

Influence of Cell Surface Hydrophobicity on Adhesion and Biofilm Formation in *Candida albicans* and Several Bacterial Species

Su Jung Park and Kyoung-Ho Lee*

Department of Microbiology, Yonsei University Wonju College of Medicine, Wonju, Gangwon-do, Korea

Corresponding

Kyoung-Ho Lee
Department of Microbiology, Yonsei
University Wonju College of Medicine,
20 Ilsan-ro, Wonju, Gangwon-do,
26426, Korea.

Phone : +82-33-741-0324

Fax : +82-33-742-5034

E-mail : leekh@yonsei.ac.kr

Received : August 07, 2018

Revised : August 24, 2018

Accepted : August 31, 2018

No potential conflict of interest relevant to
this article was reported.

Copyright © 2018 Journal of Bacteriology
and Virology

©This is an Open Access article distributed
under the terms of the Creative Commons
Attribution Non-Commercial License
(http://creativecommons.org/
license/by-nc/3.0/).

The purpose of this study is to investigate the correlation of cell surface hydrophobicity (CSH) and biofilm formation or adhesion in *Candida albicans* (*C. albicans*) and several pathogenic bacteria. All of *C. albicans* (n=82) and 7 bacterial species (*Escherichia coli*, n=25; *Klebsiella pneumoniae*, n=33; *Morganella morganii*, n=21; *Proteus mirabilis*, n=33; *Proteus vulgaris*, n=12; *Pseudomonas aeruginosa*, n=31; *Staphylococcus aureus*, n=31) were isolated clinically. CSH was quantified with microbial adhesion to hydrocarbons. Biofilm formation was determined by tetrazolium salt reduction assay. Adhesion assay was performed by counting colonies after culture the microbes adhered to HeLa cells. Although high CSH-expressing bacterial species showed greater adherence to HeLa cells and larger amounts of biofilm formation on polystyrene, the significant relationships within same species were not shown. In *C. albicans*, however, strong positive correlations were observed between CSH and biofilm formation ($r=0.708$; $p < 0.05$) or cell adhesion ($r=0.509$; $p < 0.05$). These results suggest that hydrophobic force of bacteria may play a minor role in adhesion and biofilm formation, but CSH of *C. albicans* may be an important factor for adherence on surface and biofilm forming process.

Key Words: Cell surface hydrophobicity, Biofilm formation, Cell adhesion, *Candida albicans*

INTRODUCTION

Biofilm은 미생물이 생체조직이나 비생물체의 표면에 부착하고 증식하여 3차원적인 구조를 가지게 된 미생물의 군집으로 질병 유발에 중요한 역할을 한다 (1).

Candida albicans (*C. albicans*)는 자연환경에서 자유롭게 떠있는 상태보다는 세포 외 물질들의 표면에 고착하여 biofilm 형태로 존재한다 (2, 3). *C. albicans*의 biofilm 생성은 외부 기질에 균이 부착하여 일어난다. 여러 단계를 거쳐 성숙한 *C. albicans*의 biofilm은 yeast 형태의 얇은 층과 hyphae와 pseudohyphae 형태가 그물처럼 얽혀 이루어져 있으며 그 바깥 부분에 세포 외 물질 층이 존재한다 (4). 생체 내에 형성되는 biofilm은 칸디다증 성립과 그 발전과정에서 결정적인 역할을 하며 카테터, 삽입 보철물 등의 의학적 처치 기구에 형성되는 biofilm도 칸디다증 감염원으로서 중요한 의미를 가진다 (5~7).

세균의 biofilm 형성은 세균의 증식과 거주를 보장 받는 생존 기전이다. 세균이 biofilm을 형성함으로써 biofilm 내에서 세균의 저항에 유리한 형태로의 표현형을 변화시키고, 세포 외 고분자 또는 효소 변형에 의한 항생제의 불화성화, 영양소 제한에 의한 성장 속도를 늦춤으로 해서 외부의 여러 스트레스에 대응 또는 저항할 수 있다 (8, 9).

한편 미생물의 표면 부착에는, 브라운 운동, 반데르 발스 인력, 중력 및 표면 정전하, 세포 표면 소수성(cell surface hydrophobicity, CSH)을 포함하는 다수의 요인이 작용한다 (10, 11). 균 종마다 각기 다른 세포 표면 소수성을 갖는데 세균의 세포 표면 소수성은 그들이 가지고 있는 여러 세포 성분, 예를 들면 lipoteichoic acid, 외부 막 단백질 및 지질, 핵심 올리고당의 구성에 큰 영향을 받으며 미생물 생존의 외부환경 즉 배지의 성분, 배양 온도 및 세균의 연령 등에 따라 변화한다 (12, 13).

본 연구에서는 *C. albicans*와 수종의 병원성 세균을 대상으로 CSH와 biofilm 형성 및 상피세포에의 부착능과의 상관관계를 조사하여 이들 사이의 연관성을 밝히고자 하였다.

MATERIALS AND METHODS

실험 균주 및 균주 배양

연세대학교 원주세브란스기독병원으로 1996-1999년 사이에 내원한 환자 표본에서 분리, 동정하여 보관한 *C. albicans* (n=82), *Escherichia coli* (*E. coli*, n=25), *Klebsiella pneumoniae* (*K. pneumoniae*, n=33), *Morganella morganii* (*M. morganii*, n=21), *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*, n=31), *Proteus mirabilis* (*P. mirabilis*, n=33), *Proteus vulgaris* (*P. vulgaris*, n=12), *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*, n=31)를 이용하여 연구를 수행하였다.

*C. albicans*는 Sabouraud's dextrose (SD, Becton Dickinson, Spark, MD, USA) 한천 배지에 접종하여 30°C에서 18시간 동안 배양하였다. *E. coli*, *K. pneumoniae*, *M. morganii*, *P. aeruginosa*, *P. mirabilis*, *P. vulgaris*, *S. aureus*는 trypticase soy 한천 배지(TSA, Becton Dickinson)에 접종하여 37°C에서 18시간 동안 배양하였다.

Biofilm 생성

Ramage 등 (14)의 방법을 변형하여 이용하였다. *C. albicans*는 50 mM glucose가 포함된 yeast nitrogen base (YNB, Becton Dickinson) 배지에 접종하여 30°C에서 140 rpm으로 18시간 진탕 배양하였다. *E. coli*, *K. pneumoniae*, *M. morganii*, *P. aeruginosa*, *P. mirabilis*, *P. vulgaris*, *S. aureus*는 trypticase soy 액체 배지(TSB, Becton Dickinson)에 접종하여 37°C에서 18시간 동안 배양하였다. 균 배양액을 원심 분리하여 인산완충용액(phosphate buffered saline; PBS, Life Technologies, Grand Island, NY, USA)으로 세 번 세척하였다. *C. albicans*와 각각의 세균을 OD₆₀₀ 값 0.1로 맞추어 100 mM glucose가 포함된 YNB 배지로 희석하여 96-well microplate (Costar, Cambridge, MA, USA)에 100 µl 접종하여 37°C, 75 rpm으로 1시간 30분 배양한 후 plate에 약하게 붙은 균을 PBS로 세척하여 제거하였다. 각 well에 각각의 균에 맞는 배지를 200 µl 첨가하여 75 rpm으로 72시간 배양하였다. 미부착균을 PBS 세척으로 제거한 후 각 well마다 XTT (1 mg/ml, Sigma, St. Louis, MO, USA), Menadione (0.4 mM, Sigma) 5:1 혼합액을 200 µl씩 처리하여 빛이 차단하고 37°C에서 3시간 반응시켜 microplate reader (Emax, Molecular Devices, Sunnyvale, CA, USA)로 490 nm에서 흡광도를 측정하였다.

세포 표면 소수성(cell surface hydrophobicity, CSH)

CSH 측정은 MATH (microbial adhesion to hydrocarbons) 방법을 이용하였다 (15). 먼저 SD 한천 배지에 자란 *C. albicans*를 yeast peptone dextrose (YPD, Becton Dickinson) 배지에 접종하고 각 세균은 TSB에 접종하여 37°C에서 배양하였다. 배양 18시간 후 *C. albicans*와 7종의 세균을 원심 분리하여 회수하고 PBS로 3회 세척하였다. PBS로 3 ml의 균 부유액을 만들고 0.8 ml의 n-hexane (Sigma)을 넣어 vortex mixer로 약 90초 동안 진탕하여 혼합하였다. 상층의 hydrocarbon phase로 이동된 세포를 제거하고, 아래층의 균 부유액의 흡광도(600 nm, spectrophotometer, Biochrom, Cambridge, UK)를 n-hexane을 처리하지 않은 대조군의 흡광도와 비교함으로써 아래의 공식에 따라 relative CSH를 산출, 측정하였다.

$$\text{Relative CSH} = \frac{(\text{OD}_{600} \text{ of Controls}) - (\text{OD}_{600} \text{ of Treated Cells})}{\text{OD}_{600} \text{ of Controls}} \times 100$$

Polystyrene 표면 부착

*C. albicans*를 glucose가 첨가된 YNB 배지로 30°C에서 18시간 진탕 배양한 후 PBS로 세 번 세척하여 OD₆₀₀ 값 0.1로 조정하여 접종액으로 사용하였다. 초기 부착을 관찰하기 위하여 위의 접종액을 24-well plate (Costar)에 1 ml 적용하여 37°C에서 75 rpm으로 90분 배양 후 PBS로 미부착 균을 제거하고 현미경으로 관찰하였다. 그리고 *C. albicans*의 biofilm 형성 중 구조변화를 살펴보기 위하여 초기 부착 후 glucose-YNB 배지를 첨가하여 24시간 더 배양하면서 위상차 현미경 (IX71, Olympus, Tokyo, Japan)으로 biofilm을 관찰하였다.

세포 및 세포 배양

미생물의 상피세포 부착을 확인하기 위해 사용된 HeLa 세포는 10% fetal bovine serum (FBS, Hyclone, Logan, UT, USA), 100 U/ml penicillin 및 100 µg/ml streptomycin (Life Technologies)이 첨가된 Dulbecco's modified Eagle medium (DMEM, Life Technologies)으로 5% CO₂, 37°C 상태의 습윤 항온 배양기에서 단층 배양하였다.

상피세포 부착

SD 한천 배지에서 자란 *C. albicans*를 1% glucose가 포함된 YNB (Becton Dickinson) 배지에 접종하여 30°C에서 18시간 동안 배양하였다. 각 7종의 세균은 TSB에 접종하여 37°C에서 18시간 동안 배양하였다. 배양된 균을 차가운 PBS로 두 번 세척하였다. 상피세포주로 HeLa 세포(1.5×10^4 cells / well)를 10% FBS가 포함된 DMEM 배지로 24-well plate (Falcon, Franklin Lakes, NJ, USA)에 단 세포층이 될 때까지 배양한 후 미부착 세포는 PBS로 제거하고 FBS와 항생제가 첨가되지 않은 DMEM 배지를 1 ml씩 첨가한다. 각 well에 2×10^6 개의 *C. albicans*나 1×10^8 개의 각 균을 접종하고 3시간 동안 배양하였다. PBS로 3번 세척하여 미부착 미생물을 제거하였다. 상피세포에 부착된 *C. albicans*와 세균은 0.5% TritonX-100 (Sigma)을 1 ml를 처리하고 ice에서 10분간 놓아 상피세포를 제거하여 수거하였다. 부착되었던 *C. albicans*와 세균을 각 배지에 적절히 희석하여 SD 한천 배지와 TSA에 접종하고 37°C에서 18시간 배양하여 자란 집락수를 세었다.

통계처리

모든 실험은 세 번씩 수행하여 결과를 평균 \pm 표준편차로 나타내었다. 통계 분석은 SPSS software (Version 18.0, SPSS Inc, Chicago, IL, USA)를 이용하여 수행하였고, 세포 표면 소수성과 biofilm 형성이나 상피세포 부착과의 상관관계는 Spearman's rank correlation을 이용하였다. 통계적 유의성은 p 값 <0.05로 하였다.

RESULTS AND DISCUSSION

미생물이 부착하고 이후 biofilm을 형성하는 것은 병원성을 나타내는 매우 중요한 요건이다. 본 연구에서 진균으로 *C. albicans*, 그리고 병원성 세균 7종을 대상으로 균체의 세포 표면 소수성과 biofilm 형성 및 상피세포에의 부착능을 측정하였다.

대표적 병원성 진균인 *C. albicans* 82주를 사용하여 세포 표면 소수성, biofilm 형성 및 상피세포 부착능을 측정하였고 세포 표면 소수성과 다른 각각 특성과의 상관관계를 분석하였다. *C. albicans*의 세포 표면 소수성(0~100%), biofilm 형성을 측정한 흡광도(0.088~3.919), 상피세포 부착능($10.5 \times 10^4 \sim 186 \times 10^4$)은 분리된 *C. albicans* 군주마다 넓은 범위로 다양한 분포를 보였다. 세포 표면 소수성과 biofilm 형성과의 연관성은 상관계수 0.708로 매우 높게 나타났으며 세포 표면 소수성과 상피세포 부착능도 역시 상관계수 0.509로 비교적 높은 연관성을 보였다(Fig. 1).

세포 표면 소수성이 *C. albicans*의 초기 부착에 작용하는 기여도를 조사하고자 polystyrene 표면에 *C. albicans*를 90분 배양하고 표면에 균의 부착 면적을 위상차 현미경하에서 관찰하였다. 낮은 세포 표면 소수성을 가진 *C. albicans*는 polystyrene 표면에 약 10% 정도 부착되어 있는 반면 높은 세포 표면 소수성을 가진 *C. albicans*는 약 40% 부착되어 있었다(Fig. 2A). 또한 높은 세포 표면 소수성을 띄는 *C. albicans*가 빠른 시간 내에 보다 더 많은 수의 hyphae를 형성하고 그 길이도 길게 관찰되었다(Fig. 2B). 이런 결과는 *C. albicans*의 세포 표면 소수성 특성이 생물체와 비생물체 표면의 부착에 큰 영향을 미치는 것으로 생각된다.

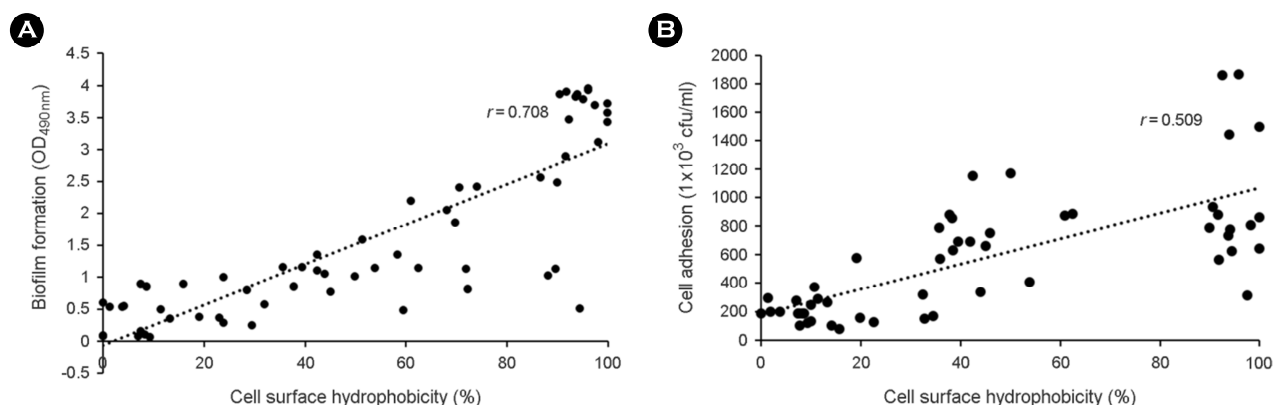


Figure 1. The relationship between relative CSH and biofilm formation (A) or cell adhesion (B) of 82 *Candida albicans*. A positive correlation was found between relative CSH and biofilm formation ($r=0.708$; $p < 0.05$) or cell adhesion ($r=0.509$; $p < 0.05$).

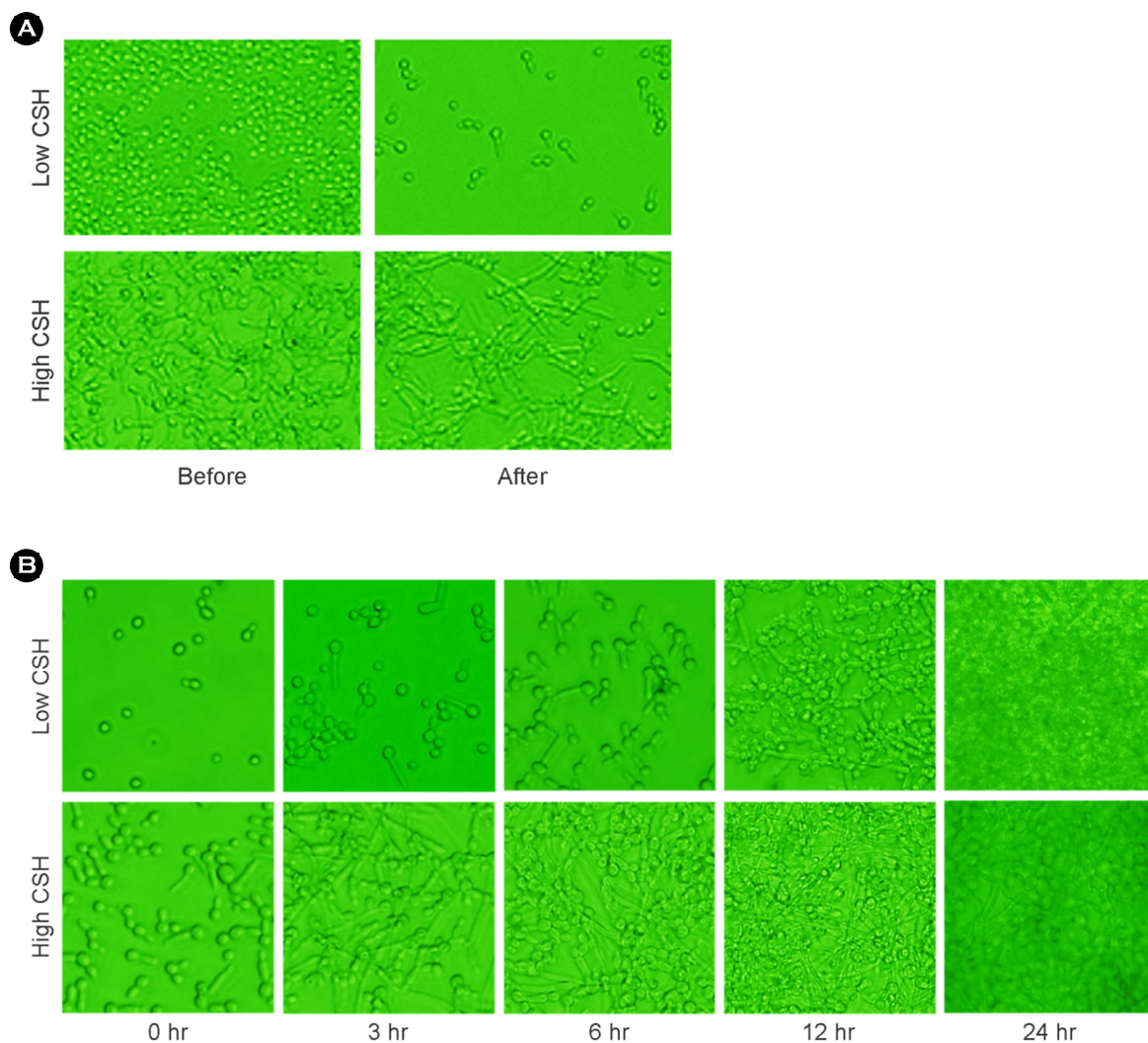


Figure 2. Identification of *Candida albicans* (*C. albicans*) adhesion with different CSH on phase-contrast microscope images. (A) Images of adhered *C. albicans* before and after washing were shown. (B) Morphological change of adhered *C. albicans* during incubation.

Table 1. Relative CSH, biofilms biomass and adherence to HeLa cells of indicated bacteria

Bacterial species	CSH (%)	Biofilm formation (OD ₄₉₀ nm)	Adhesion to HeLa cells (1 × 10 ⁵ cfu/ml)
<i>K. pneumoniae</i> (n=33)	50.00 ± 10.9	0.133 ± 0.072	166.6 ± 72.0
<i>E. coli</i> (n=25)	57.02 ± 13.8	0.123 ± 0.021	159.0 ± 80.0
<i>P. aeruginosa</i> (n=31)	66.70 ± 19.6	0.159 ± 0.033	183.0 ± 77.2
<i>M. morgani</i> (n=21)	69.31 ± 15.3	0.300 ± 0.059	192.5 ± 30.8
<i>P. mirabilis</i> (n=33)	75.10 ± 18.3	0.362 ± 0.056	285.5 ± 50.3
<i>P. vulgaris</i> (n=12)	77.48 ± 18.8	0.420 ± 0.050	207.5 ± 27.0
<i>S. aureus</i> (n=31)	98.70 ± 0.85	0.968 ± 0.262	966.0 ± 270.0

*Values represent mean ± SD

Table 2. Correlation between relative CSH and biofilm formation or adhesion in indicated bacteria

Bacterial species	Correlation coefficient (r)	
	CSH & Biofilm formation	CSH & Adhesion
<i>K. pneumoniae</i> (n=33)	0.067	0.013
<i>E. coli</i> (n=25)	0.037	- 0.082
<i>P. aeruginosa</i> (n=31)	0.187	0.049
<i>M. morgani</i> (n=21)	0.406	0.006
<i>P. mirabilis</i> (n=33)	0.180	0.002
<i>P. vulgaris</i> (n=12)	0.037	0.020
<i>S. aureus</i> (n=31)	0.207	0.043

같은 방법으로 병원성 세균 7종을 대상으로 세포 표면 소수성과 biofilm 형성 및 상피세포 부착능을 측정하였고 세포 표면 소수성과 다른 각각 특성과의 상관관계를 분석하였다. 여러 가지 세균 중에서 *M. morgani*의 세포 표면 소수성(74.31 ± 15.3%)과 biofilm 형성(흡광도, 0.300 ± 0.059) 사이의 상관성이 가장 높았으나 상관계수는 0.406로 그 의미가 크지 않았고 나머지 세균들에서는 보다 더 낮은 상관성을 나타내었다. 또한 세균의 세포 표면 소수성과 상피세포 부착과의 상관계수도 매우 낮아 모든 세균에서 그 연관성을 보이지 않았다(Table 1, 2). 그러나 세균마다 각 균종이 나타내는 세포 표면 소수성과 측정된 biofilm 형성, 상피세포 부착능의 평균값과의 상관계수는 각각 0.661, 0.648으로 유의한 상관성을 나타내었다(Fig. 3).

세균의 세포 표면 소수성은 세포벽을 구성하는 lipoteichoic acid, lipid, LPS와 teichoic acid 등이 중요한 결정 요인으로 작용한다 (10, 16). 그리고 세균의 부착 과정은 세균의 세포 표면 소수성이라는 특성 이외에도 다양한 요소가 함께 작용한다. 세포 표면분자들은 균 종마다 포함되어 있는 구성 성분과 양이 다르므로 각 균종마다 각기 다른 세포 표면 소수성을 나타낸다. 이런 성분들 외에도 세균은 pili, flagella 및 fimbriae와 같은 세포 표면 구조들이 표면 부착 초기에 더욱 중요하게 작용한다고 알려져 있다 (17~ 19). 또한, 세균은 숙주세포의 표면에 발현되어 있는 collagen, laminin, elastin 등의 여러 분자들을 직접 인지하여 부착할 수도 있다 (20, 21). 이런 결과는 같은 균종 내 세균에서 변화하는 표면분자 발현으로 인한 세포 표면 소수성은 biofilm 형성과 숙주의 상피세포 부착능에는 거의 영향을 미치지 않는 것으로 생각된다. 그러나 세균 각 균종의 고유한 표면분자에 의한 세포 표면 소수성은 biofilm 형성과 숙주의 상피세포 부착능에 상당한 영향을 주어 그 상관성을 높이는 것으로 해석할 수 있다.

한편 세균의 biofilm은 균체가 고체 표면에 부착하여 증식하면서 만들어 분비되는 세포 외 중합체(extracellular polymeric substances)

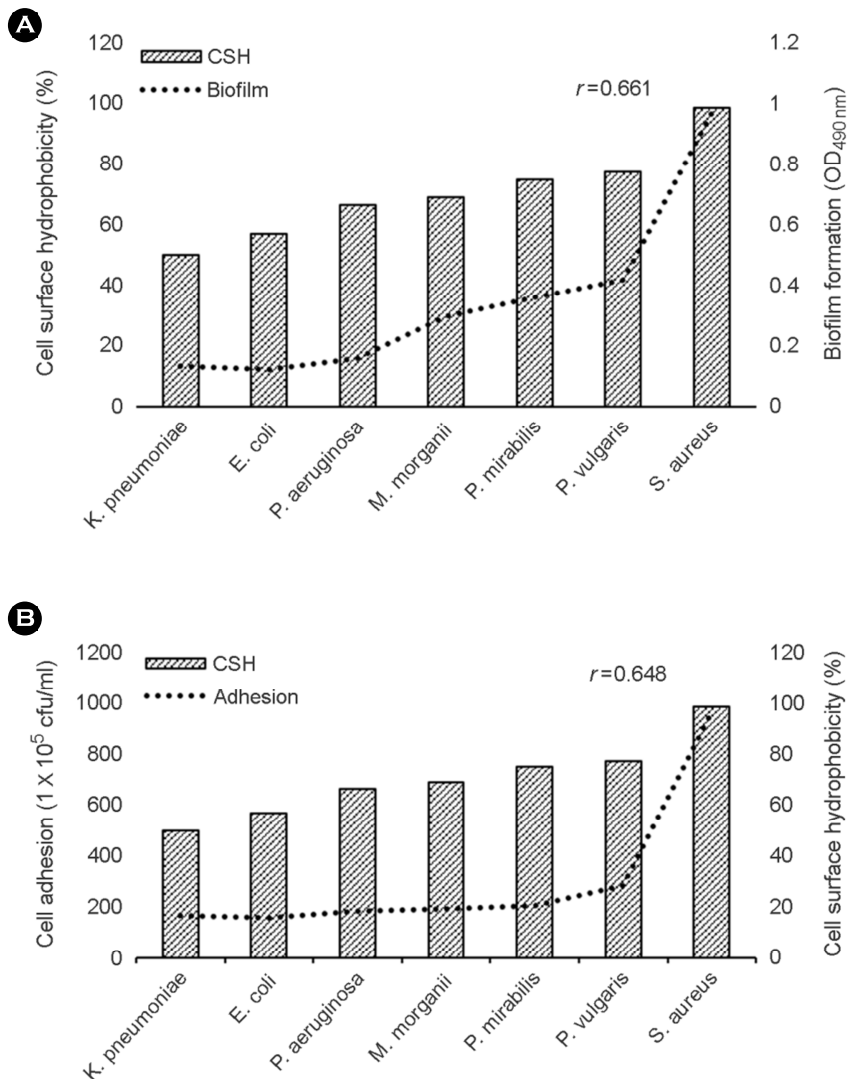


Figure 3. The relationship between relative CSH and biofilm formation (A) or cell adhesion (B) of bacterial isolates. Regression analysis demonstrated a significant positive correlation between these two parameters ($r=0.661$, $p < 0.05$; $r=0.648$, $p < 0.05$).

를 매개로 매트릭스 안에 형성하여 두터운 biofilm을 형성하게 된다 (22~ 25). 그러나 *C. albicans*의 biofilm 구조는 yeast 형태를 가진 기저층과 hyphae, pseudohyphae 형태로 이루어진 구조가 서로 그물처럼 얽혀있는 3차원적인 구조를 하고 있으며 (26), hyphae 형성은 위의 같은 구조의 biofilm을 만드는데 매우 중요하다. 또한 hyphae 형성은 세포 표면 소수성이 크면 더 많이 나타나게 된다. 이런 차이가 *C. albicans*에서의 세포 표면 소수성이 biofilm 형성과 상피세포 부착에 세균과는 다르게 작용하는 요인이 될 수 있다.

결론적으로 세균의 세포 표면 소수성은 상피세포 부착과 biofilm 형성에 유리하게 작용하지만 같은 세균의 균종 내에서는 그 영향의 차이가 크지 않다. 그러나 *C. albicans*의 높은 세포 표면 소수성은 상피세포 부착과 biofilm 형성 과정에서 상당히 중요한 요소로 작용한다.

REFERENCES

- 1) O'Toole G, Kaplan HB, Kolter R. Biofilm formation as microbial development. Annu Rev Microbiol 2000;54:49-79.

- 2) Chandra J, Kuhn DM, Mukherjee PK, Hoyer LL, McCormick T, Ghannoum MA. Biofilm formation by the fungal pathogen *Candida albicans*: development, architecture, and drug resistance. *J Bacteriol* 2001;183:5385-94.
- 3) Wey SB, Mori M, Pfaller MA, Woolson RF, Wenzel RP. Hospital-acquired candidemia. The attributable mortality and excess length of stay. *Arch Intern Med* 1988;148:2642-5.
- 4) Shirtliff ME, Peters BM, Jabra-Rizk MA. Cross-kingdom interactions: *Candida albicans* and bacteria. *FEMS Microbiol Lett* 2009;299:1-8.
- 5) Samaranayake LP, MacFarlane TW, Williamson MI. Comparison of Sabouraud dextrose and Pagano-Levin agar media for detection and isolation of yeasts from oral samples. *J Clin Microbiol* 1987;25:162-4.
- 6) Webb BC, Thomas CJ, Willcox MD, Harty DW, Knox KW. *Candida*-associated denture stomatitis. Aetiology and management: a review. Part 2. Oral diseases caused by *Candida* species. *Aust Dent J* 1998;43:160-6.
- 7) Lee KH, Park SJ, Choi S, Uh Y, Park JY, Han KH. The influence of urinary catheter materials on forming biofilms of microorganisms. *J Bacteriol Virol* 2017;47:32-40.
- 8) Costerton JW, Lewandowski Z, Caldwell DE, Korber DR, Lappin-Scott HM. Microbial biofilms. *Annu Rev Microbiol* 1995;49:711-45.
- 9) Borucki MK, Peppin JD, White D, Loge F, Call DR. Variation in biofilm formation among strains of *Listeria monocytogenes*. *Appl Environ Microbiol* 2003;69:7336-42.
- 10) van Loosdrecht MC, Norde W, Zehnder AJ. Physical chemical description of bacterial adhesion. *J Biomater Appl* 1990;5:91-106.
- 11) Ambalam P, Kondepudi KK, Nilsson I, Wadström T, Ljungh A. Bile enhances cell surface hydrophobicity and biofilm formation of bifidobacteria. *Appl Biochem Biotechnol* 2014;172:1970-81.
- 12) Borecká-Melkusová S, Bujdáková H. Variation of cell surface hydrophobicity and biofilm formation among genotypes of *Candida albicans* and *Candida dubliniensis* under antifungal treatment. *Can J Microbiol* 2008;54:718-24.
- 13) Khelissa SO, Jama C, Abdallah M, Boukherroub R, Faille C, Chihib NE. Effect of incubation duration, growth temperature, and abiotic surface type on cell surface properties, adhesion and pathogenicity of biofilm-detached *Staphylococcus aureus* cells. *AMB Express* 2017;7:216.
- 14) Ramage G, Vandewalle K, Wickes BL, López-Ribot JL. Characteristics of biofilm formation by *Candida albicans*. *Rev Iberoam Micol* 2001;18:163-70.
- 15) Rosenberg M. Microbial adhesion to hydrocarbons: twenty-five years of doing MATH. *FEMS Microbiol Lett* 2006;262:129-34.
- 16) Pizarro-Cerdá J, Cossart P. Bacterial adhesion and entry into host cells. *Cell* 2006;24;124:715-27.
- 17) Hashemizadeh Z, Kalantar-Neyestanaki D, Mansouri S. Association between virulence profile, biofilm formation and phylogenetic groups of *Escherichia coli* causing urinary tract infection and the commensal gut microbiota: A comparative analysis. *Microb Pathog* 2017;110:540-5.

- 18) Mirani ZA, Naz S, Khan F, Aziz M, Asadullah, Khan MN, *et al.* Antibacterial fatty acids destabilize hydrophobic and multicellular aggregates of biofilm in *S. aureus*. J Antibiot (Tokyo) 2017;70:115-21.
- 19) Ton-That H, Schneewind O. Assembly of pili in Gram-positive bacteria. Trends Microbiol 2004;12:228-34.
- 20) Poimenidou SV, Chrysadaku M, Tzakoniati A, Bikouli VC, Nychas GJ, Skandamis PN. Variability of *Listeria monocytogenes* strains in biofilm formation on stainless steel and polystyrene materials and resistance to peracetic acid and quaternary ammonium compounds. Int J Food Microbiol 2016;237:164-71.
- 21) Schwarz-Linek U, Werner JM, Pickford AR, Gurusiddappa S, Kim JH, Pilka ES, *et al.* Pathogenic bacteria attach to human fibronectin through a tandem beta-zipper. Nature 2003;423:177-81.
- 22) Linder M. Hydrophobins: Proteins that self-assemble at interfaces. Curr Coll Inter Sci 2009;14:356-63.
- 23) Kurakado S, Takatori K, Sugita T. Minocycline Inhibits *Candida albicans* Budded-to-Hyphal-Form Transition and Biofilm Formation. Jpn J Infect Dis 2017;70:490-4.
- 24) Liu T, Xu C, Hong L, Garcia-Godoy F, Hottel T, Babu J, *et al.* Effects of trimethylsilane plasma coating on the hydrophobicity of denture base resin and adhesion of *Candida albicans* on resin surfaces. J Prosthet Dent 2017;118:765-70.
- 25) Lee JA, Robbins N, Xie JL, Ketela T, Cowen LE. Functional genomic analysis of *Candida albicans* adherence reveals a key role for the Arp2/3 complex in cell wall remodelling and biofilm formation. PLoS Genet 2016;12:e1006452.
- 26) Park SJ, Han KH, Park JY, Choi SJ, Lee KH. Influence of bacterial presence on biofilm formation of *Candida albicans*. Yonsei Med J 2014;55:449-58.