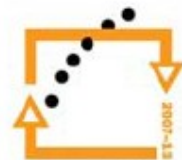




MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



OP Vzdělávání
pro konkurenceschopnost



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

TENTO PROJEKT JE SPOLUFINANCOVÁN EVROPSKÝM SOCIÁLNÍM FONDĚM
A STÁTNÍM ROZPOČTEM ČESKÉ REPUBLIKY

C9045 - Biologie kvasinek



Hustopeče u Břeclavi



doc. Jan Paleček
jpalecek@sci.muni.cz



prof. Augustin Svoboda
asvoboda@med.muni.cz

Osnova přednášek

- Význam – výskyt, výzkum, využití ...
- Mikrobiologie - základní charakteristiky
- Biotechnologie - metody
- Genetika - metody
- Buněčná biologie – buněčná stěna ...
- Molekulární biologie – buněčný cyklus, transkripce, oprava DNA, chromosomy,
- Klinické aspekty – patogenní kmeny

Rozvrh přednášek

18.9.2014	12-13.50hod	A2-2.11	Doc. Paleček	Úvod – historie, význam
25.9.2014	12-13.50hod	A2-2.11	Doc. Paleček	Základní charakteristiky kvasinek
2.10.2014	12-13.50hod	A2-2.11	Doc. Paleček	Genetické a molekulárně biologické metody
9.10.2014	12-13.50hod	A7-2.14	prof. Kopecká	O podstatě buněčných stěn kvasinek
16.10.2014	12-13.50hod	A2-2.11	Doc. Paleček	Morfologie a buněčný cyklus, párovací proces,
23.10.2014	12-13.50hod	A2-2.11	prof. Svoboda	Protoplasty kvasinek jako modelový objekt
30.10.2014	12-13.50hod	A2-2.11	prof. Svoboda	Struktura kvasinkové buňky, sekreční dráhy a endocytóza
6.11.2014	12-13.50hod	A2-2.11	prof. Svoboda	Patogenní kvasinky, morfologická charakteristika, medicínské aspekty
13.11.2014	12-13.50hod	A2-2.11	Doc. Paleček	Regulace transkripce, 1-2-3 hybridní systémy, reporter systémy
20.11.2014	12-13.50hod	A2-2.11	Dr. Kolesár	Využití kvasinek pro studium procesů opravy DNA
27.11.2014	12-13.50hod	A2-2.11	Doc. Paleček	Organizce kvasinkového chromatinu
4.12.2014	12-13.50hod	A2-2.11	Mgr. J. Kopecká	Kvasinky a biotechnologie
11.12.2014	8-12hod	A7-2.17	Svoboda+Paleček	Cvičení k přednáškám
18.12.2014	9-11hod	A2-2.11	Doc. Paleček	Zkouška

Přednášky – budou na IS

Cvičení – blokově (všichni)

2 termíny zkoušení

- Odborné články (z mezinárodních časopisů tj. anglické) zabývající se výzkumem kvasinek a jejich aplikací, ne starší než 5let
- Tématicky blízké diplomové práci (nikoli referát o diplomce!)
- Přednáška cca 15minut + 5 minut diskuse
- Dobrý úvod k tématu, výsledky a závěry (použitá literatura)
- Diskuse – vysvětlení detailů, otázky z přednášek

mikromanipulator

Kvasinkáři

- Brno – prof. Svoboda, Doc. Krejčí, Doc. Vaňáčová ...
- Praha – Doc. Pálková, Dr. Hašek, Dr. Valášek ...
- SR - Bratislava – prof. Tomáška, prof. Nosek ...
- Rakousko – Biocentrum - Dr. Ammerer ...
- UK – Sussex university - prof. Carr, prof. Nurse ...
- USA – prof. Forsburg, Dr. Amon ...

Pombelist Subscribers

View this page in English (USA)

Click on your address to visit your subscription options page.
(Parenthesized entries have list delivery disabled.)

859 Non-digested Members of Pombelist:	289 Digested Members of Pombelist:
<ul style="list-style-type: none">• a.bianchi at sussex.ac.uk	<ul style="list-style-type: none">• 136197 at mail.muni.cz

<http://listserver.ebi.ac.uk/mailman/listinfo/pombelist> - *S. pombe*

<http://www.yeastgenome.org/cache/yeastLabs.html> - *S. cerevisiae*

Informační zdroje

Janderová & Bendová: Úvod do biologie kvasinek, nakladatelství Karolinum (1999)

F. Sherman, Getting started with yeast, *Methods Enzymol.* **350**, 3-41 (2002):

http://dbb.urmc.rochester.edu/labs/sherman_f/StartedYeast.html

... nejnovější články z časopisů Cell, Nature, Science, PNAS ... vždy uvedeny v rohu

SGD databáze: <http://www.yeastgenome.org/>

http://wiki.yeastgenome.org/index.php/Commonly_used_strains

The image shows a screenshot of the SGD (Saccharomyces Genome Database) website. The browser window displays the URL <http://browse.yeastgenome.org/gbrowse/scgenome/>. The page title is "Saccharomyces cerevisiae S288C Genome: 37 kbp from chr01:123,000..160,000". The main content area shows a genomic track with various features, including genes like FLO9, CLN3, MKK16, CYS3, CEN1, ADE1, and PHO11. The track is zoomed in to show a 10 kbp region. The left sidebar contains navigation menus for "Search Options", "Help Resources", "Analysis & Tools", "Homology & Comparisons", "Function & Expression", and "GO Resources". The bottom of the browser window shows the Windows taskbar with several open applications.

www.pombase.org | The scientific resource for fission yeast - Windows Internet Explorer

http://www.pombase.org/ pombase yeast

Soubor Úpravy Zobrazit Oblíbené položky Nástroje nápověda

Google pombase yeast Hledat Sdílet Více >> Přihlásit

Oblíbené položky Program Proglasu hodinu za... Navrhované weby desktop.ini Free Hotmail Galerie oblastí Web Slice Lenovo_eská republika Novorozenecká_loutenka ... Navrhované weby

www.pombase.org | The scientific resource for fission...

PomBase

The scientific resource for fission yeast

e.g. cdc2* Search

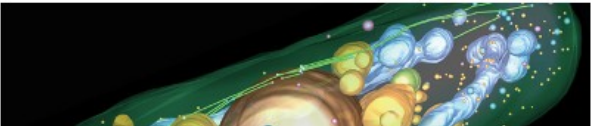
Home Find Tools Submit Downloads Genome Status Community About Help

e.g. cdc2* Search

News

Send HTP data to PomBase

MONDAY, 19TH AUG, 2013



http://www-bcf.usc.edu/~forsburg/plasmids.html#972 Bing

Soubor Úpravy Zobrazit Oblíbené položky Nástroje nápověda

pdfforge explore with YAHOO! SEARCH Search PDFCreator eBay Amazon Options

Oblíbené položky Navrhované weby Acer Home desktop.ini Free Hotmail Galerie oblastí Web Slice Lenovo_eská republika Novorozenecká_loutenka ... Navrhované weby

Pombe Technology Macrogen Online Sequencing... I-TASSER results

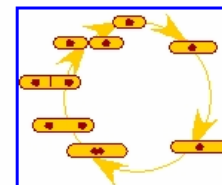
The Forsburg Lab pombe Pages: Working with fission yeast

This part of the Forsburg Lab website contains technical information of use to people who study *S. pombe*. Visit our [home page](#) for a directory to this pombe site, or the [list of frequently asked questions](#) for fast answers to common questions. If you want to browse practical information about working with fission yeast, you're in the right place.

Page contents

On this page:

- Commonly used selectable [markers](#).
- A note about [nomenclature](#).
- A [summary](#) of promoter activity and expression systems
- Info on [primer design](#) for amplification of open reading frames.
- How to construct plasmids for [cross-complementation](#) experiments
- [The almanac](#) of useful constants and numerical values for pombe
- [ade6 mutant alleles](#) that may be hanging out in your strains
- [The "wildtype" 972](#): where did it come from?
- [Restriction site usage in *S. pombe* genome](#). **NEW!**
- [Protocols](#) for pombe, including flow cytometry, colony PCR, working with diploids, disruptions and integrations, DAPI staining, and plasmid shuffle. Also includes links to other protocol pages.



Switch View: **Summary** Sortable Table 18 PTM Sites

Displaying 101 total unique interactors

NAB2 | YGL122C 9 1 [details]

Nuclear polyadenylated RNA-binding protein required for nuclear mRNA export and poly(A) tail length control; binds nuclear pore protein Mlp1p; autoregulates mRNA levels; related to human hnRNPs; nuclear localization sequence binds Kap104p



Experimental Evidence Code	Role	Publication	Throughput	Notes
Affinity Capture-MS	BAIT	Carmody SR (2010)	High Throughput	
Affinity Capture-RNA	BAIT	Batisse J (2009)	High Throughput	
Affinity Capture-Western	BAIT	Green DM (2003)	Low Throughput	-
	HIT	Vinciguerra P (2005)	Low Throughput	-
Reconstituted Complex	BAIT	Batisse J (2009)	Low Throughput	-
	BAIT/HIT	Grant RP (2008) Fasken MB (2008)	Low Throughput Low Throughput	- -
Two-hybrid	BAIT	Grant RP (2008)	Low Throughput	-
	HIT	Green DM (2003)	Low Throughput	-
Synthetic Rescue	BAIT	Vinciguerra P (2005)	Low Throughput	

MLP2 | YIL149C 1 5 [details]

Myosin-like protein associated with the nuclear envelope, connects the nuclear pore complex with the nuclear interior; involved in the Tel1p pathway that controls telomere length



YRA1 | YDR381W, SHE11 2 2 [details]

RNA binding protein required for export of poly(A)+ mRNA from the nucleus; proposed to couple mRNA export with 3-prime end processing via its interactions with Mex67p and Pcf11p; functionally redundant with Yra2p, another REF family member



Význam – výskyt, výzkum, využití ...

- savci pili alkoholický nektar miliony let



- *Tana pestroocasá* pije fermentovaný nektar z květu Bertramovy palmy
- dlouhodobá konzumace fermentovaných šťáv vedla k evoluční adaptaci tohoto savce – zvýšená exprese alkoholdehydrogenázy
- autoři spekulují o vlivu takovýchto přírodních alkoholických nápojů na evoluci ... nastavení hladiny ADH u člověka ;-)

- kvasinky *Saccharomyces cerevisiae* aj. rostou na substrátech bohatých na cukr
- kvasinky fermentují sladký nektar z Bertramovy palmy



... trochu historie

- přirozeně v prostředí mohou fermentovat sladké šťávy (např. nektar ...)
- lidé vyráběli nápoje podobné dnešnímu pivu a vínu již před ~9000 lety (chleba před ~4000 lety)

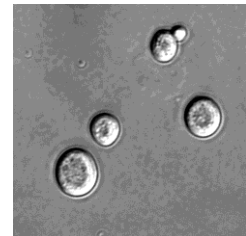


- poprvé kvasinky pozoroval A. van Leeuwenhoek v roce 1680
- název Zuckerpilz („cukerná houba“) tj. *Saccharomyces* od roku 1837 (T. Schwann)
- L. Pasteur prokázal aktivní účast při kvašení (publikoval 1866, 1876)
- první čisté kultury *S. cerevisiae* izolovány z piva (E.Ch.Hansen) a z vína (Muller-Thorgau) v 80.letech 19. století (*cerevisiae* = pivo v latině, *pombe* = pivo ve swahili) ...
- M. Rees popsal a pojmenoval *S. ellipsoideus* (fermentuje ovocné šťávy)

-první systém pro klasifikaci (patogenních) kvasinek, založený na morfologii buněk a několika fyziologických testech (fermentace monosacharidů...) vytvořil A. Guilliermond v roce 1912

- v Československu prof. Kratochvilová ...

- nejjintenzivněji studovaná eukaryotní buňka (buněčný cyklus ...)
- *S. cerevisiae* první kompletně osekvenovaný eukaryotní genom (1996)



(*S. pombe*, 2002; v současnosti osekvenovaných >35 druhů kvasinek)
Nobelova cena: za výzkum buněčného cyklu - 2001 – Hartwell, Hunt, **Nurse**
za sekreci – 2013 - Schekman)



Přirozený výskyt

- **ve vodě** (dle čistoty – moře 10/l, jezera 100/l, odpadní až 10⁸/l; v arktických vodách *Leucosporidium*, v odpadních vodách *Candida parapsilosis*, *S. exiguus*, fekální znečištění indikuje *Hansenula anomala*, *C. albicans*, v olejem znečištěných vodách *Candida (Yarrowia) lipolytica*, *C. tropicalis*, v planktonu v závislosti na řasách např. *Rhodotorula*)
- **v půdě** (mnohem méně než bakterií, do 15cm hloubky – *Schwanniomyces*, *Lipomyces*, *Pichia*, *Cryptococcus*, schopny hydrolyticky štěpit celobiosu, lignin nebo produkty bakteriálního metabolismu)

- naproti tomu v Antarktidě jsou dominantní (méně bakterií)
- výzkum v letech 2003-4: Izolovány 2x asco- a 16x basidiomyceta (7x nové druhy)

Conell et al., Microb Ecol 56 (2008)

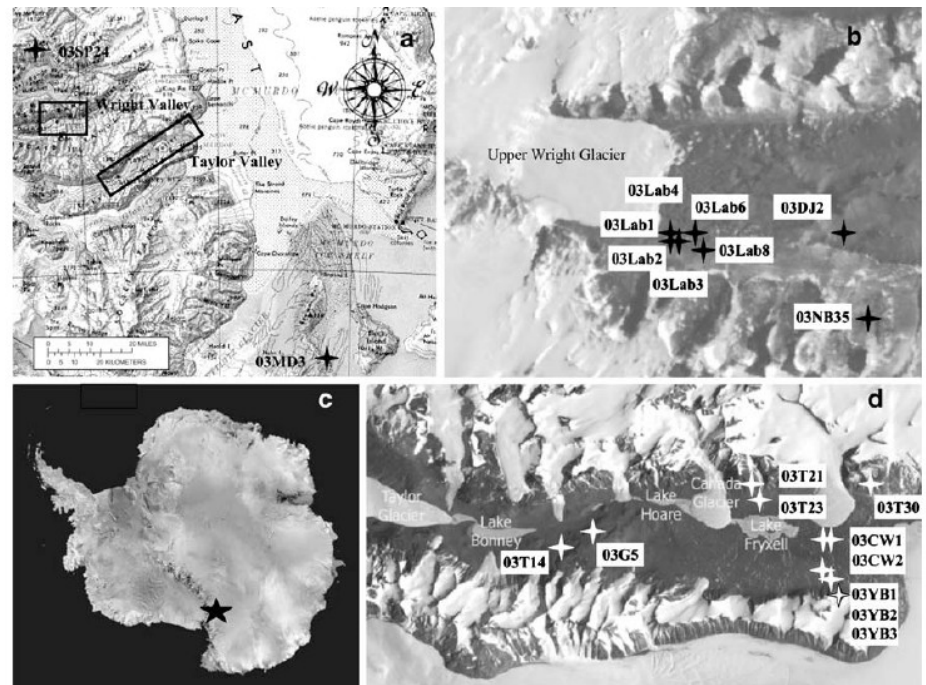


Figure 1 Sample site locations in South Victoria Land, Antarctica (2003–2004). Sites are identified by stars and labels. The entire study area with specific sites 03SP24 and 03MD3 is shown in (a). Sites in Wright

Valley are shown in (b) and Taylor Valley in (d). The location of the study area on the Antarctic continent is indicated with a star in (c)

Table 2 Species isolated from Southern Victoria Land soil

Species	Site isolated	Isolate number	GenBank accession	Closest match	Percent match
<i>Clavispora lusitaniae</i> ^a	03YB2	CBS 10625	EU149777	AY321475	99
<i>Cryptococcus nyarrowii</i>	03T21	CBS 10614	EU149778	AF400697	100
	03T23	CBS 10632	EU149780		
	03YB2	CBS 10740	DQ402536		
	03YB2	ANT 03-028	EU149779		
<i>Cryptococcus saitoi</i>	03DJ1	CBS 10631	EU149783	AF444372	99
	03Lab1	CBS 10628	EU149782		
	03Lab2	CBS 10630	DQ402537		
	03Lab6	CBS 10618	EU149781		
* <i>Cryptococcus</i> sp 1	03YB1	ANT 03-149	EU149784	AB035045	94
<i>Cryptococcus carnescens</i>	03 G5	CBS 10755	EU149786	AB035050	99
	03CW1	CBS 10634	EU149785		
<i>Cryptococcus albidosimilis</i>	03Lab8	CBS 10619	EU149787	AF145325	100
<i>Cryptococcus vishniacii</i>	03Lab3	CBS 10616	EU149788	AF145320	100
<i>Debaryomyces hansenii</i> ^a	03Lab1	CBS 10629	EU149790	EF222227	100
	03Lab4	CBS 10751	EU149791		
	03T23	CBS 10686	EU149789		
* <i>Dioszegia</i> sp 1	03CW2	CBS 10623	EU149792	AB049613	95
	03YB1	ANT 03-101	EU149793		
* <i>Dioszegia</i> sp	2 03CW2	CBS 10637	EU149798	AF444379	91
* <i>Leucosporidium</i> sp 1	03MD3	CBS 10633	EU149802	AF444529	87
	03T14	CBS 10684	EU149803		
	03T30	CBS 10641	EU149804		
* <i>Leucosporidium</i> sp 2	03MD3	CBS 10638	EU149805	AF444529	96
	03CW1	CBs 10639	EU149806		
* <i>Leucosporidium</i> sp 3	03MD3	CBS 10620	EU149807	AF444529	85
* <i>Leucosporidium</i> sp 4	03MD3	CBS 10636	EU149808	AF444529	97
	03YB2	CBS 10640	EU149809		
<i>Mrakia stokesii</i>	03T30	CBS 10622	EU149810	AF144486	100
<i>Rhodosporidium kratochvilovae</i>	03Lab6	CBS 10617	DQ402534	AF444520	100
<i>Rhodotorula laryngis</i>	03T23	CBS 10621	EU149811	AF444617	98
<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	03NB35	CBS 10685	DQ402533	AF444635	99
	03SP24	CBS 10752	EU149812		

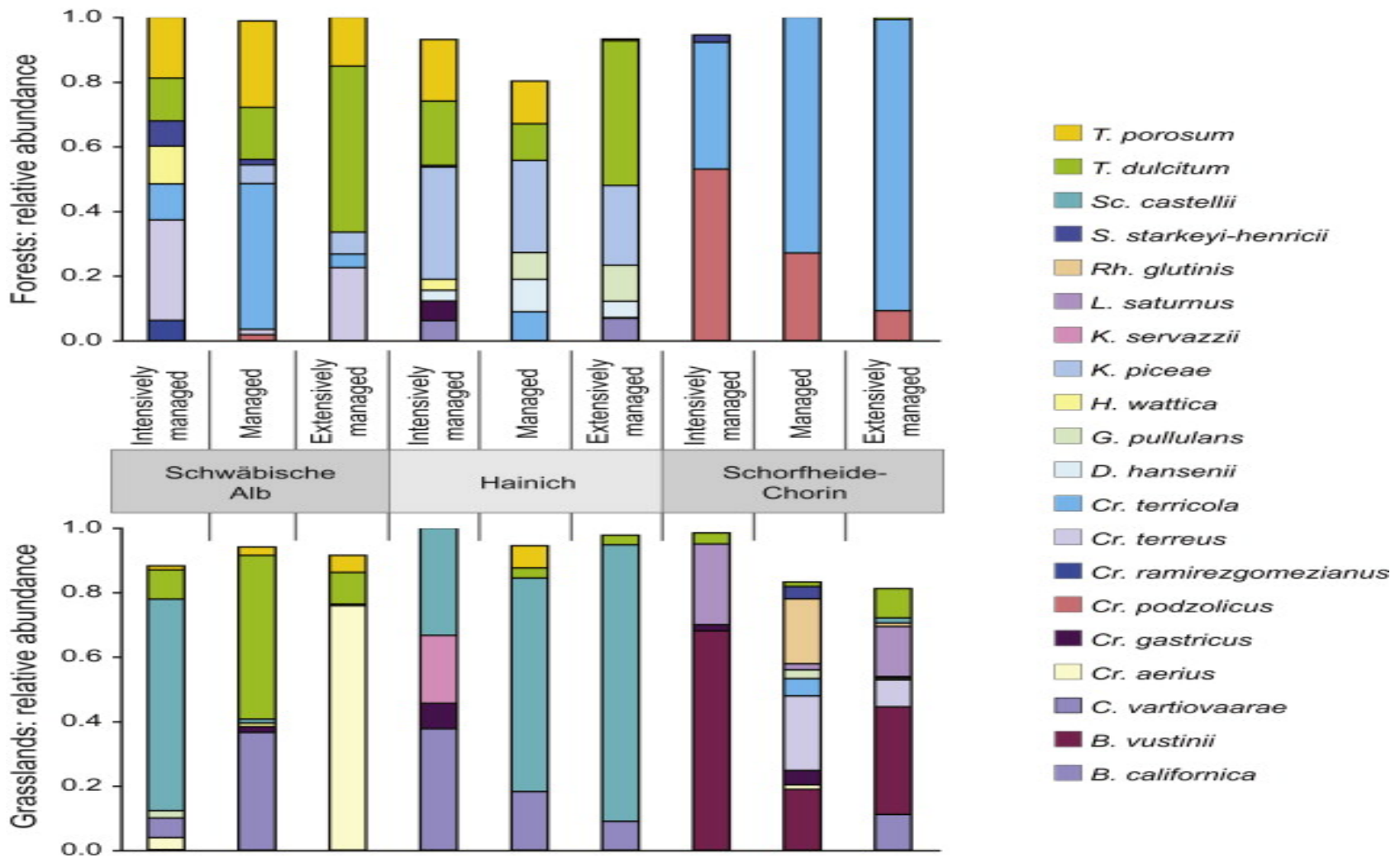
Representative isolates with ITS GenBank accession numbers are listed. Isolates currently in the CBS collection are noted using the CBS accession number. The accession number of the closest match to described species listed in GenBank are shown

^aMembers of Ascomycota

Půda a kvasinky

- Typ vegetace → složení půdních mikrobiálních komunit
- Kvasinky jsou kosmopolitní (autochtonní nebo allochtonní), převážně saprofyti
- Množství a druhové složení kvasinek v půdách je nerovnoměrné (více v asociaci s rostlinami) – ovlivňuje mnoho faktorů
- Nejsou primárními degradátory těžko rozložitelných látek (lignocelulóza), ale degradátoři meziproductů rozkladu rostlinného materiálu (aerobní rozklad L-arabinózy, D-xylózy, celobiózy)
- Transformace živin
 - Koloběhy C, N, S, P v ekosystému
 - Aerobní respirace i fermentace živin
 - Nitrifikace = přeměna amoniaku na dusičnany (rody *Candida*, *Geotrichum*, *Rhodotorula*, *Saccharomyces*, *Williopsis*)
 - Sulfurikace = oxidace síry na sírany, thiosírany (rody *Rhodotorula*, *Saccharomyces*, *Williopsis*)
 - Rozpouštění těžko rozložitelných fosforečnanů (rody *Rhodotorula* a *Williopsis*) → podporuje růst rostlin
 - Vazba železa pomocí sideroforů





- Nerovnoměrné (komplexní) rozložení kvasinek
- Pokryv půdy má velký vliv na diverzitu a množství půdních kvasinek (lesy x pastviny), stejně tak i lidská činnost (oblasti zemědělsky a lesnický využívané x přirozené)

Rostliny a kvasinky

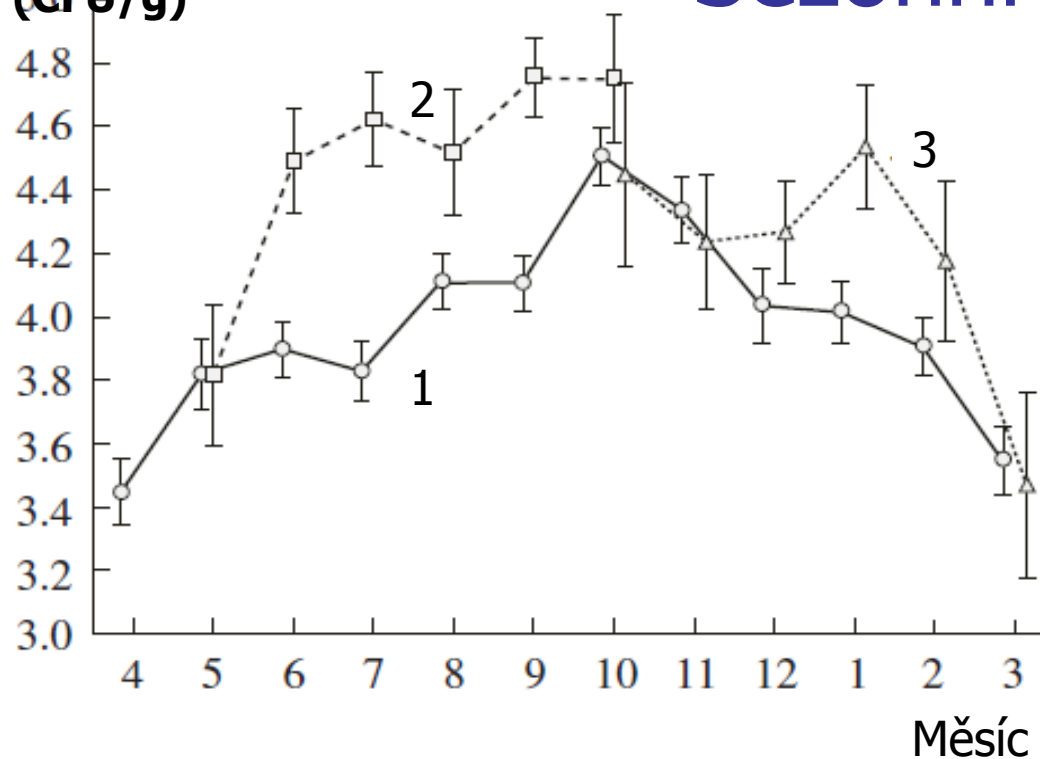
- na listech rostlin, květech (nektar palmy Bertramové ... červené kvasinky rodu *Rhodotorula*, *Rhodosporidium*, *Sporobolomyces*, černá *Aureobasidium pullulans*,)

- na kazících se plodech (na spadlých plodech ... schopny hydrolyticky štěpit celobiosu, lignin nebo produkty bakteriálního metabolismu - zahnívající kaktusy => pektolytické bakterie => kvasinky *Pichia cactophila*, *P. opuntiae* => přenos a výživa drosofila)



Počet kvasinek, log (CFU/g)

Sezónní dynamika kvasinek



1 – listy

2 – květy

3 – hrabanka

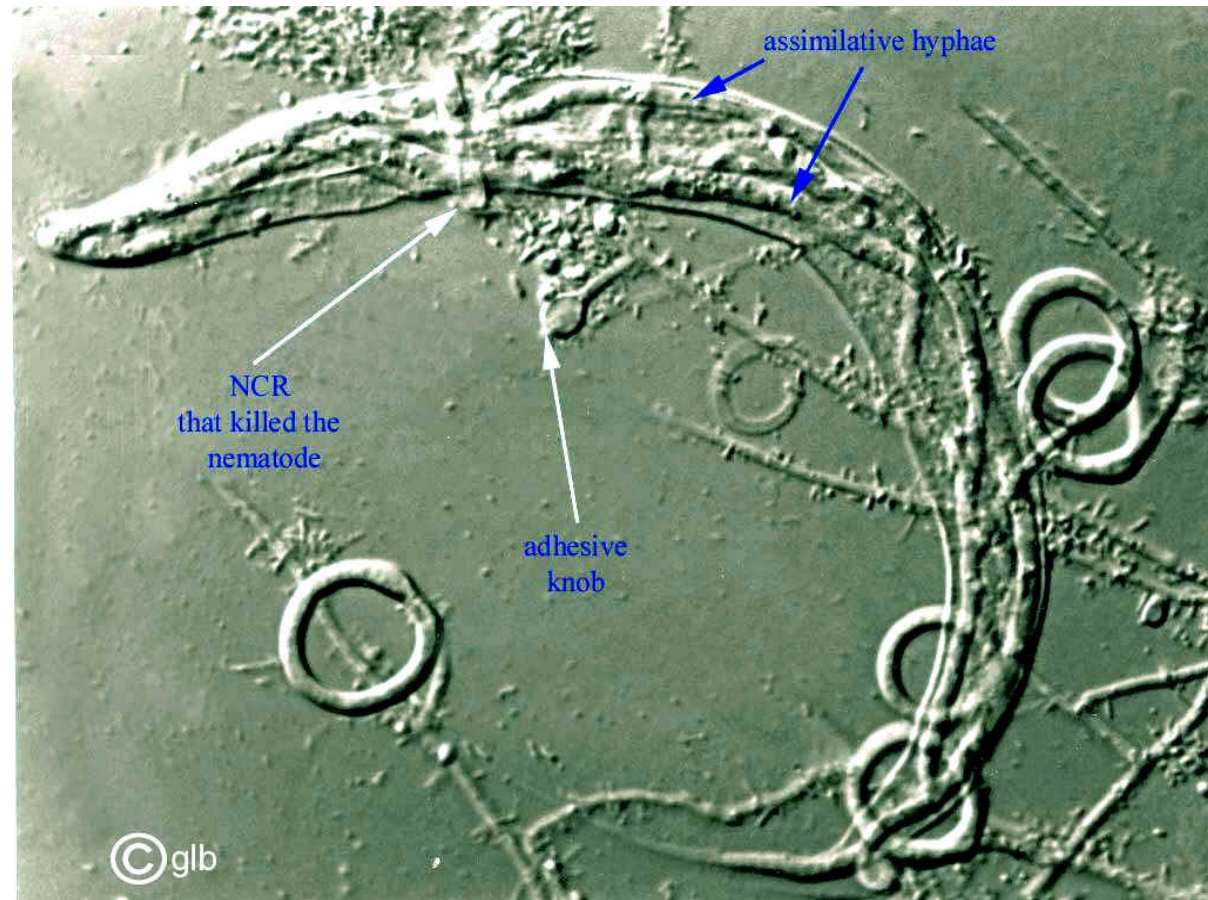
Glushakova & Chernov, Microbiology, 2007

- Rozpouští nerozpustné fosforečnany ... → podpora růstu kořenů (stimulátory růstu a biohnojiva)
- Symbionti nebo paraziti
- Interakce s houbami
 - Extracelulární polymery (glykolipidy, glykoproteiny) s fungicidními a fungistatickými účinky
 - Extracelulární enzymy (glukanázy)
 - Mykociny (proteiny)

Interakce s živočichy

- Kvasinky a jejich extracelulární polymery a jednoduché metabolity → zdroj potravy pro jiné organismy
- Predátorské kvasinky *Saccharomycopsis fermentans* a *Saccharomycopsis javanensis*
- Okyselování prostředí → regulace počtu některých bezobratlých

Predátorská kvasinka
(*Dactylellina candida*)
napadající hlístici
(<http://www.uoguelph.ca/~garron/2008/dactylel.htm>)



Hmyz a kvasinky

- přenášeny hmyzem (opylovači) - včely, brouci, mouchy
- *Candida*, *Cryptococcus*, *Metschnikowia*
- např. izolována *Metschnikowia orientalis* nalezena v květech a přenášena čmeláky na Cookových ostrovech (Int J Syst and Evol Microbiology, 2006)



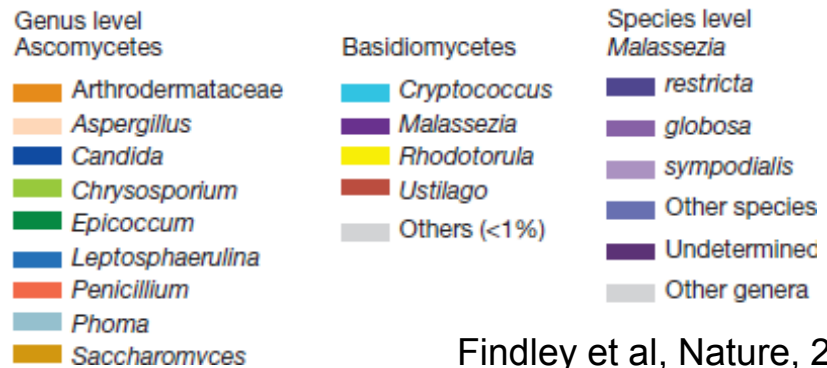
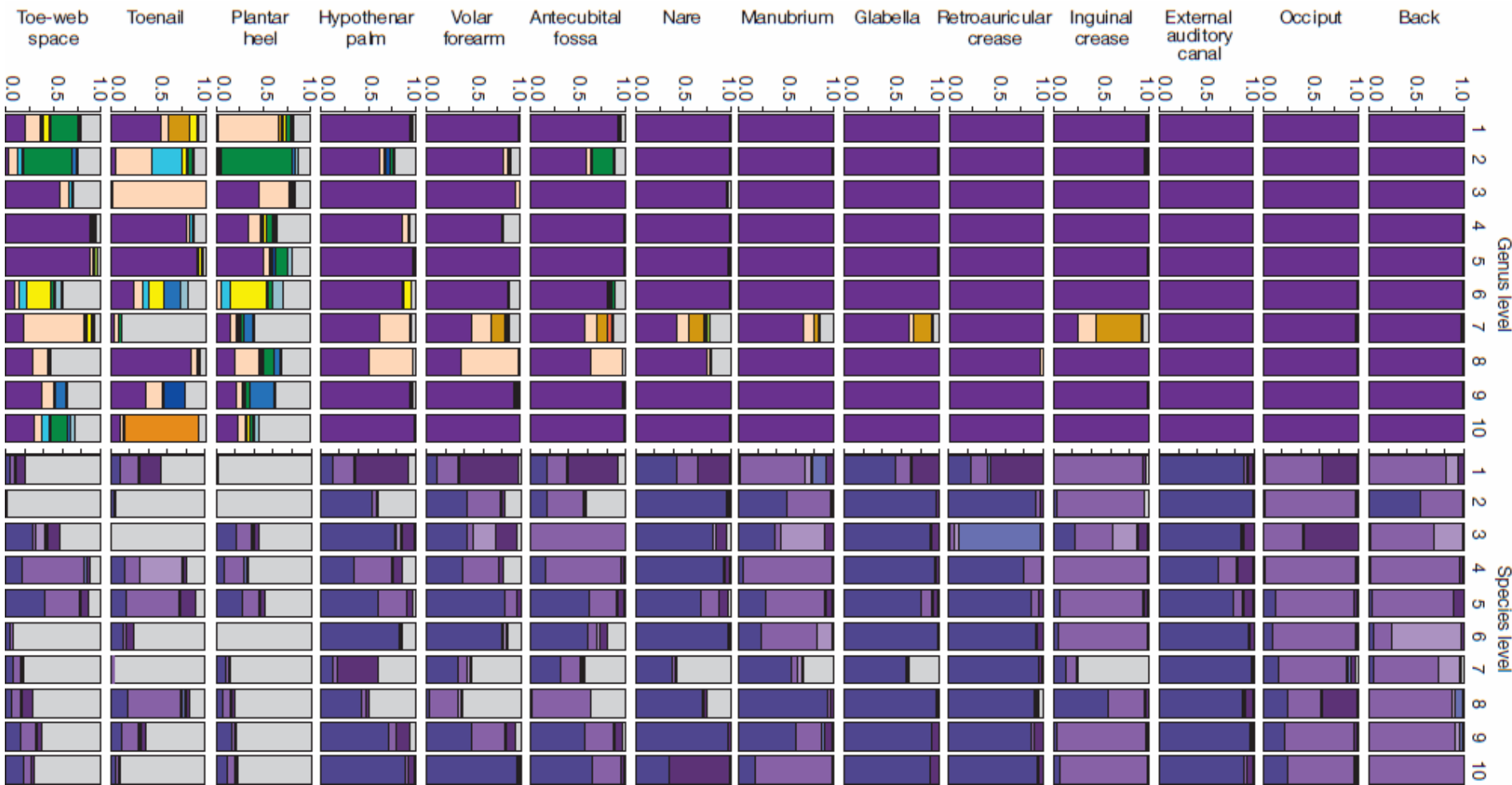
- Kvasinky nalezeny ve střevě mouchy *Drosophila*
- Askus chrání spory během průchodu trávicím traktem, ale zároveň dochází k částečnému natrávení enzymy, čímž se usnadňuje kontakt mezi nepříbuznými gametami
- Bylo zjištěno, že průchod trávicím traktem 10x zvyšuje frekvenci sexuálního rozmnožování s nepříbuznými gametami
- Hypotéza, že hmyz slouží jako vektor umožňující kvasinkám osidlovat nová prostředí, přičemž zvýšená rekombinace zvyšuje šance na přežití a adaptaci na ně

Kvasinky a savci

- Tana pestroocasá pije fermentovaný nektar z květu Bertramovy palmy ...
- i člověku se dostávají kvasinky do trávicího traktu např. při konzumaci burčáku, nefiltrované pivo ... neškodné pro zdravé jedince (! ale co pro imunokompromitované jedince?)



- nejčastěji je z gastrointestinálního traktu izolována *C. albicans* (*C. dubliensis*)
- kvasinky tvoří jen malou část stálé mikroflóry ve střevě - méně než 0,1 % mikroflóry
- kůže, ústní dutina, sputum, vaginální sekrety, výtěry z ušního kanálu, moč, stolice ...



- sekvenace vzorků od 10 zdravých jedinců
- ruce, nos, uši, záda, třísla ... *Malassezia*
- zatímco na nohou velká diverzita

Patogenní kvasinky

-15 druhů je potenciálními lidskými patogeny (vyvolávají onemocnění u oslabeného organismu – imunopresiva, cukrovka ... významným faktorem virulence je schopnost tvorby biofilmu - antibiotika na eukaryota nezabírají) – více prof. Svoboda

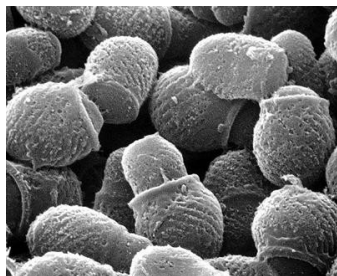
-Kandidózy (*C. albicans*, *dubliniensis*, *krusei*, *tropicalis*, *parapsilosis*, *glabrata*, *utilis*, *lipolytica*)

-*Candida albicans* – urogenitální a krevní infekce (vyskytuje se u člověka přirozeně)

-*Cryptococcus neoformans* – 8% AIDS pacientů – plicní onemocnění až do mozku - (přenáší švábi a holubi – kreatinin z trusu používají jako zdroj dusíku)

-*Malassezia* – poruchy pigmentace kůže a lupy tzv. **pityriázy** (*M. furfur*, *globosa*, *japonica*, *obtusa*, *restricta*, *yamatoensis*, *dermatis*, *slooffiae*, *sympodialis*, *nana*, *pachydermatis*)

-3 druhy *Trichosporon* (kůže)



Malassezia furfur
pityriasis versicolor



Význam pro zdraví člověka

- exprese proteinů - příprava „hepatitis B core“ antigenu, anti-thrombin proti srážení krve (*Pichia pastoris*)
- Pangamin – kvasinkové lyzáty – vitaminy, nenasycené mastné kyseliny, minerály ...
- ImmiFlex – obsahuje beta 1-3,1-6 glukany z buněčných stěn kvasinek S.c. – aktivují imunitní systém (neutrofily) a zvyšují tak obranyschopnost organismu



- *Saccharomyces boulardii* – izolován z čínské švestičky Lyči (1920, Henri Boulard) - používán jako probiotikum při střevních potížích (Enterol, Salutil) - ochrana proti patogenům (*Salmonella typhimurium*, *C. albicans*) – modulují imunitní systém, inhibují účinky bakteriálních toxinů a růst hyf ...

Průmyslový význam



Mgr. J. Kopecká

- výroba piva, vína, etanolu a pekařského droždí (*S.c.*), různé kmeny pro spodní (*S. bayanus*) a svrchní kvašení, vinařské a lihovarské (hybridní kmeny např. *S.c.* + *S.kudriavzevii*)
- krmná biomasa (*Candida utilis*), příprava mléčných výrobků (*Candida kefir*, *Klyuveromyces lactis*), získávání ergosterolu (prekurzor vitamínu D), zdroj komplexu vitamínů skupiny B ...
- štěpení škrobu amylytickými enzymy (*Saccharmycopsis fibuligera*, *Schwanniomyces occidentalis*)
- štěpení dřevní hmoty – štěpí xylozu přímo na etanol za aerobních podmínek (*Aureobasidium*, *Candida utilis*, *Pachysolen tannophilus*, *Candida shehatae* a *Pichia stipitis*)
- odbourávání ropných produktů (*Yarrowia lipolytica*),
- sorpce těžkých kovů (odstranění znečištění)



Kov	Biosorpční kapacita (mg kovu/g suché hmotnosti biomasy)
Zn ²⁺	<i>A.nodosum</i> (25.6)> <i>P. chrysogenum</i> > (19.2)> <i>F. vesiculosus</i> (17.3)> aktivovaný kal(9,7)> <i>S. rimosus</i> (6.63)> <i>S. cerevisiae</i> (3.45)
Cu ²⁺	<i>S. rimosus</i> (9.07)> <i>P. chrysogenum</i> (8.62)> <i>F. vesiculosus</i> (7.37)> Aktivní sluge (5.54)> <i>S. cerevisiae</i> (4.93)> <i>A. nodosum</i> (4.89)
Ni ²⁺	<i>F. vesiculosus</i> (2.85)> <i>S. rimosus</i> (1.63)> <i>S. cerevisiae</i> (1.47)> <i>A. nodosum</i> (1.11)
Pb ²⁺	<i>Phanerochaete chrysosporium</i> (419,4)> <i>R. nigricans</i> (403,2)> <i>M. purpurea</i> (279,5)> <i>S. cerevisiae</i> (211,2)> <i>A. terreus</i> (201,1)> <i>M. inyoensis</i> (159,2)> <i>Streptomyces clavulgerus</i> (140.2)
Cd ²⁺	Protonované biomasy: <i>Bacillus lentus</i> (≈ 30)> <i>Aspergillus oryzae</i> > <i>S. cerevisiae</i> (<5)
Cu ²⁺	Rostoucí buňky: <i>S. cerevisiae</i> (7.11)> <i>K. Marxianus</i> (6.44)> <i>Candida</i> sp. (4.80)> <i>S. pombe</i> (1.27).

- GMO např. příprava bioplastů (Lu et al. JACS, 2010)

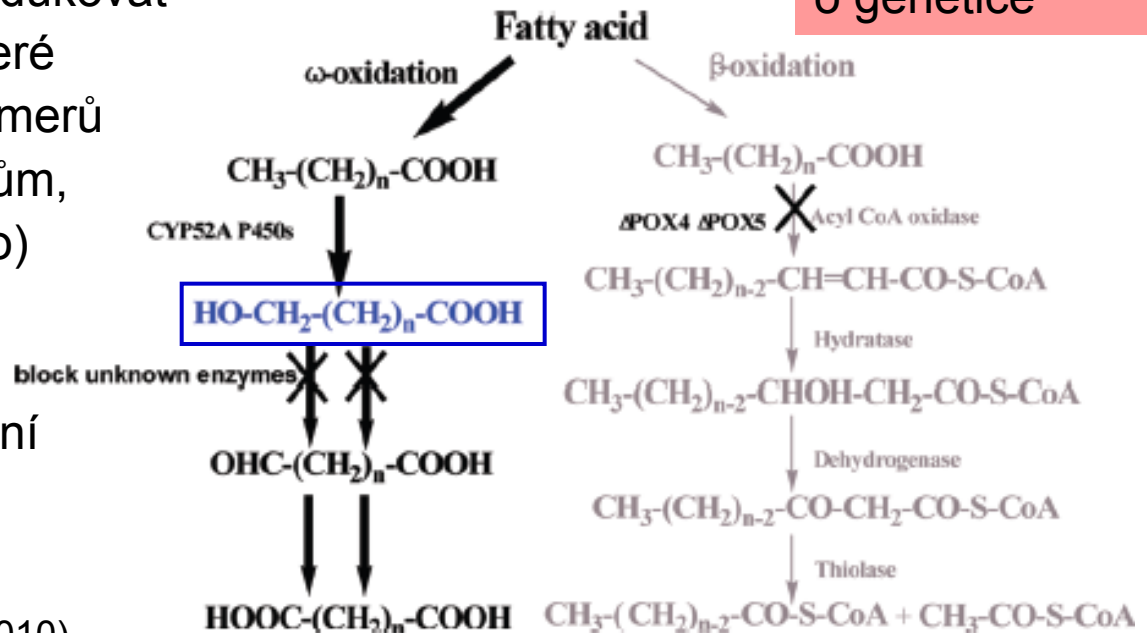
Příprava monomerů pro výrobu plastů – využití *Candida tropicalis*

- *Candida tropicalis* je schopna využít mastné kyseliny jako zdroj uhlíku (acetyl-CoA)
- mutantní kmen (Δ POX4, Δ POX5) není schopen β -oxidace a přeměňuje je oxidací na di-karboxylové kyseliny (Picataggio et al, Biotechnology, 1992)
- další mutagenézí (pomocí flp rekombinasy – viz genetika) odstranili geny dalších oxidás (4 alkohol oxidázy) a dehydrogenás (6 alkohol dehydrogenás) aby eliminovali ω -oxidaci
- nový kmen je schopen produkovat

ω -hydroxymastné kyseliny, které lze použít pro výrobu bio-polymerů (plastů podobných polyetylenům, bio-odbouratelné na bio-palivo)

- další modifikace kmene (integrace genů pro lipázy) by umožnilo přímé odbourávání odpadních olejů ...

Lu et al., JACS (2010)

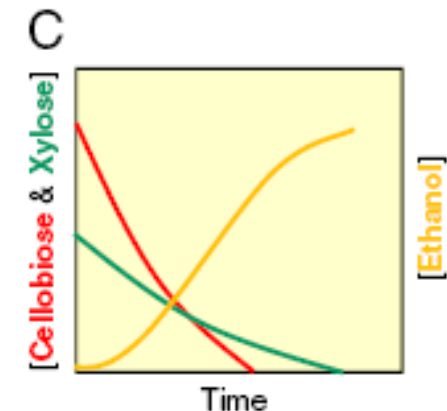
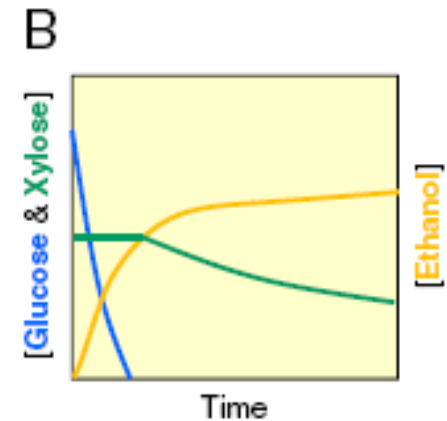
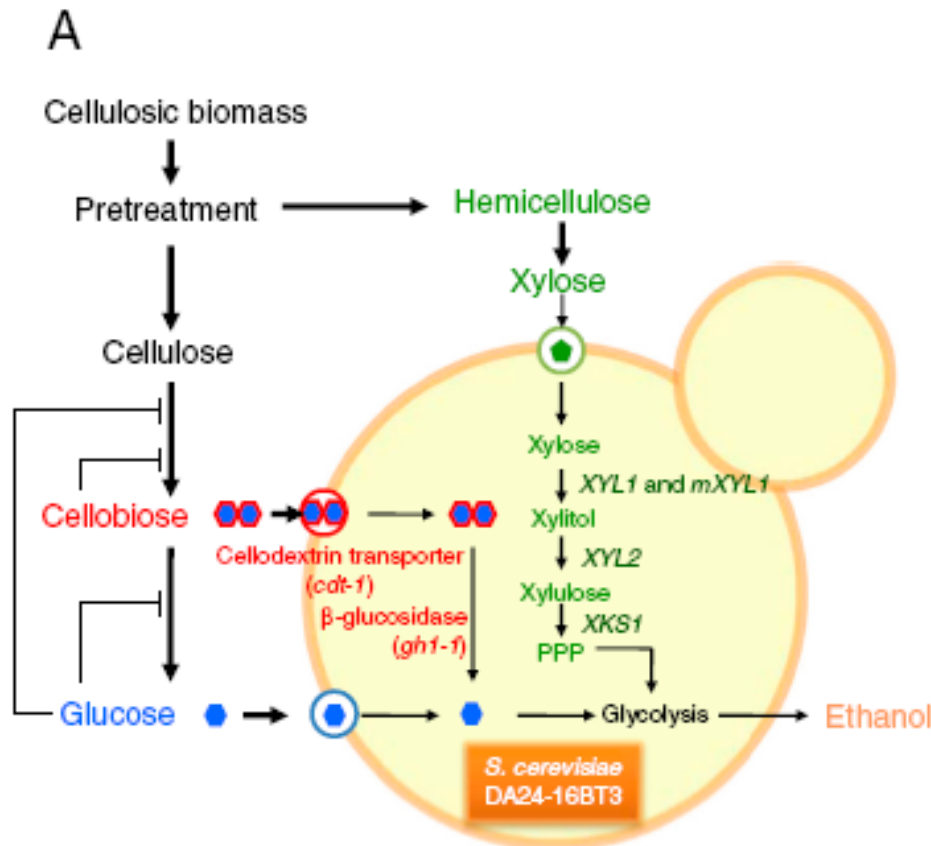


Přednáška
o genetice

Využití *S. cerevisiae* pro výrobu biopaliv

- Nemají přirozenou metabolickou dráhu pro odbourání celobiosy a xylozy
- Vloženy geny *XYL1* and *XYL2* kódující xylózovou reduktázu (XR) a xylitolovou dehydrogenázu (XDH) z kvasinky *Pichia stipitis*
- Přednostní využívání glukózy (glukózová represe)
- Transport celobiosy do buňky (*cdt-1* integrován do genomu) a jeho přeměna na glukózu uvnitř buňky (*gh1-1* z *Neurospora crassa* na „multicopy“ plazmidu) obešla represe

Přednáška
o transkripci



Výzkum

- Je třeba kvasinkám rozumět (na molekulární úrovni) aby bylo možné je využít
- *S. cerevisiae* a *S. pombe* jsou modelovými organismy
 - jednoduchá eukaryontní buňka (základní procesy jako u vyšších eukar.)
 - 1. osekvenovaný eukaryontní genom, 1. syntetický eukar. chromosom
 - buněčný cyklus (sir P. Nurse)
 - chromosomy a evoluce (např. projekt syntetického chromosomu)
 - mechanismy opravy poškozené DNA (nádorové syndromy – tabulka)
 - sekrece, endocytóza, buněčná stěna (prof. A. Svoboda)
- Metody využívající kvasinek (např. 2-H, reporterové systémy)
- Exprese proteinů (posttranslační modifikace, štěpení ...)

Human homologs		
Yeast	Human	Cancer syndrome
MEC1/TEL1	ATR/ATM	Ataxia telangiectasia
MRE11	MRE11	Ataxia telangiectasia-like disorder
XRS2	NBS1	Nijmegen breakage syndrome
RAD53/DUN1	hCHK2	Li-Fraumeni syndrome
SGS1	BLM/WRN/RTS	Bloom, Werner & Rothmund-Thomson syndromes

Srovnání 250 sekvencí lidských genů, jejichž mutace vedou ke vzniku onemocnění – cca 90 genů má *S.c.* homology

- Více v dalších přednáškách