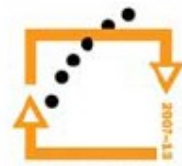




MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



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

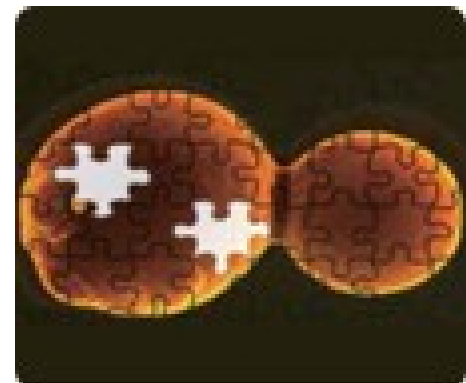
Rozvrh přednášek

21.9.2015	11-12.50hod	A2-2.11	Doc. Paleček	Úvod – historie, význam
5.10.2015	11-12.50hod	A2-2.11	Doc. Paleček	Základní charakteristiky kvasinek
12.10.2015	11-12.50hod	A2-2.11	Mgr. J. Kopecká	Kvasinky a biotechnologie
19.10.2015	11-12.50hod	A2-2.11	Doc. Paleček	Diagnostické a molekulárně biologické metody
26.10.2015	11-12.50hod	A2-2.11	Doc. Paleček	Genetika kvasinkových organismů
2.11.2015	11-12.50hod	A2-2.11	Doc. Paleček	Morfologie a buněčný cyklus, párovací proces,
9.11.2015	11-12.50hod	A2-2.11	prof. Svoboda	Protoplasty kvasinek jako modelový objekt
16.11.2015	11-12.50hod	A2-2.11	prof. Svoboda	Struktura kvasinkové buňky, sekreční dráhy a endocytóza
23.11.2015	11-12.50hod	A2-2.11	prof. Svoboda	Patogenní kvasinky, morfologická charakteristika, medicínské aspekty
30.11.2015	11-12.50hod	A2-2.11	Doc. Paleček	Regulace transkripce, 1-2-3 hybridní systémy, reporter systémy
7.12.2015	11-12.50hod	A2-2.11	Doc. Paleček	Organizce kvasinkového chromatinu
14.12.2015	8-12hod	A7-2.17	Svoboda +Paleček	Cvičení k přednáškám
21.12.2015	9-12hod	A2-2.11	Doc. Paleček	předtermín zkoušky

Přednášky – PPT budou na IS po přednášce

Cvičení – blokově (kolik bude studentu?) kdy???

3 termíny zkoušení (způsob?, diplomanti a PhD)



Osnova kurzu

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

Kvasinkáři

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

Pombelist Subscribers - Windows Internet Explorer

http://listserver.ebi.ac.uk/mailman/roster/pombelist

Soubor Úpravy Zobrazit Oblíbené položky Nástroje nápověda

Oblíbené položky Program Proglasu hodinu za... Navrhované weby desktop.ini Free Hotmail Galerie oblastí Web Slice Lenovo _eská republika Novorozenecká _loutenka ... Navrhované weby

Nesmrt... Genom... O2 | S... Teatro... Jethro... Zázna... The Lo... Biomol... E2 con... Po... X Nová z...

Stránka Zabezpečení Nástroje

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:

- [a.bianchi at sussex.ac.uk](mailto:a.bianchi@sussex.ac.uk)

289 Digested Members of Pombelist:

- [136197 at mail.muni.cz](mailto:136197@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 screenshot displays the SGD (Saccharomyces Genome Database) website in Internet Explorer. The main window shows the 'Saccharomyces cerevisiae S288C Genome: 37 kbp from chr01:123,000..160,000' page. The interface includes a search bar, navigation tabs (Community Info, Submit Data, BLAST, Primers, PatMatch, Gene/Seq Resources, Advanced Search, Community Wiki), and a detailed genomic track. The track shows various features such as landmarks (FLO9, CLN3, MKL16, CYS3, CEN1, ADE1, PHO11) and annotated sequence features. The track is zoomed to 10 kbp. The left sidebar contains navigation options like Search Options, Help Resources, Analysis & Tools, Homology & Comparisons, Function & Expression, and GO Resources. The bottom status bar shows the system tray with the date 2011-07-28 and time 13:04.

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

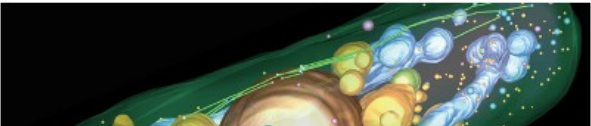
Home Find Tools Submit Downloads Genome Status Community About Help

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

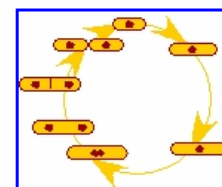
pdfforge explore with YAHOO! SEARCH Search PDFCreator eBay Amazon Options

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.

Osnova 1. přednášky

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

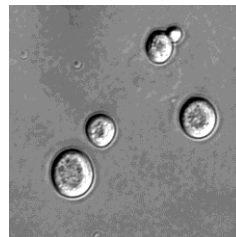


Hustopeče u Břeclavi

- 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
- L. Pasteur prokázal aktivní účast při kvašení (publikoval 1866, 1876)
- název Zuckerpilz („cukerná houba“) tj. *Saccharomyces* od roku 1837 (T. Schwann)
- 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 ...

- nejintenzivněji 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 10^8 /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)

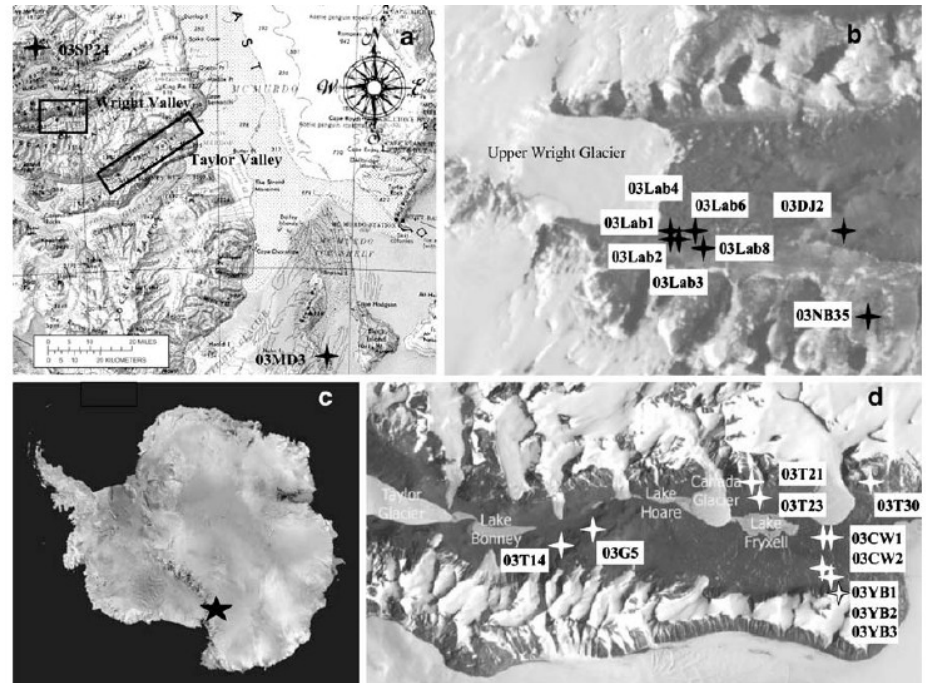


Figure 1 Sample site locations in South Victoria Land, Antarctica (2003–2004). Sites are identified by stars and labels. The entire study area with specific sites 03SP24 and 03MD3 is shown in (a). Sites in Wright

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		

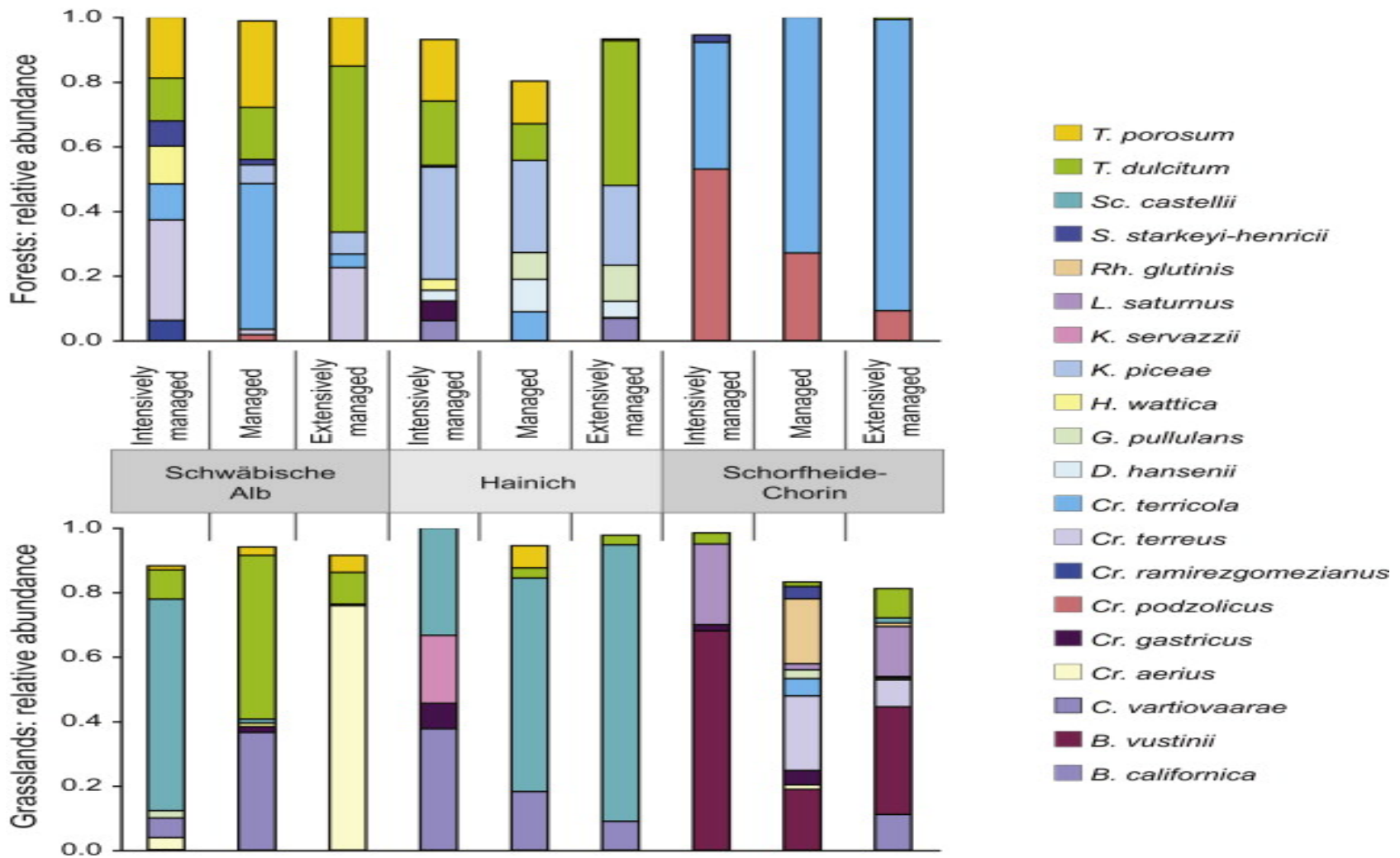
Representative isolates with ITS GenBank accession numbers are listed. Isolates currently in the CBS collection are noted using the CBS accession number. The accession number of the closest match to described species listed in GenBank are shown

^aMembers of Ascomycota

Půda a kvasinky

- Typ vegetace → složení půdních mikrobiálních komunit
- Kvasinky jsou kosmopolitní (autochtonní nebo alochtonní), 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

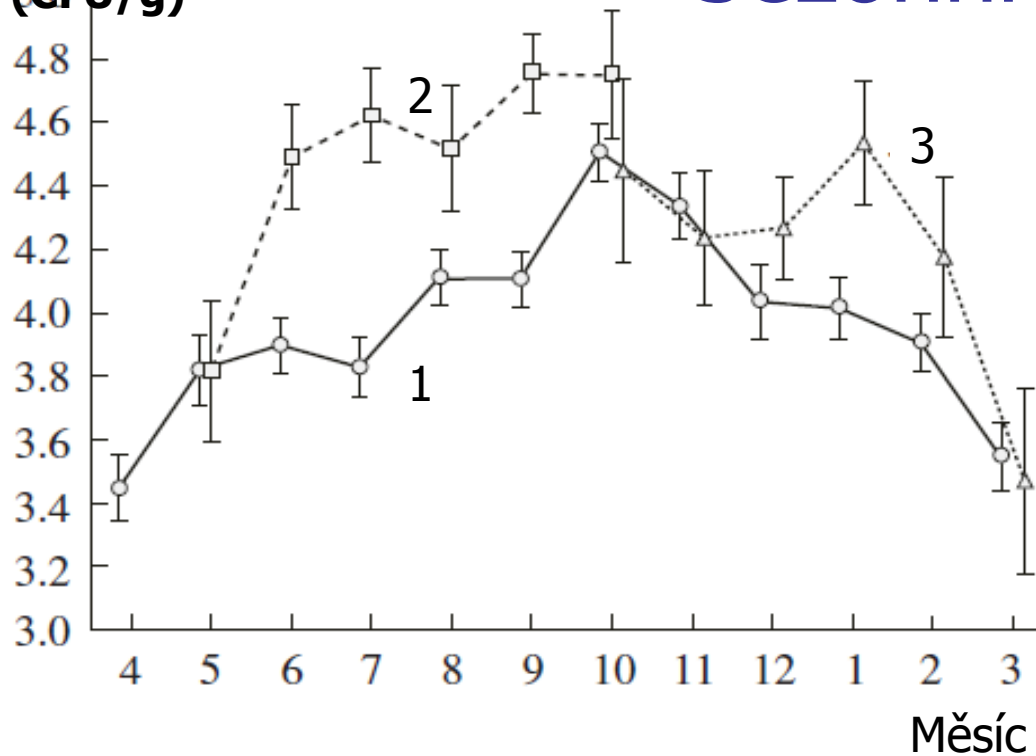
- na listech rostlin, květech (nektar palmy Bertramové ... červené kvasinky rodu *Rhodotorula*, *Rhodospiridium*, *Sporobolomyces*, černá *Aureobasidium pullulans*,)

- 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

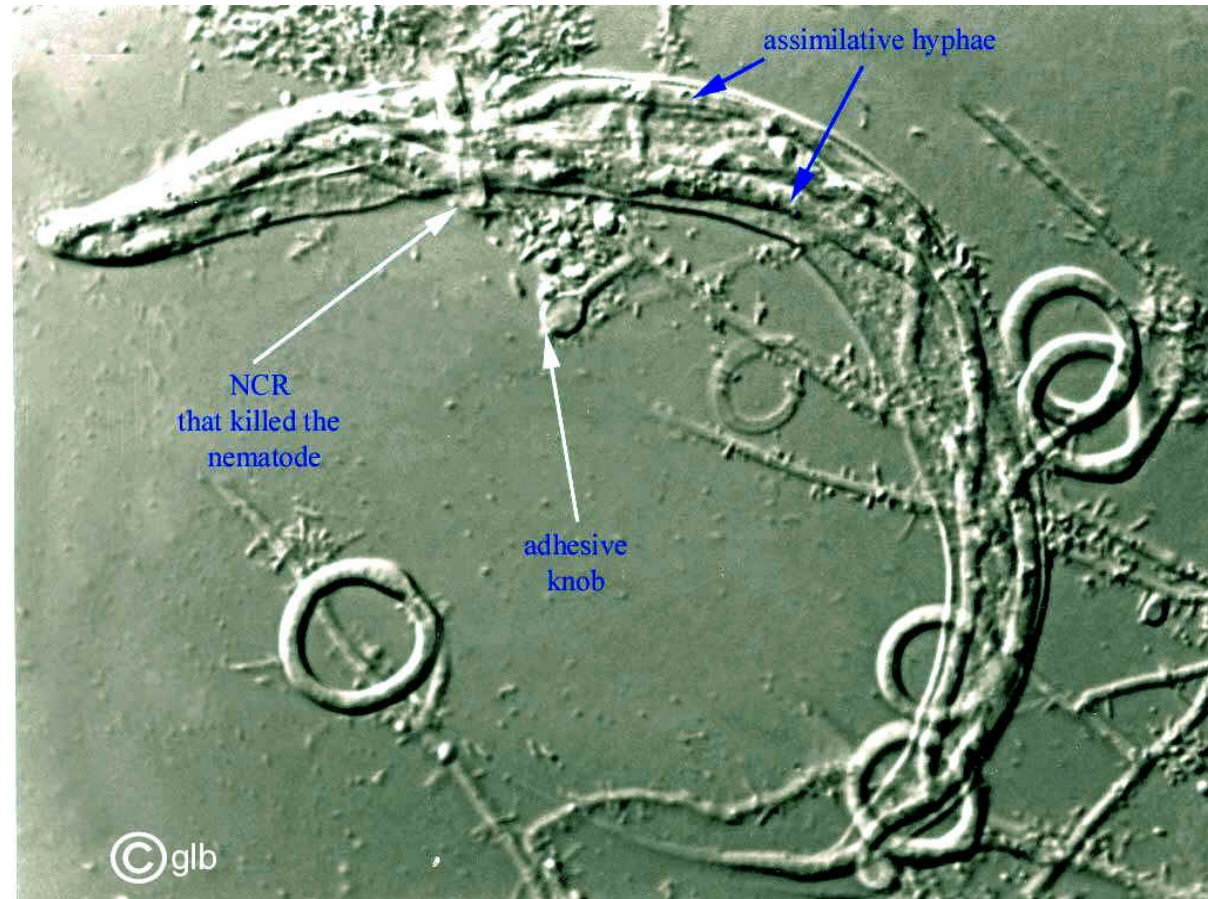
- Rozpouští nerozpustné fosforečnany ... → podpora růstu kořenů (stimulátory růstu a biohnojiva)
- Symbionti nebo paraziti
- Interakce s houbami
 - Exocelulární polymery (glykolipidy, glykoproteiny) s fungicidními a fungistatickými účinky
 - Extracelulární enzymy (glukanázy)
 - Mykociny (proteiny)

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/~gbarron/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 ušních kanálků, moč, stolice ...

Patogenní kvasinky

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

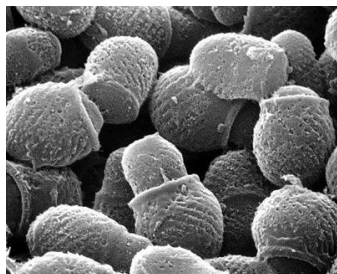
-Kandidózy (*C. albicans*, *dubliniensis*, *krusei*, *tropicalis*, *parapsilosis*, *glabrata*, *utilis*, *lipolytica*)

-*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)

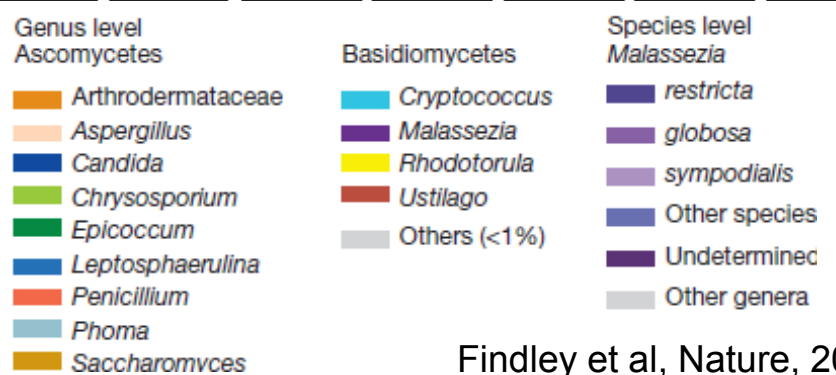
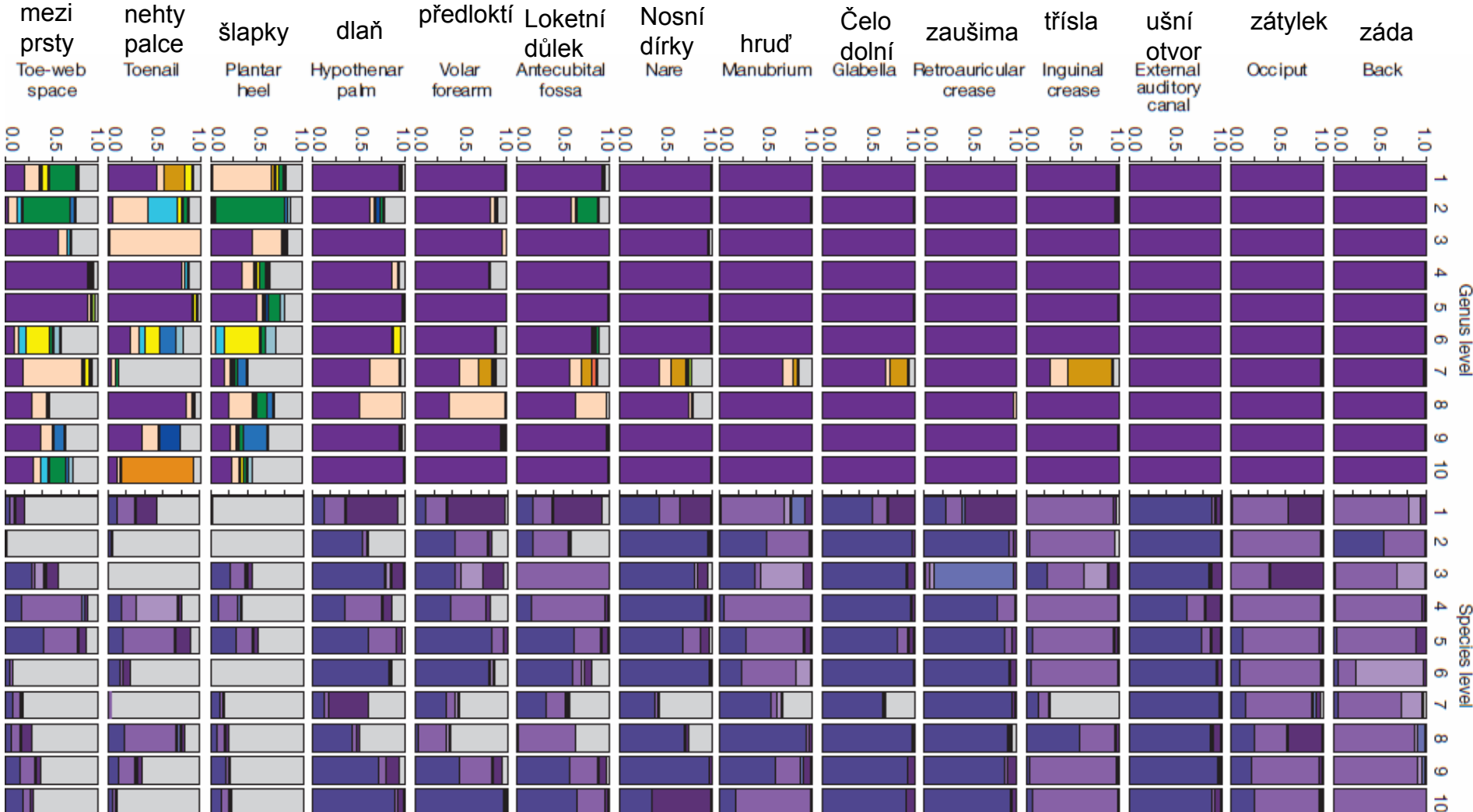
-*Malassezia* – poruchy pigmentace kůže a lupy tzv. **pityriázy** (*M. furfur*, *globosa*, *japonica*, *obtusa*, *restricta*, *yamatoensis*, *dermatis*, *slooffiae*, *sympodialis*, *nana*, *pachydermatis*)

-3 druhy *Trichosporon* (kůže)



Malassezia furfur
pityriasis versicolor





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

Význam pro zdraví člověka

- 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



Murzyn et al., 2010, FEMS Microbiol Lett.



- *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 ...

- exprese proteinů - příprava „hepatitis B core“ antigenu, anti-thrombin proti srážení krve (*Pichia pastoris*)

Význam pro zdraví člověka

The screenshot shows a Windows Internet Explorer browser window displaying the GenScript website. The address bar shows the URL: http://www.genscript.com/custom_protein_yeast_expression.html?src=email2013123137&logId=68148090&email=&brandId=&type=&c=1&ret=true. The browser's address bar also shows several tabs, including "Trim27-deficient mice are sus...", "The Essential Function of the...", and "Recombinant Protein Ser...".

The website header features the GenScript logo with the tagline "Make Research Easy" and an ISO 9001 CERTIFIED badge. Navigation links include "Home", "Services", "Products", "Resources", "Promotions", and "Company". A search bar is located in the top right corner. The main content area is titled "YeastHIGH™ Yeast Expression System" and describes it as an "Economic solution for eukaryotic protein production". The page lists three key features: "Proprietary YeastHIGH™ technology", "Advanced platform for producing humanized antibodies", and "Large-scale eukaryotic protein production, up to 500 L". A "Get a Quote Now" button is prominently displayed. The footer of the page includes a "Hotovo" status indicator and a Windows taskbar with various open applications and the system clock showing 7:04.

- exprese proteinů - příprava „hepatitis B core“ antigenu, anti-thrombin proti srážení krve (*Pichia pastoris*) – farmaceutický průmysl

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).

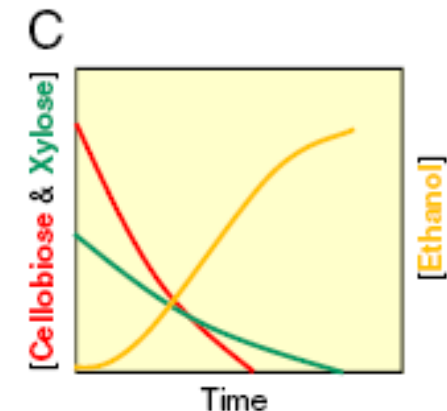
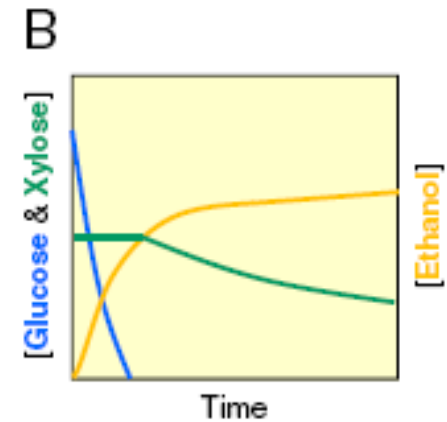
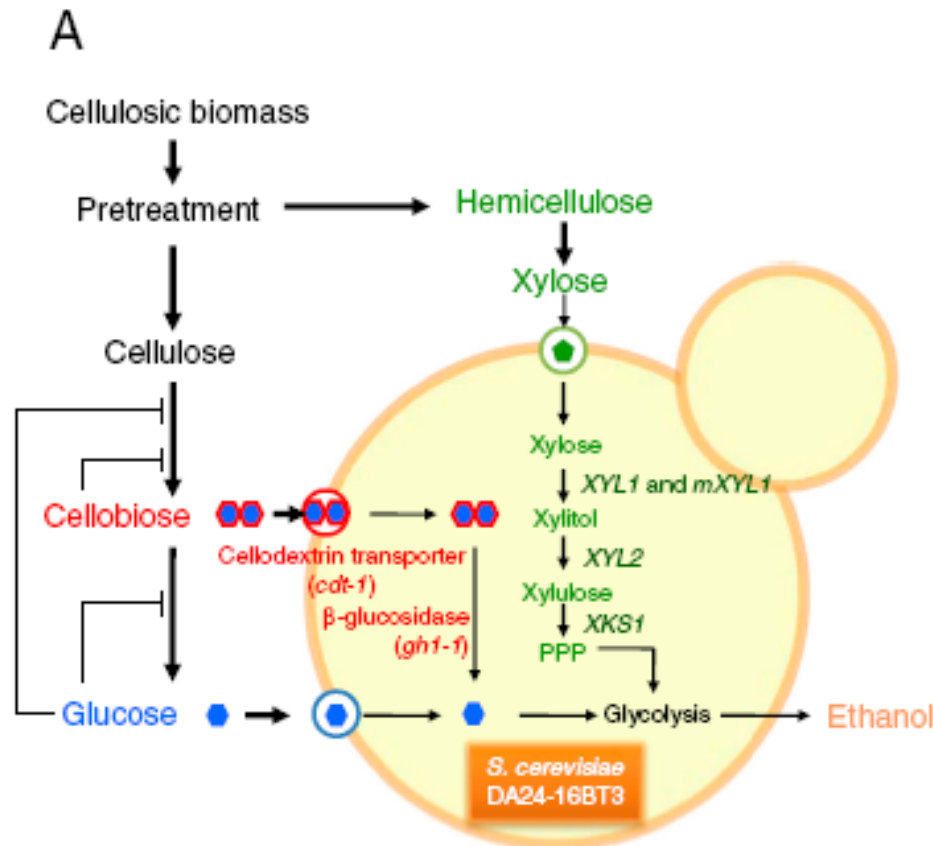
- též v příští přednášce

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 v dalších přednáškách*)
- 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 represi



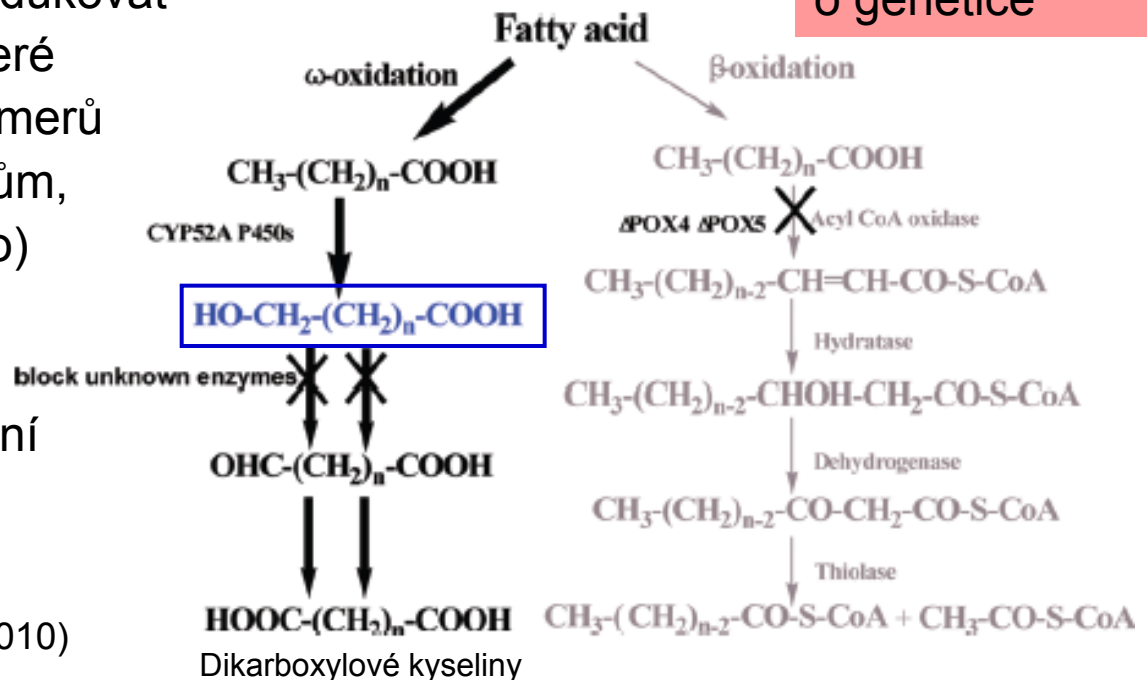
- Více v dalších přednáškách



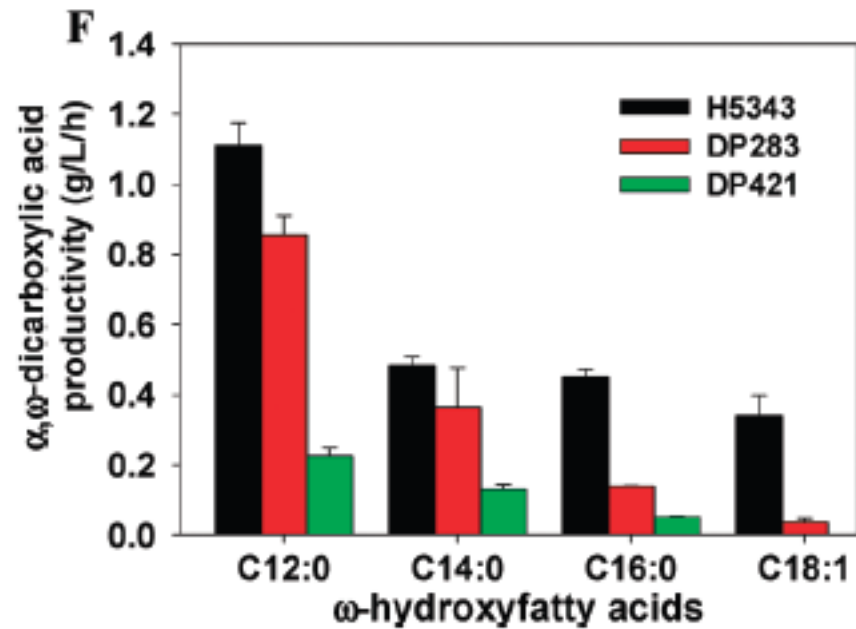
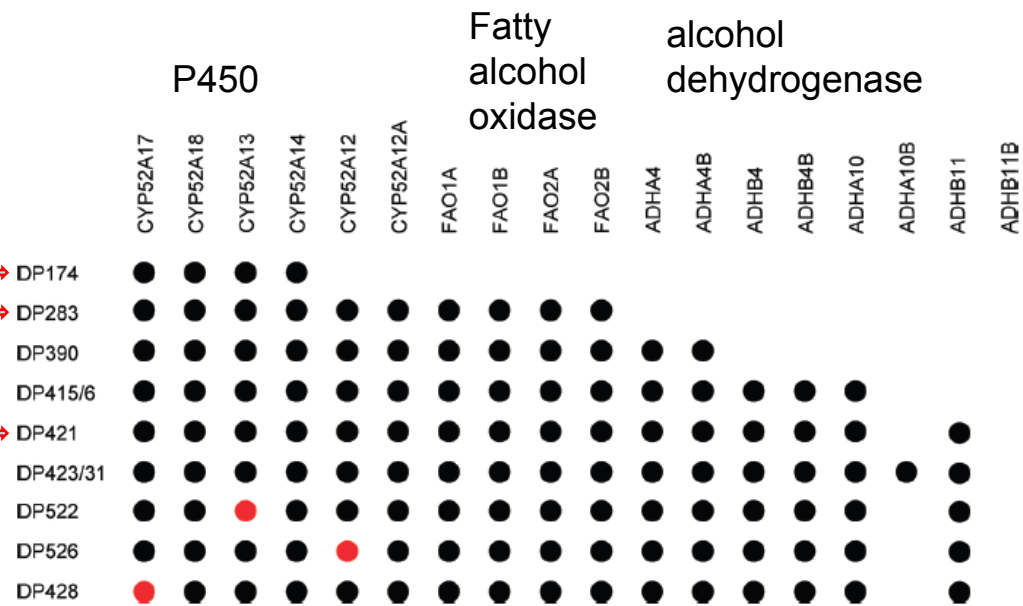
Příprava monomerů pro výrobu plastů – využití *Candida tropicalis*

- *Candida tropicalis* je schopna využít mastné kyseliny jako zdroj uhlíku (acetyl-CoA)
- mutantní kmen (P450: Δ POX4 ...) 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 (alkohol oxidázy) a dehydrogenás (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 ...

Přednáška
o genetice

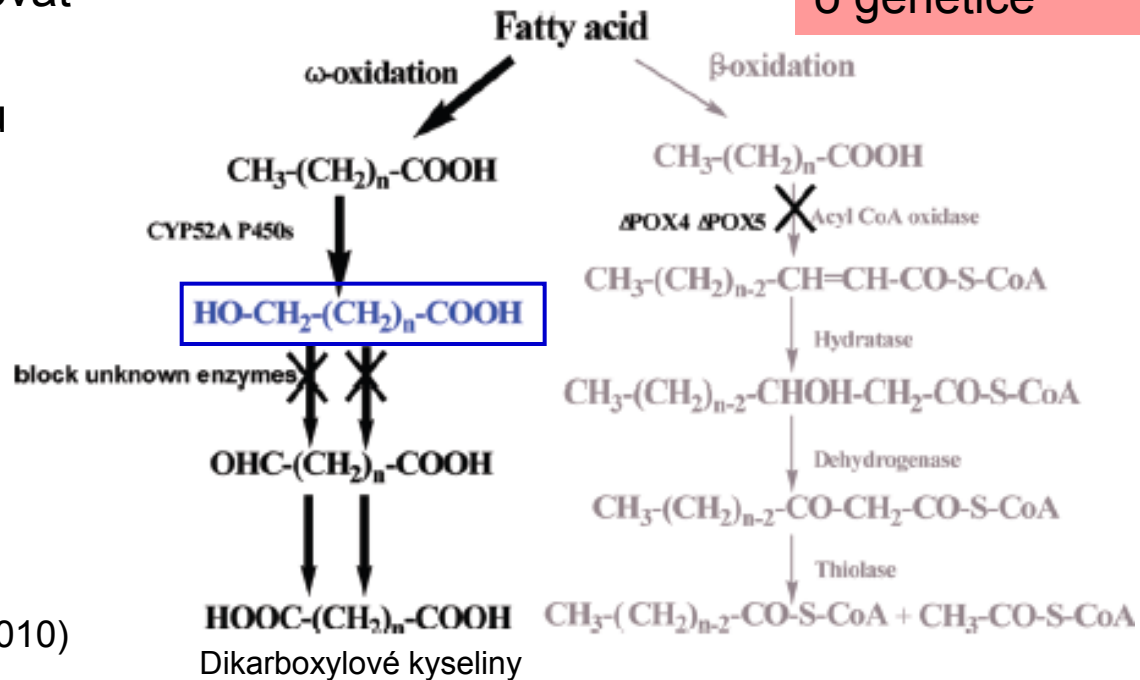


Lu et al., JACS (2010)



Přednáška o genetice

- 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)

Výzkum

- Je třeba kvasinkám rozumět (na molekulární úrovni) aby bylo možné je využít, případně využít jejich jednoduchost ke studiu složitějších mechanismů (... pro výzkum vedoucí k objasňování lidských nemocí)
- *S. cerevisiae* a *S. pombe* jsou modelovými organismy
 - jednoduchá eukaryotní buňka (základní procesy jako u vyšších eukar.)
 - 1. osekvenovaný eukaryotní genom, 1. syntetický eukar. chromosom
 - buněčný cyklus (sir P. Nurse)
 - sekrece, endocytóza, buněčná stěna (prof. A. Svoboda)
 - chromosomy a evoluce (např. projekt syntetického chromosomu)
 - mechanismy opravy poškozené DNA (nádorové syndromy – tabulka)

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

- Metody využívající kvasinek (např. 2-H, reporterové systémy)

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

- Více v dalších přednáškách

Human Gene → Functional Complementation

For a given human gene(s), enter gene name or Entrez GeneID and retrieve information about cross-species functional complementation between yeast and humans.

Trail: Query

Human Gene → Functional Complementation

For a given human gene(s), enter gene name or Entrez GeneID and retrieve information about cross-species functional complementation between yeast and humans.

Manage Columns Manage Filters Manage Relationships

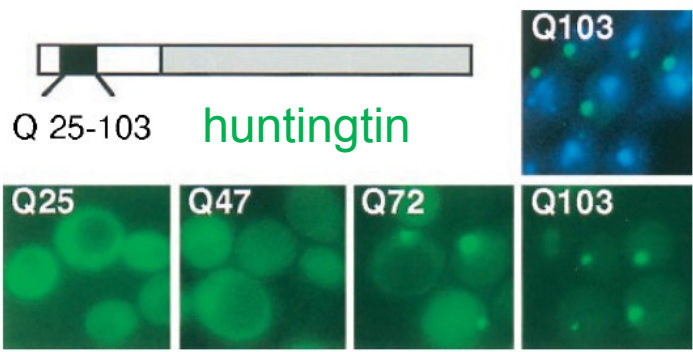
Showing 1 to 3 of 3 rows

Complement Standard Name	Complement Organism . Short Name	Complement Cross References	Gene Primary DBID	Gene Systematic Name	Gene Standard Name	Gene Organism . Short Name	Complementation Direction	Complements Publication . Pub Med Id	Complements Source	Complements Notes
CCND1	H. sapiens	6 Cross References	S000000038	YAL040C	CLN3	S. cerevisiae	human gene complements S. cerevisiae mutation	1833066	P-POD	NO VALUE
CCND1	H. sapiens	6 Cross References	S000004812	YMR199W	CLN1	S. cerevisiae	human gene complements S. cerevisiae mutation	1833066	P-POD	NO VALUE
CCND1	H. sapiens	6 Cross References	S000006177	YPL256C	CLN2	S. cerevisiae	human gene complements S. cerevisiae mutation	1833066	P-POD	NO VALUE

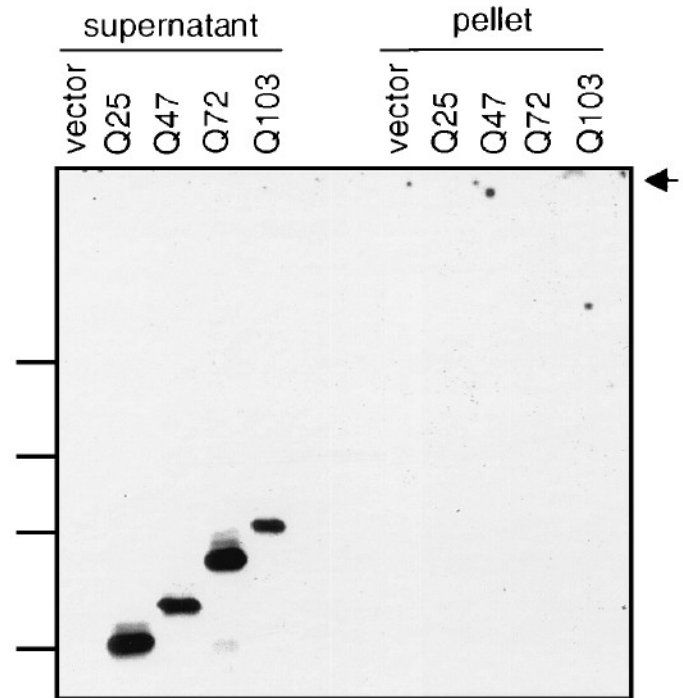
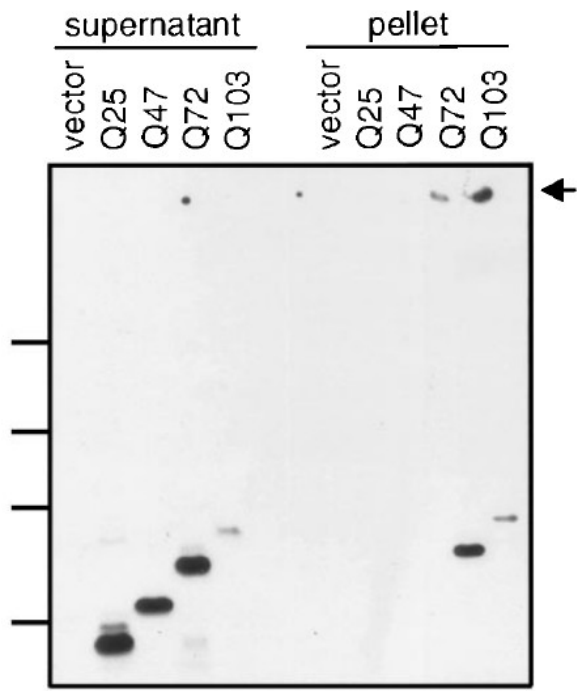
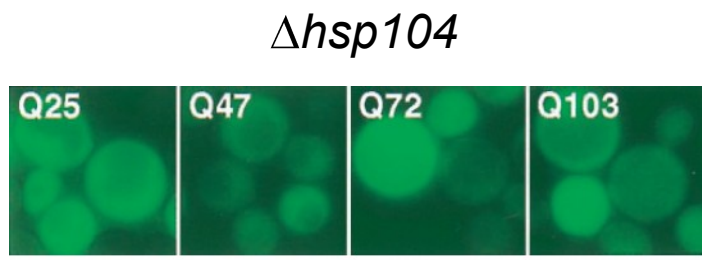


Analyzá polyQ (glutaminové repetice) v kvasinkách

- polyglutaminové repetice (CAG triplet slippage) v proteinech (huntingtin - Ht) způsobují závažné neurodegenerativní onemocnění (Huntingtonovu nemoc)
- Ht-GFP (s různě dlouhými polyQ) byly exprimovány v *S. cerevisiae* a sledován vznik agregátů/nerozpustných proteinů – závislost na chaperonech (delece Hsp104 snižovala agregaci a zvyšovala rozpustnost)



Hsp104 snižovala agregaci a zvyšovala rozpustnost)



Souhrn 1. přednášky

- Kvasinky – historie využití a výzkumu
- Kde všude a jak kvasinky rostou?
- Vztahy k lidskému zdraví
- Příklady biotechnologií a výzkumu



Hustopeče u Břeclavi