylogenetische specificiteit verschilt van de overkoepelende ziekte-aanduiding phaeohyphomycose, welke een scala aan infectiebeelden omvat waarbij de schimmel voorkomt met gemelaniseerde gistcellen of (pseudo)hyfe-achtige elementen in het weefsel. Verschillende soorten in de Chaetothyriales veroorzaken cutane phaeohyphomycosen, vooral *Exophiala* species: *E. spinifera*, *E. jeanselmei*, *E. moniliae* en *E. dermatitidis*. *Rhinocladiella mackenziei*, *Fonsecaea monophora* en vooral *Cladophialophora bantiana* zijn bekend van cerebrale phaeohyphomycose. Als de schimmel diep in de huid compacte hyfenkorrels vormt, welke een heftige immuun-reactie oproepen, spreken we van een mycetoom. Slechts enkele Chaetothyriales zijn bekend van dit ziektebeeld,

voornamelijk *Phialophora verrucosa*, *P. oxyspora*, *Exophiala oligosperma* en *Cladophialophora mycetomatis*.

Het doel van dit proefschrift is om de genetische mechanismen die ten grondslag liggen aan de aanpassing van zwarte gisten aan stressvolle milieus te begrijpen, en daarmee inzicht te krijgen in hun infectieuze potentie. Voor dit doel bepaalden we de DNA-sequenties van het totale genoom en transcriptoom van ruim 30 klinisch belangrijke soorten en hun strikt apathogene tegenhangers. Met vergelijkend genoomonderzoek konden we belangrijke genen en metabolische cycli herkennen, welke de zwarte gisten mogelijk een groot voordeel geven om zich te handhaven in extreme milieus, waaronder ook het menselijk lichaam kan worden gerekend. We hebben data verzameld over fylogenomische relaties, transposable elements, bij de sexualiteit betrokken genen, de evolutie van gen-families, genen betrokken bij eiwit-afbraak, enzymen met een rol in afbraak van koolwaterstoffen, bij melanine synthese en bij het secundaire metabolisme (**Hoofdstukken 2, 3, 4 en 7**). We stelden vast dat deze fungi opportunisten zijn in ecologische zin, en ondanks het voorkomen van systemische infecties geen primaire pathogenen. Mogelijke aanpassingen die hun infectieuze potentie bevorderen zijn hun opmerkelijke metabolische flexibiliteit, welke van belang is voor het organisme bij het wisselen van voedingsbron, osmotolerantie door middel van mechanismen die werken via intracellulaire ophoping van neutrale, laag-moleculaire stoffen (**Hoofdstuk 5**) zoals trehalose en choline, en resistentie tegen giftige aromaten door middel van expansie van relevante gen-families zoals transmembraan transporters en alcohol dehydrogenases (**Hoofdstukken 2 en 5**). We hebben ook de intraspecifieke variatie geanalyseerd, met de neurotrope fungus *Rhinocladiella mackenziei* als model organisme, om het effect van genetische variatie (single nucleotide polymorphisms – SNPs; small insertions and deletions - INDELS) te kunnen inschatten. We zagen dat genen die ontstonden door duplicatie (paralogen) extra vatbaar waren voor accumulatie van mutaties welke van invloed zijn op de biologische functie van eiwitten. Gezien de voorkeur van de schimmel voor het zenuwstelsel, vergeleken we het genoom van *R. mackenziei* met soorten die bv. Op met creosoot behandeld hout voorkomen. Er werden vergelijkbare metabolische routes vastgesteld die worden gebruikt voor de afbraak van aromatische koolwaterstoffen. Sommige van deze stoffen in de natuur lijken structureel op stoffen die voorkomen in dierlijk weefsel (**Hoofdstuk 5**). *Rhinocladiella mackenziei* deelt

zeer geconserveerde afbraakroutes van toluen, styreen en fenylalanine met creosoot-fungi. Deze cycli spelen ook een rol in de vorming van de monoamine neurotransmitters dopamine, norepinephrine (noradrenaline), en epinephrine (adrenaline). Om de oorsprong van extremotolerantie en associatie met koolwaterstoffen in zwarte gisten beter te begrijpen zijn de genomen in een afstammingslijn van vier voorouderlijke, mier-geassocieerde zwarte gisten geanalyseerd (**Hoofdstuk 6**). Een belangrijke ontdekking met relevantie voor de evolutie van zwarte gistachtige fungi was de contractie van enkele ecologisch relevante gen-families in evolutionair recentere groepen van Chaetothyriales. We concluderen dat verlies van genen, zoals we dit zien in de met mieren geassocieerde zwarte gisten, een belangrijke rol heeft gespeeld in de evolutie, zoals de ontwikkeling van compacte genomen in deze organismen. Tevens lijkt de abundantie van biosynthetische clusters van secundaire metabolieten een belangrijke rol te spelen in de symbiotische associatie tussen zwarte gisten, mieren, en hun waardplanten (**Hoofdstuk 6**).