

Protoplasty kvasinek jako modelový objekt

1. Historie objevu modelu protoplast
2. Metody přípravy protoplast
3. Metody regenerace buněk u protoplast
4. Fuze protoplast
5. Genetická transformace kvasinek na modelu protoplast
6. Sexuální hybridizace u protoplast

1. Historie objevu

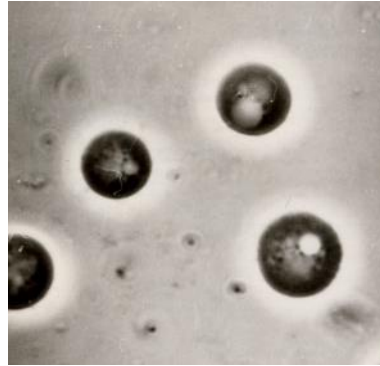
- “ Protoplasty rostlinných buněk (Klebs 1887, Townsend 1897)
- “ Sféroplasty, L-formy a protoplasty bakterií (Weibull 1953, Dienes 1939, Kandler, 1954)
- “ O.Nečas a plasmatické koule kvasinek (Nečas 1954)
- “ Autolytické protoplasty (Nečas 1955)
- “ Protoplasty připravené lýzou bakteriální helikázou (Eddy a Williamson, 1959)
- “ Regenerace protoplastů v gelech (Nečas, 1962, Svoboda 1966)

2. Metody přípravy protoplastů

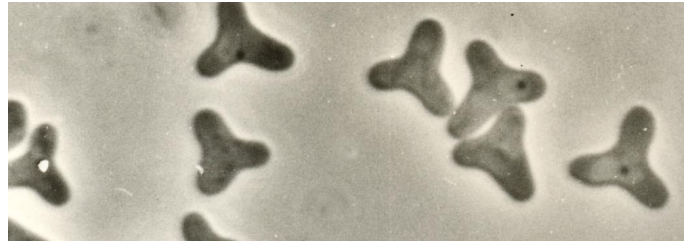
- “ Mechanické rozbití kvasinkových buněk v hypertonickém roztoku
- “ Autolýza buněk
- “ Aplikace enzymů lyzujících buněk
 - . Výběr osmotika - sorbitol, mannitol, KCl, MgSO₄ a koncentrace
 - . Aplikace látek ruzících S-S vazby v buněk .
merkaptoetanol, dithiothreitol aj



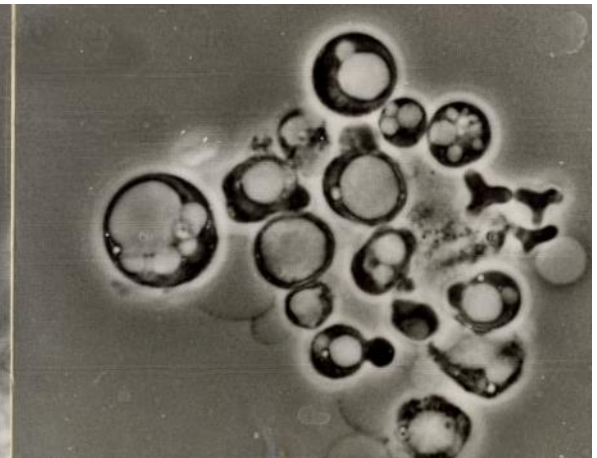
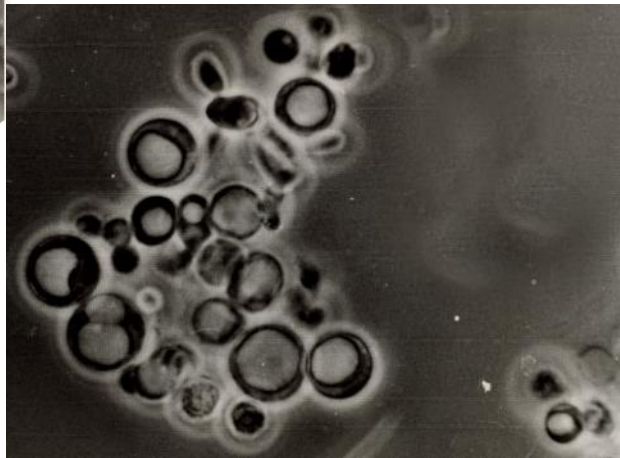
Bu ky a erstv
vytvo ené protoplasty



Saccharomyces cerevisiae



Trigonopsis variabilis

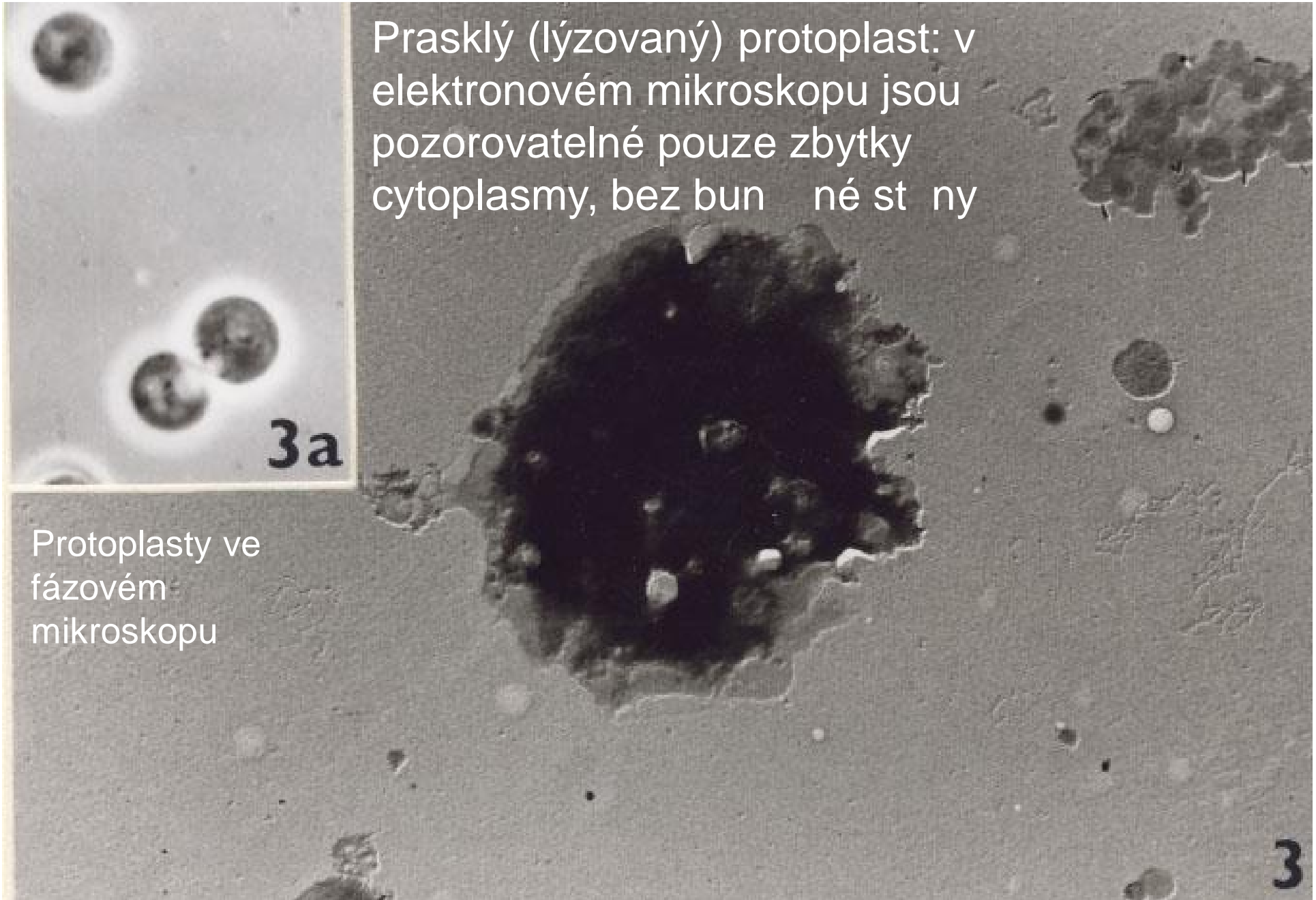


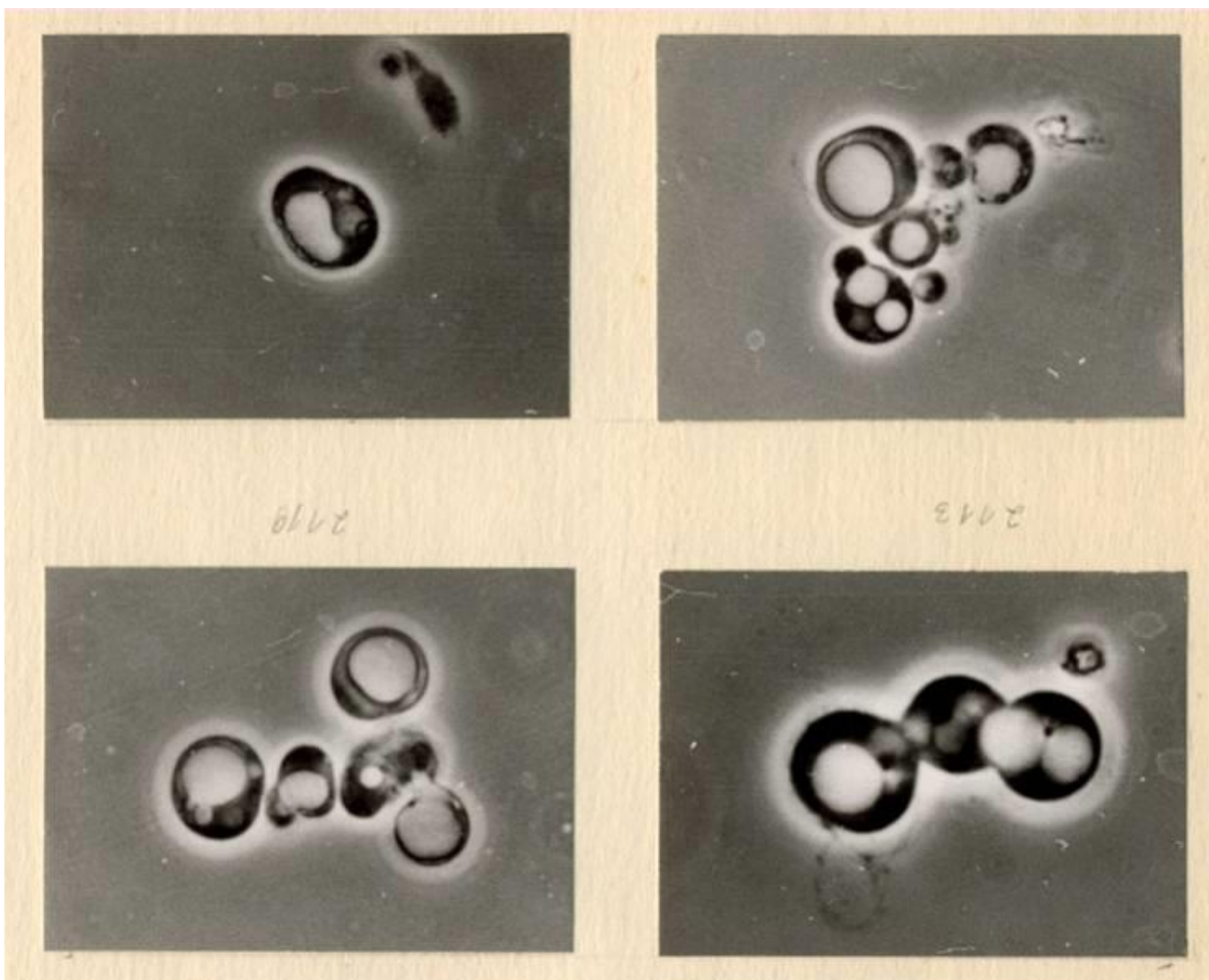
Prasklý (lýzovaný) protoplast: v elektronovém mikroskopu jsou pozorovatelné pouze zbytky cytoplasmy, bez buněčné stěny

3a

Protoplasty ve
fázovém
mikroskopu

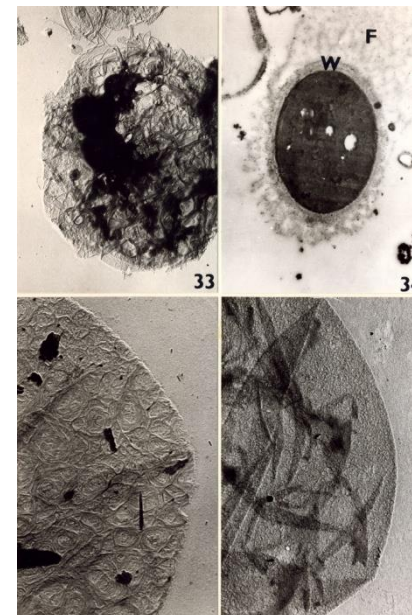
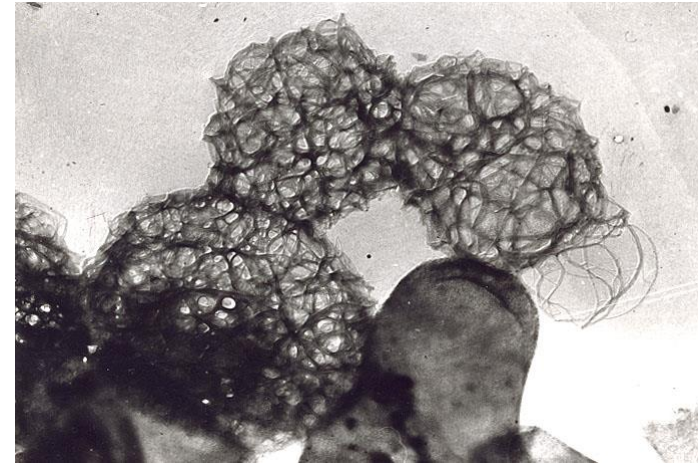
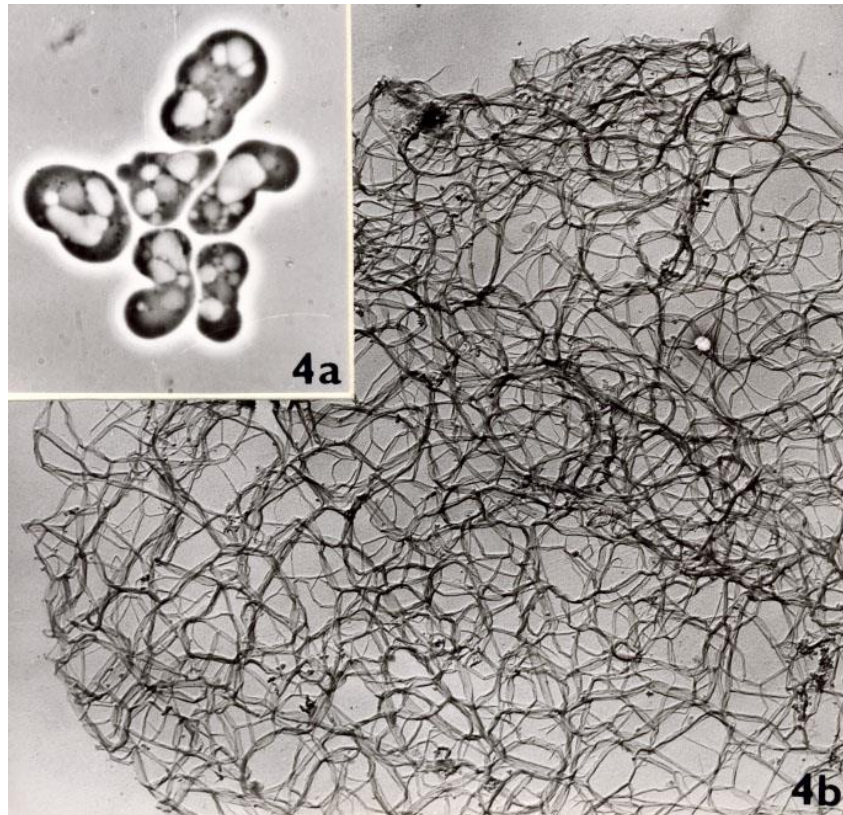
3



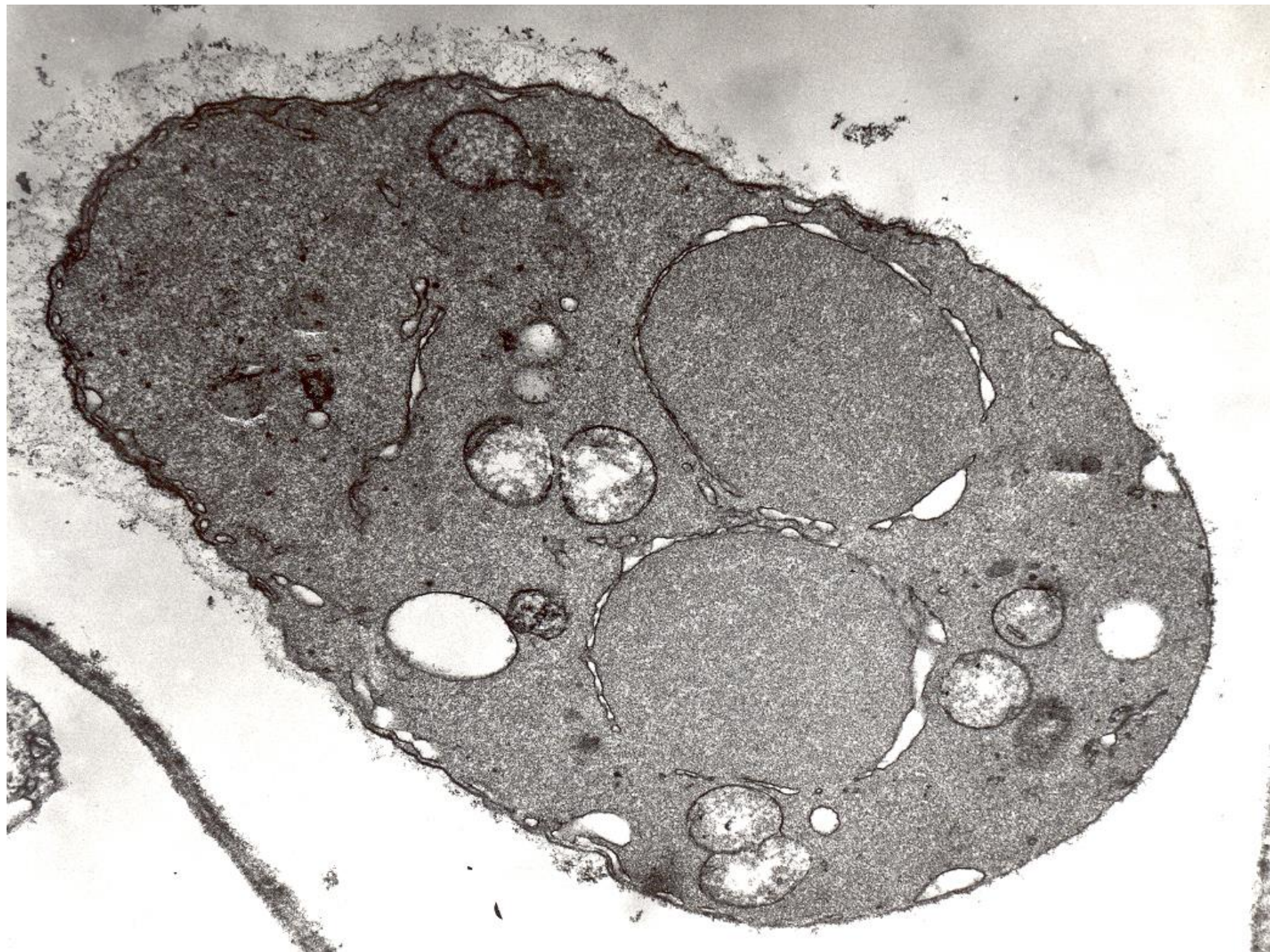


R st protoplast v tekutém mediu nebo na povrchu agarových film : jádra se dělí, cytoplasma vytváří vakuolizované útvary.

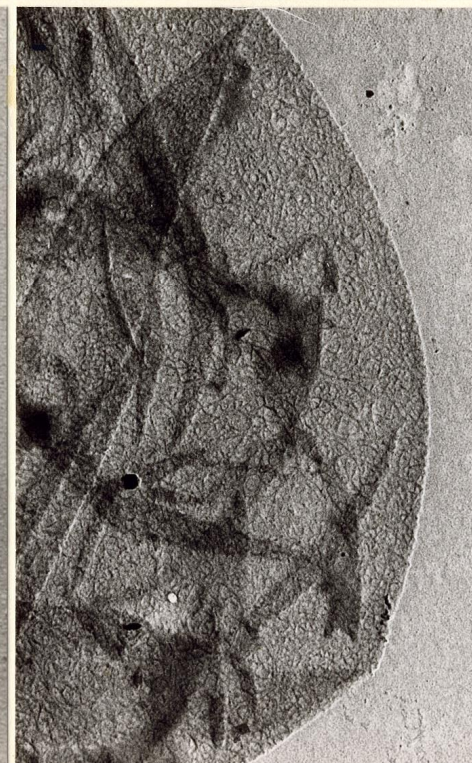
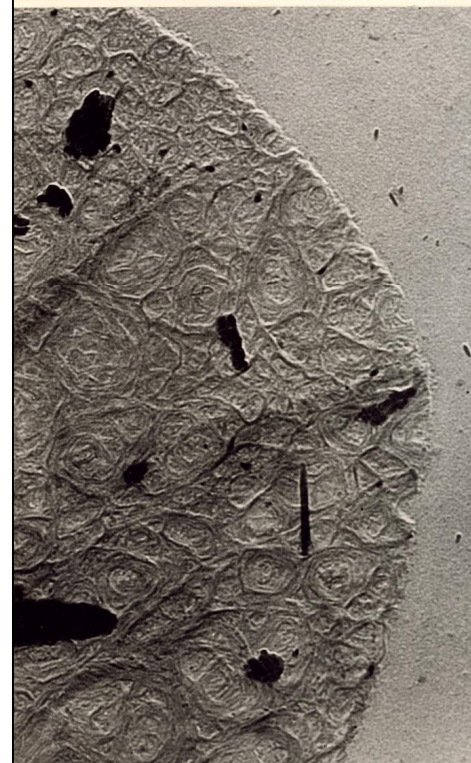
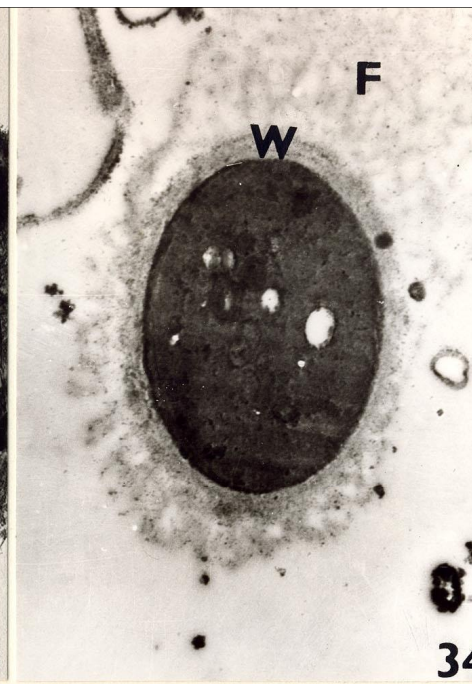
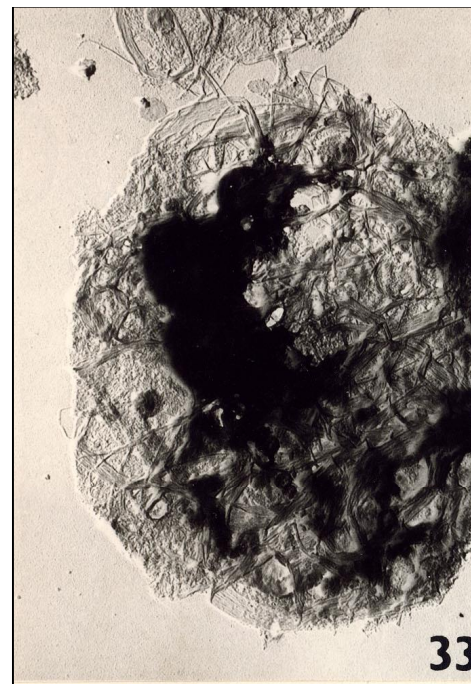
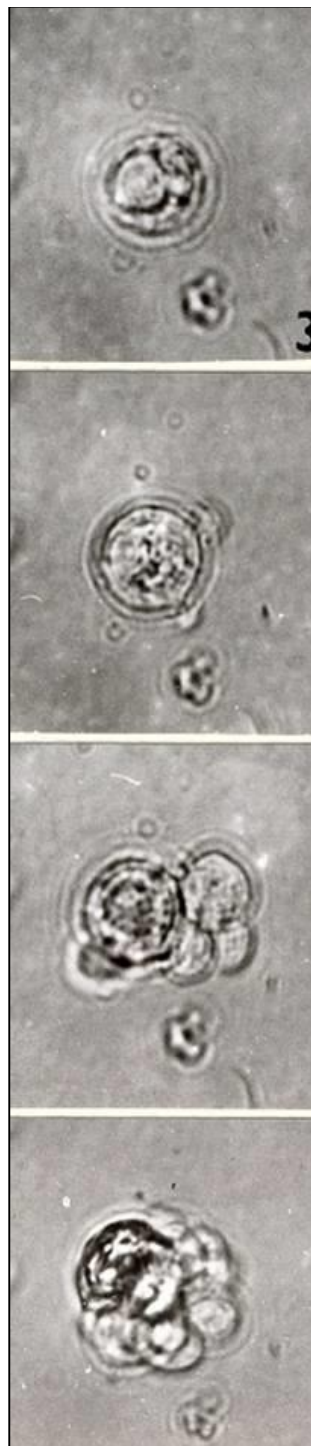
Regenerace buněčné stěny na povrchu protoplastů při kultivaci v tekutém mediu a v gelu

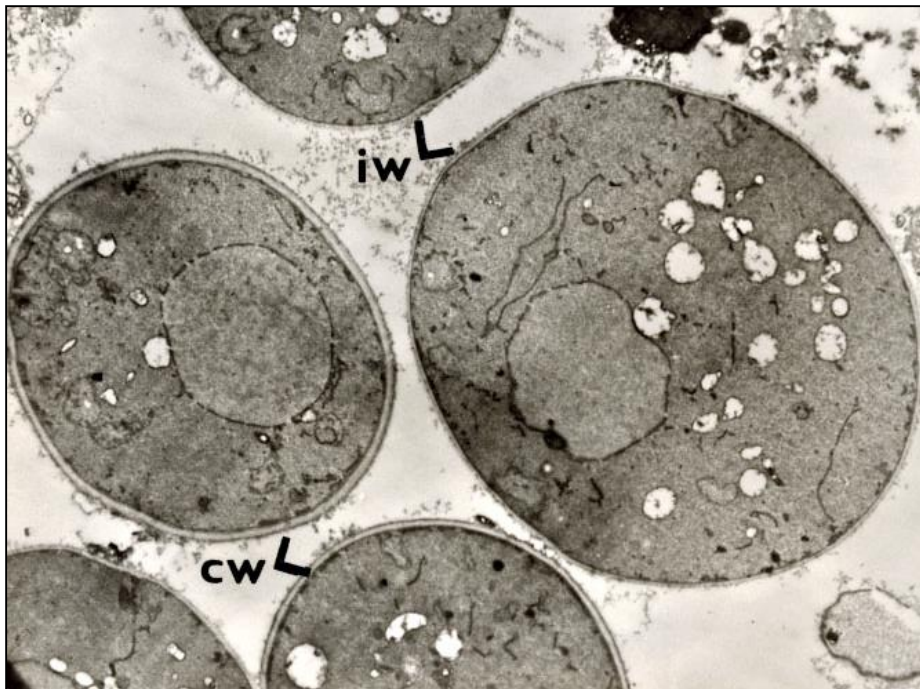
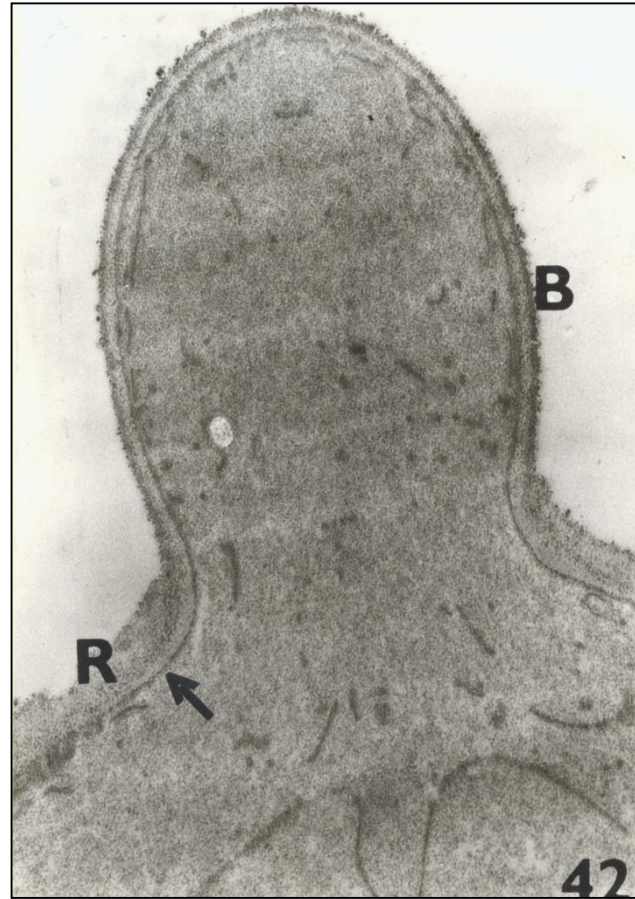
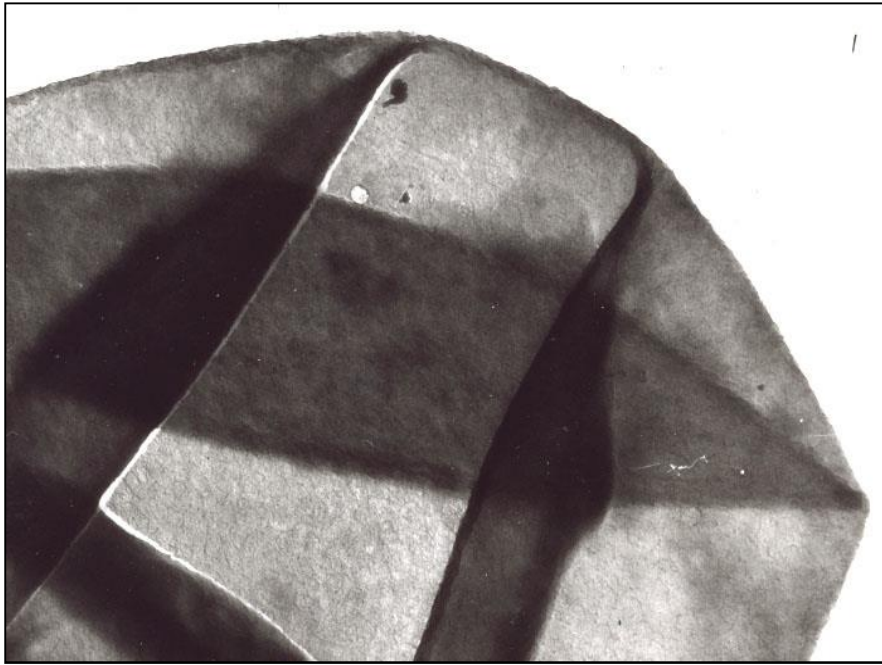


Tvar rostoucího protoplastu je není určen regenerující buněčnou stěnou, ta jen modifikuje morfologii rozpínající se cytoplasmy

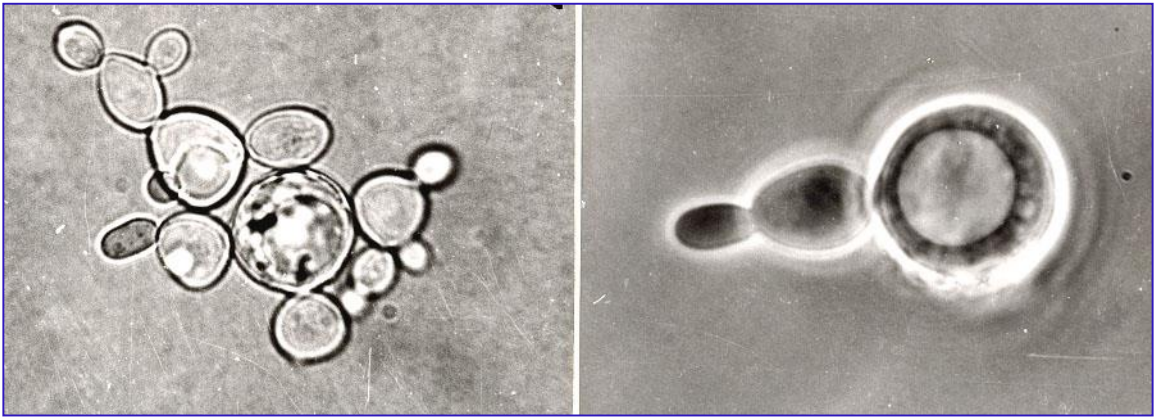
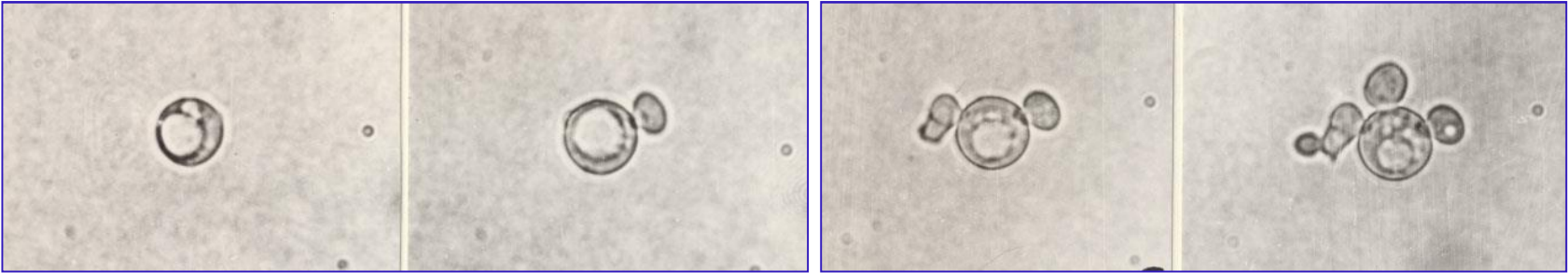


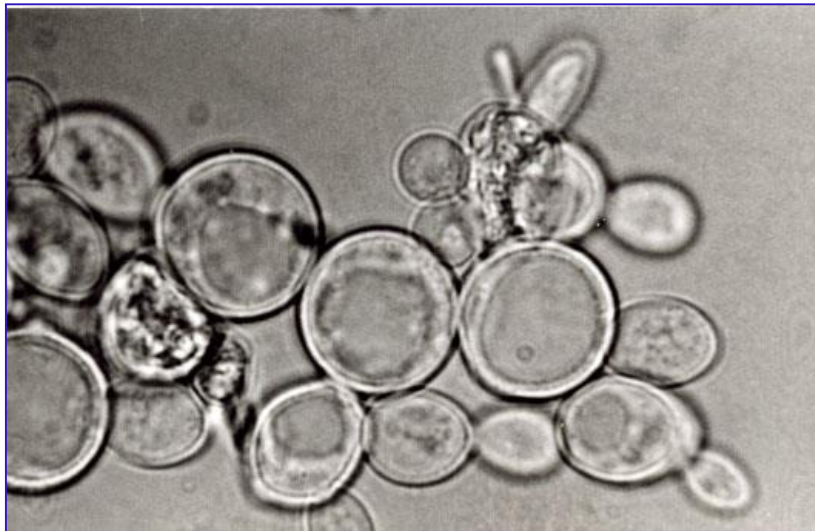
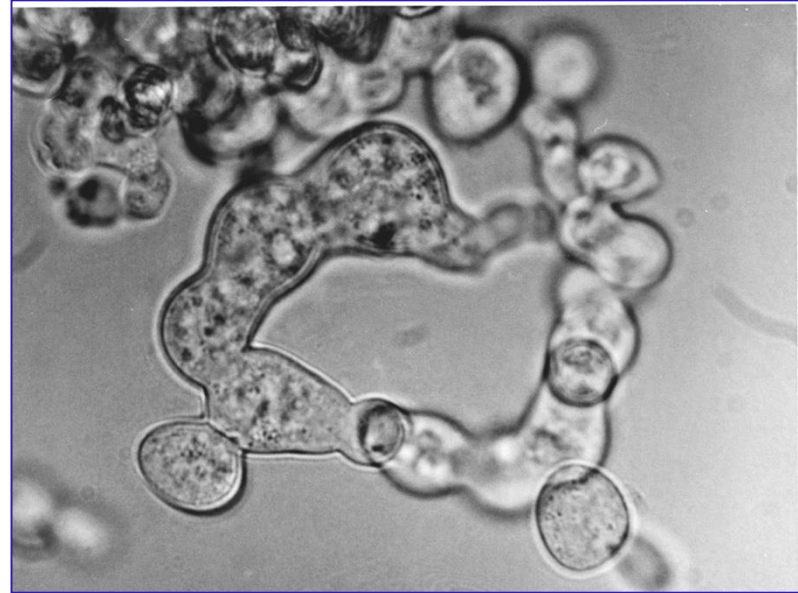
Regenerace
protoplast v
0elatinovém
gelu



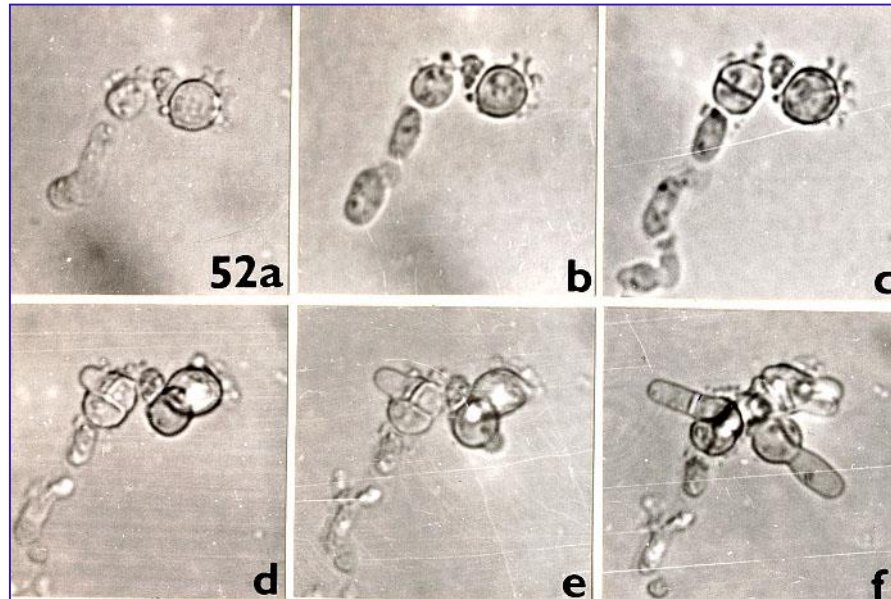


Morfologie regenerace protoplast v agarovém gelu



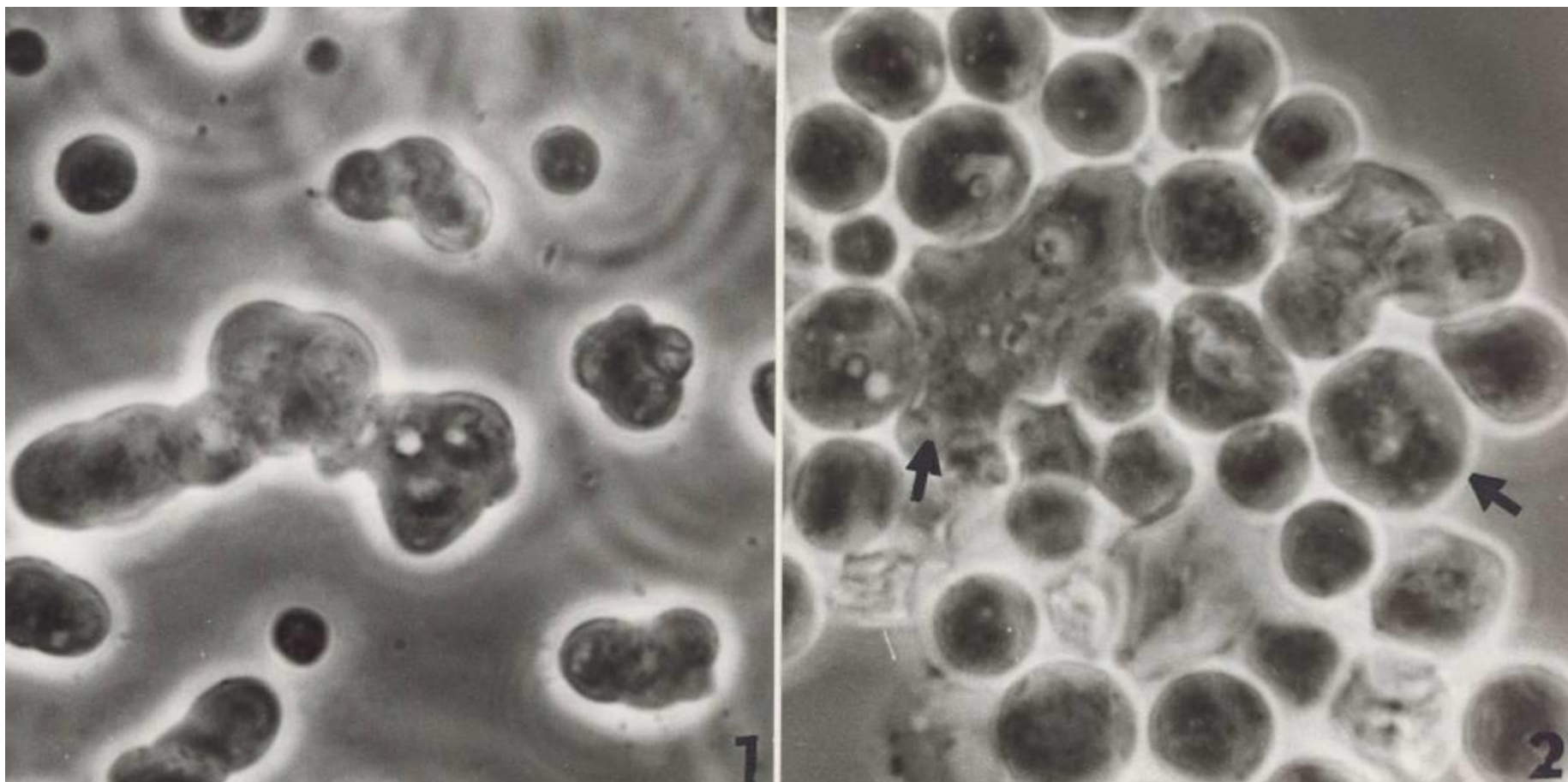


Regenerace protoplast v polyethylenglykolovém mediu

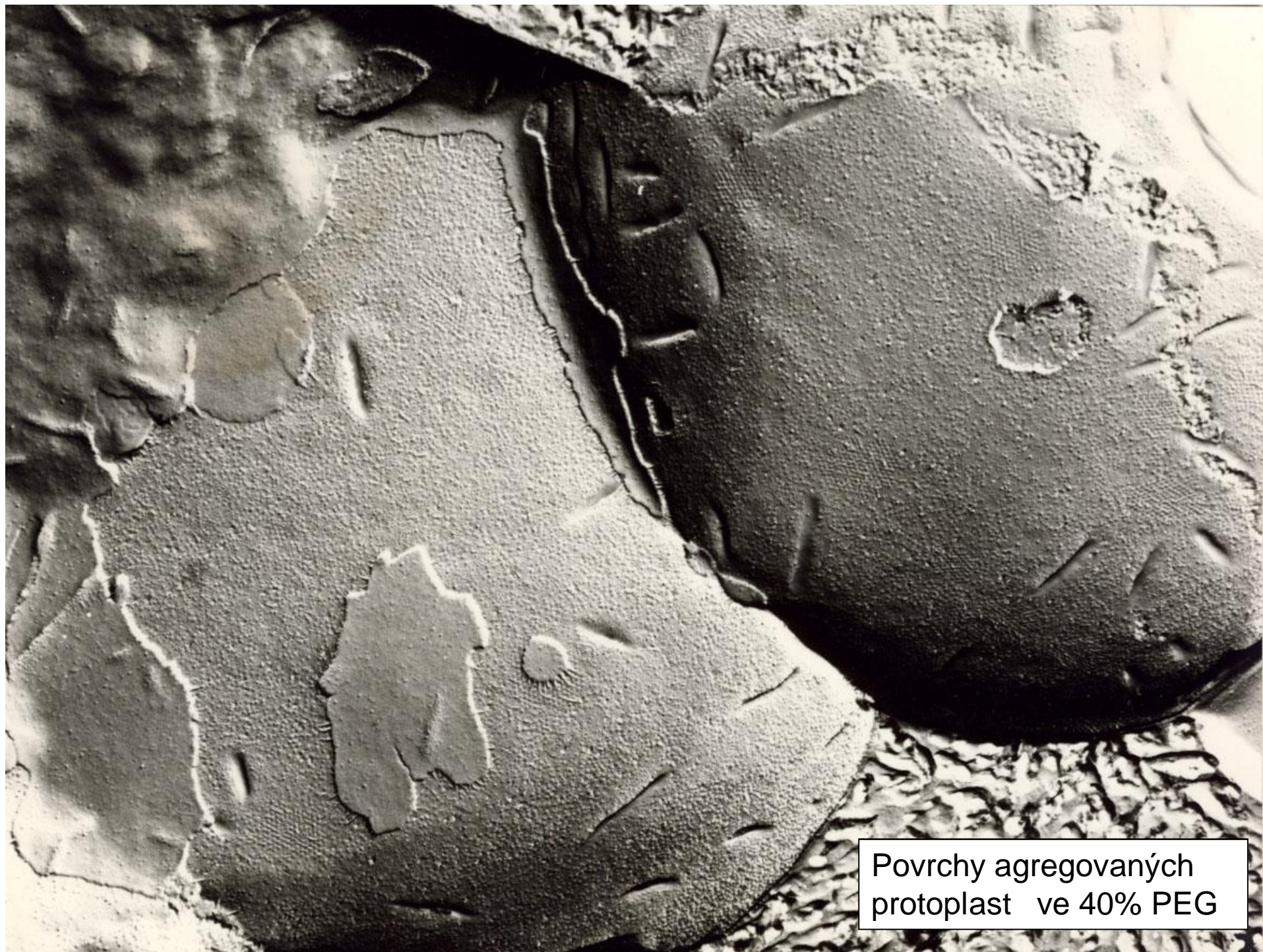


Protoplasty n kterých
kvasinek mohou
regenerovat na agarových
filmech nebo i v tekutém
mediu





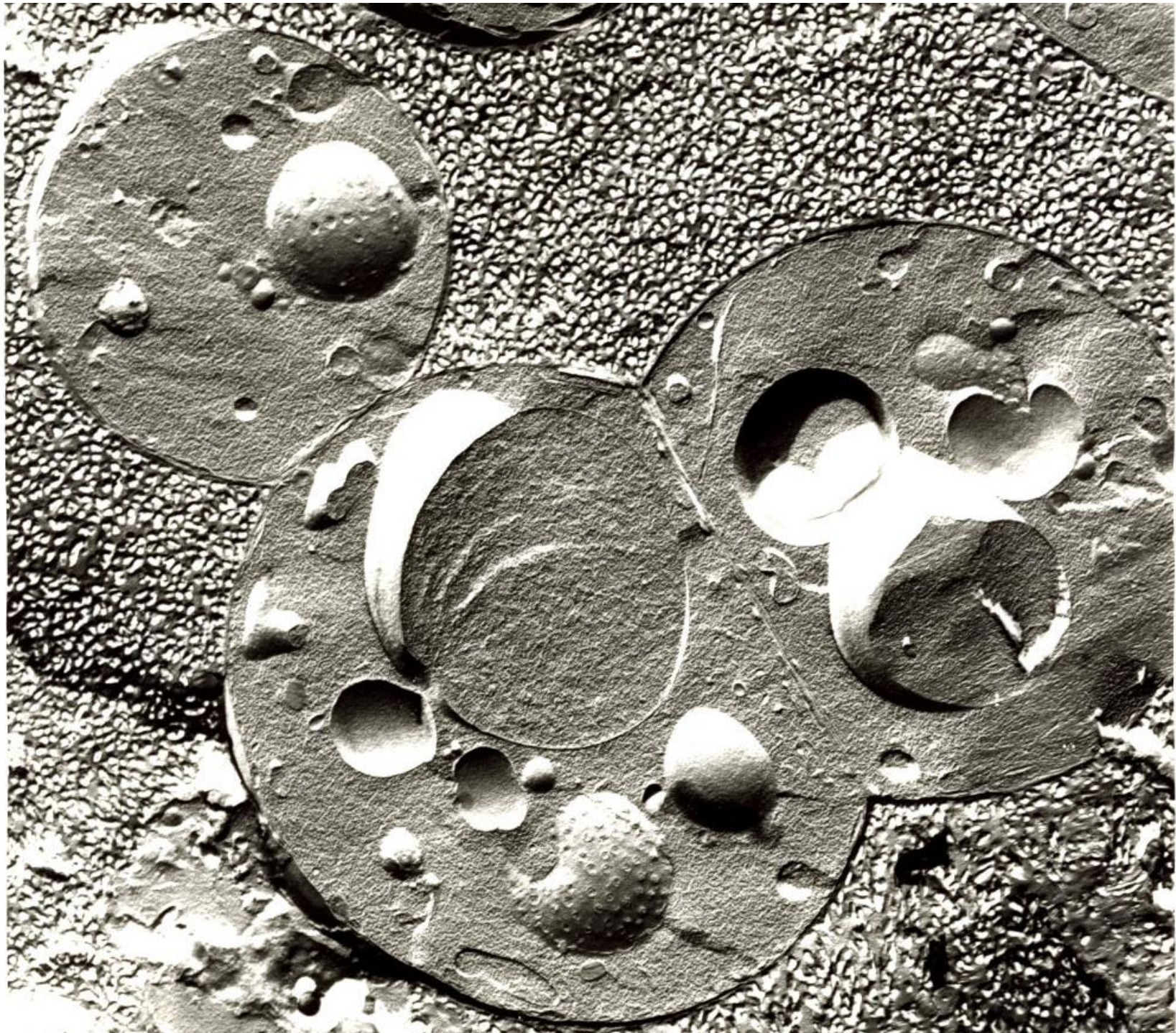
Aglutinace protoplast ve 40% polyethylenglykolu a vytváření polyprotoplast po zednění živným médiem



Povrchy agregovaných
protoplast ve 40% PEG

Lokální poruchy struktury
plasmatické membrány po
inkubaci protoplast ve
40% PEG 30 min p i 37⁰ C

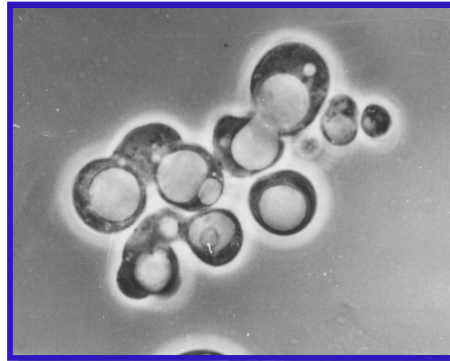




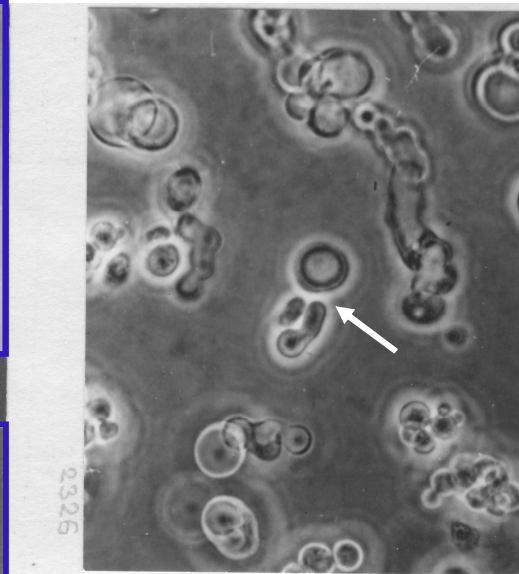
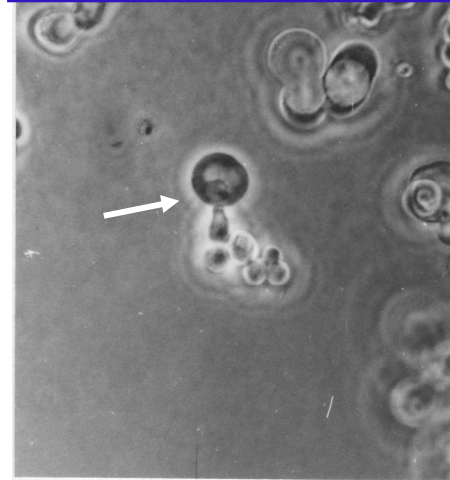
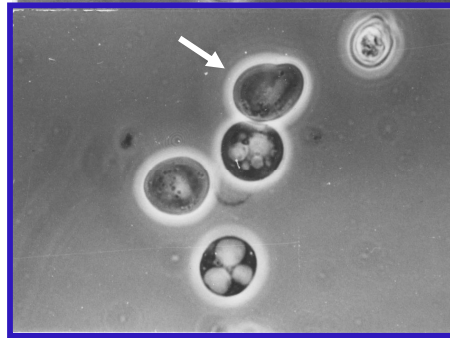
Aplikace protoplast kvasinek v buněné biologii a genetice

- “ 1. Studium funkce buněčné stěny
 - mechanická bariéra
 - signální funkce . receptce stresových faktor , feromon aj
 - regenerační schopnosti buňky
 - syntéza komponent buněčné stěny
- “ 2. Studium struktury plasmatické membrány
- “ 3. Studium nepohlavní hybridizace kvasinek
 - vnitrodruhová a mezidruhová hybridizace
- “ 4. Transformace kvasinek

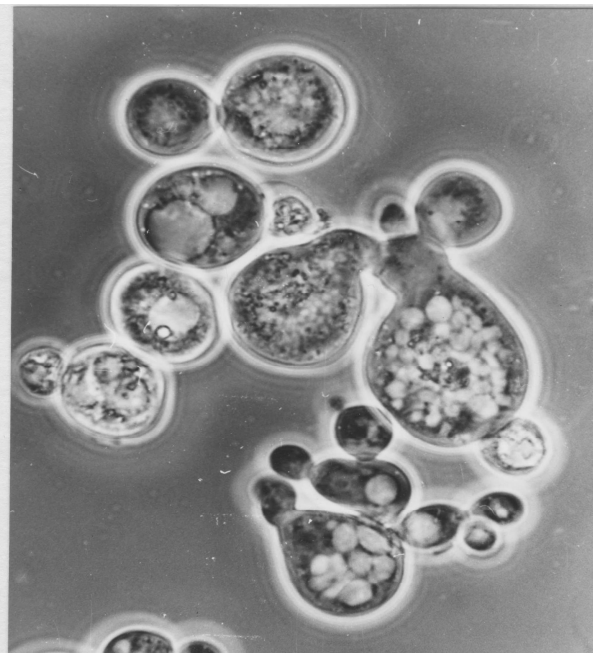
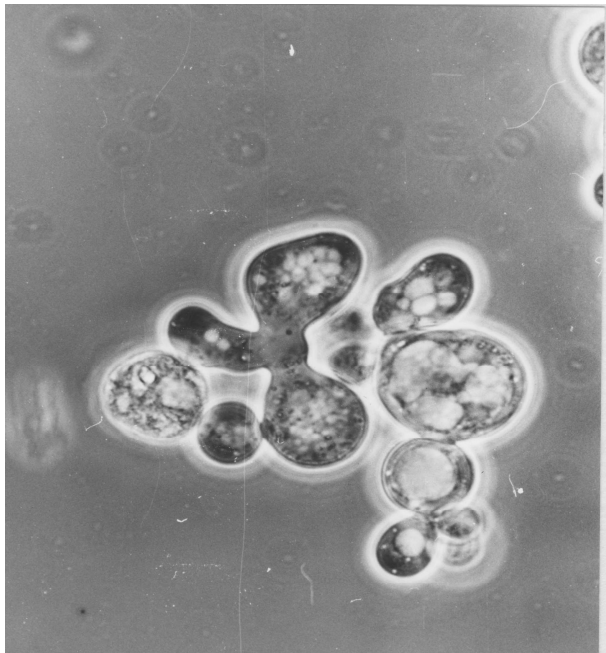
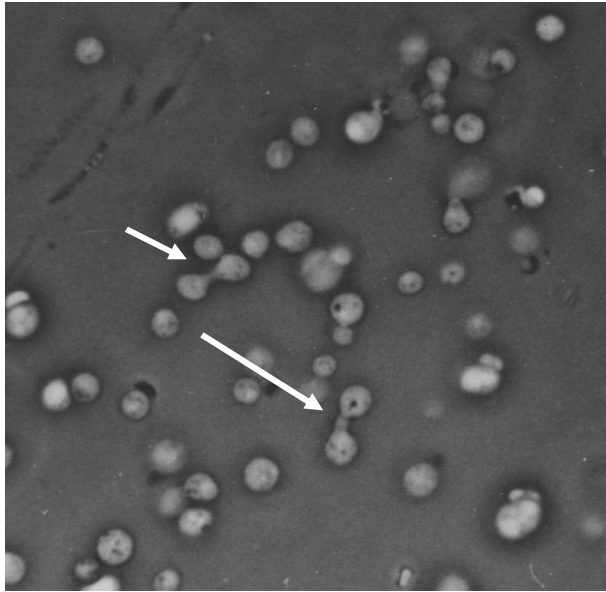
Protoplasty S.c.
+ a, pouze
neorientovaný
r st, Oádná fuze



protoplasty +
a bu ky:
párovací
výb ůky tvo í
pouze bu ky



Orientovaný r st
bun k sm rem k
rostoucímu
protoplastu .
Oádná fuze



Mezidruhová fuze *S.cerevisiae his⁻* x *S.pombe trp⁻*

