

20.9.2012	9-10.50hod	Doc. Paleček	Úvod –historie, význam
27.9.2012	9-10.50hod	Doc. Paleček	Metody kultivace, detekce, způsoby analýzy
4.10.2012	9-10.50hod	Doc. Paleček	Genetické a molekulárně biologické metody
11.10.2012	9-10.50hod	Doc. Paleček	Morfologie a buněčný cyklus, párovací proces,
18.10.2012	9-10.50hod	Doc. Paleček	Regulace transkripce, lokalizovaná exprese , hybridní systémy
25.10.2012	9-10.50hod	prof. Svoboda	Sekreční dráhy a endocytóza
1.11.2012	9-10.50hod	prof. Svoboda	Protoplasty kvasinek jako modelový objekt
8.11.2012	9-10.50hod	prof. Svoboda	Patogenní kvasinky, morfologická charakteristika, medicínské aspekty
15.11.2012	9-10.50hod	Doc. Paleček	Organizace chromatinu a oprava DNA
22.11.2012	8-12hod A7	prof. Svoboda+Doc.Paleček - Cvičení k přednášce	
29.11.2012	8-12hod A7		
6.12.2012	10-11.50hod A7	prof. Kopecká	O podstatě buněčných stěn kvasinek
13.12.2012	8-12hod	Doc. Paleček	Zkouška

Otázky k předchozí přednášce?

Souhrn 1. přednášky

- Kvasinky - historie
- Výskyt a přenos
- Vztah k lidskému zdraví
- Význam pro biotechnologie a výzkum

Osnova 2. přednášky

- Základní charakteristiky kvasinek
- Podmínky růstu
- Morfologie buňek a kolonií
- Identifikace a analytické metody

Základní charakteristika kvasinek

-Eukaryota – rostlinný systém – vyšší houby (1000 druhů) – rozdělení dle způsobu pohlavního rozmnožování (asko-, basidio- a deuteromycetes + kvasinkové mikroorganismy)

Basidiomycota

Ascomycota

Archiascomycotina

Euascomycotina

Saccharomycotina (Hemiascomycotina)

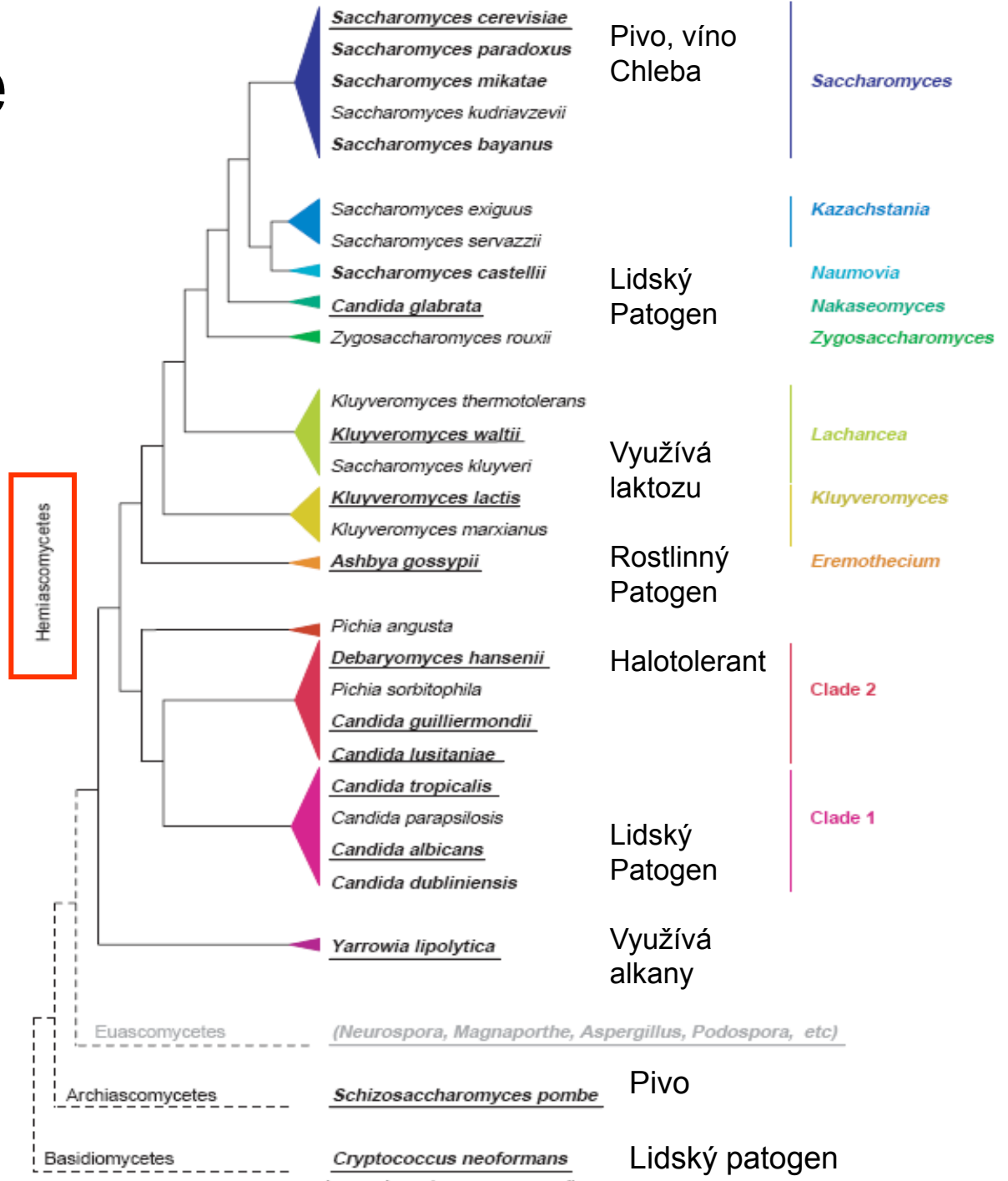
Saccharomyces cerevisiae:

- › [Eukaryota](#)
- › [Fungi/Metazoa group](#)
- říše › [Fungi](#) (houby)
 - › [Dikarya](#)
- oddělení › [Ascomycota](#) (vřeckovýtrusé)
- třída › [Ascomycetes](#) (vřeckovýtrusé)
- řád › [Saccharomycetales](#) (kvasinkotvaré)
- čeleď › [Saccharomycetaceae](#) (kvasinkovité)
- rod › [Saccharomyces](#) (kvasinka)

Fylogeneze kvasinek

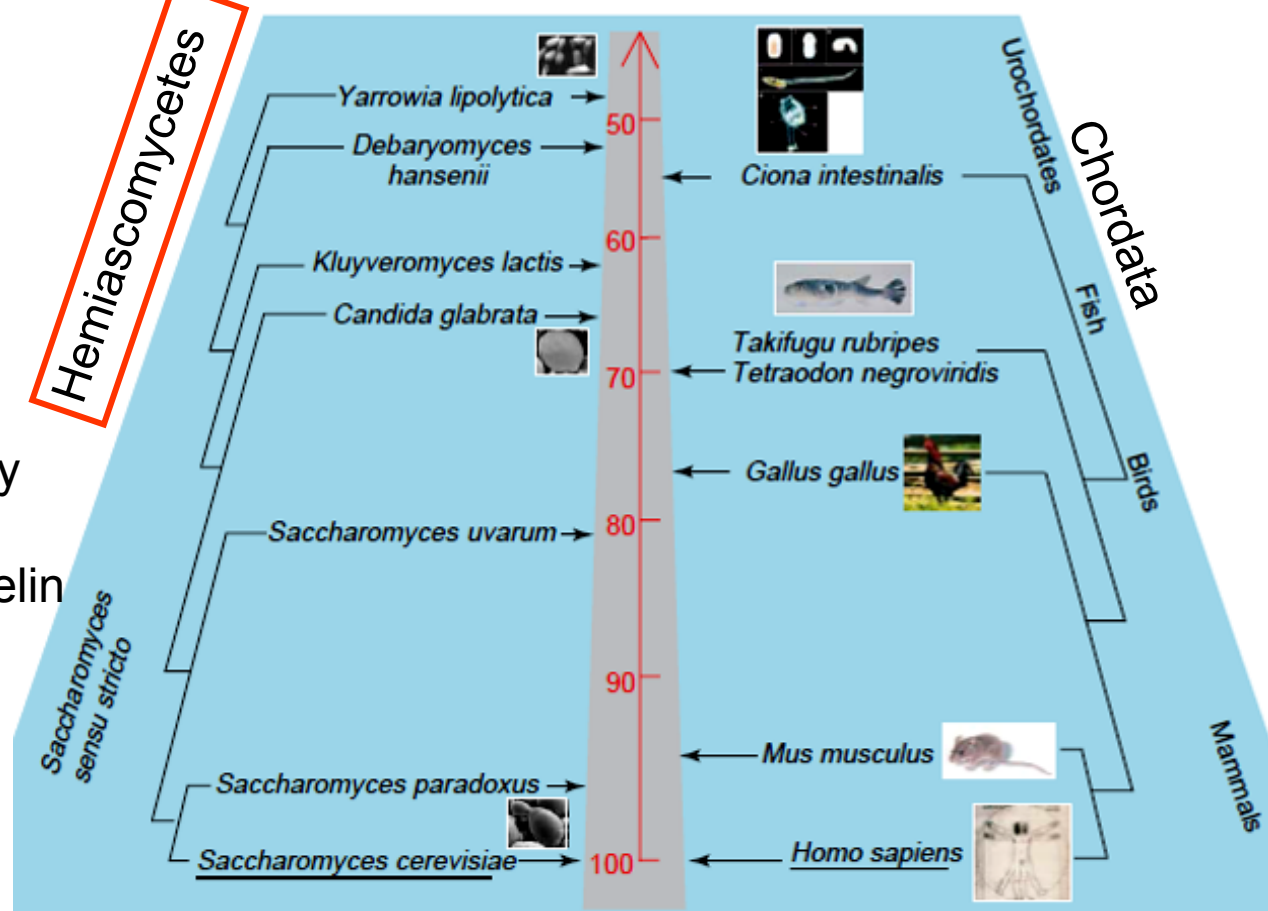
Přes značnou morfológickou podobnost vykazují kvasinky velké rozdíly v genomu:

genomy (sekvence) kvasinek ze vzdálenějších větví fylogenetického stromu ani srovnat nelze



Srovnání průměrné % shody sekvence proteinů v taxonech Hemiascomycotina a Chordata

Vychází převážně z analýzy rDNA; nověji srovnáním rozdílů sekvencí aminokyselin v ortologních proteinech.



Většinou jednobuněčné organismy (+ hyfy, + kolonie)

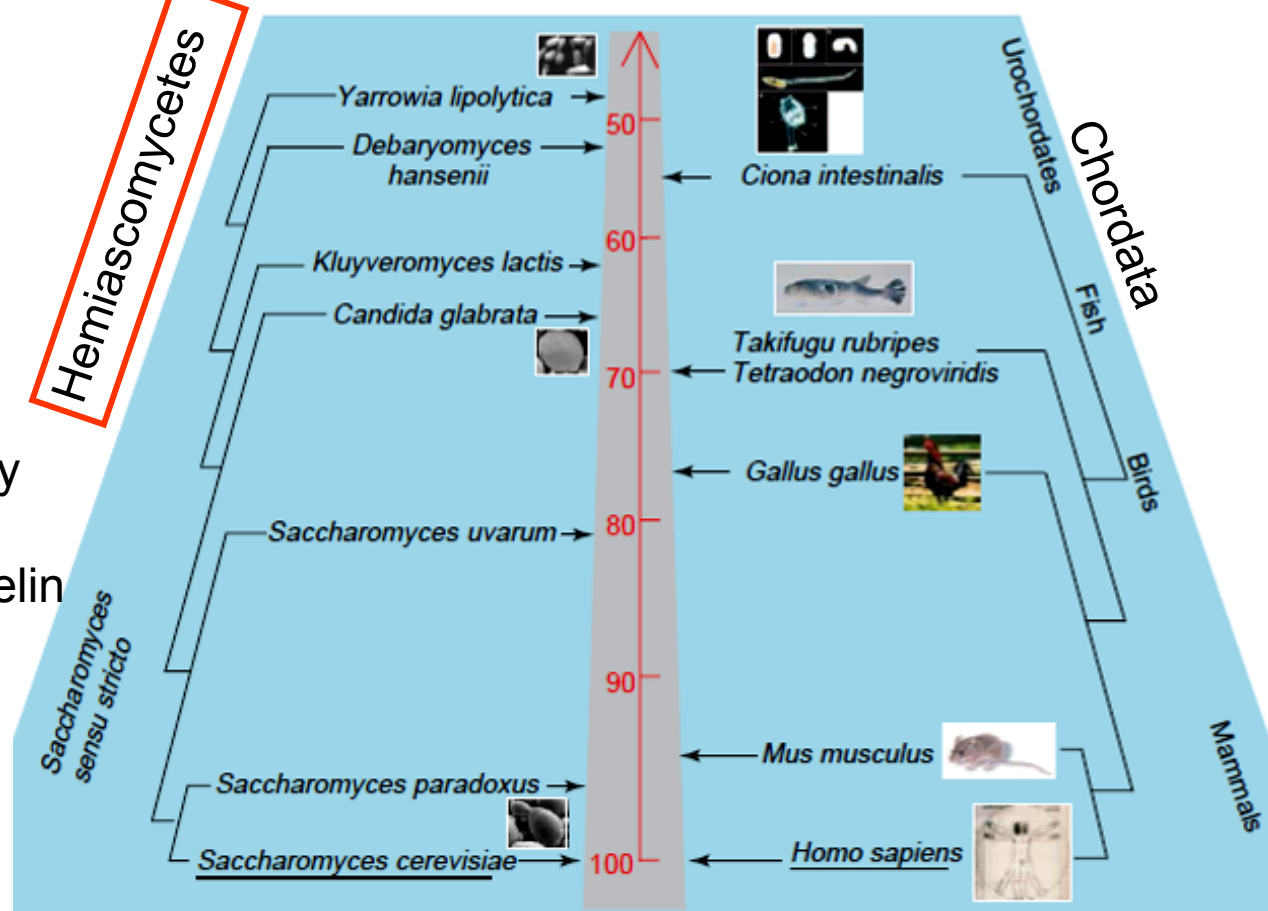
Nejčastěji kulaté až oválné (3-15 mikrometrů)

Množí se většinou pučením (+ jedině rod *Schizosaccharomces*: dělením - podlouhlé)

Zpracovávají zdroje uhlíku kvašením (vyjímky *Lipomyces* ...)

Srovnání průměrné % shody sekvence proteinů v taxonech Hemiascomycotina a Chordata

Vychází převážně z analýzy rDNA; nověji srovnáním rozdílů sekvencí aminokyselin v ortologních proteinech.



% odlišnost sekvence proteinů:

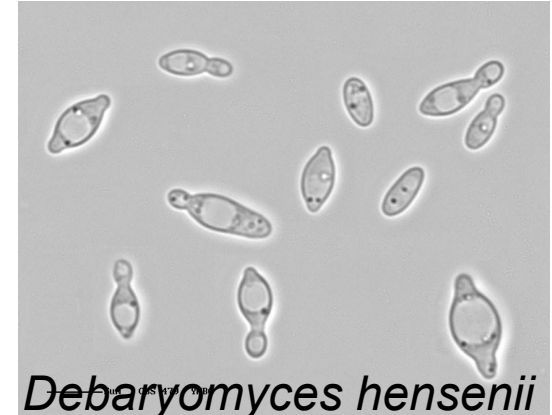
- *S. cerevisiae* a *C. glabrata* ~ člověk a ryba
- mezi druhy *S. sensu stricto* ~ mezi řády savců
- Proteiny člověka a hlodavců jsou si více podobné (lze rekonstruovat změny , jimiž genomy během evoluce od společného předka prošly) než proteiny druhů ze skupiny *sensu stricto*, mezi nimiž mohou vznikat životaschopné hybridy!

Potřebují vodné prostředí, kyslík a živiny

volná voda (nikoli chemicky vázanou) - Vodní aktivita = volně přístupná voda/fyziologicky využitelná voda = available water (a_w)

a_w = poměr tlaku vodních par nad substrátem a tlaku par destilované vody

- 0,95: *Pseudomonas*, *Escherichia*,..., většina bakterií
- 0,85: kvasinky (*Candida*, *Torulopsis*, *Hansenula*)
- 0,75: většina halofilních mikroorganismů
- 0,65: xerofilní plísně (*Aspergillus*)
- 0,4: potlačení růstu veškeré mikroflóry



Bakterie vyžadují vyšší hodnoty a_w (více dostupné vody) než kvasinky a plísně (z toho důvodu např. chléb napadají plísně, nikoliv bakterie)

Aktivitu vody lze snížit proslazováním nebo solením (marmelády, nasolování masa ... lze takto potlačovat i růst bakterií v kvasinkových izolátech)

Xerotolerantní kvasinky rostou i za zvýšeného osmotického tlaku – ($a_w=0.65$), rod *Zygosaccharomyces* (*rouxii*, *bailii*, *bisporus*) – rostou přednostně v potravinách s vysokým obsahem cukru či solí; ostatní (*S. pombe*, *Debaryomyces hansenii*, *Hansenula anomala*) vyšší osmotický tlak tolerují, ale lépe rostou za standardních podmínek (více polyolů, ATPázové pumpy),

Lipomyces mají pouzdro – při zvýšené koncentraci solí upravují jeho složení

Test: schopnost růstu na 50-70% glukose (většina pouze do 40 %) nebo na 10% NaCl

Podmínky růstu - kyslík

- Většina kvasinek je **fakultativně anaerobní** (vyžadují aspoň stopová množství kyslíku nezbytné pro syntézu některých esenciálních metabolitů – ergosterol, nenasycené mastné kyseliny)
 - fermentativní typy (*S.c.*, *S. p.*, *rod Brettanomyces*) - i v aerobních podmínkách fermentují (respirace i na glukóze představuje 10 % uhlíkového metabolismu)
 - respirativní typy (většina) – převládá energeticky výhodnější respirace nad fermentací
- **obligátorně aerobní** – nefermentativní typy (nemají alkoholdehydrogenázu - neprodukují ethanol) – rody *Lipomyces*, *Cryptococcus*, *Saccharomycopsis*
- teploty, při nichž mohou kvasinky růst:
 - **mezofilní** (0 – 48 °C) – většina druhů
 - **psychrofilní** (-2 – 20 °C) – voda, půda v Antarktidě (některé *Leucosporidium*, *Cryptococcus*, *Candida*)
 - **termofilní** (ne méně než 20 °C) – potenciální patogeny (*Candida*, *Cyniclomyces*)

Maximální teploty, které některé kvasinky přežívají, se pohybují kolem 57-59 °C
Laboratorní podmínky 25-30 °C (*S.c.* i *S.p.* – rostou i při 15 °C a přežívají krátkodobě 50 °C),
teplotně senzitivní mutanty (*ts*, 37 °C), chladově senzitivní mutanty (*cs*, 20 °C),

živiny

- Nejčastějším zdrojem uhlíku a energie jsou mono-, di- a oligosacharidy (jsou schopny hydrolyzovat i polysacharidy jako škrob, xylany či celulozu ... nebo methanol (*Pichia pastoris*), alkany apod.)
- Zdrojem dusíku jsou amonné ionty a aminokyseliny

Laboratorní podmínky:

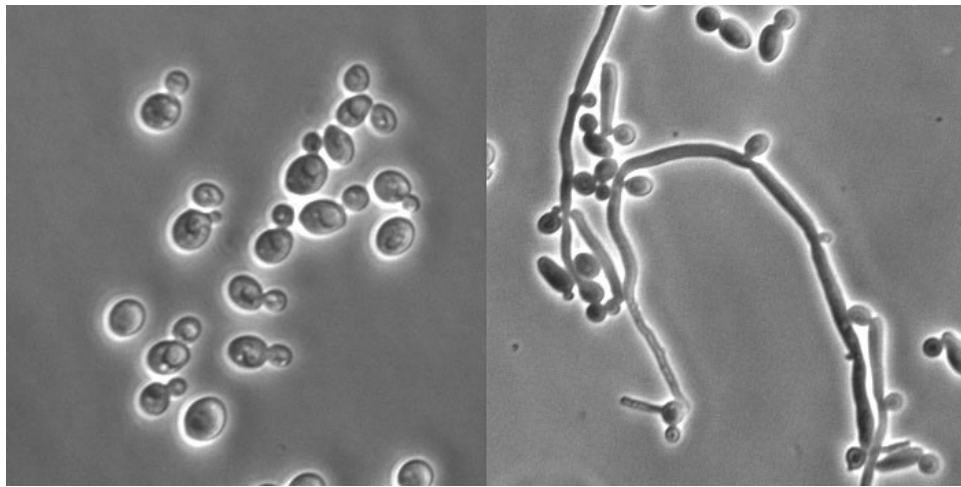
YPD/YES – bohaté médium = 10g/l yeast extract, 20g/l pepton, 20g/l dextrose (2%glukosa)/u *S.pombe* supplements: A, H, L, U, K

Sabouraudův agar (1892) = 10g/l pepton, 40g/l dextrose (4%glukosa), 20g/l agar, pH 5.6

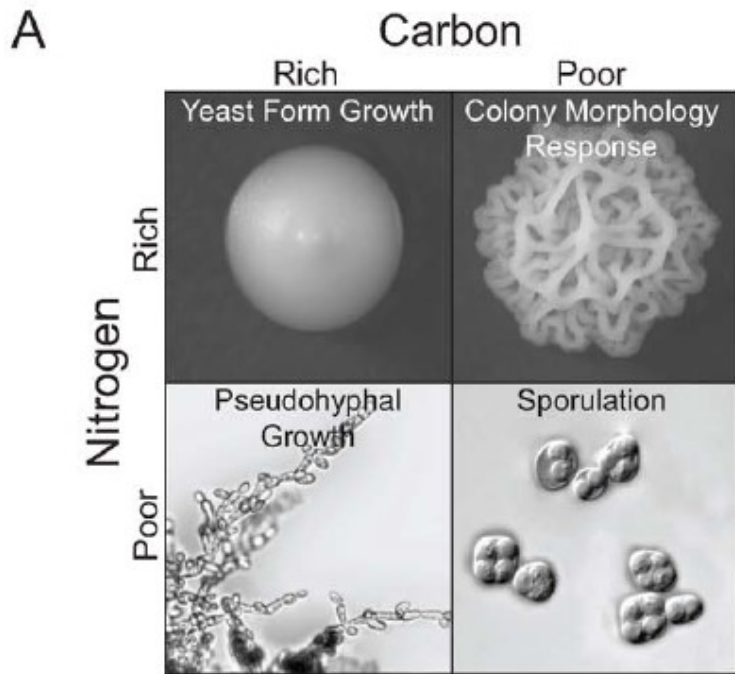
Syntetické SD médium = 6.7g/l yeast nitrogen base w/o amino acids (aminokyseliny se přidávají dle potřeby), 20g/l dextrose (2% glukosa)

Minimální agarová půda = 5g/l $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 1g/l KH_2SO_4 , 0,5g/l $\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$, 10g/l glukosa, 1ml/l Wickerhamův roztok, 20g/l agar

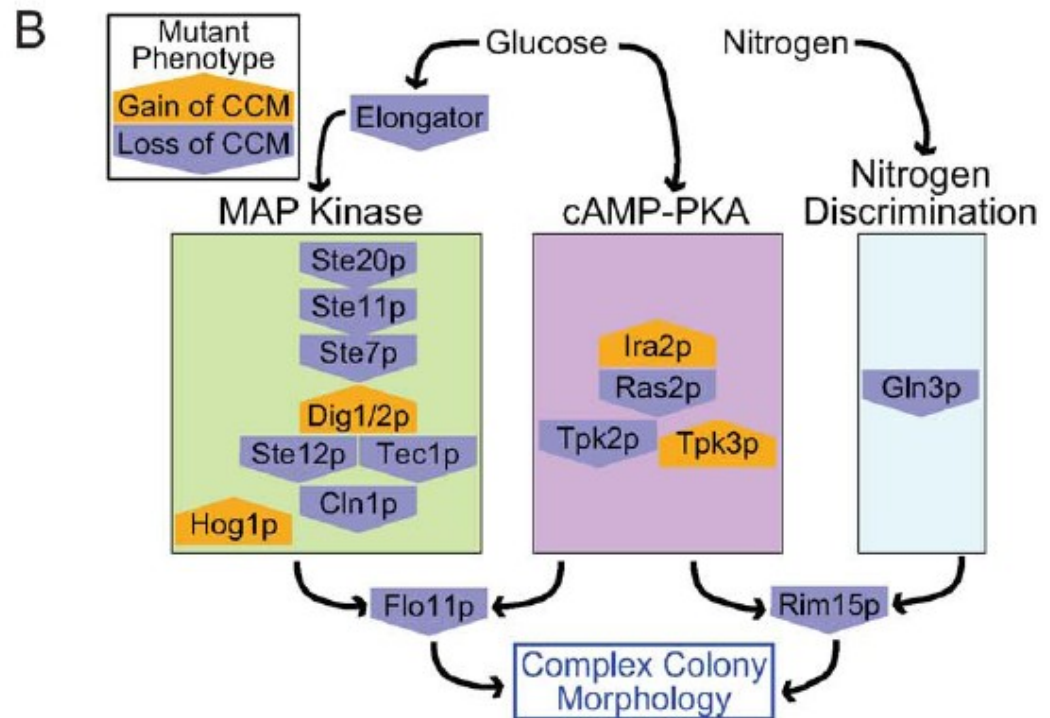
Wickerhamův roztok: 0.2mg biotin, 200mg inositol, 20mg riboflavin, 40mg thiamin, 40mg pyridoxin, 20mg kyselina p-aminobenzoová, 40mg kyselina nikotinová, 0,2mg kyselina listová (na 100ml vody)

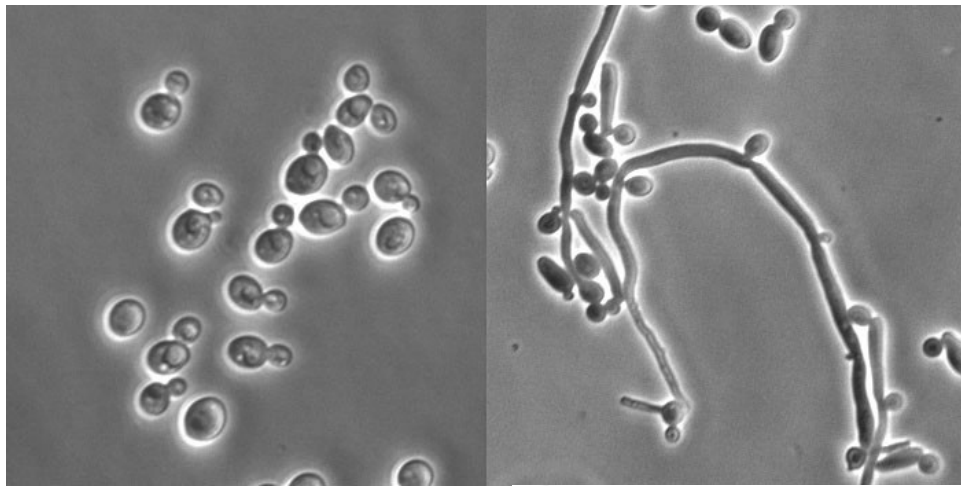


- Živiny určují morfologii/buněčnou formu – kvasinková nebo pseudohyfy nebo sporulace ...
- limitování klíčových živin spouští různé vývojové odpovědi
- zdroje uhlíku a dusíku jsou monitorovány signálními dráhami


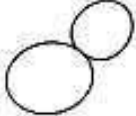
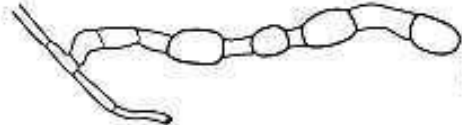
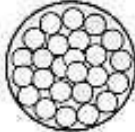
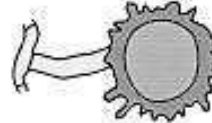
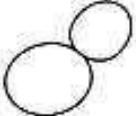
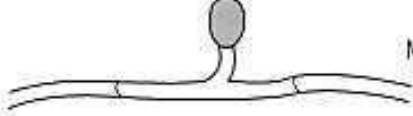





Sporulace/meiosa



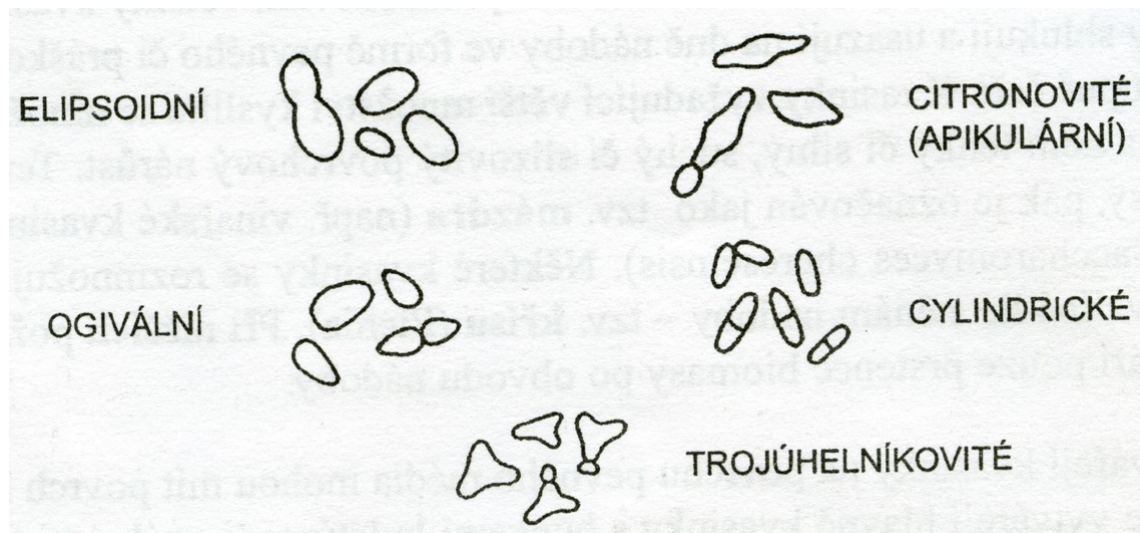
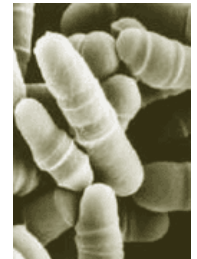


- Živiny určují morfologii/buněčnou formu – kvasinková nebo pseudohyfy nebo sporulace ...
- limitování klíčových živin spouští různé vývojové odpovědi
- zdroje uhlíku a dusíku jsou monitorovány signálními dráhami

Fungus	In vitro (25° C)	In vivo (37° C)
<i>Blastomyces</i>	 Mold	 Yeast
<i>Coccidioides</i>	 Mold	 Spherule
<i>Histoplasma</i>	 Mold	 Yeast
<i>Paracoccidioides</i>	 Mold	 Yeast
<i>Sporothrix</i>	 Mold	 Yeast

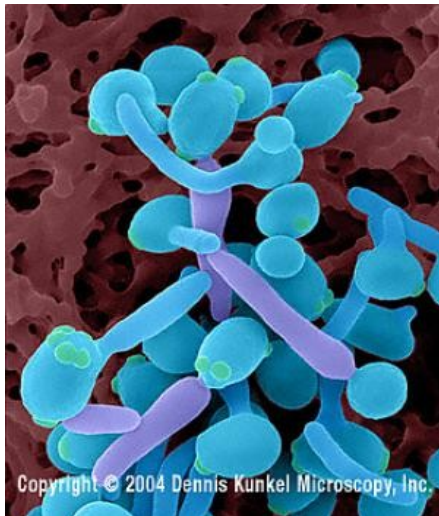
Kvasinková forma - morfologie

- za běžných podmínek (bohaté C i N zdroje) převládá kvasinková f.
- rotační elipsoid, kulaté, protáhlé – rod *Dipodascus* až 130 mikrometrů
- 3-15 mikrometrů (bakterie < kvasinky < savčí buňky)
- u jednoho druhu (haploidní < diploidní < polyploidní)
- vegetativní rozmnožování:
 - pučení – monopolární (rod *Malassezia*), bipolární (střídavě na obou pólech = citronovitý tvar) nebo multipolární (*Saccharomyces*, kdekoli, ale nikdy ne na stejném místě), na sterigmě (pupen spojen s mateřskou buňkou úzkou stopkou)
 - jedině *Schizosaccharomces* přehrádečné dělení
 - Zvláštní tvar má za některých kultivačních podmínek rod *Trigonopsis*

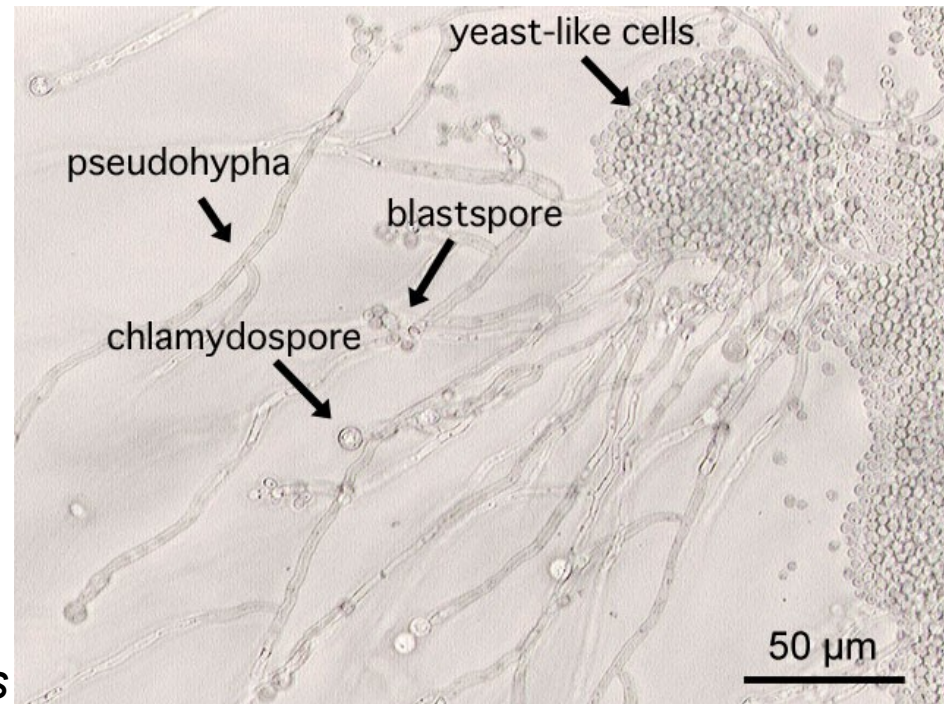


Pseudohyfy ...

- při nedostatku dusíku se diploidní buňky protahují a vytváří pseudohyfy – vrůstají do agaru
- unipolární pučení, mateřské a dceřiné buňky zůstávají spojené (nedojde k úplnému oddělení dceřinné buňky)
- Právě **hyfy** vytváří při protahování septa/přepážky
- **chlamydokonie** – kulaté, silnostěnné, na koncích nebo po stranách hyf
- Na koncích (i mezi buňkami) mohou vznikat **spory** (blastospory), které se dále množí pučením (odlišení *C. albicans* od *C. dubliniensis*)
- Nevykazují tak vysokou odolnost jako u bakterií



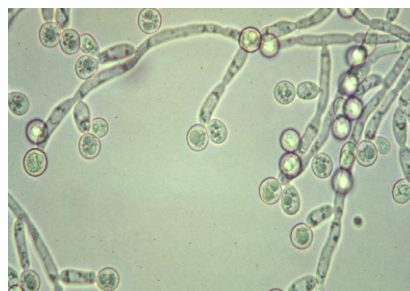
Candida albicans



Spory

- při nedostatku dusíku v kombinaci s ne-fermentovatelným uhlíkatým zdrojem dochází k indukci sporulace a meiosis

C. dubliniensis:
nadbytek
chlamydospor na
koncích krátkých
pseudohyf



C. albicans: na delších
hyfách či pseudohyfách jen
jedna terminální
chlamydospora

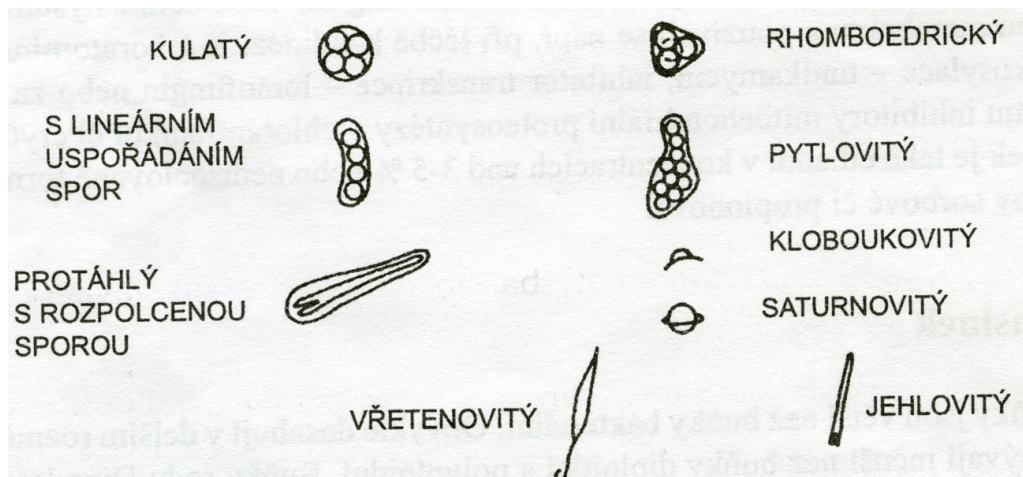
- Haploidní spory vřeckovýtusných kvasinek vzniklé při sporulaci diploidních buněk (pohlavní rozmnožování)

Saccharomyces

Schizosaccharomyces

Metschnikowia

Nematospora

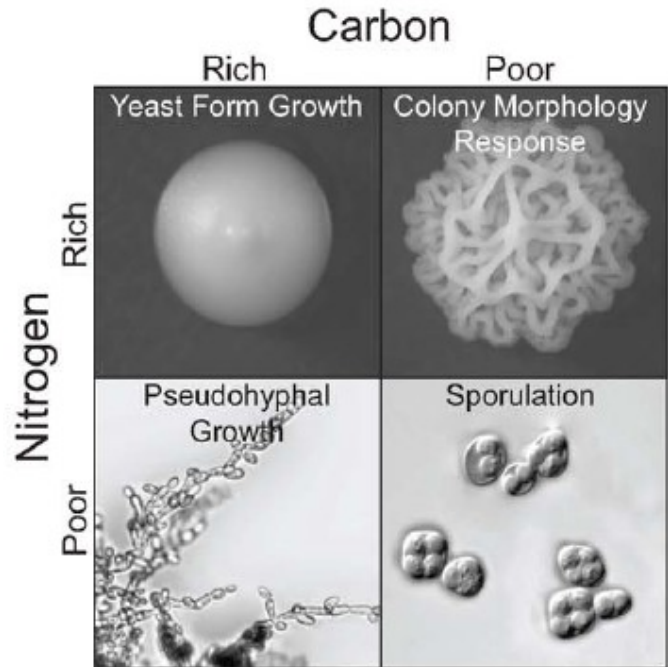


Lipomyces

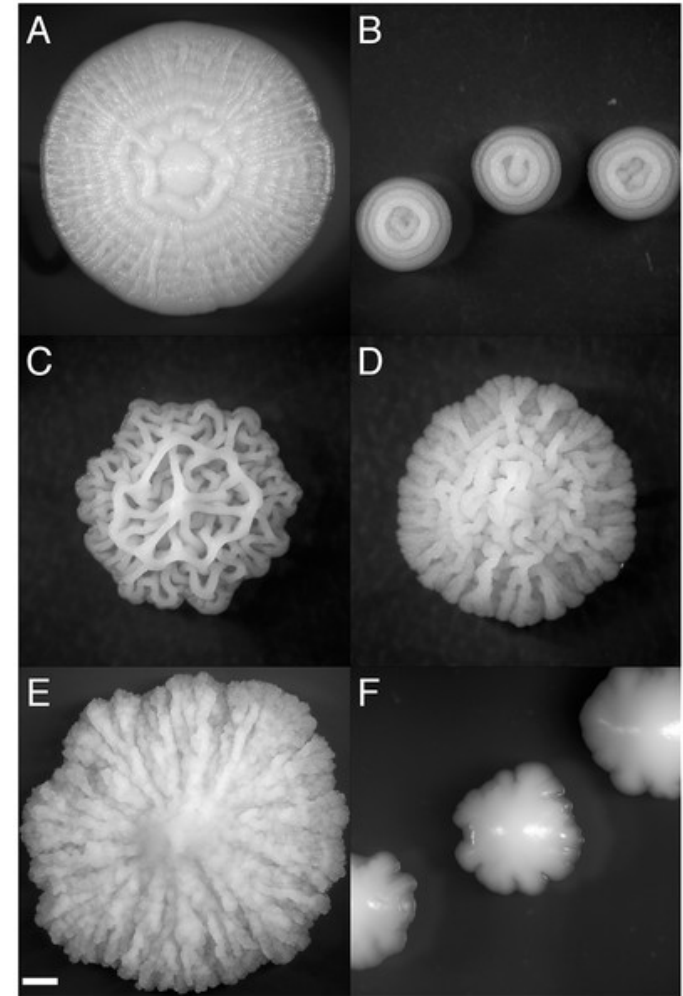
Hanensula

- různé vývojové programy (formy) vedou k mnoho-buňčným strukturám
- tvorba biofilmu na pevném podkladu se sníženým množstvím agaru (málo glukózy)
- naopak tvrdý agar a UV záření indukuje „stopkování“
- různé tvary kolonií:
 - hladké i „fluffy“ kolonie – kulaté a oválné buňky (*S.c.*) – není určující faktor
 - drsné kolonie – protáhlé buňky (*Pichia*)
 - slizovité kolonie – pouzdra (*Lipomyces*)
 - obvykle krémová barva –
- červený pigment (*Rhodotorula*, *Sporidiobolus*)
- černý pigment (melanin – *Aureobasidium*)
- používá se např. pro odlišení *C.d.* od *C.a.*

(kultivace na Staibově agaru při teplotě 37 C)

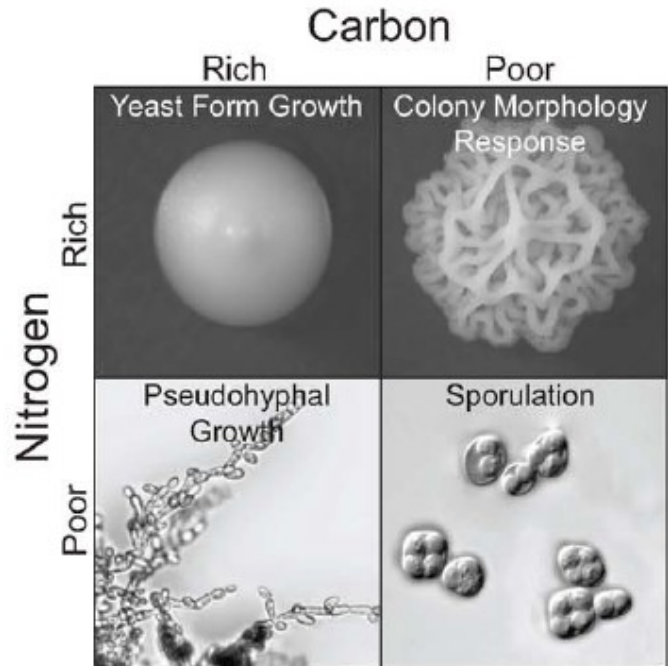


Kolonie

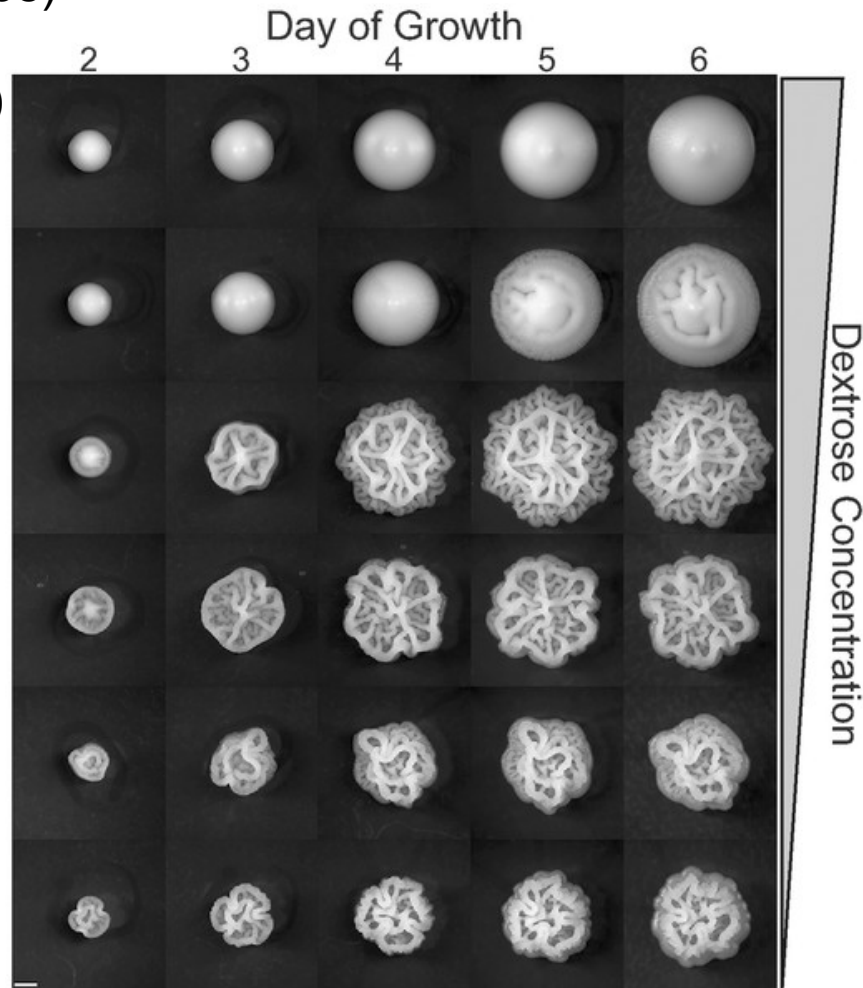


- různé vývojové programy (formy) vedou k mnoho-buňčným strukturám
- tvorba biofilmu na pevném podkladu se sníženým množstvím agaru (málo glukózy)
- naopak tvrdý agar a UV záření indukuje „stopkování“
- různé tvary kolonií:
 - hladké i „fluffy“ kolonie – kulaté a oválné buňky (*S.c.*) – není určující faktor
 - drsné kolonie – protáhlé buňky (*Pichia*)
 - slizovité kolonie – pouzdra (*Lipomyces*)
 - obvykle krémová barva –
- červený pigment (*Rhodotorula*, *Sporidiobolus*)
- černý pigment (melanin – *Aureobasidium*)
- používá se např. pro odlišení *C.d.* od *C.a.*

(kultivace na Staibově agaru při teplotě 37 C)

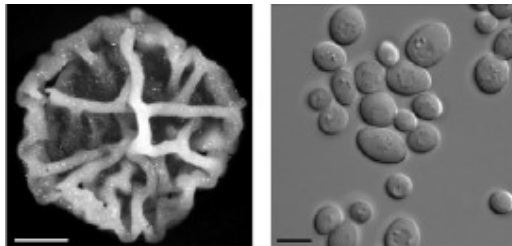


Kolonie

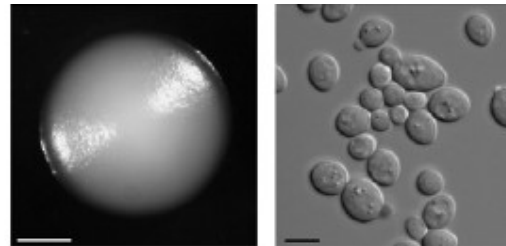


Granek and Magwene, PLoS Genet (2010)

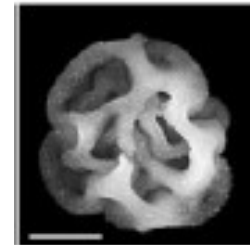
Morfologie kolonií



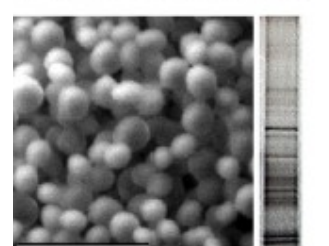
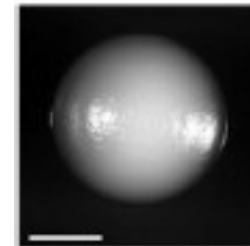
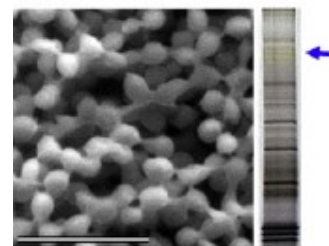
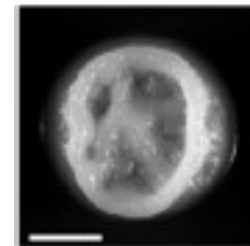
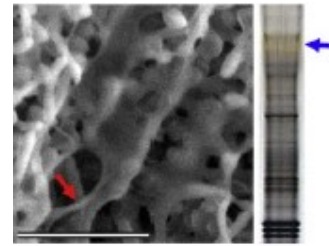
wild type



$\Delta flo11$

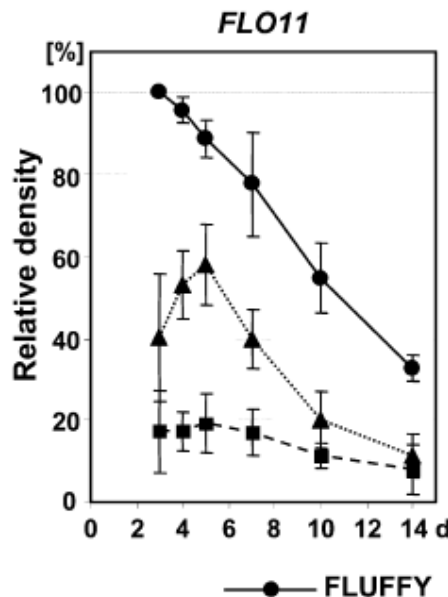
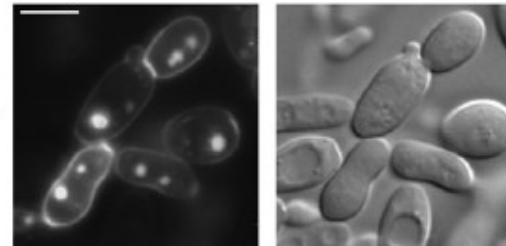


ECM



- buněčná adheze je důležitá pro všechny specifické morfologie (... biofilm, flokulace)
- závisí na FLO11 (adhesinu – glykoprotein – faktor důležitý pro flokulaci, biofilm, pseudohyfy)
- závisí na ECM (extracellular matrix tj. glykoproteiny)
- ECM zachycuje vodu a chrání kolonii před vyschnutím

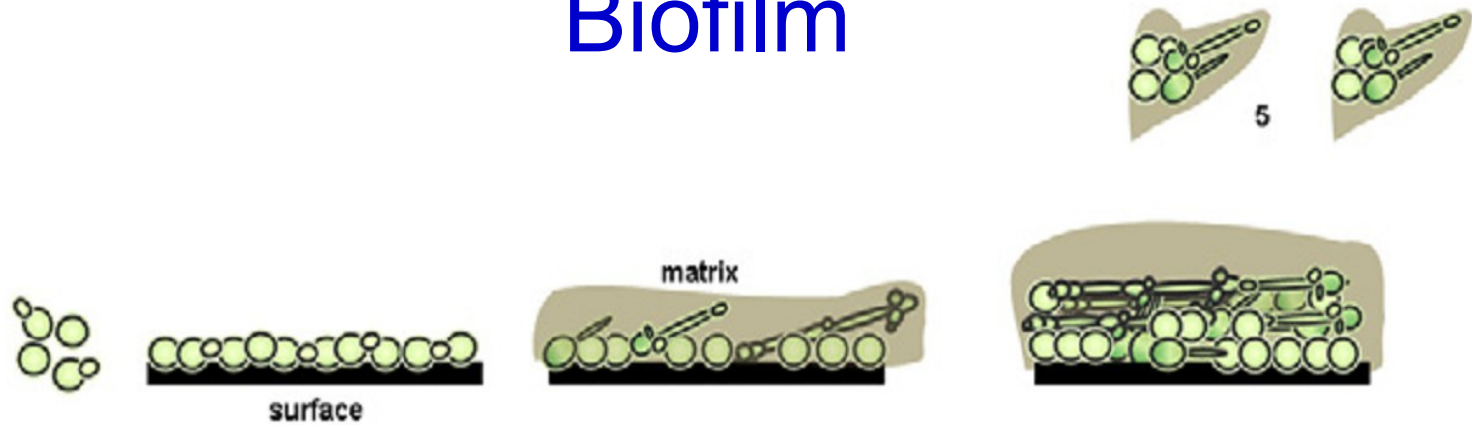
Flo11p-GFP



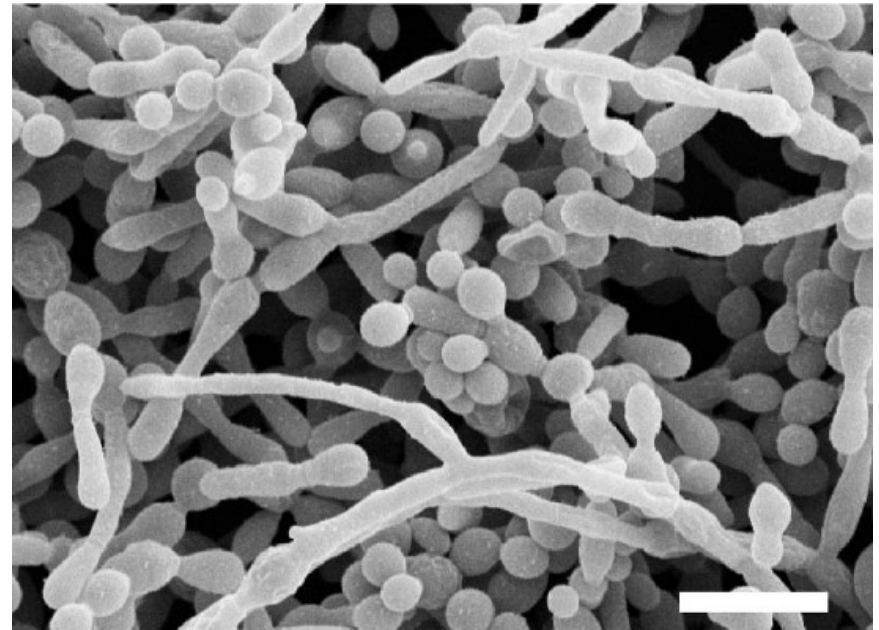
Stovicek et al, Fungal Gen Biol (2010)

Laboratorní kmeny jsou hladké
 (např. S288C - Genotyp: *MAT α*
SUC2 gal2 mal mel flo1 flo8-1 hap1)

Biofilm

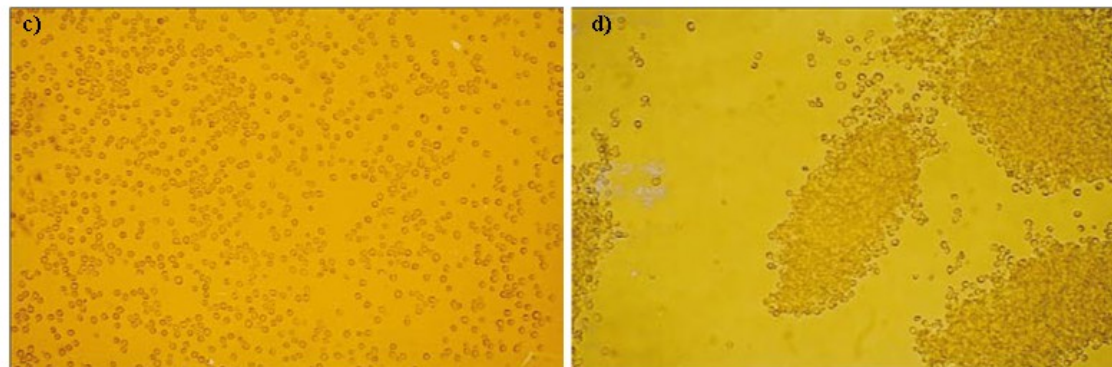
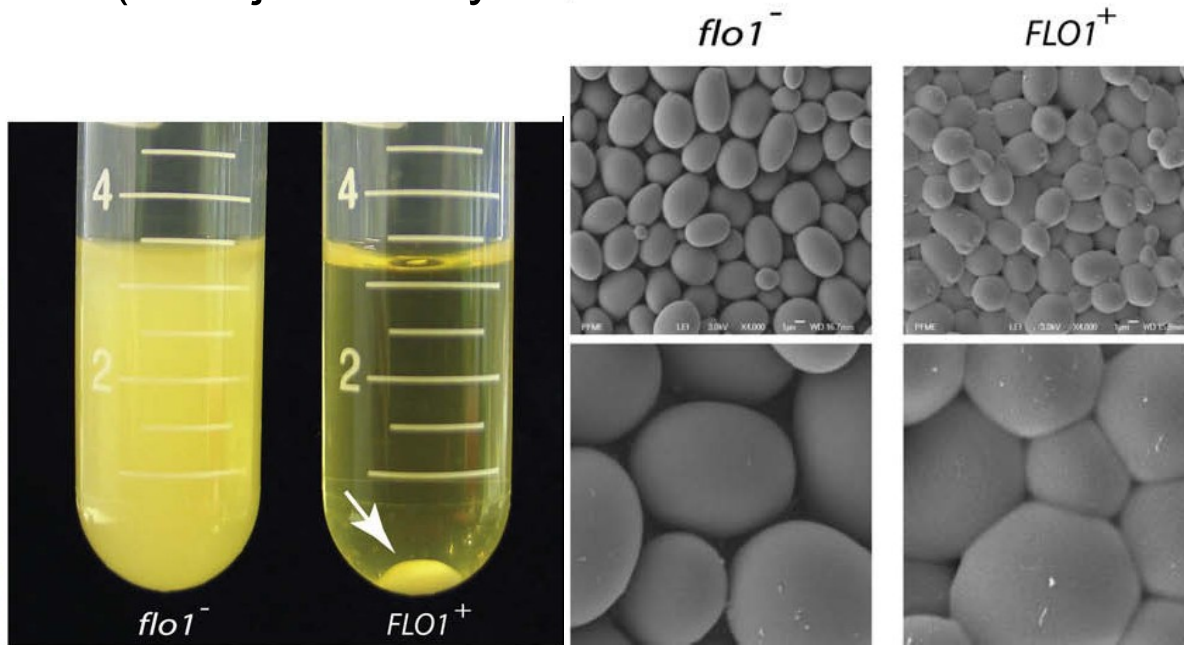


- tvořen matrix s mikrokoloniemi kvasinek, hyfami a pseudohyfami (komplexní struktura)
- více rezistentní než planktonické buňky
- významně přispívá k rozvoji a odolnosti kandidóz (rezistentní k antimykotickým látkám)
- ECM a adhesiny/flokuliny *FLO1*, *FLO11* jsou potřebné pro tvorbu biofilmu
- váží např. peptidy na povrchu hostitelské buňky (*C. albicans* = *ALS2*, 3, 6, 7, 9 exprimovány při vaginální infekci zatímco *ALS1*, 2, 3, 4, 5, 9 exprimovány při orální infekci)



Flokulace

- reverzibilní schopnost kvasinek shlukovat se, tvořit větší celky (vločky, floky); odpověď na stres
- flokulace je významná vlastnost využívaná např. při produkci piva (snižuje náklady na filtraci piva)



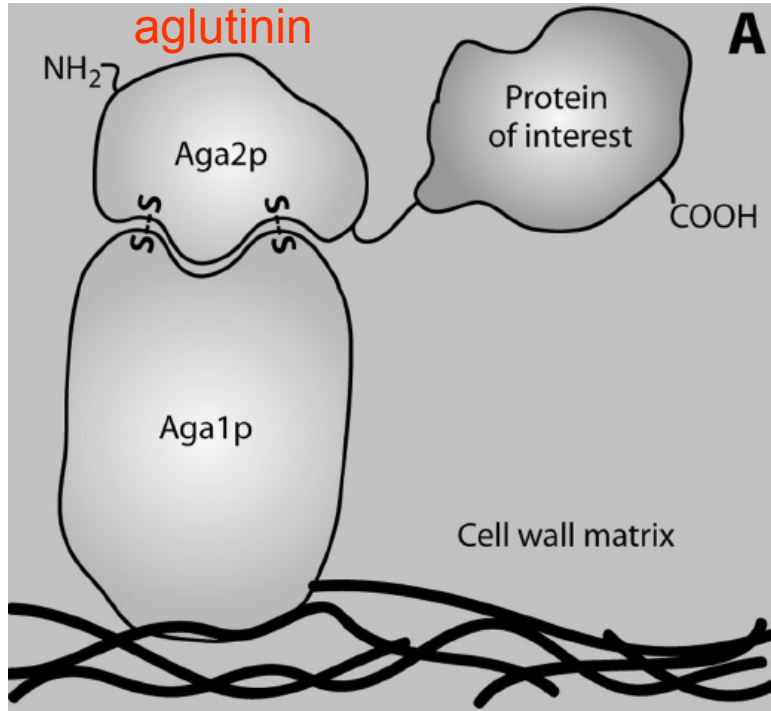
- ovlivněno složením média, genetickou výbavou kmene (skupina *FLO* genů), teplotou, stavbou a morfologií buňky ...

- Flo1p váže manany na povrchu buněk stejného druhu (*S.c.*) => agregace
- NewFlo váže manosu i glukosu => glukosa v mediu inhibuje agregaci – teprve po přeměně cukrů na etanol se váže na buněčnou stěnu ostatních buněk a dochází k vločkování

Smukalla a kol., 2008, Cell

Verstrepen, 2006, Mol. Microbiol

Yeast surface display



- His-His-His-His-His-His
(chelatuje Ni, Cu, Co kovy)

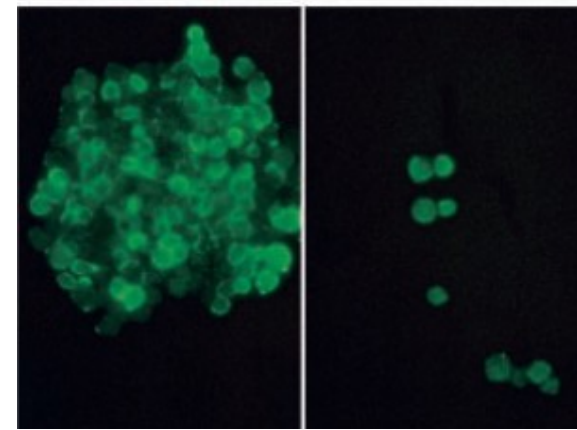
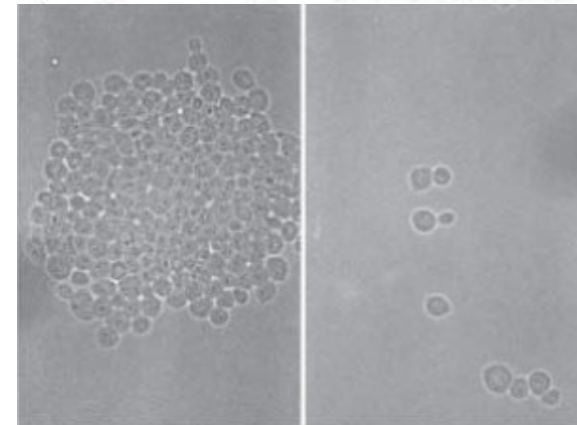
- *GTS1* transkripční faktor
spouštějící aglutinaci pod
CUP1 promotorem
(další přednášky)

- biosorbce &
sedimentace



GPMH6/pMCG1
(100 μM CuSO₄)

GPMH6/pMCG1
(without CuSO₄)



- hybrid Aga2 (aglutininy nebo Flo1 ...) s testovaným proteinem

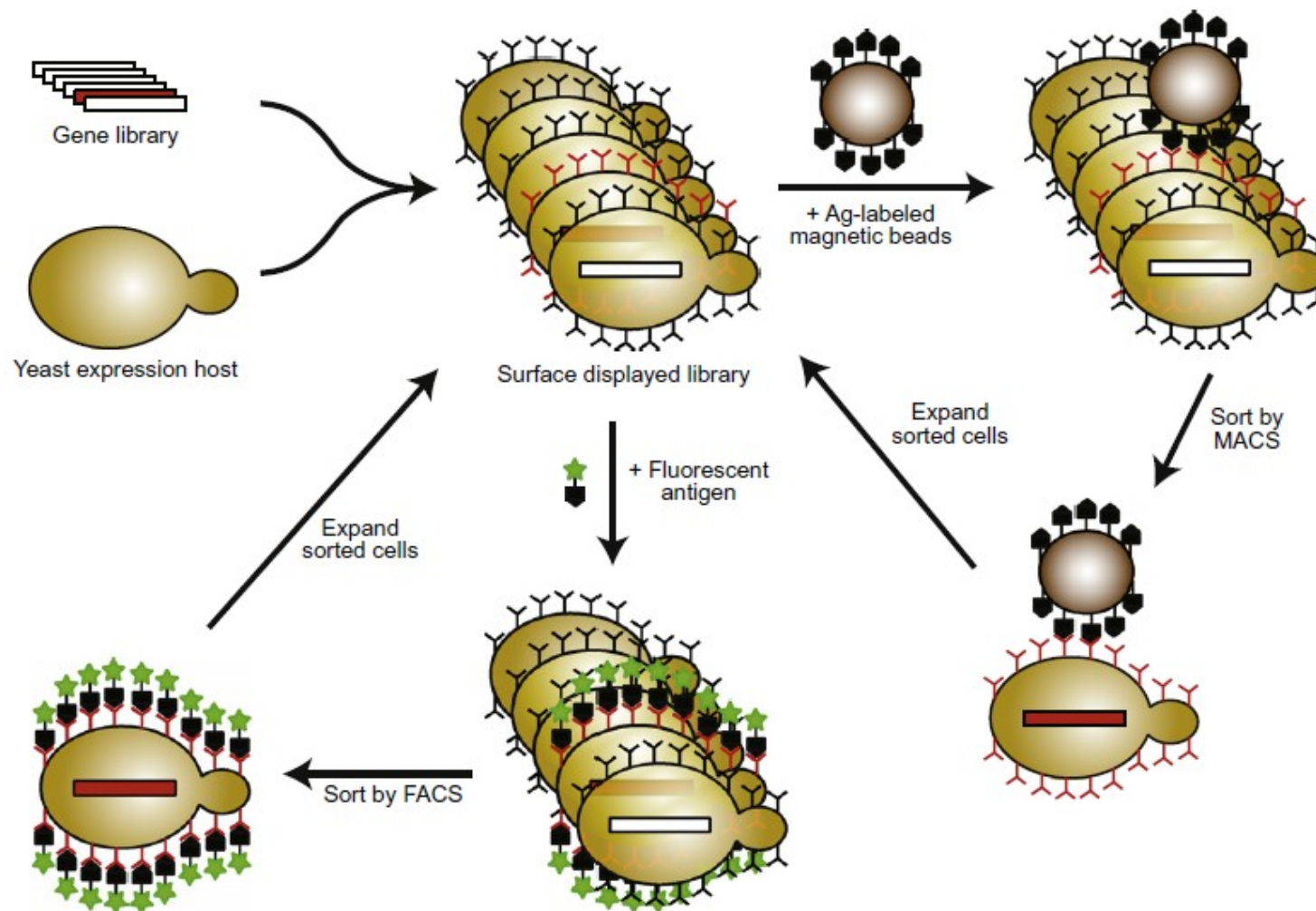
- exprese eukaryotních proteinů v kvasince (podobné mechanismy ... posttranslační modifikace) – knihovny lidských cDNA (i protilátek z pacientů)

- využití i pro biotechnologie – vychytávání těžkých kovů (dekontaminace)

Kuroda et al, Appl Microbiol Biotechnol (2002)

Pepper et al, CCHTS (2008)

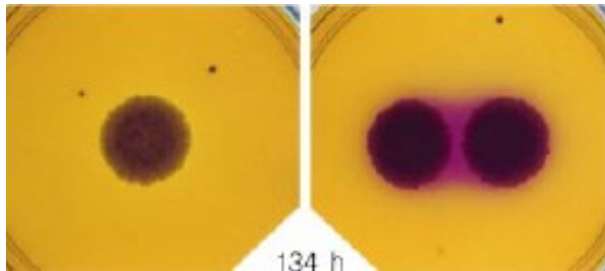
YSD - testy antigen/protilátka



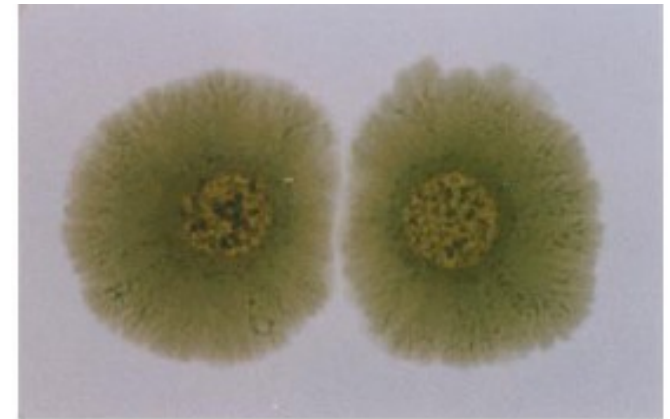
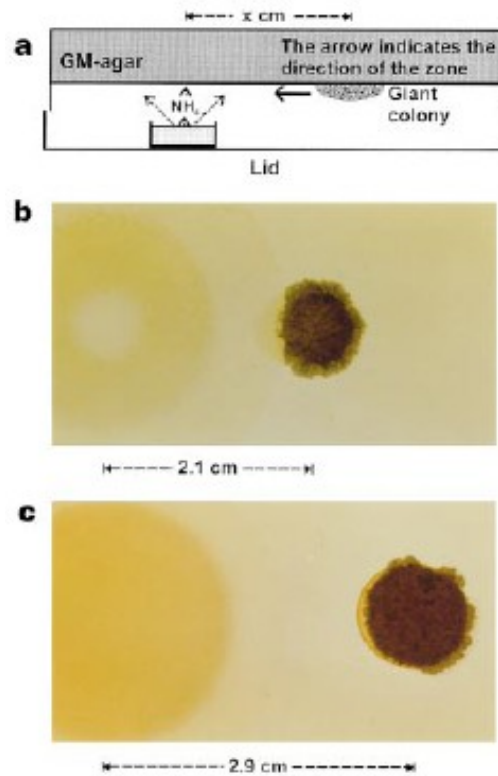
- nabohacení i slabších interakcí

Komunikace kolonií

Kvasinkové kolonie spolu „komunikují“ pomocí amoniaku – inhibuje růst sousední kolonie (kolonie *S. cerevisiae* produkují amoniak po 10 dnech růstu)



Aktivní inhibice růstu
sousední kolonie nikoli
(pasivní) důsledek
spotřebování živiny

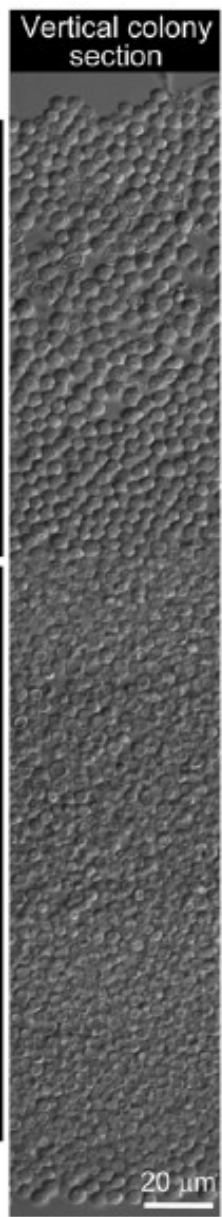


kolonie přeměrovává růst
sousední kolonie –
nekompetují o živiny -

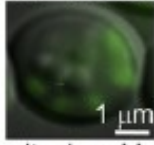
A

U cells

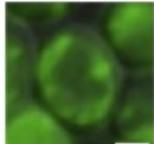
L cells

**B**

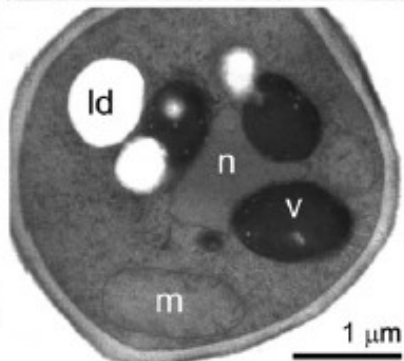
U cells



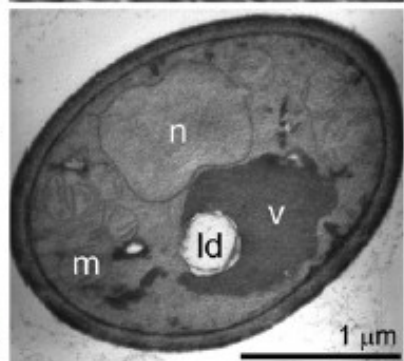
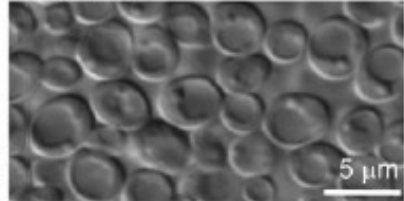
L cells



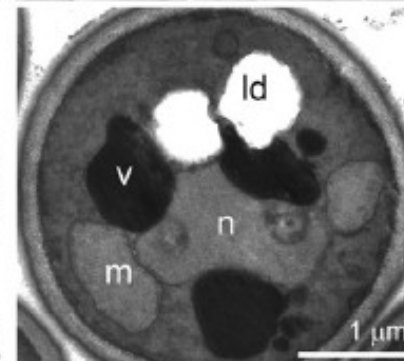
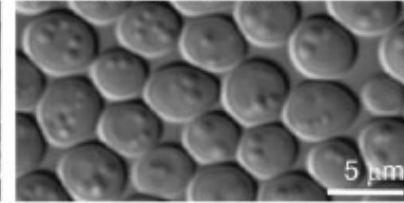
U cells



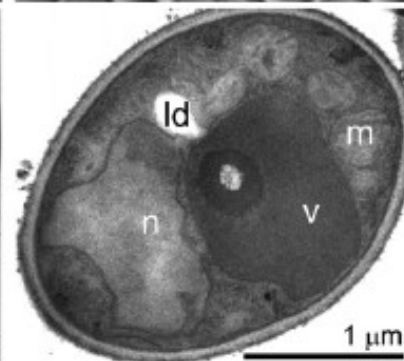
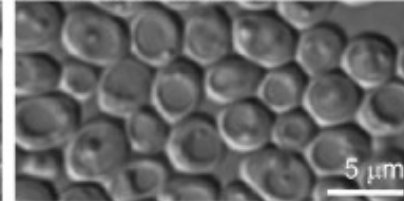
L cells

**C**

Fraction 3 cells



Fraction 1 cells



- větší buňky (4μm)
- malé mitochondrie a vakuoly
- více lipidových váčků

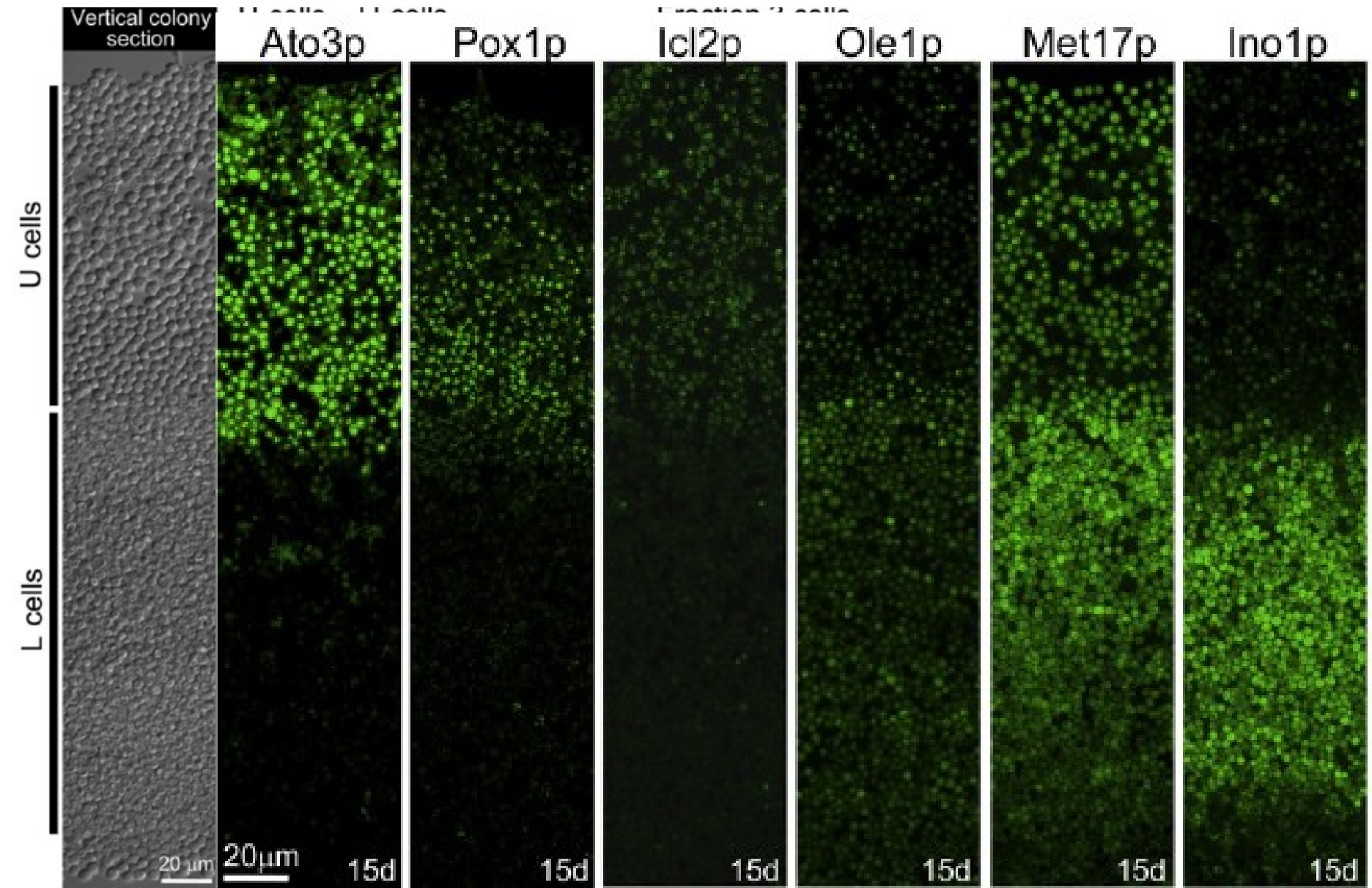
rozdíly jsou patrné i na expresní úrovni proteinů

- menší buňky (3μm)
- velké mitochondrie i vakuoly (aktivnější respirace a více ROS)

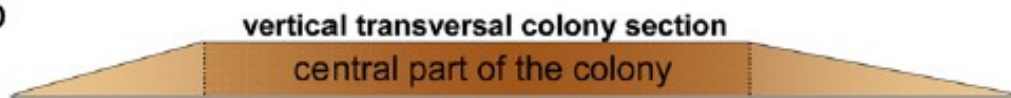
D

vertical transversal colony section
central part of the colony

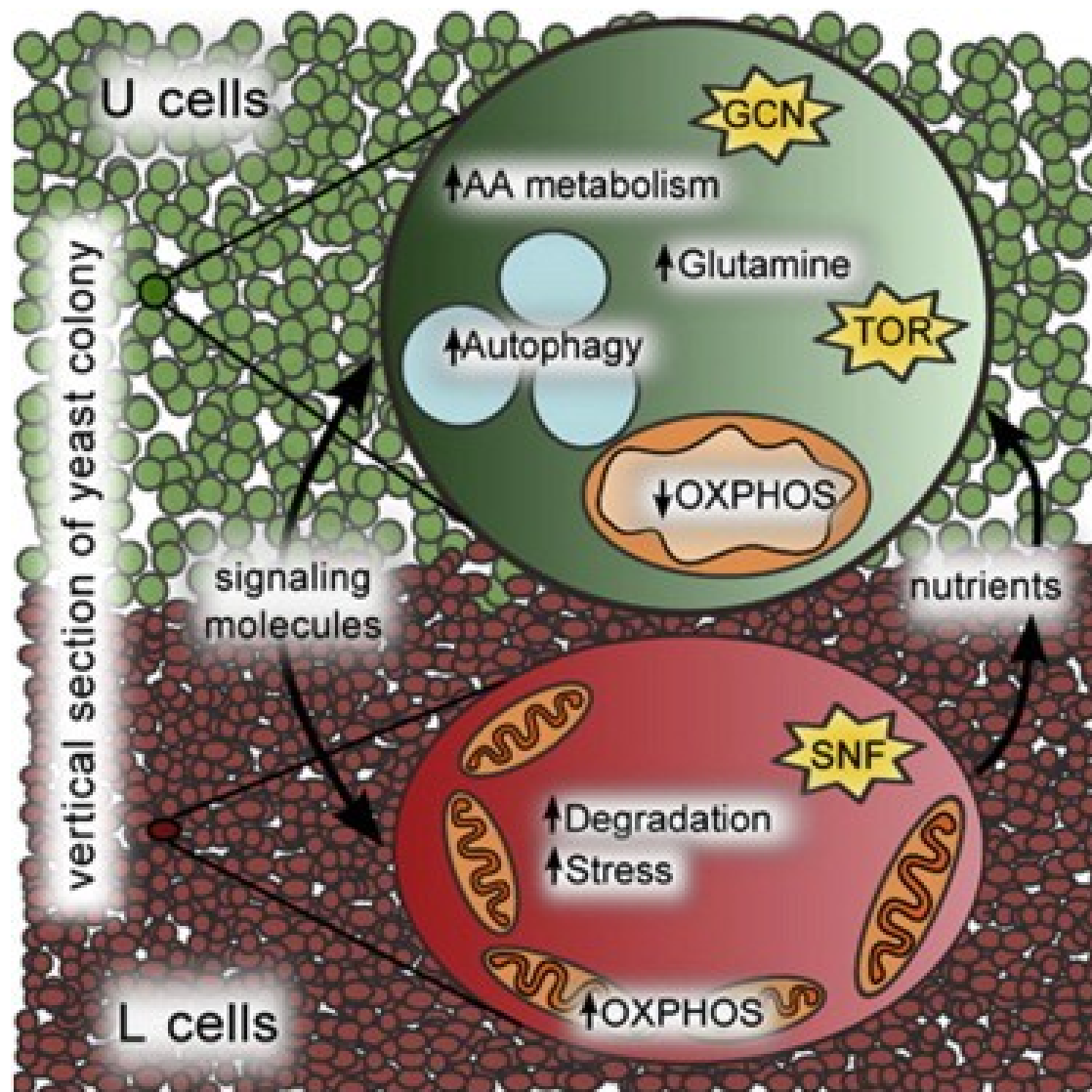
rozdíly jsou patrné i na expresní úrovni proteinů



D



Diferenciace *S.cerevisiae* v kolonii



U (upper) buňky - aktivní glutaminem-indukovanou TOR dráhu, sníženou respiraci (málo mitochondrii), AMK-sensing systém (Gcn4) a vyšší „turnover“ AMK (souvisí s produkcí amoniaku), produkují amoniak pro komunikaci kolonii

- využívají živiny uvolněné z L buněk (autofagie)
- jsou odolnější vůči stresu – déle přežijí
- schopné proliferovat (po 10 dnech)

L (lower) buňky – podléhají více stresu, hladoví (přestože jsou blíže mediu), aktivují degrační mechanismy (zásobují U buňky)

Killer toxiny

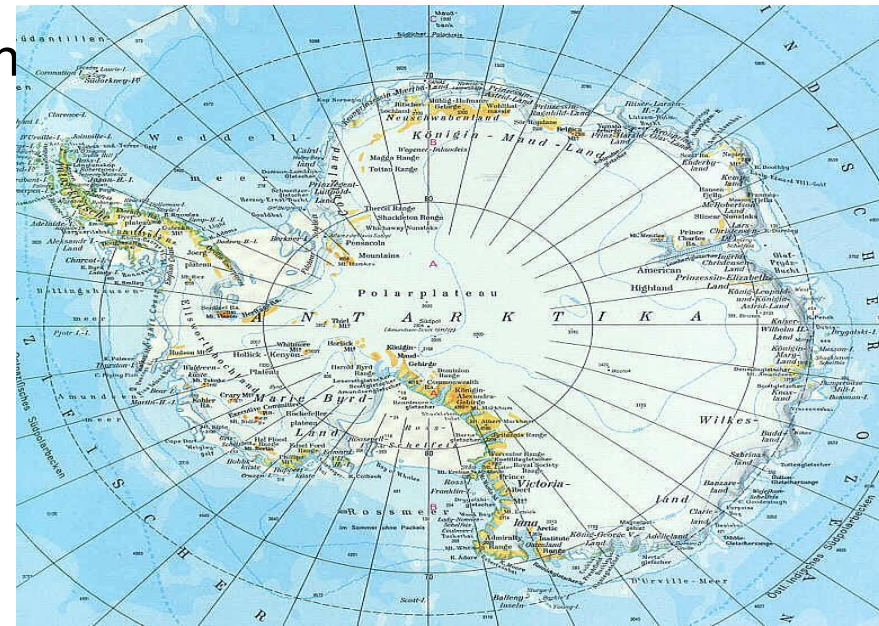
- Některé kmeny *S.cerevisiae* produkují tzv. killer toxiny (proteiny a glykoproteiny sekretované do prostředí), které jsou letální pro citlivé kvasinky i bakterie; ekologická výhoda (výhoda pro vinaře – nepřerostou je cizorodé kmeny)
- Poprvé pozorováno v roce 1963 (Makower a Bevan) kvasinky zabíjí podkladový kmen (K1=laboratorní, K2 a K3=vinařské kvasinky)
- Kvasinky ze stejné skupiny se navzájem nezabíjí (různé skupiny ano)
- Geny jsou kódovány na dsRNA obalené ve „virus-like particles“ (VLP, připomínají savčí dsRNA viry) – kódují obalové, replikační (ale potřebují buňku k replikaci ...), transkripční sekvence a toxin
- Samotné VLP nejsou infekční ani toxické (lze je přenést konjugací buněk nebo fúzí protoplastů)
- Toxin je sekretován a váže se na buněčné stěny (β -1,6-glukany) - způsobuje perforace/póry v cytoplasmatické membráně – ztráta iontů, potenciálu ... buňka hyne
- *Kluyveromyces lactis*, *Pichia membranifaciens* – lineární dsDNA (v cytoplasmě, pGK11), bez kapsidy, toxin se váže na chitin (chitinásová aktivita)
- *Hansenula mrakii* ... - geny na chromosomech, toxin inhibuje syntézu β -1,3-glukanu (v místě růstu pupenu)

Table 2. Killer activity of *P. membranifaciens* CYC 1086 and CYC 1106 against yeasts and fungi of biotechnological interest

Sensitive strain	Killer activity		Sensitive strain	Killer activity		Sensitive strain	Killer activity	
	1086	1106		1086	1106		1086	1106
<i>S. cerevisiae</i> SGV	–	–	<i>B. bruxellensis</i> 1D007	3+	–	<i>Pichia anomala</i> 1114 ^T	–	–
<i>S. cerevisiae</i> CEG	–	–	<i>B. bruxellensis</i> D013	1+	–	<i>Pichia membranifaciens</i> CYC 1070	2+	–
<i>S. cerevisiae</i> VRB	–	3+	<i>B. bruxellensis</i> D014	1+	–	<i>Aspergillus</i> spp. 27	–	–
<i>S. cerevisiae</i> NEM	–	–	<i>B. bruxellensis</i> D015	1+	–	<i>A. carbonarius</i> B MUM	–	–
<i>S. cerevisiae</i> 2056	–	2+	<i>B. bruxellensis</i> D017	2+	–	<i>A. ochraceus</i>	–	–
<i>S. cerevisiae</i> BM45	–	3+	<i>B. bruxellensis</i> D018	1+	–	<i>A. oryzae</i>	–	–
<i>S. cerevisiae</i> 2323	–	–	<i>B. bruxellensis</i> D019	1+	–	<i>A. tubingensis</i>	–	–
<i>S. cerevisiae</i> ALB	–	3+	<i>B. bruxellensis</i> D027	1+	–	<i>Fusarium culmorum</i>	–	–
<i>S. cerevisiae</i> SLO	–	4+	<i>B. bruxellensis</i> D028	1+	–	<i>F. graminearum</i> NRRL 28525	–	–
<i>S. cerevisiae</i> VN	–	–	<i>B. bruxellensis</i> D029	2+	–	<i>F. graminearum</i> NRRL 29020	–	–
<i>S. cerevisiae</i> 71B	–	4+	<i>B. bruxellensis</i> D031	1+	–	<i>F. pone</i>	–	–
<i>S. cerevisiae</i> CS2	–	1+	<i>B. bruxellensis</i> D032	1+	–	<i>F. proliferatum</i> MM 1-2	2+	–
<i>S. cerevisiae</i> CM	–	–	<i>B. bruxellensis</i> D033	1+	–	<i>F. proliferatum</i> MM 3-1	2+	–
<i>S. cerevisiae</i> HAY	–	–	<i>B. bruxellensis</i> D035	2+	–	<i>F. proliferatum</i> MM 6-2	–	–
<i>S. cerevisiae</i> FS	–	3+	<i>B. bruxellensis</i> D036	1+	–	<i>F. reticuloides</i> MM 6-3	–	–
<i>S. cerevisiae</i> 16	–	–	<i>B. bruxellensis</i> D038	1+	–	<i>F. reticuloides</i> MM 7-3	–	–
<i>S. cerevisiae</i> 17	–	3+	<i>Debaryomyces hansenii</i> 1021	–	–	<i>F. sporotrichoides</i> ITEM 550	–	–
<i>S. cerevisiae</i> 18	–	3+	<i>D. hansenii</i> 1244	–	–	<i>Botrytis cinerea</i> 20003	–	3+
<i>S. cerevisiae</i> 19	–	–	<i>D. hansenii</i> 10388	–	–	<i>B. cinerea</i> 20004	–	1+
<i>S. cerevisiae</i> SC1	–	4+	<i>D. hansenii</i> 10386	–	–	<i>B. cinerea</i> 20005	–	2+

- Kontaminace vinných kultur kmenem *Brettanomyces bruxellensis* může být potlačena *P.m.*
- Význam při ochraně průmyslových kmenů (proti kontaminaci – odolné vůči toxinu a zabijí kontaminanty)
- v léčbě (některé *S.c.* killer kmeny zabijí kmeny *C.a.*, *C. podzolicus* zabijí *C.n.*)

Určení (nových) kmenů v nových lokalitách



Určení kmene v klinických izolátech (odlišení patogenních kmenů *Candida*...)



Kontrola čistoty kmene pro biotechnologické procesy (*Saccharomyces cerevisiae* – pivo)